

· 临床检验研究 ·

动脉粥样硬化疾病中相关危险因子表达差异分析

王 芊

(中国人民解放军第二五二医院检验科, 河北保定 071000)

摘要:目的 探讨同型半胱氨酸(HCY)等危险因子在动脉粥样硬化疾病中的表达差异及与该疾病的相关性。方法 对 120 例脑梗死患者、103 例冠心病患者、43 例动脉闭塞症患者以及 50 例健康对照人群同时测定血清低密度脂蛋白(LDL)、脂蛋白 a[Lp(a)]、尿酸(UA)、HCY、超敏 C 反应蛋白(HS-CRP), 并作对比分析及多元回归分析。结果 脑梗死、冠心病以及动脉闭塞组的血清 HCY、LDL、Lp(a)、UA、HS-CRP 表达水平与健康对照组差异有统计学意义($H_c=76.789, 13.982, 21.788, 28.550, \chi^2=16.041, P<0.05$)。多元回归分析显示, 不同危险因子与不同动脉粥样硬化疾病的相关性不同。结论 HCY、LDL、Lp(a)、UA、HS-CRP 水平增高与动脉粥样硬化疾病密切相关, 并且各危险因子与各疾病相关程度不同, 及早检测各危险因子, 对动脉粥样硬化疾病的预防、治疗有着非常积极的意义。

关键词:动脉粥样硬化; 脂蛋白类; 尿酸; 同型半胱氨酸

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.01.017

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)01-0040-02

Variance analysis of the risk factors in different atherosclerosis diseases

Wang Qian

(Department of Clinical Laboratory, No. 252 Hospital of People's Liberation Army of China, Baoding, Hebei 071000, China)

Abstract: Objective To investigate the relationship between atherosclerosis diseases and the risk factors, such as homocysteine (HCY), and to analyze the differences of the risk factors in different atherosclerosis diseases. **Methods** The serum levels of low-density lipoprotein(LDL), lipoprotein(a)[Lp(a)], uric acid(UA), HCY and high sensitive-C reaction protein(HS-CRP) were parallel detected in 120 cases of patients with acute cerebral infarction(ACI group), 103 cases with coronary heart disease(CHD group), 43 cases with peripheral artery disease(PAD group) and 50 healthy controls(control group). The contrastive analysis and multivariate analysis were conducted. **Results** ACI, CHD and PAD group all showed significant differences from the control group, including the serum levels of LDL, Lp(a), UA, HCY and HS-CRP($H_c=76.789, 13.982, 21.788, 28.550, \chi^2=16.041, P<0.05$). Multivariate analysis indicated that each risk factor had a different degree of correlation with different atherosclerosis diseases. **Conclusion** The serum levels of LDL, Lp(a), UA, HCY and HS-CRP could be closely related with atherosclerosis diseases. Each risk factor might have a different degree of correlation with different atherosclerosis diseases. Early detection of LDL, Lp(a), UA, HCY and HS-CRP could have positive significance for preventing and curing atherosclerosis diseases.

Key words: atherosclerosis; lipoproteins; uric acid; homocysteine

动脉粥样硬化(AS)是心脑血管疾病重要的病理基础,是动脉血管壁上多因子参与的复杂慢性病变,包括主动脉粥样硬化、冠状动脉粥样硬化、颅脑动脉粥样硬化、肾动脉粥样硬化、四肢动脉粥样硬化等,动脉粥样硬化疾病已成为威胁人们生命健康的重要疾病。近年来,虽然各种研究对动脉粥样硬化的病因及发病机制尚未完全清楚,并分别在动脉粥样硬化性脑梗死以及冠状动脉粥样硬化性心脏病的相关危险因子的研究中取得了一定的进展,但是对于不同危险因子在各类动脉粥样硬化疾病中的表达差异却罕有分析。本研究旨在探讨相关危险因子低密度脂蛋白(LDL)、脂蛋白 a[Lp(a)]、尿酸(UA)、同型半胱氨酸(HCY)、超敏 C 反应蛋白(HS-CRP)在动脉粥样硬化性脑梗死(ACI)、冠状动脉粥样硬化性心脏病(CHD)以及四肢动脉硬化闭塞症(PAD)三种疾病中的表达差异,分析其表达的相关性,以对临床动脉粥样硬化疾病的诊断及治疗研究提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2010 年 6 月至 2011 年 1 月本院神经内科首次住院的动脉硬化性脑梗死(ACI)患者 120 例,其中男 65 例,女 55 例,平均年龄(59.5 ± 12.6)岁;心内科冠心病(CHD)患者 103 例,其中男 56 例,女 47 例,平均年龄(61.5 ± 10.3)岁;血管外科四肢动脉闭塞症患者 43 例,其中男 23 例,女 20 例,平均年龄(58.2 ± 11.6)岁;健康对照组为同期本院体检的健康人群 50 例,其中男 26 例,女 24 例,平均年龄($60.1 \pm$

