

泌尿男科肾脏疾病 实验诊断与研究方法

主编 王志平

LABORATORY DIAGNOSIS AND RESEARCH
FOR DISEASES IN UROLOGY,
ANDROLOGY AND NEPHROLOGY



人民军医出版社
PEOPLE'S MILITARY MEDICAL PRESS

泌尿男科肾脏疾病实验诊断与研究方法

Laboratory Diagnosis and Research for Diseases in
Urology, Andrology and Nephrology

主 编 王志平

副主编 王俭勤 王养民

主 审 陈一戎

编著者 (以姓氏笔画为序)

丁建生	丁进芳	马宝良	马金良	王志平
王养民	王俭勤	艾军魁	卢建中	史庭凯
付生军	伍莲生	刘 晓	孙以方	李晓鸣
陈 斌	张润玲	岳中瑾	居 军	段国兰
黄 啸	董永超	景 涛		



人民军医出版社

People's Military Medical Press

北 京

图书在版编目(CIP)数据

泌尿男科肾脏疾病实验诊断与研究方法/王志平主编. 北京:人民军医出版社,2004.1
ISBN 7-80194-047-4

I. 泌… II. 王… III. ①泌尿男科肾脏疾病—实验诊断②泌尿男科肾脏疾病—研究方法
IV. R697

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2003)第 086425 号

主 编:王志平

出 版 人:齐学进

策划编辑:杨磊石

加工编辑:黄栩兵

责任审读:李 晨

版式设计:赫英华

封面设计:吴朝洪

出版发行:人民军医出版社

地址:北京市复兴路 22 号甲 3 号,邮编:100842,电话:(010)66882586、66882585、51927258

传真:(010)68222916,网址:www.pmmp.com.cn

印 刷:北京天宇星印刷厂

装 订:桃园装订厂

版 次:2004 年 1 月第 1 版,2004 年 1 月第 1 次印刷

开 本:787mm×1092mm1/16

印 张:23.75 彩页 1 面

字 数:536 千字

印 数:0 001~3 000

定 价:55.00 元

(凡属质量问题请与本社联系,电话:(010)51927289、51927290)



主 编 简 介

王志平，男，1960年生，泌尿外科主任医师、教授、博士研究生导师，国家卫生部有突出贡献的中青年专家，国际泌尿外科学会会员。享受国务院特殊津贴。1982年毕业于兰州医学院，获学士学位；1988年毕业于兰州医院，获医学硕士学位；1997年毕业于兰州大学，获细胞生物学博士学位。现任兰州医学院泌尿外科研究所所长。先后在英国爱丁堡大学、伍斯特大学、伯明翰大学和美国南加州大学留学。长期从事泌尿外科临床科研工作及实验研究，发表学术论文60余篇，其中国际SCI刊物收录16篇，中华医学会优秀论文奖2篇；获省部级二等奖4项、三等奖3项；1998年获吴阶平泌尿外科医学奖。

内 容 提 要

本书由泌尿外科和男科学及肾内科专家编写,分上下两篇。上篇详尽介绍了泌尿男科及肾脏疾病的实验室诊断技术,包括一般检查,尿液脱落细胞和红细胞形态、尿液病原微生物、肾功能、肾脏免疫学检查,泌尿系结石分析方法,肾移植组织配型和移植病人血药浓度检测,血液特殊抗原检测,精液与精子分析方法、功能测定、免疫抑制物测定、生化功能测定、生殖系统微生物检查,以及不育症相关抗体检查等。下篇介绍了泌尿系统疾病的研究方法,包括如何利用文献、科研选题与思路、常用实验方法、药物药理研究方法、资料统计处理与论文撰写、实验动物与医学研究等,重点对现代分子生物学和细胞生物学的最新技术作了详细介绍。内容新颖,实用性强,适于泌尿科、男科、肾病科医师及相关专业人员阅读参考。

