

Protis 软件在血脑屏障功能评估中的临床运用

苏艳丹¹, 杨兰辉^{2△}, 李 昕¹ (1. 昆明医学院第一附属医院检验科, 昆明 650032;
2. 云南省红河州第一人民医院检验科, 云南蒙自 661100)

【摘要】 目的 探讨 Protis 软件在血脑屏障功能评估中的实用价值。**方法** 用散射比浊法平行测定 66 例患者脑脊液与血清中免疫球蛋白(IgG、IgA、IgM)和清蛋白(albumin, ALB)的含量, 并利用分析软件 Protis 进行数据和图形处理。**结果** 正常 8 例, 单纯血脑屏障受损 15 例, 仅有鞘内合成 23 例, 血脑屏障受损伴有鞘内合成 23 例。**结论** Protis 软件能辅助临床对中枢神经系统疾病作出初步的诊断和鉴别诊断, 该软件的应用为临床提供了一种快速、可靠、直观、系统的辅助诊断方法。

【关键词】 Protis 软件; 脑脊液; 血脑屏障; 中枢神经系统疾病

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.20.018 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)20-2565-02

Clinical application of Protis system in evaluation of blood-brain barrier function SU Yan-dan¹, YANG Lan-hui^{2△}, LI Xin¹ (1. Department of Clinical Laboratory, First Affiliated Hospital, Kunming Medical University, Kunming, Yunnan 650032, China; 2. Clinical Laboratory, First People's Hospital of Honghe Prefecture, Mengzi, Yunnan 661100, China)

【Abstract】 Objective To explore the clinical application of the Protis system in the evaluation of blood-brain barrier function. **Methods** 66 patients with various neurological disorders were enrolled in this study. Immunoglobulin(IgG, IgA and IgM) and albumin(ALB) in serum and CSF were parallelly measured with nephelometry. The results were analyzed with the Protis software system and the typical QALB and Ig patterns were determined. **Results** 8 cases were in normal range, 15 cases had simple blood-brain barrier dysfunction, 20 cases had intrathecal Ig synthesis without blood-brain barrier dysfunction and 23 cases had both blood-brain barrier dysfunction and intrathecal Ig synthesis. **Conclusion** The Protis software can assist clinicians to make the preliminary diagnosis and the differential diagnosis of central nervous system disease. Therefore, it could provide a rapid, reliable, visualized and systematic assisted diagnostic method.

【Key words】 Protis software system; cerebrospinal fluid; blood-brain barrier; central nervous system disease

在病理情况下, 血脑屏障功能(blood-brain barrier, BBB)破坏及通透性增高可使脑脊液(cerebrospinal fluid, CSF)成分发生改变^[1]。目前临床上常采用脑脊液生化及免疫球蛋白(Ig)检测来反映中枢神经系统(CNS)疾病所引起的脑脊液成分发生的变化。这种方法只能提示脑脊液蛋白总量及免疫球蛋白含量的增加, 而无法鉴别蛋白增加是由于 BBB 破坏或是由于鞘内免疫球蛋白合成造成的, 或两者同时并存。因此作者通过对脑脊液蛋白质的分析, 利用最新的 Protis 分析软件进行数据和图形处理, 直观地对 BBB 功能障碍和鞘内免疫球蛋白合成加以鉴别, 并探讨该软件在 BBB 功能评估中的临床实用价值。

1 资料与方法

1.1 标本来源 66 例均取自昆明医学院第一附属医院 2008 年 12 月至 2009 年 3 月的住院患者, 其中成人 44 例, 男 25 例, 女 19 例, 年龄 19~78 岁; 儿童 22 例, 男 12 例, 女 10 例, 年龄 5 个月至 15 岁。所有病例作腰穿穿刺取脑脊液并同时采集静脉血。所有病例均经临床、细菌培养、放射线及病理等各种辅助检查明确诊断。

1.2 方法 用散射比浊法平行测定 66 例患者脑脊液与血清

中免疫球蛋白(IgG、IgA、IgM)和清蛋白(ALB)的含量, 并利用分析软件 Protis 进行数据和图形处理。计算 ALB 商值和免疫球蛋白商值(QALB 和 QIgX), QALB 是脑脊液中的 ALB 与血清中 ALB 的比值, QIgX 是脑脊液中的 QIgX 与血清中的 QIgX 的比值, 按 Reiber CSF/血清比率图报告结果。

