



[DOI]10.3969/j.issn.1001-9057.2023.02.014

http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2023.02.014

• 论著 •

# 急性胰腺炎患者外周血线粒体 DNA 水平变化及其对合并急性肺损伤的预测价值

赵雅彬 李琨琨 张志伟 杨宁 运苛政 王宝玉

**[摘要]** **目的** 观察急性胰腺炎(AP)患者外周血线粒体 DNA(mtDNA)水平变化,探讨其对 AP 合并急性肺损伤(ALI)的预测价值。**方法** 选取 AP 患者 90 例,按照疾病严重程度将其分为轻症组(55 例)和重症组(35 例);选取同期健康志愿者 40 例作为对照组。根据 AP 急性反应期是否发生 ALI 再将 90 例 AP 患者分为 ALI 组(32 例)和非 ALI 组(58 例)。收集所有 AP 患者的一般资料及临床资料,收集对照组受试者的一般资料及外周血 mtDNA 水平并分组进行比较。采用 logistic 回归分析评估影响 AP 患者合并 ALI 的危险因素,采用受试者工作特征(ROC)曲线评估外周血 mtDNA 水平对 AP 合并 ALI 的预测价值。**结果** 重症组、轻症组及对照组受试者外周血 mtDNA 水平依次降低( $P < 0.05$ )。ALI 组患者 C 反应蛋白(CRP)、血淀粉酶(AMY)、钙离子( $Ca^{2+}$ )、mtDNA 水平均高于非 ALI 组( $P < 0.05$ )。Logistic 回归分析结果显示,CRP、AMY、 $Ca^{2+}$ 、mtDNA 水平升高均为 AP 合并 ALI 的独立危险因素( $P < 0.01$ )。ROC 曲线分析结果显示,外周血 mtDNA 水平预测 AP 合并 ALI 的 ROC 曲线下面积(AUC)为 0.817,对应的敏感度和特异度分别为 84.27% 及 75.01%。**结论** AP 患者病情越严重,外周血 mtDNA 水平越高。CRP、AMY、 $Ca^{2+}$ 、mtDNA 水平升高均为 AP 合并 ALI 的危险因素,其中外周血 mtDNA 水平对 AP 合并 ALI 具有一定预测价值。

**[关键词]** 急性胰腺炎; 急性肺损伤; 线粒体 DNA; 预测价值

**[中图分类号]** R657.5

**[文献标识码]** A

急性胰腺炎(AP)指多种病因激活胰腺内胰酶引起胰腺组织自身消化、水肿、出血甚至坏死的炎症反应<sup>[1]</sup>。临床上根据疾病严重程度将其分为轻症急性胰腺炎(MAP)及重症急性胰腺炎(SAP)<sup>[2]</sup>。肺是 AP 疾病进展过程中最易受到损伤的脏器<sup>[3]</sup>,相关统计数据显示,约 15%~60% 的 SAP 患者伴不同程度急性肺损伤(ALI)<sup>[4]</sup>,既往常采用急性生理学及慢性健康状况评分系统(APACHE)Ⅱ评分联合改良器官衰竭(MarshaⅡ)评分系统动态评估 AP 病情变化,但该方法主观性较强,预测器官功能衰竭效能相对较差,探索更为有效的客观指标评估 AP 合并 ALI 具有重要意义。既往研究结果证实,AP 患者机体存在血脂水平异常、胰岛素抵抗等多种能量代谢失衡现象,易诱发线粒体 DNA(mtDNA)转录、蛋白合成障碍,最终导致线粒体功能障碍乃至细胞死亡<sup>[5]</sup>。mtDNA 序列变化与线粒体功能密切相关,既往研究发现尿毒症、糖尿病、脓毒血症等多种疾病患者外周血 mtDNA 水平存在异常,

影响患者疾病进展<sup>[6-7]</sup>,但 AP 患者外周血 mtDNA 水平是否存在异常尚未明确。本研究旨在观察 AP 患者外周血 mtDNA 水平变化,评估其对 AP 合并 ALI 的预测价值,以期提高 AP 合并 ALI 的检出率,便于医生及时调整治疗计划以提高治疗效果。

