

参考文献

- [1] Valle-Aviles L, Valentin-Berrios S, Gonzalez-Mendez RR, et al. Functional, genetic and bioinformatic characterization of a calcium/calmodulin kinase gene in *Sporothrix schenckii*[J]. BMC Microbiol, 2007, 29(7):107.
- [2] Chua SS, Momany M, Mendoza L, et al. Identification of three chitin synthase genes in the dimorphic fungal pathogen *Sporothrix schenckii* [J]. Curr Microbiol, 1994, 29(3):151-156.
- [3] 朱建国, 华永川, 徐晶. 申克孢子丝菌引起皮下感染[J]. 临床检验杂志, 1998, 16(5):304.
- [4] Liu X, Zhang Z, Hou B, et al. Rapid identification of *Sporothrix schenckii* in biopsy tissue by PCR[J]. J Eur Acad Dermatol Venereol, 2012, 20:12030.
- [5] Marimon R, Cano J, Gené J, et al. *Sporothrix brasiliensis*, *S. globosa*, and *S. mexicana*, three new *Sporothrix* species of clinical interest [J]. J Clin Microbiol, 2007, 45(10): 3198-3206
- [6] Oliveira DC, Lopes PG, Spader TB, et al. Antifungal susceptibilities of *Sporothrix albicans*, *S. brasiliensis*, and *S. luriei* of the *S. schenckii* complex identified in Brazil[J]. J Clin Microbiol, 2011, 48(8):3047-3049.
- [7] Valle-Aviles L, Valentin-Berrios S, Gonzalez-Mendez RR, et al. Functional, genetic and bioinformatic characterization of a calcium/calmodulin kinase gene in *Sporothrix schenckii*[J]. BMC Microbiol. 2007, 29(7):107-117.
- [8] Kano R, Nakamura Y, Watanabe S, et al. Identification of *Sporothrix schenckii* based on sequences of the chitin synthase 1 gene[J]. Mycoses, 2001, 44(7-8):261-265.
- [9] 王连明, 辛晓敏. 应用巢式 PCR 检测实验小鼠组织中申克孢子丝菌[J]. 中国实验诊断学, 2009, 13(7):872-874.
- [10] Mendoza M, Brito A, Schaper DA, et al. Technical evaluation of nested PCR for the diagnosis of experimental sporotrichosis [J]. Rev Iberoam Micol, 2012, 29(3):120-125.
- [11] Xu TH, Lin JP, Gao XH, et al. Identification of *Sporothrix schenckii* of various mtDNA types by nested PCR assay [J]. Med Mycol, 2010, 48(1):161-165.
- [12] Galhardo MC, De Oliveira RM, Valle AC, et al. Molecular epidemiology and antifungal susceptibility patterns of *Sporothrix schenckii* isolates from a cat-transmitted epidemic of sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil [J]. Med Mycol, 2008, 46(2):141-151.
- [13] Kawasaki M, Anzawa K, Mochizuki T, et al. New strain typing method with *Sporothrix schenckii* using mitochondrial DNA and polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) technique [J]. J Dermatol, 2012, 39(4):362-365.
- [14] Robledo-Ortiz CI, Flores-Carreón A, Hernández-Cervantes A, et al. Isolation and functional characterization of *Sporothrix schenckii* ROT2, the encoding gene for the endoplasmic reticulum glucosidase II [J]. Fungal Biol, 2012, 116(8):910-918.
- [15] Hou B, Zhang Z, Zheng F, et al. Molecular cloning, characterization and differential expression of DRK1 in *Sporothrix schenckii* [J]. Int J Mol Med, 2013, 31(1):99-104.
- [16] Nishizawa M, Suzuki K, Fujino M, et al. The Pho85 kinase, a member of the yeast cyclin-dependent kinase (Cdk) family, has a regulation mechanism different from Cdk5 functioning throughout the cell cycle [J]. Genes Cells, 1999, 4(11):627-642.
- [17] Zhang Y, Li G, He D, et al. Efficient insertional mutagenesis system for the dimorphic pathogenic fungus *Sporothrix schenckii* using *Agrobacterium tumefaciens* [J]. J Microbiol Methods, 2011, 84(3):418-422.
- [18] Reis RS, Almeida-Paes R, Muniz Mde M, et al. Molecular characterisation of *Sporothrix schenckii* isolates from humans and cats involved in the sporotrichosis epidemic in Rio de Janeiro, Brazil [J]. Mem Inst Oswaldo Cruz, 2009, 104(5):769-774.

