

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.19.012

血清中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白检测 在造影剂肾病诊断中的临床意义*

马 骥¹, 李思逸², 陈 林¹, 尚陈宇¹, 戴永辉¹, 徐建华^{1△}

(1. 广东省中医院检验科, 广州 510120; 2. 广东省中医院二沙岛分院泌尿外科, 广州 510105)

[摘要] **目的** 探讨血清中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)检测在造影剂肾病(CIN)诊断中的意义。**方法** 选取广东省中医院各院区 ICU、心血管科、泌尿外科等接受造影技术诊治的患者 299 例, 检测患者空腹血糖、血脂等, 记录其基本临床资料。采集患者在造影前及造影后第 1、2、6 天的血样, 分析患者各时间点的血清肌酐(SCr)、半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C(CysC)和 NGAL 水平。以造影后 24~48 h SCr 水平升高 $44 \mu\text{mol/L}$ 或较基础值上升 25% 以上患者为 CIN, 分析血清 NGAL 检测在不同时间点的变化趋势。**结果** 299 例受检患者中, 共发生 CIN 28 例, 发病率为 9.36%。其中患有糖尿病的患者中 CIN 发病率为 16.21%(12/74), 无糖尿病的患者发病率为 7.11%(16/225)。与造影前比较, CIN 患者 SCr 和 CysC 在造影后 2 d 明显升高, 到第 6 天恢复到造影前水平; 血清 NGAL 水平在造影后 1 d 就明显升高, 与造影前比较差异有统计学意义($P < 0.05$), 在第 6 天仍处于较高水平。**结论** 血清 NGAL 水平在造影剂使用后 1 d 就可较好地预测 CIN, 其预测时间早于 SCr 和 CysC, 可用于 CIN 的早期诊断。

[关键词] 中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白; 造影剂肾病; 肾损伤

[中图分类号] R446.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2015)19-2626-03

Clinical significance of determination of serum neutrophil gelatinase associated lipocalin in the diagnosis of contrast induced nephropathy*

Ma Ji¹, Li Siyi², Chen Lin¹, Shang Chenyu¹, Dai Yonghui¹, Xu Jianhua^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory, Guangdong Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510120, China; 2. Department of Urology, Ersha Branch of Guangdong Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510105, China)

[Abstract] **Objective** To discuss the clinical significance of serum neutrophil gelatinase associated lipocalin(NGAL) detection in the diagnosis of contrast induced nephropathy. **Methods** A total of 299 inpatients with contrast medium in department of intensive care unit(ICU), department of cardiovascular disease, department of urology from Guangdong Province Hospital of Traditional Chinese Medicine were enrolled, and the fasting blood glucose and lipids were detected. Sera were collected before examination of contrast medium and 1, 2 and 6 d after examination of contrast medium respectively. Serum creatinine(SCr) and cystatin C(CysC) were detected, the concentration of NGAL was determined. CIN was defined as of increased by $44 \mu\text{mol/L}$ or 25% from baseline in SCr within 24—48 h. The NGAL detection variation tendency was analyzed in different time point. **Results** In 299 cases, CIN occurred in 28 patients, the incidence rate was 9.36%. The diabetes patients in the incidence of CIN was 16.21% (12/74), no incidence of diabetic patients was 7.11% (16/225). When compared with that of before contrast, CIN in serum of patients with Cr and CysC coronary angiography in 2 d significantly increased after contrast medium, returned to the level before angiography on 6 d. But the serum NGAL in angiography 1 d after it was significantly increased ($P < 0.05$), statistically significant differences compared with pre contrast, and was still at a high level on sixth day. **Conclusion** Prediction of CIN level of serum NGAL in contrast after 1 d could be a good predictor for CIN, and the prediction time is earlier than the serum levels of Cr and CysC. The level of serum NGAL can be used for early diagnosis of CIN.

