

3 项联合检测对手足口病患儿脑神经损伤的诊断价值^{*}

陈 锦¹,徐红炜¹,张 振^{2△},胡 波³(1.湖北省咸宁市通城县人民医院检验科 437400;2.湖北省武汉市妇女儿童医疗保健中心检验科 430016;3.广东省中山大学附属第三医院,广州 510275)

【摘要】 目的 探讨联合检测血清 S100β 蛋白(S100β)、神经元特异性烯醇化酶(NSE)和髓鞘碱性蛋白(MBP)对手足口病(HFMD)患儿脑神经损伤的诊断价值。**方法** 将 246 例 HFMD 患儿按影像学检测结果分为重型(63 例)和轻型(183 例)两组,入院后第 1~7 天每天上午抽静脉血后,采用酶联免疫吸附试验检测 246 例 HFMD 患儿 S100β、NSE 和 MBP。同时选择 66 例健康儿童作为健康对照组。**结果** 63 例重型 HFMD 患儿 S100β、NSE 和 MBP 结果均显著升高,其检测值与 183 例轻型 HFMD 患儿及 66 例健康对照者比较差异有统计学意义;轻型患儿与健康对照组相比 S100β 差异有统计学意义,而 NSE 和 MBP 检测结果差异无统计学意义。**结论** 重型与轻型 HFMD 患儿 S100β、NSE 和 MBP 存在不同的变化趋势,联合检测 S100β、NSE 和 MBP 可提高 HFMD 患儿脑神经损伤的诊断率、明确疗效和监测预后。

【关键词】 S100β 蛋白; 神经元特异性烯醇化酶; 髓鞘碱性蛋白; 手足口病
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.03.032 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)03-0368-02

手足口病(HFMD)是由多种肠道病毒感染引起的儿科常见传染病,以 5 岁以下儿童多发,临床主要以口腔、手掌和足趾等部位出现斑丘疹、疱疹为特征。患者病情一般较轻,预后良好,但个别患者可发展为重症病例,出现脑神经、心肌损伤等并发症^[1-2]。临床对 HFMD 患儿是否有脑神经损伤较难诊断,S100β 蛋白(S100β)、神经元特异性烯醇化酶(NSE)和髓鞘碱性蛋白(MBP)水平的变化可反映神经元、胶质细胞、神经髓鞘膜结构损伤严重程度的情况^[3]。本文通过检测 246 例 HFMD 患儿 S100β、NSE 和 MBP,旨在探讨联合检测 S100β、NSE 和 MBP 对 HFMD 患儿脑神经损伤的诊断价值和临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2012 年 1 月至 2014 年 1 月通城县人民医院收治的 HFMD 患儿 246 例,这些患儿均符合 1995 年第四届全国手足口病修订方案脑血管诊断标准,其中男 126 例,女 120 例,年龄 0.3~6.0 岁。246 例 HFMD 患儿按 CT 或 MRI 影像学检测结果是否有病理性变化分为重型(63 例)和轻型(183 例)两组,所有 HFMD 患儿入院后马上进行对症治疗。另选择体检健康的 66 例健康儿童作为健康对照组,其中男 39 例,女 27 例,年龄 0.5~6.0 岁,志愿儿童均无心、肝、肾及免疫系统疾病。两组性别、年龄、体质量等一般资料差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 标本采集方法 HFMD 患儿入院后第 1~7 天共采集 7 次患儿标本,每天上午清晨空腹采集患儿外周静脉血 3~5 mL,经 1 000 g 离心 15 min,分离血清(溶血标本丢弃,重新取样)装于密封无污染的 EP 试管中,分离血清后 2 h 内送检。健康对照组标本采集和检测方式与患儿一致。

1.3 NSE、MBP 和 S100β 的检测 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)进行 NSE、MBP 和 S100β 测定。NSE 和 MBP 试剂盒购自上海蓝基(BlueGene)生物科技有限公司,S100β 试剂盒购自美国 Usnlife Science&Technology 公司 USCNUFETM 试剂。酶标仪为美国产 Multiskan Fc 型酶标仪。实验操作步骤严格按照试剂盒使用说明书进行,试剂在有效期内使用,所

