DOI:10.16016/j.1000-5404.1993.04.006

血浆脯氨酸肽酶活性测定在慢性肝病诊断中的意义

左 媛 胡大荣 李梦东 陈国玫 (第三军医大学西南医院传染科) 630038

提 要 本文介绍了血浆脯氨酸肽酶活性测定方法及对各类肝病患者的检测结果。肝硬化(45 例)及慢性活动性肝炎(31 例)患者脯氨酸肽酶活性显著升高,其变化与血清 ALT 水平无明显相关,而与血清白蛋白降低,球蛋白升高显著相关。研究结果表明,血浆脯氨酸肽酶活性测定对慢性肝病,尤其是肝硬化的诊断具有重要意义,可作为慢性肝病的随访指标,协同其它检查将进一步提高慢性肝病的诊断水平。

关键词 慢性病;肝疾病;脯氨酸肽酶;肝功能试验;血浆

肝组织中胶原纤维增多是肝病慢性乃至纤维化的重要组织学表现。脯氨酸肽酶(EC 3、4、13、9,prolidase,PLD)参与胶原蛋白降解,是反映肝脏纤维化程度的良好指标[1,2]。本文在国内首次报导血浆 PLD 活性测定方法及其临床初步应用的基础上[3],通过扩大临床病例观察,评价血浆 PLD 活性测定在慢性肝病诊断中的意义。

1 材料与方法

1.1 试剂

1.1.1 底物:甘氨酰-L-脯氨酸(Sigma 产),0.1mol/L,用含 1mmol/L $Mncl_2$ 的 0.05mol/L Tris/Hcl,pH 7.8 缓冲液(简称 Tris/Hcl)临用前配制。

1.1.2 脯氨酸标准液:L-脯氨酸(Sigma 产),0.65mmol/L,用 0.45mol/L 三氯乙酸配制,4℃下可长期保存。

1.1.3 显色剂:为 Chinard 氏液。每 100ml 由 60ml 冰醋酸,40ml 6mol/L 磷酸及 2.5g 水合茚三酮(分析纯,上海化学试剂总厂产)组成,70℃配制,室温下可长期保存。

1.2 血浆 PLD 活性测定

根据 Brosset B 介绍的方法略加改进后进行[1]。空腹肝素抗凝血分离血浆,-20℃保存,检测时用 Tris/Hcl 作 6 倍稀释,反应顺序按表 1 所列步骤进行。

表 1 PLD 活性测定步骤

Tab 1 Determination of serum PLD level

	Test (ml)	Control (ml)	
Diluted plasma	0.1	0.1	
37℃, preincubated for 24 h			
0.45mol/L trichloroacetic acid	—	1.0	
0.1mol/L glycyl-L-proline	0.1	0.1	
37℃, incubated for 30min			
0.45mol/L trichloroacetic acid	1.0	—	
2500rpm/min, for 15min, sapernatant was used for proline estimation			
	Test (ml)	Control (ml)	Standard▲ (ml)
Supernatant	0.5	0.5	—
Glacial acetic acid	1.0	1.0	1.0
Chinard's reagent	1.0	1.0	1.0
Standard	—	—	0.5
90℃, incubated for 10min			

▲: need only one standard for every time

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

室温下放置15min 后用空白管(0.45mol/L 三氯乙酸0.5ml,冰醋酸1.0ml,Chinard 氏液1.0ml)校零,分别测定标准管,测定管及对照管的 A_{515}nm 值。1 U/L PLD 活性相当于37℃,pH 7.8条件下每分钟1L 血浆催化甘氨酰-L-脯氨酸水解形成1μmol 脯氨酸的活力。按文献提供活性计算公式计算 PLD 活性[2]。

$$U/L=\frac{E-C}{S}\times[S]\times 2\,400$$

公式中 E、C、S 分别代表测定管,对照管及标准管的 A_{515nm}值,[S]代表标准脯氨酸浓度(0.65mmol/L),2 400为换算成每升血浆所含 PLD 活性的换算系数。

1.3 血清丙氨酸转氨酶(ALT)采用改良赖氏法,血清总胆红素(TB)、白蛋白(A)及球蛋白(G)水平采用常规方法测定,与 PLD 同步进行。

测定结果≥$\bar{x}+1.96s_{\bar{x}}$为升高。

1.4 对象

1.4.1 健康人:100名,为健康供血员,年龄18至42岁,男性53名,女性47名,男女之比为1.13:1。

1.4.2 肝病患者:急性肝炎58例,慢性活动性肝炎31例,肝硬化45例(其中失代偿性28例)。全部为成年患者,诊断按1984年南宁肝炎会议标准执行,47例诊断经肝活检组织学证实。

