

图 4 空白管吸光度

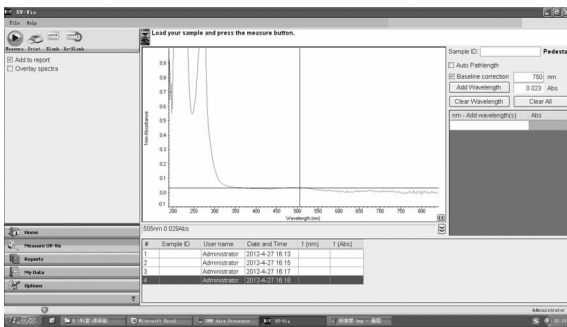


图 5 标准管吸光度

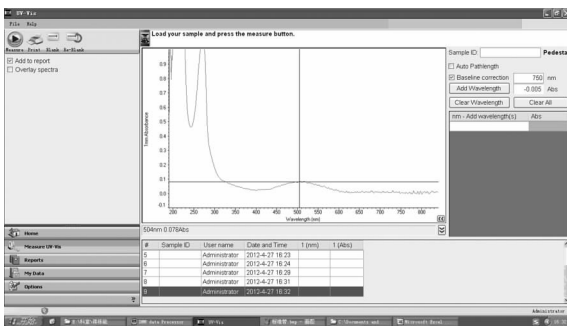


图 6 测定管吸光度

• 临床生物化学与检验论著(全军检验大会优秀论文) •

## 脑血管病患者高 Hcy 血症与叶酸和维生素 B<sub>12</sub> 关系的初步研究

郑伟, 孟冬娅, 罗军, 韩笑, 李坤, 胡晓芳<sup>△</sup>

(沈阳军区总医院检验科, 辽宁沈阳 110840)

**摘要:**目的 探讨脑血管病患者高同型半胱氨酸(Hcy)血症与叶酸、维生素 B<sub>12</sub> 之间的相关性。方法 脑血管病组患者(于确诊入院的第 1 天清晨)以及对照组体检者在空腹状态下采集前臂无抗凝静脉血 3 mL。无抗凝静脉血 1 h 内离心(3 000 r/min, 10 min)分离血清后, 置于-70 ℃保存待测。应用日立-7600 全自动生化分析仪, 采用酶法检测血清 Hcy 浓度。应用 AIA-1800 全自动化学发光免疫分析仪, 采用化学发光免疫法分别检测叶酸和维生素 B<sub>12</sub> 浓度。结果 脑梗塞(CI)组、脑出血(CH)组和对照组的血清 Hcy 水平比较差异有统计学意义( $F=19.58, P<0.01$ )。其中, CI 组的血清 Hcy 水平 $[(24.04 \pm 6.36) \mu\text{mol/L}]$ 明显高于 CH 组 $[(20.39 \pm 5.56) \mu\text{mol/L}]$ , 差异有统计学意义( $P<0.01$ )。与之相反, CI 组和 CH 组血清叶酸、维生素 B<sub>12</sub> 水平均明显低于对照组( $P<0.01$ ), 但 CI 组和 CH 组之间比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。相关分析结果显示, 脑血管病组的血清叶酸和维生素 B<sub>12</sub> 水平与 Hcy 水平呈负相关( $r_1=-0.80, r_2=-0.83$ )。结论 高 Hcy 血症是导致脑血管病发生的独立危险因素。而 Hcy 与叶酸、维生素 B<sub>12</sub> 之间存在的负反馈调节机制可能是导致脑血管病发生的关键因素。

**关键词:** 高同型半胱氨酸血症; 脑血管病; 叶酸; 维生素 B<sub>12</sub>

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.20.015

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)20-2467-03

高同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)血症是脑血管病患者重要的病理特征<sup>[1-2]</sup>, 也是增加脑血管病发生的独立危险因