责任编辑 杨磊石 黄栩兵

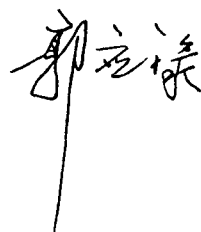
序

很高兴见到《泌尿男科肾脏疾病实验诊断与研究方法》一书问世。近年来,分子生物学和细胞生物学与临床医学相互渗透,分子医学的新成果、新技术不断应用于临床医学的实践中,大大推动了泌尿外科、男科和肾内科的发展,使病因、病理、诊断、治疗的研究深入到分子和基因水平。临床检验在泌尿外科、男科和肾脏病诊断和疗效判断方面具有重要作用,并有其特殊性。特别是随着大量诸如基因芯片技术、PCR 和流式细胞等技术的临床应用,不仅增加了一些泌尿外科、男科和肾脏病诊断新方法,而且使人们对各种疾病的病因、病理和诊断有了新的认识。随着人类基因组计划的完成,大量癌基因和抑癌基因的发现,人们已经逐步以这些新成果指导临床诊断治疗,如基因组织配型实验对肾移植手术和治疗用药的指导作用,许多新的肿瘤标志物也被广泛应用于实验室诊断。科学研究在临床医学的进步与发展中占有重要地位,大量科研新成果和新技术应用于临床,必将使疾病的病因和实验诊断及治疗产生重大的突破和发展。在科研工作中科研方法具有重要的作用,它包括正确应用文献、进行科学选题和科研设计,在此基础上采用先进的科研实验技术进行研究,最后科学总结科研结果并以科研论文等形式发表及应用于临床。在科研的每一个环节都存在一些技巧,这就要求临床和科研工作者钻研科研方法。尤其是近年来出现了许多分子医学的新技术,如 PCR 分析技术、基因芯片技术、转基因技术、核酸杂交、流式细胞术、原位杂交技术和计算机图像分析等新方法广泛应用于泌尿外科、男科和肾脏病的研究,这就需要一部全面反映泌尿外科、男科和肾脏病实验诊断和研究方法的专著,帮助临床和科研工作者学习了解科研方法和诊断手段,利用各种科研新技术去促进本学科的发展。

本书作者大多是从从事泌尿外科、男科、肾脏病临床和研究工作的专家,具有丰富的实践经验及理论水平。针对泌尿、男科、肾脏病等系统疾病,详尽介绍了近年来广泛应用的各种检验技术方法,既包括了经典实验诊断、基本方法和基本技术,也论述了如基因组织配型等最新的技术方法和进展,并结合实践经验对各种实验的原理、方法、正常参考值以及临床意义作了详细介绍。在此基础上,作者根据其多年的科研和实践经验及泌尿外科、男科和肾脏病专业的特点和实际,系统介绍了科研工作中选题、文献检索、研究资料统计和论文撰写等工作的方法技巧。对现代分子生物学和细胞生物学最新技术,包括电子显微镜技术、细胞培养技术、计

算机分析技术、DNA 和 RNA 提取技术、自由基研究技术、RNA 分析技术、PCR 技术、Western blot 和 Southern blot 技术、转基因技术、酶联免疫技术、原位杂交技术、受体配体结合实验、流式细胞技术及动物实验等进行了详尽介绍,有助于大家开拓科研思路,采用最新科研手段去应用于临床实践和科学研究。

本书内容丰富翔实,思路严谨,内容新颖,有很强的实用性,是泌尿外科、肾内科及男科学临床医生、科研工作者和实验室工作人员不可多得的工具书。

A handwritten signature in black ink, consisting of stylized Chinese characters, likely '郭应禄' (Guo Yinglu), with a long vertical line extending downwards from the bottom character.