[Key words] neutrophil gelatinase associated lipocalin; contrast induced nephropathy; kidney injury

随着医学影像学的发展、放射诊断技术的广泛应用、介入治疗的不断深入, 造影剂的使用也越来越广泛。近年来造影剂在不断升级改良, 临床常用的造影剂由离子型到非离子型, 由高渗型换成了等渗型或低渗型, 但因造影剂导致的肾功能损害发生率却未减少, 反而不断增加, 已逐渐上升到医源性肾损害的第 3 位^[1], 造影剂肾病(contrast induced nephropathy, CIN)是造影剂使用中较常见的也是最严重的并发症之一。CIN 发生的原因是多方面的, 包括年龄老化、药物间的作用、患者自身

基础病等。如何早期识别和诊断 CIN 是改善其不良预后的重要手段之一。近年来研究表明, 血清中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL)是诊断急性肾损伤快速、准确、灵敏的新一代生物学标志物, 便于临床医生及时把握患者肾功能损伤情况。本研究拟通过检测 CIN 患者血清中 NGAL 的表达水平, 探讨 NGAL 对于接受造影技术诊治患者肾功能的影响, 从而明确 NGAL 在早期诊断 CIN 中的临床意义。

* 基金项目: 国家中医药行业科研专项项目(201007005); 广东省中医药局项目(20121188)。 作者简介: 马骥(1978—), 副主任技师, 硕士, 主要从事临床血液学与临床生物化学检验工作。 △ 通讯作者, Tel: 13719287909; E-mail: jhxu1976@126.com。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2013 年 10 月至 2014 年 7 月在广东省中医院各院区 ICU、心血管科、泌尿外科等接受造影技术诊治(包括冠状动脉造影、经皮动脉介入术、静脉尿路造影、肾动脉造影、增强 CT 扫描等)的住院患者 299 例,其中男 167 例,平均年龄(66.1±10.7)岁,女 132 例,平均年龄(64.1±9.6)岁。糖尿病患者 74 例,非糖尿病患者 225 例。详细记录受检患者的各项临床资料,包括年龄、性别、家族史、药物过敏史、造影剂使用情况、血糖等。依据近年来国外专家的意见和国内 2009 年达成的《对比剂肾病中国专家共识》诊断 CIN。纳入标准:造影后 24~48 h 血清肌酐(SCr)水平升高 44.2 μmol/L 或较原基础值上升 25% 以上,并排除严重心律失常、心肌梗死、心力衰竭等其他影响因素。排除标准:急慢性肾病、原发性肾病、肿瘤、活动性肝病者;造影剂过敏者;1 周内服用利尿剂、非甾体类解热止痛药、嘌呤类药物或者其他肾毒性药物等。

1.2 方法 SCr 检测采用酶法,试剂由 Roche 公司提供;血清半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C(CysC)检测采用免疫比浊法,试剂由上海科华公司提供;检测 SCr 和 CysC 的仪器为 Roche MODULAR PPI。血清 NGAL 检测采用 ELISA,试剂盒由丹麦 Antibodyshop 公司提供,检测仪器为 BIO-TEK 全自动酶免仪。试验前严格按照仪器厂商的操作规程进行仪器的校准和维护保养,确保检测仪器处于正常状态。所有试验过程按照实验室的标准操作规程进行质量控制,确认同批试验的质量结果在控的前提下,采用试验数据。所有患者均使用低渗非离子造影剂(碘海醇),平均造影剂量为(227.2±83.5)mL。受检患者在造影前及造影后第 1、2、6 天的清晨采集静脉血标本,采集血样前 10 h 禁食禁饮。检测患者各时间点的 SCr、CysC 和 NGAL 水平。

1.3 统计学处理 采用 SPSS16.0 统计软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 *t* 检验,计数资料以率表示,应用 χ^2 检验,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 糖尿病与 CIN 的关系 299 例受检患者在使用造影剂过程中,未发生严重不良反应,但是出现 CIN 总共 28 例,发病率为 9.36%。糖尿病患者与非糖尿病患者造影剂使用量分别为(234.5±61.1)mL 和(220.0±54.3)mL,差异无统计学意义(*P*>0.05)。在 74 例糖尿病患者中,有 12 例患者出现 CIN,发病率为 16.21%;非糖尿病患者共 225 例,有 16 例患者出现 CIN,发病率为 7.11%,两组比较差异有统计学意义(*P*<0.05)。

