

肾小管标志物在慢性肾小球肾炎治疗前后变化的意义

解 冰, 江利萍(江苏省镇江市中西医结合肾脏病研究所 212028)

【摘要】 目的 通过测定肾小管标志物判断慢性肾小球肾炎(GN)患者的肾小管受损程度,以期探讨在不同疗效的患者治疗前后的意义。**方法** 应用放射免疫法测定白细胞介素-6(IL-6);免疫浊度法测定 α_1 -微球蛋白(α_1 -MG)、 β_2 -微球蛋白(β_2 -MG);ELISA 法测定纤维蛋白原降解产物(FDP);速率法测定 N-乙酰 β -D 氨基葡萄糖苷酶(NAG);物理法测定纯水清除率(CH_2O)。**结果** 在完全缓解的病例中 α_1 -MG、 β_2 -MG、FDP 等多种肾小管标志物经治疗后均下降($P < 0.05$),而 CH_2O 没有明显改变($P > 0.05$);在无效组中 IL-6、 α_1 -MG、FDP 下降不明显($P > 0.05$)。**结论** 通过监测多种肾小管标志物可以用于诊断和监测以及判断 GN 患者的疗效,对治疗起指导作用。

【关键词】 慢性肾炎; α_1 -微球蛋白; β_2 -微球蛋白; 纯水清除率; 白细胞介素-6

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.19.019 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)19-2436-02

Significance of change of renal tubule markers before and after treatment in chronic glomerulonephritis Xie Bing, JIANG Li-ping (Zhenjiang Nephrology Institute of Intergrated Traditional and Western Medicine, Zhenjiang, Jiangsu212028, China)

【Abstract】 Objective To evaluate the damage degree of renal tubule in the patients with chronic glomerulonephritis(GN) by detecting renal tubule markers and to investigate their significance before and after treatment in the patients with different therapeutic effects. **Methods** Interleukin-6(IL-6) was detected by RIA, α_1 -microglobulin(α_1 -MG) and β_2 -microglobulin(β_2 -MG) by the immune turbidity method, the fibrinogen degradation product(FDP) by ELISA, N-acetyl- β -D-glucosaminidase(NAG) by the rate method and CH_2O by the physical method respectively. **Results** α_1 -MG, β_2 -MG, FDP were significantly decreased after therapy in the cases of complete remission($P < 0.05$), but CH_2O had no obvious change($P > 0.05$). The decrease of IL-6, ET-1, α_1 -MG and FDP were not significant in the invalid group($P > 0.05$). **Conclusion** The determination of several renal tubule markers can diagnose, monitor and judge the therapeutic effects of GN and plays a guidance role in therapy.

【Key words】 chronic glomerulonephritis; α_1 -MG; β_2 -MG; CH_2O ; IL-6

目前有关肾小管-间质受损及炎症状态在肾小球疾病中的意义越来越受到重视,临床工作中也开展了许多肾小管标志物的检测。作者将几种不同功能作用的肾小管标志物联合起来测定,以期判断慢性肾小球肾炎的肾小管-间质的受损程度,并探讨其在治疗前后的意义,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 病例组:原发性慢性肾小球肾炎(GN)病例均来自本所 2009 年 1 月至 2011 年 8 月的病例共计 66 例,其中男 41 例、女 25 例,年龄 12~61 岁,平均(30.6±10.3)岁,病程 1 个月至 10 年,平均(20.1±23.4)个月。所有病例诊断均符合中国中西医结合学会肾脏病专业委员会 2003 年第七届全国学术会议制定的肾脏病诊断与治疗及疗效标准^[1],即:(1)长期持续性蛋白尿和(或)血尿;(2)有较长期高血压、轻度肾损害或(和)水肿;(3)肾功能损害缓慢地、不停顿地进行,晚期发展至肾衰竭;(4)双肾可对称性缩小;(5)排除继发性慢性肾炎综合征。排除标准:(1)合并其他严重慢性病(如心、脑血管病,阻塞性肺病,肝硬化等);(2)急、慢性传染病(包括肝炎、肺结核等);(3)中度以上肾功能衰竭($\text{Scr} \geq 265 \mu\text{mol/L}$);(4)妊娠和哺乳期妇女。

