

• 论 著 •

糖尿病肾病几种试验联合检测用于诊断的探讨

杨 辛, 吴颖稚, 钱重玲, 范 君, 林 洁, 李 菁, 张庆五

(上海市杨浦区控江医院检验科 200093)

摘要:目的 探讨尿微量清蛋白(mAlb),血清胱抑素 C(CysC),血清视黄醇结合蛋白(RBP)及尿蛋白十二烷基磺酸钠-琼脂糖凝胶(SDS-AGE)电泳对糖尿病肾病诊断的临床价值。方法 选取 148 例临床确诊为糖尿病肾病的患者作为患者组,同时选取 20 例健康体检者作为对照组。尿 mAlb 和血 RBP 采用免疫比浊法进行检测,血 CysC 采用胶乳增强免疫比浊法进行检测,同时使用 SDS-AGE 电泳对尿蛋白组分及蛋白质分子量大小进行评估。结果 患者组尿 mAlb 的检测结果为(82.7±12.5)mg/L,血清 CysC 为(1.85±0.58)mg/L,血清 RBP 为(108.00±11.85)mg/L,与对照组比较差异均有统计学意义($P<0.05$)。SDS-AGE 电泳后对尿蛋白组分及蛋白质分子量大小进行评估:肾小球蛋白尿 98 例(66.2%);肾小管蛋白尿 6 例(4.1%);混合型的蛋白尿 29 例(19.6%);假阳性蛋白尿(mAlb 检测为阳性)15 例(10.1%)。血清 CysC 阳性者电泳后证实为肾小球性蛋白尿 98 例,肾小管蛋白尿 4 例,混合性蛋白尿 29 例;血清 RBP 阳性者电泳后证实为混合性蛋白尿占 29 例和肾小管蛋白尿 4 例。结论 SDS-AGE 电泳可对蛋白尿的病理类型,肾脏损伤及部位判断有很高特异性和检出率,应当作为糖尿病肾病的诊断标准指标。而尿 mAlb,血 CysC 及血清 RBP 联合检测可提高糖尿病肾脏疾病早期诊断的敏感度和灵敏度,具有重要的临床价值。

关键词:糖尿病肾病; 尿微量清蛋白; 血清胱抑素 C; 视黄醇结合蛋白; 病理性蛋白尿

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.18.013 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2016)18-2588-03

Analysis on several kinds of combined detection and diagnosis in diabetic nephropathy

YANG Xin, WU Yingzhi, QIAN Zhongling, FAN Jun, LIN Jie, LI Jing, ZHANG Qingwu

(Department of Clinical Laboratory, Kongjiang Hospital of Yangpu District, Shanghai 200093, China)

Abstract: Objective To investigate the clinical values of urinary microalbumin(mAlb), serum cystatin C (Cys-C), retinol binding protein (RBP) and dodecyl sulfosalicylic acid sodium-agarose gel (SDS-AGE) electrophoresis in diagnosis of diabetic nephropathy(DN). **Methods** Urinary mAlb and serum RBP levels were detected in 148 cases of clinically diagnosed DN by using the immune turbidity method and serum Cys-C level was simultaneously detected by using latex enhanced immunoassay and SDS-AGE electrophoresis. **Results** Urine mAlb, serum Cys-C and RBP levels had statistical differences between the DN group and the control group($P<0.05$). In the evaluation of various urinary protein groups according to the urinary protein compositions and molecular weight of proteins after SDS-AGE electrophoresis, 98 cases (66.2%) were glomerular proteinuria, 6 cases (4.1%) were renal tubular proteinuria, 29 cases (19.6%) were mixed type proteinuria and 15 cases (10.1%) were false positive proteinuria. In the comparison of the positive results of urinary mAlb (82.7±12.5)mg/L, serum Cys-C (1.85±0.58)mg/L and serum RBP (108.00±11.85)mg/L with the positive rate of urine protein electrophoresis, among 148 cases of DN, urinary mAlb was verified as glomerular proteinuria in 98 cases (66.2%), renal tubular proteinuria in 4 cases (4.1%), mixed proteinuria in 29 cases (19.6%) and false positive proteinuria in 14 cases (9.5%), but serum Cys C electrophoresis confirmed glomerular proteinuria in 98 cases (66.2%), renal tubular proteinuria in 4 cases (4.1%) and mixed proteinuria accounted in 29 cases (19.6%); serum RBP electrophoresis confirmed mixed proteinuria in 29 cases (19.6%), renal tubular proteinuria in 4 cases (4.1%). It was found from the contrast of above four kinds of test results that the serum Cys C and RBP had the results same to the SDS-AGE electrophoresis. **Conclusion** The SDS-AGE electrophoresis has higher specificity and detection rate of pathological type of proteinuria, kidney damage and location judgment and should serve as a diagnostic criterion index of DN. The combined detection of urine mAlb, serum Cys C and RBP can improve the sensitivity of the early diagnosis of DN and has an important clinical value.

