DOI:10.16016/j.1000-5404.1995.05.034

经验交流

HBV标志阳性的肝炎、肝硬化、肝癌患者血硒及谷胱甘肽过氧化物酶活力测定的临床意义

The clinical significance of assaying serujm selenium and glutathione perexidease activity in the patients with hepatitis, cirrhosis and liver cancer showmg posifive HBV markw

王志新 李梦东* (第三军医大学附属新桥医院肿瘤中心) 重庆,630037

众所周知,乙型病毒性肝炎和肝硬化与肝癌的关系密切,多数肝细胞癌(HCC)患者并发于肝硬化,而肝硬化常是有肝炎慢性化和肝坏死的结果。近年来发现微量元素硒具有抗癌作用,血硒水平与人类多种癌症的发生率、病死率呈显著负相关($r=-0.96$, $P<0.001$)。动物实验表明,硒能抑制实验性肿瘤,拮抗或抑制化学致癌剂的作用[1]。因此硒及其相关酶谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)在HBV标志阳性的肝炎、肝硬化及肝癌患者血中的水平及临床意义,是一个值得探讨的问题。

1 对象和方法

1.1 检测对象

1.1.1 观察组 160例HBV标志的住院(HBVM)阳性的肝炎、肝硬化、肝癌患者均系我校附属一、二院病人。男性127例,女性33例,年龄12~68岁,平均36.7岁。所有病例HBVM均为阳性,肝炎的诊断标准参照1984年南宁会议修订的病毒性肝炎防治方案。肝硬化的诊断根据其临床特征、血生化检查、B型超声波或肝穿刺确定。肝癌病例匀经手术、CT或死后肝穿刺证实(肝癌病例中81.8%伴有肝硬化)。

1.1.2 对照组 同期健康献血员20名,男性12名,女性8名,年龄20~41岁,平均31.5岁。

1.2 实验方法

1.2.1 血硒测定 参照Wafkinson[2]和王光亚等[3]的方法。采用器材及所用器皿均经硝酸、双蒸水和去离子水处理。试剂用去离子水配制(规格GR或AR)步骤:取血浆0.4 ml,加入混合酸液5 ml,放置过夜,沙浴上加热消化至液体呈黄色伴白烟出现,冷却后加入EDTA混合物5 ml,用1∶1氨溶液调整pH至1.5,移入暗室,加入1% DNA(Diaminonaphthalene)3 ml,沸水浴加热5 min,加入环乙烷5 ml,充分振荡,经分液漏斗分层,收集环乙烷层,用荧光分光光度计(日本MPF-4型)测定,计算样品含硒量。

1.2.2 GSH-Px活力检测 参照Hafeman[4]方法改良。

1.2.2.1 酶反应 取1.0 mmol/L GSH溶液0.4 ml与待测1:50溶血液(耳血20 μl加双蒸水稀释至1:50) 0.4 ml制成测定管,空白管以pH7.0、0.4 mol/L磷酸盐缓冲液代替GSH溶液,以双蒸水代替溶血液。两管置37℃水中预温5 min,加入预温至37℃的1.25 mmol/L H_2O_2液0.2 ml,混匀,继续37℃保温5 min,加入偏磷酸溶液4 ml,冰水冷却,离心10 min (3000 r/min),取上清液2 ml,加入Na_2HPO_4 2 ml,DTNB试剂1 ml,混匀后用紫外分光光度计412 nm测OD值,计算全血GSH-Px活力=Hafeman u/mg Hb。

1.2.2.2 非酶反应 GSH-Px活力是催化反应式:$2GSH+H_2O_2 \xrightarrow{GSH-Px} GSSG+2H_2O$,由于GSH和$H_2O_2$在没有酶的条件下,也能进行氧化还原反应(非酶反应),在计算酶活力时,应扣除非酶反应所致GSH减少部份,方法同上,以双蒸水代替溶血液。

1.3 统计学方法

计算机处理数据,采用t、H检验。

2 结果

HBVM阳性的肝炎、肝硬化及肝癌患者血硒水平和GSH-Px活力测定结果(见表1)表明:HBV健康携带者,慢活肝、重肝、肝硬化和肝癌组血硒水平均较正常对照组显著下降($P<0.01$)呈现HBV健康携带者>慢活肝组>重肝组>肝硬化组>肝癌组的依次递减现象。慢活肝、重肝、肝硬化和肝癌组同时伴有GSH-Px活力明显减低($P<0.01$),其减低趋势同上,提示两者关系密切。急性肝炎和慢迁肝组血硒水平和GSH-Px活力均与对照组无明显差别($P>0.05$)。

