

- (2):468-471.
- 2 Zhang G, Tan N, Liang LX, et al. Smad7 attenuate inducible collagen production in hepatic stellate cells involving the regulation of P21 and P27[J]. FASEB J, 2008, 22(4): F242.
- 3 Friedman SL, Roll FJ. Isolation and culture of hepatic lipocytes, Kupffer cells, and sinusoidal endothelial cells by density gradient centrifugation with Stractan[J]. Anal Biochem, 1987, 161(1): 207-218.
- 4 高春芳,孔宪涛,范列英. 大鼠肝贮脂细胞、Kupffer 细胞的分离、培养和鉴定[J]. 中华消化杂志,1995;15(3):142-145.
- 5 徐列明,刘成,刘平. 扁桃腺对大鼠肝贮脂细胞增殖和产生胶原的影响[J]. 新消化病学杂志,1997,5(2):84-85.
- [收稿日期 2010-08-15][本文编辑 韦挥德 黄晓红]

课题研究·论著

尿 NHE3 在急性肾损伤早期诊断中的价值

张文欣, 龚智峰, 彭小梅, 刘斐, 刘松涛, 黄寨,
赵林, 俞宁, 唐盛, 赵红玲, 韦明欣

基金项目: 广西科技厅自然科学基金资助项目(编号:桂科自 0640055)

作者单位: 530021 南宁,广西壮族自治区人民医院泌尿内科

作者简介: 张文欣(1966-),女,研究生学历,医学硕士,主任医师,研究方向:肾脏疾病与血液净化。E-mail:zwxb@126.com

[摘要] 目的 探讨尿 Na^+/H^+ 交换体亚型 3(Sodium Hydrogen exchanger isoform 3, NHE3)在重症监护(ICU)患者急性肾损伤(acute renal injury, AKI)早期诊断中的价值。方法 前瞻性选择入住 ICU 的 100 例患者,每天收集血、尿标本,用酶法测定血清肌酐(Scr),ELISA 法测定尿 NHE3 水平,计算肾小球滤过率(GFR),根据有无合并 AKI 将患者分成 AKI 组和非 AKI 组,并与 30 例健康体检者作为正常对照组进行比较。采用 ROC 曲线评价尿 NHE3 诊断 AKI 的临床价值。结果 三组尿 NHE3 基线水平无明显差异,非 AKI 组 Scr、GFR、尿 NHE3 水平无明显变化,AKI 组尿 NHE3 水平显著升高,升高时间较 Scr 提前 24 h。尿 NHE3 与 Scr 呈正相关、与 GFR 呈负相关($r=0.457, -0.463, P$ 均 <0.05)。以 Scr 升高 $>50\%$ 或血肌酐升高绝对值 $\geq 26.4 \mu\text{mol/L}$ 作为 AKI 的诊断标准,NHE3 灵敏度和特异度绘制 ROC 曲线,曲线下面积(AUC)为 0.758,与完全随机情况下获得的 $\text{AUC}=0.5$ 差异有统计学意义($P<0.05$)。以 NHE3 升高 $>50\%$ 基础值作为 AKI 的诊断界限,敏感度和特异度分别为 67.9% 和 88.9%,阳性预测值和阴性预测值分别为 70.4% 和 87.7%。结论 尿 NHE3 表达较 Scr 更早发生变化,可作为 ICU 患者 AKI 早期预测指标。

[关键词] 重症监护; 急性肾损伤; Na^+/H^+ 交换体亚型 3

[中图分类号] R 692 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2010)12-1160-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2010.12.02

Prospective study of the early diagnosis value of urinary NHE3 in acute renal injury ZHANG Wen-xin, GONG Zhi-feng, PENG Xiao-mei, et al. Department of Nephrology, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

[Abstract] **Objective** To study the early diagnosis value of urinary NHE3 in acute renal injury (AKI). **Methods** One hundred critically ill patients hospitalized in intensive care unit were enrolled in the study. Thirty health people were included as the control group. Urinary and blood samples were collected daily. Serum creatinine was detected by enzymic method, urinary NHE3 was detected by ELISA. AKI was defined as the absolute increment over $\geq 26.4 \mu\text{mol/L}$ or 50% increased of serum creatinine from the baseline. **Results** Twenty-eight of the 100 patients developed AKI. The baseline levels of serum creatinine and urinary NHE3 were similar in three groups. Urinary NHE3, Scr, GFR were no changed in non-AKI group. Urinary NHE3 in AKI group was significantly higher than baseline ($P<0.05$) 24 h before AKI diagnosed. According to the sensitivity and specificity of NHE3, ROC curves were drawn; ROC analysis confirmed diagnostic accuracy for NHE3 in AKI, area covered under the AUC curve was

