

• 论 著 •

建立血清叶酸及代谢物和甲氨蝶呤血药浓度同时检测的方法*

陈兆鑫, 宋文琪[△]

国家儿童医学中心/首都医科大学附属北京儿童医院检验中心, 北京 100045

摘要:目的 基于超高效液相色谱串联质谱(UPLC-MS/MS)技术,建立同时检测血清叶酸及代谢物 5-甲基四氢叶酸、甲酰四氢叶酸和甲氨蝶呤浓度的分析方法。方法 通过固相萃取将样品中目标分析物浓缩富集,经 Acquity UPLC HSS T3 色谱柱(2.1 mm×100 mm,1.8 μm)分离,以 0.1% 甲酸水和乙腈为流动相进行梯度洗脱,使用超高效液相色谱-串联四极杆质谱联用仪(UPLC I-Class Xevo TQ-S micro IVD)建立检测方法,并依据 CLSI C62-A 等文件对该方法的定量限、线性范围、精密度、准确度、稀释效应、携带污染以及特异度和干扰试验等进行性能评价。结果 该方法中叶酸检测定量限为 1 ng/mL,5-甲基四氢叶酸、甲酰四氢叶酸和甲氨蝶呤定量限为 5 ng/mL。叶酸在 1~2 00 ng/mL 质量浓度范围内线性关系良好($R^2>0.99$),5-甲基四氢叶酸、甲酰四氢叶酸和甲氨蝶呤线性范围为 5~2 000 ng/mL($R^2>0.99$)。4 种目标分析物日内精密密度为 1.7%~13.9%,日间精密密度为 2.7%~14.6%,样品加标回收率为 93.6%~108.9%,精密度和准确度良好。稀释效应、携带污染以及特异度等其他考察结果均符合评价要求。结论 建立了一种准确高效的 UPLC-MS/MS 方法,一针进样可以同时完成血清中叶酸及代谢物和甲氨蝶呤血药浓度的检测。该方法不仅帮助临床实现了对甲氨蝶呤血药浓度和解救药物甲酰四氢叶酸钙浓度的同步监测,还可动态观察治疗过程中患者体内总叶酸和活性叶酸的水平变化,为制订合理的甲酰四氢叶酸钙解救方案,进一步提升甲氨蝶呤治疗的安全性和有效性奠定了基础。

关键词:液相色谱串联质谱法; 叶酸; 甲氨蝶呤

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2024.22.001

中图法分类号:R446.11

文章编号:1673-4130(2024)22-2689-06

文献标志码:A

Establishment of a method for simultaneous detection of serum folate and metabolites, as well as methotrexate blood concentration*

CHEN Zhaoxin, SONG Wenqi[△]

Department of Clinical Laboratory Center, Beijing Children's Hospital, Capital Medical University/National Center for Children's Health, Beijing 100045, China

Abstract: Objective To establish an analytical method based on ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) technology for simultaneous detection of serum folate and its metabolites 5-methyltetrahydrofolate, formyl tetrahydrofolate, and methotrexate concentration. **Methods** Target analytes in samples were concentrated and enriched using solid-phase extraction, separated by an Acquity UPLC HSS T3 chromatographic column (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm), and eluted with a gradient using 0.1% formic acid water and acetonitrile as the mobile phase. The method was established using an ultra-high performance liquid chromatography-tandem quadrupole mass spectrometer (UPLC I-Class Xevo TQ-S micro IVD) and according to CLSI C62-A and other documents, the performance of this method in terms of quantification limit, linear range, precision, accuracy, dilution effect, carrying contamination, specificity, interference testing and so on was evaluated. **Results** The quantitation limit for folate was 1 ng/mL, and the quantitation limits for 5-methyltetrahydrofolate, formyltetrahydrofolate, and methotrexate were 5 ng/mL. Folate had a good linear relationship in the concentration range of 1–200 ng/mL ($R^2>0.99$), and 5-methyltetrahydrofolate, formyltetrahydrofolate, and methotrexate had linear ranges of 5–2 000 ng/mL ($R^2>0.99$). The intra-day precision ranged from 1.7% to 13.9%, and the inter-day precision ranged from 2.7% to 14.6%. The spiked sample recovery rates ranged from 93.6% to 108.9%, showing good precision and accuracy. Other examination results, such as dilution effect, carryover, and specificity, met evaluation requirements. **Conclusion** This study estab-

