

• 临床检验研究论著 •

血清同型半胱氨酸和唾液酸联合检测对急性冠状动脉综合征诊断的意义*

邢跃雷, 郭广宏, 董振南, 田亚平[△]

(中国人民解放军总医院生化科, 北京 100853)

摘要:目的 研究血清同型半胱氨酸(Hcy)及唾液酸(SA)对急性冠状动脉综合征(ACS)的诊断价值和临床意义。方法 以 31 例急性心肌梗死(AMI)患者(AMI 组), 35 例不稳定型心绞痛(UA)患者(UA 组)及 53 例体检健康者(对照组)作为研究对象, 测定 Hcy、SA 及包括总胆固醇(CH)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白(HDL)、低密度脂蛋白(LDL)、载脂蛋白 A I (ApoA I)、载脂蛋白 B(APOB)及脂蛋白(a)[LP(a)]在内的血脂指标。采用统计学方法分析相关指标。结果 AMI 组血清 Hcy 及 SA 水平高于 UA 组及对照组($P < 0.05$); UA 组血清 Hcy 及 SA 水平高于对照组($P < 0.05$); 除 ApoA I 外, 其余血脂指标的血清浓度在各组间的差异均无统计学意义($P > 0.05$)。在本研究所有的生物标志中, 仅血清 Hcy 和 SA 与 AMI 或 UA 的发生有关($P < 0.05$)。血清 SA 单独检测诊断 AMI/UA 的 ROC 曲线下面积分别为 94.2%/94.5%, 远高于血清 Hcy 诊断 AMI/UA 时的 ROC 曲线下面积 84.4%/76.7%。联合血清 Hcy 后, 血清 SA 对 AMI 或 UA 的诊断水平得到进一步的加强。结论 测定血清 Hcy 和 SA 水平对 ACS 的预防及治疗监测具有重要的临床意义, 两者的联合检测可提高对 ACS 的诊断水平。

关键词:急性冠状动脉综合征; 同型半胱氨酸; 唾液酸

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.05.004

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)05-0519-02

Clinical significance of measurement of serum homocysteine and sialic acid levels in patients with acute coronary syndrome

Xing Yuelei, Guo Guanghong, Dong Zhennan, Tian Yaping

Department of Clinical Biochemistry, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Abstract: Objective To investigate and discuss the diagnostic values of serum homocysteine and sialic acid in patients with acute coronary syndrome, which comprised acute myocardial and unstable angina in this study. **Methods** 31 cases of acute myocardial infarction (AMI), 35 cases of unstable angina (UA), and 53 cases of healthy control were included into this study. The serum levels of Hcy, SA and serum lipids which consisted of CH, TG, HDL, LDL, ApoA I, ApoB and Lp(a), were measured. **Results** The levels of serum Hcy and SA in AMI were significantly higher than in the healthy control and in UA, meanwhile the serum level of these two biomarkers in UA were also high, compared to the healthy control. However, except APOA I, serum levels of the other lipids had no significant difference among 3 groups. For AMI, area under ROC curves (AUC) values of serum SA for AMI and UA were 94.2% and 94.5%, which were great higher than of serum Hcy (84.4% for AMI and 76.7% for UA). However, combined serum Hcy, the diagnostic ability of serum SA for AMI or UA could be highly improved. **Conclusion** The measurement of the levels of the serum Hcy and SA could have important clinical significance in prevention, treatment and monitoring for ACS. Combination of serum Hcy and serum SA could further enhance the diagnostic value of ACS.

Key words: acute coronary syndrome; sialic acid; homocysteine

急性冠状动脉综合征(acute coronary syndrome, ACS)是以冠状动脉粥样硬化(coronary atherosclerosis, CA)斑块破裂或糜烂,继发完全或不完全闭塞性血栓形成为病理基础的一组临床综合征,包括不稳定型心绞痛(unstable angina, UA)和心肌梗死(myocardial infarction, MI)等一系列临床症状。有研究表明血清同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)^[1-3]与唾液酸(sialic acid, SA)^[4-6]水平与 ACS 患者冠状动脉病变程度具有相关性。笔者 ACS 患者进行了血清 Hcy、SA 联合检测,旨在探讨二者联合检测的临床价值。结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本院急诊科或心血管内科确诊 ACS 患者 66 例,其中急性心肌梗死(acute MI, AMI)患者 31 例(AMI 组),男 24 例,女 7 例,年龄 34~85 岁,平均 62 岁;UA 患者 35 例(UA 组),男 23 例,女 12 例,年龄 39~80 岁,平均 59 岁。本院体检健康者 53 例作为对照组,男 32 例,女 21 例,年龄 36~80