表 1 两组 SCr、CysC、NGAL 不同时间点的平均水平($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | <i>n</i> | SCr(μmol/L) | CysC(mg/L) | NGAL(ng/mL) |
|---------|----------|-------------|------------|--------------|
| 无 CIN 组 | 271 | | | |
| 造影前 | | 66.24±12.58 | 0.78±0.20 | 123.33±31.21 |
| 造影后 1 d | | 68.33±14.21 | 0.80±0.22 | 127.89±33.96 |
| 造影后 2 d | | 69.21±13.85 | 0.79±0.21 | 125.65±33.74 |
| 造影后 6 d | | 67.14±14.88 | 0.77±0.17 | 122.88±31.58 |
| CIN 组 | 28 | | | |
| 造影前 | | 67.58±12.11 | 0.79±0.23 | 126.37±34.34 |
| 造影后 1 d | | 73.84±10.58 | 0.82±0.20 | 289.78±87.89 |
| 造影后 2 d | | 89.89±13.14 | 1.14±0.26 | 228.58±71.12 |
| 造影后 6 d | | 71.75±11.32 | 0.83±0.22 | 167.23±44.45 |

2.2 受检患者 SCr、CysC 与 NGAL 水平不同时间点检测结果

无 CIN 组在造影前与造影后 1、2 及 6 d 的 SCr、CysC 与 NGAL 血清水平无明显变化,差异无统计学意义(*P*>0.05)。CIN 组患者的 SCr、CysC 水平在造影后 2 d 较造影前明显升高(*P*<0.05),于第 6 天恢复到造影前水平;血清 NGAL 水平在造影后 1 d 水平就显著升高,与造影前比较差异有统计学意义(*P*<0.05),在造影后 2 d NGAL 水平开始有所回落,在第 6 天的水平仍高于造影前,见表 1,图 1~3。

