

羟苯磺酸钙对肌氨酸氧化酶法评估肾功能的影响

宋亚男, 朱 蓓, 高 飞, 张 娟, 张 宇, 赵卫红*

(南京医科大学第一附属医院老年肾科, 江苏 南京 210029)



赵卫红, 女, 主任医师, 教授, 博士生导师。曾赴美国佛罗里达大学医学院和美国普渡大学印第安那大学医学院进修学习。曾任南京医科大学第一附属医院肾科副主任, 现任南京医科大学第一附属医院老年肾科主任。主要研究方向为肾衰竭的防治研究。参与国家 973 计划, 先后主持并完成国家自然科学基金面上项目、国家人事部留学人员择优科研基金项目、江苏省科技创新与成果转化项目、江苏省国际合作项目等科研课题, 发表论文 130 余篇, 其中 SCI 收录 50 篇。副主编和参编著作 10 部。获奖荣誉: 曾获佛罗里达博士后研究奖、全美基因治疗年会优秀论文奖、中华医学三等奖、江苏省科技进步二等奖和三等奖, 江苏省卫生厅医学新技术引进奖一等奖和二等奖, 南京市科技进步奖二等奖、南京医科大学双语教学一等奖。为江苏省临床重点学科肾脏内科学术带头人、江苏省“科教兴卫工程”重点人才、江苏省“333 工程”第三层次培养对象、江苏省高校“青蓝工程”学术带头人、江苏省“六大人才高峰”培养对象。

摘要: 探讨羟苯磺酸钙对肾功能评估的影响。把 31 例肾功能不全患者按照慢性肾脏病 (CKD) 分类标准分为: CDK1-2, CKD3-4 和 CKD5 三组, 并给予 7 天羟苯磺酸钙治疗, 检测治疗前后不同肾功能水平肌酐 (Cr)、血清胱抑素 (CysC)、尿素 (Urea)、肾小球滤过率 (eGFR) 变化。结果显示, 羟苯磺酸钙对肌氨酸氧化酶法测定 Cr 有干扰作用。在 CKD3-5 期患者中, 羟苯磺酸钙对肌氨酸氧化酶法测定 Cr 及 $eGFR_{CKD-EPI2012Cr-CysC}$ 、 $eGFR_{CKD-EPI2009Scr}$ 公式评估肾功能有明显干扰, 而对 CysC、Urea 及 $eGFR_{CKD-EPI2012cys}$ 无影响, 故临床上对于服用羟苯磺酸钙者使用 $CKD-EPI2012cys$ 公式评估肾功能更为准确。

关键词: 慢性肾脏病; 羟苯磺酸钙; 肾功能; 肌氨酸氧化酶法

中图分类号: R5 文献标识码: A

Effect of calcium dobesilate on renal function assessment by creatine oxidase assay

SONG Yanan, ZHU bei, Gao Fei, ZHANG Juan, ZANG Yu, ZHAO Weihong*

(Department of Geriatric Nephrology, the First Affiliated Hospital of NMU, Nanjing 210029, Jiangsu, China)

Abstract: To investigate the effect of calcium dobesilate on the assessment of renal function. A total of 31 patients were divided into CDK1-2 group, CKD3-4 group and CKD5 group according to the renal function level. All groups were treated with calcium dobesilate for 7 days, creatinine (Cr), serum cystatin (CysC), blood urea nitrogen (Urea) and glomerular filtration rate were compared at time points of before and post-treatment. Results show that after taking calcium dobesilate, there was a significant changes of Cr by the method of sarcosine oxidase assay. In nonclusion, in patients with CKD 3-5 stage, calcium dobesilate has significant interference in the detection of Cr, $eGFR_{CKD-EPI2012Cr-CysC}$ and $eGFR_{CKD-EPI2009Scr}$, but has no effect on CysC, Urea and $eGFR_{CKD-EPI2012cys}$. Therefore, it is more accurate to use the $CKD-EPI2012cys$ formula for patients taking calcium dobesilate to evaluate renal function.

