

对乙型肝炎患者血液中 miRNA 内参基因选择做了相关研究,并以 miR-122 作为对照 miRNA,结果显示 miR-26a 和 miR-22 是最稳定的 miRNA,而将 miR-26a、miR-221 和 miR-22 三者共同作为内参基因时,其结果差异有统计学意义($P < 0.05$),但差异并不明显。

综上所述,各种类型标本中,多个内参基因的组合比使用单一内参基因更加准确。但多个内参基因的组合在实际运用过程中较复杂,且在不同类型标本中组合选用的差异较大,尚不能在所有类型标本中选用统一的某一种组合,所以单一内参基因仍被推荐使用。如果能将分析前质量控制尽量做到一致,在尚不能确定某种类型标本 miRNA 内参基因,且无法查到相关文献时,首推选用 miR-103 为 miRNA 内参基因,其次为 miR-191。

4 展 望

随着对于 miRNA 作用机制的进一步深入研究,以及利用最新的技术手段对于 miRNA 和疾病之间的关系进行研究,将会使人们对于基因表达调控网络的理解提高到一个新的水平。这也将使 miRNA 可能成为疾病诊断的新的生物学标记,还可能使其成为药靶,或是模拟这一分子进行新药研发,这将可能会给人类疾病的治疗提供一种新的手段。随着样本保存、miRNA 内参基因的准确选择和 miRNA 检测技术的规范化与标准化,miRNA 检测将在临床疾病的诊断和预后判断方面不断显示出优势。相信随着研究的不断深入,miRNA 检测和研究将会为疾病诊断及预后判断带来新的发展。

参 考 文 献

[1] He L, Hannon GJ. MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation[J]. Nat Rev Genet, 2004, 5(7): 522-531.

[2] Cissell KA, Deo SK. Trends in microRNA detection[J]. Anal Bioanal Chem, 2009, 394(4): 1109-1016.

[3] Adachi T, Nakanishi M, Otsuka Y, et al. Plasma microRNA 499 as a biomarker of acute myocardial infarction[J]. Clin Chem, 2010, 56(7): 1183-1185.

[4] 王亚南, 顾国浩. 生物芯片在肺癌研究和诊疗中的应用进展[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(2): 230-231.

[5] Finnegan EJ, Matzke MA. The small RNA world[J]. J Cell Sci, 2003, 116(Pt 23): 4689-4693.

[6] Szabo A, Perou CM, Karaca M, et al. Statistical modeling for selecting housekeeper genes[J]. Genome Biol, 2008, 9(8): R59.

[7] Peltier HJ, Latham GJ. Normalization of microRNA expression levels in quantitative RT-PCR assays: Identification of suitable reference RNA targets in normal and cancerous human solid tis-

sues[J]. RNA, 2008, 14(5): 844-852.

[8] Wotschovsky Z, Meyer HA, Jung M, et al. Reference genes for the relative quantification of microRNAs in renal cell carcinomas and their metastases[J]. Anal Biochem, 2011, 417(2): 233-241.

[9] Vandesompele J, De Preter K, Pattyn F, et al. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes[J]. Genome Biol, 2002, 3(7): 1-11.

[10] Monzo M, Navarro A, Bandres E, et al. Overlapping expression of microRNAs in human embryonic colon and colorectal cancer[J]. Cell Res, 2008, 18(8): 823-833.

[11] Akao Y, Nakagawa Y, Naoe T. MicroRNAs 143 and 145 are possible common onco-microRNAs in human cancers[J]. Oncol Rep, 2006, 16(4): 845-850.

[12] Schaefer A, Jung M, Miller K, et al. Suitable reference genes for relative quantification of miRNA expression in prostate cancer[J]. Exp Mol Med, 2010, 42(11): 749-758.

[13] Shen YM, Li Y, Ye F, et al. Identification of miR-23a as a novel microRNA normalizer for relative quantification in human uterine cervical tissues[J]. Exp Mol Med, 2011, 43(6): 358-366.

[14] Chang KH, Mestdagh P, Vandesompele J, et al. MicroRNA expression profiling to identify and validate reference genes for relative quantification in colorectal cancer[J]. BMC Cancer, 2010, 10: 173.

[15] Davoren PA, McNeill RE, Lowery AJ, et al. Identification of suitable endogenous control genes for microRNA gene expression analysis in human breast cancer[J]. BMC Molecular Biology, 2008, 9(76): 1471-2199.

