

• 论 著 •

同型半胱氨酸循环酶法自动分析仪测定及临床应用

李美珠, 李启欣, 梁指荣, 陈社安

(广东省佛山市第一人民医院检验科 528000)

摘要:目的 探讨同型半胱氨酸(Hcy)循环酶法在自动分析仪测定的方法评价及在脑血管疾病中的临床意义。方法 应用循环酶法测定 112 例高血压组、102 例脑梗死组、80 例健康人群血浆 Hcy 水平,并对结果进行分析。结果 该法 Hcy 在 3.0~50.0 $\mu\text{mol/L}$ 范围内线性良好;批内 $CV \leq 3.3\%$,批间 $CV = 4.6\%$;回收率 94.4%~109.1%,平均 101.2%。102 例脑梗死组血 Hcy 水平为 $(14.8 \pm 5.6) \mu\text{mol/L}$,明显高于高血压组的 $(11.7 \pm 5.3) \mu\text{mol/L}$,其差异有统计学意义($P < 0.01$);高血压组又高于健康对照组的 $(7.9 \pm 1.6) \mu\text{mol/L}$,两者之间差异有统计学意义($P < 0.01$)。结论 该方法简便、重复性好,适合全自动生化分析仪常规检测,Hcy 水平的检测对脑血管疾病危险性的监测是 1 个敏感指标,对脑梗死的预后诊断具有实际应用价值。

关键词:半胱氨酸; 脑血管障碍; 自动生化分析仪; 循环酶法**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2011.11.016**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2011)11-1181-02

The clinical application of enzymatic cycling assay in the detection of homocysteine on automatic analyzer

Li Meizhu, Li Qixing, Liang Zhirong, Cheng She'an

(Department of Clinical Laboratory, Foshan First people Hospital, Guangdong 528000, China)

Abstract: Objective To evaluate the usage of enzymatic cycling assay in the detection of homocysteine(Hcy) and its clinical significance in the diagnosis of cerebrovascular diseases. **Methods** Plasma concentration of Hcy in 112 cases of patients with hypertension, 102 cases with cerebral infarction and 80 cases of healthy controls were detected by enzymatic cycling assay on automatic analyzer and the detection results were statistically analyzed. **Results** The linearity of this method was 3.0—50.0 $\mu\text{mol/L}$. The within-run coefficient of variation(CV) was less than or equal with 3.3%, the between-run CV was 4.6%. The range of recovery rate was 94.4%—109.1%, with an average of 101.2%. The plasma Hcy level of cerebral infarction group [$(14.8 \pm 5.6) \mu\text{mol/L}$] was significant higher than the hypertension group [$(11.7 \pm 5.3) \mu\text{mol/L}$] ($P < 0.01$), and that of the hypertension group was significantly higher than that of the healthy control group [$(7.9 \pm 1.6) \mu\text{mol/L}$] ($P < 0.01$). **Conclusion** Enzymatic cycling assay is feasible, simple, with fine repeatability and suitable for routine detection on automatic analyzers. Plasma Hcy is one sensitive index for the monitoring of cerebral vascular diseases and is valuable for the prognosis of cerebral infarction.

Key words: cysteine; cerebrovascular disorders; automatic chemistry analyzer; enzymatic cycling assay

同型半胱氨酸(Hcy)是 1 种人体内的含硫氨基酸,为蛋氨酸和半胱氨酸代谢过程中的重要中间产物。Hcy 通过多种途径损伤血管,它损伤血管内皮细胞的同时刺激血管平滑肌细胞生长,两者导致的损伤阻塞血流通路;Hcy 还破坏正常凝血机制,促进血栓形成,从而促进脑血管病的发生^[1]。近年越来越多的研究表明,血中 Hcy 水平的升高与脑动脉硬化及血栓的形成密切相关。因此,Hcy 作为评价和预测脑血管疾病危险性的指标变得越来越重要。本文通过对高血压、脑梗死患者及健康人群血浆 Hcy 水平进行测定,探讨血浆 Hcy 水平在脑血管疾病诊断、预后中的重要意义,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 高血压组:112 例(男 61 例,女 51 例,年龄 35~89 岁);脑梗死组:102 例(男 69 例,女 33 例,年龄 33~78 岁),患者均来自本院神经内科并确诊,诊断符合 1995 年第四届全国脑血管病会议修订的诊断标准^[2]。健康对照组:随机挑选的体检健康者 80 例(男 48 例,女 32 例,年龄 20~71 岁)来自保健科。

