

同型半胱氨酸代谢相关因素 及检测技术研究进展

杨国红 李玉明 周欣

作者单位:300162 天津市,武警医学院附属医院武警部队心血管研究所

通讯作者:李玉明, E-mail: cardiolab@gmail.com

同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)是近年来为学术界所关注的一个重要心血管疾病危险因素。研究证实^[1], Hcy 每升高 5 $\mu\text{mol/L}$, 冠心病的风险增加 32%, 心源性脑卒中的风险增加 59%。本文从 Hcy 代谢机制及影响因素、检测技术以及与心血管疾病关系的临床研究进展做一综述。

1 Hcy 的代谢机制

Hcy 是甲硫氨酸去甲基化形成的一种含硫氨基酸, 属于甲硫氨酸循环的中间产物。正常情况下, 血浆 Hcy 含量甚微, 其中 70%~80% 与血浆蛋白(主要是清蛋白)结合, 20%~30% 自身结合成 Hcy 二聚体, 或与其他含硫醇如半胱氨酸结合形成 Hcy 的混合二硫化物, 约 1% 以游离硫醇的形式存在于循环血液中。血浆中游离和结合 Hcy 之和为总 Hcy。Hcy 有三条主要的代谢途径: (1)再甲基化途径: 甲硫氨酸在甲硫氨酸合成酶催化下, 以 VitB12 为辅酶, 以 N5-甲基四氢叶酸作为甲基的供体, 重新甲基化, 生成甲硫氨酸。正常情况下, 大约有 50% 的 Hcy 经再甲基化重新生成甲硫氨酸。Hcy 的另一条甲基化途径局限于肝细胞, 该途径以甜菜碱为甲基供体, 在甜菜碱 Hcy 甲基转移酶催化合成下合成甲硫氨酸和二甲基甘氨酸。当体内甲硫氨酸缺乏时, Hcy 主要通过这一途径代谢, 以保证充足的甲硫氨酸供应。(2)转硫化途径: 体内约 50% 的 Hcy 在胱硫醚- β -合成酶(cystathionine- β -synthetase, CBS)的催化下, 以 VitB6 作为辅酶, 与丝氨酸缩合成胱硫醚和水。其后胱硫醚在 γ -胱硫醚酶作用下水解为半胱氨酸和 α -酮丁酸。当体内甲硫氨酸充足时, Hcy 主要通过这一途径代谢。(3)直接释放到细胞外液: 当机体 Hcy 生成增多时, 这一释放作用增强。因此, 细胞外液(如血浆和尿)中 Hcy 的浓度反映了细胞内 Hcy 产出和利用的平衡。

2 影响 Hcy 代谢的相关因素

2.1 遗传因素 在 Hcy 的代谢途径中, 各种酶的遗传代谢紊乱均可以影响血浆 Hcy 水平。(1)亚甲基四氢叶酸还原酶(methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR)基因多态性: MTHFR 目前已发现有 10 余种基因突变, 其中最常见基因突变位点为 C677T 点和 A1298C 点。MTHFR 发生基因突变

时 677 位 C 变为 T, MTHFR 第 225 位的丙氨酸由缬氨酸取代, 导致该酶的活性和耐热性下降, 影响了 Hcy 再甲基化, 而引起血浆 Hcy 水平的升高。Passaro 等^[2]发现, MTHFR 基因 677 位 TT 基因型者血浆中 Hcy 水平明显增高, A1298C 突变对血浆 Hcy 水平及脑动脉狭窄无明显影响。(2)CBS 基因异常: 目前发现 CBS 基因突变约有 10 余种, 其基因突变的纯合子可引起严重的高 Hcy 血症, 而杂合子的 CBS 酶活性降低, 仅引起血浆 Hcy 水平轻度升高。(3)甲硫氨酸合成酶(methionine synthetase, MS)基因多态性: Tsai^[3]的研究发现, A2756G 突变纯合子患者空腹血浆 Hcy 水平较健康对照组明显降低, 提示甲硫氨酸合成酶基因突变影响血浆 Hcy 水平。

