

一。

4 BMP-4 与神经系统遗传性疾病

肠神经系统(enteric nervous system,ENS)是最大的外周神经系统,它的异常可引起很多先天性疾病,如先天性巨结肠及巨结肠炎缘病,目前研究表明先天性肛门、直肠畸形患儿的肠神经系统发育也存在异常^[14]。郭振华等^[15]通过下调目的基因 BMP-2b 和 BMP-4 在斑马鱼胚胎发育期各个时间段的表达,发现 BMP-2b 和 BMP-4 表达抑制组的肠神经元在肠道的分布率明显低于正常组,该实验证实了 BMP-4 和 BMP-2b 对斑马鱼肠神经系统发育的重要作用。先天性肛门、直肠畸形是胚胎期后直肠末端发育异常的一类疾病的总称,病变涉及肛门、直肠、尿道及外生殖器,是小儿最常见的消化道畸形。近年来研究发现,Shh/BMP-4 信号在高等脊椎动物的胚胎发育中具有非常重要的作用,它参与多种组织结构的形成。张娟^[15]通过动物实验和人体标本实验研究肛门、直肠畸形的演变与 Shh/BMP-4 表达的关系,表明: BMP-4 表达水平下降,可能是导致肛门、直肠畸形发生的重要因素之一;同时,健康人的肛门、直肠的生长发育需要 Shh/BMP-4 信号的调节。先天性肛门、直肠畸形的发生与 BMP-4 表达的紊乱有着密切的关系^[16]。

5 小 结

BMP-4 作为全身系统生长、发育涉及面最广的基因之一,与多种遗传性疾病有着密切的联系。它的分子结构、作用原理和在多种疾病中的调控机制均已研究得比较透彻,但 BMP-4 在遗传性疾病中的研究还处于起步阶段,虽然多种遗传性疾病的发生都与 BMP-4 的表达异常有着密切的联系,然而 BMP-4 是否为引起该遗传性疾病的决定性因子还有待进一步证实。同时,BMP-4 在遗传性疾病中的分子调控机制和信号传导机制都还需要进一步研究。

参考文献

[1] Ozkaynak, Rueger DC, Drier EA, et al. OP-1 cDNA encodes an osteogenic protein in the TGF-β family[J]. EMBOJ, 1990, 9(7): 2085-2093.
[2] 张虎林, 陈玉琴, 俞诗源. 骨形态蛋白 4 研究进展[J]. 解剖学杂志, 2007, 30(6): 810-813.
[3] Shimisaki S, Moore RK, Otsuka F, et al. The bone morphogenetic protein system in mammalian reproduction[J]. Endocr Rev, 2004, 25: 72-101.

[4] Paulson RF, Shi L, Wu DC. Stress erythropoiesis: new signals and new stress progenitor cells[J]. Curr Opin Hematol, 2011, 18(3): 139-145.
[5] 王柠, 陈万金, 林宇. 我国神经系统遗传性疾病的研究现状及展望[J]. 中国现代神经疾病杂志, 2008, 8(1): 95-98.
[6] Cruz RM, Krieger H, Ferreira R, et al. Major gene and multifactorial inheritance of mandibular prognathism[J]. Am J Med Genet, 2008, 146: 71-77.
[7] 陈允嘉. 安氏Ⅱ类错殆家庭聚集性与遗传度研究[J]. 重庆医学, 2011, 40(9): 838-839.
[8] Liu W, Selever J, Murali D, et al. Threshold-specific requirements for BMP-4 in mandibular development[J]. Dev Biol, 2005, 283(2): 282-293.
[9] 罗应伟, 李松, 沈丽宁. BMP-4 mRNA 在 Meckel's 软骨中的表达及意义[J]. 昆明医学院口腔学院, 2004, 25(3): 9-12.
[10] Gannon FH, Kaplan FS, Olmsted E, et al. Bone morphogenetic protein 2/4 in early fibromatous lesions of fibrodysplasia ossificans progressiva[J]. Hum Pathol, 1997, 28(3): 339-343.
[11] Lanchoney TF, Olmsted EA, Shore EM, et al. Characterization of BMP-4 receptor in fibrodysplasia ossificans progressiva[J]. Clin Orthop, 1998, 346: 38-45.
[12] Frederick S, Jennifer L, Lourdes S, et al. Dysregulation of BMP-4 receptor trafficking and signaling in fibrodysplasia ossificans progressiva[J]. Clin Reviews in Bone and Mineral Metabolism, 2006, 3(4): 217-223.
[13] 崔赓, 雷伟, 马平, 等. BMP、IL-1、IL-6、TNF-α 在先天性胫骨假关节中的表达[J]. 中华骨科杂志, 2001, 21(2): 111-114.
[14] 张燕敏. BMP-2, 4 在肠神经系统中的表达与分布[J]. 安徽医科大学学报, 2008, 43(4): 385-387.
[15] 张娟. Shh/BMP-4 信号在先天性肛门直肠畸形中表达的研究[J]. 中华小儿外科杂志, 2008, 29(6): 335-337.
[16] 陈琦, 丁娜, 张振武, 等. 先天性肠闭锁近端肠壁组织中成纤维细胞生长因子 10 和骨形成蛋白 4 的表达[J]. 郑州大学学报: 医学版, 2010, 43(3): 290-292.