1.2 仪器及试剂 采用 OLYMPUS AU-5400 型全自动生化分析仪,试剂由四川迈克生物科技公司提供,批号:051017;标准品批号:0510173;质控物批号:0510072。

1.3 方法 采集受检者静脉血 4 mL,肝素锂抗凝送检,以离心半径 8 cm,3 000 r/min 离心 5 min,分离血浆或冷藏 1 h 内分离血浆备用。Hcy 采用循环酶法,在 OLYMPUS AU-5400 型全自动生化分析仪上检测,实验方法严格按照试剂盒说明书和 SOP 文件进行操作;Hcy $\geq 15 \mu\text{mol/L}$ 视为高同型半胱氨酸血症(HHM)。

1.4 统计学处理 所有数据均采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,组间比较采用两样本均数配对 t 检验及相关分析,在 SPSS 软件上完成。

2 结果

2.1 精密度测试

2.1.1 批内 CV 值 通过对高、中、低 3 个不同 Hcy 水平的血浆分别进行 15 次测定,结果显示,低值样本 $(7.5 \pm 1.1) \mu\text{mol/L}$, $CV = 3.3\%$;中值样本 $(19.8 \pm 2.9) \mu\text{mol/L}$, $CV = 1.8\%$;高值样本 $(32.4 \pm 3.6) \mu\text{mol/L}$, $CV = 1.6\%$ 。

2.1.2 批间 CV 值 把 1 份混合血浆标本分装成 15 小支放冰箱,每天拿 1 支测定 Hcy,共 15 d,结果为 $(22.3 \pm 1.2) \mu\text{mol/L}$, $CV = 4.6\%$ 。

2.2 线性实验 按美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)EP6-P2、EP6-A 方案^[3],选择 Hcy 3.0 和 50.0 $\mu\text{mol/L}$ 的血浆标本各 1 份,然后将 2 份血浆按 3:1、1:1 和 1:3 的比例混

合,产生 50.0、38.2、26.5、14.8 和 3.0 $\mu\text{mol/L}$ 5 个不同水平的标本,用本法重复测定 4 次,将测定值(Y)与理论值(X)进行线性回归分析, $r=0.992$,线性回归方程: $Y=1.05X+1.102$,说明在 3.0~50.0 $\mu\text{mol/L}$ 范围内线性关系良好^[2]。

2.3 回收率 取 2 个较已测值(原值)高的血清作为加入物,加到已测值的混合血清中,然后进行测定并计算回收率,结果 94.4%~109.1%,平均 101.2%,见表 1。

表 1 回收情况				
项目	1	1	2	2
加入值($\mu\text{mol/L}$)	36.2	36.2	45.6	45.6
原值($\mu\text{mol/L}$)	10.4	16.7	25.7	33.0
理论值($\mu\text{mol/L}$)	12.7	18.5	27.5	34.1
测得值($\mu\text{mol/L}$)	12.6	18.4	27.6	34.2
回收率(%)	95.6	94.4	105.6	109.1

2.4 临床应用 健康对照组与患者组检验结果见表 2,混合型组为高血压合并脑梗死患者组。结果表明,随着 Hcy 水平逐渐升高,脑梗死(即缺血性中风)患者危险性呈增高趋势。

表 2 各组血 Hcy 测得结果比较			
分组	<i>n</i>	Hcy($\mu\text{mol/L}$)	HHM 阳性(%)
健康对照	80	(7.9 $\pm$ 1.6)	0
高血压组	112	(11.7 $\pm$ 5.3)*	6.6
混合型组	35	(13.9 $\pm$ 4.9)*	14.3
脑梗死组	102	(14.3 $\pm$ 5.6)*▲	26.9

*: $P<0.01$,与健康对照组比较;▲: $P<0.01$,与高血压组比较。

3 讨 论

实验结果显示,循环酶法 Hcy 测定试剂盒的批内 CV $\leq$ 3.3%,批间 CV=4.6%,线性范围 3.0~50.0 $\mu\text{mol/L}$,回收率 94.0%以上,能满足临床测定的需要^[4];本法优点是对样本无需预处理,成本低,精密度和特异性高,采用全自动生化分析仪,操作简便、快速^[5]。

