

· 临床论著 ·

肝豆状核变性患者血浆同型半胱氨酸与脂蛋白(a)、叶酸等的相关性研究

王翼洁 胡文彬 余小玲 吴君霞 韩咏竹 胡纪源 王训 李凯 王共强 杨任民

【摘要】 目的 探讨肝豆状核变性(HLD)患者同型半胱氨酸与血浆脂蛋白(a)、维生素B12、叶酸相关性及其与驱铜治疗的关系。**方法** 将63例HLD住院患者分为33例HLD规范治疗组(规范组)和30例HLD非规范治疗组(非规范组),测定二巯基丙磺酸钠(DMPS)驱铜疗程前血浆同型半胱氨酸(Hcy)、脂蛋白(a)、维生素B12及叶酸的浓度,并留取患者疗前和第一个DMPS驱铜疗程中的24h尿铜,以35例正常人为健康对照组。**结果** 非规范组患者血浆Hcy异常率显著高于规范组及对照组($P<0.0167$),而规范组与对照组Hcy异常率无统计学差异($P>0.05$)。三组患者脂蛋白(a)、叶酸均有统计学差异($P<0.05$),而维生素B12水平无统计学差异($P>0.05$)。非规范组疗前、第一疗程尿铜显著高于规范组($P<0.05$),且非规范组患者血浆Hcy与第一疗程尿铜呈线性正相关。对照组血浆维生素B12、叶酸对Hcy具有显著负相关,而脂蛋白(a)对Hcy具有不显著正相关。**结论** 未经规范化驱铜治疗的HLD患者更易合并高Hcy血症;HLD患者存在脂蛋白(a)的代谢异常及叶酸缺乏情况;正常人的血浆脂蛋白(a)、叶酸、维生素B12水平与血浆Hcy水平存在相关性,但有关HLD的相关性有待进一步研究。

【关键词】 肝豆状核变性; 同型半胱氨酸; 驱铜治疗

Correlation between plasma homocysteine and lipoprotein(a), folate etc. in patients with hepatolenticular degeneration Wang Yijie*, Hu Wenbin, Yu Xiaoling, Wu Junxia, Han Yongzhu, Hu Jiyuan, Wang Xun, Li Kai, Wang Gongqiang, Yang Renmin. *Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230038, China

Corresponding author: Hu Wenbin, Email: hwbzhx@163.com

【Abstract】 Objective To explore the correlation between plasma homocysteine and lipoprotein(a), folate, Vitamin B12 in hepatolenticular degeneration(HLD) and the relationship with decoppering therapy. **Methods** 63 inpatients of HLD were divided into 33 cases of standardized treatment group(specification group) and 30 cases of non-standardized treatment group(non-specification group). The serum concentration of homocysteine(Hcy), lipoprotein(a), folate and vitamin B12 were measured before decoppering therapy with sodium dimercaptosulphonate(DMPS), 24-hour urine copper were remained before drug treatment and after first period treatment with DMPS. 35 cases of normal served as controls(control group). **Results** The abnormal rate of serum Hcy in non-specification group was higher than that in specification group and control group($P<0.05$), but there was no statistical significance between specification group and control group($P>0.05$). The concentration of lipoprotein(a) and folate between three groups had statistical significance($P<0.05$), but vitamin B12 among the three groups present no statistical significance($P>0.05$). 24-hour urine before drug treatment and after first period treatment with DMPS in non-specification group were higher than that in specification group($P<0.05$), and 24-hour urine

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2014.20.002

基金项目:国家自然科学基金(81072738, 81473535);安徽中医药大学临床科研基金(2014lckf02039, 2014lckf02002, 2014lckf02012, 2014lckf02017, 2014lckf02018, 2014lckf02031)

作者单位:230038 合肥,安徽中医药大学(王翼洁、余小玲);安徽中医药大学神经病学研究所附属医院(胡文彬、吴君霞、韩咏竹、胡纪源、王训、李凯、王共强、杨任民)

通讯作者:胡文彬, Email: hwbzhx@163.com

after first period treatment with DMPS had positively linearly related to serum Hcy in non-specification group. The serum concentration of vitamin B12 and folate had a significant negatively related to Hcy in control group, but lipoprotein(a) had no significant positively related to Hcy. **Conclusions** HLD patients without standardized decoppering therapy are more easily complicated with hyperhomocysteine. HLD patients have metabolic abnormalities of lipoprotein(a) and folate deficiency. The correlation between hyperhomocysteinemia and lipoprotein(a), folate, vitamin B12 is existed in normal human, but this correlation in HLD patients remains to be further exploration.