<sup>△</sup> 通讯作者, E-mail: hxf630212@msn.com。

### 3 讨论

本研究结果显示, 以 xMag<sup>TM</sup> 异硫氰酸根磁微粒为载体检测葡萄糖浓度的方法是可行的, 但是也存在一些问题, 一是葡萄糖氧化酶的偶联率比较低, 二是葡萄糖氧化酶的单位浓度比较小, 所以本实验采取了同比例缩小 10 倍的方法进行检测, 具体的试验结果与临床结果相符程度有待于下一步研究。

葡萄糖的检测方法主要有红外光谱法、高效液相色谱法、气质联用以及各式各样的酶传感器等, 它们或成本高或要求在沸腾状态下测定、操作不便、试剂稳定性差等原因在实际应用中受限。葡萄糖的检测最常用的酶学方法有葡萄糖氧化酶法和己糖激酶法, 其特点是具有较高的灵敏度、准确度和精密性, 反应条件温和, 操作简便。

本实验利用磁微粒对酶的吸附作用及该体系对酶的保护作用, 研究了以磁微粒为载体检测血清葡萄糖的体系。通过预期试验, 此工作达到了初步的目的。在后续的工作中还应验证该体系检测血清葡萄糖的特异性、准确性、精密性及线性, 同时考虑通过加入葡萄糖变旋酶减少该体系检测时间。在该体系研制成熟后结合重庆大学研制的微型光谱分析仪自带磁力搅拌系统及 37 ℃ 恒温孵育系统, 为研制适合野战、基层等小型医疗机构的便携式检测设备的试剂打下基础。

### 参考文献

- [1] 屈跃军, 卢占勇, 卢明友. 己糖激酶法与氧化酶法试剂测葡萄糖在生化分析仪上的应用体会[J]. 实用医技杂志, 2005, 12(4): 846.
- [2] 高芳远. 35 例糖尿病患者的护理[J]. 检验医学与临床, 2007, 3(4): 221.
- [3] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 260.

(收稿日期: 2012-08-09)

素之一。研究发现, Hcy 水平受多种因素调节, 其中叶酸和维生素 B<sub>12</sub> 作为 Hcy 代谢途径中必需的辅助因子, 二者直接影响着 Hcy 的代谢水平<sup>[2]</sup>。本研究以脑血管病患者为研究对象, 通过测定血清 Hcy、叶酸和维生素 B<sub>12</sub> 水平, 旨在探讨脑血管病患者高 Hcy 血症与血清叶酸和维生素 B<sub>12</sub> 水平之间的相关性, 进而为脑血管病的发病机制提供新的线索。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 2010 年 3 月至 2011 年 3 月沈阳军区总医院神经内科、神经外科及急诊科病区脑血管病患者(脑血管病组) 177 例, 男 99 例, 女 78 例, 平均年龄(61.22 ± 11.14) 岁。其中脑梗塞(cerebral infarction, CI) 103 例, 脑出血(cerebral hemorrhage, CH) 74 例。纳入标准: 患者均有颅脑 CT 和/或 MRI 的影像证据, 诊断符合 1995 年全国第 4 届脑血管病学术会议修订的诊断标准<sup>[3]</sup>。排除肝、肾疾病、糖尿病、恶性肿瘤、甲状腺功能异常、妊娠及服用抗惊厥药物者。无酗酒史, 未服用免疫抑制剂、多种维生素及叶酸。对照组为本院健康体检者 122 例, 男 71 例, 女 51 例, 平均年龄(60.25 ± 10.30) 岁。2 组在年龄、性别方面比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

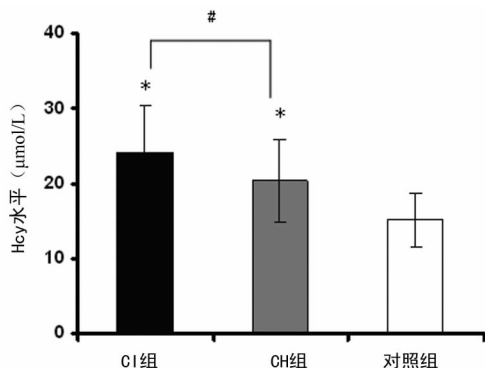
**1.2 仪器与试剂** 日立-7600 全自动生化分析仪(日本日立公司), AIA-1800 全自动化学发光免疫分析仪(日本奥林巴斯光学株式会社), Hcy 试剂盒(北京九强生物技术有限公司)。

