

慢性肝病患者血清一氧化氮和诱导型一氧化氮合酶水平检测

冼珍勇¹, 郑青²

摘要 **目的** 检测慢性肝病患者血清一氧化氮(NO)、诱导型一氧化氮合酶(iNOS)水平,分析作为肝细胞损伤程度分级的辅助指标。**方法** 采用硝酸还原酶法、分光光度法与自动生化仪化学法测定 60 例正常对照组、35 例慢性轻度乙肝、38 例慢性中度乙肝、26 例慢性重度乙肝、30 例肝炎肝硬化和 39 例原发性肝癌患者血清中 NO、iNOS 的含量及肝功能指标,并进行相关分析。**结果** 慢性重度乙肝组血清 NO、iNOS 水平>慢性中度乙肝组>肝炎肝硬化组>原发性肝癌组>慢性轻度乙肝组>正常对照组。慢性轻度乙肝组 NO、iNOS 水平与 ALT、ALP 正相关($P<0.05$)、慢性中度乙肝组与 STB、SDB、ALP 正相关($P<0.05$)与 ALT 呈显著正相关($P<0.01$)、慢性重度乙肝组与 STB、SDB、ALP、ALT 呈显著正相关($P<0.01$)与 ALB 呈负相关($P<0.05$)、肝炎肝硬化组及原发性肝癌组与 STB、SDB、ALP 呈显著正相关($P<0.01$)与 TBA、ALT 正相关($P<0.05$)与 ALB 显著负相关($P<0.01$)。**结论** 血清 NO、iNOS 水平在慢性肝炎由轻度发展到中度、重度乃至肝硬化、肝癌过程中的不同阶段存在显著差异,与肝功能指标存在相关性,可作为辅助性指标,结合其他肝功能指标作为肝细胞损伤程度的血清学分级。

关键词:慢性肝病;一氧化氮;诱导型一氧化氮合酶

中图分类号:R512.62 **文献标识码**:A **文章编号**:1009-9727(2011)10-1197-03

Correlation between serum levels of NO, iNOS and the degree of liver cell injury in chronic liver disease patients. XIAN Zhen-Yong, ZHENG Qing. (1. Lingao County Traditional Chinese Medicine Hospital, Lingao 571800, Hainan, P. R. China)

Abstract **Objective** To study the correlation between serum levels of NO(nitric oxide) iNOS(nitric oxide synthase) and the degree of liver cell injury in patients with chronic liver diseases. **Methods** Serum levels of NO iNOS were assayed with nitrate reductase enzymatic and spectrophotometric method and other index of liver function including alanine aminotransferase(ALT) alkaline phosphatase(ALP) activeness, total bilirubin(STB), direct bilirubin(SDB), albumin(ALB), total bile acid (TBA) levels in 168 patients with various chronic liver diseases and 60 controls were assayed with automatic biochemical analyzer. **Results** The serum levels of NO iNOS were in the descending order of chronic severe hepatitis B group> moderate chronic hepatitis B group> liver cirrhosis from chronic hepatitis B group> primary liver cancer> mild chronic hepatitis B group> normal control group. The serum levels of NO iNOS were positive correlated with ALT, ALP ($P<0.05$) in mild chronic hepatitis B group. NO iNOS levels in moderate chronic hepatitis B group were positively correlated with and STB, SDB, ALP ($P<0.05$) and significantly correlated with ALT ($P<0.01$). Chronic severe hepatitis B group's of NO iNOS levels were positively correlated with STB, SDB, ALP, ALT ($P<0.01$) and negatively correlated with ALB ($P<0.05$); NO iNOS levels in liver cirrhosis patients of chronic hepatitis B group and primary liver cancer patients were significantly positively correlated with STB, SDB, ALP ($P<0.01$) and positively correlated with TBA, ALT ($P<0.05$) and significantly negatively correlated with ALB ($P<0.01$). **Conclusion** NO iNOS levels varied in development process of liver damage from mild to severe and cirrhosis and they were correlated with the liver function, thus they can be used as an indicator for grading of liver cell injury.

