

率又有不断上升的趋势。2000 年我国第四次结核病流行病学抽样调查报告显示,我国现有活动性肺结核病患者 451 万,菌阳肺结核病患者 196 万。临床上非典型结核患者由于其症状及影像学表现不典型,无典型结核胸部 X 线及 CT 表现,病变部位不完全符合结核性改变,尤其无痰或反复痰检阴性容易误诊、漏诊^[3]。目前在我国肺结核的实验室诊断方法有涂片法和分离培养法,涂片抗酸染色是检查结核菌的首选方法,其阳性率与患者排菌量明显相关,排菌量少、易漏检,需要多次送检,直接导致阳性率较低;结核菌分离培养是 TB 诊断的金标准,但 TB 繁殖速度慢,生长条件要求高,周期过长,因此造成全国约有 50% 的肺结核病患者未被发现,给人群造成巨大威胁。纤支镜检查应用于临床以来,应用范围不断扩大,作为呼吸系统的治疗手段,日益广泛,纤支镜对肺结核病,尤其是位于非典型好发部位的肺结核有重要的诊断价值^[4]。支气管镜不但可以直观气管,支气管内病灶,了解病变的程度,而且可以直接从病变部位取样,进行结核菌和病理学检查,显著提高确诊率^[5]。

随着分子生物学技术的发展,特别是核酸扩增技术的发展,把结核病诊断方法推向更高领域。实时荧光定量 PCR 法较常规的培养法,直接涂片法相比具有检测时间短,敏感度高,特异性强的特点。本文采用实时荧光定量 PCR 法检测了 526 例纤支灌洗液,总阳性率为 8.55%,明显高于常规涂片染色法($P < 0.05$),证明 PCR 法优于传统的涂片、培养等方法^[6]。由于本文中的数据仅仅是对所有使用纤支镜检查的患者所留取的纤支液标本,而非严格选择的肺结核患者的标本进行分析的,阳性率较王海宾等^[4]报道的 36.5% 低。

对于不明原因的长期咳嗽、咳痰、喉部水肿、X 线或胸部 CT 提示有结核活动病灶,支气管镜是明确诊断的必要手段,

纤支镜导管对支气管、肺机械性刺激和灌洗可起到疏通引流支气管,促进痰量增加的作用,可提高结核菌的诊断率。实时荧光定量 PCR 是在全封闭状态下实现 PCR 扩增产物的分析,完全杜绝扩增产物的污染而导致的假阳性,结果真实可靠,采用荧光定量 PCR 方法检测冲洗液中 TB-DNA 是快速诊断结核感染的一种方法,其结果可作为结核病的主要诊断依据指标和筛选指标。PCR 技术对于评估临床疗效,疫情的监控,发病的机制和人群的普查都具有重要的意义。

参考文献

[1] 中华医学会结核病分会. 肺结核诊断和治疗指南[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2001, 24(2): 70-74.
 [2] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 796.
 [3] 彭勤, 常占平, 汪晓琴, 等. 纤支镜灌洗液的结核分支杆菌快速培养对不典型肺结核的诊断价值[J]. 中国防痨杂志, 2003, 25(3): 143-145.
 [4] 王海宾, 赵磊, 康书慧, 等. 纤维支气管镜检查在肺结核病诊断中的应用[J]. 河北医药, 2010, 33(18): 2533-2534.
 [5] 徐韵. 经纤维支气管镜刷检联合活检对痰菌阴性肺结核患者的诊断价值的初步研究[J]. 临床肺科杂志, 2010, 15(7): 967-968.
 [6] 李素华, 陈莉, 王欢. 荧光定量 PCR 检测 TB-DNA 在各类检样中的阳性率分析[J]. 西南国防医药, 2007, 17(6): 752-753.

