

血清 Midkine、TBIL 水平联合检测对糖尿病视网膜病变患者诊断效能的影响

肖文金

摘要 **目的** 探讨血清中期因子(MK)、总胆红素(TBIL)联合检测对糖尿病视网膜病变(DR)的诊断效能,明确其在 DR 诊断中的应用价值。**方法** 收集 2014 年 7 月~2016 年 12 月在笔者医院就诊的 215 例 2 型糖尿病(T2DM)患者的临床资料,其中糖尿病无视网膜病变(NDR)79 例,非增生性糖尿病视网膜病变(NPDR)81 例,增生性糖尿病视网膜病变(PDR)55 例;另选取同期健康体检者 70 例作为对照组。检测 4 组人群血清 MK、TBIL 表达水平,并对各项指标与 DR 的关系进行 Person 相关分析和 Logistic 回归分析,同时对 Midkine、TBIL 在 DR 中的诊断效能进行评估。**结果** 4 组研究对象血清 MK、TBIL 表达水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);其中 MK 水平在正常对照组、NDR 组、NPDR 组、PDR 组患者中依次升高,而 TBIL 水平在各组中依次下降。MK 与 DR 发生呈正相关($r = 0.779, P = 0.005$),TBIL 与 DR 发生呈负相关($r = -0.657, P = 0.012$);且两者均是 DR 发生的独立影响因素($OR = 2.257, 0.681, P < 0.05$);MK 与 TBIL 联合检测诊断 DR 的敏感度明显高于各指标单独检测($P < 0.05$)。**结论** 血清 MK 和 TBIL 表达水平均与 DR 的发生及疾病严重程度密切相关,其联合检测对 DR 具有较高的诊断效能。

关键词 2 型糖尿病 视网膜病变 血清中期因子 总胆红素 诊断效能

中图分类号 R587.26

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.03.022

Influence of Combined Detection of Serum Midkine and TBIL Levels in Diagnostic Efficacy of Diabetic Retinopathy. Xiao Wenjin. Department of Endocrinology, The Second Hospital Affiliated to Suzhou University, Jiangsu 215000, China

Abstract **Objective** To explore the diagnostic efficacy of combined detection of serum midkine (MK) and total bilirubin (TBIL) levels of diabetic retinopathy (DR), and determine the value in diagnosis of DR. **Methods** Clinical data of 215 cases of patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM) treated in our hospital from July 2014 to December 2016 were collected, and diabetes mellitus without retinal lesions (NDR) in 79 cases, non-proliferative diabetic retinopathy (NPDR) in 81 cases, proliferative diabetic retinopathy (PDR) in 55 cases. Another 70 cases of physical examination persons in the same period were as the control group. Serum MK and TBIL levels were detected in the four groups, and the relationship between indexes and DR was done by Person correlation analysis and Logistic regression analysis, and diagnostic efficacy of Midkine and TBIL was evaluated in DR. **Results** Serum MK and TBIL levels were compared between the four groups, with statistically significant differences ($P < 0.05$). MK level increased in normal control group, NDR group, NPDR group and PDR group, while TBIL levels decreased in each group. MK was positively correlated with DR ($r = 0.779, P = 0.005$), and TBIL was negatively correlated with DR ($r = -0.657, P = 0.012$), and both were independent factors influencing DR ($OR = 2.257, 0.681, P < 0.05$). The sensitivity of combined detection of MK and TBIL in diagnosis of DR was higher than that of each index detected separately ($P < 0.05$). **Conclusion** Serum MK and TBIL levels are closely related to the occurrence of DR and severity of the disease, and the combined detection has high diagnostic efficacy for DR.

Key words Type 2 diabetes mellitus; Retinopathy; Serum midkine; Total bilirubin; Diagnostic efficacy

糖尿病性视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是 2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)患者较为严重的眼部微血管并发症,是导致患者视力下降甚至失明的主要原因,近年来随着人口老龄化该病的发生率日益升高^[1]。临床研究表明糖尿病患者由于机

体长期处于高糖状态,导致氧化应激反应增强,进而使抗氧化剂大量消耗造成视网膜细胞损伤是导致 DR 发生的原因之一^[2]。血清胆红素(total bilirubin, TBIL)是人体内的天然抗氧化剂,且有研究指出其能够清除氧自由基抑制脂蛋白氧化,是 T2DM 的保护性因素^[3];血清中期因子(midkine, MK)是新发现的分泌型肝素结合因子,研究表明其在心血管疾病中具有抗凋亡、促进炎性病变、促进血管新生进而抑制心肌重塑的作用,同时作为视黄酸结合基因的编码产物,

