

# 早期继续出血的自发性脑出血患者不同时间点氧化应激及炎性介质水平的变化

柯国秀 王国军 王建生 金梅芳 张军 严俊

**【摘要】 目的** 探讨早期继续出血的自发性脑出血患者氧化应激及炎性介质水平的变化。**方法** 选取脑出血继续出血患者(观察组)与非继续出血患者(稳定组)、健康对照组(对照组)各 48 例,分别检测各组不同时间点的丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )和 IL-6 的水平变化。**结果** 各时间点观察组、稳定组的 MDA、SOD、TNF- $\alpha$  和 IL-6 水平均明显高于对照组, ( $P < 0.01$ );与稳定组比较,观察组各时间点的 MDA、SOD、TNF- $\alpha$  和 IL-6 水平显著升高( $P < 0.05$ ),且在出血早期(24~48 h)氧化应激及炎性反应最为显著( $P < 0.05$ )。**结论** 氧化应激及炎性反应可能共同参与了自发性脑出血早期继续出血的发生及发展,可能是继续出血的机制之一。

**【关键词】** 自发性脑出血 早期继续出血 氧化应激 炎性介质

**【中图分类号】** R743.34 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1007-0478(2017)04-0306-04

**【DOI】** 10.3969/j.issn.1007-0478.2017.04.007

**Changes of oxidative stress and inflammatory mediators in patients with spontaneous intracerebral hemorrhage in early stage** Ke Guoxiu, Wang Guojun, Wang Jiansheng, et al. Department of Neurology, the NO. 1 People Hospital of Changshu, Changshu 215500

**【Abstract】 Objective** To study the levels of oxidative stress and the changes of inflammatory mediators in patients with spontaneous intracerebral hemorrhage. **Methods** 144 patients were equally classified into the observation group, which was comprised of continuous hemorrhage after spontaneous cerebral hemorrhage, and the stable group formed by non-continuous hemorrhage after spontaneous cerebral hemorrhage, and the control group consisted of healthy control group. The changes of malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), tumor necrosis factor alpha (TNF alpha) and IL-6 levels would be separately analyzed at different points in time. **Results** It was found that the contents of MDA, SOD, TNF alpha and IL-6 in the observation group and the stable group were significantly higher than that in the control group ( $P < 0.01$ ), while compared with the stable group, the contents of the observation group at each time point increased significantly ( $P < 0.05$ ), and inflammatory reaction was the most significant ( $P < 0.05$ ) in hemorrhage early (48h) oxidative stress. **Conclusion** Oxidative stress and inflammatory response might be associated with the occurrence and development of spontaneous intracerebral hemorrhage, and might be one of the mechanisms of continuing hemorrhage. It was prompted for patients that the early intervention was taken, the more profitable could be benefited.

**【Key words】** Spontaneous intracerebral hemorrhage Early continue bleeding Oxidative stress Inflammatory mediators

在我国自发性脑出血(Spontaneous intracerebral hemorrhage, SICH)的病死率和致残率均较高,近年来研究发现 20%~40%的患者在发病后 24 h 内血肿仍继续扩大,为活动性出血或早期继续出血<sup>[1]</sup>。此类患者急性期病情恶化与早期继续出血有关。本研究旨在探讨氧化应激及炎性反应水平对自

发性脑出血早期继续出血的影响,现报道如下。

## 1 对象与方法

### 1.1 研究对象

自 2013 年 1 月~2015 年 12 月入住本科的 SICH 患者中选取脑出血继续出血患者(观察组)与非继续出血患者(稳定组)各 48 例另取来院体检健康者的健康对照组(对照组)48 例,所有病例发病时间均 $< 24$

