

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.14.017

不同方法检测外周血醛固酮的情况分析

王 洁¹, 甘西伦², 张喜豹³, 钟 海⁴, 甘永逸², 王 丽², 杨建波^{2△}西南医科大学附属医院:1. 输血科;2. 核医学科, 四川泸州 646000;3. 四川省德阳市中江县妇幼保健院
检验科, 四川德阳 618100;4. 四川省成都市金堂县妇幼保健院检验科, 四川成都 610400

摘要:目的 比较化学发光法与高效液相色谱-串联质谱法(简称质谱法)检测高血压患者外周血醛固酮水平的一致性,并建立质谱法检测健康成人立位外周血醛固酮水平的参考值范围。方法 采用来自 3 个厂家的化学发光法和质谱法检测 42 例健康成人、102 例高血压患者外周血醛固酮水平,采用 Spearman 相关分析评价这 4 种方法检测结果的相关性;采用 Bland-Altman 评价这 4 种方法检测结果的一致性。结果 不同方法检测外周血醛固酮水平存在明显差异($P < 0.05$),质谱法与 3 个厂家的化学发光法检测的外周血醛固酮水平呈正相关($r = 0.876, 0.885, 0.945, P < 0.05$),Bland-Altman 分析表明 3 个厂家的化学发光法与质谱法检测外的周血醛固酮水平不具有有一致性。以 $P_{2.5} \sim P_{97.5}$ 建立质谱法检测成人立位血醛固酮水平的参考值范围为 5.73~76.29 pg/mL。结论 检测外周血醛固酮水平时,不同的检测方法存在较大差异,即便是同一种检测方法,由于仪器和试剂的生产厂家不同,检测结果也不一致。

关键词:高血压; 醛固酮; 化学发光法; 质谱法

中图分类号:R446.19

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)14-2053-04

Analysis of different methods for detecting peripheral blood aldosterone

WANG Jie¹, GAN Xilun², ZHANG Xibao³, ZHONG Hai⁴, GAN Yongyi², WANG Li², YANG Jianbo^{2△}

1. Department of Blood Transfusion; 2. Department of Nuclear Medicine, Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China; 3. Department of Clinical Laboratory, Zhongjiang County Maternal and Child Health Hospital, Deyang, Sichuan 618100, China; 4. Department of Clinical Laboratory, Jintang County Maternal and Child Health Hospital, Chengdu, Sichuan 610400, China

Abstract: Objective To compare the consistency of chemiluminescence and high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (mass spectrometry) in detecting peripheral blood aldosterone levels in hypertensive patients, and to establish a reference range for mass spectrometry to detect aldosterone levels in healthy adults. **Methods** Chemiluminescence and mass spectrometry from 3 manufacturers were used to detect peripheral blood aldosterone levels in 42 healthy adults and 102 hypertensive patients; Spearman was used to evaluate the correlation of these four methods; Bland-Altman was used to evaluate the consistency of these four methods. **Results** There were significant differences in the detection of aldosterone levels in peripheral blood by different methods ($P < 0.05$). Mass spectrometry was positively correlated with the chemiluminescence method of 3 manufacturers in the detection of aldosterone levels in peripheral blood ($r = 0.876, 0.885, 0.945, P < 0.05$). Bland-Altman analysis showed that the chemiluminescence method and mass spectrometry of the three manufacturers were not consistent in the detection of aldosterone levels in peripheral blood. The reference value range of $P_{2.5} - P_{97.5}$ to establish mass spectrometry to detect adult orthostatic blood aldosterone level was 5.73-76.29 pg/mL. **Conclusion** When detecting the level of aldosterone in peripheral blood, different detection methods are quite different. Even if the same detection method is used, the detection results are not consistent due to different manufacturers of instruments and reagents.

Key words: hypertension; aldosterone; chemiluminescence method; mass spectrometry

醛固酮是一种类固醇激素,由肾上腺皮质球状带分泌,主要作用于肾脏,具有保钠排钾的功能。原发性醛固酮增多症是一种与醛固酮分泌异常有关的内

分泌疾病,其临床主要表现为高血压、高血钾和肾素分泌减少。根据流行病学调查显示,约 17%~23% 的高血压患者会并发原发性醛固酮增多症^[1]。高血压

作者简介:王洁,女,技师,主要从事临床检验与医学相关研究。△ 通信作者, E-mail:397430504@qq.com。

本文引用格式:王洁,甘西伦,张喜豹,等.不同方法检测外周血醛固酮的情况分析[J].检验医学与临床,2021,18(14):2053-2056.

