DOI:10.16016/j.1000-5404.1993.01.010

尿酶谱对镉诱导兔肾损害的早期诊断价值研究

黄君富 冯华芳 赵树铭 刘倩予 魏明竟 倪廷枢* （第三军医大学西南医院检验科）630038

提 要 本文给兔皮下注射氯化镉生理盐水诱导肾损害，探讨了尿酶作为发现镉诱导肾损害的早期指标的可能性。结果显示尿 ALP、GGT、AAP 及 TREH 排出量在镉处理一周后显著升高，早于尿 NAG、LDH、LYS 的升高，更早于蛋白尿的出现。尿 AST 在镉处理 6 周后才显著升高。血中以上各酶活性无明显变化，镉处理组肾小管刷状缘膜上 ALP、GGT、AAP 及 TREH 活性显著降低。结果提示除 AST 外，其它几种尿酶可用于早期发现镉诱导肾小管损害，尿中来源于肾小管刷状缘膜的 ALP、GGT、AAP、TREH 优于尿中 NAG、LYS 及 LDH 的测定。

关键词 镉；肾/损害；尿酶；兔

镉是一种常见的工业及环境毒素，主要在肾脏蓄积并导致肾小管损害。对镉工业工人及有关人群肾损害尚缺乏一种早期敏感的过筛试验，为此本实验建立了镉诱导肾损害模型，动态测定尿中几种来源于血液或肾脏不同亚细胞结构的酶，经研究各种影响尿酶排出的因素，初步推断在此病理情况下尿酶排出增加的原因；并经分析在镉诱导肾损害时尿酶谱的变化特征，对各种尿酶的早期诊断价值作出评价。

1 材料与方法

1.1 动物及分组

健康雌性日本长耳兔 20 只，体重 1.7～2.5kg，混合饲料喂养，自由饮水进食。随机将动物分为 2 组：(1)镉处理组（$n=10$）：皮下注射 0.8%的氯化镉生理盐水。每次按 1.0mgCd/kg 体重注射，3 次/周，共注射 10 周。(2)对照组（$n=10$）：皮下注射生理盐水，剂量同上。分别于注射前及注射后各周采集血.尿标本 1 次。

1.2 实验标本

1.2.1 尿标本：用自制兔代谢笼收集 24h 尿液。

1.2.2 从兔耳缘静脉取血标本 4～5ml，分离血清用于各指标测定。

1.2.3 肾脏标本：10 周后活杀动物取肾皮质，按常规方法用光镜、电镜进行形态学观察。同时取肾皮质分离肾近端小管刷状缘膜[1]，用于测定膜上 ALP、GGT、AAP、TREH 的活性。

1.3 各指标的测定

1.3.1 血、尿标本的前处理：取血清 1ml 用蒸馏水透析 2h(4℃)；尿液于 1000g 离心 10min 后，用凝胶过滤法除去酶抑制剂，用于酶活性测定。测定其它指标时，不需前处理。

1.3.2 测定方法：血及尿中 ALP（碱性磷酸酯酶）、GGT（γ-谷氨酰转肽酶）、LDH（乳酸脱氢酶）、AST（天冬氨酸氨基转移酶）的测定均采用 IFCC 推荐的速率法；LYS（溶菌酶）及 AAP（丙氨酸氨基肽酶）的测定也采用速率法[2,3]；NAG（N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷酶）及 TREH（海藻糖酶）的测定采用终点法[4,5]。尿 TP（总蛋白）、尿 Alb（白蛋白）、尿 β_2-MG（β_2-微球蛋白）、UN（尿素氮）及 Cr（肌酐）的测定采用我们以前报道的方法[6]。

2 结果

2.1 血液中各酶活性变化

实验期间血中 LYS、AAP、GGT、ALP、TREH、NAG 及 AST 的活性无论在对照组还是在镉处理组均无显著变化（图略）。

2.2 尿酶排出变化（表 1）

---

* 心肾科

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

表 1 尿酶排出量变化(IU/24 h, $\bar{x} \pm s$)