1.4.3 非肝病患者:47例,均为诊断明确的成年住院患者。

1.5 统计学处理

$\bar{x}$ 比较用 t 检验,% 比较用卡方检验,PLD 与 ALT、A、G、TB 水平变化关系比较用相关检验。

2 结果

2.1 不同人群 PLD 及 ALT 活性测定结果(见表2)

表2 不同人群 PLD 及 ALT 水平测定结果

Tab 2 Serum PLD and ALT level of patients with liver disease

Group	n	PLD (U/L)		ALT (U/L)	
		$\bar{x}\pm s_{\bar{x}}$	%	$\bar{x}\pm s_{\bar{x}}$	%
Normal control	100	1107.4± 19.5	2.0	22.9± 0.3	0
Liver cirrhosis compensated	28	2478.2±197.5★	96.4★★	25.9± 2.9	7.1
Uncompensated	17	2396.3±201.2★	94.1★★	24.7± 3.6	5.9
Chronic active hepatitis	31	2105.3±207.6★	90.3	125.5±47.3★	74.3
Acute hepatitis	58	1756.5±133.1★	82.8	471.1±57.5★	96.6
No liver diseases	47	1102.3± 42.9	4.3	21.2±11.3	2.1

★ *vs* normal control $P<0.001$; ★★ *vs* ALT, $P<0.001$

肝病组血浆 PLD 活性均显著升高,肝硬化升高最明显,慢性活动性肝炎居中,急性肝炎仅轻度升高。除急性肝炎组 PLD 与 ALT 变化呈显著正相关外($P<0.05$),肝硬化及慢性活动性肝炎组 PLD 变化与同期 ALT 水平无明显相关(P 值均>0.05)。代偿性与失代偿性肝硬化组之间 PLD 变化无明显差异($P>0.05$)。

2.2 肝病患者血清 TB、A 及 G 测定结果(见表3)

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

表3 肝病患者血清 TB、A、G 测定结果

Tab 3 TB, A, G levels in serum of patients with liver diseases

Group	n	TB (μmol/L)	A (g/L)	G (g/L)
		$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$
Normal control	100	16.5±0.3	41.4±0.7	19.8±0.4
Liver cirrhosis compersative	28	36.5±0.9★	30.1±0.4★	31.5±0.3★
Uncompersative	17	30.8±1.1★	31.2±0.7★	30.7±0.5★
Chronic active hepatitis	31	42.7±1.6★	31.7±0.5★	30.1±0.4★
Acute hepatitis	58	87.3±1.4	41.6±0.5	20.3±0.2

★ *vs* normal control, $P < 0.001$

各肝病组血清 TB 水平均显著升高，其变化与血浆 PLD 改变无明显相关（P 值均>0.05）；肝硬化及慢性活动性肝炎组 A 水平降低，G 水平升高，血浆 PLD 活性变化与 A 的改变呈负相关（P 值均<0.01），与 G 的改变呈正相关（P 值均<0.01）。急性肝炎 A、G 水平无明显改变。

3 讨论

目前临床上确诊慢性肝病仍主要依靠肝活检，但该项检查难以重复进行，且有一定禁忌症。探索与肝脏慢性病理改变相关的血生化指标一直受到临床和检验工作者的关注。体内胶原蛋白代谢与肝脏纤维化关系密切[1,2]。在众多与之相关的文献中，多集中在反映胶原蛋白合成代谢酶，如单胺氧化酶、半乳糖羟赖氨酰糖基转换酶、脯氨酰羟化酶[4]的研究。近年来，虽有直接测定血浆中胶原蛋白Ⅰ、Ⅲ[5]和前胶原Ⅰ羟基末端肽及前胶原Ⅲ氨基末端肽水平的报导[6]，但方法较繁杂，难以作为临床常规项目。PLD 是体内广泛存在的一种蛋白水解酶，富含于肝细胞，能水解氨基酸羧基末端含有脯氨酸或羟脯氨酸的多肽[2]。由于胶原蛋白富含脯氨酸和羟脯氨酸，因此该酶与胶原蛋白的降解密切相关，是反映胶原蛋白分解代谢的重要生化指标[1,2]。