Key words: diabetes nephropathy; urine albumin; serum cystatin C; retinol binding protein; electrophoresis; pathological protein urine

糖尿病肾病是指糖尿病糖代谢异常为主所致的肾小球硬化,并伴尿蛋白水平异常增高,称为糖尿病肾病。本课题组将几年来经尿液蛋白定性试验确诊为阳性的 148 例糖尿病肾病患者纳入本研究,进行了尿微量清蛋白(mAlb),血清胱抑素 C(CysC),血清视黄醇结合蛋白(RBP)及 mAlb 十二烷基磺酸钠-琼脂糖凝胶(SDS-AGE)电泳的检测,并对结果进行比较分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 标本来源 选取 148 例患者由临床医生确诊糖尿病肾病患者(尿常规蛋白定性为阳性),选用本院体检健康者 20 例作为对照组。晨间抽取空腹静脉血 5 mL 进行离心分离血清进行检测,晨尿 5 mL 进行离心分离取上清液进行检测。

1.2 仪器 尿蛋白电泳电泳采用 Hydrays(Sebia 公司)半自动电泳仪,SDS-AGE 凝胶试剂盒及酸紫染料均由 Sebia 公司

提供,扫描仪为 Epson 公司提供。尿 mAlb 检测采用 BN prospec(Siemens 公司)免疫散射比浊分析仪,试验测定试剂盒由 Siemens 公司提供。血清 CysC 和 RBP 检测采用 TBA-120FR(日本东芝)全自动生化分析仪,两个试验测定试剂盒由华可生物有限公司提供。尿液蛋白定性采用德国 Combi Scan 500 型全自动尿液分析仪及配套 Combi-Screen 11SYS 试纸条。

1.3 方法 (1)尿 mAlb 和血 RBP 的检测采用免疫比浊法。(2)血 CysC 采用胶乳增强免疫比浊法进行检测。(3)SDS-AGE 电泳:取 20 μ L SDS 溴酚蓝稀释液加入 80 μ L 已处理尿液,混匀,吸取 5 μ L 加入凝胶加样孔中(5 孔/板),扩散 10 min,在 SDS-AGE 凝胶上电泳,分离,干燥电泳完毕后,染色(酸性紫罗兰),脱色,扫描。电脑编辑电泳曲线打印最终结果。尿液蛋白定性采用尿干化学法及尿 mAlb 定量检测采用透射比浊法,上述试验均按操作说明书进行检测。

1.4 结果判定 SDS-AGE 电泳区分生理性和病理性蛋白尿类型;以凝胶膜片正极和负极之间 1/2(膜片中间处)的清蛋白区带为界限,清蛋白上方到正极为小分子。清蛋白下方到负极为大分子。清蛋白两侧为大分子及小分子。评估标本中蛋白带的相对分子质量范围;将尿液标本中的蛋白区带与标准带卡板位置比较。尿 mAlb>40 mg/L 为阳性,血清 CysC 的参考范围:0.55~1.15 mg/L,血清 RBP 参考范围:25~70 mg/L。