岁,平均 60 岁,有以下情况之一者不纳入对照组:心电图异常,血清心肌酶谱异常,血清肌钙蛋白 T 异常,患有严重肝、肾衰竭,受试前 1 个月有重大手术或外伤史,患有慢性炎症性疾病或慢性感染性疾病,处于妊娠期。

1.2 方法 所有受试对象均采集末抗凝空腹静脉血,以离心半径 18 cm, 3 500 r/min 离心 7 min 后分离血清标本。患者组受试对象于接受治疗前采集血液标本。采用罗氏试剂在日立 7600 全自动生化分析仪上进行 Hcy、胆固醇(cholesterol, CH)、三酰甘油(triacylglycerol, TG)、高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)、低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)、载脂蛋白 A I (apolipoprotein A I, ApoA I)、载脂蛋白 B(apolipoprotein B, ApoB)、脂蛋白(a)[lipoprotein (a), Lp(a)]的检测。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计学软件进行数据分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用秩和检验, $P <$

* 基金项目: 国家科技支撑计划课题(2008BAD96B11)。 [△] 通讯作者, E-mail: tianyp61@gmail.com

0.05 为比较差异有统计学意义。采用 ROC 曲线、联合预测因子 Lβ(Y) 和正确诊断指数 (Youden 指数; Youden index, YI) 分析不同检测指标的诊断临界值及诊断价值。

2 结果

2.1 各组受试对象各指标检测结果 各组受试对象各指标检测结果见表 1。

表 1 各组受试对象各指标检测结果 ($\bar{x} \pm s$)

组别	Hcy ($\mu\text{mol/L}$)	SA (g/L)	CH (mmol/L)	TG (mmol/L)	HDL (mmol/L)	LDL (mmol/L)	ApoAⅠ (g/L)	ApoB (g/L)	Lp(a) (g/L)
对照组	12.49±5.19	0.57±0.04	4.67±1.08	1.38±0.69	1.36±0.37	2.87±0.75	1.42±0.27	0.81±0.17	0.16±0.10
UA 组	18.12±8.30*	0.68±0.07*	5.75±8.03	1.83±0.95*	1.07±0.22*	2.75±0.86	1.20±0.22*	0.88±0.24	0.19±0.13
AMI 组	25.65±16.22*△	0.76±0.12*△	4.55±0.90	1.74±0.80*	1.03±0.22*	2.78±0.75	1.09±0.19*△	0.85±0.20	0.18±0.15

*: $P < 0.05$, 与对照组比较; △: $P < 0.05$, 与 UA 组比较。

2.2 血清 Hcy、SA 诊断 UA 的 ROC 曲线 血清 Hcy、SA 单独诊断 UA 的 ROC 曲线下面积分别为 76.7% 和 94.5%; 建立 SA 和 Hcy 的联合预测因子 Lβ(Y) 后, 诊断 UA 的 ROC 曲线面积增高至 96.1%。

2.3 血清 Hcy、SA 单独诊断 AMI 的 ROC 曲线 血清 Hcy、SA 单独诊断 AMI 的 ROC 曲线下面积分别为 84.4% 和 94.2%; 建立 SA 和 Hcy 的联合预测因子 Lβ(Y) 后, 诊断 AMI 的 ROC 曲线面积增高至 98.7%。

2.4 临界值分析 YI 最大时, 在 AMI/UA 诊断中, 血清 Hcy、SA 的浓度分别为 14.03/13.72 $\mu\text{mol/L}$ 和 0.63/0.61 g/L; 以血清 SA 诊断 AMI 和 UA 时, 其 YI 均超过 0.7。联合血清 Hcy, 可进一步提高血清 SA 的诊断水平, 此时联合因子在 AMI 组和 UA 组的临界值分别为 74.05 和 67.39。见表 2。

