

# 血清新蝶呤与动脉粥样硬化性血栓性脑梗死的相关性

李玉云<sup>1</sup>, 李颖<sup>2</sup>, 宋本华<sup>1</sup>

(1. 齐齐哈尔市第一医院 神经内科, 黑龙江省齐齐哈尔市 161005;

2. 哈尔滨医科大学附属第二医院老年病科, 黑龙江省哈尔滨市 150086)

[关键词] 神经病学; 动脉粥样硬化; 血栓; 脑梗死; 新蝶呤

[摘要] 目的 探讨新蝶呤与动脉粥样硬化性血栓性脑梗死发病机制的可能关系。方法 对 50 例动脉粥样硬化性血栓性脑梗死急性期患者和 50 例健康体检者分别测定了外周静脉血清新蝶呤水平。结果 动脉粥样硬化性血栓性脑梗死急性期患者外周静脉血清新蝶呤水平显著高于正常人 ( $5.07 \pm 1.70 \mu\text{g/L}$  比  $2.04 \pm 0.21 \mu\text{g/L}$ ,  $P < 0.05$ )。结论 在动脉粥样硬化性血栓性脑梗死患者中新蝶呤水平显著升高, 免疫激活可能参与了动脉粥样硬化性血栓性脑梗死急性期的病理生理过程, 新蝶呤是动脉粥样硬化性血栓性脑梗死活动的一个重要指标。

[中图分类号] R741

[文献标识码] A

## Relationship Between Serum Neopterin Level and Atherosclerosis Thrombotic Cerebral Infarction

LI Yur Yun, LI Ying, and SONG Ben Hua

(Department of Neurology, the First People's Hospital of Qiqihaer, Qiqihaer 161005, China)

[KEY WORDS] Atherosclerosis; Thrombotic; Cerebral Infarction; Neopterin

[ABSTRACT] **Aim** To explore relationship between the serum neopterin level and atherosclerosis thrombotic cerebral infarction (ATCI). **Methods** The neopterin of peripheral vein were measured in 50 cases of acute stage of ATCI and 50 cases of healthy controls. **Results** The levels of neopterin of peripheral vein in acute stage of ATCI group were significantly higher than those in healthy controls ( $5.07 \pm 1.70 \mu\text{g/L}$  vs  $2.04 \pm 0.21 \mu\text{g/L}$ ,  $P < 0.05$ ). **Conclusion** The levels of neopterin were significantly elevated in patients with ATCI, immune activation probably participated in course of pathophysiology of acute stage of ATCI, and neopterin was an important mark of the activity of ATCI.

在脑梗死诸多病因及发病机制中, 动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是重要致病因素。近年研究表明 As 的发生与发展类似于慢性炎症反应过程, 炎症在 As 形成和受损过程中起极其重要的作用<sup>[1,2]</sup>, 而细胞免疫可能参与了这一过程<sup>[3]</sup>, 但其具体机制尚待研究。新蝶呤是炎性斑块中主要炎性细胞——巨噬细胞激活的直接标志物, 其浓度升高表明粥样斑块内炎症反应明显, 斑块处于高度不稳定状态, 易发生急性脑血管事件。为此我们对头部 CT 或 MRI 证实的动脉粥样硬化性血栓性脑梗死(atherosclerosis thrombotic cerebral infarction, ATCI)急性期患者进行血清新蝶呤测定, 旨在探讨 ATCI 发病的可能机制。

