

肺结核患儿血清对氧磷酶活性与氧化应激指标的改变及其临床意义

尹凤鸣,周友乾,任 彬,张海艳(中国人民解放军第一六九医院传染结核科,湖南衡阳 421002)

【摘要】 目的 探讨肺结核患儿血清对氧磷酶(PON1)活性与氧化应激指标的改变及其临床意义。**方法** 连续性随机选取本院收治的肺结核患儿 80 例,综合分析患儿血清总氧化态(TOS)、总抗氧化态(TAS)和氧化应激指数(OSI)等氧化应激指标与 PON1 水平的改变及其相关性。**结果** 肺结核患儿 TAS 明显低于对照组 $[(1.8\pm 1.1)、(2.3\pm 1.9)\mu\text{mol Trolox Eq/L},P<0.05]$,而 TOS 和 OSI 明显高于对照组 $[(25.9\pm 18.4)、(9.8\pm 5.6)\mu\text{mol H}_2\text{O}_2\text{ Eq/L},(13.3\pm 7.7)、(4.5\pm 2.1),P<0.05]$ 。在血清 PON1 水平方面,肺结核组明显低于对照组 $[(16.9\pm 12.1)、(25.5\pm 14.3)\text{U/L},P<0.05]$ 。通过 Pearson 和 Sperman 相关性分析可见,PON1 与 TAS 呈正相关 $(r=0.303,P<0.05)$,与 TOS 和 OSI 呈负相关 $(r_{\text{TOS}}=-0.283,r_{\text{OSI}}=-0.228,P<0.05)$ 。**结论** 肺结核患儿体内处于高氧化应激状态,同时 PON1 水平明显下降。

【关键词】 肺结核; 对氧磷酶; 氧化应激
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.05.019 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2016)05-0625-03

Change and clinical significance of serum paraoxonase 1 activity and oxidative stress indicators in children patients with pulmonary tuberculosis YIN Feng-ming, ZHOU You-qian, REN Bin, ZHANG Hai-yan (Department of Infection and Tuberculosis, 169 Hospital of PLA, Hengyang, Hunan 421002, China)

【Abstract】 Objective To investigate the change and clinical significance of serum paraoxonase 1(PON1) activity and oxidative stress indicators in children patients with pulmonary tuberculosis. **Methods** Eighty children patients with pulmonary tuberculosis in our hospital were selected. The oxidative stress indicators of serum TOS, total TAS, OSI and PON1 levels were comprehensively analyzed and their mutual correlation was analyzed. **Results** The TAS level in the pulmonary tuberculosis group was significantly lower than that in the control group $[(1.8\pm 1.1),(2.3\pm 1.9)\mu\text{mol Trolox Eq/L},P<0.05]$, while the levels of TOS and OSI were significantly higher than those in the control group $[(25.9\pm 18.4),(9.8\pm 5.6)\mu\text{mol H}_2\text{O}_2\text{ Eq/L};(13.3\pm 7.7),(4.5\pm 2.1),P<0.05]$. The serum PON1 level in the pulmonary tuberculosis group was lower than that in the control group $[(16.9\pm 12.1),(25.5\pm 14.3)\text{U/L},P<0.05]$. The Pearson and Sperman correlation analysis showed that the PON1 level was positively correlated with TAS $(r=0.303,P<0.05)$, while negatively correlated with TOS and OSI $(r_{\text{TOS}}=-0.283,r_{\text{OSI}}=-0.228,P<0.05)$. **Conclusion** The high oxidative stress state is in the children patients with pulmonary tuberculosis, meanwhile the PON1 level is significantly decreased.

【Key words】 pulmonary tuberculosis; paraoxonase 1; oxidative stress

结核病是一种古老的疾病,也是目前全世界公认的健康难题,据统计,全球结核分枝杆菌(MTB)的感染率超过 30%,尤其是在发展中国家(例如印度、中国等),儿童由于其免疫系统尚未发育完全,是结核病的高危人群^[1]。氧自由基是组织代谢产物,可以引起组织细胞损伤,而体内的抗氧化系统可以将这种损伤最小化。氧化应激指的在感染、外伤、中毒以及不合理氧疗等情况下出现的体内大量生成活性氧物质(ROS),造成机体氧化和抗氧化系统平衡失调^[2]。ROS 超载是小儿支气管炎、哮喘、心功能不全等多种儿童疾病的重要病理机制之一^[3]。但是氧化应激在儿童肺结核病理改变中的研究尚不明确。MTB 是一种细胞内病原体,在感染宿主后被肺泡巨噬细胞等吞噬,释放大量的 ROS,并引起局部的炎症反应^[4]。虽然大量 ROS 和炎症反应有助于杀灭 MTB,但也造成了周围组织损伤^[5]。对氧磷酶 1(PON1)是体内的一种抗氧化酶,可以水解脂质过氧化物,与糖尿病和冠心病等高氧化应激性疾病密切相关,在氧化应激状态下,会大量消耗血清中的 PON1。目前,在