h,均于入院前经头颅 CT 确诊,发病 24 h 内复查头颅 CT。观察组血肿扩大评定:血肿体积按多田方法计算,即血肿体积=长×宽×CT 扫描层/2,排除血肿破入脑室系统或蛛网膜下腔。根据 Kuazui 等方法确定血肿扩大的界限值为  $V_2 - V_1 \geq 12.5 \text{ cm}^3$  或  $V_2/V_1 \geq 1.4$  ( $V_2, V_1$  为第 2、1 次脑 CT 示血肿体积)。入选标准为自发性脑出血,非外伤或其他外来因素所致;发病后至少存活 2 周并能够完成 CT 检查;排除(1)入院前 4 周内服用维生素 E 等抗氧化药物者;(2)孕妇、哺乳期妇女;(3)既往有神经外科手术史,合并恶性肿瘤、严重自身免疫性疾病者、血液疾病、出血性脑梗死;(4)高热,急、慢性感染性疾病,贫血,严重营养不良者;(5)女性患者服用避孕药及激素类药物;(6)自发性蛛网膜下腔出血及脑室出血者。入选 96 例患者,其中男 64 例,占 66.7%;女 32 例,占 33.3%;年龄 38~79 岁,平均年龄( $60 \pm 9.48$ )岁。既往有高血压病史者 77 例,占 80.2%,有糖尿病史者 29 例,占 30.2%,长期饮酒者 9 例,占 9.38%,有脑梗死者 18 例,占 18.8%,肝功能异常者 4 例,占 4.17%;小剂量长期服用阿司匹林肠溶片者 27 例,占 28.1%;服用华法林者 1 例,占 1.0%。健康对照组年龄 42~72 岁,平均年龄( $58.8 \pm 10.05$ )岁。各组性别、年龄均衡( $P > 0.05$ ),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 血清学指标水平检测 分别抽取所有检测

者发病后 24、48、72 h、2 周的肘静脉血,以检测血清 SOD、MDA、TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平,5 mL 静脉血室温放置 2 h,以 2 000 r/min 离心 10 min,提取血清 100  $\mu\text{L}$ ,放置 - 70  $^{\circ}\text{C}$  冰箱保存,用同一批号试剂测定。严格按照试剂盒的使用说明书制备样品和检测,包括采用硫代巴比妥酸法(TBA)测定丙二醛(malondialdehyde,MDA)水平;采用黄嘌呤氧化酶法测定血清 SOD 水平;采用 ELISA 法测定血清 IL-6 水平;采用免疫放射免疫法测定肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor-alpha,TNF- $\alpha$ )的水平。

1.2.2 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件。所测数据以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,计数资料采用  $\chi^2$  检验,计量资料采用  $t$  检验。两组均数之间差异的比较用  $t$  检验,各时间点的比较采用重复测量的单因素设计资料的方差分析。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组不同时间点 MDA 水平的检测

观察组、稳定组在各个时间点检测出的 MDA 水平均显著增高,与对照组比较,有明显差异( $P < 0.01$ );与稳定组比较,观察组的 MDA 水平显著升高( $P < 0.05$ ),观察组在发病后 48 h 检测出的 MDA 水平达到了峰值,与其他检测时间点比较有明显差异( $P < 0.05$ )(表 1)。

表 1 各组不同时间点 MDA 的变化

组别	n(例)	MDA(nmol/mL)			
		24 h	48 h	72 h	2 周
观察组	48	6.42±0.12*△	6.92±0.84*△▲	6.73±0.52*△	6.04±0.47*△
稳定组	48	5.03±0.51*	5.52±0.47*	5.34±0.31*	4.64±0.28*
对照组	48	2.73±0.11	2.76±0.17	2.77±0.21	2.46±0.18

注:与对照组比较,\* $P < 0.01$ ;与稳定组比较,△ $P < 0.05$ ;与观察组内其他时间点比较,▲ $P < 0.05$

2.2 各组不同时间点 SOD 水平的检测

观察组、稳定组在各个时间点检测出的 SOD 水平均显著增高,与对照组比较,有明显差异( $P < 0.01$ );与稳定组比较,观察组的 SOD 水平显著升高

( $P < 0.05$ ),观察组在发病后 48 h 检测出的 SOD 水平达到了峰值,与其他检测时间点比较有明显差异( $P < 0.05$ )(表 2)。

表 2 各组不同时间点 SOD 的变化

组别	n(例)	SOD(U/mL)			
		24 h	48 h	72 h	2 周
观察组	48	124.84±19.06*△	135.86±28.38*△▲	124.27±17.12*△	117.19±17.46*△
稳定组	48	111.83±16.49*	123.91±17.57*	107.08±16.32*	101.11±16.28*
对照组	48	64.27±5.18	64.75±6.27	65.73±5.02	65.65±0.48