(收稿日期: 2011-10-11)

• 临床研究 •

肺性脑病患者血清 S-100β 和神经元特异性烯醇酶的应用研究

程 晖, 汪宏良(湖北省黄石市中心医院医学检验科 435000)

【摘要】 目的 检测肺性脑病患者血清 S-100β 蛋白和神经元特异性烯醇酶(NSE)的浓度, 探讨其临床意义。
方法 29 例健康者为健康对照组, 慢性阻塞性肺疾病患者(COPD)无呼吸衰竭无肺性脑病 26 例, COPD 并发呼吸衰竭 35 例, COPD 并发肺性脑病 38 例。肺性脑病组分为轻型(14 例)、中型(13 例)、重型(11 例)3 组。用双抗体夹心酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测血清中 S-100β 蛋白, 用电化学发光法检测血清中 NSE, 并进行比较分析。
结果 COPD 并发肺性脑病组和 COPD 并发呼吸衰竭组血清 S-100β 和 NSE 值明显高于 COPD 组及健康对照组(P 值均小于 0.05), 而 COPD 组与对照组血清 S-100β 和 NSE 值比较差异无统计学意义(P 值均大于 0.05)。肺性脑病重、中型组患者血清 S-100β、NSE 水平显著高于轻型组($P < 0.05$), 重型和中型组差异无统计学意义($P > 0.05$)。
结论 检测血清 S-100β 蛋白和 NSE 浓度, 对于 COPD 并发肺性脑病及呼吸衰竭的诊断、病情的评估及脑损害的程度具有重要临床意义, 可作为评判颅内损伤的重要指标。

【关键词】 肺性脑病; 脑损伤; S-100β 蛋白; 神经元特异性烯醇酶

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2012. 05. 034 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)05-0576-03

肺性脑病(pulmonary encephalopathy, PE)是慢性阻塞性肺疾病(COPD)最常见且病死率最高的并发症,是因各种慢性肺胸疾病伴发呼吸衰竭、导致低氧血症和高碳酸血症而出现的各种神经精神症状的一种临床综合征。目前主要依靠临床症状和动脉血气分析来诊断,缺乏一个能够诊断脑损害的生化指标。S-100β 蛋白和神经元特异性烯醇酶(neuron specific enolase, NSE)主要分布于中枢神经系统,脑组织损伤后进入脑脊髓液,经血脑屏障进入血液循环。S-100β 蛋白和 NSE 检测已

经被作为脑损伤标记物用于判断疾病是否累及神经系统,神经元损伤的严重程度以及用于评价治疗效果。本研究旨在探讨血清 S-100β 蛋白和 NSE 检测对呼吸衰竭患者肺性脑病的诊断价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2009 年 4 月至 2011 年 4 月在黄石市中心医院呼吸内科住院的 68 例 COPD 患者血清,其中男 35 例,女 33 例,年龄 49~89 岁,平均(73.58±9.85)岁。临床诊断及

分型依据中华医学会颁布的慢性阻塞性肺疾病诊疗指南,全国第一届肺源性心脏病专业会议(1973)拟定的肺性脑病的诊断标准^[1]和全国第二届肺源性心脏病专业会议(1980)^[1]拟定的分型标准,排除急性脑血管意外、老年性神经病、抑郁症及其他常见原因引起的脑病。其中健康对照组 29 例为医院体检健康者随机抽取,男 15 例,女 14 例,平均(70.66±8.51)岁。COPD 患者组为(1)COPD 不并发呼吸衰竭组 26 例;(2)COPD 并发呼吸衰竭 35 例;(3)COPD 并发肺性脑病组 38 例,其中,轻型 14 例、中型 13 例、重型 11 例。各组年龄、性别差异均无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 仪器与试剂 S-100 β 试剂盒购自武汉新启迪生物科技有限公司(进口分装),人 NSE 试剂盒购自罗氏公司;血清 S-100 β 检测用 BIO-TEK FL-800 酶标仪(美国)进行,450 nm 波长比色,检测灵敏度为小于 10 ng/L;NSE 用罗氏公司 Elecsys170 型电化学发光免疫分析仪进行检测,检测灵敏度为小于 0.05 $\mu\text{g/L}$ 。

1.3 样本处理 抽取入选者静脉血 1.8 mL 加 0.109 mol/L 枸橼酸钠 0.2 mL 抗凝,4 000 r/min 离心 10 min 取血清,置于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。血清 S-100 β 和 NSE 的检测严格按照试剂盒(有效期内)说明书操作。S-100 β 采用酶联免疫吸附双抗体夹心法(ELISA),NSE 采用电化学发光法进行检测。

1.4 统计学方法 应用 SPSS13.0 统计软件进行分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,各组血清 S-100 β 和 NSE 水平的比较采用方差分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 健康对照组和 3 组 COPD 患者的血清 S-100 β 和 NSE 水平比较 COPD 并发肺性脑病组和 COPD 并发呼吸衰竭组血清 S-100 β 和 NSE 值明显高于 COPD 组及健康对照组(F 值分别为 23.018 和 14.565, P 值均小于 0.05),而 COPD 组与健康对照组血清 S-100 β 和 NSE 值比较差异无统计学意义(P 值均大于 0.05)。(表 1)。