	组别	时间(周) 0	1	2	3	4	5	6	10
ALP	C	3.38±0.29	3.51±0.35	3.25±0.25	3.45±0.51	3.61±0.19	3.32±0.44	3.81±0.55	3.49±0.48
	T	3.41±0.55	6.28±2.17☆	8.84±2.15★	7.30±2.37☆	9.43±2.58☆	9.75±1.99☆	20.11±3.74☆	23.18±4.15☆
GGT	C	2.11±0.49	2.15±0.62	2.35±0.37	1.99±0.25	2.41±0.35	2.32±0.41	2.71±0.52	3.01±0.61
	T	2.02±0.50	4.85±1.22☆	4.88±1.30☆	3.89±1.04☆	4.44±0.88☆	3.96±0.55☆	7.35±2.27☆	15.13±4.31☆
TREH	C	1.55±0.32	1.82±0.57	1.91±0.77	1.65±0.93	1.75±0.47	1.88±0.69	2.03±0.82	1.99±0.94
	T	1.69±0.45	5.66±2.21☆	10.11±4.56☆	12.58±3.75☆	16.98±7.12☆	13.94±6.39☆	15.11±5.72☆	18.96±7.19☆
AAP	C	0.49±0.07	0.44±0.06	0.57±0.08	0.50±0.10	0.43±0.07	0.49±0.09	0.54±0.10	0.51±0.11
	T	0.46±0.06	1.12±0.12☆	1.34±0.23☆	2.53±0.42☆	2.43±0.31☆	2.75±0.47☆	2.46±0.51☆	2.61±0.62☆
NAG	C	0.28±0.05	0.27±0.08	0.30±0.08	0.29±0.07	0.31±0.11	0.26±0.09	0.32±0.10	0.30±0.12
	T	0.29±0.06	0.30±0.12	0.69±0.13☆	0.55±0.09☆	0.43±0.10★	0.35±0.09★	0.81±0.25☆	2.54±0.51☆
LDH	C	6.49±1.21	5.78±1.52	6.54±0.95	5.72±1.13	6.14±0.92	5.44±0.72	6.94±1.78	6.74±2.37
	T	6.33±0.96	6.41±2.55	8.84±3.22★	8.43±2.77★	8.91±3.48★	8.32±2.83▲	11.85±4.44▲	11.38±4.65▲
AST	C	0.19±0.07	0.20±0.05	0.17±0.04	0.16±0.03	0.21±0.05	0.16±0.04	0.19±0.09	0.21±0.07
	T	0.20±0.05	0.21±0.04	0.18±0.07	0.17±0.06	0.19±0.08	0.18±0.09	0.65±0.38▲	0.88±0.22☆
LYS (μg/24 h)	C	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	T	0±0	0±0	35.6±20.0☆	33.5±12.9☆	78.2±59.8☆	111.2±58.7☆	91.8±23.4☆	125.7±57.8☆

注: ☆ $P<0.001$ ▲ $P<0.01$ ★ $P<0.05$ C:对照组 T:镉处理组

尿 ALP、GGT、AAP 和 TREH 24 h 排出量在一周后镉处理组即显著高于对照组($P<0.001$);尿 LDH、NAG 和 LYS 24 h 排出量在 2 周后镉处理组显著高于对照组(P 值分别<0.05、0.001、0.001);尿 AST 24 h 排出量在 6 周后镉处理组才显著高于对照组($P<0.01$)。

2.3 肾近端小管刷状缘膜上各酶活性(表 2)

镉处理组肾近端小管状缘膜上其 TREH、AAP、ALP 及 GGT 酶活性较对照组显著下降($P<0.001$)。

2.4 尿 β_2-MG、Alb 及 TP 变化

镉处理组 2 周后尿 β_2-MG 排出量显著高于对照组($P<0.001$)。实验期间尿 Alb 排出量无论在镉处理组还是在对照组变化均不显著。尿 TP 排出量从 4 周后镉处理组显著高于对照组($P<0.01$)[6]。

表 2 肾近端小管刷状缘膜酶活性($\bar{x} \pm s$)

酶类	对照组	镉处理组
TREH[a]	18.21±4.25	2.52±1.02☆
AAP[b]	20.32±0.78	7.54±2.13☆
ALP[b]	16.85±3.18	3.55±0.97☆
GGT[b]	31.77±5.63	4.71±1.28☆