* 基金项目:北京市医管中心“扬帆”计划(XMLX201810)。

作者简介:陈兆鑫,女,医师,主要从事质谱技术的临床应用及研究。 [△] 通信作者, E-mail: songwenqi1218@163.com。

lished an accurate and efficient UPLC-MS/MS method that allows for the simultaneous detection of serum folate and its metabolites and methotrexate blood concentrations. This method not only aids clinicians in simultaneously monitoring methotrexate blood concentration and calcium formyl tetrahydrofolate concentration, but also enables dynamic observation of changes in total folate and active folate levels in patients during the treatment process. It lays the foundation for developing a reasonable rescue plan for calcium folinate and further improving the safety and effectiveness of methotrexate treatment.

Key words: liquid chromatography-tandem mass spectrometry; folate; methotrexate

叶酸(FA)是参与人体嘌呤核苷酸和嘧啶核苷酸合成转化的 B 族维生素,5-甲基四氢叶酸(5-MTHF)和 5-甲酰四氢叶酸(5-FTHF)是两种重要的叶酸代谢产物^[1]。甲氨蝶呤(MTX)与叶酸结构类似,是干扰叶酸代谢的抗肿瘤药物。大剂量 MTX 发挥抗肿瘤疗效的同时对快速增殖的正常细胞同样存在抑制效应,可出现骨髓抑制、胃肠道不良反应和肝肾功能损害等毒副反应^[2]。甲酰四氢叶酸钙(CF)作为 FA 还原型衍生物,在体内可以直接转变为 5-MTHF 发挥作用,缓解 MTX 的毒副反应^[3-4]。然而,有研究认为使用 CF 不仅无长期获益,且可能干扰 MTX 疗效^[5]。现阶段临床通过监测患者体内 MTX 血药浓度,间接且经验性判断 CF 的解救剂量和使用次数,缺乏直接指导 CF 解救的客观实验室依据。

基于临床工作实际的监测需求和 FA 检测的方法学现状,本研究在采用固相萃取样品前处理技术的基础上,借助超高效液相色谱串联质谱(UPLC-MS/MS)的技术优势^[6],建立血清 FA 及代谢物 5-MTHF、CF 和 MTX 血药浓度同时检测的方法,不仅可以帮助临床获得患者体内总 FA 和 FA 活性物质的浓度水平,还能监测血清中 MTX 血药浓度和解救药物 CF 的浓度情况,对制订合理的 CF 解救方案,提升 MTX 安全用药具有重要的临床意义。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器 常规试剂:纯水、甲醇、乙腈、甲酸均购自 Merck 公司,氨水购自国药集团,抗坏血酸、柠檬酸、2-巯基乙醇均购自 Sigma 公司。标准品:FA 购自 Sigma 公司、5-FTHF 购自百灵威公司,CF 购自 Sigma 公司,MTX 购自 TRC 公司。内标品:叶酸-d4 (FA-d4)、L-5-甲基四氢叶酸-d4 (5-MTHF-d4)、甲氨蝶呤-d3 (MTX-d3)均购自 Sigma 公司。耗材:96 孔样品板盖垫、96 孔样品收集板(800 μL)、Oasis MAX μElution 提取板(2 mg/96-well)均购自 Waters 公司。主要仪器设备:超高效液相色谱-串联四极杆质谱联用仪(UPLC I-Class Xevo TQ-S micro IVD)购自 Waters 公司,Acquity UPLC HSS T3 色谱柱(2.1 mm×100 mm,1.8 μm)购自 Waters 公司,Waters Oasis 96 孔正压提取装置购自 Waters 公司,高速冷冻离心机(Heraeus Fresco 21)购自赛默飞公司。