并发原发性醛固酮增多症的患者,其心血管系统患病率、病死率及肾功能受损的概率均高于单纯的高血压患者^[2]。原发性醛固酮增多症通过有效的手术和药物治疗,是可治愈的^[3]。因此,对于原发性醛固酮增多症的准确诊断有利于改善高血压患者的预后并减轻经济负担。目前,原发性醛固酮增多症最有效的筛查程序是:(1)检测血浆肾素和外周血醛固酮(PAC)水平;(2)计算PAC和血浆肾素的比值^[4-5]。如果PAC和血浆肾素的比值超过最佳临界值,则进行确认抑制实验,目前,抑制实验有4种:口服钠负荷试验、氟可的松抑制试验、卡托普利激发试验和盐水灌注抑制试验^[6]。

化学发光法自1991年首次报道应用于PAC的检测以来^[7],由于其具有检测方便,检测效率高的优点,被临床实验室广泛采用。然而化学发光法不足之处在于检测使用的抗体缺乏特异性,以及标准不统一而导致实验室间的变异系数大,同一实验室内重复性差^[8-9]。有研究表明在同一实验室,同一种化学发光法检测PAC的变异系数在8.7%~51.4%^[10]。高效液相色谱-串联质谱法(简称质谱法)具有较高的特异度和灵敏度,且不受非特异性反应和交叉反应的干扰,使其成为PAC检测的“金标准”。由于其检测成本和技术操作要求高,在临床诊断中使用受限^[11-12]。

本研究旨在比较化学发光法和质谱法检测PAC的差异和一致性,并建立质谱法检测成年人立位PAC的参考值范围。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2019年6—12月于西南医科大学附属医院就诊的高血压患者102例为高血压组,其中男52例,女50例;平均年龄(52.94±11.11)岁,高血压诊断标准为:在未使用降压药的情况下,3次非同一天天的血压检测值均高于正常,即收缩压≥140 mm Hg和(或)舒张压≥90 mm Hg^[13]。随机选取该院体检中心的体检健康者42例为对照组,其中男17例,女25例;平均年龄(52.94±11.11)岁,纳入标准:(1)年龄>18岁;(2)无高血压病史;(3)随机血压正常

(收缩压90~139 mm Hg,舒张压60~89 mm Hg)。排除标准:(1)有心脏疾病、肾脏疾病、肿瘤、肝硬化等可能影响PAC水平的疾病;(2)2周内使用过会影响PAC水平药物的患者;(3)有饮酒史者;(4)妊娠及哺乳期妇女。

1.2 仪器与试剂 Liaison[®]XL全自动化学发光免疫分析仪及配套的PAC检测试剂盒购自意大利Diasorin公司;2台国产全自动化学发光免疫分析仪及配套试剂盒分别购自河南安图生物公司和深圳迈瑞生物公司;质谱法采用的三重四极杆液质联用仪LC-MS-8050CL购自日本岛津公司;D4-醛固酮标准品购自上海Sigma-Aldrich公司。

1.3 方法 高血压组每例患者于清晨空腹卧位采集2管静脉血,均使用乙二胺四乙酸抗凝管,每一管血量≥3 mL,分别标注“化学发光法”和“质谱法”,对照组每例使用乙二胺四乙酸抗凝管采集1管静脉血,标本采集后立即室温以3 000 r/min离心10 min。使用化学发光法和质谱法检测高血压组PAC,采用3种化学发光分析仪检测,对照组仅使用质谱法检测PAC。将Liaison[®]XL全自动化学发光免疫分析仪及配套的PAC检测试剂盒称为“厂家A”,分别将另外2台国产分析仪称为“厂家B”和“厂家C”。所有检测均重复3次取平均值作为检测结果。

1.4 统计学处理 采用MedCalc19.0.7统计软件和SPSS20.0统计软件进行分析,呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,不呈正态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较采用Kruskal-Wallis H 秩和检验;相关性评价采用Spearman相关分析;一致性评价采用Bland-Altman分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同方法检测PAC水平比较 高血压患者总共纳入102例,排除19例未做“质谱法”,排除线性范围外的样本和离群样本11例,剩余72例患者计入统计学分析,结果见表1。

表1 不同方法检测PAC水平比较 $[M(P_{25}, P_{75}), \text{pg/mL}]$

| 组别 | n | 化学发光法 | | | 质谱法 |
|------|----|------------------|-----------------------|---------------------|--------------------|
| | | 厂家A | 厂家B | 厂家C | |
| 对照组 | 42 | — | — | — | 27.74(8.12,62.58) |
| 高血压组 | 72 | 6.75(3.82,12.90) | 141.32(112.76,201.33) | 71.09(47.46,180.03) | 29.05(11.96,82.70) |