[16] Gilad S, Meiri E, Yogev Y, et al. Serum microRNAs are promising novel biomarkers[J]. PLoS One, 2008, 3(9): e3148.

[17] Chen X, Ba Y, Ma L, et al. Characterization of microRNAs in serum; a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases[J]. Cell Res, 2008, 18(10): 997-1006.

[18] Reid G, Kirschner MB, van Zandwijk N. Circulating microRNAs: association with disease and potential use as biomarkers[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2011, 80(2): 193-208.

[19] Etheridge A, Lee I, Hood L, et al. Extracellular microRNA: a new source of biomarkers[J]. Mutat Res, 2011, 717(1/2): 85-90.

[20] Zhu HT, Dong QZ, Wang G, et al. Identification of suitable reference genes for qRT-PCR analysis of circulating microRNAs in hepatitis B virus-infected patients[J]. Mol Biotechnol, 2012, 50(1): 49-56.

(收稿日期: 2012-02-06)

• 综 述 •

血氨检测在临床肝脏疾病中的应用价值

李晓光, 于永光, 王丽艳 综述, 郭 欣, 王连明 审校
(哈尔滨医科大学附属第一医院检验科, 哈尔滨 150001)

关键词: 血氨; 肝病; 监测; 综述

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.11.027

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)11-1340-03

氨对于人体是一种有害的物质, 肝脏是其主要代谢场所, 健康人血内有少量游离氨存在^[1]。血液中氨的来源主要为体内蛋白质代谢过程中产生的氨基酸, 以及经脱氨作用分解而来

的内源性氨; 另一来源是蛋白质类食物在肠道内经细菌分解而成的外源性氨。在正常情况下, 肝脏能将氨通过鸟氨酸循环的特殊酶系、鸟氨酸氨基甲酰转移酶、氨基甲酰磷酸合成酶等作

用,合成尿素,再经过肾脏排出。此外,脑和肾脏等器官的氨与谷氨酸作用生成谷氨酰胺后被运输到肝脏,在肝脏转变成尿素或其他含氮化合物后由肾脏排出体外,或形成铵盐随尿排出,这个过程不仅可以解毒,同时还消耗了 CO_2 ,故在维持酸碱平衡中也具有重要作用^[2]。

1 血氨增高的原因

氨对人体有毒,能降低大脑内的 ATP 水平,进而影响神经元的功能和神经细胞的新陈代谢。血氨的来源增加和去路减少,都会引起血氨增高^[2-4]。

引起血氨增高的原因有:发生代谢障碍性疾病,如肝性脑病、重型肝炎、尿毒症等;尿素生成功能低下、门静脉侧支循环增加、先天性鸟氨酸循环的有关酶缺乏等,使氨不能从循环中及时清除,致使血氨增高。其他原因引起的血氨增高有新生儿不明原因的一过性血氨增高,静脉给养、尿路感染、休克、白血病、心衰等一过性的血氨增高^[5-7]。

2 血氨的测定方法和影响因素

血氨的测定方法主要有微量扩散法、离子交换法、酶法、氨电极法。血氨酶动力学测定是被推荐的方法,具有快速、特异性高、微量的特点。但是血氨测定的准确性在很大程度上取决于标本的留取收集。为了准确测定血氨浓度,必须注意以下几点^[1-2,8-11]:(1)吸烟是血氨浓度假性增高的主要原因,采血前 1 d 的午夜后应禁止吸烟,严重吸烟的患者,采血前应淋浴,穿新的睡衣裤,采血人员也必须是非吸烟者。(2)实验室周围环境和实验室空气中的氨是标本氨污染的原因,最好在特定实验室中采集标本和进行测定,并限制人员进出实验室,器皿必须经过化学处理。(3)应用血浆而不能用电清进行测定,可选用草酸钾、EDTA 或肝素抗凝剂,不能使用肝素铵抗凝剂,氟化物抗凝剂将使测定值增高。(4)标本采集后,注射器抽取后密封针头,或放入提前准备好的小瓶内加盖密封,必须立即置冰浴中,尽快离心分离出血浆并及时进行测定。即使在 0°C ,从采血到测定开始,滞留 15 min 以上就可引起血氨浓度升高,标本放置时间越长,血氨浓度越高,主要原因可能是血液细胞自身代谢或部分微生物代谢后产生氨所致。另外,标本中含氮物质的分解也是氨污染的另一原因,采集标本后,血液中氨基酸即可发生脱氨分解,造成血氨浓度升高。(5)红细胞中氨浓度是血浆的 2.8 倍,故标本应禁止溶血。准确测定血氨浓度,是将血氨检测应用于临床,尤其是为肝脏疾病诊断及疗效观察提供依据的前提。