1.2 溶液配制

1.2.1 常规溶液 溶剂 A:纯水(抗坏血酸、柠檬酸、

2-巯基乙醇均为 100 μg/mL)+0.1%氨水。溶剂 B:甲醇(2%甲酸、抗坏血酸、柠檬酸、2-巯基乙醇均为 100 μg/mL)。

1.2.2 标准品及制备标准曲线的样品 标准品:将 FA、5-MTHF、CF 和 MTX 分别用溶剂 A 配制混合标准品溶液,质量浓度均为 100 μg/mL。制备标准曲线的样品:用溶剂 A 逐级稀释标准品溶液,FA 质量浓度为 1、2、5、10、20、50、100 和 200 ng/mL;5-MTHF、CF 和 MTX 质量浓度均为 5、10、20、50、100、500、1 000 和 2 000 ng/mL。

1.2.3 内标品 由于 CF 没有对应的同位素内标,故本实验使用 FA-d4 作为其内标。将 5-MTHF-d4、FA-d4 和 MTX-d3 分别用溶剂 A 配制内标品混合物溶液,质量浓度均为 10 μg/mL。

1.2.4 质控品 混合 10 份健康者血清样品(未使用 MTX 和 CF),加入不同浓度的标准品溶液(FA 加标浓度为 5、20 和 100 ng/mL,5-MTHF、CF 和 MTX 加标浓度为 50、200 和 1 000 ng/mL),分别配制成低、中、高水平质控品溶液。使用时先检测混合血清中各目标分析物的浓度,质控品终浓度包含血清内原目标物浓度,质控品溶液置于一80℃冰箱保存。

1.3 样品前处理 本方法采用固相萃取(SPE)技术进行样品前处理,操作如下。样品前处理:分别取标准品和待测样品 100 μL,加入 20 μL 内标品(以溶剂 A 稀释 50 倍至 200 ng/mL)和 300 μL 溶剂 A,旋涡振荡 2 min。SPE 萃取为向 Oasis MAX μElution 提取板(2 mg/96-well)加入 200 μL 甲醇、200 μL 溶剂 A 以及 450 μL 预处理后的样品,再依次加入 200 μL 溶剂 A 和 40 μL 溶剂 B,氮吹 5 min,加入 80 μL 溶剂 A 复溶,旋涡振荡 2 min 后进样检测。

1.4 色谱和质谱分析条件

1.4.1 色谱条件 Waters ACQUITY UPLC I-Class HSS T3 色谱柱(2.1 mm×100 mm,1.8 μm);流动相为水+0.1%甲酸(A)—纯乙腈(B),梯度洗脱参数如表 1 所示。柱温 40℃,进样量 10 μL,流速 0.4 mL/min。

1.4.2 质谱条件 采用正离子电喷雾离子化的多重反应监测模式。毛细管电压 1 kV,锥孔电压 50 V,锥孔气流速 50 L/h,脱溶剂温度 500℃,脱溶剂流速 1 000 L/h。

1.5 方法性能评价 参照美国临床实验室标准协会

(CLSI)发布的《质谱分析方法开发和验证的标准规程》CLSI C62-A 文件^[7]和中国医师协会检验医师分会临床质谱检验医学专业委员会发表的《液相色谱串联质谱临床检测方法的开发与验证》^[8-9]等文件,对本方法的定量限、线性范围、精密度、准确度、稀释效应、携带污染以及特异度和干扰试验进行性能评价,考察方法的临床适用性。

表 1 梯度洗脱参数

时间(min)	流动相 A(%)	流动相 B(%)
0.0	92	8
0.5	92	8
2.5	75	25
2.6	5	95
3.0	5	95
4.0	92	8

1.5.1 定量限 将 FA、5-MTHF、CF、MTX 的标准品溶液逐级稀释后进样检测,根据目标分析物的标准曲线,满足平均信噪比(RSN)大于 10 时对应的标准品溶液中目标分析物浓度可定义为本方法检测的定量限。

1.5.2 线性范围 将 FA、5-MTHF、CF、MTX 的标准品溶液逐级稀释,FA 浓度梯度为 1、2、5、10、20、50、100 和 200 ng/mL,5-MTHF、CF、MTX 浓度梯度为 5、10、20、50、100、500、1 000 和 2 000 ng/mL,经前处理后分别进样检测,要求目标分析物浓度和响应值之间呈线性关系,线性相关系数为 $R^2>0.99$ 。

