技术与方法 文章编号:0253-3626(2011)03-0327-05

非酒精性脂肪性肝病患者血清脂质过氧化指标对血清转氨酶升高程度的预测评价

宁 波,韩昕晶,沈 薇
(重庆医科大学附属第二医院消化内科,重庆 400010)

【摘 要】目的:通过对比分析健康者与非酒精性脂肪性肝病(Non-alcoholic fatty liver disease,NAFLD)患者血清转氨酶的变化与丙二醛(Malondialdehyde,MDA)、还原型谷胱甘肽(Reduced glutathione,GSH)、氧化型谷胱甘肽(Oxidized glutathione,GSSG)以及糖脂代谢相关指标的关系,探讨血清脂质过氧化指标对 NAFLD 患者血清转氨酶升高程度的预测价值。方法:NAFLD 患者 89 例及作为对照的正常健康体检者 30 例,清晨空腹分别收集血清进行丙氨酸氨基转移酶(Alanine aminotransferase,ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(Aspartate aminotransferase,AST)、谷酰转肽酶(Gamma-glutamyl transpeptidase,GGT)水平检测以及血糖、血脂、身高、体重、腰围、臀围等测定,同时检测 GSH、GSSG 及 MDA 水平进行分析。结果:NAFLD 患者血清中 GSSG 及 MDA 含量比对照组明显升高,而 GSH 比正常对照显著降低。多元线性回归分析结果表明 MDA、GSSG、GSH 及 GSH/GSSG 对 NAFLD 患者血清转氨酶 ALT、AST 影响具有显著意义(β 值分别为 0.324、0.961、-0.365、0.592 以及 0.400、0.951、-0.396,0.7)。对 GGT 影响显著的因素是 GSSG 和 MDA(β 值分别为 0.812、0.628),GSH 及 GSH/GSSG 对 GGT 的影响没有显著性。结论:NAFLD 患者血清脂质过氧化指标的水平与血清转氨酶水平密切相关。在肝细胞损伤过程中,血清 MDA、GSSG 及 GSH/GSSG 水平异常早于血清转氨酶,能够作为反映 NAFLD 患者肝细胞受损的敏感的血清学指标。

【关键词】非酒精性脂肪性肝病;脂质过氧化;氧化应激;代谢综合征;转氨酶
【中国图书分类法分类号】R575.1 【文献标志码】A 【收稿日期】2010-03-28

Serum lipid peroxidation level as a fine predictor for hepatocyte injury and disease activity in patients with non-alcoholic fatty liver disease

NING Bo, et al
(*Department of Gastroenterology and Hepatology, the Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objectives*: To evaluate lipid peroxidation as a predictor for disease activity by analyzing the lipid peroxidation and components of metabolic syndrome. *Methods*: Serum level of fasting blood glucose, aminotransferase, gamma-glutamyl transpeptidase, triglyceride, total cholesterol, lipoprotein, malonaldehyde, reduced and oxidated glutathione of 89 non-alcoholic fatty liver disease patients and 30 healthy controls were analyzed by biochemical assay. The relationships between these indexes were analyzed by using multiple linear regression analysis and Student's t-tests. *Results*: Most non-alcoholic fatty liver disease patients were characterized by hypertension, hyperlipidemia, hyperglycemia, abdominal obesity, which was defined as metabolic syndrome, and elevated serum aminotransferase and gamma-glutamyl transpeptidase. The result of lipid peroxidation analysis revealed increased serum concentration of oxidated glutathione and malonaldehyde and decreased reduced glutathione. Multiple linear regression analysis illustrated that there were parameters which were related to metabolic syndrome associated with non-alcoholic fatty liver disease, and the indexes of lipid peroxidation were significantly correlated with serum aminotransferase and gamma-glutamyl transpeptidase. *Conclusions*: Serum malonaldehyde, reduced and oxidated glutathione and GSH/GSSG ratio are closely related to serum aminotransferase and gamma-glutamyl transpeptidase level and may be ideal for disease activity evaluation and estimation.

