DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.02.025
第22卷第2期 第三军医大学学报 Vol. 22, No. 2
160 2000年2月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Feb. 2000

论著

文章编号:1000-5404(2000)02-0160-03

检测尿微量蛋白和Ⅳ型胶原对糖尿病肾病早期诊断的意义

姚春艳[1],杨 沛[2],府伟灵[1] (第三军医大学:[1]附属西南医院检验科,重庆 400038;[2]附属大坪医院野战外科研究所检验科,重庆 400042)

提 要 目的:探讨尿标本中视黄醇结合蛋白(RBP)、转铁蛋白(TRF)、微量白蛋白(mALB)及Ⅳ型胶原(Ⅳ-C)检测在糖尿病肾病早期诊断中的作用。方法:用ELISA法检测尿中RBP、TRF及Ⅳ-C,免疫比浊法检测尿微量白蛋白(mALB),酶偶联法测定尿肌酐。结果:正常对照组中尿RBP/Cr、TRF/Cr及Ⅳ-C的含量分别为(2.12±0.95)mg/mmol,(1.81±0.52)mg/mmol,(44.68±17.2)ng/ml。在糖尿病无肾病组中,其微量白蛋白的含量与正常对照组相近($P>0.05$),而RBP、TRF及Ⅳ-C的含量与正常对照组相比具有显著差别($P<0.05$)。在糖尿病的初期肾病组和临床肾病组,mALB、RBP/Cr、TRF/C的及Ⅳ-C的含量均明显高于正常对照组($P<0.01$)。结论:联合检测尿RBP、TRF及Ⅳ-C是诊断糖尿病肾病早期损伤灵敏、可靠的实验室指标。

关键词 糖尿病肾病;视黄醇结合蛋白;转铁蛋白;Ⅳ型胶原
中图法分类号 R446.12:R587.104 文献标识码 A

Clinical significance of detecting urinary microalbumin and type IV collagen in diagnosis of early diabetic nephropathy

YAO Chun-yan, YANG Pei, FU Wei-ling (Laboratory Center, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038)

Abstract Objective: To investigate the role of detection of urinary RBP, TRF and IV-C in diagnosis of early diabetic nephropathy. Methods: Urinary RBP, TRF and IV-C were determined with ELISA, urinary microalbumin with immunoturbidimetry and urinary creatinine with enzyme coupled reaction. Results: In the group of microalbuminuria of diabetes, the microalbumin content was close to that of the controls ($P>0.05$) while the levels of RBP, TRF and IV-C were higher in the patients than in the controls ($P<0.05$). The levels of RBP, TRF and IV-C were markedly higher in patients with early-stage and clinical-stage diabetic nephropathy than in the controls ($P<0.01$). Conclusion: This method is sensitive and reliable for diagnosis of early diabetic nephropathy.

Key words diabetic nephropathy; retinol-binding protein; transferrin; type-IV collagen

糖尿病肾病(Diabetic nephropathy, DN)为糖尿病(Diabetes mellitus, DM)的一种严重慢性并发症,在糖尿病人的死亡原因中占有较大比例,故早期诊断对糖尿病的防治和预后具有重要意义。在早期肾活检发现组织学改变时,临床上常无症状,尿常规与肾功能检查均可正常。目前肾病的实验室诊断多以尿微量蛋白、肌酐等作为主要诊断指标,这些指标也难以发现肾脏的早期损害。我们联合检测尿中视黄醇结合蛋白(R-binding protein, RBP)、转铁蛋白(Transferrin, TRF)等微量蛋白和Ⅳ型胶原(Type Ⅳ collagen, Ⅳ-C),以期早期发现肾脏损害,进而有助于筛选及检出早期糖尿病肾病。

1 材料与方法

1.1 研究对象

1.1.1 正常对照组 50例,为健康体检人群,男28例,女22例,平均年龄(35.2±10.8)岁。

1.1.2 糖尿病组 按WHO标准诊断:空腹血糖≥7.8 mmol/L或2 h血糖≥11.1 mmol/L纳入本研究。共50例,其中男性26例,女性24例,平均年龄(54.2±13.5)岁,以上病例均无其它原因引起的泌尿系统病变及近期服用肾毒性药物史。

