

两种血浆肾素、醛固酮检测方法对原发性醛固酮增多症筛查效率的评价

赖凤华¹, 曹筱佩¹, 林慧美¹, 张少玲², 符娟¹, 肖海鹏¹, 李延兵¹

1. 中山大学附属第一医院内分泌科, 广东 广州 510080; 2. 中山大学孙逸仙纪念医院内分泌科

摘要: 目的 探讨放射免疫法(RIA)与化学发光免疫法(CLIA)测定肾素、醛固酮结果的相关性以及原发性醛固酮增多症(原醛)的筛查价值。方法 对高血压患者 96 例分别采用 RIA 和 CLIA 平行检测血浆肾素活性或肾素浓度、醛固酮,对这两种检测方法的结果进行相关性分析,采用受试者工作特征(ROC)曲线比较这两种方法测得的醛固酮与肾素的比值(ARR)在原醛筛查中的灵敏度、特异度。结果 96 例患者中 41 例诊断为原醛,两种方法测得的肾素活性(浓度)呈正相关($r=0.905, P<0.01$),醛固酮浓度亦呈正相关($r=0.967, P<0.01$)。两种方法计算 ARR 的 ROC 曲线下面积分别为 0.94(95% CI 0.89~0.99)和 0.92(95% CI 0.85~0.98),两者比较,差异无统计学意义($P=0.52$)。筛查原醛 RIA 法 ARR 以 30(nmol/L)/[ng/(L·h)]为切点,灵敏度为 90.2%,特异度为 92.7%; CLIA 法 ARR 以 25 为切点,灵敏度为 95.1%,特异度为 83.6%。两种检测方法并联灵敏度为 97.6%,特异度为 83.6%。结论 两种方法检测肾素、醛固酮具有良好相关性;筛查原醛,CLIA 具有更高的灵敏度,但其特异度比 RIA 低。

关键词: 原发性醛固酮增多症; 放射免疫法; 化学发光免疫法; 醛固酮与肾素的比值

DOI:10.16439/j.cnki.1673-7245.2015.02.020

Comparison of plasma renin and aldosterone measured by radioimmunoassay and chemiluminescence immunoassay in screening primary aldosteronism

LAI Feng-hua*, CAO Xiao-pei, LIN Hui-mei, ZHANG Shao-ling, FU Juan, XIAO Hai-peng, LI Yan-bing

* Department of Endocrinology, The First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen

University, Guangzhou Guangdong 510080, China

Abstract: **Objective** To examine the detection efficiency of radioimmunoassay (RIA) and chemiluminescence immunoassay (CLIA) methods in measuring plasma renin and aldosterone for screening primary aldosteronism(PA). **Methods** Plasma renin and aldosterone were measured in 96 patients with hypertension by RIA and CLIA methods, respectively. The correlation between the two methods was analyzed. The area under curve (AUC), as well as the sensitivity and specificity of the two methods were computed by receiver operating characteristic curve (ROC). **Results** Forty-one patients were diagnosed with PA. The correlation between the plasma renin and aldosterone concentration detected by two methods was positively correlated($r=0.905$ and 0.967 , respectively, both $P<0.01$). The AUC of ROC for the aldosterone to renin ratio (ARR) determined by RIA and CLIA methods screening PA were 0.94 (95% confidence interval or CI 0.89-0.99) and 0.92 (95% CI 0.85-0.98), respectively, with no significant differences ($P>0.05$). The sensitivity and specificity were 90.2% and 92.7% for RIA method at the cut-off point of 30 (nmol/L)/[ng/(L·h)] for ARR, and 95.1% and 83.6% for CLIA method at the cut-off point of 25 for ARR. The sensitivity and specificity of the parallel test were 97.6% and 83.6%. **Conclusion** Both RIA and CLIA methods are closely correlated in measuring plasma renin and aldosterone. Compared with RIA method, CLIA method has a relatively higher sensitivity but lower specificity in screening PA.