1.5.3 精密度 混合 10 份健康者血清样品,加入不同浓度的标准品(FA 加标浓度为 5、20 和 100 ng/mL;5-MTHF、CF 和 MTX 加标浓度为 50、200 和 1 000 ng/mL),分别配制成低、中和高浓度血清样品。每个浓度分别设置 5 个平行样品,并连续 3 d 对样品进行测定,计算日内精密度和日间精密度,精密度 RSD 应小于 15%。

1.5.4 准确度 混合 10 份健康者血清样品,加入不同浓度的标准品溶液(FA 加标浓度为 5、20 和 100 ng/mL,5-MTHF、CF 和 MTX 加标浓度为 50、200 和 1 000 ng/mL),分别配制成低、中和高浓度血清样品。每个浓度分别设置 5 个平行样品,检测后计算加标回收率,加标回收率要求在 100%±15%范围内。

1.5.5 稀释效应 取 10 份人血清样品,用磷酸缓冲液(PBS)分别稀释 2.5 倍和 5 倍,对原倍、稀释 2.5 倍和 5 倍的血清样品进行检测。稀释后的样品定量结果乘以稀释倍数得到的浓度与原倍样品直接进样检测的浓度相比较,计算相对标准偏差 $RSD<15\%$ 即验证通过。

1.5.6 携带污染 连续测定 3 次高水平质控品,测定值分别为 H1、H2、H3,再连续测定 3 次低水平质控

品,测定值分别为 L1、L2、L3,根据公式计算携带污染率(携带污染率=(L1-L3)/(H3-L3)×100%),携带污染率需小于 1%。

1.5.7 特异度和干扰试验 使用低水平血清质控品和配制的标准品溶液分别经前处理后进样测定,考察该方法的特异性和抗干扰能力。

2 结果

2.1 方法学建立 采用正离子电喷雾离子化的多重反应监测模式。毛细管电压 1 kV,锥孔电压 50 V,锥孔气流速 50 L/h,脱溶剂温度 500 ℃,脱溶剂流速 1 000 L/h。对 FA、5-MTHF、CF 和 MTX 4 种目标分析物的锥孔电压(Cone)和碰撞电压(CE)进行优化,4 种目标分析物正离子模式下 MRM 检测参数见表 2。

表 2 正离子模式下 MRM 检测参数

目标分析物	母离子	子离子	锥孔电压(V)	碰撞电压(V)	保留时间(min)
FA	442.2	295.1	24	14	2.1
FA-d4	446.2	299.1	24	12	2.1
5-MTHF	460.2	313.2	28	18	1.3
5-MTHF-d4	464.2	317.2	28	16	1.3
CF	474.1	299.2	30	32	1.9
MTX	455.2	308.1	26	10	2.3
MTX-d3	458.2	311.1	26	16	2.3

2.2 方法学评价

2.2.1 定量限 本方法中 FA 定量限为 1 ng/mL,信噪比为 16;5-MTHF 定量限为 5 ng/mL,信噪比为 179;CF 定量限为 5 ng/mL,信噪比 15;MTX 定量限为 5 ng/mL,信噪比为 149;均满足临床检测需求。

2.2.2 线性范围 FA、5-MTHF、CF、MTX 4 种目标分析物的浓度和响应值之间均表现出良好线性关系,线性相关系数 $R^2>0.99$,满足验证标准,线性范围均覆盖临床检测需求,4 种目标分析物线性范围结果见表 3,线性回归结果见图 1。

