

血浆同型半胱氨酸水平与血管性痴呆的关系

蔡德亮¹, 张中兴², 程灶火¹

(1. 无锡市精神卫生中心神经内科, 江苏 无锡 214151;

2. 新乡医学院第二附属医院神经内科, 河南 新乡 453003)

【摘要】 目的: 探讨血浆同型半胱氨酸(Hcy)、血清叶酸和维生素 B12 水平与血管性痴呆(VD)的关系。方法: 应用反相高效液相色谱法(RP-HPLC)测定 30 例 VD 患者的血浆 Hcy 水平, 用放射免疫法(RIA)测定其血清叶酸及维生素 B12 水平, 并与 58 例非痴呆脑梗死患者和 30 例同龄对照比较。结果: VD 组血浆 Hcy 水平显著高于非痴呆脑梗死组; 非痴呆脑梗死组血浆 Hcy 水平显著高于同龄对照组; VD 组血清叶酸水平明显低于非痴呆脑梗死组; 非痴呆脑梗死组血清叶酸水平明显低于同龄对照组。结论: Hcy 可能是 VD 发病的一个危险因素。

【关键词】 血管性痴呆; 同型半胱氨酸; 叶酸; 维生素 B12

中图分类号: R395.2

文献标识码: A

文章编号: 1005-3611(2009)06-0664-02

Relationship Between Vascular Dementia and Plasma Homocysteine Level

CAI De-liang, ZHANG Zhong-xing, CHENG Zao-huo

Department of Neurology, Wuxi Mental Health Center, Wuxi 214151, China

【Abstract】 Objective: To study the relationship between plasma homocysteine (Hcy), serum folate, Vitamin B12 levels and Vascular dementia (VD). **Methods:** 30 VD patients, 58 patients with nondemented cerebral infarction and 30 normal subjects of the same age were recruited in to the study. Their plasma Hcy levels were measured by reversed phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC), and the levels of serum folate and Vitamin B12 were also determined by radioimmune assay (RIA). **Results:** Mean of Plasma homocysteine concentrations were significantly higher in VD group than in the nondemented cerebral infarction group. Which were significantly higher in the nondemented cerebral infarction group than in the normal subjects of the same age. Serum folate levels in the VD group were significantly lower than those in the nondemented cerebral infarction group. Which were significantly lower than those of normal subjects. **Conclusion:** Hcy may be a new risk factor for the onset of VD.

【Key words】 Vascular dementia; Homocysteine; Folate; Vitamin B12

血管性痴呆(Vascular Dementia, VD)是因脑血管疾病所致的智能及认知功能障碍临床综合征。是老年期痴呆中最常见的类型之一。最新的一项研究显示^[1], 在年龄 ≥ 65 岁的人群中, VD 的患病率为 1.3%, 仅次于 Alzheimer 病的 5.9% 而居第二位。随着我国人口老龄化的发展, VD 的发病率也在不断增加, 给痴呆患者家庭及社会造成了巨大的经济和社会负担, 因此对 VD 的研究和防治也愈来愈受到人们的关注。但到目前为止, VD 的发病机制仍未完全阐明, 因此围绕该病发生发展的相关危险进行深入研究很有必要。本研究采用反相高效液相色谱法(RP-HPLC)和放射免疫法对 30 例 VD 患者、58 例不伴痴呆的脑梗死患者和 30 例健康对照的血浆同型半胱氨酸(Hcy)水平、血清叶酸和维生素 B12 水平进行了测定和比较, 现将结果报告如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象

VD 组为 2004 年 3 月至 12 月神经内科和老年科的门诊及住院患者 30 例, 其中男性 16 例, 女性 14 例, 年龄 57-82 岁, 平均 69.23 ± 6.40 岁。均符合 DSM-IV^[2] 和美国国立神经系统疾病与卒中研究所和瑞士神经科学研究国际协会(NINDS-AIREN)国际工作小组提出的血管性痴呆的诊断标准^[3]。非痴呆脑梗死组为同期神经内科收治的住院患者, 随机选取 58 例, 其中男性 27 例, 女性 31 例, 年龄 49-85 岁, 平均 67.64 ± 9.54 岁。符合全国第四届脑血管疾病会议制定的诊断标准^[4]。全部病例均经头颅 CT 或 MRI 检查确诊, 同龄对照组为在本院体检的健康人员 30 名, 其中男性 15 例, 女性 15 例, 年龄 51-88 岁, 平均 66.73 ± 6.74 岁。三组被试平均年龄、性别分布、受教育程度以及吸烟、饮酒者的比例均无显著差异。