1.5 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计学软件进行数据处

理,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

148 例糖尿病肾病患者与对照组 3 个指标水平的检测结果及比较见表 1;尿 mAlb 及血清 CysC、血清 RBP 阳性者的检出情况见表 2;SDS-AGE 电泳后各 SDS-AGE 电泳后各尿蛋白组分组成及蛋白质分子量范围评估见表 3。

表 1 两组间尿 mAlb、血清 CysC 及血清 RBP 检测结果比较($\bar{x}\pm s$,mg/L)				
组别	<i>n</i>	尿 mAlb	血清 CysC	血清 RBP
患者组	148	82.7 $\pm$ 12.5*	1.85 $\pm$ 0.58*	108.00 $\pm$ 11.85*
对照组	20	32.5 $\pm$ 4.5	0.82 $\pm$ 0.25	42.00 $\pm$ 10.28

注:与对照组比较,* $P<0.05$ 。

表 2 患者组尿 mAlb、血 CysC、RBP 阳性者中不同类型蛋白尿的检出情况[<i>n</i> (%), <i>n</i> =148]			
蛋白尿类型	尿 mAlb	血 CysC 阳性	血 RBP 阳性
肾小球蛋白尿	98(66.2)	98(66.2)	0(0.0)
肾小管蛋白尿	6(4.1)	6(4.1)	6(4.1)
混合性蛋白尿	29(19.6)	29(19.6)	29(19.6)
假阳性蛋白尿	15(10.1)	0(0.0)	0(0.0)

表 3 SDS-AGE 电泳后各尿蛋白组分组成及尿蛋白质分子量大小范围评估			
组别	<i>n</i>	尿蛋白组分组成	尿蛋白质分子量大小评估
肾小球蛋白尿	98	清蛋白(70 $\times$ 10 ³)、转铁蛋白(80 $\times$ 10 ³)、IgA(175 $\times$ 10 ³)、IgG(160 $\times$ 10 ³)	以中分子,大分子为主。
肾小管蛋白尿	6	清蛋白(70 $\times$ 10 ³)、游离轻链二聚体(50 $\times$ 10 ³)、游离轻链(25 $\times$ 10 ³)、RBP(21 $\times$ 10 ³)、 α 1 微球蛋白(33 $\times$ 10 ³)、溶菌酶(15 $\times$ 10 ³)	以中分子和小分子为主。
混合性蛋白尿	29	清蛋白(70 $\times$ 10 ³)、转铁蛋白(80 $\times$ 10 ³)、 α 2 巨球蛋白(125 $\times$ 10 ³)、清蛋白(70 $\times$ 10 ³)、游离轻链二聚体、(50 $\times$ 10 ³)、游离轻链(25 $\times$ 10 ³)、RBP(21 $\times$ 10 ³)、 α 1 微球蛋白(33 $\times$ 10 ³)、溶菌酶(15 $\times$ 10 ³)	以高分子,中分子及小分子为主;
假阳性蛋白尿	15	无蛋白区带	无蛋白质

3 讨 论

随着免疫化学法和电泳技术的发展,糖尿病肾病检测的免疫化学方法也越来越多。当前糖尿病肾病的诊断方法主要有尿 mAlb,血清 CysC 及血清 RBP 等。血清 CysC 是一种半胱氨酸蛋白酶抑制剂,主要反映肾小球滤过率变化的同源性标志物。血清 RBP 是血液中维生素的转运蛋白,能早期发现肾小管的功能损害的标志物^[1-2]。尿中蛋白排出增加是糖尿病肾病的特征之一,mAlb 是临床诊断糖尿病肾病的主要依据。mAlb 是指在尿中出现 mAlb,在生理条件下尿中只出现少量清蛋白,当发现尿 mAlb 在 20~200 mg/L 范围内就属于微量蛋白尿,它是反映肾脏异常渗漏蛋白质^[1,3-5]。mAlb 检测往往依靠免疫化学法检查。尿 mAlb、血清 CysC 及血 RBP 水平两组间比较差异有统计学意义($P<0.05$)。SDS-AGE 电泳后证实 148 例糖尿病肾病患者中检出 98 例(66.2%)肾小球蛋白尿,以中分子、大分子蛋白为主;6 例(4.1%)肾小管蛋白尿,以中分子和小分子蛋白为主;29 例(19.6%)混合性蛋白尿,高分子、中分子及小分子蛋白为主。15 例(10.1%)假阳性蛋白尿

