

• 临床检验研究论著 •

# 神经管畸形孕母 18~30 周羊水叶酸、同型半胱氨酸、锌浓度变化分析

张 翀, 赵翠生, 王红洲, 邱伟涛, 贺 锐

(甘肃省妇幼保健院, 甘肃兰州 730050)

**摘要:**目的 通过比较神经管畸形孕母与正常妊娠孕母 18~30 孕周羊水叶酸、同型半胱氨酸(Hcy)及锌浓度的差异,探讨孕中晚期羊水叶酸、Hcy 及锌水平与神经管畸形发生的关系。方法 对 184 例健康孕妇和 60 例孕神经管畸形胎儿孕母 18~30 孕周羊水进行叶酸、Hcy 和锌浓度测定。结果 正常妊娠 18~30 孕周羊水叶酸浓度与孕周呈正相关关系,  $r=0.253, P=0.036$ ; 羊水 Hcy 及锌浓度与孕周呈负相关关系, 相关性分别为  $r=-0.282, P=0.024$ ;  $r=-0.260, P=0.031$ 。神经管畸形孕母羊水叶酸、Hcy 及锌与孕周之间无明显相关关系,  $P>0.05$ 。神经管畸形孕母羊水叶酸、Hcy 浓度[中位数(四分位间距)]分别为 11.34(8.45)ng/mL 和 5.75(9.47) $\mu\text{mol/mL}$ , 健康孕母羊水叶酸、Hcy 浓度分别为 16.85(6.43)ng/mL 和 3.50(2.37) $\mu\text{mol/L}$ , 两组间差异有统计学意义,  $P<0.05$ 。结论 神经管畸形孕母 18~30 周羊水叶酸浓度低于正常妊娠孕母, 同型半胱氨酸浓度高于正常妊娠孕母。

**关键词:** 羊水; 叶酸; 半胱氨酸; 锌; 孕中晚期

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.03.010

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)03-0280-02

## Analysing the changing rules of amniotic fluid folic acid, homocysteine and zinc in neural tube defects at 18-30 pregnant weeks

Zhang Chong, Zhao Cuisheng, Wang Hongzhou, Qiu Weitao, He Rui

(Gansu Provincial Maternity and Child Care Hospital, Lanzhou, Gansu 730050, China)

**Abstract: Objective** To compare the difference of amniotic fluid folic acid, homocysteine(Hcy) and zinc concentrations in neural tube defects pregnancy and normal pregnancy at 18-30 pregnant weeks, and Analyse the changing rules of amniotic fluid folic acid, Hcy and zinc in pregnancy with neural tube defect. **Methods** testing amniotic fluid folic acid, Hcy and zinc concentration in 184 cases of normal pregnant women and 60 pregnant women with neural tube defect. **Results** There was a positive correlation between normal pregnancy gestational age and amniotic fluid folic acid concentration at 18-30 gestational age,  $r=0.253, P=0.036$ ; there were negative correlations in amniotic fluid Hcy and zinc concentrations with gestational age,  $r=-0.282, P=0.024$ ;  $r=-0.260, P=0.031$ . there were no obvious relationships in amniotic fluid folic acid, Hcy and zinc with gestational age in Neural tube defect group,  $P>0.05$ . The differences is statistically significant between Neural tube defect group and normal pregnant women in amniotic fluid folic acid and Hcy concentrations,  $P<0.05$ . **Conclusion** There were lower folic acid concentration and higher homocysteine level in neural tube defect pregnancy than normal pregnancy.