[Key words] Hepatolenticular degeneration; Homocysteine; Decoppering therapy

肝豆状核变性 (hepatolenticular degeneration, HLD) 是一种常染色体隐性遗传性疾病, 在我国及其他亚洲国家发病率相对较高^[1], 国内流行病学调查研究表明 HLD 发病率为 1.96/10 万, 患病率为 5.87/10 万^[2-3]。同型半胱氨酸 (homocysteine, Hcy) 是脑血管病危险因素之一, 其水平增高和动脉粥样硬化密切相关。临床上发现部分 HLD 患者存在高 Hcy 血症, 因此我们收集并分析了 63 例 HLD 患者血浆 Hcy 水平的变化, 以及与脂蛋白 (a)、叶酸、维生素 B12、24 h 尿铜的关系, 旨在探讨 HLD 高 Hcy 血症发生机制及其与驱铜治疗的关系。

资料和方法

一、研究对象

收集 2009 年 3 月至 2013 年 3 月在安徽中医药大学神经病学研究所附属医院住院的 HLD 患者 63 例作为研究对象。其中男 32 例, 女 31 例; 年龄 14~58 岁。根据患者驱铜治疗规范化将其分为两组: HLD 非规范治疗组 (非规范组), 其患者为首次进行驱铜治疗和 (或) 长期自行停止使用驱铜药物治疗且不注意进行低铜饮食者, 其中男 15 例, 女 15 例, 年龄 14~46 岁; HLD 规范治疗组 (规范组), 患者为进行多次规范驱铜治疗疗效满意、依从性良好且平时注意低铜饮食者, 其中男 17 例, 女 16 例, 年龄 14~58 岁。同时选择 35 例正常人作为健康对照组, 其中男 18 例, 女 17 例, 年龄 18~51 岁。三组研究对象年龄、性别均无差异。所有 HLD 患者包括健康对照组成员均为汉族人群且进行 Hcy 检测前 2 个月内未服用 B 族维生素及叶酸等影响 Hcy 代谢的药物。

二、诊断标准与入选标准

该 63 例 HLD 患者均符合 2008 年中华医学会神经病学分会神经遗传病学组和运动障碍学组制定的《HLD 的诊断与治疗指南》^[4]。健康对照组成员均为本院的医护人员, 经健康体检合格且排除铜

代谢异常者。

三、研究方法

三组患者 [HLD 患者在二巯基丙磺酸钠 (DMPS) 进行驱铜治疗前] 于清晨空腹抽取外周静脉血 3 ml 置于真空采血抗凝管中, 并于 30 min 内常温下离心 (3 000 r/min) 5 min, 分离血浆, -20 °C 保存。仪器采用日立 7020 全自动生化分析仪。采用酶循环法检测血浆 Hcy 水平, Hcy 正常范围参考检测试剂盒的标准^[5], 超过正常范围者即可诊断为高 Hcy 血症; 采用免疫比浊法检测脂蛋白 (a) 水平; 采用化学发光法测定叶酸、维生素 B12 水平。试剂盒及质控均由浙江伊利康生物技术有限公司提供。

非规范组及规范组的患者留取除去当日晨尿后至第二天晨尿的全部尿液置于统一规格的经去离子水处理过的尿桶中, 尿量以大于 1 L 为宜。女性患者应避开月经期, 每次留尿后及时加盖避免污染和挥发。尿铜的检测采用 GGX 系列原子吸收分光光度计。其中, 未使用 DMPS 及其他口服驱铜药物治疗至少一周的 24 h 尿铜值视为疗前尿铜。患者入院后首次进行 DMPS ($20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) 驱铜治疗, 在治疗过程中留取并检测第 4 天的 24 h 尿铜值视为第一疗程中 24 h 尿铜; 驱铜治疗 6 d 后, 间歇 2 d, 补充锌、钙等元素后, 再进行 DMPS 驱铜治疗的第二疗程。