1.3 仪器与试剂 采用美国 BN II 蛋白分析仪和配套试剂以及 Olympus2700 生化分析仪和配套试剂。

1.4 分析软件 SPSS17.0 统计软件包以及 Protis 软件(Version 2.0, 德灵公司)。

2 结 果

2.1 经 Protis 分析软件处理后的图形结果共分成 5 个区: (1) 正常; (2) 单纯 BBB 功能障碍, 但无鞘内免疫球蛋白合成; (3) BBB 功能障碍伴鞘内免疫球蛋白合成; (4) 仅有鞘内免疫球蛋白合成, 但无 BBB 功能障碍; (5) 无意义区。见图 1。

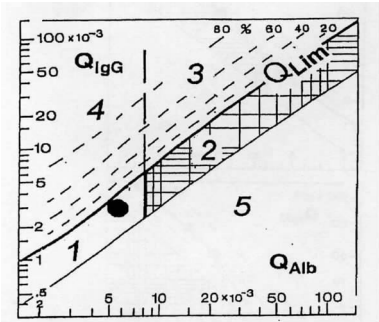
2.2 本研究中 66 例标本采用 Protis 系统分析后所得的数据结果统计, 见表 1~2。66 例患者中 8 例落在 1 区范围, 提示 BBB 功能无明显异常; 在 2 区有 15 例, 提示存在单纯 BBB 功能障碍; 在 3 区有 20 例, 提示仅有鞘内 Ig 合成, 在 4 区有 23 例, 提示既有 BBB 功能障碍又伴有鞘内 Ig 合成。

△ 通讯作者, E-mail: youngerlanhui@yahoo.com.cn.

表 1 蛋白商值与血脑屏障功能及鞘内合成的关系 ($\times 10^{-3}$) ($\bar{x} \pm s$)

图形	结果	n	QALB	QIgG	QIgA	QIgM	IgG 指数
1 区	正常	8	4.6±2.2	3.0±1.7	1.0±0.5	0.3±0.1	0.7±0.1
2 区	有 BBB 功能障碍 无鞘内 Ig 合成	15	7.9±5.5*	3.8±2.0	1.6±0.8*	0.4±0.4	0.6±0.3
3 区	有 BBB 功能障碍 有鞘内 Ig 合成	23	12.5±11.2*	18.2±13.6*	9.0±9.6*	8.7±10.1*	1.4±0.9
4 区	无 BBB 功能障碍 有鞘内 Ig 合成	20	3.2±2.8	4.4±4.0	1.7±1.6	0.5±0.5	1.8±1.2*
5 区	结果不可信区	0	—	—	—	—	—

注:与 1 区比较, * $P<0.05$ 。—表示无数据。



注:1. 正常范围;2. 单纯性血脑屏障障碍;3. 血脑屏障障碍以及鞘内 Ig 合成;4. 鞘内 Ig 合成不伴随血脑屏障障碍;5. 不合理结果。

图 1 Reiber 脑脊液/血清比率图

表 2 66 例标本采用 Protis 系统分析所得结果(例)

疾病	正常	单纯 BBB 功能障碍	仅有 鞘内合成	BBB 功能障碍 伴鞘内合成
脑疝	0	2	0	2
病毒性脑炎	0	2	8	0
化脓性脑炎	0	0	2	0
脊髓炎	2	0	0	0
慢性格林巴利综合征	0	3	0	1
CNS 感染	0	0	2	0
大脑动脉瘤	0	0	0	2
痴呆综合征	0	0	2	0
颅骨骨折后颅骨缺损	0	2	0	0
脑脊液鼻漏	0	2	0	0
脑血管(动脉)供血不足	2	0	0	0
脑动静脉畸形	2	0	0	0
结核性脑膜炎	0	0	0	2
癫痫	0	0	2	0
脑桥,小脑梗死	0	2	0	0
脑占位性病变	0	0	0	2
急性淋巴细胞白血病	0	2	2	0
脑脓肿	0	0	0	4
多发性硬化	0	0	2	2
混合细胞性白血病	2	0	0	0
脑积水	0	0	0	2
脑白质病	0	0	0	2
脑病变	0	0	0	2
急性感染性多神经炎	0	0	0	2
合计	8	15	20	23

2.3 本实验中单纯 BBB 功能受损疾病的划分 轻度 BBB 功能受损者 QALB $<20 \times 10^{-3}$,见于痴呆综合征、慢性格林巴利综合征、脑脊液鼻漏、病毒性脑炎等;中度受损者 QALB 介于 $20 \times 10^{-3} \sim 50 \times 10^{-3}$,见于化脓性脑膜炎、脑占位性病变;重度受损者 QALB $>50 \times 10^{-3}$,无病例。

