

• 论 著 •

同型半胱氨酸、纤维蛋白原与脑梗死及其预后的相关性研究

胡 波¹, 王道义²

(安徽省蒙城县中医院: 1. 检验科; 2. 心内科, 安徽 233500)

摘 要:目的 研究脑梗死患者血浆同型半胱氨酸(Hcy)、纤维蛋白原(Fib)水平改变及其与病情和预后的相关性。方法 检测 250 例脑梗死患者和 100 名健康者的血浆 Hcy、Fib 水平。在患者入院当天进行美国国立卫生研究院卒中量表(NHSS)评定,并在随访 6 月后进行改良 Rankin 量表评价。结果 脑梗死组患者血浆 Hcy、Fib 水平明显高于健康对照组($P<0.05$); NHSS 重度患者血浆 Hcy、Fib 水平明显高于中度、轻度患者($P<0.05$); 中度患者血浆 Hcy、Fib 水平显著高于轻度患者($P<0.05$)。低 Hcy、Fib 组脑梗死患者预后良好率显著高于高 Hcy、Fib 组($P<0.05$)。结论 脑梗死患者血浆 Hcy、Fib 水平明显升高,病情重的患者升高更明显。血浆 Hcy、Fib 水平升高的患者预后相对较差。

关键词:同型半胱氨酸; 血浆纤维蛋白; 脑梗死; 预后

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.01.023

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)01-0055-03

Correlation between levels of plasma homocysteine and fibrinogen with cerebral infarction and prognosis

Hu Bo¹, Wang Daoyi²

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Cardiology, Anhui Mengcheng County Hospital of Traditional Chinese Medicine, Mengcheng, Anhui 233500, China)

Abstract: **Objective** To study the correlation between the change of plasma homocysteine (Hcy) and fibrinogen (Fib) levels with the disease condition and prognosis in the patients with cerebral infarction (CI). **Methods** The plasma levels of Hcy and Fib were detected in 250 cases of cerebral infarction and 100 healthy adults (normal control, NC). All patients were evaluated on 1 d after admission by NHSS, and after the 6-month follow-up by the modified Rankin scale. **Results** The levels of plasma Hcy and Fib in the CI group were significantly higher than those in the NC group ($P<0.05$); the levels of plasma Hcy and Fib in the NHSS severe patients were higher than those in the moderate and mild patients ($P<0.05$); the levels of plasma Hcy and Fib in the moderate patients were significantly higher than those in the mild patients ($P<0.05$). The good prognosis rate the low Hcy and Fib group was significantly higher than that in high Hcy and Fib group ($P<0.05$). **Conclusion** The levels of plasma Hcy and Fib are significantly increased in the patients with CI, and the increase in the severe patients is more significant. The patients with increased plasma Hcy and Fib levels have relatively poor prognosis.

Key words: homocysteine; plasma fibrinogen; cerebral infarction; prognosis

脑梗死起病急,病情凶险,发病率及致死率均较高。随着目前对脑梗死发病机制研究的不断深入,对脑梗死病情监控及预后评估指标的研究成为临床研究的热点^[1]。同型半胱氨酸(Hcy)是一种蛋氨酸循环中的产物,机体 Hcy 表达水平升高会增加心血管病的发病率和病死率,而脑血管疾病与心血管疾病具有相同的发病机制,提示 Hcy 与脑梗死可能存在一定联系^[2]。脑梗死早期往往合并组织间炎症反应, Fib 为炎症反应急性期蛋白,是炎症标志物, Fib 水平升高是动脉粥样硬化的危险因素,检测 Fib 水平对脑梗死的预测、诊断和治疗有一定临床价值^[3]。因此,本研究观察脑梗死患者 Hcy、Fib 水平变化与脑梗死及其预后的关系,以期对脑梗死治疗及预后判断提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2010 年 1 月至 2013 年 12 月在本院神经内科住院治疗新发脑梗死患者 250 例为研究对象,其中男性 160 例,女性 90 例,年龄 45~80 岁,平均(63.5±14.1)岁。脑梗死诊断参照全国第四届脑血管病学术会议修订的标准^[4],经头颅 CT 或 MRI 检查确诊。根据美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)评分,轻度神经功能障碍(NIHSS≤4 分)129 例、中

