

冠心病患者血清 D-二聚体、脂蛋白相关磷脂酶 A2 与不规则趋化因子的表达及其对早期冠心病诊断的临床意义

张祥¹, 许宁¹, 甄晓玲¹, 朱淑珍²

1. 青岛市市立医院检验科, 山东 青岛 266000; 2. 山东大学齐鲁医院(青岛)检验医学中心, 山东 青岛 266000

摘要: **目的** 研究冠心病(coronary heart disease, CHD)患者血清 D-二聚体(D-Dimer, D-D)、脂蛋白相关磷脂酶 A2(Lp-PLA2)与不规则趋化因子(Fractalkine)的表达水平及其临床意义。**方法** 选取 2016 年 7 月-2018 年 7 月于青岛市市立医院心内科诊治的 122 例 CHD 患者作研究组, 选择同一时间段在该院进行体检的 41 例健康志愿者作为对照组, 比较 CHD 组研究对象及对照组研究对象的 D-D、Lp-PLA2、Fractalkine 水平。通过受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线分析各指标单独诊断及联合诊断价值。**结果** CHD 组的 D-D、Lp-PLA2、Fractalkine 表达水平均高于对照组($P<0.05$)。联合诊断的灵敏度(91.80%)高于 D-D(74.59%)、Lp-PLA2(81.15%)、Fractalkine(78.69%)分别单独诊断, 具有统计学差异($P<0.05$)。联合检测 ROC 曲线下面积 0.871(95% CI: 0.829~0.914), 高于 D-D 0.793(95% CI:

基金项目: 国家自然科学基金(项目编号: 81601840)
作者简介: 张祥, 男, 硕士, 检验技师, 主要从事医学检验工作。
通信作者: 甄晓玲, E-mail: zhenxiaoling1@163.com。

最大限度减少了转移和挥发过程中的损失。

2.5 标准曲线、检测限和最低检测浓度 配制的标准系列浓度按照已选定的条件进行测定, 每个浓度系列测定 3 次, 取平均值, 拟合标准曲线。曲线在 5.0~50.0 $\mu\text{g/L}$ 呈线性关系, 相关系数(r)=0.9996, 线性方程 $Y=0.0011X+0.0010$ 。取 11 次空白溶液的 3 倍标准差进行计算, 人发样品的检测限为 0.26 $\mu\text{g/g}$ 。

2.6 精密度 在空白样品中, 加入钢标准物质, 每类样品分别制备成低、中、高三个浓度组, 每组 6 个样品, 按照样品测定步骤, 连续测定, 计算样品测定结果的相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为: 人发样 1.63%~2.12%, 均小于 10%。精密度试验结果见表 2。

2.7 准确度 用本测定方法, 加标浓度分别为低、中、高三个浓度组, 每组 6 个样品。计算其加标回收率为 97.6%~100.5%, 均在 75%~105%之间。加标回收率试验结果见表 2。

表 2 精密度与加标回收率试验结果($n=6$)

加标浓度($\mu\text{g/g}$)	$\bar{x}\pm s$ ($\mu\text{g/g}$)	RSD(%)	回收率(%)
10	10.10 \pm 0.21	2.12	100.5
20	19.70 \pm 0.35	1.77	98.5
40	39.02 \pm 0.64	1.63	97.6

3 小 结

本方法取微量人发样品, 经微波消解后, 直接稀释定容, 在选定的石墨炉原子吸收光谱条件下进样测定。

该方法样品量和消解液用量少, 操作简单, 效率高, 有效避免了消解过程和转移过程中的目标物损失。方法性能指标满足《职业卫生标准制定指南第 5 部分: 生物材料中化学物质测定方法》^[11]的要求, 适合人发样品中钢的测定。

参考文献

[1] 朱秋鸿, 余晨, 李德鸿, 等. 职业接触钢化合物所致肺部疾病的病例分析[J]. 中国工业医学杂志, 2015, 28(4): 289-291.

[2] 丘海丽, 周伟, 李智民, 等. 液晶显示面板制造业钢及其化合物的职业危害风险分析与评价[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2015, 33(8): 573-575.

