

· 论 著 ·

血清同型半胱氨酸检测在评定脑梗死严重程度中的临床价值

吴祥如

安徽省第二人民医院检验科, 安徽 合肥 230001

摘要: **目的** 探讨同型半胱氨酸(Hcy)血清水平在诊断脑梗死及评定脑梗死严重程度中的价值,探讨 Hcy 变化的可能机制。**方法** 选择轻度、中度和重度脑梗死患者各 40 例为观察组,选择同期体检证实为健康者 40 例为对照组。采用电化学发光法检测血清 Hcy,比较观察组与对照组胱硫醚-β 合成酶(CBS)基因型和等位基因频率分布及 CBS 不同基因型血清 Hcy 水平。**结果** 轻度脑梗死、中度脑梗死、重度脑梗死患者的血清 Hcy、叶酸、维生素 B₁₂、C 反应蛋白(CRP)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、神经生长因子(NGF)、神经营养因子(NTF)各项指标两两比较($P < 0.05$)及分别与对照组比较($P < 0.01$)差异均有统计学意义。观察组与对照组 CBS 基因型和等位基因频率分布有明显差异($P < 0.01, P < 0.05$)。观察组与对照组 CBS 基因型正常基因型(T/T)血清 Hcy 差异不具有统计学意义($P > 0.05$),突变纯合子基因型(C/C)与杂合子基因型(C/T)血清 Hcy 水平存在较大差异($P < 0.05, P < 0.01$)。**结论** Hcy 血清水平可以作为脑梗死的一个诊断指标,在判定脑梗死严重程度中具有很高的价值。CBS 基因突变可能与血清 Hcy 水平有关。

关键词: 脑梗死; 同型半胱氨酸; 胱硫醚-β 合成酶; 基因型; 等位基因频率

中图分类号: R 543 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2015)07-0865-04

Value of serum homocysteine level for judging severity of cerebral infarction

WU Xiang-ru

Department of Clinical Laboratory, Second People's Hospital of Anhui Province, Hefei, Anhui 230001, China

Abstract: **Objective** To explore the value of homocysteine(Hcy) for diagnosing cerebral infarction and assessing severity of cerebral infarction and its potential mechanism. **Methods** A total of 120 cases of cerebral infarction including mild, moderate and severe patients (40 cases in each group) were selected as observation group, and 40 healthy subjects were selected as control group. Serum Hcy was detected by electrochemical luminescence method. The genotype and allele frequency distribution of disulfide beta synthase (CBS) and Hcy levels of different CBS genotype in observation and control groups were compared. **Results** Compared between any two groups in mild, moderate and severe cerebral infarction patients and compared mild, moderate and severe cerebral infarction of observation group with control group respectively, there were significant differences in the levels of serum Hcy, folic acid, vitamin B₁₂ and C reactive protein(CPR), tumor necrosis factor-α(TNF-α), matrix metalloproteinases 9(MMP-9), nerve growth factor(NGF) and neurotrophic factors(NTF) ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). There were significantly differences in genotype and allele frequency distribution for CBS between observation group and control group ($P < 0.01, P < 0.05$). There was no statistical difference in serum Hcy levels for CBS normal genotype(T/T) between observation and control group; there were significantly differences in serum Hcy levels for CBS homozygous genotype(C/C) and heterozygous genotype(C/T) between observation and control group. **Conclusion** Serum Hcy level might serve an indicator for the diagnosis of cerebral infarction and has a high value in judging severity of cerebral infarction. The genic mutation of CBS may be concerned with Hcy level.

Key words: Cerebral infarction; Homocysteine; Cystathionine beta-synthase; Genotype; Allele frequency

脑梗死病情凶猛,进展迅速,是临床上常见的神经系统急症,为成年人群致残的第一位原因,具有高

发病率、高复发率、高致残率和高病死率的特点,属于典型的“四高”症。临床上,该病通过介入治疗或溶栓治疗可在较短的时间内恢复脑组织供血,但在治疗过程中多数患者的神经功能已经缺损,治疗后可能遗

留神经功能损伤^[1-2]。因而对患者病情准确的评估尤为重要,相关量表指标评价测定较为复杂且受患者主观影响大,很难准确客观的反映患者的病情。近年来有研究指出同型半胱氨酸(Hcy)是脑梗死发生的独立危险因素,其代谢过程与叶酸、维生素B₁₂等有关^[3],本文特选择不同严重程度的脑梗死患者共120例进行研究。