**Key words:** amniotic fluid; folic acid; cysteine, zinc; middle-late pregnant

神经管畸形(neural tube defects, NTDs)是一组发病率较高的出生缺陷,其发病率在我国南方地区为 1/1 000, 北方地区为 4.8/1 000, 而且呈上升趋势。神经管畸形是遗传和环境因素共同作用的结果, 叶酸缺乏<sup>[1]</sup>、高同型半胱氨酸(Hcy)血症<sup>[2]</sup>、锌缺乏<sup>[3-4]</sup>等是 NTDs 发生的重要环境因素。目前临床使用的神经管畸形产前筛查和诊断方法有血清学、影像学及羊水检查等方法, 但都存在不足, 有较高的假阳性率、假阴性率等不确定性<sup>[5]</sup>, 给孕妇本人和家庭带来严重精神负担, 进一步寻找较高筛查灵敏度和特异度的指标仍是当务之急, 孕中晚期羊水叶酸、Hcy 及锌的变化与神经管畸形发生关系分析可为以上指标在神经管畸形筛查中的应用提供一些理论帮助。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 以 2006~2011 年在甘肃省妇幼保健院接受产前检查的孕妇为目标研究人群。收集孕妇的产检资料(孕妇年龄、孕次、文化程度、经济状况、体质量指数、吸烟以及孕早期感染及叶酸补充状况), 并对孕妇进行随访至妊娠终止。

**1.1.1 神经管畸形组** 产前筛查及产前诊断并经治疗性引产及分娩后证实有胎儿神经管畸形(包括无脑儿、脑膨出、脑脊膜

膨出、脊柱裂等)的孕妇为神经管畸形组 60 例, 年龄(30 $\pm$ 3)岁, 年龄范围(24~31 岁), 孕周范围(18~30 孕周)。

**1.1.2 健康对照组** 选择与病例组同孕龄在本院产前检查的, 由于唐筛、神经管畸形筛查呈高危以及其他原因需做羊水穿刺检查且随访至妊娠结束证实分娩正常新生儿的孕妇 184 例。排除该孕龄阶段有细菌感染病史、TORCH 阳性、妊娠期高血压疾病、糖尿病、甲状腺疾病、急慢性肝脏疾病等内外科并发症及妊娠并发症、过度肥胖等孕妇, 平均年龄(30 $\pm$ 3)岁, 年龄范围(25~35 岁), 孕周范围(18~30 孕周)。

**1.2 方法** (1)羊水标本的采集: 孕妇知情同意后, 局麻, 于下腹部穿刺抽取羊水 5 mL 于无菌试管, 1 h 内以 2 000 r/min 离心 10 min, 血清置于-80℃保存至检测日。(2)检测方法: 羊水叶酸浓度在东曹 AIA-600 II 荧光磁微粒酶免疫分析仪上进行检测; 羊水 Hcy 浓度采用颗粒增强透射免疫比浊法, 羊水锌采用酶法在罗氏 Modular P800 型全自动生化分析仪上进行检测。

**1.3 统计学处理** 计量资料以中位数(四分位间距)表示, 采用 SPSS 16.0 统计软件进行统计分析, 用 Kruskal-Wallis 检验

进行羊水各生化指标不同孕周组间的比较,采用 Spearman 秩相关性分析进行各指标与孕周变化之间的关系分析,采用 ROC 曲线分析各指标筛查的灵敏度和特异度。

## 2 结 果

**2.1 神经管畸形组与健康对照组一般情况比较** 本研究为病例对照研究,纳入研究的各组的临床特点及人群资料如表 1 所示,从中可见各组间民族特点、孕周、年龄、胎儿性别、体质量指数、吸烟史等方面没有显著差别,但在经济收入、孕早期叶酸补充、孕期感染等方面,神经管畸形组和健康对照组间的差异有统计学意义,  $P < 0.05$ 。

**2.2 不同孕周组羊水叶酸、Hcy 及锌的检测结果分析** 本组数据经正态性分布检验显示为非正态分布,计量资料数据用中位数(四分位间距)表示。该研究按孕周分成 3 组,即 18~21 孕周、22~25 孕周、26~30 孕周组,羊水叶酸、Hcy 及锌在不同孕周组的检测结果见表 2,经 Spearman 秩相关分析显示,健康孕妇在 18~30 孕周羊水 Hcy、锌浓度随孕周的增加逐渐降低,与孕周呈明显的负相关关系,  $r = -0.282, P = 0.024$ ;  $r = -0.260, P = 0.031$ 。羊水叶酸浓度随孕周的增加呈明显的增

