

病毒性肝炎患者血中一氧化碳的测定及临床意义

黄艳¹, 张跃新², 田江¹, 程伟¹, 吴狄¹ [1.新疆石河子市人民医院 消化内科, 石河子 832000; 2.新疆医科大学第一附属医院 感染科(肝病中心), 乌鲁木齐 830054]

摘要: 目的 了解不同程度病毒性肝炎患者静脉血中碳氧血红蛋白(COHb)的变化并分析其临床意义, 探讨一氧化碳(CO)在肝脏疾病中的作用。方法 采用双波长分光光度法测量不同程度病毒性肝炎患者血中COHb的浓度, 并与正常对照组进行比较, 对各级间COHb水平进行统计学分析。结果 病毒性肝炎患者血中COHb水平较正常对照组有显著性差异, 病毒性肝炎重度组COHb水平与血中丙氨酸氨基转移酶(ALT)统计分析显示具有正相关性。结论 不同程度病毒性肝炎患者血中COHb水平的改变提示CO在肝脏炎症性疾病中发挥一定的作用。

关键词: 碳氧血红蛋白; 病毒性肝炎

Detection of carboxyhemoglobin levels and its clinical significance in patients with viral hepatitis

HUANG Yan¹, ZHANG Yue-xin², TIAN Jiang¹, CHENG Wei¹, WU Die¹ (1.Department of Gastroenterology, Shihezi People's Hospital, Shihezi 832000, China; 2.Department of Infectious Diseases, the First Hospital Affiliated to Xinjiang Medical University, Wulumuqi 830054, China)

Abstract: Objective To investigate the relationship between the blood carboxyhemoglobin levels and its significance in patients with different degrees of viral hepatitis and explore the role of carbon monoxide (CO) in liver injury. **Methods** The blood COHb levels in patients of different degrees viral hepatitis were measured by dual-wavelength spectrophotometry, the results were compared with normal control statistically. **Results** The blood COHb levels in patients with different degrees of viral hepatitis demonstrated significant difference statistically, the alanine aminotransferase in blood and COHb are positively correlated in serious viral hepatitis group. **Conclusions** The change of blood COHb in patients with different degrees of viral hepatitis prompt that CO plays a role in liver inflammatory disease.

Key words: COHb; Viral hepatitis

近年来,有研究显示CO作为一种多效信使分子,与肝脏的炎症及应激、肝脏微循环等有着密切关系。但其详细的作用机制仍不完全清楚。国内外相关的研究较多集中在动物实验方面,在病毒性肝炎患者中的相关研究报告较少,本研究关注CO在病毒性肝炎患者中的变化,分析并讨论CO所发挥的作用。

1 资料与方法

1.1 研究对象

1.1.1 一般资料 符合纳入标准的55例病毒性肝炎入选者为2005年3月~12月在新疆医科大学第一临床医学院肝病中心住院的患者;正常对照组包括肝病中心科室工作人员及医科大学成教学院学生,符合排除标准。

1.1.2 纳入标准 按照2000年西安肝病会议制定的慢性病毒性肝炎的诊断标准筛选病历。

1.1.3 排除标准 (1)有吸烟史者,每日吸烟量>2支者,以及有相关职业接触史者,如炼钢工人;(2)有慢性肺部疾病,如慢性支气管炎、慢性肺源性

通讯作者:张跃新 Email: Zhangyx3103@163.com

心脏病、支气管哮喘病史等；(3)有冠心病、高血压病史；(4)溶血性疾病患者。

1.2 仪器和试剂 上海棱光技术有限公司生产的22PC型分光光度仪；一氧化碳；普氧；普氮；血液稀释液（Tris液）；连二亚硫酸钠（分析纯）；具塞试管20支；天平；离心管；玻璃珠；移液器。

1.3 试剂制备 Tris液配置方法：称取三羟甲基甲烷（分析纯）1.21 g，溶于1000 ml热蒸馏水中。

1.4 检测方法 入选者均于清晨8点左右抽取肘静脉血2 ml置于含抗凝剂EDTA管中，操作方法参考<http://www.medizone.com.cn/html/392.htm>，具体操作步骤为：(1)取10 ml具塞试管2支（1支为试剂空白管，另1支为测定管）。各放入2粒玻璃珠，并加满Tris液（13~15 ml，体积差异不影响测定准确度）；(2)将Tris液2 ml加入EDTA管稀释后抽取5 μ l加入空血管，再加入40 mg连二亚硫酸钠，颠倒混匀；(3)用移液器吸取待检血标本5 μ l，放入测定管中，加连二亚硫酸钠40 mg，补满Tris液后盖塞（勿进气泡），颠倒混匀，10~15分钟后比色；(4)将试剂空白管和测定管待测液分别倒入1 cm比色皿中，以试剂空白液调零点，记录测定液420 nm和432 nm吸光度值（即 A_{420} 、 A_{432} ）；(5)为减少测定样品的误差，所有测定样品均在同一仪器重复测定两次以上，取均值。

