

血清热休克蛋白 70 与急性一氧化碳中毒后迟发性脑病的相关性研究

王小锋¹, 关红², 黄震³, 刘锋瑞⁴

(1. 商州区人民医院急诊科, 陕西商洛 726000; 2. 西安高新医院急诊科, 西安 710077;
3. 宝鸡市中心医院全科, 陕西宝鸡 721008; 4. 西安医学院第一附属医院急诊科, 西安 710077)

摘要:目的 探讨血清热休克蛋白 70 (HSP70) 水平与急性一氧化碳中毒后迟发性脑病 (DEACMP) 的相关性。方法 选择 2015 年 1 月~2017 年 12 月收治的 187 例急性一氧化碳中毒 (ACMP) 患者为研究对象, 根据是否发生迟发性脑病分为 DEACMP 组和 ACMP 组, 另选 100 例同期健康志愿者作为对照组。采用酶联免疫吸附试验法 (ELISA) 检测各组受试者血清中 HSP70 的水平。采用多因素 Logistic 回归分析法分析 ACMP 患者发生迟发性脑病的影响因素, 绘制 ROC 曲线评价血清 HSP70 对 ACMP 患者发生迟发性脑病的预测价值。结果 三组研究对象在性别、体重指数、高血压、糖尿病、颅内病变、丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (AST)、血尿素氮 (BUN)、肌酐 (Cr)、肌酸激酶 (CK)、肌酸激酶同工酶 MB (CK-MB) 和肌钙蛋白 I (cTnI) 方面差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。相比较于 ACMP 组, DEACMP 组年龄明显较高, DEACMP 组昏迷时间和接触 CO 时间均显著增长, 差异具有统计学意义 ($\chi^2=3.747\sim10.533$, 均 $P < 0.05$)。DEACMP 组和 ACMP 组血清中 HSP70 的水平均显著高于对照组, 差异具有统计学意义 ($\chi^2=3.443$, $P < 0.05$), 且 DEACMP 组血清中 HSP70 的水平显著高于 ACMP 组 ($P < 0.05$)。血清 HSP70 和接触 CO 时间是 ACMP 患者发生迟发性脑病的危险因素。血清 HSP70 预测 ACMP 患者发生迟发性脑病的 cut-off 值为 32.9ng/ml, 其相应的敏感度和特异度分别为 0.827 和 0.709。结论 ACMP 患者中毒早期血清 HSP70 水平显著增高, 有可能成为预测 ACMP 患者发生迟发性脑病的新指标。

关键词: 血清热休克蛋白 70; 急性一氧化碳中毒后迟发性脑病; ROC 曲线分析

中图分类号: R749.63; R446.112 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2020) 06-183-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2020.06.045

Correlation between Serum Levels of Heat Shock Protein 70 and Delayed Encephalopathy after Acute Carbon Monoxide Poisoning

WANG Xiao-feng¹, GUAN Hong², HUANG Zhen³, LIU Feng-rui⁴

(1. Department of Emergency, Shangzhou District People's Hospital, Shaanxi Shangluo 726000, China; 2. Department of Emergency, Xi'an Gaoxin Hospital, Xi'an 710077, China; 3. General Department, Baoji Central Hospital, Shaanxi Baoji 721008, China; 4. Department of Emergency, the First Affiliated Hospital of Xi'an Medical College, Xi'an 710077, China)

Abstract: Objective To investigate the correlation between serum heat-clearing shock protein 70 (HSP70) level and delayed encephalopathy after acute carbon monoxide poisoning (DEACMP). **Methods** A total of 187 patients with acute carbon monoxide poisoning (ACMP) admitted from January 2015 to December 2017 were selected as research objects. According to whether delayed encephalopathy occurred, they were divided into DEACMP group and ACMP group. Another 100 healthy volunteers were selected as control group during the same period. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the serum HSP70 level in each group. Multivariate Logistic regression analysis was used to analyze the influencing factors of delayed encephalopathy in ACMP patients, and ROC curve was developed to evaluate the predictive value of serum HSP70 for delayed encephalopathy in ACMP patients. **Results** There were no statistically significant differences in gender, body mass index, hypertension, diabetes, intracranial lesions, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), blood urea nitrogen (BUN), creatinine (Cr), creatine kinase (CK), creatine kinase isoenzyme MB (CK-MB) and cardiac troponins I (cTnI) among the three groups ($P > 0.05$). Compared with the ACMP group, age of DEACMP group was significantly higher and the coma time and CO exposure time of DEACMP group were significantly longer, with statistically significant differences ($\chi^2=3.747\sim10.533$, all $P < 0.05$). The serum HSP70 level in DEACMP group and ACMP group was significantly higher than