注:与对照组比较,\* $P < 0.01$ ;与稳定组比较,△ $P < 0.05$ ;与观察组内其他时间点比较,▲ $P < 0.05$

2.3 各组不同时间点 TNF-α 水平的检测

观察组、稳定组在各个时间点检测出的 TNF-α 水平均显著增高,与对照组比较,有明显差异( $P<0.01$ );与稳定组比较,观察组的 TNF-α 水平显著升

高( $P<0.05$ ),观察组在发病后 24 h 检测出的 TNF-α 水平达到了峰值,与其他检测时间点比较有明显差异( $P<0.05$ )(表 3)。

表 3 各组不同时间点 TNF-α 的变化

组别	n(例)	TNF-α(pg/mL)			
		24 h	48 h	72 h	2 周
观察组	48	173.28±38.46*△▲	158.16±36.08*△	152.39±35.41*△	141.59±39.39*△
稳定组	48	139.27±24.92*	120.08±19.27*	111.72±10.98*	106.63±11.75*
对照组	48	73.85±8.62	72.61±7.31	75.24±8.13	73.48±8.91

注:与对照组比较,\* $P<0.01$ ;与稳定组比较,△ $P<0.05$ ;与观察组内其他时间点比较,▲ $P<0.05$

2.4 各组不同时间点 IL-6 水平的检测

观察组、稳定组在各个时间点检测出的 IL-6 水平均显著增高,与对照组比较,有明显差异( $P<0.01$ );与稳定组比较,观察组的 IL-6 水平显著升高

( $P<0.05$ ),观察组在发病后 24 h 检测出的 IL-6 水平达到了峰值,与其他检测时间点比较有明显差异( $P<0.05$ )(表 4)。

表 4 各组不同时间点 IL-6 的变化

组别	n(例)	IL-6(ng/L)			
		24 h	48 h	72 h	2 周
观察组	48	24.83±6.36*△▲	19.17±6.74*△	19.03±5.52*△	18.07±5.96*△
稳定组	48	18.57±4.31*	15.27±5.33*	14.72±5.84*	14.12±5.15*
对照组	48	2.35±0.57	2.16±0.68	2.33±0.43	2.31±0.36

注:与对照组比较,\* $P<0.01$ ;与稳定组比较,△ $P<0.05$ ;与观察组内其他时间点比较,▲ $P<0.05$

3 讨 论

成人自发性脑出血(Spontaneous intracerebral hemorrhage,SICH)是指非外伤引起的成人脑部大、小动脉、静脉和毛细血管自发性破裂所致脑实质内出血。因其自发性,往往症状突然出现,且较危重,SICH 通常在最初数小时内迅速进展,因此临床上需要进行快速诊断及相关治疗,而在早期继续出血是急性期脑出血进行性恶化的重要因素,对早期继续出血患者的氧化应激、炎性介质水平研究有助于对这部分患者病情发生发展机制的探讨,为临床的诊疗策略带来新的思考。

本研究各时间点观察组及稳定组的 MDA、SOD 水平均明显高于对照组( $P<0.01$ ),而进一步与稳定组比较,观察组 MAD、SOD 水平升高更为显著,有明显差异( $P<0.05$ )。氧化应激是指体内氧化物和抗氧化物失衡而造成的机体潜在损伤状态,是产生过多或/和机体抗氧化能力减弱,ROS 清除不足,导致 ROS 在体内增多并引起氧化损伤的病理过程。出血性脑卒中时体内或细胞内自由基和 MDA 等有害化学基因迅速增多,导致线粒体功能