* 附属西南医院传染病中心 重庆,630038

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

表1 乙型肝炎、肝硬化、肝癌患者的血硒水平及GSH－Px活力

	血Se		GSH－Px	
	例数	浓度(μg/ml)（$\bar{x}\pm s$）	例数	活力(u/mg Hb)（$\bar{x}\pm s$）
HBV健康携带者	22	0.140±0.055△	20	17.216±4.235
急性肝炎	22	0.170±0.099	22	16.071±3.694
慢迁肝	15	0.162±0.047	15	16.258±4.262
慢活肝	42	0.135±0.073△	34	12.003±4.881△
重型肝炎	20	0.130±0.044△	15	9.935±3.806△
肝硬化	27	0.099±0.062△	17	9.105±3.743△
肝　癌	12	0.092±0.069△	12	8.163±1.067△
正常对照	20	0.207±0.079	20	17.453±2.434

△：$P<0.01$，与正常对照组相比

肝炎、肝硬化及肝癌患者HBeAg阳性组与抗-HBe阳性组血硒水平测定结果(表2)表明：两组血硒水平均显著低于对照组($P<0.01$)，但两组间数值差别无统计学意义($P<0.01$)，但两组间数值差别无统计学意义($P<0.05$)。

表2 HBeAg阳性组和抗-HBe阳性组血硒水平比较

	例数	血硒(μg/ml)（$\bar{x}\pm s$）
HBeAg阳性组	48	0.136±0.064△
抗-HBe阳性组	51	0.143±0.065△
正常对照组	20	0.207±0.079

△：$P<0.01$，与正常对照组相比

3 讨论

许多资料表明，有肝炎病史者发生肝癌的危险性是无肝炎病史者的3倍，而肝癌同时合并硬化者可高达60%～90%[5]，本组HBVM阳性的肝癌患者中，有肝炎病史者占72.7%，合并肝硬化者占81.8%。文献报告，HBsAg在HCC者的检出率达40%～80%，在各类肝炎和HCC的肝细胞及癌组织中均发现有HBV DNA整合，从分子水平进一步证明，在HCC形成过程中，HBV感染是一个重要的促成因素，但可能不是唯一因素[6]。

硒与癌症的发生关系密切，已得到许多研究的证实，低硒者患癌的危险性显著增加。我国启东地区肝癌死亡率与血硒浓度呈负相关[7]。动物实验表明，摄硒组小鼠的患癌率可由82%降至10%，体外实验证明硒能抑制癌细胞生长。适量的亚硒酸钠能显著抑制肝癌细胞核的转录活性，促进DNA修复。GSH－Px是细胞膜的保护酶，能清除自由基和脂质过氧化物。硒本身既是抗氧化剂，又是构成GSH－Px的重要组成部份。二者在抗氧化损伤，保护生物膜和细胞的正常功能，防止肝细胞恶变起着重要作用[8,9]缺硒可致GSH－Px活力下降，自由基堆积，导致肝细胞膜脂质过氧化损害，肝细胞坏死。

本文观察到，HBV健康携带者、CAV、重肝、肝硬化和肝癌组同时伴有GSH－Px活力的显著下降($P<0.01$)，提示两者与肝细胞损伤、病变发展、癌症发生关系密切。对于血硒水平与癌变的因果关系，一直存在争议，有学者认为低硒是癌症发生发展的结局，但我们的实验表明，不但肝癌组明显低硒，CAV、重肝组血硒水平也显著低于对照组($P<0.01$)，特别值得注意的是，HBsAg健康携带者其血硒水平亦显著低于对照组。HBsAg慢性携带者，其免疫功能缺陷，与癌症的发生关系甚为密切。在携带HBV同时，伴有低硒，更易发生肿瘤。Beasley[5]曾对22707健康人(其中3454人为HBsAg携带者)进行了长达8年的随访，结果有116人发生HCC，其中113人为HBsAg携带者。Willett等[10]于1973年收集了10940名正常人血清并予以冻存，5年后有111人发生癌症，检测这批人5年前的血清，发现其血硒水平显著低于对照组。作者认为，低硒不是癌症发展的结果，很可能是癌症发生发展的促发因素之一。对HBsAg健康携带者测定血硒水平，似可作为估计预后，预测远期病变的指标。同时表明，低硒可能是HBV感染的肝炎、肝硬化发生癌变的又一促发因素，对低硒的肝炎患者，早期补硒治疗，对改善病情、预防癌症发生，可能是一条值得探索的新的防治途径。