膜 SA 及表面负电荷减少, 而血清 SA 增高。另有报道, 冠心病、糖尿病患者 SA 含量显著升高, Lindberg 等^[11] 对当地居民 20 年随访结果表明, 心血管疾病的死亡率与血清 SA 浓度平行增高有关, 认为 SA 血含量升高反映了 AS 的存在与发展。

本文结果表明, AMI 患者和 UA 患者的血清 Hcy 和 SA 含量明显高于正常, 而且 AMI 患者血清 Hcy 和 SA 含量高于 UA 患者, 提示血清 Hcy 和 SA 的检测可帮助临床对 ACS 的诊断和监测, 并区分两种类型的心血管疾病, 但是其在两种疾病中的升高水平和临界值的界定还需进一步研究。Hcy 和 SA 联合检测的 ROC 曲线显示, Hcy 和 SA 联合检测比单独检测的敏感性高, 对于 ACS 的诊断具有重要的临床意义。同时也表明, 与血清 Hcy 相比, 血清 SA 对 MI 或心绞痛的诊断更具有诊断价值, 但结合血清 Hcy 后, 可进一步提高血清 SA 对这两种疾病的诊断水平。

表 2 血清 SA 和 Hcy 诊断 AMI 或 UA 的临界值

组别	临界值	灵敏度 (%)	特异度 (%)	YI
AMI 组				
血清 SA	0.63 g/L	90.62	94.34	0.85
血清 Hcy	14.03 $\mu\text{mol/L}$	81.25	79.24	0.60
联合因子	74.05	96.87	94.34	0.91
UA 组				
血清 SA	0.61 g/L	94.44	81.13	0.76
血清 Hcy	13.72 $\mu\text{mol/L}$	72.22	77.36	0.50
联合因子	67.39	86.11	96.34	0.80

3 讨论

Hcy 又称高半胱氨酸, 是一种反映血管损伤的含硫非必需氨基酸, 为蛋氨酸的中间代谢产物, 即体内蛋氨酸经脱甲基等一系列反应生成 Hcy。有研究表明, Hcy 与 CA 具有显著相关性, 且血清 Hcy 水平与冠状动脉病变程度及预后有关, 认为血清 Hcy 浓度升高是诱发心血管疾病的一个独立危险因素^[7-8]。

SA 广泛分布于各种细胞膜上, 是细胞膜糖蛋白和糖脂重要成分, 参与构成细胞膜表面受体, 与细胞表面多种生理功能密切相关^[9]。存在于红细胞和血管内皮细胞表面的糖萼由膜糖蛋白及糖脂的寡糖链组成, SA 位于寡糖链末端。切变力、感染等因素导致 SA 消除, 动脉内皮细胞糖萼损害, 影响内皮细胞功能, 激发内皮细胞摄取含过氧化脂质的 LDL, 抑制前列腺素 I₂ (prostaglandin I₂, PGI₂) 合成, 产生有害于内皮细胞的过氧化物, 进而诱发 ACS^[10]。AMI 患者 SA 酶活力增高, 红细胞

有研究表明, ACS 患者血清 SA 与 TG 水平呈正相关^[12]。但本研究显示, 除 ApoA1 外, CH、TG、HDL、LDL、ApoB、Lp(a) 在 ACS 患者与健康者的差异没有统计学意义 ($P > 0.05$)。笔者认为, 这与人们生活水平改善, 对健康状况更为重视有关, 也与大部分 ACS 患者长期服用降脂药, 使其血脂维持在正常水平有关。因此, 尽管血脂监测曾被认为有助于降低心血管疾病的发病风险, 但对于病情预测的效果仍不明显。

结合本研究结果, 笔者认为血清 Hcy 和 SA 联合检测对于 ACS 患者具有一定的潜在意义, 对二者的长期监测更有助于判断 ACS 发病风险和病程进展, 对 ACS 的预防及治疗均具有重要的临床意义。