[3] 朱秋鸿, 黄金祥. 职业接触钢化合物所致的肺部损害[J]. 中国工业医学杂志, 2012, 25(4): 268-271.

[4] 李智民. 钢及其化合物的职业危害[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2015, 33(8): 561-562.

[5] 惠长野, 郭妍, 李智民. 钢及其化合物毒性研究进展[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2015, 33(8): 635-637.

[6] 郭瑞娣. 电感耦合等离子体质谱法测定血液中的钢[J]. 环境与职业医学, 2010, 27(11): 701-703.

[7] 何俊涛, 刘奋, 香映平, 等. 全血中钢测定的石墨炉原子吸收光谱法[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2015, 33(8): 627-629.

[8] 周俊鹏, 何俊涛, 黄红英, 等. 钢及其化合物接触生物标志物研究进展[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2014, 32(12): 949-951.

[9] 王洪恩, 杜新胜, 陈中道, 等. 电位溶出法测定人发中的钢铅锌[J]. 济宁医学院学报, 2000, 23(2): 23-24.

[10] 赵泰, 何细华. 原子吸收光谱中的三磁场塞曼背景校正技术[J]. 理化检验-化学分册, 2002, 38(8): 433-434.

[11] 中华人民共和国卫生部. GBZ/T 210.5-2008 职业卫生标准制定指南第 5 部分: 生物材料中化学物质测定方法[S]. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 1-6.

[12] 钟学飘, 朱志良. ICCT 风险评估法应用于氧化钢工艺的职业病危害预评价[J]. 实用预防医学, 2016, 23(8): 980-981.

[13] 李雷可, 牛心华, 李国玉, 等. 职业性钢接触对作业工人肺功能影响的调查研究[J]. 实用预防医学, 2017, 24(12): 1514-1516.

0.734~0.852)、Lp-PLA2 0.772(95%CI:0.713~0.831)、Fractalkin 0.690(95%CI:0.614~0.766)分别单独检测,差异有统计学意义($P<0.05$)。 **结论** 血清 D-D、Lp-PLA2、Fractalkine 联合检测可提高 CHD 诊断的灵敏度,有利于早期发现患者,积极采取有效措施。

关键词: D-二聚体;脂蛋白相关磷脂酶 A2;不规则趋化因子;冠心病

中图分类号: R541.4 **文献标识码:** B **文章编号:** 1006-3110(2019)09-1142-04 DOI:10.3969/j.issn.1006-3110.2019.09.034

冠心病(coronary heart disease, CHD)主要是以冠状动脉粥样硬化为病理变化导致冠状动脉管腔变窄、堵塞、痉挛等^[1],进而导致心肌发生缺血缺氧,而致患者出现胸痛、胸闷、乏力、心肌等一系列临床症状,严重患者可出现心肌梗死、恶性心律失常、心力衰竭等严重后果^[2-3],威胁患者的生命。目前,CHD 诊断的金标准为冠状动脉造影(coronary angiography, CAG)^[4],但是该方法操作复杂,造影剂的使用对患者具有一定的副作用^[5],不适用于疾病的早期筛查。D-二聚体(D-Dimer, D-D)在凝血功能异常以及血栓形成的患者体内水平显著升高,临床常根据 D-D 水平判断患者是否有血栓形成^[6]。脂蛋白相关磷脂酶 A2(Lp-PLA2)是一种炎症因子,有研究显示^[7], Lp-PLA2 与心血管事件的发生具有正相关性,并且是影响预后的危险因素。不规则趋化因子(Fractalkine)是 CX3C 家族唯一的一员,其对单核细胞和 T 细胞等具有很强的趋化作用,有研究报道,Fractalkine 和 CHD 的病理生理进展过程具有十分密切的关系^[8]。因此,本文通过对比分析 CHD 患者和正常者的血清 D-D、Lp-PLA2、Fractalkine 水平,并绘制 ROC 曲线,探讨其对于早期 CHD 诊断的意义,结果如下。