Key words: chronic kidney disease; calcium dobesilate; renal function; sarcosine oxidase assay

收稿日期: 2019-03-04; 修回日期: 2019-03-31

基金项目: 国家自然科学基金 (H0511-81670677), 江苏省医学重点学科 (ZDXKA2016003), 江苏省老年医学重点实验室, 江苏省医学重点人才 (ZDRCA2016021), 江苏省干部保健科研课题 (BJ16016, BJ17018), 江苏省 333 工程人才 (BRA2017409), 江苏省研究生科研与实践创新计划项目 (SJCX17_0383)。

* 通信作者, E-mail: zhaoweihong_1@medmail.com.cn.

近年来,慢性肾脏病(Chronic Kidney Disease, CKD)的患病率逐渐上升,2012 年一项流行病学调查显示中国慢性肾脏病的患病率为 10.8%,中国总患病人数达 1.1950 亿人^[1],其知晓率、控制率低,引起严重的心血管并发症,给社会经济和人民健康带来巨大影响,现已成为全球关注的社会公共卫生问题。CKD 早期无明显临床表现,明确诊断时多已进入肾功能衰竭期甚至终末期肾病。因此,临床治疗主张早发现、早干预,尽量延缓肾脏功能损伤,提高患者生活质量,并降低心脑血管疾病发生风险,改善总体预后。由于慢性肾脏病的患者逐年增多,肾功能的评估更是在判断临床分期,制定治疗方案,决定透析时间等方面起到了重要作用,过高的评估肾功能可能造成漏诊误诊,过低的评估肾功能可能造成医疗资源的浪费。因此,肾功能的评估具有重要的临床价值。临床常用肾功能评估的指标包括肌酐、胱抑素、尿素等。肾小球滤过率一般以菊粉清除率作为金标准,但因其易行性差难于应用临床,临床常用估测肾小球滤过率公式(eGFR)评估肾功能,其中美国慢性肾脏病流行病学合作工作组(chronic kidney disease epidemiology collaboration, CKD-EPI)公式在 2012KDIGO 指南中得到推荐^[2]。

羟苯磺酸钙是一种血管保护剂,临床上常用于糖尿病视网膜病变、糖尿病周围神经病变、慢性静脉功能不全等病的治疗^[3-4]。在临床应用中肌酐水平亦有所下降^[5]。有文献报道羟苯磺酸钙可能通过改善肾脏病理结构、化学结合以及检测方法的负干扰,降低肌酐检测水平,对肾功能的判断产生一定干扰^[6]。因此,我们观察患者服用羟苯磺酸钙后,采用肌氨酸氧化酶法检测血肌酐结果对肾功能评估的影响,寻找更为准确的肾功能评估方法。

1 资料与方法

1.1 一般资料

本研究经过本院伦理学委员会批准,采用前瞻性、自身前后对照试验,纳入 2018 年 4 月至 8 月在南京医科大学第一附属医院老年肾科收治的由于高血压或糖尿病引起的慢性肾脏病患者(符合 KDIGO 指南诊断标准^[2])共 31 例,男性 18 例,女性 13 例,年龄为 30~91(72±13)岁。

1.2 入选与排除标准

入选标准:(1)年龄≥18 周岁,性别不限;符合 2012 年 KDIGO 指南的慢性肾脏病诊断标准,分期为慢性肾脏病 1~5 期患者;近 1 月无服用羟苯磺酸

钙药物史;自愿参加试验,并签署书面的知情同意书。

排除标准:因透析患者肌酐水平受到透析干扰故排除慢性肾脏病 5D 期的患者;合并有难以控制的糖尿病、高血压或活动性感染、休克患者;晚期恶性肿瘤、严重造血系统疾病患者;已知对羟苯磺酸钙片不耐受者;肝功能不全或血清总胆红素、谷草转氨酶或谷丙转氨酶≥2 ULN 者、肝硬化的患者;重症心脏疾病(NYHA 分类中处于 III 级以上的充血性心力衰竭和心肌梗塞等需住院治疗的血管病变)即近期脑梗死、脑出血者;存在肾功能恶化的可逆因素:血容量不足、急性应激状态、血压控制不良;妊娠或哺乳期妇女。

