

N-乙酰半胱氨酸对重型病毒性肝炎患者血清一氧化氮水平的影响

潘红英,童永喜,娄国强,俞秀丽,卢德荣,吴惟一(杭州市第六人民医院,浙江 杭州 310014)

摘要:目的 探讨一氧化氮(NO)在慢性重型病毒性肝炎(慢重肝)早期中的作用以及 N-乙酰半胱氨酸(NAC)治疗重肝对 NO 水平的影响,为重肝提供新的治疗方法。方法 采用夹心酶联免疫吸附法(ELISA)分析 65 例重肝患者血清 NO 的水平表达,以及动态变化;通过 NAC 治疗组(29 例)与综合治疗组(36 例)的自身治疗前、后及治疗后两组中疗效的对比,观察 NAC 治疗 30d 后对 NO 水平表达的变化。结果 重肝患者血清 NO 水平较正常对照组有非常显著性增高。NAC 治疗组血清 NO 自身治疗前、后比较有非常显著性意义。对 NAC 治疗组 NO 与 SB、PTA 相关性分析发现,治疗前、后 NO 与 SB 改变均呈显著正相关,与 PTA 改变均呈显著负相关。结论 NO 水平变化与重肝损伤程度密切相关,可作为判定重肝早期指标之一;NAC 可降低 NO 水平,NAC 治疗重肝有效。

关键词: N-乙酰半胱氨酸;重型病毒性肝炎;一氧化氮

中图分类号:R975;R969.4 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2004)03-0255-03

Effect of N-acetylcystein on serum nitric oxide in patients with fulminant hepatic failure

PAN Hong-ying, TONG Yong-xi, LUO Guo-qiang, YU Xiu-li, LU De-rong, WU Wei-yi (The 6th Hospital of Hangzhou, Hangzhou 310014, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To determine whether there was a correlation of serum nitric oxide(NO) level and to assess whether N-acetylcystein (NAC) may affect expression of NO with fulminant hepatic failure(FHF) at earlier stage. **METHOD** Analysis of serum NO in total of 65 patients were performed by using double antibodies (ELISA). Patients with FHF were grouped into NAC (n = 29) and combination therapy (n = 36), and then sub-grouped into responsive, non-responsive, based on patients clinical status. Alteration of NO was determined with comparison of self control in these two groups between before NAC treatment and after treatment for 30 days, and control group (n = 30). **RESULTS** There was a significant increase of serum NO. A significant change of serum NO was found after NAC treatment. NO was correlated positively with SB, and negatively with PTA following the initiation of treatment for 30 days. **CONCLUSION** The change of serum NO was closely related with hepatic dysfunctions and can offer a reference to the prognosis of patients with FHF at earlier stage. Serum NO level may be declined by NAC. FHF patients may benefit from the use

基金项目:浙江省杭州市科委资助项目(200123B28),该项目获 2003 年浙江省医药卫生科技创新奖二等奖。

作者简介:潘红英(1967-),女,浙江人,副主任医师,科主任,从事临床传染病工作。

近年研究已表明,过量一氧化氮(nitric oxide, NO)可致肝损伤^[1],而 N-乙酰半胱氨酸(N-acetylcystein, NAC)可抑制 NO 的产生^[2],但 NAC 治疗重型病毒性肝炎(重肝)对 NO 的影响笔者在国内外尚未见报道。本研究采用夹心酶联免疫吸附法(ELISA 法)分析 65 例慢重肝(早期)患者血清 NO 的水平表达,以及动态变化;通过 NAC[本院制剂,批号为(浙)卫制试字(1999)第 0767 号],治疗组与综合治疗组的自身治疗前后及治疗后两组中疗效的对比,观察 NAC 治疗后对 NO 水平表达的变化。旨在探索 NO 在重肝早期中的作用以及 NAC 治疗重肝对 NO 水平的影响,为重肝提供新的治疗方法。

1 资料和方法

1.1 研究对象

本组 65 例慢重肝(早期)患者均为本院住院,其中男 51 例,女 14 例,年龄 18~69 岁。65 例中 HBV 感染者 59 例,HBV,HEV 重叠感染者 4 例,HBV,HDV 重叠感染者 2 例。其诊断均符合 2000 年西安全国传染病与寄生虫病学术会议修订的诊断标准^[3]。排除治疗前心、肺等合并症。健康献血员为正常对照组。分组方法:根据治疗方法的不同将 65 例慢重肝(早期)分为二组:NAC 治疗组(A 组)和综合治疗组(B 组)。①A 组:29 例在综合治疗基础上加用 NAC 治疗,采用 3%NAC250 mL 静滴每日 1 次,30d。②B 组:36 例用综合治疗,30d。③正常对照组(C 组):健康献血员 30 例。A、B 两组综合用药相同:予肝力新针剂、门冬氨酸钾镁针剂、茵栀

