

临 床 生 化 检 验

下 册

主 编 者

上 海 市 医 学 化 验 所

审 编 者

陈 映 陶义训 李健斋 马立人 夏寿萱

上海科学技术出版社

内 容 提 要

本书内容包括临床生化检验方法、生化功能试验以及生化检验基础理论和基本操作三部分,分上下二册出版。

下册介绍生化功能试验和生化检验基本操作,包括肝功能试验、肾功能试验以及光度法、电泳法、层析法等。

本书的主要读者对象是临床生化检验工作者,对医学生化工作者和临床医师也有一定的参考价值。

临床生化检验

下 册

上海市医学化验所主编

上海科学技术出版社出版

(上海瑞金二路450号)

本书全套上海发行所发行无锡县人民印刷厂印刷

开本 787×1092 1/16 印张 24.5 字数 583,000

1982年3月第1版 1982年3月第1次印刷

印数 1-30,500

统一书号: 14119·1500 定价: (科四)2.30元

目 录

第 13 章 肝功能试验

第 1 节 肝细胞的结构和功能	1	(二) 麝香草酚絮状反应	24
第 2 节 肝功能试验的临床应用	3	(三) 硫酸锌浊度试验	25
第 3 节 胆红素代谢	4	1. 光电比浊法	25
一、正常胆红素的代谢	4	2. 目视比浊法	26
二、黄疸的机理	6	三、凝血酶原时间测定	26
三、血清黄疸指数测定	7	四、血氨测定	27
(一) 目视比色法	8	第 5 节 糖代谢	27
(二) 分光光度法	8	一、半乳糖耐量试验	28
四、血清胆红素测定	9	二、静脉葡萄糖耐量试验	29
(一) 甲醇法	11	第 6 节 脂类代谢	29
(二) 咖啡因法	13	第 7 节 肝脏和酶	30
(三) 二氯苯胺法	14	一、血清转氨酶	30
(四) 胆红素试纸	14	二、碱性磷酸酶及其同功酶	32
(五) 血清胆红素测定的临床意义	15	三、5'-核苷酸酶	33
五、尿液胆红素试验	16	四、 γ -谷氨酰转肽酶	34
三氯化铁试验	16	五、亮氨酸氨肽酶	34
六、尿液尿胆原测定	16	六、乳酸脱氢酶及同功酶	35
(一) 光电比色法	16	七、胆碱酯酶	35
(二) 尿胆原试纸	17	八、单胺氧化酶	35
七、粪便尿胆原测定	18	第 8 节 染料排泄试验	36
第 4 节 蛋白质代谢	19	一、磺溴酞钠试验	36
一、血浆蛋白测定	19	二、吲哚氰绿试验	38
二、血清絮状浊度试验	20	第 9 节 其他肝功能试验	39
(一) 麝香草酚浊度试验	21	一、血清铁	39
1. 光电比浊法	21	二、血清铜	39
2. 目视比浊法	23		

第 14 章 消化功能试验

第 1 节 胃功能试验	40	4. 细菌培养	44
一、胃的分泌功能	40	(二) 应用刺激剂的胃液分析	44
二、胃液分析	42	1. 基础胃液分泌测定	45
(一) 空腹胃液检查	44	2. 加量组织胺试验	45
1. 肉眼观察	44	3. 五肽促胃液素试验	47
2. 显微镜检查	44	4. 胰岛素低血糖试验	47
3. 化学检查	44	5. 分次胃液分析(试餐法)	48

6. 咖啡因试验	48	三、胰腺外分泌功能的测定	59
(三) 胃液分析的临床应用	48	(一) 直接刺激试验	59
三、游离盐酸及总酸度滴定	49	1. 肠促胰液肽刺激试验	61
(一) pH 计法或酚红指示剂法	49	2. 肠促胰液肽及肠促胰酶素刺激试验	61
(二) 托弗指示剂和酚酞二步滴定法	50	3. 静脉滴注肠促胰液肽、肠促胰酶素试验	61
四、无管胃酸分析	50	(二) 间接刺激试验(Lundh试餐试 验)	62
五、尿蛋白酶测定	52	(三) 粪内糜蛋白酶测定	63
六、乳酸试验	53	四、十二指肠液中胰酶类的测定	63
(一) 定性试验	53	(一) 糜蛋白酶测定(分光光度法)	64
(二) 半定量试验	53	(二) 胰蛋白酶测定(分光光度法)	64
第2节 胰腺功能试验	54	(三) 胰蛋白酶测定(比色法)	64
一、胰腺的分泌功能	54	五、胰腺消化功能的检查	65
二、血清及尿液中胰酶类的测定	56	淀粉耐量试验	65
(一) 血清淀粉酶测定	57	第3节 小肠功能试验	66
(二) 尿淀粉酶测定	58	一、小肠的生理功能	66
(三) 淀粉酶和肌酐清除率的比值测定	58	二、小肠吸收功能试验	67
(四) 腹水和胸水中淀粉酶测定	59	(一) 粪便脂肪显微镜检查	68
(五) 血清脂肪酶测定	59	(二) 粪便脂肪测定	68
(六) 尿脂肪酶测定	59	(三) 脂肪平衡试验	68
(七) 激发试验	59	(四) 右旋木糖吸收试验	68
(八) 血清内其他酶的测定	59		

第15章 肾脏功能试验

第1节 肾脏的生理功能	70	3. 肌酐	80
第2节 尿液的一般理化性质	72	4. 肌酸	80
第3节 肾脏功能试验	74	5. 尿酸	81
一、一般肾功能试验	74	二、肾脏清除功能试验	81
(一) 尿液的一般检查	74	(一) 肾脏清除功能的概念和基本技术	81
1. 尿比重测定	75	(二) 肾小球滤过率测定	84
2. 尿折射率测定	75	1. 菊糖清除试验	84
3. 尿和血清的渗透量测定	76	2. 甘露醇清除试验	87
(二) 浓缩试验和稀释试验	78	3. 硫代硫酸钠清除试验	88
1. 浓缩试验	78	4. 内生肌酐清除试验	89
2. 垂体后叶素试验	78	5. 尿素清除试验	89
3. 稀释试验	78	(三) 肾血流量测定	91
4. 莫氏试验	78	对氨马尿酸清除试验	91
(三) 酚红排泄试验	78	(四) 肾小管功能试验	92
(四) 血中非蛋白氮成分的测定	80	1. 肾小管最大回吸量(T_{ma})测定	93
1. 非蛋白氮	80	2. 肾小管最大分泌量(T_{MPAN})测定	93
2. 尿素氮	80	(五) 肾脏清除功能试验的临床意义	