2.2 疾病 临床上许多疾病可以影响 Hcy 的代谢, 进而影响其血浆水平。临床常见疾病对血浆 Hcy 水平的影响见表 1。

表 1 临床常见疾病对血浆 Hcy 水平的影响

疾病名称	对 Hcy 效应
肾功能衰竭	↑
增生性疾病	↑
甲状腺功能亢进	↓
甲状腺功能减退	↑
糖尿病早期	↓
糖尿病晚期	↑
银屑病	↑
系统性红斑狼疮	↑
恶性肿瘤	↑
幽门螺杆菌感染	↑
移植术后	↑
类风湿疾病	↑
帕金森综合征	↑
慢性血液病	↑
炎症性肠病	↑
慢性炎症	↑
活动性肝病	↑

2.3 药物 许多药物可以影响血浆 Hcy 的水平^[4], 临床上一些常用药物对血浆 Hcy 水平的影响及可能的机制见表 2。

表 2 常用药物对血浆 Hcy 水平的影响

药物名称	对 Hcy 效应	效应机制
调血脂药		
贝特类	↑	减低 GFR?
烟酸类	↑	抑制吡多醛激酶, 减低 VitB6 水平, 减低 CBS 活性
考来希胺	↑	干扰 VitB12 和叶酸吸收
HMG-CoA 还原酶抑制剂	—	—
降糖药		
二甲双胍	↑	干扰 VitB12 抑制内因子分泌, 在肠道与 Ca ²⁺ 结合, 可能与减低叶酸水平有关
胰岛素	↓	增加 MTHFR 活性, 抑制 CBS 活性
性激素		
雌激素	↓	机制未明
雄激素类/睾酮	↑	增加肌酐生成, 不同的雄性激素有差异
抗雌激素药		
他莫西芬/雷洛西芬	↓	轻度升高叶酸水平, 由雌激素介导?
抗风湿药		
甲胺蝶呤	↑	抑制二氢叶酸还原酶
柳氮磺吡啶	轻度 ↑	机制未明
抗癫痫药		
苯妥英钠	↑	清除叶酸, 减低 5-MTHFR 活性, 减低甲硫氨酸合酶活性, 肝酶诱导作用
卡马西平	↑	清除叶酸, 可能有肝酶诱导作用
丙戊酸钠		
其它药物		
环孢素	↑	影响肾功能, 可能与干扰叶酸依赖的再甲基化有关
尼古丁	↑	抑制吡多醛激酶
左旋多巴	↑	S-腺苷甲硫氨酸依赖的转甲基作用的底物
乙酰半胱氨酸	↓	巯基-二硫键转换, 与血浆蛋白结合率低
酒精	↑	可能与叶酸清除有关

注: 肾小球滤过率 (glomerular filtration rate, GFR)

2.4 其它

2.4.1 VitB6、VitB12 和叶酸是 Hcy 代谢的辅酶, 它们的水平与 Hcy 水平呈负相关, 摄入不足时, 上述三个酶活性下降, 血浆 Hcy 水平升高。

2.4.2 长期饮酒可引起肝细胞 MS 活性下降, 造成血浆 Hcy 水平升高, 且饮酒量与 Hcy 水平呈正相关^[9]。

2.4.3 年龄、性别、长期大量的吸烟和饮用咖啡等均可影响血浆 Hcy 水平。

3 Hcy 的检测技术

目前 Hcy 的测定主要有高效液相色谱法 (high performance liquid chromatography, HPLC)、免疫测定法、气相色谱-质谱分析法 (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)、液相色谱-电喷射串联质谱法、毛细管电泳荧光检测法等。

3.1 HPLC 法 此法是测定 tHcy 运用最广泛的一种, HPLC 根据衍生方式 (柱前或柱后)、检测方法 (荧光、紫外线、电化学) 可分为多种方法。此法简单、快速、敏感、不昂贵。不足的是样品处理、层析的条件、样品检测及定量的诸多变异, 使其难以标准化^[6]。

3.2 免疫测定法 目前有酶联免疫测定法和荧光偏振免疫分析法两种方法用于测定血浆中 Hcy 浓度。两种方法都需要将 Hcy 转变成 S-腺苷同型半胱氨酸 (S-adenosyl homocysteine, SAH), 单克隆抗体识别结合 SAH 后, 应用不同的方法进行定量测定。