☆$P<0.001$; a: μmol 葡萄糖/min/g 肾皮质; b: ΔA/min/g 肾皮质

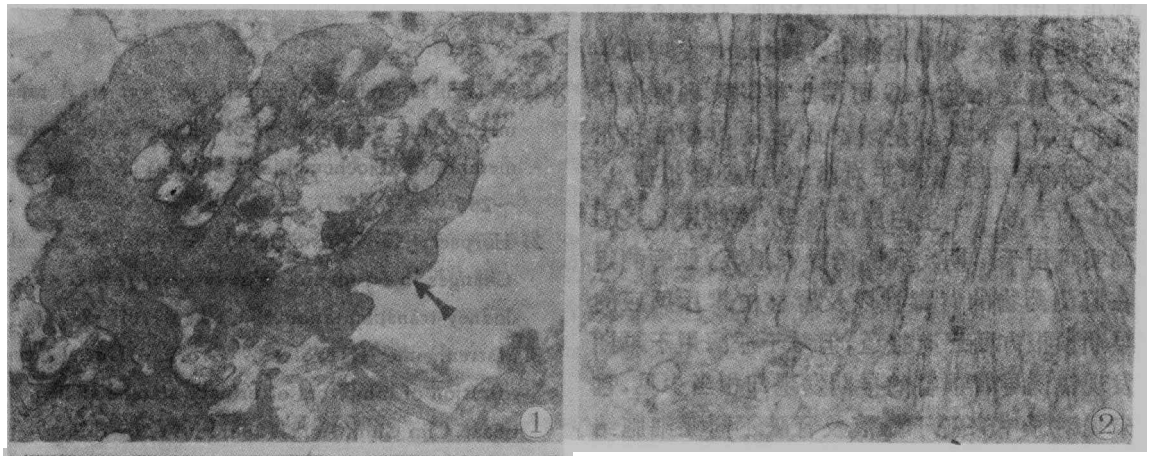
2.5 血 UN、Cr 及 Ccr 变化

实验期间血 UN 及 Cr 在两组动物间无显著差异,肌酐清除率(Ccr)在实验期间也无显著变化[6]。

2.6 形态学变化

镉处理组光镜下见肾小球结构无异常改变,近曲小管上皮细胞浊肿变性;电镜下见近曲小管上皮细胞微绒毛多有减少、脱落或粘连融合,胞浆肿胀突入管腔(图 1、2),细胞内溶酶体增多增大,内含颗粒性或髓鞘样高电子密度物质,线粒体轻度肿胀、扩张(图 3)。

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



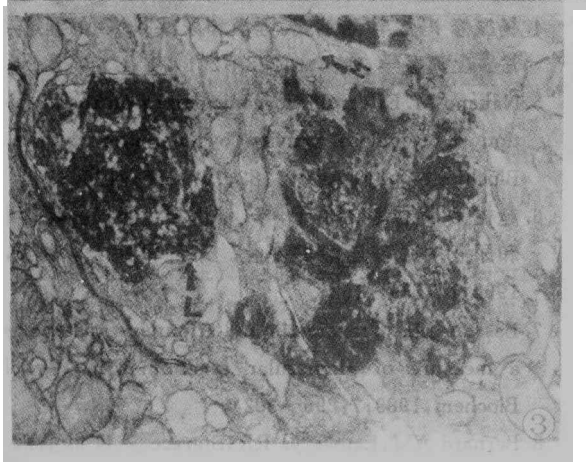


图 1 镉处理组肾近曲小管上皮细胞顶部微绒毛脱落、减少或肿胀突入管腔(→)。×10 000

图 2 镉处理组肾近曲小管上皮细胞微绒毛粘连、融合。 ×25 000

图 3 镉处理组肾近曲小管上皮细胞内溶酶体(L)明显增多、增大,线粒体(M)轻度扩张。×12 000

3 讨论

3.1 镉诱导肾损害时尿中各种酶的来源

尿 LYS 排出量受两种因素影响:(1)血中 LYS 浓度;(2)肾近端小管重吸收功能状况。在镉诱导肾损害时,血中 LYS 未升高。尿 LYS 排出量增加则可能因肾近端小管重吸收能力下降所致。

