

造影剂肾病早期诊断相关标志物的研究进展

冯景, 董红霖

山西医科大学第二医院血管外科, 山西 太原 030001

关键词: 造影剂肾病; 早期诊断标志物; 纤维蛋白原

中图分类号: R 692 文献标识码: A 文章编号: 1674-8182(2015)10-1406-04

随着现代诊治技术的发展, 依赖造影剂的诊疗操作不断增加, 造影剂肾病 (contrast-induced nephropathy, CIN) 的发生率也随之增加。CIN 是含碘造影剂在使用过程中的严重并发症, 一旦发生, 病死率可高达 35%^[1]。目前临床上对于 CIN 尚无特殊的治疗方法^[2], 早期诊断、及时采取有效措施干预对于预防 CIN 的发生至关重要。

临床上常用的 CIN 早期检测指标为血清肌酐 (Scr), 但其存在延迟效应, 无法及时诊断 CIN, 可导致延误治疗^[3]。因此, 临床急需一种更加敏感、特异的生物标志物取代 Scr 成为早期诊断 CIN 的标志物。近年来研究较多的 CIN 早期诊断标志物包括胱抑素 C (CysC)、白细胞介素 (IL)-18、肾损伤分子 1 (KIM-1)、L 型脂肪酸结合蛋白 (L-FABP)、中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白 (NGAL) 等。而国外最新研究显示尿液中的纤维蛋白原 (fibrinogen, Fg) 可作为急性肾损伤 (AKI) 的早期诊断标志物^[4], 国内鲜有提及。本文通过对以上 CIN 早期诊断标志物横向对比, 进一步探讨最适合于 CIN 早期诊断的标志物, 为临床 CIN 的早期诊断、早期干预提供新思路。

1 CIN 的定义及诊断标准

CIN 又称为造影剂急性肾损伤^[5], 是指使用含碘的造影剂后 2~3 d 内出现的无其他原因可解释的急性肾功能减退, 其本质就是造影剂诱发的急性肾损伤^[6]。但目前尚无统一的诊断标准。大多数学者采用的标准为使用造影剂后 2~3 d 发生的血清肌酐 (Scr) 水平较基线水平升高 $\geq 25\%$, 或 Scr 水平上升 0.5 mg/dl (44 $\mu\text{mol/L}$) 以上的急性肾功能损害^[7], 这是 2009 年美国出版的《造影剂应用指南》所采用的诊断标准。

2 CIN 的发病机制

CIN 的发病机制非常复杂, 尚未完全阐明。目前研究较多的是造影剂对肾小管的直接毒性作用、对肾脏血流动力学的影响、免疫因素及 Tamm-Horsfall 糖蛋白引起的肾小管梗阻等^[8]。其中造影剂对肾小管的直接毒性作用及对肾脏血流动力学的影响为关键因素, 两者相互影响, 促进 CIN 的发生发展。

2.1 肾小管的毒性损伤 临床诊疗操作中使用的含碘造影

剂均为水溶性, 主要通过肾脏的肾小球滤过排泄, 不在肾小管重吸收和分泌, 当造影剂通过肾小管时由于水分的重吸收导致造影剂浓度升高, 从而通过改变肾小管上皮细胞的形态、代谢及氧自由基的产生等机制损伤肾小管上皮细胞^[9]。

2.2 肾脏的血流动力学改变 多项研究显示造影剂对肾脏血流动力学的影响可能与肾脏内多个血管活性物质的活性有关。造影剂能使体外培养的内皮细胞释放内皮素, 也使内皮素 mRNA 增加, 并持续维持数小时较高浓度, 内皮素能使局部血管强烈而持久地收缩, 从而造成肾脏的损伤^[10]。

3 CIN 早期诊断相关标志物

3.1 胱抑素 C (CysC) CysC 是由 122 个氨基酸残基组成的半胱氨酸蛋白酶抑制剂, 相对分子质量约为 13 000, 也被称为 γ -微量蛋白及 γ -后球蛋白, 可由机体所有有核细胞产生, 产生率恒定, 不受年龄、性别、饮食、炎症等影响。循环中的 CysC 仅经肾小球滤过而被清除, 不依赖任何外来因素, 是一种反映肾小球滤过率变化的理想的内源性标志物^[11]。

