

肝豆状核变性患者尿酶和尿微量蛋白的检测及分析

陈后勤¹, 胡纪源^{2△}, 吴君霞², 薛明月², 刘庆云², 马心锋², 张杰²

1 安徽中医学院研究生部, 安徽 合肥 230038; 2 安徽中医学院神经病学研究所

[摘要] 目的: 探讨尿微量白蛋白(mALB)、视黄醇结合蛋白(RBP)和尿N-乙酰-β-d-氨基葡萄糖苷酶(NAG)检测对肝豆状核变性(HLD)早期肾脏损伤的诊断价值及其在不同类型HLD中测定值是否存在差异。方法: 采用免疫比浊法检测尿mALB和RBP水平, 采用连续监测法检测尿NAG水平。结果: 各中医证型及西医临床分型HLD组尿mALB、RBP和NAG测定值均较正常对照组显著增高($P < 0.01$); 而各中医证型及西医临床分型组间mALB、RBP及NAG测定值比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。其在尿常规尿蛋白定性阴性HLD中阳性率分别为RBP 94.74%, mALB 78.07%和NAG 35.09%。其中mALB与NAG呈正相关($r = 0.26, P < 0.01$), mALB与RBP水平呈正相关($r = 0.232, P < 0.01$), NAG与RBP水平呈正相关($r = 0.180, P < 0.01$)。结论: 尿mALB、RBP和NAG检测对HLD早期肾脏损害具有诊断价值, 其中RBP阳性率最高达94.74%。HLD各中医证型与西医临床分型间尿mALB、RBP和NAG水平无明显差异。

[关键词] 尿微量白蛋白; 视黄醇结合蛋白; 尿N-乙酰-β-d-氨基葡萄糖苷酶; 肝豆状核变性; 早期肾损害

[中图分类号] R575 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1004-6852(2012)09-0117-03

Detection and Analysis on Urease and Urinary Micro-albumin of Patients with Hepatolenticular Degeneration

CHEN Hou-qin¹, HU Ji-yuan^{2△}, WU Jun-xia², XUE Ming-yue², LIU Qing-yun², MA Xin-feng², ZHANG Jie²

1 Graduate Department of Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230038, China;

2 Psychiatric Institute of Anhui University of Traditional Chinese Medicine

Abstract Objective: To survey diagnostic value of urinary micro-albumin (mALB), retinol binding protein (RBP), urinary N-acetyl β-d-glucosaminidase (NAG) detection on renal surgery in early times of hepatolenticular degeneration (HLD) and whether the difference existed in index of different HLD. Method: Levels of urinary mALB and RBP were detected with immunoturbidimetry and level of urinary NAG was tested with the continuous monitoring method. Result: Urinary mALB, RBP, NAG of TCM pattern and western medicine pattern groups were higher than normal control group ($P < 0.01$); comparison among groups had no statistical meaning in mALB, RBP and NAG ($P > 0.05$). Positive rates of HLD were respectively: RBP (94.74%), mALB (78.07%) and MAG (35.09%). mALB is positively associated to NAG ($r = 0.26, P < 0.01$) and RBP ($r = 0.232, P < 0.01$), NAG is positively related to RBP ($r = 0.180, P < 0.01$). Conclusion: Urinary mALB, RBP and NAG show diagnostic value to renal injury in early time of HLD, among them, positive rate of RBP can reach to 94.74%. There is no significant difference among mALB, RBP and NAG in different patterns of HLD.

Keywords urinary micro-albumin; retinol binding protein(RBP); urinary N-acetyl β-d-glucosaminidase(NAG); hepatolenticular degeneration (HLD); renal injury in early times

肝豆状核变性(Hepatolenticular degeneration, HLD)又称Wilson病(Wilson disease),是一种常染色体隐性遗传性铜代谢障碍疾病。由于铜在体内异常蓄积的部位不同,本病可出现多系统多器官损害,其中最常见损害部位为肝脏及大脑基底节区,肾脏受损临床也并不少见,有文献报道^[1]HLD患者约25%伴有肾损害。早期发现该病的肾脏损害并采取适当的治疗措施,对阻止和延缓发生严重的肾脏病变具有十分重要的临床意义。传统的肾病实验室检测多以尿蛋白、血尿素氮、肌酐以及肌酐清除率等作为主要指标。然而这些项目难以发现早期肾脏损伤,无法满足临床早期诊断的需要。肾组织学检查虽然比较灵敏,但必