3 血氨升高与肝损害

血氨升高与肝功能分级、门静脉高压、门体分流程度密切相关,肝功能越差,由于 ATP 供应不足,鸟氨酸循环发生障碍,合成尿素的能力减退,氨的清除减少,肝脏的解毒功能降低,肝脏合成和维持脑代谢功能的物质减少,使来源于肠道和体内的一些有害物质不能被有效地解毒和清除,血氨浓度越高,在门体分流严重时,氨未经肝脏解毒可直接进入体循环,从而导致体内血氨的升高。

血氨增高时,过多的氨能干扰脑细胞能量代谢,引起脑组织能量产生不足,影响神经递质的产生和神经递质间的平衡,使兴奋性递质减少或抑制性递质增加。氨对脑细胞代谢的干扰有下述几方面:(1)氨能抑制丙酮酸脱氢酶的活性,影响乙酰辅酶 A 的生成,既干扰三羧酸循环的起始步骤,又影响神经递质乙酰胆碱的生成;(2)氨中毒时,脑内以形成谷氨酰胺的方式解毒,从而消耗了较多的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH),影响线粒体氧化磷酸化的正常进行,妨碍 ATP 生成;(3)大量氨

与 α -酮戊二酸结合生成谷氨酸,可使三羧酸循环中的 α -酮戊二酸耗竭,妨碍供能物质在脑细胞中能量的释放与转换,由于 α -酮戊二酸及草酰乙酸难于通过血脑屏障得到补充,因此氨中毒使脑细胞三羧酸循环发生障碍,ATP 生成减少;(4)氨和谷氨酸合成谷氨酰胺时增加 ATP 消耗;(5)氨能激活神经细胞膜上的 Na-K-ATP 酶,并和 K 有竞争作用,影响离子分布和神经传导的正常进行。另外,氨对神经细胞膜起抑制作用,干扰其功能及电活动,刺激大脑边缘系统,使神经的兴奋和传递过程受到干扰,引起肝性脑病,出现神经症状或抽搐^[9-11]。

4 血氨水平与肝脏疾病的诊治

有研究显示,随着血氨浓度升高,重型肝炎的预后越差,病死率越高。重型肝炎合并肝性脑病患者血氨浓度明显高于未合并肝性脑病的患者,其变化随肝细胞损伤程度加重而增加,死亡者达到最高水平,提示血氨浓度升高是发生肝性脑病的重要预测性指标^[12-15]。肝硬化时由于肝细胞功能衰竭或门体分流,肠道中的氨未经肝脏解毒而直接进入体循环,使血氨增高,而且肝硬化时因肌肉消耗及侧支循环的存在,骨骼肌与肝脏摄氨减少,大脑往往承受较重的氨负荷,从而引发肝性脑病。据报道 90% 肝性脑病与血氨升高有关^[16]。

幽门螺杆菌(Hp)是寄生于胃黏膜上皮细胞表面的革兰阴性微需氧菌,被公认为许多消化性疾病的重要致病因子。在中国,Hp 感染率约 61%^[17],肝硬化患者 Hp 感染率为 48%~60%^[3]。肝硬化尤其中晚期患者高 Hp 感染率的原因考虑为:中晚期肝硬化患者免疫功能普遍下降,容易导致肠道内菌群变化,为 Hp 生长带来有利条件,而一旦肝功能明显低下又伴有门静脉高压会导致胃黏膜淤血、缺氧及高胃酸环境,这些均有利于 Hp 生长。目前关于 Hp 感染是否与肝硬化患者血氨升高密切相关尚有争论。有学者研究表明,感染 Hp 的肝硬化患者血氨水平明显高于非 Hp 感染的肝硬化患者^[18-22]。定植于胃黏膜的 Hp 可分泌大量具有高活性的尿素酶,使胃内氨浓度显著升高,而胃内氨吸收入血引起血氨增高,因此有学者经临床研究认为 Hp 感染与肝病所致的血氨升高有密切相关性,且随着肝功能分级升高而升高。