注:—为该项未做检测。

2.2 高血压组4种方法检测PAC的差异性分析 4种方法检测PAC水平比较,差异有统计学意义($\chi^2 = 178.418, P < 0.05$)。

2.3 不同检测方法的相关性分析 以质谱法作为PAC检测的“金标准”,分别对3个厂家化学发光法的

PAC检测值进行相关性分析。质谱法与3种化学发光法(厂家A、B、C)检测的PAC水平均呈正相关($r = 0.876, 0.885, 0.945$,均 $P < 0.05$),见图1~3。

2.4 不同检测方法检测结果的Bland-Altman分析 分别将质谱法与3种化学发光法(厂家A、B、C)

检测的 PAC 水平做 Bland-Altman 分析。结果表明, 三种化学发光法与质谱法存在差异 ($P < 0.05$), 分别有 5.56% (4/72)、4.17% (3/72)、4.17% (3/72) 位于一致性界限外。

另外, 从 Bland-Altman 分析图中可以看出, 厂家 A 中间的实线 (与质谱法差值的 \bar{x} 为 41.0) 与虚线 (与质谱法差值的 \bar{x} 为 0) 的距离最小, 其次是厂家 C (与质谱法差值的 \bar{x} 为 75.7), 厂家 B 的距离最大 (与质谱法差值的 \bar{x} 为 112.5), 厂家 A 与质谱法的一致性较好, 厂家 C 其次, 厂家 B 的一致性较差。见图 4~6。

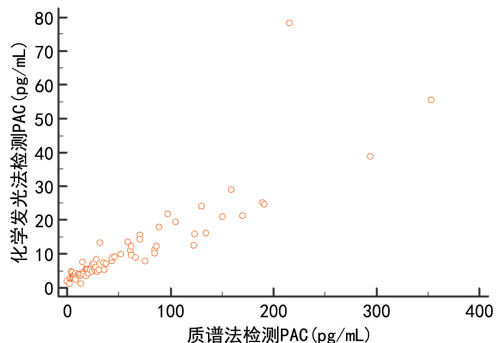


图 1 化学发光法 (厂家 A) 与质谱法检测的 PAC 水平的相关性散点图

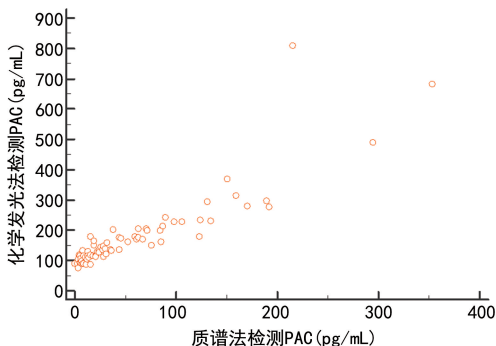


图 2 化学发光法 (厂家 B) 与质谱法检测的 PAC 水平的相关性散点图

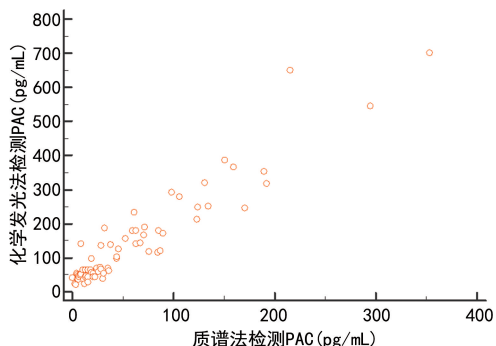


图 3 化学发光法 (厂家 C) 与质谱法检测的 PAC 水平的相关性散点图

2.5 质谱法检测成年人立位 PAC 的参考值范围

本研究体检健康者 42 例, 其立位 PAC 呈偏态分布, 以 $P_{2.5} \sim P_{97.5}$ 建立质谱法检测成年人立位 PAC 水平的参考值范围为 5.73~76.29 pg/mL。

