

断的指导价值[D]. 福州:福建医科大学,2013.

[10] 金志彪,柳锡永.降钙素原水平检测与脓毒血症新生儿预后相关性[J].中国妇幼健康研究,2016(01):55-57.

[11] Janota J, Stranak Z, Belohlavkova S, et al. Postnatal increase of procalcitonin in premature newborns is enhanced

• 临床研究 •

by chorioamnionitis and neonatal sepsis. [J]. European Journal of Clinical Investigation, 2001, 31(11): 978-983.

(收稿日期:2017-05-17 修回日期:2017-08-04)

MHD 患者血清 hs-CRP、IL-6、TNF-α 水平与患者 心功能及生活质量的关系研究*

王会苗,张 颖,陈 超,牛青青,张国英,牛 昭,贾 存
(保定市第二医院,河北保定 071000)

摘 要:目的 研究维持性血液透析(MHD)患者血清超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)、白细胞介素 6(IL-6)、肿瘤坏死因子 α(TNF-α)水平与患者心功能及生活质量的关系。**方法** 选择 2009 年 1 月至 2016 年 5 月保定市第二医院血液透析中心进行 MHD 的慢性肾病患者 144 例,采用酶联免疫吸附法对患者血清 hs-CRP、IL-6、TNF-α 水平进行检测,根据 hs-CRP 水平,将患者分为正常组和超高组,其中正常组患者 68 例,超高组患者 76 例。采用彩色多普勒超声诊断仪,对 2 组患者左心室质量指数(LVMI)、左心室射血分数(LVEF)、二尖瓣前向血流 E 峰与 A 峰比值(E/A)、心排出量(CO)等心功能指标进行检测。同时研究 hs-CRP、IL-6、TNF-α 与 LCMI、LVEF、E/A、CO、生活质量等指标的相关性。**结果** hs-CRP 正常组与 hs-CRP 超高组之间,在 LVMI、LVEF、E/A、CO 等指标上差异具有统计学意义($P<0.05$)。hs-CRP、IL-6、TNF-α 分别与 LVMI 呈正相关关系,分别于 LVEF、E/A、CO、生活质量呈负相关关系。**结论** 在 MHD 患者中,血清 hs-CRP、IL-6、TNF-α 水平,与患者心功能及生活质量之间存在显著的关系。

关键词:维持性血液透析; 炎症因子; 心功能; 生活质量

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.23.038 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2017)23-3322-03

维持性血液透析(MHD)是终末期肾脏疾病当中一种常用的治疗手段,属于肾脏替代治疗方法。不过,MHD 患者通常容易合并多种并发症,病死率较高。其中,全身慢性微炎症状态是最为常见的一种并发症,对患者的身体健康及生命安全具有较大的威胁。近年来,相关研究表明,超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)能够对患者微炎症的状态进行早期反映,因此,在临床上可以采用这一指标作为微炎症标志物。另外,MHD 患者的血清 hs-CRP、白细胞介素 6(IL-6)、肿瘤坏死因子 α(TNF-α)水平,与患者心功能及生活质量之间,也存在一定的关系。基于此,本文选择 2009 年 1 月至 2016 年 5 月保定市第二医院血液透析中心进行 MHD 的慢性肾病患者 144 例作为研究对象,研究了 MHD 患者血清 hs-CRP、IL-6、TNF-α 水平与患者心功能及生活质量的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2009 年 1 月至 2016 年 5 月保定市第二医院血液透析中心进行 MHD 的慢性肾病患者 144 例,其中男 85 例,女 59 例,年龄在 30~85 岁,平均年龄为(53.4±12.5)岁。所有患者均符合慢性肾脏病 5 期诊断标准,透析均已超过 6 个月,每周透析 2~3 次。所选患者中,慢性肾小球肾炎 60 例,高血压肾损害 18 例,糖尿病肾病 52 例,多囊肾 5 例,紫癜肾炎肾衰 2 例,肝炎相关肾病 2 例,慢性间质肾炎肾衰 2 例,不明原因肾衰 3 例。所选患者中,排除瓣膜性心脏病患者、先天性心脏病患者、难治性高血压患者、低血压所致休克患者、急性心功能不全患者、心律失常患者、出血性疾病患者。采用酶联免疫吸附法对患者血清 hs-CRP、IL-6、TNF-α 水平进行检测,根据 hs-CRP 水平,将患者分为正常组和超高组,hs-CRP 水平