作者简介:姚春艳(1976.6),女,吉林省长春市人,学士,住院医师,主要从事糖尿病肾病的检测方面的研究,发表论文1篇。电话:(023)68754209

收稿日期:1999-10-18;修回日期:1999-12-28

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

根据糖尿病患者尿微量白蛋白排泄率（Urinary albumin excretion rate，UAER）将其分为 3 组。DM_1 组：UAER＜30 mg/24 h，为无肾病组共 15 例。DM_2 组：UAER 在 30～300 mg/24 h，为初期肾病组共 17 例。DM_3 组：UAER＞300 mg/24 h，为临床肾病组共 18例。

1.2　方法

1.2.1　免疫比浊法测定尿微量白蛋白　试剂由伊利康生物制品公司提供。同时用 Beckman CX7 全自动生化分析仪测量尿肌酐，试剂由美国贝克曼公司提供。结果以 mALB/Cr 表示，单位为 mg/mmol。

1.2.2　尿 RBP、TRF 测定　留取除晨尿外的尿液，离心收集上清液，根据磺基水杨酸尿蛋白定量结果进行不同倍数的稀释。采用 ELISA 法，按福建太阳生物技术公司提供的试剂盒说明书进行测定。结果分别以 RBP/Cr、TRF/Cr 表示，单位为 mg/mmol。

1.2.3　尿Ⅳ-C 测定　由于Ⅳ-C 在尿中浓度较低，需对标本进行浓缩。其操作为在离心后的尿液标本中缓慢依次加入 Sigma Chemical CO. 出品的 10 g/ L 牛 γ-球蛋白 0.8 ml 和 5 ml 的 450 g/ L的 PEG-4000，在 4℃孵育 5 min 后，于冷冻离心机离心，弃上清液，再用生理盐水充分溶解至 1 ml，即得到 10 倍浓缩尿标本。将浓缩后的尿标本采用 ELISA 法，按中国科学院上海细胞生物研究所施高生物技术实业有限公司生产的Ⅳ-C测定试剂盒说明书进行测定。单位为 ng/ml。

1.3　数据统计

实验数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示，以单因素方差分析进行数据处理，部分指标进行相关分析。$P<0.05$ 为差异显著。

2　结果

正常对照组与糖尿病各组间尿中 mALB、RBP、TRF 及Ⅳ-C 含量的比较见表 1。在正常对照组、糖尿病无肾病组、初期肾病组及临床肾病组中其尿中的 mALB、RBP、TRF 及Ⅳ-C 含量均呈递增趋势。其中在无肾病组（DM_1），其微量白蛋白含量与正常对照组无明显差异（$P>0.05$），而 RBP、TRF 及Ⅳ-C 含量均已高于正常对照组（$P<0.05$）。在初期肾病组（DM_2），尿中 mALB、RBP、TRF 及Ⅳ-C 4 种微量蛋白的含量与正常对照组相比均有显著升高（$P<0.01$），且高于无肾病组（$P<0.05$）。在临床肾病组（DM_3），尿中上述 4 种微量蛋白的含量与对照组、无肾病组及初期肾病组相比，均呈显著性升高，其中增加的倍数以 mALB 为最。

表 1　正常对照组与糖尿病各组间尿微量蛋白检测结果比较

Tab 1　Comparison of the detected results among the control group and various DM groups

Group	n	mALB/Cr(mg/mmol)	RBP/Cr(mg/mmol)	TRF/Cr(mg/mmol)	Ⅳ-C(ng/ml)
Control	50	1.82 ± 0.36	2.12 ± 0.95	1.81 ± 0.52	44.68 ± 17.2
DM_1	15	5.96 ± 2.84	14.83 ± 8.19*	5.94 ± 2.78*	90.82 ± 67.97*
DM_2	17	27.23 ± 18.34**	28.09 ± 13.69**	19.56 ± 7.58**	146.83 ± 72.8**
DM_3	18	52.72 ± 28.60**	43.87 ± 21.56**	35.86 ± 28.68**	259.46 ± 107.3**

