

超氧化物歧化酶检测在中枢神经系统白血病诊断中的意义

钟敏¹, 刘晓力^{2△}, 刘晓加², 杜庆锋², 许娜², 刘志², 林榕², 夏立平¹

(1. 海南医学院附属医院血液科, 海口 570102; 2. 南方医科大学南方医院血液科, 广州 510515)

摘要:目的 测定中枢神经系统白血病(CNSL)患者脑脊液中超氧化物歧化酶(SOD)活性,探讨 SOD 检测在 CNSL 诊断中的意义。方法 收集 2008 年 1 月至 2009 年 1 月南方医科大学南方医院血液科收治的 30 例 CNSL 患者脑脊液标本作为研究组(CNSL 组),25 例无中枢神经系统损害的急性白血病患者脑脊液标本作为对照组。采用黄嘌呤氧化酶法检测脑脊液 SOD 活性,同时进行脑脊液常规、生化及细胞涂片分析。结果 CNSL 组与对照组患者脑脊液中白细胞数量、蛋白含量比较差异有统计学意义($P<0.05$);两组脑脊液压力、葡萄糖和氯比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。CNSL 组与对照组脑脊液 SOD 活性比较差异有统计学意义($P<0.05$)。脑脊液中白细胞数量和蛋白含量分别与 SOD 活性呈正相关($r=0.871, P=0.000; r=0.518, P=0.003$)。鞘内化疗前后患者脑脊液 SOD 活性比较差异有统计学意义($P<0.05$)。不同年龄组(<45 岁、 ≥ 45 岁)脑脊液 SOD 活性检测结果分别为(755.64 ± 345.77)、($1\ 420.493\pm 307.69$),差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 脑脊液 SOD 活性变化与 CNSL 的发生有关,修正年龄因素,脑脊液 SOD 活性检测可能作为一种辅助诊断指标用于 CNSL 的诊断。

关键词:白血病;超氧化物歧化酶;脑脊液;年龄

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.09.022

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)09-1085-03

The significance of SOD detection in diagnosis of the central nervous system leukemia

Zhong Min¹, Liu Xiaoli^{2△}, Liu Xiaojia², Du Qingfeng², Xu Na², Liu Zhi², Lin Rong², Xia Liping¹

(1. Department of Hematology, Affiliated Hospital of Hainan Medical Collage, Haikou, Hainan 570102, China;

2. Department of Hematology, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong 510515, China)

Abstract: Objective To explore the value of SOD activity in diagnosis of central nervous system leukemia (CNSL) by detecting SOD activity of cerebrospinal fluid of patients with CNSL. **Methods** The cerebrospinal fluid of 55 patients from department of hematology of Nanfang hospital of southern medical university were collected from January 2008 to January 2009, in which 30 patients suffered with central nervous system leukemia (CNSL group), the other 25 patients suffered with acute leucemia without impaired central nervous system (control group). The SOD activity of cerebrospinal fluid was detected by the xanthine oxidase method, while the routine test, biochemistry test and cell smear of cerebrospinal fluid was detected. **Results** There were statistics difference in the level of white cell and protein in cerebrospinal fluid between CNSL and control group ($P<0.05$), but with no difference in the level of cerebrospinal fluid pressure, glucose, chlorine ($P>0.05$). There was statistics difference in the level of SOD activity between CNSL and control group ($P<0.05$). The white cell quantity and the protein level in cerebrospinal fluid had negative correlation with the activity of SOD, ($r=0.871, P=0.000; r=0.518, P=0.003$). The activity of SOD in the cerebrospinal fluid had statistics difference before and after intrathecal chemotherapy ($P<0.05$). The activity of SOD in the cerebrospinal fluid whose under 45 year-old (755.64 ± 345.77), which was significant lower than that of the patients whose equal with or above 45 year-old ($1\ 420.49\pm 307.69$) ($P<0.05$). **Conclusion** The changes of the SOD activity in the cerebrospinal fluid had relation with central nervous system leukemia, and the SOD activity might be a auxiliary diagnosis index used in central nervous system leukemia by revising age factor.