(收稿日期:2012-12-26)

糖原磷酸化酶同工酶 BB 的临床应用

杨云净 综述, 罗 艳 审校 (重庆医科大学附属第一医院检验科 400016)

【关键词】糖原磷酸化酶同工酶 BB; 急性冠状动脉综合征; 子痫前期; 早期诊断

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.10.048 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2013)10-1290-03

糖原磷酸化酶同工酶 BB(GPBB)是一种心肌细胞中含量较高的酶,该酶对心肌缺血缺氧敏感,在心肌损伤早期(小于 4 h)即可释放入血,是急性心肌损伤早期诊断的一项很好的指标。随着生物化学、免疫、分子生物学及其检测技术的发展,发现 GPBB 对缺血性心肌损伤的早期诊断、产科、儿科学等方面的研究颇具价值。

1 GPBB 的组织分布及释放机制

GP 是一种由相同亚基组成的二聚体,在人体组织中存在 3 种同工酶:GPBB(心肌、脑型)、GPLL(肝型)、GPMM(肌型)^[1]。尽管心脏组织都能产生同工酶 BB 和 MM,但同工酶

BB 的含量占绝对优势。GPBB 在脑组织中的含量与心肌组织相当,GPMM 主要存在于骨骼肌中,GPLL 主要存在于肝脏组织中,少量存在于心脏、骨骼肌、脑以外的其他组织。有证据证明,GPBB 并不局限于心、脑组织,已经发现白细胞、血小板、脾脏、肾脏、膀胱、睾丸、消化道及主动脉中均含有 GPBB,但其含量极低,在这些组织中,GPLL 是主要的同工酶。

GP 是一种糖原分解反应的关键酶,它在糖原分解反应的第一步中利用无机磷酸盐将糖原转化为 1-磷酸葡萄糖(G-1-P)。在心肌细胞中,GPBB 与糖原和肌浆网紧密结合形成大分子复合物-肌浆网糖原复合物。心肌的代谢状态决定了 GPBB

与这种复合物的结合程度。当组织缺氧时,GPBB 由一种复合物形式转变为可溶性游离形式,可在肌浆网内外自由流动,从而形成肌浆网内外的高 GPBB 浓度梯度^[2]。由于形成浓度梯度,GPBB 通过通透性增高的细胞膜进入外周血。研究表明,只有糖原分解加速与膜通透性的增加同时存在时,GPBB 才会释放。而只有在严重心肌缺血时,心肌细胞才会同时存在糖原分解的加速及膜通透性的增加。

2 GPBB 的检测

GPBB 的实验室检测主要包括酶活性测定和免疫学测定。1975 年, Krause 等根据糖原分解第一步的逆反应,糖原+葡萄糖-1-磷酸→糖原+无机磷酸盐,通过测定酶反应生成液中无机磷含量来确定酶活性的高低。健康人血清中检测不到这种酶活性的存在,急性心肌梗死患者血清中 GP 活性 1.5~18.0 U/L,但其灵敏度较低,且只能检测总 GP 活性,目前应用较少。

免疫学测定包括免疫抑制法、免疫酶学双抗体夹心法(IE-MA)及双抗体夹心法酶联免疫吸附试验(ELISA),其中 ELISA 是目前应用中特异性和稳定性都较好的一种方法。1996 年, Fiebig 等^[3]建立的 ELISA 可测定范围 1~200 μg/L,正常参考值上限 7 μg/L,组内差异小于 5%,组间差异小于 10%。但当血红蛋白大于 10 g/L、胆红素大于 1.15 g/L、总胆固醇大于 10 g/L 时,检测会受到一定影响。

近年来有研究发现,应用多种生物标记及蛋白质生物芯片技术来进行 GPBB 床边检测(POCT)。POCT 是 ELISA 检测的继承者,检测下限可达 10 μg/L,检测只需 15 min,并能应用全血、血清和血浆样本进行分析,它是一种患者首诊时快捷的定性试验,为 GPBB 的临床早期快速准确诊断提供新的参考方法。但目前 POCT 还处于原型阶段,而 GPBB 检测方法原则上适合于定量和半定量分析,有必要发展一种快速可靠的 POCT 系统^[4-6]。