临床研究结果显示,患者感染 Hp 后虽给予抑制肠道菌群生长的抗生素、降血氨药物以纠正高氨血症,但仍反复发生高血氨及肝性脑病,而根除 Hp 后,可保护胃黏膜,降低胃氨作用、抑制肠道产氨,使血氨下降,未再发生肝性脑病,这也证实了 Hp 感染对引起高氨血症和诱发肝性脑病的重要性,根除 Hp 后血氨浓度明显下降,临床上可预防肝性脑病的发生^[23-28]。近几年,由于质子泵抑制剂以及疗效较好的抗 Hp 抗生素的出现,使得短期根除 Hp 感染成为可能。

现在对重型肝炎的治疗仍以减轻肝组织损伤,减少肝性脑病的发生和电解质紊乱等并发症的出现为目的。低钠血症在很大程度上促进了肝病病情的发展和恶化^[23-24]。肝功能受损时由于鸟氨酸循环障碍,导致尿素合成减少,最终致使血氨在体内蓄积,血氨使三羧酸循环障碍,ATP 合成减少,导致鸟氨酸循环障碍,Na-K-ATP 酶功能减弱更加重了低钠血症,形成恶性循环^[24]。目前对重型肝炎的治疗仍以减轻肝组织损伤,减少肝性脑病的发生和电解质紊乱等并发症为目的^[29]。

此外,血氨测定对儿科诊断 Reye's 综合征非常有用。该病的症状有严重低血糖、大块肝坏死、急性肝衰,并伴有肝脂肪变性,在肝功能血清学改变前,即可见血氨增高。血氨检测对诊断某些先天性代谢紊乱,如鸟氨酸循环的氨基酸代谢缺陷也很重要^[30]。

综上所述,血氨浓度的检测,是肝性脑病、重型肝炎、肝硬化及某些先天性、代谢性疾病等的诊断、治疗、预后的重要指标,重视血氨检测,并及时采取治疗措施,可提高患者生活质量,降低病死率,在临床上具有重要意义。

参考文献

[1] 盛大平,徐元宏,李涛,等. 血氨检测的临床适应证及其价值探讨[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(6):565-567.

[2] 刘北航. 血氨检验方法以及临床意义[J]. 中外健康文摘,2010,7(22):142-143.

[3] Goldman L, Bennett JC. Cecil textbook of medicine[M]. 21th ed. Philadelphia: Saunders Company,2000:813-816.

[4] 周镇先. 血氨水平与肝性脑病关系的再认识[J]. 江苏医药杂志,2003,29(7):560.

[5] 刘金涛. 谷氨酸脱氢酶活力变化在肝损伤中的应用[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(2):270-271.

[6] 李美珠,招钜泉,杨长兰,等. 血氨、胆碱酯酶在人工肝支持系统治疗前后的临床应用[J]. 国际检验医学杂志,2006,27(7):589-591.

[7] 林建国,陈华庚. 新生儿血氨升高与代谢性酸中毒的关系分析[J]. 当代医学,2011,17(23):57-58.

[8] Abdel-Hady H, Zaki A, Badra G, et al. Helicobacter pylori infection in hepatic encephalopathy: relationship to plasma endotoxins and blood ammonia[J]. Hepatol Res,2007,37(12):1026-1033.

[9] Sherlock S, Dooley JS. Diseases of the liver and biliary system [M]. Oxford:Blackwell Sci,2002:26-35.

[10] 张亚文,朱颖,滕守峰,等. 血氨检测在慢性重型肝炎中的应用分析[J]. 中国煤炭工业医学杂志,2011,14(12):1786.

[11] 陈志,陈江,逯心敏,等. 重型肝炎患者血浆置换治疗前后凝血功能变化的研究[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(9):961,966.

[12] 林城. 100 例重症肝炎患者血氨的检测与分析[J]. 实验与检验医学,2009,27(6):675.

[13] 曾东晓,许巧珍. 重型肝炎患者血氨浓度变化的临床价值分析[J]. 医学信息,2010,23(12):4489.

[14] 马丽,涂斌. 肝硬化患者血清前清蛋白、总胆汁酸、腺苷脱氨酶、胆碱酯酶测定的临床意义[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(10):1125-1127.

[15] 覃艳玲. 肝硬化患者血清前清蛋白、胆碱酯酶和止凝血相关指标

的变化分析[J]. 国际检验医学杂志,2008,29(10):931-932.

