DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.01.021
第22卷第1期 第三军医大学学报 Vol. 22, No. 1
2000年1月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jan. 2000


文章编号:1000-5404(2000)01-0049-04

论著

# 血清羟脯氨酸浓度和脯肽酶活性在判断肾纤维化病程中的意义

袁发焕[1],刘素英[1],光丽霞[2],孙 伟[3] (第三军医大学:[1]附属新桥医院肾内科;[2]附属新桥医院小儿科;重庆 400037;[3]高原军事医学系中心实验室,重庆 400038)

提 要 目的:探讨血清羟脯氨酸浓度和脯肽酶活性在反映肾纤维化中的意义。方法:经肾活检证实的有(纤维化组)和无(无纤维化组)肾小球硬化与肾间质纤维化的肾脏病人各10例,健康献血员(对照组)10例,测血清羟脯氨酸浓度、血清脯肽酶活性等指标。结果:纤维化组血清羟脯氨酸浓度显著高于无纤维化组($P<0.001$)和健康对照组($P<0.001$),以此指标显著增高判断肾纤维化,敏感性100%,特异性91%,假阳性9%,与肾活检符合率95%。纤维化组血清脯肽酶活性亦显著高于无纤维化组($P<0.05$)和健康对照组($P<0.05$),以此指标显著增高判断肾纤维化,敏感性80%,特异性100%,未发现假阳性,与肾活检符合率90%。血清羟脯氨酸浓度与患者血清肌酐浓度、纤维化肾小球比率和病变肾小管、肾间质比率显著正相关。结论:血清羟脯氨酸浓度和脯肽酶活性,可作为判断肾脏病人肾纤维化的无创性检查指标,尤其适用于有肾活检禁忌症的病人。

关键词 羟脯氨酸;脯肽酶;肾脏;纤维化
中图法分类号 R692.02 文献标识码 A

# Serum hydroxyproline and prolinase are useful for diagnosis of renal fibrosis

YUAN Fa-huan, LIU Su-ying, GUANG Li-xia, SUN Wei (Department of Nephrology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037)

**Abstract** Objective: To explore the role of serum hydroxyproline concentration and prolinase activity in the diagnosis of renal fibrosis. Methods: Twenty patients with renal diseases confirmed by biopsy were divided into non-fibrotic group and fibrotic group with 10 in each. Other 10 healthy blood donors were employed as the control. Before the venous blood samples were collected, all the subjects were banned for meat in food for 3 days. The serum hydroxyproline concentration was measured with Beckman 6300 gold system amino-acid analyzer and the prolinase activity was determined with enzyme-substrate method. Other indexes were measured with routine methods. Results: The serum hydroxyproline concentration was significantly higher in fibrotic group than in the non-fibrotic and control groups ($P<0.001$). The increase of serum hydroxyproline predicted the renal fibrosis with 100% sensitivity, 91% specificity, 9% pseudo positivity and 95% accordance with renal biopsy. The serum prolinase activity was also markedly higher in fibrotic group than in non-fibrotic and control groups ($P<0.05$). The increase of proline activity predicted the renal fibrosis with 80% sensitivity, 100% specificity and 90% accordance to renal biopsy. Conclusion: The serum hydroxyproline concentration and prolinase activity might be used as 2 parameters of non-traumatic examination for diagnosis of renal fibrosis. The two are especially suitable for those patients with renal diseases who an no receive renal biopsy.

