

# 血清 8-羟基脱氧鸟苷在川崎病患儿合并冠脉损害中的变化及意义

许海棠 吴蓉洲 荣 星

**摘 要** **目的** 探讨血清 8-羟基脱氧鸟苷(8-Hydroxy-2'-deoxyguanine, 8-OHDG)与川崎病(Kawasaki disease, KD)的相关性,判断其在冠脉损害中的预测价值。**方法** 应用酶联免疫吸附法(ELISA)分别检测 30 例川崎病(KD)患儿急性期(其中冠脉扩张者 10 例,冠脉正常者 20 例)、恢复期及 12 例正常对照组儿童和 12 例发热组儿童血清 8-OHDG 水平,并进行相互比较。将 KD 患儿分为有冠脉损伤(CAL)组与无冠脉损伤(NCAL)组,检测两组血清 8-OHDG 和脑钠肽水平,最后运用 ROC 曲线比较 8-OHDG 和脑钠肽在川崎病冠脉损害中的预测价值。**结果** KD 急性期血清 8-OHDG 水平较恢复期、正常对照组、发热组比较明显升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。KD 急性期合并 CAL 组患儿 8-OHDG 较 NCAL 组明显升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。KD 急性期合并 CAL 组患儿脑钠肽亦较 NCAL 组明显升高,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。ROC 曲线分析显示,血清 8-OHDG 的 AUC 为 0.820,诊断界值为 57.02pg/ml,阳性预测值 64.3%,阴性预测值 93.8%。脑钠肽 AUC 为 0.745,诊断界值为 815pg/ml,敏感度为 100%,特异性为 45%,阳性预测值 47.6%,阴性预测值 100%。**结论** 血清 8-OHDG 对 KD 患儿合并冠脉损害的预测价值大于脑钠肽,可作为早期预测川崎病冠脉损害的标志物。

**关键词** 血清 8-羟基脱氧鸟苷 川崎病 冠脉损害 氧化应激

**中图分类号** R72

**文献标识码** A

**DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.08.034

**Changes and Significance of Serum 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in Kawasaki Disease Children with Coronary Artery Lesions.** Xu Haitang, Wu Rongzhou, Rong Xing. Children's Heart Center, The Second Affiliated Hospital & Yuying Children's Hospital, Institute of Cardiovascular Development and Translational Medicine, Wenzhou Medical University, Zhejiang 325027, China

**Abstract Objective** To investigate the changes of serum 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine(8-OHDG) in Kawasaki disease (KD) children and to explore the importance of 8-OHDG in predicting the severity of coronary artery lesions in Kawasaki Disease. **Methods** The serum 8-OHDG was measured in KD patients group ( $n = 60$ ), fever patients group ( $n = 12$ ) and health control group ( $n = 12$ ) by ELISA method. Among the KD patients, 30 KD patients were in acute stage (10 cases had coronary artery lesions, 20 coronary were normal) and 30 patients were in recovery stage. The serum 8-OHDG and brain natriuretic peptide (BNP) were also compared between patients with coronary artery lesions (CALs) and patients with no coronary artery lesions (NCALs). ROC curve analysis was used to test the 8-OHDG and BNP predictive values in KD with coronary artery lesions. **Results** The serum level of 8-OHDG was higher in acute KD patients than recovery KD patients, fever patients and healthy children ( $P < 0.05$ ). The serum 8-OHDG was higher in CALs patients than the NCALs patients ( $P < 0.05$ ). The serum BNP was higher in CALs patients than the NCALs patients ( $P < 0.01$ ). Analysis of the ROC curve showed that serum 8-OHDG had a positive predictive value of 64.3% and a negative predictive value of 93.8% for distinguishing KD with CALs from KD NCALs when cutoff value was 57.02pg/ml. The area under the curve was 0.820. The serum BNP had a positive predictive value of 47.6% and a negative predictive value of 100% for distinguishing KD with CALs from KD NCALs when cutoff value was 815pg/ml. The area under the curve was 0.745. **Conclusion** The serum 8-OHDG may have better predictive value than BNP in diagnose KD children with coronary artery lesions.

