

·论 著·

慢性肾病患者血浆16种氨基酸含量测定及临床意义

阮荣华 任应鹏 叶雅丽 卢妮娜 吴文君

[摘要] 目的 研究慢性肾病(CKD)患者与健康人血浆中氨基酸的差异及临床意义。方法 采用串联质谱法测定39例CKD2~3期患者(研究组)和28例健康体检者(对照组)的16种血浆氨基酸的水平。结果 研究组色氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苏氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸含量均明显低于对照组,而苯丙氨酸含量高于对照组,差异均有统计学意义(t 分别=3.29、2.17、2.06、4.11、1.98、3.25、2.87、-2.84, P 均<0.05);研究组的氨基丁酸、甘氨酸含量均明显低于对照组,而瓜氨酸含量高于对照组,差异均有统计学意义(t 分别=2.72、3.16、-11.69, P 均<0.05)。两组精氨酸、天门冬氨酸、组氨酸、丝氨酸、酪氨酸比较,差异无统计学意义(t 分别=0.96、-0.18、1.30、-1.29、1.16, P 均>0.05)。用色氨酸、苏氨酸及瓜氨酸诊断CKD2~3期,曲线下面积分别为0.73、0.74、0.92,界值分别为15.37 $\mu\text{mol/L}$ 、102.54 $\mu\text{mol/L}$ 、53.95 $\mu\text{mol/L}$ 。结论 CKD2~3期血浆中氨基酸谱发生变化,色氨酸、苏氨酸及瓜氨酸为参考在诊断CKD2~3期中有一定的作用。

[关键词] 慢性肾病; 氨基酸; 质谱

Clinical significance and determination of serum 16 kinds of amino acids in patients with CKD RUAN Ronghua
REN yingpeng, YE Yali, et al. Clinical Laboratory, The First People's Hospital of Taizhou, Taizhou 318020, China.

[Abstract] **Objective** To explore the difference in serum amino acids between the patients with chronic kidney disease (CKD) and healthy people. **Methods** The serum levels of 16 amino acids in 39 patients with CKD 2~3 stage and 28 healthy persons were determined by tandem mass spectrometry. **Results** Essential amino acids of study group including tryptophan, lysine, methionine, threonine, isoleucine, leucine and valine were significantly lower than those of healthy group, while the level of phenylalanine was significantly higher than that of healthy group ($t=3.29, 2.17, 2.06, 4.11, 1.98, 3.25, 2.87, -2.84, P<0.05$). The aminobutyric acid and glycine were significantly lower than those in healthy group, while citrulline was significantly higher than that of healthy group ($t=2.72, 3.16, -11.69, P<0.05$). There were no significant differences in arginine, aspartic acid, histidine, serine and tyrosine between the two groups ($t=0.96, -0.18, 1.30, -1.29, 1.16, P>0.05$). The AUC of tryptophan, threonine and citrulline for diagnosing CKD 2~3 stage were 0.73, 0.74, and 0.92. The cut-off values were 15.37 $\mu\text{mol/L}$, 102.54 $\mu\text{mol/L}$, and 53.95 $\mu\text{mol/L}$ respectively. **Conclusion** The plasma amino acid spectrum of CKD2~3 stage changed, tryptophan, threonine, and citrulline play a certain role in the diagnosis of CKD2~3 stage.

[Key words] chronic kidney disease; amino acids; mass spectrometry

近年来研究发现,肾脏全面参与氨基酸代谢,对体内氨基酸平衡起到至关重要的作用,肾脏功能受损时易发生氨基酸代谢紊乱^[1]。正常生理条件下,肾脏利用瓜氨酸、谷氨酰胺等合成人体所需的酪氨酸、丝氨酸,其中肾脏是合成体内酪氨酸的主要来源^[2]。因此,肾实质发生病变时,血浆中氨基酸谱会

发生改变^[3]。本次研究通过分析慢性肾病(chronic kidney disease, CKD)2~3期患者血浆中16种氨基酸水平,探究氨基酸谱在早期诊断中的作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2018年1月至10月台州市第一人民医院肾内科CKD2~3期患者39例为研究组,均符合美国肾脏病基金会对CKD分期指南[4]中的CKD2~3期,肾小球滤过率在30~89 ml/min。排除:①近一个月内有肺部感染、严重心力衰竭、活动

DOI: 10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2019.04.005

基金项目:浙江省医药卫生科技计划(2017KY712)

作者单位:318020 浙江台州,台州市第一人民医院检验科

性肝病、恶性肿瘤等合并因素;②儿童、孕妇及精神病患者;③病历不完整及依从性差的患者。其中男性 20例、女性 19例;年龄 48~78岁,平均年龄 (62.54 ± 7.62)岁。同时选取同时段的健康体检者 28名为对照组,其中男性 14例、女性 14例;年龄 46~76岁,平均年龄 (60.28 ± 7.11)岁。两组性别、年龄比较,差异均无统计学意义 (P 均 >0.05)。