9.2)岁。

1.2 入选标准 冠心病按照 2001 年中华医学会相关诊断标准。脑梗死符合全国第四次脑血管病学术会议修订的脑血管分类的诊断标准,并经头颅 CT 和(或)MRI 确诊。四肢动脉闭塞症患者通过踝动脉压肱动脉压比值(ABI)诊断 PAD。排除以下情况:急慢性炎症性疾病、自身免疫性疾病、肝肾疾病、恶性肿瘤等,并确证近 2 周未用以下药物:叶酸拮抗剂(甲氨蝶呤)、叶酸、维生素 B₁₂、维生素 B₆ 等。

1.3 方法 早晨各组分别空腹采血后,立即分离血清, -80℃ 保存。全部标本采集完成后成批检测,同时测定 LDL、Lp(a)、UA、HCY。采用日立 7600-20 全自动生化分析仪, HCY 应用循环酶法、Lp(a)应用免疫透射比浊法,试剂由四川迈克生物科技有限公司提供; LDL 试剂由日本协和医药株式会社提供; UA 应用氧化酶法,试剂由北京柏定生物技术有限公司提供; HS-CRP 应用胶乳凝集反应法,试剂由上海申索佑福提供。

1.4 统计学处理 实验数据以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS13.0 对数据进行处理,各实验组与健康对照组比较采用 Kruskal-Wallis H 检验及 Nemenyi 检验进行组间两两比较,分析各实验组之间各指标表达差异。其中 HS-CRP > 3 mg/L 为阳性,故以行×列表 χ^2 检验进行组间阳性率比较。评价多个危险因子对于动脉粥样硬化各疾病的影响,采用多元 logistic 回归分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 健康对照组及病例组相关危险因子的表达差异,见表 1。

表 1 健康对照组及病例组相关危险因子的表达差异

组别	n	相关危险因子			
		HCY (mol/L)	[Lp(a)] (mg/L)	LDL (mmol/L)	UA (mol/L)
健康对照组	50	10.25±3.62	148.98±56.26	2.2±0.276	216.52±44.71
脑梗死组	120	22.89±9.44	229.81±112.86	2.62±0.79	258.30±88.66
冠心病组	103	20.38±9.48	236.14±127.78	2.54±0.82	298.03±106.68
动脉闭塞组	40	18.13±9.63	243.65±163.73	2.54±0.83	263.65±96.51

HCY、Lp(a)、LDL、UA 各指标分别经 Kruskal-Wallis H 检验,检验统计量 H_c 分别为 76.789、13.982、21.788、28.550, P 值分别为 0.000 149、0.000 722、0.003、0.000 277, $P < 0.05$ 。即各组间 HCY、Lp(a)、LDL、UA 的表达均存在差异。病例组与健康对照组相比,HCY、Lp(a)、LDL、UA 在病例组中的表达均高于健康对照组,差异有统计学意义。其中,病例组两两比较表明,HCY 在脑梗死组和动脉闭塞组中比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$);UA 在脑梗死组和冠心病组、冠心病组和动脉闭塞组差异有统计学意义 ($P < 0.05$);而 Lp(a)、LDL 在脑梗死组、冠心病组及动脉闭塞组之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 2 健康对照组及病例组 HS-CRP 阳性率差异 (n)