第 16 章 内分泌功能试验

第 1 节 引言	103	一、尿液儿茶酚胺定性试验	130
饱和分析法的一般原理	105	二、尿液儿茶酚胺荧光测定	130
第 2 节 甲状腺功能试验	108	三、尿液 3-甲氧 4-羟扁桃酸测定	133
一、血清中甲状腺激素的测定	109	(一) 铁氰化钾氧化测定法	133
(一) 血清蛋白结合碘测定	110	(二) 偏高碘酸钠氧化测定法	134
(二) 血清丁醇抽提碘测定	112	第 6 节 肾上腺皮质功能试验	136
(三) 甲状腺素(T_4)竞争性蛋白结合测定	114	一、血浆皮质醇测定	139
(四) 三碘甲状腺原氨酸(T_3)活性炭		(一) 纸层析荧光测定法	139
吸附试验	116	(二) 放射免疫测定法	142
(五) 三碘甲状腺原氨酸(T_3)放射免疫		二、尿液皮质类固醇测定	143
测定法	117	(一) 尿液 17 羟皮质类固醇测定	143
二、甲状腺吸 ^{131}I 率试验	118	(二) 尿液 17 生酮类固醇的测定	145
(一) 甲状腺吸碘试验	118	1. 硼氢钠还原过碘酸氧化法	145
(二) 血浆蛋白结合碘(PB^{131}I)测定	118	2. 硼氢钾还原钼酸钠氧化法	147
(三) 甲状腺扫描	119	三、促肾上腺皮质激素(ACTH)兴奋试验	143
(四) TSH 兴奋试验	119	四、地塞米松抑制试验	149
(五) T_3 抑制试验	119	五、双吡啶异丙酮(Su4885)试验	150
三、垂体促甲状腺激素分泌试验	119	六、水负荷试验和皮质素水试验	151
(一) 血清 TSH 的放射免疫测定	119	七、唾液中钠和钾浓度测定	151
(二) 促甲状腺激素释放因子(TRF)		第 7 节 卵巢功能试验	152
兴奋试验	119	一、雌激素测定	153
四、甲状腺外周作用的测验	119	(一) 妊娠期尿液中雌激素总量测定	154
五、碘代谢先天性缺陷试验	120	(二) 非妊娠期尿液中雌激素总量测定	155
(一) 过氯酸盐排碘试验	120	(三) 三种雌激素的分离荧光测定	156
(二) 脱碘酶缺乏试验	120	二、尿液孕二醇测定	159
六、其他试验	120	(一) 氧化铝层析比色法	160
(一) 抗甲状腺抗体	120	(二) 气相层析法	162
(二) 长效甲状腺刺激素	121	三、血浆黄体酮测定	163
(三) 甲状腺穿刺活检	121	竞争性蛋白结合测定	163
第 3 节 甲状旁腺功能试验	121	第 8 节 胎盘功能试验	165
一、血清钙及磷的测定	121	绒毛膜促性腺激素测定	165
二、尿钙定性试验	121	(一) 胶乳凝集抑制试验	166
三、钙耐量试验	122	(二) 放射免疫测定法	166
四、肾小管对磷的重吸收率测定	123	第 9 节 睾丸功能试验	169
五、磷廓清率测定	123	一、血浆睾酮测定	169
第 4 节 胰岛功能试验	124	(一) 竞争性蛋白结合法	170
一、血清胰岛素的放射免疫测定	124	(二) 放射免疫法	172
二、葡萄糖耐量试验	123	二、尿液 17 酮类固醇测定	173
三、甲糖宁(甲磺丁脲, D860)试验	129	尿液 17 酮类固醇比色测定法	173
第 5 节 肾上腺髓质功能试验	129		

第 17 章 一般操作技术

第 1 节 实验室基本技术	176	二、常用当量溶液的配制法	181
一、混匀	176	三、溶液浓度的纠正法	184
二、保温、加热和冷却	177	四、不同单位浓度溶液的换算	184
三、沉淀、过滤、透析和浓缩	178	五、标准液的配制及浓度的纠正	185
四、干燥	178	六、缓冲液配制法	186
五、滴定	179	第 3 节 微量分析技术	192
六、蒸馏	180	一、微量分析法概念	192
第 2 节 溶液的配制	181	二、血样的收集和处理	193
一、溶液浓度的表示	181	三、微量吸管的使用、校正和清洗	194
		四、几种常用微量分析技术简介	196

第 18 章 光度法

第 1 节 比色法和可见光及紫外光的 分光光度法	199	三、影响因素	219
一、光吸收定律	200	四、注意事项	219
二、目视比色法	201	第 3 节 荧光分析法	221
(一) 标准系列法	201	一、基本原理	221
(二) 稀释法	202	二、影响测定的因素	222
(三) 平衡法	202	三、仪器设备	223
三、光电比色法	203	四、测定方法	225
(一) 原理	203	五、荧光分析法的优缺点	225
(二) 测定方法	205	六、荧光分析法在临床生化上的应用	225
(三) 比色分析中的误差	208	第 4 节 原子吸收分光光度法	226
(四) 光电比色仪器的基本结构	208	一、原理和特点	226
(五) 光电比色计	212	二、仪器结构	227
四、分光光度法	213	三、测定方法	229
(一) 概述	213	第 5 节 火焰光度法	230
(二) 分光光度计	214	一、基本原理	230
第 2 节 比浊法	217	二、仪器	230
一、仪器和测定方法	217	三、测定方法	231
二、基本原理	218	四、工作条件的选择	232
		五、误差来源	235

第 19 章 电泳法

第 1 节 概述	236	一、仪器设备	247
第 2 节 血清蛋白电泳的一般原理和 影响分离的因素	237	二、操作方法	248
一、一般原理	237	三、操作中的可变因素	249
二、仪器设备	240	第 4 节 等电聚焦电泳	252
三、操作要点	243	一、合成的两性载体电解质	253
第 3 节 聚丙烯酰胺凝胶电泳	246	二、柱式聚焦电泳	254
		三、凝胶等电聚焦电泳	256