## 1 对象和方法

### 1.1 研究对象及分组

2005 年 8 月~2006 年 5 月在哈尔滨医科大学

附属第二临床医学院住院的 ATCI 急性期患者 50 例(均为发病后 24 h 内入院)为观察组, 其中男 27 例, 女 23 例, 年龄  $54.46 \pm 3.23$  岁。按中国脑血管病防治指南中 ATCI 的诊断标准入选, 并除外脑梗死以外的血栓性疾病、感染、自身免疫性疾病、恶性肿瘤和严重肝肾疾病的病人; 选择 50 例健康体检者作为正常对照组, 其中男 28 例, 女 22 例, 年龄为  $53.38 \pm 3.68$  岁, 进行常规的心电图、头部 CT 及血液生物化学检查。观察组神经功能缺损程度评定采用美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS): 评分  $\leq 4$  为轻度; ④评分 5~14 分为中度; ④评分  $\geq 15$  分为重度。测量 CT 或 MRI 上的最大梗死面积, 多发脑梗死者测量各病灶的最大梗死面积并累加, 脑干病灶按半球标准的 1/2 计算: 梗死面积  $< 5 \text{ cm}^2$  为小面积; ④梗死面积 5~15  $\text{cm}^2$  为中面积; ④梗死面积  $> 15 \text{ cm}^2$  为大面积。

### 1.2 标本采集及处理

患者入院当时从前臂静脉抽取血样本, 待样本血液凝固后分离血清置于有盖试管中, 于  $-20^\circ\text{C}$  贮存, 批量待检; 于第 2 天清晨空腹再次采血测定血糖

[收稿日期] 2006-07-21

[修回日期] 2006-12-12

[作者简介] 李玉云, 硕士, 主治医师, 主要从事脑血管病研究, E-mail 为 lyyun0452@163.com。李颖, 主任医师, 硕士研究生导师, 从事老年神经科方面的研究。宋本华, 主任医师, 从事脑血管病研究。

(blood glucose, BG)、甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC)、低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)和血肌酐(creatinine, Cr)等指标的血样送至生物化学检验室,采用自动分析仪进行测定。正常对照组于清晨空腹从前臂静脉抽取血样,测定新蝶呤样本待血液凝固后分离血清,置于有盖试管中,于 $-20^{\circ}\text{C}$ 贮存,批量待检;测定血糖、TG、TC、HDLC和LDL等指标的血样本送至生物化学检验室采用自动分析仪进行测定。

血清新蝶呤浓度采用酶联免疫吸附法(ELISA)于哈尔滨医科大学附属第二临床医学院试验中心进行测定,新蝶呤试剂盒购自德国IBL公司。大体试验步骤如下:首先将冷藏的试剂和样本在使用前恢复到室温,在此期间配制洗涤缓冲液、酶结合物、四甲基联苯胺底物溶液;在各反应孔中依次加入标准样品或待测样本、酶结合物、新蝶呤抗血清,然后在室温下孵育90 min;洗涤3次;然后在各反应孔中加入四甲基联苯胺底物溶液并在室温下孵育10 min;最后在各反应孔中加入四甲基联苯胺停滞溶液以阻止底物反应,颜色由蓝色变为黄色,轻摇混匀后在全自动酶标仪上读取光密度值(全过程注意避光)。用试剂盒中附带的六个标准参照物的浓度与其相应光密度绘制标准曲线,通过使用平均关系密度,血清标本的浓度可以直接从标准参照物曲线上读取,新蝶呤测定结果按说明书换算成 $\mu\text{g/L}$ 。

### 1.3 统计学处理

采用SAS9.13软件进行数据分析,正态分布的连续变量表示,组间比较采用 $t$ 检验,观察组并做Spearman相关分析;计数资料进行 $\chi^2$ 检验。 $P < 0.05$ 为差异有显著性。

## 2 结果

### 2.1 基线资料比较

观察组与正常对照组之间年龄、血压、血脂和血糖等一般资料差异无显著性( $P > 0.05$ ),具有可比性(表1)。

### 2.2 血清新蝶呤水平

观察组血清新蝶呤浓度显著高于对照组( $5.07 \pm 1.70 \mu\text{g/L}$ 比 $2.04 \pm 0.21 \mu\text{g/L}$ ),差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。观察组血清新蝶呤浓度与神经功能缺损程度无明显相关性( $r = 0.21, P > 0.05$ );观察组血清新蝶呤浓度与脑梗死面积亦无明显相关性( $r = 0.22, P > 0.05$ )。