基金项目:江苏省卫生厅科技攻关计划项目(J2014169)

作者单位:215000 苏州大学附属第二医院内分泌科

通讯作者:肖文金,电子邮箱:xiaowenjin1984@sina.com

可能参与 DR 相关的炎症及氧化应激反应^[4,5]。目前,有关 TBIL 和 MK 在 DR 诊断中的应用价值的报道相对较少,本研究拟通过探讨 TBIL 和 MK 与 DR 发生的相关性及其诊断效能,以期为 DR 的临床诊断提供新的思路,具体结果如下。

资料与方法

1. 临床资料:选取 2014 年 7 月~2016 年 12 月在笔者医院内分泌科门诊、眼科门诊及住院部的 T2DM 患者 215 例作为研究对象,在眼科诊断结果的基础上分为糖尿病视网膜病变患者(NDR)79 例,其中男性 38 例,女性 31 例,患者平均年龄 48.79 ± 5.23 岁;非增生性糖尿病视网膜病变(NPDR)患者 81 例,其中男性 45 例,女性 36 例,患者平均年龄 50.05 ± 6.15 岁;增生性糖尿病视网膜病变(PDR)患者 55 例,其中男性 23 例,女性 22 例,患者平均年龄 49.25 ± 5.47 岁。

2. 纳入标准和排除标准:(1)纳入标准:①均符合 WHO 制定的糖尿病诊断标准;②DR 符合中华医学会眼科学会制定的 DR 诊断及分期标准;③患者临床资料完整;④患者对本研究知情并签署同意书;⑤经笔者医院伦理委员会批准。(2)排除标准:①肝脏、肾脏及心脑血管疾病患者;②急慢性感染患者;③恶性肿瘤患者;④患有免疫性疾病;⑤其他病因引起的 DR。另选取同时期体检健康者 70 例作为对照组,其中男性 38 例,女性 32 例,平均年龄 49.05 ± 5.18 岁,4 组研究对象性别分布及年龄比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

3. 研究方法:采用笔者医院自行统一拟定的调查

问卷对所有研究对象进行调查,主要分为一般指标和实验室指标两大类。一般指标:性别、年龄、身高、体重、收缩压(SBP)、舒张压(DBP)、心率、病程,计算体重指数(BMI) = 体重(kg)/身高²(m²);实验室指标:清晨空腹采集静脉血 5ml,3000r/min 离心 10min 后,吸取上清分装于无菌 EP 管中,存放于 -80℃ 冰箱中待检。一部分血清通过罗氏 P800 全自动生化分析仪测定血红蛋白(HbA1c)、总胆红素(TBIL)、甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、空腹血糖(FPG)水平,采用酶联免疫法(ELISA)检测血清 MK 的表达量。

4. 统计学方法:采用软件 SPSS 19.0 统计学软件对数据进行统计处理,计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用 one-way ANOVA 分析,两两比较采用 LSD 法;计数资料用 $[n(\%)]$ 表示,采用 χ^2 检验;DR 发生相关因素采用 Pearson 相关分析和 Logistic 回归分析;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1.4 组研究对象一般资料及生化指标比较:各组 BMI、SBP、DBP、TG、TC、HDL-C 比较,差异无统计学意义($P < 0.05$);与对照组比较,其他 3 组的 HbA1c、LDL-C、FPG、MK 均升高,TBIL 降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);与 NDR 组比较,NPDR 和 PDR 组的 HbA1c、MK 均升高,TBIL 降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);NPDR 组和 PDR 组病程、HbA1c、TBIL、MK 比较,差异有统计学意义($P < 0.05$,表 1)。

