

## • 论 著 •

# 脑脊液 MRD 联合乳酸脱氢酶检测在中枢神经系统白血病诊断中的应用价值<sup>\*</sup>

谭 畅, 李 凤<sup>△</sup>, 蒲泽晏, 梁艳丽, 冯麓洁

(四川省遂宁市中心医院检验科, 四川遂宁 629000)

**摘要:**目的 探讨急性白血病脑脊液微小残留白血病细胞(MRD)联合乳酸脱氢酶(LDH)检测在中枢神经系统白血病(CNSL)早期诊断中的应用价值,为临床诊断和病情发展及治疗效果评价提供实验室诊断依据。方法 选择该院住院患者无血液病及中枢神经系统器质性病变、脑脊液常规和生化检验各项指标均为正常者30例作为对照组,骨髓穿刺FAB形态学和流式细胞免疫分型确诊的急性白血病(AL)96例作为疾病组。用流式细胞术法检测对照组和疾病组脑脊液中的MRD,用速率法检测对照组和疾病组脑脊液中LDH的活性,并对检测结果进行比较分析。结果 96例急性白血病患者中,30例伴中枢神经系统白血病脑脊液MRD检测阳性者13例,阳性率为43.33%。66例无CNSL组未检出MRD。96例急性白血病患者中30例伴中枢神经系统白血病(CNSL)组脑脊液LDH水平为(30.54±10.29)U/L,显著高于无CNSL组(16.16±7.12)U/L,两者比较差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。结论 急性白血病脑脊液中MRD、LDH检测可作为早期诊断CNSL的实验室诊断指标,MRD联合LDH检测可提高CNSL阳性诊断率。

**关键词:**白血病; 微小残留病; 乳酸脱氢酶; 脑脊液

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.16.006

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)16-2190-03

## Application value of cerebrospinal fluid MRLCs combined with lactate dehydrogenase detection in diagnosis of central nervous system leukemia<sup>\*</sup>

TAN Chang, LI Feng<sup>△</sup>, PU Zeyan, LIANG Yanli, FENG Lujie

(Department of Clinical Laboratory, Suining Municipal Central Hospital, Suining, Sichuan 629000, China)

**Abstract: Objective** To study the application value of cerebrospinal fluid minimal residual leukemia cells (MRLCs) combined with lactate dehydrogenase (LDH) detection in early diagnosis of central nervous system leukemia (CNSL) to provide a laboratory basis for clinical diagnosis and evaluation of disease progression and therapeutic effect. **Methods** Thirty inpatients without blood disease and central nervous system (CNS) organic diseases, and normal CSF routine and detected biochemical indexes were selected as the control group and 96 cases of acute leukemia (AL) diagnosed by bone marrow puncture FAB morphology and flow cytometry typing served as the disease group. Flow cytometry was used to detect the MRLCs in CSF, the activity of LDH in CSF was detected by the rate method, and the detection results were performed the comparative analysis. **Results** Among 96 cases of AL, 30 patients with CNSL had 13 cases of positive MRLCs in CSF, the positive rate was 43.33%, among 66 cases of non-MRLCs, MRLCs was not detected. Among 96 cases of AL, CSF LDH level in 30 cases of CNSL was (30.54±10.29) U/L, which was significantly higher (16.16±7.12) U/L in the patients without CNSL, the difference between the two groups was statistically significant ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The detection of MRLCs and LDH in CSF of AL can be used as a laboratory diagnostic index for early diagnosis of CNSL, and MRLCs combined with LDH detection can improve the positive diagnosis rate of CNSL.