表 1 A、B 两组间一般情况比较($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 The comparison of general information between group A and B($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	男	女	年龄(岁)	SB($\mu\text{mol/L}$)	ALT(U/L)	A(g/L)	CHO($\mu\text{mol/L}$)	PTA(%)
A 组	29	24	5	39.72 \pm 1.96	311.22 \pm 19.30	653.03 \pm 137.29	33.87 \pm 0.68	2.19 \pm 0.14	32.00 \pm 1.09
B 组	36	27	9	37.11 \pm 1.97	302.06 \pm 18.50	661.41 \pm 54.90	33.29 \pm 1.24	2.21 \pm 0.19	32.87 \pm 1.34

2.2 治疗前后血清 NO 水平的比较

NAC 治疗组和综合治疗组治疗前患者血清 NO 水平无明显差异,但均非常显著高于健康对照组(60.74 \pm 4.25)($P < 0.001$);治疗后 NAC 治疗组 NO 的水平比治疗前非常显著下降($P < 0.001$),而综合治疗组治疗前后则无显著性差异($P > 0.05$),见表 2。

表 2 A、B 两组患者治疗前后血清 NO 水平比较($\bar{x} \pm s$)

Tab 2 The comparison of serum NO level between A and B before and after treatment($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	治疗前 NO($\mu\text{mol/L}$)	治疗后 NO($\mu\text{mol/L}$)
A 组	29	191.57 \pm 6.95 ^{1,4)}	112.34 \pm 12.57 ²⁾
B 组	36	206.18 \pm 10.16 ¹⁾	181.48 \pm 15.08 ³⁾

注:与健康对照组比较,¹⁾ $P < 0.001$;与 B 组比较,⁴⁾ $P > 0.05$;与治疗前后比较,²⁾ $P < 0.001$,³⁾ $P > 0.05$;治疗后 A 组与 B 组比较, $P < 0.001$

Note:compared with the control group,¹⁾ $P < 0.001$;compared with

黄针剂或苦黄针剂退黄。在护肝、降酶等一般治疗的基础上,适当用白蛋白和血浆等支持治疗。

1.2 疗效判定

疗程结束后,总胆红素(SB)下降 50%以上,凝血酶原活动度(PTA)70%以上,谷丙转氨酶(ALT)下降 50%以上为显效;SB 下降 $< 50\%$ 、PTA 50%~70%、ALT 下降 30%为有效;SB 不降或上升,PTA $< 50\%$ 或肝昏迷、出血、肝肾综合征为无效^[4]。本实验有效组包括显效和有效者,无效组包括无效者。

1.3 实验室检查

每例共收集空腹静脉血 2 次,每次 10 mL 即治疗前与治疗 30d,除检测 PTA,SB,ALT,白蛋白(A)和总胆固醇(CHO)外,分离血清 200 μL 置于 -20°C 的冰箱中冻存备检。NO 试剂盒由深圳晶美生物工程公司供应,严格按试剂盒说明书操作。

1.4 统计学处理

采用 Stata 统计软件。计量数据采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验,变量间相关的显著性采用直线回归分析。

2 结果

2.1 治疗前一般情况比较

NAC 治疗组与综合治疗组的慢重肝(早期)患者治疗前在性别、年龄、SB,ALT,A,CHO 和 PTA 方面差别无显著性差异($P > 0.05$)。(见表 1)

group B,⁴⁾ $P > 0.05$; comparison of before and after treatment,²⁾ $P < 0.001$,³⁾ $P > 0.05$; comparison between group A and B after treatment, $P < 0.001$

2.3 NAC 治疗前后有效组与无效组血清 NO 水平比较

比较 NAC 治疗治疗后有效组血清 NO 水平比治疗前的水平下降,有显著性差异($P < 0.001$),提示随病情好转而滴度下降,而比较治疗后无效组血清 NO 水平比治疗前的水平上升,有显著性差异($P < 0.05$),提示随病情恶化而滴度上升;但治疗前后比较有效组与无效组血清 NO 水平均有显著性差异,即无效组血清 NO 水平较有效组血清 NO 水平高,见表 3。

表 3 A 组治疗前后有效组与无效组血清 NO 水平比较($\bar{x} \pm s$)