作者简介: 王小锋 (1972-), 男, 本科, 副主任医师, 研究方向: 心肺血管疾病, E-mail: shangwangxf@163.com。

通讯作者: 黄震 (1976-), 男, 本科, 副主任医师, 研究方向: 内科疾病治疗, E-mail: huangzhen0606@126.com。

that in the control group, and the difference was statistically significant, and the serum HSP70 level in DEACMP group was significantly higher than that in ACMP group ($P < 0.05$). Serum HSP70 and CO exposure time were risk factors for delayed encephalopathy in ACMP patients. The cut-off value of serum HSP70 for predicting the occurrence of delayed encephalopathy in ACMP patients was 32.9 ng/ml, and the corresponding sensitivity and specificity were 0.827 and 0.709, respectively. **Conclusion** The serum HSP70 level in ACMP patients at the early poisoning stage increased significantly, which may be a new indicator to predict the onset of delayed encephalopathy in ACMP patients.

Keywords: heat shock protein 70; delayed encephalopathy after acute carbon monoxide poisoning(DEACMP); ROC curve

急性一氧化碳中毒(acute carbon monoxide poisoning, ACMP)的发生是由于含碳物质不完全燃烧产生相应的产物经由呼吸道吸入导致的。急性一氧化碳中毒轻度患者会出现头痛和头晕等临床症状,严重时甚至会导致患者死亡。越来越多的研究发现部分较严重的急性一氧化碳中毒患者在经过为期2~60天的假愈期后会出现迟发性脑病(delayed encephalopathy after acute carbon monoxide poisoning, DEACMP), DEACMP患者会出现锥体外症状和痴呆等^[1-3]。

热休克蛋白(heat shock protein, HSP)依据相对分子质量的不同可分为六个家族,其中HSP70是最为重要的一族,具有细胞保护、抗氧化、分子伴侣等多种功能^[4],但是其在急性一氧化碳中毒后迟发性脑病中的作用尚不明确。

因此,本研究通过考察ACMP患者血清中HSP70水平的变化,旨在探究HSP70与DEACMP的相关性,为临床实践提供合理化参考,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选择商州区人民医院2015年1月~2017年12月收治的187例ACMP患者为研究对象,其中男性84例,女性103例,年龄28~72岁,平均年龄 47.9 ± 9.4 岁。根据是否发生DEACMP,将其分为DEACMP组45例和ACMP组142例。另选同期我院健康体检的100例志愿者作为对照组,其中男性48例,女性52例,年龄29~68岁,平均年龄 49.3 ± 9.6 岁。

采集研究对象的一般资料,包括性别、年龄、体重指数、昏迷和接触CO时间、高血压、糖尿病和颅内疾病情况以及生化指标等。其中生化指标主要有丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、血尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)、肌酸激酶(CK)、肌酸激酶同工酶MB(CK-MB)和肌钙蛋白I(cTnI)等。

纳入标准:①患者年龄在18~80岁;②患者具有完整的临床资料。排除标准:①并发恶性肿瘤、血液和免疫系统疾病及重要脏器功能障碍者;②精神疾病者;③近期出现过敏史且有激素、免疫抑制剂治疗史者;④妊娠者。本研究经我院伦理委员会

批准,所有受试者均签署知情同意书。

诊断标准: ACMP的诊断:严格参照《职业性急性一氧化碳中毒诊断标准及处理原则》上的相关规定(GB8781-88); DEACMP诊断标准:有一氧化碳中毒史,经过“假性治愈期”后突然发病,出现记忆力减退、神情淡漠、反应迟钝、腱反射失常等症状^[5-6]。三组研究对象性别、体重指数、高血压、糖尿病和颅内疾病情况差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 试剂和仪器 ELISA试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司,具体操作步骤严格按照说明书进行。