有检测项目保证室内与室间质控均在控。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行分析。统计数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 重型 HFMD 患儿 S100β、NSE 和 MBP 检测结果 见表 1。HFMD 患儿入院第 1~7 天共检测 7 次重型 HFMD 患儿 S100β、NSE 和 MBP,与健康对照组相比差异均有统计学意义($P<0.01$)。

表 1 重型 HFMD 患儿 S100β、NSE 和 MBP 检测结果($\bar{x} \pm s, \mu\text{g/L}$)

组别	<i>n</i>	S100β	NSE	MBP
重型 HFMD 患儿	63	1.83±0.75 [#]	15.56±2.99 [#]	1.87±0.71 [#]
健康对照组	66	0.36±0.12	4.42±0.52	1.23±0.61
<i>t</i>		5.56	7.44	5.36

注:与健康对照组比较,[#] $P<0.01$ 。

2.2 轻型 HFMD 患儿 S100β、NSE 和 MBP 检测结果 见表 2。HFMD 患儿入院第 1~7 天,共检测 7 次轻型 HFMD 患儿 S100β,与健康对照组比较差异有统计学意义($P<0.01$),NSE 和 MBP 检测结果与健康对照组相比差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 2 轻型 HFMD 患儿 S100β、NSE 和 MBP 检测结果($\bar{x} \pm s, \mu\text{g/L}$)

组别	<i>n</i>	S100β	NSE	MBP
轻型 HFMD 患儿	183	1.42±0.61	4.59±0.87	1.27±0.91
健康对照组	66	0.36±0.12 [#]	4.42±0.52	1.23±0.61
<i>t</i>		4.28	0.82	0.79

注:与健康对照组比较,[#] $P<0.01$ 。

^{*} 基金项目:教育部第 44 批留学回国人员科研启动基金项目(2012-940)。
[△] 通讯作者,E-mail:1572690432@qq.com。

2.3 重型与轻型 HFMD 患儿 S100β、NSE 和 MBP 检测结果 见表 3。HFMD 患儿入院第 1~7 天,共检测 7 次重型 HFMD 患儿 S100β、NSE 和 MBP,与轻型 HFMD 患儿相比差异均有统计学意义($P<0.01$)。

表 3 重型与轻型 HFMD 患儿 S100β、NSE 和 MBP 检测结果($\bar{x}\pm s,\mu\text{g/L}$)

组别	S100β	NSE	MBP
重型 HFMD 患儿	1.83±0.75 [#]	15.56±2.99 [#]	1.87±0.71 [#]
轻型 HFMD 患儿	1.42±0.61	4.59±0.87	1.27±0.91
<i>t</i>	4.67	5.32	4.88

注:与轻型 HFMD 患儿比较,[#] $P<0.01$ 。

3 讨 论

HFMD 根据发病经过、病情特点和病变部位,分为重型和轻型 HFMD,二者临床表现差异不大。对于 HFMD 等影像学检测可见的脑部损伤较好判断,而对于影像学检测不出的 HFMD 神经损伤临床较难判断,HFMD 神经受损后的预后较差,因此监测 HFMD 患儿的神经受损情况非常重要^[4-5]。

S100β 是一类钙离子结合蛋白,相对分子量较小,但具有广泛生物学活性,主要存在于中枢神经系统的少突神经胶质细胞和星形细胞中^[6]。中枢神经系统细胞损伤后,S100β 蛋白首先从胞液进入脑脊液,再经被破坏的血-脑脊液屏障进入血液^[7-8]。S100β 在正常情况下发挥重要的生理作用,但分泌过高具有神经毒性。因此,S100β 蛋白被认为是中枢神经系统损伤较特异和灵敏的标志物,其含量的高低可反映患儿神经元和胶质细胞损害的严重程度。研究发现,细胞外高浓度 S100β 可刺激炎症因子表达,导致细胞凋亡。在影像学检查未发现异常前,脑损伤患儿血清 S100β 已有明显升高,S100β 是早期评价亚临床脑损伤的有效标志物^[9]。本研究结果显示,重型和轻型 HFMD 患儿血清 S100β 含量均明显高于健康对照者,差异有统计学意义($P<0.05$),重型与轻型 HFMD 血清 S100β 含量差异也有统计学意义($P<0.01$)。其结果说明 S100β 可以较敏感地反映 HFMD 患者神经损伤的程度,可以检测出无影像学变化的脑神经损伤情况。S100β 是 HFMD 患者脑神经损伤的极敏感指标,对脑出血患儿神经损伤转归的判断具有重要意义。