四、统计学分析

所有资料采用统计软件 SPSS 19.0 处理, 满足正态分布的计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 不满足正态分布的计量资料以中位数 (M) 表示, 计数资料以率 (%) 表示。两组间计量资料比较不满足正态分布或方差不齐的采用 Wilcoxon 秩和检验; 三组间计量资料比较采用单因素方差分析 (F 检验), 组间两两比较采用 S-N-K 检验, 计数资料比较采用 χ^2 检验; Spearman 等级相关检验用于分析两指标的相关性; 多元线性回归分析用于分析

多指标对于主要指标的相关性。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、三组患者高 Hcy 血症发生率比较

33 例规范组患者血浆 Hcy 水平为 $(10.06\pm4.48)\mu\text{mol/L}$, 异常率为 32%; 30 例非规范组患者血浆 Hcy 水平为 $(27.10\pm36.45)\mu\text{mol/L}$, 异常率为 70%; 35 例健康对照组血浆 Hcy 水平为 $(11.59\pm4.56)\mu\text{mol/L}$, 异常率为 22.86%; 采用 χ^2 检验对 3 组间 Hcy 异常率行两两比较, 由于样本量 <40 , 故采用 Fisher 确切概率法, 结果显示规范组与非规范组、非规范组与对照组 Hcy 的异常率比较均具有统计学差异 (χ^2 值分别为 13.224、14.529, P 值分别为 0.000、0.000), 而规范组与对照组 Hcy 的异常率比较无统计学差异 ($\chi^2=0.018$, $P=0.893$)。

二、三组患者脂蛋白 (a)、维生素 B12、叶酸的比较

结果见表 1。通过表 1 可看出 3 组各指标水平的差异。其中非规范组的患者血浆脂蛋白 (a) 水平为 $(212.57\pm159.68)\text{mmol/L}$, 居最高, 对照组血浆叶酸水平为 $(15.49\pm8.46)\text{nmol/L}$, 居最高。3 组指标组间比较采用单因素方差分析, 组间两两

比较采用 S-N-K 检验, 不符合正态分布或方差不齐的数据运用秩变换或对数转换将其转换后再行方差分析。结果通过表 2 看出 3 组血浆脂蛋白 (a)、叶酸的水平均具有统计学差异 ($P<0.05$): 其中血浆脂蛋白 (a) 水平非规范组与 HLD 规范组、对照组均具有统计学差异, 而规范组与对照组则无统计学差异; 叶酸水平对照组与非规范组、规范组均有统计学差异, 而规范组与非规范组无统计学差异。3 组维生素 B12 水平无统计学差异。

三、规范组与非规范组疗前 24 h 尿铜、第一疗程中 24 h 尿铜的比较及与血浆 Hcy 的关系

从表 1 可以看出规范组疗前 24 h 尿铜、第一疗程中 24 h 尿铜明显低于非规范组, 两组疗前尿铜、第一疗程尿铜比较采用 Wilcoxon 秩和检验, Z 值分别为 -4.913 、 -6.358 , P 值为 0.000、0.000, 说明两组疗前尿铜、第一疗程尿铜均具有统计学差异。通过 Spearman 线性相关分析得知 (表 2), 非规范组的第一疗程 24 h 尿铜与其血浆 Hcy 呈正相关, 相关系数为 0.437, 而疗前 24 h 尿铜与血浆 Hcy、疗前 24 h 尿铜与第一疗程 24 h 尿铜相关性均不显著 ($P>0.05$); 规范组的疗前 24 h 尿铜、第一疗程 24 h 尿铜、血浆 Hcy 三者相互间的线性相关亦不显著 ($P>0.05$)。