3.2.1 酶联免疫测定法 利用 SAH 水解酶作用于 Hcy 生成 SAH, 然后加到已包被有 SAH 单克隆抗体的酶标板中, 再加入酶标 SAH 与样品中 SAH 竞争性结合 SAH 抗体, 洗涤后显色, 以达到定量测定血浆 Hcy 目的。该法特点是操作比较方便、快捷, 重复性好, 方法稳定可靠。

3.2.2 荧光偏振免疫分析法 将鼠的 SAH 单克隆抗体与样本 SAH 结合, 再加入能激发荧光的 SAH 类似物与之竞争性结合, 可以对 SAH 定量测定, 从而测定样品中 Hcy 的浓度。该法操作简单, 适合用作大样本分析或临床检测。随着临床、科研的需要, 目前已有检测 Hcy 的专用仪器 Abbott IMx 分析仪, 每小时可处理 20 份 Hcy 样本, 方法比较简便、快速, 明显优于 HPLC 法。

3.3 GC-MS 法 Stabler^[7]等首先报道了应用 GC-MS 测量血

浆 Hcy 浓度的方法, 该法可同时检测其它相关的代谢产物, 包括甲硫氨酸、胱硫醚等。后经 MacCoss 等^[9]改良, 该方法在处理量、灵敏度和特异度上都有了很大的改善。该方法精确度很高, 特别适用于需要高灵敏度的检测血浆 Hcy 和其它含巯基的氨基酸的代谢的实验研究。

3.4 液相色谱-电喷射串联质谱法 电喷射串联质谱技术的发展使 tHcy 的检测有了进步。Hcy 样本还原和去蛋白后通过快速液相色谱与样本其它成分分离, 并应用四级质谱检测。该方法精确度不是太高, 设备昂贵, 但是处理样本速度快, 灵敏度和特异度都很高, 可以作为大样本筛选检查方法^[9]。

3.5 毛细管电泳荧光检测法 Causse 等^[9]报道了应用毛细管电泳测量血浆 tHcy 和其它硫醇的方法。分离之前衍生试剂应用荧光素-5-顺丁烯二酰亚胺或 6-碘化乙酰氨基荧光素; 通过激光激发荧光检测。该方法灵敏度高, 简单、快速、准确、仪器设备简单, 样处理量适当, 非常适合在临床研究中作为常规检测方法。

4 Hcy 与心血管疾病

大量研究证实, 血浆 Hcy 水平增高是心血管疾病的一个独立危险因素^[10,11]。血浆 Hcy 水平增高可增加心肌梗死、心源性脑卒中、心力衰竭和闭塞性外周动脉疾病的危险性^[12,13]。另外, 高 Hcy 血症与颈动脉内膜中层厚度, 颈动脉狭窄和早期的冠状动脉粥样硬化有关^[13]。产生这一效应可能的机制与促进平滑肌细胞增殖、导致内皮功能不全、促进胶原合成和破坏血管壁的弹性介质有关^[14]。

尽管血浆 Hcy 水平增高会增加心血管疾病的发病风险。但是, 应用叶酸和维生素 B 治疗降低血浆 Hcy 是否能有效降低心血管疾病的发病风险却存在争议。一项关于补充叶酸与卒中发病风险的 meta 分析显示, 补充叶酸降低血浆 Hcy 水平可以有效降低卒中的发病风险^[5]。但是, 近年相继出现的一些临床研究结果显示, 应用叶酸和维生素 B 降低血浆 Hcy 水平对心血管疾病的影响是中性的^[16,17], 对某些心血管疾病甚至是负性的结果^[18,19]。而最近的一项 meta 分析结果显示, 应用叶酸降低血浆 Hcy 水平对心血管疾病和卒中的发病风险均无影响, 因此不建议以补充叶酸作为预防和治疗卒中和心血管疾病常规策略^[20]。由于 Hcy 代谢关键酶的基因多态性具有明显的种族分布差异, 而 meta 分析的结果往往会忽视这一关键问题, 所以今后对特定基因型的干预研究势在必行, 使相关干预措施更具针对性。

总之, 引起血浆 Hcy 水平增高的原因是多方面的, Hcy 与多种生理、病理生理和临床疾病相关。血浆 Hcy 水平作为心脑血管疾病的一个危险因素, 也越来越为人们所熟知。随着检测技术的不断进步以及在临床的普及, 如何通过有效干预手段控制血浆 Hcy 水平, 以达到降低心脑血管疾病发病风险的目的, 还需要进一步的研究和探讨。

