

## • 论著 •

## 脑脊液生物学标志物检测分析判断结核性脑膜炎病情的效果

任焕民 巩敏红 田浩 胡强玲 吴德 广阔  
商洛市妇幼保健院检验科 陕西省商洛市 726000

**摘要:**目的 探讨脑脊液生物学标志物检测分析判断结核性脑膜炎病情的效果。方法 选择2011年8月到2014年8月在我院进行诊治的结核性脑膜炎患者80例作为观察组,对照组选择同期我院住院的80例细菌性脑膜炎患者,两组都提取了脑脊液,进行了肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、腺苷脱氨酶(ADA)和乳酸脱氢酶活性的检测与相关性分析。结果 观察组的TNF- $\alpha$ 、腺苷脱氨酶和乳酸脱氢酶活性都明显高于对照组,对比差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。ROC曲线分析结果显示曲线下面积从大到小依次为腺苷脱氨酶、TNF- $\alpha$ 和乳酸脱氢酶。经过判断,腺苷脱氨酶判断结核性脑膜炎的敏感性与特异性都高于其他两个指标( $P < 0.05$ )。Pearson相关分析显示结核性脑膜炎患者脑脊液中的TNF- $\alpha$ 、腺苷脱氨酶和乳酸脱氢酶在两两之间都存在明显正相关性( $P < 0.05$ )。结论 脑脊液中3种生物学标志物的检测能反应结核性脑膜炎的病情,且存在一定的相关性,有利于在疾病早期对结核性脑膜炎进行有效的鉴别诊断。

**关键词:** 脑脊液; 结核性脑膜炎; 肿瘤坏死因子- $\alpha$ ; 腺苷脱氨酶; 乳酸脱氢酶

## Analysis of condition of tuberculous meningitis through determination of biomarkers in cerebrospinal fluid

REN Huan-Min, GONG Min-Hong, TIAN Hao, HU Qiang-Ling, WU De, GUANG Kuo. Laboratory, The Maternal and Child Care Service Centre, Shangluo, Shaanxi 726000, China

**Abstract: Objective** To investigate the effectiveness of the determination of biomarkers in cerebrospinal fluid for the analysis of the condition of tuberculous meningitis. **Methods** Eighty patients with tuberculous meningitis who were admitted to our hospital from August 2011 to August 2014 were selected as observation group, and 80 patients with bacterial meningitis who were hospitalized in our hospital during the same period were selected as control group. The cerebrospinal fluid was extracted, and the activities of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), adenosine deaminase (ADA), and lactate dehydrogenase (LDH) were determined in the two groups and correlation analysis was carried out. **Results** Compared with the control group, the observation group had significantly higher activities of TNF- $\alpha$ , ADA, and LDH ( $P < 0.05$ ). ROC curve analysis showed that ADA had the largest area under the ROC curve, followed by TNF- $\alpha$  and LDH. Analysis showed that the sensitivity and specificity of ADA in judging the condition of tuberculous meningitis were both higher than those of TNF- $\alpha$  and LDH ( $P < 0.05$ ). Pearson correlation analysis showed that the TNF- $\alpha$ , ADA, and LDH in the cerebrospinal fluid of patients with tuberculous meningitis had a significantly positive correlation between any two of the three biomarkers ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** The determination of the three biomarkers in cerebrospinal fluid can reflect the condition of tuberculous meningitis, and the three biomarkers show a certain correlation between them as well, which is conducive to the differential diagnosis of the disease in early stage.