1.2 方法

1.2.1 标本的采集和处理 符合入组标准的研究对象, 经知情同意后, 均在清晨采集空腹外周静脉血

6.0ml, 其中 3.0ml 置于含有 2% 依地酸二钠(EDTA) 100 μ l 的一次性试管中, 混匀后于 30 分钟内离心, 3000r/min 离心 10 分钟, 分离出血浆 1.0 ml 置于微型离心管中, 于-70℃ 冰箱保存。另 3.0ml 静脉血置于无抗凝剂的一次性试管中, 静置于 4℃ 冰箱内使之凝血, 于 1 小时内离心, 3000r/min 离心 10 分钟, 分离血清置于两个 1.0 ml 的微型离心管中, 置于-70℃ 冰箱保存。待所有样本采集完后统一测定 Hcy、血清叶酸和维生素 B12。

1.2.2 血浆同型半胱氨酸水平测定 应用 RP-HPLC 检测血浆 Hcy, 取样本血浆 0.5ml 于具塞离心管中, 加入 0.5ml 乙腈沉淀蛋白, 离心后取上清液 40 μ l, 分别加入 50 μ l 双氧水, 室温放置 30min 后于 70℃ 水浴中用氮气吹干, 各加入 60 μ l 巯基乙醇和 70 μ l 衍生剂, 4min 后取 20 μ l 进样, 由色谱工作站(日本岛津 LC-6A 反相高效液相色谱仪)自动计算出样本中 Hcy 含量。色谱条件: 色谱柱: ODS(200(6.0mm)分析柱及 C18 预柱; 柱温: 45℃; 荧光检测波长: Ex340nm, Em430nm; 流动相: 0.02 mol·L⁻¹ NaAc (pH=7.20): 甲醇: 四氢呋喃=54:45.7:0.3; 流速: 1.0ml/min。质控指标: 血浆标本测定由美国 sigma 公司提供的同型半胱氨酸标准品作对照, 并对其做稳定性检验。

1.2.3 血清叶酸和维生素 B12 水平测定 测定所用的 MPBS-SNB 叶酸/ VitB12 放免试剂盒由美国 MPbio 生物公司生产, 天津协和医药科技有限公司提供。采用放射免疫分析方法。

2 结 果

VD 组血浆 Hcy 水平显著高于非痴呆脑梗死组, $P<0.05$; 而非痴呆脑梗死组血浆 Hcy 水平显著高于同龄对照组, $P<0.01$ 。VD 组血清叶酸水平明显低于非痴呆脑梗死组, $P<0.01$; 非痴呆脑梗死组血清叶酸水平明显低于同龄对照组, $P<0.01$ 。VD 组、非痴呆脑梗死组与同龄对照组间血清维生素 B12 水平的差异无统计学意义, $P>0.05$ 。见附表。

附表 各组 Hcy、叶酸及维生素 B12 水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	VD组(n=30)	非痴呆脑梗死组(n=58)	同龄对照组(n=30)
THcy(μ mol/L)	15.40 \pm 4.38	13.34 \pm 3.33*	10.85 \pm 3.44**
folate(nmol/ml)	8.28 \pm 2.79	10.90 \pm 2.88**	13.84 \pm 4.84**
VitB12(pmol/ml)	195.35 \pm 154.24	204.96 \pm 192.10	231.61 \pm 235.06