NSE 是主要存在于神经元细胞中的一种可溶性胞浆蛋白,主要参与糖酵解、催化磷酸烯醇化丙酮酸的生成。在颅脑外伤时由于神经元细胞完整性破坏,使大量 NSE 从细胞内释放出来,透过破坏的血脑屏障进入血液^[10]。正常体液中 NSE 含量甚微,但当脑受到损伤时,神经细胞因受损而变性、坏死崩解,该酶可大量进入脑脊液和血液中。因此,血液中 NSE 含量的高低可反映中枢神经系统受损的程度,是反映神经元细胞受损程度较好的生化指标^[10-11]。本研究结果显示,重型 HFMD 患儿血清 NSE 含量明显高于轻型 HFMD 患儿和健康对照者,差异有统计学意义($P<0.01$),轻型 HFMD 患儿血清 NSE 只稍高于健康对照者,二者差异无统计学意义($P>0.05$),由此说明血清 NSE 的检测方法与影像学结果基本一致,可以比较准确地反映 HFMD 患儿中枢神经系统受损的情况。

文献^[12]显示 NSE 可能会发生局限性升高,升高 24 h 后即会下降。NSE 没有年龄的区别,但需要注意在溶血的情况下,NSE 可以发生假阳性反应^[13]。有人用不同的 S100β 和 NSE 浓度为分界标准评估预后,将所得的真阳性率和假阳性

率作图所得的曲线比较,发现在相同的敏感度下 S100β 对预后的评估较 NSE 更特异,在相同的特异度下 S100β 对预后的评估也较 NSE 更敏感,由此说明 S100β 对预后的评估较 NSE 更敏感、更特异,这与本研究检测结论一致。由于 S100β 具有热稳定性,不受溶血、低温、肝素等因素影响,并可在室温或 4℃ 全血标本中保存 48 h 而被认为有较好的敏感性和特异性,故很多学者主张 S100β 和 NSE 二者结合更有利于脑损伤的临床判断。

MBP 是中枢神经系统少突细胞和周围神经系统雪旺细胞合成的一种强碱性膜蛋白,分为中枢型(A1)和周围型(P2)两种类型,A1 存在于中枢神经系统,由少突胶质细胞合成和分泌,脑白质含量最高,P2 则由雪旺细胞合成和分泌,存在于周围神经髓鞘膜中^[14]。MBP 是神经组织所特有的膜蛋白成分,对维持髓鞘结构的完整和功能具有重要作用。当髓鞘破坏时,MBP 可释放入脑脊液和血液,其含量变化是反映中枢神经有无实质性损害,尤其是髓鞘有无脱失的特异性标志物,对判断病情严重程度和预后有重要意义。与 S100β 比较,作为中枢神经系统生化标志物 MBP 特异性更强,但敏感性较低^[15]。与 S100β 主要用于疾病诊断和病情评估不同,MBP 还用于临床治疗,标志有 MBP 微基因的雪旺细胞不仅能在宿主脊髓内存活,而且还有非常活跃的功能,如分泌多种神经营养因子维持受损神经元的存活,为再生提供先决条件。本研究结果显示,重型 HFMD 患儿血清 MBP 水平明显高于轻型 HFMD 患儿和健康对照者,差异有统计学意义($P<0.01$),而轻型 HFMD 患儿血清 MBP 只稍高于健康对照者,二者差异无统计学意义($P>0.05$),由此说明血清 MBP 的检测方法与影像学结果也基本一致。