**Key words** hydroxyproline; prolinase; kidney; fibrosis

肾脏病患者的临床表现与其病肾的病理特征可以不一致,常见到肾炎"痊愈"后数年或数十年发生慢性肾衰,甚至既往无肾脏病的临床表现,一发病即为慢性肾衰的。对于这些临床表现相对隐匿的肾脏病患者,要准确判断病肾是否已发生纤维化,并非是一件容易的事。肾活检虽能提供重要信息,但为创伤性检查,不是每位肾脏病患者都能接受,也难以反复作,不便于随访动态观察。因此,寻找一项无创性可重复的能判断

作者简介:袁发焕(1957.2),男,湖北省公安县人,博士,副主任医师 副教授,主要从事慢性肾炎发病机制和防治方面的研究,发表论文64篇。电话:(023)68755023

收稿日期:1999-04-19;修回日期:1999-09-29

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

病肾纤维化程度的检查指标，是肾脏病工作者和肾脏病患者共同的希望。我们以往的研究[1]和其他作者的研究[2]表明，5/6 肾切除大鼠残肾组织和血清中羟脯氨酸含量显著增高，但血清羟脯氨酸浓度增高是否反映肾组织纤维化，则尚未见有关报道。本研究探讨血清羟脯氨酸浓度和脯肽酶活性对肾脏病患者病肾纤维化的判断价值。

## 1 对象与方法

### 1.1 病人及分组

1997 年 12 月至 1998 年 6 月我科住院并接受肾活检患者和同期我院血库献血员，分为以下 3 组。献血员组(Control)10 例，男∶女=4∶6，年龄 28～48 岁，平均(37.9±6.5)岁，均无肝炎、肾炎病史，并经血、尿、大便常规检查和肝、肾 B 超、胸片、肝炎病毒感染标志 9 项(HBsAg，抗-HBs，HBeAg，抗-HBe，抗-HBc-IgG，抗-HBc-IgM，抗-HAV-IgM，抗-HCV，抗-HEV)、爱滋病病毒抗体等检查，均阴性。无纤维化组 10 例，男∶女=5∶5，年龄 15～55 岁，平均 35.6 岁；临床表现为急性肾炎 3 例，肾病综合征 7 例[3]；临床病程 <1 年者 7 例，>1 年者 3 例；肾脏病理表现为微小病变 2 例，系膜增生性肾炎 2 例，毛细血管内增生性肾炎 2 例，膜性肾病 3 例，膜增生性肾炎 1 例。纤维化组 10 例，男∶女=6∶4，年龄 17～60 岁，平均(39.3±10.9)岁；临床表现为慢性肾炎 3 例，肾病综合征 2 例，慢性肾衰 4 例(肾体积不小)，不明原因肾衰 1 例；临床病程 <1 年者 2 例，>1 年者 8 例；肾脏病理表现，全部病例均有不同比例的肾小球节段性或球性硬化，伴有不同程度的肾间质纤维化，并有残余肾小球肥大、肾小管扩张。两组病人肝 B 超正常，肝炎病毒感染标志 9 项阴性，临床排除糖尿病、多发性骨髓瘤、结缔组织病等。

### 1.2 检测方法

病人和献血员禁肉食 3 d 后，于清晨空腹取静脉血，同时留尿。血清和尿羟脯氨酸浓度采用 Beckman 6300 型黄金系统高效氨基酸分析仪测定[1]，按公司说明书操作。血清脯肽酶活性，采用酶-底物法测定，试剂盒由第三军医大学附属西南医院全军传染病中心胡大荣教授馈赠，批号 971021，按说明书操作[4]。肝功、肾功、血糖等生化指标采用日立 7150 全自动生化分析仪测定；血液常规采用 Sysmex F-800 血细胞分析仪测定；尿常规采用 Miditron M 全自动尿液分析仪测定，肝炎病毒标志采用 ELISA 方法测定。尿蛋白质和尿糖按(－)=0、±=0.5、＋=1、＋＋=2、＋＋＋=3、＋＋＋＋=4，进行半定量分析。采用 21 线 42 点目镜多能测试系统(军事医学科学院放射医学研究所提供)，按文献[5]方法在 Masson 染色切片上测定病变肾小管、肾间质(包括肾小管萎缩、间质炎症细胞浸润和纤维化)占肾小管、肾间质的比率；并计算纤维化肾小球占全片肾小球的比率(在计数纤维化小球时，小于和等于 1/2 个小球的纤维化病变，按 1/2 计算；大于 1/2 个小球的纤维化病变，按 1 计算)。