1.3 方法 血清中HSP70的检测: DEACMP组、ACMP组和对照组均于入院当日清晨空腹抽取外周静脉血,血样保存于肝素抗凝的无菌聚丙烯试管内,3000r/min离心5min取上清液, -20°C 中保存备用。采用酶联免疫吸附(ELISA)法测定HSP70的浓度。

1.4 统计学分析 运用统计学软件SPSS19.0进行数据分析,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,计数资料以 $n(\%)$ 表示。采用方差分析比较三组的均数,采用 t 检验比较两组的均数,采用SNK-q检验比较组间两两之间的差异。

根据血清中HSP70的水平预测ACMP患者发生迟发性脑病的ROC曲线,计算曲线下相应的面积(AUC),采用单因素 Z 检验比较不同指标下的AUC,进而确定预测ACMP患者发生迟发性脑病的cut-off值及对应的敏感度和特异度。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 三组一般资料的比较 见表1。相较于ACMP组, DEACMP组和对照组患者的年龄较高, DEACMP组患者的昏迷时间和接触CO时间均增长,且差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 DEACMP组和ACMP组血清中HSP70的水平比较 见表2。三组生化指标(ALT, AST, BUN, Cr, CK, CK-MB和cTnI)的差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。相较于对照组血清中HSP70的水平, DEACMP组和ACMP组均显著升高,且DEACMP组显著高于ACMP组($P < 0.05$)。

表1 各组一般临床特征比较

临床特征	DEACMP组 (n=45)	ACMP组 (n=142)	对照组 (n=100)	χ^2	P
年龄(岁)	51.5 ± 11.7	46.7 ± 8.9	49.3 ± 9.6	4.985	0.007
昏迷时间(h)	36.5 ± 11.6	30.1 ± 9.4	—	3.747	0.000
接触CO时间(h)	15.3 ± 3.8	9.4 ± 3.1	—	10.533	0.000

表2 各组生化指标和HSP70水平的比较

项目	DEACMP组 (n=45)	ACMP组 (n=142)	对照组 (n=100)	χ^2	P
ALT(U/L)	37.8 ± 9.7	36.5 ± 8.4	34.9 ± 7.2	2.208	0.112
AST(U/L)	40.1 ± 11.9	38.4 ± 10.2	36.9 ± 11.2	1.445	0.238
BUN(mmol/L)	7.2 ± 1.3	7.3 ± 1.0	7.2 ± 1.0	0.319	0.736
Cr(μ mol/L)	82.6 ± 12.1	80.5 ± 11.6	81.5 ± 10.3	0.668	0.515
CK(U/L)	118.8 ± 31.6	121.5 ± 27.7	112.3 ± 33.6	2.701	0.069
CK-MB(U/L)	23.0 ± 4.4	22.5 ± 3.8	22.6 ± 3.7	0.303	0.742
cTnI(μ g/L)	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.0 ± 0.0	1.399	0.249
HSP70(ng/ml)	36.8 ± 6.6	27.7 ± 5.9	12.5 ± 4.6	3.443	0.000

2.3 Logistic多因素回归分析 见表3。以ACMP患者是否发生迟发性脑病为因变量,以年龄、昏迷时间、接触CO时间和血清HSP70为自变量。采用

Logistic多因素回归分析,结果显示血清HSP70和接触CO时间是ACMP患者发生迟发性脑病的危险因素。

表3 Logistic多因素回归分析

变量	B	SE	Wals	OR	95%CI	P
年龄	0.150	0.224	0.449	1.162	(0.846-6.702)	0.367
昏迷时间	0.533	0.461	1.337	1.704	(0.093-8.411)	0.085
接触CO时间	0.816	0.615	1.760	2.261	(1.218-6.160)	0.000
血清HSP70	0.450	0.433	1.079	1.568	(1.046-8.601)	0.003

2.4 ROC曲线 见图1。血清HSP70和接触CO时间是ACMP患者发生迟发性脑病的危险因素。绘制血清HSP70和接触CO时间预测ACMP患者发生迟发性脑病的ROC曲线,AUC分别为0.747(0.656,0.831)和0.783(0.684,0.882),差异无统计学意义($P > 0.05$)。按照约登指数最大原则,血清HSP70预测ACMP患者发生迟发性脑病的cut-off值为32.9ng/ml,其相应的敏感性和特异性分别为0.827和0.709。