第 20 章 层 析 法

第 1 节 纸层析	258	第 4 节 液相层析	300
一、一般原理	258	一、仪器和设备	301
二、仪器及材料	261	(一) 常压液相层析仪	301
三、操作方法和注意事项	265	(二) 高压液相层析仪	304
(一) 实验室及用具	266	二、液相层析用的柱填料	305
(二) 展层的方式和滤纸的形状	266	三、层析条件的选择	307
(三) 样品的预处理	268	四、临床生化中的应用	309
(四) 加样	270	第 5 节 凝胶过滤层析	311
(五) 溶剂的选择	270	一、基本原理	311
(六) 平衡和展层	272	二、材料和设备	312
(七) 斑点的定位	272	三、操作步骤	318
(八) 定量分析	274	(一) 凝胶的选择和预处理	318
(九) 影响 R_f 值及层析分离的各种因素	275	(二) 装柱	319
四、特殊形式的纸层析	276	(三) 加样	320
五、临床生化中的应用	277	(四) 洗脱	321
第 2 节 薄层层析	279	(五) 洗脱液的收集和测定	322
一、吸附剂	280	(六) 洗脱液的浓缩	323
二、溶剂	282	(七) 凝胶柱的重复使用	324
三、吸附剂和溶剂的选择	282	(八) 凝胶的贮藏	324
四、薄层板的分类和制备方法	285	第 6 节 离子交换剂柱层析	325
五、临床生化中的应用	289	一、基本原理	325
第 3 节 气相层析	292	二、离子交换剂	327
一、一般原理	292	三、初试条件的选择	331
二、影响分离的因素	293	四、操作步骤	334
三、术语解释	293	(一) 离子交换剂的预处理	334
四、仪器设备	294	(二) 装柱	334
五、操作要点	296	(三) 加样	335
(一) 担体处理及固定液涂渍	296	(四) 洗脱	336
(二) 色谱柱的填充	296	(五) 洗脱液的分析与洗脱成分纯度的鉴定	337
(三) 定性分析方法	297	(六) 再层析	337
(四) 定量分析方法	297	(七) 浓缩	337
(五) 衍生物的制备	298		
六、临床生化中的应用	299		

第 21 章 溶液 pH 值的测定

第 1 节 pH 值的比色测定法	338	第 2 节 pH 值的电位测定法	342
一、指示剂的变色原理	338	一、原电池的电动势	342
二、应用 pH 试纸的比色测定	339	二、电位法测定 pH 值的原理	344
三、应用缓冲溶液的比色测定	340	三、pH 标准缓冲溶液	346
四、应用 pH 比色计的测定	342	四、酸度计的使用	346

第 22 章 质量控制和正常值

第 1 节 准确度与精密度	349	一、误差的来源及分类	359
第 2 节 两种测定方法的比较	352	二、减少误差的各种措施	360
一、平均差数及其显著性检验	352	三、质量控制图	361
二、相关系数	354	第 4 节 正常值	363
三、回归分析	356	一、正常值研究的设计	363
四、两种测定方法精密度的比较	358	二、正常值的统计	364
第 3 节 质量控制	359		

第 23 章 自动分析仪

第 1 节 连续流动式自动分析仪	372	(四) SMA 型分析仪	379
一、仪器结构	372	第 2 节 分立式自动分析仪	379
二、使用方法	377	一、仪器结构	379
(一) 血清总蛋白测定	377	二、使用方法	382
(二) 血糖测定	378	第 3 节 离心式自动分析仪	382
(三) 血清谷丙转氨酶(GPT)或 谷草转氨酶(GOT)的测定	378	一、仪器结构	382
		二、使用方法	383

第13章 肝功能试验

第1节 肝细胞的结构和功能

肝脏是人体最大的实质性腺体,对于机体内蛋白质、糖类、脂肪、维生素的合成、分解和贮存具有非常重要的作用,同时也是激素、药物和毒物灭活和解毒的主要场所。因此,肝脏内进行的各种生化反应十分复杂。此外,肝脏内的血管和淋巴系统又具有调节血容量和血液循环,维持体液平衡和免疫吞噬等的机能。当各种致病因子(内因或外因)侵犯机体时,肝脏的结构和功能必将受到不同程度的影响,临床上可应用各种生化检查方法来测知其受损的情况,辅助诊断各种肝脏疾病。这些化验方法一般称之为肝功能试验。

肝脏的功能与肝细胞的结构有着密切的关系。近年来随着细胞生物学和超显微形态学的发展,对于肝细胞的结构和功能有了进一步的了解。肝细胞是由细胞质、细胞核和细胞膜组成。应用电子显微镜可以观察到细胞质内的线粒体、内质网、溶酶体、内网器等细胞器,细胞核内的核仁和染色体以及细胞膜的精微结构。应用细胞化学技术可以将这些成分分离并研究其在机体代谢中的作用。下面简单叙述肝细胞的这些结构和功能。

线粒体 人类每个肝细胞内平均约含400个线粒体,呈圆形、椭圆形或棒形,长度为 $1\sim 5\mu\text{m}$,厚度 $0.25\sim 0.7\mu\text{m}$ 。它有一双层的界膜,外膜光滑,内膜向内折,形成许多小嵴,把线粒体划分为若干相连的小房。线粒体的主要功能是将糖、氨基酸、脂肪酸等通过三羧酸循环和氧化磷酸化过程进行彻底氧化,产生能量(如ATP),可以看作为肝细胞内的动力车间。有关三羧酸循环和氧化磷酸化过程

(即细胞呼吸)的酶和辅酶类,均分布于线粒体内。此外,其他重要的生化反应,如脂肪酸的分解和合成,氨基酸的氨基转换过程和尿素的合成等,均在线粒体内进行。物质氧化时需消耗氧,所以线粒体对缺氧特别敏感,易于损害。

内质网 为双层膜性的囊泡和细管状结构,在肝细胞内排列成网状,宽度为 $0.05\sim 0.3\mu\text{m}$ 。内质网的双层膜可能是细胞膜深入向内折入细胞质,盘曲而成为连续的管状系统,与细胞膜属同一体系,这样就便利了细胞内部与其周围的物质交换。同时,位于细胞核附近的内质网又与细胞核的外层膜相连接。内质网有两种。

1. **粗面内质网**: 囊泡表面粗糙,附有很多核糖体颗粒,在普通光学显微镜下为嗜碱性的易染色物质,此处为合成各种蛋白质和酶类的场所。

2. **光面内质网**: 囊泡表面光滑无颗粒,是糖原合成、贮存和分解的场所,胆红素、激素、染料、药物、毒物等的结合、灭活和解毒也在此进行。

溶酶体 呈圆形,平均直径 $0.4\mu\text{m}$,单层膜,基质色深,无嵴,常有中心空泡,内含10种以上的水解酶类。它与肝细胞的溶解和坏死,胆红素的分泌、胆褐素和铁颗粒等的代谢有关,可比拟为肝细胞的“清洁工”,具有吞饮,贮存,消化和运输细胞内代谢产物的作用。毛细胆管周围的一些致密小体即溶酶体。

