

• 论 著 •

脑脊液神经元性烯醇化酶生物参考区间的建立^{*}

曹艳菲¹, 陈 刚², 张丽娜¹, 董秀鹏¹, 寇筱因¹, 崔 颖¹, 曹秀华¹

(大庆油田总医院: 1. 检验科; 2. 神经外科, 黑龙江大庆 163001)

摘 要:目的 建立适合本实验室的脑脊液神经元特异性烯醇化酶(NSE)生物参考区间。方法 参照美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)C28-A2 文件推荐的方法, 收集 120 例无神经系统疾病的个体建立脑脊液 NSE 生物参考区间, 并参照中国合格评定国家认可委员会 CL38:2012 文件的要求对生物参考区间进行评审。结果 建立的脑脊液 NSE 生物参考区间为 0~3.14 ng/mL。脑脊液 NSE 浓度与年龄、性别无明显相关性($P>0.05$)。结论 采用上述方法建立生物参考区间可靠、准确、科学、实用, 符合临床要求, 值得推广应用。

关键词:生物参考区间; 临床医学实验室; 脑脊液; 神经元特异性烯醇化酶

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.10.001

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)10-1321-03

Establishment of biology reference interval of NSE in cerebrospinal fluid^{*}

Cao Yanfei¹, Chen Gang², Zhang Lina¹, Dong Xiupeng¹, Kou Xiaonan¹, Cui Ying¹, Cao Xiuhua¹

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of neurosurgery; Daqing Oilfield

General Hospital, Daqing, Heilongjiang 063001, China)

Abstract:Objective To establish the reference intervals of neuron specific enolase (NSE) in tumor markers in cerebrospinal fluid. **Methods** According to National Committee for Clinical Laboratory Standards document C28-A2, 120 samples were collected to establish reference intervals. Then, the established intervals were evaluated according to China National Accreditation Service for Conformity Assessment document CL38:2012. **Results** The biological reference interval of NSE in cerebrospinal fluid was 0—3.14 ng/mL. There was no significant correlation between cerebrospinal fluid NSE level and age, sex ($P>0.05$). **Conclusion** Method used in this study could be ensured reliable, accurate, scientific and practical, desirable for clinical requirement and with great potential for clinical application.

Key words:biological reference interval; clinical medical laboratory; cerebrospinal fluid; neuron specific enolase

生物参考区间是解释检验结果信息的基本尺度和依据之一, 可靠的生物参考区间有助于为患者和健康体检者提供明确的指引^[1-2]。因此, 建立可靠的检验项目生物参考区间十分重要。《ISO15189:2012 医学实验室-质量和能力的专用要求》指出, 生物参考区间是取自生物参考人群的值分布的规定区间, 一般定义为 95% 区间, 特定情况下, 可采用其他宽度或非对称定位的参考区间^[3]。某些情况下, 只有生物参考限才是重要的, 如确定参考上限后, 相应参考区间即为小于或等于参考上限。美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)文件《C28-A2 临床实验室如何确定和建立生物参考区间核准指南(第 2 版)》指出, 确定参考值或参考区间应保证所选择的样品组来源于健康人群^[4]。然而, 出于不同的目的, 确定参考值或参考区间的样品组, 可来源于健康人群, 也可来源于处于其他生理状态下或病情情况下的人群^[5]。神经元特异性烯醇化酶(NSE)是神经元损伤的敏感标志^[6]。脑神经元和神经胶质细胞受损时, 脑脊液和外周血 NSE 水平明显升高^[7]。脑脊液 NSE 可作为肿瘤标志物, 也可用于辅助诊断脑部肿瘤和转移瘤, 以及判断脑损伤程度^[8-9]。由于缺乏国内外公认的脑脊液 NSE 生物参考区间, 影响了该指标的临床应用。本研究依据 NCCLS C28-A2 文件, 建立了适用于本实验室的脑脊液 NSE 生物参考区间。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2007 年 10 月至 2014 年 5 月因怀疑颅内感

染、颅脑损伤及缺氧缺血性脑病于本院住院治疗, 但最终均经血常规、生化检验、脑脊液常规检查及脑电图、CT 等检查排除神经系统疾病的患者 120 例, 男 66 例、女 54 例, 年龄 1~78 岁。

1.2 方法

1.2.1 标本采集及检测 所有受试者均于入院 24~48 h 内、未接受任何救治措施之前, 在无菌条件下腰椎穿刺采集脑脊液 3 mL, 3 000 r/min 离心 10 min, 分离上清液, 采用罗氏公司 E170 全自动免疫分析仪及配套试剂检测 NSE 水平。每位受试者在标本采集前均签署知情同意书, 并经医院伦理委员会审查通过。