**Key words** 8-Hydroxy deoxyguanosine; Kawasaki disease; Coronary artery lesions; Oxidative stress

川崎病(Kawasaki disease, KD)主要发生在 5 岁以下婴幼儿,以全身血管炎为主要病变,广泛分布于

全球,其中以亚裔患者最为常见。现已经成为小儿后天性心脏病冠脉损害的最常见并发症,它主要累及中小动脉,心血管方面冠脉损害最常见,并且有可能增加成人动脉粥样硬化的风险,因此及早接受诊断和治疗在临床上显得极为重要<sup>[1,2]</sup>。KD 的发病机制至

作者单位:325027 温州医科大学附属第二医院

通讯作者:吴蓉洲,电子信箱:wrz71@hotmail.com

今未明,但已有研究证明内皮细胞损伤和功能障碍参与了川崎病的血管损伤过程<sup>[3]</sup>。而氧化应激是引起血管内皮细胞损伤的重要机制之一,他参与内皮细胞病理变化过程的各个环节,在血管性疾病的病理过程中起着非常重要的作用<sup>[4]</sup>。8-羟基脱氧鸟苷(8-Hydroxy-2'-deoxyguanine, 8-OHdG)是DNA氧化应激损伤的产物之一,KD患儿血清中是否存在8-OHdG的变化?对KD诊断是否有参考价值?目前尚未见相关研究报道。本研究收集了笔者医院收治的30例KD患儿相关资料,对血清中8-OHdG在川崎病中的变化进行分析研究,并且对其可能的意义进行探讨。

### 对象与方法

1. 对象:收集2016年1~8月在温州医科大学第二附属医院儿童心内科住院治疗的30例KD患者的临床资料,所有病例均符合川崎病的诊断标准<sup>[5]</sup>。其中男性18例(60.0%),女性12例(40.0%),患儿发病年龄6个月~5岁,中位年龄2岁5个月。根据超声心动图显示,分为冠脉损伤组10例,冠脉正常组20例。同期住院年龄匹配的发热患儿12例作为发热组(发热时间5~10天),其中上呼吸道感染4例,肺炎3例,急性支气管炎1例,败血症2例,手足口病2例,12例年龄匹配的健康儿童作为空白对照。各组年龄及性别构成差异无统计学意义( $P>0.05$ ),所有血清标本采集家属已签署知情同意。

2. 检测方法:所有患儿均接受阿司匹林和IVIG治疗,并且均在治疗前急性期、治疗后缓解期(3~4周)取血检测8-OHdG、BNP。川崎病患者第2周进行冠状动脉超声检查,超声检查结果显示30例患者冠状动脉正常20例(66.7%);冠状动脉病变10例(33.3%)。入选对象空腹采两管3ml静脉血,2%EDTANa2抗凝,常规分离血清,-70℃冻存待用。血清8-OHdG检测用双抗体夹心ABC-ELISA法(试剂购自上海西唐生物科技有限公司),血清脑钠肽检测用微粒子酶免疫分析法。

3. 统计学方法:全部数据经SPSS 17.0统计软件进行分析,数据以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间采用单因素方差分析 $F$ 检验,CAL与NCAL比较采用独立样本 $t$ 检验,运用ROC曲线分析血清8-OHdG、BNP在川崎病冠脉扩张中的预测价值,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

### 结 果

1.8-OHdG在KD患儿急性期、恢复期、发热

组、正常对照组血清中的变化:KD患儿急性期血清8-OHdG显著高于正常对照组、发热组和恢复期,差异有统计学意义( $P<0.05$ );恢复期血清8-OHdG与正常对照组、发热组升高不明显,差异无统计学意义,详见表1。