内网器(高尔基体) 系排列成群的层状空泡结构,功能尚不清楚,可能与分泌和排泄

代谢产物以及合成胞质膜的糖蛋白，决定细胞膜的抗原决定簇有关。有人认为：内网器、溶酶体和毛细胆管三者合称为“胆汁分泌器官”，在肝内胆汁郁积时，其功能受到损害。

饮液泡 在肝细胞的近肝窦面为数很多，可能是由胞膜内陷而形成，具有吸收和输送物质的功能。

细胞质中的基质 呈细颗粒云雾状，常含有花边样的网状结构。基质内含有糖酵解、磷酸戊糖通路，氨基酸激活，脂肪酸和胆固醇合成的多种酶类。

染色体 主要由脱氧核糖核酸 (DNA) 和蛋白质组成。染色体的 DNA 是遗传信息的物质基础，对细胞的代谢起着控制和调节作用，在细胞再生时，DNA 大量合成和复制，肝细胞发生有丝分裂。

核仁 胞核内含有 1~2 个大的核仁，主要含核糖核酸和蛋白质。

核膜 系双层，有些地方二层核膜融合并出现小孔，通过这些小孔，核内外物质可以交换。

细胞膜 肝细胞膜厚 10~30nm，可分三层，内外两层主要为蛋白质分子，中间为类脂层。细胞膜基本上有三种形态：

1. 介于二个相邻肝细胞之间的细胞膜，较直，间或有指状突起，插入相邻肝细胞的间隙，好象栓钉相互连接。

2. 面向肝窦的细胞膜，具有很多突起，称为“微绒毛”，从而使肝细胞膜与血液的接触面积大大地增加。细胞膜与肝窦内的血液可直接接触，肝细胞系通过此膜与血液进行物质交换。细胞膜上含有一些酶类，如 5-核苷酸酶、碱性磷酸酶等，此膜的结构或功能改变时，可使肝细胞内的酶类(如转氨酶)或其他物质(如维生素 B₁₂) 逸入血液，从而引起血内的浓度增高。肝窦内散在分布的吞噬细胞，即星状细胞。在星状细胞与肝细胞膜之间存在的潜在性的空隙，称为肝索窦间隙。

3. 在二或三个肝细胞之间，细胞膜褶皱，形成毛细胆管的壁，在管壁上亦有微绒毛突起，并含有酶类(如 ATP 酶)。毛细胆管对于胆红素和其他胆汁内物质的排泌有密

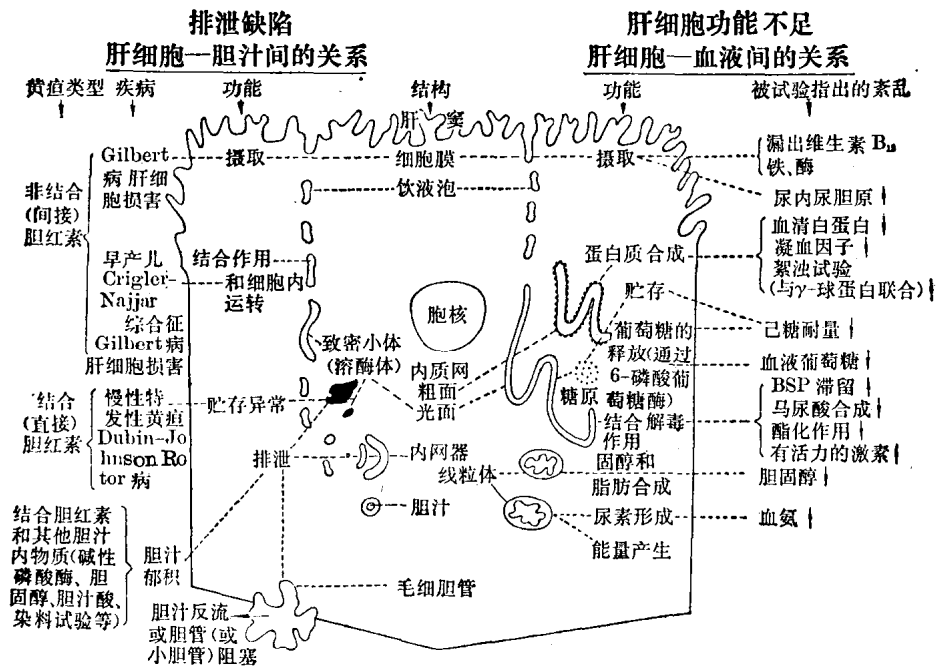


图 13-1 肝细胞的各种功能及其与血液胆汁的关系

切关系,在肝内或肝外胆汁郁积时,毛细胆管发生改变。

肝细胞内的各种细胞器和细胞膜之间的相互关系甚为密切,其内部结构既有相互分工又有密切联系,共同完成肝细胞的一系列功能。在各种肝脏疾病时,往往是肝细胞内

的细胞器首先受损,引起改变,然后才导致普通光学显微镜下的病理变化和临床生化的改变。现将肝细胞内部结构和功能的联系,及其与黄疸和肝功能改变的关系,归纳为图13-1。

潘伯民 姚光弼写 李健斋校

第2节 肝功能试验的临床应用

肝脏的功能十分复杂,检查肝功能的试验也有多种,但临床常用的肝功能试验不过一、二十种,而且,对于具体的病人来说,需要做哪些试验,应当有针对性地进行合理选择。

肝功能试验的临床价值 肝功能试验主要的临床应用可归纳如下:

1. 协助诊断各种肝病,如急性病毒性肝炎、慢性肝炎、肝硬化、肝癌等,并有助于了解肝脏损害的程度、转归和预后等。

2. 辅助鉴别诊断黄疸,确定黄疸的性质和病因,决定其治疗方针。

3. 测知全身性疾病,如传染病、寄生虫病、心肾、胃肠、内分泌代谢病等对肝脏的侵犯或影响。

4. 了解各种工业毒物、药物、物理因子对肝脏的损害。

5. 判断各种中西药物、针灸等对肝病的疗效,或对肝功能的影响。

6. 肝胆系病人术前测定肝功能,有助于估计手术的可能性和作好术前准备。

但是,必须注意,肝功能试验有一定的限度,如只片面地或孤立地根据肝功能试验作出诊断,常可能造成错误或偏差。其理由如下:

1. 肝脏有较丰富的储备功能和代偿能力,轻度或局限性病变时,肝功能试验常可能正常,造成假阴性。

2. 肝脏的功能是多方面的,每一种肝功能试验只能反映某一侧面,如同时测定几个

肝功能试验,意义较大。

3. 肝功能试验大都是非特异性的,其他非肝脏疾病或生理影响(如妊娠等),亦可引起异常反应,造成假阳性。

4. 肝功能试验可受操作方法、仪器、试剂、pH、温度以及操作者的责任心和技术熟练程度等多种因素的影响,有所差异。

因此,肝功能试验必须与临床密切结合,才能发挥应有的作用。

肝功能试验的分类

1. 根据代谢功能分类:

(1) 胆色素代谢:血清总胆红素,1分钟胆红素,黄疸指数,尿内胆红素和尿胆原,粪内尿胆原测定。

(2) 蛋白质代谢:血清白/球蛋白,蛋白电泳,各种絮状浊度试验,血氨,血和尿内氨基酸测定等。

(3) 糖代谢:血糖、葡萄糖耐量试验,半乳糖耐量试验等。

(4) 脂肪代谢:血清胆固醇和胆固醇酯,甘油三酯,脂蛋白电泳等。

(5) 酶代谢:血清转氨酶,碱性磷酸酶,乳酸脱氢酶等。

(6) 染料排泄试验:磺溴酞钠和吲哚氰绿排泄试验。

(7) 解毒功能试验:马尿酸试验,百浪多息试验等。

(8) 其他代谢功能:如各种凝血因子,血清维生素 B_{12} ,维生素A,血清铜和铁,血清胆汁酸测定等。

(9) 免疫功能试验:

1) 体液免疫: IgG, IgA, IgM 测定, 各种自身抗体测定。

2) 细胞免疫: 淋巴细胞转化试验, 白细胞移动抑制试验, 花环形成试验等。

3) 吞噬机能: 吞噬细胞功能测定。

4) 肝炎抗原和抗体: 乙型肝炎表面抗原, 表面抗体, 核心抗体, e 抗原, e 抗体测定。

(10) 肝脏血流动力学测定: 肝脏血流量测定, 肝静脉和脾内压测定等。

2. 根据结构和功能的相关性分类: 肝功能试验在一定程度上反映组织病理学的各种改变, 根据肝功能试验只能大致地推测肝脏结构的变化, 不能精确地作出病理学诊断。

(1) 反映肝实质细胞损害, 肝细胞变性、坏死: 转氨酶, 乳酸脱氢酶同功酶, 磺溴酞钠试验, 吲哚氰绿试验, 血清胆红素和尿内

尿胆原等。

(2) 反映肝脏间质炎症反应: γ 球蛋白, 絮浊试验。

(3) 反映肝内或肝外胆汁郁积: 血清 1 分钟胆红素, 总胆固醇, 碱性磷酸酶及其同功酶, γ -谷氨酰转肽酶等。

(4) 反映肝脏纤维化程度: 单胺氧化酶。

(5) 反映有效肝细胞总数: 血清白蛋白, 凝血酶原时间, 磺溴酞钠试验等。

(6) 反映肝内占位性病变或浸润性病变: 碱性磷酸酶及同功酶, 乳酸脱氢酶同功酶, 5-核苷酸酶等。

(7) 反映原发性肝癌或肝细胞异常增生: 甲胎蛋白。

潘伯民 姚光弼写 李健高校

第 3 节 胆 红 素 代 谢

一、正常胆红素的代谢

1. 胆红素的来源和生成: 胆红素是一种四吡咯色素, 其前身为血红素。正常人胆汁内的胆红素 80~85% 来自衰老的红细胞释出的血红素, 因此在溶血和血管外出血(如血肿)时, 胆红素的形成增多。其余 15~20% 来源于: 1) 旁路性胆红素。骨髓在合成血红蛋白过程中产生的血红素, 但未进入成熟的红细胞, 即被分解为胆红素, 称为无效的血红素形成。2) 肝脏和骨髓内血红素前体, 以及其他含血红素的蛋白质, 如肌红蛋白、过氧化氢酶、过氧化物酶、细胞色素等(图 13-2)。

正常红细胞的平均寿命为 120 天左右, 过了寿限就被肝、脾和骨髓的网状内皮细胞吞噬, 将血红蛋白分解为血红素、铁和珠蛋白三种成分, 其中铁再被利用, 珠蛋白则进

入蛋白质代谢池。血红素转变为胆红素是一个复杂的生化过程, 至少包括二个步骤(图 13-3): 血红素 \rightarrow 胆绿素 \rightarrow 胆红素。每 1g 血红蛋白分解后产生胆红素 34mg, 正常成人每日从衰老红细胞释出约 6g 血红蛋白, 由此形成的胆红素约为 200mg。另外加上旁路胆红素等, 故每天共形成胆红素 250~300mg。正常人网状内皮系统将血红蛋白转变为胆红素的潜力很大, 每日最高产生胆红素的能力可达 1.5g。

从网状内皮细胞释放到血液内的胆红素是游离的, 非结合的, 在血液的 pH 值时不溶于水, 为脂溶性, 与重氮试剂呈间接反应。因为游离的胆红素是脂溶性, 因此可能透过各种细胞膜(细胞膜为脂蛋白结构), 进入细胞后可以干扰代谢功能, 例如新生儿溶血症时, 血清内非结合胆红素明显升高、损害神经细胞, 造成脑病变——核黄疸。非结合胆红素在血液内主要与白蛋白附着以利运输, 同时

亦可阻止胆红素进入细胞。尚有少量胆红素亦可与 α_1 球蛋白附着。每一个分子的白蛋白可运载 2~3 个分子的胆红素,二者的联系比较稳定,可以阻止胆红素通过半透膜,如细胞膜、血脑屏障、浆膜等。但如血液内非结合胆红素浓度过高,超过了白蛋白运载的能力(在正常血浆白蛋白浓度下,运载非结合胆红素的极限为 20~25mg 胆红素/100ml),或血浆白蛋白浓度降低,便都有非结合胆红素透入细胞内的危险。另一方面,一些阴离子对于白蛋白与胆红素的附着有竞争作用,使胆红素与白蛋白分开,游离出来,易透过细胞膜。磺胺类、游离脂肪酸、水杨酸类、甲状腺素、苯甲酸咖啡因等,都可使胆红素游离出来。