Keywords: Primary aldosteronism; Radioimmunoassay; Chemiluminescence immunoassay; Aldosterone to renin ratio

原发性醛固酮增多症(原醛)是临床常见继发性高

血压病因之一,是由于肾上腺皮质球状带病变导致醛固酮分泌异常增加所致的临床综合征,以高醛固酮、低血浆肾素为主要特征^[1]。近年来的研究发现,在中重

通信作者:曹筱佩, E-mail: caoxp@mail.sysu.edu.cn

度高血压患者中,原醛占10%~20%,与血压水平相当的原发性高血压患者相比,原醛心、脑、肾脏等靶器官的损害更为严重,醛固酮分泌增多是导致左心室肥厚、心律失常、脑梗死、肾功能受损的重要危险因素^[2-7]。使用可靠、易行的方法筛查原醛对患者早期诊断及改善预后积极的影响。一项多中心研究表明,应用醛固酮与肾素的比值(aldoosterone to renin ratio, ARR)进行筛查后,原醛检出率提高了5~15倍^[8]。目前临床上肾素检测多采用放射免疫法(radioimmunoassay, RIA)检测不同温度下的血管紧张素Ⅰ浓度间接反映肾素活性来实现,而近年发展起来的化学发光免疫法(chemiluminescence immunoassay, CLIA)直接检测肾素浓度,且快速、重复性好及试剂安全无毒,被指南推荐应用^[9]。但目前这一方法并未在临床广泛开展。为了解CLIA的特点,本文对比两种方法测得的肾素、醛固酮浓度及计算的ARR结果,评估两者在原醛筛查中的效率。

1 对象与方法

1.1 对象 2013年10月至2014年1月因高血压在中山大学附属第一医院和中山大学孙逸仙纪念医院入院的96例患者。入院后,收集每位研究对象的性别、年龄、体质指数(body mass index, BMI)、血压及生化等资料。本研究通过中山大学附属第一医院伦理委员会审批,入组患者均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 原醛诊断 参照美国2008年原醛诊断指南^[10]以及结合我国原醛临床诊断程序^[11];有高血压、低血钾等临床表现,影像学提示肾上腺增生或腺瘤并符合以下任意一项检查标准:盐水试验后,ARR>35(nmol/L)/[ng/(L·h)];卡托普利试验,服药后ARR>40(nmol/L)/[ng/(L·h)]或病理确认为醛固酮瘤。盐水负荷试验(不耐受者行卡托普利抑制试验):受试者前一晚10:00禁食,平卧过夜,试验日8:00-12:00静脉滴注0.9%氯化钠溶液500 mL/h,试验前后检测肾素活性、醛固酮,计算ARR。卡托普利抑制试验:受试者前一晚22:00禁食,平卧过夜,试验日8:00平卧采血测肾素活性、醛固酮,采血后口服25 mg卡托普利(开博通片),保持平卧状态,2 h后再次采血检测肾素活性、醛固酮,计算ARR。盐水负荷试验或卡托普利试验采用RIA法检测肾素活性、醛固酮水平。

1.2.2 肾素、醛固酮检测方法 所有患者给予钠钾平衡膳食(钠160 mmol/d,钾60 mmol/d)1周以上,停服对肾素和醛固酮有影响的药物2周以上,醛固酮受体拮抗剂常规停用>4周。血压升高,患者出现症状者,

采用对肾素、醛固酮影响较小的 α 受体阻断剂治疗。试验当日6:00晨起后嘱患者站立或行走2 h,静坐15 min后,抽血查肾素和醛固酮。用于RIA法肾素活性检测的血液采集前在采血管中加入酶抑制剂,立即放入冰水浴中,2~4℃离心血浆,用于RIA法醛固酮检测的血液用肝素锂抗凝管采集,置于常温离心分离血浆。CLIA法肾素浓度和醛固酮检测的血液均用EDTA抗凝管采集,置于常温离心分离血浆。RIA法检测使用的是科大创新GC-1200 γ 计数仪,使用北京北方生物技术研究所提供的试剂盒,检测肾素活性[ng/(L·h)]和醛固酮(nmol/L),肾素活性检测批内变异<8%,批间变异<12%;醛固酮检测批内变异<5%,批间变异<9%。CLIA法使用的是郑州安图生物LUMO化学发光检测仪和配套试剂盒,检测肾素浓度(ng/L)和醛固酮(ng/L)。肾素浓度检测批内变异<5%,批间变异<15%;醛固酮检测批内变异<6%,批间变异<9%。