早在 2004 年 Herget-Rosenthal 等^[12]报道称 CysC 诊断 AKI 的敏感性、特异性均明显优于 Scr, 可比 Scr 提前 1~2 d。Briguori 等^[13]在对 410 例慢性肾脏病、周围血管造影患者的研究中发现, CysC 是可靠的 CIN 早期诊断标志物, 并认为造影后 24 h CysC 升高 $\geq 10\%$ 是早期预警 CIN 的最佳数值。Ebru 等^[14]对 120 例冠状动脉造影患者术前 48 h 及术后 48 h 测定 CysC 发现, CysC 较基线水平升高 25%, 并认为 CysC 可能是敏感的 CIN 诊断指标。大多数研究认可以上 CysC 的 CIN 早期预测作用, 然而 Ribichini 等^[15]对 166 例 (其中 30 例发展为 CIN) 冠状动脉造影干预的患者的前瞻性研究发现, 12 h Scr 的诊断敏感性和诊断特异性分别为 43% 和 93%, CysC 的诊断敏感性和诊断特异性较 Scr 差 ($AUC = 0.48, P = 0.74$), CysC 的 CIN 早期预测作用并没有被观察到。

综上所述, 目前关于 CysC 的 CIN 早期诊断作用研究还存在较多争议, CysC 是否能完全替代 Scr, 尚无定论, 仍需大样本的临床研究及 CIN 具体发病机制的研究证实。

3.2 IL-18 IL-18 是由 157 个氨基酸残基组成的促炎性因子, 主要由巨噬细胞产生, 脂肪细胞、肾脏细胞和胰岛细胞等也可产生, 当肾小管受到缺血再灌注损伤时大量释放入尿液^[16]。

Parikh 等^[17]对重症监护室 138 例 AKI 患者进行的前瞻性研究中发现, IL-18 是重症患者 AKI 早期诊断的可靠指标。

Ling 等^[18]收集了 150 例接受冠脉造影介入治疗患者的资料,造影剂组使用造影剂后 24 h,尿 IL-18 水平显著升高,相关分析显示,CIN 组尿液 IL-18 与 Scr 呈正相关,ROC 分析证实,尿液 IL-18 在 CIN 早期诊断中的准确性较高,IL-18 可能为较好的 CIN 早期诊断标志物。He 等^[19]对 180 例(其中 16 例发展为 CIN)行冠状动脉造影干预的患者研究发现,CIN 组 2 h 尿液 IL-18 水平较非 CIN 增高,差异但无统计学意义($P > 0.05$)。6 h、12 h、24 h、48 h 尿液 IL-18 水平 CIN 组较非 CIN 组增高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。相关分析显示造影干预 24 h 后 CIN 组尿 IL-18 与 Scr 呈正相关。ROC 曲线分析结果证实,尿液 IL-18 在 CIN 早期诊断中的准确性较高,以 815.61 pg/ml 作为诊断截点,诊断 CIN 的敏感性和特异性分别为 87.5% 和 62.2%,相比 Scr,尿 IL-18 可更早提示肾脏损害,可能是早期诊断 CIN 的标志物。上述研究提示,IL-18 对早期诊断 AKI 有较高的敏感性和特异性,但这些研究样本量都较小,且有多种混杂因素以及某些潜在因素的识别与排斥也影响尿液 IL-18 的水平,因此 IL-18 尚不足以作为 CIN 的早期诊断标志物。

3.3 肾损伤分子 1(KIM-1) KIM-1 是免疫球蛋白(Ig)基因超家族成员之一,由 334 个氨基酸残基组成的 I 型跨膜糖蛋白^[20]。据研究报道,KIM-1 在正常肾组织中表达甚微,而在缺血缺氧引起的肾损伤组织中表达量迅速提高,且 KIM-1 升高明显早于 Scr,尿 KIM-1 水平与肾组织 KIM-1 表达水平一致^[21]。

李慧凛等^[22]观察低渗造影剂诱导大鼠 CIN 模型中 KIM-1 的表达,研究结果显示,自造模后 2 h 开始,造影剂组较阴性对照组大鼠肾组织 KIM-1 蛋白及其 mRNA 表达水平均显著增加,较 Scr 更早反映肾损伤。有研究对 160 例经皮冠状动脉介入治疗(PCI)术后的患者(其中 14 例发展为 CIN)研究发现,CIN 组较非 CIN 组尿 KIM-1 显著增高($P < 0.01$),Pearson 相关系数显示,尿 KIM-1 与 Scr 成正相关($r = 0.758, P < 0.01$)。以 4.595 $\mu\text{g/L}$ 作为诊断截点,诊断 CIN 的敏感性和特异性分别为 85.7% 和 71.4%,得出的结论为尿 KIM-1 可能较 Scr 更早预测 CIN 的发生。Duan 等观察 60 例(其中 8 例发展为 CIN)行 MRI 造影的老年患者发现,造影后 24 h 尿液 KIM-1、IL-18、CysC 均显著增高。这些研究均提示尿液 KIM-1 可能作为 CIN 的早期诊断标志物之一。