1.2 仪器与试剂 SN695-B 型 γ 计数仪(上海日环仪器一厂)、DMN-9602 酶标仪(北京普朗)、BS-88 冰点渗透压仪(上

海尉诚)、BS-200 全自动生化分析仪(深圳迈瑞)。

1.3 检测方法与试剂 白细胞介素-6(IL-6)采用放射免疫分析法(解放军总医院科技开发中心); α_1 -微球蛋白(α_1 -MG)采用免疫比浊法测定(宁波赛克); β_2 -微球蛋白(β_2 -MG)采用免疫比浊法测定(北京科美);纤维蛋白降解产物(FDP)采用 ELISA 测定(上海度生公司);N-乙酰 β -D 氨基葡萄糖苷酶(NAG)采用速率法测定(长春汇力生物技术有限公司)。上述项目的标本均为晨尿, -20℃ 保存,每 2 周测定一次。血 Cr 采用酶法测定(上海申索佑福);尿素氮(BUN)采用酶法测定;尿蛋白总量采用比色法(浙江康特生物技术有限公司)。治疗后的标本为治疗 1 个疗程(30 d)后收集的标本。纯水清除率(CH_2O)采用物理方法测定,血液为当天空腹不抗凝血,尿液留取方法为禁水 8 h 法,即 22:00 后禁水,至第 2 天 06:00 解尿弃去,计时至 07:00 解尿,全部收集起来并量取尿量,此为 1 h 整的尿液。测定血、尿渗透压,计算公式: $\text{CH}_2\text{O} = (1 - \text{尿渗透压} / \text{血渗透压}) \times \text{尿量}$,单位为 mL/h ^[2]。

1.4 疗效评定标准 (1)完全缓解:水肿,肾实质性高血压等症状与体征消失,尿蛋白持续阴性,尿红细胞持续阴性,尿蛋白定量小于 0.2 g/24 h,Scr 较基础值有下降。(2)基本缓解:症状、体征基本消失,尿蛋白持续减少超过 50%,尿红细胞正常,Scr 较基础值无变化或升高超过 50%。(3)有效:症状和体征

明显好转,尿蛋白减少超过 25%,Scr 较基础升高小于 100%。
(4)无效:临床症状和实验室检查无改善。

1.5 统计学分析 检测数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,治疗前后采用配对 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

根据疗效将 66 例患者分为 4 组,结果见表 1。治疗后各组从表 1 可见,各组治疗后 Cr 均有明显改善,且基本缓解组下降有明显差异;BUN 的效果不明显;尿蛋白均下降。但因为降尿蛋白的效果不同导致不同的疗效。从表 2 可见,完全缓解的病例在降 α_1 -MG、 β_2 -MG、FDP 的作用上均有一定的意义;NAG 在基本缓解、有效组治疗前后有明显差异;而 CH₂O 的改变只在无效组有明显差异,即对远曲肾小管的治疗有一定效果,其余的结果不一。

表 1 慢性肾小球肾炎不同疗效治疗前后的生化指标及肾功能结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	<i>n</i>	尿蛋白 (g/24h)	SCr (μ mol/L)	BUN (mmol/L)
完全缓解组	治疗前	22	1.45 $\pm$ 0.56	75.4 $\pm$ 26.6	4.29 $\pm$ 1.36
	治疗后	22	0.18 $\pm$ 0.05**	68.1 $\pm$ 19.0	4.24 $\pm$ 1.39
基本缓解组	治疗前	16	1.50 $\pm$ 0.76	88.5 $\pm$ 33.4	4.64 $\pm$ 1.61
	治疗后	16	0.56 $\pm$ 0.23**	76.7 $\pm$ 21.8*	5.54 $\pm$ 2.67
有效组	治疗前	16	1.95 $\pm$ 1.27	94.9 $\pm$ 29.6	5.79 $\pm$ 2.12
	治疗后	16	0.91 $\pm$ 0.48**	92.8 $\pm$ 33.5	4.98 $\pm$ 1.51
无效组	治疗前	12	1.90 $\pm$ 0.78	107.2 $\pm$ 50.9	5.79 $\pm$ 3.90
	治疗后	12	1.74 $\pm$ 0.82	103.7 $\pm$ 40.5	5.77 $\pm$ 3.12