1.2.2 质量保证 E170 全自动免疫分析仪 NSE 检测项目参加卫生部临床检验中心室内质评、罗氏公司全球室间比对, 结果均为满意。临床标本检测前均进行室内质控品检测, 且检测结果在控制范围内。所有检测操作步骤均参照《全国临床检验操作规程》^[5]。

1.2.3 生物参考区间的建立和评审 (1)离群值检验: 当采用非参数方法建立参考区间时, 应以 1/3 规则对数据进行离群值判断。极端观测值(最大值或最小值)和与其相邻的极端观测值(第二大值或第二小值)之间的绝对差值作为 D 值, 所有观测值的全距(最大极值和最小极值的差值)作为 R 值, D/R 值的 1/3 即为判断离群值的临界值^[4]。(2)性别因素检验: 对所

^{*} 基金项目: 黑龙江省卫生厅科研项目(2011-617)。 作者简介: 曹艳菲, 女, 主管技师, 主要从事肿瘤蛋白质组学及临床实验室质量管理研究。

得数据进行单因素方差分析,如性别因素对结果有影响,则需按不同性别分别建立生物参考区间。(3)年龄因素检验:对所得数据进行单因素方差分析,如年龄因素对结果有影响,则需按不同年龄段分别建立生物参考区间。(4)建立生物参考区间:依据 NCCLS C28-A2 文件的要求建立生物参考区间。(5)生物参考区间评审:依据中国合格评定国家认可委员会(CNAS)CL38:2012 文件的要求对建立的生物参考区间进行评审。

2 结 果

2.1 数据一般观察 120 例患者脑脊液 NSE 浓度频数分布见图 1。患者脑脊液 NSE 浓度分布呈偏态分布,所以采用计算第 2.5 个百分位数、第 97.5 个百分位数的方法确定参考区间。但因 NSE 低值无特殊的临床意义,故统计的生物参考区间采用单侧限,即低于高限(第 97.5 个百分位数)。

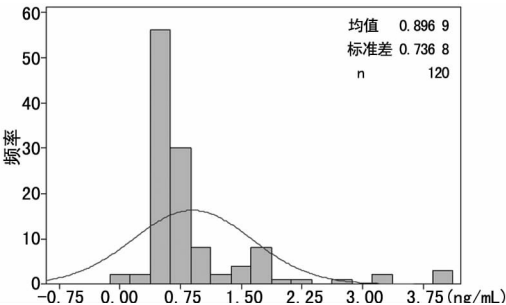


图 1 120 例患者脑脊液 NSE 浓度频数分布图

2.2 离群值检验 120 例数据经 D/R 值的 1/3 规则判断,未发现离群值。

2.3 性别因素检验 将全部数据按性别分为 2 组,采用单因素方差分析进行性别因素检验, P 值大于 0.05,说明脑脊液 NSE 浓度在不同性别间的差异无统计学意义,见表 1。

表 1 脑脊液 NSE 浓度性别因素方差分析

组别	<i>n</i>	和值	平均值	方差值
男	66	57.281	0.868	0.580
女	54	50.349	0.932	0.505

方差分析

差异源	离均差平方和	自由度	离均差平方和均值	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i> 临界值
组间	0.124	1	0.124	0.226	0.635	3.921
组内	64.481	118	0.546			
总计	64.605	119				

表 2 脑脊液 NSE 浓度年龄因素方差分析

组别	<i>n</i>	和值	平均值	方差值
儿童	30	25.919	0.864	0.613
成人	90	81.711	0.908	0.526

方差分析

差异源	离均差平方和	自由度	离均差平方和均值	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i> 临界值
组间	0.043	1	0.043	0.079	0.779	3.921
组内	64.561	118	0.547			
总计	64.605	119				

2.4 年龄因素检验 将全部数据按年龄分为 2 组,采用单因素方差分析进行年龄因素检验, P 值大于 0.05,说明脑脊液 NSE 浓度在不同年龄间的差异无统计学意义,见表 2。

2.5 建立生物参考区间 脑脊液 NSE 浓度呈偏态分布,采用单侧限建立生物参考区间,即 0 至第 97.5 个百分位数,建立的生物参考区间为 0~3.14 ng/mL。

2.6 生物参考区间评审 根据 CNAS CL38:2012 文件的要求,选择 20 份健康者脑脊液标本进行生物参考区间评审,结果显示,20 份标本检测结果均在建立的生物参考区间范围内。