【Key words】non-alcoholic fatty liver disease; lipid peroxidation; oxidative stress; metabolic syndrome; aminotransferase

非酒精性脂肪性肝病(Non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)患者多数没有明显的临床症状,仅部分表现为血清转氨酶轻度升高,多在体检时才发现病变存在。血清转氨酶由于直接反映肝细胞炎症坏死及损伤程度而被用作评价

作者介绍:宁 波(1976-),男,主治医师,讲师,博士,研究方向:非酒精性脂肪性肝病发病机制及临床防治。
通信作者:沈 薇,女,主任医师,教授,Email: shenwei315@126.com。

NAFLD 疾病活动程度的指标，但由于疾病早期患者肝脏损害轻微，血清转氨酶往往不能反映出此阶段的变化[1,2]。

NAFLD 的发病机制中氧应激主导的第 2 次打击是病情进展的关键转折点[3-7]。因此我们拟对比分析健康者与NAFLD患者血清转氨酶的变化与氧应激指标：丙二醛(Malondialdehyde，MDA)、还原型谷胱甘肽(Reduced glutathione，GSH)、氧化型谷胱甘肽(Oxidized glutathione，GSSG)以及糖脂代谢相关指标的关系，探讨脂质过氧化指标在预测和评价NAFLD患者血清转氨酶水平中的价值。

1 对象与方法

1.1 研究对象

研究对象来自于重庆医科大学附属第二医院消化内科、内分泌科以及体检中心的 NAFLD 患者及健康志愿者。诊断依据 2006 年 2 月中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组修订的《非酒精性脂肪性肝病诊疗指南》[4]。入选标准为年龄 20～65 岁男性或者女性按照指南明确诊断为 NAFLD 的患者且除外其他肝脏疾病，健康志愿者要求常规体检排除躯体疾病。我们将丙氨酸氨基转移酶(Alanine aminotransferase，ALT)或天门冬氨酸氨基转移酶(Aspartate aminotransferase，AST)或谷酰转肽酶(Gamma-glutamyl transpeptidase，GGT)任意一项高于正常参考值上限定义为肝功能异常。

1.2 方法

1.2.1 病史资料采集 患者入组前均进行详细的沟通，向患者进行 NAFLD 的知识宣教，征得患者同意后通过问卷调查的方式采集详细病史。

1.2.2 血糖血脂肝功能等常规实验室检查 采集完临床资料后进行体格检查，包括身高、体重、体重指数(Body mass index，BMI)、腰围、臀围、腰臀比、血压等。抽取空腹 12 h 外周静脉血分别测定乙型病毒性肝炎和丙型病毒性肝炎病毒标志物、空腹血糖(Fasting blood glucose，FBG)、ALT、AST、GGT、高密度脂蛋白(High density lipoprotein，HDL)、低密度脂蛋白(Low density lipoprotein，LDL)、总胆固醇(Total cholesteral，TChol)、甘油三酯(Triglyceride，TG)及游离脂肪酸(Free fatty acid，FFA)等生化指标。

1.2.3 血清 MDA 水平及 GSSG 水平检测 血清 MDA 水平检测用南京建成生物工程公司 MDA100T 试剂盒(A003-1)硫代巴比妥酸(Thibabituric acid，TBA)比色法进行。检测流程按试剂盒标准流程进行，MDA 浓度计算如下：

血(清)中 MDA 含量(nmol/ml)=(测定管吸光度 - 测定空白管吸光度)/(标准管吸光度 - 标准空白管吸光度)× 标准品浓度(10 nmol/L)× 样本测定前稀释倍数

血清 GSSG 及 GSH 检测用碧云天 GSH/GSSG 检测试剂盒(S0053)检测。检测流程按试剂盒标准流程进行，依据标准曲线计算出实际 GSSG 浓度。检测样品不进行 GSH 清除后进行检测的结果为总谷胱甘肽的浓度，再进一步根据下面的公式计算出 GSH 值。计算公式如下：

