

• 临床研究 •

冠心病患者血清同型半胱氨酸与微小 RNAs 的相关性分析\*

秦继宝, 蒋 玲

(连云港市东方医院检验科, 江苏连云港 222022)

**摘要:**目的 分析冠心病患者血清同型半胱氨酸(Hcy)、微小 RNA-1(miRNA-1)、微小 RNA-126(miRNA-126)和微小 RNA-208(miRNA-208)的相关性,以探寻冠心病新的生物标记物,更好地指导临床诊治。**方法** 选取 2013 年 1 月至 2015 年 1 月入院治疗确诊的冠心病患者 380 例(试验组),另选取同期入院检查的非冠心病患者 200 例(对照组),提取血浆总 RNA,设计特异性引物检测 miRNA-1、miRNA-126 和 miRNA-208 在两组人群中的表达情况。观察分析血浆中循环 miRNAs 作为冠心病检测指标的指导意义。**结果** 试验组血清 Hcy、miRNA-1 与 miRNA-126 水平高于对照组,miRNA-208 水平低于对照组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );且试验组中冠状动脉狭窄程度积分(Gensini 积分)大于 25 分者上述各指标均高于 Gensini 积分小于或等于 25 分者,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。血清 Hcy、miRNA-1、miRNA-126 水平与 Gensini 积分呈正相关( $P<0.05$ ),血清 Hcy 水平与 miRNA-1、miRNA-126 水平同样呈正相关( $P<0.05$ )。**结论** 血清 Hcy、miRNA-1、miRNA-126、miRNA-208 均可作为评价冠心病的生物标记物。除 miRNA-208,各指标水平随冠状动脉狭窄程度的加重而升高。

**关键词:**冠心病; 血浆标记物; 同型半胱氨酸; 微小 RNA; 相关性

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2015.23.042

**文献标识码:**A

**文章编号:**1673-4130(2015)23-3463-03

同型半胱氨酸(Hcy)是氨基酸半胱氨酸的异种,是甲硫氨酸代谢过程中产生的一种含硫氨基酸<sup>[1]</sup>。微小 RNA(miRNA)主要参与基因转录后的表达调控。近年来研究显示,高同型半胱氨酸血症及 miRNA 与冠心病的关系密切<sup>[2]</sup>,是冠心病的独立危险因素,同时有望成为冠心病的生物靶点。现本文就冠心病患者血清 Hcy、微小 RNA-1(miRNA-1)、微小 RNA-126(miRNA-126)和微小 RNA-208(miRNA-208)的相关性研究如下,以期探寻冠心病相关的血浆生物标记物,更好地指导临床诊治冠心病。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2013 年 1 月至 2015 年 1 月入院治疗的冠心

病确诊患者 380 例纳入试验组,所有患者均因心绞痛入院,并经冠状动脉造影确诊。诊断标准:左冠状动脉的左主干、前降支、回旋支和右冠状动脉为冠状动脉系统的四支动脉,大于或等于 2 个正交透射体位造影发现冠状动脉狭窄大于或等于 50%<sup>[3]</sup>。另选取同期入院检查的疑似心绞痛但确诊为非冠心病者 200 例纳入对照组。排除标准:有既往心肌梗死病史、心脏瓣膜病、心肌病、肝、肾等脏器发生严重器质性病变,肿瘤等恶性疾病,以及妊娠哺乳期女性。两组年龄、性别及吸烟、糖尿病者所占百分比等基本资料比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),而两组患者体质量指数及高血压、高血脂者所占百分比比较差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 1。