**Key words:** leukemia; minimal residual disease; lactate dehydrogenase; cerebrospinal fluid

中枢神经系统白血病(CNSL)是导致白血病复发和患者死亡的根源,可发生于急性白血病的任何阶段,因此对临床医生来说,早期诊断及早期治疗可减少CNSL的发生,从而提高白血病患者的生存率及生活质量。目前CNSL的诊断主要依赖患者的临床症状和脑脊液常规及生化的改变,在患者脑脊液中找到白血病细胞是诊断CNSL的重要依据<sup>[1-4]</sup>。然而脑脊液检查结果受许多因素影响,只有在白血病细胞浸润脑膜和脑实质时,患者脑脊液常规及生化项目才呈阳性或找到白血病细胞,而在脑实质和周围神经浸润的早期却表现为正常脑脊液;因此,如何早期诊断早期治疗CNSL是摆在血液科医生面前的严峻问题,所以寻找更加敏感可靠的CNSL的监测指标联合应用具有重要意义。为探讨脑脊液MRD联合乳酸脱氢酶(LDH)检测对中枢神经系统白血病的早期诊断价值,2013年

1月至2016年12月笔者进行了相关研究,现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 对照组:选择本院住院患者无血液病及中枢神经系统器质性病变、脑脊液常规和生化检验各项指标均为正常者30例,其中男15例、女15例,年龄1~82岁,中位年龄43岁;疾病组:经骨髓穿刺FAB形态学和流式细胞免疫分型确诊的急性白血病患者共96例,其中男43例,女53例,年龄3~73岁,中位年龄34岁。根据《血液病诊断及疗效标准》判定为CNSL患者30例(CNSL组),无CNSL的急性白血病患者66例(无CNSL组)。

## 1.2 方法

**1.2.1 脑脊液标本采集** 常规腰椎穿刺术抽取脑脊液约5mL于无菌安瓶中,立即送检。

\* 基金项目:遂宁市科技计划项目(2013S17)。

作者简介:谭畅,女,主管技师,主要从事血液病的实验室诊断技术方面的研究。 △ 通信作者,E-mail:Lifeng511.ok@163.com。

**1.2.2 仪器和试剂** MRD 检测所用仪器为美国 BD 公司生产的 FACSCalibur 四色多参数流式细胞仪,试剂单克隆抗体为 BD 公司生产的原装配套试剂,LDH 检测仪器为日立公司 7600 全自动生化分析仪。试剂为日立公司原装配套试剂,LDH 的酶学单位采用 U/L。

**1.2.3 检测方法** 采集已确诊的急性白血病患者脑脊液用四色多参数流式细胞仪做 MRD 检查。吸取约 2 mL 脑脊液样本于尖底离心管中,1 500 r/min 离心 5 min, 弃去上清液, 加入 2 mL 红细胞裂解液 3 min, 1 500 r/min 离心 5 min, 弃去上清液, PBS 洗涤 1 次;然后根据患者初诊时的免疫分型结果选择单克隆抗体,在室温下加单克隆抗体进行标记。将尖底离心管内加入适量不同荧光素标记的单克隆抗体组合,充分混匀,避光放置 20 min, 1 500 r/min 离心 5 min, 弃去上清液, PBS 洗涤 1 次, 将标记好的细胞溶于 500 μL PBS 溶液, 立即上流式细胞仪检测。另吸取约 3 mL 脑脊液样本于尖底离心管中,1 500 r/min 离心 5 min, 取上清液用速率法检测 LDH 和常规生化;取沉淀涂片, 干燥后进行瑞氏染色, 油镜下观察细胞形态, 查找白血病细胞。

### 1.3 诊断标准

**1.3.1 中枢神经系统白血病诊断标准** 根据张之南编著的《血液病诊断及疗效标准》判定为 CNSL<sup>[5]</sup>。

**1.3.2 MRD 诊断标准** 四色多参数流式细胞分析仪做荧光标记检测分析时, 在细胞筛选时白血病细胞出现的区域内有细胞存在, 即判断为 MRD 阳性。以这类细胞占骨髓单个细胞总

数的比率作为 MRD 的测定值。流式细胞仪检测 MRD < 0.01% 为阴性,>0.01% 或表型异常为阳性<sup>[6]</sup>。

**1.4 统计学处理** 所有数据均采用 SPSS17.0 软件进行分析处理, 检测结果以  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间均数比较采用 t 检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 急性白血病患者脑脊液 LDH 的检测结果比较** 见表 1。