组别	阳性 (>3 mg/L)	正常 (≤3 mg/L)	合计
健康对照组	3	47	50
脑梗死组	39	81	120
冠心病组	35	68	103
动脉闭塞组	16	27	43
合计	93	223	316

表 3 动脉粥样硬化各疾病危险因子多元 logistic 回归分析结果

组别	B	χ^2	P	OR
脑梗死组				
HCY	0.268	22.974	0.000 1	1.307
Lp(a)	0.009	7.505	0.006	1.009
LDL	1.271	5.880	0.015	3.566
UA	0.007	3.237	0.072	1.007
HS-CRP	1.745	4.552	0.033	5.727
冠心病组				
HCY	0.352	23.734	0.000 1	1.421
Lp(a)	0.012	11.309	0.001	1.012
LDL	1.851	11.321	0.001	6.369
UA	0.012	8.162	0.004	1.012
HS-CRP	1.550	2.466	0.116	4.713
动脉闭塞组				
HCY	0.172	11.846	0.001	1.188
LDL	1.359	7.372	0.007	3.894
HS-CRP	2.328	8.585	0.003	10.261

2.2 各病例组与健康对照组 HS-CRP 表达差异,见表 2。表 2 显示,HS-CRP 在各组间阳性率分别为动脉闭塞组 (37.2%) > 冠心病组 (33.9%) > 脑梗死组 (32.5%), 经行 χ^2 检验, $\chi^2 = 16.041, P = 0.001 (P < 0.05)$, 各组间表达差异有统计学

意义,但组间两两比较可知,各病例组阳性率显著高于健康对照组,但各病例组间表达差异无统计学意义。

2.3 动脉粥样硬化各疾病危险因子多元 logistic 回归分析以健康对照组为参照,分别对各疾病的危险因子进行 logistic 多元回归分析,结果见表 3。脑梗死组多元回归方程为 $\logit P = -9.732 + 0.268 HCY + 1.271 LDL + 1.745 HS-CRP + 0.009 Lp(a) + 0.007 UA (\chi^2 = 111.978, P < 0.05)$ 。冠心病组多元回归方程为 $\logit P = 13.924 + 0.352 HCY + 1.851 LDL + 1.55 HS-CRP + 0.012 Lp(a) + 0.012 UA (\chi^2 = 118.518, P < 0.05)$ 。动脉闭塞组多元回归方程为 $\logit P = -6.104 + 0.172 HCY + 1.359 LDL + 2.328 HS-CRP (\chi^2 = 45.978, P < 0.05)$ 。其中各危险因子均与脑梗死、冠心病的发病率呈正相关,且在脑梗死组中 HS-CRP 相关性最大,在冠心病组中 LDL 相关性最大,而在动脉闭塞组中,仅 HCY、LDL、HS-CRP 与动脉闭塞呈正相关。

3 讨 论

动脉粥样硬化疾病是由多种因子共同参与的复杂慢性炎症性病变。脑梗死、冠心病及动脉闭塞症只是动脉粥样硬化在全身各部位的发病表现而已。虽然目前对其发病机制尚未完全清楚,但影响其发生、发展的危险因子主要包括炎症因子及以代谢综合征为首要的脂质因子^[1-2]。探讨各危险因子在不同的相关疾病中的表达异同,可以为研究这类疾病发病机制提供依据,并为该种疾病的预防及早期检出奠定基础。

HS-CRP 是动脉粥样硬化发生、发展中最重要炎症因子,并可预测心脑血管疾病的危险性^[3-4]。HS-CRP 可使内皮细胞产生较高水平的纤溶酶原激活物抑制剂,同时还可激活补体系统,产生大量终、末产物,引起动脉内皮损伤,最终导致粥样硬化^[5]。本研究中,HS-CRP 在各病例组中含量都显著高于健康对照组,这与国内外报道是一致的^[6]。并且在各危险因子的多元回归分析中显示,HS-CRP 与脑梗死及动脉闭塞的发生密切相关 ($B = 1.745, 2.328, P < 0.05$)。