3 GPBB 的临床应用价值

3.1 GPBB 在早期急性冠状动脉综合征(ACS)中的诊断价值 既往有研究表明,ACS 患者血中 GPBB 升高迅速并且较肌红蛋白及肌钙蛋白出现早^[7-8]。急性心肌梗死患者胸痛发作 1~4 h GPBB 水平增高,并在急性心肌梗死发生 1~2 d 后回复到正常水平^[1]。因此,GPBB 对早期诊断急性心肌梗死有重要的临床指导作用。

Bozkurt 等^[9]观察了 72 例 ACS 患者,其中不稳定性心绞痛患者 48 例,非 ST 段抬高性心肌梗死患者(NSTEMI)13 例,ST 段抬高性心肌梗死患者(STEMI)11 例,测定患者入院后 1 h GPBB、肌红蛋白、肌酸激酶同工酶(CK-MB)、肌钙蛋白 T(cTnT)水平。研究表明,GPBB 在所有 NSTEMI、91%的 STEMI 及约 50%的不稳定性心绞痛患者血液中增高,并且与肌红蛋白(70.8%)、CK-MB(62.5%)、cTnT(54.1%)相比,GPBB(95.8%)是敏感性最高的标志物。此外,在不稳定性心绞痛患者中,GPBB 升高患者比正常者发生心血管事件的风险更高,预后更差。

夏中华等^[10]观察了急性心肌梗死患者 56 例,不稳定性心绞痛患者 46 例,通过不同时间点检测血清 GPBB 水平,并与 CK-MB、CK、cTnT、cTnI 比较 GPBB 对诊断 ACS 的敏感性和特异性。研究发现,GPBB 在 ACS 患者胸痛发生 2 h 后即有明显升高,4 h 后敏感性已达到 90%以上。胸痛发生 6 h 时 GPBB 诊断 ACS 的敏感性明显高于 CK-MB 及 cTnI,特异性高

于 CK-MB/CK,与 cTnT/cTnI 相仿。由此可见,GPBB 在 ACS 超早期诊断中具有高敏感性。

3.2 GPBB 在疑似 ACS 中的应用价值 Lillpopp 等^[11]调查了 1 818 例疑似 ACS 患者,其中 23%被确诊为急性心肌梗死,13%被确诊为不稳定性心绞痛,64%则为非冠状动脉患者并被除外 ACS,分别观察了患者血液中 GPBB、cTnI 及脑尿钠肽(BNP)水平与预后的关系。调查显示这些疑似 ACS 患者中 GPBB 阴性患者较阳性的患者预后好,其中 GPBB 和 cTnI 均阳性的患者发生的心血管事件较 GPBB 阴性且 cTnI 阳性患者多,故联合检测 cTnI 和 GPBB 有助于分辨高危患者。此外,BNP 和 GPBB 均为阴性者预后最好,故联合检测 BNP 和 GPBB 有助于分辨低危患者。因此,除了 BNP 和 cTnI,GPBB 也可作为评估胸痛患者预后的指标。

3.3 GPBB 在子痫前期中的应用价值 尽管妊娠是一种生理性的状态,但是正常足月分娩的孕妇血浆 GPBB 水平比非妊娠的急性心肌梗死患者高 3 倍。因此,GPBB 除在脑和心肌正常组织中大量存在外,胎盘极有可能是它的另一来源。子宫胎盘缺氧导致 GPBB 转化为可溶性的形式并释放到血流中,使早产子痫前期患者血浆 GPBB 含量增高。Lee 等^[12]观察了 33 例非妊娠妇女,151 例正常单胎妊娠妇女,72 例子痫前期患者,74 例子痫前期发生早产患者,测定母亲血浆 GPBB 水平。研究表明,妊娠期母亲体内 GPBB 会生理性增高,而 GPBB 显著增高是早产的子痫前期孕妇一种异常表现。由此可见母亲血浆 GPBB 对于发现早发的子痫前期是一项有意义的标志物。