5 参考文献

- 1 Wald DS, Law M, Morris JK. Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis. *BMJ*, 2002, 325: 1195-1202.
- 2 Passaro A, Vanini A, Calzoni F, et al. Plasma homocysteine, methylenetetrahydrofolate reductase mutation and carotid damage in elderly healthy women. *Atherosclerosis*, 2001, 57: 175-180.
- 3 Tsai MY, Bignell M, Yang F, et al. Polygenic influence on plasma homocysteine: association of two prevalent mutations, the 844ins68 of cystathionine beta-synthase and A (2756) G of methionine synthase, with lowered plasma homocysteine levels. *Atherosclerosis*, 2000, 149: 131-137.
- 4 Desouza C, Keebler M, McNamara DB, et al. Drugs affecting homocysteine metabolism: impact on cardiovascular risk. *Drugs*, 2002, 62: 605-616.
- 5 De Bree A, Verschuren WM, Blom HJ, et al. Alcohol consumption and plasma homocysteine: what's brewing? *Int J Epidemiol*, 2001, 30: 626-627.
- 6 El-Khaiy L, Ueland PM, Refsum H, et al. Plasma total cysteine as a risk factor for vascular disease: The European Concerted Action Project. *Circulation*, 2001, 103: 2544-2549.
- 7 Stabler SP, Marcell PD, Podell ER, et al. Quantitation of total homocysteine, total cysteine, and methionine in normal serum and urine using capillary gas chromatography-mass spectrometry. *Anal Biochem*, 1987, 162: 185-196.
- 8 MacCoss MJ, Fukagawa NK, Matthews DE. Measurement of homocysteine concentrations and stable isotope tracer enrichments in human plasma. *Anal Chem*, 1999, 71: 4527-4533.
- 9 Causse E, Siri N, Bellet H, et al. Plasma homocysteine determined by capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection. *Clin Chem*, 1999, 45: 412-414.
- 10 Levy D, Hwang SJ, Kayalar A, et al. Associations of plasma natriuretic peptide, adrenomedullin, and homocysteine levels with alterations in arterial stiffness: the Framingham Heart Study. *Circulation*, 2007, 115: 3079-3085.
- 11 Loland KH, Bleie O, Blix AJ, et al. Effect of homocysteine-lowering B vitamin treatment on angiographic progression of coronary artery disease: a Western Norway B Vitamin Intervention Trial (WENBIT) sub-study. *Am J Cardiol*, 2010, 105: 1577-1584.
- 12 House AA, Eliasziw M, Catran DC, et al. Effect of B-vitamin therapy on progression of diabetic nephropathy: a randomized controlled trial. *JAMA*, 2010, 303: 1603-1609.
- 13 Vyssoulis G, Karpanou E, Kyvelou SM, et al. Associations between plasma homocysteine levels, aortic stiffness and wave reflection in pa-

tients with arterial hypertension, isolated office hypertension and normotensive controls. *J Hum Hypertens*, 2009, 24: 183-189.

14 Tran H, Hankey GJ, Eikelboom JW. Homocysteine—should we screen and treat in preventive cardiology programs? *J Cardiopulm Rehabil*, 2006, 26: 281-287.

15 Wang X, Qin X, Demirtas H, et al. Efficacy of folic acid supplementation in stroke prevention: a meta-analysis. *Lancet*, 2007, 369: 1876-1882.

16 Toole JF, Malinow MR, Chambless LE, et al. Lowering homocysteine in patients with ischemic stroke to prevent recurrent stroke, myocardial infarction, and death: the Vitamin Intervention for Stroke Prevention (VISP) randomized controlled trial. *JAMA*, 2004, 291: 565-575.

17 Armitage JM, Bowman L, Clarke RJ, et al. Effects of homocysteine-lowering with folic acid plus vitamin B12 vs placebo on mortality and major morbidity in myocardial infarction survivors: a randomized trial. *JAMA*, 2010, 303: 2486-2494.

18 Bonna KH, Njolstad I, Ueland PM, et al. Homocysteine lowering and cardiovascular events after acute myocardial infarction. *N Engl J Med*, 2006, 354: 1578-1588.