度神经功能障碍(4<NIHSS≤15 分)81 例,重度神经功能障碍(NIHSS>15 分)40 例。排除患有急性慢性感染性疾病、原发性肾炎、关节炎、系统性红斑狼疮等自身免疫性疾病以及恶性肿瘤等。对照组选取本院体检中心 100 例健康体检者,其中男性 59 例,女性 41 例,年龄 43~81 岁,平均(63.1±12.9)岁。两组年龄、性别及体质量等一般资料差异均无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 仪器与试剂 Hcy 检测试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司,严格按照说明书操作,使用日立 7600-010 全自动生化分析仪检测吸光度(OD 值)的变化。Fib 检测试剂盒购自上海德灵试剂公司,采用日本 Sysmex 公司的 CA-500 全自动血凝分析仪检测。

1.3 方法 所有患者均在入院 24 h 内,健康对照组于体检日清晨采集空腹静脉血 10 mL,取 5 mL 血液以 1 500 g×15 min 离心,分离上层血清。Hcy 使用夸克酶循环法检测。使用标准品绘制标准曲线,然后对照标准曲线根据血清样品的 OD 值计算 Hcy 水平。根据 Hcy 水平将患者分为低 Hcy 组(Hcy≤15 μmol/L)和高 Hcy 组(Hcy>15 μmol/L)。将剩余 5 mL 血液用以检测 Fib 水平,根据试剂盒说明书标准 Fib>4g/L 为高

Fib 组, $\text{Fib} \leq 4\text{g/L}$ 为低 Fib 组。对患者进行 6 个月随访, 采用改良 Rankin 量表进行生活质量的评价, 0~2 分为预后良好, 3~5 分为预后差。

1.4 统计学处理 应用 SPSS12.0 统计软件处理数据, 结果数据正态分布资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 计数资料采用 χ^2 检验, 计量资料采用 t 检验, 各检测指标的相关关系采用 Pearson 相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 脑梗死患者血清 Hcy、Fib 水平变化 脑梗死组患者血清 Hcy、Fib 水平较对照组显著增高, 两组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 1。

表 1 脑梗死患者血清 Hcy、Fib 水平变化			
组别	<i>n</i>	Hcy($\mu\text{mol/L}$)	Fib(g/L)
脑梗死组	250	20.26 ± 7.65	9.41 ± 1.54
健康对照组	100	$11.25 \pm 3.52^*$	$2.87 \pm 0.78^*$

*: $P < 0.05$, 与脑梗死组比较。

2.2 脑梗死不同程度神经功能障碍患者血清 Hcy、Fib 变化 轻、中、重度神经功能障碍患者 Hcy、Fib 水平比较, 见表 2。

表 2 脑梗死不同程度神经功能障碍患者血清 Hcy、Fib 水平比较			
组别	<i>n</i>	Hcy($\mu\text{mol/L}$)	Fib(g/L)
轻度障碍组	129	16.92 ± 3.55	2.53 ± 1.35
中度障碍组	81	$20.42 \pm 5.15^\nabla$	$4.28 \pm 1.47^\nabla$
高度障碍组	40	$27.25 \pm 8.13^{\nabla\star}$	$5.36 \pm 1.36^{\nabla\star}$

$^\nabla$: $P < 0.05$, 与轻度障碍组比较; * : $P < 0.05$, 与中度障碍组比较。

2.3 Hcy、Fib 水平与脑梗死患者预后的关系 低 Hcy、Fib 组脑梗死患者预后良好者占 63.2%, 预后差者占 28.1%; 高 Hcy、Fib 组脑梗死患者预后良好者占 41.9%, 预后差者占 58.1%。不同 Hcy、Fib 水平脑梗死患者预后比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 3。