1.2.3 ARR计算 RIA检测方法因单位不同,经换算后ARR计算公式:

$$\text{醛固酮(nmol/L)} \times 10^6 / [\text{肾素活性(ng/(L} \cdot \text{h)} \times 27.7]。$$

CLIA法的ARR计算公式:

$$\text{醛固酮(ng/L)} / \text{肾素浓度(ng/L)}。$$

1.3 统计学方法 所有数据使用SPSS 13.0统计软件进行统计分析。计量数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间的比较采用独立样本Wilcoxon秩和检验,率的比较采用 χ^2 检验。RIA和CLIA检测的同一指标结果相关性分析采用Pearson相关分析。采用Sigma-Plot 10.0软件绘制受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC曲线),取约登指数最大时确定最佳切点。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料 原醛组与非原醛组比较,年龄较小($P < 0.01$),入院时收缩压和舒张压均偏高($P < 0.01$),血钾较低($P < 0.05$),BMI差异无统计学意义($P > 0.05$),见表1。

2.2 两种检测方法检测结果的相关性 对RIA法和CLIA法检测的结果进行相关性分析。RIA法肾素活性与CLIA法肾素浓度呈正相关($r = 0.905, P < 0.01$),见图1;两种方法所测得醛固酮浓度亦呈正相关($r = 0.967, P < 0.01$),见图2。

2.3 两种检测方法ARR单独筛查原醛的效率 RIA法和CLIA法检测结果计算所得ARR的ROC曲线下面积分别为0.94(95% CI 0.89~0.99)和0.92(95% CI 0.85~0.98),大于完全无诊断价值的机会线

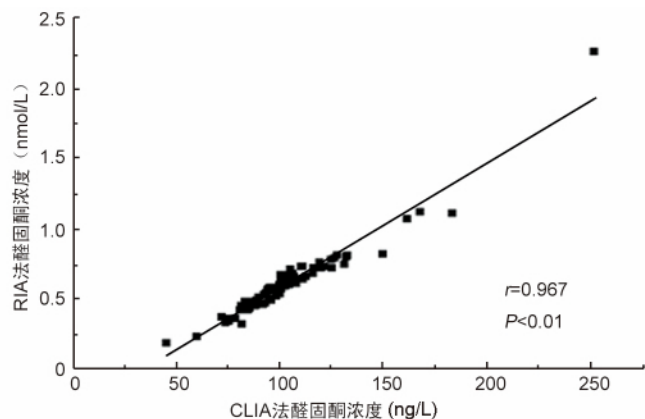
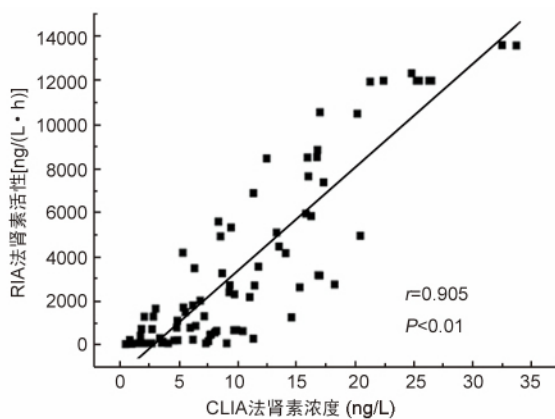
下面积 0.5 ($P < 0.01$), 但两者 ARR 的 ROC 曲线下面积比较差异无统计学意义 ($P = 0.52$)。根据 ROC 曲线坐标点, 以约登指数最大点为诊断最佳切点, RIA 法 ARR 以 30 (nmol/L)/[ng/(L·h)] 为切点, 灵敏度为 90.2%, 特异度为 92.7%, 约登指数为 0.83; CLIA 法

ARR 以 25 为切点, 灵敏度为 95.1%, 特异度为 83.6%, 约登指数为 0.79, 见表 2。RIA 法 $ARR \geq 30$ (nmol/L)/[ng/(L·h)] 或 CLIA 法 $ARR \geq 25$ 并联筛查原醛, 灵敏度为 97.6%, 特异度为 83.6%, 约登指数为 0.81。

表 1 一般资料 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数 (男/女)	年龄 (岁)	体质量指数 (kg/m ²)	收缩压 (mm Hg)	舒张压 (mm Hg)	血钾 (mmol/L)
非原醛	55(20/35)	52±11	23±6	165±30	110±25	3.91±0.41
原醛	41(29/12)	42±13 ^a	23±2	185±25 ^a	115±30 ^a	3.46±0.65 ^b