1.5 饱和度计算 COHb饱和度按下列公式计算^[1]：式中： aHb_{420} 为Hb在420 nm波长的吸光度； aHb_{432} 为Hb在432 nm波长的吸光度； $aCOHb_{420}$ 为COHb在420 nm波长的吸光度； $aCOHb_{432}$ 为COHb在432 nm波长的吸光度。

1.6 吸光系数的测定 参见<http://www.medizone.com.cn/html/392.htm>。

[com.cn/html/392.htm](http://www.medizone.com.cn/html/392.htm)。

1.7 统计处理 采用SPSS 12.0软件，选用单因素方差分析、秩和检验和相关性检验进行统计分析， $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同程度肝炎患者COHb水平与对照组的比较

2.1.1 轻、中、重度组肝炎患者年龄与对照组的比较 肝炎组入选病例55例，按照肝功损害程度分为轻度肝炎组21例、中度肝炎组14例、重度肝炎组20例3组，各组年龄与对照组经方差齐性检验（ $P = 0.10$ ），再经单因素方差分析得出各组年龄差异无统计学意义（ $P = 0.50$ ），见表1。

2.1.2 轻、中、重度组肝炎患者与对照组COHb水平的比较 肝炎轻、中、重度组患者与对照组COHb水平经方差齐性检验（ $P = 0.74$ ），单因素方差分析显示，肝炎组各血中COHb水平与对照组比较，差异均有统计学意义（ $P = 0.00$ ），肝炎各组均较对照组偏低，而肝炎轻、中、重度组各组之间经单向方差分析平均值之间的多重比较（SNK法）差异无统计学意义（各组 $P > 0.05$ ），见表2、表3。

2.2 不同程度肝炎组COHb与ALT相关性分析 肝炎轻、中、重度组患者COHb与ALT经秩和相关分析显示，轻、中度肝炎组COHb与ALT无相关性，仅在重度肝炎组COHb与ALT显示呈正相关性（ $r = 0.62$ ， $P = 0.00$ ），见表4。

3 讨论

继NO之后^[2]，大量证据表明内源性CO是体内广泛分布的多功能气体信号分子，与NO相似，CO也具有扩张血管和抑制血管平滑肌细胞增殖的作用，但CO不是自由基，它具有抗炎症、抗凋亡和

表1 不同程度肝炎组年龄与对照组单因素方差分析

	例数	$\bar{x} \pm s$	方差齐性检验		方差分析结果	
			Levene	P	F	P
轻度肝炎组	21	37.47 \pm 12.92	2.16	0.10	0.79	0.50
中度肝炎组	14	34.78 \pm 12.60				
重度肝炎组	20	35.80 \pm 12.64				
对照组	15	31.53 \pm 5.51				

表 2 不同程度肝炎组与对照组COHb单因素方差分析

	例数	$\bar{x} \pm s$	方差齐性检验		方差分析结果	
			Levene	P	F	P
轻度肝炎组	21	0.04	0.04	0.74	20.24	0.00
中度肝炎组	14	0.04				
重度肝炎组	20	0.04				
对照组	15	0.05				

表 3 不同程度肝炎组与对照组COHb两两比较情况

	轻度肝炎组	中度肝炎组	重度肝炎组	对照组
轻度肝炎组		1.00	0.21	0.00
中度肝炎组	1.00		1.00	0.00
重度肝炎组	0.21	1.00		0.00
对照组	0.00	0.00	0.00	

注：表中数据表示两两比较所得P值

表 4 不同程度肝炎组COHb与ALT相关性分析

	例数	COHb与ALT相关性	
		r	P
轻度肝炎组	21	-0.07	0.76
中度肝炎组	14	-0.41	0.13
重度肝炎组	20	0.62	0.00

免疫调节等细胞保护作用^[3]。

血红素氧合酶(heme oxygenase, HO)可降解血红素,释放等摩尔的一氧化碳(CO)、胆绿素和亚铁离子。HO在体内广泛存在,已被证实几乎分布于所有的器官和组织,涉及整个生长发育过程。HO是哺乳动物和啮齿动物组织细胞微粒体中的一种蛋白酶,它有3种异构型:HO-1、HO-2和HO-3^[4]。HO-1为诱生型,HO-2和HO-3为原生型。HO-1主要分布在脾、肝、骨髓、单核-巨噬细胞系统、平滑肌,主要参与血红素的代谢,以脾脏中活性最高。HO-1可被各种诱导剂激活,如应激、饥饿、缺氧、热休克、内毒素、细胞因子(白细胞介素1、白细胞介素6)、激素(胰岛素、肾上腺素、胰高血糖素等)、金属离子、氧化反应、氧自由基等等。HO-1与目前所发现的其他酶相比,能对更多种类别和形式的刺激产生反应^[3]。其他酶很少有像HO-1一样与多种诱导有关。