表 1 两组基本资料比较

组别	<i>n</i>	男性患者所占百分比[ <i>n</i> (%)]	平均年龄( $\bar{x}\pm s$ ,岁)	体质量指数( $\bar{x}\pm s$ ,kg/m <sup>2</sup> )	高血压患者所占百分比[ <i>n</i> (%)]	糖尿病患者所占百分比[ <i>n</i> (%)]	高血脂症患者所占百分比[ <i>n</i> (%)]	吸烟者所占百分比[ <i>n</i> (%)]
试验组	380	244(64.2)	58.63±8.2	23.2±3.5	117(30.8)	89(23.4)	123(32.4)	170(44.7)
对照组	200	123(61.5)	55.72±5.4	21.2±3.1	22(11.0)	37(18.5)	23(11.5)	88(44.0)
<i>P</i>		>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	>0.05	<0.05	>0.05

1.2 方法

1.2.1 血清 Hcy 与 miRNAs 的测定 冠状动脉造影术当日清晨抽取所有受试者静脉血两管,各 3 mL,分离血清,应用 FL3000/305 型荧光检测器(美国索福达公司)以激发波长 365 nm、发射波长 475 nm 检测血清 Hcy。应用苯酚法提取血清中总 RNA,经 7500 型实时荧光定量聚合酶链式反应(PCR)系统(美国 ABI 公司),以微小 RNA-let7(miRNA-let7)作为内参,以微小 RNA-16(miR-16)建立标准曲线,计算血清 miRNAs 绝对浓度<sup>[4]</sup>。

1.2.2 冠状动脉狭窄程度积分(Gensini 积分) 所有操作均由临床经验 5 年以上的心内科医师完成。所有患者均采用 Judkins 穿刺法行冠状动脉造影术前准备,路径为经桡或股动脉。冠状动脉狭窄程度评定以 Gensini 法为标准:1 分,狭窄小

于 25%;2 分,狭窄 25%~<50%;4 分,狭窄 50%~<75%;8 分,狭窄 75%~<90%;16 分,狭窄 90%~<100%;32 分,狭窄 100%。4 支冠状动脉不同节段狭窄程度分别以 Gensini 为标准,并计算每例患者冠状动脉狭窄程度的 Gensini 积分<sup>[5]</sup>。

1.3 统计学处理 采用 SPSS21.0 进行数据处理与统计分析,计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示,两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用方差分析。相关性分析应用 Pearson 相关性分析,对多变量应用多元线性回归分析。 $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清 Hcy 及 miRNAs 水平比较 试验组血清 Hcy、miRNA-1 与 miRNA-126 水平均高于对照组,miRNA-208 水平低于对照组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。试验组检出 Gensini 积分大于 25 分者 175 例,小于或等于 25 分者 205 例,

\* 基金项目:连云港市科技局 2013 年度项目(20130118)。

Gensini 积分大于 25 分者血清 Hcy、miRNA-1、miRNA-126 及 miRNA-208 水平均高于 Gensini 积分小于或等于 25 分者，差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 2。

表 2 两组患者 Gensini 积分与血清 Hcy、miRNA 比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	Gensini 积分(分)	<i>n</i>	Hcy(umol/L)	miRNA-1(fmol/L)	miRNA-126(fmol/L)	miRNA-208(fmol/L)
对照组	0	200	6.8±2.4	10.0±5.9	82.8±69.4	34 833.1±25 216.0
试验组	≤25	205	12.5±4.7*	69.4±25.7*	332.6±221.3*	15 777.1±42 762.9*
	>25	175	18.3±6.7*#	113.3±67.0*#	942.7±779.2*#	27 559.3±20 184.3*#

\*: $P<0.05$ ,与对照组比较;#:  $P<0.05$ ,与试验组 Gensini 积分小于或等于 25 分者比较。

**2.2 相关性分析** 对各变量行 Pearson 相关性分析,血清 Hcy、miRNA-1、miRNA-126 与 Gensini 积分均呈正相关(相关系数  $r$  分别为 0.576、0.650、0.499,  $P<0.05$ );经偏相关分析,排除年龄、体质量、高血压与高脂血症的影响,血清 Hcy、miRNA-1、miRNA-126 与 Gensini 积分仍均呈正相关(相关系数  $r$  分别为 0.694、0.622、0.531,  $P<0.05$ )。血清 Hcy 与 miRNA-1、miRNA-126 同样呈正相关( $r$  分别为 0.512、0.560,  $P<0.05$ );经偏相关分析,排除年龄、体质量、高血压与高脂血症的影响,血清 Hcy 与 miRNA-1、miRNA-126 相关性增高( $r$  分别为 0.599、0.613,  $P<0.05$ )。血清 Hcy 与 miRNA-208 无明显相关性( $r=0.005$ ,  $P>0.05$ )。