低于 3 mg/L 的为正常组,≥3 mg/L 的为超高组,其中正常组患者 68 例,超高组患者 76 例。两组患者在疾病类型、病程、年龄、性别等方面,差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 方法 对所有患者在清晨空腹状态下抽取静脉血,经过离心操作后,静置取上层清液,分装后,在-80℃的条件下保存,用于对细胞炎症因子检测^[1]。采用酶联免疫吸附试验法,对患者血清中的 hs-CRP、IL-6、TNF-α 水平进行检测。采用彩色多普勒超声诊断仪,对 2 组患者左心室质量指数(LVMI)、左心室射血分数(LVEF)、二尖瓣前向血流 E 峰与 A 峰比值(E/A)、心排出量(CO)等心功能指标进行检测^[2]。并采用问卷调查的方法,对患者生活质量进行评分,所有患者均按标准填写 SF-36 生存质量评分表,计算其得分情况,分数越高,说明生活质量越好。

1.3 观察指标 测量所有患者的血清 hs-CRP、IL-6、TNF-α 水平;测量所有患者的 LVMI、LVEF、E/A、CO 等心功能指标;调查统计所有患者的生活质量评分。

1.4 统计学处理 研究得出数据通过 SPSS18.0 软件统计处理,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验。采用 Pearson 相关对各项指标的相关性进行分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

hs-CRP 正常组与 hs-CRP 超高组间 LVMI、LVEF、E/A、CO、生活质量评分差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 1。hs-CRP、IL-6、TNF-α 分别与 LVMI 呈正相关的关系,分别与 LVEF、E/A、CO、生活质量呈负相关的关系,见表 2。

* 基金项目:保定市科学技术研究与发展指导计划项目(16ZF107)。

表 1 hs-CRP 正常组与 hs-CRP 超高组心功能指标及生活质量对比($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	LVM(g/m ²)	LVEF(%)	E/A	CO(L)	生活质量评分
正常组	68	104.32±15.91*	64.85±9.13*	1.45±0.31*	7.23±1.67*	116.21±23.54*
超高组	76	128.49±24.31	54.12±3.21	0.74±0.24	4.63±0.97	97.12±15.42

注:与超高组比较,**P*<0.05。

表 2 患者血清炎症因子与心功能及生活质量的关系

项目	hs-CRP		IL-6		TNF-α		生活质量	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
LVM	0.639	<0.05	0.552	<0.05	0.509	<0.05	0.428	<0.05
LVEF	-0.519	<0.05	-0.532	<0.05	-0.491	<0.05	-0.409	<0.05
E/A	-0.418	<0.05	-0.411	<0.05	-0.422	<0.05	-0.387	<0.05
CO	-0.641	<0.05	-0.609	<0.05	-0.478	<0.05	-0.515	<0.05

3 讨 论

MHD 是一种较为常用的临床治疗手段,主要是通过腹膜透析、血液透析等方法,对患者的生命进行挽救,使尿毒症患者的生命得到延长。随着各类疾病的增加,终末期肾病的发病概率也在逐渐上升,因而 MHD 的临床应用范围也得到了进一步的扩展^[3]。除了慢性肾炎等引发的尿毒症以外,在高血压、糖尿病等导致的尿毒症当中,也大都采用维持性透析的方法进行治疗。而对于大多数 MHD 患者来说,普遍会存在炎症状态,主要是由非病原微生物感染所造成的。在 MHD 当中,患者机体由于受到免疫复合物、内毒素等因素的刺激和影响,单核巨噬细胞系统被激活,hs-CRP、IL-6、TNF-α 等炎症细胞因子、炎症蛋白被释放进入血液循环系统,进而产生炎症反应^[4]。