2.2 轻、中、重 3 型肺性脑病患者血清 S-100 β 和 NSE 水平比较 COPD 并发肺性脑病患者分型从轻到重,血清 S-100 β 和 NSE 水平逐渐升高,其中,中型与轻型比较差异有统计学意义($P<0.05$),重型与轻型比较差异有统计学意义($P<0.05$),但重型与中型比较差异无统计学意义($P>0.05$) (表 2)。该结果提示,随着肺性脑病的加重,患者血清 S-100 β 和 NSE 水平也不断升高。

表 1 4 组人群血清 S-100 β 和 NSE 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	S-100 β (ng/L)	NSE($\mu\text{g/L}$)
COPD 并肺性脑病	38	31.59±9.11 ^{#*}	20.97±6.23 ^{#*}
COPD 并呼吸衰竭	35	25.64±6.54 ^{#*}	17.84±5.04 ^{#*}
COPD	26	18.51±5.07	13.24±3.29
健康对照	29	14.45±2.47	10.84±3.05

注:与 COPD 组比较,[#] $P<0.05$;与健康对照组比较,^{*} $P<0.05$ 。

表 2 肺性脑病分型与血清 S-100 β 和 NSE 水平($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	S-100 β (ng/L)	NSE($\mu\text{g/L}$)
轻型	14	21.57±1.92	15.07±1.92
中型	13	36.22±6.41 [#]	26.22±2.66 [#]
重型	11	41.73±9.47 [#]	29.73±3.47 [#]

注:与轻型比较,[#] $P<0.05$ 。

3 讨 论

S-100 β 蛋白是一种低分子酸性钙结合蛋白,因能在中性饱和硫酸氨溶液中百分之百地溶解而得名^[1],S-100 β 蛋白是它的一种基本亚型。最近的人脑免疫生化研究显示星形胶质细胞是在灰质中占主导地位的 S-100 β 蛋白阳性细胞,而少突胶质细胞是白质中占主导地位的 S-100 β 蛋白阳性细胞。据文献报道,它在多种疾病中均有意义。如新生儿缺氧性脑病,王淮燕^[2] 研究认为宫内缺氧的少数患儿出生后数天可以没有症状,容易漏诊。检测他们的脐血 S-100 β 蛋白有利于早期诊断。陶菲克和徐祖森^[3] 研究了神经精神性狼疮患者,发现患者血清 S-100 β 蛋白明显高于系统性红斑狼疮、健康人及稳定期及活动期患者,提示了中枢神经损害的严重程度。其余的很多学者也研究了诸如急性脑外伤、睡眠呼吸暂停综合征^[4]、抑郁症和厌食症等多种疾病。

烯醇化酶是参与糖酵解的一组酶,由 α 、 β 和 γ 3 种亚基以二聚体形式组成,其主要存在于脑细胞和神经内分泌细胞胞浆内。颅脑组织的损伤常伴有脑细胞代谢的变化和脑细胞水肿形成,均可引起中枢神经系统的损害。神经膜的完整性经破坏后,NSE 从细胞释放到脑脊液,通过损伤的血脑屏障进入血浆,致使患者血液循环中 NSE 检测水平升高,NSE 对维持神经系统的生理功能极为重要,被认为是神经元和神经内分泌细胞的标志物质^[5]。Chiaretti 等^[6] 的研究认为 NSE 可作为评判颅脑损伤的重要指标。

