

不同方法测定同型半胱氨酸结果比较分析

张术华,程必蕴(重庆市西郊医院 400050)

【摘要】 目的 探讨目前临床化学实验室测定同型半胱氨酸(Hcy)主要方法学的差异。**方法** 选取 2011 年 1 月至今,重庆市西郊医院住院患者中存在心血管疾病家族史的病例 35 例,冠状动脉狭窄病例 43 例,慢性肾脏功能障碍病例 55 例,肝功能损伤病例 68 例,健康体检人群 169 例,分别采用甲基转移酶方法试剂与胱硫醚方法测定试剂进行 Hcy 测定,并且采用成对 *t* 检验比较结果。**结果** 采用甲基转移酶循环法与胱硫醚循环法进行 Hcy 测定,心血管疾病家族史组 Hcy 水平分别为 $(19.3 \pm 5.3) \mu\text{mol/L}$ 与 $(18.6 \pm 6.4) \mu\text{mol/L}$; 冠状动脉狭窄组 Hcy 水平分别为 $(23.5 \pm 4.5) \mu\text{mol/L}$ 与 $(24.7 \pm 5.1) \mu\text{mol/L}$; 慢性肾脏功能障碍组 Hcy 水平分别为 $(5.3 \pm 2.4) \mu\text{mol/L}$ 与 $(5.7 \pm 3.1) \mu\text{mol/L}$; 肝功能损伤组 Hcy 水平分别为 $(6.7 \pm 3.7) \mu\text{mol/L}$ 与 $(6.5 \pm 4.1) \mu\text{mol/L}$; 健康体检组 Hcy 水平分别为 $(4.3 \pm 2.5) \mu\text{mol/L}$ 与 $(4.8 \pm 3.0) \mu\text{mol/L}$ 。**结论** 不同方法测定 Hcy 水平并无明显差异,但血清中的特殊成分会对测定结果造成不同程度的影响。

【关键词】 同型半胱氨酸; 甲基转移酶; 胱硫醚; 酶循环法

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.10.019 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)10-1191-02

Comparative analysis of the results by using different ways to measure homocysteine ZHANG Shu-hua, CHENG Bi-yun (Chongqing Xijiao Hospital, Chongqing 400050, China)

【Abstract】 Objective To discuss the methods variation of homocysteine testing in clinical laboratory. **Methods**

5 groups were divided namely, in which 35 cases of with angiocardopathy family history, 43 cases of coronary artery stenosis, 55 cases of chronic renal failure, 68 cases of hepatic dysfunction and 169 cases of the healthy person was choosed, respectively. The Methyltransferase means and cystathionine methods were recruited to detect the level of homocysteine. T test was used to analyse the results. **Results** The level of homocysteine in cardiovascular disease group was $(19.3 \pm 5.3) \mu\text{mol/L}$ (Methyltransferase methods) and $(18.6 \pm 6.4) \mu\text{mol/L}$ (cystathionine methods), the value of homocysteine in coronary artery stenosis was $(23.5 \pm 4.5) \mu\text{mol/L}$ (Methyltransferase methods) and $(24.7 \pm 5.1) \mu\text{mol/L}$ (cystathionine methods), homocysteine concentration in chronic renal failure was $(5.3 \pm 2.4) \mu\text{mol/L}$ (Methyltransferase methods) and $(5.7 \pm 3.1) \mu\text{mol/L}$ (cystathionine methods), the value in hepatic dysfunction group was $(6.7 \pm 3.7) \mu\text{mol/L}$ (Methyltransferase methods) and $(6.5 \pm 4.1) \mu\text{mol/L}$ (cystathionine methods), and the healthy level was $(4.3 \pm 2.5) \mu\text{mol/L}$ (Methyltransferase methods) and $(4.8 \pm 3.0) \mu\text{mol/L}$ (cystathionine methods). **Conclusion** There are no remarkable diversity in different assay methods for homocysteine, but the special ingredient could impact the testing result.