须做侵害性的肾活检,难以普遍推广。本研究通过检测尿微量白蛋白(mALB)、视黄醇结合蛋白(RBP)和尿N-乙酰-β-d-氨基葡萄糖苷酶(NAG),以探讨尿mALB、RBP和NAG在HLD早期肾损害诊断中的价值及其在不同类型HLD中测定值是否存在差异。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选择安徽中医学院神经病学研究所附属医院2010年3月至2011年11月经临床确诊的HLD住院患者228例为观察组,无其他并发症且尿常规检查尿蛋白呈阴性,其中男120例,女108例;平均年龄(20.16±8.37)岁。同时以50名健康体检人群为对照组,其中男26例,女24例;平均年龄(23.16±6.27)岁。受检尿液均为清晨

留取。置-20℃冰箱保存待检。

1.2 分组 将228例HLD患者参照洪铭范^[2]中医诊断分型分为:肝肾阴虚组(54例)、湿热内蕴组(54例)、气血两亏组(48例)、肝肾阳虚组(36例)及痰火扰心组(36例)。另按西医临床分型分为:肝型组(74例)、脑型组(81例)和脑-内脏型组(73例)。

1.3 仪器 7020全自动生化分析仪(日本日立公司生产);HC-160R高速冷冻离心机(中科大创新股份有限公司中佳分公司生产);DK-600S型三用恒温水浴箱(中科大创新股份有限公司生产)。

1.4 试剂和方法 尿mALB、RBP采用免疫比浊法,试剂由浙江伊利康生物技术有限公司提供;尿NAG采用终点法,试剂由浙江伊利康生物技术有限公司提供;尿蛋白定性采用尿十项常规分析。

1.5 统计学方法 计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,两样本均数比较采用 t 检验,多样本间采用方差分析,相关分析采用线性相关分析,计数资料采用 χ^2 检验, $P < 0.01$ 为有显著差异。

2 结果

2.1 尿mALB、RBP及NAG测定结果

2.1.1 HLD各西医临床分型组与正常对照组尿mALB、RBP及NAG测定值比较 总HLD组、肝型组、脑型组、脑-内脏型组mALB、RBP及NAG测定值分别与正常对照组比较,升高均有极显著差异($P < 0.01$);3种西医临床分型组组间mALB、RBP及NAG测定值比较,无显著差异性($P > 0.05$)。见表1。

表1 HLD各西医临床分型组与正常对照组mALB、RBP和NAG测定值的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	mALB/(mg·L ⁻¹)	RBP/(mg·L ⁻¹)	NAG/(U·L ⁻¹)
正常对照组	50	8.93 ± 9.28	0.41 ± 1.25	5.83 ± 4.82
总HLD组	228	30.35 ± 31.56**	23.04 ± 13.87**	17.36 ± 23.93*
肝型组	74	28.16 ± 32.73**	23.48 ± 18.73**	21.36 ± 34.82**
脑型组	81	31.48 ± 29.12**	21.61 ± 13.80**	14.46 ± 11.95**
脑-内脏型组	73	29.42 ± 32.01**	22.31 ± 11.49**	16.52 ± 19.76**

注:**表示与正常对照组比较 $P < 0.01$ 。

2.1.2 HLD各中医证型组与正常对照组尿mALB、RBP及NAG测定值比较 肝肾阴虚组、湿热内蕴组、气血两亏组、肝肾阳虚组及痰火扰心组mALB、RBP及NAG测定值分别与正常对照组比较,均有极显著差异性($P < 0.01$);5种中医证型组组间mALB、RBP及NAG测定值比较,无显著差异性($P > 0.05$)。见表2。

表2 HLD各中医证型组与正常对照组NAG、mALB及RBP测定值的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	mALB/(mg·L ⁻¹)	RBP/(mg·L ⁻¹)	NAG/(U·L ⁻¹)
正常对照组	50	8.93 ± 9.28	0.41 ± 1.25	5.83 ± 4.82
肝肾阴虚组	54	29.38 ± 31.44**	19.93 ± 14.20**	13.35 ± 9.45**
湿热内蕴组	54	32.18 ± 28.11**	20.34 ± 16.70**	20.96 ± 31.18**
气血两亏组	48	30.42 ± 30.01**	21.18 ± 11.97**	16.20 ± 16.52**
肝肾阳虚组	36	28.35 ± 30.01**	22.25 ± 11.28**	17.63 ± 19.19**
痰火扰心组	36	28.55 ± 32.51**	22.95 ± 13.59**	23.06 ± 24.98**