关键词 乙型肝炎；肝硬化；肝癌；血硒；谷胱甘肽过氧化物酶

中图法分类号 R512.62

参考文献

1 罗焕道，程书钧，叶树勇. 有机硒拮抗致突变作用的初步验究. 中华肿瘤杂志，1991；13：162

2 Wafkinson JH. Flouorometric determination of selenium in biological material with 2，3－diamianonaphthalene. Anal Chem，1966；38：92

3 王光亚，周瑞华，孙淑庄等. 生物样品、水及土壤中痕量硒的荧光测定法. 营养学报，1985；7：39

4 Hafeman DG，Sunde RA，Hoekstra WG. Efeet of dietary selenium on erytyrocyte and Liver glutathione peroxidase in the rat. J Nutr，1974；104：5

5 Beasley RP，Hwang Lu－Yu. Hepatocellular carcinoma and hepatitis B virus. Semin Liver Dis，1984；4：113

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

6 Popper H, Shafritz DA, Hoofnagle JH. Relation of the hepatitis B virus carrier state to hcpatocellular carcinoma. Hepatology, 1987; 7: 764
7 李文广, 李树玉, 候 充等. 启东县原发性肝癌地理分布特点与硒水平的关系. 中华肿瘤杂志, 1986; 3: 262
8 Corrocher R, Casaril M, Bellisola G et al. Severe impairment of antioxidant system in human hepatoma. Cancer, 1986; 58: 1658
9 于树玉. 我国肿瘤防治研究中新的突破: 硒预防肝癌喜见成效. 医药动态, 1991; (12): 1
10 Willett WC, Morris JS, Pressel S et al. Prediagnostic serum selenium and risk if canaer. Lancet, 1983; 2(8342): 130

(收稿: 1994-09-06; 修回: 1995-08-05)

还原型谷胱甘肽注射剂治疗慢性病毒性肝炎疗效观察

Observation on treatment of chromic viral bepafitis whth reduced glutathione

何念海 顾长海 马巧玉 (第三军医大学附属西南医院传染病中心) 重庆, 630038

为了验证还原型谷胱甘肽注射剂对慢性病毒性肝炎的疗效, 我们自1994年4月至1995年2月应用还原型谷胱甘肽注射剂治疗慢性病毒性肝炎150例, 现将结果报告如下。

1 方法

1.1 观察对象

全部150例住院病例的 诊断均符合1990年病毒性肝炎防治方案标准, 分为两组。治疗组87例, 男59例, 女28例, 平均年龄28±12岁, 其中慢性活动性肝炎(CAH)52例, 慢性迁延性肝炎(CPH)35例。对照组63例, 男 43例, 女20例, 平均年龄30±14岁, 包括CAH 38例, CPH 25例。上述两组病人在性别、年龄和病情轻重等方面无显著差异($P>0.05$)。

1.2 治疗方法

治疗组用还原型谷胱甘肽注射剂0.646 g, 每日一次, 肌注或静滴。疗程平均1月, 对照组不用还原型谷胱甘肽治疗, 两组基础治疗相同。

1.3 观察指标

治疗前、中、后均观察肝功能, 凝血酶原时间(PT), 肾功能, 血、尿常规和心电图, 临床症状和体征。

1.4 疗效评价标准

显效: 治疗结果时临床症状消失或明显改善, 阳性体征消失或减轻, 肝功和PT正常。

有效: 治疗结果时临床症状好转, 体征不变, 肝功和PT异常指标较治疗前下降50%以上者。

无效: 治疗结束时达到上述标准或病情恶化者。

1.5 统计学处理

计数资料用卡方检验, 计量资料用t检验。所有检验统计量均采用双侧备择假说 。

2 结果

两组肝功能和PT复常率比较(表1): 治疗组CAH的ALT/AST、TB/DB及PT与CPH的ALT/AST之复常率即显效率均明显高于对照组($P<0.05$)。

表1 两组各型肝炎肝功能和PT复常率比较

	CAH						CPH			
	ALT/AST	(%)	TB/DB	(%)	PT	(%)	ALT/AST	(%)	PT	(%)
治疗组	42/50	84.0※	38/48	79.2※	29/36	80.1※	30/35	85.7※	11/15	73.3
对照组	23/38	60.5	21/37	56.8	15/27	55.6	13/25	52.0	7/13	53.8

※: $P<0.05$, 治疗组与对照组比较

两组肝功能和PT复常时间比较: 治疗组CAH和CPH的复常即显效病例的复常时间分别为32±21 d和28±17 d, 均明显短于对照组(分别为43±32 d和43±28 d, $P<0.05$)。

两组综合疗效比较(表2): 治疗组总显效率和总有效率(显效率+有效率)均明显高于对照组($P<0.01$, $P<0.05$)。

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