1.3 分组与研究方案

按 2012 年 KDIGO 的慢性肾脏病分类标准,根据患者肾功能水平将患者分为 CKD1-2 期、CKD3-4 期、CKD5 期,CKD1-2 期(eGFR>60 mL/min)共 5 例,平均年龄(57.00±17.55)岁;CKD3-4 期(eGFR 15~59 mL/min)共 11 例,平均年龄(71.27±10.24)岁;CKD5 期(eGFR<15 mL/min)共 15 例,平均年龄(76.80±11.00)岁。收集患者的临床资料包括年龄、性别、BMI、是否合并高血压/糖尿病、肌酐(Cr)、血清胱抑素(CysC)、尿素(Urea)。三组患者均予羟苯磺酸钙(规格:250 mg/片,批号:国药准字 H20080288)500 mg,3 次/天,服药 7 天。

1.4 观察指标

(1)实验室检查:根据药代动力学^[7],服药每次 500 mg,每日 3 次,在第 4 天血药浓度达稳态,故于服药前、服药第 4 天、第 9 天空腹分别测定肌酐、胱抑素、尿素。肌酐测定采用肌氨酸氧化酶法,CysC 采用免疫比浊法(胶体金)进行测定;Urea 采用尿素酶速率法进行测定。(2)不良反应根据患者症状及实验室检查记录,并予以相应处理,严重不良反应予以出组。(3)eGFR 使用 CKD-EPI_{2012Cr-CysC}、CKD-EPI_{2009Scr}与 CKD-EPI_{2012cys}公式计算。

1.5 统计学方法

统计描述计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料采用率(%).基线资料的比较采用单因素方差分析及卡方检验,两两比较采用 BONFERRONI 法。使用软件为 SPSS19.0。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料和肾功能水平的比较

三组患者的年龄、胱抑素、肌酐、尿素间差异均

有显著性 ($P < 0.05$), 与分组情况相符合。性别、身高体重指数 (BMI)、糖尿病及高血压百分比间差异无显著性 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 研究对象一般临床资料的比较

一般特征	CKD1-2 期($n=5$)	CKD3-4 期($n=11$)	CKD5 期($n=15$)	F/χ^2	P
年龄(岁)	57.00±17.55	71.27±10.24	76.80±11.00	5.187	0.012
性别/男性(%)	40.0	72.7	53.3	1.801	0.442
BMI(kg/m ²)	26.17±5.51	23.99±3.25	23.08±4.04	1.1	0.347
高血压(%)	60.0	90.9	86.7	2.596	0.273
糖尿病(%)	60.0	63.6	46.7	0.802	0.670
CYSC(mg/L)	0.97±0.14	2.35±0.79	6.24±3.04	15.575	0.000
Cr(umol/L)	67.10±22.79	179.36±74.36	447.62±255.29	10.909	0.000
Urea(mmol/L)	6.02±2.08	14.74±4.48	23.29±7.29	18.105	0.000

2.2 肌酐变化

CKD1-2 期组肌酐随时间变化无统计学差异 ($P > 0.05$); CKD3-4 期组停药后肌酐较用药第 4 天升高 ($P < 0.05$); CKD5 期组肌酐在用药第 4 天的水平较用药前下降, 停药后较用药第 4 天肌酐显著复升 ($P < 0.05$), 但与用药前相比, 无统计学差异 ($P > 0.05$)。见图 1。