1.2 方法 所有研究对象在空腹状态下,抽取静脉血 2 ml 于 EDTA 抗凝试管中,离心机上 4 000 r/min 离心 10 min,分离血浆。利用高效液相色谱串联质谱 (UPLC-MS/MS) 检测 16 种氨基酸,质谱仪型号为 waters Xevo TQD 三重四极杆液质联用仪(由德国沃特氏生产)。

1.3 统计学方法 所有数据用 SPSS 17.0 软件统计分析。计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间比较采用独立样本 t 检验,并用受试者工作特征曲线进行诊断效能分析。设 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组必需氨基酸含量的比较见表 1

表 1 两组必需氨基酸含量的比较/ $\mu\text{mol/L}$

必需氨基酸	研究组	对照组
色氨酸	$19.83 \pm 9.02^*$	30.50 ± 12.67
赖氨酸	$96.63 \pm 18.45^*$	109.13 ± 21.67
苯丙氨酸	$70.22 \pm 24.56^*$	58.94 ± 10.60
甲硫氨酸	$19.04 \pm 5.23^*$	22.33 ± 4.52
苏氨酸	$110.38 \pm 42.46^*$	164.68 ± 52.67
异亮氨酸	$68.53 \pm 21.61^*$	101.46 ± 15.18
亮氨酸	$95.13 \pm 26.34^*$	115.04 ± 26.93
缬氨酸	$161.64 \pm 44.83^*$	187.80 ± 42.13

注:*,与对照组比较, $P < 0.05$ 。

由表 1 可见,研究组的色氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苏氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸必需氨基酸含量均明显低于对照组,而苯丙氨酸含量高于对照组,差异均有统计学意义 (t 分别=3.29、2.17、2.06、4.11、1.98、3.25、2.87、-2.84, P 均 <0.05)。

2.2 两组非必需氨基酸含量的比较见表 2

由表 2 可见,研究组的氨基丁酸、甘氨酸含量均明显低于对照组,而瓜氨酸含量高于对照组,差异均有统计学意义 (t 分别=2.72、3.16、-11.69, P 均 <0.05)。两组精氨酸、天门冬氨酸、组氨酸、丝氨酸、酪氨酸比较,差异无统计学意义 (t 分别=0.96、

-0.18、1.30、-1.29、1.16, P 均 >0.05)。

表 2 两组非必需氨基酸含量的比较/ $\mu\text{mol/L}$

非必需氨基酸	研究组	对照组
氨基丁酸	$12.93 \pm 5.26^*$	17.53 ± 6.77
精氨酸	41.28 ± 17.16	45.03 ± 20.04
天门冬氨酸	8.67 ± 3.82	8.56 ± 2.13
瓜氨酸	$79.58 \pm 22.63^*$	32.14 ± 12.01
甘氨酸	$172.02 \pm 71.06^*$	220.06 ± 74.07
组氨酸	85.14 ± 21.02	91.04 ± 18.12
丝氨酸	111.42 ± 42.32	108.16 ± 32.05
酪氨酸	52.04 ± 15.04	55.73 ± 14.52

注:*,与对照组比较, $P < 0.05$ 。

2.3 氨基酸诊断效能分析 将两组有统计学差异的色氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苏氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸、苯丙氨酸、氨基丁酸、甘氨酸、瓜氨酸进行诊断效能分析,见表 3。

表 3 各氨基酸诊断 CKD2~3 期效能情况

氨基酸	曲线下面积	灵敏度/%	特异度/%	约登指数	界值/ $\mu\text{mol/L}$
色氨酸	0.73	92.93	41.06	0.34	15.37
赖氨酸	0.60	46.56	84.56	0.31	94.68
苯丙氨酸	0.66	78.14	53.23	0.31	65.81
甲硫氨酸	0.69	78.63	64.14	0.43	18.65
苏氨酸	0.74	50.02	91.18	0.41	102.54
异亮氨酸	0.63	58.48	72.83	0.31	63.24
亮氨酸	0.55	62.47	55.37	0.18	89.13
缬氨酸	0.65	50.24	82.12	0.32	148.53
氨基丁酸	0.52	30.23	84.50	0.15	12.85
甘氨酸	0.68	82.14	59.04	0.41	155.90
瓜氨酸	0.92	100	84.58	0.85	53.95

由表 3 可见,各氨基酸诊断 CKD2~3 期的效能中,色氨酸、苏氨酸及瓜氨酸的曲线下面积均在 0.70 以上,诊断价值较高,其中瓜氨酸的诊断效能最高,曲线下面积高达 0.92,界值为 53.95 $\mu\text{mol/L}$ 。

3 讨论

人体每天有 50~70 g 的氨基酸从肾脏滤过,约 98% 被近端小管重新吸收。肾脏能够精细调节循环和组织池中的氨基酸。正常成年人肾脏利用动脉血中谷氨酰胺和脯氨酸的同时,每天合成约 3 g 丝氨酸、2 g 酪氨酸和 1 g 精氨酸,供其他组织利用^[5]。除此之外,肾脏还释放出少量苏氨酸、赖氨酸和亮

