

# 急性缺血性卒中与氧化应激、炎症反应标志物

宋 哲, 毕 齐, 王力锋

(首都医科大学附属北京安贞医院神经内科, 北京市 100029)

[关键词] 急性缺血性卒中; 氧化应激; 炎症反应

[摘要] 已有研究表明氧化应激和炎症反应在动脉粥样硬化形成、急性脑卒中临床事件发生以及缺血损伤后侧枝循环建立等代偿机制中发挥重要作用, 因此抗氧化应激及抑制炎症反应成为防治动脉粥样硬化以及急性缺血性卒中的重要措施之一。目前已有多种血液标志物被用于研究其变化情况, 但还没有明确何种标志物具有更高的敏感性和特异性, 本文选取几个研究较充分的血液标志物, 就其作用机制及与预后关系的研究做一综述。

[中图分类号] R741

[文献标识码] A

脑卒中严重威胁人类健康, 其中缺血性脑卒中 (IS) 发病率远远高于出血性脑卒中 (HS), 约占全部脑卒中的 87%<sup>[1]</sup>, 动脉粥样硬化 (As), 特别是颈部动脉粥样硬化斑块, 是 IS 的重要危险因素<sup>[2]</sup>。

以往认为, As 是由血脂代谢紊乱、脂质病理沉积所致, 而目前许多研究表明, 氧化应激和炎症反应在 As 发生发展并导致急性缺血性卒中 (AIS) 临床事件的各个环节中都起到不同程度的作用<sup>[3]</sup>。因此, 抗氧化、抑制炎症反应成为防治脑卒中的重要措施之一。

## 1 氧化应激及炎症反应的概念

氧化应激是指机体在遭受各种有害刺激时, 机体或细胞内自由基的产生和抗氧化防御之间严重失衡, 活性氧在机体或细胞内蓄积引起细胞毒性反应, 从而导致组织损伤的过程<sup>[4]</sup>。与其他器官相比, 脑组织更易产生自由基和脂质过氧化物<sup>[5]</sup>。

炎症反应是指具有血管系统的活体组织对各种损伤因子的刺激所发生的一种以防御反应为主的基本病理过程。局部的血管反应是炎症过程的主要特征和防御反应的中心环节。近年来随着对脑梗死发病机制的深入探索, 已有越来越多的研究表明, 在脑卒中早期脑缺血受损部位即有大量白细胞浸润、聚集, 多种细胞因子参与了炎症反应和神经元的损伤, 炎症反应可能是缺血的独立危险因素<sup>[6]</sup>。

## 2 急性缺血性卒中氧化应激、炎症反应的作用及对预后的影响

目前许多试验研究表明, 氧化应激、炎症反应是缺血性脑损伤的主要作用因素。从 As 启动的中心环节——低密度脂蛋白 (LDL) 氧化成为氧化型低密度脂蛋白 (ox-LDL), 到缺

血再灌注后基质金属蛋白酶 (MMP) 的激活与血脑屏障的破坏, 氧化应激和炎症反应的作用贯穿了 AIS 的始终。

目前氧化应激和炎症反应在 AIS 中研究较多的血液标志物包括高敏 C 反应蛋白 (hsCRP)、ox-LDL、MMP9 等, 以下讨论这些标志物在缺血性卒中急性期的表现、作用及对预后的影响。

### 2.1 高敏 C 反应蛋白

CRP 是一种典型的急相反应蛋白, 在感染、炎症和组织损伤时可迅速升高, 是人体炎症反应最敏感的指标之一。正常人体中 CRP 含量极低 (1 mg/L), hs-CRP 增强测量法可检测的最低血清浓度达到了 0.2~10 mg/L<sup>[7]</sup>, 从而使应用 CRP 预测动脉粥样硬化性脑卒中发生的危险性成为可能。CRP 也是目前研究最广泛的一个血液标志物, 越来越多的证据表明血清 CRP 浓度升高与脑卒中相关, 认为其与高血压、糖尿病一样, 是脑卒中预后的独立危险因素<sup>[8]</sup>。