表1 各组患儿血清8-羟基脱氧鸟苷的含量( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别      | <i>n</i> | 8-OHdG (pg/ml)  |
|---------|----------|-----------------|
| KD 急性期组 | 30       | 61.25 ± 30.42   |
| KD 恢复期组 | 30       | 33.40 ± 20.07 * |
| 发热组     | 12       | 44.43 ± 23.25 * |
| 正常对照组   | 12       | 24.50 ± 13.79 * |

与KD急性期组比较,\* $P<0.05$

2. KD患儿CAL组与NCAL组血清8-OHdG水平的比较:急性期CAL组8-OHdG水平明显高于NCAL组( $P=0.024$ ),详见表2。

表2 KD合并CAL组与NCAL组患儿血清8-羟基脱氧鸟苷和脑钠肽的含量( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别       | <i>n</i> | 8-OHdG (pg/ml) | BNP (pg/ml)       |
|----------|----------|----------------|-------------------|
| CAL组     | 10       | 75.34 ± 26.08  | 4927.70 ± 5846.92 |
| NCAL组    | 20       | 49.77 ± 28.29  | 1242.80 ± 1377.55 |
| <i>t</i> |          | 2.392          | 2.715             |
| <i>P</i> |          | 0.024          | <0.01             |

3. KD患儿血清8-羟基脱氧鸟苷和脑钠肽ROC曲线比较(图1):8-羟基脱氧鸟苷AUC为0.820,诊断界值为57.02pg/ml,敏感度为90%,特异性为75%,阳性预测值64.3%,阴性预测值93.8%。脑钠

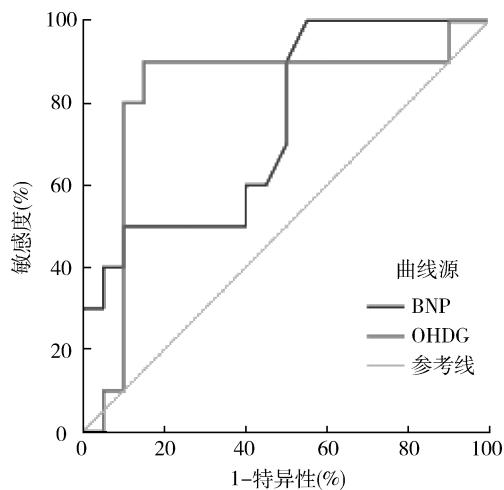


图1 血清8-羟基脱氧鸟苷和脑钠肽ROC曲线

肽 AUC 为 0.745, 诊断界值为 815pg/ml, 敏感度为 100%, 特异性为 45%, 阳性预测值 47.6%, 阴性预测值 100%。说明 8-OHDG 对 KD 冠脉扩张预测价值大于 BNP。

## 讨 论

8-OHDG 是活性氧自由基 (ROS) 引起 DNA 氧化损伤修饰重要产物之一, 人体受外源性物质刺激产生大量 ROS, ROS 直接攻击 DNA 中的鸟嘌呤 (dG), 使脱氧鸟苷氧化为 8-OHDG, 随后 8-OHDG 被机体特异性 DNA 修复酶剪切清除并经肾脏随尿排泄。体液中 8-OHDG 水平不受饮食等因素影响, 不是细胞更新结果, 其含量反映机体氧化损伤程度, 是目前国际上公认的一种新型评价 DNA 氧化损伤和氧化应激状态的敏感指标<sup>[6]</sup>。目前 KD 的病因及发病机制未明, 但有研究已经证实, 细胞因子及炎性介质的参与和内皮细胞功能紊乱是 KD 发病机制的两个关键环节。川崎病急性期, 外周异常活化的单核细胞、B 淋巴细胞、T 淋巴细胞释放超氧自由基等均为炎性介质的活性氧自由基, 这些活性氧自由基直接作用于血管内皮细胞, 使血管屏障作用破坏, 由此可见, 氧化应激可能与川崎病血管内皮损伤有关。Kazunari 等研究川崎病与氧化应激的关系, 利用活性氧代谢产物/抗氧化能力 (d-ROMs/BAP) 比值反应氧化应激状态, 分别检测川崎病急性期组和发热对照组 d-ROMs/BAP 比值, 结果显示两者间差异有统计学意义 ( $P=0.018$ ), 并且川崎病患儿组经 IVIG 治疗后 d-ROMs/BAP 比值明显下降, 证明氧化应激参与川崎病发病机制<sup>[7]</sup>。