正常情况下,因 ALP、GGT、AAP、TREH、LDH、NAG 及 AST 分子量较大,血中的这些酶蛋白基本上不能经肾小球滤过。本实验采用尿 Alb 来反映肾小球滤过功能[7],发现在镉诱导肾损害时尿 Alb 排出量未明显改变,可认为肾小球滤过屏障未受损,滤过膜通透性未改变,因此在镉诱导肾损害时血中的这些酶同样也不可经肾小球大量滤过而进入尿中。实验期间镉处理组血中这些酶的活性并未升高,即使肾小球滤过膜通透性增加,也不可能对尿中这些酶的活性增加作出很大贡献。形态学观察发现镉诱导肾损害早期主要是近端肾小管受损,因此尿中这些酶排出量增加主要是由于肾近端小管上皮细胞膜及胞内酶释放入尿液增加所致。镉处理组近端肾小管刷状缘膜上 ALP、GGT、AAP 及 TREH 酶活性显著低于对照组也支持这种观点。

3.2 尿酶用于早期发现镉诱导肾损害的价值

实验期间血中 UN、Cr 及 Ccr 在两组动物间无显著差异,说明血 UN、Cr 及 Ccr 对早期发现镉诱导肾损害无价值。尿 TP 在 4 周后镉处理组显著高于对照组,对镉诱导肾损害的发

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

现虽有价值，但蛋白尿产生较晚，对镉诱导肾损害的早期发现则无价值。Bernard 发现尿中低分子量蛋白 β_2-MG 可用于早期发现镉诱导肾损害[8]。本实验发现 2 周后尿 β_2-MG 排出量，镉处理组显著高于对照组，镉处理组尿 β_2-MG 的升高早于蛋白尿的出现，说明尿 β_2-MG 确实可用于早期发现镉诱导肾损害。尿酶测定在监测药物的肾毒性以及肾移植排斥反应的早期预报方面已有报道，但对于尿酶用于早期发现镉诱导肾损害的早期发现却相当少见，且未见对尿中来源于血液及肾脏不同亚细胞结构的酶用于早期发现镉诱导肾损害的相对敏感性作出评价。本实验选择 LYS 作为尿中来源于血液的低分子酶类的代表；其它几种尿酶在肾脏含量丰富，且主要分布在近端肾小管[9]，这几种酶分别位于近端肾小管上皮细胞的不同亚细胞结构部位，其尿中排出变化模式可反映近端肾小管上皮细胞的损伤模式。本实验结构显示尿 ALP、GGT、AAP 及 TREH 排出量在一周后镉处理组显著高于对照组；尿 LYS、NAG、LDH 在 2 周后镉处理组显著高于对照组；而尿 AST 在 6 周后镉处理组才显著高于对照组，说明除尿 AST 外，其它尿酶均可用于早期发现镉诱导肾损害，来源于近端肾小管上皮细胞的刷状缘酶（ALP、GGT、AAP 及 TREH）最敏感，而来源于近端肾小管上皮细胞的溶酶体酶（NAG）及胞浆酶（LDH）敏感性次之。

参考文献

1. Malathi P, Preiser H, Fairclough P, et al. A rapid method for the isolation of kidney brush border membranes. Biochem Biophys Acta, 1979; 554: 259～263
2. Horpacsy G, Zeinsmeyer J, Schroder K, et al. Changes in serum and urine lysozyme activity after kidney transplantation. Clin Chem, 1978; 24: 74
3. Mattenheimer H, Frolke W, Grotsch H, et al. Identification of inhibitors of urinary alanine aminopeptidase. Clin Chim Acta, 1986; 160: 129～135
4. 杨振修 冯仁丰 陆慈安。唾液和尿液 NAG 的测定方法。上海医学，1983；6：228～231
5. Nakano M. Effect of inorganic anions on the inhibition of trehalase activity by mercuric chloride. Biochim biophys Acta, 1982; 707: 115～120
6. 赵树铭 黄君富 刘倩予，等。镉诱导兔肾损害时血清和尿液中胍基乙酸的变化。第三军医大学学报，1992；14：159～162
7. Bassam MF. Transferrin and Albumin excretion as a measure of glomerular function. Clin Physiol Biochem, 1989; 7: 296～302
8. Bernard AM, Lauwerys RR, Starace V, et al. Isolation of a low molecular weight β-globulin from urine of a worker with chronic cadmium poisioning. Biochem Biophys Res Commun, 1980; 93: 534～543
9. Walter G, Brian D. Enzyme distribution along the nephron. Kidney Int, 1984; 26: 101～111

