

尿液 8-oxo-Gsn 和 8-oxo-dGsn 对 HBV 感染引起肝损伤程度的价值评估

徐新民 翁卿华 郭杰 方茜 李祥宇 陈哲 郭健 蔡剑平

摘要 **目的** 探讨尿液中核酸氧化代谢产物 8-oxo-Gsn 和 8-oxo-dGsn 对 HBV 感染引起肝损伤程度的评估价值。**方法** 收集笔者医院 94 例慢性乙型肝炎(以下简称慢乙肝)患者行超声引导下肝穿刺活检前的尿液,95 例健康者以及 25 例乙肝表面携带者的随机尿液,采用同位素稀释高效液相-串联质谱法(ID-LC-MS/MS)分析尿液中 DNA 氧化标志物 8-oxo-dGsn 和 RNA 氧化标志物 8-oxo-Gsn,并结合病理结果和生化指标(ALT 和 AST),分析各指标之间的相关性,通过 ROC 曲线评估二者对肝损伤程度的预测价值,并分析 8-oxo-Gsn 和 8-oxo-dGsn 在不同炎症活动度和不同纤维化程度患者中的水平差异。**结果** 实验组中,88.5% (46/52) 的男性 8-oxo-Gsn 高于正常对照组,85.7% (36/42) 的女性 8-oxo-Gsn 高于正常对照组;肝脏炎症程度高的患者($G_3 \sim G_4$)尿液中 RNA 氧化标志物 8-oxo-Gsn 显著高于炎症程度低的患者($G_0 \sim G_2$) (4.28 vs 3.26, $\chi^2 = 11.117, P = 0.009$),纤维化程度高的患者 8-oxo-Gsn 水平也高于纤维化程度低的患者(3.66 vs 3.29),但未达到显著性水平($\chi^2 = 3.626, P = 0.323$)。尿液中 RNA 氧化标志物 8-oxo-Gsn 对肝脏炎症程度有较好的预测价值(敏感度为 82.4%,特异性为 75%,AUC=0.813),对纤维化程度有较好的预测价值(敏感度为 83.3%,特异性为 77.1%,AUC=0.824)。**结论** 尿液中 RNA 氧化标志物 8-oxo-Gsn 可能是 HBV 感染引起的肝损伤严重程度的评估指标。

关键词 8-oxo-Gsn 8-oxo-dGsn HBV 感染 肝脏损伤

中图分类号 R446

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.02.018

Evaluation of Urinary 8-oxo-Gsn and 8-oxo-dGsn for the Extent of Liver Damage Caused by HBV Infection. Xu Xinmin, Weng Qinghua, Guo Jie, et al. Department of Clinical Laboratory, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100015, China

Abstract **Objective** To explore the evaluation of urine nucleic acid oxidation metabolites 8-oxo-Gsn and 8-oxo-dGsn in severity of liver damage caused by HBV infection. **Methods** We collected the urine of 94 cases of patients with chronic hepatitis B infection, 95 cases of healthy people and 25 cases of hepatitis B surface antigen carrier in our hospital. Isotope dilution high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (ID-LC-MS/MS) method was used for analyzing urine DNA oxidation indicator 8-oxo-dGsn and RNA oxidation index 8-oxo-Gsn, and we combined with the results of pathology and biochemical marker (ALT and AST) to analyze the correlation. ROC curve was made to evaluate the predictive value of 8-oxo-Gsn and 8-oxo-dGsn to the extent of liver damage. We also analyzed the difference of 8-oxo-Gsn and 8-oxo-dGsn in different degrees of inflammation and different degrees of fibrosis. **Results** 88.5% (46/52) of the male 8-oxo-Gsn in experimental group was higher than the control group and 85.7% (36/42) of the female 8-oxo-Gsn in experimental group was higher than the control group. Urine RNA oxidation marker 8-oxo-Gsn was significantly higher in high degree of liver inflammation ($G_3 - G_4$) than low degree of liver inflammation ($G_0 - G_2$) (4.98 vs 3.72, $\chi^2 = 11.117, P = 0.009$). The level of 8-oxo-Gsn in patients with a high fibrosis degree was also higher than that in patients with low fibrosis degree (3.66 vs 3.29), but not at a significant level ($\chi^2 = 3.626, P = 0.323$). RNA oxidation index in urine 8-oxo-Gsn had a good predictive value for liver inflammation (sensitivity 82.4%, specificity 75%, AUC=0.813) and also had a good predictive value for the degree of fibrosis (sensitivity 83.3%, specificity 77.1%, AUC=0.824). **Conclusion** Urine RNA oxidation marker 8-oxo-Gsn may be a good assessment marker for the degree of liver damage caused by HBV infection.

