

口腔唾液胃蛋白酶检测对咽喉反流患者的诊断价值

杨颖¹, 徐红艳², 王骏¹, 王晋平¹, 薛佳英³

1. 陕西省人民医院耳鼻咽喉头颈外科, 陕西 西安 710068;

2. 陕西省人民医院口腔科, 陕西 西安 710068;

3. 空军航空大学门诊部, 吉林 长春 130022

【摘要】 **目的** 探讨口腔唾液胃蛋白酶检测对咽喉反流患者的诊断价值。**方法** 选取2017年1月至2018年10月陕西省人民医院收治的118例咽喉反流患者为研究对象,其中单纯咽喉炎94例,咽喉占位性病变24例,使用24 h双探头试管pH值监测法、酶联免疫吸附法对患者进行检查诊断,记录患者反流症状指数评分表和反流体征指数评分表诊断结果,并采用Kappa检验两种诊断方法一致性,ROC曲线检测口腔唾液胃蛋白酶检测法和24 h双探头试管pH值监测法对咽喉反流的诊断价值。**结果** 反流症状指数评分表和反流体征指数评分表评估的阳性率为56.78%,其中反流症状指数评分表评估阳性率为47.46%,反流体征指数评分表评估阳性率为9.32%;单纯咽喉炎患者Ryan指数阳性率为5.32%,咽喉占位性病变患者Ryan指数阳性率为29.17%,差异有显著统计学意义($P < 0.01$);单纯咽喉炎患者存在1次及以上pH<6.0反流情况阳性率为50.00%,明显低于咽喉占位性病变患者的70.83%,差异有统计学意义($P < 0.05$);患者症状发作15 min唾液胃蛋白酶阳性率为44.07%,明显高于其余时间段(晨起7.63%,餐后1 h 3.39%,睡前4.24%),差异均有统计学意义($P < 0.05$);单纯咽喉炎患者唾液胃蛋白酶阳性率为53.19%,明显低于咽喉占位性病变患者的83.33%,差异有统计学意义($P < 0.05$);构建两种检测方法ROC曲线,发现口腔唾液胃蛋白酶检测法诊断咽喉反流ROC曲线下面积分别为症状明显时0.874 (0.722, 1.000),餐后1 h 0.825 (0.669, 0.979),晨起0.760 (0.601, 0.918),大于24 h双探头试管pH值监测法[症状明显时0.736 (0.718, 1.000),餐后1 h 0.737 (0.651, 0.935),晨起0.682 (0.593, 0.829)],差异均有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 口腔唾液胃蛋白酶检测法较之咽部pH检测法能更好检测诊断咽喉反流疾病,可推广应用。

【关键词】 胃蛋白酶;咽喉反流;pH值监测法;反流症状指数评分表;反流体征指数评分表

【中图分类号】 R766 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2020)03-0291-04

Diagnostic value of oral salivary pepsin detection in patients with laryngopharyngeal reflux. YANG Ying¹, XU Hong-yan², WANG Jun¹, WANG Jin-ping¹, XUE Jia-ying³. 1. Department of ENT & HN Surgery, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an 710068, Shaanxi, CHINA; 2. Department of Stomatology, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an 710068, Shaanxi, CHINA; 3. Outpatient Department, Air Force University of Aeronautics, Changchun 130022, Jilin, CHINA