0.758(95% CI: 0.635 ~ 0.804, $P < 0.05$). With the cut-of value of NHE3 increased $\geq 50\%$, the diagnostic sensitivity and specificity in AKI were 67.9% and 88.9%, the positive predictive value and negative predictive value were 70.4% and 87.7% respectively. **Conclusion** Urinary NHE3 can diagnose AKI earlier than Scr in ICU patients, which may be a good biomarker for early diagnosis of AKI.

[Key words] Intensive care unit; Acute renal injury; Urinary NHE3

Na^+/H^+ 交换体(NHE)是存在于所有真核细胞中的一种跨膜糖蛋白,是细胞内 pH 的重要调节者,对细胞内外离子的跨膜转运、细胞体积、胞内渗透压的控制、肾脏水盐重吸收和酸碱平衡起重要的调控作用。NHE3 是调节肾脏水盐重吸收和酸碱平衡的主要亚型,在肾脏主要分布在近曲小管、髓袢升枝粗段细胞顶膜。研究表明,NHE3 在 AKI 肾组织和尿液中均可以用免疫印迹法检测到,是 AKI 早期生物标志物^[1,2],但是该方法繁琐,临床上无法广泛开展。本研究用 ELISA 法检测重症监护患者尿液 NHE3,收到了效果,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 前瞻性收集 2009-01 ~ 2009-12 本院外科、心胸外科和急诊科重症监护室 100 例危重患者的有关资料(除外原有慢性肾脏病或肾功能不全患者),每例患者追踪至急性肾损伤诊断成立或转出监护室为观察终点。100 例患者中有 28 例临床符合 AKI 诊断(28.00%)。AKI 的发生原因为外伤或手术致肾缺血 11 例、重症感染 10 例、药物肾毒性 5 例、急性坏死性胰腺炎 2 例。将 100 例患者根据有无合并 AKI 分为 AKI 组和非 AKI 组,AKI 组男 17 例,女 11 例,年龄(51.5 ± 7.8)岁;非 AKI 组男 45 例,女 27 例,年龄(50.1 ± 8.6)岁;另选择 30 例健康体检者为对照组。三组性别、年龄差异无统计学意义($P > 0.05$)。

1.2 AKI 诊断标准 根据 2005 年急性肾损伤网络(AKIN)专家小组的共识,AKI 的诊断标准为:肾功能在 48 h 内突然下降,表现为血肌酐升高,绝对值 $\geq 26.4 \mu\text{mol/L}$;或血肌酐较基础值升高 $\geq 50\%$;或尿量减少(尿量 $< 0.5 \text{ ml}/(\text{kg} \cdot \text{h})$),时间持续超过 6 h^[3]。

1.3 检测方法 每例患者进入监护室即留取血尿标本,以后每天早上 7:00 为采集血尿标本时间。血标本用于生化检查,尿标本收集后,1 000 g 离心 10 min,取上清液,加入 1 mg/ml 亮氨酸和 0.1 mg/ml 苯甲基磺酰氟后放入 -80°C 冰箱保存。采用本院生化室生化自动分析仪检测血、尿常规、血糖、血脂、血肌酐、血尿素氮等指标;计算肾小球滤过率(GFR), $\text{GFR}[\text{ml}/(\text{min} \cdot 1.73 \text{ m}^2)] = 175 \times \text{Serum}$

$\text{creatinine}(\text{mg}/\text{dL})^{-1.234} \times \text{age}(\text{years})^{-0.179} [\text{women} \times 0.79]^{[4]}$ 。酶联免疫吸附实验(ELISA)方法检测尿 NHE3 表达水平,方法按试剂盒(美国 ADL 公司)的说明操作。用酶标仪在 450nm 波长下测定吸光度(OD)值,计算样品浓度。