儿童肺结核中 PON1 水平改变研究尚少。本研究通过检测 80 例肺结核患儿血清 PON1 水平改变,初步探讨血清 PON1 在儿童肺结核中的变化及临床意义,现将研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 连续性随机选取 2012 年 4 月至 2014 年 4 月本院收治的肺结核患儿 80 例,所有患儿的诊断参考 2001 年中华医学会结核病学分会颁布的《肺结核诊断和治疗指南》的诊断标准进行确诊。排除合并其他细菌感染、真菌感染、自身免疫性疾病和长期使用免疫抑制剂的患儿。另纳入 40 例年龄和性别相匹配的健康儿童作为对照组。本研究经本院伦理委员会讨论通过,研究对象入选后签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 营养情况评估 所有入选本研究患儿均需行体质指数标准差评分(BMI-SDS)和相对体质质量换算。身高和体质质量精确到 0.1 cm 和 0.1 kg,相对体质质量计算公式为体质质量/同等年龄中位数体质质量 $\times 100\%$ 。

1.2.2 血清氧化应激指标检测 所有患儿均行血清总氧化态(TOS)、总抗氧化态(TAS)和氧化应激指数(OSI)检测。血清TOS和TAS检测用二甲酚橙法,在7600-020全自动生化分析仪(日立,日本)上完成。OSI是TOS与TAS的比值,通过下述公式计算得出:OSI=TOS($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2\text{ Eq/L}$)/TAS(mmol Trolox Eq/L) $\times 100\%$ 。

1.2.3 PON1 检测 所有患儿空腹抽取静脉血 4 mL,低温高速离心 10 min 后收集上层清液留存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱待测。测定时,通过分光光度法,计算公式为 PON1 活性(ku/L)= $A\times 10^3\times\text{FV}/(\text{t}\times\text{SV}\times\text{L}\times\epsilon)$,其中 A 为净吸收光度值(即标本吸光度值-血清对照和底物对照的吸光度值),FV 为反应终体积,t 为反应时间(单位:min),SV 为样品体积(单位:L),L 为光径(单位:cm), ϵ 为摩尔消光系数,酶的活性单位定义为每分钟催化 1 μmol 乙酸苯酯水解所需的酶量为 1 U。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 20.0 软件对数据进行处理及统计学分析,正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,计量资料正态分布且方差齐者,比较采用 t 检验或单因素方差分析,多组间比较采用单因素方差分析。非正态分布或方差不齐者,两组间比较采用 Mann-Whitney U 检验分析,多组间比较采用 Kruskal-Wallis H 检验,二元资料通过 Fisher's 精确检验分析。BMI 数据进行 Z 分数统计,得出 BMI-SDS。应用 Pearson 和 Sperman 线性相关分析血清 PON1 水平与氧化应激各指标间的关系。以 $\alpha=0.05$ 为检验水准, $P<0.05$ 时差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 一般情况比较 两组患儿在年龄、性别、BMI-SDS、相对体质量等方面差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。肺

结核组患儿清蛋白水平低于对照组 [(35.80 ± 3.91) 、 $(42.03\pm 7.32)\text{ g/L}$, $P<0.05$],而血清 CRP 水平高于对照组 [(7.9 ± 5.77) 、 $(3.02\pm 2.04)\text{ mg/L}$, $P<0.05$],差异均有统计学意义。

2.2 血清氧化应激和 PON1 水平比较 在氧化应激指标方面,肺结核患儿 TAS 明显低于对照组 [(1.8 ± 1.1) 、 $(2.3\pm 1.9)\mu\text{mol Trolox Eq/L}$, $P<0.05$],而 TOS 和 OSI 明显高于对照组 [(25.9 ± 18.4) 、 $(9.8\pm 5.6)\mu\text{mol H}_2\text{O}_2\text{ Eq/L}$, (13.3 ± 7.7) 、 (4.5 ± 2.1) , $P<0.05$]。在血清 PON1 水平方面,肺结核组明显低于对照组 [(16.9 ± 12.1) 、 $(25.5\pm 14.3)\text{ U/L}$, $P<0.05$]。见表 1。

表 1 两组患儿血清氧化应激和 PON1 水平比较($\bar{x}\pm s$)

项目	肺结核组 (<i>n</i> =80)	对照组 (<i>n</i> =40)	<i>P</i>
TAS($\mu\text{mol Trolox Eq/L}$)	1.8 ± 1.1	2.3 ± 1.9	0.021
TOS($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2\text{ Eq/L}$)	25.9 ± 18.4	9.8 ± 5.6	0.002
OSI	13.3 ± 7.7	4.5 ± 2.1	0.001
PON1 (U/L)	16.9 ± 12.1	25.5 ± 14.3	0.002

