

effects on obstetrical complications[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2006, 91(7): 2587-2591.

[13] 陈彦彦, 滕卫平, 单忠艳, 等. 妊娠前半期甲状腺功能减退症的临床流行病学调查[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2008, 24(6): 597-600.

[14] Vaidya B, Anthony S, Bilous M, et al. Detection of thyroid dysfunction in early pregnancy: universal screening or targeted high-risk case finding[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2007, 92(1): 203-207.

[15] Glinier D, Spencer CA. Serum TSH determinations in pregnancy: how, when and why[J]. Nat Rev Endocrinol, 2010, 6(9): 526-529.

[16] 张玉兰, 苏放明. 亚临床甲状腺功能减退合并妊娠的研究进展[J]. 临床医学工程, 2010, 17(2): 154-156.

[17] 刘和莉. 亚临床甲状腺功能异常在妊娠早期妇女检测的临床意义[J]. 四川医学, 2014, 35(2): 256-257.

[18] Negro R, Schwartz A, Gismondi R, et al. Universal screening versus case finding for detection and treatment of thyroid hormonal dysfunction during pregnancy[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2010, 95(4): 1699-1707.

[19] 王秋伟, 黄瑞萍, 朱自强, 等. 不同孕期甲状腺激素水平的纵向序贯研究[J]. 中华检验医学杂志, 2011, 34(1): 36-38.

[20] Stricker R, Echenard M, Eberhart R, et al. Evaluation of maternal thyroid function during pregnancy: the importance of using gestational age-specific reference intervals[J]. Eur J Endocrinol, 2007, 157(4): 509-514.

[21] Mandel SJ, Spencer CA, Hollowell JG. Are detection and treatment of thyroid insufficiency in pregnancy feasible[J]. Thyroid, 2011, 15(1): 44-53.

[22] 卢学勉, 陈良苗, 杨虹, 等. 健康孕妇早中晚孕期甲状腺激素参考值及其变化的研究[J]. 医学研究杂志, 2012, 41(8): 70-73.

[23] 许红, 刘力, 何红美, 等. 冀中南地区妊娠期妇女血清甲状腺激素参考区间研究[J]. 检验医学与临床, 2014, 11(3): 294-296.

[24] 杨小猛, 赵丹, 陈书恩, 等. 正常孕妇妊娠各期甲状腺激素参考范围的建立及其临床意义[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2014, 6(1): 33-36.

[25] Silvio R, Swapp KJ, Laulu SL, et al. Method specific second-trimester reference intervals for thyroid-stimulating hormone and free thyroxine[J]. Clin Biochem, 2009, 42(7/8): 750-753.

[26] Elahi S, Nagra SA. Low maternal iodine intake and early pregnancy hypothyroxinemia: Possible repercussions for children[J]. Indian J Endocrinol Metab, 2014, 18(4): 526-530.

[27] Zha J, Ming D, Jiang Y, et al. Establishment of reference range for thyroid hormones in normal pregnant women in China's coastal area[J]. Clin Exp Obstet Gynecol, 2014, 41(2): 135-140.

[28] Kim S, Park J, Kim HJ, et al. Association between several persistent organic pollutants and thyroid hormone levels in serum among the pregnant women of Korea[J]. Environ Int, 2013, 59(4): 442-448.

[29] Hisada A, Shimodaira K, Okai T, et al. Serum levels of hydroxylated PCBs, PCBs and thyroid hormone measures of Japanese pregnant women[J]. Environ Health Prev Med, 2013, 18(3): 205-214.

(收稿日期: 2015-06-08)

• 综 述 •

8-羟基-2-脱氧鸟苷检测方法及其临床意义研究进展

陈 春 综述, 于嘉屏 审校

(上海迪安医学检验所有限公司, 上海 200433)

关键词: 8-羟基-2-脱氧鸟苷; DNA; 氧化损伤; 参考区间
DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.21.027 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-4130(2015)21-3145-02

氧化损伤标志物有许多种,多数是为脂质过氧化作用而设定的,如丙二醛(MDA)、氧化低密度脂蛋白、MDA 修饰的低密度脂蛋白(LDL)、F₂-异前列腺烷、共轭二烯烃等。通过检测新生成的羰基、酪氨酸和氧化的组氨酸可证实蛋白质的氧化。然而, DNA 氧化标志物很少,其中即包括 8-羟基-2-脱氧鸟苷(8-OHdG)^[1]。DNA 氧化损伤与老化相关退行性疾病,如癌症、心血管疾病、糖尿病等密切相关^[2]。尿液标本易获取,因此临床通常以尿 8-OHdG 水平评价 DNA 氧化损伤程度。