3.4 GPBB 在儿科学中的应用价值 窒息合并心肌损伤新生儿血浆 GPBB 水平明显增高,并有随着窒息程度加重而明显升高的趋势。毛庆花等^[13]观察了 64 例窒息新生儿,其中 30 例有心肌损伤,发现 GPBB 对心肌损伤诊断的敏感性高于 cTnI,特异性高于 CK-MB,故 GPBB 可作为窒息新生儿早期诊断心肌缺血损伤的理想标志物,并能评估心肌损伤及损害程度。陈书琴等^[14]观察了 30 例川崎病(KD)患儿,按有无冠状动脉病变(CAL)分为两种水平。研究发现,急性期 KD 患儿血浆 GPBB 水平高于健康对照组,KD 急性期有 CAL 患儿的血浆 GPBB 水平高于无 CAL 患儿,提示血浆 GPBB 水平可用于辅助诊断 KD,根据血浆 GPBB 水平有助于区分急性期 KD 患儿是否发生 CAL。

3.5 GPBB 对溶栓治疗效果的评价 GPBB 的时间窗受梗死冠状动脉是否早期再灌注影响。由于早期再灌注致使的“洗脱”现象成功溶栓治疗会加速心肌细胞释放 GPBB,并提前达到峰值^[15]。有国内学者对 12 例急性心肌梗死(AMI)溶栓患者和 4 例 AMI 未溶栓患者血清中 CK、CK-MB 和 GPBB 水平的系列观察结果表明,溶栓组患者 GPBB 酶峰时间(8.12±3.06)h,与未溶栓组患者(12.4±2.18)h 相比明显提前,由此提示 GPBB 可能作为一项新的溶栓效果判别指标^[16]。

3.6 其他 Horacek 等^[17]通过观察化疗对成人急性白血病患者造成的心脏毒性,发现 GPBB 可能成为一项检测使用常规剂量蒽环类药物化疗及造血干细胞移植后大剂量化疗所致心脏毒性的敏感标志物。Pudil 等^[18]研究认为肥厚性心肌病患者血清 GPBB 浓度增高,并与肺动脉楔压以及左心室功能指数相关,表明 GPBB 是诊断肥厚性心肌病的有用指标。

GPBB 并非心脏特异性指标,但除心肌组织外,还有脑组织 GPBB 含量高,因此,如果同时存在有脑外伤及血脑屏障破坏,无法鉴别是否存在心肌损伤时,可合并使用另一种心肌特

异性指标(cTnI)。然而,理想的标志物需要具有高度的敏感性和特异性,单独检测 GPBB 不能完全达到上述要求。Bozkurt 等^[9]的研究发现,与肌红蛋白、CK-MB、肌钙蛋白相比,GPBB 是特异性最低的标志物,并且有 50% 稳定性心绞痛患者 GPBB 增高,就需要将 GPBB 与其他早期标志物联合应用,以提高对患者诊断、治疗和临床检测的时效性和准确性。近期研究发现,心型脂肪酸结合蛋白与 GPBB 联合检测具有 AMI 早期诊断价值,并能区别 AMI 和不稳定型心绞痛^[19]。Lacnák 等^[20]发现 GPBB 与 cTnI 联合检测能提高 ACS 诊断的准确性。但小样本研究发现联合检测 GPBB 和 cTnI 不能显著提高 NSTEMI 患者的检测率^[21]。

