

· 临床研究 ·

氧化低密度脂蛋白和血栓前体蛋白与急性脑梗死的相关性研究*

蔡 韵¹, 陈怀红^{1△}, 段 炜², 赵园园³, 吴玉泉³

(1. 浙江大学医学院附属第二医院老年医学科, 杭州 310009; 2. 第三军医大学新桥医院神经内科, 重庆 400037; 3. 解放军第一一七医院老年医学科, 杭州 310013)

摘要:目的 动态观察氧化低密度脂蛋白(Ox-LDL)、血栓前体蛋白(TpP)在急性脑梗死中的表达,并探讨其临床意义。方法 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)法测定 44 例脑梗死患者(脑梗死组)急性期、恢复期及 30 例健康对照者(对照组)血清 Ox-LDL 及血浆 TpP 水平,并对脑梗死患者行美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)评分,分析 Ox-LDL、TpP 在急性脑梗死中的表达与 NIHSS 评分的关系。结果 脑梗死患者血清 Ox-LDL 和血浆 TpP 均较对照组升高,急性期 Ox-LDL 及 TpP 显著高于恢复期及对照组,差异具有统计学意义($P < 0.01$);脑梗死组 TpP 含量与 NIHSS 评分呈正相关($P < 0.01$),Ox-LDL 含量高低与 NIHSS 评分无关($P > 0.05$);脑梗死组 Ox-LDL 与 TpP 水平呈正相关($r = 0.521, P < 0.05$)。结论 脑梗死患者血清 Ox-LDL、血浆 TpP 表达上调,且其水平随临床病程不同而发生变化,它们可能协同参与了急性脑梗死的发生、发展;血浆 TpP 可能与脑梗死的严重程度相关,或可作为急性脑梗死病情及预后判断的指标。

关键词:脑梗死;氧化低密度脂蛋白;血栓前体蛋白

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.36.006

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)36-4377-03

Analysis of correlation between oxidized low density lipoprotein and thrombus precursor protein with acute cerebral infarction*

Cai Yun¹, Chen Huaihong^{1△}, Duan Wei², Zhao Yuanyuan³, Wu Yuquan³

(1. Department of Geriatrics, The Second Affiliated Hospital Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou, Zhejiang 310009, China; 2. Department of Neurology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China; 3. Department of Geriatrics, 117th Hospital of PLA, Hangzhou, Zhejiang 310013, China)

Abstract: Objective Dynamic observation of oxidized low density lipoprotein(Ox-LDL) and thrombus precursor protein(TpP) expressed in patients with acute cerebral infarction, and explore its clinical significance. **Methods** To detect the Ox-LDL and the plasma TpP level of 44 patients with acute cerebral infarction(ACI) respectively in acute stage and recovery stage, and the healthy 30 cases (control group) by using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method, and all the ACI cases were scored by the national institutes of health stroke scale (NIHSS). To analyze the expression of Ox-LDL and plasma TpP in patients with ACI, and the relationship with the NIHSS score. **Results** Ox-LDL and plasma TpP in patients with ACI all increased compared with the control group. Ox-LDL and TpP in acute stage were significantly higher than the corresponding recovery stage and the control group, the difference was statistically significant ($P < 0.01$). The levels of plasma TpP were positively correlated with the NIHSS score ($P < 0.01$), and Ox-LDL levels were uncorrelated with the NIHSS score ($P > 0.05$). The levels of Ox-LDL were positively correlated with TpP in ACI group ($r = 0.521, P < 0.05$). **Conclusion** The expression of Ox-LDL and plasma TpP in ACI were increased, Ox-LDL and plasma TpP level in ACI varies with changes of clinical course, and maybe involved in the coordination and the development process of ACI; Plasma TpP may be relevant to the seriousness of cerebral infarction, and may be arguably used as the measurement of ACI patient's conditions as well as the prognosis estimation.

Key words: brain infarction; oxidized low density lipoprotein; thrombus precursor protein

动脉粥样硬化(AS)是缺血性脑血管病(ischemic cerebral vascular disease, ICVD)发生的主要机制,后者并以斑块破裂或糜烂所致的血栓性急性脑梗死(acute cerebral infarction, ACI)最为常见,其发生、发展与脂质斑块、血液粘滞度增高、凝血机制及纤溶系统异常有关^[1-2]。本研究通过检测 ACI 患者不同病期血清氧化低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, Ox-LDL)和血浆血栓前体蛋白(thrombus precursor protein, TpP)的表达水平,并与对照组相比较,分析、探讨 Ox-LDL 和 TpP 与 ACI 的相关性,为 ACI 的风险预测、病情判断、有效治