Sekine<sup>[8]</sup> 分别检测川崎病患儿急性期和恢复期血清谷胱甘肽过氧化物酶和硫氧还蛋白水平, 结果显示经 IVIG 治疗后, 谷胱甘肽过氧化物酶明显下降。结论提示川崎病全身性的炎性反应引起了氧化应激的变化。Yahata 等<sup>[9]</sup> 发现氧化应激在炎症依赖的川崎病的病理生理过程中发挥重要作用。大量研究表明, 8-OHDG 是目前一种新型评价氧化应激状态的生物学标志物, 其与心血管疾病密切相关。通过检测 8-OHDG 在川崎病患儿血清中的变化, 可以明确氧化应激是否参与川崎病。

本研究显示 KD 急性期与 KD 恢复期、发热组、正常对照组比较血清 8-OHDG 水平升高明显, 差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ), 证明氧化应激参与川崎病发病过程。Hamaoka 等<sup>[10]</sup> 同样发现在川崎病炎性反应过程中, 中性粒细胞和单核-吞噬细胞产生大量活性氧自由基, 并且活性氧自由基通过两种机制影响细

胞功能, 之一是直接作用于细胞, 之二是活性氧自由基作为第二信使, 诱发其他炎性物质的产生, 如肿瘤坏死因子。但 KD 恢复期患儿血清 8-OHDG 水平较发热组及正常组比较差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。这可能与丙球治疗相关, Takatsuki 等<sup>[11]</sup> 已经证实氧化应激引起川崎病的血管炎反应, 这种反应在使用丙球后可以大大减少。

本研究结果显示, CAL 组 8-OHDG 高于 NCAL 组, 差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ), 表明 KD 冠状动脉扩张组氧化应激反应明显, 血管内皮细胞损伤严重。这可能与炎性反应及氧化应激均参与川崎病血管内皮损害有关, 这些活性氧自由基、细胞因子能够促使 B 淋巴细胞分化、增殖为浆细胞, 浆细胞分泌免疫球蛋白水平升高; 同时氧自由基还可直接对血管内皮细胞造成损伤, 破坏血管屏障, 血管内皮细胞受损后变成新的抗原, B 淋巴细胞受新抗原刺激产生一系列自身抗体, 进一步损害血管内皮细胞<sup>[12]</sup>。Breunis 等<sup>[13]</sup> 研究发现, 急性期内皮细胞增生、移行及炎性细胞因子产生增多与川崎病全身性的血管损害有关。Straface 等<sup>[14]</sup> 同样证实了氧化应激在川崎病心血管方面并发症中扮演重要角色。ROC 曲线分析结果显示 AUC 为 0.820, 当血清 8-OHDG 高于 57.02pg/ml, 诊断冠脉扩张的敏感度为 90%, 特异性为 75%, 而脑钠肽 AUC 为 0.745, 当高于 815pg/ml, 诊断冠脉扩张的敏感度为 100%, 而特异性仅为 45%。说明血清 8-OHDG 在早期预测 KD 冠状动脉损伤的价值大于脑钠肽。

综上所述, 本研究探讨了 KD 急性期和恢复期血清 8-OHDG 的变化, 认为 8-OHDG 参与 KD 血管炎的病理生理过程, 且可能与 KD 发生冠脉损伤有关, 为抗氧化剂在冠状动脉病变中的应用提供了广阔的前景, 对川崎病的病情判断及预后评价具有一定的意义。