与 CRP 相关的炎症反应参与脑卒中、尤其是缺血性脑卒中的病理过程, 其可能的机制有: 激活补体系统, 参与炎症反应和组织损伤, 促进血栓形成; 活化单核细胞、粒细胞直接或间接造成血管损伤; 促进单核细胞释放组织因子, 造成机体凝血-纤溶机制失衡, 导致血栓形成; 引发炎症反应诱导血管平滑肌增生, 并使白细胞释放蛋白酶、血栓纤维帽破裂, 直接导致血栓形成; CRP 水平与血浆铁蛋白水平正相关, 铁超负荷可促进 LDL 氧化, 增加 As 疾病发生的危险性。目前也有关于 CRP 与细胞黏附分子之间关系的研究, 发现在不同浓度 CRP 中孵育的微血管内皮细胞的乳酸脱氢酶 (LDH) 漏出率显著增加并呈剂量依赖性, 同时介导细胞间黏附分子 1 (ICAM-1) 以及血管细胞黏附分子 1 (VCAM-1) 的表达显著上调<sup>[9]</sup>。

在一项基于 60~90 岁人群的研究中, hs-CRP 水平与脑室周围及皮质下白质损害有关<sup>[10]</sup>。根据 DWI 将患者分为皮质梗死、浅表小梗死、缘带梗死及深部梗死模式, hs-CRP 在皮质梗死患者中最高<sup>[11]</sup>。对 156 名 2 型糖尿病患者及性别、年龄匹配的 156 名对照进行前瞻性研究发现, 高血浆 hs-CRP 水平是非致死性心脑血管事件相关的独立危险因素, 且两组间 CRP 水平有显著性差异, 糖尿病患者 CRP 水平明显

[收稿日期] 2009-06-22

[修回日期] 2009-09-05

[作者简介] 宋哲, 研究方向为脑血管病, Email 为 songzheshi@163.com。毕齐, 博士, 教授, 研究方向为脑血管病。王力锋, 研究方向为脑血管病。

高于非糖尿病患者<sup>[12]</sup>。Montaner等<sup>[13]</sup>发现颈内动脉系统脑卒中 hs-CRP水平可以反映病情轻重程度。姜雅珍等回顾分析了120例急性脑卒中患者 hs-CRP水平,结果显示缺血性脑卒中 CRP水平明显高于健康对照,且与病情轻重程度正相关<sup>[14]</sup>,CRP水平与缺血性卒中病情严重程度及预后相关已有多项研究证实<sup>[15]</sup>。CRP水平升高可能并非疾病的结果,而是在对组织损伤、感染、炎症以及(或者)免疫和环境刺激的反应过程中产生的。已知在吸烟、肥胖以及纤溶活性异常和亚临床动脉粥样硬化的个体中,CRP水平更高。这一“标记物 vs 机制”的争论仍在继续并需要更进一步的研究来证实<sup>[16]</sup>。

孙卫亚动态检测202例急性缺血性脑卒中 CRP浓度,结果发现卒中组 CRP浓度急性期升高,明显高于脑出血组和健康体检组,CRP在发病第3天达高峰,7天开始下降,21天明显下降,但仍未接近正常水平<sup>[17]</sup>。但钟长扬等对107例脑梗死患者血 CRP进行测定发现,脑梗死后72 h其浓度开始升高,7天左右达高峰,14天时接近对照组水平,其中并发多脏器功能衰竭者 CRP水平最高。由此可见 CRP的动态变化及其与预后的关系仍需进一步研究。

现有研究已显示 hs-CRP水平与缺血性脑卒中之间正相关,但 CRP仅是脑卒中的一种生物标记物还是脑卒中发生机制的相关因素,以及 CRP在脑卒中发病过程中的动态变化及其与预后的关系还有待进一步的研究。

## 2.2 氧化型低密度脂蛋白

在外界损伤因素的作用下,血管内皮组织受到破坏,通透性增强,血液中 LDL大量向内皮下浸润聚集,并与受损组织细胞释放的大量自由基相结合,形成 ox-LDL。ox-LDL不再被受游离胆固醇负反馈调节的脂蛋白受体(LDLR)识别,而由巨噬细胞表面的清道夫受体 A(SR-A)识别,因此更容易被巨噬细胞识别并吞噬形成泡沫细胞,而后者是动脉硬化形成的关键环节。