1.4 统计学方法 所有数据应用 SPSS11.0 软件进行分析处理,计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验,不同时点比较采用重复测量资料的单因素方差分析,各均数间两两比较采用 q 检验,计数资料采用 χ^2 检验,相关关系采用 Pearson 直线相关分析和一元线性回归分析,运用传统的受试者工作特征曲线(ROC)及曲线下面积(AUC)对 NHE3 诊断 AKI 的敏感性和特异性进行评价, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组的 Scr、GFR、尿 NHE3 基础值比较 三组血清 Scr、GFR、尿 NHE3 水平比较差异无统计学意义(P 均 > 0.05)。见表 1。

表 1 三组 Scr、GFR、尿 NHE3 基础值比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	Scr($\mu\text{mol/L}$)	GFR(ml/min)	NHE3(pg/ml)
AKI 组	28	92.7 ± 10.4	86.3 ± 9.2	119.3 ± 12.7
非 AKI 组	72	90.8 ± 10.6	88.9 ± 9.5	120.7 ± 11.5
对照组	30	83.1 ± 10.5	95.4 ± 10.2	112.3 ± 12.5
F	—	2.86	2.92	2.97
P	—	> 0.05	> 0.05	> 0.05

2.2 AKI 组与非 AKI 组 Scr、GFR、尿 NHE3 动态变化比较 非 AKI 组 Scr、GFR、尿 NHE3 无明显变化。AKI 组诊断 AKI 前 24 小时尿 NHE3 开始升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。临床诊断 AKI 时尿 NHE3 水平继续升高,较基础值差异有统计学意义($P < 0.01$)。AKI 组不同时点的 Scr、GFR、NHE3 动态变化。见表 2。

表 2 AKI 组不同时点 Scr、GFR、NHE3 动态变化($\bar{x} \pm s$)

时点	Scr($\mu\text{mol/L}$)	GFR(ml/min)	NHE3(pg/ml)
入室时	92.7 ± 10.4	86.3 ± 9.2	119.3 ± 12.7
AKI 前 24 h	95.7 ± 10.5	80.2 ± 10.2	$180.6 \pm 23.2^*$
诊断 AKI 时	$150.3 \pm 19.5^*$	$43.8 \pm 7.5^*$	$429.6 \pm 53.7^\Delta$
F	23.4	24.9	65.7
P	< 0.05	< 0.05	< 0.01

注:与入室时(基础值)比较,* $P < 0.05$, $^\Delta P < 0.01$

2.3 AKI 患者尿 NHE3 与 Scr、GFR 的相关性

AKI 组尿 NHE3 与血清 Scr 呈正相关,与 GFR 呈负相关($r=0.457$, -0.463 , P 均 <0.05)。

2.4 尿 NHE3 对 AKI 的诊断的敏感度与特异度

当 Scr 升高 $>50\%$ 或血肌酐升高绝对值 $\geq 26.4 \mu\text{mol/L}$ 作为 AKI 的诊断标准时, NHE3 灵敏度和特异度绘制 ROC 曲线, 由 ROC 曲线分析可见, 尿 NHE3 在 AKI 的诊断中, 曲线下面积为 0.758 ($95\% \text{ CI}$ 为 $0.635 \sim 0.804$), 与完全随机情况下获得的曲线下面积 ($\text{AUC} = 0.5$) 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。当以尿 NHE3 升高 $>50\%$ 基础值作为 AKI 的诊断界限时, 尿 NHE3 用于诊断 AKI 的敏感度和特异度分别为 67.9% 和 88.9% , 阳性预测值和阴性预测值分别为 70.4% 和 87.7% 。见图 1。