发生的指标,因而使其发生风险较高。深入探究DEACMP的发生机制和预测指标是研究的重要趋势,目前研究认为DEACMP的发生可能是由微栓子形成、自身免疫机制异常和自由基过量等导致的^[7-8]。

ACMP是一种典型的应激状态,有研究发现CO中毒后机体HSP表达水平显著增加^[9-11],本研究结果亦显示相较于对照组,DEACMP组和ACMP组血清中HSP70的水平显著升高,再次证实了HSP70参与CO中毒的病理改变过程。本研究结果显示DEACMP组血清中HSP70的水平显著高于ACMP组,提示血清HSP70可能是预测DEACMP发生的有效指标。

本研究中以ACMP患者是否发生迟发性脑病为因变量,以年龄、昏迷时间、接触CO时间和血清HSP70为自变量。采用Logistic多因素回归分析,结果显示血清HSP70和接触CO时间是ACMP患者发生迟发性脑病的危险因素,进一步绘制血清HSP70和接触CO时间预测ACMP患者发生迟发性脑病的ROC曲线,两者AUC无显著性差异($P > 0.05$),按照约登指数最大原则,血清HSP70预测ACMP患者发生迟发性脑病的cut-off值为32.9ng/ml,其相应的敏感度和特异度分别为0.827和0.709,

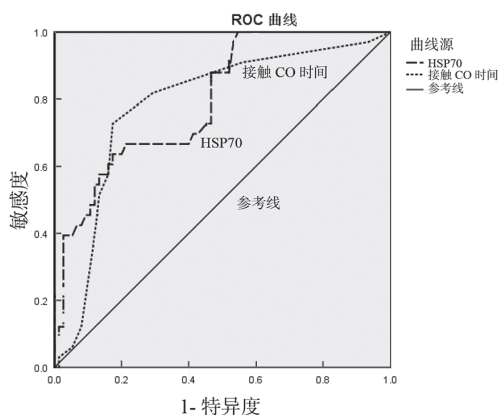


图1 ROC曲线

3 讨论

在临床实践中常因缺少准确预测DEACMP

表明应用血清 HSP70 预测 DEACMP 的敏感度较高,而特异度稍差,可联合其他危险因素以提高预测 DEACMP 的效率。

综上所述,本研究发现血清 HSP70 有可能成为早期预测 DEACMP 发生的有效指标。同时需要指出的是本研究还存在样本量有限和静态监测血清 HSP70 水平等诸多不足,在接下来的工作中将会逐步克服上述不足,更深入探究血清 HSP70 水平与 DEACMP 发生的相关性。

参考文献:

- [1] ZHAO Ningjun, LIANG Pengchong, ZHUO Xiaoying, et al. After treatment with methylene blue is effective against delayed encephalopathy after acute carbon monoxide poisoning [J]. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 2018, 122(5): 470-480.
- [2] YANAGIHA K, ISHII K, TAMAOKA A. Acetylcholinesterase inhibitor treatment alleviated cognitive impairment caused by delayed encephalopathy due to Carbon monoxide poisoning: Two case reports and a review of the literature[J]. *Medicine*, 2017, 96(8): e6125.
- [3] 孔繁托, 张桂兰, 李敬, 等. 神经节苷脂联合纳美芬对一氧化碳中毒迟发性脑病的治疗作用 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2016, 25(11):1400-1405.
KONG Fantuo, ZHANG Guilan, Li Jing, et al. Clinical value of ganglioside combined with nalmefene on delayed encephalopathy after carbon monoxide poisoning[J]. *Chinese Journal of Emergency Medicine*, 2016, 25(11):1400-1405.
- [4] KIM J Y, KIM N, ZHENG Zhen, et al. 70-kDa heat shock protein downregulates dynamin in experimental stroke a new therapeutic target [J]. *Stroke*, 2016, 47(8): 2103-2111.
- [5] ORABY A M, RAOUF E R, EL-SAIED M M, et al. Cognitive function and heat shock protein 70 in children with temporal lobe epilepsy[J]. *Journal of Child Neurology*, 2017, 32(1): 41-45.
- [6] KIM J Y, KIM N, ZHENG Zhen, et al. The 70kD heat shock protein protects against experimental traumatic brain injury[J]. *Neurobiol Dis*, 2013, 58:289-295.
- [7] 汪涛. 急性一氧化碳中毒迟发性脑病的临床分析 [J]. *中国现代药物应用*, 2019, 13(12):19-21.
WANG Tao. Clinical analysis of delayed encephalopathy caused by acute carbon monoxide poisoning[J]. *Chinese Journal of Modern Drug Application*, 2019, 13(12):19-21.
- [8] 唐庆, 李颖, 王永义, 等. 糖皮质激素联合高压氧防治急性一氧化碳中毒迟发性脑病疗效与安全性 Meta 分析 [J]. *第三军医大学学报*, 2016, 38(2):207-214.
TANG Qing, LI Ying, WANG Yongyi, et al. Glucocorticoids and high pressure oxygen in prevention and treatment of delayed encephalopathy after acute carbon monoxide poisoning: a meta-analysis for efficacy and safety[J]. *Journal of third military medical university*, 2016, 38(2):207-214.
- [9] LI Q, SONG J J, ZHANG H Y, et al. Dexamethasone therapy for preventing delayed encephalopathy after Carbon monoxide poisoning[J]. *Biotechnic & Histochemistry*, 2015, 90(8): 561-567.
- [10] 李润琰. 急性一氧化碳中毒迟发性脑病多因素 Logistic 回归分析 [D]. 邯郸: 河北工程大学, 2019.
LI Runyan. Logistic regression analysis of delayed encephalopathy after acute carbon monoxide poisoning[D]. Handan: Hebei University of Engineering, 2019.
- [11] 李平, 李耀峰. 急性一氧化碳中毒患者血清心肌酶谱动态观察及意义 [J]. *现代检验医学杂志*, 2007, 22(6):67-68.
LI Ping, LI Yaofeng. Dynamic observation and significance of serum myocardial enzyme profile in patients with acute carbon monoxide poisoning[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2007, 22(6):67-68.

收稿日期: 2019-08-30 修回日期: 2020-07-15

(上接 166 页)

- [10] KOTZE D, KRUGER T F. HLA-G as a marker for embryo selection in assisted reproductive technology [J]. *Fertility and Sterility*, 2013, 100(6): E44.
- [11] FERREIRA L M R, MEISSNER T B, TILBURGS T, et al. HLA-G: at the interface of Maternal-Fetal tolerance[J]. *Trends in Immunology*, 2017, 38(4): 272-286.
- [12] 章鸯, 周美英, 戴美珍, 等. HLA-G 多态性与习惯性流产的研究进展 [J]. *中国优生与遗传杂志*, 2013, 21(3):7-8, 27.
ZHANG Yang, ZHOU Meiyang, DAI Meizhen, et al. The recent advances of HLA-G polymorphism and recurrent spontaneous abortion[J]. *Chinese Journal of Birth Health & Heredity*, 2013, 21(3):7-8, 27.
- [13] TILBURGS T, EVANS J H, CRESPO A C. The HLA-G cycle provides for both NK tolerance and immunity at the maternal-fetal interface[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(43): 13312-13317.
- [14] FERREIRA L M, MEISSNER T B, MIKKELSEN T S, et al. A distant trophoblast-specific enhancer controls HLA-G expression at the maternal-fetal interface[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, 113(19): 5364-5369.
- [15] DESAI N, FILIPOVITS J, GOLDFARB J. Secretion of soluble HLA-G by day 3 human embryos associated with higher pregnancy and implantation rates: assay of culture media using a new ELISA kit[J]. *Reproductive Bio Medicine Online*, 2006, 13(2): 272-277.
- [16] KEMPER J M, VOLLENHOVEN B J, HEALEY M, et al. IVF outcomes associated with preimplantation genetic screening in blastocyst-stage embryos[J]. *Fertility and Sterility*, 2018, 110(4): e417-e418.
- [17] Practice Committee, American Society for Reproductive Medicine, Montgomery Highway, Birmingham, Alabama. Blastocyst culture and transfer in clinically assisted reproduction: A committee opinion[J]. *Fertility and Sterility*, 2018, 110(7):1246-1252.

收稿日期: 2020-03-20 修回日期: 2020-08-07