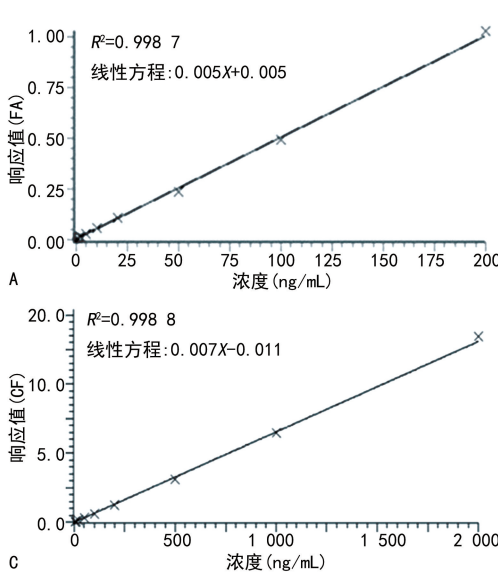
表 3 4 种目标分析物线性范围结果

目标分析物	线性方程	相关系数	线性范围
FA	$Y=0.005X+0.005$	0.998 7	1~200 ng/mL
5-MTHF	$Y=0.031X-0.018$	0.999 8	5~2 000 ng/mL
CF	$Y=0.007X-0.011$	0.998 8	5~2 000 ng/mL
MTX	$Y=0.007X+0.006$	0.999 4	5~2 000 ng/mL

2.2.3 精密度 4 种目标分析物血清样品(低、中和高浓度)精密度考察结果为:日内精密度 1.7%~13.9%,日间精密度 2.7%~14.6%,均小于 15.0%,满足精密度考察要求,具体精密度实验结果见表 4。

2.2.4 准确度 实验结果显示 FA、5-MTHF、CF、

MTX 血清样品的加标回收率(低、中和高浓度)为 93.6%~108.9%,均符合回收率要求,准确度良好。



注:A 为 FA;B 为 5-MTHF;C 为 CF;D 为 MTX。

图 1 目标分析物线性范围拟合结果

表 4 不同水平下 4 种目标分析物精密度和加标回收率结果 (%)			
目标分析物	日内精密度 RSD	日间精密度 RSD	加标回收率
FA	3.0~13.9	3.7~14.6	94.4~101.8
5-MTHF	1.7~2.3	3.8~5.6	99.4~103.0
CF	2.1~5.5	3.2~6.2	93.6~103.3
MTX	2.5~5.2	2.7~5.8	107.4~108.9

2.2.5 稀释效应 将稀释后的血清样品定量结果乘以稀释倍数得到的浓度与原倍样品直接进样检测的浓度相比较,可得 RSD 为 0.9%~12.9%,其中 FA 的 RSD 是 2.1%~8.1%,5-MTHF 是 2.6%~8.7%,CF 是 0.9%~12.9%,MTX 是 2.3%~12.7%,验证结果满足稀释效应的评价要求。

2.2.6 携带污染 根据公式计算携带污染率,结果显示 FA 携带污染率为 0.18%,5-MTHF 携带污染率为 0.32%,CF 携带污染率为 0.02%,MTX 携带污染率为 0.03%,携带污染率均小于 1.00%,表明该方法携带污染率低,满足考察要求。

2.2.7 特异度和干扰试验 由于 FA、5-MTHF、CF 和 MTX 几种物质结构相似,免疫学方法检测难以区分 5-MTHF 和 CF,且人体血清中存在白蛋白、胆固醇、三酰甘油、胆红素等内源性物质,对目标分析物的定量分析可能造成潜在干扰。分别测定血清基质样品和溶液基质样品,实验结果表明即使在血清基质的样品里,5-MTHF、CF、FA 和 MTX 均可以通过液相色谱完全分离,保留时间分别为 1.28、1.94、2.05、2.28 min,相互之间没有影响,特异性良好,血清基质样品中 4 种分析物分离结果见图 2。