注:与同一组治疗前相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

表 2 慢性肾小球肾炎不同疗效治疗前后的肾小管标志物的结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	<i>n</i>	α_1 -MG(mg/L)	β_2 -MG(mg/L)	NAG(U/L)	FDP(μ g/L)	IL-6(ng/L)	CH ₂ O(mL/h)
完全缓解组	治疗前	22	31.6 $\pm$ 18.0	0.51 $\pm$ 0.27	65.0 $\pm$ 38.1	331.2 $\pm$ 145.9	329.7 $\pm$ 173.6	-42.5 $\pm$ 28.3
	治疗后	22	20.5 $\pm$ 14.2*	0.35 $\pm$ 0.21*	51.4 $\pm$ 25.6	240.2 $\pm$ 130.3*	296.5 $\pm$ 241.5	-43.5 $\pm$ 27.6
基本缓解组	治疗前	16	39.8 $\pm$ 22.8	0.70 $\pm$ 0.41	48.2 $\pm$ 25.8	368.1 $\pm$ 228.2	363.5 $\pm$ 221.1	-40.5 $\pm$ 27.3
	治疗后	16	30.1 $\pm$ 21.2	0.41 $\pm$ 0.35*	30.2 $\pm$ 20.6*	340.6 $\pm$ 145.6	301.1 $\pm$ 211.4	-42.1 $\pm$ 24.6
有效组	治疗前	26	34.6 $\pm$ 23.6	0.53 $\pm$ 0.40	63.1 $\pm$ 18.4	280.3 $\pm$ 175.6	436.2 $\pm$ 193.2	-24.6 $\pm$ 16.1
	治疗后	26	31.0 $\pm$ 22.2	0.50 $\pm$ 0.38	47.5 $\pm$ 20.1*	320.6 $\pm$ 219.2	369.2 $\pm$ 203.2	-32.3 $\pm$ 17.8
无效组	治疗前	12	56.2 $\pm$ 36.1	1.45 $\pm$ 0.72	67.2 $\pm$ 16.9	584.1 $\pm$ 345.1	398.1 $\pm$ 212.3	-15.8 $\pm$ 12.9
	治疗后	12	47.3 $\pm$ 29.6	0.82 $\pm$ 0.59*	73.0 $\pm$ 29.7	516.9 $\pm$ 239.9	350.3 $\pm$ 280.5	-27.6 $\pm$ 14.5*

注:与同一组治疗前相比,* $P < 0.05$ 。

3 讨 论

肾小球疾病大多引起肾小管-间质的受损,通过监测肾小管相关的标志物,对治疗有着积极的意义^[3];慢性肾小球肾炎临床表现相同,但疗效差异很大,影响疗效的因素也较多。肾小管-间质损害对治疗的疗效有着极大的影响^[4]。 α_1 -MG、 β_2 -MG 是一类小分子蛋白,正常情况下在近端小管几乎全部重吸收,尿中含量甚微。NAG 是一种溶酶体酶,相对分子质量大,不能通过肾小球滤过膜,由近曲小管上皮细胞刷状缘合成并分泌,其在尿中增高反映了肾小管的结构损伤^[5]。在本组观察的病例中显示,只有完全缓解组的 α_1 -MG 治疗后下降有明显差异,而其余组均下降但无明显差异,并且以完全缓解组为最低,无效组为最高; β_2 -MG 治疗后在完全缓解、基本缓解组及无效组中呈明显差异,有效组无明显差异,治疗后以完全缓解组最低,无效组最高;NAG 治疗后均下降,完全缓解组治疗后没有明显差异,而基本缓解组治疗后下降有明显差异。FDP 是纤维蛋白的裂解产物,尿中 FDP 增加提示肾小球凝血、纤溶增加,反映肾小球病理损害较重,尿中 FDP 治疗后是完全缓解组最低且治疗前后有明显差异;无效组治疗后的结果仍较高,说明虽经抗凝治疗但肾小球内的凝血、纤溶仍存在,所以治疗效果不明显^[6]。肾脏局部的 IL-6 可能以自分泌和旁分泌的机制参与了肾脏疾病的病变进展,IL-6 可被肾小管重吸收、分解和排泄,尿中 IL-6 水平增高提示肾小管功能不全和肾小管周围炎症有关^[7]。治疗后各组 IL-6 均下降,但没有明显差异($P > 0.05$)。