表 1 4 组研究对象一般资料及生化指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	病程(年)	BMI(kg/m ²)	SBP(mmHg)	DBP(mmHg)	HbA1c(%)	TBIL(μmol/L)
对照组	70	-	22.58 ± 2.13	108.15 ± 5.26	72.35 ± 6.75	5.47 ± 0.75	16.23 ± 4.35
NDR	79	-	23.02 ± 1.58	107.25 ± 4.38	73.02 ± 5.38	$7.45 \pm 1.72^*$	$14.46 \pm 3.25^*$
NPDR	81	6.58 ± 1.26	22.79 ± 1.98	108.22 ± 5.06	72.85 ± 7.12	$8.75 \pm 2.05^{*#}$	$12.15 \pm 2.56^{*#}$
PDR	55	$7.45 \pm 1.58^\Delta$	23.12 ± 2.02	107.58 ± 4.38	72.64 ± 6.31	$10.23 \pm 2.32^{*#\Delta}$	$9.32 \pm 3.45^{*#\Delta}$
组别	n	TG(mmol/L)	TC(mmol/L)	HDL-C(mmol/L)	LDL-C(mmol/L)	FPG(mmol/L)	MK(pg/ml)
对照组	70	1.25 ± 0.35	2.89 ± 0.52	1.30 ± 0.35	2.15 ± 0.37	5.23 ± 0.58	0.45 ± 0.31
NDR	79	1.30 ± 0.38	2.87 ± 0.85	1.28 ± 0.26	$2.42 \pm 0.29^*$	$7.38 \pm 0.96^*$	$1.70 \pm 0.32^*$
NPDR	81	1.28 ± 0.32	2.97 ± 0.78	1.31 ± 0.38	$2.49 \pm 0.33^*$	$7.37 \pm 1.02^*$	$2.85 \pm 0.92^{*#}$
PDR	55	1.32 ± 0.27	2.83 ± 0.79	1.29 ± 0.29	$2.43 \pm 0.31^*$	$7.43 \pm 0.95^*$	$3.79 \pm 1.03^{*#\Delta}$

与对照组比较,* $P < 0.05$;与 NDR 组比较,# $P < 0.05$;与 NPDR 组比较, $\Delta P < 0.05$

2. DR 与各因素的相关分析:Pearson 相关分析显示,DR 与病程、HbA1c、MK 呈正相关,与 TBIL 呈负相关(表 2)。

3. 影响 DR 发生相关因素 Logistic 回归分析:

以 DR 患病与否作为因变量,以相关因素作为自变量进行 Logistic 回归分析,结果显示病程、MK 水平是 DR 的危险因素,而 TBIL 是 DR 的保护因素(表 3)。

表 2 DR 与各因素的相关分析结果

因素	<i>r</i>	<i>P</i>
病程	0.527	0.024
HbA1c	0.325	0.042
TBIL	-0.657	0.012
MK	0.779	0.005

表 5 血清 MK、TBIL 单独及联合检测的诊断效能比较

项目	敏感度 (%)	特异性 (%)	阳性预测值 (%)	阴性预 测值(%)
MK	85.29(116/136)	97.32(145/149)	96.67	87.88
TBIL	78.68(107/136)	91.95(137/149)	89.92	82.53
MK + TBIL	94.12(128/136)	90.60(135/149)	90.14	94.41

表 3 影响 DR 的多因素 Logistic 回归分析结果

因素	β	SE	Wald	Sig.	OR	95% CI
病程	0.127	0.134	3.321	0.035	1.635	1.255 ~ 2.536
TBIL	0.173	0.202	4.357	0.012	0.681	0.602 ~ 0.785
MK	0.079	0.205	6.348	0.008	2.257	1.935 ~ 3.014

4.4 组研究对象血清 MK、TBIL 单独及联合检测 DR 阳性结果比较:4 组研究对象血清 MK、TBIL 单独及联合检测诊断 DR 的阳性检出率比较,差异有统计学意义($P < 0.05$,表 4)。

表 4 4 组研究对象血清 MK、TBIL 单独及联合检测 DR 阳性结果[n(%)]

组别	<i>n</i>	MK	TBIL	联合检测
对照组	70	1(1.43)	3(4.29)	4(5.71)
NDR	79	3(3.80)	9(11.39)	10(12.66)
NPDR	81	67(82.72)	62(76.54)	75(92.59)
PDR	55	49(89.09)	45(81.82)	53(96.36)
χ^2		199.683	146.961	205.045

5. 血清 MK 和 TBIL 联合检测对 DR 的诊断效能: MK 和 TBIL 单独及联合检测诊断 DR 的 ROC 曲线见图 1,联合后的诊断效能高于单独检测,且对 DR 的诊断敏感度明显高于各指标单独检测,组间比较差异有统计学意义($\chi^2 = 13.582, P < 0.05$,表 5)。

