

尿蛋白电泳在糖尿病早期肾损伤中的预测价值

魏彦艳¹ 李晓霞²作者单位:028000 通辽市,内蒙古通辽市第二人民医院检验科¹,临床药学科²

【摘要】 目的 探讨十二烷基硫酸钠-琼脂糖凝胶(sodium dodecyl sulfate agarose gel electrophoresis, SDS-AGE)尿蛋白电泳检测在糖尿病(diabetes mellitus, DM)早期肾损伤中的诊断价值。方法 选择我院 132 例 2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)患者,根据尿蛋白定性检测结果进行分组,其中尿蛋白定性 Pr(-)组 65 例,Pr(+/-)组 32 例,Pr(1+)组 16 例,Pr(2+)组 10 例,Pr(3+)组 9 例,选取同期健康体检者 30 例作为对照组。对受试者进行 SDS-AGE 尿蛋白电泳、24 h 尿白蛋白定量(24 hours-albumin, 24 h-Alb)、血清肌酐(serum creatinine, SCr)、尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)水平检测,对检测结果进行统计学分析。结果 132 例 T2DM 患者中有 45 例为生理性蛋白尿(45/132, 34.1%),15 例蛋白尿阴性(15/132, 11.4%),72 例患者出现病理性蛋白尿(72/132, 54.5%),其中混合性蛋白尿 29 例(29/132, 22.0%),肾小管性蛋白尿 25 例(25/132, 18.9%),肾小球性蛋白尿 18 例(18/132, 13.6%)。132 例 T2DM 患者中,SCr、BUN、24 h-Alb、SDS-AGE 尿蛋白电泳检测的阳性率分别为 5.3%(7/132)、24.2%(32/132)、41.7%(55/132)和 54.5%(72/132)。在不同尿蛋白定性组中,SCr、BUN、24 h-Alb 定量、尿蛋白电泳的检测阳性率均随尿蛋白含量的增加呈上升趋势。SDS-AGE 尿蛋白电泳检测 DM 患者肾脏损伤程度的阳性率高于 SCr、BUN 及尿 24 h-Alb 定量的阳性率,且差异均有统计学意义(P 均 <0.05)。结论 SDS-AGE 尿蛋白电泳检测可直观的了解患者尿蛋白的组分,判断肾脏损伤的部位及程度,对 DM 患者早期肾损伤有预测价值。

【关键词】 糖尿病;肾损伤;尿蛋白电泳;肌酐;血尿素氮;预测

doi:10.3969/j.issn.1674-7151.2015.01.002

The predictive value of urine protein electrophoresis in early renal damage of patients with diabetes mellitus

WEI Yan-yan¹, LI Xiao-xia². ¹Department of Clinical Laboratory, the Second Hospital of Tongliao City in Inner Mongolia, Tongliao 028000, China ²Department of Pharmacy, the Second Hospital of Tongliao City in Inner Mongolia, Tongliao 028000, China

【Abstract】 Objective To study the diagnostic value of urine protein sodium dodecyl sulfate agarose gel electrophoresis (SDS-AGE) detection in the early renal damage of patients with diabetes mellitus (DM). **Methods** 132 cases type 2 diabetes mellitus (T2DM) patients in our hospital were collected and were divided into Pr(-) group 65 cases, Pr(+/-) group 32 cases, Pr(1+) group 16 cases, Pr(2+) group 10 cases, Pr(3+) group 9 cases according to the qualification results of urine protein. 30 cases healthy people were collected as the control group. The SDS-AGE urine protein electrophoresis, 24 h urine albumin (24 h-Alb) quantitative, serum creatinine (SCr) and blood urea nitrogen (BUN) of all the subjects were detected, and the results were analyzed statistically. **Results** In 132 cases T2DM patients, there were 15 cases (15/132, 11.4%) proteinuria negative, 45 cases (45/132, 34.1%) physiologic proteinuria, and 72 cases (72/132, 54.5%) pathological proteinuria which including 29 cases (29/132, 22.0%) miscellaneous proteinuriam, 25 cases (25/132, 18.9%) tubular proteinuria and 18 cases (18/132, 13.6%) glomerular proteinuria. The positive rate of SCr, BUN, 24 h-Alb and SDS-AGE urine protein electrophoresis in 132 cases T2DM patients were 5.3% (7/132), 24.2% (32/132), 41.7% (55/132) and 54.5% (72/132), respectively. The positive rate of SCr, BUN, 24 h-Alb and SDS-AGE urine protein electrophoresis showed a increasing trend along with the urine protein quantity. The positive rate of SDS-AGE urine protein electrophoresis was higher than that of SCr, BUN, 24 h-Alb, and the differences all had statistical significance (P all <0.05). **Conclusion** SDS-AGE urine protein electrophoresis can reflect urinary protein components of DM patients intuitively, and judge the position and degree of kidney damage, which has early prediction value for the early renal damage in the patients with DM.