本文检测结果发现，慢性肝病尤其是肝硬化患者，尽管血清 ALT 正常，但血浆 PLD 水平却显著升高，其变化与 TB 无关而与反映肝病慢性化的血清白蛋白降低和球蛋白升高相关，提示该项指标在慢性肝病诊断方面具有一定意义，协同其它检查将进一步提高慢性肝病尤其是肝硬化的诊断水平。慢性肝病患者血浆 PLD 活性升高的机理尚未完全阐明，可能与该酶在肝细胞浆含量高，细胞膜受损时大量释放于血和维持血浆氨基酸平衡，沉积于肝组织的胶原蛋白降解加速有关[1,2]。本文观察例数尚少，且缺乏与肝脏组织学的平行比较，血浆 PLD 活性测定在诊断和随访慢性肝病中的意义有待进一步评价。

参考文献

1. Brosset B, Myara I, Fabre M. Plasma prolidase and prolinase activity in alcoholic liver disease. Clin Chim Acta, 1988; 175(3): 291
2. Myara I, Myara A, Margeot M. Plasma prolidase activity: A possible index of collagen catabolism in chronic liver disease. Clin Chem, 1984; 30(2): 211
3. 胡大荣 李梦东 陈国致。血浆脯氨酸肽酶活性测定及其初步应用。中华医学检验杂志，1992; 15(5): 270
4. Kuutti-Savolainen ER, Anttinen H, Mienttinen TA, et al. Collagen biosyathesis enzymes in serum and hepatic tissue in tiver disease. Eur J Clin Invest, 1979; 9(1): 97
5. Rojkind M, Giambroe MA, Biempica L. Collagen types in normal and cirrhotic liver. Gastroen-

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

terology,1979;76(4):710
6. Tanaka Y, Minato Y, Hasumura Y, et al. Evaluation of hepatic fibrosis by serum proline and amino-terminal type Ⅲ procollagen peptide levels in alcoholic patients. Digest Dis Sci,1986;31(7):712

(收稿:1992-09-15;修回:1993-05-14)

Diagnostic significance of plasma prolidase activity in chronic liver diseases

Zuo Yuan, Hu Darong, Li Mengdong, Chen Guizhi (Department of Infectious Diseases, Southwest Hospital, Third Military Medical College, Chongqing, 630038)

Abstract The activity of plasma prolidase (PLD) was determined in patients with various chronic liver diseases. It was found that the activity of plasma PLD was increased significantly in 45 patients with cirrhosis and 31 patients with chronic active hepatitis. The plasma level of PLD was not correlated with the serum level of ALP. Plasma PLD was negatively correlated with serum albumin and positively correlated with serum gammablobulin. These findings suggest that the determination of the activity of plasma prolidase may be helpful in the diagnosis of chronic liver diseases.

Key words chronic disease; liver diseases; prolidase; liver function tests; plasma

简易穿刺法腹膜透析抢救急慢性肾衰16例体会

凌汉新 (第三军医大学新桥医院肾内科) 630037

应用腹腔套管穿刺针作腹膜透析抢救危重病人已有报道[1,2]。我们采用腹水穿刺针作腹膜透析,抢救急、慢性肾衰、心衰、肺水肿等危重病人16例。取得满意效果,介绍如下:

1 材料

普通腹水穿刺包,B型接头各一个、硅胶腹透导管一根。

2 方法

取反麦氏点或麦氏点内下方约1～4cm处,消毒、铺巾、局麻,将穿刺针缓缓推入腹腔,如无阻力即向膀胱或子宫直肠窝推进,至穿刺针体完全进入腹腔,若有阻力,不宜强行推进,轻轻试探或稍转换针头方向,无阻力时再进入直至成功;用消毒纱布固定并覆盖腹壁外针托。连接针托胶管和硅胶腹透管,透析液袋,开始透析。

3 效果

本组16例,男8例、女8例,年龄3月到66岁;其中急性肾衰14例,慢性肾衰2例,均一次穿刺成功,穿刺针留置腹腔时间:急性肾衰3～14 d,平均7 d进入多尿期;透析2 d后患者临床症状、体征、精神状态等明显改善。观察透析后7 d的BUN,Scr实验室检查指标与透析前BUN,Scr相比较见附表。

		$\bar{x}\pm s$	t值	P值	n
BUN	透前	35.3±11.8	8.42	$P_1<0.01$	14
	透后	8.3±2.4			
Scr	透前	1264.6±38	10.33	$P_2<0.01$	14
	透后	194.2±47.7			

(下转 324 页)

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