这种炎症反应通常具有隐匿性和持续性,容易引起动脉粥样硬化综合征、炎症、营养不良等。其中,微炎症状态和营养不良之间,存在着互为因果关系^[5]。在本研究中,根据 hs-CRP 指标对患者进行分组,hs-CRP 水平低于 3 mg/L 的为正常组,高于 3 mg/L 的为超高组。IL-6、TNF-α 等炎症因子,主要是介导炎症及应激反应的,由多种细胞产生。研究表明,hs-CRP 与 IL-6、TNF-α 之间,具有正相关关系^[6]。在 MHD 患者中,普遍存在微炎症的状态,同时患者的 hs-CRP 水平,与终末期肾病的疾病状态也有着一定的关系^[7]。

在很多并发症发生的病理生理过程中,如动脉粥样硬化,微炎症状态能够通过各种不同的机制进行直接参与,从而引发心血管疾病等一系列的并发症。如果 hs-CRP 的浓度有所增加,将会增加未来发生冠状动脉时间的概率和风险^[8]。相关研究表明,如果 hs-CRP 水平有所升高,容易造成血管粥样斑块形成,并造成血管内皮功能紊乱,可能对心脏结构、功能等产生不良的影响,对左心室重塑的发生和发展起到推动作用^[9]。同时,hs-CRP 升高慢性肾衰竭患者,往往会合并不同程度的贫血,因此,长期性的心肌缺氧和缺血,也会导致左心室重构的加重,进而表现出左心室向心性对称性肥厚,并诱发左心房扩大^[10]。

在相关研究当中,hs-CRP 水平超高的患者,在心室结构变化方面,要比 hs-CRP 正常的患者更为明显^[11]。本研究表明,MHD 患者的血清 hs-CRP、IL-6、TNF-α 水平与 LVM 心功能指标呈正相关。同时,尿毒症患者往往合并胰岛素抵抗,会对加重尿毒症的炎症反应,参与心血管病变^[12]。由于持续存在

的相关诱因,患者心脏失代偿,左心收缩及舒张功能会发生减退,心脏储备能力降低,造成 LVEF、E/A、CO 等指标及生活质量的下降。因此,MHD 患者的血清 hs-CRP、IL-6、TNF-α 水平,与 LVEF、E/A、CO 等指标及生活质量评分指标呈负相关的关系。

综上所述,在 MHD 患者中,血清 hs-CRP、IL-6、TNF-α 水平,与患者心功能及生活质量之间存在相关性。

参考文献

[1] 唐玉洁,赵德纯,胡庆,等. 血液灌流联合血液透析对维持性血液透析患者 IL-6、TNF-α、hs-CRP 及 Hcy 等指标水平的影响[J]. 现代生物医学进展,2015,15(26):5135-5138.

[2] 唐建琴. 血清超敏 C 反应蛋白、白介素 6、肿瘤坏死因子 α 水平与持续性心房颤动并肺部感染患者左心房结构改变的关系研究[J]. 实用心脑血管病杂志,2016,24(10):15-18.

[3] 王雅,章茵,唐进攀. 血液透析联合血液灌流对尿毒症透析患者 Hcy、hs-CRP、IL-6、TNF-α 水平的影响[J]. 海南医学,2014(16):2401-2403.

[4] 皮培,叶婷,左学志,等. 糖尿病肾病维持性血液透析患者营养状况特点及其影响因素分析[J]. 内科急危重症杂志,2016,22(4):254-258.

[5] 于乐,解赢. 冠心生脉饮对冠心病患者血清 hs-CRP、IL-6、TNF-α 及 ICAM-1 水平的影响研究[J]. 中国生化药物杂志,2015,35(5):108-111.

[6] 畅君毅,王素珍,闫吉霞. 丹参酮 II A 对急性心肌梗死患者心功能及 hs-CRP、TNF-α、IL-6 水平的影响[J]. 中国医药科学,2016,6(17):142-145.