Key words 8-oxo-Gsn; 8-oxo-dGsn; HBV infection; Liver damage

基金项目:北京市优秀人才培养基金资助项目(青年骨干个人项目)(2014000021469G235)

作者单位:100015 首都医科大学附属北京地坛医院检验科(徐新民、郭杰、方茜);100730 北京医院、国家老年医学中心/国家卫生和计划生育委员会老年医学重点实验室(翁卿华、李祥宇、陈哲、郭健、蔡剑平)

通讯作者:蔡剑平,电子邮箱:caijp61@vip.sina.com

HBV 感染为慢性乙型肝炎主要的病因之一,据世界卫生组织报道,全球约 20 亿人曾感染 HBV,其中 2.4 亿人为慢性 HBV 感染者^[1]。每年约有 65 万人死于 HBV 感染所致的肝衰竭、肝硬化和肝细胞癌(HCC)^[2]。研究表明活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)引发的氧化应激是促进肝细胞氧化损伤的主要原因之一,自由基尤其是羟基自由基可以损伤核酸,导致遗传物质改变,进而引发变异蛋白质的产生和诱导各种肝脏疾病,ROS 的产生以及线粒体功能障碍,在肝细胞凋亡过程中起着重要作用^[3,4]。8-oxo-dGsn(8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine)和 8-oxo-Gsn(8-oxo-7,8-dihydroguanosine)分别是 DNA 和 RNA 氧化损伤的重要产物^[5,6]。本研究采用 LC-MS/MS 的方法检测 HBV 感染引起肝损伤患者尿液中 8-oxo-dGsn 和 8-oxo-Gsn 水平,评价其对肝损伤炎症活动度和纤维化程度预测价值。

对象与方法

1. 研究对象:选择 2015 年 10 月~2016 年 8 月在首都医科大学附属北京地坛医院行超声引导下肝穿刺活检的慢性乙型肝炎患者 94 例,入选标准:①符合《慢性乙型肝炎防治指南(2015 年版)》的诊断标准^[7];②无酒精性脂肪肝,无肝穿刺禁忌证,并接受肝穿刺病理学检查;③既往没有接受过任何抗病毒治疗。健康对照组 95 例,入选标准:①年龄与实验组匹配;②身体健康,无 HCV、HDV、HIV、淋病、梅毒等其他临床感染性疾病,无酒精性脂肪肝。乙肝表面抗原携带者 25 例,入选标准:①血清 HBsAg 阳性,HBsAg 阴性;②无酒精性脂肪肝,HBV DNA 低于检测下限,1 年内连续随访 3 次以上,每次至少间隔 3 个月;③ALT 均在正常范围。

2. 肝脏组织学检查:所有病例均于抗病毒治疗前在超声引导下进行肝穿刺活检了解肝脏组织学情况。采用 16G 穿刺针,1s 负压法于呼气末进行肝组织活检,要求肝组织长度 ≥ 1.5 cm,包含 3 个及以上可供评价汇管区。肝组织经 4% 甲醛固定,石蜡包埋,连续切片,苏木精-伊红及 Masson 染色。肝纤维化诊断按照指南做出病理分级、分期诊断,纤维化分期($S_0 \sim S_4$)及炎症分级($G_0 \sim G_4$)^[7]。

3. 尿液的预处理:冻存的尿液于 37℃ 水浴 10min 解冻,7500 $\times g$,离心 5min(4℃);取上清 200 μ l,200 μ l 工作液(70% 甲醇,30% 水,含 0.1% 甲酸和 5mmol/L 醋酸铵),10 μ l 8-oxo-[15N⁵]dGsn 和 10 μ l 8-

oxo-[15N³13C¹]Gsn(480pg/ μ l)作为内标,混匀后,37℃ 孵育 10min,然后 12000 $\times g$ 离心 15min(4℃),上清用作 LC-MS/MS 分析。研究表明,如果尿液肌酐浓度 <30mg/dl 或 >300mg/dl,则尿液标本浓度过低或者过高,不适合做检测^[8],所以本研究采用尿肌酐浓度调整 8-oxo-Gsn 或 8-oxo-dGsn 的水平。