**2.3 多元线性回归分析** 以 Gensini 积分为因变量,年龄、性别、体质量指数、吸烟、Hcy、miRNA-1、miRNA-126、miRNA-208 为因变量进行逐步多元线性回归分析。结果显示与 Gensini 积分独立相关的仅有 Hcy、miRNA-1。见表 3。

表 3 试验组 Gensini 积分与各变量的多元线性回归分析( $n=380$ )

变量	未标准化系数		标准化系数	<i>t</i>	<i>P</i>
	回归系数	标准误			
常数	-4.470	3.565	—	-1.255	0.213
Hcy	0.839	0.236	0.340	3.127	0.002
miR-1	0.162	0.040	0.487	3.551	0.001
miR-126	-0.001	0.004	-0.055	-0.460	0.647

—:无数据。

3 讨 论

在我国,冠心病的发病率逐年上升,并呈年轻化趋势。早在 2011 年,世界卫生组织报告我国因冠心病死亡的人数已居世界第 2 位<sup>[6]</sup>。因此,对冠心病治疗与调控的研究非常必要。既往研究认为,吸烟、高血压、高脂血症与冠心病的关系密切;但近年来研究认为,上述因素与动脉粥样硬化的患病率无明显关联<sup>[7]</sup>。因上述危险因素与动脉粥样硬化的患病率无明显正相关性,约 15%~20%的冠心病患者不具备已经确定的传统危险因素。在本研究试验组与对照组基本资料比较中,试验组体质量指数及高血压与高脂血症者所占百分比与对照组有明显差异,提示传统危险因素与冠心病的发生可能仍具有一定的相关性,但本研究样本量较小,仍需临床进一步研究证实。

目前研究认为,动脉粥样硬化与高 Hcy 水平、应激状态、高尿酸血症等因素有关。Hcy 是一种多功能损害因子,其在冠心病发生、发展中的具体机制尚不明确,可能通过损伤血管内皮、凝血机制,促进生成氧化低密度脂蛋白及促血管钙化等过程<sup>[8]</sup>。在机体缺乏维生素 B<sub>12</sub> 或叶酸时,Hcy 合成蛋氨酸受阻,从而蓄积于细胞中,继而释放入血,导致血清 Hcy 水平增高,

出现高同型半胱氨酸血症。血清高 Hcy 水平可损伤血管内皮细胞功能,诱导静止细胞进入分裂期,刺激血管平滑肌细胞增殖,导致凝血-纤溶系统失衡<sup>[9]</sup>,促使血小板活化等,促进动脉粥样硬化的发生及血栓的形成。同时 Hcy 在代谢过程中会产生多种强氧化剂,损伤内皮细胞的功能和结构及血管舒张反应,引起平滑肌细胞分泌胶原增加,诱导平滑肌细胞转化为泡沫细胞<sup>[10]</sup>。另一方面,Hcy 自身氧化产物可作为抗原刺激、激活体内多种免疫细胞;并通过抑制凝血酶调节蛋白在内皮细胞表面的表达和活性,抑制蛋白 C 的激活,影响对凝血因子 V a、Ⅷ a 和凝血酶的灭活<sup>[11]</sup>。上述机制随机组合,均可推动动脉粥样硬化的形成。并且在本次研究中,Gensini 积分越高的患者其血清 Hcy 水平越高,呈正相关。