【Key words】 Diabetes mellitus; Renal damage; Proteinuria electrophoresis; Creatinine; Blood urea nitrogen; Prediction

糖尿病(diabetes mellitus, DM)的并发症很多,包括感染性并发症、严重的急性代谢紊乱及各种慢性并发症,慢性并发症包括微血管病变、大血管病变、糖尿病足及神经系统并发症等,其中糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是常见的微血管并发症,也是 DM 中比较严重的并发症^[1]。约 20%~53%的 DM 患者会并发 DN,如不积极干预,最终会发展为终末期肾衰竭^[2]。根据 DM Mogensen 分期,I-III 期为 DN 早期,患者多无明显临床症状和体征,尿蛋白定性多为阴性,24 h 尿白蛋白(24 hours-albumin, 24 h-Alb)定量在 30~300 mg/24 h 之间,肾小球滤过率正常。而传统的肾损伤指标如血肌酐(serum creatinine, SCr)、尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)灵敏度和特异性均不是很高,而且二者出现异常时患者肾损伤往往已经比较严重了,因此糖尿病肾损伤的早期诊断对 DM 患者有较重要的临床意义。本文研究对 DM 患者进行十二烷基硫酸钠-琼脂糖凝胶(sodium dodecyl sulfate agarose gel electrophoresis, SDS-AGE)尿蛋白电泳检测,探讨其在早期 DN 中的预测价值,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2014 年 6 月至 2014 年 12 月我院内分泌科收治的 132 例 2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)患者,男性 75 例,女性 57 例,年龄 36~75 岁,DM 病程 2~20 年,所有病例均符合 WHO 关于 T2DM 的诊断标准。根据尿蛋白定性结果将患者组分为 Pr(-)组 65 例,Pr(+/-)组 32 例,Pr(1+)组 16 例,Pr(2+)组 10 例,Pr(3+)组 9 例。选取同期健康体检者 30 例作为对照组,各组在性别、年龄等方面差异无统计学意义(P 均 > 0.05),具有可比性。

1.2 病例纳入与排除标准 纳入标准:临床确诊为 T2DM 的患者。排除标准:近一月内发生冠心病、脑卒中者,近期使用过肾毒性药物者,合并高血压且控制不理想者,合并严重心、肝、肾脏、结缔组织及血液病者,泌尿系感染及妊娠者。

1.3 诊断标准 DN 诊断标准为:当尿蛋白排泄率(urinary albumin excretion rate, UAER)持续 $> 200 \mu\text{g}/\text{min}$ 或尿蛋白定量 $> 0.5 \text{ g}/24 \text{ h}$,定义为 DN。当 DM 患者 24 h-Alb 处于 30~300 mg/24 h 范围内,未超过参考值上限(300 mg/24 h)时,为早期 DN 的主要特点^[3]。

1.4 标本采集 留取受试者新鲜晨尿及 24 h 尿,用于尿蛋白电泳及 24 h-Alb 定量检测,清晨采集受试

者空腹静脉血 3 ml 用于 SCr、BUN 的检测。

1.5 方法 采用法国 Sebia 公司 HYDRASYS 全自动电泳仪及其配套试剂进行 SDS-AGE 尿蛋白电泳检测;采用德国 SIEMENS 全自动特种蛋白分析仪分析受试者尿蛋白质的种类;采用罗氏 C501 全自动生化分析仪及其配套试剂检测受试者 24 h-Alb 定量及 SCr、BUN 水平。

1.6 正常参考值 SCr 参考值:42.0~120.0 $\mu\text{mol}/\text{L}$, BUN 参考值:3.2~7.1 mmol/L,24 h-Alb 定量参考值:0~130 mg/24 h,各检查项目高于上述指标上限定义为阳性。