表1. 观察组与对照组临床一般特性及生物化学指标

指 标	观察组	对照组
年龄(岁)	$54.46 \pm 3.23$	$53.38 \pm 3.68$
收缩压(mmHg)	$127 \pm 20$	$121 \pm 18$
舒张压(mmHg)	$68 \pm 10$	$68 \pm 10$
TC (mmol/L)	$5.45 \pm 0.64$	$5.25 \pm 0.52$
TG (mmol/L)	$2.02 \pm 0.83$	$1.76 \pm 0.45$
HDLC (mmol/L)	$1.99 \pm 0.25$	$2.03 \pm 0.83$
LDL (mmol/L)	$3.20 \pm 0.96$	$2.88 \pm 0.92$
肌酐 (mmol/L)	$71.38 \pm 13.26$	$72.08 \pm 13.47$
血糖 (mmol/L)	$5.58 \pm 1.24$	$5.20 \pm 0.62$

## 3 讨论

动脉粥样硬化性血栓性脑梗死(ATCI)为脑梗死最常见的类型,易损的As斑块破裂及其继发改变可能是多数ATCI的发病机制。易损斑块或不稳定性斑块的特点是脂核大,纤维帽薄弱。近年研究结果发现,在易损斑块中富含巨噬细胞和活化的淋巴细胞,这为炎症在参与As的形成以及决定斑块的易损性中起重要作用提供理论依据<sup>[4]</sup>。

目前认为As本身就是一个慢性炎症过程<sup>[5,6]</sup>,细胞免疫在其中扮演了十分重要的角色。研究表明,不稳定性斑块单核巨噬细胞和T淋巴细胞显著增多<sup>[7]</sup>,而这些激活的炎症细胞释放细胞因子如 $\gamma$ -干扰素、白细胞介素 $1\beta$ 、肿瘤坏死因子 $\alpha$ <sup>[8]</sup>等。这些因子能抑制斑块中平滑肌的分泌作用及促进巨噬细胞分泌金属蛋白酶,导致基质降解增加,纤维帽破坏继发血栓形成。血中的细胞因子如白细胞介素 $1\beta$ 和肿瘤坏死因子 $\alpha$ 可促进白细胞介素6基因的表达,白细胞介素6的升高促进肝脏合成C反应蛋白,但C反应蛋白为全身性、非特异性炎症标志物,其检测结果更为间接,故不够敏感; $\gamma$ -干扰素能激活巨噬细胞合成新蝶呤。

新蝶呤的化学结构为2-氨基-4-羟基-6-(D-赤藓糖基-1',2',3'-三羟丙基)蝶啶,相对分子质量为253 kDa,是三磷酸鸟苷降解的衍生物,是多种酶羟化过程中的辅酶;体外实验表明T细胞活化产生的 $\gamma$ -干扰素可刺激单核巨噬细胞活性增强,分泌新蝶呤。T细胞通过以下两种方式作用于单核巨噬细胞:一种是通过 $\gamma$ -干扰素直接提高关键酶——环水解酶iv活力使合成新蝶呤前物质——三磷酸鸟嘌呤核苷增加;另一种是使三磷酸二氢新蝶呤增加,因为单核巨噬细胞内缺乏转化三磷酸二氢新蝶呤成四氢新蝶

呤的 6-丙酮-4-氢蝶呤合成酶, 结果使三磷酸二氢新蝶呤堆积, 然后在磷酸酯酶水解下变成二氢新蝶呤或者新蝶呤, 从而使新蝶呤合成和分泌增加。另外单核巨噬细胞也可刺激活化 T 细胞, 两者相互影响。所以新蝶呤是细胞介导免疫激活的敏感标志, 其浓度增加见于那些与细胞介导免疫激活有关的疾病<sup>[9]</sup>。