2. 肝脏对胆红素的代谢:包括肝细胞对血液内胆红素的摄取、结合胆红素的形成、结合胆红素从肝细胞排泄入胆道三个相互衔接的过程,其中任何一个过程发生障碍都可使胆红素积聚于血液而出现黄疸。

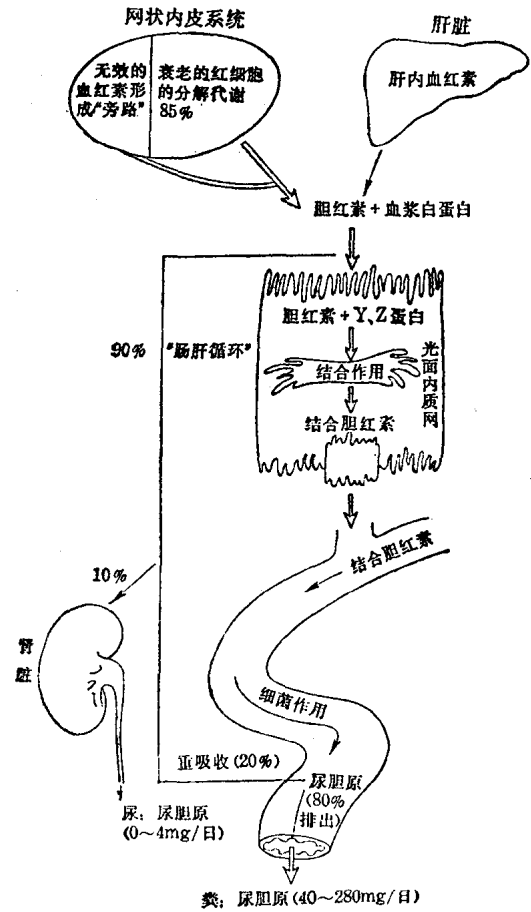


图 13-2 胆红素代谢

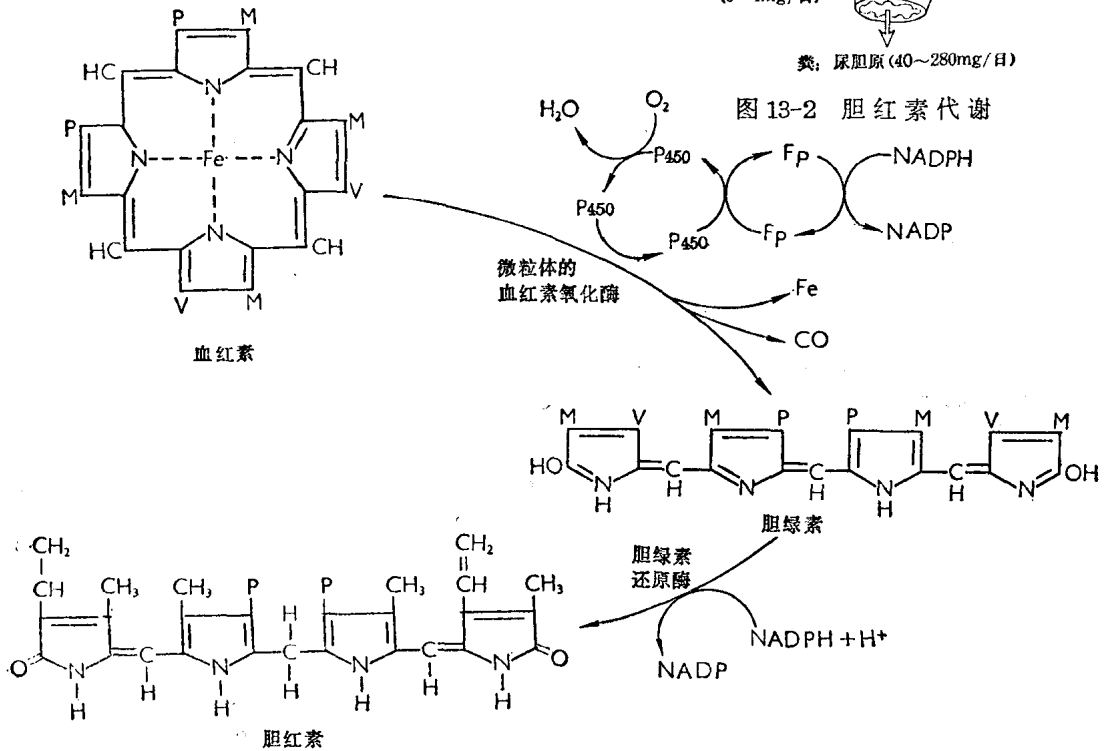


图 13-3 血红素分解为胆红素的生化反应过程

P_{450} 为一种细胞色素; F_p 为黄素蛋白。
 $M = -CH_3$; $V = -CH=CH_2$; $P = CH_2CH_2COOH$ 。

(1) 肝细胞对胆红素的摄取: 肝细胞膜是类脂膜, 胆红素能够很快地透过, 但由于胆红素在血液内与白蛋白附着较牢又会影其透过, 而实际上胆红素进入肝细胞的速度却很迅速, 因此认为肝细胞膜上有一种特殊的载体, 可能有利于胆红素进入和逸出肝细胞。胆红素进入肝细胞后即被细胞质内的二种受体蛋白质——Y和Z蛋白所结合, 将胆红素运载至细胞的光面内质网处, 以形成结合胆红素。Y蛋白在肝内含量较多, 也能结合其他的有机阴离子, 如磺溴酞钠、皮质醇的代谢物和某些致癌物质等, 但不结合胆汁酸。Z蛋白与胆红素的亲和力较差, 而是优先结合游离脂肪酸, 在胆红素代谢中的重要性次于Y蛋白。苯巴比妥能增高肝细胞内Y蛋白的浓度, 因此能增加肝细胞对胆红素和磺溴酞钠的摄取。猴出生后肝内Y蛋白浓度低于正常, 成长后浓度增加, 提示新生儿黄疸与Y蛋白浓度低下可能有关。

(2) 肝细胞内结合胆红素的形成: 肝细胞将摄取的胆红素在光面内质网处, 通过一系列酶反应, 形成结合胆红素, 这是胆红素成为能够排泄的一个必不可缺的过程。结合胆红素能溶于水, 因此很易通过胆汁从肠道排泄。它不能透过类脂膜, 因此不会在肠粘膜处吸收, 而有利于从粪便排出。同时也不易透过血脑屏障和细胞膜, 从而不造成细胞损害, 非结合胆红素与结合胆红素的比较见表