目 录

上篇 实验诊断

第1章 一般检查.....	(1)
第一节 尿液一般检查.....	(1)
一、标本的收集与保存	(1)
二、理学检查	(2)
三、化学检查	(3)
四、显微镜检查	(7)
五、尿沉渣定量检查	(8)
第二节 非蛋白氮类化合物检查.....	(9)
一、血清(尿)尿素测定	(9)
二、血清(尿)肌酐测定.....	(10)
三、血清(尿)尿酸测定.....	(12)
第三节 肾上腺皮质激素测定	(13)
一、皮质醇测定.....	(13)
二、血浆皮质酮测定.....	(16)
三、醛固酮测定.....	(16)
四、尿17-酮类固醇测定	(17)
五、尿17-羟皮质类固醇测定	(18)
六、儿茶酚胺类激素测定.....	(20)
第2章 尿液脱落细胞和红细胞形态检查	(25)
第一节 脱落细胞检查	(25)
第二节 红细胞形态检查	(26)
第3章 尿液病原微生物检查	(28)
一、细菌的定性检查.....	(28)
二、细菌的定量检查.....	(29)
第4章 肾功能检查	(30)
第一节 肾小球功能检查	(30)
一、内生肌酐清除率测定.....	(30)
二、菊粉清除率测定.....	(31)
三、血肌酐测定.....	(32)

四、尿肌酐测定	(32)
五、指甲肌酐测定	(33)
六、头发肌酐测定	(33)
七、血清 α_1 -微球蛋白测定	(34)
八、血清 β_2 -微球蛋白测定	(35)
九、肾小球滤过分数	(37)
第二节 肾血流量测定	(37)
第三节 肾小管功能检查法	(38)
一、近端肾小管功能试验	(38)
二、远端肾小管功能测定	(39)
第四节 肾小管酸中毒诊断试验	(42)
一、氯化铵负荷试验	(42)
二、碳酸氢根重吸收排泄试验	(42)
第5章 肾脏免疫学检查	(44)
第一节 血清生化检查	(44)
一、总蛋白测定	(44)
二、白蛋白和球蛋白测定	(45)
三、蛋白电泳测定	(46)
四、免疫球蛋白测定	(47)
五、免疫球蛋白 D 测定	(49)
六、免疫球蛋白 E 测定	(49)
七、循环免疫复合物测定	(50)
八、抗链球菌溶血素 O 测定	(52)
九、C-反应蛋白测定	(53)
第二节 凝血功能检查	(54)
一、血浆纤维蛋白原含量测定	(54)
二、血浆 D-二聚体测定	(56)
三、血 FDP 测定	(56)
四、纤溶酶原测定	(57)
五、纤溶酶测定	(58)
六、组织型纤溶酶原激活物	(59)
第三节 血清补体测定	(60)
一、总补体溶血活性测定	(60)
二、补体 3 测定	(62)
三、补体 4 测定	(64)
四、补体 C1q 定量测定	(65)
五、补体 3 肾炎因子测定	(67)
六、血清补体 4 肾炎因子测定	(68)
第四节 内分泌学检查	(68)

一、血管紧张素Ⅱ活性测定	(68)
二、血清维生素·D ₃ 的测定	(70)
三、红细胞生成素测定	(71)
第五节 血清抗体测定	(72)
一、抗核抗体测定	(72)
二、抗双链DNA抗体测定	(73)
三、抗可提取抗原抗体测定	(74)
四、抗心磷脂抗体测定	(75)
五、抗肾小球基底膜抗体测定	(76)
六、抗肾小管基底膜(TBM)抗体测定	(78)
七、抗Tamm-Horsfall蛋白抗体测定	(78)
八、抗中性粒细胞细胞浆自身抗体测定	(79)
九、皮肤狼疮带试验	(80)
第六节 尿蛋白与蛋白组分检查	(81)
一、尿蛋白定性检查	(81)
二、尿本周蛋白定性检查	(83)
三、尿液乳糜试验	(84)
四、尿蛋白定量检查	(85)
五、尿蛋白十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳	(87)
六、选择性蛋白尿分析	(88)
第七节 尿酶学测定	(88)
一、N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷酶(NAG)测定	(88)
二、乳酸脱氢酶同工酶(LDH)测定	(90)
三、尿丙氨酸氨肽酶(AAP)测定	(91)
四、γ-谷氨酰转肽酶(γ-GT)测定	(92)
五、尿液溶菌酶测定	(93)
第八节 肾损伤的早期标志物检测	(94)
一、微量白蛋白测定	(94)
二、α ₁ -微球蛋白测定	(96)
三、转铁蛋白测定	(97)
四、尿β ₂ -微球蛋白测定	(97)
五、尿视黄醇结合蛋白(RBP)测定	(98)
六、尿蛋白-1(UP-1)测定	(99)
第九节 尿液特殊蛋白的检测	(100)
一、IV型胶原测定	(100)
二、转化生长因子β测定	(101)
三、纤维蛋白(原)降解产物检查	(102)
四、TH蛋白包裹游离细胞检测	(104)
第十节 尿路感染相关检查	(104)