**Key words:** cerebrospinal fluid; tuberculous meningitis; tumor necrosis factor- $\alpha$ ; adenosine deaminase; lactate dehydrogenase

中枢神经系统感染是以化脓性脑膜炎、结核性脑膜炎、病毒性脑膜炎最为常见,是临床上比较严重的炎症性反应,有着较高的发病率和死亡

率<sup>[1,2]</sup>。由于不同病原体引起的脑膜炎常具有相似的表现,不正规的抗生素使用常导致临床表现及脑脊液改变不典型,为此对于临床诊断要求比较

收稿日期:2014-10-16;修回日期:2014-12-09

作者简介:任焕民(1971-),男,副主任检验技师,主要从事生化、免疫检验的研究。E-mail: renhuanmin\_6061@163.com。

高<sup>[3]</sup>。其中结核性脑膜炎是在脑脊液中培养出结核杆菌,或者通过脑脊液沉淀涂片法找到抗酸分支杆菌来诊断的<sup>[4]</sup>。但是常规培养结核杆菌周期长、敏感性度低,比较难以快速满足临床诊断的需要<sup>[5]</sup>。众所周知,细菌及其成分可以刺激结核性脑膜炎,从而在局部产生各种细胞因子而引发体内的一系列反应。而近年来随着分子生物学和免疫学的飞速发展,进行脑脊液检测分析监测得到了实现<sup>[6]</sup>。而结核性脑膜炎的发病机制上,肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 会参与多种感染性疾病的免疫反应及炎症反应<sup>[7]</sup>。腺苷脱氨酶 (adenosine deaminase, ADA) 是一种与免疫有关的酶,淋巴细胞内腺苷脱氨酶含量较高,当结核菌引起结核性脑膜炎时,患者脑脊液中腺苷脱氨酶含量可明显增高<sup>[8]</sup>。乳酸脱氢酶富含于机体多种组织器官,当发生脑膜炎时,由于致病菌的生长繁殖,可造成脑组织病变部位的缺氧缺血,使得脑脊液中乳酸脱氢酶活性也增强<sup>[9]</sup>。本文分别采用不同方法测定脑脊液中 TNF- $\alpha$ 、腺苷脱氨酶和乳酸脱氢酶活性水平,以探索脑脊液检测分析判断结核性脑膜炎病情的效果,现报告如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

2011 年 8 月到 2014 年 8 月选择在我院进行诊治的 80 例结核性脑膜炎患者为观察组,其中男 42 例,女 38 例;年龄最小 16 岁,最大 58 岁,平均年龄 (37.22  $\pm$  4.11) 岁。诊断标准: 患者有发热和头痛、抽搐、意识改变、脑膜刺激征症状; CT 或 MRI 示颅底脑膜增厚和强化; 细菌培养发现分枝杆菌。纳入标准: 符合结核性脑膜炎的诊断标准; 入院前未用过抗生素者; 经细菌培养检查未发现其他病原体。选择同期在我院住院的 80 例细菌性脑膜炎患者为对照组,均无严重心、肺、肝、肾等相关疾病,其中男 40 例,女 40 例;年龄最小 16 岁,最大 59 岁,平均年龄 (37.65  $\pm$  4.65) 岁。两组间年龄、性别等一般临床资料差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

### 1.2 标本采集

两组患者均在入院后 24 h 内进行腰椎穿刺,无菌条件下留取 2 ml 新鲜脑脊液,以 1500 rpm 离心 5 min,去上清在 -20℃ 保存待用。

### 1.3 检测方法

1.3.1 TNF- $\alpha$  的检测 采用双抗体夹心酶联免疫吸附法进行检测,试剂盒购自上海生物工程有限

公司。

1.3.2 腺苷脱氨酶的检测 采用连续监测法进行检测,试剂盒由北京九强生物技术有限公司提供。

1.3.3 乳酸脱氢酶的检测 采用酶速率法进行检测,使用仪器为日本东芝公司生产的 TBA-40FR 全自动生化分析仪进行,试剂盒购自北京中生公司。

### 1.4 统计方法

选择 SPSS 18.0 软件进行数据分析,采用 Pearson 相关分析法分析数据相关性,采用  $t$  检验比较样本间均数,  $P < 0.05$  表明差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 TNF- $\alpha$ 、腺苷脱氨酶和乳酸脱氢酶活性对比