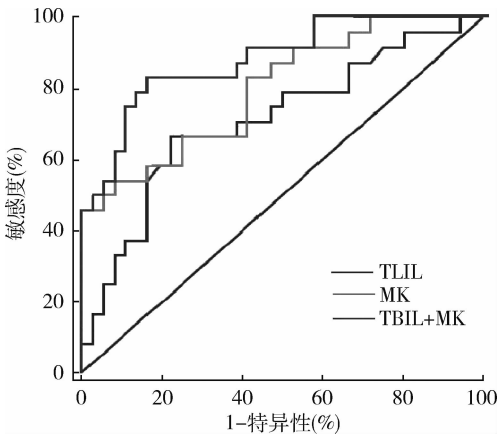


图 1 MK 和 TBIL 单独及联合检测诊断 DR 的 ROC 曲线

讨 论

糖尿病是一种常见的全球性慢性代谢疾病,据统计显示我国糖尿病的总发生率可达 9200 万例,微血管病变是糖尿病患者常见并发症,其主要累及至眼部和肾脏,导致 DR 和糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)的发生^[6]。多项研究表明 DR 与 DN 的发生、发展存在密切联系,两者均是由于体内血糖代谢异常,导致蛋白质、细胞因子、氧自由基、炎性因子等因素参与下机体出现的病理改变,研究显示 DR 的发生能够明显增加 DN 的发生风险,临床通常可用于预测 DN 的发生,进而预防终末期肾病的发生^[7,8]。因此,对 DR 的及早诊治具有重要意义,但目前尚无有完全有效的治愈方法,故对 DR 的早期发现对于延缓疾病进展至关重要。

MK 是一种相对分子质量为 13kDa 的分泌性碱性肝素结合蛋白,最早发现于小鼠 cDNA 文库中,近年来研究发现 MK 基因位于人第 11 号染色体上,在胚胎中期表达量最高,随着生长发育逐渐降低,仅在肺、甲状腺及肾脏等组织中表达,对硫酸肝素和葡胺聚糖肝素具有较高的亲和力^[9]。临床研究表明 MK 与恶性肿瘤、免疫系统疾病、心血管疾病等多种疾病的发生、发展密切相关,周伟民等^[10]研究表明乳腺癌患者血清中 MK 水平明显高于乳腺良性肿瘤患者,且与患者肿瘤直径、临床分期、淋巴结转移及预后复发明显相关。张席军等^[11]研究表明在伴随有肾脏损伤的糖尿病患者中 MK 的表达水平明显升高,其可能通过下调 caspase-3 的生物活性,进而抵抗成纤维细胞的凋亡,促进纤维化进程。

近年来,Gramage 等^[12,13]首次以斑马作为视网膜研究的动物模型对 MK 进行研究,结果显示脊椎动物的视网膜不同类型细胞中同样存在 MK 的表达,且当感光细胞诱导凋亡后,胶质细胞和感光细胞中 MK 出现表达上调,表明其在视网膜发育和再生中发挥重要作用;随后国内同样有研究指出 MK 与 DR 病程及严重程度呈正相关^[14,15]。本研究结果同样显示 MK 在 PDR 及 NPDR 中的表达水平均明显高于 NDR 组,是糖尿病患者 DR 发生的独立危险因素,其可能原因体

现在 MK 具有促进血管生成的作用,而 DR 发生的实质则是多种细胞因子功能参与下视网膜微血管病变及血管新生的过程,提示 MK 在 DR 发生中呈现高表达,与 DR 发生密切相关,可能在 DR 诊断中具有一定的参考价值。

TBIL 是具有抗性和微血管抗氧化特性的天然细胞保护剂,有研究显示 TBIL 的升高是 T2DM 病变进展的保护因素,而大量内源性氧自由基的产生会破坏抗氧化剂屏障,促进氧化应激反应,进而造成视网膜病理改变,引发 DR^[16,17]。伟伟等^[18]研究表明在 DR 患者中 TBIL 表达水平与 DR 严重程度呈负相关,在 PDR 中的表达量明显低于 NPDR,是 DR 发展的独立预测因素。Hamamoto 等^[19,20]研究指出,TBIL 能够通过氧化应激反应清除氧自由基、减轻机体细胞氧化损伤及血管内皮损伤,在阻止 DR 发生中发挥重要作用,血清 TBIL 水平下降是 T2DM 患者并发 DR 和 DN 的独立危险因素。冯静等研究表明,T2DM 组、NPDR 组及 PDR 组患者血清 TBIL 水平均明显低于正常对照组,而 PDR 组患者血清 TBIL 水平最明显低于 NPDR 组,组间比较差异均有统计学意义。本研究结果同样显示不同组间 TBIL 的水平比较差异有统计学意义,随着 DR 的加重,TBIL 水平逐渐下降,Pearson 分析同样显示 TBIL 与 DR 发生呈负相关,是 DR 发生的保护因素,与上述研究结果一致。本研究对 TBIL 和 MK 检测诊断 DR 的效能进行评价,结果显示两者在 DR 诊断中均具有较高特异性,其中两指标联合后敏感度明显高于各指标单独检测,ROC 曲线显示联合检测具有较高的诊断效能,与陈家欣等的研究观点一致。