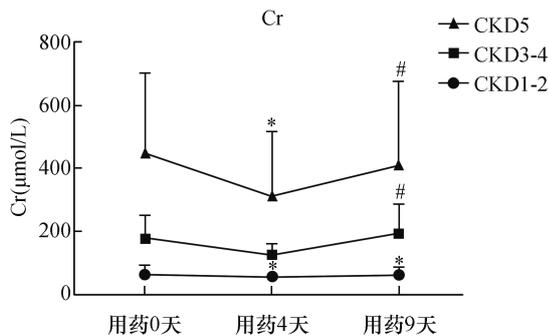


图 1 用药前后肌酐变化趋势

与同组用药 0 天比较, * $P < 0.05$; 与用药 4 天时比较, # $P < 0.05$

2.3 胱抑素、尿素变化

三组胱抑素、尿素水平在用药后变化无统计学差异 ($P > 0.05$)。见图 2、图 3。

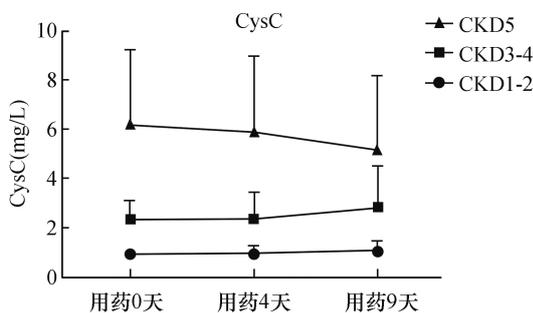


图 2 用药前后胱抑素变化趋势

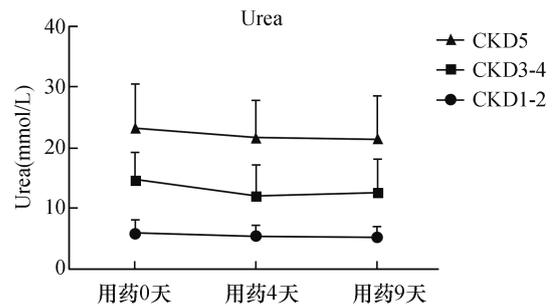


图 3 用药前后尿素变化趋势

2.4 eGFR 的变化

eGFR_{CKD-EPI2012Cr-CysC} 在 CKD1-2 期组随时间变化无统计学差异 ($P > 0.05$), 在 CKD3-4 期组停药后较用药第 4 天下降 ($P < 0.05$), 在 CKD5 期组停药后及用药第 4 日均显著高于用药前 ($P < 0.05$) (见图 4); eGFR_{CKD-EPI2009Scr} 在 CKD1-2 期组随时间变化无统计学差异 ($P > 0.05$), 在 CKD3-4 期及 CKD5 期组用药第 4 天高于用药前、停药后低于用药第 4 天, 变化具有统计学差异 ($P < 0.05$) (见图 5); 三组 eGFR_{CKD-EPI2012cys} 水平在用药后变化无统计学差异 ($P > 0.05$, 见图 6)。