Hcy 在体内可通过转硫基途径、甲基化途径、直接释放入细胞外基质,形成一定的 Hcy 水平,人体产生的 Hcy 绝大部分在细胞内分解代谢,只有很少一部分释放到血浆,故健康人血浆 Hcy 很低。本实验健康对照组结果与文献[6-7]相似,而与文献[8-9]有区别,这与采用的试剂盒、方法有关,所以建议建立自己的实验室参考区间。

目前,中国动脉粥样硬化(AS)性心血管病呈上升趋势^[10]。许多学者认为,血 Hcy 水平升高已成为 AS 发生的 1 个独立危险因素,高 Hcy 是脑卒中的独立危险因素^[11-12]。脑卒中分缺血性卒中和出血性卒中,脑梗死属于缺血性的 1 种类型。本实验显示,患者组与健康对照组比较,Hcy 水平明显升高,其中脑梗死组和混合型组最高;在是否患有脑梗死的高血

压组比较,混合型组血 Hcy 水平比单纯高血压组高,差异有统计学意义($P<0.01$);同时,高同型半胱氨酸血症(HHM)阳性率依高血压组、混合型组和脑梗死组的顺序逐渐升高,提示随着 Hcy 水平逐渐升高,脑梗死(即缺血性中风)危险性存在增高趋势,表明 Hcy 是诊断脑梗死的 1 个敏感指标。

综上所述,血 Hcy 循环酶检测方法重复性好,简便、快捷,从上机到发报告仅需 20 min,适合急诊使用,方便随时监测,适用于对急性脑梗死的快速诊断。检测 Hcy 水平对 HHM 的早期发现和早期纠正,在治疗和预防缺血性脑卒中是非常重要的 1 个途径。血 Hcy 在脑血管疾病诊断,尤其是高血压合并脑梗死的诊断、辅助诊断以及疗效观察中具有重要意义。

参考文献

[1] Spencer CG, Martin SC, Felmeden DC, et al. Relationship of homocysteine to markers of platelet and endothelial activation in "high risk" hypertensives; a substudy of the anglo-scandinavian cardica outcomes trial[J]. Int J Cardiol, 2004, 94: 293-300.

[2] 中华医学会神经科学分会. 中华神经外科学会. 各类脑血管疾病诊断要点[J]. 中华神经科杂志, 1996, 29(6): 379.

[3] 杨振华. 临床实验室质量管理[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 155-160.

[4] Roberts RF, Roberts WL. Performance characteristics of a recombinant enzymatic cycling assay for quantification of total homocysteine in serum or plasma[J]. Clin Chim Acta, 2004, 344(1/2): 95-104.

[5] Kellogg MD, Parker R, Ricupero A, et al. Evaluation of an enzymatic homocysteine assay for the Hitachi series chemistry analyzer[J]. Clin Chim Acta, 2005, 354(1/2): 117-122.

[6] 高静, 董振南, 田亚平. 循环酶法测定血清同型半胱氨酸的临床应用研究[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(3): 199-202.

[7] 芦海, 朱栓立, 戴庆麟, 等. 原发性高血压伴脑梗死患者血浆同型半胱氨酸水平的研究[J]. 中国临床康复, 2004, 8(3): 458-459.

[8] 黄秀娟, 吴卫平, 陈荔霞. 同型半胱氨酸酶法测定的应用评价[J]. 中国误诊学杂志, 2006, 6(22): 4343-4344.

[9] 薛邦禄, 林绍华. 血浆同型半胱氨酸水平与妊娠高血压综合征的关系探讨[J]. 国际检验医学杂志, 2007, 28(2): 164.

[10] 黄如训. 脑卒中[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 2.

[11] Kullo IJ, Li G, Bielak LF, et al. Association of plasma homocysteine with coronary artery calcification in different categories of coronary heart disease risk[J]. Mayo Clin Prac, 2006, 81(2): 177-182.

[12] 宋玉莲, 韩波. 同型半胱氨酸、超敏感 C-反应蛋白、脂蛋白(α)的检测在急性冠状动脉综合征中的临床应用[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(3): 290-292.

(收稿日期: 2011-02-01)