Key words: Chronic liver disease; Nitric oxide; Nitric oxide synthase

NO 是一种在 NOS 作用下氧化产生的小分子自由基气体,是细胞间信息传递的重要调节因子。肝细胞、胆管上皮细胞、Kuffer 细胞及血管内皮细胞均可产生 NO。已知 NO 参与了多种肝脏疾病的发生和发展过程^[1],但血清 NO、iNOS 水平与肝功能指标的相关性及能否作为辅助性指标,结合肝功能相关性指标对慢性肝炎发展过程中的肝细胞损伤程度进行分级还未见报道,本研究通过对正常对照、慢性肝炎由轻度发展到中度、重度乃至肝硬化、肝癌过程中的不同阶段患者的血清 NO、iNOS 及肝功能指标水平进行检测,分析 NO、iNOS 及肝功能指标的相

关性,以阐明 NO、iNOS 能否作为肝细胞损伤程度分级的辅助性指标。

1 材料与方法

1.1 对象 抽取 2010 年 1 月~2011 年 1 月传染病科住院患者 168 例(男 105 例,女 63 例),年龄 23~78 岁。临床诊断符合 2000 年全国病毒性肝炎学术会议修订的《病毒性肝炎防治方案》,并依据其分型标准,分为慢性轻度乙肝组 35 例,慢性中度乙肝组 38 例,慢性重度乙肝组 26 例,肝炎性肝硬化组 30 例,原发性肝癌组 39 例。另抽取正常对照组 60 例(男 42,女 18),

年龄 22~55 岁,为健康体检人员,既往无肝、肾及心血管病史。所有受检者均清晨空腹采血,2h 内检测。

1.2 方法 NO、iNOS 测定分别采用硝酸还原酶法和分光光度法检测(试剂盒由南京通成生物工程研究所提供)。肝功能指标测定采用速率法(德国贝克曼库尔特 Lx20 全自动分析仪及配套试剂)。所有操作均严格按说明书进行。

1.3 统计学分析 结果数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验,EXCEL 作正态分布分析。

2 结果

2.1 各组慢性肝病 NO、iNOS 检测 血清 NO、iNOS 水平由低至依次为:慢性重度乙肝组 > 慢性中度乙肝组 > 肝炎肝硬化组 > 原发性肝癌组 > 慢性轻度乙肝组 > 正常对照组。见表 1。

表 1 各组慢性肝病患者血清 NO、iNOS 水平 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	NO ($\mu\text{mol/L}$)	iNOS ($\mu\text{mol/L}$)
对照组	60	60.87 \pm 9.04	14.10 \pm 2.10
慢性轻度乙肝组	35	70.25 \pm 12.30 Δ	15.48 \pm 2.17 Δ
慢性中度乙肝组	38	94.72 \pm 16.31 **	21.87 \pm 2.57 **
慢性重度乙肝组	26	104.71 \pm 20.29 $^{**}\blacktriangle$	24.64 \pm 3.12 $^{**}\blacktriangle$
肝炎肝硬化组	30	87.25 \pm 13.23 **	18.69 \pm 2.46 **
原发性肝癌组	39	81.27 \pm 11.37 **	17.01 \pm 2.14 **

注:与正常对照组比较 $\Delta P<0.05$, $^{**}P<0.01$ 。 \blacktriangle 慢性重度乙肝组显著高于原发性肝癌组、肝炎肝硬化组、慢性轻度乙肝组($P<0.01$)、高于慢性中度乙肝组($P<0.05$)

表 2 血清 NO、iNOS 水平与其他肝功能指标的相关性 *r*

组别	STB ($\mu\text{mol/L}$)	SDB ($\mu\text{mol/L}$)	TBA ($\mu\text{mol/L}$)	ALT (U/L)	ALB (g/L)	ALP (u/L)
慢性轻度乙肝组	0.040	0.030	0.060	0.290 Δ	-0.010	0.301 Δ
慢性中度乙肝组	0.301 Δ	0.299 Δ	0.090	0.615 **	-0.020	0.386 Δ
慢性重度乙肝组	0.480 **	0.463 **	0.110	0.647 **	-0.309 Δ	0.542 **
肝炎肝硬化组	0.472 **	0.500 **	0.340 Δ	0.301 Δ	-0.418 **	0.425 **
原发性肝癌组	0.451 **	0.429 **	0.316 Δ	0.300 Δ	-0.438 **	0.489 **

