

## 急性缺血性脑血管病患者血清氧化型低密度脂蛋白抗体的检测

楼小琳<sup>1</sup>, 刘伟<sup>2</sup>, 陈新平<sup>2</sup>, 孟晓梅<sup>2</sup>

(1. 首都医科大学附属北京安贞医院神经内科, 北京市 100029; 2. 北京市海淀区医院神经内科, 100080)

[关键词] 神经病学; 急性脑梗死; 短暂性脑缺血; 氧化型低密度脂蛋白; 抗体检测

[摘要] 目的 探讨氧化型低密度脂蛋白抗体检测在急性脑缺血发生发展过程中的作用及诊断价值。方法 选择我院 2007 年 6 月~8 月住院的急性脑缺血患者 80 例, 根据发病时头颅磁共振检查结果, 将患者分为急性脑梗死组与短暂脑缺血组, 采用酶联免疫吸附法同时测定二组血清氧化型低密度脂蛋白抗体, 检测血清生物化学各项指标, 并对结果进行统计学分析。结果 急性脑梗死组血清氧化型低密度脂蛋白抗体为  $38.07 \pm 32.14$  ku/L, 短暂脑缺血组为  $25.18 \pm 9.17$  ku/L, 二组比较有显著性差异 ( $P < 0.05$ ); 而与其它生物化学指标无相关性。结论 氧化型低密度脂蛋白抗体水平在不同类型脑缺血中有所不同, 其升高有可能是急性脑梗死的危险信号。

[中图分类号] R741

[文献标识码] A

### Detection of Blood Serum Oxidized Low Density Lipoprotein Antibody in Patients with Acute Cerebrovascular Ischemia

LOU Xiao-Lin, LIU Wei, CHEN Xin-Ping, and MENG Xiao-Mei

(Department of Neurology, Beijing Anzhen Hospital, Beijing 100029)

[KEY WORDS] Acute Cerebral Infarction; Transient Ischemic Attack; Oxidized LDL

[ABSTRACT] **Aim** To evaluate the effect and diagnosis value on oxidized low density lipoprotein (ox-LDL) in the developing process of acute cerebral ischemia. **Methods** Eighty acute cerebral ischemia patients were chosen during June to August, 2007. These patients were divided two groups: the acute cerebral infarction (ACI) group and transient ischemic attack (TIA) group, based on the functional MR examination. The serum ox-LDL antibody was tested by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method, the main serum biochemistry indexes were detected to all patients and statistics analysis was performed.

**Results** The patients in ACI group had a  $38.07 \pm 32.14$  ku/L ox-LDL antibody level and in TIA group had a  $25.18 \pm 9.17$  ku/L ox-LDL antibody level. A significant difference as compared with the patients in the two group ( $P < 0.05$ ). The other biochemics index had no dependability in the two groups.

**Conclusions** The patients with The ox-LDL antibody level is distinct in different type of cerebral ischemia patients and a higher level may give a danger signal with acute cerebral infarction.

近年的研究证实, 外周血中存在着抗氧化型低密度脂蛋白(oxidized LDL, ox-LDL)抗体, 其浓度变化与心脑血管病的临床事件发生乃至预后密切相关<sup>[1]</sup>。国内相关研究较少, 为此, 我们观察了我院神经内科收治的急性脑缺血患者的抗 ox-LDL 抗体水平, 旨在探讨其与脑梗死发生发展过程的关系及检测抗 ox-LDL 抗体水平的临床意义。