（收稿：1992-07-06；修回：1992-11-18）

Urinary enzyme spectrum as early indicators of cadmium-induced renal tubular damage in rabbits

Huang Junfu, Feng Huafang, Zhao Shuming, et al. (Central Clinical Laboratory, Southwest Hospital, Third Military Medical College, Gaotanyan 630038, Chongqing)

Abstract After the rabbits were intoxicated with subcutaneous injections of cadmiun chloride solution in normal saline in the dosage of 1 mg/kg thrice weekly for 10 weeks, the efficacy of urinary enzyme spectrum to serve as indicators for renal tubular damage was assessed. The rabbits of the control received equal amount of normal saline instead of cadmium solution. Samples of

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

blood and urine were collected once a week. It was found that urinary ALP, GGT, AAP, and TREH were increased significantly from the lst week after intoxication, urinary NAG, LDH, and LYS were increased from the 2nd week, proteinuria occurred from the 4th week, and urinary AST was increased significantly from the 6th week. No changes of the plasma levels of the above mentioned enzymes were observed. The activities of AAP, ALP, GGT, and TREH in the brush border membrane of renal tubules were markedly decreased. On the basis of the foregoing findings, it is believed that all the urinary enzymes except AST can serve as early indicators for the cadmium-induced renal tubular damage and AAP, ALP, GGT and TREH, which originate from the tubular brush border membrane, are superior to NAG, LYS, and LDH for this purpose.

Key words cadmium; kidney/IN; urinary enzyme; rabbit

手工法置换血浆加血液光量子疗法治疗寻常型天疱疮一例

肖瑞卿 梁秀娥 林武存 田 玲 （第三军医大学西南医院输血科）630038
聂祝湘 （第三军医大学西南医院皮肤科）630038

天疱疮的治疗主要是用皮质类固醇激素。由于应用剂量大，疗程长，副作用多，我们加用手工置换血浆加血液光量子疗法治疗寻常型天疱疮一例。效果满意，报道如下。

1 病史摘要

患者，杨某，女，18 岁，住院号 186742。患者自述两月前晨起时出现背部皮肤糜烂，渗液，疼痛，3～4 天后糜烂面逐渐增宽，可见拇指大水泡。疮破溃留糜烂面。在当地医院治疗，无明显效果，且仍有新发，于 5 月 5 日收治我院皮肤科。皮肤科情况，全身约有 90%范围皮肤受累，四肢远端较轻，全身皮肤弥漫性大片红斑糜烂，大部分糜烂面上有厚层黄褐色痂，四肢可见拇指大或鹅蛋大水泡，大部分疱壁已破。尼氏征阳性，直接免疫荧光，表皮细胞间接荧光阳性。诊断为寻常型天疱疮。给强的松 60mg 1/日，止血芳酸 0.75g 1/日，10%氯化钾 10ml 3/日等治疗。5 月 10 日强的松加到 80mg 1/日，无明显好转，肢体仍有新发的水泡，蚕豆大至鸡蛋大小。天疱疮抗体效价为 1∶1280。分别于 5 月 15 日、19 日、23 日行手工法置换血浆共 3 次。考虑到病人体重较轻(40kg)，每次治疗分三程，每程采血 300ml，离心分出血浆，将细胞回输后，再采下一程，第三程分出血浆后，红细胞加健康人血浆行紫外线照射充氧后回输给患者，出入量见下表。3 次血浆置换后天疱疮抗体效价 1∶80，面部、躯干和四肢痂皮脱落，无新发水泡，于 6 月 17 日出院。

附表 3 次置换血浆出入量

日 期	补生理盐水 (ml)	补血浆 (ml)	去除血浆 (ml)
15/5	1000	260	690
19/5	700	380	720
23/5	800	300	630

2 讨论

天疱疮是一种自身免疫病，患者血清中存在自身抗体，能和自身表皮细胞表面(间)抗原发生反应，天疱疮抗体主要是 IgG，其效价随病情变化而波动，活动期高，缓解期降低或转阴。置换血浆可使患者抗体效价明显下降，用光量子血疗可提高红细胞的免疫功能，再加上药物巩固治疗，是治疗天疱疮的一种较好的方法。

关键词 血浆交换；血液光量子；天疱疮
（收稿：1992-07-27；修回：1992-11-23）

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