1 资料与方法

1.1 一般资料

从我院2012年10月至2014年12月期间收治的脑梗死患者中半随机抽取120例为观察组,所有入选患者均进行CT及MRI检查,根据CT与MRI扫描图像进行梗死面积计算,轻度脑梗死患者40例,脑梗死面积<5 cm²;男性29例,女性11例;年龄41~78岁,平均年龄(52.8±6.6)岁;溶栓治疗23例,介入治疗17例。中度脑梗死患者40例,脑梗死面积5~10 cm²;男性30例,女性10例;年龄40~80岁,平均年龄(53.4±6.2)岁;溶栓治疗25例,介入治疗15例。重度脑梗死患者40例,脑梗死面积>10 cm²;男性27例,女性13例;年龄42~76岁,平均年龄(50.5±6.7)岁;溶栓治疗24例,介入治疗16例。选择同期在我院体检证实为健康者40例为对照组,其中男性25例,女性15例,年龄40~81岁,平均年龄(52.4±5.9)岁。所有受试者基线资料组间比较无统计学差异(*P*均>0.05)。

1.2 方法

1.2.1 血清学指标检测

常规耗材用Axygen公司生产的,选用Elabscience公司的酶联免疫吸附试剂盒,从Roche公司购入电化学发光试剂,选用Thermo公司生产的MK3酶标仪;采集患者以及体检者外周血(空腹)2~5 ml,立即离心(3 000 rpm离心15 min,取血清300 μl加入10%三氯醋酸,振荡后3 000 rpm离心15 min)后,取血清于-80℃冰箱保存备用;用电化学发光法测定Hcy、叶酸、维生素B₁₂,用酶联免疫吸附法测定C反应蛋白(CRP)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、神经生长因子(NGF)。

1.2.2 胱硫醚-β合成酶(CBS)基因突变检测

取患者及体检者外周血2 ml用酸性柠檬酸葡萄糖(ACD)防凝,用DNA提取试剂盒DV811A提取基因DNA,用GIBCO BRL公司的标准分子定量Marker对提取的DNA进行定量,稀释至20 ng/μl备用;PCR扩增突变体系法检测CBS基因型。

1.3 诊断标准

脑梗死的诊断参照宋晓南和邢英琦主编的《脑梗死诊断与治疗》中的相关标准,即:(1)常规或增强CT扫描显示为低密度影,明确病变的部位、形状及大小,脑室受压、变形及中线结构移位,可见边界不清的稍低密度灶,边界较清的低密度影,大片低密度区内有不规则斑片状高密度区,与脑水肿的不同点为低密度区较宽广及出血灶呈散在小片状。(2)MRI检测表现为T₁加权低信号T₂加权高信号。^[4]

1.4 统计学处理

采用SPSS15.0统计学软件进行数据处理,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间的比较采用单因素方差分析以及两两比较的LSD-*t*检验;计数资料组间比较用 χ^2 检验。*P*<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清学检测指标

轻度脑梗死组、中度脑梗死组、重度脑梗死组患者的血清Hcy、叶酸、维生素B₁₂、CRP、TNF-α、金属基质蛋白酶-9(MMP-9)、NGF、神经生长因子(NTF)各项指标两两比较(*P*均<0.05)及与对照组比较(*P*均<0.01)差异均有统计学意义。见表1。

2.2 血清Hcy水平与CBS基因突变的关系

CBS基因目的片段扩增大小以870 bp为标准,分野生型和突变型两种类型,分别用两种类型引物扩增,得到突变纯合子基因型(C/C)、杂合子基因型(C/T)和正常基因型(T/T)三种基因型。C/C为野生型引物无扩增片段,突变型引物有扩增片段;C/T为野生型和突变型引物均有扩增片段;T/T为野生型引物有扩增片段,突变型引物无扩增片段。本研究中,CBS基因

表1 各组患者血清学指标比较 (*n*=40, $\bar{x} \pm s$)

血清学指标	轻度脑梗死	中度脑梗死	重度脑梗死	对照组
Hcy(μmol/L)	15.56±2.14*	20.83±2.84▲*	24.58±3.52▲●*	9.41±1.03
叶酸(μg/L)	13.75±1.95*	9.47±1.02▲*	4.36±0.61▲●*	20.86±3.84
维生素B ₁₂ (μg/L)	400.34±58.22*	342.81±50.16▲*	278.95±35.24▲●*	462.42±68.43
CRP(mg/L)	13.86±1.98*	17.94±2.71▲*	23.25±3.54▲●*	2.17±0.45
TNF-α(μg/L)	49.72±6.22*	62.68±8.86▲*	78.46±9.07▲●*	12.41±1.86
MMP-9(μg/L)	14.81±2.12*	28.44±4.23▲*	40.65±5.96▲●*	68.85±9.22
NGF(pg/ml)	118.46±19.62*	74.84±8.31▲*	33.45±6.23▲●*	177.85±25.63
NTF(pg/ml)	7.15±0.93*	4.23±0.78▲*	2.76±0.37▲●*	9.35±1.04

