

HBV 感染者 DNA 载量分层与血小板相关参数关系

邵璇璇^{1,2}, 贾建安¹, 吴黎黎¹, 黄其峰¹, 管世鹤²

摘要 目的 通过对性别、年龄、乙型肝炎病毒(HBV) DNA 载量等因素与血小板(PLT)参数的相关性进行分析,探讨 PLT 参数变化在临床治疗中的意义。方法 对确诊为 HBV 感染的无症状乙肝患者的 HBV DNA 载量及 PLT 参数进行检测和统计学分析。结果 不同年龄、不同 HBV DNA 载量对 PLT 和 PCT 计数有显著影响。其中与相同年龄组的健康组相比,HBV 感染者 PLT 和血小板比容(PCT)计数显著降低,并以高龄组(>45 岁)变化最为显著。PLT 和 PCT 伴随 HBV DNA 载量的升高呈现显著降低趋势。同时,相关性分析表明 HBV 感染者高龄组的 PLT 和 PCT 计数与 HBV DNA 载量呈显著负相关。结论 PLT 和 PCT 在高于 45 岁的 HBV 感染者中随着 HBV DNA 载量的升高而降低,其变化幅度对判断 HBV 的复制具有重要的临床参考意义。

关键词 乙型肝炎病毒; DNA; PLT; 相关性

中图分类号 R 512.6; R 446.1

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2018)06-0976-04
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.06.032

乙型肝炎患者受到感染病毒后,部分患者可转为慢性肝炎,如未经合理有效的治疗则会进一步可发展为肝硬化,再转为肝癌最后导致死亡,因此是我国当前流行和危害程度较为严重的疾病之一。近年的研究^[1-2]显示,乙型肝炎患者常伴随着血小板(blood platelet, PLT)数量下降的现象,其主要原因可能是乙型肝炎病毒通过对骨髓巨核细胞的抑制造成其成熟不良而引起的。因此,对 PLT、血小板比容(thrombocytocrit, PCT)、平均血小板体积(mean platelet volume, MPV)、血小板分布宽度(platelet distribution width, PDW)以及大血小板比率(platelet larger cell ratio, P-LCR)等 PLT 相关参数的检测和

分析成为了慢性乙型肝炎患者治疗决策和预后判断重要参考。尽管目前关于乙型肝炎与 PLT 参数的相关研究较多^[3-4],但对于不同乙型肝炎病毒 DNA (hepatitis B virus DNA, HBV DNA)载量以及不同性别和年龄与 PLT 参数变化关系的报道相对较少。该研究通过对 169 例无症状乙肝携带者的 HBV DNA 载量、性别和年龄与 PLT 相关参数进行相关性分析,明确 PLT 参数变化在临床治疗中的意义。

1 材料与方法

1.1 病例资料 选择 2016 年 4 月~2016 年 8 月解放军第 105 医院门诊及住院的无症状乙肝携带者 169 例,其中男 94 例,女 75 例,排除其他类型肝炎及血液系统疾病。根据不同 HBV DNA 载量以及不同年龄分别进行了分类,检测其 PLT 各参数指标和 HBV DNA,并按照 HBV DNA 载量分为 3 组: $<10^3$ IU/ml, $10^3 \sim 10^5$ IU/ml, $>10^5$ IU/ml。同时选取了 250 例健康体检者作为对照,按照年龄和是否乙肝携带分为对照低龄组(健康, ≤ 45 岁)、对照高龄组(健康, >45 岁)、阳性低龄组(乙肝携带, ≤ 45 岁)和阳性高龄组(乙肝携带, >45 岁)4 组。

1.2 主要仪器与试剂 HBsAg 采用苏州新波生物技术有限公司的时间分辨荧光定量仪进行检测, HBV DNA 检测试剂购自厦门安普利公司,仪器为厦门安普利 GeneLight9800 PCR 仪, PLT 参数采用 Sysmex XE-2100 全自动血细胞分析仪及其配套试剂检测。