### 1.3 统计学处理

数据采用 $\bar{x}\pm s$ 表示，用第三军医大学数学教研室研制的医用统计程序包在微机上作配对方差分析和逐步回归分析。

## 2 结果

3 组间性别、年龄差异不显著($P>0.05$)。

纤维化组血清羟脯氨酸浓度和脯肽酶活性显著高于献血员组和无纤维化组，而无纤维化组和献血员组间上述两指标无显著差异，见表 1。若将血清羟脯氨酸浓度超过正常对照组两个标准差(21 μmol/L)，视为显著增高，则纤维化组 10 例均达此标准，无纤维化组 1 例达此标准；以此标准判断肾纤维化，敏感性 100%，特异性 91%，假阳性 9%，与肾活检的符合率为 95%。若将血清脯肽酶活性超过正常对照组两个标准差(1 800 U/L)，视为显著增高，则纤维化组 8 例达此标准，无纤维化组无 1 例达此标准；以此标准判断肾纤维化，敏感性 80%，特异性 100%，未发现假阳性，与肾活检符合率为 90%。

**表 1 血清羟脯氨酸浓度和脯肽酶活性($n=10$)**

**Tab 1 Serum hydroxyproline concentration and prolinase activity($n=10$)**

| Group | Hydroxyproline($C_B$/μmol·L$^{-1}$) | Prolinase(U/L) |
|---|---|---|
| Control | 13.1±3.7*** | 1 241.2±284.9* |
| Non-fibrosis | 16.4±5.9*** | 1 364.5±337.1* |
| Fibrosis | 33.7±7.2 | 2 018.7±505.5 |

*：$P<0.05$，***：$P<0.001$ *vs* fibrosis

无纤维化组 2 例有氮质血症，纤维化组 5 例有氮质血症。纤维化组血清肌酐和尿素浓度显著高于无纤维化组和健康对照组，后两组间差异不显著；无纤维化组血清白蛋白浓度显著低于健康对照组和纤维化组，后两组间差异不显著；纤维化组血色素显著低于无纤维化组和健康对照组，后两组间差异不显著，见表 2。

两组肾脏病人尿蛋白和尿糖均显著高于健康对照组，两组肾脏病人间差异不显著，见表 3。

**表 2 血清肌酐、尿素、白蛋白浓度和血色素含量($n=10$)**

**Tab 2 Serum creatinine, urea, and albumin concentration, and hemoglobin content($n=10$)**

| Group | Creatinine($C_B$/μmol·L$^{-1}$) | Urea($C_B$/mmol·L$^{-1}$) | Albumin($\rho_B$/g·L$^{-1}$) | Hemoglobin($\rho_B$/g·L$^{-1}$) |
|---|---|---|---|---|
| Control | 98.3±21.6** | 5.3±0.8** | 45.3±4.6 | 123.1±5.8* |
| Non-fibrosis | 145.5±43.5* | 6.4±0.9** | 26.5±4.3* | 116.4±12.1* |
| Fibrosis | 374.3±98.2 | 16.1±7.4 | 36.4±3.6 | 97.7±5.4 |

*：$P<0.05$，**：$P<0.01$ *vs* fibrosis group

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

表 3　尿蛋白和尿糖半定量分析($n = 10$)

Tab 3　Half-quantitative analysis of urine protein and glucose($n = 10$)

| Group | Protein | Glucose |
|---|---|---|
| Control | 0 ± 0 | 0 ± 0 |
| Non-fibrosis | 2.5 ± 1.2 | 0.5 ± 1.0* |
| Fibrosis | 2.5 ± 1.2* | 1.0 ± 1.2* |

*: $P < 0.05$ *vs* control;