注:与轻度脑梗死比较,▲*P*<0.05;与中度脑梗死比较,●*P*<0.05;与对照组比较,**P*<0.01。

表 2 两组患者 CBS 基因型及等位基因频率分布 例 (%)

组别	例数	CBS 基因型频率分布			等位基因频率分布	
		C/C	C/T	T/T	C	T
观察组	120	14(11.66)	50(41.67)	56(46.67)	40(33.33)	80(66.67)
对照组	40	3(7.50)	4(10.00)	33(82.50)	5(12.50)	35(87.50)
P 值		<0.01			<0.05	

表 3 CBS 不同基因型血清 Hcy 水平比较 ($\mu\text{mol/L}, \bar{x} \pm s$)

组别	例数	C/C		C/T		T/T	
		例数	血清 Hcy 水平	例数	血清 Hcy 水平	例数	血清 Hcy 水平
观察组	120	14	23.88 ± 3.66 [▲]	50	27.28 ± 7.07 [●]	56	12.83 ± 4.04
对照组	40	3	10.29 ± 0.72	4	9.21 ± 1.79	33	11.56 ± 3.14

注:与对照组比较,▲ $P < 0.05$,● $P < 0.01$ 。

型和等位基因频率分布组间比较差异有统计学意义($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 2。两组 C/C 基因型、C/T 基因型血清 Hcy 水平比较差异有统计学意义($P < 0.05, P < 0.01$), T/T 基因型组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 3。

3 讨论

3.1 血清水平 Hcy 检测对脑梗死患者的价值 脑梗死的发病原因主要是由于供应脑部血液的动脉出现异常(通常为粥样硬化和血栓形成),进而导致管腔狭窄甚至闭塞,导致局灶性急性脑供血不足而引起脑梗死。脑梗死患者由于神经细胞对缺氧的耐受能力极差,再经历发病、送医救治等过程,患者的部分神经细胞已经发生了不可逆转的损害,神经功能已经受到不同程度的损伤,合理评定患者病情,是制定合理的治疗方案的前提。然而,相关量表指标评价测定较为复杂且受患者主观影响大,很难准确客观的反映患者的客观病情,进而影响合理的治疗方案的制定。

国内外研究显示,血清 Hcy 异常(升高)与脑血管疾病具有很大的相关性,脑血管疾病患者的血清 Hcy 水平通常是正常人的 1.5 ~ 5 倍,其可能是脑血管疾病的独立危险因素^[5-6]。Motegi 等^[7]研究证实:脑梗死患者 Hcy 水平增高与具体的脑梗死类型无关。本研究提示,脑梗死患者与健康者的 Hcy 等血清学指标比较有显著差异,不同程度(轻度、中度、重度)脑梗死患者的 Hcy 等血清学指标差异有统计学意义,说明 Hcy 测定有助于诊断脑梗死,且在评价脑梗死严重程度中具有较高的价值。CBS 的 C/C、C/T 型基因型血清 Hcy 水平脑梗死患者明显高于健康人,说明 CBS 基因突变导致代谢障碍,高 Hcy 血症的相关基因突变可能是脑梗死发病的危险因素^[8]。

3.2 脑梗死患者血清 Hcy 增高的原因 Hcy 是一类含硫氨基酸,是甲硫氨酸代谢的中间产物,其代谢过程与维生素 B₁₂ 以及叶酸有很大的相关性。甲硫氨基

酸发生脱甲基等一系列反应时产生大量的 Hcy, Hcy 以维生素 B₁₂ 为辅助因子,在甲基供体 N5-甲基四氢叶酸及甲硫氨酸合成酶的催化下再次合成甲硫氨酸。在这一循环过程中,维生素 B₁₂ 和叶酸是两个重要的物质,当二者不足时, Hcy 无法再次合成甲硫氨酸,以至于大量的 Hcy 在血液中累积,进而造成 Hcy 水平升高^[9-10]。而 Hcy 可能通过产生活性氧基团来活化核转录因子,启动细胞粘附分子和趋化分子的表达,进而造成动脉炎症,最后引起动脉粥样硬化,使脑供血不足造成脑梗死;亦有可能是 Hcy 通过氧自由基和过氧化氢造成血管内皮细胞损伤,损伤了血管的舒张收缩能力,导致脑梗死^[11-13]。

