文章编号:1000-5404(2010)15-1687-02

经验交流

半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C 与冠脉狭窄程度的相关性分析

李　凯,刘伯学,刘东武,张科林,蔡天志,张安吉,张继军,辛　宏,田　磊,张晓红　(710061 西安,西安医学院附属医院心血管内科)

【关键词】　半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C;冠心病;冠脉造影
【中图法分类号】　R541.4　　【文献标志码】　B

近年来,血清半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C(cystatin C ,Cys C)已成为一个新的肾功能检测的标记物。新近研究发现 Cys C 又与冠心病的发生、发展有关[1],Pinon 等[2]认为 Cys C 可能成为一个新的冠心病危险因子。但是,这个观点仍有较大争议。故本研究目的在于观察血清 Cys C 水平与冠心病的关系,以及与冠脉狭窄程度是否存在相关性,以探讨 Cys C 是否可成为一个新的冠心病危险因子。

1　对象与方法

1.1　对象

入选的病例均为西安医学院附属医院心内科 2008 年 1 月至 2009 年 10 月行冠脉造影的疑诊冠心病患者。符合以下标准:①肾功能正常且无肾病病史。②美国纽约心脏病学会心功能Ⅰ~Ⅱ级或 Killip 分级Ⅰ级。③无肿瘤、动脉瘤、糖尿病、老年性痴呆和脑淀粉样血管病。应用随机数字表法共入选患者 347 例,按照冠脉造影的结果分为 2 组:冠脉造影正常组 85 例,平均(56.88 ± 8.51)岁,男性 50 例,女性 35 例,高血压 32 例,血肌酐(61.61 ± 13.93)μmol/L;冠心病组 262 例,平均(58.53 ± 9.45)岁,男性 178 例,女性 84 例,高血压 129 例,血肌酐(63.83 ± 15.98)μmol/L。冠心病组再根据冠脉造影的结果采用冠脉积分法分为轻度组、中度组、重度组 3 个亚组(冠脉狭窄程度计分标准:无狭窄计 0 分,狭窄 1% ~24% 计 1 分,25% ~49% 计 2 分,50% ~74% 计 3 分,75% ~98% 计 4 分,99% ~100% 计 5 分。然后主支分数相加,总分 1 ~4 分为轻度狭窄;5 ~9 分为中度狭窄;10 分以上为重度狭窄。若 1 支血管有多处狭窄,则以最狭窄病变的分数作为该支血管狭窄分数,若多支血管有狭窄,则将各支血管狭窄分数累加,即为该患者冠脉计分)。①冠脉狭窄轻度组 92 例,年龄(58.37 ± 9.60)岁,男性 61 例,女性 31 例;高血压 42 例,血肌酐(64.01 ± 14.46)μmol/L;②冠脉狭窄中度组 82 例,年龄(58.10 ± 10.30)岁,男性 56 例,女性 26 例;高血压 42 例,血肌酐(61.96 ± 16.91)μmol/L;③冠脉狭窄重度组 88 例,年龄(59.10 ± 8.52)岁,男性 61 例,女性 27 例;高血压 45 例,血肌酐(65.75 ± 16.48) μmol/L。各组入选患者性别组成、年龄差异及高血压患者比例、血肌酐水平均无统计学意义($P>0.05$)。

1.2　方法

所有患者在入院后 24 h 内抽血(且必须在造影前抽血,以免对比剂肾损害的影响)。离心分离血清,应用 OLYMPUS AU640 全自动生化分析仪采用颗粒增强透射免疫比浊法检验血清 Cys C 水平。

1.3　统计学处理

实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 13.0 统计软件。比较冠脉造影正常组和冠心病组的血清 Cys C 水平行 t 检验;比较冠脉狭窄轻度组、中度组、重度组血清 Cys C 水平行单因素方差分析,组间两两比较行 LSD 法;血清 Cys C 水平与冠脉狭窄程度的相关性行 Pearson 相关分析。