【Key words】 homocysteine; methyltransferase; cystathionine; enzyme circulation method

近年来,同型半胱氨酸(Hcy)作为心血管疾病危险分层预测指标,其临床价值已得到充分肯定。高 Hcy 血症是动脉粥样硬化、血栓栓塞性疾病和血管损伤的一种独立危险因素^[1]。Hcy 为含巯基氨基酸,是胱硫醚和蛋氨酸转硫化和甲基化代谢旁路中形成的中间体。80% 的 Hcy 在血液中通过二硫键与蛋白质结合,只有很少一小部分游离 Hcy 参加循环^[2],其在血清中的含量较少,检测时需对影响信号进行放大。酶循环的检测方法正是通过工具酶的循环,将血清中微量 Hcy 转化成检测的生化信号,从而通过全自动生化分析仪进行定量测定。目前,利用酶循环的原理检测血清 Hcy 的方法已经成熟,主要生化方法包括甲基转移酶循环法与胱硫醚循环法。

甲基转移酶循环法主要原理是 S-腺苷 Hcy 水解酶在三乙羟乙基磷作用下,氧化型 Hcy 转化为游离型 Hcy,游离型 Hcy 与共价底物 S-腺苷甲硫氨酸催化反应形成蛋氨酸和 S-腺苷 Hcy。S-腺苷同型半胱氨酸(SAH)被 SAH 水解酶水解成腺苷和 Hcy,形成的 Hcy 可以循环加入反应,从而放大了检测信号,生成物腺苷立即水解为次黄嘌呤和氨,氨在谷氨酸脱氢酶

的作用下,使还原型辅酶 I (NADH) 转化为氧化型辅酶 I (NAD⁺),样本中的 Hcy 浓度与 NADH 的变化呈正比^[3]。

胱硫醚循环法主要原理是胱硫醚 β-合成酶催化 Hcy 与丝氨酸形成 L-胱硫醚,L-胱硫醚在胱硫醚 β-分解酶的作用下生成 Hcy、丙酮酸与氨,新生成的 Hcy 加入酶循环反应,从而产生更多的丙酮酸,丙酮酸在乳酸脱氢酶的作用下,将 NADH 转化为 NAD⁺,样本中的 Hcy 浓度与 NADH 的变化呈正比^[4]。从以上方法学原理上可知,循环酶法中间产物较多,受到内源性干扰的概率较大。本研究通过不同疾病组别标本进行方法学平行比较,以评估内源性干扰的程度。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2011 年 1 月至今本院住院患者中存在心血管疾病家族史的病例 35 例(未出现冠状动脉疾病症状),冠状动脉狭窄病例 43 例(冠状动脉造影确诊),慢性肾脏功能障碍病例 55 例(排除心血管疾病患者),肝功能损伤病例 68 例(排除心血管疾病患者),健康体检人群 169 例(排除以上所有相关疾病)。以上对象均采集静脉血,不加任何抗凝剂,3 000

r/min 离心 15 min, 分离血清。收集患者诊断信息, 按不同疾病组进行分类。

1.2 试剂与仪器 采用美国 Diazyme 公司生产的 Hcy 测定试剂盒(甲基转移酶循环法)与挪威 AXIS-SHIELD 公司生产的 Hcy 测定试剂盒(胱硫醚循环法), 使用各自配套校准品进行检测。采用日立 7080 全自动生化分析仪进行检测。

1.3 标本测定 将以上收集的患者血清分别使用两种不同方法学试剂进行即时测定。

1.4 统计学方法 按不同疾病组对测定结果进行分类, 采用 SPSS13.0 对数据进行配对 *t* 检验, 以双侧 95% 作为置信区间, 判断不同方法学测定结果的差异性。同时将各疾病组与健康体检组 Hcy 水平进行比较, 进行成组 *t* 检验, 以双侧 95% 作为置信区间, 判断不同疾病组测定结果的差异性。

2 结 果

对不同疾病组 Hcy 测定结果分别进行比较, 采用配对 *t* 检验进行统计, 结果见表 1。

表 1 不同疾病组 Hcy 测定结果(μmol/L)

组别	n	甲基转移酶法	胱硫醚法	P
健康体检组	169	4.3±2.5	4.8±3.0	>0.05
心血管疾病家族史组	35	19.3±5.3*	18.6±6.4*	>0.05
冠状动脉狭窄组	43	23.5±4.5*	24.7±5.1*	>0.05
慢性肾脏功能障碍组	55	5.3±2.4△	5.7±3.1△	>0.05
肝功能损伤组	68	6.7±3.7△	6.5±4.1△	>0.05