参考文献

- [1] 雷小平. 血清同型半胱氨酸水平与冠状动脉病变的相关性分析 [J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(6): 619-620.
- [2] 牛春峰, 王新春, 于汉立, 等. 血清同型半胱氨酸浓度与冠心病相互关系的研究 [J]. 中国危重病急救医学杂志, 2001, 13(3): 153.
- [3] 李朝辉. 血清同型半胱氨酸对冠心病的诊断价值 [J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(4): 378-379.
- [4] 滕士阶. 冠心病患者血内皮素和唾液酸联合检测的临床意义 [J]. 淮海医药, 2006, 24(1): 37.
- [5] 李莉, 李军, 张素芳. 急性心肌梗死患者血清唾液酸含量的变化及意义 [J]. 临床心血管病杂志, 2011, 17(2): 90-91.
- [6] 宋丽新, 赵卫华, 禹红梅, 等. 急性冠脉综合征患者血清唾液酸与冠脉病变血管之间的关系 [J]. 中国医科大学学报, 2006, 35(3): 308-309.
- [7] 张春玲, 鞠振宇, 孙静, 等. 国人血浆总同型半胱氨酸水平与冠心病关联 [J]. 中国分子心脏病学杂志, 2003, 3(4): 215-222. (下转第 523 页)

区地理环境、流行特点以及 Ro 基因型变异不同,各地区恙虫病流行特征也有所不同^[3-5]。恙虫病发病初期临床症状不典型,且无特异性实验诊断方法,难以实现及时确诊和早期治疗,因此迫切需要建立特异性强和敏感性高的早期诊断方法。本研究在常规 qPCR 基础上对试验条件进行了优化^[6-8]:(1)采用 TaqMan-MGB 探针,提高了扩增反应的特异性。采用 TaqMan-MGB 探针时,每扩增 1 个特异性产物只释放 1 个分子荧光物质,且检测信号不受非特异性产物的影响,有效提高了检测特异性。此外,该探针 3'端的淬灭基团与报告基团的空间位置更为接近,因此,可降低非特异性荧光背景,也有利于提高检测特异性。(2)优化了引物设计,增强了引物特异性,当基因和引物二聚体的溶解温度确定后,在该溶解温度上进行“温度描绘”,维持 15 s 高温扩增,可避免非特异性产物的形成。同时,所设计的 2 条引物在 3'端不能互补,且 GC 含量基本一致,可减少引物二聚体的形成,提高了检测特异性和灵敏度。有学者针对 Sta56 基因序列设计特异性引物并以 qPCR 检测疑似血标本,阳性率达 73%^[3-4]。本研究以上述经条件优化的 qPCR 检测 660 例发热(体温 38.5℃ 以上)患者外周血标本,检出 224 例为 Ro DNA 阳性,阳性率为 33.94%。

本研究采用 IFA 检测 224 例 Ro 感染患者血清 Ro 抗体,抗体阳性率为 51.79%(116/224),108 例 Ro 早期感染患者均为阴性,与血清 Ro 抗体在病程后期或恢复期才能检出有关^[8]。恙虫病早期快速诊断主要依靠分子生物学技术。本研究采用优化的 qPCR 技术在 Ro 早期感染患者外周血中检出 Ro DNA,最低检测限为 5 copy/ μ L DNA,说明优化的 qPCR 有较高灵敏度。朱丽娜等^[9]的研究显示 qPCR 具有 Ro 种特异性,检测灵敏度约为 nPCR 的 100 倍,且重复性好。本研究中 qPCR 检测结果批内变异系数为 0.05%~1.6%,批间变异系数为 1.4%~3.1%,也说明 qPCR 具有良好重复性。

本研究中,Ro 抗体阳性患者 IFA 检测血清型均为 Gilliam 型,未检出 Karp 和 Kato 型,qPCR 也提示为 Gilliam 型,鼠 DNA 扩增片段不同于国际参考株 Gilliam、Karp、Kato,经 nPCR 分型证实为 Kawasaki 型。Paris 等^[10]在 2009 年以 groEL 基因为靶序列,构建了高度敏感的 qPCR。同年,Sonthayanon 等^[11]应用 qPCR 检测了患者外周血 Ro 16S rRNA 含量,结果表明其含量与病情呈正相关。本研究证实患病时间长的 Ro 感染者外周血 Ro DNA 浓度高于患病时间短的患者,与上述报道基本一致。

本研究中的同源性分析显示,粤北山区 Ro 感染患者和鼠类所感染 Ro 的核苷酸序列同源性为 100.0%,与 Kawasaki 型的同源性为 96.3%,提示与日本 Kawasaki 型存在明显亲缘关系。部分鼠类感染 Ro 与 TA686 型的同源性为 78.5%,提示与泰国 TA686 型存在明显亲缘关系。可见粤北山区 Ro 感染至少存在 Gilliam 型、Kawasaki 型相似株、TA686 型相似株。