Key words: leukemia; superoxide dismutase; cerebrospinal fluid; age

目前早期诊断中枢神经系统白血病(central nervous system leukemia, CNSL)的方法很多,但临床上尚无特异度和敏感度兼顾的方法。虽然常规的脑脊液细胞学检查对 CNSL 早期诊断有重要价值,但只有在白血病细胞浸润脑膜时呈阳性,而早期浸润实质和周围神经的脑脊液改变不明显,甚至阴性,单纯依靠脑脊液细胞学检查早期诊断 CNSL 较困难。因此寻找 CNSL 新的早期诊断方法对预防和治疗 CNSL,提高患者的生存率和治愈率具有重要的临床意义。超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)是机体内重要的抗氧化酶之一,目前大多数实验研究表明脑肿瘤患者血清中 SOD 活性增高^[1],本研究采用黄嘌呤氧化酶法对 30 例 CNSL 患者及 25 例无中枢神经系统损害的急性白血病患者脑脊液进行 SOD 活性检测,以探讨 SOD 活性变化在 CNSL 诊断中的意义,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2008 年 1 月到 2009 年 1 月南方医科大学南方医院血液科 30 例 CNSL 患者作为研究组(CNSL 组),其中男 21 例,女 9 例;中位年龄为 35.0 岁, <45 岁 19 例, ≥ 45 岁 11 例。25 例无中枢神经系统损害的急性白血病患者作为对照组,其中男 13 例,女 12 例,中位年龄为 28.5 岁。CNSL 诊断标准参照血液病诊断及疗效标准^[2]。

1.2 方法

1.2.1 腰椎穿刺术 无菌收集脑脊液 2~3 mL,其中 2 mL 送该院检验科进行常规、生化检查,其余部分进行 SOD 活性测定。鞘内化疗方法:甲氨蝶呤 10 mg+地塞米松 5 mg,阿糖胞苷 50 mg,生理盐水稀释后鞘内注射,每周 2 次。

1.2.2 脑脊液 SOD 活性测定 黄嘌呤氧化酶法测定 SOD 酶活性。采用高 55 mm,内径 10 mm 的无色透明硬质玻璃管为

测定管。注入 10 μL 待测脑脊液样品,对照管以等体积 0.05 mol/L、pH 7.8 的磷酸钾缓冲液代替。注入 1 mg/mL 黄嘌呤氧化酶 50 μL 。加入 940 μL 发光液启动反应,开动记录仪。纪录发光峰值读数。以对照管的发光峰值读数为 100%,根据样品管测得的发光峰值读数,计算样品管中 SOD 对发光峰值的抑制程度,并由酶活力单位定义计算出样品中的酶活力。活性单位定义:在规定测定条件下,25 $^{\circ}\text{C}$ 抑制 50% 发光所需要的 SOD 量为 1 个活性单位。所用数据由南京建成生物工程研究所提供。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,结果采用 t 检验、单向方差分析、多重比较的 LSD- q 检验及双变量相关分析方法进行分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者脑脊液常规、生化检查结果 CNSL 组与对照组脑脊液中白细胞数量和蛋白含量比较差异有统计学意义($P < 0.05$);两组中的脑脊液压力、葡萄糖、氯比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 两组脑脊液常规、生化检查结果($\bar{x} \pm s$)

脑脊液	CNSL($n=30$)	对照组($n=25$)	t	P
压力(mm H ₂ O)	145.67 \pm 65.26	128.20 \pm 19.20	-1.291	0.202
白细胞($\times 10^6$ 个/L)	13.70 \pm 7.03	0.24 \pm 0.52	-9.539	0.000
蛋白(g/L)	1.02 \pm 1.80	0.29 \pm 0.07	-2.023	0.048
葡萄糖(mmol/L)	3.26 \pm 0.72	3.32 \pm 0.81	0.290	0.773
氯(mmol/L)	121.77 \pm 4.42	123.00 \pm 3.37	1.144	0.258

2.2 患者脑脊液 SOD 活性检查结果 CNSL 组患者脑脊液 SOD 活性为(999.42 \pm 461.57),对照组为(662.17 \pm 354.38),两组比较差异有统计学意义($t = -2.990, P < 0.05$)。

2.3 患者脑脊液白细胞数量、蛋白含量与脑脊液 SOD 活性相关性分析 相关分析结果显示,脑脊液白细胞数量和蛋白含量均与 SOD 活性呈正相关($r = 0.871, P = 0.000; r = 0.518, P = 0.003$)。