表 1 三组患者脂蛋白 (a)、维生素 B12、叶酸的比较及规范组与非规范治疗组疗前尿铜、第一疗程尿铜的比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	脂蛋白(a)(mmol/L)	叶酸(nmol/L)	维生素 B12(pg/ml)	疗前尿铜($\mu\text{mol}/24\text{h}$)	第一疗程尿铜($\mu\text{mol}/24\text{h}$)
规范组	33	127.91 $\pm$ 111.43	10.25 $\pm$ 9.02	318.18 $\pm$ 144.80	77.64 $\pm$ 34.84	604.92 $\pm$ 293.23
非规范组	30	212.57 $\pm$ 159.68	9.10 $\pm$ 5.72	355.93 $\pm$ 197.93	189.57 $\pm$ 173.70	2 251.76 $\pm$ 1 114.49
对照组	35	128.75 $\pm$ 29.55	15.49 $\pm$ 8.46	386.86 $\pm$ 140.79		
F/Z 值		6.210	6.147	1.536	-4.913	-6.358
P 值		0.003	0.003	0.221	0.000	0.000

表 2 规范组、非规范组的疗前 24 h 尿铜、第一疗程 24 h 尿铜与血浆 Hcy 的 Spearman 线性相关分析

组别	统计值	Hcy	疗前 24 h 尿铜	第一疗程 24 h 尿铜
规范组				
Hcy	r 值		-0.178	-0.101
	P 值		0.321	0.576
疗前 24 h 尿铜	r 值	-0.178		0.198
	P 值	0.321		0.270
第一疗程 24 h 尿铜	r 值	-0.101	0.198	
	P 值	0.576	0.270	
非规范组				
Hcy	r 值		0.116	0.437
	P 值		0.543	0.016
疗前 24 h 尿铜	r 值	0.116		0.290
	P 值	0.543		0.120
第一疗程 24 h 尿铜	r 值	0.437	0.290	
	P 值	0.016	0.120	

四、三组患者每组脂蛋白(a)、维生素B12、叶酸与血浆Hcy的关系

经多元线性回归分析得知, 对照组患者血浆Hcy与脂蛋白(a)、维生素B12、叶酸均存在线性关系(双侧 $P=0.023$, $P<0.05$), 其标准偏回归系数分别为0.037、-0.369、-0.379, 其中血浆维生素B12、叶酸与血浆Hcy呈负相关, 具有显著性影响(P 值分别为0.027、0.021, $P<0.05$), 而脂蛋白(a)与血浆Hcy呈正相关, 且影响不显著($P=0.821$)。规范组及非规范组的脂蛋白(a)、维生素B12、叶酸与血浆Hcy无明显线性相关($P>0.05$)(表3, 4)。

表3 多元回归方程方差分析结果

组别	R 值	F 值	P 值
规范组	0.431	2.206	0.109
非规范组	0.445	2.145	0.119
正常对照组	0.512	3.669	0.023

表4 偏回归系数假设检验(正常对照组)

变量	标准化回归系数	t 值	P 值
脂蛋白(a)	0.037	0.228	0.821
维生素 B12	-0.369	-2.326	0.027
叶酸	-0.379	-2.442	0.021

讨 论

Hcy 是蛋氨酸脱甲基后的产物, 是蛋氨酸代谢循环的重要中间产物, 主要经肝脏合成与代谢。研究表明 Hcy 可作用于包括海马^[6-8]、皮质^[8]和基底节^[9]等大脑的多个区域, 相关研究还提示 Hcy 可能具有调节部分神经递质的作用, 如乙酰胆碱^[6]、多巴胺和 5-羟色胺^[10]。最新研究显示 Hcy 水平可以影响基底节及海马的学习、记忆及整理信息功能^[11]。高 Hcy 血症的产生涉及多种因素, 通常认为最主要的因素为遗传和 B 族维生素的缺乏。Hcy 主要通过再甲基化途径参与体内蛋氨酸的代谢, 而作为间接甲基供体的叶酸和辅因子维生素B12的缺乏可阻碍蛋氨酸的再生, 造成 Hcy 的蓄积。高 Hcy 血症的副作用是广泛的, 它被认为是致动脉粥样硬化的独立危险因素之一, 而有关研究表明脂蛋白(a)的浓度与周围动脉粥样硬化及颈动脉粥样硬化的发病率明显相关^[12], 一些研究表明脂蛋白(a)与血 Hcy 存在相关性, 并推测脂蛋白(a)、Hcy 升高有相同的遗传学背景^[13]。