[7] 宋维鹏,国强华,贾红丹,等. 左西孟旦对老年急性心肌梗死合并心衰患者心功能及 hs-CRP、IL-6、TNF-α 水平的影响[J]. 海南医学院学报,2016,22(12):1264-1266.

[8] 王莹,王恩,江毅卿. 血清超敏 C 反应蛋白和白细胞介素-6 及肿瘤坏死因子-α 水平对慢性脑供血不足患者颈动脉内膜中层厚度的评估价值[J]. 中国慢性病预防与控制,2015,23(6):461-462.

[9] 潘金英,吴军燕,周艳芬,等. 不同方式血液透析患者血浆

脂联素水平与炎症营养状态相关性研究[J]. 重庆医学, 2015, 44(29): 4098-4101.

[10] 张祖隆, 王蕴倩, 辛伐他汀对维持性血液透析患者炎症因子的影响[J]. 现代预防医学, 2011, 38(4): 773-774.

[11] 常玲玲, 李秀丽, 杨淑玲, 等. 血液净化方式对终末期肾病患者抑郁相关因素的影响[J]. 中华行为医学与脑科学杂志, 2016, 25(1): 50-54.

[12] 陶瑾. 维持性血液透析患者微炎症状态的临床研究[J]. 中国现代医学杂志, 2014, 24(4): 84-87.

(收稿日期: 2017-05-12 修回日期: 2017-07-26)

• 临床研究 •

PCT 荧光免疫层析检测方法的建立及性能评价*

刘献文, 赵 盛

(美康生物科技股份有限公司, 浙江宁波 315104)

摘要:目的 建立一种荧光定量降钙素原(PCT)检测方法。方法 利用双抗体夹心法原理, 建立 PCT 免疫检测方法, 并对本方法进行了精密度、灵敏度、线性、相关性等性能指标的测定。结果 本检测方法的灵敏度为 0.04 ng/mL, 精密度 CV<10%, 线性范围为 0.04~51.14 ng/mL, 与罗氏 Cobas E601 PCT 相关系数 r 为 0.996。结论 本研究建立了 PCT 荧光免疫检测方法, 各项性能指标均达到临床检测要求, 可用于临床血清 PCT 浓度的检测。

关键词: 干式荧光免疫分析仪; 免疫层析法; 降钙素原

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.23.039

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)23-3324-03

降钙素原(PCT)是无激素活性的降钙素的前体物质, 在健康人群体内主要由甲状腺滤泡细胞生成和分泌, 肺细胞也会生成和分泌少量的 PCT^[1-2]。PCT 由 116 个氨基酸组成, 相对分子质量 13×10^3 , 在人体内的半衰期为 25~30 h, 稳定性好, 在健康人体内水平极低。PCT 在人体特殊蛋白酶的作用下分解成氨基端肽、活性降钙素和降钙蛋白三部分^[3-5]。

血中 PCT 的升高与细菌感染密切相关, 病毒感染及局部细菌感染而无全身表现的患者 PCT 仅轻度升高; 在全身系统性严重感染中, PCT 早期即可升高; 经抗菌药物治疗感染情况得到控制后, 血中 PCT 会下降^[6-7]。近年来, 越来越多的研究显示, PCT 在临床诊断感染时的特异度和灵敏度优于白细胞计数(WBC)和 C 反应蛋白(CRP)等指标, PCT 已被认为是全身严重感染或败血症时的一个重要的观察指标^[8]。PCT 在评估脓毒血症严重程度、病情进展情况、脓毒血症的预后判断、指导抗菌药物的使用等方面发挥了重要作用^[9-12]。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究所用的 98 份样本均为 2016 年 8 月至 10 月期间于宁波李惠利医院检验科收集, 其中男 52 例, 女 47 例, 年龄 17~89 岁, 平均年龄 52 岁。