GSH= 总谷胱甘肽 -2 倍 GSSG

1.3 统计学处理

数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示，组间比较采用完全随机设计的 t 检验或者完全随机设计的方差分析。若遇到方差不齐者，改用校正 t 检验(t' 检验)或多组比较的秩和检验。同时，若方差分析后，发现组间存在统计学意义的差别，则行两两比较的 SNK 检验。计数资料的比较采用卡方检验。针对各个指标对结果变量的影响程度分析采用多元线性回归分析。$P \leqslant 0.05$ 表示差异有统计学意义。所有统计分析由 SPSS12.0 软件处理完成。

2 结 果

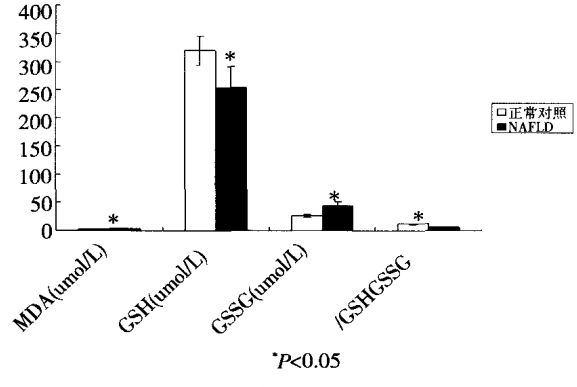
2.1 NAFLD 患者与正常对照人群脂质过氧化水平的比较

通过比较 NAFLD 患者及正常对照人群血清 MDA 及GSSG、GSH 的水平发现，NAFLD 患者氧化应激稳态失衡，体内脂质过氧化水平明显升高，表现为 GSH 含量减少而GSSG、MDA水平增加($P<0.05$)(表 1，图 1)。

表 1 NAFLD 患者与正常对照人群脂质过氧化水平的比较

指标	正常对照组	NAFLD 组
MDA(μmol/L)	2.268 ± 0.102	3.440 ± 0.645*
GSH(μmol/L)	320.369 ± 36.555	254.214 ± 35.944*
GSSG(μmol/L)	26.413 ± 2.040	44.600 ± 8.497*
GSH/GSSG	12.201 ± 1.700	5.975 ± 1.621*

注：以上各组与正常对照比较，*$P<0.05$

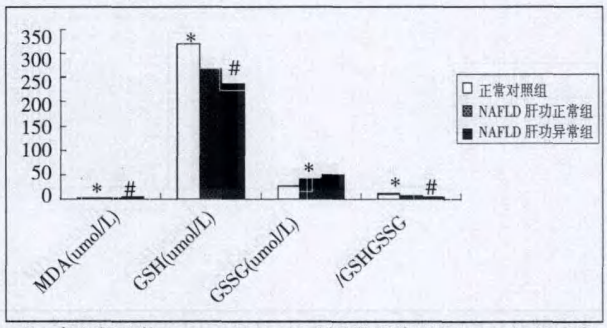


*$P<0.05$

图 1 NAFLD 患者与正常对照人群脂质过氧化水平的比较

2.2 NAFLD 肝功能正常患者与肝功能异常患者及正常对照组氧化应激指标比较

血清 MDA、GSSG 水平在正常对照组、NAFLD 肝功正常组、NAFLD 肝功异常组依次升高，各组间的差异有统计学意义($P<0.05$)，血清 GSH、GSH/GSSG 水平在正常对照组、NAFLD 肝功正常组、NAFLD 肝功异常组依次降低，各组间的差异有统计学意义($P<0.05$)。提示氧应激指标异常是肝细胞损伤的早期事件，氧化应激稳态失衡在肝功能异常的NAFLD 患者更为明显(表 2，图 2)。