结合本项研究结果,笔者有理由认为在病毒

性肝炎病理状态下,体内COHb水平的变化,提示HO-1活性的改变。但本项结果与文献报道的结果有所不同。文献报道结果表明,在炎症等各种病理状态下释放的各种促炎细胞因子刺激HO-1的表达上调导致CO生成增多。而在本项研究中,各病例组COHb水平均低于对照组,分析可能有以下原因:有研究显示HO-1的表达高峰出现在炎症消退时^[5],说明在炎症的不同时期HO-1的表达程度不同,而本项研究的病例组入选者大多在入院时处于病变活动期,此时留取的标本,HO-1的活性可能升高不明显,从而影响体内COHb水平。

另外,重度肝炎组COHb和ALT显示呈正相关,提示HO-CO系统在肝脏炎症中发挥一定作用。ALT是反映肝脏炎症活动程度的指标,在肝脏炎症损害明显的情况下,COHb和ALT显示有正相关性,说明COHb和炎症有相关性,也提示CO参与了肝脏的炎症反应。

关于HO-CO系统在氧化应激状态下提供的细

胞保护作用的机制目前仍不完全清楚，现认为该作用的产生与促炎细胞因子（TNF- α 、IL-1）的下调及伴有的抗炎细胞因子白细胞介素-10（IL-10）的增强有关^[6]。虽然已有较多的研究报道，在较多的细胞和组织（包括在肝脏），HO-1过度表达提供的保护作用可能通过胆色素和CO的产生起作用，但有证据提示HO-1的过度表达产生的保护性作用被限制在一个相当有限的范围内。过高水平表达的HO-1通过释放活性铁甚至会增加细胞对氧化应激的敏感性，HO-1基因的转录激活是细胞对氧化应激反应整体中的一部分，它诱导产生的作用似乎既不是绝对的细胞保护也不是绝对的细胞毒性^[7]。有关HO-CO系统在肝脏炎症中的作用及临床意义有待进一步研究。

参考文献

[1] 乐宏元, 宋小兴. 一氧化碳血红蛋白双波长定量测量[J]. 临

床检验杂志, 1996, 14: 87-88.

- [2] 蒲丹, 唐朝枢. 关注生物活性小分子物质的研究[J]. 国外医学·生理、病理科学与临床分册, 2004, 24: 393-398.
- [3] Soares MP, Lin Y, Anrather J, et al. Expression of heme oxygenase-1 can determine cardiac xenograft survival[J]. Nat Med, 1998, 4: 1073-1077.
- [4] Maines MD. The heme oxygenase system: past, present, and future[J]. Antioxidants & Redox Signaling, 2004, 6: 797-801.
- [5] Vicente AM, Guillen MI, Habib A, et al. Beneficial effects of heme oxygenase-1 up-regulation in the development of experimental inflammation induced by zymosan[J]. JPET, 2003, 307: 1030-1037.
- [6] Yachie A, Niida Y, Wada T, et al. Oxidative stress causes enhanced endothelial cell injury in human heme oxygenase-1 deficiency[J]. J Clin Invest, 1999, 103: 129-135.
- [7] Bauer M, Bauer I. Heme oxygenase-1: redox regulation and role in the hepatic response to oxidative stress[J]. Antioxidants and Redox Signalling, 2002, 4: 749-758.

收稿日期: 2009-01-02

•会议通知•

新药和医疗器械临床试验设计与SAS统计分析培训班

随着改革开放不断深入，我国的新药和医疗器械的临床试验研究正如火如荼地开展，方兴未艾。然而，从审阅已完成的大量此类研究项目的结果来看，其试验设计质量和数据分析质量均不容乐观。有必要对有关研究单位和临床试验部门的相关人员，进行前瞻性技术培训，真正提高他们的科研素质、临床试验设计水平和数据分析能力，以期达到大幅度降低企业的人力、物力、财力和时间等成本的投入，最大化提升科研成果的质量，确保人民的人身安全 and 治疗效果。为此，军事医学科学院生物医学统计学咨询中心将于2010年5月22~25日举办两期培训班，每期两天，培训费和资料费1500元，食宿自理。两期都参加者总费用为2500元。培训内容分别为科研设计与临床试验设计（第一期）、科学研究和临床试验数据分析的SAS实现（第二期）。

希望拟参加培训班的人员尽快索取报名表，联系人邮箱：maowei1108@sohu.com（毛玮，1108为数字）或 wqi619@126.com（王琪）；联系电话：010-66932130，010-66932127；邮编：100850；通讯地址：北京市海淀区太平路27号军事医学科学院生物医学统计学咨询中心。报名截止时间：2010年5月10日。

军事医学科学院生物医学统计学咨询中心

2010年02月23日