此外,ox-LDL还能刺激内皮细胞分泌多种炎症因子和黏附分子,诱导单核细胞黏附、迁移进入动脉内膜并转化为巨噬细胞;诱导内皮细胞增生、平滑肌细胞的增殖和移行;促进血小板黏附、聚集和血栓形成;抑制一氧化氮(NO)释放,促进血管收缩,加剧 As 的炎症反应等,通过多种途径启动和加速 As 斑块形成。目前普遍认为 ox-LDL是导致 As 的重要因素,已证实在动物及人类动脉硬化斑块中存在 ox-LDL。

Uno等<sup>[18]</sup>研究发现,缺血性脑卒中 ox-LDL较对照组显著增高,在发病第3天达到峰值,随后迅速降到对照组水平,其中发生皮质损伤的患者尤为显著,研究者认为这些 ox-LDL是从脑组织释放到循环中的氧化磷脂。

Feng-Shiun等<sup>[19]</sup>基于在体外试验中 ox-LDL与神经毒性有关这一研究发现,提出了 ox-LDL可能存在于梗死后的大脑实质细胞中的假说,并认为 ox-LDL可能影响脑梗死的病理生理过程。研究发现缺血性脑卒中亚急性期的特征为 ox-LDL抗原决定簇出现在星形胶质细胞中,而不是在神经元或小胶质细胞中,最低剂量的 ox-LDL对小鼠星形胶质细胞的原代培养也是有影响的,即小鼠星形胶质细胞暴露于最低剂

量的 ox-LDL中也会受刺激分泌白细胞介素 6(IL-6),但不会改变 NO 的产生。这些结果第一次证实,ox-LDL存在于缺血性脑卒中患者的脑实质内,并提出 ox-LDL可能激活自然免疫从而直接影响神经元存活。

## 2.3 基质金属蛋白酶 9

MMP是影响动脉粥样斑块稳定性的重要生物酶,能够特异性与细胞外基质结合使其降解,并促使单核细胞和平滑肌细胞迁移,导致斑块纤维帽降解,造成斑块破裂<sup>[20]</sup>。MMP在中枢神经系统炎症反应中可攻击脑血管的基底膜,破坏血脑屏障,导致脑出血和脑水肿,并对神经元有不同程度的毒性作用<sup>[21]</sup>,在有血脑屏障破坏的神经系统疾病中 MMP表达明显升高<sup>[22]</sup>。MMP主要受四个因素调控:活性氧簇(ROS)、ox-LDL、肿瘤坏死因子  $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、IL-1<sup>[23]</sup>,其中 ox-LDL<sup>[24-25]</sup>是影响 MMP水平与活性的关键因素。

Zhao等<sup>[26]</sup>认为卒中患者血浆 MMP浓度增高可能与预后相关,MMP对神经血管的水解作用可能是重组组织型纤溶酶原激活剂(rt-PA)溶栓治疗后水肿和出血等并发症发生的基础。然而,与其在卒中急性期的有害作用相反,MMP及其他神经血管水解酶在卒中后的修复过程中可能起到有益作用。在梗死灶周围皮层,MMP可以介导神经血管重建,与血管内皮生长因子共同参与组织的修复和重建,对 MMP的延迟抑制会减少重建相关标志物,这一现象可能与生物有效生长因子的减少相关。

MMP-9与脑卒中的关系最密切。脑缺血再灌注时 MMP-3、MMP-9表达显著升高,其中 MMP-9与血脑屏障破坏的关系已经明确,血脑屏障被破坏后,血管内的大分子物质进入脑组织,引发脑水肿、炎症细胞浸润并进一步释放炎症因子,形成炎症反应的正反馈<sup>[27]</sup>。Horsmann等<sup>[28]</sup>发现,与健康对照相比,MMP-2及 MMP-9在缺血过程中增高,MMP-9及层粘连蛋白水平随梗死面积和治疗方式不同有显著差异;与接受低体温疗法的患者相比,MMP-9在 rt-PA 溶栓治疗的患者中显著升高。急性缺血性卒中患者中新发高血压患者(发病后24 h内发现高血压)血浆 MMP-9水平高于慢性高血压病史患者及血压正常患者,且与3个月不良神经功能预后独立相关<sup>[29]</sup>。