新蝶呤的作用迄今尚未完全明了, 新蝶呤可通过激活结构型和诱生型一氧化氮合酶来调整细胞内部氧化还原状态<sup>[10]</sup>, 而无限度的一氧化氮可能对血管壁有损害作用<sup>[11]</sup>; 另外新蝶呤还可通过激活核因子  $\kappa$ B 亚单位向核内易位, 转而上调致炎症基因如白细胞介素 6、 $\gamma$ -干扰素、白细胞介素 1、肿瘤坏死因子  $\alpha$  等的表达<sup>[12]</sup>, 结果明显增加血管壁内炎症张力<sup>[13]</sup>。另外活化的巨噬细胞在 As 斑块内分泌大量蛋白水解酶, 导致蛋白质水解, 破坏结缔组织基质, 能加速斑块纤维帽降解, 使斑块易损性增加, 促进斑块破裂的活跃现象, 发生 ATCI。导致 As 斑块破裂的危险性取决于浸润到 As 斑块里的主要炎症细胞——巨噬细胞的活化状态, 与斑块本身的大小相比, 其关系更为密切。

实验结果表明, 血清新蝶呤的浓度与 ATCI 有密切相关性, 证实和发展了细胞免疫参与 As 形成和发展的病理过程及 ATCI 中有免疫系统激活机制介入的概念。由于新蝶呤是一个化学稳定的低分子化合物, 易渗透入血液循环, 可以通过检测外周静脉血新蝶呤水平来反映脑动脉新蝶呤浓度, 判定脑动脉病变的性质和程度, 而其他炎症指标则有一定缺陷

性<sup>[14]</sup>, 所以新蝶呤可能是 ATCI 患者脑动脉病变不稳定的独立预测指标, 为临床诊治 ATCI 提供一个新的方向。

#### [参考文献]

- [1] Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease [J]. *N Engl J Med*, 1999, **340** (2): 115-126
- [2] 徐也鲁. 动脉粥样硬化——一种慢性炎症过程[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2001, **9** (2): 93-95
- [3] Curiss LK, Kubo N, Schillrt NK, Boisvert WA. Participation of innate and acquired immunity in atherosclerosis [J]. *Immunol Res*, 2000, **21** (2, 3): 167-176
- [4] Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s [J]. *Nature*, 1993, **362** (6423): 801
- [5] 刘志, 徐跃峤. 炎症在动脉粥样硬化研究中的新进展[J]. *河北医科大学学报*, 2006, **27** (1): 69-72
- [6] 张红霞, 刘剑刚. 动脉粥样硬化发病机制和炎症反应关系研究进展[J]. *中国心血管杂志*, 2005, **10** (5): 385-387
- [7] Piek JJ, van Der Wal AC, Meuwissen M, Koch KT, Chamuleau SA, Teeling P, et al. Plaque in inflammation in restenotic coronary lesions of patients with stable or unstable angina [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2000, **35** (4): 963-967
- [8] Peter LW. Coronary disease atherogenesis: current understanding of the causes of atheroma [J]. *Heart*, 2000, **83** (2): 247-252
- [9] Schmitz G, Herr AS, Rothe G. T-lymphocyte and monocytes in atherosclerosis [J]. *Herz*, 1998, **23** (3): 168-177
- [10] Schobersberger W, Hoffmann G, Grote J, Wachter H, Fuchs D. Induction of inducible nitric oxide synthase expression by neopterin in vascular smooth muscle cells [J]. *FEBS Lett*, 1995, **377** (3): 461-464
- [11] Esaki T, Hayashi T, Muto E, Yamada K, Kuzuya M, Iguchi A. Expression of inducible nitric oxide synthase in T lymphocytes and macrophages of cholesterol fed rabbits [J]. *Atherosclerosis*, 1997, **128** (1): 39-46
- [12] 徐红新. 核因子- $\kappa$ B 与动脉粥样硬化[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2001, **9** (2): 179-181
- [13] Barnes PJ, Karin M. Nuclear factor  $\kappa$ B: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases [J]. *N Engl J Med*, 1997, **336** (15): 1 066-071
- [14] Fuchs D, Milstien S, Kramer A, Reibnegger G, Werner ER, Goedert JJ, et al. Urinary neopterin concentrations vs total neopterin for clinical utility [J]. *Clin Chem*, 1989, **35** (12): 2 305-307

(此文编辑 许雪梅)