### 1 对象和方法

#### 1.1 对象与分组

选择我院神经内科 2007 年 6 月~8 月收治的急性缺血性脑血管病患者 80 例, 发病 < 72 h, 所有入

选患者符合 1996 年中华神经科学会和中华神经外科学会制定的各类脑血管疾病诊断要点<sup>[2]</sup>。根据临床表现及影像学结果分为二组: 急性脑梗死(acute cerebral infarction, ACI)组和短暂脑缺血发作(transient ischemic attack, TIA)组。ACI 组 42 例, 其中男 24 例, 女 18 例, 年龄  $67.9 \pm 11.4$  岁, 吸烟史 17 例, 饮酒史 9 例, 高血压史 30 例; TIA 组 35 例, 男 16 例, 女 19 例, 平均年龄  $68.6 \pm 11.7$  岁, 吸烟史 6 例, 饮酒史 5 例, 高血压史 7 例。二组在年龄性别等构成具有可比性。所有研究对象排除肿瘤、血液病、心脏事件、急慢性肝肾功能损害、感染性疾病和自身免疫性疾病, 近半年内无重大外伤、手术史。

#### 1.2 血清氧化型低密度脂蛋白抗体的检测

患者分别于发病 72 h 内空腹采静脉血 6 mL, 其中 4 mL 分离血清用于检测其他生物化学指标。另 2 mL 离心后取血清 -20℃ 保存待测。血清氧化型

[收稿日期] 2007-11-02

[修回日期] 2008-04-30

[作者简介] 楼小琳, 副主任医师, 研究方向为脑血管病, 联系电话 13801263462, E-mail 为 louxiaolin@263.net。

低密度脂蛋白抗体检测采用德国 GERMANY GmbH 公司生产的 ox-LDL 抗体 IgM + IgG 试剂盒, 由中国中医科学院临床基础医学研究所吕成博士采用酶联免疫吸附测定法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 进行。具体方法是: MTP 每孔分别加入 100  $\mu$ L 稀释后的样本、CAL、阳性对照或阴性对照, 空白对照孔加入稀释液, 以 TSP 封闭。室温孵育 1 h。标记并移除 TSP, 室温干燥 1 h, 置于封闭盒中。每孔 250  $\mu$ L 洗液洗涤, 共洗 3 次。弃去液体并于吸水纸或吸水布上空干。每孔加 100  $\mu$ L CON a(hum) IgGM: HRP, 胶带封闭。室温孵育 30 min。每孔 250  $\mu$ L 洗液洗涤, 共洗 3 次。弃去液体并于吸水纸或吸水布上空干。每孔加 100  $\mu$ L SUBS TMB, 孵育 10 min。每孔加 100  $\mu$ L SOLN STOP 终止反应。30 min 内于分光光度计 450 nm 检测结果。

### 1.3 其他指标的检测

使用奥林巴斯 AU600 生物化学仪常规检测甘油三酯、总胆固醇、高密度脂蛋白、低密度脂蛋白、脂蛋白 a 和空腹血糖, 并同时检测 C 反应蛋白、血清同型半胱氨酸水平。

### 1.4 统计学处理

所有实验数据采用 SPSS10.0 统计软件进行数据处理。实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 计量资料两样本均数的比较采用 T 检验, 计数资料行卡方检验。抗 ox-LDL 抗体与血清各项指标的相关性比较采用定量资料直线相关分析, 以  $P < 0.05$  为有显著性差异。

## 2 结果

### 2.1 血清氧化型低密度脂蛋白抗体的检测结果

二组清抗氧化低密度脂蛋白抗体水平见表 1, 经统计学比较差异有显著性, ACI 组明显高于 TIA ( $P < 0.05$ )。

表 1. 二组氧化型低密度脂蛋白抗体结果比较

分 组	n	ox-LDL(ku/L)
ACI 组	42	38.07 $\pm$ 32.14
TIA 组	35	25.18 $\pm$ 9.17a

a 为  $P < 0.05$ , 与 ACI 组比较。

### 2.2 二组其他指标的检测结果

二组其他指标的检测结果见表 2, 可见二组在吸烟率、高血压发生率、空腹血糖水平之间存在着统计学差异 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。