CH₂O 是反映肾远曲小管功能的一个指标,表示单位时间内血浆经过肾脏被清除出来的纯水量,正常值为-25~-100 mL/h,平均(-51.3 $\pm$ 20.9) mL/h,如果数值接近于 0 表示肾浓缩和稀释功能均受损。有的文献中只作单一的尿渗压浓度而没有采用禁水法,从而影响因素较多^[2,8]。从本研究结果来看,只有有效组和无效组的 CH₂O 较高,远曲小管受损较重,治疗后下降,且无效组下降有明显差异($P < 0.05$),说明经对症治疗后远曲小管功能有所恢复,而完全缓解和基本缓解组远曲小管未受到明显损伤,所以治疗前后 CH₂O 变化不大。

总之,作者认为通过联合检测多种肾小管标志物对慢性肾小球患者的肾小管功能、结构及炎症状态有一个较为直观的观察指标,通过分析各指标可以对临床治疗、疾病的预后、疗效有一总体了解,从而在治疗过程中更好地发挥监测作用。

参考文献

[1] 叶任高,陈裕盛,方敬爱.肾脏病诊断与治疗及疗效标准专题讨论纪要[J].中国中西医结合肾病杂志,2003,4(5):249-251.
[2] 钱柯荪.肾脏病学[M].2版.南京:江苏科学技术出版社,1990:82.
[3] 林善琰.当代肾脏病学[M].上海:上海科技出版社,2001:484.
[4] 彭晖,余学清,娄探奇,等.不同类型肾(下转第 2439 页)

离群值的检验,不采用有明显人为误差的结果,要求 $r \geq 0.975$ 或 $r^2 \geq 0.95$ 。

2 结 果

2.1 进行直线相关和回归的离群值检验后的拟合曲线 见图 1。

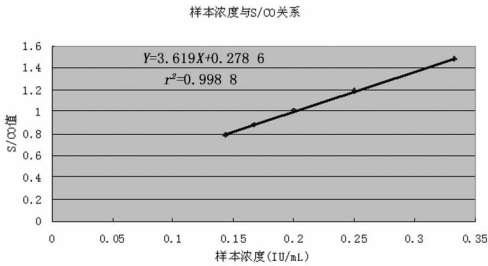


图 1 样本浓度与 20 次测定均值(S/CO)的关系

2.2 临界值浓度样本和±20%临界值浓度样本的测定结果见表 1。

表 1 临界值浓度样本和±20%临界值浓度样本的测定结果

项目	临界值浓度样本	-20%临界值 浓度样本	+20%临界值 浓度样本
阴性(次)	21	19	0
阳性(次)	19	1	20
合计	40	20	20

3 讨 论

HBsAg 作为 HBV 感染机体的重要检测指标,对诊断是否患有乙型肝炎具有重要的意义。但由于定性检测的特殊性(影响因素众多)^[2]和操作程序的难以完全标准化,致使其定性检测的实验室内、实验室内批间的可比性差。浓度为 1 ng/mL 的 HBsAg 室间质评物不同实验室检出符合率甚至不到 70%^[3],这给临床判断带来了困难。

为实现 HBV 标志物检测的标准化,厂家作出了一定的说明,各个实验室也建立了针对自己实验室的标准化操作程序,但面对定性检测的极不稳定性,如何实现同一检测系统不同测定批次间的可比性,即定性检测的良好重复性,是一个迫切的现实问题。