3 讨 论

生物参考区间是解释检验结果临床意义的重要依据,临床实验室建立正确的、具有适用性的生物参考区间十分重要。在建立生物参考区间时,应考虑生物学因素(如年龄、性别、民族等)导致的参考区间的差异,以及不同检验系统间的差异等^[10]。简单地引用文献或直接采用厂商给定的参考区间是不可取的,在条件允许的情况下,临床实验室应尽可能建立自己的参考区间^[11]。本研究建立参考区间所采用的方法参照 NCCLS C28-A2 文件,其制定的方法是目前具有极高标准化程度的方法之一,且可操作性较强,适合临床实验室的推广使用^[12-14]。在制定检验项目参考区间前,应充分了解项目的临床意义,并定期邀请临床医师参加生物参考区间的评审工作,从而弥补检验科临床信息不足的缺陷,保证生物参考区间的科学性和适用性。

本研究参考 NCCLS C28-A2 文件建立生物参考区间,再参照 CNAS CL38:2012 文件的要求进行参考区间评审,从而能够为临床提供可靠的生物参考区间。上述方法科学、实用,能够从多途径保证生物参考区间的可靠性、准确性,受到临床的认可。

参考文献

[1] 魏有仁. 参考值的几个基本问题[J]. 中国实验诊断学, 1997, 1 (1): 44-46.

[2] 冯仁丰. 临床检验质量管理技术基础[M]. 上海: 上海科技文献出版社, 2004: 136.

[3] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. ISO15189:2012 医学实验室-质量和能力的专用要求[S]. 北京: 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 2012.

[4] National Committee for Clinical Laboratory Standards. C28-A2 How to define and reference interval in the clinical laboratory [S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2000.

[5] 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: 11.

[6] Casmiro M, Maitan S, De Pasquale F, et al. Cerebrospinal fluid and serum neuron-specific enolase concentrations in a normal population[J]. Eur J Neurol, 2005, 12(5): 369-374.

[7] Zurek J, Fedora M. The usefulness of S100B, NSE, GFAP, NF-H, secretagogin and Hsp70 as a predictive biomarker of outcome in children with traumatic brain injury[J]. Acta Neurochir (Wien), 2012, 154(1): 93-103.

[8] 于芸, 韩如泉. 生物标志物在创伤性颅脑损伤中的应用[J]. 国际麻醉学与复苏杂志, 2013, 34(2): 126-129.

[9] Wang X, Xu G, Li H, et al. Reference intervals for serum creatinine with enzymatic assay and evaluation of four equations to estimate glomerular filtration rate in a healthy Chinese adult population[J]. Clin Chim Acta, 2011, 412(19): 1793-1797.

[10] Molyneux S, Lever M, Florkowski C, et al. Plasma(下转第 1324 页)

表 2 不同类型急性脑梗死患者血清 SOD、HCY 水平分析 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	SOD(U/mL)	HCY(μ mol/L)
点隙组	88	133.76 \pm 27.73	22.01 \pm 9.91
片状组	80	124.2 \pm 24.37*	28.36 \pm 11.63*
多发组	83	114.3 \pm 18.22*#	33.34 \pm 14.17*#

*: $P < 0.05$, 与点隙组比较; #: $P < 0.05$, 与片状组比较。

表 3 各研究组 SOD、HCY 异常率比较 [% (n)]

组别	n	SOD	HCY
脑梗死组	251	60.5(152)*	62.9(158)*
脑出血组	204	71.0(145)*#	65.2(133)*
对照组	485	2.7(12)	2.1(10)

*: $P < 0.05$, 与对照组比较; #: $P < 0.05$, 与脑梗死组比较。

3 讨 论

急性脑梗死和急性脑出血好发于 50~60 岁人群, 男性发病率略高于女性。脑梗死是缺血导致微血管内皮细胞和脑实质细胞损伤, 损伤程度与氧自由基密切相关。脑缺血后氧自由基异常增多是导致急性脑梗死患者脑损伤加重的主要原因^[2]。急性脑出血病因较多, 高血压、外伤、脑血管异常(如蛛网膜下腔出血)等均可引起。高血压脑出血是由于高血压导致脑血管病变所致。氧自由基在高血压脑出血中的作用被逐渐引起重视。脑出血后氧自由基反应增强是脑出血继发脑水肿的重要原因。因此, 如能积极预防高血压, 并在脑出血后早期应用自由基清除剂, 有助于阻断继发性病理损伤, 改善脑组织功能^[3]。SOD 是广泛存在于动、植物体内的一类金属酶, 能够催化超氧阴离子等自由基发生歧化反应^[4]。生理情况下, 体内氧自由基维持低水平、动态平衡, 过剩的氧自由基及其衍生物对机体有害。SOD 是重要的抗氧化剂, 可消除过剩的氧自由基及其衍生物, 保护细胞免受损伤。HCY 是一种含硫氨基酸, 人体主要通过两种途径调节 HCY 代谢: 一种是经甲基转换作用变成蛋氨酸, 另一种是经转硫作用转变成胱硫醚^[5]。HCY 代谢需要叶酸、维生素 B12、维生素 B6 和某些酶的参与, 如果缺乏上述物质或存在酶的缺陷, 均可导致 HCY 水平升高, 导致高同型半胱氨酸血症^[5]。人体外周血 HCY 水平与脑血管疾病、外周血管疾病和静脉血栓的发生密切相关^[6], 随着 HCY 水平的升高, 脑血管疾病发病危险越大。本研究结果显示, 急性脑梗死及急性脑出血患者血清 HCY 水平明显高于健康者 ($P < 0.05$), 与类似研究报道结果一致^[7-10]。此外, 急性脑梗死和急性脑出血患者血清 SOD 和 HCY 异常率均高于健康者 ($P <$