注:**表示与正常对照组比较 $P < 0.01$ 。

2.2 总HLD组尿mALB、RBP及NAG阳性率比较 总HLD组228例患者中,检测水平超过正常上限阳性例数mALB为178例,占78.07%;RBP为216例,占94.74%;NAG为80例,占35.09%。见表3。

表3 2组各指标阳性率的比较

指标	总HLD组		正常组	
	例数	%	例数	%
尿mALB	178	78.07**	4	8.00
尿RBP	216	94.74**	3	6.00
尿NAG	80	35.09**	3	6.00

注:**表示与正常组比较 $P < 0.01$ 。

2.3 相关分析 尿mALB与尿NAG之间, $r=0.26, P < 0.01$,表明尿mALB与尿NAG二者呈正相关;尿mALB与尿RBP之间, $r=0.232, P < 0.01$,表明尿mALB与尿RBP二者呈正相关;尿NAG与尿RBP之间, $r=0.180, P < 0.01$,表明尿NAG与尿RBP二者呈正相关。

3 讨论

HLD肾脏损害可发生于HLD疾病的任何时期,其表现与神经系统、肝脏等改变无明显相关^[3]。其损害机制尚未完全明确,目前认为HLD由于铜沉积在近端和远端的肾小管上皮细胞内,导致上皮细胞扁平、刷状缘消失、基膜增厚,致使肾小管重吸收功能受损,肾小球囊壁层上皮细胞也常有铜颗粒沉积,引起肾小球滤过率下降^[4]。Bickel^[5]曾报告HLD患者肾组织铜含量较正常人高10~20倍。HLD是少数可以治疗的神经遗传病之一,患者如果能在发病早期或症状前期得到及时诊治,多数可以获得与正常人相仿的生活质量和寿命^[6]。但因肾脏有强大的贮备能力,早期轻微损害常很难被发现,以至错过及时的治疗。因此,发现HLD早期肾损害诊断的敏感指标,对于HLD肾损害的治疗和预后有着重要的意义。

蛋白尿是肾脏疾病的一个重要指标,在某些肾脏病早期,尿常规测定常为阴性,尿中蛋白质含量实际已有微量的增加。尿微量蛋白是肾脏早期损伤的重要标志^[7]。mALB是一种带负电荷的大分子,分子量为69 kD,半径为3.6 nm。正常肾小球基底膜具有滤过功能,平均孔径为5.5 nm,表面均匀地带一层

负电荷。因此,正常情况下可有少量 mALB 滤过,但 95% 的 mALB 又在近曲小管被重吸收,故尿中 mALB 含量很低。当肾小球发生病变时,mALB 滤过量超过肾小管最大重吸收,从而引起尿中 mALB 含量升高,因此尿 mALB 升高不仅反映肾小球滤过功能的损伤,而且也反映肾小管重吸收功能的损伤^[8-9]。视黄醇结合蛋白(RBP)是存在于血液中的一种低分子蛋白,相对分子量约为 21 000。当正常人血液中的 RBP 经肾小球滤过后,则在肾近曲小管重吸收,因此正常人尿中 RBP 排量极少(约 100 $\mu\text{g}/24\text{h}$)。尿 RBP 排量升高能敏感的反映肾近曲小管的损害程度。由于 RBP 分子量极小,且在酸性尿中十分稳定,被认为是最敏感的肾脏近曲小管损伤指标^[10-11]。本研究中,各种不同类型 HLD 患者尿 mALB、RBP 水平均高于正常对照组,且差异均有统计学意义($P < 0.01$)。而各中医证型及西医临床分型 HLD 组组间 mALB、RBP 水平与正常对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。两者在尿蛋白定性阴性 HLD 患者中阳性率分别为 RBP 94.74%、mALB 74.6%,较正常对照组明显增高,且差异有统计学意义($P < 0.01$)。因此尿 mALB 和 RBP 可作为早期检测 HLD 肾损伤的诊断指标,不同类型间 mALB 和 RBP 水平差异不明显。其中反映肾近曲小管损伤指标的尿 RBP 阳性率高达 94.74%,与文献报道 HLD 铜在肾脏的沉积所造成的损害以近曲小管上皮细胞最明显相符^[12]。提示部分尿蛋白定性试验阴性的 HLD 患者的肾脏损伤早已悄然发生。