无蛋白区带^[6-7]。血清 CysC 阳性患者经电泳检测后证实为肾小球性蛋白尿 98 例,肾小管蛋白尿 4 例,混合性蛋白尿 29 例;血清 RBP 阳性患者电泳后证实为混合性蛋白尿 29 例(19.6%),肾小管蛋白尿 4 例(4.1%)。尿 mAlb 采用免疫比浊检测容易出现假阳性,主要是由于尿中的结晶产生浑浊和颗粒会影响检测结果,尿中黄疸和药物产生色素影响结果。SDS-AGE 电泳的优势在于可对尿蛋白的蛋白质组分进行分离并分评估标本中微量蛋白分子量范围,由此可直观地反映肾小球和肾小管早期损伤部位^[6-7]。SDS-AGE 电泳可以为蛋白尿的病理类型、肾脏损伤及部位判断提供参考,特异性和检出率较好,应当作为糖尿病肾病的诊断标准指标^[4,6-9]。尿 mAlb、血 CysC 及血清 RBP 联合检测也可以提高糖尿病肾脏疾病早期诊断的敏感度和灵敏度^[2,5,8]。

参考文献

[1] 魏明竟,余善丁.临床检验学[M].北京:科学技术文献出版社出版,1994:148-160. (下转第 2592 页)

CKD 患者、HCV 感染者和健康人群三组中, HCV 感染者 ALT、AST 均最高。HCV 感染合并 CKD 患者 TCH、TG、LDL-C 高于另外两组, 而 HDL-C 低于另外两组。此结果与相关报道一致。表明在 HCV 感染合并 CKD 患者中, 存在高 TG、高 TCH、高 LDL-C、低 HDL-C 的血脂异常, 而这类血脂异常均是心血管疾病的独立危险因素, 可导致 CKD 患者死于心血管疾病的风险增加。HCV 感染合并 CKD 患者与 HCV 感染者组相比, Cr、 β_2 -MG、UA 都高于后者, 表明 HCV 感染合并 CKD 患者的肾功能比未合并 CKD 的 HCV 感染者肾功能差。通过相关性分析, 发现 TG 与 β_2 -MG 和尿酸成正相关。与其他血脂指标比较, TG、HDL-C 与肾功能指标的相关性最强。通过血脂在 HCV 感染合并 CKD 患者和 HCV 感染者间的二分类 Logistic 回归分析发现, TG 是 HCV 感染合并 CKD 发生的危险因素, HDL-C 是 HCV 感染合并 CKD 发生的保护因素。

综上所述, HCV 感染合并 CKD 患者其肾功能与 TG 水平呈正相关, 与 HDL-C 水平呈负相关。针对此类患者血脂异常的特征, 在诊疗过程中应检测, 并对其进行适时干预以控制病情发展。

参考文献

[1] Coppola N, De Pascalis S, Onorato L, et al. Hepatitis B virus and hepatitis C virus infection in healthcare workers [J]. World J Hepatol, 2016, 8(5): 273-281.

[2] Carvalho-Filho RJ, Feldner AC, Silva AE, et al. Management of hepatitis C in patients with chronic kidney disease [J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(2): 408-422.

[3] Ali A, Macphee I, Kaski JC, et al. Cardiac and vascular changes with kidney transplantation [J]. Indian J Nephrol, 2016, 26(1): 1-9.

[4] Grassi G, Di Caprio G, Fimia GM, et al. Hepatitis C virus relies on lipoproteins for its Life cycle [J]. World J Gastroenterol, 2016, 22(6): 1953-1965.