以上各组间比较 *P<0.05；#NAFLD 肝功能异常组与 NAFLD 肝功能正常组比较 P<0.05

图 2 NAFLD 肝功能正常患者与肝功能异常患者及正常对照组之间脂质过氧化水平的比较

2.3 *各指标与血清转氨酶及 GGT 间的多元回归分析*

为了明确在上述指标中哪些对反映肝细胞损害的转氨酶及 GGT 具有显著影响，我们分别对 ALT、AST 和 GGT 与 BMI、腰臀比、空腹血糖、血脂、血压、年龄以及脂质过氧化等指标做了多元线性回归分析，剔除和选入标准均为 0.05，进入法。结果显示，与氧化应激的几个指标 MDA、GSH、GSSG以及 GSH/GSSG 对 ALT 的影响差异具有统计学意义（P<0.05），而其他年龄、BMI、腰臀比以及血糖血脂等指标对 ALT 的影响差异无统计学意义（P<0.05），其中以 GSSG 对 ALT 影响最大而 GSH 与 ALT 成负影响（表 3）。

同样地，我们将体重、年龄、血糖血脂及氧应激等指标与 AST 及 GGT 进行多元回归分析及结果显示，上述指标中MDA、GSH、GSSG 以及 GSH/GSSG 同样对 AST 的影响差异具有统计学性意义（P<0.05），其中依然以 GSSG 对 AST 影响最大而 GSH 对其具负影响。此外，对 AST 的多元回归分析还发现，除 MDA、GSH、GSSG 以及 GSH/GSSG 外，腰臀比也对 AST 水平成负影响（表 4）。

对 GGT 的多元回归分析发现所有指标中 GSSG 与MDA 对 GGT 水平的影响差异具有统计学意义且以 GSSG 对 GGT 水平影响最大（P<0.01），GSH 及 GSH/GSSG 对 GGT 的影响差异无统计学意义（P>0.05）（表 5）。

3 讨 论

在 NAFLD 的发病过程中，早期主要是肝细胞内脂质聚集，表现为单纯性脂肪肝，进而肝细胞损伤加重，发生气球样

表 2 NAFLD 肝功能正常患者与肝功能异常患者间脂质过氧化水平的比较

	正常对照组	NAFLD 肝功正常组	NAFLD 肝功异常组
例数	30	46	40
MDA（μmol/L）	2.268 ± 0.102	3.104 ± 0.486*	3.791 ± 0.622*#
GSH（μmol/L）	320.369 ± 36.555	269.399 ± 30.832*	237.074 ± 34.144*#
GSSG（μmol/L）	26.413 ± 2.040	39.275 ± 4.202*	50.513 ± 8.518*#
GSH/GSSG	12.201 ± 1.700	6.950 ± 1.1764*	4.907 ± 1.403*#

注：* 与正常对照组比较 P<0.05，# 与 NAFLD 肝功正常组比较 P<0.05

表 3 各指标与 ALT 的多元回归分析

	标准误	标准化偏回归系数（β）	t	P
常数项	58.719	–	−0.482	0.631
年龄	0.172	−0.046	−0.767	0.445
体重指数	0.848	0.106	1.169	0.245
腰臀比	49.380	−0.142	−1.349	0.180
收缩压	0.198	−0.065	−0.599	0.551
舒张压	0.314	0.033	0.317	0.752
空腹血糖	1.150	−0.078	−0.934	0.352
甘油三酯	2.119	−0.125	−1.690	0.094
总胆固醇	3.586	0.106	1.010	0.315
高密度脂蛋白	11.291	0.026	0.314	0.754
低密度脂蛋白	4.549	−0.040	−0.392	0.696
脂肪酸	14.181	−0.042	−0.610	0.543
MDA	3.781	0.324	3.521	0.001*
GSH	0.103	−0.365	−2.402	0.018*
GSSG	0.501	0.961	5.501	0.000*
GSH/GSSG	2.833	0.592	2.053	0.043*

注：* P<0.05 差异具有统计学意义

表 4 各指标与 AST 的多元回归分析

	标准误	标准化偏回归系数(β)	t	P
常数项	48.965	-	-0.078	0.938
年龄	0.143	-0.012	-0.193	0.847
体重指数	0.707	0.095	0.998	0.321
腰臀比	41.178	-0.230	-2.059	0.042*
收缩压	0.165	-0.068	-0.594	0.554
舒张压	0.262	0.015	0.132	0.896
空腹血糖	0.959	-0.055	-0.618	0.538
甘油三酯	1.767	-0.144	-1.836	0.069
总胆固醇	2.990	0.153	1.378	0.171
高密度脂蛋白	9.416	-0.011	-0.124	0.902
低密度脂蛋白	3.794	-0.034	-0.310	0.758
脂肪酸	11.825	-0.042	-0.573	0.568
MDA	3.153	0.400	4.115	0.000*
GSH	0.086	-0.396	-2.466	0.015*
GSSG	0.418	0.951	5.152	0.000*
GSH/GSSG	2.362	0.700	2.295	0.024*