经过检测,观察组的 TNF- $\alpha$ 、腺苷脱氨酶和乳酸脱氢酶活性都明显高于对照组,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 两组 TNF- $\alpha$ 、腺苷脱氨酶和乳酸脱氢酶活性对比 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数(n)	TNF- $\alpha$ (pg/L)	腺苷脱氨酶(U/L)	乳酸脱氢酶(U/L)
观察组	80	465.44 $\pm$ 138.48	12.90 $\pm$ 5.44	201.38 $\pm$ 45.83
对照组	80	22.38 $\pm$ 10.10	0.46 $\pm$ 0.28	64.89 $\pm$ 14.93
$t$		34.98	123.09	9.332
$P$		<0.05	<0.05	<0.05

### 2.2 ROC 曲线分析

经过 ROC 曲线分析,下面积从大到小依次为腺苷脱氨酶、TNF- $\alpha$  和乳酸脱氢酶。见图 1。

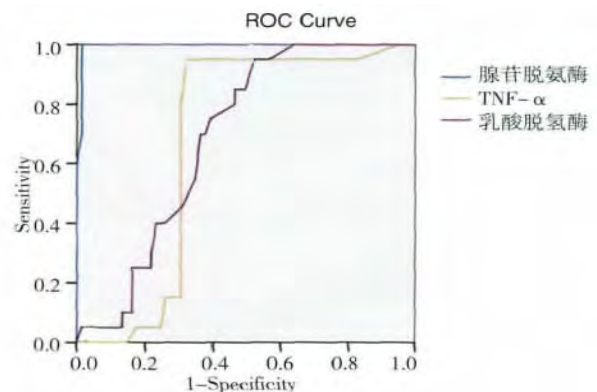


图 1 TNF- $\alpha$ 、腺苷脱氨酶和乳酸脱氢酶判断结核性脑膜炎病情的 ROC 曲线分析

### 2.3 诊断敏感性与特异性分析

经过判断,当腺苷脱氨酶的 COV 为 7.5 U/L 时,其诊断的敏感性和特异性分别为 100.0% 和 86.0%; 乳酸脱氢酶为 2.25 mmol/L 时,敏感性和特

异性分别为 95.0% 和 77.0% ; TNF- $\alpha$  为 30.0 mg/L , 敏感性和特异性分别为 95.0% 和 68.0% , 表明腺苷

脱氨酶判断结核性脑膜炎的敏感性与特异性都高于其他两个指标(  $P < 0.05$  )。见表 2。

表 2 TNF- $\alpha$ 、腺苷脱氨酶和乳酸脱氢酶判断结核性脑膜炎的敏感性与特异性 (  $n, \%$  )

指标	例数	TNF- $\alpha$	腺苷脱氨酶	乳酸脱氢酶
敏感性	80	95.0	100.0	95.0
特异性	80	68.0	86.0	77.0

## 2.4 相关性分析结果

采用 Pearson 相关分析法, 将结核性脑膜炎患者脑脊液中的 TNF- $\alpha$ 、腺苷脱氨酶和乳酸脱氢酶活

性指标进行相关性分析, 结果显示两两之间都存在明显正相关性(  $P < 0.05$  )。见表 3。

表 3 脑脊液中 TNF- $\alpha$ 、腺苷脱氨酶和乳酸脱氢酶的相关性分析

指标	TNF- $\alpha$	腺苷脱氨酶	乳酸脱氢酶
TNF- $\alpha$		$r = 0.453, P < 0.05$	$r = 0.321, P < 0.05$
腺苷脱氨酶	$r = 0.453, P < 0.05$		$r = 0.298, P < 0.05$
乳酸脱氢酶	$r = 0.321, P < 0.05$	$r = 0.298, P < 0.05$	

## 3 讨论

结核性脑膜炎是一种常见的中枢神经系统疾病, 早期诊断及早期治疗非常重要。在常规检测中, 血常规检查与生化检查缺乏特征性改变, 临床鉴别诊断较为困难<sup>[10]</sup>。而细菌培养被认为是结核性脑膜炎的金标准, 但其耗时、操作复杂, 也比较容易出现假阳性。脑脊液对神经系统有营养、支持和保护的作用。其变化在很大程度上可以反映脑组织损伤的程度。有学者研究发现研究脑脊液中神经元特异性烯醇化酶( neuron-specific enolase, NSE)、基质金属蛋白酶-9( matrix metalloprotein, MMP-9)、ADA 及 TNF- $\alpha$  水平可为结核性脑膜炎的早期诊断及鉴别诊断提供依据<sup>[11]</sup>。