1 对象方法

1.1 研究对象 本研究以 2016 年 7 月-2018 年 7 月的 122 例于青岛市市立医院内科诊治的 CHD 患者作为 CHD 组的研究对象,全部研究对象均经冠状动脉造影确诊,并符合美国心脏协会 CHD 的诊断标准^[9]。其中男、女各 72 例和 50 例;年龄 46~76 岁,平均(60.21±5.97)岁。同时选择同一时间段在该院进行体检的健康志愿者作为对照组的研究对象,共 41 例,其中男女分别有 26 例和 15 例;年龄 45~79 岁,平均(59.14±6.19)岁。排除标准:1)肝肾功能不全的患者;2)免疫系统、血液系统疾病的患者;3)脑血管疾病的患者;4)心肌病、风湿性心脏病等其他心脏病的患者;5)恶性肿瘤的患者。本研究获得本院伦理委员会批准,所有入组研究对象均已签署了知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 D-D 检测 患者入院后采用凝血专用枸橼酸

钠抗凝真空采血管采集研究对象静脉血 2 ml, 3 000 r/min 离心 10 min,取上层血清,并选择胶体金免疫渗透法检测研究对象的 D-D 水平,仪器与试剂选自南京基蛋生物科技有限公司。

1.2.2 Lp-PLA2 患者入院 24 h 之内空腹采集 5 ml 肘静脉血,3 000 r/min 离心 10 min,取上层血清,于 -80 ℃ 下保存待测。采用散射比浊法对 Lp-PLA2 水平进行测定,仪器选自南京诺尔曼生物技术有限公司。

1.2.3 Fractalkine 检测 患者入院 24 h 之内空腹采集 5 ml 肘静脉血,3 000 r/min 离心 10 min,取上层血清,于 -80 ℃ 下保存待测。采用酶联免疫吸附法(ELISA)对 FKN 水平进行检测,试剂盒选自赛默飞。

1.2.4 判定标准 1) D-D、Lp-PLA2、Fractalkine 均根据 ROC 曲线确定诊断的临界值;2)联合诊断:根据 ROC 曲线确定的临界值, D-D、Lp-PLA2、Fractalkine 任一指标呈阳性即判定为阳性

1.3 统计学分析 本研究中数据的统计分析采用 SPSS 19.0 软件,其中符合正态分布的计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验;偏态分布资料采用 $M(Q_{25}, Q_{75})$ 表示,采用 Wilcoxon's Z 进行分析;计数资料以率来表示,两组间比较采用 χ^2 检验;通过受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线分析各指标单独诊断 CHD 临界值。以冠状动脉造影检查结果为金标准,采用 D-D、Lp-PLA2、Fractalkine 单独诊断以及联合诊断 CHD,判定各指标诊断的灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值、约登指数等。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CHD 组和对照组一般资料比较 两组研究对象的年龄、性别、体重指数等一般资料无统计学差异,具有可比性($P>0.05$),见表 1。其中 CHD 组的稳定性心绞痛(SAP)、不稳定性心绞痛(UAP)、急性心肌梗死(AMI)分别患者有 41 例、38 例、43 例。

2.2 研究对象的 D-D、Lp-PLA2、Fractalkine 表达水平情况 经统计分析,CHD 组的 D-D、Lp-PLA2、Fractalkine 水平均高于对照组($P<0.05$),见表 2。

表 1 研究组与对照组一般资料比较

组别	例数	年龄 (岁, $\bar{x}\pm s$)	性别($n, \%$)		体重指数 ($\text{kg}/\text{m}^2, \bar{x}\pm s$)
			男	女	
CHD 组	122	60.21 \pm 5.97	72(59.02)	50(40.98)	24.15 \pm 1.82
对照组	41	59.14 \pm 6.19	26(63.41)	15(36.59)	24.32 \pm 2.05
χ^2 值		0.984	0.248		0.501
P 值		0.324	0.619		0.617

表 2 两组研究对象 D-D、Lp-PLA2、Fractalkine 表达水平情况比较

组别	例数	D-D[$\text{ng}/\text{L}, M(Q_{25}, Q_{75})$]	Lp-PLA($\text{ng}/\text{ml}, \bar{x}\pm s$)	Fractalkine($\text{ng}/\text{L}, \bar{x}\pm s$)
对照组	41	108.2(53.8, 154.6)	172.4 \pm 39.5	30.23 \pm 6.21
CHD 组	122	389.2(213.9, 504.7)	256.1 \pm 43.7	69.23 \pm 7.37
z/t 值		29.371	10.860	30.431
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