3.4 L-型脂肪酸结合蛋白(L-FABP) L-FABP 是相对分子质量约为 14 400 的小分子蛋白,是脂肪酸结合蛋白家族的重要成员,肾脏中的 L-FABP 主要表达于近端肾小管细胞,在肝脏、小肠中也有表达。在肾小管细胞损伤、细胞膜通透性升高时 L-FABP 快速溢出,被认为是反映肾组织损伤的特异性标志物^[23]。

早在 2009 年 Fukuda 等^[24]就第一次提出尿 L-FABP 可能是 CIN 的早期诊断标志物,以 13.4 mg/L 作为诊断截点,诊断 CIN 的敏感性和特异性分别为 80.0% 和 96.3%。Kato 等^[25]报道称,在中度肾功能不全患者中,L-FABP 是唯一可以检测一过性肾小管损伤的生物标志物。Ohta 等^[26]报道了 18 例肾功能正常行含碘血管造影的患者,造影后当天尿 L-FABP 较造

影前升高了 578%,尿 NAG 水平升高了 93%,后者升高幅度明显低于 L-FABP,造影后第 2 天尿 L-FABP 降至基础值,而此时 Scr、尿素氮均无明显变化,表明尿 L-FABP 可敏感反映肾小管急性损伤,监测尿 L-FABP 可早期预测 CIN 的发生。Nakamura 等^[27]进一步观察了 66 例冠脉造影的轻度肾功能不全患者,其中 13 例患者发生 CIN,CIN 组术后第 2 天尿 L-FABP 升至峰值,第 3 天开始逐渐下降,但直至第 14 天尿 L-FABP 仍维持在高水平,而此时 Scr 浓度已恢复到基础水平,在研究期间非 CIN 组尿 L-FABP 变化很小,该研究进一步证实尿 L-FABP 有助早期诊断 CIN。

3.5 中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白(NGAL) NGAL 又称脂运蛋白 2,由一条含有 178 个氨基酸残基的多肽链构成,是载脂蛋白家族成员之一。在肾脏主要表达于近曲小管,生理状态下肾组织很少表达 NGAL,肾小管上皮细胞受损时,NGAL 大量表达,使血液和尿液 NGAL 浓度迅速增加,提示 NGAL 可能作为急性期反应蛋白预测肾功能的早期损害^[28]。Bachorzewska-Gajewska 等^[29]对 100 例行经皮冠状动脉介入治疗(PCI)的患者研究发现,血 NGAL 水平在 PCI 术后 2 h、4 h、8 h 显著升高,尿 NGAL 水平在 PCI 术后 2 h、8 h、24 h 显著升高,而 CysC 仅在 PCI 术后 8 h 及 24 h 才开始显著升高,提示 NGAL 是 PCI 术后肾损伤敏感的早期标志物。Liebetrau 等^[30]对 128 例(14 例发展为 CIN)PCI 术后患者随访发现,术后 24 h CIN 患者较阴性患者 NGAL 显著增高[100.1 ng/ml(41.5 ~ 129.2) vs 16.6 ng/ml(9.1 ~ 28.1); $P < 0.001$]。Hirsch 等^[31]观察 91 例 0 ~ 18 岁先天性心脏病需要行心脏介入治疗的儿童,发现与无 CIN 的患儿比较,注射造影剂后 2 h CIN 患儿血 NGAL 明显升高[(151 ± 34)ng/ml vs (36 ± 4)ng/ml, $P < 0.001$],尿 NGAL 明显升高[(135 ± 32)ng/ml vs (11.6 ± 2)ng/ml, $P < 0.001$],多变量回归分析显示术后 2 h 血、尿 NGAL 可以作为预测 CIN 的指标。

4 CIN 早期诊断标志物的新进展

纤维蛋白原是纤维蛋白的前体,是由肝脏合成的具有凝血功能的蛋白质,相对分子量为 340 000,由 α 、 β 、 γ 三对不同多肽链所组成,多肽链间以二硫键相连^[32-33]。除了凝血功能外,纤维蛋白原也是公认的急性期反应蛋白并在不同的病理炎症刺激时显著上调^[34-36]。