【Abstract】 **Objective** To investigate the value of oral salivary pepsin detection in the diagnosis of patients with laryngopharyngeal reflux. **Methods** One hundred and eighteen patients with laryngopharyngeal reflux admitted to Shaanxi Provincial People's Hospital from January 2017 to October 2018 were selected as the research subjects, including 94 patients of simple pharyngitis and 24 patients of throat mass lesions. The diagnosis results of reflux symptom index score table and reflux sign index score table were recorded, and Kappa test was used to analyze the consistency of the two diagnostic methods. ROC curve was used to analyze the value of oral saliva pepsin detection method and 24-hour dual-probe pH monitoring in the diagnosis of reflux. **Results** The positive rate was 56.78% for reflux symptom index and reflux sign index, 47.46% for reflux symptom index and 9.32% for reflux sign index. The positive rate of Ryan index was 5.32% in patients with simple laryngitis and 29.17% in patients with space-occupying lesions of larynx ($P < 0.01$). The positive rate of reflux with pH<6.0 once or more in patients with simple laryngitis was 50.00%, which was significantly lower than 70.83% in patients with space-occupying lesion of larynx ($P < 0.05$). The positive rate of salivary pepsin at 15 minutes after the onset of symptoms was 44.07%, which was significantly higher than that of other periods (7.63% in the morning, 3.39% at 1 h after a meal, and 4.24% before bedtime), and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The positive rate of salivary pepsin in patients with simple pharyngitis was 53.19%, which was significantly lower than 83.33% of patients with space-occupying lesion of larynx ($P < 0.05$). The ROC curves of the two detection methods were constructed. The area under the ROC curve of oral saliva pepsin for the diagnosis of laryngopharyngeal reflux were 0.874 (0.722, 1.000) when the symptoms were obvious, 0.825 (0.669, 0.979) at 1 h after meal, 0.760 (0.601, 0.918) in the morning, significantly greater than corresponding 0.736 (0.718, 1.000), 0.737 (0.651, 0.935), 0.682 (0.593, 0.829) of 24-hour dual-probe pH monitoring ($P < 0.05$). **Conclusion** Oral salivary pepsin assay can better detect and diagnose laryngopharyngeal reflux disease than pharyngeal pH test, which should be popularized.

【Key words】 Pepsin; Laryngopharyngeal reflux; pH monitoring method; Reflux symptom index score table; Reflux sign index score table

咽喉反流疾病是指人体胃内部内容物出现异常反流,进入人体上呼吸道和咽喉,从而引起慢性疾病^[1]。部分研究发现,大多数的上呼吸道疾病均与咽喉反流有密切关系,如慢性咳嗽、分泌性中耳炎、哮喘、发音障碍、喉炎等^[2]。统计学分析发现,因为咽喉不适而到医院就诊耳鼻喉科患者中有11%最终确诊为咽喉反流疾病,但往往因就诊时患者症状不明显、不突出,造成诊断和治疗时机的延误^[3]。医护人员主要使用24 h双探头试管pH值监测法诊断咽喉反流疾病,但是部分研究人员提出该方法侵入性操作给患者带来极大不适,检测时间长,花费大^[4]。研究发现,与人体胃食管反流不同,胃蛋白酶可能在咽喉反流疾病中起着关键作用。胃蛋白酶主要存在于人体胃部,一旦在人体口腔唾液中检测到胃蛋白酶,则可判定发生咽喉反流疾病^[5]。咽喉反流疾病严重影响患者生活质量,及早诊断及早期治疗能极大提高该病治愈率。因此找到一种快捷、方便诊断咽喉反流疾病的方法显得尤为重要。本研究通过对比口腔唾液胃蛋白酶检测和24 h双探头试管pH值监测法对咽喉反流患者诊断的价值,为医护人员治疗咽喉反流疾病、提高患者生活质量提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2017年1月至2018年10月本院接诊治疗且符合以下纳入和排除标准的118例咽喉反流疾病患者为研究对象,其中男性53例,女性65例;年龄20~65岁,平均(41.32±12.81)岁。所有患者均进行24 h双探头试管pH值监测法和唾液胃蛋白酶检测法诊断咽喉反流疾病,其中单纯咽喉炎94例,咽喉占位性病变24例。本研究经本院伦理委员会审理批准,患者均签署知情同意书。

1.2 病例选择 (1)纳入标准:咽喉反流疾病患者^[6];无过敏体质者;无精神病者。(2)排除标准:急慢性鼻炎者;病历资料不全者;中途退出研究者;肾功能不全者;孕妇或者哺乳期妇女;本次实验前服用胃肠道药物患者。