4. 液相及质谱条件:(1)液相条件:水相(A 液):5mmol/L 的醋酸铵溶液 1L,加入 1ml 色谱级甲酸,调 pH 值为 3.7。有机相(B 液):Merck HPLC 级甲醇。进样体积:5 μ l。色谱柱型号:SB-Aq,3.0 $\times$ 100mm,1.8 μ m,600 Bar(Agilent, 美国)。柱温:35℃。(2)质谱条件:离子化模式:正离子模式;定量模式:多反应检测模式(multi reaction monitoring, MRM);干燥气温度:200℃;干燥气流量:16L/min;雾化气压力:30psi;鞘气温度:400℃;鞘气流量:12L/min;毛细管电压:2000V;喷嘴电压:0V;8-oxo-dGsn 定量离子对 m/z 284 $\rightarrow$ 168 的毛细管出口电压(Fragmentor)及最佳碰撞电压(CE)值分别为 380V、10eV;8-oxo-dGsn 定性离子对 m/z 284 $\rightarrow$ 140 的 Fragmentor 及 CE 值分别为 380V、32eV;8-oxo-dGsn 的同位素内标 8-oxo-dGsn-IS 定量离子对 m/z 289 $\rightarrow$ 173 的 Fragmentor 及 CE 值分别为 380V、10eV;8-oxo-Gsn 定量离子对 m/z 300 $\rightarrow$ 168 的 Fragmentor 及 CE 值分别为 380V、14eV;8-oxo-Gsn 定性离子对 m/z 300 $\rightarrow$ 140 的 Fragmentor 及 CE 值分别为 380V、38eV;8-oxo-Gsn 的放射性核素内标 8-oxo-Gsn-IS 反应离子对 m/z 303 $\rightarrow$ 171 的 Fragmentor 及 CE 值分别为 380V、12eV。

5. 统计学方法:采用 SPSS 16.0 统计学软件对数据进行统计分析处理,非正态分布的计量资料采用四分位数表示,正常组和实验组尿液中 8-oxo-Gsn/肌酐或 8-oxo-dGsn/肌酐的均值比较采用独立样本 *t* 检验,不同疾病程度、炎症活动度及纤维化程度之间的分析采用非参数 *Kruskal-Wallis H* 检验。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

与正常对照组比较,肝损伤组中,88.5% (46/52) 的男性 8-oxo-Gsn 高于正常对照组,85.7% (36/42) 的女性 8-oxo-Gsn 高于正常对照组;而对于 8-oxo-dGsn,只有 44.2% (23/52) 的男性 8-oxo-dGsn 高于正常对照组和 71.4% (30/42) 的女性 8-oxo-dGsn 高于正常对照组,见表 1。

表 1 实验组和对照组中尿液 8-oxo-Gsn 和 8-oxo-dGsn 水平 [$\bar{x} \pm s, M(P_{25} \sim P_{75})$]

组别	总数	年龄(岁)	8-oxo-Gsn	8-oxo-dGsn
实验组 ^a	94	38.42 ± 10.55	3.50(2.84 ~ 4.83)	1.70(1.33 ~ 2.22)
对照(正常人)组 ^b	95	39.75 ± 11.20	2.34(2.06 ~ 2.51)	1.52(1.37 ~ 1.62)
对照(携带者)组 ^c	25	29.08 ± 5.53	3.22(2.49 ~ 3.60)	1.40(1.18 ~ 1.51)
$t^{a \text{ vs } b}(P)$		0.829(0.408)	4.031(0.000)	2.956(0.004)
$t^{a \text{ vs } c}(P)$		5.937(0.000)	2.910(0.05)	3.403(0.001)

肝脏炎症程度高的患者($G_3 \sim G_4$)尿液中 RNA 氧化标志物 8-oxo-Gsn 显著高于炎症程度低的患者($G_0 \sim G_2$),纤维化程度高的患者 8-oxo-Gsn 水平也高于纤维化程度低的患者(3.66 vs 3.29),但未达到显著性水平。血清 ALT 和 AST 与肝脏炎症程度