注: 与非原醛组相比, ^a $P < 0.01$, ^b $P < 0.05$ 。



注: RIA: 放射免疫法; CLIA: 化学发光免疫法。

图 1 RIA 法肾素活性与 CLIA 法肾素浓度相关性散点图

图 2 RIA 法醛固酮浓度与 CLIA 法醛固酮浓度相关性散点图

表 2 两种检测方法 ARR 筛查原醛的效率

方法	切点	诊断标准(例)		灵敏度 (%)	特异度 (%)	约登指数	ROC 曲线下面积 (95% CI)
		阳性	阴性				
RIA	≥ 30	37	4	90.2	92.7	0.83	0.94(0.89~0.99)
	< 30	4	51				
CLIA	≥ 25	39	9	95.1	83.6	0.79	0.92(0.85~0.98)
	< 25	2	46				

注: RIA: 放射免疫法; CLIA: 化学发光免疫法; ARR: 醛固酮与肾素比值; ROC 曲线: 受试者工作特征曲线。

3 讨论

原醛是由于肾上腺皮质病变, 导致醛固酮分泌增多及肾素血管紧张素系统 (renin-angiotensin system, RAS) 受抑制, 表现出以高血浆醛固酮水平和低血浆肾素水平为主要特征, 以高血压伴(或不伴)低血钾为主要临床表现的综合征。国外大样本流行病学调查发现采用 ARR 筛选原醛, 其患病率可占高血压人群的 10% 以上^[8], 在难治性高血压患者中高达 20%^[12]。在本研究中, 入选患者为高血压伴或不伴低血钾或肾

上腺占位患者, 96 例中有 41 例确诊为原醛, 占比达 42.7%, 提示在这部分人群中原醛的比例明显升高, 临床上这类患者必须筛查原醛。自 1981 年 Hiramatsu 等^[13]首次以 ARR 为指标, 从 384 例高血压患者中筛查出 9 例醛固酮腺瘤以来, ARR 逐渐成为原醛筛查最常用的指标。也是指南推荐在高血压人群中筛查原醛的方法^[10]。但是 ARR 受多种内在和外在因素的影响。ARR 可靠性受肾素的影响较大, 目前临床上广泛应用的肾素水平主要以肾素活性表示, 肾素活性是测定血浆中肾素将血管紧张素原转变为血管紧张素 I 的速率, 因此容易受血浆中血管紧张素原浓度的影响。在肝硬化、充血性心力衰竭等病理生理情况下, 血管紧张素原水平下降, 导致肾素活性检测结果偏低, 相反雌激素可以增加血管紧张素原水平, 而使肾素活性检测结果偏高。此外, 如果标本采集和运送过程中处理不当, 肾素原会转变为肾素, 将导致肾素活性假性升高。

近年来, 研究者提出, 直接检测血浆肾素浓度取代目前的肾素活性检测^[14-16]。CLIA 通过单克隆抗体技术直接测定血浆肾素浓度可以避免肾素活性检测过程中多种因素的干扰, 如不需立即冰浴, 不受血管紧张素

原水平的影响等,初步报道检测技术稳定性高,筛查原醛敏感度和特异度分别达 84% 和 100%^[17]。但由于肾素为小分子蛋白,直接检测对试剂及检测人员的技术要求较高,在临床上尚未广泛应用。本研究中采用国内首次开发的 CLIA 试剂盒直接检测肾素浓度和醛固酮,以 $ARR \geq 25$ 为筛查原醛的切点,敏感度和特异度分别为 95.1% 和 83.6%,与 RIA 肾素、醛固酮的检测结果呈高度正相关,两者对原醛均具有较高的筛查效率,而 CLIA 具有更高的灵敏度,但其特异度比 RIA 法稍低。在筛查检验中,选择灵敏度较高的检验方法,可减少漏诊。相比 RIA 试剂盒有效期较短(一般为 1 月左右)、每次检测时间较长,且对环境及工作人员有一定的负面影响,CLIA 法试剂稳定、无毒性、标本可以随到随测,大大缩短了检测时间,能更好地满足临床的需要。