## 参考文献

- 1 Burns JC, Kushner HI, Bastian JF, *et al.* Kawasaki disease: a brief history[J]. *Pediatrics*, 2000, 106(2):256-261
- 2 Zhang H, Xu MG, Xie LJ, *et al.* Meta-analysis of risk factors associated with atherosclerosis in patients with Kawasaki disease[J]. *World J Pediatr*, 2016, 12(3):308-313
- 3 Breunis WB, Davila S, Shimizu C, *et al.* Disruption of vascular homeostasis in patients with Kawasaki disease: involvement of vascular endothelial growth factor and angiopoietins[J]. *Arthritis Rheum*, 2012, 64(1):306-315
- 4 Hotter G, Closa D, Prats N, *et al.* Free radical enhancement promotes leukocyte recruitment through a PAF and LTB4 dependent mechanism[J]. *Free Radic Biol Med*, 1997, 22(6):947-954

(下转第 156 页)

的独立危险因素。

本研究中乳酸清除率组患者 ICU 住院时间虽然较对照组有缩短,但是检验效能较低,而且研究间存在明显的异质性,可能并没有明显的临床意义。通过敏感度分析,可以发现剔除吕晓春等<sup>[10]</sup>的研究可以明显降低异质性,这可能与其纳入的研究对象平均年龄远大于其他研究有关。

本研究纳入的 5 篇文献均为随机对照试验,方法学质量较高,Meta 分析的结果比较可靠,但是仍存在局限性:①本 Meta 分析属于回顾性研究,容易受到样本选择和纳入研究方法学质量缺陷的影响;②本研究纳入的 5 篇 RCT 研究对象人数相差很大,入选患者病情严重程度、用药种类及剂量各不相同,都可能对结果造成影响;③纳入的 5 项研究均未采用盲法,只有两项对随机分配方案进行隐藏,可能对最终结论造成偏倚;④本研究仅纳入已经发表的文献,未纳入没有发表的文献,可能导致发表偏倚,影响结果的可信性。因此还需要大量高质量的随机对照试验进行验证。

总之,对于严重脓毒症或脓毒性休克的患者应该尽早开始积极有效的液体复苏,在平均动脉压、中心静脉压以及尿量达标的基础之上,进一步以乳酸清除率来指导液体复苏可以改善患者的预后。

### 参考文献

- 1 Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, *et al.* Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012[J]. *Intensive Care Medic*, 2013, 39(2): 165–228
- 2 Cohen J, Vincent JL, Adhikari NKJ, *et al.* Sepsis: a roadmap for future research[J]. *Lancet Infect Dis*, 2015, 15(5): 581–614
- 3 Kaukonen KM, Bailey M, Suzuki S, *et al.* Mortality related to severe sepsis and septic shock among critically ill patients in Australia and New Zealand, 2000–2012[J]. *JAMA*, 2014, 311(13): 1308–1316
- 4 鹿兴, 李彤, 李军, 等. 早期目标导向治疗对严重脓毒症或脓毒性休克患者病死率影响的 Meta 分析[J]. *中华危重病急救医学*, 2015, 9: 735–738
- 5 Rivers E, Nguyen B, Havstad S, *et al.* Early goal-directed therapy

in the treatment of severe sepsis and septic shock. [J]. *New Engl J Med*, 2001, 345(1): 41–42