MMP抑制剂能明显减小缺血体积、减轻脑水肿、减少出血。新近研究表明,MMP广谱抑制剂还具有显著抑制神经细胞迁移的功能,提示 MMP与神经细胞迁移的内源性机制有关<sup>[30]</sup>。Peter等发现缺血性卒中患者发病早期(平均发病后6 h)F-2异前列腺素(F2IPs)升高,且与 MMP-9相关,但未显示与美国国立卫生院神经功能缺损评分(NHSS)、DWI梗死体积、90天 Rankin 评分或 CRP有关<sup>[31]</sup>。Guang等<sup>[32]</sup>发现 CD47是一种介导中性粒细胞迁移穿越血管壁的细胞表面糖蛋白,CD47基因敲除的小鼠脑缺血(大脑中动脉阻塞90 min)后缺血脑组织微血管中的 MMP-9表达上调,但显著低于同类未敲除基因小鼠,梗死体积以及大脑半球肿胀程度也均低于未敲除基因小鼠,因此得出结论认为 CD47与神经细胞炎症反应密切相关并在促进 MMP-9上调中起作用,而 MMP-9被认为是神经细胞炎症反应的标志物之一。

用于研究氧化应激和炎症反应在 IS 中作用的生物标志物还有很多,在此仅对以上 3 个研究较广泛的标志物进行总结,到目前为止,还没有明确何种标志物对氧化应激和炎症反应有更高的敏感性和特异性,因此需更进一步的研究以期获得敏感性、特异性更高的生物标志物,从而更好的反应氧化应激和炎症反应状态,进而探讨其对预后的影响。

