

• 经验交流 •

慢性阻塞性肺病患者 NT-proBNP 检测结果分析

汤卫菊

(江苏省启东市第二人民医院检验科,江苏启东 226241)

摘要:**目的** 探讨 N 末端 B 型钠尿肽前体(NT-proBNP)在慢性阻塞性肺病(COPD)合并心力衰竭的评估价值。**方法** 对 49 例 COPD 进行 NT-proBNP 检测,综合判断心脏功能。**结果** NT-proBNP 轻中度升高出现心力衰竭比例达到 57.14%,高度升高出现心力衰竭比例达到 90.91%。**结论** NT-proBNP 可以评估 COPD 是否存在心力衰竭。

关键词:肺疾病,阻塞性; 心力衰竭; 利钠肽,脑

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.23.059 **文献标识码:**B **文章编号:**1673-4130(2012)23-2931-02

研究者对本院住院的慢性阻塞性肺病(COPD)49 例患者进行 N 末端 B 型钠尿肽前体(NT-proBNP)检测,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 所有 49 例 COPD 患者均为急性发作而入住本院的住院患者,诊断均符合中华医学会呼吸病学会 COPD 学组 2007 年制定的 COPD 诊断标准^[1]。其中男 27 例,女 22 例,年龄(72±5.9)岁,病程(15±2.6)年。慢性支气管炎 46 例,支气管扩张症 2 例,支气管哮喘 1 例。

1.2 方法 采取空腹静脉血 3 mL 定量测定 NT-proBNP,严

格按照仪器操作规程进行质控和操作。NT-proBNP 检测方法采用胶体金法,试剂盒由南京基蛋生物科技有限公司提供。检测仪器为 FIA8000 免疫定量分析仪,由南京普朗生物科技有限公司提供。检测原理:运用激发光扫描标记物和待测物结合区,获得浓度信号,然后对浓度信号进行分析,定量的靶向待测物进行分析。同时观察患者的临床症状,结合心电图、全胸片等结果判断 NT-proBNP 与心功能的关系。

2 结果

49 例 COPD NT-proBNP 检测结果见表 1。

表 1 49 例 COPD NT-proBNP 检测结果

NT-proBNP (pg/mL)	n	喘息、呼吸困难(n)	紫绀、浮肿[n(%)]	心电图肺型 P 波、额面 QRS 波群平均 电轴右偏大于或等于 90°[n(%)]	X 线心影增大[n(%)]
<300	31	31	1(3.23)	12(38.71)	10(32.26)
300~1800	7	7	4(57.14)	3(42.86)	2(28.57)
>1800	11	11	10(90.91)	9(87.5)	8(72.73)

3 讨论

COPD 是临床常见的疾病,其特征是持续存在的气流受限,气流受限呈进行性发展,伴有气道和肺对有害颗粒或气体所致慢性炎症反应的增加。COPD 目前居全球死亡原因的第四位。我国的流行病学调查表明,40 岁以上人群 COPD 患病率为 8.2%,患病率之高十分惊人。长期的 COPD,可以导致肺源性心脏病,引起心力衰竭而加重患者的病情。此病死亡率高,社会经济负担重,已成为影响人类健康的重要的公共卫生问题。由于 COPD 和心力衰竭均可以出现喘息,呼吸困难,有时难以鉴别,影响最佳治疗时机。

心力衰竭是 1 种复杂的临床症状群,是各种心脏病的终末期。其发病率高,5 年存活率与恶性肿瘤相仿。近 10 年来,随着对心力衰竭发病机制的逐渐深入,治疗方面效果有显著的提高,大大降低了慢性心衰的致残率和致死率。然而,心力衰竭患者尤其是早期,尚缺乏简单经济实用的检测手段。利钠肽(NPs)是近 20 年发现的一类具有多种生物活性的多肽。其功能是维持循环系统的容量、渗透压和压力调节的稳态。这类极具有临床应用价值的生物标记物,尤其是 B 型利钠肽(BNP)及与之共同分泌的 NT-proBNP,目前已作为心功能不全最敏感和特异的指标之一。有研究表明,BNP、NT-proBNP 在心衰早期即可升高,并已成为国际公认的诊断心力衰竭的血浆标志物。NT-proBNP 是 BNP 前体分解后产生的无活性的 N 端的

片段,由于 BNP 和 NT-proBNP 在血中等摩尔生成,均可反映 BNP 分泌状况^[2]。BNP 半衰期为 20 min,血浆中可降解失去抗原性,导致假性降低。NT-proBNP 半衰期为 120 min,血浆中不会降解,浓度相对稳定,含量相对较高,其检测不受硝酸酯类和地高辛等治疗心力衰竭的药物影响^[3]。