总之,本研究结果显示,CLIA 法检测肾素、醛固酮与传统 RIA 法结果高度相关,在原醛筛查中具有高灵敏度和特异度,且其检测方法自身有优势,可作为临床血浆肾素、醛固酮检测和原醛筛查的有效手段。

本主题国内外已有的结论

- 原醛患者在高血压人群中发病率高达 10%, ARR 为常用且有效的筛查方法。
- CLIA 直接检测肾素浓度、醛固酮稳定性高。

本文特色与见解

- CLIA 和 RIA 对肾素、醛固酮的检测结果呈高度正相关。
- 筛查原醛,CLIA 具有更高的灵敏度,但其特异度比 RIA 低。

参考文献

- [1] 曾正陪. 内分泌性高血压的现状与诊治[J]. 临床内科杂志, 2006, 23(3):149-152.
- [2] 鄞国书,张少玲,严励. 醛固酮心血管损害的分子机制[J]. 国际内分泌代谢杂志, 2010, 30(2):129-132.
- [3] 洪维,龚艳春,初少莉,等. 原发性醛固酮增多症患者与左心室肥厚[J]. 中华高血压杂志, 2008, 16(2):112-116.
- [4] Catena C, Colussi G, Nadalini E, et al. Cardiovascular outcomes

in patients with primary aldosteronism after treatment[J]. Arch Intern Med, 2008, 168(1):80-85.

- [5] Born-Frontsberg E, Reincke M, Rump LC, et al. Cardiovascular and cerebrovascular comorbidities of hypokalemic and normokalemic primary aldosteronism: results of the German Conn's registry [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2009, 94(4):1125-1130.
- [6] Milliez P, Girerd X, Plouin PF, et al. Evidence for an increased rate of cardiovascular events in patients with primary aldosteronism[J]. J Am Coll Cardiol, 2005, 45(8):1243-1248.
- [7] Rossi GP, Bernini C, Desideri G, et al. Renal damage in primary aldosteronism: results of the PAPY study [J]. Hypertension, 2006, 48(2):232-238.
- [8] Mulatero P, Stowasser M, Loh KC, et al. Increased diagnosis of primary aldosteronism, including surgically correctable forms in centers from five continents[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2004, 89(3):1045-1050.
- [9] Michel A, Joel M. Measurement of plasma renin: a critical review of methodology[J]. J Renin Angiotensin Aldosterone Syst, 2010, 11(2):89-90.
- [10] Funder JW, Carey RM, Fardella C, et al. Case detection, diagnosis, and treatment of patients with primary aldosteronism: an endocrine society clinical practice guideline[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2008, 93(9):3266-3281.
- [11] 规范原发性醛固酮增多症的诊断程序[J]. 中华高血压杂志, 2008, 16(5):385-386.
- [12] Calhoun DA, Nishizaka MK, zaman MA, et al. Hyperaldosteronism among black and white subjects with resistant hypertension[J]. Hypertension, 2002, 40(6):892-896.
- [13] Hiramatsu K, Yamada T, Yukimura Y, et al. A screening test to identify aldosterone-producing adenoma by measuring plasma renin activity. Results in hypertensive patients[J]. Arch Intern Med, 1981, 141(12):1589-1593.
- [14] Ferrari P, Shaw SG, Nicod J, et al. Active renin versus plasma renin activity to define aldosterone-to-renin ratio for primary aldosteronism[J]. J Hypertens, 2004, 22(2):377-381.
- [15] Unger N, Lopez SI, Pitt C, et al. Comparison of active renin concentration and plasma renin activity for the diagnosis of primary hyperaldosteronism in patients with an adrenal mass[J]. Eur J Endocrinol, 2004, 150(4):517-523.
- [16] Chiara L, Niccolo B, Anna G, et al. Measurement of plasma renin concentration instead of plasma renin activity decreases the positive aldosterone-to-renin ratio tests in treated patients with essential hypertension[J]. J Hypertens, 2014, 32(3):627-634.
- [17] Trenkel S, Seifarth C, Schobel H, et al. Ratio of serum aldosterone to plasma renin concentration in essential hypertension and primary aldosteronism[J]. Exp Clin Endocrinol Diabetes, 2002, 110(2):80-85.

收稿日期:2014-06-05 责任编辑:张刘锋