## 对象与方法

1. 对象:将 2020 年 2 月~2022 年 2 月我院收治的 90 例 AP 患者按照疾病严重程度分为轻症组(55 例)和重症组(35 例)。纳入标准:(1)符合《中国急性胰腺炎诊治指南 2019》<sup>[8]</sup>中 AP 的相关诊断标准:血清淀粉酶 $\geq$ 正常值上限 3 倍,氧合指数 $\leq 200$  mmHg,且经影像学或生化检查确诊为 AP;(2)无认知功能障碍且依从性良好;(3)APACHE Ⅱ评分 $\geq 8$  分;(4)临床资料完整。排除标准:(1)合并血液系统疾病、心脑血管疾病、自身免疫疾病或呼吸系统疾病;(2)合并恶性肿瘤;(3)严重外伤或近 3 个月内接受过重大外科手术。选取同期于我院体检的 40 例健康志愿者作为对照组。其中,轻症组患者男 29 例、女 26 例,年龄 24~69 岁,平均年龄( $42.18 \pm 10.07$ )岁;重症组患者男 19 例、女

基金项目:河南省医学科技攻关项目(LHGJ20200368)

作者单位:450007 郑州,郑州大学附属郑州中心医院急重症医学科

通讯作者:王宝玉, E-mail:szsylvj2022@163.com

16 例,年龄 25 ~ 67 岁,平均年龄 (42.37 ± 10.13) 岁;对照组受试者男 21 例、女 19 例,年龄 25 ~ 64 岁,平均年龄 (42.28 ± 10.02) 岁。3 组受试者性别、年龄比较差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),具有可比性。根据 AP 急性反应期是否发生 ALI 将 90 例 AP 患者再分为 ALI 组 (32 例) 和非 ALI 组 (58 例)。诊断标准:MAP:符合上述 AP 诊断标准,无腹痛、胰腺局部并发症、器官功能障碍;SAP:符合上述 AP 诊断标准,出现严重腹痛、胰腺并发症,且存在时间  $\geq 48$  h 的持续性器官功能衰竭。ALI:符合《急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征诊断和治疗指南》<sup>[9]</sup> 中 ALI 诊断标准,且临床有进行性呼吸困难、低氧血症等症状,肺部 X 线检查结果示双肺存在斑片状阴影。本研究已通过我院医学伦理委员会审核批准,所有受试者均知情同意。

2. 方法:收集所有 AP 患者一般资料 (性别、年龄、BMI) 及临床资料,临床资料包括致病原因及实验室相关指标 [降钙素原 (PCT)、甘油三酯 (TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、WBC 计数、白蛋白 (ALB)、血细胞比容 (HCT)、空腹血糖 (GLU)、脂多糖 (LPS)、C 反应蛋白 (CRP)、血淀粉酶 (AMY)、钙离子 ( $\text{Ca}^{2+}$ )、mtDNA]。收集对照组受试者的一般资料及外周血 mtDNA 水平。

3. 统计学处理:采用 SPSS 26.0 软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用  $t$  检验;计数资料以例和百分比表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验。采用 logistic 回归分析评估影响 AP 合并 ALI 的危险因素,采用受试者工作特征 (ROC) 曲线评估外周血 mtDNA 水平对 AP 合并 ALI 的预测价值。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

1. 对照组、轻症组及重症组受试者外周血 mtDNA 水平比较:重症组、轻症组及对照组受试者外周血

mtDNA 水平依次降低 ( $P < 0.05$ ),见表 1。

表 1 对照组、轻症组及重症组受试者外周血 mtDNA 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别    | 例数 | 外周血 mtDNA 水平 (copies/ml, $\times 10^4$ ) |
|-------|----|------------------------------------------|
| 对照组   | 40 | 5.12 ± 0.14                              |
| 轻症组   | 55 | 13.30 ± 1.52 <sup>a</sup>                |
| 重症组   | 35 | 38.08 ± 5.15 <sup>ab</sup>               |
| $F$ 值 |    | 1 355.207                                |
| $P$ 值 |    | <0.001                                   |

注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与轻症组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$

2. ALI 组和非 ALI 组患者临床资料比较:ALI 组患者 CRP、AMY、 $\text{Ca}^{2+}$  及 mtDNA 水平均高于非 ALI 组 ( $P < 0.05$ ),两组患者其余指标比较差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 2。

3. 影响 AP 合并 ALI 的危险因素分析:Logistic 回归分析结果显示,CRP、AMY、 $\text{Ca}^{2+}$  及 mtDNA 水平升高均为影响 AP 合并 ALI 的独立危险因素 ( $P < 0.01$ )。见表 3。