3.3 CBS 不同基因型与脑梗死患者的关系 人类 CBS 基因定位于 21q22-3 染色体上,长度为 28 046 bp,可以编码 551 个氨基酸,已经发现基因突变点多达 130 多个^[14]。CBS 是 Hcy 转硫基过程中重要的酶, CBS 基因突变可以引起 CBS 酶空间构象的改变,不同部位的突变对 CBS 活性的影响不尽相同^[15]。本研究结果显示,观察组与对照组 CBS 基因型正常基因型(T/T)血清 Hcy 差异不具有统计学意义,突变纯合子基因型(C/C)与杂合子基因型(C/T)血清 Hcy 水平存在较大差异。因此可以认为 CBS 在 Hcy 中存在重要性及差异性表达, CBS 基因突变引起 CBS 结构改变引起的脑梗死与疾病程度呈正相关^[16]。

综上所述,血清 Hcy 指标可以作为脑梗死的诊断指标,在评定脑梗死严重程度方面具有很高的临床应用价值,克服了相关量表评定不够准确的缺点。

参考文献

- [1] 王忠安,黎开谷,刘金辉,等. 经导管选择性脑动脉内介入溶栓治疗急性脑梗死应用分析[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2014, 17(9): 89-90.

(下转第 872 页)

安全性。

参考文献

- [1] 汪建平. 重视中低位直肠癌外科治疗质量控制体系的推广应用[J]. 中国实用外科杂志, 2014, 34(9): 799-801.
- [2] Liang JT, Lai HS, Lee PH. Laparoscopic pelvic autonomic nerve-preserving surgery for patients with lower rectal cancer after chemoradiation therapy[J]. Ann Surg Oncol, 2007, 14(4): 1285-1287.
- [3] 张忠涛, 王今. 腹腔镜直肠癌外科规范化治疗[J]. 中华普外科手术学杂志(电子版), 2013, 7(2): 88-91.
- [4] 郑宗珩, 卫洪波, 陈图峰, 等. 保留盆腔自主神经的腹腔镜直肠癌根治术对排尿功能的影响[J]. 中华医学杂志, 2009, 89(42): 2976-2979.
- [5] 吴崇杰, 熊功友, 黄明华. 腹腔镜保留盆腔自主神经直肠癌根治术对男性功能的影响[J]. 南昌大学学报(医学版), 2010, 50(3): 53-55.
- [6] 徐永强, 邓兵, 刘宁. 腹腔镜保留盆腔自主神经直肠癌根治术对排尿功能的影响[J]. 西部医学, 2011, 23(2): 271-273.
- [7] 张善家, 朱志强, 梁伟, 等. 保留盆腔自主神经的腹腔镜直肠癌根治术对男性性功能的影响[J]. 中国微创外科杂志, 2011, 11(12): 1075-1078, 1087.
- [8] 刘世君. 腹腔镜下低位直肠癌切除术中盆腔自主神经保留对患者复发及生存质量的影响[J]. 海南医学院学报, 2012, 18(10): 1441-1443.
- [9] 马晓龙, 刘庆国, 顾全凯, 等. 腹腔镜保留盆腔自主神经直肠癌根治术对排尿及性功能的影响[J]. 现代预防医学, 2012, 39(7): 1855-1856, 1858.