(收稿日期: 2011-10-07)

糖尿病肾病早期诊断的研究进展

刘 波 综述, 孙式妍 审校(天津市第二医院 300000)

【关键词】 糖尿病肾病; 糖尿病; C 反应蛋白

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2012. 06. 038 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)06-0711-04

糖尿病(DM)是一种严重危害人体健康的慢性代谢性疾病,随着社会的发展,人民生活水平的不断提高,生活模式的现代化及社会老龄化,无论发达国家还是发展中国家,糖尿病的发病率正在逐年增加。据世界卫生组织统计,全球糖尿病患者已超过 1.5 亿,我国糖尿病患者也在逐年增加。2003 年卫生部疾病控制司统计,目前我国糖尿病患者数高达 400 万,预计 2015 年将达到 600 万^[1]。随着糖尿病患者数的增加,相应的

各种并发症也在增加,其中并发糖尿病肾病(DN)的约占 20%~30%。糖尿病患者并发 DN 的病死率是未并发肾病者的 30 倍,一旦发生临床 DN,则缺乏有效方法制止其发展,故早期诊断对 DN 的防治和预后尤为重要。因此,DN 的早期诊断意义重大,现将 DN 早期诊断指标综述如下。

1 血液中的指标

1.1 C 反应蛋白(CRP) CRP 作为参与炎症或急性反应的

主要蛋白,CRP 可以激活血管内皮细胞及促进炎症因子,如白细胞介素-8(IL-8)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、纤溶酶原激活物抑制剂-1(PAI-1)、转化生长因子- β (TGF- β)等,CRP 的升高反映了血管内皮功能障碍,从而促进动脉硬化;DN 为糖尿病的微血管并发症,其蛋白尿的出现,反映了血管内皮功能紊乱及损伤;另外 CRP 可使出球小动脉收缩,加重肾小球高灌注状态,引起肾脏损伤;炎症状态使低密度脂蛋白(LDL)易氧化成氧化型 LDL,高水平的氧化型 LDL 有细胞毒作用,可损害肾小球小动脉血管内皮细胞和平滑肌细胞,造成清蛋白尿的进一步加重。糖尿病是一种微炎症性疾病,其微炎症状态参与了微血管病变的发生、发展。邱宏^[2]研究显示:CRP 作为一种主要的炎症因子,在尿清蛋白排泄率逐渐升高的各组 DN 患者中逐渐升高,血清 CRP 水平与 DN 的发生、发展密切相关。故血清 CRP 水平可作为 DN 发生的早期预测指标之一。

1.2 铜兰蛋白(Cp) Cp 是肝脏转运铜的主要载体,也是一种急性期反应蛋白,健康人尿中排出量很少,不随年龄、性别变化而变化。糖尿病患者血清 Cp 与健康人相比显著增高,其中有清蛋白尿患者血清 Cp 增高比无清蛋白尿的患者更明显,且差异有统计学意义,故测定血清 Cp 可预测早期 DN。Narita 等^[3]研究显示:在 2 型糖尿病患者中,尿免疫球蛋白 G(IgG)、Cp 与微量清蛋白尿呈正相关。