1.3 方法

1.3.1 24 h双探头试管pH值监测法 采用Restech DX-pH探头对患者咽部24 h pH检测。先将电极放入pH 7.0和pH 4.0校准液中校准,然后通过患者鼻部插入监测导管,探头插至患者软腭下1 cm位置,24 h即可拆除仪器,记录监测数据。记录患者反酸、咳嗽等症状和坐起、躺下、进食时间和次数,患者按照平时作息规律生活。记录患者卧位pH<5.0或者直立非进食状态pH<5.5的24 h最长反流时间、反流次数等,使用计算机计算咽喉反流疾病Ryan指数,当患者卧位pH>6.79或者直立位pH>9.41则可诊断为反流性咽喉疾病,同时计算pH<6.0反流阳性率。

1.3.2 唾液胃蛋白酶检测法 指导患者研究期

间多餐少食,避免精神上的刺激,戒咖啡、酒、烟,晚上休息之前不吃东西,睡眠时选择合适的枕头高度。采集患者睡前、早餐后1 h、晨起时发生反酸、烧心或者咳嗽等症状15 min内唾液0.1 mL,将采集的唾液置于装有0.5 mL福建古田药业有限公司生产的0.1 mol/L的柠檬酸的20 mL试管中,使用上海修远仪器仪表有限公司生产的离心机离心30 min,转速3 000 r/min,获得上清液,保存于-20℃备用。使用德州德药制药有限公司生产的胃蛋白酶酶联免疫吸附试剂盒检测唾液胃蛋白酶:将唾液解冻,3 000 r/min离心10 min,获得上清液,将样本依次滴加到预先放入胃蛋白酶抗体的培养孔中,加入样本液稀释,标准品浓度为48 μg/L、24 μg/L、12 μg/L、6 μg/L、3 μg/L、0 μg/L,然后加入检测抗体,使用上海修远仪器仪表有限公司生产的酶标仪检测450 nm条件下吸光值。通过检测1 min内胃蛋白酶催化水解血红蛋白生成1 μL 络氨酸的量验证酶联免疫吸附法检测结果。

1.4 观察指标 观察记录患者的姓名、年龄、性别等基本信息,根据文献^[7],记录患者治疗前后反流症状指数量表得分,该表共包括持续清嗓,发生障碍,声嘶,痰过多等9项指标,每项设置6个选项,分值为0~5分,无症状为0分,非常严重为5分,各项指标得分相加即为总分,得分大于13分为阳性;记录患者反流体征指数量表得分,该表共包括假声带沟、充血、红斑等8项指标,总分大于7分则为阳性。

1.5 统计学方法 应用SPSS21.0统计软件进行数据统计学分析,计量资料符合正态分布,以均数±标准差($\bar{x}±s$)表示,两两比较采用配对 t 检验,多组计量资料比较采用单因素方差分析,计数资料采用百分数表示,采用 χ^2 检验,使用Kappa检验各种诊断方法一致性,采用ROC曲线检测口腔唾液胃蛋白酶检测法和24 h双探头试管pH值监测法对咽喉反流的诊断情况,均以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 反流症状指数量表和反流体征指数量表得分比较 反流症状指数量表和反流体征指数量表评估阳性67例,阳性率为56.78%,其中反流症状指数量表评估阳性56例,阳性率为47.46%,反流体征指数量表评估阳性11例,阳性率为9.32%。

2.2 pH值监测法结果比较 单纯咽喉炎患者Ryan指数25.53,阳性5例,阳性率为5.32% (5/94),咽喉占位性病变患者Ryan指数61.86,阳性7例,阳性率为29.17% (7/24),单纯咽喉炎患者阳性率低于咽喉占位性病变患者,差异具有统计学意义($\chi^2=8.367$, $P=0.003$);pH<6.0反流阳性率结果为:存在1次及以上pH<6.0反流情况患者64例,阳性率为54.24% (64/118),其中单纯咽喉炎患者存在1次及以上pH<6.0反流情况患者47例,阳性率为50.00% (47/94),咽喉占

位性病变患者存在 1 次及以上 pH<6.0 反流情况患者 17 例,阳性率为 70.83% (17/24),单纯咽喉炎患者阳性率低于咽喉占位性病变患者,差异有统计学意义($\chi^2=6.271, P=0.010$)。

2.3 唾液胃蛋白酶检测结果比较 患者症状发作 15 min 唾液胃蛋白酶阳性率高于其余时间段,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 不同时间段唾液胃蛋白酶检测结果比较