**1.3 标本采集与指标检测方法** 脑血管病组患者(于确诊入院的第一天清晨)以及对照组体检者在空腹状态下采集前臂无抗凝静脉血 3 mL。无抗凝静脉血 1 h 内离心(3 000 r/min, 10 min)分离血清后, 置于 -70 °C 保存待测。应用日立-7600 全自动生化分析仪, 采用酶法检测血清 Hcy 浓度。应用 AIA-1800 全自动化学发光免疫分析仪, 采用化学发光免疫法分别检测叶酸和维生素 B<sub>12</sub> 浓度, 所有操作严格按说明书进行。

**1.4 统计学处理** 计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较用  $t$  检验、方差分析。相关性分析用 Spearman 相关检验。以上比较采用 SPSS17.0 软件进行分析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 2 结果

**2.1 脑血管病组与对照组血清 Hcy 水平的比较** CI 组、CH 组和对照组的血清 Hcy 水平比较差异有统计学意义( $F = 19.58, P < 0.01$ )。其中, CI 组的血清 Hcy 水平[(24.04 ± 6.36) μmol/L]明显高于 CH 组[(20.39 ± 5.56) μmol/L], 差异有统计学意义( $P < 0.01$ ), 见图 1。

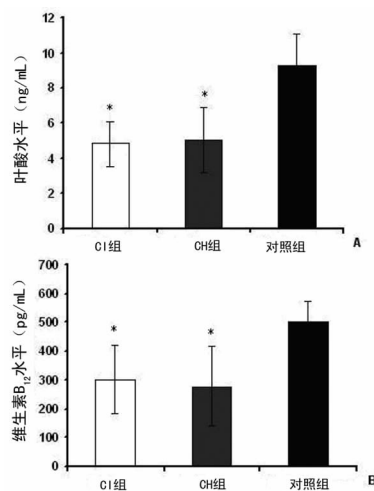


\*: 与对照组比较,  $P < 0.01$ ; #: 与 CH 组比较,  $P < 0.01$ 。

图 1 脑血管病组和对照组血清 Hcy 水平的比较

**2.2 脑血管病组与对照组的血清叶酸和维生素 B<sub>12</sub> 水平的比较** CI 组和 CH 组血清叶酸、维生素 B<sub>12</sub> 水平均明显低于对照

组( $P < 0.01$ ), 但二者比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ) (图 2)。相关分析结果显示, 脑血管病组的血清叶酸和维生素 B<sub>12</sub> 水平与血清 Hcy 水平呈负相关( $r_1 = -0.80, r_2 = -0.83$ , 见图 3~4)。