表 3 Hcy、Fib 水平与脑梗死患者预后的关系			
组别	<i>n</i>	预后良好(%)	预后差(%)
低 Hcy、Fib 组	114	82(63.2)	32(28.1)
高 Hcy、Fib 组	136	57(41.9)	79(58.1)
χ^2		22.636	
<i>P</i>		< 0.05	

3 讨 论

Hcy 属于人体内非必需氨基酸之一, 合成所需辅助因子包括维生素 B_6 及维生素 B_{12} 。1969 年, 国外学者 Mecully 最先提出高 Hcy 血症的发生与脑梗死的病理基础即动脉粥样硬化的发生与发展密切相关^[5]。近年来, 许多研究结果表明, 血液中 Hcy 的增高与脑梗死的发生有密切关系, 是导致脑梗死发生的独立危险因素^[6-7]。Fib 主要由肝脏合成, 属于急性时相血浆蛋白中的一种, 在凝血过程中发挥重要作用, 作为凝血因子的一种, 主要通过凝血酶的作用转变为纤维蛋白单体, 单体间相互交联最终生成纤维蛋白, 参与凝血过程。

脑梗死是中国中、老年人群中主要致病、致死因素, 随着社会老龄化的加快, 脑梗死的发病率呈逐年上升趋势, 由于其发

病较急, 病情较重, 往往导致患者较高死亡率及致残率^[8]。本研究拟对脑梗死患者血液中 Hcy、Fib 水平进行研究, 明确 Hcy、Fib 在脑梗死患者中的水平, 研究两者与患者脑梗死及预后的相关性。

本研究结果显示, 脑梗死组患者血清 Hcy、Fib 水平较健康对照组显著增高。血液中 Hcy 能够与低密度脂蛋白快速结合, 并能显著增加内皮细胞、巨噬细胞及平滑肌细胞对血管内过氧化脂质的吞噬, 产生泡沫细胞。同时 Hcy 刺激血管内皮细胞, 导致血管内皮损伤, 促进血管内血栓形成^[9]。Fib 参与血管内炎症反应, 加剧动脉粥样硬化的程度, 同时参与血小板活化及血栓形成^[10]。文献报道, Fib 在血管内皮下的沉积要早于脂质^[11], 这也证明了脑梗死患者 Hcy、Fib 水平较健康对照组高的原因。沉积于血管内膜基质中的 Hcy、Fib 加剧了血管平滑肌细胞增殖及向内膜的迁移, 最终导致动脉粥样硬化及血栓形成。研究表明, 血液中 Fib 水平与粥样斑块表面纤维帽厚度呈反比关系, 即 Fib 水平越高, 纤维帽厚度越小, 斑块越易破裂, 更加促进血栓形成。

本研究显示, 随着神经障碍程度的加重, Hcy、Fib 水平也呈增高趋势, 高度障碍组明显高于中度障碍组, 中度障碍组明显高于轻度障碍组, 提示 Hcy、Fib 水平与脑梗死患者病情严重程度相关, 病情越重, Hcy、Fib 水平越高, 其水平升高程度与脑梗死病情严重程度关系密切, 故临床可通过检测患者血液中 Hcy、Fib 水平评估患者病情严重程度, 从而指导临床诊疗。高 Hcy、Fib 水平患者预后较低 Hcy、Fib 水平患者差, 这可能与 Hcy 抑制了 NO 生成, 阻碍了血管损伤后自我修复功能有关。同时 Fib 的高水平也加剧了血管内的炎症反应的程度, 加重了血管损伤。

综上所述, 脑梗死患者血浆 Hcy、Fib 水平明显升高, 病情越重的患者升高越明显, 高水平 Hcy、Fib 与患者不良预后密切相关。对于血浆高 Hcy、Fib 患者, 采取积极有效措施降低 Hcy、Fib 水平, 或许有助于改善患者动脉粥样硬化水平, Hcy、Fib 有望成为脑梗死治疗的新靶点。

参考文献

[1] Gupta S, Gudapati R, Gaurav K, et al. Emerging risk factors for cardiovascular diseases; Indian context[J]. Indian J Endocrinol Metab, 2013, 17(5): 806-814.