1.7 SDS-AGE 图谱尿蛋白电泳分型 根据 Sedbia 公司提供的 marker 条带及电泳区带,以相对分子量约 70×10^3 的白蛋白为界限,将蛋白尿分为 5 种,各型蛋白尿条带特征见表 1。

表 1 SDS-AGE 尿蛋白电泳分型

蛋白尿类型	条带特征
生理性蛋白尿	单纯的白蛋白条带
肾小球性蛋白尿	除白蛋白条带外,在加样点和白蛋白条带之间出现其他蛋白条带
肾小管性蛋白尿	除白蛋白条带外,在白蛋白条带和凝胶片阴极之间出现其他条带
混合性蛋白尿	白蛋白条带上下均出现条带
阴性	未出现任何条带

1.8 统计学处理 采用 SPSS 19.0 统计软件对数据进行统计学分析,各指标检测结果的阳性率比较采用 Fisher 确切概率法检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SDS-AGE 尿蛋白电泳检测结果 30 例健康对照者中有 4 例(4/30,13.3%)出现生理性蛋白尿,其余 26 例(26/30,86.7%)蛋白尿均阴性;132 例 T2DM 患者中有 45 例(45/30,34.1%)为生理性蛋白尿,15 例(15/30,11.4%)蛋白尿阴性,72 例患者出现病理性蛋白尿,阳性率为 54.5%(72/132),其中混合性蛋白尿 29 例,阳性率为 22.0%(29/132),肾小管性蛋白尿 25 例,阳性率为 18.9%(25/132),肾小球性蛋白尿 18 例,阳性率为 13.6%(18/132),见表 2。

2.2 DM 患者不同尿蛋白定性组各检测指标阳性率结果 132 例 DM 患者中,SCr 阳性率为 5.3%(7/132),BUN 阳性率为 24.2%(32/132),24 h-Alb 定量阳性率为 41.7%(55/132),SDS-AGE 尿蛋白电泳检测阳性率为 54.5%(72/132)。在不同尿蛋白定性组

表 2 对照组及 DM 患者不同尿蛋白定性组尿蛋白电泳检测结果[n(%)]

组别	例数	阴性	生理性蛋白尿	病理性蛋白尿		
				肾小球性蛋白尿	肾小管性蛋白尿	混合性蛋白尿
对照组	30	26(86.7)	4(13.3)	-	-	-
Pr(-)组	65	15(23.1)	29(44.6)	1(1.5)	16(24.6)	4(6.2)
Pr(+/-)组	32	0(0.0)	10(31.3)	7(21.9)	6(18.8)	9(28.0)
Pr(1+)组	16	0(0.0)	5(31.3)	3(18.8)	1(6.3)	7(43.8)
Pr(2+)组	10	0(0.0)	1(10.0)	3(30.0)	1(10.0)	5(50.0)
Pr(3+)组	9	0(0.0)	0(0.0)	4(44.4)	1(11.1)	4(44.4)
合计	132	15(11.4)	45(34.1)	18(13.6)	25(18.9)	29(22.0)

中,SCr、BUN、24 h-Alb 定量、尿蛋白电泳的检测阳性率均随尿蛋白含量的增加呈上升趋势,见表 3。

2.3 尿蛋白电泳检测阳性率与其他指标阳性率检测结果比较 经 Fisher 确切概率法检验,SDS-AGE 尿蛋白电泳(54.5%)检测 DM 患者肾脏损伤程度的阳性率高于 SCr(5.3%)、BUN(24.2%)及尿 24 h-Alb 定量(41.7%)阳性率,且差异均有统计学意义($P=0.016$, $P=0.001$, $P=0.033$)。

3 讨论

DN 是 DM 最常见也是比较严重的微血管并发症之一,在 DM 早期,患者肾损伤尚处于可逆阶段,当病情进入蛋白尿期,肾脏病变将不可逆,直至发展为肾功能衰竭^[4],因此 DN 的早期诊断与治疗对 DM 患者的生存及生活质量的提高意义重大。