加趋势,  $r = 0.253, P = 0.036$ 。神经管畸形组在 18~30 孕周羊水叶酸、Hcy、锌浓度的变化与孕周的增加无明显的相关关系。

表 1 神经管畸形组与健康对照组临床资料比较

项目	神经管畸形组 (n=60)	健康对照组 (n=184)
少数民族(n)	5	18
年龄(岁)	30±3	30±3
孕周(孕周)	18~30	18~30
低收入(n)	28	85
体质量指数	25.8±4.7	25.2±4.2
胎儿性别比(男:女, n:n)	9:7	9:7
吸烟史(n)	3	8
孕早期补充叶酸(n)	10*	125
孕早期感染(n)	12*	16

\*:  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

表 2 不同孕周组羊水叶酸、Hcy 及锌的检测结果

孕周分期	健康对照组			神经管畸形组		
	叶酸(ng/mL)	Hcy(μmol/L)	锌(μmol/L)	叶酸(ng/mL)	Hcy(μmol/L)	锌(μmol/L)
18~21 周	10.27(5.51)	4.89(2.56)	4.85(6.11)	10.74(12.82)	5.5(5.3)	4.83(12.78)
22~25 周	17.04(5.14)	2.9(3.05)	2.20(2.89)	12.83(9.28)	12.4(11.6)	5.15(6.62)
26~30 周	17.68(5.23)	2.7(4.08)	1.95(10.56)	10.25(5.69)	5.6(4.4)	2.45(4.69)
r	0.253	-0.282	-0.260	-0.057	-0.011	-0.093
P 值	0.036	0.024	0.031	0.727	0.946	0.570

**2.3 羊水叶酸、Hcy、锌在神经管畸形筛查中的作用分析** 采用 Komogorov-Smirnov 非参数检验方法比较神经管畸形组与健康对照组羊水叶酸、Hcy、锌的差异,18~30 孕周神经管畸形组羊水叶酸浓度明显低于健康对照组,Hcy 浓度明显高于健康对照组,其差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );羊水锌浓度在两组间无明显差异( $P > 0.05$ ),结果见表 3。

表 3 神经管畸形组与健康对照组羊水叶酸、Hcy 及锌的比较

指标	神经管畸形	健康对照组	Z 值	P 值
叶酸(ng/mL)	11.34(8.45)	16.85(6.43)	1.603	0.018
Hcy(μmol/L)	5.75(9.47)	3.50(2.37)	1.853	0.002
锌(μmol/L)	3.20(6.52)	3.40(6.84)	1.030	0.106

## 3 讨 论

孕早期叶酸缺乏是神经管畸形发生的危险因素已被世界所接受,众多研究表明,孕前及孕早期补充叶酸对 NTDs 的发生具有预防作用<sup>[6]</sup>。本实验室以往对健康妊娠血清叶酸的 analysis 显示,血清叶酸在孕早中期随孕周的增加逐渐降低,到孕晚期后又逐渐升高,这种状况与孕妇的饮食状况相符。而本研究 18~30 孕周组羊水叶酸浓度随孕周的增加呈逐渐升高趋势,与血清叶酸的变化趋势相反,可见羊水叶酸水平是一个逐渐积累的过程,它与孕妇血清叶酸之间没有直接的交换关系,它能

较客观地反映孕早中期孕妇血清叶酸的储备状况。本研究通过病例对照分析发现,在 18~30 孕周,神经管畸形组羊水叶酸平均浓度明显低于健康对照组,进一步表明孕早期叶酸缺乏是导致神经管畸形发生的主要原因之一。

20 世纪 90 年代初人们发现生育过和怀有 NTDs 胎儿的孕妇血中 Hcy 水平明显高于健康孕妇,表明高 Hcy 血症可能是 NTDs 发生的危险因素,曾有流行病学研究表明,妊娠期间由于雌二醇增高,血容量增加等生理反应或母体和胎儿对甲硫氨酸的需求增多,血 Hcy 浓度一般较低<sup>[7-8]</sup>。该研究对健康妊娠孕中晚期羊水 Hcy 的分析显示,健康妊娠 18~30 孕周羊水 Hcy 随孕周的增加逐渐降低并保持在低水平,神经管畸形组羊水 Hcy 的变化与孕周之间没有明显的相关关系,其值较健康对照组略高,这与以往的研究基本一致<sup>[9-10]</sup>,表明高 Hcy 血症可能是神经管畸形发生的主要因素,而且羊水同型半胱氨酸在区别神经管畸形时也有一定的作用。