*：$P<0.05$，**：$P<0.01$ *vs* control

3　讨论

糖尿病患者并发糖尿病肾病的死亡率为未并发肾病者的 30 倍，一旦发生临床糖尿病肾病，则缺乏有效方法制止其发展，故早期诊断对糖尿病肾病的防治和预后尤为重要。由于早期肾脏病有关症状不多，在少量蛋白尿时也不易被注意，因此大多糖尿病肾病患者总在有明显蛋白尿时方被察觉。认为尿微量白蛋白检测对糖尿病肾病的早期诊断具有价值，在糖尿病患者的尿常规检查中，一旦出现持续阳性，糖尿病肾病的发展将无法逆转[1]。现已有人将视黄醇结合蛋白、转铁蛋白、微量白蛋白及 N-乙酰-β-D 氨基葡萄糖苷酶合称为尿系列蛋白[2]，认为他们对糖尿病肾病的早期诊断有重要价值。

RBP 是一种分子量为 21.2×10^3u 的低分子量蛋白，经肾小球滤出后，在近端小管几乎完全被重吸收。RBP 本身具有较好的稳定性，产量相对恒定，故其在尿中的排泄量可作为肾小管功能受损的一个灵敏指标。实验结果显示，在糖尿病无肾病组中，其尿微量白蛋白含量与对照组相近，而 RBP 含量已增高，且与对照组存在显著差异。这说明糖尿病患者尿中白蛋白含量尚未增加之前，RBP 的含量已明显升高。并可进一步说明，在糖尿病的早期尚未发生肾小球功能障碍时，已存在肾小管的功能损伤[3]。

转铁蛋白分子较白蛋白稍大，但所带负电荷较少。负电荷越少，就越易通过肾小球的负电荷屏障碍。因此当糖尿病患者的肾小球滤过膜上出现电荷改变时，转铁蛋白较白蛋白更易从肾小球滤过，尿中转铁蛋白排泄量的增加较白蛋白排泄量的增加出现更早。实验的 DM_1 组中，在 mALB 与对照组相近的情况下，TRF 的含量已呈增高趋势，这说明 TRF 可作为诊

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

断糖尿病早期肾脏病变的一项敏感指标。

Ⅳ-C 为细胞外基质(Extracellular matrix, ECM)的主要成份,是构成基底膜骨架的主要胶原成份。因其在尿中的含量很低,故采用 PEG-4000 沉淀大分子蛋白的方法[4],对尿标本进行浓缩后检测,结果显示在 DM_1 组,Ⅳ-C 同样出现增高趋势。这说明在肾小球基底膜功能损害较轻,尿中 mALB 含量尚正常时,已出现了Ⅳ-C 的增加。糖尿病患者尿中Ⅳ-C,随肾病加重而增加,说明其可以作为糖尿病肾病发展的指标。近年来 Kotajima 等[5]利用一种高度敏感且无需浓缩尿的方法,并通过加入 Tris-缓冲液除去沉淀等干扰物,对尿中Ⅳ-C 进行测定。其研究表明,当 DM 患者尿中微量白蛋白尚在正常范围时,尿中Ⅳ-C 含量已有明显升高,同时伴有糖化血红蛋白水平的升高,这些结果均显示尿Ⅳ-C 为有用的糖尿病肾病早期标志物。

总之,联合检测尿中 RBP、TRF 等微量蛋白和Ⅳ-C 的含量可监测糖尿病肾病的发生和发展,为发现早期糖尿病肾病有意义的临床指标。

参考文献

[1] Parving H H, Andersen A R, Smibt U M, *et al*. Effect of antihypertensive treatment on kidney function in diabetic nephropathy[J]. Br Med J, 1987, 294(6):1443—1447.