临床一般将传统的肾功能指标如 SCr、BUN 及尿常规检测结果作为肾脏损伤情况的判断指标,但上述指标特异性、灵敏度均不高,且检测结果常受机体病理、生理变化影响而出现大范围波动^[5]。而且上述指标只有肾脏出现中重度损伤时,才会出现持续性的异常变化,不利于 DN 患者的早期诊断与治疗。

尿液中出现蛋白质是肾脏损伤的标志之一,了解尿液中蛋白质的含量及组成可间接判断肾脏损伤的程度与部位^[6]。在正常生理情况下,由于肾小球毛

细血管滤过膜的电荷屏障及孔径屏障作用,血浆中的蛋白质分子不会通过,只有相对分子质量较小的蛋白质如 β_2 微球蛋白、 α_1 微球蛋白等可通过肾小球滤过膜,但 95% 会经近曲小管重吸收,因此健康成年人尿液中蛋白质含量仅仅为 30~130 mg/24 h,尿蛋白定性试验呈阴性^[7]。肾脏在病理状态下,肾小球滤过膜通透性增加,肾小管重吸收能力减弱时,可出现蛋白尿,及时发现尿液中蛋白质的组分及含量变化可间接判断 DN 患者肾脏损伤的程度。

对于蛋白尿定性检测,临床主要应用尿液干化学分析仪,采用尿液干化学试带法,根据指示剂颜色变化判断蛋白质的相对含量,此法操作简便、快速,但灵敏度较低^[8]。而且临床常规应用的干化学试纸条主要对白蛋白灵敏,对球蛋白灵敏度不高,容易出现漏检情况,不适用于肾脏疾病的疗效观察及预后判断。尿蛋白的定量方法,临床常用的是比浊法、比色法、免疫测定法等,比浊法是临床常用的蛋白定量方法,但结果易受浊度大小的影响,而且不能对尿蛋白具体组分进行分析,对肾损伤部位不能准确判断。24 h-Alb 定量检测可早期反映 DN 患者肾脏损伤情况,但也只能单纯检测尿中白蛋白的含量,仍不能确定蛋白组分,因此也不能反映肾脏损伤的部位,而且标本采集比较困难,如尿液保存不当,还会造成浊度

表 3 DM 患者不同尿蛋白定性组各检测指标阳性率结果[n(%)]

组别	例数	SCr	BUN	24h-Alb	尿蛋白电泳
Pr(-)组	65	0(0.0)	10(15.4)	15(20.1)	21(32.3)
Pr(+/-)组	32	1(3.1)	5(15.6)	12(37.5)	22(68.8)
Pr(1+)组	16	1(6.3)	7(43.8)	10(62.5)	11(68.8)
Pr(2+)组	10	1(10.0)	5(50.0)	9(90.0)	9(90.0)
Pr(3+)组	9	4(44.4)	5(55.6)	9(100.0)	9(100.0)
合计	132	7(5.3)	32(24.2)	55(41.7)	72(54.5)

改变,影响检测结果的可靠性。免疫测定法具有特异性强、均一性好、纯度高的优点,利用单克隆抗体技术,可测定尿液中白蛋白及各种球蛋白,也能判断肾脏损伤部位,但此法只能检测一种蛋白质,不能全面反映尿液蛋白质的种类^[9],当尿液中某一蛋白质含量异常增高时,检测结果并不理想。

本文研究采用的 SDS-AGE 法,是根据蛋白质相对分子质量大小来对尿液中蛋白质组分进行区分,从而进一步对肾损伤的程度及部位进行判断。十二烷基磺酸钠(sodium lauryl sulfate, SDS)是一种阴离子表面活性剂,当其浓度超过蛋白质浓度 5~10 倍时,可使蛋白质内部的二硫键及氢键断裂,解离的多肽链与 SDS 结合形成带有大量负电荷的 SDS-蛋白质复合物,消除了不同蛋白质组分之间的原电荷差异,使蛋白质在琼脂凝胶中的电泳迁移速率不会受到电荷量的影响,而只与蛋白质分子量有关,这样蛋白质将按分子量大小进行分离,在不同位置产生蛋白质条带,以此判断蛋白质分子的大小,进而判断肾脏损伤的部位,并根据蛋白质条带颜色的深浅,大致判断肾脏损伤的程度。