在检测指标中, TNF- $\alpha$  不仅是机体炎症时免疫应答的重要调节因子, 也是一种有效的肿瘤杀伤因子, 其过量表达可导致机体发热、休克和恶病质, 并参与疾病的病理过程<sup>[12]</sup>。TNF- $\alpha$  对中枢神经系统细菌感染所致的病理变化有重要作用, 细菌感染时会侵入脑脊液中, 从而刺激小神经胶质细胞、巨噬细胞、星型胶质细胞等产生 TNF- $\alpha$ 。并且由于 TNF- $\alpha$  的趋化作用, 使外周的中性粒细胞进入蛛网膜下腔, 从而加重了局部的炎症反应及脑损害<sup>[13]</sup>。腺苷脱氨酶广泛存在于人体各组织中, 其作为细胞免疫标志物, 在与细胞介导的免疫相关疾病中, 其活性升高<sup>[14]</sup>。而在结核性脑膜炎的发病中, 结核菌侵入中枢神经系统后, 因局部细胞免疫受刺激,

淋巴细胞明显增多、可出现渗出、炎症, 从而导致腺苷脱氨酶的活性升高。研究发现结核性脑膜炎患者腺苷脱氨酶活性显著高于细菌性脑膜炎, 其含量变化与结核性脑膜炎患者抗痨治疗及病程发展有一定关系。因此, 腺苷脱氨酶测定可作为早期结核性脑膜炎诊断、观察病情和疗效的常规检查项目<sup>[15]</sup>。乳酸脱氢酶是糖酵解过程中相当重要的酶, 其中中枢神经系统本身产生的酶通过脑-脑脊液屏障进入脑脊液。而当脑膜组织产生病变时, 可导致脑脊液中乳酸脱氢酶活性增高。当结核性脑膜炎时, 由于致病菌的生长繁殖, 可造成脑血流量减少, 使局部糖酵解作用加强, 催化生成乳酸的酶活性增强, 所以脑脊液中乳酸脱氢酶活性也增强<sup>[16]</sup>。

本研究观察组的 TNF- $\alpha$ 、腺苷脱氨酶和乳酸脱氢酶活性都明显高于对照组, 符合上述理论判断。

本研究经过 ROC 曲线分析, 腺苷脱氨酶判断结核性脑膜炎的敏感性与特异性都高于 TNF- $\alpha$  和乳酸脱氢酶。表明脑脊液中腺苷脱氨酶对结核性脑膜炎的诊断灵敏度和特异度更高, 为早期鉴别诊断结核性脑膜炎的较好指标。3 种指标的联合使用是诊断结核性脑膜炎的一个良好的辅助诊断指标。

三者的相关性分析显示, 结核性脑膜炎患者脑脊液中的 TNF- $\alpha$ 、腺苷脱氨酶和乳酸脱氢酶在两两之间都存在明显正相关性。表明当脑组织遭到结

核菌感染破坏时,酶从神经细胞内溢出;未被破坏的脑细胞酶流出增多;脑脊液的清除率下降,脑血液屏障的通透性也在改变,可使得  $\text{TNF-}\alpha$  的表达升高。而在结核菌感染中枢神经系统后,局部细胞免疫受刺激,T 淋巴细胞大量增值分化,可导致腺苷脱氢酶的活性增加。凡有脑组织坏死时,脑脊液中乳酸脱氢酶增高。并且中枢神经系统本身产生的酶通过脑-脑脊液屏障进入脑脊液,而脑脊液乳酸脱氢酶增高较天冬氨酸转氨酶增高更明显<sup>[17]</sup>。