一、尿 IgA 测定	(105)
二、尿抗体包裹细菌试验	(105)
三、尿亚硝酸盐测定	(106)
四、氯化三苯四氮唑还原试验	(106)
第 6 章 肾脏病理学检查	(109)
一、标本的处理	(109)
二、标本的制备	(109)
三、光镜染色	(110)
四、免疫荧光染色	(112)
五、透射电子显微镜技术	(112)
第 7 章 泌尿系结石的分析方法	(114)
第一节 化学定性分析	(114)
第二节 化学定量分析	(118)
第三节 物理分析	(119)
一、结石晶体基质结构	(120)
二、结石晶体结构	(121)
第 8 章 肾移植的组织配型	(124)
第一节 概述	(124)
一、组织配型的意义	(124)
二、主要组织相容性复合物简介	(124)
三、HLA 特异性	(125)
四、肾移植 HLA 配型策略	(126)
五、抗 HLA 抗体的筛选意义	(128)
六、常用试剂的配备	(128)
第二节 淋巴细胞分离技术	(129)
一、密度梯度分离法	(129)
二、淋巴细胞分离剂方法	(130)
三、免疫磁珠分离剂法	(130)
四、从脾脏和淋巴结分离淋巴细胞	(130)
第三节 HLA 抗体筛选技术	(130)
一、淋巴细胞毒交叉配合试验	(131)
二、莱姆德细胞板方法	(132)
三、莱姆德混合抗原板(LATM)检测方法	(132)
四、莱姆德抗原板(LAT)检测方法	(133)
五、酶联 STAT 方法	(134)
第四节 HLA 血清学分型技术	(134)
一、标准血清学分型	(134)
二、单克隆抗体分型	(136)
第五节 HLA 的 DNA 分型技术	(137)

一、限制性片段长度多态性分析	(137)
二、聚合酶链构象多态性分析	(137)
三、DNA 序列测定	(137)
四、聚合酶链反应寡核苷酸探针杂交	(138)
五、顺序特异性引物聚合酶链反应技术	(139)
第六节 HLA 细胞学分型技术	(140)
一、混合淋巴细胞培养	(140)
二、纯合子细胞分型	(140)
三、预处理淋巴细胞分型	(141)
第 9 章 移植患者血药浓度检测	(142)
第一节 环孢菌素 A 测定	(142)
一、反相高效液相色谱法	(142)
二、高效毛细管电泳法	(143)
第二节 FK506 测定	(144)
第 10 章 血液特殊抗原检测	(146)
第一节 前列腺特异抗原检测	(146)
第二节 甲胎蛋白检测	(147)
一、ELISA 法	(147)
二、RIA 法	(148)
第三节 绒毛膜促性腺激素测定	(149)
第 11 章 精液与精子检查	(151)
一、精液标本的采集和运送	(151)
二、精液一般检查	(151)
三、精液显微镜检查	(153)
四、精子顶体染色及其形态学检查	(154)
五、非精子细胞检查	(155)
六、白细胞检查	(156)
七、凋亡细胞检查	(156)
八、细胞凋亡的研究方法	(158)
第 12 章 精液参数分析方法	(161)
一、血细胞计数板	(161)
二、Makler 精子计数板	(161)
三、Microcell 计数池	(162)
四、计算机辅助精液分析	(162)
第 13 章 精子功能指标测定	(164)
第一节 精子膜功能测定	(164)
一、精子尾部低渗肿胀试验	(164)
二、伊红 Y 水试验	(164)
第二节 精子核功能测定	(165)