疗和预后评估提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2012 年 7 月至 2013 年 7 月在解放军第一一七医院老年医学科和神经内科住院治疗的急性脑梗死患者 44 例(ACI 组)。纳入标准为:入院时出现局灶性神经系统症状和体征;发病时间为 36 h 以内;入院后均经头颅 CT 或 MRI 检查证实;其诊断符合中华医学会神经病学分会制定的《中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2010》的诊断标准^[3]。排除心肌梗死、深静脉血栓形成(DVT)、严重脓毒症、糖尿病、恶性

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81100891)。 作者简介:蔡韵(1980~),硕士,主治医师,主要从事老年脑血管病的研究。

△ 通讯作者, Tel: 13858113993; E-mail: chenhuaih@yeah.net。

肿瘤、肾病综合征、自身免疫性疾病等相关疾病。其中,男 36 例,女 8 例,年龄 56~94 岁,平均(83.09±7.80)岁;并发高血压 28 例,冠心病 24 例。所有患者均行美国国立卫生研究院卒中量表(the national institutes of health stroke scale,NIHSS)评分,根据 NIHSS 评分将患者分为两组,<16 分(轻症组)20 例,≥16 分(重症组)24 例。入院后根据病情给予抗血小板聚集药物、扩容、改善脑循环及保护神经等治疗,溶栓或抗凝病例除外,设定治疗后 14 d 进入恢复期。对照组 30 例,为门诊体检者,与 ACI 组的年龄、性别相匹配,既往无脑梗死、心肌梗死、深静脉血栓形成、恶性肿瘤等病史,经体检未发现明显异常,其中,男 24 例,女 6 例,年龄 65~91 岁,平均(82.33±7.84)岁。所有受试者均签署知情同意书,并经过解放军第一一七医院医学伦理委员会批准。

1.2 方法 所有受试者清晨抽取空腹静脉血 6 mL,其中 ACI 组分别于急性期(发病后 36 h 内)、恢复期(治疗后 14 d)采血,置于抗凝管中,分离血浆,于-20℃冷冻保存。采用酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay,ELISA)检测血清 Ox-LDL 及血浆 TpP 水平,严格按照说明书操作,应用酶标仪测定 OD 值。

1.3 统计学处理 采用 SPSS21.0 软件处理数据,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,符合正态分布的两组间均数比较用独立样本 *t* 检验,多组比较用单因素方差分析,两两比较采用 LSD 分析,相关性分析采用 Pearson 相关性分析法,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ACI 组急性期、恢复期与对照组 Ox-LDL、TpP 比较 ACI 组急性期 Ox-LDL、血浆 TpP 均显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$)。ACI 组恢复期 Ox-LDL 和血浆 TpP 均较急性期明显下降,差异有统计学意义($P < 0.01$),见表 1。恢复期 Ox-LDL、血浆 TpP 与对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

表 1 ACI 患者急性期与恢复期 Ox-LDL、血浆 TpP 的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	Ox-LDL($\mu\text{g/L}$)	TpP(mg/L)
ACI 组			
急性期	44	535.27±145.39 ^{ab}	9.27±2.29 ^{ab}
恢复期	44	376.93±75.83 ^c	2.81±0.66 ^c
对照组	30	328.66±39.04	2.20±0.30

a: $P < 0.01$,与对照组比较;b: $P < 0.01$,与恢复期比较;c: $P > 0.05$,与对照组比较。

2.2 Ox-LDL、TpP 与 NIHSS 评分的关系 ACI 患者急性期重症组血浆 TpP 含量(10.35±2.62)mg/L,较轻症组血浆 TpP 含量(7.98±0.61)mg/L 明显增高,差异有统计学意义($t = 3.030, P = 0.009$),TpP 含量与 NIHSS 评分呈正相关;ACI 患者急性期重症组 Ox-LDL 含量(581.83±172.87) $\mu\text{g/L}$,与轻症组 Ox-LDL 含量(479.40±80.26) $\mu\text{g/L}$ 比较,差异无统计学意义($t = 1.830, P = 0.086$),Ox-LDL 含量高低与 NIHSS 评分无关。