[5] 中华医学会肝病学分会. 中华医学会感染病学分会. 丙型肝炎防治指南(2015 年更新版) [J]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2015, 9(5): 590-607.

[6] Eckardt K, Kasiske BL. Kidney disease: improving global

outcomes [J]. Nat Rev Nephrol, 2009, 5(11): 650-657.

[7] Chang ML. Metabolic alterations and hepatitis C: From bench to bedside [J]. World J Gastroenterol, 2016, 22(4): 1461-1476.

[8] Carr RM, Ahima RS. Pathophysiology of lipid droplet proteins in liver diseases [J]. Exp Cell Res, 2016, 340(2): 187-192.

[9] Del Campo JA, Romero-Gómez M. Modulation of host lipid metabolism by hepatitis C virus: Role of new therapies [J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(38): 10776-10782.

[10] Aizawa Y, Seki N, Nagano T, et al. Chronic hepatitis C virus infection and lipoprotein metabolism [J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(36): 10299-10313.

[11] Ahn CH, Choi SH. New drugs for treating dyslipidemia: beyond statins [J]. Diabetes Metab J, 2015, 39(2): 87-94.

[12] Mount P, Davies M, Choy SW, et al. Obesity-Related chronic kidney Disease-The role of lipid metabolism [J]. Metabolites, 2015, 5(4): 720-732.

[13] Salata D, Dolegowska B. Bioactive lipids in kidney physiology and pathophysiology [J]. Postepy Hig Med Dosw, 2014, 68: 73-83.

[14] Lee HS. Mechanisms and Consequences of hypertriglyceridemia and cellular lipid accumulation in chronic kidney disease and metabolic syndrome [J]. Histol Histopathol, 2011, 26(12): 1599-1610.

[15] Vaziri ND, Norris K. Lipid disorders and their relevance to outcomes in chronic kidney disease [J]. Blood Purif, 2011, 31(1/3): 189-196.

[16] Hung CC, Tsai JC, Kuo HT, et al. Dyslipoproteinemia and impairment of renal function in diabetic kidney disease: an analysis of animal studies, observational studies, and clinical trials [J]. Rev Diabet Stud, 2013, 10(2/3): 110-120.

[17] Pandya V, Rao A, Chaudhary K. Lipid abnormalities in kidney disease and management strategies [J]. World J Nephrol, 2015, 4(1): 83-91.

(收稿日期: 2016-03-20 修回日期: 2016-06-13)

(上接第 2589 页)

[2] 叶夏云, 侯红斌, 赵阳. 糖尿病肾病患者血清视黄醇结合蛋白、胱抑素 C 变化的临床意义 [J]. 西北国防医学杂志, 2015, 36(2): 90-92.

[3] 刘新民. 实用内分泌学 [M]. 3 版. 北京: 人民军医出版社, 2004: 1239.

[4] 石同才, 郭海龙, 韩红霞. 肾性蛋白尿的实验室诊断与鉴别诊断 [J]. 实用医技杂志, 2012, 19(8): 843-844.

[5] 龚艳晖, 严跃红, 刘海燕. 尿微量清蛋白对糖尿病肾病早期诊断的临床价值 [J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(19): 2796-2797.

[6] 吴宇芳, 关晓东. 肾脏病患者尿蛋白电泳测定及其病理活检对比分析 [J]. 现代预防医学, 2007, 34(4): 873-874.

[7] 沈建江, 罗君, 郭长青. 尿蛋白电泳在肾脏疾病诊断中的临床应用 [J]. 中国医药指南, 2012, 9(25): 408-409.

[8] 王媚娟, 杨章元, 明亮, 等. 血清胱抑素 C 在糖尿病肾病患者早期诊断中的价值 [J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(17): 2464-2465.

[9] 徐勇, 彭启松. 糖尿病肾病早期生化诊断研究 [J]. 检验医学与临床, 2013, 20(24): 3316-3317.

(收稿日期: 2016-03-22 修回日期: 2016-05-21)