1 8-OHdG 生物学特性

诱导 8-OHdG 生成的因素很多,包括电离辐射、化学致癌物代谢活化,以及细胞正常新陈代谢产生的氧自由基(ROS)直接攻击 DNA 中的脱氧鸟嘌呤,都可使脱氧鸟苷氧化为 8-OHdG。8-OHdG 可被特异性 DNA 修复酶剪切,并经肾脏随尿排泄。尿 8-OHdG 水平反映机体氧化损伤程度,既是个体

接触标志物,又是效应标志物。8-OHdG 一旦逃避了机体的自身修复作用,有可能成为致突变、致畸、致癌的启动因子^[3]。体液 8-OHdG 水平不受饮食等其他因素的影响,因此是评价 DNA 氧化损伤和氧化应激状态的敏感指标和生物标志物。

2 8-OHdG 检测方法

可用于检测不同类型标本 8-OHdG 水平的方法较多,现就几种主要方法简单介绍如下。

2.1 高效液相色谱(HPLC) HPLC 可用于组织、淋巴细胞和血浆 8-OHdG 水平检测。为检测组织和淋巴细胞 8-OHdG 水平,8-OHdG 必须保持与酶形成复合物,从 DNA 中释放进入可溶性化合物,再采用 HPLC 进行定量检测。HPLC 检测的优势在于可同时测定数种氧化产物,也可用于确定未经酶消化的血浆和尿游离 8-OHdG 水平,避免了测定 8-OHdG 单体所需进行的复杂的提取和分离步骤^[4-5]。

2.2 串联质谱 串联质谱法无需进行抽提即可直接确定尿 8-羟基鸟苷物种类。一般多采用 HPLC-串联质谱系统直接检测尿标本^[6]。

2.3 酶联免疫吸附法(ELISA) 虽已经过改进,但 HPLC-串联质谱法检测尿 8-OHdG 及其相似物的操作步骤仍较为复杂。采用 ELISA 检测游离 8-OHdG 则较为简便,易于操作。有研究采用 ELSIA、HPLC 检测尿 8-OHdG,证实两种方法检测结果有一定的相关性(相关系数为 0.833 3, $P < 0.05$)^[7]。

3 尿 8-OHdG 正常参考范围

有研究以中国台湾地区体检健康人群(年龄 20~70 岁)为受试对象,建立了 ELISA 检测尿 8-OHdG 的正常参考范围^[8]。该研究同时发现 ROS 也可由包括线粒体在内的内源性细胞成分产生,因此建立的是反映氧化修饰 DNA 及 RNA 的正常参考范围。该研究建立的尿 8-OHdG 正常参考范围为:女性(43.9 ± 42.1) ng/mg 肌酐($n=486$),男性(29.6 ± 24.5) ng/mg 肌酐($n=548$)。

4 8-OHdG 的临床意义

内源性或外源性因素诱导产生的 ROS 都可攻击细胞中的脂质、蛋白及核酸、线粒体 DNA。8-OHdG 作为氧化的 DNA 核苷之一,是最常用的反映 DNA 氧化损伤的标志物之一。DNA 损伤修复后,8-OHdG 随尿液排出。因此,尿 8-OHdG 不仅是反映细胞氧化压力的标志物,也是癌症、动脉粥样硬化及糖尿病的风险因子。

4.1 致癌作用 在核酸 DNA 中,发生于鸟嘌呤 8 位点的氧化作用是最常见的诱变损伤。DNA 氧化损伤与基因突变和癌变关系密切,因此 8-OHdG 具有一定的致癌作用。8-OHdG 可导致碱基错配、异常修饰及邻近残基读取错误,例如 8-OHdG 水平异常的细菌及酵母细胞自发性 GC-TA 置换突变频率异常升高。细胞内存在多种酶修复系统,以消除或修复 DNA 氧化损伤^[9]。DNA 氧化损伤如未被修复,可导致基因突变,增加癌变风险^[9]。对数恶性细胞存在高水平的 DNA 氧化损伤,且肿瘤细胞更倾向于产生大量的过氧化氢。因此,各种肿瘤组织表现为 8-OHdG 水平增高。(1)炎症:慢性炎症组织可持续产生 ROS,诱发细胞核及线粒体 DNA 氧化损伤,导致 8-OHdG 的堆积。类风湿关节炎、糖尿病患者体内均存在这一现象,而该现象与各种癌前病变有关。通过抑制炎症组织产生 ROS,可降低组织中的 8-OHdG 水平,降低癌变风险^[10]。(2)肿瘤: Musarrat 等^[11]的研究证实,细胞核 DNA 中 8-OHdG 的累积可增高乳腺癌发病风险,8-OHdG 水平可用于评估发病风险。该研究证实,恶性乳腺组织(浸润性导管癌)8-OHdG 水平较正常组织升高 9.76 倍($P < 0.05$),且与正常乳腺上皮细胞株相比,原代培养的乳腺癌细胞内源性 8-OHdG 水平升高 12.9 倍($P < 0.05$)。