2　结果

冠心病组与冠脉造影正常组比较,血清 Cys C 水平明显降低[分别为(0.79 ± 0.16)、(0.89 ± 0.16) mg/L,$P<0.01$)]。

冠脉狭窄轻度组、中度组、重度组血清 Cys C 水平比较具有统计学差异:重度组(0.71 ± 0.16) mg/L 较轻度组(0.86 ± 0.15) mg/L、中度组(0.80 ± 0.14) mg/L 血清 Cys C 水平显著降低($P<0.01$);中度组也较轻度组血清 Cys C 水平显著降低($P<0.01$)。

血清 Cys C 水平与冠脉狭窄程度呈显著负相关($r=-0.376$,$P<0.01$)。

3　讨论

Cys C 广泛存在于植物、动物及原虫,促进细胞增生,并参与炎症反应。动脉粥样硬化形成与一类被称为组织蛋白酶的促弹性组织解离的半胱氨酸和天冬氨酸蛋白酶的过度表达有关。而 Cys C 重要功能就是抑制半胱氨酸蛋白酶的活性,在动脉壁蛋白溶解和抗蛋白溶解活性平衡中发挥重要作用,当这种平衡失衡时,异常分泌过多的血管活性分子、炎症因子,会刺激产生高敏 C 反应蛋白,从而促进了动脉粥样硬化的发生和发展[3]。因此,组织蛋白酶及其抑制剂 Cys C 表达失衡在冠心病中具有潜在意义。

本研究结果显示,血清 Cys C 水平在冠心病患者中是降低的,且随着冠脉狭窄程度的加重,血清 Cys C 水平也显著降低($P<0.01$);血清 Cys C 水平与冠脉狭窄程度呈显著相关性($r=-0.376$,$P<0.01$)。这一结果与动脉粥样硬化发生、发展过程中组织蛋白酶过度表达、而 Cys C 表现为缺乏的观点是一致的。近年来,国外一些研究从不同方面,包括动物实验和基因研究也支持这一观点。如 Shi 等[4]应用免疫染色法与免疫杂交法发现动脉粥样斑块中 Cys C 含量要比正常血管明显减少,但是组织蛋白酶 S 及 K 却过度表达。Sukhova 等[5]对

【基金项目】　西安医学院校基金(2007QN03)
【通信作者】　李　凯,E-mail:muzishanyiji@sina.com

ApoE$^{-/-}$小鼠的实验研究结果直接证明动脉粥样硬化形成时半胱氨酸蛋白酶/蛋白酶抑制剂失衡。通过对Cys C基因的研究发现,血浆Cys C浓度在突变单倍体携带者中明显较低,而在主单倍体纯合子个体中水平是较高的,且通过对急性心梗患者进行冠脉造影,发现突变单倍体患者的冠状动脉狭窄程度较高[6]。

另外,本研究入选冠心病组的病例大都是不稳定型心绞痛和急性心梗,可能存在着不稳定斑块。斑块不稳定时,随着炎性斑块蛋白的溶解,抗蛋白溶解因子Cys C被消耗,这个事件先于斑块破裂本身,且能触发冠状动脉粥样斑块的破裂[7]。此外,当斑块不稳定时,斑块周围的诱导Cys C表达的细胞因子(如β_1型转化生长因子)表达低下,从而导致血清Cys C水平降低[8]。因此,冠心病组特别是冠脉狭窄中度组及重度组血清Cys C水平较低可能与粥样斑块的不稳定也有一定关系。

综上所述,Cys C应该被考虑作为一个新的冠心病危险因子。但其血清水平究竟是与冠脉狭窄程度关系密切,还是与斑块不稳定关系密切,需要进一步探讨。

参考文献:

[1] Singh D, Whooley M A, Ix J H, *et al*. Association of cystatin C and estimated GFR with inflammatory biomarkers: the Heart and Soul Study [J]. Nephrol Dial Transplant, 2007, 22(4): 1087-1092.

[2] Pinon P, Kaski J C. Inflammation, atherosclerosis and cardiovascular disease risk: PAPP-A, Lp-PLA2 and cystatin C. New insights or redundant information? [J]. Rev Esp Cardiol, 2006, 59(3): 247-258.