注:* P<0.05 具有统计学意义

表 5 各指标与 GGT 的多元回归分析

	标准误	标准化偏回归系数(β)	t	P
常数项	102.691	-	-1.099	0.274
年龄	0.300	0.073	1.057	0.293
体重指数	1.484	0.178	1.722	0.088
腰臀比	86.359	-0.231	-1.911	0.059
收缩压	0.347	0.049	0.399	0.691
舒张压	0.549	-0.112	-0.927	0.356
空腹血糖	2.011	-0.023	-0.242	0.809
甘油三酯	3.706	-0.081	-0.950	0.344
总胆固醇	6.271	0.084	0.699	0.486
高密度脂蛋白	19.747	0.106	1.138	0.258
低密度脂蛋白	7.956	0.005	0.041	0.967
脂肪酸	24.800	0.018	0.224	0.823
MDA	6.612	0.458	4.344	0.000*
GSH	0.179	-0.303	-1.739	0.085
GSSG	0.876	0.812	4.057	0.000*
GSH/GSSG	4.954	0.628	1.900	0.060

注:* P<0.05 差异具有统计学意义

变性,坏死和凋亡,血清转氨酶升高,但多以轻中度升高为主,病程中因缺乏明显临床表现或仅有肝区隐痛不适等非特异性症状,多数患者一般难以察觉而导致病情隐匿进展[8,9]。

我们以往随访和监测 NAFLD 的指标主要是腹部 B 超和血清转氨酶水平[10-13],范建高等[14-16]进行流行病学调查发现,上海市机关职工血清中有 1.5%存在 ALT 异常,且主要与高血糖、高血脂以及肥胖有关。进一步研究发现,多数 NAFLD 患者在疾病进展过程中并无明显血清转氨酶水平的增加,临床对评价疾病活动和进展程度除 B 超外缺乏敏感指标。在我们的研究结果中,通过比较具有相同年龄、性别及职业构成的 2 组人群,其结果发现 NAFLD 患者体内 GSH 明显减少,GSSG 明显增多,二者比值显著下降,同时,脂质过氧化产物 MDA 增多。进一步在 NAFLD 患者中,通过肝功能异常的患者与肝功能正常的患者比较,肝功能异常的患者脂质过氧化

产物明显增多且氧化应激状态失衡更加明显，与 NAFLD 患者肝功能情况对照发现，这些因素均与转氨酶水平存在一定的相关性。

通过多元线性回归分析，结果显示，除腰臀比对 AST 有较弱的影响外(r=-0.230)，反映肥胖、血糖血脂代谢的指标以及收缩压和舒张压对 ALT、AST、GGT 均无明显影响，而代表脂质过氧化水平的 MDA、GSSG 水平对 ALT、AST、GGT 水平的影响差异具有统计学意义，反映机体还原状态的 GSH 水平对 ALT、AST 呈显著负影响。腰臀比对 AST 水平较弱的负影响其意义目前尚不清楚，是否提示臀围越大的患者越容易导致肝细胞的损伤还需要进一步的研究证实。但是，GSH 及 GSH/GSSG 对 GGT 的变化无明显影响则提示 NAFLD 患者 GGT 的变化可能还有除脂质过氧化以外其他因素的影响。因酒精性肝病患者常有显著 GGT 水平升高，因此我们推测二次打击学说中提到的内源性乙醇可能是导致 NAFLD 患者 GGT 升高的另一个因素，此外，GGT 也是 GSH 的合成酶，其活性升高可以增加血清中 GSH 水平，因此两方面影响相互抵消，使得 GSH 对 GGT 没有体现出显著性的影响。通过比较 NAFLD 患者显著影响肝功能的各指标可以看到，其中GSSG 对肝功能的影响最大，MDA 其次，说明脂质过氧化与 NAFLD 患者肝细胞损伤密切相关。