本文研究利用 SDS-AGE 电泳对 30 例健康者和 132 例 DM 患者的尿液标本进行分析,结果显示健康者均未出现病理性蛋白质条带,132 例 DM 患者中有 72 例(54.5%)患者出现病理性蛋白质条带,65 例蛋白定性阴性的 DM 患者中有 4 例出现混合性蛋白尿,16 例出现肾小管性蛋白尿,1 例出现肾小球性蛋白尿,15 例未出现任何蛋白质条带,29 例为生理性蛋白尿,提示 DN 早期肾小管损伤早于肾小球损伤,与 Fu 等^[10]的研究结果一致。本文研究结果显示,SCr、BUN、24 h-Alb 定量及尿蛋白电泳的检测阳性率随尿蛋白定性严重程度的升高而升高,提示各指标的阳性率与尿蛋白定性的趋势具有一致性。本文研究还发现,在 65 例尿蛋白定性为阴性的患者中,出现了肾小球性蛋白尿 1 例,肾小管性蛋白尿 16 例,混合性蛋白尿 4 例,而尿蛋白定性为 Pr(3+)的患者中,也同时出现了肾小球性蛋白尿 4 例,肾小管性蛋白尿 1 例,混合性蛋白尿 4 例,提示即使尿蛋白定性结果为阴性,也不能排除患者存在肾脏损伤情况,同时也提示肾脏损伤的严重程度并不随尿蛋

白含量的增加而增加。因此,建议临床对明确诊断的 DM 患者定期随访时进行 SDS-AGE 尿蛋白电泳检测,以便及时发现肾脏的早期损伤并及早采取预防措施。

本文研究结果显示,SDS-AGE 尿蛋白电泳检测 DM 患者肾脏损伤程度的阳性率(54.5%)高于 SCr、BUN 及尿 24 h-Alb 定量的阳性率,分别为 5.3%、24.2%、41.7%,且差异均有统计学意义(P 均 <0.05)。由此可见,SDS-AGE 尿蛋白电泳检测对于判断 DM 患者的肾脏损伤不仅具有较高的灵敏度,且无创、简便、省时,可以直观的反映 DM 患者尿蛋白的组分,从而进一步判断肾脏损伤的部位及程度,为 DM 患者肾损伤的早期诊断、早期治疗提供依据。

综上所述,尿蛋白电泳检测对 DM 患者早期肾损伤有一定的预测价值,建议在 DM 患者定期复查中,常规加做尿蛋白电泳检测,以早期发现尿蛋白定性阴性患者的肾脏损伤情况,及早进行干预治疗,提高患者生活质量。

4 参考文献

- 1 吴宇芳, 关晓东. 肾脏病患者尿蛋白电泳测定及其病理活检对比分析. 现代预防医学, 2007, 34: 873-874.
- 2 Pham TT, Sim JJ, Kujubu DA, et al. Prevalence of nondiabetic renal disease in diabetic patients. Am J Nephrol, 2007, 27: 322-328.
- 3 熊立凡, 刘成玉. 临床检验基础. 人民卫生出版社, 2008, 4: 167.
- 4 周新, 府伟灵. 临床生物化学与检验. 第四版. 北京: 人民卫生出版社, 2008, 221.
- 5 李娟, 武蕾, 江漫. 尿蛋白电泳分析技术应用研究进展. 人民军医, 2010, 53: 798-799.
- 6 陈鹏. SDS-AGE 尿蛋白电泳检测在糖尿病肾病中的临床价值. 实验与检验医学, 2010, 28: 253-254.
- 7 徐坚强, 谢服役. 尿液 N-乙酰- β -D-氨基葡萄糖苷酶连续监测法测定. 现代实用医学, 2013, 25: 100-101.
- 8 罗嘉陵, 董芳, 李林, 等. 尿液干化学分析技术临床应用与评价. 中国误诊学杂志, 2001, 1: 1583-1584.
- 9 沈波, 许玲鸽, 陈雪娇, 等. 非浓缩尿蛋白电泳与其他尿蛋白检测方法比较研究. 检验医学, 2005, 20: 481-482.
- 10 Fu WJ, Li BL, Wang SB, et al. Changes of the tubular markers in type 2 diabetes mellitus with glomerular hyperfiltration. Diabetes Res Clin Pract, 2012, 95: 105-109.

(收稿日期: 2015-01-28)

(本文编辑: 陈淑莲)