时间	例数	阳性率[例(%)]	胃蛋白酶含量($\bar{x}\pm s, \mu\text{g/L}$)
晨起	118	9 (7.63)	152.36 \pm 72.26
餐后 1 h	118	4 (3.39)	196.83 \pm 52.42
症状发作 15 min	118	52 (44.07) ^a	151.37 \pm 42.48
睡前	118	5 (4.24)	171.66 \pm 53.09
F/ χ^2 值		6.582	1.605
P 值		0.023	0.213

注:与晨起、餐后 1 h 和睡前分别比较,^a $P<0.05$ 。

2.4 两组患者不同时间段唾液胃蛋白酶检测结

表 2 不同患者不同时间段唾液胃蛋白酶检测法结果比较[例(%)]

组别	例数	阳性样本数	晨起	餐后 1 h	症状发作 15 min	睡前
单纯咽喉炎组	94	50 (53.19)	15 (15.96)	4 (4.26)	26 (27.66)	5 (5.32)
咽喉占位性病变组	24	20 (83.33)	3 (12.50)	1 (4.17)	15 (62.50)	1 (4.17)
χ^2 值		4.305	2.896	0.003	5.683	0.173
P 值		0.041	0.152	0.986	0.014	1.001

表 3 检测方法一致性结果(例)

唾液胃蛋白酶检测法	Ryan 指数检测		量表	
	阳性	阴性	阳性	阴性
阳性	7	63	33	37
阴性	5	43	34	14
Kappa 值	0.029		0.004	

2.7 两种检测方法的 ROC 曲线分析 构建两种检测方法 ROC 曲线,发现口腔唾液胃蛋白酶检测法诊断咽喉反流 ROC 曲线下面积分别为症状明显时 0.874 (0.722, 1.000)、餐后 1 h 0.825 (0.669, 0.979)、晨起 0.760 (0.601, 0.918),大于 24 h 双探头试管 pH 值监测法[症状明显时 0.736 (0.718, 1.000),餐后 1 h 0.737 (0.651, 0.935),晨起 0.682 (0.593, 0.829)],差异均有统计学意义($P<0.05$),见图 1。

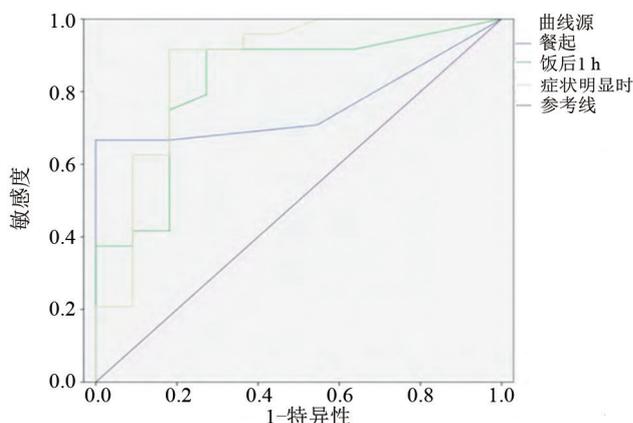


图 1 两种检测方法的 ROC 曲线

果比较 单纯咽喉炎患者阳性率低于咽喉占位性病变患者,差异有统计学意义($P<0.05$),症状发作 15 min 单纯咽喉炎患者阳性率低于咽喉占位性病变患者,差异有统计学意义($P<0.05$),其余时间之间差异无统计学意义,单纯咽喉炎组胃蛋白酶含量为(150.77 \pm 49.82) $\mu\text{g/L}$,咽喉占位性病变组胃蛋白酶含量为(169.70 \pm 51.09) $\mu\text{g/L}$,差异无统计学意义($t=0.806, P=0.237$),见表 2。

2.5 联合检测结果 唾液胃蛋白酶检测法与 Ryan 指数检测同阳性患者 7 例,唾液胃蛋白酶检测法和 Ryan 指数检测同阳性患者 72 例。

2.6 检测方法一致性结果 反流症状指数量表和反流体征指数量表评估与唾液胃蛋白酶检测法诊断反流性咽喉炎一致性差(Kappa=0.004),Ryan 指数检测法与唾液胃蛋白酶检测法诊断反流性咽喉炎一致性差(Kappa=0.029),见表 3。

