经验交流

血清 LDH亚基比值测定的临床意义

The clinical significance of measurement of LDH subunit ratio in human serum

刘泽军* 潘 虎** 唐 宏*** 扬 幸 (第三军医大学附属西南医院检验科) 重庆, 400038

提 要 目的: 观察血清中 LDH亚基比值 H/M 在各种疾病中的变化。方法: 在典范电泳仪上用涤纶膜做载体测定正常人和病人的 LDH同工酶,并计算出两个亚基的比值 (H/M)。结果: 心肌梗塞病人的 H/M比值显著上升,皮肤病、烧伤及肺癌等病人组的 H/M比值显著下降 ($P < 0.001$)。结论: LDH亚基比值对心肌梗塞、皮肤疾病、烧伤及肺癌等病症的诊断、疗效观察及预后判断上有一定的作用。

乳酸脱氢酶 (LDH)由 H、M两种亚基按不同比例组成四聚体,形成 5种不同的同工酶,这 5种同工酶在各组织中的分布各异,大致可分为三类[1]: 第一类为含 H亚基丰富的组织,如心脏、肾脏、红细胞、脑等,同工酶形式主要为 LDH_1 和 LDH_2; 第二类为 H、M亚基含量大致相同的组织,如胰脏、脾脏、肺、淋巴结等,同工酶主要为 LDH_3、LDH_3和 LDH_4; 第三类为 M亚基丰富的组织,如肝脏、皮肤、骨骼肌等,同工酶形式主要为 LDH_5。在疾病状态时受损组织中的 LDH释放入血,会引起血中 LDH同工酶形式的变化,同时 H、M亚基的比值也会发生改变。本研究对各种疾病状态下血清中 LDH H/M比值的变化进行了初步的观察。

1 材料与方法

1.1 对象

检测标本来源于我院住院病人的送检血清,经临床确诊的急性心肌梗塞 12例,皮肤病 (红斑狼疮、银屑病、湿疹、猩红热和皮炎等) 14例,烧伤 37例和肺癌 14例。

1.2 实验仪器及材料

Paragon电泳系统 (Beckman Instruments, Fullerton, CA); 光密度计 (Appraise Densitometer System, Beckman); 涤纶基醋纤膜 (四青生化材料厂,浙江台州)。

1.3 方法

采用本室建立的 LDH同工酶涤纶膜测定方法[2]。主要步骤为: 在 Paragon电泳仪上使用涤纶膜作载体,电泳缓冲液为 Tris-HCl-巴比妥-EDTA (pH= 8.6), 150 V, 30 min条件下电泳,然后使用夹心法活性染色,最后浓度为: 乳酸锂 120 mmol/L, MTT 2 mmol/L, PMS 0.08 mmol/L, NAD 5 mmol/L及 Tris-HCl 50 mmol/L,在 37℃下孵育 25 min, 5%醋酸终止反应, 600 nm处光密度计扫描。然后根据表 1计算出 H/M比值。

用 Microsoft Excel 97软件的统计函数中的 AVERAGE、STDEV和 TTEST三个函数进行均数、标准差及显著性检验的统计。

表 1 LDH H/M比值的计算方法

	LDH-1	LDH-2	LDH-3	LDH-4	LDH-5
H亚基数	4	3	2	1	0
M亚基数	0	1	2	3	4
%	A	B	C	D	E

计算公式: H= A+ B× 3/4+ C× 2/4+ D× 1/4;
M= 100- H; H/M= H/100- H

2 结果

表 2为各种疾病组和正常对照组的均数、标准差和 t检验的结果, P值均小于 0.001,相差非常显著。图 1为一例典型心肌梗塞病人的血清 H/M比值随时间的变化曲线。

表 2 几种疾病病人和正常人血清 LDH H/M比值对照

标本来源	n	均值	标准差	P值
正常对照组	37	1.94	0.399	
急性心肌梗塞	12	3.61	1.06	9.42E-05
皮肤病	14	1.44	0.29	4.68E-05
烧伤	37	1.26	0.27	8.31E-13
肺癌	14	1.3	0.3	3.11E-07

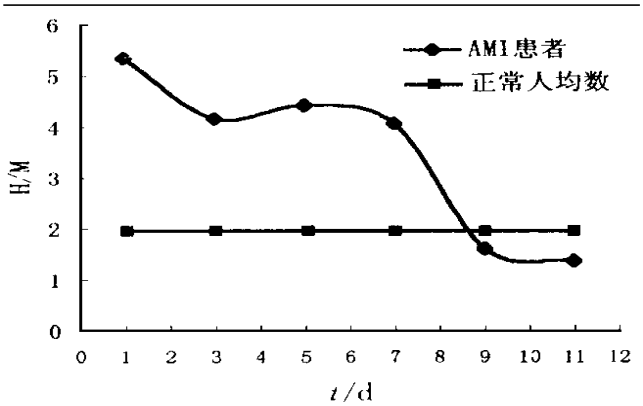


图 1 AMI患者血清 LDH H/M比值随时间的变化

* 刘泽军,男,44岁,副主任技师,硕士
** 医学检验系实习生
*** 云阳县人民医院检验科 云阳, 634500

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

3 讨论

心肌中富含 LDH-H亚基,因此当发生心肌梗塞时,心肌中的 LDH-H亚基释放进入血中,引起血液中 H/M亚基比值的增大,与正常组相比, $P < 0.001$,差异非常显著。H/M比值的变化过程可清楚地反映心肌梗塞的状况。