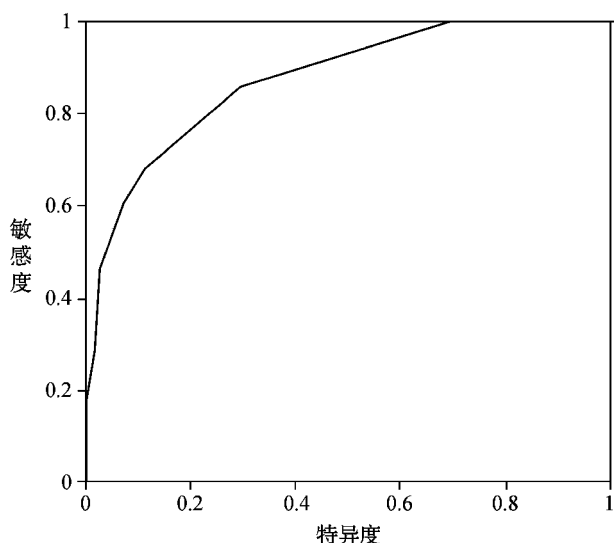


图1 尿 NHE3 在 AKI 诊断中的 ROC 曲线

3 讨论

3.1 AKI 是重症监护病房的常见并发症,是影响和决定患者预后的独立危险因素。目前 AKI 的诊断标准主要是依据患者的血肌酐和尿量的变化来作出,但这种方法易受到多种因素干扰,敏感性差,并且不能早期判定患者肾脏功能损伤的状态。

3.2 有关 NHE3 与肾脏疾病的研究国内外进行了一系列的研究。如在阿霉素诱导的肾病综合征模型中, NHE3 功能的降低导致 NaCl 转运的减少,进而影响了肾脏的逆流倍增能力,导致尿的浓缩功能障碍^[5]。在肾脏缺血再灌注损伤中发现 NHE3 的 mRNA 水平下降,活性降低,从而使 H^+ 分泌减少,肾小管上皮细胞酸化, HCO_3^- 重吸收减少,尿钠排出增多^[6]。NHE3 还参与肾移植术后细胞内 pH 值的恢复、急性再灌注性炎症的发生,以及肾小管上皮细胞

的增殖和修复过程^[7]。用 NHE3 抑制剂治疗大鼠缺血性 AKI 可减轻肾损程度^[8]。du Cheyron 等^[2]用半定量免疫印迹法测定尿 NHE3 对 54 例 ICU 病人进行前瞻性研究发现,肾前性氮质血症组尿 NHE3 增高,当发展为急性肾小管坏死(ATN)时, NHE3 蛋白带强度增加; ATN 组 NHE3 高于肾前性氮质血症组 6 倍,且 NHE3 水平与病人肾小管损伤的血肌酐水平呈正相关,肾功能恢复后 NHE3 消失;肾小球疾病、慢性肾衰患者尿中 NHE3 阴性。因此, du Cheyron 等^[2]认为 NHE3 的检测不仅可以作为早期急性肾功能损伤的指标,还可鉴别肾前性氮质血症、ATN 及肾性 AKI。

3.3 本研究观察到 AKI 患者的尿 NHE3 水平较血清肌酐水平更早地发生明显变化,提示尿 NHE3 可能成为重症监护患者 AKI 的早期诊断的生物学标志物。ROC 曲线是用来评价诊断实验可靠性的常用统计学方法, AUC 可反映诊断试验的准确性大小。本研究根据 NHE3 水平预测 AKI 的灵敏度和特异度,绘制成 ROC 曲线, AUC 为 0.758 ,提示尿 NHE3 水平对预测 AKI 有一定的参考价值。由于尿液较血液或肾组织取材更方便,无创性和依从性更好, ELISA 方法可以快速进行检测,因此尽管仍然需要大样本、多中心研究对尿 NHE3 诊断的灵敏度和准确度进行临床评估,但 ELISA 法检测尿 NHE3 还是很有希望成为一种快速、简便且灵敏度和准确度较高的早期肾损伤的检测方法。

参考文献

- McKee JA, Kumar S, Ecelbarger CA, et al. Detection of Na^+ transporter proteins in urine[J]. J Am Soc Nephrol, 2000, 11(11):2128-2132.
- du Cheyron, D, Daubin C, Poggioli J, et al. Urinary measurement of Na^+/H^+ exchanger isoform 3 (NHE3) protein as new marker of tubule injury in critically ill patients with ARF[J]. Am J Kidney Dis, 2003, 42(3):497-506.
- Molitoris BA, Levin A, Warnock DG, et al. Improving outcomes of acute kidney injury: report of an initiative [J]. Nat clin Pract Nephrol, 2007, 3(8):439-442.
- Ma YC, Zuo L, Chen JH, et al. Modified glomerular filtration rate estimating equation for Chinese patients with chronic kidney disease [J]. J Am Soc Nephrol, 2006, 17(10):2937-2944.
- Fernández-Llama P, Andrews P, Ecelbarger CA, et al. Concentrating defect in experimental nephrotic syndrome: altered expression of aquaporins and thick ascending limb Na^+ transporters [J]. Kidney Int, 1998, 54(1):170-179.
- Wang Z, Rabb H, Craig T, et al. Ischemic-reperfusion injury in the kidney: overexpression of colonic $\text{H}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ and suppression of NHE3[J]. Kidney Int, 1997, 54(4):1106-1115.