表 1 96 例急性白血病患者脑脊液中 LDH 检测结果比较( $\bar{x} \pm s$ , U/L)

组别	n	LDH
CNSL 组	30	30.54 ± 10.29 *
无 CNSL 组	66	16.16 ± 7.12
对照组	30	15.80 ± 6.23

注:与无 CNSL 组和对照组比较,\*  $P < 0.05$ 。

从表 1 看出,CNSL 组脑脊液 LDH 水平与无 CNSL 组及对照组比较,CNSL 组脑脊液 LDH 水平显著增高,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );而无 CNSL 组脑脊液 LDH 水平与对照组接近,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

**2.2 96 例急性白血病患者中,30 例伴中枢神经系统白血病患者脑脊液 MRD 阳性者 13 例, 阳性率为 43.33%。66 例无 CNSL 组未检出 MRD, 见表 2。**

表 2 13 例 MRD 检测阳性患者免疫表型标志物细胞抗原表达情况

病例	免疫表型标志物	异常表型细胞(%)	FAB 分型
1	CD10+、CD19+; CD34-、CD5-	96	B-ALL
2	CD19+; CD34-、CD5-	35	B-ALL
3	CD19+; Lambda+、Kappa-	40	B-NHL
4	CD19+、CD34+; CD5-	97	B-ALL
5	CD10+、CD19+、CD34+、CD38+、HLA-DR+; CD13-、CD20-	0.08	B-ALL
6	CD19+、CD34+; CD5-	85	B-ALL
7	CD19+、CD34+; CD5-	5	B-ALL
8	CD19+、CD34+; CD5-	73	B-ALL
9	CD34+、CD7+、CD117+	2	AML-M2
10	CD34+、CD7+、CD117+	1	AML-M2
11	CD34+、CD33+、CD7+、CD56+、CD13+、CD117+; CD64-	97	AML-M1
12	CD19+、CD20+; Lambda+、Kappa-	11	B-NHL
13	CD19+、CD5-; Kappa+、Lambda-	69	B-NHL

## 3 讨 论

微小残留白血病 MRD 是指白血病经治疗达完全缓解后体内残留的微量白血病细胞的状态。脑脊液中找到白血病细胞是诊断 CNSL 的金标准,但假阴性较高。因此,脑脊液中微小残留白血病细胞 MRD 检测在 CNSL 的早期诊断和早期治疗过程中起着非常重要的作用,可动态监测 CNSL 的发生与好转,是显微镜细胞形态学的补充<sup>[7]</sup>。本研究 30 例 CNSL 脑脊液中 MRD 阳性者 13 例(43.33%),远远高于显微镜在脑脊液中找到白血病细胞者 5 例(16.67%)。因此,MRD 流式细胞术技术较显微镜细胞学敏感性高,特异性强,是 CNSL 早期诊断的实验室指标,特别是对那些临幊上尚未出现中枢神经系统受损症状的患者更为重要。本组研究资料中,有 2 例脑脊液中 MRD 阳性和显微镜找到白血病细胞,但脑脊液潘氏实验阴性,

蛋白定量<0.45 g/L,而患者无颅内压增高等中枢神经系统症状。但实际工作中,脑脊液有时因外周血污染,而导致 CNSL 诊断的假阳性,故对于脑脊液 MRD 检测阳性的 CNSL 患者必须密切监测 MRD 的变化,采用定期连续监测和动态观察的方式,以确保 CNSL 患者的及时治疗和 MRD 清除,对降低 CNSL 的复发率、达到个体化精准治疗以及治愈的目的具有重要的临床意义<sup>[8-9]</sup>。