[2] 张晓轩, 王雨红, 高文萍, 等. 血清同型半胱氨酸检测对冠心病的诊断价值[J]. 中国当代医药, 2010, 17(29): 66.

[3] 潘柏申. 心肌肌钙蛋白的临床应用[J]. 上海医学检验杂志, 2000, 15(5): 264-266.

[4] Jacobsen DW, Gatautis VJ, Green R, et al. Rapid HPLC determination of total homocysteine and other thiols in serum and plasma; Sex differences and correlation with cobalamin and folate concentrations in healthy subjects[J]. Clin Chem, 1994, 40(12): 873-881.

[5] Vasan RS, Beiser A, D'agostino RB, et al. Plasma homocysteine and risk for congestive heartfailure inadults without prior myocardial infarction[J]. JAMA, 2003, 289(10): 1251-1257.

[6] 程翔, 廖玉华. 炎症与动脉粥样硬化[J]. 中华心血管病杂志, 2004, 32(5): 94-96.

[7] Rasmussen LM, Hansen PR, Ledet T, et al. Homocysteine and the production of collagens, proliferation and apoptosis in human arterial smooth muscle cells[J]. APMIS, 2004, 112(4): 598-604.

[8] Gj H, Eikelboom JW. Homocysteineandvascular(下转第 59 页)

定外参照。

3 讨 论

miRNAs 可通过胞外体、微囊泡、微粒等形式由细胞主动分泌至血液、唾液、尿液、乳汁、精浆、胸腹水等体液中^[4-7]。血浆中的 miRNAs 既可作为疾病诊断的生物标志物,又可以胞外体或微囊泡的形式被受体细胞所摄取,从而调控受体细胞的功能^[8-9]。但是,血浆中目标 miRNAs 分子的低丰度以及缺乏稳定的定量 miRNAs 的内参照使其难以建立适宜的检测手段。

常用的 miRNAs 检测方法包括 miRNA 原位杂交、miRNA 芯片、下一代测序、Northern blot 以及实时荧光定量 PCR。miRNA 原位杂交是一种半定量的方法,优点是可以在细胞或组织的原位检测 miRNAs 中的表达,但是对于低丰度的 miRNA 分子容易产生信号噪音比。miRNA 芯片和下一代测序的主要优点是高通量,可以一次在同一样本中检测几百种 miRNAs 的表达,所需样本量少,常用于初筛试验,但是缺点是容易产生假阳性,需要用其他方法进行验证。Northern blot 常用来评价其他检测方法的可靠性,但是通量低,且灵敏度和特异性都不高。实时荧光定量 PCR 是用于 miRNAs 定量的最常用技术,目前用于 miRNAs 荧光定量 PCR 的逆转录方法有两种,一种是 ploy A 加尾法,另一种是茎环引物法。RNA 的抽提效果以及内参照的稳定性直接影响最终定量结果。血浆中目标 miRNAs 丰度低的特点决定了常规 Trizol 核酸抽提法难以获得高浓度的核酸,本研究使用专门用于血浆 miRNAs 抽提的试剂盒,获得了较高浓度和纯度的核酸溶液。U6 snRNA 作为细胞 miRNAs 相对定量的内参照,据研究报道血浆中并不恒定表达 U6 snRNA^[10],所以 U6 snRNA 不适宜作为循环 miRNAs 定量的内参照。本研究利用商品化 miRNAs 试剂盒抽提健康人血浆核酸分子,以 cel-miR-39、cel-miR-238 为外参照,建立了基于茎环引物的实时荧光定量 PCR 检测技术,是一种可靠、稳定的循环 miRNAs 定量方法。