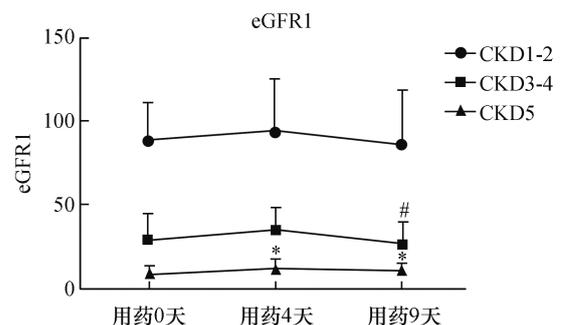


图 4 用药前后 eGFR_{CKD-EPI2012Cr-CysC} 化趋势

与同组用药 0 天比较, * $P < 0.05$; 与用药 4 天时比较, # $P < 0.05$

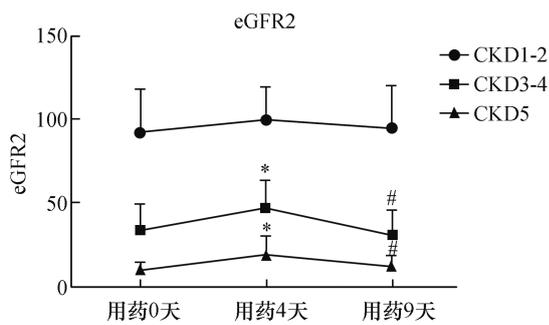


图 5 用药前后 eGFR_{CKD-EPI2009Scr} 变化趋势

与同组用药 0 天比较, * $P < 0.05$; 与用药 4 天时比较, # $P < 0.05$

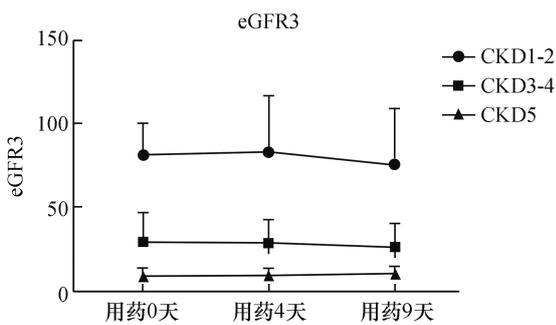


图 6 用药前后 eGFR_{CKD-EPI2012cys} 变化趋势

3 讨 论

肌酐是磷酸肌酸的代谢终产物,由肾小球排出,是临床应用中最简单、应用最广的肾功能标志物,但是其浓度受多种因素的影响,包括肌肉质量、小管分泌物和炎症等^[8]。临床实验室常用的测定肌酐的方法主要有苦味酸法和肌氨酸氧化酶法,目前国内的实验室主要采用肌氨酸氧化酶法。而近年来有临床观察发现羟苯磺酸钙可使 Cr 降低是由于其对 Cr 测定有干扰,根据齐志宏等^[5]报道,1 例患者住院前后 7 个月内动态检测 9 次血肌酐,结果波动较大,最高和最低相差 333 $\mu\text{mol/L}$;导致对患者肾功能评估有误,进一步探究发现羟苯磺酸钙对于肌氨酸氧化酶法肌酐检测存在显著的负干扰,对肾功能较差的患者尤为显著,可高达 60%,酶法测肌酐即是利用特异性的肌酐水解酶将肌酐水解,再检测其水解产物(NH_3 、肌酸等),肌酸再经反应生成过氧化氢(H_2O_2)等,过氧化氢在酶的催化下反应生成紫色络合物。以此求得肌酐含量。因羟苯磺酸钙有较强还原性,可促使酶法反应过程中过氧化氢消耗,从而抑制酶法反应过程中的生色酚氧化显色,最终造成肌酐测定假性降低从而影响患者肾功

能的评估^[9]。对于服用羟苯磺酸钙片合并 CKD 的患者,既往研究缺乏 CKD 分组研究,本研究进行 CKD 分组进一步分析羟苯磺酸钙对不同水平肌酐的检测干扰,且通过对比 eGFR 的变化观察其服药短时间内对评估肾小球滤过率的影响。CKD5 期肌酐在用药后与用药前相比下降,停药后又再次复升,变化均有统计学差异,CKD3-4 期肌酐停药后前后复升有统计学差异,且 CKD5 期下降及复升程度最大,证明随着肾功能的进展,羟苯磺酸钙对其肌酐测定的负性影响越明显,考虑可能干扰程度与基础肌酐浓度相关。