表 13-1 二种胆红素的比较

性 质	非结合胆红素	结合胆红素
重氮反应(凡登堡反应)	间接反应	直接反应
溶于水溶液	-	+
溶于脂溶剂	+	-
与血浆白蛋白附着	+	+
存在于黄疸患者尿中	-	+
存在于胆汁中	-	+
与脑组织的亲和力	+	-
溶血性黄疸病人的血清内	++	±
阻塞性和肝细胞性黄疸的血内	+	+++

13-1。

人类胆汁内的结合胆红素主要是胆红素双葡萄糖醛酸酯, 也有一定数量的胆红素单葡萄糖醛酸酯, 二者合计占胆汁内结合胆红素的 90% 左右, 其余为胆红素与 D-木糖, D-葡萄糖的结合物等。胆红素在肝细胞内与葡萄糖醛酸结合的生化反应如图 13-4。

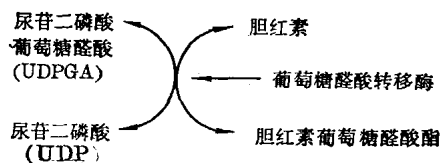


图 13-4 胆红素葡萄糖醛酸酯的形成

(3) 肝细胞对胆红素的排泄: 肝细胞将结合胆红素通过毛细胆管排入胆汁内可能有好几个步骤, 包括内网器、胆周致密小体(溶酶体), 以及毛细胆管胆膜的排泄作用, 是一种主动的, 通过载体的消耗能量的分泌过程。

3. 胆红素在肠道内的命运: 结合胆红素随胆汁排入十二指肠, 在肠道内被细菌作用, 解除其葡萄糖醛酸基, 并还原为三种无色的四吡咯化合物, 总称为尿胆原, 后者部分自动脱氢成为橘黄色的尿胆素。约 80% 的尿胆原随粪排出, 每日粪内尿胆原含量 40~280mg, 其余的尿胆原重吸收, 经门静脉到达肝脏, 其中 90% 再排入胆汁, 此即为胆红素的“肠肝循环”。余下少量的尿胆原, 到达全身循环, 从尿中排出, 所以尿内尿胆原的排出量为每日胆红素产量的 2% 以下, 为 0.2~3.5mg。此外, 排出的胆红素可以不形成尿胆原, 而是黄色或无色的双吡咯化合物。

潘伯民 姚光弼写 李健高校

二、黄疸的机理

黄疸是由于胆红素代谢障碍, 血液内胆红素浓度超过正常, 使巩膜、皮肤、粘膜等染成黄色。引起黄疸的原因很多, 临床上常分为溶血性、肝细胞性和阻塞性三大类, 按其发

表 13-2 黄疸的分类和机理

分 类	机 理	举 例
胆红素形成过多	红细胞破坏过多 无效的血红素产生过多	溶血性黄疸 旁路性高胆红素血症
肝 细 胞 损 害	肝细胞对血液内胆红素摄取障碍 结合胆红素形成障碍 肝细胞分泌胆红素的障碍 摄取、结合和分泌的混合性障碍	先天性非溶血性黄疸(间接 II 型) 先天性非溶血性黄疸(间接 I 型、II 型) 新生儿生理性黄疸 先天性非溶血性黄疸(直接 I 型、II 型) 甲基睾丸素类药物引起的黄疸 病毒性肝炎 肝硬变 肝细胞性肝癌
胆 道 阻 塞	肝内胆道阻塞 肝外胆道阻塞	氯丙嗪类药物引起的黄疸 原发性胆汁性肝硬变 肝内肉芽肿病 胆管细胞性肝癌 胆道结石和炎症 肿瘤:胰头癌、壶腹部癌、胆管癌等 胆道狭窄或纤维化

表 13-3 黄疸时血、尿、粪内胆红素的改变

	溶血性黄疸	先天性非溶血性黄疸				肝细胞性黄疸	阻塞性黄疸	
		间接 I 型	间接 II 型	直接 I 型	直接 II 型		结石	癌肿
血清非结合胆红素	↑	↑↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
血清结合胆红素	-	-	-	↑	↑	↑	↑↑	↑↑
尿内胆红素	-	-	-	↑	↑	↑	↑	↑
尿内尿胆原	↑	-	-	↑	- 或 ↑	- 或 ↑	-	↑(炎症时)↓
粪内尿胆原	↑	-	-	-	-	-	-	↓(波动性)↓↓

注: ↑增多; ↓减少; - 正常。

生机理,可归纳为表 13-2。

各种黄疸时,血、尿、粪内胆红素的改变见表 13-3。

潘伯民 姚光弼写 李健斋校

三、血清黄疸指数测定

正常血清为黄色,此黄色是由于血清中含有胆红素以及其他的黄色物质所致,胆红素约占 3/4,其余为其他黄色物质如胡萝卜素、叶黄醇、胆褐素(双吡咯化合物)以及少量性质未明的色素。血清黄色的深浅在某种程

度上可说明胆红素含量的多少。但由于胆红素外的其他色素和某些药物如阿的平等也能使血清黄色加深,影响黄疸指数的测定,故不能代替胆红素定量,但因方法简便,在黄疸诊断上可用作过筛试验。

黄疸指数的测定一般应用目视比色法,但也有用分光光度法进行测定的。目视比色法测定时往往可因血清的色调与重铬酸钾标准管不同,以致难以比较。为了免受主观因素的影响也可考虑用分光光度法,采用游离胆红素吸收波长 460 nm 进行比色测定。由于重铬酸钾与胆红素吸收曲线不同,而且两

者的吸收只在应用波长段很窄的分光光度计时才符合比尔定律,因此用一般光电比色计不能得到准确的结果。

(一) 目视比色法

原理 血清黄色的深浅与其胆红素含量有关。临床检验中规定 0.01%重铬酸钾溶液的色度作为黄疸指数 1。将血清标本用生理盐水稀释,肉眼观察其黄色深度与 0.01%重铬酸钾溶液相当时,血清的稀释倍数即为该血清的黄疸指数。

试剂

1. 0.1%重铬酸钾溶液:精确称取重铬酸钾(A. R.)0.100g,置于 100ml 容量瓶内,加蒸馏水约 90ml 溶解,加入浓硫酸 0.1 ml,再以蒸馏水稀释至刻度。