1.3 检测方法 实时荧光定量 PCR 检测 HBV DNA 下限为 500 copy/ml。按照仪器和试剂说明书操作并每日做质控对照,采用全自动血细胞分析仪检测 PLT 参数。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 19.0 软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多因素不同水平对观测变量的影响分析采用多因素方差分析法,多组间均数比较采用单因素方差分析最小显著差异法(LSD),变量间相互关系采用 Pearson 相关分析法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2018-01-25 接收

基金项目: 安徽省卫计委全科医学临床科研课题(编号: 2016QK014); 安徽医科大学第二附属医院“火花计划”科研项目(编号: 2015hjh06)

作者单位: ¹ 解放军第 105 医院检验科, 合肥 230031

² 安徽医科大学第二附属医院检验科, 合肥 230601

作者简介: 邵璇璇,女,硕士研究生;

管世鹤,男,教授,博士生导师,责任作者, E-mail: shi-heguan@126.com

2 结果

2.1 HBV DNA 载量、性别、年龄等对 PLT 参数的影响 对 HBV 感染者 DNA 载量、性别以及年龄对 PLT 参数的影响进行了多因素方差分析,见表 1(仅列出差异具有统计学意义的 PLT 参数),不同 HBV DNA 载量、不同年龄对 PLT 和 PCT 有显著影响($P < 0.05$),但性别对 PLT 和 PCT 参数的影响无统计学意义。

表 1 HBV 感染者相关因素对 PLT 参数影响

影响因素	PLT		PCT	
	F 值	P 值	F 值	P 值
DNA	8.48	<0.05	9.30	<0.05
性别	2.15	0.14	3.13	0.08
年龄	10.34	<0.05	9.17	<0.05
性别 + DNA	8.69	<0.05	7.45	<0.05
性别 + 年龄	1.07	0.30	0.49	0.49
年龄 + DNA	1.29	0.28	0.62	0.54

2.2 年龄对 HBV 感染者 PLT 相关参数影响的差异分析 对健康对照和 HBV-DNA 阳性人群按性别和年龄分组后,分析了不同年龄的 PLT 相关参数的差异。结果表明:HBV 阳性感染者的 PLT 相关参

数与相同年龄的健康对照组相比,PLT、PCT 以及 P-LCR 参数在老年组中均存在显著差异(表 2、3),其它参数在不同的年龄组中差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.3 不同 HBV DNA 载量对 PLT 相关参数影响的差异分析 根据 HBV DNA 载量,将 HBV 阳性感染者分为 3 组,进一步对不同 HBV DNA 载量与 PLT 相关参数的差异进行了分析。从结果可以看出,随着 HBV DNA 载量的升高,其 PLT 和 PCT 参数随之降低,差异达到显著水平($P < 0.05$),PDW 在 DNA 高载量组中显著性降低,而 MPV 和 P-LCR 参数变化并不显著(表 4)。

2.4 HBV DNA 载量与 PLT 相关参数的线性相关性分析 按照不同年龄组,分别对 HBV 阳性患者中 HBV DNA 载量与 PLT 相关参数的线性相关性进行了分析。结果表明在低龄组 HBV 感染者中,PLT 相关参数的变化与 HBV DNA 载量均无显著相关关系(表 5);在老年组患者中,HBV DNA 载量与 PLT 和 PCT 参数变化呈显著负相关关系,而 MPV、PDW 和 P-LCR 则无显著相关关系,与以上分析结果较为一致。

表 2 男性健康对照组与 HBV 感染者的 PLT 参数比较($\bar{x} \pm s$)

组别	PLT($\times 10^9/L$)	PCT(L/L)	MPV(fL)	PDW(fL)	P-LCR(%)
对照低龄	199.02 $\pm$ 35.26	0.21 $\pm$ 0.03	10.48 $\pm$ 0.65	12.27 $\pm$ 1.48	28.35 $\pm$ 4.76
对照高龄	189.89 $\pm$ 39.44	0.20 $\pm$ 0.04	10.57 $\pm$ 0.75	12.63 $\pm$ 1.70	29.04 $\pm$ 5.31
阳性低龄	176.29 $\pm$ 54.12*	0.19 $\pm$ 0.06	10.70 $\pm$ 1.70	13.45 $\pm$ 2.40*	31.85 $\pm$ 7.33*
阳性高龄	165.07 $\pm$ 61.44*#	0.18 $\pm$ 0.05*#	11.00 $\pm$ 1.31*	13.53 $\pm$ 3.06*	32.52 $\pm$ 9.66*#