表 3 D-D、Lp-PLA2、Fractalkine 单独诊断和联合诊断 CHD 的效能分析($n, \%$)

诊断方法	灵敏度	特异度	准确度	阳性预测值	阴性预测值	约登指数
D-D	91/122(74.59%)	31/41(75.61%)	122/163(74.85%)	91/101(90.10%)	31/62(50.00%)	0.502
Lp-PLA2	99/122(81.15%)	29/41(70.73%)	128/163(78.53%)	99/111(89.19%)	29/52(55.77%)	0.519
Fractalkine	96/122(78.69%)	32/41(78.05%)	128/163(78.53%)	96/105(91.43%)	32/58(55.17%)	0.567
联合诊断	112/122(91.80%)	26/41(63.41%)	138/163(84.66%)	112/127(88.19%)	26/36(72.22%)	0.552
χ^2 值	13.133	2.538	4.906	3.764	4.741	
P 值	0.004	0.469	0.179	0.289	0.192	

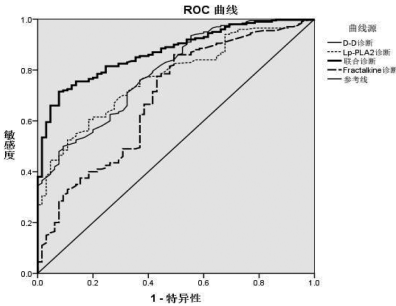


图 1 D-D、Lp-PLA2、Fractalkine 单独诊断和联合诊断 CHD 的 ROC 曲线

2.4 D-D、Lp-PLA2、Fractalkine 单独诊断和联合诊断 CHD 的 ROC 曲线分析 以灵敏度为 X 轴,以特异度为 Y 轴绘制得 ROC 曲线,如图 1 所示。计算得到 D-D 诊断的临界值为 182.4 ng/L、Lp-PLA2 诊断的临界值为 206.3 ng/ml、Fractalkine 诊断的临界值 46.31 ng/L。D-D、Lp-PLA2、Fractalkine 单独和联合诊断 CHD 的 ROC 曲线下面积分别是 0.793 (95% CI: 0.734 ~ 0.852)、0.772 (95% CI: 0.713 ~ 0.831)、0.690 (95% CI: 0.614 ~ 0.766)、0.871 (95% CI: 0.829 ~ 0.914), 三种诊断方法联合检测 ROC 曲线下面积明显高于 D-D、Lp-PLA2、Fractalkine 单独检测,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

3 讨论

2.3 D-D、Lp-PLA2、Fractalkine 单独及联合诊断 CHD 的效能分析 以冠状动脉造影结果为金标准,通过 ROC 曲线分析 D-D、Lp-PLA2、Fractalkine 的诊断价值。随后以冠心病疾病是否发生(赋值:发生=1,未发生=0)为因变量,以 D-D、Lp-PLA2、Fractalkine 水平为自变量,进行 logistic 回归分析,得到回归方程为 $\text{logit}(P) = 3.024 + 0.356 \text{ D-D} + 0.851 \text{ Lp-PLA2} + 0.576 \text{ Fractalkine}$,模型中概率值变量 $\text{pre-1} = 1/[1 + \exp(-\text{logit}(P))]$ 。并根据 logistic 回归模型中的概率值 pre-1 拟合联合 ROC 曲线。结果显示,联合诊断的灵敏度(91.80%)高于 D-D(74.59%)、Lp-PLA2(81.15%)、Fractalkine(78.69%)分别单独诊断($P < 0.05$),具体结果见表 3。

据报道,2010 年全球由 CHD 导致的死亡人数逾 700 万,且预计到 2020 年,CHD 将持续成为全球死亡的首位原因^[10]。CHD 起病隐匿,许多慢性 CHD 患者无典型症状^[11],且近年来由于生活节奏加快、工作压力大、饮食作息不规律等因素,其发病有年轻化的趋势^[12]。因此,探索有效的早期诊断方法对患者早期治疗具有重要意义。