A: 血清叶酸水平; B: 血清维生素 B<sub>12</sub> 水平。\*: 与对照组比较,  $P < 0.01$ 。

图 2 脑血管病组与对照组血清叶酸及维生素 B<sub>12</sub> 水平的比较

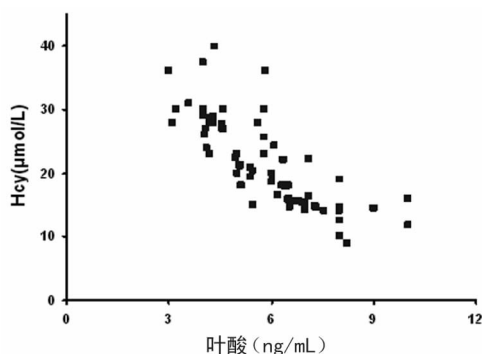


图 3 脑血管病组血清叶酸与 Hcy 水平的相关性比较

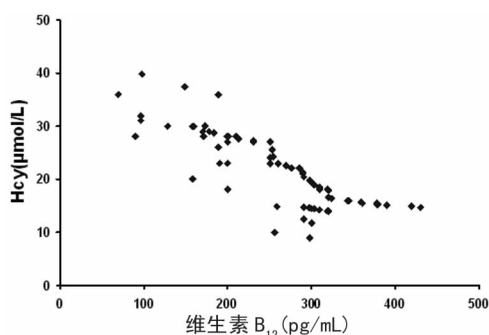


图 4 脑血管病组血清维生素 B<sub>12</sub> 与 Hcy 水平的相关性比较

### 3 讨论

高 Hcy 血症是脑血管疾病发病的一个独立危险因素。研究显示, Hcy 可致血管内皮细胞损伤和功能紊乱, 引起脂蛋白和胆固醇在血管壁沉积, 并可灭活血管舒张因子一氧化氮, 从而促进动脉粥样硬化的发生和血栓形成<sup>[4-5]</sup>。本研究结果显示, CI 患者血清 Hcy 水平明显高于对照组, 提示血清 Hcy 水平与脑梗死的发病密切相关。

有研究显示, Hcy 还可通过促进血栓素和前列腺素形成而影响血小板聚集和凝血因子的活性。因此, 血清 Hcy 浓度的升高对 CH 的发生和发展起重要作用<sup>[6]</sup>。本研究结果显示, CH 患者血清 Hcy 水平明显升高, 与对照组相比差异具有统计学意义, 提示高 Hcy 血症参与 CH 的发病。值得关注的是, CI 组血清 Hcy 水平明显高于 CH 组, 进一步提示 Hcy 可能通过不同的作用机制或不同强度的病理反应分别参与 CI 和 CH 的发病。

另有研究显示, 叶酸和维生素 B<sub>12</sub> 均参与和影响 Hcy 的代谢, 叶酸的激活使 Hcy 甲基化, 成为蛋氨酸。因此, 叶酸和维生素 B<sub>12</sub> 的缺乏均可致高 Hcy 血症的发生<sup>[7]</sup>。本研究结果显示, 脑血管病组的血清叶酸和维生素 B<sub>12</sub> 水平均明显低于对照组, 与此相反, 脑血管病组血清 Hcy 水平显著高于对照组, 且血清叶酸、维生素 B<sub>12</sub> 水平与血清 Hcy 水平呈负相关。更为重要的是, 有研究已证实, 补充叶酸和维生素 B<sub>12</sub> 可有效降低血清 Hcy 水平, 能有效预防和降低脑血管病的发生<sup>[8-9]</sup>, 提示叶酸和维生素 B<sub>12</sub> 与 Hcy 可能存在负反馈的调节机制。脑血管病的发生可能正是这种调节机制失衡的结果。基于以上发现, 有理由推测, 血清 Hcy 水平可能与其代谢辅助因子密切相关。另有研究显示, MTHFR C677T 突变可降低体内叶酸储备水平<sup>[10]</sup>。由此可以推测, 脑血管病患者低水平叶酸血症的发生同样依赖于 MTHFR 基因突变。

综上所述, 脑血管病是一种多因素所致的复杂性疾病。其中, 高 Hcy 血症是导致脑血管病发生的独立危险因素。同时, 高 Hcy 血症与低水平的叶酸和维生素 B<sub>12</sub> 之间存在显著的负相关。而 Hcy 与叶酸、维生素 B<sub>12</sub> 之间存在的负反馈的调节机制可能正是导致脑血管病发生的关键因素。

参考文献

[1] Towfighi A, Markovic D, Ovbiagele B. Pronounced association of elevated homocysteine with stroke in subgroups of individuals; a nationwide study[J]. J Neurol Sci, 2010, 298(1/2): 153-157.

[2] Salem-Berrabah OB, Mrissa R, Machghoul S, et al. Hyperhomocysteinemia, C677T MTHFR polymorphism and ischemic stroke in Tunisian patients[J]. Tunis Med, 2010, 88(9): 655-659.

[3] 中华医学会神经病学分会. 各类脑血管疾病诊断要点-脑卒中患者临床神经功能缺损程度评分标准(1995)[J]. 中华神经科杂志, 1996, 29(6): 379-383.

[4] McDowell IF, Lang D. Homocysteine and endothelial dysfunction: a link with cardiovascular disease[J]. J Nutr, 2000, 130(Suppl): S369-372.