- 7 Matteucci E, Carmellini M, Mosca F, et al. The contribution of Na^+/H^+ exchange to postreperfusion injury and recovery of transplanted kidney[J]. Biomed Pharmacother, 1999, 53(9):438-444.
- 8 Hropot M, Juretske HP, Langer KH, et al. S3226, a novel NHE3

inhibitor, attenuates ischemia-induced acute renal failure in rats[J]. Kidney Int, 2001, 60(6):2283-2289.

[收稿日期 2010-07-13][本文编辑 谭毅 黄晓红]

课题研究·论著

彩超引导下羊膜腔穿刺术及脐带穿刺术在产前诊断中的应用

许春梅, 万里凯, 杨金兰, 陈彦红, 莫伟英

基金项目: 广西自然科学基金资助项目(编号:桂科基 0575040)

作者单位: 530021 南宁, 广西壮族自治区人民医院超声科(许春梅, 杨金兰, 陈彦红), 生殖医学与遗传中心(万里凯, 莫伟英)

作者简介: 许春梅(1966-), 女, 大学本科, 医学硕士, 主任医师, 研究方向: 腹部超声。E-mail: ld9696@yahoo.com.cn

[摘要] **目的** 探讨彩超引导下羊膜腔穿刺术(AC)及脐带穿刺术(FBS)在产前诊断中的应用价值。**方法** 对 1 008 例具有产前诊断指征的孕妇按孕周大小分为两组, 孕 17~21 周 943 例为 AC 组, 孕 22~36 周 65 例为 FBS 组, 分别抽取羊水标本和脐带血标本进行细胞培养, 行染色体核型及珠蛋白基因检查。**结果** AC 组一针成功率 100%, 未发生孕妇及胎儿并发症, 标本母血污染率 0.1%; FBS 组一针成功率 61.5% (40/65); 发现胎儿染色体异常 36 例, 重型地中海贫血 16 例。**结论** 彩超引导下羊膜腔穿刺术和脐带穿刺术安全可靠, 有较高的成功率, 可用于产前诊断。

[关键词] 彩超; 羊膜腔穿刺术; 脐带穿刺术; 产前诊断

[中图分类号] R 445.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2010)12-1163-03

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2010.12.03

Application of amniocentesis and fetal blood sampling guided by color Doppler ultrasound in prenatal diagnosis

XU Chun-mei, WAN Li-kai, YANG Jin-lan, et al. The Department of Ultrasonography, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

[Abstract] **Objective** To investigate the clinical application value of amniocentesis(AC) and fetal blood sampling(FBS)guided by color Doppler ultrasound in prenatal diagnosis. **Methods** A total of 1 008 pregnant women with prenatal diagnosis indications were divided into two groups according to the pregnant weeks:AC group including 943 cases of pregnancy between 17 and 21 weeks, FBS group including 65 cases of pregnancy between 22 and 36 weeks. The amniotic fluid and fetal blood samples were adopted by color Doppler ultrasound-guided AC or FBS for genetic analysis and karyotyping. **Results** In AC and FBS groups, the successful rate of first puncture was 100% and 61.5%, respectively. In AC group, the contamination of the maternal blood was 0.1%, 36 cases of abnormal chromosome and 16 cases of thalassemia major were found. **Conclusion** Both AC and FBS guided by color Doppler ultrasound are safe and reliable, and they have a high successful rate. They are significant in screening for prenatal diagnosis.

[Key words] Color Doppler ultrasound; Amniocentesis; Fetal blood sampling; Prenatal diagnosis

产前诊断是减少先天性缺陷和遗传病胎儿出生的重要医学干预措施, 取得胎儿标本是产前诊断的重要手段。目前我院已广泛开展彩超引导下羊膜腔

及脐带穿刺术, 为诊断性取材提供了良好的途径, 现报道如下。