本研究发现经正规驱铜治疗的HLD患者血Hcy

异常率明显低于未经正规驱铜治疗的患者, 且与正常人血Hcy异常率无明显差异。HLD患者因铜代谢障碍导致过量的铜在肝脏内蓄积, 蓄积的铜损害肝细胞, 引起肝细胞坏死、门静脉及其周围炎症和纤维化, 导致慢性肝损伤、肝硬化及肝衰竭^[14-15]。慢性肝损伤可导致Hcy甲基化或转硫途径代谢障碍而使血中Hcy异常升高, 也有研究表明血浆Hcy浓度增高可导致超氧化物合成增加、酶基因突变等, 这些因素反过来可进一步加重肝脏的损伤^[16]。经正规驱铜治疗后蓄积在肝细胞内的铜被大量排出, 肝细胞得以修复, 肝脏损害减轻, 能够正常发挥Hcy代谢的生理功能, 甚至在给予叶酸、维生素B12等药物治疗后患者血Hcy大多基本恢复至正常水平。因此我们大胆推测HLD患者Hcy代谢紊乱导致的高Hcy血症与肝脏损害程度密切相关, 其具体机制有待于进一步深入研究。

苏增锋等^[17]采用磁共振灌注成像技术检测24例HLD患者驱铜治疗前豆状核、丘脑等部位的局部脑血流量(rCBF), 结果表明HLD患者脑组织存在广泛部位的rCBF减低; 经过长期、正规的综合驱铜治疗能使患者的rCBF得到改善。HLD患者的rCBF减低表明其脑部存在缺血性的病理改变, 而对于Hcy和脂蛋白(a), 此二者能够共同作用于内皮细胞促进动脉粥样硬化的形成, 同时又能干扰纤溶系统, 导致脑部缺血性病变的发生^[18]。本研究表明未经规范驱铜治疗的HLD患者其脂蛋白(a)水平最高, 连同其高水平的血Hcy, 正说明HLD患者脑部缺血性病变与之相关; 而经规范驱铜治疗的HLD其脂蛋白(a)水平与正常人无显著差异亦能为规范驱铜治疗的有效性提供依据。

通常认为叶酸、维生素B12的缺乏是导致高Hcy血症的重要因素。本研究结果也表明HLD患者相对于正常人存在叶酸缺乏, 但叶酸水平的高低与是否进行规范的驱铜治疗关系不明显; 维生素B12水平HLD患者与正常人差异亦不显著。这说明HLD患者体内B族维生素代谢是存在问题的, 但在不额外补充B族维生素的情况下两组患者体内叶酸、维生素B12水平差异不显著。是否叶酸相对于维生素B12在HLD患者体内B族维生素代谢紊乱过程中扮演更重要的角色还有待于进一步大样本的临床研究加以证实。

疗前24h尿铜和第一疗程中24h尿铜通常作为HLD患者体内含铜量高低的客观指标, 也是驱

铜治疗疗效的评价依据。本研究结果证明了规范驱铜治疗能够有效降低尿排铜量,但尚不能证明 Hcy 与尿铜之间存在相关性。我们推测可能的原因是样本量偏小导致线性相关分析结果的不显著性。

多元线性回归结果表明正常人的血 Hcy 与叶酸、维生素 B12 呈显著的负相关,这与 Selhub 等^[19]的研究结果相一致,表明正常人的血浆叶酸、维生素 B12 水平对血浆 Hcy 水平存在一定的调节机制;其血 Hcy 与脂蛋白(a)呈不显著的正相关,这亦能表明 Hcy 与脂蛋白(a)同为动脉粥样硬化的危险因素。但 HLD 患者中血 Hcy 与脂蛋白(a)、叶酸、维生素 B12 的线性关系均不显著。HLD 是否存在其他影响 Hcy 代谢的因素,或存在异常的脂代谢紊乱、B 族维生素代谢异常,或是由于样本量偏小而导致统计学结果存在偏性?上述问题未见相关文献的报道,需进一步深入研究加以证实。