4 种目标分析物加标回收率实验结果见表 4。

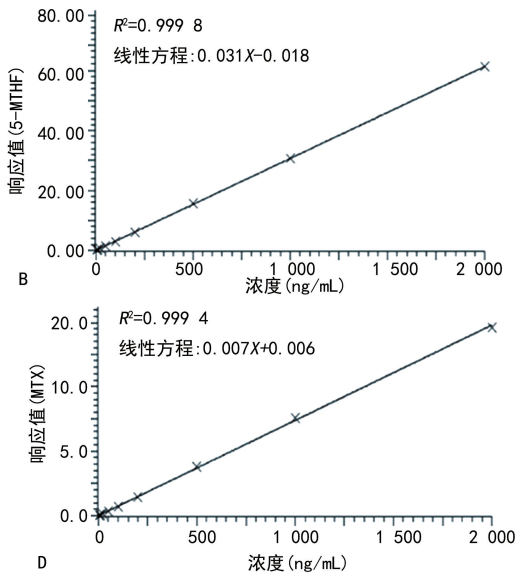


图 2 血清基质样品中分析物分离色谱图

3 讨论

FA 即维生素 B₉,在细胞增殖、分化和修复等多种生物功能中发挥重要作用,FA 缺乏会影响核酸甲基化过程^[10]。5-MTHF 占血清 FA 含量的 90%,属于 FA 活性形式,在体内直接发挥生理学效应^[11]。5-FTHF 是 FA 代谢过程里不稳定的中间产物,体内含量较低,临床应用时常选择其钙盐即 CF 作为大剂量 MTX 的解救药物,与 MTX 联合使用。大剂量 MTX 治疗期间,监测 MTX 血药浓度,同时获取血清 FA 及代谢物在体内的浓度变化,有助于最大程度地发挥 MTX 治疗效果,改善 MTX 毒性作用。以儿童群体中恶性肿瘤占比较高的急性淋巴细胞性白血病为例,

大剂量 MTX 治疗联合 CF 解救已成为患儿化疗时期缓解巩固阶段的标准用药方案^[12]。然而,对于临床重视的 CF 解救剂量和使用次数的问题尚无确切定论。目前 CF 的解救剂量是参考 MTX 血药浓度经验性判断而来,多数患儿在解救 1~5 次后 MTX 血药浓度降至安全范围,少数患儿则需经历 30 余次解救,MTX 血药浓度才能降至可接受范围,更有部分患儿经多次解救后仍出现药物不良反应。MTX 的治疗效果、不良反应以及 CF 的解救效果是一个复杂的动态平衡,尚需要更加客观直接的指标反映三者间的变化规律。因此,本研究所建立的可同时检测血清总 FA 和 FA 活性物质水平以及 MTX 血药浓度、解救药物 CF 浓度的分析方法具有重要的临床应用价值。

FA 的传统检测方法主要包括微生物检测法和化学发光免疫分析法等,不但无法测定出结构相似的 FA 代谢物以及甲氨蝶呤的浓度,上述物质还可与 FA 发生交叉反应^[13],影响 FA 检测的准确性。UPLC-MS/MS 将超高效液相色谱与质谱分析技术相结合,不仅拓宽了生物大分子的检测范围,还可以呈现各组份的相对分子质量和结构信息,使用稳定同位素标记的内标可以补偿前处理和检测过程中的损失,检测特异度高,精密度良好^[14]。已有多项研究建立了 FA 及代谢物测定的 LC-MS/MS 相关方法。李慧敏等^[15]建立了 LC-MS/MS 同时测定血清 8 种 FA 循环代谢物的方法,可以满足人体 FA 循环代谢物的常规测定需求。MTX 血药浓度的常用检测方法有免疫学方法和高效液相色谱法,LC-MS/MS 是前两个方法的重要补充^[16],KIM 等^[17]建立了用于分析患者血清中 MTX 及其聚谷氨酸的 LC-MS/MS 方法。