Tab 3 The comparison of serum NO level in effective group and non-effective group in group A before and after treatment($\bar{x} \pm s$)

组别	有效组 NO($\mu\text{mol/L}$) ($n=21$)	无效组 NO($\mu\text{mol/L}$) ($n=8$)
治疗前	196.30 + 6.10	179.17 + 19.75
治疗后	74.18 + 4.86	212.50 + 111.59
<i>P</i>	< 0.001	< 0.05

2.4 NAC 治疗前、后患者血清 NO 变化与 SB、PTA 的关系

治疗前 NO 与 SB 呈正相关 ($r=0.4502, P<0.05$), NO 与 PTA 呈显著的负相关 ($r=-0.5430, P<0.01$)。治疗 30d 后, NO 与 SB 仍呈显著正相关 ($r=0.9050, P<0.001$), NO 与 PTA 呈显著的负相关 ($r=-0.7084, P<0.001$), 见表 4。

表 4 A 组治疗前、后患者血清 NO 与 SB、PTA 的水平变化 ($\bar{x}\pm s$)

Tab 4 The relation of serum between NO and SB、PTA levels in group A before and after treatment ($\bar{x}\pm s$)

指标	治疗前	治疗后
NO($\mu\text{mol/mL}$)	191.58 \pm 6.95	112.34 \pm 12.56
SB($\mu\text{mol/L}$)	311.22 \pm 13.95	211.99 \pm 202.26
PTA (%)	32.00 \pm 5.89	49.99 \pm 16.60

3 讨论

研究证明^[1], 病毒可通过 IFN γ 、TNF- α 等多种细胞因子诱导肝实质细胞、枯否细胞、窦状隙内皮细胞产生大量 NO, 而 NO 可抑制肝细胞合成蛋白, 造成线粒体损伤, 即过量 NO 可致氧化性肝损伤。本实验经分析慢重肝(早期)患者血清 NO 的水平非常显著高于健康者, 且 NO 与 SB 呈显著正相关, 与 PTA 呈显著的负相关, 提示随病情的加重即 SB 上升、PTA 的下降而 NO 水平滴度上升, 随病情好转即 SB 下降、PTA 的上升而 NO 水平滴度下降, 由此说明慢重肝(早期)患者血清 NO 水平高低在一定程度上反映了肝细胞受损害的轻重, 可作为判定慢重肝(早期)的指标之一。

而能作为 NO 供体的 NAC 在国外多用于治疗药物性重型肝炎^[5], 而治疗重肝对 NO 的影响在国内外尚未见报道。NAC 抗氧化剂一种, 是谷胱甘肽(GSH)的前体物质, 能对抗氧化自由基引起的组织损伤, 且还能保持细胞内弹性蛋白酶抑制剂不被氧自由基灭活, 从而起到保护机体作用。这与本实验结果相一致, 即经 NAC 治疗后慢重肝(早期)患者血清 NO 水平随病情好转而滴度下降, 提示了 NAC 对慢重肝(早期)患者血清 NO 水平表达有明显抑制作用, 减轻了肝脏损伤。这种作用可能是 NAC 通过抑制 TNF- α 、IFN γ 等细胞因子诱导产生的 NO 和 iNOS mRNA, 及抑制 NF- κ B 的活性, 从而阻止 NO 的来源^[2], 减轻炎症反应, 减轻肝脏损害, 因而 NAC 治疗重肝有一定的疗效, 值得临床进一步推广应用。

参考文献

- [1] Packer MA, Porteous CM, Murphy MP. Superoxide production by mitochondria in the presence of nitric oxide forms peroxy-nitrite[J]. *Biochem Mol Biol Int*, 1996, 40:527.
- [2] Rota C, Bergamini S, Daneri F, et al. N-acetylcysteine negatively modulates nitric oxide production in endotoxin-treated rats through inhibition of NF-kappaB activation[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2002, 4(1):221.
- [3] 病毒性肝炎防治方案[J]. *中华传染病杂志*, 2001, 19(1):56-62.
- [4] 何健军, 黄肪. 静脉注射乙酰半胱氨酸治疗慢性重型病毒性肝炎的临床观察[J]. *中国现代应用药学杂志*, 2000, 17(4):327.
- [5] Valdivia Ag, Martinez A, Damian FJ, et al. Efficacy of N-acetylcysteine to reduce the effects of aflatoxin B1 intoxication in broiler chickens[J]. *Poult Sci*, 2001, 80(6):727.