粤北山区海拔 800~2 000 m,属亚热带地区,气候温暖、潮湿,年平均气温 16~20℃,年平均相对湿度 78%~96%,易出现 Ro 孳生和流行。黄毛鼠是该地区 Ro 主要贮存宿主,也是野外优势鼠种,活动范围大^[12]。本研究证实可感染人及鼠类的 Ro 核苷酸序列同源性为 100.0%,说明粤北山区恙虫病自然疫源地已经形成,感染好发于 6~9 月,是夏季型疫源地。

参考文献

- [1] 周杰,李德昌,卢志坚. 粤北儿童与成人恙虫病临床特点对比分析[J]. 华夏医学,2006,19(4):641-643.
- [2] 张联标,黄履芳. 恙虫病致心脏损害 86 例临床分析[J]. 河北医学,2006,12(11):1143-1144.
- [3] Bakshi D, Singhal P, Mahajan SK, et al. Development of a real-time PCR assay for the diagnosis of scrub typhus cases in India and evidence of the prevalence of new genotype of *O. tsutsugamushi*[J]. Acta Tropica,2007,104(1):63-71.
- [4] Lu HY, Tsai KH, Yu SK, et al. Phylogenetic analysis of 56-kDa type-specific antigen gene of *Orientia tsutsugamushi* isolates in Taiwan[J]. Am J Trop Med Hyg,2010,83(3):658-663.
- [5] 赖名耀,吴娜,柳爱华,等. 恙虫病东方体检测及分型的分子生物学技术进展[J]. 中国病原生物学杂志,2010,5(10):782-798.
- [6] Cheng A, Magdaleno S, Vlassov AV. Optimization of transfection conditions and analysis of siRNA potency using real-time PCR[J]. J Virol Methods,2011,175(1):80-84.
- [7] Van Stelten A, Kreman TM, Hall N, et al. Optimization of a real-time RT-PCR assay reveals an increase of genogroup I norovirus in the clinical setting[J]. Methods Mol Biol,2011,764(1):199-213.
- [8] 王誓闻,张丽娟,王园园,等. 普通 TaqMan 探针及 TaqMan MGB 探针 real-time PCR 检测物形体 msp-2 基因方法的建立与比较[J]. 疾病监测,2011,26(1):12-14.
- [9] 朱丽娜,张品波,陈梅岭,等. 实时荧光定量 PCR 检测恙虫病东方体[J]. 中国人兽共患病学报,2006,22(3):228-231.
- [10] Paris DH, Aulkkant N, Jenjaroen K, et al. A highly sensitive quantitative real-time PCR assay based on the groEL gene of contemporary Thai stains of *Orientia tsutsugamushi*[J]. Clin Microbiol Infect,2009,15(5):488-495.
- [11] Sonthayanon P, Chierakul W, Wuthiekanun V, et al. Association of high *Orientia tsutsugamushi* DNA loads with disease of greater severity in adults with scrub typhus [J]. J Clin Microbiol,2009,47(2):430-434.
- [12] 吴家兵. 我国恙虫病疫源地研究进展[J]. 安徽预防医学杂志,2010,16(6):467-469.

(收稿日期:2011-11-19)

(上接第 520 页)

- [8] Tanne D, Haim M, Goldbourt U, et al. Prospective study of serum homocysteine and risk of ischemic stroke among patients with pre-existing coronary heart disease[J]. Stroke,2003,34(3):632-636.
- [9] Narayanan S. Sialic acid as a tumor marker[J]. Ann Clin Lab Sci, 1994,24(4):376-384.
- [10] Watts CF, Crook MA, Haq S, et al. Serum sialic acid as an indicator of change in coronary artery disease[J]. Metabolism,1995,44

- (2):147-148.
- [11] Lindberg C, Eklund GA, Gullberg B, et al. Serum sialic acid concentration and cardiovascular mortality [J]. BMJ, 1991, 302 (6769):143-146.
- [12] 刘大男,罗勇,赵慧强,等. 冠心病患者血清唾液酸含量变化及其与血脂的相关性分析[J]. 贵州医药,2001,25(6):494-495.

(收稿日期:2011-11-09)