胱抑素是一种半胱氨酸蛋白酶抑制剂,主要是由人体的核细胞产生并由肾小球滤过,近曲小管重吸收,可以被完全代谢分解,从而对肾小球功能损害程度进行反映。胱抑素测定不依赖于肌肉质量、性别或年龄,炎症、发热、外分泌、甲状腺疾病及糖皮质激素的使用均不影响其血清浓度,是一种常见的,更敏感的肾功能评估指标,通过免疫比浊法测试^[10]。尿素为人体蛋白质代谢的主要终末产物,在肾脏损害的早期,患者的尿素可在正常范围内,一般肾小球滤过率(GFR)降低 50% 时才明显升高。尿素的检测采用尿素酶法。结果显示各组、各时间段相比,胱抑素和尿素变化均无统计学差异($P > 0.05$)。这与叶红波等^[11]研究一致,表明了胱抑素和尿素短期不受羟苯磺酸钙的影响,而袁凡丽等^[12]研究表明羟苯磺酸钙有降低 CysC 的作用,分析原因可能与本研究用药时间短有关。

羟苯磺酸钙对肌酐检测有负干扰,但对于 eGFR 评估的影响相关研究较少,因此选取合适的 eGFR 公式对于服用羟苯磺酸钙患者具有重要的临床意义。本研究中 eGFR 公式采用 CKD-EPI_{2012Cr-CysC}、CKD-EPI_{2009Scr} 与 CKD-EPI_{2012cys} 公式,评价其在服用羟苯磺酸钙的患者中的表现,发现 eGFR_{CKD-EPI2012Cr-CysC}、eGFR_{CKD-EPI2009Scr} 在 CKD1-2 期组随时间变化无统计学差异($P > 0.05$),而在 CKD3-4 期组、CKD5 期组均随着肌酐的变化产生了误差,但三组 eGFR_{CKD-EPI2012cys} 水平在用药后变化无统计学差异($P > 0.05$),表现最为稳定。CKD1-2 期短期内无显著变化,说明对于慢性肾脏病早期的病人,测得肌酐相对准确,在不停药的情况下使用三种公式评估肾小球滤过率均较为满意。而对于 CKD3-4 期、CKD5 期的慢性肾脏病人采用肌酐相关的 CKD-EPI 公式将导致肾功能的错误评价,故对于服用羟苯磺酸钙且合并 CKD3-5 期的人群推荐使用 eG-

FR_{CKD-EPI2012cys} 公式。

羟苯磺酸钙常用于微循环保护,相关研究证实其有较强的还原性、改善微循环、保护血管内皮、减少血液黏滞性等作用^[13],在 ZhangX^[6]的研究中,给予羟苯磺酸钙后患者纤溶酶原激活物抑制物-1 (PAI-1)和纤维蛋白原 (Fbg)水平降低。PAI-1 降低尿激酶和组织型纤溶酶原激活物的活性,从而激活纤溶酶原并因此减轻肾小球硬化。刘新明等^[14]通过比较大鼠肾脏组织,发现治疗组大鼠肾脏蛋白激酶 (PKC),转化生长因子 (TGF-β1),IV 型胶原 (type IV collagen) 水平明显减少,用质子谱分析仪分析羟苯磺酸钙与肌酐结合情况,认为其可通过化学结合及改善肾脏病理结构来降低血肌酐水平。既往张如玉等^[15]学者研究指出在常规治疗基础上联合羟苯磺酸钙可有效改善 CKD 患者肾功能且安全性高。LILI QIN 等^[16]将前列地尔联合羟苯磺酸钙用于 40 例糖尿病肾病患者 12 周,患者临床症状较单用前列地尔的对照组明显改善,β2-微球蛋白 (β2-MG),胱抑素 C (CysC)、视黄醇结合蛋白 (RBP)、肿瘤坏死因子-α (TNF-α)、白细胞介素-6 (IL-6)、C-反应蛋白 (CRP)、血管紧张素 II、血尿素氮、肌酐和尿酸水平显著低于对照组,两者协同能够改善肾功能,减轻炎症反应。其长期使用疗效是肯定的。然而我们对短期服用羟苯磺酸钙者的肾功能影响做了分组研究,因肌酐有明显变化而胱抑素、尿素无明显变化,故说明羟苯磺酸钙在短期内无明显的肾脏保护作用,且通过对肌酐测定的负干扰影响肾功能的正确评估。