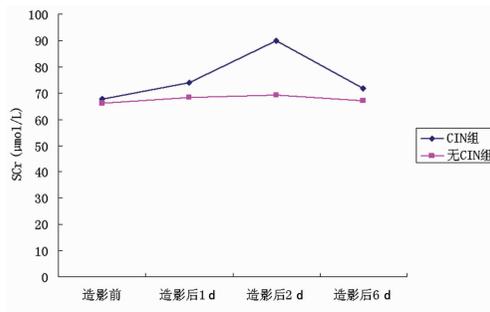


图 1 两组 SCr 在造影前后水平变化

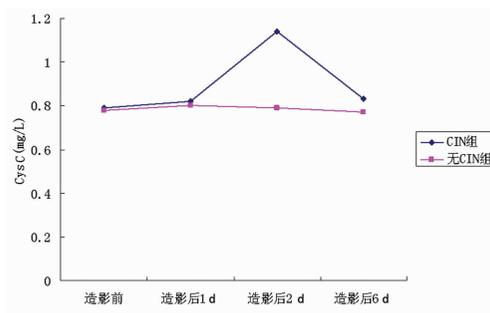


图 2 两组 CysC 在造影前后水平变化

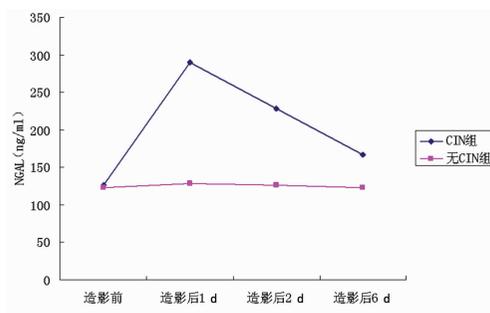


图 3 两组 NGAL 在造影前后水平变化

3 讨论

CIN 是排除了其他肾脏损害因素的使用造影剂后 2~3 d 发生的急性肾功能损害,是医源性急性肾功能损害的常见原因,是当今肾内科、泌尿外科、ICU、放射科、检验科等许多科室共同关注的热点。其发病机制还不清楚,当前认为肾脏血流动力学发生变化和造影剂所致肾脏血管强烈收缩而引起的肾髓质缺血缺氧是导致 CIN 的重要因素。造影剂首先引起肾血管短暂扩张和肾血流量增加,随后出现肾血管长时间收缩,肾血管持续收缩引起肾内血流进行再次分配,导致髓质缺血^[2],使用非甾体类抗炎药时这种缩血管作用会更加强烈,可能与血管收缩因子(包括腺苷、钙离子、内皮素等)与舒张因子(前列腺素和一氧化氮等)比例失调有关。另外造影剂可引起渗透性利尿,加重了肾脏负荷,加剧了组织缺氧状况。研究发现,严重的组织学改变发生在外髓髓袢升支粗段,这与钠转运

增加引起的组织代谢增加有关。CIN 时近曲小管受损导致髓袢升支粗段钠转运增加,注射造影剂后肾髓质的氧含量明显降低。另外的研究还认为造影剂能引起的肾小管损伤^[3]、肾小管阻塞^[4]、肾小管上皮细胞凋亡^[5]等都是 CIN 的致病机制。

目前,SCr、尿量及 CysC 水平是目前临床应用最广泛的肾功能评价标准。但是 SCr 其易受性别、种族、年龄、体质、营养状况、蛋白质摄入量等许多非肾脏因素的影响,敏感性相对较差;且 SCr 水平变化滞后于肾损伤的发生,不能及时反映肾功能状态,所以 SCr 水平不能较早地反映肾脏早期损害。尿量这个指标容易受到血容量状态、药物等非肾性因素影响,且大多数的 CIN 患者在早期表现为尿量正常,少数患者呈少尿甚至无尿,所以通过尿量的多少来判断造影剂是否导致肾损害已无法满足现代循证医学的诊断标准。CysC 是低分子蛋白质,可以自由地通过肾小球基底膜,在近曲小管几乎被吸收和降解,其产量不受其他因素的影响,用于判断肾小球滤过率(GFR)下降的敏感性好于 SCr,但是 CysC 水平变化对于 CIN 的早期诊断不理想。这就需要有一种更敏感的生物标志物来帮助诊断肾功能的早期损害。国外的研究报道称 NGAL 比 CysC 能相对更早的发现肾损害^[6]。

NGAL 又名脂质运载蛋白-2,是 Kjeldsen 等^[7]1993 年在动物中性粒细胞中发现的与明胶酶结合的分泌型蛋白质,属于脂质运载蛋白家族中的成员。在生理状态下,中幼粒细胞及晚幼粒细胞分化阶段合成 NGAL,循环的 NGAL 通过肾小球滤过,在肾小管的近曲小管被重吸收。当肾脏出现缺血性或中毒性损伤时,NGAL 相对分子质量较小不易降解,可短时间内大量积聚于肾小管皮质层或分泌于血液及尿液中。国外研究人员已经通过缺血性及肾毒性损伤动物实验证实,在肾脏损伤发生后 2 h 内肾小管上皮细胞 NGAL 的转录表达有显著升高^[8]。本研究剔除了慢性肾病、原发性肾病及造影前 SCr 异常的病例。慢性肾病患者的血清 NGAL 水平明显高于健康对照组,且与 SCr 水平呈正相关,与 GFR 呈负相关^[9]。

本研究 CIN 的发病率为 9.36%。国内外对 CIN 发病率的报道有较大差异,可能是与患者使用的造影剂种类、造影剂用量、是否诊治等许多因素有关。糖尿病患者的 CIN 发病率(16.21%)明显高于非糖尿病患者(7.11%),反映出糖尿病患者相对更容易受到造影剂带来的肾脏损伤。临床医生在面对糖尿病患者使用造影剂诊疗前应充分检查评估。本研究的时间选择在造影前、造影后 1、2、6 d,通过 4 个时间节点观察 SCr、CysC 和 NGAL 的水平变化。CIN 患者 SCr 和 CysC 水平在造影后 2 d 时相对造影前明显升高,第 6 天基本恢复到造影前的水平,与国内一些研究报道一致^[10]。而血清 NGAL 在造影后第 1 天就非常显著地升高,较造影前差异有统计学意义,即使在第 6 天的水平也高于造影前水平,与其他报道急性肾功能损伤(AKI)的研究数据接近^[11-12]。非 CIN 患者 SCr、CysC 和 NGAL 水平在造影前后有轻微变化,差异无统计学意义($P>0.05$)。