正常尿含酶量极少,肾脏疾患时血液中以及肾组织中的某些酶可在尿中出现,从而使尿酶活性发生改变,这些改变和肾脏病变有关。本研究测定了临床上较常见的尿酶即尿 NAG,NAG 是一种溶酶体酶,相对分子量约 130 000~140 000,广泛分布于各组织中,血液中的 NAG 因相对分子量大,不能经肾小球滤过,肾小球功能正常时,血浆中 NAG 能进入尿液中。肾组织特别是肾小管上皮细胞含有丰富的 NAG,其浓度远高于输尿管及下尿道,当肾小管上皮细胞受到破坏时,溢出至尿中,导致尿中 NAG 活性增高,故认为尿 NAG 酶是反映肾小管损害敏感且特异的指标^[13]。本研究中,各中医证型及西医临床分型 HLD 组 NAG 水平均高于正常对照组,且差异有统计学意义($P < 0.01$)。而各中医证型及西医临床分型 HLD 组组间 NAG 水平与正常对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。因此尿 NAG 可作为早期检测 HLD 肾损伤的诊断指标,不同类型间 mALB 水平差异不明显。

以上结果表明部分 HLD 患者在尿常规尿蛋白定性阴性前就已存在肾小管和肾小球功能的受损,也提示了尿 mALB、RBP 和 NAG 均可作为 HLD 早期肾损伤诊断的敏感指标,且三者水平呈正相关。而 HLD 各中医证型与西医临床分型间尿 mALB、RBP 和 NAG 水平无明显差异。从表 3 可知,尿常规尿蛋白定性阴性 HLD 中三者阳性率分别为 RBP (94.74%)、mALB (74.6%) 和 NAG (35.1%),可见尿 RBP 检测是诊断 HLD 早期肾脏损伤最为灵敏的指标,且具有简便快速,经济,无创伤等优点,值得推广应用。

参考文献

- [1] 顾婷婷,方永辉.小儿肝豆状核变性 20 例临床分析[J].中国临床医生,2008,36(8):40-41.
- [2] 洪铭范,胡纪原,胡文彬,等.肝豆状核变性的中医辨证分型[J].安徽中医学院学报,1998,17(1):10-11.
- [3] 金珊,方向,鲍远程,等.以肾脏损害为主要发病表现的 Wilson 病特点分析[J].中医药临床杂志,2010,22(11):1005-1007.
- [4] Zhuang XH,Mo Y,Jiang XY,et al.Analyse of renal impairment in children with Wilson's disease[J].World J Pediatr,2008,4(2):102-105.
- [5] Bickel H.A clinical and biochemical study of hepatolenticular degeneration (wilson's disease)[J].Q J Med 1957;26(104):527-558.
- [6] Schilsky M L.Non-invasive testing for wilson disease: revisiting the penicillamine challenge test [J].J of Hepatol,2007,47(2):172-173.
- [7] 陈文彬.诊断学[M].5版.北京:人民卫生出版社,2001:341-342.
- [8] 傅思莹,陶瑜.MMP-2 与肾脏疾病[J].国外医学:泌尿系统分册,2003,23(4):466-469.
- [9] 李新蕊,赵田,陈莺,等.4种尿微量蛋白联合检测对系统性红斑狼疮肾早期损伤的诊断[J].中国误诊学杂志,2005,5(1):68-69.
- [10] 张晓伟,丛占杰,王文龙.视黄醇结合蛋白检测在观察高血压及糖尿病早期肾脏改变中的应用[J].中国实验诊断学,2007,11(2):187-189.
- [11] 戴翔,于波,蔡伦.视黄醇结合蛋白检测在观察高血压及糖尿病早期肾脏改变中的应用[J].检验医学,2006,21(3):304-305.
- [12] 叶春风,刘燕玲,李国林,等.以肾脏损害为首发症状的肝豆状核变性误诊 21 例临床分析[J].江西医学院学报,2009,49(9):105-106.
- [13] 叶任高,许韩师.尿溶菌酶和 N-乙酰- β -氨基葡萄糖苷酶测定对肾小管-间质病变的诊断价值[J].中国实用内科杂志,1999,19(4):198-199.

收稿日期:2012-04-27

作者简介:陈后勤(1987—),男,硕士研究生,医师。研究方向:神经内科临床。

△通讯作者:胡纪源(1955—),男,硕士研究生导师,主任医师。研究方向:神经遗传性疾病的研究。