因此,GPBB 作为一种新的心肌损伤早期诊断标志物,其在临床上的应用还需要进行大样本研究,从而为临床医生早期诊断提供有力依据。

参考文献

- [1] Rabitzsch G, Mair J, Lechleitner P, et al. Immunoenzymometric assay of human glycogen phosphorylase isoenzyme BB in diagnosis of ischemic myocardial injury[J]. Clin Chem, 1995, 41(7): 966-978.
- [2] Krause EG, Härtwig A, Rabitzsch G. On the release of glycogen phosphorylase from heart muscle; effect of substrate depletion, ischemia and of imipramine[J]. Biomed Biochim Acta, 1989, 48(2-3): S77-S82.
- [3] Fiebig M, Bonnell R, Dale L, et al. Glycogen phosphorylase BB: Quantitation by ELISA and comparison to known cardiac markers[J]. Clin Chem, 1996, 42(6): 129-139.
- [4] Vasatová M, Tichý M, Horáček JM, et al. Multi-marker approach in the diagnostics of cardiac diseases by protein biochip technology[J]. Cas Lek Cesk, 2009, 148(12): 591-596.
- [5] Stejskal D, Lacnák B, Jedelský L, et al. Use of glycogen phosphorylase BB measurement with POCT in the diagnosis of acute coronary syndromes. A comparison with the ELISA method [J]. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub, 2007, 151(2): 247-249.
- [6] Mion MM, Novello E, Altinier S, et al. Analytical and clinical performance of a fully automated cardiac multi-markers strategy based on protein biochip microarray technology[J]. Clin Biochem, 2007, 40(16-17): 1245-1251.
- [7] Mair J. Glycogen phosphorylase isoenzyme BB to diagnose ischaemic myocardial damage[J]. Clin Chim Acta, 1998, 272(1): 79-86.
- [8] Peetz D, Post F, Schinzel H, et al. Glycogen phosphorylase BB in acute coronary syndromes[J]. Clin Chem Lab Med, 2005, 43(12): 1351-1358.
- [9] Bozkurt S, Kaya EB, Okutucu S, et al. The diagnostic and prognostic value of first hour glycogen phosphorylase isoenzyme BB level in acute coronary syndrome[J]. Cardiol J, 2011, 18(5): 496-502.
- [10] 夏中华, 阳跃忠, 李全忠, 等. GPBB 对急性冠状动脉综合征早期诊断价值[J]. 山西医药杂志, 2011, 40(11): 1079-1080.
- [11] Lillpopp L, Tzikas S, Ojeda F, et al. Prognostic information of glycogen phosphorylase isoenzyme BB in patients with suspected acute coronary syndrome[J]. Am J Cardiol, 2012, 110(9): 1225-1230.
- [12] Lee J, Romero R, Dong Z, et al. Glycogen phosphorylase isoenzyme BB plasma concentration is elevated in pregnancy and preterm preeclampsia[J]. Hypertension, 2012, 59(2): 274-282.
- [13] 毛庆花, 林丽星, 张志玲, 等. 糖原磷酸化酶同工酶脑型在新生儿窒息合并心肌损伤中的变化及其相关因素[J]. 临床儿科杂志, 2010, 28(3): 226-230.
- [14] 陈书琴, 陈桃, 杜娟. 糖原磷酸化酶同工酶脑型诊断小儿川崎病的临床价值[J]. 山东医药, 2009, 49(12): 66-67.
- [15] Singh V, Martinezclark P, Pascual M, et al. Cardiac biomarkers-the old and the new; a review[J]. Coron Artery Dis, 2010, 21(4): 244-256.
- [16] 黄榕舫, 张嘉宁, 周旭晨, 等. 糖原磷酸化酶同工酶 BB 测定方法的建立及其在急性冠脉综合征诊治中的价值[J]. 大连医科大学学报, 2005, 27(3): 161-166.
- [17] Horacek JM, Vasatova M, Tichy M, et al. The use of cardiac biomarkers in detection of cardiotoxicity associated with conventional and high-dose chemotherapy for acute leukemia[J]. Exp Oncol, 2010, 32(2): 97-99.
- [18] Pudil R, Vasatová M, Lenco J, et al. Plasma glycogen phosphorylase BB is associated with pulmonary artery wedge pressure and left ventricle mass index in patients with hypertrophic cardiomyopathy [J]. Clin Chem Lab Med, 2010, 48(8): 1193-1195.
- [19] Cubranic Z, Madzar Z, Matijevic S, et al. Diagnostic accuracy of heart fatty acid binding protein (H-FABP) and glycogen phosphorylase isoenzyme BB(GPBB) in diagnosis of acute myocardial infarction in patients with acute coronary syndrome[J]. Biochemia Med(Zagreb), 2012, 22(2): 225-236.
- [20] Lacnák B, Stejskal D, Jedelský L, et al. Utilization of glycogen phosphorylase BB measurement in the diagnosis of acute coronary syndromes in the event of chest pain[J]. Vnitr Lek, 2007, 53(11): 1164-1169.
- [21] Meune C, Wahbi K, Weber S, et al. Performance of glycogen phosphorylase isoenzyme BB is weak in the detection of patients with non-ST-elevation acute coronary syndrome[J]. Clin Biochem, 2011, 44(16): 1343-1345.