1.3 糖基化终产物(AGEs) AGEs 通过 AGEs 受体介导机制和破坏细胞外基质的完整性而产生的活性氧簇(ROS)参与了 DN 的病理过程。当肾脏功能减弱时,糖尿病患者的 AGEs 循环水平升高^[4]。AGEs 在组织中的积累也引起组织损伤特别是肾小球病变。在 DN 发病早期,过量的戊糖苷和羧甲基赖氨酸(CML)会引起肾小球系膜面积增大及肾小管血管壁增厚。体外实验证明,AGEs 增加了转化生长因子-1(TGF-1)肾小球内皮系膜细胞的胞外基质的表达,继而引起血糖升高。AGEs 激活细胞外信号调节激酶(ERK)和活化核因子(NF- κ B)通路,引起炎症反应及组织损伤。Thomas 等^[5]研究显示:在糖尿病患者中,血 AGEs 显著增加,且与 GFR 呈正相关。

1.4 胱抑素 C(CysC) CysC 是近年来引起人们重视的一项指标,由体内所有有核细胞产生,在组织中产生的速度恒定,由于其相对分子质量小,在生理 pH 环境中带正电荷,因此能够自由通过肾小球滤过,并在近曲小管中几乎全部被吸收和降解,并不重新回到血液中,同时肾小管也不分泌 CysC^[6]。当肾小球出现轻微损伤时,血中 CysC 浓度即可出现升高,并随着病情的加重而逐渐升高,所以,CysC 被公认为是反映早期肾损伤的敏感标志物之一。刘明旭等^[7]研究显示血清 CysC 与尿微量清蛋白(mAlb)一样,是诊断糖尿病早期肾损伤的有效指标,具有重要临床价值。

1.5 血中微量元素水平 大量研究显示,DM 患者体内微量元素水平已经发生了变化,且血中微量元素水平的变化是 DN 发生、发展的重要因素。血清锌、锰、铬水平明显降低,尿中明显增高,且不受性别影响;血清铜、铁水平无明显变化。但由于人体微量元素水平影响因素众多,应当全面考虑。Kazi 等^[8]研究显示,DM 患者与健康对照相比,血清锌、锰、铬水平明显降低,尿中明显增高,且不受性别影响;血清铜、铁水平无明显变化。

2 尿液中的指标

2.1 mAlb 在生理状态下由于分子筛屏障和电荷屏障的作用,相对分子质量为 69×10^3 并带有负电荷的清蛋白基本不能通过肾小球而滤过屏障。一旦肾小球的完整性受到损害,清蛋

白漏出增加,超过了肾小管的重吸收阈值,尿中清蛋白即增加,而出现清蛋白高于正常,但常规方法无法检出尿清蛋白。过去的 10 年已经明确认识到尿 mAlb 阳性是血管损伤的早期标志,与糖尿病的预后有密切关系。因此,糖尿病患者尿 mAlb 增高是发生糖尿病并发症的早期指标,对预测糖尿病并发症的发生有重要参考价值。尿 mAlb 持续增高的患者最终会发生 DN。梅序桥等^[9]研究发现尿 mAlb 对糖尿病肾损伤的早期诊断有非常重要的临床参考价值,可结合空腹血糖作为 DN 早期诊断指标。

2.2 N-乙酰- β -D-葡萄糖苷酶(N-acetyl- β -D-glucosaminidase,NAG) 尿酶是肾脏受损和病变活动的临床指标,尤其在肾小管损伤时,尿酶可明显增高。NAG 是人体内重要的溶酶体水解酶,主要存在于近曲小管和泌尿道上皮的溶酶体中。当 DN 患者出现肾小管上皮细胞损害时,NAG 随细胞破坏而脱落,导致尿中 NAG 含量明显增加。因此,尿 NAG 是反映早期 DN 患者肾小管上皮细胞损伤的可靠指标之一。据报道^[10],各种继发性慢性肾病出现早期肾小管损伤时,如各种重金属、某些药物等引起的肾小管毒性损害,另外,出血、休克、缺氧、严重烧伤等均可引起尿 NAG 增加;而一些以肾小管损害为主的先天性肾病,如 Fanconi 综合征、Lowe 综合征、两侧肾发育不良等,尿 NAG 均在正常范围;在一些慢性肾小球肾炎、肾病综合征患者中,尿 NAG 会明显增高,但是随着病情的缓解,NAG 也随着下降,因此,尿 NAG 可以作为临床动态观察患者病情变化的一项可靠指标。陈宁安和刘运河^[11]研究显示在 DN 和高血压肾病早期,尿 NAG 和 mAlb 排泄率明显增高,联合 CRP 同时监测,可以大大提高肾损害的早期诊断率。