[16] 谷茂林,徐云芳,管晓芹,等. 血清钠、尿素及血氨检测在慢性重型肝炎预后中的评价[J]. 检验医学,2010,25(5):420-421.

[17] 池肇春,亓玉琴,董全红,等. 幽门螺杆菌感染及其相关疾病的诊断与治疗[M]. 北京:军事医学科学出版社,2008:232-242.

[18] 刘仲秋,梁静. 乙型肝炎肝硬化血氨浓度与幽门螺杆菌感染关系[J]. 河北中医,2010,32(12):1910-1911.

[19] 李广鉴,肖文革,张仲慧,等. 幽门螺杆菌感染对肝硬化患者血氨水平的影响[J]. 中国全科医学,2011,14(6):584-585.

[20] 刘会龙,李洪清. 三联疗法根治幽门螺杆菌感染对肝硬化患者血氨浓度的影响[J]. 临床内科杂志,2011,28(3):198.

[21] Ito K, Nakamura M, Todz G, et al. Potential role of Helicobacter pylori in hepatocarcinogenesis[J]. Int J Mol Med,2004,13(2):221-227.

[22] Gasbarrini A, Franceschi F, Armuzzi A, et al. Extradigestive manifestations of Helicobacter pylori gastric infection[J]. Gut,1999,45(Suppl 1):9-12.

[23] 郭巍,赵春明,王冰,等. 检测幽门螺杆菌感染的几种方法的评估比较[J]. 国际检验医学杂志,2008,29(1):77-78.

[24] 薛伟红. 根除 Hp 对肝硬化血氨的影响与肝功能分级的关系[J]. 中国临床实用医学,2010,4(11):128-129.

[25] 姜树中,于明新. 根除幽门螺杆菌对肝硬化患者血氨影响与肝功能分级关系分析[J]. 现代医药卫生,2008,24(4):37-38.

[26] 任永强,陈力强,范公忍,等. 乙型肝炎肝硬化患者幽门螺杆菌感染与血氨水平的关系[J]. 实用医学杂志,2011,27(21):3866-3868.

[27] 蒋兴亮,张晓岚,周京国,等. 血浆对氧磷酯酶 1 活性与肝硬化 Child-Pugh 分级的关系[J]. 国际检验医学杂志,2008,29(10):880-882.

[28] 魏万昆. 肝硬化门脉高压症患者血浆降钙素基因相关肽检测的临床意义[J]. 国际检验医学杂志,2009,30(8):758-759.

[29] 赵明聪,李仲群. 血清钠、尿素及血氨检测在慢性重型肝炎预后中的评价[J]. 中国医药指南,2011,9(16):246-247.

[30] 任新雯,黄立凭,丛竹华,等. 重型肝炎血清钠、氨、甲胎蛋白水平与预后的关系[J]. 山东医药,2011,51(13):45-46.

(收稿日期:2012-03-31)

• 综 述 •

细胞因子在血流感染中作用的研究进展

张 洲 综述,徐元宏[△] 审校

(安徽医科大学第一附属医院检验科,合肥 230032)

关键词:血流感染; 白细胞介素; 干扰素; 肿瘤坏死因子; 转化生长因子

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.11.028

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)11-1342-04

血流感染(BSI)指各种病原微生物(细菌或真菌)和毒素侵入血循环,在血液中繁殖,释放毒素和代谢产物并诱导细胞因子释放引起全身感染、中毒和全身炎症反应,是一种严重的全身感染性疾病,主要包括菌血症、败血症、真菌血症和病毒血症。若少量细菌入血而未引起明显毒血症者称为菌血症,在一定条件下菌血症和败血症之间可以出现相互转化^[1]。尽管各种广谱抗生素不断更新,但 BSI 的发病率、病死率并未得到有

效控制^[2-3]。细胞因子是一类具有生物活性的小分子蛋白或多肽的总称,多数由 Toll 样受体与核因子(NF)- κ B 信号转导途径介导产生与作用^[4],主要包括白细胞介素(IL)、干扰素(IFN)、肿瘤坏死因子(TNF)、转化生长因子(TGF)等。细菌中多种成分均可诱导细胞因子的产生,其中以细菌脂多糖较为常见,对于细胞因子的研究和探讨将有助于 BSI 的诊断和治疗。

[△] 通讯作者,E-mail:xyhong1964@163.com。