COPD 是临床常见病多发病,诱因多为呼吸道急性感染、水与电解质失衡、滥用镇静剂及吸入高浓度氧等,临床上主要多见为呼吸道急性感染。产生的机制很复杂,主要有,(1)二氧化碳潴留:潴留的二氧化碳通过血脑屏障进入脑脊液内,脑脊液内 H^+ 浓度增加,影响脑细胞代谢,使脑细胞的兴奋性降低,抑制皮质活动,这是导致肺性脑病发生的主要病理生理机制;(2)缺氧:II 型呼吸衰竭时,脑细胞处于缺氧状态,同时存在二氧化碳潴留,这种情况下细胞代谢可加重酸中毒,细胞内 H^+ 浓度增加,容易出现肺性脑病;(3)酸碱平衡失调与电解质紊乱;(4)其他如氮质血症,氨基酸转移酶升高等。此时 S-100 β 和 NSE 从脑组织经血-脑屏障进入血液循环,因此作者推测在肝性脑病时应有血清 S-100 β 和 NSE 水平的升高。通过比较 COPD 并发肺性脑病组、COPD 并发呼吸衰竭组、COPD 组和健康对照组血清 S-100 β 和 NSE 水平后发现,COPD 并发肺性脑病组 S-100 β 和 NSE 显著高于 COPD 组和健康对照组,提示肺性脑病发作时不仅有脑功能性障碍,还可能存在脑部器质性损害。在本次实验中,患者在没有发生 II 型呼吸衰竭时血清 S-100 β 蛋白和 NSE 水平较健康人没有明显升高,提示可能是 COPD 患者长期慢性缺氧,脑细胞已经适应了这种状态,没有产生明显的脑水肿。但当它发生二氧化碳潴留后,因为上述产生机制,二氧化碳潴留加重了脑细胞代谢障碍,致使脑细胞水肿,血清 S-100 β 蛋白和 NSE 水平升高提示产生了脑细胞损害。

随着肺性脑病患者脑损害进一步加重,血清 S-100 β 蛋白和 NSE 水平是随着病情加重上升,提示其可能可以反应脑损害的程度^[7]。但是肺性脑病重型与中型比较没有明显统计学意义,可能是患者病情在进一步加重过程中,对二氧化碳潴留产生了适应,脑细胞水肿没有明显的加重。由此提示血清 S-100 β 蛋白和 NSE 是反应脑细胞损害的比较敏感的指标,有助于了解是否发生脑损害并且有助于反应脑损害的程度。但是该指标能否反应脑细胞损害恢复的情况,有待进一步研究。

参考文献

[1] Steiner J, Bernstein HG, Biela H, et al. Evidence for wide extra-astrocytic distribution of S-100β in human brain [J]. BMC Neurosci, 2007, 8: 2-7.

[2] 王淮燕. 血清 S-100β 蛋白在新生儿缺氧缺血性脑病诊断中的价值[J]. 实用儿科临床杂志, 2007, 22(12): 533-534.

[3] 陶菲克, 徐祖森. 系统性红斑狼疮患者血清 S-100β 蛋白检测及其临床意义[J]. 临床皮肤科杂志, 2004, 33(12): 541-542.

[4] Dasiva LG, Mottinc C, Souza DO, et al. Serum S-100β but not NSE levels are increased in morbidly obese individuals affected by obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome [J]. Obes Surg, 2008, 18(8): 993-999.

[5] Kaca-Oryńska M, Tomasiuk R, Friedman A. Neuron-specific enolase and S-100β protein as predictors of outcome in ischaemic stroke [J]. Neurol Neurochir Pol, 2010, 44(5): 459-463.

[6] Chiaretti A, Barone G, Riccardi R, et al. NGF, DCX and NSE upregulation correlates with severity and outcome of head trauma in children [J]. Neurology, 2009, 72(7): 609-616.

[7] Mattusch C, Diederich KW, Schmidt A, et al. Effect of Carotid Artery Stenting on the Release of S-100β and Neuron-Specific Enolase [J]. Angiology, 2011, 62(5): 376-380.

(收稿日期: 2011-10-22)

• 临床研究 •

支气管哮喘患者诱导痰 EOS ECP 及血清 IL-13 水平检测及其意义

甘明¹, 易运林¹, 李小玲², 廖永强¹ (江西省萍乡市人民医院: 1. 检验科; 2. 呼吸内科 337055)

【摘要】 目的 探讨哮喘患者急性期诱导痰液中嗜酸性粒细胞 (EOS)、嗜酸性细胞阳离子蛋白 (ECP) 及血清白细胞介素-13 (IL-13) 的水平变化及在哮喘发病机制中的作用。方法 选择 55 例支气管哮喘急性期患者和 20 例健康对照者的痰液, 行 EOS 计数并测定 ECP 水平。同时采用固相酶联免疫吸附试验 (ELISA) 法检测血清中 IL-13 的水平, 并对结果进行统计学处理。结果 支气管哮喘急性期患者诱导痰液中 EOS、ECP 分别与血清 IL-13 呈正相关, 且诱导痰液中 EOS、ECP 及血清 IL-13 的水平均明显高于健康对照组 ($P < 0.05$)。结论 嗜酸性粒细胞是导致哮喘的主要炎性细胞, 而 IL-13 又是嗜酸性粒细胞激动剂并参与支气管哮喘发病的病理生理过程, 诱导痰液 EOS、ECP 和血清 IL-13 检测是哮喘诊断及病情转归的一个重要实验室指标。