2.3 免疫球蛋白 G(IgG) 尿 IgG 是血浆大分子免疫球蛋白的亚类之一,它在尿液中出现意味着肾小球基膜上滤孔孔径的改变,检测尿液 IgG 水平可以协助早期 DN 的诊断。王芳和刘春艳^[12]研究显示:糖化血红蛋白(HbA1c)与空腹血糖(FBG)、IgG、mAlb 联合检测对监测 DN 的发生和发展具有重要的临床意义。

2.4 转铁蛋白(Tf) Tf 主要由肝细胞合成,与 mAlb 相对分子质量相近但其所带负电荷较 mAlb 少,更易通过带负电荷的肾小球滤过屏障,因此尿 Tf 作为肾小球滤过功能不全的敏感指标,其升高更能反映肾小球滤过膜及机械屏障的损伤。微量 Tf 较尿微量清蛋白出现更早,其早期变化较尿清蛋白更敏感和更显著,且与糖尿病视网膜病变及高血压密切相关,可为反映微血管病变的敏感指标。胡俊等^[13]研究显示尿 Tf 更敏感地反映糖尿病早期肾损害。常规尿蛋白定性阴性时,已经出现了尿 Tf 的升高,提示糖尿病患者肾小球已经受损,并随着尿蛋白阳性的出现,尿 Tf 显著升高。

2.5 α_1 -微球蛋白(α_1 -MG) α_1 -MG 是肝细胞和淋巴细胞产生的糖蛋白,相对分子质量 $(26 \sim 33) \times 10^3$,由于该蛋白的产生较恒定,较容易透过肾小球滤过膜,原尿中的绝大部分被肾小管重吸收、降解。尿 α_1 -MG 增高与肾小球通透性或肾小管重吸收改变有关,而肾小管对 α_1 -MG 重吸收障碍先于 β_2 -MG。尿 α_1 -MG 比 β_2 -MG 更能反映肾脏早期病变, α_1 -MG 是肾小球与肾小管早期损害的灵敏指标。Jiang 等^[14]研究显示:尿 α_1 -MG 的排泄率在 DN 早期即开始增加,且随着 DN 病程的进展而增加,是 DN 的独立危险因素,还与尿清蛋白排泄率、血肌酐、C 反应蛋白呈正相关。

2.6 β_2 -微量蛋白(β_2 -MG) β_2 -MG 是一种小分子蛋白质,相对分子质量为 11.8×10^3 ,存在于除成熟红细胞和胎盘滋养细

胞以外的所有有核细胞表面,少量游离于血浆,主要由淋巴细胞产生。它由于相对分子质量小,进入血液循环的可从肾小球自由滤过,约 99.9% 被近端小管重吸收。经肾小管上皮细胞饮作用即溶酶体内分解成氨基酸,仅 0.1% 从尿中排出, β_2 -MG 几乎全部在肾脏进行代谢,而不能从原尿重吸收入血。肾病患者 β_2 -MG 的合成速度比健康人高 4 ~ 7 倍。尿 β_2 -MG 增多是体内 β_2 -MG 合成增多,超过肾小管重吸收能力,则尿中 β_2 -MG 排出量增高。用尿 β_2 -MG 评价肾功能时应排除引起血 β_2 -MG 增高的疾病,若血 β_2 -MG 正常而尿 β_2 -MG 增高,表明近端小管受损,近端小管是 β_2 -MG 在体内处理的惟一场所,当近端小管轻度受损时,尿 β_2 -MG 明显增高,且与肾小管重吸收率呈正相关。韩玲^[15] 研究显示测定尿 β_2 -MG 是诊断近端小管损伤敏感而特异的方法。

2.7 TH 糖蛋白(THP) THP 是仅由肾小管髓祥厚壁升支及远曲小管细胞合成和分泌的一种特异性糖蛋白,在该部位肾小管腔面形成覆盖层,阻止水的重吸收而参与原尿稀释功能。THP 正常排泄量为 (39±13)mg/24 h,当肾小管受损时,THP 发生明显变化。THP 为远端肾小管损伤标志物,提示各种原因致远端肾小管病变,如上尿路梗阻、炎症、感染、DN、药物和铜、镉中毒等所致的肾小管-间质性炎,均可使 THP 升高。Sejdiu 和 Torffvit^[16] 前瞻性研究显示:在 1 型糖尿病患者中,随着尿中 THP 的减少,患尿毒症及发生心血管猝死事件的风险增加 8 倍,而在 2 型糖尿病患者中情况更加糟糕。