UA 在血液中溶解度低,高 UA 血症时,UA 易结晶析出,沉积于血管壁,直接损伤血管内膜,UA 能促进体内循环血小板活化而导致内皮功能障碍,在血栓形成早期促使血小板血栓形成,还可激活白细胞,促进白细胞与内皮细胞的黏附作用,并且和体内一系列炎症因子水平呈正相关^[7],是触发炎症反应和强免疫反应的受损细胞所发生的危险信号。本研究中,UA 在各病例组中的表达显著高于健康对照组,而且冠心病组中的 UA 含量明显高于脑梗死组和动脉闭塞组 ($P < 0.05$),这不仅反映了 UA 在动脉硬化斑块的形成中有重要作用,而且 UA 对冠状动脉粥样硬化的形成有更深的作用,这可能是由于 UA 与许多传统心血管危险因子相关联,会加速动脉粥样硬化,加剧血管内膜损害。

Lp(a) 水平主要由遗传因子决定,因其含 LDL 分子,LDL 多被氧化修饰,易于透入动脉内膜,Lp(a) 增高时,可促进平滑肌细胞的增殖,参与动脉粥样硬化形成^[8]。本组资料表明,病例组 Lp(a) 水平明显高于健康对照组,差异有统计学意义,但在本研究的动脉闭塞症多元回归分析中显示,Lp(a) 并未进入多元回归方程,表明 Lp(a) 在动脉闭塞症中的作用并不显著,这与卢舟等^[9]对动脉闭塞症患者的 Lp(a) 水平的分析有相同的地方。但本研究显示,在动脉闭塞症中,炎症因子的影响更显著,因此,HS-CRP 和该病的发生密切相关。

此外,国内外多项研究显示,HCY 水平增高与脑血管疾病密切相关^[10-12]。HCY 不仅损伤像颈动脉这样大血管的内皮细胞,同样累及颅内深穿支小血管,从而导致不同类型脑梗死^[13]。Eikelboom 等^[14]研究证实,高 HCY 血症与 ICS 的亚型有关,并且与大动脉病变的相关性最强,小动脉(下转第 44 页)

生透膜现象,尤其当蛋白质含量少时更易发生^[4]。Western blot 方法步骤多、时间长,缩短转膜时间有利于缩短实验时间和便于安排作息时间。有文献报道,慢转(4℃过夜)的效果好于快转(冰水中 2 h)^[5]。本实验结果说明,较大相对分子质量蛋白质 2 h 转膜时可通过增加电流强度来提高转膜效率。应注意,当增加转膜电流强度时,转膜最好在冰水中进行,以避免电流产热较多。

本次实验作者使用 0.45 μm 孔径的 NC 膜。NC 膜是蛋白印迹最广泛使用的转移介质,有蛋白结合能力强、背景低、信噪比高、使用简便、价格便宜等优点。通常 20×10³ 以上的蛋白质用 0.45 μm 孔径的 NC 膜,小于 20×10³ 可用 0.2 μm 膜,小于 7×10³ 用 0.1 μm 膜。除了 NC 膜,根据情况还可选择聚偏二氟乙烯(PVDF)膜、尼龙膜等,PVDF 膜优点较 NC 膜多,但价格较贵^[6]。

研究提示,对于相对分子质量大于 500×10³ 的超大蛋白质,用 SDS-PAGE 分离十分困难,可采用 SDS-琼脂糖凝胶电泳系统^[7]。结果提示,可用涵盖目标蛋白质相对分子质量的预染彩色标志蛋白质进行预实验,摸索转膜最佳条件,可在凝胶和膜上直接观察转膜效率,方法简便有效。