- 6 Peake SL, Delaney A, Bailey M, *et al.* Goal-directed resuscitation for patients with early septic shock[J]. *New Engl J Med*, 2014, 371(16): 1496–1506
- 7 Yealy DM, Kellum JA, Huang DT, *et al.* A randomized trial of protocol-based care for early septic shock[J]. *New Engl J Med*, 2014, 370(18): 1683–1693
- 8 Mouncey PR, Osborn TM, Power GS, *et al.* Trial of early, goal-directed resuscitation for septic shock[J]. *New Engl J Med*, 2015, 372(14): 1301–1311
- 9 Bakker J, Nijsten MWN, Jansen TC. Clinical use of lactate monitoring in critically ill patients[J]. *Ann Intensive Care*, 2013, 3(1): 12
- 10 Jones AE, Shapiro NI, Trzeciak S, *et al.* Lactate clearance vs central venous oxygen saturation as goals of early sepsis therapy: a randomized clinical trial[J]. *JAMA*, 2010, 303(8): 739–746
- 11 Jansen TC, van Bommel J, Schoonderbeek F J, *et al.* Early lactate-guided therapy in intensive care unit patients: a multicenter, open-label, randomized controlled trial[J]. *Am J Respirat Cri Care Med*, 2010, 182(6): 752–761
- 12 田焕焕, 韩沙沙, 吕长俊, 等. 早期目标乳酸清除率对肺部感染致脓毒性休克治疗的作用[J]. *中国危重病急救医学*, 2012, 24(1): 42–45
- 13 于斌, 田慧艳, 郝振杰, 等. 乳酸清除率和中心静脉血氧饱和度指导严重感染患者液体复苏效果的比较[J]. *中华危重病急救医学*, 2013, 25(10): 578–583
- 14 吕晓春, 许强宏, 蔡国龙, 等. ScVO<sub>2</sub> 联合乳酸清除率指导脓毒症休克患者的容量复苏[J]. *中华医学杂志*, 2015, 95(7): 70–73
- 15 Iwashyna TJ, Cooke CR, Wunsch H, *et al.* Population burden of long-term survivorship after severe sepsis in older americans[J]. *J Am Geriatr Soc*, 2012, 60(6): 1070–1077
- 16 蔡国龙, 童洪杰, 郝雪景, 等. 早期目标导向治疗对严重脓毒症/脓毒性休克患者病死率的影响: 系统文献回顾与 Meta 分析[J]. *中华危重病急救医学*, 2015, 6: 439–442
- 17 Kelm DJ, Perrin JT, Cartinceba R, *et al.* Fluid overload in patients with severe sepsis and septic shock treated with early goal-directed therapy is associated with increased acute need for fluid-related medical interventions and hospital death[J]. *Shock*, 2015, 43(1): 391–399
- 18 Arnold RC, Shapiro NI, Jones AE, *et al.* Multicenter study of early lactate clearance as a determinant of survival in patients with presumed sepsis[J]. *Shock*, 2009, 32(1): 35–39

(收稿日期: 2016–12–05)

(修回日期: 2016–12–23)

(上接第 141 页)

- 5 胡亚美, 江载芳. 诸福棠实用儿科学[M]. 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 698–705
- 6 汪莉君, 邵华. 8-羟基脱氧鸟苷检测方法研究进展[J]. *中国卫生检验杂志*, 2007, 17(10): 1915–1916
- 7 Kazunari K, Masaya T, Ken Y, *et al.* Intravenous immunoglobulin counteracts oxidative stress in kawasaki disease[J]. *Pediatr Cardiol*, 2012, 18(4): 354–359
- 8 Sekine K. Regulation of oxidative stress in patients with Kawasaki disease[J]. *Inflammation*. 2012, 35(3): 952–928
- 9 Yahata T, Hamaoka K. Oxidative stress in Kawasaki disease[M]. *Studies on Pediatric Disorders*, 2014: 271–282
- 10 Hamaoka K, Yahata T. Oxidative stress in Kawasaki disease vasculitis[J]. *Int J Pediatr Neonat Care*, 2015, 1(103): 103–110

- 11 Takatsuki S, Ito Y. IVIG reduced vascular oxidative stress in patients with Kawasaki disease[J]. *Circulat J*, 2009, 73(7): 1315–1318
- 12 郭红梅, 韩彦彦. 川崎病病因及其发病机制研究进展[J]. *医学综述*, 2015, 21(23): 4260–4263
- 13 Breunis WB, Davila S, Shimizu C, *et al.* Disruption of vascular homeostasis in patients with Kawasaki disease: involvement of vascular endothelial growth factor and angiopoietins[J]. *Arthritis Rheum*, 2012, 64(1): 306–315
- 14 Straface E, Marchesi A, Gambardella L, *et al.* Does oxidative stress play a critical role in cardiovascular complications of Kawasaki disease? [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2012, 17(10): 1441–1446

(收稿日期: 2016–12–13)

(修回日期: 2016–12–22)