LDH 是催化乳酸转变为丙酮酸的糖代谢酶,广泛分布于人体各组织细胞浆中。是人类细胞代谢和能量传递及免疫调节的重要酶类。原始细胞在发育成熟过程中 LDH 逐渐减少,与细胞的增殖规律有关。正常情况下脑脊液 LDH 活性很低,约为血清中的 1/10。当脑膜组织产生病变时,脑脊液中 LDH 活性增高,CNSL 时,白血病细胞浸润到脑膜和脑实质使得脑

脊液 LDH 升高。本研究 CNSL 组患者脑脊液 LDH 水平 (30.54±10.29)U/L, 较对照组和无 CNSL 组显著升高 ( $P<0.05$ ), 与王秋菊等<sup>[10]</sup>的研究结果 (28.68±9.29)U/L 接近, 但对照组 [(15.80±6.23)U/L] 和无 CNSL 组 [(16.16±7.12)U/L] 低于王秋菊等<sup>[10]</sup>的对照组 (21.53±5.75)U/L 和无 CNSL 组 (22.61±7.27)U/L, 但与钱瑛等<sup>[11]</sup>的研究结果接近。这可能与各实验室检测条件不同所致有关, 有待进一步研究证实。故脑脊液 LDH 检测可作为 CNSL 的早期诊断指标。

综上所述, 本研究采用流式细胞术(FCM)技术检测脑脊液 MRD, 用速率法检测脑脊液 LDH, 同时做脑脊液常规及生化检测, 探讨急性白血病脑脊液 MRD 联合 LDH 检测在 CNSL 早期诊断中的应用价值。从研究结果看出, MRD 的阳性率明显高于显微镜找到白血病细胞的阳性率, CNSL 组脑脊液 LDH 显著高于无 CNSL 组, 所以, 脑脊液 MRD 和 LDH 检测均可作为 CNSL 早期诊断的实验室指标。MRD 联合 LDH 检测可提高 CNSL 阳性诊断率。

## 参考文献

- [1] 宋斌, 陈雁. 脑脊液 Cystatin C 对中枢神经系统白血病的早期诊断价值 [J]. 现代中西医结合杂志, 2014, 23(21): 2360-2362.
- [2] 张传新, 胡国敏, 贾国存, 等. 中枢神经系统白血病患儿脑脊液  $\beta$ 2-MG、IL-2、IL-6 水平测定 [J]. 郑州大学学报, 2013, 48(4): 568-569.
- [3] 曲延章, 王苏亮, 韩英杰, 等. 中枢神经系统白血病与非中枢神经系统白血病患者脑脊液中基质细胞衍生因子-1 $\alpha$  的表达对比 [J]. 中国老年学杂志, 2014, 34(22): 6295-

(上接第 2189 页)

可见, 通过各种措施降低 PICC 置管的并发症发生率, 成为当前护理学研究的重要课题。

在本研究中, 观察组 PICC 置管采用 B 超引导下改良 Seldinger 技术, 对照组 PICC 置管采用传统方法, 结果显示 PICC 置管前后两组患者的 PLT, 血浆 D-D、TXB2、ET、6-keto-PGF1 $\alpha$  等均逐步出现异常, 且对照组患者上述指标异常更明显。进一步观察显示观察组静脉血栓发生率显著低于对照组, 差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。分析其原因, PICC 置管传统方法主要是盲穿插入, 因此选择合适的导管显得尤为重要, 否则会导致血管内膜机械损伤等并发症的发生, 而 B 超引导下改良 Seldinger 技术可以改善传统 PICC 置管盲穿方法的弊端, 且将穿刺部位改为肘窝上的贵要静脉, 从而减少对血管内膜的损伤, 提高患者的舒适性<sup>[9-10]</sup>。既往研究表明, 血管内膜损伤在血栓形成过程中发挥着举足轻重的作用, 这也是本研究观察组患者静脉血栓发生率更低的原因所在。综上所述, 肺癌患者 PICC 置管采用 B 超引导下改良 Seldinger 技术的安全性良好, 值得临床推广应用。

## 参考文献

- [1] 张京慧, 李雪兵, 贺连香, 等. 肺癌合并上腔静脉梗阻患者股静脉留置 PICC 导管的研究 [J]. 中华护理杂志, 2015, 50(6): 692-696.
- [2] 姜宏春, 于文婷, 李静. 预防 PICC 管置管并发症的护理体会 [J]. 中国药物经济学, 2013, 9(3): 367.