2.4 患者鞘内化疗前后患者脑脊液 SOD 活性检查结果 鞘内化疗前患者 SOD 活性为(999.42 \pm 461.),鞘内化疗后患者脑脊液 SOD 活性为(675.34 \pm 326.81),两者比较差异有统计学意义($t = -3.252, P = 0.003$)。

2.5 不同年龄组 SOD 活性比较 不同年龄组(< 45 岁、 ≥ 45 岁)脑脊液 SOD 活性检测结果分别为(755.64 \pm 345.77)、(1 420.493 \pm 307.69),差异有统计学意义($t = -5.275, P = 0.000$)。

3 讨论

随着新的化疗药物的不断开发及化疗方案的完善,急性白血病患者缓解率、生存率得到提高,但由于大多数药物未能通过血脑屏障,使得急性白血病患者的大脑神经系统成为白血病细胞逃避化疗药物的庇护所,有 5%~10% 的患者发生大脑神经系统浸润,导致疾病复发^[3-6]。尸检证实 CNSL 发病率达 88%,而临床上出现神经系统症状与体征却不足 50%^[7],临床诊断远比尸体解剖发现者少,主要原因是由于早期 CNSL 可无临床表现,脑脊液常规检查也可无明显异常。因此,寻找 CNSL 早期诊断方法有着重要的意义。目前对于 CNSL 的诊断方法较为单一,主要是从脑脊液中寻找白血病细胞,这种方法灵敏度较低,治疗上主要是反复鞘内注射化疗药物配合全身化疗,加行全颅脊髓放疗,这样有一定的风险性,患者也感到痛苦。临床上需要我们探索新的具有灵敏度及特异度的诊断指

标,使 CNSL 早期诊断及治疗,从而避免长期鞘内注药及放疗引起的中枢神经系统损伤。有文献报道,脑脊液细胞学、 $\beta 2$ 微球蛋白和铁蛋白对 CNSL 的早期诊断有一定价值^[8]。作者主张多种标记物联合检测以便提高 CNSL 的诊断率。

近年来,氧自由基与肿瘤的关系日益受到人们的重视,机体在正常生理情况下存在着氧自由基的产生与酶的清除系统,他们在体内保持着动态平衡,一旦这种平衡被打破,就可导致疾病的发生,而 SOD 是体内重要的抗氧化酶。Wozniak 等^[9]测定 9 例成胶质细胞瘤患者和 15 例星型脑膜瘤患者红细胞 SOD 活性,结果发现脑肿瘤患者红细胞 SOD 活性较正常对照组高;Li 等^[10]通过对星型细胞瘤患者和 12 例脑膜瘤患者血清含锰 SOD(MnSOD)活性测定发现,星形细胞瘤患者血清 MnSOD 活性低于脑膜瘤及健康对照组,且恶性程度越高对 MnSOD 防御体系破坏越严重,MnSOD 活性下降越明显;而脑膜瘤患者与健康对照组间 MnSOD 活性差异无统计学意义($P > 0.05$),可能是由于颅内良性肿瘤生长缓慢,SOD 与体内自由基代谢处于动态平衡所致。Xu 等^[11]报道了胃非黏液性癌胃区域淋巴结癌转移与自由基代谢状况密切相关,胃壁中抗氧化能力降低,脂质过氧化反应增强,促进了癌组织向胃区域淋巴结转移,这进一步说明了自由基在恶性肿瘤转移发生中起重要的作用。对于白血病与自由基关系的研究已有较多的报道^[12-14],而这方面的报道多限于在血清和红细胞中探讨 SOD 与疾病的关系,在脑脊液中探讨相对少,且目前未见对 CNSL 患者脑脊液自由基水平变化的报道。白血病细胞具有对组织的侵袭性、破坏性,自由基可通过氧化和交联作用破坏 DNA 大分子,使其更易发生断裂,基因组不稳定性增加,多次、反复 DNA 损伤及修复过程可导致筛选出具有更强的增殖性和侵袭性的恶性克隆,这是克隆演进的过程。由于自由基的作用,CNSL 的发生更容易。