显著相关,慢乙肝患者的临床资料及尿液中 8-oxo-Gsn 和 8-oxo-dGsn 水平见表 2。并未发现 8-oxo-Gsn 与 ALT 或 AST 之间存在相关性($P = 0.934, P = 0.354$),也未发现 8-oxo-dGsn 与 ALT 或 AST 之间存在相关性($P = 0.390, P = 0.664$)。

表 2 慢乙肝患者的临床病理资料与尿液 8-oxo-Gsn 和 8-oxo-dGsn 水平的相关性 [$M(P_{25} \sim P_{75})$]

项目	例数($n = 94$)	8-oxo-Gsn	8-oxo-dGsn	ALT	AST
疾病严重程度					
轻度	58	3.27(2.63 ~ 4.33)	1.64(1.26 ~ 2.00)	34.5(27.00 ~ 42.90)	27.6(21.50 ~ 34.00)
中度	13	3.66(3.08 ~ 4.93)	1.63(1.40 ~ 1.90)	47(27.80 ~ 94.60)	36.3(25.80 ~ 50.80)
重度	6	4.05(3.63 ~ 4.81)	2.06(0.94 ~ 2.20)	55.2(19.30 ~ 91.70)	37.6(35.90 ~ 95.50)
P		0.071	0.831	0.507	0.021
χ^2		6.703	0.179	0.970	6.081
炎症活动度					
$G_{0 \sim 2}$	64	3.26(2.63 ~ 4.24)	1.61(1.13 ~ 2.00)	33.5(26.20 ~ 42.60)	27.05(21.50 ~ 33.90)
$G_{3 \sim 4}$	13	4.28(3.32 ~ 6.69)	1.70(1.48 ~ 2.00)	61.2(47.00 ~ 111.00)	44.1(36.30 ~ 95.50)
P		0.009	0.862	0.001	0.008
χ^2		11.117	0.648	11.529	5.366
纤维化程度					
$S_{0 \sim 2}$	57	3.29(2.72 ~ 4.31)	1.72(1.45 ~ 2.10)	36.2(28.10 ~ 60.40)	28.8(22.28 ~ 42.50)
$S_{3 \sim 4}$	20	3.66(2.99 ~ 4.93)	1.54(1.11 ~ 1.90)	30.4(21.50 ~ 47.00)	29.8(25.10 ~ 37.20)
P		0.323	0.441	0.132	0.430
χ^2		3.626	1.140	3.453	3.206

尿液中 RNA 氧化标志物 8-oxo-Gsn 对肝脏炎症程度有较好的预测价值,8-oxo-Gsn 对炎症活动度(G)和纤维化程度(F)诊断的 ROC 曲线如图 1 所示。尿液中 DNA 氧化标志物 8-oxo-dGsn 对炎症活动度(G)和纤维化程度(F)诊断的 ROC 曲线如图 2 所示。

讨 论

HBV 感染是急性或慢性乙型肝炎、肝硬化和肝癌的重要因素之一,并且,也是导致肝损伤的直接原因之一,病毒感染可以引起 ROS 的释放,使吞噬细胞活化并释放前氧化性细胞因子^[9]。目前,肝损伤程度的评估以及抗病毒时机的选择主要依靠病理学或影像学,然而约 15% ~ 22% ALT 正常的慢性 HBV 感染者肝穿刺组织病理学呈显著性肝损伤 [$G \geq 2$ 和

(或) $S \geq 2$],而 ALT 正常的慢性 HBV 感染者接受肝组织穿刺病理学评估的患者仅占少数,其主要原因为肝穿刺是一项典型的有创检查,并可导致出血等相关并发症,而且,肝组织标本采集和病理学检查,检测周期长、成本高,难以被患者和临床医生接受,严重影响了对长期携带 HBV 患者肝组织损伤状态的评估,导致很多患者丧失了早期抗病毒治疗的时机,从而增加了肝硬化和(或)肝癌的发生。根据目前的乙肝防治指南,多数患者对肝组织损伤及纤维化程度的评估均依赖于影像学及一般血液生化评估。即便是目前对肝纤维化判定最为理想的影像学检查,如 FibroScan,其对显著性肝损伤的评估敏感度和特异性也均较低。显著性肝损伤被认为是影像学评估的“灰区”^[10,11]。