注: $\Delta P<0.05$, $^{**}P<0.01$

为亚硝酸盐和硝酸盐。NO 与血红素中心铁结合激活可溶性鸟苷酸环化酶,导致细胞内 cGMP 浓度增加而产生各种生物学效应^[2]。NO 合成的唯一限速酶是 NOS,NOS 分为原生型(cNOS)及诱导型(iNOS)两类,cNOS 又根据其存在部位分为内皮型(eNOS)及神经型(nNOS)。肝脏细胞内含有大量的 iNOS,在 ET(内毒素)、TNF(肿瘤坏死因子)等炎症因子的诱导下,以 L-精氨酸为底物合成 NO,在肝脏局部发挥病理生理效应^[3]。NO 对许多器官有细胞保护作用,但亦不乏细胞毒作用的报道。已有研究表明,NO 对肝细胞既有保护功能又有杀伤毒性及促炎的双重作用。生理浓度时,其可发挥免疫防御功能,通过增加肝组织血流灌注,清除氧自由基,减轻肝脏急性损伤的应激反应。正常肝实质细胞不表达 iNOS,但在肝损伤时,可表达大量 iNOS^[4],由其诱导并由肝内巨噬细胞及一些杀伤细胞产生的 NO 明显增多。高浓度的 NO 可损伤正常肝组织,导致肝细胞死亡^[5]。我们的检测结果发现,各型慢性乙肝患者 NO、iNOS 水平均高于正常对照组,而且随肝病发展呈渐进升高趋势。而肝炎肝硬化及原发性肝癌患者,NO、iNOS 水平虽显著高于正常对照组,却又明显低于慢性重度乙肝组。且 NO、iNOS 含量与 ALT 呈显著正相关。其原因可能是:①在乙肝病毒的直接或间接刺激下,肝内

2.2 各组慢性肝病患者血清 NO、iNOS 水平与其他肝功能指标的相关性 *r* 不同肝病分组,其血清 NO、iNOS 水平与不同肝功能指标具有相关性。其中各组均与 ALT、ALP 呈正相关($P<0.05$, $P<0.01$),随着肝病加重,与 ALB 呈负相关($P<0.05$, $P<0.01$)。见表 2。

2.3 正常对照组、慢性重度乙肝组及肝炎肝硬化组血清 NO 水平正态分布分析 两组肝病患者血清 NO 水平显著高于正常对照组($P<0.01$) 其中慢性重度乙肝组又显著高于肝炎肝硬化组($P<0.01$),两组 NO 值部分重叠,肝炎肝硬化组 NO 值范围较慢性重度乙肝组集中,其值大于两组正态分布交点值(100.45 $\mu\text{mol/L}$)的患者数目少于 4%,见图 1。

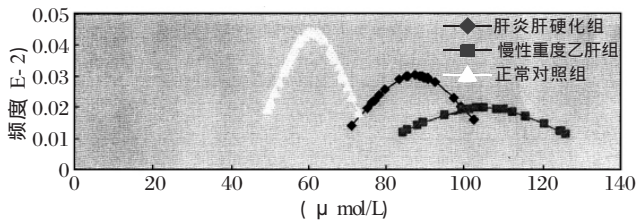


图 1 慢性肝病患者 NO 水平正态分布图

3 讨论

肝脏是具有多种复杂功能的机体重要器官,所有肝细胞均可生成 NO,NO 的化学性质非常活泼,半衰期只有 5~10S,在组织中很快与亚铁血红素和 -SH 键结合而失活,其最终代谢产物

NO、iNOS 的合成与释放增加,NO 的保护作用与毁损效应同时发挥作用。②肝脏炎症时,血浆内毒素水平明显升高,从而激活巨噬细胞,刺激 iNOS 合成 NO。③慢性重度乙肝,肝实质细胞受到乙肝病毒攻击后,产生剧烈免疫反应,大量分泌细胞因子^[6],如 TNF、IL-6、IL-8 等,从而使 iNOS 活性增高。而在陈旧性肝纤维化或相对稳定的肝硬化状态下,肝实质细胞损伤的数量及活跃性均不及慢性重度乙肝。④肝衰竭时,由于肝细胞大量死亡,导致 NOS 降低使 NO 浓度降低^[7]。