表 3 影响 AP 合并 ALI 的 logistic 回归分析

| 因素                    | $\beta$ 值 | $S.E.$ | Wald $\chi^2$ 值 | $P$ 值  | OR 值  | 95% CI        |
|-----------------------|-----------|--------|-----------------|--------|-------|---------------|
| CRP 水平升高              | 2.318     | 0.570  | 6.551           | 0.001  | 4.154 | 3.324 ~ 7.019 |
| AMY 水平升高              | 1.016     | 0.259  | 5.976           | <0.001 | 2.571 | 1.802 ~ 4.817 |
| $\text{Ca}^{2+}$ 水平升高 | 1.049     | 0.247  | 2.161           | 0.008  | 1.961 | 1.770 ~ 3.259 |
| mtDNA 水平升高            | 2.240     | 0.607  | 7.016           | <0.001 | 4.291 | 3.647 ~ 7.164 |

4. 外周血 mtDNA 水平对 AP 合并 ALI 的预测价值:ROC 曲线分析结果显示,外周血 mtDNA 水平预测 AP 合并 ALI 的 ROC 曲线下面积 (AUC) 为 0.817,对应敏感度和特异度分别为 84.27% 及 75.01%。见图 1。

## 讨 论

线粒体是机体进行氧化磷酸化的场所,氧化磷酸化可生成大量氧自由基 (ROS),当机体 ROS 超过自身抗氧化系统清除水平时,mtDNA 极易受氧化应激的影

表 2 ALI 组及非 ALI 组患者临床资料比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别           | 例数 | 性别<br>(男/女)       | 年龄<br>(岁)                            | BMI<br>( $\text{kg}/\text{cm}^2$ ) | 致病原因 [例, (%) ] |                 |                   |               | PCT<br>(ng/ml) | TG<br>(mmol/L)               | LDL-C<br>(mmol/L)                    |
|--------------|----|-------------------|--------------------------------------|------------------------------------|----------------|-----------------|-------------------|---------------|----------------|------------------------------|--------------------------------------|
|              |    |                   |                                      |                                    | 高脂血症           | 胆源性             | 酒精性               | 其他            |                |                              |                                      |
| ALI 组        | 32 | 20/12             | 42.10 ± 8.27                         | 19.24 ± 1.06                       | 6 (18.75)      | 12 (37.50)      | 5 (15.63)         | 9 (28.12)     | 3.17 ± 0.54    | 5.72 ± 1.27                  | 2.21 ± 0.55                          |
| 非 ALI 组      | 58 | 28/30             | 42.37 ± 8.24                         | 19.31 ± 1.04                       | 13 (22.41)     | 25 (43.10)      | 12 (20.69)        | 8 (13.80)     | 3.20 ± 0.52    | 5.67 ± 1.16                  | 2.16 ± 0.57                          |
| $\chi^2/t$ 值 |    | 1.676             | 0.149                                | 0.304                              | 0.166          | 0.267           | 0.345             | 0.557         | 0.258          | 0.189                        | 0.403                                |
| $P$ 值        |    | 0.195             | 0.882                                | 0.762                              | 0.683          | 0.605           | 2.765             | 0.096         | 0.797          | 0.850                        | 0.688                                |
| 组别           | 例数 | HDL-C<br>(mmol/L) | WBC 计数<br>( $\times 10^9/\text{L}$ ) | ALB<br>(g/L)                       | HCT<br>(L/L)   | GLU<br>(mmol/L) | LPS<br>(U/L)      | CRP<br>(mg/L) | AMY<br>(U/L)   | $\text{Ca}^{2+}$<br>(mmol/L) | mtDNA<br>(copies/ml, $\times 10^4$ ) |
|              |    |                   |                                      |                                    |                |                 |                   |               |                |                              |                                      |
| ALI 组        | 32 | 0.96 ± 0.11       | 17.09 ± 3.27                         | 28.03 ± 2.59                       | 0.43 ± 0.07    | 10.85 ± 2.31    | 1 210.47 ± 206.27 | 49.16 ± 5.81  | 733.19 ± 22.37 | 2.10 ± 0.44                  | 29.37 ± 3.40                         |
| 非 ALI 组      | 58 | 0.99 ± 0.10       | 16.96 ± 4.07                         | 27.62 ± 2.68                       | 0.41 ± 0.06    | 10.28 ± 2.14    | 1 220.25 ± 211.39 | 32.07 ± 6.27  | 705.46 ± 20.52 | 1.56 ± 0.27                  | 18.26 ± 2.19                         |
| $\chi^2/t$ 值 |    | 1.315             | 0.155                                | 0.703                              | 1.426          | 1.176           | 0.212             | 12.698        | 5.943          | 7.218                        | 18.830                               |
| $P$ 值        |    | 0.192             | 0.877                                | 0.484                              | 0.157          | 0.243           | 0.833             | <0.001        | <0.001         | <0.001                       | <0.001                               |