# 参考文献

- [1] Rosamond W, Flegal KM, Friday G, et al. Heart disease and stroke statistics 2007 Update: A report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee [J]. *Circulation*, 2007, **115**: 69-171.
- [2] Rubattu S, Gillert R, Volpe M. Etiology and pathophysiology of stroke as a complex trait [J]. *Am J Hypertens*, 2000, **13** (10): 139-148.
- [3] 王拥军. 氧化应激与缺血性脑血管病 [J]. 中国卒中杂志, 2008, **3** (3): 163-165.
- [4] Chade AR, Lerman A, Lerman LO. Kidney in early atherosclerosis [J]. *Hypertension*, 2005, **45**: 1042-1049.
- [5] Dringen R. Metabolism and functions of glutathione in brain [J]. *Prog Neurobiol*, 2000, **62**: 649-671.
- [6] Elkind MS, Coates K, Tai W, et al. Levels of acute phase proteins remain stable after ischemic stroke [J]. *BMC Neurol*, 2006, **6**: 37.
- [7] Roberts WL, Moulton L, Lav TC, et al. Evaluation of nine automated high-sensitivity C-reactive protein methods: implications for clinical and epidemiological applications [J]. *Clin Chem*, 2001, **47**: 418.
- [8] Gracia-Naya M, Usón-Martín M, Serran-Gonzalez G, et al. Predictive value of serum ferritin in the prognosis of acute cerebrovascular accident [J]. *Rev Neurol*, 1997, **25** (148): 1892.
- [9] Zhang J, Rui YC, Yang PY, et al. C-reactive protein induced expression of adhesion molecules in cultured cerebral microvascular endothelial cells [J]. *Life Sciences*, 2006, **78**: 2983-988.
- [10] van Diek EJ, Prins ND, Vemmer SE, et al. C-reactive protein and cerebral small vessel disease: The Rotterdam Scan Study [J]. *Circulation*, 2005, **112**: 900-905.
- [11] Yoona SR, Bang OY, Hongc M, et al. Non-conventional risk factors were associated with infarct patterns in ischemic stroke [J]. *Clinic Neurol Neurosurg*, 2009, **111**: 134-139.
- [12] Giuseppe Coppola T, Egle Corradoa, Ida Muratori, et al. Increased levels of C-reactive protein and fibrinogen influence the risk of vascular events in patients with NIDDM [J]. *Inter J Cardiol*, 2006, **106**: 16-20.
- [13] Montaner J, Fernandez-Cadenas I, Molina CA, et al. Post stroke C-reactive protein is a powerful prognostic tool among candidates for thrombolysis [J]. *Stroke*, 2006, **37** (5): 1205-210.
- [14] 姜雅珍, 张慧华. 脑梗死患者 CRP 水平及其临床意义 [J]. 浙江临床医学, 2007, **9** (3): 327.
- [15] 黄仙娥. 超敏 C 反应蛋白在急性脑梗塞早期预测中的临床意义 [J]. 实验与检验医学, 2008, **26** (2): 202.
- [16] Rilker FM, Buring JE, Rifai N, et al. Development and validation of improved algorithms for the assessment of global cardiovascular risk in women: The Reynolds Risk Score [J]. *JAMA*, 2007, **297**: 611-619.
- [17] 孙卫亚. 急性脑梗死患者血清 C 反应蛋白及 TNF- $\alpha$  浓度变化的临床研究 [J]. 神经损伤与功能重建, 2006, **1** (2): 93-95.
- [18] Uno M, Kitazato KT, Nishi K, et al. Raised plasma oxidized LDL in acute cerebral infarction [J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2003, **74**: 312-316.
- [19] Feng-Shiun Shie, Neely MD, Maezawa I, et al. Oxidized low-density lipoprotein is present in astrocytes surrounding cerebral infarcts and stimulates astrocyte interleukin-6 secretion [J]. *Am J Pathol*, 2004, **164**: 1173-1181.
- [20] Galis ZS, Khatri JJ. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly [J]. *Circ Res*, 2002, **90**: 251-262.
- [21] Power C, Henry S, Marc R, et al. Intracerebral hemorrhage induces macrophage activation and matrix metalloproteinase [J]. *Ann Neurol*, 2003, **53**: 731-742.
- [22] Abilleira S, Montaner J, Molina CA, et al. Matrix metalloproteinase-9 concentration after spontaneous intracerebral hemorrhage [J]. *J Neurosurg*, 2003, **99**: 65-70.
- [23] Sznajko PE, Wang CH, Weisel RD, et al. Biomarkers of vascular disease linking inflammation to endothelial activation: Part II [J]. *Circulation*, 2003, **108**: 2041-048.
- [24] Li D, Liu L, Chen H, et al. LOX-1 mediates oxidized low-density lipoprotein-induced expression of matrix metalloproteinases in human coronary artery endothelial cells [J]. *Circulation*, 2003, **107**: 612-617.
- [25] Lin SJ, Yen HT, Chen YH, et al. Expression of interleukin-1 beta and interleukin-1 receptor antagonist in ox-LDL-treated human aortic smooth muscle cells and in the neointima of cholesterol-fed endothelial-denuded rabbits [J]. *J Cell Biochem*, 2003, **88**: 836-847.
- [26] Zhao BQ, Emiri T, Eng H, et al. Neurovascular Proteases in Brain Injury: Hemorrhage and Remodeling After Stroke [J]. *Stroke*, 2007, **38** (2): 748-752.
- [27] Inoue K, Slaton JW, Kim SJ, et al. Interleukin 8 overexpression regulates tumorigenicity and metastasis in human bladder cancer [J]. *Cancer Res*, 2000, **60**: 2290-299.
- [28] Horstmann S, Kalb P, Koziol J. Profiles of matrix metalloproteinases, their inhibitors, and laminin in stroke patients: influence of different therapies [J]. *Stroke*, 2003, **34**: 2165-172.
- [29] Rodriguez-Yanez M, Castellanos M, Blanco M, et al. New-onset hypertension and inflammatory response/poor outcome in acute ischemic stroke [J]. *Neurology*, 2006, **67**: 1973-978.
- [30] Lee SR, Kim HY, Rogowska J, et al. Involvement of matrix metalloproteinase in neuroblast cell migration from the subventricular zone after stroke [J]. *J Neurosci*, 2006, **26**: 3491-495.
- [31] Kelly PJ, Morrow JD, Ning MM, et al. Oxidative stress and matrix metalloproteinase-9 in acute ischemic stroke: the biomarker evaluation for antioxidant therapies in stroke (BEAT-Stroke) study [J]. *Stroke*, 2008, **39**: 100-104.
- [32] Guang Jia, Kiyoshi Tsuji, Changhong Xing, et al. CD47 gene knockout protects against transient focal cerebral ischemia in mice [J]. *Experimental Neurology*, 2009, **217**: 165-170.

(此文编辑 文玉珊)