6296.

- [4] 吴若芬, 孔繁元, 范学文, 等. 脑脊液细胞学检查在诊断中枢神经系统白血病中的应用 [J]. 宁夏医科大学学报, 2013, 35(3): 327-328.
- [5] 沈悌, 张之南. 血液病诊断及疗效标准 [M]. 北京: 科学出版社, 2007: 130-131.
- [6] 钟旭妹, 兰菲, 崔旭, 等. 初发急性髓系白血病诱导化疗后外周血 MRD 早期检测与临床疗效的关系 [J]. 中国实验血液学杂志, 2013, 21(1): 57-61.
- [7] 杨文钰, 王慧君, 陈玉梅, 等. 脑脊液流式细胞学检测技术在急性淋巴细胞白血病儿童并发中枢神经系统白血病中的诊断价值 [J]. 中国实验血液学杂志, 2012, 20(1): 38-42.
- [8] 李凤, 蒲泽晏, 刘方久, 等. 流式细胞仪与显微镜联合检测 MRD 的临床价值 [J]. 西部医学, 2015, 27(8): 1239-1241.
- [9] 谭畅, 李凤, 蒲泽晏, 等. 白血病患者骨髓和脑脊液中 MRD 检测结果分析 [J]. 中国农村卫生, 2014, 52(1): 11-12.
- [10] 王秋菊, 梁贤明, 卢鑫鑫, 等. 脑脊液乳酸脱氢酶测定在中枢神经系统疾病中的意义 [J]. 国际检验医学, 2015, 36(20): 2997-2999.
- [11] 钱瑛, 陈国千. 中枢神经系统白血病患者脑脊液胱抑素 C、 $\beta$ 2-微球蛋白及乳酸脱氢酶水平观察 [J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(4): 412-413.

(收稿日期: 2017-02-20 修回日期: 2017-04-20)

- [3] 王丹红, 徐青青. PICC 管并发症预防与护理 [J]. 中国保健营养, 2016, 26(2): 346.
- [4] 郑晓燕, 门倩倩, 郑超. 直式静脉留置针结合改良塞丁格技术在危重婴幼儿 PICC 置管中的应用 [J]. 护士进修杂志, 2016, 31(10): 930-931.
- [5] 罗昭梅. Seldinger 技术对肺癌患者 PICC 置管后的影响 [J]. 中国医疗器械信息, 2016, 22(1): 53-54.
- [6] 王璇. 超声引导下改良 Seldinger 技术行 PICC 置管与传统穿刺置管应用效果比较 [J]. 中国医药导报, 2014, 9(1): 50-53.
- [7] Alfaro TM, Bernardo J, Garcia H, et al. Organizing pneumonia due to actinomycosis: an undescribed association [J]. Respir inter rev tho dis, 2011, 81(5): 433-436.
- [8] 陈琼, 郑铠军, 朱惠欢, 李亚洁, 卢贤秀, 黎艳超, 钟林堃. 超声引导在小儿外周静脉穿刺困难者中的应用研究 [J]. 四川医学, 2016, 37(4): 447-449.
- [9] 罗昭梅. Seldinger 技术对肺癌患者 PICC 置管后的影响 [J]. 中国医疗器械信息, 2016, 22(1): 53-54.
- [10] Chrystelle S, Olivier C, Olivier P, et al. Management of mediastinal syndromes in pediatrics: a new challenge of ultrasound guidance to avoid high-risk general anesthesia [J]. Paediat anaes, 2014, 24(5): 534-537.

(收稿日期: 2017-03-01 修回日期: 2017-05-02)