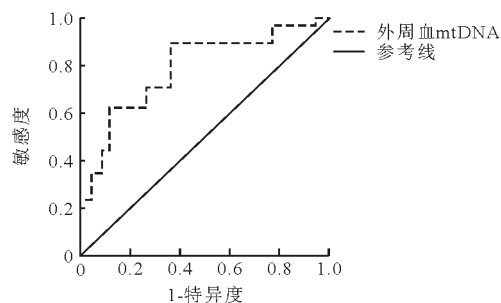


图1 外周血 mtDNA 水平评估 AP 合并 ALI 的 ROC 曲线

响而发生氧化损伤,所造成的线粒体功能障碍与 AP、糖尿病、脓毒症等多种疾病相关<sup>[10]</sup>。ALI 是 AP 患者常见并发症之一,有研究发现,机体中性粒细胞过度激活后释放大量炎性细胞因子,诱发全身炎症反应,产生的炎症递质于肺组织聚集、活化<sup>[11]</sup>,这是 AP 合并 ALI 的主要病理机制。本研究结果显示,重症组、轻症组及对照组受试者外周血 mtDNA 水平依次降低,即 AP 患者病情越严重,外周血 mtDNA 水平越高,与 Wu 等<sup>[12]</sup>研究结果类似,表明外周血 mtDNA 水平与 AP 的发生有关。mtDNA 编码多数为氧化磷酸化酶复合体,当 AP 发生时,机体抗氧化系统紊乱,生成大量氧化介质及其衍生物使 mtDNA 氧化或出现无碱基位点,此时线粒体外膜透过率升高,透过大量超氧阴离子损伤线粒体并诱导细胞凋亡,细胞器极度损伤后机体启动极动力学机制,从而引发 mtDNA 异常<sup>[13-14]</sup>。

本研究结果亦显示,ALI 组患者 CRP、AMY、 $\text{Ca}^{2+}$ 、mtDNA 水平均高于非 ALI 组,表明上述指标可能与 AP 合并 ALI 有关。进一步行 logistic 回归分析发现,CRP、AMY、 $\text{Ca}^{2+}$ 、mtDNA 水平升高均为影响 AP 合并 ALI 的独立危险因素。CRP 具有促进吞噬、激活补体、调节 T 细胞免疫等作用,其水平可反映机体炎症程度及组织损伤程度。AP 发生时,机体微循环血流量降低,生成的大量血管活性物质可与体内超氧阴离子结合生成强氧化物,其损伤肺组织后可诱发 CRP 释放,CRP 又可诱导 ROS 形成而加重肺损伤。此时线粒体供能障碍,能量代谢失衡后负反馈于 AP,形成恶性循环。机体正常状态下,细胞内主要依靠线粒体、内质网、细胞膜等调节  $\text{Ca}^{2+}$  转运,使细胞内始终维持低钙稳态,当大量胰酶、内毒素释放入血并随循环系统至肺脏后,肺泡细胞膜上  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 通道受到抑制,大量  $\text{Ca}^{2+}$  内流导致钙超载,ATP 能量衰竭后进一步激活 ROS、磷脂酶等物质,加重肺组织损伤程度,这可能是 AP 合并 ALI 患者  $\text{Ca}^{2+}$  水平升高的主要原因<sup>[15-16]</sup>。此外,本研究 ROC 曲线分析结果显示,外周血 mtDNA 水平预测 AP 合并 ALI 的 AUC 为 0.817,其对应的敏感度及特异度分别为 84.27% 及 75.01%,表明外周血

mtDNA 可作为诊断 AP 合并 ALI 的生物学指标,相较于既往动态评估法,外周血 mtDNA 水平预测 AP 合并 ALI 不受患者主观意识影响,更具客观性。临床可进一步探索外周血 mtDNA 在 AP 合并 ALI 的发生、进展中的作用。