3 讨论

咽喉反流是指人体内容物反流至咽喉部,胃食管反流是指人体十二指肠、胃内容物反流至食管^[8-9]。研究表明,咽喉反流与胃食管反流具有相关性^[10]。近年来,人们一直将咽喉反流归结于慢性咽喉炎,但其在发病原因、临床症状等方面又有明显的特征^[11-13]。临床上,咽喉反流患者往往因喉部不适就诊,但医护人员往往更多关注患者的喉部体征,多按照普通性咽喉炎进行治疗,忽略了与胃食管反流的关系,虽然患者症状普遍,但经过一段时间治疗后症状没有缓解,这给治疗带来了严重的影响^[14-16]。所以,准确的认识和诊断是有效及时的治疗咽喉反流疾病的前提,但是目前尚未找到有效的诊断方法。所以研究人员应加大研究力度,早日找到一种方便快捷的诊断方法,为医护人员和患者带来福音^[17-19]。

人体口腔中唾液成分十分复杂,利用唾液中某一种或者几种成分的变化来诊断疾病是可行的。胃蛋白酶只在胃部产生,当在人体喉部检测到胃蛋白酶时提示发生反流了^[20]。所以检测唾液中胃蛋白酶含量成为诊断咽喉反流疾病一种有效的方法。经患者口部吸入碳酸氢钠可以中和部分咽喉部位的 pH,减少患者咽喉部位的损伤。本次研究发现 Ryan 指数阳性率为 10.17%,唾液胃蛋白酶阳性率为 59.32%,一致性差。部分研究人员也提出,唾液胃蛋白酶检测法更灵敏。这是因为 Ryan 指数检测法设定 pH 为 5.0、5.5,忽略了

胃蛋白酶活性的pH区间。研究表明,胃蛋白酶活性最强时环境pH为2.0,pH达到6.5及以上则失去活性,pH下降后胃蛋白酶活性可激活,实验中会出现胃蛋白酶暂时失活,从而造成检测结果误差。反流症状指数评分表和反流体征指数评分表由于受到受测试人员主观因素影响,测试结果灵敏度不高。本研究中,量表与唾液胃蛋白酶检测法诊断咽喉反流疾病一致性差。本研究发现,单纯咽喉炎患者唾液胃蛋白酶阳性率、Ryan指数阳性率均低于咽喉占位性病变患者,这说明反流会间接或者直接导致人体咽喉部位上皮损伤。单纯咽喉炎患者存在1次及以上pH<6.0反流情况阳性率低于咽喉占位性病变患者,这表明弱酸状态下胃蛋白酶对人体喉部黏膜损伤是咽喉占位性病变疾病发生的主要促因。本研究发现,口腔唾液胃蛋白酶检测法诊断咽喉反流ROC曲线下面积大于24h双探头试管pH值监测法,这和部分人员的研究结果基本一致^[21-22]。胃蛋白酶检测法操作简单,取材容易,患者唾液、痰液等均可容易获得,同时采集患者体液,不会对患者造成身体上的创伤,效率高,费用低,结果可靠。