一、精子核 DNA 荧光染色	(165)
二、精子核蛋白组分测定	(166)
第三节 精子-仓鼠卵穿透试验	(167)
第四节 精子和宫颈黏液相互作用	(168)
一、精子毛细管穿透试验	(168)
二、精子-宫颈黏液玻片穿透试验	(168)
三、性交后试验	(169)
第五节 精子线粒体功能测定	(170)
一、NBT 法	(171)
二、精子线粒体 DNA 检测	(171)
第 14 章 不育症相关抗体检查	(173)
第一节 抗精子抗体	(173)
一、混合抗球蛋白反应试验	(173)
二、酶联免疫吸附法	(174)
三、试管、玻片凝集试验	(174)
四、混合细胞凝集反应	(175)
五、免疫珠结合试验	(175)
六、固相酶染色法	(175)
七、间接荧光抗体试验	(176)
八、补体依赖法	(176)
第二节 抗透明带抗体	(176)
一、间接荧光法	(176)
二、ELISA 法	(177)
第三节 其他相关抗体	(177)
一、子宫内膜抗体	(177)
二、抗磷脂抗体	(178)
三、抗卵巢抗体	(178)
四、抗人绒毛膜促性腺激素抗体	(178)
五、抗弓形虫抗体	(178)
六、滋养细胞膜抗体	(178)
第 15 章 精液免疫抑制物测定	(180)
一、抗补体法	(180)
二、单向免疫扩散法	(180)
三、ELISA 夹心法	(181)
四、间接免疫荧光定位分析	(181)
第 16 章 精液生化功能指标测定	(183)
第一节 前列腺功能指标检查	(183)
一、精浆酸性磷酸酶测定	(183)
二、精浆柠檬酸测定	(184)

第二节 精液果糖测定	(185)
第三节 附睾功能指标测定	(186)
一、PENG 法 α -葡萄糖苷酶测定	(186)
二、精浆肉毒碱测定	(186)
第四节 精液乳酸脱氢酶-X 同工酶活性测定	(187)
一、电泳分离染色法	(187)
二、比色法	(188)
第五节 精液顶体酶活力测定	(189)
一、BAEE 水解法	(189)
二、明胶法	(189)
三、精氨酸酰胺酶活性测定	(190)
第 17 章 生殖系统微生物检查	(191)
第一节 细菌与真菌检查	(191)
一、普通细菌	(191)
二、结核分枝杆菌	(191)
三、杜克雷嗜血杆菌	(191)
四、淋病奈瑟菌	(191)
五、白色念珠菌	(192)
第二节 梅毒螺旋体检测	(192)
一、暗视野显微镜检	(192)
二、血清学检测	(193)
三、IgM 抗体检测	(193)
四、分子生物学检测	(193)
第三节 人类免疫缺陷病毒(HIV)检测	(193)
一、HIV 抗体测定	(194)
二、HIV 核酸测定	(195)
三、病毒载量测定	(195)
四、p24 抗原测定	(196)
五、HIV 细胞培养	(196)
第四节 人类乳头瘤病毒(HPV)检测	(196)
第五节 衣原体检测	(197)
一、刮片检查	(197)
二、血清学检查	(197)
三、直接免疫荧光检查	(198)
四、培养法	(198)
第六节 支原体检测	(198)
一、解脲支原体和人型支原体培养分离及药敏试验	(199)
二、细胞培养支原体感染	(200)
第七节 其他检查	(200)

一、单纯疱疹病毒检查	(200)
二、巨细胞病毒的检查	(201)
三、风疹病毒检查	(201)