[5] Zhu JH, Chen JZ, Wang XX, et al. Homocysteine accelerates senescence and reduces proliferation of endothelial progenitor cells [J]. Mole Cell, 2006, 40(5): 648-652.

[6] Campbell DJ, Neal BC, Chalmers JP, et al. Low-density lipoprotein particles and risk of intracerebral haemorrhage in subjects with cerebrovascular disease[J]. Eur J Cardiovasc Prev Rehabil, 2007, 14(3): 413-418.

[7] Moghaddasi M, Mamarabadi M, Mirzadeh S, et al. Homocysteine, vitamin B<sub>12</sub> and folate levels in Iranian patients with ischemic stroke[J]. Neurol Res, 2010, 32(9): 953-956.

[8] Woo KS, Chook P, Chan LL, et al. Long-term improvement in homocysteine levels and arterial endothelial function after 1-year folic acid supplementation[J]. Am J Med, 2002, 112(7): 535-539.

[9] He K, Merchant A, Rimm EB, et al. Folate, vitamin B6, and B<sub>12</sub> intakes in relation to risk of stroke among men[J]. Stroke, 2004, 35(1): 169-174.

[10] Usui M, Matsuoka H, Miyazaki H, et al. Endothelial dysfunction by acute hyperhomocysteinemia; restoration by folic acid[J]. Clin Sci, 1999, 96(3): 235-239.

(收稿日期: 2012-08-09)

## 缺血修饰清蛋白在急性冠脉综合征早期诊断中的应用

朱荔清, 邱广斌

(沈阳军区第二〇二医院检验科, 辽宁沈阳 110003)

**摘要:**目的 探讨缺血修饰清蛋白(IMA)检测及心肌损伤标记物在急性冠脉综合征(ACS)早期诊断中的应用。方法 取急性胸痛患者 129 例, 测定 IMA 及传统心肌损伤标记物(CK-MB, cTnT)值。结果 76 例 ACS 患者中, IMA 测值水平超过临界值者 68 例, 阳性率达 89.5%, 而同步测定 cTnT 阳性者仅 42 例, 阳性率仅为 55.3%, 两者差异有显著统计学意义(P<0.01)。结论 IMA 具有早期鉴别诊断 ACS 的临床应用价值。

**关键词:**缺血修饰清蛋白; 急性冠状动脉综合征; 心肌损伤

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.20.016

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)20-2469-02

急性冠状动脉综合征(ACS)是由于急性心肌缺血导致胸部不适症, 是常见的心血管急症, 也是造成急性死亡的主要原因。传统心肌损伤标记物只在心肌坏死后才会升高, 而对 ACS 患者迅速诊断并尽早干预, 才能限制和预防心肌损伤和坏死, 对患者的预后极其重要。缺血修饰清蛋白(IMA)在缺血后 5~10 min 内迅速升高<sup>[1]</sup>, 因此 IMA 检测是早期诊断心肌缺血的一个新生化指标。本研究着重探讨 IMA 及传统心肌损伤标记物在 ACS 早期诊断中的临床应用价值。

### 1 资料与方法

1.1 一般资料 本院急诊科就诊的急诊胸痛患者 129 例, 年

龄 18~90 岁。剔除标准: 已有肌酸激酶同工酶 MB(CK-MB)或肌钙蛋白 T(cTnT)升高; 严重肝肾功能不全; 急性脑卒中; 恶性肿瘤; 严重感染性疾病; 合并大手术及严重创伤患者。ACS 诊断标准参照 2007 年 ACC/AHA 不稳定性心绞痛和非 ST 段抬高心肌梗死治疗指南<sup>[2]</sup>。所有患者于接诊 10 min 内抽取静脉血用于 CK-MB、cTnT、IMA 检测。

1.2 仪器与试剂 IMA 检测: 采用 GF-E II 型全自动生化分析仪(山东高密彩虹分析仪器有限公司); CK-MB 检测: 采用强生 VITROS-250 全自动干式生化分析仪; cTnT 检测: 采用 Roche 公司 Cardiac reader 仪。缺血修饰清蛋白(IMA)检测试