4.2 动脉粥样硬化 ROS 可诱导粥样硬化病变的动脉壁细胞增生、肥大,生长停滞、凋亡和 LDL 氧化的发生。Martinet 等^[12]发现,与相邻的未发生粥样硬化病变的乳腺动脉相比,动脉粥样硬化斑块针对 8-OHdG 的免疫反应水平增高;在各种类型的斑块细胞中(包括巨噬细胞、平滑肌细胞和内皮细胞),针对 8-OHdG 的免疫反应性均较强,且 DNA 修复酶的过度表达与增殖细胞核抗原水平升高有关。由此可见,在动脉粥样硬化斑块中,DNA 氧化损伤及修复极为明显。

4.3 糖尿病 氧化应激是 1、2 型糖尿病的主要发病机制之一,同时也是糖尿病并发症的诱发因素之一。葡萄糖氧化可促进蛋白质的糖基化,而糖基化蛋白质的氧化降解可导致 ROS 水平发生异常,最终促进糖尿病并发症的发生、发展。因此,8-OHdG 也被认为是反映糖尿病患者体内 DNA 氧化损伤的敏感标志物^[13]。

参考文献

- [1] Cooke MS, Evans MD, Burd RM, et al. Induction and excretion of ultraviolet-induced 8-oxo-2'-deoxyguanosine and thymine dimers in vivo: implications for PUVA[J]. J Inves Dermatol, 2001, 116(2): 281-285.
- [2] Halliwell B, Gutteridge J. Free radicals in biology and medicine [M]. Oxford, UK: Oxford University Press, 1999.
- [3] Colwell BA, Morris Jr DL. Formation of the oxidative damage marker 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine from the nucleoside 2'-deoxyguanosine: parameter studies and evidence of Fe(II) binding [J]. J Inorg Biochem, 2003, 94(1): 100-105.
- [4] Germadnik D, Pilger A, Rudiger H. Assay for the determination of urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection [J]. Biomed Sci Appl, 1997, 689(2): 399-403.
- [5] Lengger C, Schoch G, Topp H. A high-performance liquid chromatographic method for the determination of 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine in urine from man and rat [J]. Anal Biochem, 2000, 287(1): 65-72.
- [6] Weimann A, Belling D, Poulsen HE. Quantification of 8-oxo-guanine and guanine as the nucleobase, nucleoside and deoxynucleoside forms in human urine by high-performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry [J]. Nucleic Acids Res, 2002, 30(2): 125-130.
- [7] Tsuboi H, Kouda K, Takeuchi H, et al. 8-hydroxydeoxyguanosine in urine as an index of oxidative damage to DNA in the evaluation of atopic dermatitis [J]. Brit J Dermatol, 1998, 138(6): 1033-1035.
- [8] Chiou CC, Chang PY, Chan EC, et al. Urinary 8-hydroxydeoxyguanosine and its analogs as DNA marker of oxidative stress: development of an ELISA and measurement in both bladder and prostate cancers [J]. Clinica Chimica Acta, 2003, 334(1): 87-94.
- [9] Mazurek A, Berardini M, Fishel R. Activation of human MutS homologs by 8-oxo-guanine DNA damage [J]. J Biol Chem, 2002, 277(10): 8260-8266.
- [10] Zhuang T, Han H, Yang Z. Iron, oxidative stress and gestational diabetes [J]. Nutrients, 2014, 6(9): 3968-3980.
- [11] Musarrat J, Arezina-Wilson J, Wani A. Prognostic and aetiological relevance of 8-hydroxyguanosine in human breast carcinogenesis [J]. Euro J Cancer, 1996, 32(7): 1209-1214.
- [12] Martinet W, Knaapen MW, De Meyer GR, et al. Elevated levels of oxidative DNA damage and DNA repair enzymes in human atherosclerotic plaques [J]. Circulation, 2002, 106(8): 927-932.
- [13] Kanauchi M, Nishioka H, Hashimoto T. Oxidative DNA damage and tubulointerstitial injury in diabetic nephropathy [J]. Nephron, 2002, 91(2): 327-329.