Definition: (-) = 0, ± = 0.5, + = 1, ++ = 2, +++ = 3, ++++ = 4

纤维化组患者: 纤维化肾小球比率为 0.42 ± 0.04 ;病变肾小管、肾间质比率为 0.25 ± 0.05。

各组间血白细胞计数、血小板计数、谷丙转氨酶、谷草转氨酶和肝炎病毒感染标志差异不显著 ($P > 0.05$), 均在正常范围。各组尿羟脯氨酸浓度均小于 1 μmol/ L, 各组间差异不显著 ($P > 0.05$)。

用血清脯肽酶活性, 血清肌酐、尿素、白蛋白浓度, 血色素含量, 尿蛋白、尿糖、纤维化肾小球比率及病变肾小管和肾间质比率等指标对血清羟脯氨酸浓度进行逐步回归分析, 结果血清羟脯氨酸浓度与血清肌酐浓度、纤维化肾小球比率和病变肾小管和肾间质比率呈显著正相关, 相关系数 $r = 0.537$ ($P < 0.05$), 回归方程为: 血清羟脯氨酸浓度 (μmol/ L) = 5.2 + 0.07 × 血清肌酐浓度 (μmol/ L) + 1.14 × 纤维化肾小球比率 + 2.03 × 病变肾小管和肾间质比率。

## 3　讨论

本研究无纤维化组有 3 例临床病程 > 1 年, 而纤维化组却有 2 例临床病程 < 1 年, 再次说明不宜简单地以出现肾脏病临床表现的时间长短来判断病肾是否已发生纤维化。

脯肽酶是一种分子量 35 × $10^3$u 的蛋白水解酶, 能水解 C 末端含脯氨酸或羟脯氨酸的多肽, 参与胶原的降解, 正常肝、肾等组织有一定水平的表达[6,7]。有报道肝纤维化时血清脯肽酶活性增高[4], 尚未见血清脯肽酶活性与肾纤维化关系的报道。本研究纤维化组的血清脯肽酶活性显著高于无纤维化组和健康对照组, 8 例血清脯肽酶活性显著增高的患者均无肝炎病史, 肝炎病毒感染标志 9 项均阴性, 肝功和肝 B 超未见异常, 临床上可排除肝纤维化, 也排除了糖尿病、多发性骨髓瘤、结缔组织病等, 而肾活检证实有肾小球硬化和肾间质纤维化, 说明这些病人的血清脯肽酶活性增高是由于肾纤维化所致, 可能与肾纤维化后, 机体代偿性合成脯肽酶增多有关。本资料血清脯肽酶活性显著增高反映肾纤维化的敏感性 80%, 特异性 100%, 故临床上若能排除肾外器官纤维化, 肾脏病人血清脯肽酶活性显著增高, 无论其临床病程长短, 均应高度怀疑肾纤维化。本研究纤维化组仅 5 例表现为肾衰, 说明血清脯肽酶活性增高可在氮质血症之前出现, 有早期诊断的意义, 但单用此指标评价, 可使 20%的肾纤维化病人漏诊。

羟脯氨酸主要位于胶原中, 是构成胶原的主要成份之一。血液中的羟脯氨酸除了饮食来源外, 主要来源于体内组织胶原的降解。有作者报道, 5/6 肾切除大鼠血中羟脯氨酸浓度显著升高[2], 尚未见关于肾脏病人血清羟脯氨酸与肾活检对比研究的报道。本研究受试者取标本前均禁肉食 3 d, 排除了饮食来源的干扰, 也排除了肝病、糖尿病、多发性骨髓瘤、结缔组织病等肾外器官纤维化和胶原过多降解的可能性, 说明纤维化组的血清羟脯氨酸浓度升高与其病肾的纤维化相关联。本资料显示, 血清羟脯氨酸浓度与纤维化肾小球比率和病变肾小管、肾间质比率显著正相关; 以血清羟脯氨酸含量显著增高判断肾纤维化, 敏感性 100%, 特异性 91%, 假阳性 9%, 比血清脯肽酶活性更敏感, 但特异性稍差, 临床上若能将二者同时测定, 综合评价, 可互相取长补短, 有实用价值。