1.2 仪器与试剂 点膜喷金仪、裁纸机为韩国 ZETA 公司生产, 干式荧光免疫分析仪 FP100 为美康生物科技股份有限公司提供。PCT 化学发光检测试剂、PCT 校准品、PCT 特种蛋白质控为罗氏生产; 血红蛋白、乳糜、胆红素等试剂由美康生物科技股份有限公司提供。

1.3 方法

1.3.1 PCT 荧光定量快速检测方法的建立 (1) 荧光抗体的制备: 用 10 mmol/L pH=7.2 磷酸盐缓冲液将荧光胶乳微球稀释到浓度为 4 mg/mL。向 5 mL 稀释后的荧光胶乳溶液中加入 5 mg 的碳二亚胺(EDAC), 搅拌 1 h, 10 000 r/min 离心 30 min, 去上清, 沉淀悬浮于等体积的 10 mmol/L pH=7.2 的磷酸盐缓冲液中。加入 2 mg 的 PCT 单抗, 室温搅拌反应 1 h, 再加入浓度为 10 mg/mL 的牛血清白蛋白(BSA), 室温搅拌

1 h, 10 000 r/min 离心 30 min, 去上清, 沉淀悬浮于等体积的 10 mmol/L pH=7.2 的磷酸盐缓冲液中, 4 ℃ 保存备用。(2) 荧光抗体垫的制备: 在三维喷点平台上将荧光抗体涂于玻璃纤维垫上, 37 ℃ 干燥 1 h, 铝箔袋密封, 室温存放备用。(3) 硝酸纤维素膜(NC 膜)包被抗体: 用生理盐水稀释 PCT 单抗和羊抗鼠 IgG 抗体到适当浓度。在三维喷点平台上将 PCT 单抗和羊抗鼠 IgG 抗体喷点在硝酸纤维素膜上适当位置形成条带状, 37 ℃ 干燥 1 h, 铝箔袋密封, 室温存放备用。(4) PCT 荧光定量检测卡的组装: 按 NC 膜、样本垫、荧光抗体垫、吸水纸顺序黏贴到 PVC 塑料背垫上 NC 膜两边, 首尾相互连接, 制作成半成品大板, 然后用裁纸机将半成品大板切成 4 mm 宽的试纸条。装上塑料外壳, 即为完整检测卡。(5) 校准曲线的建立和样本检测: 将 PCT 系列校准品(浓度分别为 0、5、10、20、50 ng/mL)用样本稀释液稀释 100 倍, 吸取稀释后的校准品各 100 μ L, 加入检测卡加样孔中, 计时 3 min, 计时结束后立即在干式荧光免疫分析仪 FP100 上检测, 读取检测线和质控线的荧光信号值。以校准品浓度为纵坐标, 以检测线峰信号值为横坐标, 制作校准曲线, 进行四参数 logistic 回归, 可得到校准曲线方程。将样本检测荧光信号值代入校准曲线方程进行计算, 得到样本浓度值。

1.3.2 检测方法性能评估 (1) 精密度测试: 随机抽取同批次的 PCT 荧光定量检测卡 20 份, 分别在干式荧光免疫分析仪 FP100 上对自制空白血清样本进行测定, 重复 20 次, 计算检测限($\bar{x} \pm s$)。本实验随机抽取同批次的 PCT 荧光检测卡 20 份, 在荧光检测仪上分别对低值和高值 PCT 特种蛋白质控进行测定, 每个浓度重复 20 次, 计算批内精密度。(2) 线性范围测试: 以稀释液空白代替低浓度样本, 与 PCT 浓度值 >50 ng/mL 的高浓度患者标本和稀释液进行倍比稀释得到 6 个浓度水平的系列样本, 每个标本重复测 3 次。(3) 与对比试剂相关性: 以罗氏 Cobas E601 PCT 检测试剂(电化学发光法)检测结果为对照, 考核自制 PCT 荧光定量检测卡, 检测结果的回归分析采用一元直线回归分析。

* 基金项目: 宁波市鄞州区“重大科技创新专项”项目(2011A210086)。