注: VD 组分别与非痴呆脑梗死组和同龄对照组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$

3 讨 论

同型半胱氨酸是一种含硫氨基酸, 是蛋氨酸分

解过程中产生的中间代谢产物。蛋氨酸是人体必需的含硫氨基酸, 食物蛋白是哺乳动物体内 Hcy 的唯一来源。在体内, 蛋氨酸首先在蛋氨酸腺苷转移酶的催化下与 ATP 作用生成 S-腺苷蛋氨酸(SAM)。后者是人体内几个重要的转甲基反应(包括 DNA、RNA、磷脂和肌苷的合成反应)中甲基的主要供体。SAM 在甲基转移酶作用下, 把甲基转移给其它物质使之甲基化, 而自身转变成 S-腺苷同型半胱氨酸, 后者进一步脱去腺苷生成 Hcy^[5]。与 Hcy 合成和代谢相关的酶系统发生异常的缺陷以及营养因素如叶酸、维生素 B12 和维生素 B6 的缺乏等, 都可引起血浆 Hcy 水平升高而形成高同型半胱氨酸血症。

成人期发生的高同型半胱氨酸血症是心脑血管疾病、认知功能损害和 VD 独立的危险因素^[6-8]。一些研究表明^[7,8], 血浆叶酸水平降低、Hcy 水平升高与认知功能减退和 VD 显著相关。本研究发现, VD 组血浆 Hcy 水平显著高于非痴呆脑梗死组, 而非痴呆脑梗死组血浆 Hcy 水平又显著高于同龄对照组; 同时, VD 组血清叶酸水平显著低于非痴呆脑梗死组和同龄对照组; 而血清维生素 B12 水平在 VD 组、非痴呆脑梗死组和同龄对照组之间的差异无统计学意义。提示 VD 患者存在膳食中叶酸摄入不足而引起的叶酸缺乏以及 Hcy 的代谢异常。推测血浆 Hcy 水平升高可能是导致脑梗死和 VD 发生的重要因素之一。这与国外的一些研究结果基本一致, 提示高同型半胱氨酸血症在痴呆发病机制中的重要性。

一般认为, 高 Hcy 血症对神经系统的毒性作用有以下几个方面: ①Hcy 通过竞争 NMDA 受体上的谷氨酸或甘氨酸结合位点, 导致钙离子大量流入细胞内, 促进活性氧的产生和细胞蛋白酶的释放, 产生细胞毒和神经毒性作用^[9]。②Hcy 转化为同型胱氨酸和同型半胱氨酸亚磺酸, 从而对海马部神经元具有兴奋毒性作用^[10]。③研究发现, L-同型半胱氨酸可以抑制神经元内 NO 的生成。NO 除具有扩张血管、抑制血小板聚集、抗动脉粥样硬化作用外, NO 作为中枢神经系统内的神经递质, 在与学习和记忆有关的突触活动中发挥着重要作用^[11]。在上述机制的共同作用下, 使患者的记忆和智力等功能受到损害, 并导致痴呆的发生。

参 考 文 献

- 1 张振馨, Zahner GE, Roman GC, 等. 中国北京、西安、上海和成都地区痴呆亚型患病率的研究. 中国现代神经疾病杂志, 2005, 5(3): 156-157

(下转第 668 页)

蛋白平均光密度值表达均减少($P<0.05$);与模型组比较, 氟西汀组海马 BDNF 蛋白平均光密度值表达均增加($P<0.05$)。

表 4 各组海马 BDNF 蛋白 Western-blot
平均光密度值的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	BDNF
正常组	5	$0.96 \pm 0.08 \Delta$
假手术组	5	$0.92 \pm 0.10 \Delta$
模型组	5	$0.38 \pm 0.13^*$
氟西汀组	5	$0.81 \pm 0.07^* \Delta$

3 讨 论

近年相关研究显示,急性心肌梗死(AMI)后抑郁是 AMI 预后的独立危险因素,患者存在较高的心血管事件发生率及病死率^[7,8],现认为家庭、社会、生理等多种因素可引起心梗后患者反应性抑郁状态。

本研究经过 3 周的慢性轻度不可预见应激后,心梗后大鼠的体重、水平运动得分、垂直运动得分、清洁动作次数、总液体消耗、糖水消耗显著减少,而中央格停留时间和纯水消耗均明显增加,提示慢性应激可导致心梗大鼠出现食欲减退,体重减轻,活动能力下降,兴趣丧失,快感缺乏等抑郁表现。

脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)属于神经营养素家族,对发育过程中神经元的存活、分化以及成年神经元的存活和功能起重要作用^[9]。BDNF 下调促进细胞凋亡也可降低神经元可塑性而促进海马神经元死亡^[10]。