有作者报道, 大鼠行 5/6 肾切除术后, 尿中羟脯氨酸浓度显著增加[8], 我们的资料 3 组间尿羟脯氨酸浓度差异不显著, 与 Braunlich 等的报道结果不同, 其原因有待进一步深究。

本研究纤维化组血清肌酐和尿素浓度显著高于无纤维化组, 血色素含量显著低于无纤维化组说明纤维化组肾功能状况显著差于无纤维化组, 这与其肾脏病变显著重于无纤维化组相吻合。逐步回归分析结果表明, 血清羟脯氨酸浓度与血清肌酐浓度呈显著正相关, 说明尽管血清羟脯氨酸浓度增高可在氮质血症之前出现, 但一旦出现氮质血症, 则血中羟脯氨酸浓度上升更明显。本研究无纤维化组血白蛋白浓度显著降低与该组肾病综合征患者较多有关。纤维化组与无纤维化组间尿蛋白和尿糖差异不显著, 但均显著高于健康对照组, 说明有尿糖、尿蛋白的病人不一定有肾纤维化, 无纤维化组患者尿糖阳性可能与其大量蛋白尿损伤肾小管有关。

总之, 本资料提示, 在排除肾外器官纤维化和饮食干扰的前提下, 肾脏病人血清羟脯氨酸浓度和脯肽酶活性增高, 可作为判断肾脏病人肾纤维化的无创性辅助检查指标, 尤其适用于有肾活检禁忌症的病人。

参考文献

[1] 袁发焕, 史景泉, 光丽霞, 等 . 维生素 E 对大鼠残肾纤维化的抑制作用[J] . 中国临床药理学与治疗学杂志, 1997, 2(3): 61－164.

[2] Shimizu T, Fukagawa M, Kuroda T, *et al*. Pirfenidone prevents collagen accumulation in the remnant kidney in rats with partial nephrectomy[J]. Kidney Int, 1997, 63(Suppl) S239－S243.

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

[3] 王海燕, 郑法雷, 刘玉春, 等. 原发性肾小球疾病分型与治疗及诊断标准专题座谈会纪要[J]. 中华内科杂志, 1993, 32(2): 131－134.
[4] 中华医学会传染病寄生虫病学会. 病毒性肝炎防治方案[J]. 中华传染病杂志, 1995, 13(4): 241－247.
[5] 申 洪, 沈忠英. 实用生物体视学技术[M]. 广州: 中山大学出版社, 1991. 26－216.
[6] Varmanen P, Steele J, Palva A. Characterization of a prolinase gene and its product and an adjacent ABC transporter gene from lactabacillus helveticus[J]. Microbiology, 1996, 142(pt 4): 809－816.
[7] Srirenugopal K S, Ali-Osman F. Activity and distribution of the cysteine prodrug activating enzyme, 5-oxo-L-prolinase, in human normal and tumor tissues[J]. Cancer Lett, 1997, 117(1): 105－111.
[8] Braunlich H, Marxo F, Fleck C, *et al*. Kidney function in rats after 5/6 nephrectomy, effort of treatment with vitamin E[J]. Exp Toxicol Pathol, 1997, 49(1-2): 135－139.

（编辑 王 红）

## 经验与短篇

文章编号: 1000-5404(2000)01-0052-01

# 严重低蛋白血症卵巢癌根治术后诱发急性肺水肿1例

# A case of pulmonary edema induced by sever hypoproteinemia after the radical operation of oophoroma

杜 权, 张华云, 汤红英 （第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所麻醉科, 重庆 400042）