总之,脑脊液的 3 种生物学标志物的检测能反应结核性脑膜炎的病情,且存在一定的相关性,有利于在疾病早期对结核性脑膜炎进行有效的鉴别诊断。

#### 参 考 文 献

- [1] Chotmongkol V, Teerajetgu Y, Yodwut LC. Cerebrospinal fluid adenosine deaminase activity for the diagnosis of tuberculous meningitis in adults. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 2006, 37(21): 948-952.
- [2] 梁莉,刘丽蓉,乐军,等. 结核性脑膜炎患者脑脊液的蛋白质组学研究. *中华医院感染学杂志*, 2010, 20(24): 3863-3866.
- [3] Song FX, Sun XW, Wang XT, et al. Significance of mycobacterium tuberculosis antigen expression in cerebrospinal fluid monocytes in diagnosing tuberculous meningitis. *Indian J Pathol Microbiol*, 2014, 57(2): 265-268.
- [4] 羊鑫. 化脓性脑膜炎患儿脑脊液中  $\text{TNF-}\alpha$  水平与其并发症的关系. *医学临床研究*, 2013, 12(8): 2429-2430.
- [5] Doder R, Canak G, Stefan Mikić S, et al. Clinical case series of nine patients with tuberculous meningitis in the Clinical Centre of Vojvodina, Novi Sad, AP Vojvodina, Serbia 2001-2010. *Med Glas (Zenica)*, 2014, 11(2): 283-288.
- [6] 贾丽,邢明红,白秀丽. 手足口病合并脑炎患儿血清神经烯醇化酶及白介素-18 检测的价值. *临床儿科杂志*, 2012, 30(11): 1095.
- [7] 赵炜,张金凤. 脑脊液乳酸脱氢酶检查在小儿颅内感染中的意义. *实用诊断与治疗杂志*, 2007, 21(7): 534-535.
- [8] 李小鹏,张伦理,黄呈辉. 金属基质蛋白酶-9 在中枢神经系统感染患者脑脊液中的表达水平及意义. *中华传染病杂志*, 2012, 30(3): 141-145.
- [9] 赵伟,黄凤楼,吴丽娟,等. 脑脊液 LDH、AST、ADA 活性和蛋白含量对脑膜炎的诊断意义. *重庆医学*, 2008, 37(3): 234-235.
- [10] Nishihara H, Omoto M, Ogasawara J, et al. Leptomeningeal gliomatosis with high levels of adenosine deaminase in the cerebrospinal fluid. *Rinsho Shinkeigaku*, 2014, 54(4): 308-312.
- [11] 石强,蒲传强,吴卫平,等. 脑脊液肿瘤标志物对脑膜癌病的诊断价值. *南方医科大学学报*, 2010, 30(5): 1192-1194.
- [12] 陈华英,林伟华,洪流,等. 脑脊液乳酸脱氢酶在鉴别细菌性与病毒性脑膜炎的应用. *实用医技杂志*, 2014, 7(11): 747-748.
- [13] Panagariya A, Sureka RK, Ralot T, et al. Clinicodiagnostic features of tuberculous meningitis and the role of CSF PCR in early diagnosis: a study from north-west India. *J Indian Med Assoc*, 2013, 111(5): 309-312.
- [14] Tang J, An Y, Liao Y, et al. The association between blood-cerebrospinal fluid barrier dysfunction and the therapeutic effect in tuberculous meningitis patients. *Eur Neurol*, 2014, 71(5-6): 331-336.
- [15] 黄绍梅,周晓婷,邱薇. 脑脊液腺苷脱氢酶在小儿结核性脑膜炎中的诊断及疗效评估价值. *现代医院*, 2014, 14(5): 74-75.
- [16] Omoto S, Yoshioka M, Sakimoto Y, et al. Chronic tuberculous meningitis presenting recurrent brainstem infarction without features of meningitis. *Rinsho Shinkeigaku*, 2014, 54(3): 212-217.
- [17] 程碧珍,杨礼,张俏忻,等.  $\text{TNF-}\alpha$  和  $\text{IFN-}\gamma$  在结核性脑膜炎患者血清和脑脊液中的变化. *检验医学与临床*, 2014, 13(8): 1745-1746.