尽管如此，需要特别指出的是，由于在短时间内获得正常志愿者入组并不容易。因此，本研究中正常对照相比NAFLD 患者组例数差距过大(30:89)，这有待于在进一步的研究中予以补充完善。

综上所述，MDA 及 GSSG 水平伴随 NAFLD 患者血清ALT、AST、GGT 水平升高而升高，多元回归分析结及果显示GSSG，MDA 对血清转氨酶水平具有显著影响，能够反映 NAFLD 患者肝功能的变化且其变化早于血清转氨酶，可以作为预测 NAFLD 患者肝功能损害以及监测早期肝细胞损伤的敏感指标，随访或者动态监测 MDA 以及 GSSG 水平的变化有助于评价 NAFLD 患者肝脏病变和肝细胞损伤的程度。

参 考 文 献

[1] 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南[J].中华肝脏病杂志，2006，14(3)：161-163.

[2] 张 鸣，沈 薇.824 例肝硬化病因及相关分析[J]. 重庆医学，2006，35(5)：438-439.

[3] Duvnjak M，Lerotic' I，Barsic'N，et al.Pathogenesis and management issues for non-alcoholic fatty liver disease[J].World J Gastroenterol，2007，14，13(34)：4539-4550.

[4] Uzun M A，Koksal N，Kadioglu H，et al. Effects of N-acetylcysteine on regenaration following partial hepatoctomy in rats with nonalcoholic fatty liver disease[J]. Surg. Today，2009，39(7)：592-597.

[5] Sorrentino P，Tarantino G，Conca P，et al. Silent non-alcoholic fatty liver disease：a clinical histologicalstudy[J].J.Hepatol，2004，41(5)：751-757.

[6] Cheung O，Sanyal A J.Recent adances in nonalcoholic fatty liver disease[J]. Curr Opin Gastroenterol，2009，25(3)：230-237.

[7] Barshop N J，Sirlin C B，Schwimmer J B，et al. Review article：epidemiology，pathogenesis and potential treatments of paediatric non-alcoholic fatty liver disease[J]. Aliment Pharmaco Ther，2008，28(1)：13-24.

[8] Patton H M，Lavine J E，Van Natta M L，et al. Clinic correlates of histopathology in pediatric nonalcoholic steatohepatitis[J].Gastroenterology，2008，135(6)：19621-1971.

[9] 曾民德. 葡萄糖毒性、脂肪毒性与非酒精性脂肪性肝病[J]. 中华肝脏病杂志，2005，13(2)：81-82.

[10] Gentile C L，Pagliassotti M J. The role of fatty acids in the development and progression of nonalcoholic fatty liver disease[J]. J Nutr Biochem，2008，19(9)：567-576.

[11] Lalor P F，Faint J，Aarbodem Y，et al. The role of cytokines and chemokines in the development of steatohepatitis[J].Semin Liver Dis，2007，27(2)：173-193.

[12] van Hoek B.Non-alcoholic fatty liver disease：a brief review [J]. Scand J Gastroenterol Suppl，2004，(241)：56-59.

[13] Wanless I R，Shiota K. The pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis and other fatty liver diseases：a four-step model including the role of lipid release and hepatic venular obstruction in the progression to cirrhosis [J]. Semin Liver Dis，2004，24(1)：99-106.

[14] 范建高，朱 军，李新建，等.上海市成人脂肪肝患病率及其危险因素流行病学调查[J].中华肝脏病杂志，2005，13(2)：83-88.

[15] 范建高，朱 军，李新建，等.上海市成人饮酒与代谢综合征关系的流行病学调查[J].肝脏，2005，10(1)：11-15.

[16] 范建高，李新建，朱 军，等.上海市成人代谢综合征与脂肪肝关系分析[J].中华内分泌代谢杂志，2005，21(4)：306-309.

(责任编辑：张学颖)