2.3 相关性分析 通过 Pearson 和 Sperman 相关性分析可见,PON1 与 TAS 呈正相关($r=0.303$, $P<0.05$),与 TOS 和 OSI 呈负相关($r_{\text{TOS}}=-0.283$, $r_{\text{OSI}}=-0.228$, $P<0.05$)。而 TAS、TOS、OSI、PON1 与年龄、性别、BMI-SDS、相对体质量均无相关性($P>0.05$)。见表 2。

表 2 各指标与一般情况相关性分析

项目	TAS		TOS		OSI		PON1	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
年龄(岁)	0.121	0.217	-0.073	0.732	-0.171	0.221	0.020	0.681
性别	-0.207	0.187	0.389	0.052	0.202	0.061	-0.221	0.060
BMI-SDS	0.124	0.762	-0.112	0.293	-0.021	0.851	0.080	0.693
相对体质量	0.118	0.742	-0.283	0.193	-0.262	0.058	-0.112	0.533
PON1(U/L)	0.303	0.011	-0.299	0.043	-0.228	0.021	—	—

注:—表示无数据。

3 讨 论

本研究通过综合分析 80 例肺结核患儿血清 PON1 水平改变与氧化应激的关系发现,抗氧化指标 TAS 和 PON1 水平在肺结核患儿中明显下降,而氧化指标 TAS 明显上升,说明肺结核患儿体内存在氧化应激损伤。同时,PON1 水平与 TAS、TOS 及 OSI 具有一定的相关性。

正常情况下,ROS 是细胞代谢过程中的基本产物,可以被体内抗氧化系统清除。肺结核患儿体内高氧化应激状态可能是由于 MTB 感染初期引起的炎症反应刺激巨噬细胞活化增殖,导致机体内氧化-抗氧化系统平衡失调,进而诱发氧化应激损伤^[6]。本研究进一步证实氧化应激损伤参与了儿童结核感染的病理损伤机制。有研究发现成人肺结核患者体内氧化应激指标明显上升,而经过 6 个月抗结核治疗后,氧化应激指标并没有明显减轻^[7]。本研究并没有研究具体某个氧化应激指

标和抗氧化指标,而是通过测定总的氧化状态和抗氧化状态判断机体内氧自由基的平衡负荷。抗氧化系统的稳态需要有多因素共同决定,包括抗氧化酶、微环境营养状态及饮食成分等,营养不良是结核病高氧化应激状态原因之一^[8]。肺结核患儿大多营养情况差,食物中摄取抗氧化物质不足(如维生素 C),可能是肺结核患儿体内氧化应激损伤的原因之一^[9]。虽然本研究中肺结核组与对照组在 BMI-SDS、相对体质量等营养状况方面差异无统计学意义,但可能是患儿在急性感染结核杆菌后出现的一过性厌食状态,导致轻度短期的营养不良。PON1 是一种钙离子敏感脂肪酶,可以水解脂质过氧化物。血清 PON1 水平与机体内脂蛋白类物质氧化产物升高和抗氧化酶水平下降密切相关,在氧化应激的情况下,血清 PON1 表达水平会明显下降^[10]。本研究还发现,肺结核患儿血清 PON1 水平明显低于对照组。有研究发现当 MTB 感染后,白细胞介

素-1(IL-1)和 IL-6 等促炎因子增加将抑制 PON1 的转录与翻译^[11]。但目前肺结核患儿 PON1 水平下降的具体机制仍不明确,需要进一步的研究。

综上所述,肺结核患儿体内处于高氧化应激状态,同时 PON1 水平明显下降。

参考文献

[1] 陆霓虹,杨蕤,李黎. 纤维支气管镜检查对拟诊肺结核患儿的临床意义分析[J]. 临床肺科杂志,2015,2(2):207-209.

[2] 葛海波,尹小芳. 胰岛素泵治疗肺结核合并 2 型糖尿病的临床疗效[J]. 临床肺科杂志,2015,2(2):216-219.

[3] Singh G, Arya S, Xkumar S, et al. Molecular characterization of oxidative stress-inducible Lip D of Mycobacterium tuberculosis H37Rv[J]. Curr Microbiol, 2014, 68(3):387-396.

[4] Small JL, O'Donoghue AJ, Boritsch EC, et al. Substrate specificity of MarP, a periplasmic protease required for resistance to acid and oxidative stress in Mycobacterium tuberculosis[J]. J Biol Chem, 2013, 288(18):12489-12499.

[5] Torun E, Gedik AH, Cakir E, et al. Serum paraoxonase 1 activity and oxidative stress in pediatric patients with pulmonary tuberculosis[J]. Med Princ Pract, 2014, 23(5):426-431.