Hoffmann 等^[4]通过建立两种不同机制引起的 AKI 模型,分别为缺血再灌注导致的肾小管急性损伤模型、顺铂化合物毒性导致的肾小管急性损伤模型,研究发现尿液纤维蛋白原在损伤后 24 h 显著增加,且与肾脏组织的病理损伤程度相关。在缺血再灌注肾损伤模型中,纤维蛋白原三个片段(Fg α 、Fg β 、Fg γ)mRNA 表达在损伤后 24 h 显著增加,其中 Fg β mRNA 在损伤后 72 h 表达量最高。尿液纤维蛋白原在再灌注损伤 24 h 明显增高,72 h 达到峰值,120 h 开始降低。在肾毒性肾小管损伤模型中,纤维蛋白原三个片段 mRNA 在损伤 24 h 表达显著增加,其中 Fg γ mRNA 表达量最高。尿液纤维蛋白原同样在损伤后 24 h 明显升高。提示:尿液纤维蛋白原是小鼠 AKI 的早期标志物;不论何种原因引起的小鼠 AKI,纤维蛋白原

mRNA 表达水平均显著增高。

Hoffmann^[4]等随后对 31 例行腹主动脉瘤修复手术后发展为 AKI 的患者纵向随访中发现,尿液纤维蛋白原增高较 Scr 敏感。并将 53 例 AKI 患者与 59 例非 AKI 患者对比,结果显示 AKI 患者尿液纤维蛋白原显著升高,提示尿液中纤维蛋白原可以作为 AKI 的敏感的早期诊断标志物。

为了评估纤维蛋白原对 AKI 早期诊断的特异性,研究者们给小鼠腹腔注射半乳糖苷酶,造成小鼠肝脏损伤模型,研究结果显示小鼠肝脏损伤指标 ALT、AST 显著升高,而小鼠肾脏结构和功能正常,纤维蛋白原三个片段 mRNA 表达无变化,尿液中纤维蛋白原也无变化,因此提示纤维蛋白原是 AKI 特异性的标志物。因此,尿液中纤维蛋白原被认为是 AKI 的敏感的、特异性的早期诊断标志物。

我们的实验研究也证实了以上 Hoffmann 的观点,我们给雄性 C57BL/6J 小鼠应用内皮损害药物吲哚美辛(INDO, 10 mg/kg)、L-NG-硝基精氨酸甲酯(L-NAME, 10 mg/kg)共同作为基础肾损害的因素,并在此基础上应用不同浓度碘克沙醇造影剂(Iodixanol, 4.0 gL/kg、6.0 gL/kg、8.32 gL/kg、10.40 gL/kg)成功建立了小鼠 CIN 模型。24 h 后处死小鼠,石蜡包埋小鼠肾脏组织,光镜下观察小鼠肾脏的病理损伤;酶联免疫(ELISA)分别测定小鼠 Scr 含量及尿液纤维蛋白原的含量。研究结果显示 4.0 gL/kg 组及 6.0 gL/kg 组小鼠肾脏组织病变轻微,肾小球结构正常,仅见局灶性肾小管上皮细胞水肿,肾间质炎症细胞浸润,处于 CIN 的可逆性阶段,ELISA 结果显示小鼠 Scr 较空白对照组未见明显变化($P > 0.05$),而小鼠尿液纤维蛋白原较空白对照组明显升高($P < 0.05$)。8.32 gL/kg 组肾小管上皮细胞颗粒空泡变性,灶状脱落,ELISA 结果显示小鼠 Scr 及尿液纤维蛋白原均明显升高;10.40 gL/kg 组肾小管上皮细胞颗粒空泡变性,弥漫坏死脱落,可见管型,伴有肾间质水肿,ELISA 结果同样显示小鼠 Scr 及尿液纤维蛋白原明显升高,且随着造影剂剂量的增加,小鼠肾脏组织的损伤程度也逐渐加重。

综上所述,尿液中纤维蛋白原在 CIN 的肾脏水肿期(即 CIN 的可逆性阶段)能较早的反映小鼠的肾脏损伤,对 CIN 的早期诊断及随后的预防治疗有着非常积极的意义,因此,我们认为纤维蛋白原在 CIN 的早期诊断中有潜在的应用前景。