下篇 研究方法

第 18 章 研究文献的利用	(203)
第一节 医学文献	(203)
第二节 医学文献检索工具	(204)
一、中文医学文献检索工具	(204)
二、外文医学文献检索工具	(205)
三、光盘检索工具	(206)
第三节 互联网的应用	(207)
一、免费 MEDLINE 检索	(207)
二、Medical Matrix(医源)	(207)
三、Medical World Search(MWS 医学世界检索)	(207)
四、HealthAtoZ	(207)
五、MedSite	(208)
六、其他	(208)
第 19 章 科研选题与研究思路	(212)
第一节 科研方向的确定	(212)
一、确定科研方向的意义	(212)
二、确定科研方向的客观依据	(212)
第二节 科研课题的选择	(213)
第三节 科研课题的设计	(214)
一、申请科研基金	(214)
二、课题设计原则	(214)
三、课题设计的审定	(215)
第四节 研究的哲学	(215)
第 20 章 常用试验方法	(217)
第一节 电子显微镜技术	(217)
一、基本原理	(217)
二、优点及适用范围	(218)
三、标准化电镜样品固定和包埋程序	(218)
四、应用进展	(219)
五、其他新型显微镜技术	(221)
第二节 免疫组织化学技术	(223)
一、概述	(223)

二、过氧化物酶-抗过氧化物酶(PAP)技术	(224)
三、卵白素-生物素复合物(ABC)技术	(225)
四、S-P 法	(225)
五、质量控制	(226)
六、临床意义	(227)
第三节 细胞培养技术	(228)
一、培养环境	(228)
二、细胞培养设施和基本条件	(229)
三、培养细胞的形态	(229)
四、培养用品的清洗与消毒	(230)
五、肿瘤细胞的培养	(231)
第四节 计算机图像分析	(232)
一、基本原理和系统构成	(233)
二、图像分析仪工作程序	(233)
三、主要用途	(234)
第五节 DNA 提取技术	(239)
一、从组织中提取	(239)
二、从培养物中提取	(240)
三、单链质粒 DNA 的小量制备	(241)
四、从琼脂糖凝胶上分离 DNA 片段	(241)
五、从琼脂糖凝胶上洗脱 DNA 片段	(242)
第六节 自由基研究技术	(242)
一、超氧阴离子自由基(O_2^-)测定	(242)
二、羟自由基测定	(243)
三、 H_2O_2 的酚红氧化测定法	(243)
四、脂过氧化物荧光测定	(244)
五、SOD 活性测定	(244)
六、过氧化氢酶(CAT)测定	(245)
七、谷胱甘肽氧化酶测定	(245)
八、黄嘌呤氧化酶测定	(246)
九、化学发光法简介	(246)
十、自旋捕捉技术	(247)
十一、自由基产生系统	(247)
第七节 RNA 提取技术	(247)
一、从悬浮或贴壁细胞中提取 RNA	(247)
二、从大肠杆菌中分离 RNA	(248)
三、用寡聚(dT)纤维素分离多聚(A) ⁺ RNA	(249)
第八节 PCR 技术	(249)
一、PCR 反应的成分和作用	(250)

二、PCR 反应的缓冲液	(250)
三、Taq DNA 聚合酶的活性	(250)
四、底物(脱氧核糖核苷三磷酸, dNTPs) 浓度	(250)
五、PCR 反应的酶及其浓度	(250)
六、引物	(251)
七、PCR 反应条件的选择	(251)
八、PCR 反应的引物设计	(251)
九、耐热 DNA 聚合酶	(252)
第九节 Western blot 技术	(252)
第十节 Southern blot 技术	(253)
一、固相支持物的选择	(253)
二、印迹方法	(254)
三、放射性核素探针杂交	(258)
第十一节 Northern blot 技术	(259)
一、RNA 变性电泳	(260)
二、RNA 转印技术	(261)
第十二节 转基因技术	(263)
一、基因转染技术	(263)
二、转基因动物技术	(265)
第十三节 基因芯片技术	(266)
一、基本概念	(266)
二、基因芯片的种类及方阵构建	(267)
三、样品的制备与标记	(269)
四、杂交反应	(269)
五、杂交信号检测	(270)
六、在医学上的应用	(270)
七、展望	(273)
第十四节 酶联免疫吸附技术	(274)
一、原理及技术要点	(274)
二、常用方法	(275)
三、泌尿外科应用举例	(276)
第十五节 原位杂交技术	(277)
一、基本技术	(277)
二、新技术发展	(278)
三、在研究中的应用	(280)
第十六节 受体配体结合试验	(280)
一、受体的概念	(280)
二、受体研究方法	(281)
三、受体-配基结合试验技术原则	(281)