皮肤中 LDH主要为 M亚基,因此在皮肤病变时,皮肤组织中的 M亚基进入血液,也引起 H M亚基比值的变化,只是此时 H/M比值变小,与正常组相比, $P < 0.001$,差异非常显著。

同样,由于烧伤病人主要也是破坏皮肤组织,因此也导致血清中 H/M比值减小。

肺为 H M亚基含量大致相同的组织,因此一般肺部疾病不会引起血清 H/M比值的很大变化。但是近年来对癌细胞中的 LDH的研究发现,大多数癌细胞中只产生 LDH-5同工酶,因为实验中只发现有 LDH-M的 cDNA出现,而没有发现 LDH-H的 cDNA[3]。因此癌症发生时,癌细胞中的 M亚基释放入血,使血清中的 M亚基增高,H/M比值也相应降低,本文中的肺癌组可能也是这个原因。

因此,各种疾病中血清 LDH的 H/M比值的测定对疾病的诊断、疗效观察及预后判断是一个有用的指标。

另外,H/M比值从另一个角度反映了 LDH同工酶的变化。对临床医生来说,记住 H/M比值的正常值要比记住 LDH的 5个同工酶正常值及其相互变化的复杂关系要容易的多,如从图 1可以直观地看出病情的变化趋势。当然在一些并发症及复合型疾病时(如肝硬化时,H M均增高),还应结合各同工酶带的变化情况进行分析。

关键词 LDH同工酶;H/M亚基比值;血清
中图法分类号 R446.1

参考文献

1 刘泽军. LDH同工酶的诊断意义. 医学检验进修杂志, 1998, 5(2): 51
2 刘泽军,杨 辛. 用涤纶膜支持体测定乳酸脱氢酶同工酶. 上海医学检验杂志, 1998, 13(2): 91
3 Maekawa M, Sugano K, Ushiama M, *et al*. Relative ratios of mRNA molecules encoded by genes with homologous sequences using fluorescence-based single-strand conformation polymorphism analysis. Biochem Biophys Res Comm, 1996, 223(3): 520

(收稿: 1998-09-20;修回: 1999-02-17)
(编辑 张大春)

一氧化氮在 ACTH抑制大鼠痛敏中的作用观察

Role of nitric oxide in the inhibition of hyperalgesia after injection of ACTH in rats

周红杰* 黎海蒂 李希成 阮怀珍 (第三军医大学基础医学部生理学教研室)重庆,400038

提 要 目的: 观察一氧化氮(Nitric oxide, NO)在鞘内注射促肾上腺皮质激素(Adrenocorticotropic hormone, ACTH)抑制甲醛大鼠痛敏中的作用。方法: 采用脊髓组织 NADPH-d组化染色、原癌基因 c-fos蛋白(Fos)免疫组化染色及 γ-氨基丁酸含量测定。结果: 鞘内注射 ACTH显著抑制甲醛痛敏大鼠脊髓内一氧化氮合成酶阳性神经元、Fos阳性神经元的增多,并提高脊髓内 γ-氨基丁酸神经递质的含量,且上述作用均为 NO前体左旋精氨酸部分逆转。结论: 在鞘内注射 ACTH抑制甲醛大鼠痛敏中,NO合成抑制可能是其重要的分子机制。

以往实验表明,促肾上腺皮质激素(Adrenocorticotropic hormone, ACTH)在脊髓以上水平参与伤害性信息传递的调制,具有镇痛作用[1],但 ACTH在脊髓水平的作用报道很少,且其机制尚未阐明。近年的研究表明,一氧化氮(Nitric oxide, NO)参与脊髓伤害性信息的传递和痛敏的形成[2]。为此,本实验采用甲醛(Formalin, FM)痛敏模型,着重研究鞘内注射(Intrathecal injection, i. t.) ACTH对甲醛痛敏大鼠脊髓背角浅层一氧化氮合成酶(Nitric oxide synthase, NOS)阳性神经元、Fos阳性神经元、脊髓 γ氨基丁酸(Gama-aminobutyric acid, GABA)含量的影响以及 NO前体左旋精氨酸(L-arginine, Arg)对 ACTH上述效应的逆转作用。

* 周红杰,男,35岁,主治医师,讲师,硕士,现在附属大坪医院野战外科研究所神经内科 重庆,400042

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net