5 结 语

人们希望理想的 CIN 诊断标志物是具备敏感性、特异性等特点,以便能够及时有效地诊断 CIN,进而早期预防 CIN 的发生或者干预 CIN 的发展,而纤维蛋白原标志物可能符合以上敏感性、特异性等特点。

CIN 是造影剂诱发的 AKI, Hoffmann 等^[4]通过建立两种不同机制引起的 AKI 模型,证实了不论何种原因引起的小鼠 AKI,纤维蛋白原 mRNA 表达水平均显著增高,这就提示我们可以通过检测纤维蛋白原的 mRNA 表达水平及时预测 CIN 的发生。同时我们的实验研究也提示我们小鼠尿液纤维蛋白原在 CIN 的早期肾损伤阶段(即 CIN 的可逆性阶段)就开始明显增高,较 Scr 更敏感地反映了肾脏的早期可逆性损伤。纤维蛋

白原特异性方面研究者们也通过建立小鼠肝脏损伤模型,证实了在小鼠肾脏功能正常而肝脏功能损伤时,小鼠尿液纤维蛋白原并不会升高。

目前大量研究发现 CysC、IL-18、KIM-1 等是早期诊断 CIN 可靠指标,但各种生物标志物的确切作用仍存在较多的争议,仍需要大样本临床研究的证实。

总之,纤维蛋白原可能符合人们理想的 CIN 的早期诊断标志物敏感性、特异性等特点,纤维蛋白原的早期诊断作用还有待全面、系统的评定,可从纤维蛋白原 mRNA 的表达水平方面着手进一步研究。

参考文献

- [1] Krummel T, Faller AL, Bazin D, et al. Contrast-induced nephropathy [J]. *Presse Med*, 2010, 39(7/8): 807-814.
- [2] Amini M, Salarifar M, Amirbaigloo A, et al. N-acetylcysteine dose not prevent contrast-induced nephropathy after cardiac catheterization in patients with diabetes mellitus and chronic kidney disease: a randomized clinical trial [J]. *Trials*, 2009, 10: 45.
- [3] Morcos SK. Prevention of contrast media nephrotoxicity-the story so far [J]. *Clin Radiol*, 2004, 59(5): 381-389.
- [4] Hoffmann D, Bijol V, Krishnamoorthy A, et al. Fibrinogen excretion in the urine and immunoreactivity in the kidney serves as a translational biomarker for acute kidney injury [J]. *Am J Pathol*, 2012, 181(3): 818-828.
- [5] Morcos SK, Thomsen HS; European Society of Urogenital Radiology. European Society of Urogenital Radiology guidelines on administering contrast media [J]. *Abdom Imaging*, 2003, 28(2): 187-190.
- [6] Mehran R, Nikolsky E. Contrast-induced nephropathy: definition, epidemiology, and patients at risk [J]. *Kidney Int Suppl*, 2006(100): S11-S15.
- [7] Manabe K, Kamihata H, Motohiro M, et al. Urinary liver-type fatty acid-binding protein level as a predictive biomarker of contrast-induced acute kidney injury [J]. *Eur J Clin Invest*, 2012, 42(5): 557-563.
- [8] Bulent Gul CB, Gullulu M, Oral B, et al. Urinary IL-18: a marker of contrast-induced nephropathy following percutaneous coronary intervention [J]. *Clin Biochem*, 2008, 41(7-8): 544-547.
- [9] Bartorelli AL, Marenzi G. Contrast-induced nephropathy [J]. *Interv Cardiol*, 2008, 21(1): 74-85.
- [10] Hentschel M, Gildein P, Brandis M, et al. Endothelin (ET-1) is involved in the contrast media induced nephrotoxicity in children with congenital heart disease [J]. *Clin Nephrol*, 1995, 43 Suppl 1: S12-S15.
- [11] Grubb AO. Cystatin C-properties and use as diagnostic marker [J]. *Adv Clin Chem*, 2000, 35: 63-99.
- [12] Herget-Rosenthal S, Marggraf G, Hüsing J, et al. Early detection of acute renal failure by serum cystatin C [J]. *Kidney Int*, 2004, 66(3): 1115-1122.
- [13] Briguori C, Visconti G, Rivera NV, et al. Cystatin C and contrast-induced acute kidney injury [J]. *Circulation*, 2010, 121(19): 2117-2122.
- [14] Ebru AE, Kilic A, Korkmaz FS, et al. Is cystatin-C superior to creati-