D-D 是纤维蛋白形成交联纤维蛋白后,继发性的激活纤溶系统,产生纤溶酶,而后作用于交联纤维蛋白,而使纤维蛋白分子水解而形成的,是交联蛋白的特异性降解产物^[13]。王洪新^[14]等的研究显示,CHD 患者的血清 D-D 水平明显高于正常者($P < 0.05$),且与心功能分级呈正相关($r = 0.772, P < 0.05$)。本研究结果显示,D-D 单独诊断 CHD 的灵敏度、特异度、准确度分别是 74.59%、75.61%、74.85%。有研究显示^[15],D-D 单独用于 CHD 诊断的灵敏度、特异度分别是 74.19%、83.06%,与本研究结果相近。但是 D-D 诊断 CHD 的灵敏度相对较小,单用改种方法检查会遗漏部分患者,不利于早期筛查。

Lp-PLA2 是磷脂酶 A2 超家族的一员,主要有成熟的巨噬细胞及淋巴细胞合成和分泌,其水平受炎性介质的调节。在体内,Lp-PLA2 以结合脂蛋白颗粒的形式存在。Lp-PLA2 可水解动脉内膜上的 LDL 上的氧

化卵磷脂,生成促炎介质(Lyso-PC 和 ox-FA),使单核细胞向管腔聚集,而后衍生为巨噬细胞,通过巨噬细胞的吞噬 oxLDL 作用变成大量的泡沫细胞,凋亡的泡沫细胞聚集成动脉粥样硬化斑块^[16]。临床研究发现^[17],CHD 患者体内 Lp-PLA2 水平高于健康对照组($P < 0.05$),且可以作为 CHD 风险因素的评估指标。与本研究结果类似。本研究将通过分析 Lp-PLA2 的诊断效能发现,其用于 CHD 诊断的灵敏度、特异度、准确度分别是 81.15%、70.73%、78.53%,进一步绘制 ROC 曲线发现单独诊断 CHD 的曲线下面积为 0.772(95%CI: 0.713~0.831),表明其对于临床早期筛查 CHD 患者具有积极意义,但其特异度较低,单独用于诊断的应用价值受限。

Fractalkine 是一种炎症趋化刺激因子,与受体 CX3CR1 结合,用于介导 T 细胞、单核细胞、NK 细胞的趋化、粘附、聚集,起着促进炎症发生发展的作用,同时,Fractalkine 趋化的炎症反应受特定的趋化因子、粘附分子以及其受体调节,客单与动脉粥样硬化的病理过程,进而促进 CHD 发生^[18]。章春艳^[8]等的研究发现,Fractalkine 随着 CHD 患者病情的发展水平升高,可以用于评估 CHD 患者疾病的严重程度。本研究结果显示,CHD 组的 Fractalkine 水平高于对照组,差异均具有统计学意义($P < 0.05$),也反映出其对 CHD 具有一定的预测价值。通过建立 ROC 曲线发现,其在诊断 CHD 时的曲线下面积为 0.690(95%CI: 0.614~0.766),在筛查 CHD 的临床应用中受限。

本文通过联合 D-D、Lp-PLA2、Fractalkine 诊断 CHD 发现,其灵敏度(91.80%)高于 D-D(74.59%)、Lp-PLA2(81.15%)、Fractalkine(78.69%)分别单独诊断($P < 0.05$)。联合检测 ROC 曲线下面积 0.871(95%CI: 0.829~0.914),高于 D-D 0.793(95%CI: 0.734~0.852)、Lp-PLA2 0.772(95%CI: 0.713~0.831)、Fractalkin 0.690(95%CI: 0.614~0.766)分别单独检测($P < 0.05$)。但是联合检测的特异度(63.41%)却低于 D-D(75.61%)、Lp-PLA2(70.73%)、Fractalkine(78.05%)分别单独诊断,特异度相对较差,这是由于本文采用的是平行联合检测的方法,有利于提高阳性检出人数,降低阴性检出人数,同时本研究中三者单独检测时的阳性病例重合率相对较低,因此灵敏度提高较多,特异度则出现下降,这也提示三者联合诊断更适用于 CHD 的早期筛查。三者联合检测可以从纤溶系统、炎性介质的调节过程等多角度评估患者病情,互为弥补不足,从而提高诊断的灵敏度。但本文纳入研究样本数量相对