表 2. 二组患者基本情况及生理指标的比较

指 标	ACI 组 (n= 42)	TIA 组 (n= 35)	P 值
吸烟率	17/25	6/29	0.026
高血压史	30/42	7/28	0.001
血糖 (mmol/L)	6.93 $\pm$ 3.07	5.74 $\pm$ 1.44	0.029
甘油三酯 (mmol/L)	1.80 $\pm$ 1.28	1.61 $\pm$ 0.75	0.42
总胆固醇 (mmol/L)	5.30 $\pm$ 1.64	4.94 $\pm$ 0.92	0.24
高密度脂蛋白 (mmol/L)	1.15 $\pm$ 0.29	1.14 $\pm$ 0.24	0.94
低密度脂蛋白 (mmol/L)	2.75 $\pm$ 1.10	2.69 $\pm$ 0.60	0.78
脂蛋白 a (g/L)	0.95 $\pm$ 0.38	1.07 $\pm$ 0.28	0.12
同型半胱氨酸 ( $\mu$ mol/L)	14.90 $\pm$ 9.55	14.14 $\pm$ 7.79	0.71
C 反应蛋白 (mg/L)	5.29 $\pm$ 8.09	4.76 $\pm$ 4.95	0.74
纤维蛋白原 (g/L)	3.95 $\pm$ 1.36	3.58 $\pm$ 0.94	0.17

### 2.3 血清氧化型低密度脂蛋白抗体水平与其他指标的相关性分析

直线相关分析发现, 血清 ox-LDL 抗体水平与血清总胆固醇、甘油三酯、脂蛋白 a、C 反应蛋白、同型半胱氨酸、血糖、纤维蛋白原等指标无相关性。

## 3 讨论

脑缺血是因脑血流量减少而引起的脑细胞功能和形态的改变。但脑血流量必须减少达到一定程度和持续一定时间才会引起脑细胞功能和形态的改变, 也就是说脑缺血的程度不同, 其临床表现和病理变化结果也不相同。近年来的研究提示 ox-LDL 诱发的内皮细胞功能障碍可加速动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 的形成<sup>[3]</sup>, 而 As 又是脑梗死的重要病理基础。本组研究结果提示, ACI 组与 TIA 组血清 ox-LDL 抗体水平, 经统计学比较差异有显著性, 是否与脑损害的程度有关还需要进一步证实。以往的文献发现, ACI 患者血清 ox-LDL 抗体水平高于正常对照, 提示心脑血管病的发生与患者循环中 ox-LDL 抗体水平升高有关。但实际上, 影响血清中 ox-LDL 抗体水平的因素相当多。一般认为, ox-LDL 只存在于 As 病变内, 血液中浓度很低, 其浓度升高与 As 斑块不稳定有关。LDL 氧化修饰的各种改变都可以作为抗原表位, 引起机体的特异性免疫反应。但在同一个体在疾病的不同时期, 免疫反应也有变化, 如斑块不稳定时, ox-LDL 释放入血, 可引起免疫反应的增强。但在脑缺血的不同类型血清 ox-LDL 水平也不相同。<sup>[4]</sup> 并且抗 ox-LDL 抗体升高是有时间性和延

续性的, 究竟损伤后那个时间段才是其升高的最高点, 还有待于进一步研究证实。而在机体的不同时期, 因采血时间不同, 其结果也略有变化。另外, 检测 ox-LDL 抗体有许多种方法, 到目前为止, 有多种 ox-LDL 抗体用于检测 ox-LDL 抗体水平, 其结果也不一致。故本检测结果仅作为一个提示: 是否 ACI 与 TIA 在此特异性的免疫反应中程度有所不同。

氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)具有细胞毒性作用, 能够诱导血管内皮损伤及内皮功能障碍, 有研究发现, ox-LDL 作用 24 h 后, 内皮细胞微丝明显破坏、断裂、稀疏、分布紊乱。ox-LDL 致内皮细胞损伤表现在多个方面, 但 ox-LDL 导致内皮细胞损伤继而引起 As 的确切机制目前尚未明了, LDL 通过氧化修饰形成 ox-LDL 后, 其生物学活性和抗原性都发生了很大变化<sup>[5]</sup>, 对此国内外的研究结果不尽相同<sup>[6]</sup>。以往的研究表明, 低密度脂蛋白的氧化敏感性与心血管病患者的动脉硬化严重程度密切相关<sup>[7]</sup>。近年来国内有研究证实急性脑梗死患者氧化低密度脂蛋白的抗氧化能力显著降低, 从而推测氧化低密度脂蛋白氧化延迟时间的缩短, 氧化低密度脂蛋白氧化易感性增加, 可能也是监测脑梗死发生的一个重要危险因素之一<sup>[8]</sup>。