综上所述,AP 患者外周血 mtDNA 水平越高,病情越严重,且 AP 合并 ALI 的危险因素众多,其中 mtDNA 对 AP 合并 ALI 具有一定预测价值。因选取样本量有限,本研究相关结论仍需大样本多中心临床试验进一步佐证。

## 参 考 文 献

- [1] Loos M, Strobel O, Dietrich M, et al. Hyperamylasemia and acute pancreatitis after pancreatoduodenectomy: two different entities [J]. Surgery, 2021, 169(2): 369-376.
- [2] Ramírez-Maldonado E, López Gordo S, Pueyo EM, et al. Immediate oral refeeding in patients with mild and moderate acute pancreatitis: a multicenter, randomized controlled trial (PADI trial) [J]. Ann Surg, 2021, 274(2): 255-263.
- [3] 李勋, 王厚清, 许铁. 重症急性胰腺炎患者入院 24 小时后新发急性呼吸窘迫综合征的危险因素分析 [J]. 临床内科杂志, 2022, 39(1): 22-25.
- [4] Li B, Han X, Ye X, et al. Substance P-regulated leukotriene B4 production promotes acute pancreatitis-associated lung injury through neutrophil reverse migration [J]. Int Immunopharmacol, 2018, 5(7): 147-156.
- [5] 孙江利, 冯辉, 牛泽群, 等. 吡格列酮抑制肺组织 TLR2、TLR4 的 mRNA 表达进而减轻重症急性胰腺炎肺损伤的机制探索 [J]. 中华急诊医学杂志, 2021, 30(8): 960-965.
- [6] 杨帆, 毛红, 张旭艳, 等. 2 型糖尿病患者外周血白细胞线粒体功能和游离 mtDNA 与脂肪组织胰岛素抵抗关系的研究 [J]. 中国糖尿病杂志, 2021, 29(9): 653-658.
- [7] Van der Slikke EC, Star BS, van Meurs M, et al. Sepsis is associated with mitochondrial DNA damage and a reduced mitochondrial mass in the kidney of patients with sepsis-AKI [J]. Crit Care, 2021, 25(1): 36.
- [8] 中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组, 中华胰腺病杂志编辑委员会, 中华消化杂志编辑委员会. 中国急性胰腺炎诊治指南 (2019 年, 沈阳) [J]. 中华消化杂志, 2019, 39(11): 721-730.
- [9] 中华医学会重症医学分会. 急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征诊断和治疗指南 (2006) [J]. 中国实用外科杂志, 2007, 28(1): 19-28.
- [10] Zhao M, Wang Y, Li L, et al. Mitochondrial ROS promote mitochondrial dysfunction and inflammation in ischemic acute kidney injury by disrupting tlfam-mediated mtDNA maintenance [J]. Theranostics, 2021, 11(4): 1845-1863.
- [11] Zhang XX, Wang HY, Yang XF, et al. Alleviation of acute pancreatitis-associated lung injury by inhibiting the p38 mitogen-activated protein kinase pathway in pulmonary microvascular endothelial cells [J]. World J Gastroenterol, 2021, 27(18): 2141-2159.
- [12] Wu L, Xu W, Wang F, et al. Plasma mtDNA analysis aids in predicting pancreatic necrosis in acute pancreatitis patients: a pilot study [J]. Dig Dis Sci, 2018, 63(11): 2975-2982.
- [13] Luo ZL, Sun HY, Wu XB, et al. Epigallocatechin-3-gallate attenuates acute pancreatitis induced lung injury by targeting mitochondrial reactive oxygen species triggered NLRP3 inflammasome activation [J]. Food Funct, 2021, 12(12): 5658-5667.
- [14] Ghosh J, Chowdhury AR, Srinivasan S, et al. Cigarette smoke toxins-induced mitochondrial dysfunction and pancreatitis involves aryl hydrocarbon receptor mediated cyp1 gene expression; protective effects of resveratrol [J]. Toxicol Sci, 2018, 166(2): 428-440.
- [15] Zheng P, Ding B, Jiang Z, et al. Ultrasound-augmented mitochondrial calcium ion overload by calcium nanomodulator to induce immunogenic cell death [J]. Nano Lett, 2021, 21(5): 2088-2093.
- [16] Petersen OH, Gerasimenko JV, Gerasimenko OV, et al. The roles of calcium and ATP in the physiology and pathology of the exocrine pancreas [J]. Physiol Rev, 2021, 101(4): 1691-1744.

(收稿日期: 2022-04-29)

(本文编辑: 高婷)