19 Lonn E, Yusuf S, Arnold MJ, et al. Homocysteine lowering with folic acid and B vitamins in vascular disease. *N Engl J Med*, 2006, 354: 1567-1577.

20 Miller ER 3rd, Juraschek S, Pastor-Barriuso R, et al. Meta-analysis of folic acid supplementation trials on risk of cardiovascular disease and risk interaction with baseline homocysteine levels. *Am J Cardiol*, 2010, 106: 517-527.

(收稿日期: 2010-07-21)
(本文编辑: 杨军)

(上接第 192 页)

1 丛玉隆, 邓新立, 时向民, 等. 噻氯匹啶对心肌梗塞患者血小板微粒膜蛋白动态变化的影响. *中华检验医学杂志*, 2003, 26: 654-657.

2 George JN, Thoi LL, McManus LM, et al. Isolation of human platelet membrane microparticles from plasma and serum. *Blood*, 1982, 60: 834-840.

3 叶应妩, 王毓三, 等主编. 全国临床检验操作规程. 第 2 版. 南京: 东南大学出版社, 1997, 472-531.

4 稿件处理

4.1 本刊实行以同行审稿为基础的三审制(编辑初审、专家外审、编委会终审)。在投稿时作者须告知与该研究有关的潜在利益冲突(即: 是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突)。审稿过程中保护作者稿件的私密权。对不拟刊用的稿件将告知退稿意见, 对稿件处理有不同意见者, 作者有权申请复议, 并提出申诉的文字说明。

4.2 经审核拟定刊用的稿件按退修意见修改整理后, 为缩短刊出周期和减少错误, 请将修改稿以 E-mail 发送, 且修改稿打印件、原稿、退修意见单一并寄回本刊编辑部。

4.3 论文“快速通道”要求 论文具备本专业领域的创新性、科学性和重要性, 该论文的早日公布将对临床和科研工作产生重大影响。“快速通道”投稿要求: (1)稿件应符合本刊约约的要求。(2)作者在投稿前应 与编辑部联系说明研究的基本情况, 应提供说明论文需要通过“快速通道”发表理由的书面材料, 同时, 还应提供省级或省级以上文献检索机构出具的“查新报告”。同时有 2 位高级职称的同行专家(至少有 1 位为非本单位专家)书面推荐意见。(3)经编辑部同意后, 将论文发送到指定的电子信箱, 并邮寄单位介绍信。(4)作者可推荐 3-5 位审稿专家(包括详细联系方式)供编辑部参考。(5)来稿应提供作者的通讯地址、电话、手机、传真、E-mail 等联系方式。凡要求进入“快速通道”稿件, 需交纳审稿费每篇 400 元。汇款至《实用检验医师杂志》编辑部, 附言中请务必注明“快速通道审稿费”。对符合“快速通道”要求的论文采用特定审稿流程, 在收稿后 1 个月内就论文审稿结果给予答复, 对符合要求的论文在收稿后 4 个月内予以发表。

4.4 根据《中华人民共和国著作权法》, 并结合本刊实际情况, 凡接到本刊收稿回执后 3 个月内未接到稿件处理通知者, 系仍在审阅中。作者如欲投他刊, 请先与本刊联系, 切勿一稿两投。一旦发现一稿两投, 将立即退稿; 而一旦发现一稿两用, 本刊将进行如下处理: (1)刊登撤销该论文及该文系重复发表的声明, 并在中国医师协会系列杂志上通报; (2)向作者所在单位和该领域内的其他科技期刊进行通报; (3)两年内拒绝发表以该文第一作者为作者的任何来稿。已在非公开发行的刊物上发表, 或在学术会议交流过, 或已用其他文种发表过(需征得首次刊登期刊的同意)的文稿, 不属于一稿两投, 但作者在投稿时必须注明。已在一种杂志以摘要形式发表的论文可将全文投给其他杂志, 但须征得欲投期刊的同意。

5 投稿地址

来稿请寄:《实用检验医师杂志》编辑部收, 地址: 天津市河东区成林道 220 号 武警医学院附属医院, 邮政编码: 300162, 电话: (022)60577728, 传真: (022)60577729, E-mail: jianyanysishi@163.com