3 讨论

较早地评估 BBB 的完整性及损坏程度对 CNS 疾病的诊断和治疗有着重要意义。目前对于 BBB 通透性的检测,一种是通过血管注射 BBB 示踪剂(伊文蓝),伊文蓝与 BBB 开放程度正相关,应用分光光度计检测脑组织中的伊文蓝的含量,可作为判断 BBB 开放程度的一种定量指标^[2];另一种是通过透射电镜,当 BBB 受损,电镜下主要表现为内皮细胞微绒毛增多,基底膜增厚肿胀,内有空泡形成,基底膜与胶质膜分离,细胞内线粒体肿胀明显,损伤越严重波及范围越广。然而以上检测方法均是在动物实验的基础上完成,尚无法在临床上直接获得。

由于 BBB 的年龄相依性,新生儿 BBB 渗透性比成年人明显要高,出生时最高,在出生后的第 1 个月 ALB 比率持续下降,1~3 岁时达最低点,然后再慢慢上升,因此用 QALB 评估 BBB 功能时应考虑年龄因素,其参考值随年龄变化的公式: QALB=[4+年龄(岁)/15] $\times 10^{-3}$ ^[3]。该软件在图表中有一条粗的垂直线表示与年龄相关的 QALB($\times 10^{-3}$)参考值上限。但在患者年龄不满 6 个月的情况下,该参考限不出现。如果 QIgX 超出了临界值上限(QLim),那么将会计算鞘内合成占 CSF 总 IgX 的百分率,这不依赖于 QALB 的改变^[4]。通常鞘内合成超过 10%时,提示存在鞘内合成免疫球蛋白。同时,百分率的结果能显示出何种免疫球蛋白占显著优势。因此本研究结果不但显示蛋白数量上的变化,而且还可以更加直观地反映蛋白质量上的异常,即 CNS 疾病中 BBB 的功能障碍和鞘内 Ig 的合成,是单独存在还是两者兼有。这有利于鉴别诊断产生特殊类型免疫球蛋白的某些疾病,并且还可以动态监测 BBB 损伤程度和恢复过程,为疾病的诊断、鉴别诊断、治疗、预后评估提供必要的实验室依据。该方法与传统方法相比,具有快速、可靠、直观、系统强的特点。

本研究结果显示 66 例患者中 8 例落在 1 区范围,提示 BBB 功能无明显异常;在 2 区有 15 例,提示存在单纯 BBB 功能障碍;在 3 区有 20 例,提示仅有鞘内 Ig 合成,在 4 区有 23 例,提示既有 BBB 功能障碍又伴有鞘内 Ig 合成。该结果不但显示蛋白数量上的变化,而且还可以更加直观地反映蛋白质量上的异常,即 CNS 疾病中 BBB 的功能障碍和鞘内 Ig 的合成,是单独存在还是两者兼有。并且还可以动态监测 BBB 损伤程度和恢复过程,为疾病的诊断、鉴别诊断、治疗、预后评估提供必要的实验室依据。与传统方法相比,具有(下转第 2568 页)

表 1 各组 β_2 -MG、mAlb、BUN、SCr、Cys C、hs-CRP、HbA1c 的检测结果($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	β_2 -MG(mg/L)	mAlb(mg/L)	BUN(mmol/L)	SCr(μ mol/L)	Cys C(mg/L)	hs-CRP(mg/L)	HbA1c(%)
高血糖组	74	2.45 $\pm$ 0.80	30.23 $\pm$ 10.05	6.12 $\pm$ 2.35	86.35 $\pm$ 21.23	1.35 $\pm$ 0.53	8.45 $\pm$ 4.03	14.05 $\pm$ 3.35
低血糖组	76	2.01 $\pm$ 0.54	25.34 $\pm$ 9.25	5.51 $\pm$ 2.11	75.42 $\pm$ 11.69	1.08 $\pm$ 0.46	6.96 $\pm$ 2.05	9.25 $\pm$ 2.31
健康对照组	75	1.81 $\pm$ 0.32	9.05 $\pm$ 1.35	4.51 $\pm$ 2.35	66.98 $\pm$ 7.05	0.67 $\pm$ 0.15	2.15 $\pm$ 0.76	4.05 $\pm$ 1.15

3 讨 论

2 型糖尿病是危害人类健康的主要疾病之一,糖尿病是以高血糖为特征的代谢性疾病,患者若治疗不当或不及时,随着病程的延长,可引起失明、终末期肾病、坏疽、心血管及脑血管病变。其早期肾损伤发病隐匿,无明显症状和体征,传统肾功能检测指标敏感性低,难以检出早期轻度肾功能损伤。而患者一旦出现大量蛋白尿,肾功能损伤已非常严重甚至不可逆转,所以对 2 型糖尿病患者进行早期的肾功能及相关指标的检测尤为重要。