本研究受条件限制,未能完成 NGAL 水平与肾功能变化的相关性分析。如后期研究够收集更多病例,且能进一步延长观察时间,对 CIN 患者整个住院期间有个全面地跟踪和评价,将进一步认识 NGAL 在 CIN 中的诊断意义。另外,CIN 患者中尿液中 NGAL 水平也是值得关注和研究的,不少的研究报道反映尿液 NGAL 水平在 AKI 和慢性肾炎中都会升高^[13-14],如能够联合检测血液和尿液中的 NGAL 变化水平,医务人员可能会更全面地预测 CIN 的发生和掌握其预后状况。

综上所述,CIN 与许多危险因素相关,即使患者在造影前肾功能正常,临床上也需高度重视。如患者发生 CIN,临床上需要早诊断早治疗,医生应根据 CIN 发生时间,合理地选用检测指标。血清 NGAL 水平较 SCr、CysC 升高更高,其在 CIN 早期诊断中有良好的应用前景。

参考文献

- [1] Wang A, Holcslaw T, Bashore TM, et al. Exacerbation of radiocontrast nephrotoxicity by endothelin receptor antagonism[J]. *Kidney Int*, 2000, 57(4): 1675-1680.
- [2] Wong PC, Li Z, Guo J. Pathophysiology of contrast-induced nephropathy[J]. *Int J Cardiol*, 2012, 158(2): 186-192.
- [3] Waybill MM, Waybill PN. Contrast media-induced nephrotoxicity: identification of patients at risk and algorithms for prevention[J]. *J Vase Interv Radiol*, 2001, 12(1): 3-9.
- [4] Asif A, Preston RA, Roth D. Radiocontrast-induced nephropathy[J]. *Am J Ther*, 2003, 10(2): 137-147.
- [5] Hizoh I, Haller C. Radiocontrast-induced renal tubular cell apoptosis[J]. *Invest Radiol*, 2002, 37(8): 428-434.
- [6] Parikh CR, Jani A, Mishra J, et al. Urine NGAL and IL-18 are predictive biomarkers for delayed graft function following kidney transplantation[J]. *Am J Trans Plant*, 2006, 6(7): 1639-1645.
- [7] Kjeldsen L, Johnsen AH, Sengeløv H, et al. Isolation and primary structure of NGAL, a novel protein associated with human neutrophil gelatinase[J]. *J Biol Chem*, 1993, 268(14): 10425-10432.
- [8] Yuen PS, Jo SK, Holly MK, et al. Ischemic and nephrotoxic acute renal failure are distinguished by their broad transcriptomic responses[J]. *Physiol Genomics*, 2006, 25(3): 375-386.
- [9] Bolognani D, Laequantiti A. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) and progression of chronic kidney disease[J]. *J Clin Nephrol*, 2009, 4(2): 337.
- [10] 吴卫华. 尿 NAG 检测在造影剂肾病早期诊断中的应用[J]. *检验医学*, 2012, 27(4): 318-320.
- [11] 蔡雷鸣, 厉倩, 金才峰, 等. 血清中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白检测在急性肾功能损伤早期诊断中的临床意义[J]. *检验医学*, 2012, 27(4): 287-290.
- [12] Cruz DN, de Cal M, Garzotto F, et al. Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin is an early biomarker for acute kidney injury in an adult ICU population[J]. *Intensive Care Med*, 2010, 36(3): 444-451.
- [13] 吴家玉, 熊冠泽, 丁福全, 等. 血清胱抑素 C 和尿 NGAL 联合检测在急性肾损伤病情评估及预后中的价值[J]. *中山大学学报: 医学科学版*, 2014, 35(1): 152-155.
- [14] 陶青松, 黄建军, 左学良. NGAL 在慢性肾炎肾损伤患者中的应用价值[J]. *现代检验医学杂志*, 2013, 28(3): 48-51.