NCCLS 的《EP12-12A 文件》对实验室如何对定性试验进行重复性评估给出了说明,本实验室选取具有重要意义的 Hb-sAg 进行重复性试验的探讨,用以评估本实验室检测系统定性检测 HBsAg 的重复性。

临界值作为定性试验的重要判断依据,在定性试验中扮演着重要的角色。对于试剂生产商提供的临界值可以通过一定

的方法加以评估^[4],本文不再另外说明。本试验直接采用试剂生产商提供的临界值作为判断标准。在定性试验重复性的评估中,对临界值样本的验证是至关重要的。在室内质控稳定,批间变异(CV%)在 15%左右的情况下根据拟合曲线得出的临界值是可信的^[4],即此临界值样本的无限次测定应该有 50%为阴性、50%为阳性^[5];但对其验证仍是不可忽略的,测定的总次数不应少于 20 次,测定次数越多所得的结果越具代表性。考虑到试验的可操作性,本试验对临界值样本验证的次数设定为 40 次。在临界值样本测定中有 21 次被判断为阴性,而阴性结果中最大 S/CO 为 0.99,出现阴性与阳性不完全相等的情况可能与检测次数不够多有关。

表 1 表明本实验室在检测±20%临界值浓度以外的样本时,可以得到 95%的可信度^[6],满足 EP12-12A 文件^[6]对实验室定性检测重复性的要求。而±20%临界值浓度范围内的标本可以通过间隔一定时间后重新采集患者标本复查的办法或多种方法联合检测加以确认^[7]。

由于定性检测影响因素较多,如人员、试剂、样本、加样、温育、洗板、显色和比色等,这些均可影响检测的准确性。因此,实验室在加强对实验室环境、设施和设备监测的同时,还应建立针对本实验室的标准化操作程序,强化对人员的培训,摸索出不同检测系统常规室内质控的监测方法。积极参加卫生部和省临床检验中心的室间质评,以确保本实验室检测结果的可靠性,为临床判断提供更具可信度的依据。

参考文献

[1] 李国辉. 乙型肝炎病毒标志物检测存放时间的对比分析[J]. 检验医学与临床, 2008, 5(24): 1534-1535.
[2] 饶月丽, 张伟强, 邹丽娜. 酶联免疫吸附试验室内质控影响因素的分析[J]. 临床血液学杂志, 2009, 22(12): 685-686.
[3] 蒋涛, 邹伟民. 广东省临床免疫学检验质量控制情况报告[J]. 广西医学, 2006, 28(5): 678-680.
[4] 李金明. 临床酶免疫测定技术[M]. 北京: 人民军医出版社, 2005: 100-105, 168.
[5] 杨有业, 张秀明. 临床检验方法学评价[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 300-301.
[6] CLSI. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline, EP12-2A[S]. 2nd ed. Wayne, PA: CLSI, 2002: 1-16.
[7] 汤春园, 廖东铮, 李山, 等. HBsAg 低值弱阳性的临床探讨[J]. 广西医学, 2008, 30(4): 476-478.

(收稿日期: 2012-02-29)

(上接第 2437 页)

病患者尿蛋白成分与肾脏病理类型的关系[J]. 中华肾脏病杂志, 2006, 22(5): 271-274.
[5] 王瑞石, 刘志红, 尹茹, 等. 肾小管损伤标志物检测的临床意义及影响因素[J]. 肾脏病学与透析移植杂志, 2005, 14(2): 110-116.
[6] 刘海英, 姜林芳, 郝风珍. 慢性肾病血栓前状态的临床研究状况[J]. 中国中医药科技, 2006, 13(3): 208-209.

[7] Nakamura A, Suzuki T, Kohsaka T. Renal tubular function modulates urinary levels of interleukin-6[J]. Nephron, 1995, 70: 416-421.
[8] 梁永正, 史伟, 刘双信, 等. 肾小管功能检测在 Ig 肾病中的临床意义[J]. 黑龙江医学, 2004, 24(1): 15-17.

(收稿日期: 2012-03-06)