不足,仍有待扩大样本量进行进一步深入的研究。

综上所述,D-D、Lp-PLA2、Fractalkine 联合检测在 CHD 的筛查中具有积极的临床指导意义,有助于提高临床诊断的灵敏度,值得推广应用。

参考文献

- [1] Khamis RY, Ammari T, Mikhail GW. Gender differences in coronary heart disease[J]. Heart, 2016, 102(14):1142-1149.
- [2] White J, Sofat R, Hemani G, et al. Plasma urate concentration and risk of coronary heart disease: a Mendelian randomisation analysis[J]. Lancet Diabetes Endocrinol, 2016, 4(4):327-336.
- [3] Sanchisgomar F, Perezquiles C, Leischik R, et al. Epidemiology of coronary heart disease and acute coronary syndrome[J]. Ann Transl Med, 2016, 4(13):256.
- [4] 孙喜文,朱秀龙,莫观海.冠心病合并高血压患者血浆 BNP 水平及相关发病因素分析[J]. 实用预防医学, 2016, 23(2):212-214.
- [5] 冯庆芝.超敏 C 反应蛋白、脂蛋白相关磷脂酶 A2 及 D-二聚体与冠心病患者相关性研究的临床意义[J]. 国际免疫学杂志, 2017, 40(2):156-160.
- [6] 孙姬,郭玲玉,张明亮,等.对氧磷酶 1 和脂蛋白磷脂酶 A2 与冠心病的相关性[J]. 医学研究杂志, 2016, 45(3):108-111.
- [7] 章春艳,曹政,杨勇,等.冠心病患者 Fractalkine、单核细胞趋化蛋白-1 和白细胞介素-8 的检测及意义[J]. 蚌埠医学院学报, 2016, 41(4):485-487.
- [8] 韩雅玲.《2016 年美国心脏病学会/美国心脏协会冠心病患者双联抗血小板治疗疗程指南更新》解读[J]. 中国介入心脏病学杂志, 2016, 24(11):603-606.
- [9] 司徒卉,孟若谷,余灿清,等.疾病家族史与冠心病发生风险的关联研究[J]. 中华流行病学杂志, 2018, 39(2):173-178.
- [10] Abraham G, Havulinna AS, Bhalala OG, et al. Genomic prediction of coronary heart disease[J]. Eur Heart J, 2016, 37(43):3267-3278.
- [11] 刘金涛,王梅,周芸,等.青年冠心病患者的临床特征与青年人冠心病发病相关因素[J]. 医学综述, 2017, 23(1):134-137.
- [12] 倪群琴,杨珠华.同型半胱氨酸、超敏 C 反应蛋白及 D-二聚体在老年冠心病临床诊断中的应用[J]. 中国慢性病预防与控制, 2017, 25(9):696-698.
- [13] 玉洪新,刘杰.冠心病病人血液 LpPLA2、hsCRP 及 D 二聚体的相关性研究[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2016, 14(12):1405-1407.
- [14] 陈优优,周斌.血清 D-二聚体与趋化因子 Fractalkine 单独及联合检测在冠心病中的诊断价值[J]. 广西医科大学学报, 2017, 34(10):1425-1428.
- [15] 郭攸胜,骆骅,周文娟,等. EECF 对冠心病患者血浆 Lp-PLA2 和 hsCRP 水平的影响[J]. 心血管康复医学杂志, 2016, 25(6):587-590.
- [16] 李娟红,赵子贤,吴德彬,等. SF 和 Lp-PLA2 水平与冠心病的相关性研究[J]. 检验医学与临床, 2017, 14(6):765-767.
- [17] 陈曦,邓蕾,安娜,胡冬,等.血清 Fractalkine、Vaspin 含量对冠心病病情的判断价值及其与心功能、心肌损伤程度的相关关系[J]. 海南医学院学报, 2017, 23(19):2612-2615.