参 考 文 献

- [1] Lai CH, Tseng HF. Population-based epidemiologic study of Wilson's disease in Taiwan[J]. Eur J Neurol, 2010, 17(6): 830-833.
- [2] Cheng N, Wang K, Hu WB, et al. Wilson disease in the south Chinese Han population[J]. Can J Neurol Sci, 2014, 41(3): 363-367.
- [3] 胡文彬, 韩咏竹, 薛本春, 等. 安徽省含山县肝豆状核变性的流行病学研究[J]. 中华医学杂志, 2011, 91(13): 894-897.
- [4] 中华医学会神经病学分会神经遗传病学组和运动障碍学组. 肝豆状核变性的诊断与治疗指南[J]. 中华神经科杂志, 2008, 8: 566-567.
- [5] 王清涛, 秦晓光. 同型半胱氨酸的检测和临床应用[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(3): 193-195.
- [6] Chen CS, Kuo YT, Tsai HY, et al. Brain biochemical correlates of the Plasma homocysteine level: a proton magnetic resonance spectroscopy study in the elderly subjects[J]. Am J Geriatr Psychiatry, 2011, 19: 618-626.
- [7] Matte G, Pereira LO, Dos STM, et al. Acute homocysteine administration impairs memory consolidation on inhibitory avoidance task and decreases hippocampal brain-derived neurotrophic factor immunocontent: Prevention by folic acid treatment[J]. Neuroscience, 2009, 163: 1039-1045.
- [8] Den HT, Vermeer SE, Clarke R, et al. Homocysteine and brain atrophy on MRI of non-demented elderly[J]. Brain, 2003, 126: 170-175.
- [9] Genedani S, Agnati LF, Leo G, et al. beta-Amyloid fibrillation and/or hyperhomocysteinemia modify striatal patterns of hyaluronic acid and dermatan sulfate: possible role in the Pathogenesis of Alzheimer's disease[J]. Curr Alzheimer Res, 2010, 7: 150-157.
- [10] Gao L, Zeng XN, Guo HM, et al. Cognitive and neurochemical alterations in hyperhomocysteinemic rat[J]. Neurol Sci, 2011, 33: 39-43.
- [11] Ahmed AM, Doaa HH, Abeer ME, et al. The relationship between Associative Learning, Transfer Generalization, and Homocysteine Levels in Mild Cognitive Impairment[J]. PLoS One, 2012, 7(9): e46496.
- [12] Kamstrup PR, Benn M, Tybjaerg HA, et al. Extreme lipoprotein(a) levels and risk of myocardial infarction in the general population. the Copenhagen City Heart Study[J]. Circulation, 2008, 117(2): 176-184.
- [13] 李晔. 男性颈动脉粥样硬化患者血浆同型半胱氨酸与脂蛋白(a)、尿酸的关系[J]. 中国临床医学, 2011, 18(3): 320-321.
- [14] Brewer GJ, Yuzbasiyan GV. Wilson disease[J]. Medicine, 1992, 71: 139-164.
- [15] Schilsky ML. Wilson disease: Genetic basis of copper toxicity and Natural history[J]. Seminars in Liver Disease, 1996, 16: 83-95.
- [16] Boyce M, Bryant KF, Jousse C. A selective inhibitor of eIF2alpha dephosphorylation protects cells from ER stress[J]. Science, 2005, 307(5711): 935-939.
- [17] 苏增锋, 胡文彬, 张颖, 等. 驱铜治疗对肝豆状核变性患者局部脑血流量的影响[J]. 山东医药, 2010, 50(4): 12-14.
- [18] 张涛. 缺血性脑血管病患者血清同型半胱氨酸和脂蛋白(a)含量变化的临床意义[J]. 临床研究, 2012, 10(26): 598-599.
- [19] Selhub J, Jacques PF, Wilson PW, et al. Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population[J]. JAMA, 1993, 270: 2693-2698.

(收稿日期: 2014-08-01)

(本文编辑: 戚红丹)

王翼洁, 胡文彬, 余小玲, 等. 肝豆状核变性患者血浆同型半胱氨酸与脂蛋白(A)、叶酸等的相关性研究 [J/CD]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2014, 8 (20): 3593-3597.