综上所述,目前有关血清 FA 和 MTX 的检测均围绕着自身代谢过程的中间产物进行联合检测,暂无法将 FA 和 MTX 相互联系并进行同时检测的方法。

本研究借助 UPLC-MS/MS 技术的检测优势,创新性地开发并验证了同时检测血清 FA、5-MTHF、CF 和 MTX 浓度的方法。实验优化了样品前处理过程,通过固相萃取对血清样品中浓度较低的 5-MTHF 和 CF 进行浓缩富集,以便进一步分离和检测。FA 及代谢产物稳定性较差,FA 代谢物之间容易发生相互转换,影响准确定量,因此实验添加了抗坏血酸、柠檬酸和 2-巯基乙醇作为 FA 代谢物的保护剂,增强 FA 代谢物的稳定性。经方法学验证,本方法中 FA 检测定量限为 1 ng/mL,5-MTHF、CF 和 MTX 定量限为 5 ng/mL。FA 在 1~200 ng/mL 质量浓度范围内线性关系良好($R^2 > 0.99$),5-MTHF、CF 和 MTX 线性范围 5~2 000 ng/mL($R^2 > 0.99$)。4 种目标分析物日内精密度为 1.7%~13.9%,日间精密度为 2.7%~14.6%,样品加标回收率为 93.6%~108.9%,精密度和准确度良好。由于临床使用大剂量 MTX 治疗以及外源性补充 CF 后,血清 MTX 和 CF 水平往往出现显

著升高,故对本方法的稀释效应进行考察,结果显示目标分析物 RSD 为 0.9%~12.9%,满足临床实际应用。此外对携带污染以及特异度等考察结果均符合评价要求。该方法实现了血清 FA 及代谢物 5-MTHF、CF 和 MTX 浓度的同时检测,即一针进样可高通量检测血清总 FA、发挥生理学效应的 5-MTHF、治疗药物 MTX 血药浓度以及解救药物 CF 的浓度,通过监测和分析上述物质的血清浓度变化情况,可以指导临床制定合理的 CF 解救方案,从而避免盲目的经验性使用解救药物,推动实现 MTX 个体化精准用药,同时也帮助临床评估 MTX 对不同机体的 FA 代谢途径产生的不同影响,进一步判断是否需要为患者补充 FA 以帮助细胞更好地完成新陈代谢,进而提升患者治疗效果,改善预后。

本研究建立了一针进样同时检测血清 FA 及代谢物 5-MTHF、CF 和 MTX 浓度的 UPLC-MS/MS 分析方法,为临床同步监测血清总 FA 和 FA 活性物质水平,以及治疗药物 MTX 血药浓度和解救药物 CF 浓度提供了技术支持,有助于临床合理制订并精准调整 CF 解救方案,为进一步提升 MTX 治疗的安全性和有效性奠定基础。

参考文献

- [1] VERSTRAETE J, KIEKENS F, STROBBE S, et al. Clinical determination of folates: recent analytical strategies and challenges[J]. Anal Bioanal Chem, 2019, 411(19): 4383-4399.
- [2] 中国临床肿瘤学会, 中国临床肿瘤学会抗白血病联盟, 中国临床肿瘤学会抗淋巴瘤联盟. 大剂量甲氨蝶呤亚叶酸钙解救疗法治疗恶性肿瘤专家共识[J]. 中国肿瘤临床, 2019, 46(15): 761-767.
- [3] SONG Z, HU Y, LIU S, et al. Medication therapy of high-dose methotrexate: an evidence-based practice guideline of the division of therapeutic drug monitoring, Chinese pharmacological society[J]. Br J Clin Pharmacol, 2022, 88(5): 2456-2472.
- [4] CAPRIA S, MOLICA M, MOHAMED S, et al. A review of current induction strategies and emerging prognostic factors in the management of children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia[J]. Expert Rev Hematol, 2020, 13(7): 755-769.
- [5] PANNU A K. Methotrexate overdose in clinical practice[J]. Curr Drug Metab, 2019, 20(9): 714-719.
- [6] DUARTEAC, SANTOS-FARIAD, GONÇALVES M J, et al. Portuguese recommendations for the use of methotrexate in rheumatic diseases-2016 update[J]. Acta Reumatol Port, 2017, 42(2): 127-140.
- [7] Clinical and Laboratory Standards Institute. Liquid chromatography-mass spectrometry methods[S]. C62-A. Wayne, PA, USA: CLSI, 2014. (下转第 2698 页)

• 论 著 •

头面部带状疱疹血清抗氧化标志物的临床意义*

周倩扬¹, 马欣欣¹, 郑兴平², 徐丽贤¹, 张瑞丽^{1△}1. 南京医科大学第二附属医院皮肤科, 江苏南京 210011; 2. 山东医学高等专科学校
学校医学基础部, 山东济南 250002