- [10] 殷红专, 梁逸超, 闫兆鹏, 等. 腹腔镜保留盆腔自主神经直肠癌根治术与开腹手术术后患者生存质量的对比研究[J]. 生物医学工程与临床, 2012, 16(4): 370-372.
- [11] 蔡灿锋. 开腹与腹腔镜直肠癌根治术在保留盆腔自主神经对男性性功能影响的对比研究[J]. 医药前沿, 2014(17): 224-224.
- [12] 李文春, 张东友. 经腹腔镜与开腹直肠癌根治术对男性性功能影响的临床研究[J]. 中国性科学, 2014, 23(2): 34-36.
- [13] Stocchi L, Nelson H, Sargent DJ, et al. Impact of surgical and pathologic variables in rectal cancer: a United States community and cooperative group report[J]. J Clin Oncol, 2001, 19(18): 3895-3902.
- [14] 吴延庆. 腹腔镜保留盆腔自主神经直肠癌根治术对排尿及性功能影响的临床研究[D]. 济南: 山东大学, 2010.
- [15] Maurer CA. Urinary and sexual function after total mesorectal excision[J]. Recent Results Cancer Res, 2005, 165: 196-204.
- [16] Vennix S, Pelzers L, Bouvy N, et al. Laparoscopic versus open total mesorectal excision for rectal cancer[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2014, 4: CD005200.
- [17] 陈竞文, 韦烨, 许剑民. 机器人技术在结直肠肿瘤外科中的应用[J]. 中华结直肠疾病电子杂志, 2014, 3(1): 31-34.
- [18] 廖健南, 郭水莲, 刘展慧, 等. 腹腔镜直肠癌前切除术难易程度的相关因素分析[J]. 腹腔镜外科杂志, 2014, 19(7): 505-508.
- [19] 刘兆瑞. 直肠癌根治术后排尿功能障碍相关危险因素分析[D]. 济南: 山东大学, 2014.
- [20] 陆培华, 陶国清, 沈伟, 等. 国内腹腔镜结直肠癌切除术根治效果的 Meta 分析[J]. 中华消化外科杂志, 2008, 7(6): 458-460.

收稿日期: 2015-03-07 修回日期: 2015-03-20 编辑: 王国品

(上接第 867 页)

- [2] 信宏, 史壮宏, 孙启东, 等. 脑血管造影未发现血管闭塞的急性脑梗死溶栓治疗与预后的关系[J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(18): 4628-4629.
- [3] 李明, 周铭. 脑梗死患者血清同型半胱氨酸、叶酸、维生素 B12 水平检测及其临床价值分析[J]. 海南医学院学报, 2014, 20(11): 1538-1541.
- [4] 宋晓南, 邢英琦. 脑梗死诊断与治疗[M]. 长春: 吉林人民出版社, 2006: 28-48.
- [5] Cotlarciuc I, Malik R, Holliday EG, et al. Effect of genetic variants associated with plasma homocysteine levels on stroke risk[J]. Stroke, 2014, 45(7): 1920-1924.
- [6] 张亚文, 李继恩, 秦蕾, 等. 血清同型半胱氨酸水平与心脑血管疾病的关系探讨[J]. 标记免疫分析与临床, 2014, 21(3): 338-339.
- [7] Motegi S, Toki S, Yamada K, et al. Elevated plasma homocysteine level is possibly associated with skin sclerosis in a series of Japanese patients with systemic sclerosis[J]. J Dermatol, 2014, 41(11): 986-991.
- [8] 瞿国英, 林炜炜, 戴越刚. 同型半胱氨酸水平与脑梗死患者传统危险因素的相关性分析[J]. 检验医学, 2013, 28(2): 102-105.
- [9] Wright CB, Paik MC, Brown TR, et al. Total homocysteine is associated with white matter hyperintensity volume: the northern manhattan

study[J]. Stroke, 2005, 36(6): 1207-1211.

- [10] 汪国宏, 朱幼玲, 穆燕芳, 等. 脑卒中患者血清同型半胱氨酸水平变化及其与神经功能缺损程度的关系[J]. 山东医药, 2013, 53(32): 22-24.
- [11] Batra S, Perelman N, Luck LR, et al. Pediatric tumor cells express erythropoietin and a functional erythropoietin receptor that promotes angiogenesis and tumor cell survival[J]. Lab Invest, 2003, 83(10): 1477-1487.
- [12] 李敏子, 杨卫红, 刘振华. 促红细胞生成素对同型半胱氨酸导致血管内皮细胞损伤的保护作用[J]. 热带医学杂志, 2013, 13(6): 716-719.
- [13] 脑梗死与血 Hcy 及颈动脉粥样硬化的相关性探讨[J]. 中华全科医学, 2013, 11(3): 373-374.
- [14] 刘斌, 田冉, 高端, 等. 同型半胱氨酸代谢酶 MTHFR、CBS、MS 基因多态性与脑梗死患者颈动脉狭窄的相关性[J]. 中国现代医学杂志, 2011, 21(33): 4103-4108.
- [15] 李艾帆, 崔传举, 袁树华, 等. Hcy 及胱硫醚 β -合成酶基 844ins68 基因多态性与河南汉族脑梗死的关系[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2014, 17(20): 41-43.
- [16] 降文兰, 曹占良, 王玮. Hcy 和 CBS 表达量与脑卒中关系的临床研究[J]. 中国现代医学杂志, 2014, 24(23): 55-58.

收稿日期: 2015-01-30 修回日期: 2015-03-09 编辑: 王海琴