与对照低龄组比较: * $P < 0.05$; 与对照高龄组比较: # $P < 0.05$

表 3 女性健康对照组与 HBV 感染者的 PLT 参数比较($\bar{x} \pm s$)

组别	PLT($\times 10^9/L$)	PCT(L/L)	MPV(fL)	PDW(fL)	P-LCR(%)
对照低龄	194.45 $\pm$ 38.16	0.21 $\pm$ 0.04	10.64 $\pm$ 0.66	12.70 $\pm$ 1.56	29.57 $\pm$ 4.72
对照高龄	192.65 $\pm$ 37.93	0.20 $\pm$ 0.04	10.63 $\pm$ 0.77	12.44 $\pm$ 1.47	29.58 $\pm$ 5.54
阳性低龄	192.30 $\pm$ 39.94	0.21 $\pm$ 0.04	10.86 $\pm$ 1.01	13.42 $\pm$ 2.63*#	31.17 $\pm$ 7.43
阳性高龄	162.44 $\pm$ 43.79* [#] ^Δ	0.18 $\pm$ 0.04* [#] ^Δ	11.19 $\pm$ 1.10* [#]	14.04 $\pm$ 2.87* [#]	33.89 $\pm$ 8.34* [#]

与对照低龄组比较: * $P < 0.05$; 与对照高龄组比较: # $P < 0.05$; 与阳性低龄组比较: ^Δ $P < 0.05$

表 4 HBV DNA 载量分层与 PLT 相关参数差异分析($\bar{x} \pm s$)

HBV-DNA 载量(IU/ml)	n	PLT($\times 10^9/L$)	PCT(L/L)	MPV(fL)	PDW(fL)	P-LCR(%)
<10 ³	59	191.59 $\pm$ 52.72	0.21 $\pm$ 0.05	11.02 $\pm$ 1.11	13.67 $\pm$ 2.63	32.56 $\pm$ 8.10
10 ³ ~ 10 ⁵	62	172.87 $\pm$ 41.15*	0.19 $\pm$ 0.04*	10.82 $\pm$ 1.03	13.07 $\pm$ 2.35	31.18 $\pm$ 7.92
>10 ⁶	48	156.25 $\pm$ 58.09*	0.17 $\pm$ 0.06*	10.90 $\pm$ 1.88	14.12 $\pm$ 3.19*	33.23 $\pm$ 8.74

与 <10³ 组比较: * $P < 0.05$; 与 10³ ~ 10⁵ 组比较: # $P < 0.05$

表5 HBV DNA 载量与 PLT 相关参数的相关分析(r 值)

组别	PLT	PCT	MPV	PDW	P-LCR
低龄	-0.08	-0.06	0.06	0.09	0.10
高龄	-0.24*	-0.24*	0.09	0.07	0.09

* $P < 0.05$

3 讨论

PLT 是由骨髓造血干细胞中的巨核细胞发育而成,PLT 相关参数(PLT、PCT、MPV、PDW 和 P-LCR)是反映血小板生成与衰亡、诊断血小板相关疾病的重要参数和依据^[2,5]。随着全自动血细胞分析仪等检测技术的快速发展,使临床上对 PLT 相关参数的检测更加方便快捷,为评估各种疾病的 PLT 生成与功能、巨核细胞增生的动态变化提供了可靠的方法^[6]。

PLT 数量的降低是 HBV 感染患者中常见的并发症,关于 HBV 感染引起 PLT 减少的原因较为复杂。近年来的一些研究^[7]表明,骨髓细胞的生长会受到 HBV DNA 的抑制,并且拷贝数与抑制效应有一定的剂量依赖关系。因此,对 PLT 相关参数的测定有助于判断 HBsAg 阳性者的病情程度和愈后情况^[8]。本研究通过将年龄和性别因素纳入分析,对不同 HBV DNA 载量与 PLT 相关参数进行差异分析,结果显示不同 HBV DNA 载量和不同年龄对 PLT 和 PCT 均有显著影响,而性别对 PLT 参数的影响并不显著。进一步的分析显示,在高龄组的 HBV 感染人群中,PLT 和 PCT 参数较对照组显著降低,差异达到显著水平。同时,随着 HBV DNA 载量的升高,PLT 和 PCT 参数的降低同样达到显著差异水平。