2.8 肾小球滤过率(GFR)测定 肾小球的主要功能是滤过,评估滤过功能最主要的参数是 GFR。张丽等^[17] 研究显示 GFR 能够反映 DN 早期高滤过,且能反映肾脏损伤的程度,尿清蛋白(UA1b)/尿肌酐(UCr)比值较 24 h UA1b 测定能够更早、更灵敏地反映早期糖尿病肾损害,对 DN 的早期诊断、治疗、预后判断有一定的临床价值。

2.9 视黄醇结合蛋白(RBP) 尿 RBP 排出量与早期肾小管间质损害程度明显相关,其性质稳定,不受性别、体位等因素影响,可作为监测病程、指导治疗和预后判断的一项灵敏的生化指标。梁卫华等^[18] 研究显示随着尿清蛋白排出量(UAE)的增加,CysC、RBP 与血浆 HbA1c 三者均有不同程度的增加,提示在糖尿病早期就会出现肾小球、肾小管损伤,且随着病情的发展而加重,即随 2 型糖尿病肾损伤的严重程度增加。

3 其 他

3.1 彩色多普勒超声检查 由于在糖尿病分期的 I ~ II 期均有肾脏增大,且呈渐进趋势,故可以判断肾脏增大较尿微量蛋白出现早。而且糖尿病可致肾血管损害继而导致肾内血流动力学改变,在 DN 发病中有重要作用。刘慧铃等^[19] 研究显示,搏动指数(PI)、阻力指数(RI)、舒张末期流速(VD)、平均流速(VM)及肾脏体积改变等指标均是超声对 DN 早期诊断的有价值的参考指标,对临床监测治疗、评估预后有重要价值。彩色多普勒检测已成为临床早期诊断 DN 简单、易行、无创、可重复检测的手段。但其结果易受检测者水平等影响,客观性略差。

3.2 肾活检 肾脏穿刺活检是公认的明确肾脏病变的金指标。但因为肾活检为有创性检查,在临床使用上受到一定限制。大约 30% 糖尿病患者有原发性肾脏疾病,因此鉴别诊断非常重要。对于有蛋白尿的患者来说,若病程小于 5 年且未发现有糖尿病视网膜病变时可考虑肾活检排除原发性肾病。Heine 等^[20] 研究显示:由于 DN 中也有小部分患者表现为血尿,故对于有血尿的患者,显微镜下观察尿中红细胞形态,如果

变形红细胞大于 5% 可考虑做肾活检明确诊断。

3.3 基因诊断 DN 的基因易感性近年成为研究的热点,基因诊断将来可能成为 DN 早期诊断的重要指标。Granier 等^[21] 研究发现,在染色体的 3q、7p 和 18q 臂上有 DN 易感基因位点。果糖-6-磷酸-氨基转移酶(GFPT)是氨基己糖合成的限速酶,由同源的 GFPT 和 GFPT2 基因编码,Zhang 等^[22] 研究显示,DN 与 GFPT2 的突变高度相关。