各种慢性肝病的共同病理学基础是肝纤维化,而肝硬化则是肝脏组织高度纤维化的表现形式。如何根据血清学检测指标区分、判断肝病患者肝实质细胞损伤的数量及活跃性,尤其是如何有效判断、分析慢性重度乙肝与肝炎肝硬化的相互关系,监控两者之间互为因果的发展、变化动态,对临床具有重要意义。由表 1~2 可见,慢性重度乙肝组与肝炎肝硬化组血清 NO 水平均高于正常对照组,NO 水平在 80~100 $\mu\text{mol/L}$ 范围内有重叠,难以单从该指标进行区分鉴别。但结合其他肝功能指标可见,随着肝病程度加重,ALB 显著下降,STB 水平肝炎肝硬化组较慢性重度乙肝组要小得多,尤其 STB>100 $\mu\text{mol/L}$ 的患者在肝炎肝硬化仅占 8%左右,而在慢性重度乙(下转第 1219 页)

19.75%、14.98%，散居儿童 9.4%、工人 7.83%、其它 11.95%。其中甲肝发病以学生、农民、干部职员、散居儿童为主，分别占甲肝报告发病数的 31.76%、26.15%、13.81%、12.75%；乙肝的发病以农民、干部职员、工人、学生为主，分别占乙肝报告发病数的 43.36%、19.44%、9.44%、9.33%。

3 讨论

在“预防为主”卫生工作方针指引下，湘西州病毒性肝炎防治工作取得了显著的成绩，发病率由 1990 年的 154.72/10 万下降至 2010 年的 43.53/10 万，下降了 71.87%。甲肝的发病率呈波浪下降趋势，乙肝发病率呈起伏上升趋势，与张迟、金必红、谢小惠报道一致^[2-4]。丙肝、戊肝发病数所占比例较小，但 2007 年后报告发病数增加，2009 年后丙肝报告发病数超过甲肝，2010 年戊肝的报告发病数超过甲肝，值得引起关注。

病例数以农民最多，这与湘西州农民数量大、饮食饮水卫生条件较差和卫生防病知识欠缺有关；学生发病数多与在校学生多而空间相对小、感染机会增大有关。男性与 20~29 岁青壮年发病较多，可能与其活动范围广、暴露机会多有关。

随着人民生活水平的提高、卫生防病意识的增强以及甲肝疫苗在重点人群中接种，甲肝发病率呈明显下降趋势^[5]，由 1990 年 76.99/10 万下降至 2010 年 1.2/10 万，下降了 98.44%；在报告的各种肝炎构成也明显下降，位次后移，1990 年的居首位，2009 年降至第 4 位，2010 年第 5 位。另一方面，乙肝发病率呈明显上升趋势，由 1990 年 18.64/10 万上升至 2010 年 32.45/10 万，上升了 74.09%；在报告的病毒性肝炎的构成也呈明显上升趋势^[6]。从 2000 年起，乙肝的报告发病率居各型肝炎之首，主导湘西州病毒性肝炎发病率的高低。乙肝给病人、家庭、社会造成沉重的经济负担，给社会经济发展带来不容忽视的影响，是中国现阶段最为严重的公共卫生问题之一^[1]。

湘西州于 1992 年开始将乙肝疫苗纳入儿童计划免疫管理，2002 年起纳入儿童计划免疫并实行免费接种，10 岁以下儿童乙肝报告发病率明显减少^[7]。1990~2002 年间，10 岁以下儿

童乙肝发病数占同期发病数的 5.42%，2003~2010 年仅占 3.50%。乙肝发病以 15~44 岁青壮年为主，尤其是以农民、干部职员较多，提示在制定全人群乙肝防治策略、抓好小年龄组乙肝预防接种的同时，还应重点考虑 15~44 岁年龄段人群，对这类人群采取免疫预防、卫生宣教等措施，将会极大地促进全人群发病水平的降低^[2]。针对丙肝近年发病数增加，应严格医疗器械消毒和血液管理，防止医源性感染，控制血源肝炎传播，是我们今后的工作重点之一。