障碍,加重细胞兴奋毒性,促进神经元脂质、蛋白质和 DNA 过氧化损伤和炎症反应等,因而认为氧化应激是出血性脑卒中时脑损伤的基本机制之一<sup>[2]</sup>。丙二醛(MDA)作为氧自由基与生物膜不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应的代谢产物,其水平的变化间接地反映了组织中氧化自由基水平的变化。因此,通过测定 MDA 水平可以估价脑组织中氧自由基水平和脂质过氧化反应的强弱。体内自由基的清除主要依赖抗氧化系统,其中超氧化物歧化酶(SOD)是抗氧化系统的主要酶之一,用于催化超氧阴离子自由基发生歧化反应,使细胞免除自由基的损伤,SOD 的水平升高是自由基大量生成和脂质过氧化增强的结果,是应激性反应<sup>[3]</sup>。本研究发现,各组在发病后 48 h 检测出的 MDA 及 SOD 水平达到了峰值。动物研究发现持续脑出血性模型大鼠在脑出血后 24~48 h 脑水肿达到高峰,与脑内氧自由基活性增高的时间一致<sup>[4]</sup>。在胶原酶所致脑出血动物模型研究中显示,脑出血 30 min 皮下注射自由基清除剂 NXY-059 可减少血肿邻近组织的神经损伤、中性粒细胞浸润以及细胞凋亡<sup>[5]</sup>。依达拉奉作为自由基清除剂在日本最早被用于缺血性脑卒中,

也有动物研究表明在脑出血后即刻皮下注射此药物可减轻脑水肿及神经功能缺损,减少 DNA 氧化损伤<sup>[6]</sup>。在我国脑出血急性期使用依达拉奉仍存在争议,而有研究对依达拉奉治疗急性期脑出血 Meta 分析中共纳入 22 个研究(2089 例患者),Meta 分析显示依达拉奉能促进脑出血患者的神经功能恢复,可用于脑出血急性期的治疗。但由于纳入文献质量级别比较低,尚需高质量、多中心的随机对照试验进一步验证<sup>[7]</sup>。

肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )主要由单核/巨噬细胞产生,介导感染、创伤及免疫应答反应,同其他细胞因子共同参与机体的生长发育和维持内环境稳定。TNF- $\alpha$  为触发因子,脑组织损伤后星形细胞、血管内皮细胞及小胶质细胞首先表达 TNF- $\alpha$ ,由 TNF- $\alpha$  诱导产生 IL-6 等炎症介质共同参与炎症反应及免疫应答。有研究发现,在急性脑出血时 TNF- $\alpha$  是最早升高的细胞因子,能促进炎症细胞的活化,释放炎症介质,增强中性粒细胞及单核细胞的黏附作用,诱导 IL-6 等其他细胞因子的产生<sup>[8]</sup>。苏健等<sup>[9]</sup>对早期脑出血患者血清中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 的表达量进行研究发现,患者的 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平明显增高。促炎症细胞因子 TNF- $\alpha$  和 IL-1 可刺激活化 IL-6。脑出血患者血清 IL-6 水平明显升高,IL-6 作为炎症反应免疫应答的重要调节因子,参与脑出血后损伤的机制为激活中性粒细胞、血管内皮细胞、诱导黏附分子表达,并可促使中性粒细胞释放大量的活性氧和弹性蛋白酶,对血管内皮细胞和神经细胞造成直接损伤,加重脑组织水肿及神经细胞坏死和凋亡<sup>[10-11]</sup>。在动物试验中血管紧张素 II 受体亚型 AT1 受体阻滞剂替米沙坦被认为具有减少炎症细胞浸润及脑水肿的作用,同时降低炎症分子水平,包括 TNF- $\alpha$ 、Fas 及 FasL,上调内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)表达,减少脑出血量、水肿及细胞凋亡作用<sup>[12]</sup>。