较大分子蛋白质(250×10³ 左右)湿法转膜,采取 300~400 mA 恒流电转 2 h(冰水中),转膜效率较高。

参考文献

[1] Kurien BT, Scofield RH. Ultrarapid electrophoretic transfer of

high and low molecular weight proteins using heat[J]. *Methods Mol Biol*,2009,536:181-190.
 [2] Hahn T, Münchow G, Hardt S. Electrophoretic transport of biomolecules across liquid-liquid interfaces[J]. *J Phys Condens Matter*,2011,23(18):184107.
 [3] 蒋滢,张波,府伟灵. 蛋白质组学技术发展及应用研究进展[J]. *国际检验医学杂志*,2009,30(3):252-254.
 [4] 董燕,张枫,梅柱中,等. 电转移中蛋白质的透膜现象及其对蛋白质印迹结果的影响[J]. *生物化学与生物物理进展*,2002,29(3):449-452.
 [5] 孔令泉,蒲莹晖,马仕坤,等. 快慢转法及不同滤膜和显色检测法在 Western blotting 中的应用分析[J]. *南方医科大学学报*,2008,28(1):26-29.
 [6] Kurien BT, Scofield RH. A brief review of other notable protein blotting methods[J]. *Methods Mol Biol*,2009,536:367-384.
 [7] Greaser ML, Warren CM. Efficient electroblotting of very large proteins using a vertical agarose electrophoresis system[J]. *Methods Mol Biol*,2009,536:221-227.

(收稿日期:2011-09-11)

(上接第 41 页)

病变次之。本研究显示,HCY 在病例组中均显著高于健康对照组,且脑梗死组显著高于动脉闭塞组,这可能与之前的报道在大小血管中的表达程度不同有关。

总之,HCY、Lp(a)、LDL、UA、HS-CRP 等相关危险因素对于心脑血管病变有重要意义,对动脉粥样硬化类疾病的预测有重要价值,研究其在相关类型疾病中的表达以及进行针对性早期检出及治疗有着积极的意义。

参考文献

[1] Ishizaka N, Ishizaka Y, Yamakado M, et al. Association between metabolic syndrome and carotid atherosclerosis in individuals[J]. *Atherosclerosis*,2009,2004(2):619-623.
 [2] 刘清阁,李飞,潘志信,等. 急性缺血性脑血管病患者代谢综合征与颈动脉粥样硬化的相关性研究[J]. *中华神经医学杂志*,2010,9(7):662-665.
 [3] 吴英,陈崇基. 超敏 C-反应蛋白与冠心病、心肌梗死的相关性探讨[J]. *国际检验医学杂志*,2009,30(1):36-38.
 [4] 宋玉莲,韩波. 同型半胱氨酸、超敏 C-反应蛋白、脂蛋白(a)的检测在急性冠脉综合征中的临床应用[J]. *国际检验医学杂志*,2010,31(3):290-292.
 [5] Packard RR, Libby P. Inflammation in atherosclerosis: from vascular biology to biomarker discovery and risk prediction[J]. *Clin Chem*,2008,4(1):24-38.
 [6] 张锦,来春林,刘晓红,等. 血清 hs-CRP、SAA 水平与冠状动脉粥

样硬化斑块稳定性的关系探讨[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*,2009,7(4):394-396.
 [7] 李岩,赵冬,刘静,等. 高尿酸血症与新发颈动脉粥样硬化斑块的关系[J]. *中华内科杂志*,2008,47(11):906-909.
 [8] Tsimikas S, Brilakis ES, Miller ER, et al. Oxidized phospholipids, Lp(a) lipoprotein and coronary artery disease[J]. *N Engl J Med*,2005,353(1):46-57.
 [9] 卢舟,王瑜,王厦. 动脉硬化性闭塞症患者脂蛋白(a)和血液流变学检测分析[J]. *国际检验医学杂志*,2009,30(11):1112-1113.
 [10] 余海峰,施慧毡,周剑宇,等. 血浆同型半胱氨酸与动脉粥样硬化相关分析[J]. *中国医师杂志*,2006,8(5):51.
 [11] Faraci FM, Lentz R. Hyperhomocysteinemia, oxidative stress, and cerebral vascular dysfunction[J]. *Stroke*,2004,35(2):345.
 [12] Gerdes VE, Hovinga HA, Tencate H, et al. Homocysteine and markers of coagulation and endothelial cell activation[J]. *Thromb Haemost*,2004,2(3):445.
 [13] 马勇,王磊. 血清同型半胱氨酸和脂蛋白(a)与缺血性脑梗死相关分析[J]. *检验医学与临床*,2010,7(11):1030-1031.
 [14] Eikelboom JW, Hankey GJ, Anand SS, et al. Association between high homocysteine and ischemic stroke due to large and small artery disease but not other etiologic subtypes of ischemic stroke[J]. *Stroke*,2000,31(5):1069.

(收稿日期:2011-09-01)