2. 0.85%氯化钠溶液。

操作 取血清 0.1ml 放入与标准管口径及厚度一致的小试管内,用刻度吸管逐渐加入 0.85%氯化钠溶液,边加边混和,随时与黄疸指数为 1 的标准管比色,直至测定管与标准管的色度相同,记下氯化钠溶液用量,此时血清的稀释倍数即为该血清的黄疸指数。如血清标本呈明显黄疸时,可将血清先稀释 5 倍,再按上法操作。

也可以用血清 0.1ml 放入与标准管口径及厚度一致的小试管内,加入 0.85%氯化钠溶液 0.4ml 或 0.9ml,混和后与一系列标准管进行目视比色,与稀释血清色度相同的标准管黄疸指数乘以血清稀释倍数(5或10),即得该血清的黄疸指数。

标准管制备 取 20ml 试管 10 只,按表 13-4 进行操作。

各管混和后,各吸取一部分,分别置于 10 只内径(不超过 1cm)与厚度相同的无色小试管内,密封管口,标明黄疸指数,备用。

正常值 黄疸指数 3~8。

附注

1. 血清标本必须无溶血及混浊现象,须

表 13-4 黄疸指数标准管配制

黄疸指数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0.1%重铬酸钾溶液(ml)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
蒸馏水(ml)	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0

用早晨空腹血。

2. 多食胡萝卜及蛋黄可使血清黄色加深。

3. 胆红素见光后黄色减退,故血清应避光保存,当天上午测定。

4. 过去有人认为黄疸指数与胆红素(按 mg/100ml 计)之比为 10:1,实际上常常不符合这一关系。

5. 血清黄疸指数正常时可以排除黄疸(即胆红素不至于升高),但黄疸指数略高于正常时,可能由于胡萝卜素血症等引起,应作胆红素定量测定以明确诊断。

(二) 分光光度法

原理 应用游离胆红素在 460nm 有吸收峰,将血清稀释后进行比色,以 0.0157%重铬酸钾溶液的读数作为黄疸指数 1,读取光密度读数,从而算出血清黄疸指数。

试剂

1. 5%枸橼酸钠溶液:称取枸橼酸三钠($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)50g,用蒸馏水溶解并稀释至 1 L。

2. 重铬酸钾标准液:溶解重铬酸钾(A. R.)157mg 于蒸馏水中,转移入 1L 容量瓶中,加 1 滴浓硫酸,并用蒸馏水稀释至 1L。此溶液相当于 1 个黄疸指数,置室温保存。

操作 将血清用 5%枸橼酸钠溶液作 1:10 稀释,血清用量视比色杯大小而定。混和后,于分光光度计 460nm 进行比色。以 5%枸橼酸钠溶液校正光密度到 0 点,读取测定管和重铬酸钾标准液光密度读数。

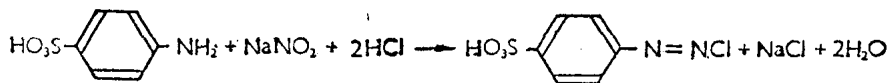
计算

$$\frac{\text{测定管光密度}}{\text{标准管光密度}} \times 10 = \text{黄疸指数}$$

如测定管光密度较标准管光密度高3~4倍,应将标本进一步稀释,直至测定管读数与标准管读数基本相似,最后将测定结果再乘以稀释倍数。

附注 用分光光度法作血清总胆红素定量也不能除外胡萝卜素等其他色素的影响。血清中也往往含有肉眼所不易察觉的少量血红蛋白,虽然氧合血红蛋白的吸收峰在415、540、576nm,但仍须校正血红蛋白在460nm的吸收所引起的干扰。有时还需校正血清混浊的影响。此外血清中的结合胆红素(胆红素双葡萄糖醛酸酯)的吸收峰在420nm,故分光光度法(采用460nm比色)只适用于测定游离胆红素升高,如新生儿黄疸的血清。

蒋伟伦 潘鹤翔写 李健斋校



胆红素与重氮苯磺酸作用可以生成双吡咯甲烯重氮色素,在微酸性溶液中呈红色;用层析法可以分离出重氮色素A及B两种。如图13-5所示,游离胆红素重氮化后生成的都是重氮色素A(不含葡萄糖醛酸),色素II重氮化后的产物都是重氮色素B(含有葡萄糖醛酸),色素I重氮化所生成的是重氮色素A及B各半。

重氮反应的条件 根据重氮反应原理所设计的血清胆红素测定法,种类很多,各种方法的区别主要在下列几个方面。

1. 所采用的加速剂不同:曾经试用过的加速剂有多种,目前常用的是甲醇、咖啡因、苯甲酸钠、尿素等。当反应液中甲醇的浓度达50%时,才能使游离胆红素完成重氮反应而不引起血清蛋白的沉淀,但是反应完成所需时间较长,而且反应液容易出现混浊,影

四、血清胆红素测定

血清中的胆红素有游离的与结合的两类已如前述。结合胆红素又分为色素I(单葡萄糖醛酸酯)及色素II(双葡萄糖醛酸酯)。临床诊断中一般只测定结合胆红素和胆红素总量。测定方法通常采用重氮反应法,此法简便,但灵敏度不高;有人提出荧光分析法具有灵敏度高的特点,是否适用于临床检验,还有待探讨。以分溶法分离色素I与色素II,方法学上既存在问题,在诊断上也没有更高的实用价值。

胆红素的重氮反应 结合胆红素溶于水,能与重氮试剂直接起反应产生重氮色素,故又称为直接反应胆红素;但游离胆红素不溶于水,须用加速剂(如甲醇)才能使它与重氮试剂起反应,故又称为间接反应胆红素。常用的重氮试剂是对氨基苯磺酸与亚硝酸钠作用所生成的重氮苯磺酸:

响比色。咖啡因-苯甲酸钠试剂有促进重氮反应快速完成的优点,但必须用很高的浓度才能奏效。近年来开始应用表面活性剂(如聚氧化乙烯月桂醚、硫酸月桂酸钠),可以避免上述缺点,但因试用时间不长,对其优缺点还缺少全面的评价。

2. 所采用的重氮试剂不同:常用的重氮苯磺酸试剂中,以往多采用0.1%对氨基苯磺酸及0.5%亚硝酸钠,有人提出适当提高上述试剂的浓度可以加速与胆红素的反应。重氮苯磺酸试剂的缺点是不稳定,只能保存1~2天,近年来正在探求可以长期保存的重氮试剂,本文后面介绍的二氯苯胺代替对氨基苯磺酸即为一例。

3. 重氮反应及显色时的pH不同:无论重氮色素A或B,显色性质如指示剂,在强碱或强酸性溶液中呈蓝色,近中性时为红色。在