有研究表明低锌也是神经管畸形发生的危险因素<sup>[3-4]</sup>。本研究对孕中晚期羊水锌的分析显示,健康妊娠 18~30 孕周羊水锌与孕周间存在负相关关系,神经管畸形孕妇羊水锌与孕周间无相关性,健康孕妇与神经管畸形组羊水锌浓度的差异无统计学意义,其原因可能是样本量小所致。

综上所述,孕期 18~30 孕周间健康孕妇与神经管畸形孕妇羊水叶酸、Hcy 浓度间差异有统计学意义,需大样本孕周进一步验证,为以上指标在神经管畸形筛查中(下转第 284 页)

幽门螺杆菌,因此损伤胃黏膜的因素持续存在,进而导致了疾病的复发。

幽门螺杆菌引起消化性溃疡的机制与其所表达和分泌的 Cag 蛋白、尿素酶等密切相关。其中,Cag 蛋白能直接作用于胃黏膜的上皮细胞,诱导细胞凋亡、引起细胞坏死,进而导致胃黏膜损伤和胃溃疡的发生<sup>[3]</sup>。尿素酶(Urease)虽然不能直接作用于胃和十二指肠黏膜,但是对于幽门螺杆菌在胃和十二指肠黏膜上的定植和寄居具有极为重要的意义。尿素酶能够通过水解尿素释放  $\text{NH}_4^+$  与胃酸发生中和反应,进而保证幽门螺杆菌能够耐受胃部酸性环境、穿过胃黏液的物理屏障而定植于胃和十二指肠黏膜表面。尿素酶占幽门螺杆菌所合成分泌蛋白的 6%~10%,含量极为丰富<sup>[4-7]</sup>。该酶是一个相对分子质量 550 000 的金属蛋白酶,由尿素酶 A(UreA)和尿素酶 B(UreB)两个亚单位构成,呈六聚体结构。相关研究显示,UreB 是尿素酶的活性亚基,对尿素酶的生物学功能起决定性的作用<sup>[8-9]</sup>。由上述研究可知,观察组 UreA 的 mRNA 和蛋白水平与对照组差异无统计学意义( $P>0.05$ );UreB 的 mRNA 和蛋白水平均明显高于对照组( $P<0.05$ )。这就进一步验证了尿素酶 UreB 亚基在消化性溃疡发生发展过程中起着至关重要的作用。

消化性溃疡的发生与年龄、饮食因素、精神因素以及吸烟、饮酒等密切相关<sup>[10-12]</sup>,为了进一步探讨这些因素对于尿素酶 UreB 表达量的影响,笔者进行了单因素分析和多因素分析。通过单因素分析可知,消化性溃疡 UreB 表达量大于或等于 100 的患者中,年龄大于或等于 40 岁的例数与 UreB<100 的患者比较差异无统计学意义( $P>0.05$ );饮食规律的例数明显少于 UreB<100 的患者( $P<0.05$ ),有吸烟史、酗酒史和焦虑抑郁情绪的例数明显多于 UreB<100 的患者。这就说明饮食习惯、精神因素、吸烟史和酗酒史与 UreB 表达量的升高密切相关。为了进一步探讨上述因素与 UreB 表达量的关系,笔者以 UreB 的表达量为因变量进行了 Logistic 回归分析。有结果可以看出,UreB 表达量升高与吸烟史、酗酒史和精神状态呈正相关,与饮食习惯呈负相关。这就说明吸烟、酗酒以及焦虑抑郁情绪可以促进 UreB 的表达,是消化性溃疡发生的危险因素;规律饮食可以抑制 UreB 的表达,是消化性溃疡发生的保护因素。

(上接第 281 页)

的应用提供一些理论帮助。

## 参考文献

- [1] Blom HJ. Folic acid, methylation and neural tube closure in humans[J]. Birth Defects Res A Clin Mol Teratol, 2009, 85(4): 295-302.
- [2] van der Put NM, van Straaten HW, Trijbels FJ, et al. Folate, homocysteine and neural tube defects: an overview[J]. Exp Biol Med, 2001, 226(4): 243-270.
- [3] Zeycek D, Soran M, Cakmak A, et al. Serum copper and zinc levels in mothers and cord blood of their newborn Infants with neural tube defects: a case-control study[J]. Indian Pediatr, 2009, 46(8): 675-80.
- [4] 张卫,任爱国,裴丽君,等.微量元素与神经管畸形关系的病例对照研究[J].中华流行病学杂志,2005,26(10):772-776.
- [5] 陈志杰,陈意振,殷美芳,等.神经管畸形的产前筛查[J].中国优生与遗传杂志,2005,13(7):103.