患者, 女, 49岁, 体重 66 kg, AsA Ⅲ~Ⅳ级, 术前诊断卵巢恶性肿瘤, 拟行卵巢癌根治术, 测 PR 134/min, RR 24/min, BP 16.0/8.0 kPa。查体: 心肺未见异常, 腹部可扪及一包块占据整个下腹部, 移动性浊音阳性。B超示腹盆腔囊性占位伴腹水。曾于入院后两次行腹穿, 共放出腹水 3 500 ml, 化验第一次的腹水标本, 蛋白 38.9 g/L, 比重 1.035, 细胞总数 $3.2\times10^9$/L。入手术室后, 静注芬太尼、阿曲库铵、依托咪酯诱导, 气管内插管, 行 IPPV (间歇正压通气), 以普鲁卡因复合液、异氟醚维持麻醉, 间断静注 r-羟基丁酸钠、氟芬合剂。开腹后, 75 min 放出腹水 6 800 ml。术中 HR 108~180/min, BP 14.6(6.0~21.7)/11.5 kPa, $S_pO_2$ 98%~100%, 手术历时 3 h。输血 400 ml, 血安定 500 ml, 晶体液 1 000 ml, 出血约 300 ml, 尿 100 ml。术毕, RR 25~32/min, $V_T$ 300~350 ml, 呼之能睁眼, 有咳嗽反射。脱麻醉机后, $S_pO_2$ 骤降, 最低至 70%, 并呈现呼吸急促, 精神烦躁。气管导管内吸出大量浅黄色稀薄液体。双肺听诊呼吸音粗糙, 可闻及细湿罗音。予以激素、强心、利尿、镇静等治疗, 又输血 400 ml, 并加用 PEEP(呼气末正压通气)。由于病情无明显改善, 送 ICU, 继续用呼吸机支持 2 d, 痊愈出院。急诊查胸片示双下肺片状模糊阴影, 血气示 pH 7.527, $PaCO_2$ 3.9 kPa, $PaO_2$ 10.0 kPa, AG 5 mmol/L, 术后肝功示 A/G =25.60/25.08 g/L, 病理报告为卵巢内胚窦瘤Ⅳ期。

## 讨论

单纯性低蛋白血症在血浆胶体渗透压（COP）降低的同时伴有肺血管周围的 COP 下降, 故很少产生肺水肿[1]。当血浆 COP 减低并伴肺毛细血管楔压(PCWP)增高时, 血浆 COP 与 PCWP 梯度加大, 血管外肺水增多[2], 易诱发肺水肿。本文病例术前就可能存在低蛋白血症, 术中于较短时间内放出大量渗出性腹水, 丢失了大量蛋白质, 且输液使血浆蛋白稀释, 血浆 COP 必然明显下降。同时, 手术解除了腹腔内静脉压迫, 使右心回血量增加, 由此而导致的肺血流动力学改变和全身应激状态下肾上腺机能亢进等一系列病生过程, 最终在 IPPV 停止后导致肺水肿形成。总结教训, 我们认为需注意以下几点: ①术前准备要充分, 包括补充蛋白质、输液输血、多次小量引流腹水, 本例病人术前仅行晶体液补充维持。②术中严密监测, 测定 PCWP、CVP 等以指导腹水引流及输液。③术后应用适量白蛋白, 促进病情尽快改善。

关键词 低蛋白血症; 肺水肿; 卵巢肿瘤
中图法分类号 R541.63; R737.31 文献标识码 B

## 参考文献

[1] 白春学, 钮善福. 肺水肿[A]. 陈灏珠. 实用内科学[M]. 第10版. 北京: 人民卫生出版社, 1997. 1 468~1 471.
[2] 王祥瑞, 孙大金. 血管外肺水监测的进展[J]. 国外医学: 麻醉学与复苏分册, 1992, 13(2): 68－71.

（编辑 王 红）

作者简介: 杜 权(1972-6), 男, 四川省渠县人, 学士, 住院医师, 主要从事创伤、手术与凝血纤溶功能改变方面的研究, 发表论文1篇。电话: (023) 68757347

收稿日期: 1999-09-03; 修回日期: 1999-11-08

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