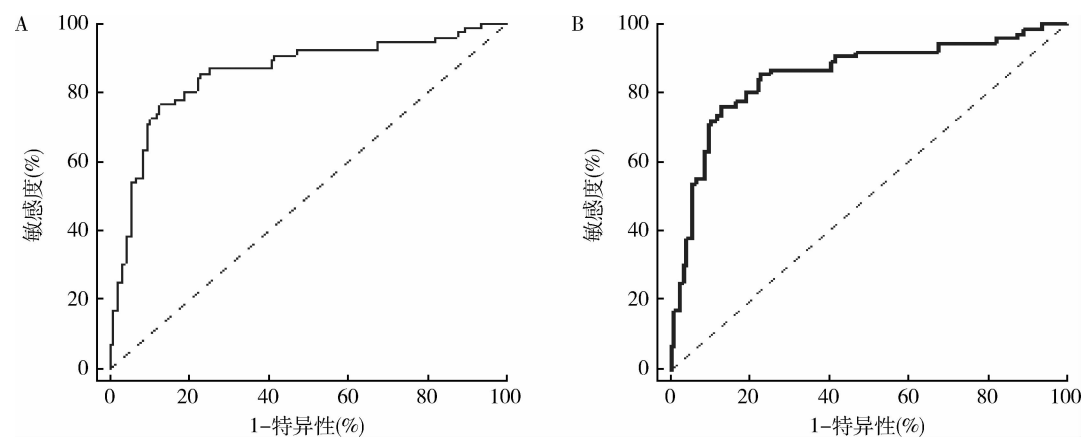


图 1 8-oxo-Gsn 对炎症活动度和纤维化程度诊断的 ROC 曲线

A. 8-oxo-Gsn 对炎症活动度(G)诊断 ROC 曲线(敏感度为 82.4%, 特异性为 75%, AUC = 0.813); B. 8-oxo-Gsn 对肝纤维化程度(F)诊断的 ROC 曲线(敏感度为 83.3%, 特异性为 77.1%, AUC = 0.824)

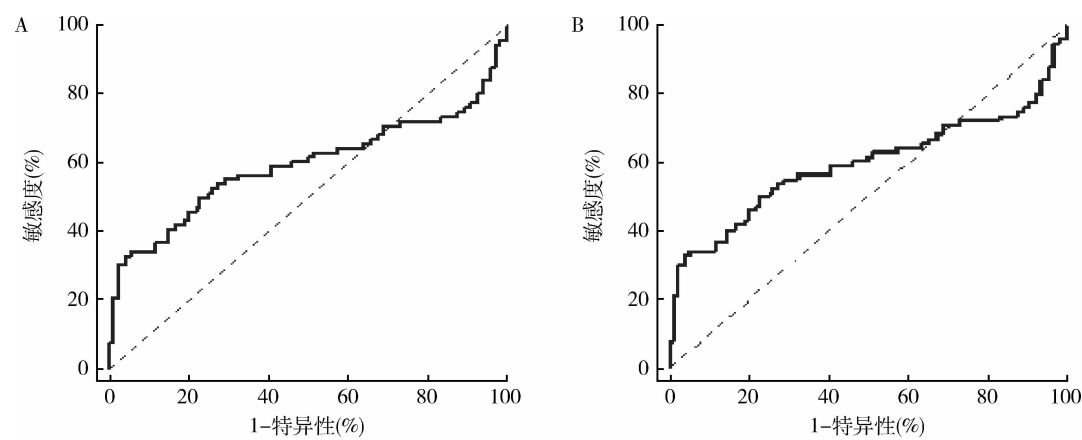


图 2 8-oxo-dGsn 对炎症活动度和纤维化程度诊断的 ROC 曲线

A. 8-oxo-dGsn 对炎症活动度(G)诊断 ROC 曲线(敏感度为 35.3%, 特异性为 97.9%, AUC = 0.594); B. 8-oxo-dGsn 对肝纤维化程度(F)的 ROC 曲线(敏感度为 35.7%, 特异性为 97.9%, AUC = 0.609)