综上所述,研究证实了羟苯磺酸钙对 CKD1-2 期患者的肾功能评估无较大影响,但对 CKD3-5 期患者肌氨酸氧化酶法测定肌酐及 eGFR_{CKD-EPI2012Cr-CysC}、eGFR_{CKD-EPI2009Scr} 公式评估肾功能有明显负性影响,尤其是对 CKD5 期患者的影响更为明显。因此服用羟苯磺酸钙患者尤其是肾功能较差者应谨慎选择肌酐检测方法,另外使用 CKD-EPI_{2012cys} 公式评估肾功能更为准确。

参考文献:

- [1] ZHANG L, WANG F, LI W, et al. Prevalence of chronic kidney disease in China: a cross-sectional survey [J]. *The Lancet*, 2013, 379:815-22.
- [2] KDIGO Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease [J]. *Kidney Int Suppl*, 2013, 3:1.
- [3] ZHANG X, LIU W, WU S, et al. Calcium dobesilate for diabetic retinopathy: a systematic review and meta-analysis [J]. *Sci China Life Sci*, 2015, 58(1):101-7.
- [4] RABE E, BALLARINI S, LEHR L. A randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical study on the efficacy and safety of calcium dobesilate in the treatment of chronic venous insufficiency [J]. *Phlebology*, 2016, 31(4):264-74.
- [5] 齐志宏,佟大伟,倪雪峰,等.羟苯磺酸钙致肌酐检测结果假性偏低 1 例 [J]. *协和医学杂志*, 2014, 3(22):352-4.
- [6] ZHANG X. Therapeutic effects of calcium dobesilate on diabetic nephropathy mediated through reduction of expression of PAI-1 [J]. *Exp Ther Med*, 2013, 5(1):295-29.
- [7] 郭栋,谭志荣,陈尧,等.高效液相色谱法测定人血浆中羟苯磺酸钙的浓度 [J]. *药物分析杂志*, 2008, 28(8):1252-5.
- [8] STEVENS LA, PADALA S, LEVEY AS. Advances in glomerular filtration rate-estimating equations [J]. *Division of Nephrology*, 2012, 19(3):298-307.
- [9] 余久如,潘桂红,鞠萍.羟苯磺酸钙对肌氨酸氧化酶法检测肌酐的干扰 [J]. *中华检验医学杂志*, 2013, 36(2):161-4.
- [10] ANDREW SL, CASSANDRA B, LESLEY AI. Glomerular filtration rate and albuminuria for detection and staging of acute and chronic kidney disease in adults: a systematic review [J]. *JAMA*, 2015, 313(8):837-46.
- [11] 叶红波,杨妙玲.羟苯磺酸钙治疗慢性肾脏病 3 期临床疗效分析 [J]. *泰山医学院学报*, 2017, 38(12):1358-60.
- [12] 袁凡丽,虞艳红,胡守亮,等.羟苯磺酸钙对慢性肾脏病患者胱抑素 C 的影响 [J]. *药物流行病学杂志*, 2012, 21(4):162-3.
- [13] TEJERINA TE. Calcium dobesilate: pharmacology and future approaches [J]. *Gen Pharmac*, 1998, 31(3):357-60.
- [14] 刘新明,刘晓城.羟苯磺酸钙降低血肌酐机制的研究 [J]. *中国现代医学杂志*, 2004, 14(24):70-8.
- [15] 张如玉,肖爱国,孙东.羟苯磺酸钙治疗慢性肾脏病疗效的 Meta 分析 [J]. *山东医药*, 2014, 18(31):4-6.
- [16] QIN L, QIN W, WANG J, et al. Combined treatment of diabetic nephropathy with alprostadil and calcium dobesilate [J]. *LXP Ther Med*, 2017, 14(5):5012-16.

(本文编辑:秦旭平)