HBV DNA 是判断 HBV 复制和传染性的金标准。本文研究表明,HBV DNA 载量与 PLT 参数之间存在着一定的关系。HBV DNA 载量越大,对巨核细胞的抑制作用可能就越强,进而可能导致 PLT 的显著减少,这与有关的报道也较为一致。如施士宇^[9]通过临床统计发现肝炎病毒对骨髓巨核细胞具有明显抑制作用进而导致 PLT 减少;张欣等^[10]

通过对临床 250 例肝病患者进行统计分析,发现肝病的发生程度与 PLT 相关参数异常正相关。PLT 和 PCT 降低与 HBV DNA 载量的升高在 45 岁以上的高龄人群中有着密切的关系,其可能原因是 HBV DNA 载量对骨髓巨核细胞分化发育具有抑制或破坏作用,而在低于 45 岁的 HBV 感染者人群中并无相关关系,这可能与不同年龄人群中骨髓代偿功能差异引起的。PLT 和 PCT 只在高龄组患者中与 HBV DNA 载量呈显著负相关,说明骨髓抑制并非 HBV 感染人群 PLT 降低的唯一原因。因此,HBV DNA 与 PLT 参数之间的关系仍有待进一步研究与探讨。

因此,对乙肝患者临床治疗不仅要分析 HBV DNA 载量的变化,同时还应检测患者的 PLT 相关参数,有利于临床了解患者的病情及预后,为患者制定最佳治疗方案。

参考文献

- [1] Park J H, Choi E A, Cho E W, et al. Detection of cellular receptors specific for the hepatitis B virus preS surface protein on cell lines of extrahepatic origin [J]. *Biochem Biophys Res Commun* 2000, 277(1): 246-54.
- [2] 田艳霞. 浅析血小板计数临床应用及影响因素[J]. *世界最新医学信息文摘* 2015, 15(65): 185.
- [3] 马岳. HBV、HCV 感染影响红细胞、血小板指数的差异[J]. *检验医学* 2006, 21(6): 673-5.
- [4] 丁胜楠, 杨伟民, 牛俊奇. 肝癌合并肝硬化患者血小板参数的变化及影响因素[J]. *临床肝胆病杂志* 2014, 30(6): 556-9.
- [5] 石雁梅, 兰英华, 单蕾, 等. 乙型肝炎病毒感染对造血干细胞活性的影响[J]. *中华传染病杂志* 2008, 26(4): 197-201.
- [6] 邓懋清. 血小板功能检测及其临床应用[J]. *中国医药指南*, 2008, 6(17): 148-50.
- [7] Steinberg H S, Bouffard P, Trépo C, et al. *In vitro* inhibition of hemopoietic cell line growth by hepatitis B virus[J]. *J Virol* 1990, 64(6): 2577-81.
- [8] 朱莉, 王海英. HBsAg 阳性患者血小板参数测定的意义[J]. *青海医药杂志* 2009, 39(10): 54-5.
- [9] 施士宇. 慢性乙型病毒性肝炎合并骨髓抑制 3 例[J]. *世界华人消化杂志* 2008, 16(9): 1024-5.
- [10] 张欣, 闫惠平. 病毒性肝炎患者 250 例血小板 4 项参数临床分析[J]. *中华医学实践杂志* 2005, 4(4): 351-2.

The relationship of HBV DNA loads and platelet parameters in hepatitis B patients

Shao Xuanxuan^{1,2}, Jia Jian'an¹, Wu Lili¹, et al¹Dept of Clinical Laboratory, The 105th Hospital of People's Liberation Army Hefei 230031;²Dept of Clinical Laboratory, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University Hefei 230601)

Abstract Objective To investigate the clinical significance of platelet parameters to antiviral therapy, the correla-

网络出版时间: 2018-5-23 14:14 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20180522.1500.033.html>