2.3 ACI 患者 Ox-LDL 与 TpP 的相关性分析 ACI 患者(急性期)Ox-LDL 与血浆 TpP 水平呈正相关($r = 0.521, P <$

0.05);对照组 Ox-LDL 含量与 TpP 含量不相关($r = 0.076, P > 0.05$),见图 1。

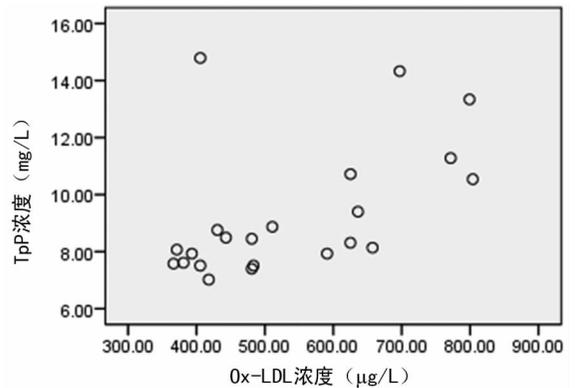


图 1 ACI 患者 Ox-LDL 与 TpP 的相关性分析

3 讨论

ICVD 与 AS 关系密切,血浆脂质增高对 AS 的形成起着重要的作用^[4]。Ox-LDL 是 LDL 经氧化修饰后形成,被巨噬细胞摄取的速度是正常 LDL-C 的数倍乃至数十倍,从而加速了泡沫细胞的形成,进而破坏血管内皮细胞,引起平滑肌的增生和斑块的形成及增厚,造成 AS^[5-6]。Ox-LDL 可以直接与血小板表面存在的脂蛋白的特异性结合位点结合,激活血小板,引起血小板黏附、聚集的增加及显著增加腺苷二磷酸酶和凝血酶诱导的血小板聚集效应^[7]。可见 Ox-LDL 是通过内皮细胞脂质过氧化损伤来加速泡沫细胞的形成及内皮源性舒张机制障碍等途径而在 AS 的发生、发展上起关键性作用,而血管内皮的损害又加剧血小板的聚集与黏附,促进血栓形成^[8],最终导致 ACI 等动脉粥样硬化性疾病的发生。最近的研究表明,Ox-LDL 还能刺激基质金属蛋白酶-1(matrix metalloproteinases 1, MMP-1)和 MMP-9 在人血管内皮细胞和单核巨噬细胞表达,降解细胞外基质,从而促进斑块破裂^[9]。Ox-LDL 水平越高,斑块越不稳定,通过检测 Ox-LDL 含量,可预测 AS 病变严重程度以及活动度^[10]。本研究发现 ACI 患者急性期 Ox-LDL 的总体水平较对照组明显升高,与文献报道的结果^[11]相一致,但在恢复期与对照组比较无显著差异,说明 ACI 的发病可能与 Ox-LDL 水平升高有关,Ox-LDL 促使 AS 形成继而引发 ACI。

TpP 是纤维蛋白原(fibrinogen,FBG)转变成纤维蛋白(fibrin,FB)的中间产物,即为纤维蛋白的直接前体,是一种可溶性的多聚体^[12]。随着聚合的进行,TpP 逐渐变成不溶性纤维蛋白多聚体,从而形成血栓。TpP 反映血栓形成早期阶段的状况,TpP 水平的升高表明有急性血栓形成的危险,是血栓前状态(PTS)的一项敏感指标^[13],在血栓形成性疾病中多有研究。Mega 等^[14]检测 284 例健康志愿者和 2 349 例急性冠脉综合征(ACS)患者的 TpP 水平,发现在 ACS 患者中,TpP 水平增加使死亡的风险和局灶性缺血并发症的发生率增加,认为 TpP 作为凝血活化标志物,在 ACS 的风险评估中是一个非常有效的指标。本研究中,TpP 在 ACI 患者急性期组较对照组明显增高,随病情的缓解而下降,恢复期组与对照组比较差异无显著性,表明 TpP 在 ACI 形成早期起重要作用。研究还发现,ACI 患者急性期血浆 TpP 含量与 NIHSS 评分呈正相关,提示 TpP 含量可能与脑梗死的严重程度相关,TpP 的升高直接反映血栓活动水平,或可作为 ACI 早期诊断、病情评估及预后判断

的客观指标。

本研究通过 44 例 ACI 组患者 Ox-LDL 和 TpP 的结果分析,发现二者在急性期呈显著正相关($r=0.521, P<0.05$),而对照组中两指标不相关,提示 Ox-LDL 与 TpP 可能在导致粥样斑块的不稳定性和促进血栓形成过程中起重要的协同作用。这可能是由于随着 AS 程度的加剧,Ox-LDL 密度增高,电负性增强,脂质过氧化物(lipid peroxide, LPO)含量明显增加,进而损伤血管内皮细胞,破坏血管壁的完整性^[15],导致血小板黏附、聚集、释放,纤维蛋白原继发沉积而形成血栓。此时,反映血栓前状态的 TpP 水平也随之增高,它们共同参与了斑块的破裂和机体的高凝状态,最终导致 ACI 的发生。

参考文献:

- [1] ElAli A, Doepner TR, Zechariah A, et al. Increased blood-brain barrier permeability and brain edema after focal cerebral ischemia induced by hyperlipidemia role of lipid peroxidation and calpain-1/2, matrix metalloproteinase-2/9, and RhoA overactivation[J]. *Stroke*, 2011, 42(11):3238-3244.
- [2] Brouns R, De Deyn PP. The complexity of neurobiological processes in acute ischemic stroke[J]. *Clin Neurol Neurosurg*, 2009, 111(6):483-495.
- [3] 中华医学会神经病学分会脑血管病学组急性缺血性脑卒中诊治指南撰写组. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2010[J]. *中华神经科杂志*, 2010, 43(2):146.
- [4] Masson D, Jiang XC, Lagrost L, et al. The role of plasma lipid transfer proteins in lipoprotein metabolism and atherogenesis[J]. *J Lipid Res*, 2009, 50(Suppl): S201-206.
- [5] Yang SH, Li YT, Du DY. Oxidized low-density lipoprotein-induced CD147 expression and its inhibition by high-density lipoprotein on platelets in vitro[J]. *Thromb Res*, 2013, 3848(13):456-458.
- [6] Mitra S, Goyal T, Mehta JL. Oxidized LDL, LOX-1 and

atherosclerosis[J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2011, 25(5): 419-429.

- [7] Sener A, Enc E, Ozsavci D, et al. Exogenous L-arginine and HDL can alter LDL and ox-LDL-mediated platelet activation using platelet P-selectin receptor numbers[J]. *Clin Appl Thromb Hemost*, 2011, 17(6):E79-86.
- [8] Sima AV, Stancu CS, Simionescu M. Vascular endothelium in atherosclerosis[J]. *Cell Tissue Res*, 2009, 335(1): 191-203.
- [9] Bäck M, Ketelhuth DF, Agewall S. Matrix metalloproteinases in atherothrombosis[J]. *Prog Cardiovasc Dis*, 2010, 52(5):410-428.
- [10] Itabe H. Oxidative modification of LDL: its pathological role in atherosclerosis[J]. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2009, 37(1):4-11.
- [11] Allen CL, Bayraktutan U. Oxidative stress and its role in the pathogenesis of ischaemic stroke[J]. *Int J Stroke*, 2009, 4(6):461-470.
- [12] Lippi G, Cervellini G, Franchini M, et al. Biochemical markers for the diagnosis of venous thromboembolism: the past, present and future[J]. *J Thromb Thrombolysis*, 2010, 30(4):459-471.
- [13] 刘军锋, 吴燕, 贾克刚, 等. 血栓前体蛋白在血栓类疾病中的研究现状[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2010, 12(8): 760-761.
- [14] Mega JL, Morrow DA, de Lemos JA, et al. Thrombus precursor protein and clinical outcomes in patients with acute coronary syndromes[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2008, 51(25):2422-2429.
- [15] Grover-Páez F, Zavalza-Gómez AB. Endothelial dysfunction and cardiovascular risk factors[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2009, 84(1):1-10.

(收稿日期:2013-09-08 修回日期:2013-10-22)

(上接第 4376 页)

- to growth, invasion, metastasis and angiogenesis of gastric carcinoma[J]. *Anticancer Res*, 2006, 26(5A):3579-3583.
- [9] Sun WH, Zhu F, Chen GS, et al. Blockade of cholecystikinin-2 receptor and cyclooxygenase-2 synergistically induces cell apoptosis, and inhibits the proliferation of human gastric cancer cells in vitro[J]. *Cancer Lett*, 2008, 263(2):302-311.
- [10] Hansen KD, Timp W, Bravo HC, et al. Increased methylation variation in epigenetic domains across cancer types[J]. *Nat Genet*, 2011, 43(8): 768-775.
- [11] Rhee I, Bachman KE, Park BH, et al. DNMT1 and DNMT3b cooperate to silence genes in human cancer cells[J]. *Nature*, 2002, 416(6880):552-556.
- [12] 王丽, 周丽雅, 李渊, 等. 胃泌素在胃炎与胃癌中表达的差异及意义[J]. *中国微创外科杂志*, 2011, 5(11):435-436.

- [13] 茆家定, 钱海鑫, 吴佩, 等. ERK-MAPK 信号转导通路在胃泌素促进人结肠癌细胞增殖中的作用及其机制[J]. *中华消化外科杂志*, 2013, 12(2):139-144.
- [14] Ajani JA, Hecht JR, Ho L, et al. An open-label, multinational, multicenter study of G17DT vaccination combined with cisplatin and 5-fluorouracil in patients with untreated, advanced gastric or gastroesophageal cancer: the GC4 study[J]. *Cancer*, 2006, 106(9):1908-1916.
- [15] De Carvalho DD, Sharma S, You JS, et al. DNA methylation screening identifies driver epigenetic events of cancer cell survival[J]. *Cancer Cell*, 2012, 21(5): 655-667.
- [16] Yoo CB, Jones PA. Epigenetic therapy of cancer: past, present and future[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2006, 5(1): 37-50.

(收稿日期:2013-08-08 修回日期:2013-09-22)