BUN 和 SCr 是常用的了解肾功能的主要检测项目之一,是肾脏功能的重要指标。有研究表明,早期糖尿病肾病的特征是尿液中 BUN 和 SCr 上升,最终引发肾衰竭,需要透析或肾移植维持患者的生命^[4-5]。本研究结果表明,高血糖组 BUN、SCr 虽较低血糖组及健康对照组略有升高,但差异无统计学意义;而高血糖组 β_2 -MG、mAlb、Cys C、hs-CRP、HbA1c 明显高于低血糖组($P<0.05$)及健康对照组($P<0.01$),差异有统计学意义,与高阳等^[6]报道相似。说明 SCr 升高虽意味着肾功能的损害,但在肾损伤发生的早期,有部分患者其变化不明显。BUN 和 SCr 一样,在肾功能损害早期,BUN 可在正常范围,单检测 BUN 和 SCr 已不能发现 2 型糖尿病患者的早期肾损伤。本研究结果还表明,血糖越高, β_2 -MG、mAlb、Cys C、hs-CRP、HbA1c 值越高,说明 2 型糖尿病毒患者应合理地控制血糖,以减少对肾功能的损害^[7]。

综上所述,2 型糖尿病患者应定期检测 HbA1c、hs-CRP、Cys C 及相关肾功能指标,有利于医生了解病情,做到早发现,

并及时采取有效措施以控制代谢,防止或减少 2 型糖尿病患者的肾损害,延缓或逆转糖尿病肾病的发生和发展,有效地改善 2 型糖尿病患者的生活质量,降低患者病死率。

参考文献

[1] 胡芳,程中应,李培林,等.非浓缩尿蛋白电泳和胱抑素 C 联合检测在早期糖尿病肾损伤中的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(7):717-718.

[2] 王华平,田红.尿微量清蛋白在糖尿病肾病早期监测中的临床意义[J]. 临床和实验医学杂志,2011,10(8):1273-1274.

[3] 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,2006:123-255.

[4] 武文.糖尿病肾病的诊断和治疗进展[J]. 中国基层医药,2009,16(10):1917-1918.

[5] 安玲,褚以德.糖尿病肾病早期诊断与治疗[J]. 青海医药杂志,2009,39(3):74-77.

[6] 高阳,陈思娇,杨红艳,等.糖尿病肾病患者尿微量清蛋白与肌酐比值的相关因素研究[J]. 中国全科医学,2011,14(6):598-600.

[7] 梅序桥,王小婷,周艳贞,等.尿微量清蛋白与空腹血糖在糖尿病肾病检测中的意义[J]. 检验医学与临床,2010,7(9):850-851.

(收稿日期:2012-06-15)

(上接第 2566 页)

快速、可靠、直观、系统强的特点。

对本组 66 例神经系统疾病按 BBB 损伤程度进行分类,结果显示:病毒性脑膜炎对 BBB 的损害以正常和轻度损害为主,化脓性脑膜炎以轻、中度损害为主。脑肿瘤对 BBB 的损害各种程度都有,以中、重度为主。所有脑出血病例均发生 BBB 损害,以轻、中度为主。脑梗死仅出现单纯 BBB 损害。Brettschneider 等^[5]报道的单纯 BBB 损害最常见于格林巴利综合征。然而本组研究中格林巴利综合征有单纯 BBB 损害,也有 1 例伴鞘内 Ig 合成,与报道略有不同。

综上所述,脑脊液与血清中免疫球蛋白和清蛋白的同时检测,通过较新的 Protis 软件系统分析,可以辅助临床对中枢神经系统疾病作出初步的诊断及鉴别诊断,为临床提供了一种快速、可靠、直观、系统的辅助诊断手段。

参考文献

[1] Avilala MS, Richards TL, Roberts JS, et al. Change in

blood-brain barrier permeability during pediatric diabetic ketoacidosis treatment[J]. Pediatr Crit Care Med,2010,11(3):332-338.

[2] 沈霞.中枢神经系统疾病的免疫学检验[J]. 检验医学,2006,21(4):434-436.

[3] Reiber H, Otto M, Trendelenburg C, et al. Reporting cerebrospinal fluid data knowledge base and interpretation [J]. Clin Chem Lab Med,2001,39(4):324-332.

[4] Reiber H, Peter JB. Cerebrospinal fluid analysis; disease-related data patterns and evaluation programs[J]. Neurol Sci,2001,184(2):101-122.

[5] Brettschneider J, Claus A, Kassubek J, et al. Isolated blood-cerebrospinal fluid barrier dysfunction; prevalence and associated diseases[J]. J Neurol, 2005, 252(9):1067-1073.

(收稿日期:2012-02-16)