注:与健康体检组比较, * P<0.05; △P>0.05。

3 讨 论

根据不同循环酶法的检测原理不同, 可以看出甲基转移酶循环法可能受到机体内源性氨、S-腺苷蛋氨酸、S-腺苷 Hcy 的正干扰; 胱硫醚循环法可能受到内源性胱硫醚和丙酮酸盐的干扰。所以在本研究选取的病例样本都考虑到了这些干扰物质的存在。

但是通过实验证明, 在慢性肾脏功能损伤情况下, 有可能受到内源性胱硫醚干扰的胱硫醚循环法与甲基转移酶循环法测定结果差异无统计学意义。分析其原因在于内源性胱硫醚的干扰只会出现在严重肾脏功能障碍与代谢紊乱的病例中^[5]; 而本研究并未将此类人群纳入研究对象。同时, 根据相关文献报道, 这种内源性干扰极少出现。当然在肝功能受损情况下, 内源性的氨也有可能对甲基转移酶循环法测定 Hcy 产生正干扰。但是本研究也证实, 肝功能损伤组的测定结果差异无统计学意义, 甲基转移酶循环法试剂说明书也说明其试剂在

氨水平 50 μmol/L 并不受干扰^[6]。综合以上研究结果认为, 虽然理论上两种方法都会存在内源性干扰的问题, 但在临床实验测试应用中, 这些干扰出现的概率较小。考虑到临床检测适应证的问题, 这些内源性干扰的可能性可能进一步降低。

在本研究过程中选取了具有心血管疾病家族史的病例进行分析, 发现其 Hcy 水平明显高于健康体检人群, 差异有统计学意义。这也再次证明 Hcy 是评价心血管疾病危险分层的重要指标。当然, 在对冠状动脉疾病进行研究的过程中, 也证实了高 Hcy 血症与冠状动脉狭窄的关联性^[7]。

总而言之, 研究再次提醒大家重视 Hcy 测定的重要性, 同时也应该注意检测的适应性, 避免内源性干扰的问题^[8]。而不同方法法的测定结果, 在通常情况下并无明显差异, 选择哪一种方法作为临床应用方案, 都是可接受的。

参考文献

[1] Stampfer MJ, Malinow MR, Willett JL, et al. A prospective study of plasma homocysteine and risk of myocardial infarction US physician[J]. JAMA, 1992, 268: 877-881.

[2] Ueland PM, Refsum H, Stabler SP, et al. Total homocysteine in plasma or serum: methods and clinical applications [J]. Clin Chem, 1993, 39(9): 1764-1779.

[3] 张传宝. 对循环酶法同型半胱氨酸测定试剂盒的评价 [J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(3): 270-272.

[4] Siri PW, Verhoef MP, Ph D, et al. Vitamins B6, B12 and Folate: Association with Plasma Total Homocysteine and Risk of Coronary Atherosclerosis [J]. J Am Coll Nut, 1997, 17(5): 435-441.

[5] Jakwbo wski H. Molecular basis of homocysteine toxicity in humans [J]. Cell Mol Life Sci, 2004, 61(4): 470-487.

[6] 张继东, 张维东, 崔红燕, 等. 高半胱氨酸对血管内皮细胞的损伤作用及中药损伤的实验研究 [J]. 山东医科大学学报, 2007, 45(6): 513.

[7] Mccully KS. Hyperhomocysteinemia and arteriosclerosis: historical perspectives [J]. Clin Chem Lab Med, 2005, 43(10): 980-986.

[8] 刘君, 万云高, 孙志媛, 等. 同型半胱氨酸与心脑血管疾病相关性研究进展 [J]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2012, 6(1): 116-120.

(收稿日期: 2012-01-16)

(上接第 1190 页)

(8): 492-493.

染支原体检测及耐药性分析 [J]. 检验医学与临床, 2010, 7(24): 2699-2701.

[10] 邹伟文, 胡文英, 罗军, 等. 支原体感染状况及耐药性分析 [J]. 江西医学院学报, 2002, 42(2): 38-40.

[9] 戴迅毅, 杨莉佳, 李明. 247 例非淋菌性尿道炎病原体检测及支原体药物敏感分析 [J]. 临床皮肤科杂志, 2007, 36

(收稿日期: 2012-02-27)