本组研究通过检测二组血清 ox-LDL 抗体水平与血清生物化学各项指标包括总胆固醇、甘油三酯、脂蛋白 a、超敏 C 反应蛋白、同型半胱氨酸、血糖、纤维蛋白原等, 各项指标的直线相关分析发现相关无显著意义。推测其是一个独立的影响因素。有文献发现, 急性冠心病患者 ox-LDL 水平的测定结果与正常对照组比较两组有极明显差异, 比较冠状动脉硬化症的诊断精确度, ox-LDL 具有比 LDL-C、总胆固醇、脂蛋白(a)、中性脂肪、过氧化脂质在敏感性及特

异性上均有优势。

在 TIA 多项可能的病因中, 动脉粥样硬化斑块脱落致脑动脉血管一过性缺血, 仍占主导, 尤其是伴随血管狭窄的患者, TIA 更是频繁发生。从其发病原因上来看, TIA 与脑梗死共同的致病因素多认为与血管内膜损伤所致的动脉硬化斑块及斑块内出血、溃疡, 斑块脱落有关。短暂脑缺血与脑梗死在临床上不完全仅仅是病理程度上的不同, 在抗氧化能力上是否有所不同还有待进一步证实。

脑梗死患者体内存在着低密度脂蛋白的氧化修饰过程, 尽管其氧化过程尚不十分清楚, 但在脑梗死急性期患者氧化低密度脂蛋白抗氧化能力下降已得到初步证实<sup>[8]</sup>。从临床的现状来看, 进行进一步的基础和临床研究是非常必要的。更多的临床结果提示也许会给 ox-LDL 的研究带来新的思路和证据。

#### [参考文献]

- [1] Holvoet P, Nakamura T, Vague J, et al. Oxidized low density lipoprotein is a prognostic marker of transplant-associated coronary artery disease [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, 20 (3): 698-702.
- [2] 中华神经科学会, 中华神经外科学会. 各类脑血管疾病诊断要点[J]. 中华神经科杂志, 1996, 26 (6): 379-380.
- [3] Mukherjee S, Coaxum SD, Maleque M, et al. Effects of oxidized low density lipoprotein on nitric oxide synthetase and protein kinase activities in bovine endothelial cells [J]. *Cell Mol Biol*, 2001, 47 (6): 1 051-058.
- [4] 梁荣仙, 闫胜敏, 廖仁昊, 等. 不同类型急性脑梗死患者血清 ox-LDL 水平变化及临床意义[J]. 中国老年学杂志, 2008, 28 (3): 509-510.
- [5] Danial SL. A conner memorial lecturer oxidative modification of LDL and atherogenesis [J]. *Circulation*, 1997, 95 (4): 1 062.
- [6] 宓宝斌, 刘江华, 文格波. 氧化型低密度脂蛋白对内皮细胞损伤机制的研究进展[J]. 医学临床研究, 2005, 22 (9): 1 322-324.
- [7] 管维平, 蒲传强, 匡培根, 等. 急性脑梗死患者低密度脂蛋白的氧化敏感性[J]. 中国临床康复, 2005, 9 (13): 100-101.
- [8] De Rijke YB, Verwey HF, Vogelesang CJ, et al. Enhanced susceptibility of low-density lipoproteins to oxidation in coronary bypass patients with progression of atherosclerosis [J]. *Clin Chim Acta*, 1995, 243 (2): 137-149.

(此文编辑 胡必利)