本组研究结果显示,CNSL 组患者脑脊液中白细胞数量、蛋白质含量明显较对照组高,而两组脑脊液压力、葡萄糖和氯差异无统计学意义($P > 0.05$)。表明脑脊液中白细胞数量和蛋白含量的改变对中枢神经系统白血病诊断有肯定的意义,葡萄糖和氯对于 CNSL 的诊断可能非特异,本研究中 CNSL 组与对照组患者脑脊液压力差异无统计学意义($P > 0.05$),可能与本组研究观察例数少,存在一定的局限性有关。在脑脊液 SOD 活性方面,本组研究结果显示,CNSL 组患者脑脊液的 SOD 活性明显高于对照组患者,且脑脊液中白细胞数量和蛋白含量分别与 SOD 活性呈正相关关系,而白细胞数量和蛋白含量对 CNSL 的诊断有重要的意义,提示 SOD 活性的改变可能与 CNSL 发病有关。CNSL 是白血病细胞对中枢神经系统的直接浸润,CNSL 可以发生于急性白血病的任何时期,本研究对 27 例 CNSL 患者进行了鞘内化疗,化疗后随着症状缓解,白血病细胞转阴,脑脊液中 SOD 活性下降,化疗前后 SOD 活性比较差异有统计学意义($P < 0.05$),与文献^[15]报道一致。说明 SOD 在 CNSL 的发生和发展中起重要作用,其机制可能是化疗药物作用于白血病细胞,白血病细胞减少或消失,使有活性的 SOD 成分减少所致^[16],提示适度的进行预防治疗会提高患者长期生存的机会^[17]。因此,对于具有发生 CNSL 危险因素的白血病患者应重视预防性鞘内注射治疗以求尽量降低 CNSL 的发生率,延长患者长期生存时间。另外,在本组研究中,“ < 45 岁”年龄组与“ ≥ 45 岁”年龄组脑脊液 SOD 活性比较差异有统计学意义,提示脑脊液 SOD 活性的变化可能与年龄有关。由于在这方面的参考文献较少,有待今后进一步增加样本量继续进行观察。SOD 活性的检测可能作为

新的辅助诊断指标用于 CNSL 的诊断,同时可作为动态观察指标用于 CNSL 患者的治疗过程中监测,对 CNSL 的早期诊断及疗效评估具有重要的价值。

参考文献:

- [1] Sultana H, Kigawa J, Kanamori Y, et al. Excitotoxicity effects of glutamate on human neuroblastoma SH-SY5Y cells via oxidative damage[J]. *Ann Oncol*, 2010, 26(1): 8-16.
 - [2] 张之南, 沈梯. 血液病诊断及疗效标准[M]. 3 版. 北京: 科学出版社, 2007: 130-131.
 - [3] Lange BJ, Bostrom BC, Cherlow JM, et al. Double-delayed intensification improves event free survival for children with inter-mediate-risk acute lymphoblastic leukemia: a report from the Children's Cancer Group[J]. *Blood*, 2002, 99(5): 825.
 - [4] Bostrom BC, Sensel MR, Sather HN, et al. Dexamethasone versus prednisone and daily oral versus weekly intravenous mercaptopurine for patients with standard-risk acute lymphoblastic leukemia: a report from the Children's Cancer Group[J]. *Blood*, 2003, 101(20): 3809.
 - [5] Hutchinson RJ, Gaynon PS, Sather H, et al. Intensification of therapy for children with lower-risk acute lymphoblastic leukemia: long-term follow-up of patients treated on Children's Cancer Group Trial 1881[J]. *J Clin Oncol*, 2003, 21(9): 1790-1797.
 - [6] Pui CH. Central nervous system disease in acute lymphoblastic leukemia: prophylaxis and treatment[J]. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2006: 142-146.
 - [7] Sun ZW, Zhang L, Zhu SJ, et al. Excitotoxicity effects of glutamate on human neuroblastoma SH-SY5Y cells via oxidative damage[J]. *Neurosci Bull*, 2010, 26(1): 8-16.
 - [8] 万里新, 吕晓东, 辛雅萍, 等. 脑脊液中肿瘤坏死因子 α 、 β -2 微球蛋白和铁蛋白对中枢神经系统白血病诊断的意义[J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2007, 10(7): 20-22.
 - [9] Wozniak B, Wozniak A, Kasprzak HA, et al. Lipid peroxidation and activity of some antioxidant enzymes in patients with glioblastoma and astrocytoma[J]. *J Neurooncol*, 2007, 81(1): 21-26.
 - [10] Li F, Wang H, Huang C, et al. Hydrogen peroxide contributes to the Manganese superoxide dismutase promotion of migration and invasion in glioma cells[J]. *Free Radic Res*, 2011, 45(10): 1154-1161.
 - [11] Xu Z, Zhu H, Luk JM, et al. Clinical significance of SOD2 and GSTP1 gene polymorphisms in Chinese patients with gastric Cancer[J]. *Cancer*, 2012, 118(22): 5489-5496.
 - [12] Papiez MA, Dybala M, Sowa-Kucma M, et al. Evaluation of oxidative status and depression-like responses in Brown Norway rats with acute myeloid leukemia[J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2009, 33(4): 596-604.
 - [13] 李秀梅, 何浩明, 滕月新, 等. 白血病患者化疗前后血清 SOD、LPO、GSH-PX 水平及其临床意义[J]. *放射免疫学杂志*, 2002, 15(4): 198-199.
 - [14] 侯素敏, 张伟华, 李殿青. 化疗对急性白血病外周血 NO、SOD、OFR 及 MDA 影响的探讨[J]. *临床医药实践*, 2003, 12(11): 816-819.
 - [15] Saito T. Superoxide dismutase level in human erythrocytes and its clinical application to the patient with cancers and thyroidal dysfunction[J]. *Hokkaido Igaku Zasshi*, 1987, 62(2): 267.
 - [16] 赵克然, 杨毅军, 曹道俊. 氧自由基与临床[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2000: 245.
 - [17] Yu M, Wang J. Progress of endoscopic diagnosis and treatment of upper-tract urothelial tumors[J]. *China Journal of Endoscopy*, 2003, 9(3): 24-27.
- (收稿日期: 2013-10-27 修回日期: 2014-01-17)
-
- (上接第 1084 页)
- [2] Gokdemir Y, Cakir E, Kut A, et al. Bronchoscopic evaluation of unexplained recurrent and persistent pneumonia in children[J]. *J Paediatr Child Health*, 2013, 49(3): e204-207.
 - [3] Sachdev A, Chugh K, Raghunathan V, et al. Diagnosis of bacterial ventilator-associated pneumonia in children: reproducibility of blind bronchial sampling[J]. *Pediatr Crit Care Med*, 2013, 14(1): 1-7.
 - [4] 沈晓明, 王卫平. 儿科学[M]. 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 273-279.
 - [5] Checchia PA, Appel HJ, Kahn S, et al. Myocardial injury in children with respiratory syncytial virus infection[J]. *Pediatr Crit Care Med*, 2000, 1(2): 146-150.
 - [6] 王凤枝. 婴幼儿肺炎患儿心肌酶谱检测临床分析[J]. *现代预防医学*, 2010, 37(13): 2596-2597.
 - [7] Hoving MP, Brand PL. Causes of recurrent pneumonia in children in a general hospital[J]. *J Paediatr Child Health*, 2013, 49(3): 208-212.
 - [8] 许志有, 董战玲. 血清 cTnI 和 CK-MB 在重症肺炎患儿心肌损伤早期诊断中的价值[J]. *现代预防医学*, 2011, 38(24): 5073-5074.
 - [9] Paddock CD, Liu L, Denison AM, et al. Myocardial injury and bacterial pneumonia contribute to the pathogenesis of fatal influenza B virus infection[J]. *J Infect Dis*, 2012, 205(6): 895-905.
 - [10] 李劲松, 张利, 高海英. 血小板参数在小儿肺炎中的变化及临床意义[J]. *中国医药导报*, 2009, 30(24): 14-15.
 - [11] 王程毅, 宋朝敏, 郑启安. 可溶性 P 选择素在儿童重症肺炎弥漫性血管内凝血前状态的诊断价值[J]. *中华儿科杂志*, 2012, 50(12): 948-952.
 - [12] Dodig S, Raos M, Kovac K, et al. Thrombopoietin and interleukin-6 in children with pneumonia-associated thrombocytosis[J]. *Arch Med Res*, 2005, 36(2): 124-128.
 - [13] 叶素芬. C-反应蛋白检测在小儿肺炎中的诊断价值[J]. *中华医院感染学杂志*, 2012, 22(9): 1988-1990.
- (收稿日期: 2013-10-11 修回日期: 2013-12-23)