[2] 陈海英,沈稚舟. Ⅱ型糖尿病病人微量白蛋白尿的影响因素[J]. 中国实验诊断杂志, 1998, 2(1): 18—21.

[3] Hong C Y, Chia K S. Markers of diabetic nephropathy[J]. J Diabetes Complications, 1998, 12(1): 43—46.

[4] Banu N, Hara H, Katacka S, *et al*. A novel method for concentrating urinary type Ⅳ collagen based on precipitation with polyethylene glycol: Application to its measurement by enzyme immunoassay[J]. Ann Clin Biochem, 1994, 31(Pt 5): 485—491.

[5] Kotajima N, Fukumura Y, Obata S U, *et al*. The significance of determination of urinary type Ⅳ collagen concentrations from a random urine collection in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus[J]. Rinsho Byori, 1998, 46(3) 277—282.

(编辑 冯崇英)

(上接 159 页)

了吻合口的暴露,吻合口区域感染的机率也相应减少,食管胃粘膜对合整齐,组织反应轻微,因此能防止吻合口瘘的发生[5]。另外,因为 CDH(SDH) 25 圆形吻合器的钉座头外径为 25 mm,环形刀具内径为 16.4 mm,而国产 GFH 型 26 号(外径为 26 mm)、28 号(外径为 28 mm)的环形刀具内径分别为 15.0 mm 和 16.0 mm,因此在吻合时 CDH(SDH) 25 可最大限度切除吻合口内的食管残端和胃壁,减少组织残留,因而大大减轻了愈合过程中肉芽组织过度生长,降低了吻合口狭窄发生的可能性。

本组术后出现 2 例胃食管返流,我们认为主要原因是:①胃食管端侧吻合无抗返流作用,胃内容物因咳嗽、体位关系造成胃食管压力梯度的改变;②手术使正常的食管下段括约肌、膈肌脚的"弹簧夹"作用、胃底与食管间的 His 角等抗返流机制均不复存在;③手术中破坏了迷走神经、正常的胃血液循环和蠕动功能,使排空能力大大下降。因此在使用该吻合器时可考虑加行抗返流手术。

PROXIMATE 圆形吻合器是一次性的,使用较为便捷。可以直接置于食管床内进行吻合,几乎不受主动脉弓的影响,可在弓后吻合。在充分切除肿瘤的前提下,原则上可置于胸内任何地方进行吻合,一定程度上避免了胸顶吻合及颈部吻合的繁杂,因而减小了手术创伤(可避免多作切口),节省手术时间,减小了对胃的游离及揉搓,降低了胃壁坏死及溃疡成瘘的可能性,也减小了吻合口的张力。因此该类吻合器使用简便,安全可靠,优于手工吻合及国内同类产品。但其为美国强生公司专利产品,价格较昂贵,临床上的广泛使用尚存在困难,同时还需积累更多资料以考证其远期疗效。

关键词 吻合器;食管胃吻合

中图法分类号 R615:R655.4 文献标识码 B

参考文献

[1] 邵令方,张毓德 主编. 食管外科学[M]. 石家庄:河北科学技术出版社, 1987. 609.

[2] 张效公,孙玉鹗,黄孝迈. 用吻合器行食管胃胸内吻合术预防吻合口瘘的经验[J]. 中华外科杂志, 1989, 27(6): 549—552.

[3] Muehrcke D D, Kaplan D K, Hashimoto K, *et al*. Anastomotic narrowing after esophagogastrectomy with the EEA stapling device[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 1989, 97(5):434—439.

[4] 赵雍凡,刘伦旭,郑立新,等. CDH25 型圆形吻合器在食管手术动物实验和临床应用的初步报告[J]. 中国胸心血管外科临床杂志, 1996, 3(1):39—41.

[5] 孙玉鹗,于长海,戴为民,等. 机械吻合在食管外科中的应用[J]. 中华胸心血管外科杂志, 1996, 12(1):20—21.

(编辑 冷怀明)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net