COPD 患者出现心力衰竭表现如浮肿、紫绀等,其 NT-proBNP 水平明显升高。NT-proBNP 轻中度升高出现心力衰竭比例达到 57.14%,高度升高出现心力衰竭比例达到 90.91%。监测 COPD 患者 NT-ProBNP 水平可以帮助了解 COPD 患者是否存在肺心病,并可以通过 NT-ProBNP 水平初步判断心功能不全的严重程度。《2009 成人心力衰竭诊治指南》更强调了 BNP 和 NT-proBNP 的价值^[4],推荐用于呼吸困难而尚未确定心源性的患者。总之,NT-proBNP 浓度测定可能作为评估心功能,应用于心力衰竭的诊断、预后和判断等的一项重要补充,成为一项简便易行的常规检查,值得临床推广^[5-10]。

参考文献

[1] 中华医学会呼吸病学会慢性阻塞性肺疾病学组.慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2007 年修订版)[J].中华结核和呼吸杂志,2007,30(1):8-17.

[2] 董晖,李明,王熾.慢性肺心病患者血浆 N-端脑钠肽前体的变化及意义[J].中国老年学杂志,2007,27(21):2097-2099.

[3] Kal J, Borgya A, Gallusser A, et al. Development of a novel N-terminal 3/ProBNP (NT-ProBNP) assay with a low detection limit [J]. Scand J Clin Lab Invest Suppl, 1999, 17(4): 177-181.

[4] 郝彬. 脑钠肽在缺血性心力衰竭诊治过程中的应用[J]. 中国实用医药, 2008, 36(3): 166.

[5] 初贵富. 血浆 N-末端脑钠肽前体对急性呼吸困难病因的鉴别诊断价值[J]. 中国实验诊断学, 2012, 16(4): 700-701.

[6] 覃向红. 慢性阻塞性肺疾病合并心力衰竭的临床特点及护理[J]. 中国医药导刊, 2009, 11(2): 301-302.

[7] 周雁花, 王月香. NT-proANP、NT-proBNP 的监测与心衰患者心

功能的相关性[J]. 中国卫生产业, 2012, 9(18): 88.

[8] 马锦洪, 姜庆波. NT-proBNP 在心力衰竭诊断中的价值[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(20): 2355-2356.

[9] 薛旗, 邵玉枝. NT-ProBNP 的临床检测与应用[J]. 中国实用医药, 2012, 7(13): 108-109.

[10] 袁劲松, 陈文. N-末端脑利钠肽原在心力衰竭中的临床应用进展[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(12): 1417-1419.

(收稿日期: 2012-06-19)

• 经验交流 •

乙肝病毒 DNA 与乙肝病毒标志物的相关性研究

叶儒军¹, 魏 威²

(1. 梁平县人民医院检验科, 重庆梁平 405200; 2. 南方医科大学生物技术学院, 广东广州 510515)

摘要:目的 探讨乙型肝炎病毒标志物的检测与其 DNA 的关系。方法 取乙肝患者与阴性对照组患者的血液, 提取血液总 RNA 后进行逆转录, 再用实时荧光定量 PCR 检测乙肝标志物, 如 HBsAg, HBeAg, PreS2。结果 定量 PCR 发现乙肝患者比对照组 HBsAg, HBeAg, PreS2 均上调。**结论** 可以用荧光定量 PCR 检测乙肝病毒标志物来鉴定乙肝患者。

关键词: 肝炎病毒, 乙型; DNA; 聚合酶链反应

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2012. 23. 060

文献标识码: B

文章编号: 1673-4130(2012)23-2932-02

乙型病毒性肝炎, 简称乙肝, 是 1 种由乙型肝炎病毒 (HBV) 感染机体后所引起的疾病。HBV 主要存在于肝细胞内并损害肝细胞, 引起肝细胞炎症、坏死、纤维化。传统方法检测 HBV 都需要一定的时间, 选用分子生物学中的荧光定量 PCR 的方法来检测乙肝病毒标志物如 HBsAg, HBeAg, PreS2 的基因水平来鉴定乙肝患者, 这是 1 种快速而且准确的方法。