摘要:目的 探讨血清中抗氧化标志物在头面部带状疱疹中的表达变化及其与临床严重程度和后遗症神经痛(PHN)发生之间的关系。方法 选取 2022 年 1 月至 2023 年 12 月在南京医科大学第二附属医院皮肤科住院的 109 例头面部带状疱疹(头面部组)及 169 例非头面部带状疱疹患者(非头面部组), 以及 200 例无基础疾病的健康体检人员(健康对照组), 比较 3 组的血清抗氧化标志物, 包括尿酸(UA)、总胆红素(TBIL)和白蛋白(ALB)的水平, 同时评估这些标志物与头面部带状疱疹临床严重程度和 PHN 发生的关系。结果 头面部组和非头面部组血清 UA、TBIL 和 ALB 水平显著低于健康对照组($P < 0.05$)。头面部组血清 UA、TBIL 和 ALB 水平显著低于非头面部组($P < 0.05$), 与疾病严重程度呈负相关性($P < 0.05$)。头面部组血清 UA、TBIL 和 ALB 水平是 PHN 发生的独立影响因素($P < 0.05$), 且对头面部带状疱疹 PHN 有一定预测价值($P < 0.05$)。结论 头面部水痘-带状疱疹病毒的再激活、急性神经损伤和 PHN 发生可能都与机体低抗氧化状态有关, 抗氧化生物标志物 UA、TBIL 和 ALB 可能是带状疱疹的保护因子, 但还需要更多的研究来阐明其潜在的机制。

关键词: 头面部带状疱疹; 血清抗氧化标志物; 带状疱疹后遗症神经痛**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2024.22.002**中图法分类号:** R752.12**文章编号:** 1673-4130(2024)22-2694-05**文献标志码:** A

Clinical significance of serum antioxidant markers in cephalofacial herpes zoster*

ZHOU Qianyang¹, MA Xinxin¹, ZHENG Xingping², XU Lixian¹, ZHANG Ruili^{1△}

1. Department of Dermatology, the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu 210011, China; 2. Department of Basic Medical Science, Shandong Medical College, Jinan, Shandong 250002, China

Abstract: **Objective** To investigate the expression change of serum antioxidant markers in cranofacial herpes zoster and its relationship with clinical severity and postherpetic neuralgia (PHN). **Methods** Totally 109 cases of cranofacial herpes zoster (cranofacial group) and 169 cases of non-cranofacial herpes zoster (non-cranofacial group) hospitalized in the Department of Dermatology in the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University and 200 cases of health check-ups without underlying diseases (healthy control group) from January 2022 to December 2023 were selected, and the serum antioxidant markers including uric acid (UA), total bilirubin (TBIL), and albumin (ALB) of the patients in the three groups were compared. Meanwhile, the relationship between these markers and clinical severity and PHN of cranofacial herpes zoster was assessed. **Results** The serum levels of UA, TBIL and ALB in the cranofacial group and non-cranofacial group were significantly lower than those in the healthy control group ($P < 0.05$). Serum UA, TBIL and ALB levels in cranofacial group were significantly lower than those in non-cranofacial group ($P < 0.05$), and were negatively correlated with disease severity ($P < 0.05$). Serum UA, TBIL and ALB levels in cranofacial group were independent influencing factors for the occurrence of PHN ($P < 0.05$), and had predictive value for PHN in cranofacial herpes zoster ($P < 0.05$). **Conclusion** Reactivation of cranofacial herpes zoster virus, acute nerve injury and PHN may all be related to the low antioxidant status of the body, and the antioxidant biomarkers UA, TBIL and ALB may be protective factors for herpes zoster, but more studies are needed to clarify the underlying mechanisms.

Key words: cranofacial herpes zoster; antioxidant biomarkers; postherpetic neuralgia

* 基金项目: 南京医科大学科技发展基金项目(NMUB20210028)。

作者简介: 周倩扬, 女, 技师, 主要从事病原微生物免疫检验与皮肤科方面的研究。△ 通信作者, E-mail: reallyvictor@126.com。