miRNAs 可稳定的存在于人体体液中,miRNA-1 与 miRNA-208 是急性心肌梗死潜在的诊断学标记物,miRNA-126 则具有调控黏附分子表达及血管炎症发生的功能,并能通过抑制血管黏附细胞因子 1 的表达在动脉粥样硬化发展中达到保护作用<sup>[12]</sup>。在本次研究中,冠心病患者血清 miRNA-1、miRNA-126 水平均明显高于对照组,且与 Gensini 积分呈正相关,偏相关校正后仍存在正相关性。提示 miRNAs 可能与冠状动脉多支病变后引起的缺血心肌范围大且缺血程度严重有一定关系。

在相关性分析中,可见血清 Hcy 与 miRNA-1 及 miRNA-126 均呈正相关,且偏相关校正后相关系数稍增高。而 Hcy 与 miRNA-208 无明显相关性。多元线性回归分析后显示,与 Gensini 积分独立相关的仅有 Hcy、miRNA-1。Hcy 与 miRNAs 可能均参与冠状动脉粥样硬化过程,同时相互促进冠心病的发展,但其具体机制尚需临床进一步研究。

综上所述,血清 Hcy、miRNA-1、miRNA-126、miRNA-208 均可作为评价冠心病的生物标记物。除 miRNA-208,各指标水平随冠状动脉狭窄程度的加重而升高。

参考文献

[1] Wu C,Gong Y,Sun A,et al. The human MTHFR rs4846049 polymorphism increases coronary heart disease risk through modifying miRNA binding[J]. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2013, 23 (7):693-698.

[2] 张俊英,韩卉芳,关艳丽. 高同型半胱氨酸血症与冠心病相关性探讨[J]. 中国药物与临床,2014,14(8):1129-1130.

[3] 张化勇,杨帆,魏经汉,等. 血清同型半胱氨酸与冠心病的相关性研究[J]. 中国循证心血管医学杂志,2012,4(1):46-48.

[4] 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.

[5] 张佳菊,王莉娜,冯毅,等. 微小 RNA-1 靶基因多态性与早发冠心病发生风险的关联研究[J]. 中华心血管病杂志,2012,40(5):386-391.

[6] Öberg M,Jaakkola MS,Woodward A,et al. Worldwide burden of disease from exposure to second-hand smoke;a retrospective analysis of data from 192 countries[J]. Lancet,2011,377(9760):139-146.

[7] 龚永飞,戴海龙,尹小龙,等. MiRNA 在冠心病患者单核-巨噬细胞中的表达与功能研究[J]. 中国心血管病研究,2013,11(9):725-729.

[8] 谭文亮,罗进,阳军,等. 血浆循环 microRNA 检测及其与冠心病关联性探讨[J]. 中国实用医药,2015,30(10):57-58.

[9] 伍继初,闫宏伟. 冠心病患者血清同型半胱氨酸水平与冠脉病变程度的相关性[J]. 中国医药导刊,2015,34(1):1-2.

[10] 张琛涛,莫新玲. 冠心病、高血压与血清同型半胱氨酸、超敏 C 反应蛋白的相关性[J]. 中国老年学杂志,2013,33(5):1035-1037.

[11] Kim GH,Ryan JJ,Archer SL. The role of redox signaling in epigenetics and cardiovascular disease[J]. Antioxid Redox Signal, 2013,18(15):1920-1936.

[12] 卢玉振,林森,胡得飞. Hcy、hs-CRP 联合检测在冠心病和急性脑梗死患者中的预测价值[J]. 中国实验诊断学,2015,19(3):386-388.