由于甲、乙肝疫苗广泛接种，生活水平提高及卫生条件的改善等诸多因素，病毒性肝炎的发病率大幅度下降，但在甲乙类传染病的报告位次一直居前。为此，各级政府应积极采取措施，不断加强对病毒性肝炎防治工作的领导，在继续抓好甲、乙肝预防接种的同时，加强对重点人群综合防控。通过开展广泛的健康教育，特别针对广大农民的健康教育，养成良好的个人卫生习惯，对阻断病毒性肝炎的传播意义重大。

参考文献：

- [1] 李立明. 流行病学 [M]. 第 6 版. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 449-469.
- [2] 张迟, 蔡碧, 唐险峰, 等. 湖北省 1997~2007 年病毒性肝炎流行特征分析 [J]. 公共卫生与预防医学, 2009, 24(3): 42-44.
- [3] 金必红, 李燕婷, 顾宝柯, 等. 1990~2006 年上海市急性病毒性肝炎流行特征及趋势分析 [J]. 上海预防医学杂志, 2008, 24(10): 485-487.
- [4] 谢小惠, 王晓之, 胡伟红, 等. 长沙市 1997~2004 年病毒性肝炎发病趋势分析 [J]. 实用预防医学, 2006, 13(1): 125-127.
- [5] 随海田, 梁晓峰, 殷大鹏, 等. 中国 1990~2006 年甲型病毒性肝炎流行病学特征分析 [J]. 中国计划免疫, 2007, 13(5): 466-469.
- [6] 李黎, 梁晓峰. 中国甲、乙型病毒性肝炎控制现状分析与对策 [J]. 疾病监测, 2009, 24(5): 307-312.
- [7] 元文婷, 张丽, 徐爱强, 等. 1990~2007 年山东省乙型肝炎发病趋势分析 [J]. 中国预防医学杂志, 2009, 14(3): 164-166.

收稿日期 2011-04-18 编辑 谢永慧

(上接第 1198 页)

肝组则超过 61%。因此, 监控 NO、iNOS 水平, 结合多项肝功能指标, 有利于对肝纤维化演变动态, 指导临床诊断及治疗。

综上所述, 不同慢性肝病中, 肝脏各类细胞表达 iNOS 并产生 NO 的水平不尽相同, 监测 NO、iNOS 及其他肝功能指标, 对临床判断肝细胞损伤程度、病情发展及评估预后有一定意义, 同时为慢性肝病的治疗提供了新的理论依据。

参考文献：

- [1] 袁晨光, 董家鸿. 一氧化氮肝病中的作用 [J]. 消化外科, 2003, 2(3): 209.
- [2] 武煜, 顾振纶. 一氧化氮的心血管作用研究进展 [J]. 中国血液流变学杂志, 2004, 14(1): 143.
- [3] Ma TT, Ischiropoulos H, Brass CA. Endotoxin-stimulated nitric

oxide production increase injury and reduce at liver chemiluminescence during reperfusion [J]. Gastroenterology, 2006, 103: 463-469.

- [4] Kono T, Mito M, Saha SK, et al. Hepatocytes produce inducible nitric oxide synthase (iNOS) and NADPH diaphorase (NADPH-d) in patients with various liver diseases [J]. FASEB J, 2008, 9: A679.
- [5] 陈会松, 柳利明, 黄华. IL-8、NO 和肝损伤 [J]. 医学综述, 2003, 9(8): 462.
- [6] Nobili V, Marcellini M, Giovannelli L, et al. Association of serum interleukin-8 levels with the degree of fibrosis in infants with chronic liver diseases [J]. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2004, 39(5): 540.
- [7] 倪若愚, 易建华, 曾令生. 慢性乙型肝炎组织内 NO 合成酶及其意义 [J]. 中华肝病杂志, 2001, 4(2): 147.

收稿日期 2011-05-30 编辑 符式刚