本实验结果发现模型组动物海马 BDNF 表达下调,提示慢性应激可导致心梗后大鼠海马功能异常有关,存在神经可塑性降低,神经元细胞受损的表现,这可能是应激心肌梗死并抑郁的发病机制之一,值得进一步研究。

参 考 文 献

- 1 江开达,主编. 抑郁障碍防治指南. 第 1 版. 北京大学医学出版社,2007. 88
- 2 Carmine M, Pariante, Andrew HM. Glucocorticoid receptor in major depression: Relevance to pathophysiology and treatment. *Biological Psychiatry*, 2001, 49:391-404
- 3 Kempermann, Gerd, Kronenberg, et al. Depressed new Neurons—adult hippocampal neurogenesis and a cellular plasticity hypothesis of major depression. *Biological Psychiatry*, 2003, 54(5):499-503
- 4 Chen B, Dowlatshahi D, MacQueen GM, et al. Increased hippocampal BDNF immunoreactivity in subjects treated with antidepressant medication. *Biological Psychiatry*, 2001, 50(4):260-265
- 5 Mineur YS, Belzung C, Crusio WE. Effects of unpredictable chronic mild stress on anxiety and depression-like behavior in mice. *Behav Brain Research*, 2006, 175(1):43-50
- 6 Schwarz K, Simonis G, Yu X, et al. Apoptosis at a distance: Remote activation of caspase-3 occurs early after myocardial infarction. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2006, 281(1-2):45-54
- 7 Bush DE, Ziegelstein RC, Tayback M, et al. Even minimal symptoms of depression increase mortality risk after acute myocardial infarction. *American Journal of Cardiology*, 2002, 89(1):112-113
- 8 Frasare-Smith N, Lespe'rance F. Depression and other psychological risks following myocardial infarction. *Archives of General Psychiatry*, 2003, 60(6):627-636
- 9 Poo M. Neurotrophins as synaptic modulators. *Neuroscience*, 2001, 2(3):24-32
- 10 Steckler T, Prickaerts J, Fuchs, et al. Depressed neurogenesis and its role in the genesis of depression. Commentary on examining novel concepts of the pathophysiology of depression in the chronic psychosocial stress paradigm in tree shrews. *Behavior Pharmacol*, 2004, 15(5-6):315-325

(收稿日期:2009-04-23)

(上接第 665 页)

- 2 American psychiatric association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders, 4th ed (DSM-IV). Washington, DC: American Psychiatric Association, 1994. 88-89
- 3 Roman GC, Tatemichi TK, Cummings JL, et al. Vascular dementia: Diagnostic criteria for research studies Report of the NINDS-AIREN International Workshop. *Neurology*, 1993, 43:250-260
- 4 各类脑血管疾病诊断要点. 中华神经科杂志, 1996, 29(6):379-383
- 5 Finkelstein JD. The metabolism of homocysteine: Pathways and regulation. *Eur J Pediatr*, 1998, 157:540-544
- 6 Yoo JH, Choi GD, Kang SS. Pathogenicity of thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase for vascular dementia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, 20(8):1921-1925
- 7 Leblhuber F, Walli J, Artner-Dworzak E, et al. Hyperhomocysteinemia in dementia. *J Neural Transm*, 2000, 107(12):1469-1474

- 8 Malaguarnera M, Ferri R, Bella R, et al. Homocysteine, vitamin B12 and folate in vascular dementia and in Alzheimer disease. *Clin Chem Lab Med*, 2004, 42(9):1032-1035
- 9 Kruman IL, Culmsee C, Chan SL, et al. Homocysteine elicits a DNA damage response in neurons that promotes apoptosis and hyper sensitivity to excitotoxicity. *J Neurosci Res*, 2000, 20:6920-6926
- 10 Gortz P, Hoinkes A, Fleischer W, et al. Implications for hyperhomocysteinemia: Not homocysteine but its oxidized forms strongly inhibit neuronal network activity. *J Neurol Sci*, 2004, 218(1-2):109-114
- 11 Selley ML. Homocysteine increases the production of asymmetric dimethylarginine in cultured neurons. *J Neurosci Res*, 2004, 77(1):90-93

(收稿日期:2009-06-27)