1 资料与方法

1.1 一般资料 取已知的乙肝患者 30 例的血液和阴性对照组 30 例血液, 随机配对成 30 组, 血液收集后均放在 -80 ℃ 冰箱。

1.2 血液总 RNA 抽提 取适量血液, 加入 1 mL Trizol 将细胞转移至 1.5 mL EP 室温放置 5 min, 使其充分裂解, 12 000 r/min 离心 5 min, 上清转移至另一 EP 管, 弃沉淀。按 200 μ L 氯仿 (三氯甲烷)/mL Trizol 加入氯仿, 震荡混匀室温放置 15 min, 12 000 \times g 离心 15 min, 吸取上层水相至另一 EP 管中, 按 0.5 mL 异丙醇/mL Trizol 加入异丙醇混匀, 12 000 \times g 离心 10 min, 弃上清, RNA 沉于管底。加入 75% 乙醇, 4 ℃、8 000 \times g 离心 5 min, 尽量弃上清, 室温晾干或真空干燥 5~10 min。加入 RNase free water 20 μ L, 取出 1 μ L 准备做电泳鉴定实验或测 OD 值定量 RNA 浓度。

1.3 逆转录 提取血液总 RNA 后, 测定 RNA 浓度, 并根据试剂盒说明书逆转录 RNA 为 cDNA, 程序设定为 85 ℃, 15 min, 37 ℃, 30 min。

1.4 荧光定量 PCR 检测 PreS2 基因 根据 PreS2 基因设计引物, HBsAg: 5'-TAC GCA TAG CTA CGA TC-3'; 5'-GCT ACG AAG GTC CGA TCA-3'; HBeAg: 5'-TCG TCA TTC GAT AGG CCG A-3'; 5'-TCG AGG TTC GAA CGT AG-3'; PreS2: 5'-GCA CCG TCT TGG CTC AGT AC-3'; 5'-TGG TGA TGA CCG GAG TGG A-3'; GAPDH: 5'-CCT GGA CAC CTG CTG ACA -3'; 5'-GAA TGA AGT ACG GAG CAG AG-3'。通过荧光定量 PCR 检测细胞样品中目的基因和内参基因的表达量, 根据 PCR 反应曲线得到各样品目的基因和内参基

因的 Ct 值 (域值循环数), 采用 $\Delta\Delta$ Ct 的方法进行相对定量, PCR 反应的条件: (30 s, 95 ℃; 5 s, 95 ℃; 31 s, 60 ℃), 反应为 40 个循环。

1.5 统计学处理 采用 SPSS16.0 统计软件包进行统计学处理。统计方法为计量资料两组间比较采用配对 *t* 检验, 计数资料采用 χ^2 检验, 组内比较及治疗前后的比较用方差分析。

2 结 果

2.1 荧光定量 PCR 溶解曲线及扩增曲线分析 随机抽取样品, 通过溶解曲线图及扩增曲线分析, 以检测样品质量及确定合适的实验条件。结果显示, HBsAg, HBeAg, PreS2 和 GAPDH 溶解曲线均为单一峰二分之一溶解温度略有差异, 四种基因均无杂信号出现, 而且据扩增曲线得知目的基因都可以达到平台期见图 1 (见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

2.2 荧光定量 PCR 检测 HBsAg, HBeAg, PreS2 基因的表达 从分析结果可以看出, 乙肝患者血清中 HBsAg, HBeAg, PreS2 的 Ct 值均值分别为 25.57 \pm 3.65, 27.74 \pm 3.94 和 23.56 \pm 3.54, 阴性对照组血清中的 HBsAg, HBeAg, PreS2 的 Ct 值分别为 30.46 \pm 3.23, 32.14 \pm 3.79 和 28.18 \pm 3.37, 乙肝患者 HBsAg, HBeAg, PreS2 的 Δ Ct 值为 8.57, 9.74 和 7.56, 阴性对照组 Δ Ct 值为 13.46, 14.14 和 12.18 根据二者的平均 2- $\Delta\Delta$ Ct 值计算可知, 乙肝患者组血清中 HBsAg, HBeAg, PreS2 的平均含量比阴性对照组的高 29.65, 21.11 和 24.59 倍, 而且两者之间差别有统计学意义 ($P<0.05$)。见图 2 (见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

3 讨 论

乙型肝炎病毒简称 HBV^[1]。肝炎病毒基因组共有 4 个 ORF, 编码以下一些蛋白: Core 蛋白和 pre-core 蛋白, Pol 蛋白, X 蛋白, 以及 S 蛋白 (L, M, S)。Core 是核衣壳蛋白; Pre-core 可能与抑制宿主的免疫反应有关; X 蛋白对病毒复制是重要的, 还与肝癌的发生有关; S 蛋白是病毒的包膜蛋白, 与病毒进入细胞有关^[2-4]。目前, 已可从感染 HBV 患者血清中及感