综上所述,口腔唾液胃蛋白酶检测法较之咽部pH检测法能更好检测诊断咽喉反流疾病,可推广应用,但是本次研究对象数量有限,研究结果有局限性,尚需进一步研究。

参考文献

- [1] MANTHIRAM K, LI SC, HAUSMANN JS, et al. Physicians' perspectives on the diagnosis and management of periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and cervical adenitis (PFAPA) syndrome [J]. *Rheumatol Int*, 2017, 37(6): 1-7.
- [2] 王秀,李益飞,陈伟,等.胃蛋白酶检测对咽喉反流的诊断价值[J].*医学研究生学报*,2018,31(4):408-411.
- [3] VAZQUEZ MN, SANDERS JE. Diagnosis and management of group A streptococcal pharyngitis and associated complications [J]. *Pediatr Emerg Med Pract*, 2017, 14(12): 1-2.
- [4] 王嘉森,李进让.24h多通道腔内阻抗-pH监测和Dx-pH监测诊断咽喉反流的比较研究[J].*中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*,2018,53(4):270-275.
- [5] 司峰志,龚晓瑾,丁军.咽喉部痰液胃蛋白酶浓度检测对咽喉反流性疾病的诊疗价值[J].*临床医药文献电子杂志*,2017,4(36):115-116.
- [6] 王颖怡,陈文勇.咽喉反流疾病诊断方法的研究进展[J].*中国医学文摘(耳鼻咽喉科学)*,2017,32(3):152-155.
- [7] 齐智伟,张淑君,张宇丽,等.反流症状指数评分表在诊断合并过敏

的咽喉反流患者中的应用[J].*临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*,2018,32(22):31-33.

- [8] JOSE J, BRAHMADATHAN KN, ABRAHAM VJ, et al. Streptococcal group A, C and G pharyngitis in school children: a prospective cohort study in Southern India [J]. *Epidemiol Infect*, 2018, 146(7): 848-853.
- [9] 郇振伟,周水洪.咽喉反流和喉癌前病变[J].*中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*,2017,52(8):637-639.
- [10] NASIRIAN H, TARVIJESLAMI S, MATINI E, et al. A clinical decision rule for streptococcal pharyngitis management: An update [J]. *J Lab Physicians*, 2017, 9(2): 116-120.
- [11] 张超,刘殿刚,高翔,等.动态食管监测在胃食管反流病诊断中的应用与进展[J].*临床误诊误治*,2017,30(1):106-112.
- [12] GENTILESCHI S, VITALE A, FREDIANI B, et al. Challenges and new horizons in the periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis and adenitis (PFAPA) syndrome [J]. *Expert Opinion on Orphan Drugs*, 2017, 5(2): 165-171.
- [13] 傅中明,王华英,俞万钧.咽喉部pH动态监测在咽喉反流和胃食管反流性疾病所致慢性咳嗽诊治中的应用[J].*中国耳鼻咽喉头颈外科*,2018,25(4):221-223.
- [14] 杜玉胜,张小兵,张琼,等.胃食管反流病与反流性咽喉炎的关系分析[J].*智慧健康*,2018,4(6):107-108,111.
- [15] 蔡加铤,苏海水.探讨胃食管反流病治疗方法在咽喉反流性疾病治疗中的疗效[J].*国际医药卫生导报*,2017,23(21):3377-3380.
- [16] 钟素昭.中医辨证治疗慢性胃食管反流性咽喉炎的疗效观察[J].*中国社区医师*,2017,33(2):103-104.
- [17] ATHANS V, NEUNER R, CURTIS R, et al. Pharmacoepidemiology of antibiotic prescribing among 135 000 adult outpatient encounters in northeast ohio [J]. *Open Forum Infectious Diseases*, 2017, 4(1): 507-508.
- [18] 王玲,罗伟,张雪莲.胃食管反流性咽喉疾病与幽门螺旋杆菌感染相关性研究[J].*北京大学学报(自然科学版)*,2018,19(6):97-100.
- [19] PAULI SD, LEGA S, PASTORE S, et al. Neither hereditary periodic fever nor periodic fever, aphthae, pharyngitis, adenitis: Undifferentiated periodic fever in a tertiary pediatric center [J]. *World J Clin Pediatr*, 2018, 7(1): 49-55.
- [20] 陈梅香,侯晨婕,陈婷,等.91例无症状志愿者的唾液胃蛋白酶含量及咽喉反流量表评分分析[J].*临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*,2018,32(6):415-419.
- [21] HE B, ZENG J, CHAO W, et al. Serum long non-coding RNAs MALAT1, AFAP1-AS1 and AL359062 as diagnostic and prognostic biomarkers for nasopharyngeal carcinoma [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(25): 41166-41177.
- [22] 李进让,田师宇,邹世桢,等.健康成年人唾液中胃蛋白酶含量测定在辅助检测咽喉反流中的应用研究[J].*中华胃食管反流病电子杂志*,2017,4(1):7-10.

(收稿日期:2019-05-17)