(收稿日期:2015-08-06)

• 临床研究 •

## 品管圈在提高住院患者痰培养标本采集质量中的应用

张秀云<sup>1</sup>,江秀爱<sup>2△</sup>,杜美春<sup>3</sup>

(1. 青岛市肿瘤医院检验科,山东青岛 266042;2. 青岛市中心医院,山东青岛 266042;  
3. 青岛市肿瘤医院肿瘤防治科,山东青岛 266042)

**摘要:**目的 探讨以品管圈活动提高住院患者痰培养标本的采集质量,规范痰标本的采集、运送及接收流程的方法。**方法** 由8名组员成立品管圈小组,确立“提高住院患者痰培养标本的采集质量”为活动主题,对活动前后住院患者的痰标本采集质量及影响原因进行分析,确定目标,制订并实施对策。**结果** 品管圈活动后,住院患者痰标本合格率由 81.81%上升到 91.07%,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。**结论** 品管圈活动有效地提高了住院患者痰培养标本的采集质量,提高了痰培养标本的合格率。

**关键词:**品管圈; 痰培养标本; 合格率  
**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2015.23.043 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2015)23-3465-02

品管圈(QCC)是由相同、相近或互补性质工作场所的人们自动、自发组成数人一圈的活动团队,通过全体合作、集思广益,按照一定的活动程序,应用科学统计工具及品管手法,来解决工作现场管理、文化等方面所发生的问题及课题<sup>[1]</sup>。痰培养检验是住院患者最常见的也是非常重要的检查项目之一,检验分析前阶段的质量保证在痰标本的采集质量中起重要作用,是获得正确分析结果的基础,对疾病的诊断、治疗及指导用药都具有重要的意义,而痰标本的正确留取与送检是保证痰标本质量的关键<sup>[2]</sup>。针对本院住院患者痰标本送检合格率较低的情况,本院于2014年8月成立品管圈,确立了“提高住院患者痰培养标本的采集质量”为主题的活动,并取得了满意的效果,现报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 根据2014年5~7月未成立品管圈前住院患者4 816份痰培养标本的采集情况制订了现状调查表,并找出不合格原因进行分析;以2014年8~11月住院患者留取的6 037份痰培养标本为研究对象。

#### 1.2 方法

**1.2.1 成立品管圈** 检验科8名检验科人员自发组成,设圈长1名,圈员6名,1名主任为辅导员;本科以上学历7名,专科1名;主任技师1名,副主任技师2名,主管技师1名,检验师3名,护士1名;平均年龄40岁。确定“涓流圈”为圈名,其寓意是通过圈内每个人的点滴努力,提高住院患者痰培养标本的采集质量,为临床合理使用抗菌药物提供有力保障、做出贡献,并制作了圈徽。

**1.2.2 选定主题** 经过全体圈员通过头脑风暴法,列出工作

中所有需要解决的问题,8名圈员再根据重要性、圈能力、迫切性、可行性4个方面对各个主题进行评价,最后达成共同的意见,确定本次活动主题:提高住院患者痰培养标本的采集质量,提高痰标本合格率,正确及时报告痰培养结果,提高临床符合度及满意度;能早期发现和控制呼吸道感染,加强院内感染控制。

**1.2.3 现况调查** 针对2014年5~7月住院患者痰标本的采集情况,制定了现状调查表,并分析原因,共收集痰标本4 816份,其中不合格标本876份,占18.19%,合格率为81.81%。影响痰培养标本采集质量的主要原因,见表1。

表1 影响痰培养标本采集质量的主要原因分析

原因	不合格标本数 (n)	不合格率 (%)	构成比 (%)
痰标本呈水样、唾液样	348	7.22	39.73
标本内含食物残渣、卫生纸等异物	192	3.99	21.92
留取痰标本的容器使用不当	134	2.78	15.30
容器未盖紧,标本溢漏	96	1.99	10.96
标本量不足	48	1.00	5.48
标本送检不及时	36	0.75	4.11
标本类型留取错误	13	0.27	1.48
同一天送相同检测标本	9	0.19	1.03
合计	876	18.19	100.00

**1.2.4 目标设定** 通过品管圈活动的目标设定,对活动后痰

△ 通讯作者,E-mail:qd09jxa@163.com。