0.05), 且血清 HCY 水平升高而 SOD 水平降低 ($P < 0.05$)。其机制可能为: 发生急性脑梗死或急性脑出血时, 外周血 HCY 水平升高, 导致自发性氧化反应增加, 在血管壁产生过量的超氧化物及过氧化物, 进而导致 SOD 因消耗过多而减少, 脂质过氧化产物和 HCY 损伤血管内皮细胞^[11], 并使血管平滑肌收缩, 引起缺氧, 同时使血小板产生血栓素, 引起血小板聚集, 最终导致脑动脉梗死和脑出血后自由基反应增强。此外, 本研究显示 SOD 和 HCY 水平与脑梗死面积大小有关, 梗死面积越大, HCY 水平越高, SOD 水平越低 ($P < 0.05$), 说明急性脑梗死患者血清 HCY 与 SOD 水平与病情进展密切相关。及时、准确检测脑梗死患者外周血 SOD、HCY 水平, 有助于判断病情、评估预后和制订合理的控制措施。

总之, SOD 和 HCY 水平与急性脑梗死和急性脑出血关系密切, 联合检测外周血 SOD、HCY 水平对疾病诊治、病情评估、疗效评价等具有重要意义。

参考文献

[1] 中华医学会神经科分会. 各类脑血管疾病诊断要点[J]. 中华神经科杂志, 1996, 29(6): 379-381.

[2] Ruiz JA, Lopez S, Gonzalez R, et al. Reactive oxygen specieu induce proliferation of bovine aortic endothelial cells[J]. Cardiovasc Pharmacol, 2000, 35(1): 109-112.

[3] Stanger W. Interactions of homocysteine, nitric-oxide, folate and radicals in the progressivel damaged endothelium[J]. Clin Chem Lab Med, 2003, 41(11): 1444-1454.

[4] 杨琳, 廖明芳, 季欣然, 等. 超氧化物歧化酶在医学领域的研究现状[J]. 现代生物医学进展, 2010, 10(2): 396-398.

[5] Welch GN, Upehureh GR Jr, Loscalzo Z. Homoeysteine, oxidativestress and vascular disease[J]. Hosp Pract, 1997, 32(6): 81-92.

[6] 李保华, 毛利忠, 王克义, 等. 脑梗死与高同型半胱氨酸血症的相关性研究[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2006, 9(1): 8-11.

[7] 陈彦龙. 急性脑血管病与血浆同型半胱氨酸水平关系研究[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2009, 16(5): 385-386.

[8] 胡晓芳, 罗军, 孟冬娅, 等. 同型半胱氨酸在急性脑血管病发病早期中的作用地位[J]. 实验与检验医学, 2009, 27(3): 266-274.

[9] 胡志雄, 汤智敏. 同型半胱氨酸与脑血管病研究进展[J]. 实用心脑血管病杂志, 2009, 17(9): 839-841.

[10] 李福春, 卢宏. 血浆同型半胱氨酸水平与缺血性脑血管的相关性研究[J]. 中国实用神经疾病杂志, 6(1): 29-31.

[11] Refsum H, Ueland PM. Homocysteine and cardiovascular diseases [J]. Annu Rev Med, 1998, 49(1): 31-62.

(收稿日期: 2015-02-25)

(上接第 1322 页)

total coenzyme Q9 (CoQ9) in the New Zealand population; reference interval and biological variation[J]. Clin Chem, 2007, 53(4): 802-803.

[11] Martinez-Morillo E, Diamandis A, Diamandis EP. Reference intervals and biological variation for kallikrein 6: influence of age and renal failure[J]. Clin Chem Lab Med, 2012, 50(5): 931-934.

[12] 陈桂山. 临床生化检验项目生物参考区间适用性验证探讨[J]. 中

华检验医学杂志, 2008, 31(2): 170-174.

[13] 徐华建. 建立实验室内不同凝血检测系统生物参考区间的探讨[J]. 重庆医学, 2010, 39(24): 3338-3339.

[14] 黄雪珍. 电化学发光肿瘤标志物 CEA, CA19-9, CA12-5 的生物参考区间适用性验证[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(6): 661-662.

(收稿日期: 2015-02-28)