综上所述,重型与轻型 HFMD 患儿 S100β、NSE 和 MBP 存在不同的变化趋势,S100β 可用于诊断 HFMD 患儿早期神经损伤,可以反映影像学无病例改变的脑神经损伤,而 NSE 和 MBP 则可用于 HFMD 患儿神经损伤的病情变化观察,联合检测 S100β、NSE 和 MBP 可提高 HFMD 患儿神经损伤的诊断率、明确疗效和监测预后。

参考文献

[1] McMinn P, Stratov I, Nagarajan L, et al. Neurological manifestations of enterovirus 71 infection in children during an outbreak of hand, foot, and mouth disease in Western Australia[J]. Clin Infect Dis, 2001, 32(2): 236-242.

[2] Wang SM, Ho TS, Shen CF, et al. Enterovirus 71, one virus and many stories[J]. Pediatr Neonatol, 2008, 49(4): 113-115.

[3] 李光乾, 焦颖, 林忠东, 等. 病毒性脑炎患儿血清和脑脊液神经生化标志物的测定[J]. 中华传染病杂志, 2004, 22(6): 398-401.

[4] 王艳艳, 韩存芝, 兰胜民. 神经生化标志物 S100β 蛋白研究进展[J]. 山西医科大学学报, 2006, 37(4): 437-439.

[5] Zeng M, Pu DB, Mo XW, et al. Children of rural-to-urban migrant workers in China are at a higher risk of contracting severe hand, foot and mouth disease and EV71 infection: a hospital-based study[J]. Emerg Microbes Infect, 2013, 2(10): e72-e76.

[6] 阮福强, 秦白茹. 颅脑损伤患儿血清 S-100β(下转第 371 页)

机代谢血症中最常见遗传代谢疾病^[8]。游离肉碱代谢异常比例占 21.3%,在人体内,肉碱以游离肉碱和酯酰肉碱两种形式存在,肉碱通过线粒体内膜转运长链脂肪酸的 β 氧化途径起很重要的作用。LBW 由于生理原因,肉碱基础水平不稳定,特别是极低(或超低)出生体质量儿在早期需要全静脉的营养维持动态平衡,若不能早发现、早介入,患儿就有可能因为摄取不足、合成减少及肾脏吸收障碍,导致肉碱缺乏症^[9]。

近年来随着科技进步,许多新技术广泛应用在先天性代谢异常的临床诊断,其中串联质谱技术目前已广泛应用于各种高端实验室。串联质谱技术近年来发展较快,只需数滴血,就能在 2~3 min 对一个标本进行几十种代谢产物的快速分析,可协助诊断 40 余种先天性代谢异常,它的价值在于能够在无症状时或症状早期发现疾病,从而及时介入治疗。目前,串联质谱技术已在许多国家广泛应用,对氨基酸代谢障碍、有机酸代谢障碍、尿素循环障碍及脂肪酸氧化障碍等疾病的早期防治起到了重要作用^[10-12]。国内多个文献表明,通过串联质谱检测疑似先天性代谢异常高危患儿的氨基酸及酰基肉碱谱,可为快速诊断早期先天性代谢异常提供更快、更准确的实验室依据。

综上所述,显示本地区低出生体质量儿先天性代谢初筛异常可疑发生率达 21.0%,在诊疗的同时应结合临床表现及其他检验指标,有针对性地进行下一步气相色谱-质谱、DNA 突变、酶学分析检测。尽管只是一部分会发展成为先天性代谢异常疾病,但早期对 LBW 进行检测代谢性相关指标,将会对临床诊疗低出生体质量儿先天性代谢缺陷及相关并发症提供依据,达到早期诊断、早期治疗、减少后遗症^[13]。

参考文献

- [1] 宋朝敏,杨长仪,王程毅,等.早期营养支持策略对极低出生体重儿生长代谢及并发症的影响[J].中国新生儿科杂志,2013,28(6):379-383.
- [2] 刘丽,李红,陆彪,等.液相串联质谱技术在高危婴幼儿遗传代谢病临床筛查诊断中的应用研究[J].重庆医学,2013,42(35):4252-4254.
- [3] 赵立明,王福顺,刘海燕,等.无高危因素的精神发育迟滞患儿遗传代谢病的筛查及随访[J].中国全科医学,2013,

16(9):1043-1044.