4 总 结

DN 早期诊断的指标比较多,但到目前为止仍没有一个可靠的早期诊断指标,多种指标联合检测可提高诊断的准确性。

参考文献

- [1] 程苏琴,朱美财.尿微量蛋白在糖尿病肾损伤早期诊断中的价值[J].中华检验医学杂志,2005,28(7):740-741.
- [2] 邱宏.各期糖尿病肾病患者血清 CRP 水平分析[J].中国误诊学杂志,2010,10(7):1540.
- [3] Narita T, Hosoba M, Kakei M, et al. Increased urinary excretions of immunoglobulin G, ceruloplasmin, and transferrin predict development of microalbuminuria in patients with type 2 diabetes[J]. Diabetes Care, 2006, 29(1):142-144.
- [4] Dattilo BM, Fritz G, Leclerc E, et al. The extracellular region of the receptor for advanced glycation end products is composed of two in-dependent structural units[J]. Biochemistry, 2007, 46(23):6957-6970.
- [5] Thomas MC, Tsalamandris C, Macisaac R, et al. Low -molecular -weight AGEs are associated with GFR and anemia in patients with type 2 diabetes [J]. Kidney Int, 2004, 66:1167 -1172.
- [6] 刘广勤,陈尧,张欣松.糖尿病肾病血清胱抑素 C 和尿微量清蛋白的检测分析[J].中国误诊学杂志,2008,8(8):1805-1806.
- [7] 刘明旭,孙才,包颖.糖尿病肾病患者血清胱抑素 C 和尿微量清蛋白的测定[J].中国误诊学杂志,2010,10(6):1287.
- [8] Kazi TG, Afridi HI, Kazi N, et al. Copper, chromium, manganese, iron, nickel, and zinc levels in biological samples of diabetes mellitus patients[J]. Biol Trace Elem Res, 2008, 122(1):1-18.
- [9] 梅序桥,王小婷,周艳贞,等.尿微量清蛋白与空腹血糖在糖尿病肾病检测中的意义[J].检验医学与临床,2010,7(9):850-851.
- [10] 叶任高,许韩师.尿溶菌酶和 N-乙酰 β -氨基葡萄糖苷酶测定对肾小管间质病变的诊断价值[J].中国实用内科杂志,1999,19(4):198-199.
- [11] 陈宁安,刘运河.糖尿病和高血压早期损害检测[J].国外医学:泌尿系统分册,2010,11(21):1990.
- [12] 王芳,刘春艳.糖尿病肾病检验指标的临分析[J].青海医药杂志,2010,40(8):63-64.
- [13] 胡俊,傅冬梅,王冬.4 种尿微量蛋白测定在糖尿病肾病早期诊断的应用[J].实用医技杂志,2010,17(2):137-138.
- [14] Jiang H, Guan G, Zhang R, et al. Increased urinary excretion of orosomucoid is a risk predictor of diabetic nephropathy

athy[J]. *Nephrology* (Carlton), 2009, 14 (3): 332-337.

[15] 韩玲. 糖尿病肾病患者肾脏早期损害指标的探讨[J]. 现代中西医结合杂志. 2009, 18(4): 32-34.

[16] Sejdiu I, Torffvit O. Decreased urinary concentration of Tamm Horsfall protein is associated with development of renal failure and cardiovascular death within 20 years in type 1 but not in type 2 diabetic patients[J]. *Scand J Urol Nephrol*, 2008, 42(2): 168-174.

[17] 张丽, 李素梅, 章容, 等. DM2 患者 GFR、尿 Alb 和尿 Alb/尿 Cr 测定及其临床意义[J]. 放射免疫学杂志, 2010, 23(2): 127-130.

[18] 梁卫华, 崔幸琨, 杨宝财, 等. HbA1c、sCysC 和 nRBP 联合检测在 2 型糖尿病早期肾损伤中的临床研究[J]. 河北医药, 2010, 32(2): 232-233.

[19] 刘惠玲, 江怡, 陈菊萍, 等. 彩色多普勒超声诊断早期糖尿病肾病临床价值的研究[J]. 上海医学影像, 2006, 15 (4): 322-324.

[20] Heine GH, Sester U, Girndt M, et al. Acanthocytes in the urine: useful tool to differentiate diabetic nephropathy from glomerulone phritis[J]. *Dbetes Care*, 2004, 27: 190-194.

[21] Granier C, Makni K, Molina L, et al. Gene and protein markers of diabetic nephropathy[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2008, 23(3): 792-799.

[22] Zhang H, Jia Y, Cooper JJ, et al. Common variants in glutamine: fructose-6 -phosphate amidotransferase 2 (GFPT2) gene are associated with type 2 diabetes, diabetic nephropathy and increased GFPT2 mRNA levels [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89: 748-755.

(收稿日期: 2011-09-16)

糖化血红蛋白的检测技术与临床应用进展

严芝光 综述, 钟 东 审校(广西壮族自治区防城港市第一人民医院 538021)

【关键词】 糖化血红蛋白; 检验; 糖化血红蛋白
DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2012. 06. 039 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)06-0714-03

正常血红蛋白有 3 种: 血红蛋白 A(HbA), 血红蛋白 F(HbF), 血红蛋白 A2(HbA2), 成人红细胞中主要含有 HbA。在用层析法分离血红蛋白时, 可洗脱出 3 种含糖成分: HbA1a、HbA1b 和 HbA1c 合称为糖化血红蛋白(GHb) [1]。糖化血红蛋白(HbA1c)是血液中红细胞内血红蛋白与血糖结合的产物。HbA1c 检测用于常规实验室始于 20 世纪 70 年代末期, 且稳定发展至今, 检测 HbA1c 是了解糖尿病控制良好与否的重要指标, 现在国外已将糖化血红蛋白监测作为糖尿病疗效判定和调整治疗方案的“金指标”; 近年有许多报道表明, HbA1c 在冠心病、心肌梗死、脑梗死等疾病的诊治方面有很重要的临床价值。本文就 HbA1c 的检测技术及临床应用进展进行综述。