氨酸进入全身循环。本次研究利用串联质谱法测定人体16种氨基酸,发现在CKD2~3期患者中瓜氨酸明显升高($P<0.05$),而色氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苏氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸必需氨基酸及氨基丁酸、甘氨酸非必需氨基酸明显降低(P 均 <0.05)。这种氨基酸谱的改变与Duranton等^[6]研究结果相似。

苯丙氨酸羟化酶主要存在于肝脏、胰腺与肾脏,肾脏起关键作用^[7]。苯丙氨酸在羟化酶的作用下生成酪氨酸,酪氨酸在人体脂与蛋白代谢中起重要作用^[8]。正常人体肌肉中酪氨酸的消耗量与肾脏产生的量基本维持一个平衡状态。在CKD患者中,肾脏受损导致苯丙氨酸羟化酶活性降低,肾脏合成释放酪氨酸量减少^[9]。另外由于炎症作用,酪氨酸消耗也增加,最终导致血中苯丙氨酸相对升高。本次研究结果也表明CKD2~3期患者苯丙氨酸较对照组高($P<0.05$)。

在肾病研究中,瓜氨酸的升高与血压异常存在相关性^[10]。瓜氨酸和精氨酸在不同脏器不同酶的作用下互为底物,在肾脏瓜氨酸合成精氨酸,在肝脏瓜氨酸参与尿素循环,由精氨酸合成瓜氨酸。由于CKD患者尿素升高,尿素循环增强,瓜氨酸在肝脏合成增加,而肾脏肾实质减少,转化为精氨酸相对减弱,导致瓜氨酸高。有研究表明,肾脏功能降低与血浆瓜氨酸浓度升高有关^[11]。

Benito等^[12]研究建议将瓜氨酸、对称二甲基精氨酸等作为CKD的早期诊断指标,提高分类准确率。本研究将两组有统计学差异的氨基酸进行诊断效能分析后发现,色氨酸、苏氨酸及瓜氨酸是诊断CKD2~3期较好指标,受试者工作特征曲线曲线下面积分别为0.73、0.74、0.92;相应的敏感度为92.93%、50.02%、100%;特异度分别为41.06%、91.18%、84.58%;界值分别为15.37 $\mu\text{mol/L}$ 、102.54 $\mu\text{mol/L}$ 、53.95 $\mu\text{mol/L}$ 。其中瓜氨酸诊断CKD2~3期效能最高。

综上所述,CKD2~3期患者氨基酸谱较正常组发生改变,需要合理补充氨基酸。色氨酸、苏氨酸及瓜氨酸是较好的早期诊断指标。

参考文献

- 1 朱桑.急性肾损伤早期诊断氨基酸标志物的发现与评价[D].上海:中国人民解放军海军军医大学,第二军医大

学,2017.

- 2 李瑞.血清多种氨基酸联合诊断模型的建立用于慢性肾脏病代偿期的早期发现[D].沈阳:中国医科大学,2017.
- 3 Schmidt JJ, Hafer C, Spielmann J, et al. Removal characteristics and total dialysate content of glutamine and other amino acids in critically ill patients with acute kidney injury undergoing extended dialysis[J]. Nephron Clin Pract, 2014, 126(1): 62-66.
- 4 National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification[J]. Am J Kidney Dis, 2002, 39(2 Suppl 1): S1-266.
- 5 Holeček M. Branched-chain amino acids in health and disease: metabolism, alterations in blood plasma, and as supplements[J]. Nutr Metabol, 2018, 15(1): 33-48.
- 6 Duranton F, Lundin U, Gayraud N, et al. Plasma and urinary amino acid metabolomic profiling in patients with different levels of kidney function[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2014, 9(1): 37-45.
- 7 Kopple JD. Phenylalanine and tyrosine metabolism in chronic kidney failure 1-3[J]. J Nutr, 2007, 137(6): 1586-1590.
- 8 Moller N, Meek S, Bigelow M, et al. The kidney is an important site for in vivo phenylalanine-to-tyrosine conversion in adult humans: a metabolic role of the kidney[J]. Proc Nat Acad Sci USA, 2000, 97(3): 1242-1246.
- 9 Laidlaw SA, Berg RL, Kopple JD, et al. Patterns of fasting plasma amino acid levels in chronic renal insufficiency: results from the feasibility phase of the Modification of Diet in Renal Disease Study[J]. Am J Kidney Dis, 1994, 23(4): 504-513.
- 10 Lin YJ, Hsu CN, Lo MH, et al. High citrulline-to-arginine ratio associated with blood pressure abnormalities in children with early chronic kidney disease[J]. Cir J, 2013, 77(1): 181-187.
- 11 Li Y, Tang A, Mu S. HPLC-FLD determination of serum aromatic amino acids: Application in chronic kidney disease patients[J]. Clinica Chimica Acta, 2011, 412(11-12): 1032-1035.
- 12 Benito S, Sánchez-Ortega A, Unceta N, et al. Plasma biomarker discovery for early chronic kidney disease diagnosis based on chemometric approaches using LC-QTOF targeted metabolomics data[J]. J Pharm Biomed Anal, 2018, 149: 46-56.

(收稿日期 2018-12-27)

(本文编辑 蔡华波)