本文研究结果表明,基于茎环引物的实时荧光定量 PCR 具有特异性高、重复性好和稳定性强等优势。在对健康人血标本循环 miR-342-3p 的检测中,该方法的批内和批间 CV 分别为 0.66% 和 0.63%,均小于 5%,重复性较好。此外,通过多次检测同一标本中 miR-342-3p、cel-miR-39 及 cel-miR-238 的表达发现,miR-342-3p Δ Ct 的均值保持在 12.71~13.95 之间,标准差为 0.22,CV 为 1.68%,小于 5%,说明 cel-miR-39、

cel-miR-238 可作为血浆 miRNA RT-qPCR 检测的稳定外参照。

综上所述,本研究建立了用于循环 miRNAs 检测的基于茎环引物的实时荧光定量 PCR 定量方法,该方法具有特异性高、重复性好和稳定性强等优势,为循环 miRNA 研究提供了较好的技术平台。

参考文献

[1] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. Cell, 2004, 116(2): 281-297.

[2] Chen X, Ba Y, Ma L, et al. Characterization of microRNAs in serum; a novel class of biomarkers for diagnosis of Cancer and other diseases[J]. Cell Res, 2008, 18(10): 997-1006.

[3] Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for Cancer detection[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(30): 10513-10518.

[4] Park NJ, Zhou H, Elashoff D, et al. Salivary microRNA; discovery, characterization, and clinical utility for oral Cancer detection [J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(17): 5473-5477.

[5] Hanke M, Hoefig K, Merz H, et al. A robust methodology to study urine microRNA as tumor marker; microRNA-126 and microRNA-182 are related to urinary bladder Cancer[J]. Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations, 2010, 28(6): 655-661.

[6] Kosaka N, Izumi H, Sekine K, et al. microRNA as a new immunoregulatory agent in breast milk[J]. Silence, 2010, 1(1): 7-9.

[7] 张魁洋, 谢佳昀, 梁宏伟, 等. 人体体液中细胞外 microRNA 的起源、功能及潜在诊疗价值[J]. 生物化学与生物物理进展, 2013, 40(7): 603-616.

[8] 梁宏伟, 陈熹, 曾科, 等. 一种细胞间通信的新的信号分子—Microvesicle 运输的 microRNA[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2010, 2(6): 417-423.

[9] Gidlöf O, van der Brug M, Ohman J, et al. Platelets activated during myocardial infarction release functional miRNA, which can be taken up by endothelial cells and regulate ICAM1 expression[J]. Blood, 2013, 121(19): 3908-3917.

[10] Chen X, Liang HW, Guan DP, et al. A combination of Let-7d, Let-7g and Let-7i serves as a stable reference for normalization of serum microRNAs[J]. PLoS One, 2013, 8(11): 79652.

(收稿日期: 2014-11-08)

(上接第 56 页)

disease[J]. Lancet, 1999, 354(91): 407-413.

[9] 徐继宾. 血清同型半胱氨酸水平检测在冠心病诊断中的应用价值[J]. 中国现代药物应用, 2014, 8(19): 51-52.

[10] Boushey CJ, Beresford S, Omenn GS, et al. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes[J]. JAAM Med Assoc, 1995, 274(27): 1049-1057.

[11] Stampfer MJ, Malinow MR. A prospective study of plasma homocysteine and risk of myocardial infarction in US physicians[J]. JAMA, 1992, 268(7): 877-881.

[12] Frits H, Simon GP, Stephen DM, et al. Production of C-reactive protein and risk of coronary events in stable and

unstable angina[J]. Lancet, 1997, 349(3): 462-466.

[13] Elliott M, Antman MD, Christine GS, et al. Detection of unsuspected myocardial necrosis by rapid bedside assay for cardiac troponin T[J]. Am Heart J, 1997, 133(32): 596.

[14] 盛博, 李志民. 冠心病超敏 C 反应蛋白、肌钙蛋白 T 与心肌梗死面积的相关性研究[J]. 海南医学院学报, 2010, 16(10): 1298-1300.

[15] Refsum H, Smith AD, Ueland PM, et al. Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion[J]. Clin Chem, 2004, 50(1): 3-32.

(收稿日期: 2014-10-18)