◇技术与方法◇

肌肽在体外氧化反应中的作用

章诗琪, 夏莉, 章秋

摘要 该研究分别以辣根过氧化物酶(HRP)或FeCl₃为催化剂,在蓝四氮唑比色法(MTT)、3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)及鲁米诺反应系统中分别评估肌肽对氧化反应的作用。在鲁米诺反应中,肌肽起到促氧化的作用;在TMB系统中,肌肽起中性作用;而在其他氧化系统中,肌肽是一种抗氧化剂。因此,肌肽是促氧化还是抗氧化性质,取决于底物的性质。

关键词 肌肽; 抗氧化作用; 促氧化作用; 体外研究

中图分类号 R 977.4

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2018)06-0979-05

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.06.033

肌肽是一种由β-丙氨酸和组氨酸组成的二肽(histidine containing dipeptides, HCD),是一种水溶性的晶体物质。肌肽具有抗氧化、抗糖基化、抗炎、抗增殖等多种生物学作用^[1]。在肌肽的众多保护性作用中,抗氧化功能是最早被发现,也是最为重要的作用。肌肽的保护性作用多是基于其抗氧化功能。例如,肌肽因其抗氧化作用而对糖尿病肾病具有一定的改善作用^[2]。然而,有研究者发现肌肽可

以增强铁和碘引起的鲁米诺氧化反应^[3-4]。这种相悖的结果很可能是由于衡量氧化反应的系统不一致导致的。因此,该研究拟分别以辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)或FeCl₃为氧化剂,在蓝四氮唑比色法[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, MTT]、3,3',5,5'-四甲基联苯胺(3,3',5,5'-tetra-methyl-benzidine, TMB)及鲁米诺反应系统中分别评估肌肽对氧化反应的作用。

1 材料与方法

1.1 细胞、主要试剂与仪器 人脐静脉内皮细胞(human umbilical cord cells, HUVEC)购自德国 Promo Cell 公司; 内皮细胞生长培养液购自德国 Provitro 公司; DMEM/F-12 (GlutaMAX Gibco®) 及小牛血清(fetal calf serum, FCS) 购自美国 Gibco 公司; 豆蔻酸-12 佛波醇-13 乙酸酯(PMA)、FeCl₃、肌肽、鲁米诺及 p-香豆酸均购自美国 Sigma 公司; HRP 购自美国 Vector Laboratories 公司; TMB 购自瑞士 Roche 公司; 过氧化氢购自德国 Merck 公司; 酶联免疫检测仪(Infinite M200) 购自瑞士 TECAN 公司。

1.2 人脐静脉内皮细胞的培养 本实验用 HUVEC 来分析肌肽在 MTT 实验中对细胞的抗氧化作用。接种 HUVEC 前 1 d 细胞培养板需要用 1% 明胶覆盖过夜,隔日去除明胶,将 HUVEC 置于含有 2% FCS 的内皮细胞生长培养液以及 5% CO₂、37 °C 的

2018-01-25 接收

基金项目: 安徽高校自然科学基金项目(编号: KJ2017ZD19); 安徽医科大学第一附属医院 2017 年度国家自然科学基金青年科学基金培养计划项目(编号: 2017kj16)

作者单位: 安徽医科大学第一附属医院内分泌科,合肥 230022

作者简介: 章诗琪,女,医师,博士;

章秋,女,主任医师,教授,博士生导师,责任作者, E-mail: 13965015060@163.com

tions among sex, age, hepatitis B virus (HBV) DNA loads and platelet parameters were analyzed in hepatitis B patients. **Methods** The HBV DNA loads and platelet parameters of hepatitis B patients were detected and the relationships between them were statistically analyzed. **Results** Different age and HBV DNA load groups had significant difference on the PLT and PCT counts. PLT and PCT were lower in hepatitis B patients than in healthy groups with the same age and sex, especially for the elderly (older than 45 years) groups. PLT and PCT obviously decreased with the increasing of HBV DNA load in hepatitis B patients. Moreover, HBV DNA loads were negatively correlated with PLT and PCT in elderly hepatitis B patients. **Conclusion** PLT and PCT decrease with the increase of HBV DNA load in HBV infected persons over the age of 45, and the magnitude of their change has important clinical reference significance for judging HBV replication.

Key words hepatitis B virus; DNA; blood platelet; correlation