综上所述,DR 患者中 MK 和 TBIL 的表达水平变化均与病情进展具有一定相关性,两者联合检测在 DR 诊断中具有较高的阳性预测值,本研究为 DR 的及早诊断及病情评估提供了新的参考,具有重要临床价值。

参考文献

- 柳林. 糖尿病性视网膜病变的早期诊断与药物治疗进展[J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2015, 14(1):1-3
- 梁辰, 施榕, 朱静芬, 等. 上海市浦东新区社区 2 型糖尿病患者糖尿病性视网膜病变的患病情况及影响因素调查[J]. 中国全科医学, 2016, 19(4):474-478
- Najam SS, Sun J, Zhang J, *et al.* Serum total bilirubin levels and prevalence of diabetic retinopathy in a Chinese population[J]. J Diabetes, 2014, 6(3):221-227
- 彭朝胜, 张文洛, 盛晓燕, 等. 初发 2 型糖尿病患者血清中期因子表达水平及其临床意义[J]. 现代医学, 2014, 9:1018-1021
- Kadomatsu K, Bencsik P, Görbe A, *et al.* Therapeutic potential of midkine in cardiovascular disease[J]. B J Pharmacol, 2014, 171(4):936-944
- 邹古明, 张念荣, 高红梅, 等. 2 型糖尿病肾病和糖尿病性视网膜病变的相关性研究[J]. 临床肾脏病杂志, 2015, 15(4):208-211
- Ola MS, Nawaz MI, Siddiquei MM, *et al.* Recent advances in understanding the biochemical and molecular mechanism of diabetic retinopathy. [J]. J Diabetes Complicat, 2015, 26(1):56-64
- 何淼. 糖尿病视网膜病变的动物模型及药理研究进展[J]. 中华实验眼科杂志, 2015, 33(1):87-92
- Song XJ, Muramatsu H, Aridome K, *et al.* The serum level of midkine, a heparin-binding growth factor, as a tumor marker[J]. Biomed Res, 2015, 18(5):375-381
- 周伟民, 钟婧, 闵丽娜, 等. 中期因子在乳腺癌患者血清中的表达及其临床意义[J]. 中华实验外科杂志, 2014, 31(1):146-148
- 张席军, 安文军. 中期因子及 CTGF 与糖尿病肾病患者纤维化相关因子关系探讨[J]. 昆明医科大学学报, 2015, 36(4):61-63
- Gramage E, Li J, Hitchcock P. The expression and function of midkine in the vertebrate retina[J]. B J Pharmacol, 2014, 171(4):913-923
- Gramage E, D'Cruz T, Taylor S, *et al.* Midkine - a protein localization in the developing and adult retina of the zebrafish and its function during photoreceptor regeneration. [J]. PLoS One, 2015, 10(3):e0121789
- 徐清田, 马宁, 成兴波. 血清中期因子水平与糖尿病视网膜病变的相关性研究[J]. 中华糖尿病杂志, 2015, 23(11):991-994
- Gluba A, Mikhailidis DP, Lip GY, *et al.* Metabolic syndrome and renal disease[J]. Int J Cardiol, 2013, 164(2):141-150
- 王保安, 汤敏. 2 型糖尿病患者血清胆红素、胆汁酸水平与糖尿病视网膜病变的关系研究[J]. 河北医药, 2017, 39(7):1041-1043
- 张丹, 刘馨悦, 刘波. 总胆红素水平在糖尿病视网膜病变早期诊断中的价值[J]. 中华糖尿病杂志, 2015, 23(11):995-997
- 伟伟, 路强. 血清胆红素和脂质过氧化物水平与 2 型糖尿病视网膜病变的相关性研究[J]. 内蒙古医科大学学报, 2015, 37(5):448-452
- Hamamoto S, Kaneto H, Kamei S, *et al.* Low bilirubin levels are an independent risk factor for diabetic retinopathy and nephropathy in Japanese patients with type 2 diabetes[J]. Diabetes Metab, 2015, 41(5):429-431
- Chan CH. The relationship among homocysteine, bilirubin, and diabetic retinopathy[J]. Diabetes Metab J, 2011, 35(6):595-601

(收稿日期:2017-06-15)

(修回日期:2017-06-21)