氧化应激是正常细胞中氧化和抗氧化失衡的一种状态,在肝脏损伤中起关键作用^[12]。Shimoda 等^[13]曾研究过慢性肝炎患者肝组织中 DNA 氧化损伤产物 8-oxo-dGsn 的变化,他们发现慢性肝炎患者中 8-oxo-dGsn 的浓度显著高于正常肝组织,并且非癌肝组织中 8-oxo-dGsn 的浓度与血清 ALT 的水平显著相关,该研究推测慢性肝炎中的 DNA 氧化损伤可能增加基因组的改变,进而引起肿瘤发生。与 DNA 比较, RNA 大都定位于胞质,大部分是单链核酸且无组蛋白的保护,同时 RNA 聚合酶缺乏校正功能,而 DNA 有组蛋白保护,因此, RNA 氧化损伤可能比 DNA 更严重, RNA 氧化代谢产物 8-oxoGsn 的水平可能与显著性肝损伤更相关。与 DNA 氧化相比, RNA 氧化损伤的研究较少,虽然很多研究显示乙肝病毒可能与氧化应激之间存在相关性,但氧化应激

在慢性乙型肝炎进展为肝硬化和肝癌中的作用并不清楚^[14]。最早研究与 DNA 和 RNA 氧化损伤相关的疾病是与年龄相关的神经系统性疾病,如阿尔兹海默病(AD)、精神分裂症等,但在肝损伤中的研究还未见报道^[15-17]。Görg 等^[18]分析了肝硬化和肝性脑病患者大脑皮质组织中 RNA 氧化指标 8-oxo-Gsn,以无肝脏疾病的脑组织作为对照,结果显示 8-oxo-Gsn 水平显著高于对照组,伴有肝硬化的肝性脑病与脑组织中氧化应激水平(包括 RNA 氧化)相关。该研究以患者脑组织为研究对象,结果可靠,真实地反应了体内 RNA 氧化与肝性脑病的关系,但是其分析的脑组织中 RNA 氧化水平,未分析肝脏组织中 RNA 氧化程度,而且在较易采集的标本如血清、尿液中 8-oxo-Gsn 含量也未知。

本研究发现,肝脏炎症程度越高,8-oxo-Gsn 越高, G_{3-4} 级别的8-oxo-Gsn 显著高于 G_{0-2} 级别(4.28 vs 3.26, $P=0.009$),并且纤维化程度高的患者8-oxo-Gsn 水平也高于纤维化程度低的患者(3.66 vs 3.29),可能由于标本例数的限制,未达到显著性水平。而对于DNA氧化指标8-oxo-dGsn 则没有差异, G_{3-4} 级别的8-oxo-dGsn 只是略微高于 G_{0-2} 级别,差异无统计学意义($P=0.862$),这表明8-oxo-Gsn 可能在肝脏炎症程度上有较好的预测价值。而且,ALT和AST与炎症活动度之间存在显著的相关性($P=0.001$, $P=0.008$)。同时,笔者也收集了25例乙肝表面抗原携带者患者的尿液,受例数限制,年龄上与实验组有所偏移,消除年龄因素后进行统计,发现实验组的8-oxo-Gsn 水平也显著高于携带者组(3.50 vs 3.22, $t=2.910$, $P=0.05$),实验组的8-oxo-dGsn 水平也显著高于携带者组(1.70 vs 1.40, $t=3.403$, $P=0.001$),这预示尿液8-oxo-Gsn 和8-oxo-dGsn 有可能成为区分乙肝患者和乙肝表面抗原携带者的标志物。

目前也有研究显示声辐射力脉冲成像技术(ARFI)以及血清学诊断模型(Forns指数、FIB-4、APRI)对慢性乙型肝炎肝纤维化有较好的评估价值,但是敏感度和特异性也非常有限,并未在临床广泛使用^[19]。本研究检测的标本是尿液,完全无创,而且尿液中8-oxo-Gsn 的水平显著高于血清,对于临床常规检测有很大潜力^[5]。而且,8-oxo-dGsn 和8-oxo-Gsn 除了在尿液和血浆中检测到,在脑脊液中检测到,表明该指标可能在无创检测方面有着较好的应用价值^[20]。