- [4] Cakir B, Teksam M, Kosehan D, et al. Inborn errors of metabolism presenting in childhood[J]. J Neuroimaging, 2011, 21(2):e117-e133.
- [5] Sahai I, Zytkowicz T, Rao Kotthuri S, et al. Neonatal screening for inborn errors of metabolism using tandem mass spectrometry: experience of the pilot study in Andhra Pradesh, India[J]. Indian J Pediatr, 2011, 78(8): 953-960.
- [6] 杨姿荣.低出生体重儿并发症的临床分析[J].中国医学创新,2011,8(7):183-185.
- [7] 江剑辉,曹伟锋,姜迪刚,等.748 例遗传性代谢病高危儿童串联质谱筛查研究[J].广东医学,2008,29(3):357-359.
- [8] 杨楠,韩连书,叶军,等.新生儿期氨基酸、有机酸及脂肪酸氧化代谢病疾病谱分析[J].临床儿科杂志,2012,30(9):805-808.
- [9] 梁冬芳.儿童肉碱缺乏症护理体会[J].临床合理用药杂志,2012,5(17):156.
- [10] Honda A, Yamashita K, Miyazaki H, et al. Highly sensitive analysis of sterol profiles in human serum by LC-ESI-MS/MS[J]. J Lipid Res, 2008, 49(9):2063-2073.
- [11] Frazier DM, Millington DS, McCandless SE, et al. The tandem mass spectrometry newborn screening experience in North Carolina: 1997—2005[J]. J Inher Metab Dis, 2006, 29(1): 76-85.
- [12] Krijt J, Dutá A, Kozich V. Determination of S-Adenosyl-methionine and S-Adenosylhomocysteine by LC-MS/MS and evaluation of their stability in mice tissues [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2009, 877(22):2061-2066.
- [13] 胡建秀,辛虹.串联质谱技术筛查新生儿遗传代谢疾病 120 例[J].现代中西医结合杂志,2011,20(26):3322.

(收稿日期:2014-08-07 修回日期:2014-10-18)

(上接第 369 页)

- 蛋白、神经元特异性烯醇化酶的变化[J].现代预防医学,2007,34(10):1988.
- [7] 董玉斌,曹亚芹.新生儿缺氧缺血性脑病血清 NSE 及 S-100 蛋白的变化及临床意义[J].中国社区医师:医学专业,2011,13(10):278-279.
- [8] 范学政,张建生,丁永忠. S100 β 蛋白与颅脑损伤的研究现状[J].国外医学:神经病学神经外科学分册,2004,31(3):248-251.
- [9] 张晓蕴,李小刚.神经生化标志物 S-100 β 及其在神经系统疾病中的应用[J].实用医院临床杂志,2009,6(3):21-23.
- [10] 代红源,余绍祖. NSE 在神经系统疾病中的研究进展[J].国外医学:神经病学神经外科学分册,2001,28(6):401-404.
- [11] 侯博儒,王治民,任海军,等.颅脑损伤后血清神经元特异

性烯醇化酶变化[J].中华神经外科疾病研究杂志,2005,4(2):178-179.

- [12] Willert C, Spitzer C, Kusserow S, et al. Serum neuron-specific enolase, prolactin, and creatine kinase after epileptic and psychogenic non-epileptic seizures [J]. Acta Neurol Scand, 2004, 109(5):318-323.
- [13] Piazza O, Cotena S, Esposito G, et al. S100B is a sensitive but not specific prognostic index in comatose patients after cardiac arrest[J]. Minerva Chir, 2005, 60(6):477-480.
- [14] 李晓波.髓鞘碱性蛋白(MBP)对脑损伤判断价值[J].海南医学,2012,23(10):120-123.
- [15] 叶磊,陈礼刚.神经生化标志物 S100B 的研究进展[J].泸州医学院学报,2009,32(3):309-311.

(收稿日期:2014-07-19 修回日期:2014-10-15)