[3] 张少敏,夏志琦,朱蕾,等. 冠心病患者合并代谢综合征危险因素与冠状动脉病变的关系[J]. 第三军医大学学报, 2008, 30(15): 1484-1486.

[4] Shi G P, Sukhova G K, Grubb A, *et al*. Cystatin C deficiency in human atherosclerosis and aortic aneurysms [J]. J Clin Invest, 1999, 104(9): 1191-1197.

[5] Sukhova G K, Wang B, Libby P, *et al*. Cystatin C deficiency increases elastic lamina degradation and aortic dilatation in apolipoprotein E-null mice [J]. Circ Res, 2005, 96(3): 368-375.

[6] Loew M, Hoffmann M M, Koenig W, *et al*. Genotype and plasma concentration of cystatin C in patients with coronary heart disease and risk for secondary cardiovascular events [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2005, 25(7): 1470-1474.

[7] Noto D, Cefalu' A B, Barbagallo C M, *et al*. Cystatin C levels are decreased in acute myocardial infarction: effect of cystatin C G73A gene polymorphism on plasma levels [J]. Int J Cardiol, 2005, 101(2): 213-217.

[8] Rao M, Guo D, Jaber B L, *et al*. Transforming growth factor-beta 1 gene polymorphisms and cardiovascular disease in hemodialysis patients [J]. Kidney Int, 2004, 66(1): 419-427.

(收稿:2010-03-09;修回:2010-04-10)

(编辑 王小寒)

经验交流

文章编号:1000-5404(2010)15-1688-02

国内外检测新蝶呤试剂盒的等效性研究

邸晓辉[1],贾志凌[2],刘 畅[2],柴丽娜[2],郑 绯[3],徐 娟[1]

(100700 北京,北京军区总医院:药理科[1],肿瘤科[2];100039 北京,解放军第302医院药学部[3])

【关键词】 新碟呤;胶体金法;酶联免疫法

【中图法分类号】 R446 【文献标志码】 B

新蝶呤(Neopterin, Npt)是生物蝶呤合成途径的一种中间代谢产物,化学名为2-胺基-4 羟基-6-(D-赤藓糖基1,2,3-三羟丙基)喋呤[1]。新蝶呤是在各种疾病中细胞免疫系统激活过程中产生的。因此,体液中新蝶呤浓度测定对于监测各种疾病中的细胞免疫活化有重要作用。目前实验室用于检测新蝶呤的方法主要有高效液相色谱法、放射免疫法、酶联免疫法(ELISA)和胶体金法[2]。胶体金法是指以胶体金作为示踪标志物应用于抗原抗体的一种新型的免疫标记技术,利用一步竞争法定性检测人血清或血浆中的新喋呤。德国BRAHMS公司和IBL公司生产的Neopterin ELISA试剂盒灵敏度高特异性强,有较大的市场覆盖率。本研究选择德国BRAHMS公司和德国IBL公司的产品作为对比试剂和第三方试剂盒,通过对比试验,证实深圳康生保生物技术有限公司生产的新蝶呤检测试剂(胶体金法)与已上市产品等效。

【通信作者】 徐 娟,电话:(010)66721842,E-mail:beizongjigou@163.com

1 材料与方法

1.1 实验材料及仪器

新碟呤检测试剂盒(胶体金法),批号20090901,深圳康生保生物技术有限公司生产;Neopterin ELISA Kit,批号ENO203,德国BRAHMS Aktiengesellschaft公司生产;Neopterin ELISA Kit,批号9099006,德国IBL-International GmbH公司生产;MK3酶标仪和洗板机(Thermofisher公司)。

1.2 实验样本

从本院2009年9-12月收集的含肿瘤、癌症、肺炎、肝病变、胃炎、支气管炎等患者的血清样本约107例。

1.3 实验设计与方法

根据《体外诊断试剂临床研究技术指导原则》要求,采用已经获得CE认证的产品Neopterin EIA,德国BRAHMS公司的试剂盒作为对比试剂,德国IBL公司的试剂盒作为第三方试剂,