1 糖化血红蛋白(HbA1c)的定义及生物学特征

国际临床化学协会(IFCC)定义: HbA1c 化学结构通常为具有一个特定六肽的血红蛋白分子, 是葡萄糖和血红蛋白 β 链 N 末端缬氨酸(Val) (βN-1-去氧果糖基血红蛋白)的一个稳定加合物。因为 HbA1c 与红细胞的生存期有关, 其合成速率与平均 120 d 生命周期的红细胞糖化量呈正比函数关系, 临床上 HbA1c 代表了最近 2~3 月平均血糖的控制水平。血红蛋白四聚体 β 链的 N 端缬氨酸是最常见的糖基化位点, 占 HbA1 的 80%。其余的 GHb 是 α 链 N 端的 44 个氨基酸(赖氨酸的 ε-氨基基团)中的 1 个与葡萄糖、葡萄糖-6 磷酸、果糖-1,6-二磷酸或丙酮酸结合形成。现有的各种检测方法根据可捕捉的物质不同, 其被测量也不同; 检测 GHb 的商品化方法都可检测 HbA1c, 但对非 HbA1c 的 GHb 的检测却有很大区别。

2 HbA1c 检测方法和性能评价

2.1 离子交换层析法 [2-4] 检测原理: 由于血红蛋白 β 链 N 末端缬氨酸糖化后所带电荷不同, 在偏酸溶液中总糖化血红蛋白(GHb)及 HbA 均具有阳离子的特性, 因此经过阳离子交换层析柱时可被偏酸的缓冲液平衡过的树脂来吸附, 但二者吸附率不同; GHb 正电荷较少吸附率较低, HbA 正电荷较多吸附

率较高。用不同 pH 的磷酸盐缓冲液可以分次洗脱出 GHb 和 HbA, 得到相应的 Hb 层析谱, 其横坐标是时间, 纵坐标是百分比, HbA1c 值以百分率来表示。该方法大部分都用全自动测定仪测定, 如日本 TOSOH 公司生产的全自动糖化血红蛋白分析仪 HLC-723G7, 其离子交换 HPLC 法是 HbA1c 检测的金标准。是目前测试 GHb 精密度、准确性最高的方法。国内主要采用 Bio-Rex70 阳离子树脂微柱层析法, 其微柱可重复使用多次。

2.2 手工微柱法 [5] 采用微柱法离子交换层析和梯度洗脱技术可全自动分离血红蛋白的变异体与亚型, 除可测定糖化血红蛋白外, 还可同时检测出血红蛋白 S(HbS)与血红蛋白 C(HbC)的存在与否, 在计算糖化血红蛋白值时会自动扣除变异体产生的影响, 从而使结果更为准确、可靠, 变异系数(CV) < 2%。层析柱价格也较为低廉, 适合标本较多的医院检测, 但由于手工操作层析时间和微柱的质量不易控制, 易产生操作技术误差, 重复性欠佳。目前有 Bio-Rad 和西班牙 BIOSYSTEMS 等多家公司产品(如英国 DREW SCIENTIFIC 公司 DS 5 糖化血红蛋白仪、Bio-Rad 公司的 DIASTA 检测仪等)在临床上使用。

2.3 等电点聚集法 [6] 是测定 GHb 的新技术, 它是在聚丙烯酰胺凝胶中加入载体两性介质的薄板上形成一个由阳极到阴极逐渐增加的 pH 梯度, 血液中各个组分将移动到各自的等电点的 pH 位置上, 这样就得到比一般电泳法更好的分界效果和比较集中的色带, 通过分辨率高的微量光密度仪扫描, 可以准确地测定出各自组分的含量。由于它能够分辨出一级结构不同的 HbA、HbAc、HbF、HbS 及 HbC 等, 可完全避开各种物质的干扰, 是一种理想的方法, 但仪器价格相当昂贵, 难于用作常规检测。

2.4 亲和层析法 基于结构不同进行分析, 最早是由 Mallia 等 [7] 于 1981 年研发的。该方法利用对 m-氨基苯硼酸依赖的