综合以上讨论可以得出结论,消化性溃疡患者外周血尿素酶 UreB 的表达量明显升高,并且与饮食因素、精神因素、吸烟、酗酒密切相关。

## 参考文献

- [1] 关新,胡掌朝,孟君杰.3 065 例尿素<sup>14</sup>C 呼气试验结果的分析[J].中国实验诊断学,2011,15(12):2150-2150.
- [2] 李海侠,吴亚男,王宪灵.抗幽门螺旋杆菌尿素酶 B 亚单位(UreB)单克隆抗体抗原识别表位的初步鉴定[J].免疫学杂志,2007,23(2):184-187.
- [3] 王学海,毛亚飞,严杰.幽门螺杆菌 UreB 抗原表位预测及其有效表位噬菌体展示的筛选[J].中华微生物学和免疫学杂志,2007,27(5):432-436.
- [4] 杨武晨,郭红.幽门螺杆菌尿素酶 B 亚单位的疫苗研究进展[J].中国人兽共患病学报,2011,27(12):1139-1141.
- [5] Leal YA, Flores LL, Fuentes-Panana EM. <sup>13</sup>C-urea breath test for the diagnosis of Helicobacter pylori infection in children: a systematic review and meta-analysis[J]. Helicobacter, 2011, 16(4): 327-337.
- [6] 李虎,谭礼让,易鸣.<sup>14</sup>C 呼气试验与快速尿素酶试验检测幽门螺杆菌感染的对比研究[J].中国当代医药,2011,18(33):74-75.
- [7] Weeks DL, Sachs G. Sites of pH regulation of the urea channel of Helicobacter pylori[J]. Mol Microbiol, 2009, 40(6): 1249-1259.
- [8] Gueneau P, Loiseaux DG. Helicobacter: molecular phylogeny and the origin of gastric colonization in the genus[J]. Infect Genet Evol, 2008, 1(3): 215-223.
- [9] Scott DR, Marcus EA, Weeks DL, et al. Expression of the Helicobacter pylori ureI gene is required for acidic pH activation of cytoplasmic urease[J]. Infect Immun, 2008, 68(2): 470-477.
- [10] Goldman, Bennett, 王贤才.西氏内科学[M].21 版.西安:世界图书出版西安公司,2008.
- [11] 周中银,罗和生.埃索美拉唑三联疗法治疗幽门螺杆菌阳性十二指肠溃疡近期及远期疗效[J].四川医学,2006,27(7):708-709.
- [12] 樊德存,王永利.中国药物大全·西药卷[M].2 版.北京:人民卫生出版社,2009:401.

(收稿日期:2012-10-09)

- [6] Simmons CJ, Mosley BS, Fulton-Bond CA, et al. Birth defects in Arkansas: is folic acid fortification making a difference[J]. Birth Defects Res A Clin Mol Teratol, 2004, 70(9): 559-564.
- [7] Walker MC, Smith GN, Perkins SL, et al. Changes in homocysteine levels during nonnal Pregnancy[J]. Am J Obstet Gynecol, 1999, 180(3 Pt 1): 660-664.
- [8] Roberts RF, Roberts WL. Performance characteristics of total homocysteine in serum or plasma[J]. Clin Chim Acta, 2004, 344(1/2): 95-104.
- [9] 刘大艳,肖立.孕妇羊水同型半胱氨酸、叶酸及 Vit B12 与胎儿畸形的关系[J].吉林医学,2011,32(10):1893-1894.
- [10] Wenstrom KD, Johanning GL, Owen J, et al. Role of amniotic fluid homocysteine level and of fetal 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase genotype in the etiology of neural tube defects[J]. Am J Med Genet. 2000, 90(1): 12-16.

(收稿日期:2012-10-11)