[6] Chawla M, Parikh P, Saxena A, et al. Mycobacterium tuberculosis WhiB4 regulates oxidative stress response to modulate survival and dissemination in vivo[J]. Mol Microbiol, 2012, 85(6):1148-1165.

[7] Batra J, Arora VK. Oxidative stress and tuberculosis[J]. Indian J Tuberc, 2014, 61(3):183-185.

[8] Türkeş C, Söyüt H, Beydemir S. Human serum paraoxonase-1 (hPON1): in vitro inhibition effects of moxifloxacin hydrochloride, levofloxacin hemihidrate, cefepime hydrochloride, cefotaxime Sodium and ceftizoxime Sodium[J]. J Enzym Inhib Med, 2015, 30(4):622-628.

[9] Sarioglu N, Hismiogullari AA, Erel F, et al. Paraoxonase 1 phenotype and paraoxonase activity in asthmatic patients[J]. Iran J Allergy Asthm, 2015, 14(1):60-66.

[10] Ellidag HY, Aydin O, Eren E, et al. Decreased HDL-dependent paraoxonase and arylesterase enzyme activity May indicate a worse prognosis in multiple myeloma[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2014, 15(22):9847-9851.

[11] Rahideh ST, Shidfar F, Khandozi N, et al. The effect of sumac (Rhus coriaria L.) powder on insulin resistance, malondialdehyde, high sensitive C-reactive protein and paraoxonase 1 activity in type 2 diabetic patients[J]. J Res Med Sci, 2014, 19(10):933-938.

(收稿日期:2015-06-25 修回日期:2015-09-10)

(上接第 624 页)

软件有边界性睡眠($5 < \text{Est. AHI} \leq 15$)这一概念。本研究的局限性在于把边界性睡眠亦归为正常睡眠,可能低估了 CHD 患者中 SAS 的发生率。血脂异常、糖尿病、高血压均是公认的 CHD 危险因素,但本研究中上述三项均未被列入回归方程,可能的原因是:(1)入选患者已对血脂、血糖、血压这些明确的危险因素进行了有效干预;(2)样本量偏小。

总之,大量的研究证实 SAS 是 CHD 的独立危险因素,在 CHD 患者中亦有较高的 SAS 发生率。因此,对 SAS 患者应予以积极治疗以预防 CHD 的发生,对于合并有 SAS 的 CHD 患者不应忽视 SAS 的影响,采取综合治疗,以提高患者的生活质量及改善预后。DCG 作为一项心血管疾病的常规检查,能通过不断发展和完善功能从而进行 SAS 的筛查,有一定的临床应用价值。

参考文献

[1] Pataka A, Daskalopoulou E, Kalamaras G, et al. Evaluation of five different questionnaires for assessing sleep apnea syndrome in a sleep clinic[J]. Sleep Med, 2014, 15(7):776-781.

[2] Arzt M, Hetzenecker A, Steiner S, et al. Sleep-Disordered Breathing and Coronary Artery Disease[J]. Can J Cardiol, 2015, 31(7):909-17.

[3] Ozdemir C, Conkbayir I, Kuru A, et al. Correlation between the intima-media thickness and Framingham risk score in patients with sleep apnea syndrome[J]. J Tho-

racic Dis, 2013, 5(6):751-757.

[4] Sharkey KM, Waters K, Millman RP, et al. Validation of the apnea risk evaluation system (Ares) device against laboratory Polysomnography In Pregnant Women At Risk For Obstructive Sleep Apnea Syndrome[J]. J Clin Sleep Med, 2014, 10(5):497-502.

[5] Cepeda-Valery B, Acharjee S, Romero-Corral A, et al. Obstructive sleep apnea and acute coronary syndromes: etiology, risk, and management[J]. Curr Cardiol Rep, 2014, 16(10):535.

[6] Zhao LP, Adeline T, Tai BC, et al. Effects of gender on the prevalence of obstructive sleep apnea in patients with coronary artery disease[J]. J Clin Sleep Med, 2014, 10(12):1279-1284.

[7] Martinez D, Klein C, Rahmeier L, et al. Sleep apnea is a stronger predictor for coronary heart disease than traditional risk factors[J]. Sleep Breath, 2012, 16(3):695-701.

[8] Schillaci G, Battista F, Fiorenzano G, et al. Obstructive sleep apnea and cardiovascular disease-A new target for treatment[J]. Curr Pharm Design, 2015, 21(24):3496-3504.

[9] 王蕊,赵敏,杜凤和. 动态心电图筛查睡眠呼吸暂停综合征的临床价值[J]. 山东医药, 2008, 48(19):73-74.

(收稿日期:2015-06-25 修回日期:2015-09-25)