【关键词】 支气管哮喘; 诱导痰液; 嗜酸性粒细胞; 嗜酸性细胞阳离子蛋白; 白细胞介素-13

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.05.035 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)05-0578-03

支气管哮喘 (简称哮喘) 是以气道高反应性和慢性气道炎症为特征的变态反应性疾病, 它由多种细胞 (包括嗜酸性粒细胞、中性粒细胞、肥大细胞、树突状细胞、T 淋巴细胞) 及结构细胞 (如成纤维细胞、气道上皮细胞) 和细胞因子参与。支气管哮喘是全球最常见的慢性病之一, 全球约有 1.6 亿患者, 其发病率呈上升趋势, 不同国家和不同地区间的哮喘流行病学差异极大, 各国患病率 1%~13% 不等, 我国的患病率约为 1%~4%。研究发现, 嗜酸性粒细胞 (EOS) 是参与产生哮喘气道炎症反应的重要细胞因子也是哮喘的主要效应细胞, 而嗜酸性细胞阳离子蛋白 (ECP) 又是由嗜酸性粒细胞合成和释放的炎性介质和细胞因子, 在哮喘发病中起到重要作用。白细胞介素-13 (IL-13) 是主要由 Th2 细胞分泌的调节性细胞因子, 它可单独诱导并足够维持气道的高反应性, 并能直接作用于嗜酸性粒细胞, 促进其释放炎性介质和细胞因子参与哮喘过程。哮喘的病理生理学特点是由 Th2 细胞产生的细胞因子 IL-4、IL-5 和 IL-13 异常增加^[1-2], 它们与哮喘的关系越来越重要且日益受到关注。本文通过支气管哮喘患者急性期诱导痰中 EOS、ECP 及血清 IL-13 水平检测, 从炎症细胞与炎症介质方面探讨支气管哮喘可能的发病机制, 为临床治疗和病情监测提供新的方法及一定的理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2009 年 5 月至 2011 年 3 月本院住院治疗的

支气管哮喘急性期患者 55 例, 诊断均符合中华医学会制定的哮喘诊断标准^[3]。其中男 32 例, 女 23 例, 年龄 21~81 岁, 平均 (40.5±14) 岁。健康对照组 20 例, 男 10 例, 女 10 例, 年龄 18~75 岁, 平均 (30.4±12) 岁, 既往无哮喘病史及过敏性疾病史, 近 2 个月内无急性呼吸道疾病, 体格检查正常。

1.2 方法

1.2.1 痰液诱导 采用本实验室建立的方法^[4], 雾化前, 患者或受试者用清水漱口, 以减少唾液的污染。超声雾化吸入 3% 高渗盐水 15 min 后, 用力咳痰至培养皿中。若患者或受试者无痰或痰量不足, 则换用 4% 高渗盐水继续雾化吸入 7 min, 无痰或痰量不足时, 换用 5% 高渗盐水继续雾化吸入, 7 min 后终止诱导程序。注意观察患者或受试者在雾化过程中一旦发现明显的胸闷、呼吸困难等不适症状时用立即停止操作程序。弃去唾液后, 用玻璃吸管小心吸取乳黄色或白色团状痰栓。

1.2.2 痰液分析 样本痰液分析均在 2 h 内完成, 取痰栓于离心管中, 加入 4 倍体积的 0.1% 的二硫代苏糖醇 (DTT) 充分混合, 将痰液置 37℃ 水浴 10 min, 用 200 目尼龙网滤掉黏液和碎片, 以 1 000 r/min 离心 10 min。离心后收集上清液冻存于 -70℃ 冰箱, 用作检测 ECP。取沉淀物涂片, 干燥后用苏木素-伊红染色, 每个样本计数 500 个细胞 (除鳞状上皮细胞外) 进行分类。

1.2.3 血液分析 清晨空腹抽取患者及对照组静脉血 3 mL,