本研究结果表明,脑出血急性期 MDA 及 SOD 水平持续增高,其中早期继续出血患者增高更为显著,而与 TNF- $\alpha$  和 IL-6 相比较则 MDA 及 SOD 具有滞后性。研究发现,机体活性氧(Reactive Oxygen Species, ROS)在脑损伤后由嗜中性粒细胞、血管内皮细胞及活化的小胶质/巨噬细胞释放, SICH 的脑组织损伤主要是由脑出血灶的占位效应及血液成分释放引发的氧化应激反应造成,而后者被认为

是 SICH 后 2 次损伤的始动环节<sup>[13]</sup>。本研究提示炎症介质可能参与了氧化应激反应的启动及释放,而氧化应激又参与了炎症免疫损伤的恶性级联过程。因此,尽早对脑出血患者特别是早期继续出血患者进行抗炎及抗氧化应激联合治疗有可能减少再出血及后续损伤。减少早期继续出血是降低脑出血致残率及致死率的有效途径,本研究对其机制的探索为脑出血治疗提供新的方向,目前相关临床研究仍较少,需要更多动物试验及大规模多中心临床试验进一步推动相关治疗的研究进展。

## 参 考 文 献

- [1] 曹昌权,方明,刘维州. 自发性脑出血早期血肿扩大的研究进展[J]. 卒中与神经疾病,2012,19(3):188-191.
- [2] Duan Xiaochun, Wen Zunjia, Shen Haitao, et al. Intracerebral hemorrhage, oxidative stress, and antioxidant therapy[J]. Oxid Med Cell Longev,2016(1):1203285.
- [3] Aronowski J, Zhao X. Molecular pathophysiology of cerebral hemorrhage: secondary brain injury[J]. Stroke,2011,42(6):1781-1786.
- [4] Wakisaka Y, Yi C, Miller JD, et al. Critical role for CuZn-superoxide dismutase in preventing spontaneous intracerebral hemorrhage during acute and chronic hypertension in mice[J]. Stroke,2010,41(4):790-797.
- [5] Peeling J, Del Bigio R, Corbett D, et al. Efficacy of disodium 4-[(tert-butylimino) methyl] benzene-1, 3-disulfonate N-oxide (NXY-059), a free radical trapping agent, in a rat model of hemorrhagic stroke[J]. Neuropharmacology,2001,40(3):433-439.
- [6] Nakamura Takehiro, Kuroda Yasuhiro, Yamashita Susumu, et al. Edaravone attenuates brain edema and neurologic deficits in a rat model of acute intracerebral hemorrhage[J]. Stroke,2008,39(2):463-469.
- [7] 包丽娟,刘宁,胡小娟,等. 依达拉奉治疗急性期脑出血 Meta 分析[J]. 中国实用神经疾病杂志,2012,15(23):22-24.
- [8] 米慧. 急性颅脑出血及损伤后血清 P-选择素, TNF- $\alpha$  的变化及意义[J]. 实用预防医学,2008,15(04):1035-1036.
- [9] 苏健,徐冰. 白细胞介素-6 和 TNF- $\alpha$  在早期脑出血患者血清中的表达及意义[J]. 中国现代药物应用,2009,3(5):28-30.
- [10] Elkind MS. Inflammatory mechanisms of stroke[J]. Stroke,2010,41(10, 1):S3-S8.
- [11] Wang KW, Cho CL, Chen HJ, et al. Molecular biomarker of inflammatory response is associated with rebleeding in spontaneous intracerebral hemorrhage[J]. Eur Neurol,2011,66(6):322-327.
- [12] Jung Hwa, Chu Kon, Lee Tae, et al. Blockade of AT1 receptor reduces apoptosis, inflammation, and oxidative stress in normotensive rats with intracerebral hemorrhage[J]. J Pharmacol Exp Ther,2007,322(3):1051-1058.
- [13] Aguilar M, Freeman WD. Spontaneous intracerebral hemorrhage[J]. Semin Neurol,2010,30(5):555-564.

(2016-10-16 收稿)