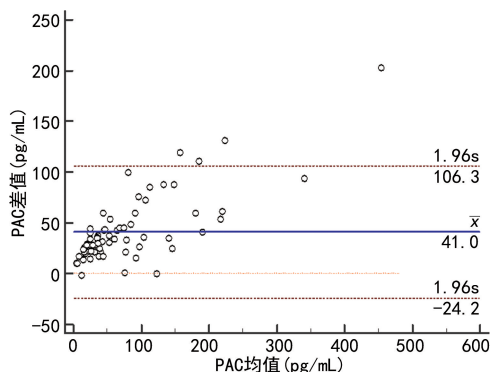


图 4 化学发光法 (厂家 A) 与质谱法检测的 PAC 水平的 Bland-Altman 分析

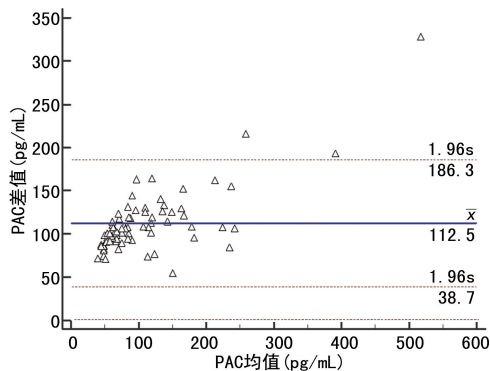


图 5 化学发光法 (厂家 B) 与质谱法检测的 PAC 水平的 Bland-Altman 分析

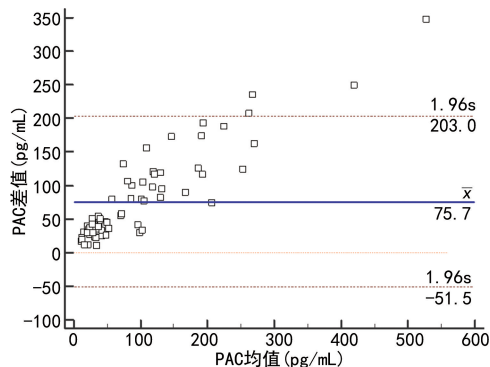


图 6 化学发光法 (厂家 C) 与质谱法检测的 PAC 水平的 Bland-Altman 分析

3 讨论

实验室广泛采用放射免疫分析法检测 PAC, 然而, 此方法操作复杂, 并且有放射性污染的危险, 因此, 化学发光法成为实验室常规检测的方法。然而, 研究者们又发现化学发光法特异度和灵敏度不高, 且变异系数太大, 便致力于探寻更可靠的检测方法。质谱法具有较高的特异度和灵敏度, 且不受非特异性反应和交叉反应的干扰, 是醛固酮检测的“金标准”, 由于其检测成本和技术操作要求高, 在临床诊断中使用受限, 因此在我国, 关于质谱法检测醛固酮的报道较少。

本研究以质谱法作为“金标准”, 将 3 个不同厂家的化学发光法与之进行比较, 结果表明, 4 种方法检测醛固酮具有较大差异。对于化学发光法而言, 即便是采用同一检测方法, 不同厂家的机器和试剂, 也会导

致检测结果偏差较大,这难以满足临床要求,值得引起重视。此外,将 3 个厂家的化学发光法检测结果分别与质谱法的检测结果进行相关性分析,结果表明厂家 A 与质谱法检测的一致性更高,厂家 C 其次,厂家 B 的一致性最差。

本研究将质谱法与 3 个厂家的化学发光法检测 PAC 水平进行相关性分析,结果表明质谱法与 3 个厂家的化学发光法检测结果均呈正相关($r = 0.876$ 、 0.885 、 0.945 , $P < 0.05$), YIN 等将^[13]质谱法与 3 个厂家的化学发光法检测 PAC 水平分别进行比较,结果发现,3 个厂家的化学发光法检测结果没有差异性,且 3 个不同厂家的化学发光法检测结果与质谱法没有明显相关性,与本研究结果不一致。而 BARON 等^[14]对质谱法与化学发光法(进口)测定 PAC 水平进行了比较,结果显示化学发光法(进口)和质谱法的 PAC 检测值呈正相关,与本研究结果一致。

目前关于采用质谱法建立 PAC 水平参考值范围的相关研究较少, MEUNIER 等^[15]纳入 35 例健康人建立质谱法检测 PAC 正常值范围,结果为 $51 \sim 618$ pmol/L ($18.4 \sim 223.1$ pg/mL), BARON 等^[14]纳入 93 例健康人建立质谱法检测 PAC 正常参考值范围,其结果为 $42 \sim 309$ pmol/L ($15.2 \sim 111.6$ pg/mL), 本研究纳入 42 例体检健康者,建立质谱法检测成年人立位 PAC 的正常参考范围为 $5.73 \sim 76.29$ pg/mL, 不同的研究所报道的参考范围不一致,究其原因,是由于每个实验室采用的标准品不一致,因此质谱法测定 PAC 水平的具体参考范围尚未统一。有研究建议将 550 pmol/L 作为最佳临界值,当 PAC 高于 550 pmol/L 和血浆肾素 < 2 mU/L 足以诊断原发性醛固酮增多症,无需进一步的验证性试验^[7]。