参考文献

- Ott JJ, Stevens GA, Groeger J, *et al.* Global epidemiology of hepatitis B virus infection: new estimates of age specific HBsAg seroprevalence and endemicity [J]. *Vaccine*, 2012, 30(12):2212-2219
- Lozano R, Naghavi M, Foreman K, *et al.* Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010 [J]. *Lancet*, 2012, 380(9859):2095-2128
- Barcelos RP, Royes LF, Gonzalez-Gallego J, *et al.* Oxidative stress and inflammation: liver responses and adaptations to acute and regular exercise [J]. *Free Radic Res*, 2017, 6:1-32
- Ma Y, Zhang J, Zhang Q, *et al.* Adenosine induces apoptosis in human liver cancer cells through ROS production and mitochondrial dysfunction [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 448(1):8-14
- Gan W, Nie B, Shi F, *et al.* Age-dependent increases in the oxidative damage of DNA, RNA, and their metabolites in normal and senescence-accelerated mice analyzed by LC-MS/MS: Urinary 8-oxoguanosine as a novel biomarker of aging [J]. *Free Radic Biol Med*, 2012, 52(9):1700-1707
- Shi F, Nie B, Gan W, *et al.* Oxidative damage of DNA, RNA and their metabolites in leukocytes, plasma and urine of Macaca mulatta: 8-oxoguanosine in urine is a useful marker for aging [J]. *Free Radic Res*, 2012, 46(9):1093-1098
- 中华医学会肝病学会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2015版) [J], 中华实验和临床感染病杂志:电子版, 2015, 9(5):570-589
- Barr DB, Wilder LC, Caudill SP, *et al.* Urinary creatinine concentrations in the U.S. population: implications for urinary biologic monitoring measurements [J]. *Environ Health Perspect*, 2005, 113:192-200
- Morales-Romero J, Vargas G, García-Román R. Occult HBV infection: a faceless enemy in liver cancer development [J]. *Viruses*, 2014, 6(4):1590-1611
- Huang R, Jiang N, Yang R, *et al.* Fibroscan improves the diagnosis sensitivity of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B [J]. *Exp Ther Med*, 2016, 11(5):1673-1677
- Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B: update 2009 [J]. *Hepatology*, 2009, 50(3):661-662
- Ha HL, Shin HJ, Feitelson MA, *et al.* Oxidative stress and antioxidants in hepatic pathogenesis [J]. *World J Gastroenterol*, 2010, 16(48):6035-6043
- Shimoda R, Nagashima M, Sakamoto M, *et al.* Increased formation of oxidative DNA Damage, 8-Hydroxydeoxyguanosine, in Human livers with chronic hepatitis [J]. *Cancer Res*, 1994, 54(12):3171-3172
- Duygu F, Karsen H, Aksoy N, *et al.* Relationship of oxidative stress in hepatitis B infection activity with HBV DNA and fibrosis [J]. *Ann Lab Med*, 2012, 32:113-118
- Jacob KD, Noren-Hooten N, Trzeciak AR, *et al.* Markers of oxidant stress that are clinically relevant in aging and age-related disease [J]. *Mech Ageing Dev*, 2013, 134(3-4):139-157
- Munkholm K, Poulsen HE, Kessing LV, *et al.* Elevated levels of urinary markers of oxidatively generated DNA and RNA damage in bipolar disorder [J]. *Bipolar Disord*, 2015, 17(3):257-268
- Jorgensen A, Broedbaek K, Fink-Jensen A, *et al.* Increased systemic oxidatively generated DNA and RNA damage in schizophrenia [J]. *Psychiatry Res*, 2013, 209(3):417-423
- Görg B, Qvartskhava N, Bidmon HJ, *et al.* Oxidative stress markers in the brain of patients with cirrhosis and hepatic encephalopathy [J]. *Hepatology*, 2010, 52(1):256-265
- 刘京, 刘映霞, 董常峰, 等. ARFI、Forns指数、FIB-4和APRI无创诊断慢性乙型肝炎肝硬化的研究 [J]. *中国肝脏病学杂志:电子版*, 2014, 6(1):18-21
- Poulsen HE, Nadal LL, Broedbaek K, *et al.* Detection and interpretation of 8-oxodG and 8-oxoGua in urine, plasma and cerebrospinal fluid [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1840(2):801-808

(收稿日期:2017-06-06)

(修回日期:2017-06-16)