综上所述,对于检测 PAC,不同的检测方法存在较大差异,即便是同一种检测方法,由于仪器和试剂的生产厂家不同,检测结果也不一致。对于目前临床实验室广泛采用的化学发光法,由于受灵敏度和特异度的影响,其结果的可靠性也欠佳。除此之外,在临床诊断中,十分有必要充分了解每种检测方法的参考范围。

参考文献

- [1] KLINE G A, PREBTANI A P H, LEUNG A A, et al. Primary aldosteronism: a common cause of resistant hypertension[J]. CMAJ, 2017, 189(22): E773-E778.
- [2] CATENA C, COLUSSI G, NADALINI E, et al. Cardiovascular outcomes in patients with primary aldosteronism after treatment[J]. Arch Intern Med, 2008, 168(1): 80-85.
- [3] SECHI LA, COLUSSI G, DI-FABIO A, et al. Cardiovascular and renal damage in primary aldosteronism: outcomes after treatment[J]. Am J Hypertens, 2010, 23(12): 1253-1260.
- [4] ROSSI G P, SECCIA T M, PALUMBO G, et al. Within-patient reproducibility of the aldosterone: renin ratio in

primary aldosteronism[J]. Hypertension, 2010, 55(1): 83-89.

- [5] FUNDER J W, CAREY R M, MANTERO F, et al. The management of primary aldosteronism: case detection, diagnosis, and treatment: an endocrine society clinical practice guideline[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2016, 101(5): 1889-1916.
- [6] STABLER T V, SIEGEL A L. Chemiluminescence immunoassay of aldosterone in serum[J]. Clin Chem, 1991, 37(11): 1987-1989.
- [7] FISCHER E, REUSCHL S, QUINKLER M, et al. Assay characteristics influence the aldosterone to renin ratio as a screening tool for primary aldosteronism: results of the German conn's registry[J]. Horm Metab Res, 2013, 45(7): 526-531.
- [8] FORTUNATO A, PRONTERA C, MASOTTI S, et al. State of the art of aldosterone immunoassays. A multicenter collaborative study on the behalf of the cardiovascular biomarkers study group of the italian section of European Society of Ligand Assay (ELAS) and Società Italiana di Biochimica Clinica (SIBIOC)[J]. Clin Chim Acta, 2015, 444: 106-112.
- [9] BURRELLO J, MONTICONE S, BUFFOLO F, et al. Diagnostic accuracy of aldosterone and renin measurement by chemiluminescent immunoassay and radioimmunoassay in primary aldosteronism[J]. J Hypertens, 2016, 34(5): 920-927.
- [10] CAMENZIND A G, VAN-DER-GUGTEN J G, POPP R, et al. Development and evaluation of an immuno-MALDI (iMALDI) assay for angiotensin I and the diagnosis of secondary hypertension[J]. Clin Proteomics, 2013, 10(1): 20.
- [11] JUUTILAINEN A, SAVOLAINEN K, ROMPPANEN J, et al. Combination of LC-MS/MS aldosterone and automated direct renin in screening for primary aldosteronism[J]. Clin Chim Acta, 2014, 433: 209-215.
- [12] 《中国高血压防治指南》修订委员会. 中国高血压防治指南 2018 年修订版[J]. 心脑血管病防治, 2019, 19(1): 1-44.
- [13] YIN Y, MA C, YU S, et al. Comparison of three different chemiluminescence assays and a rapid liquid chromatography tandem mass spectrometry method for measuring serum aldosterone[J]. Clin Chem Lab Med, 2019, 58(1): 95-102.
- [14] BARON S, AMAR L, FAUCON A L, et al. Criteria for diagnosing primary aldosteronism on the basis of liquid chromatography-tandem mass spectrometry determinations of plasma aldosterone concentration[J]. J Hypertens, 2018, 36(7): 1592-1601.
- [15] MEUNIER C, BLONDELLE D, FAURE P, et al. Development and validation of a method using supported liquid extraction for aldosterone determination in human plasma by LC-MS/MS[J]. Clin Chim Acta, 2015, 447: 8-15.