

缺血性脑卒中静脉溶栓后出血转化发生机制的研究进展

党肖萍 李亚军

【中图分类号】 R743.3 【文献标识码】 A 【文章编号】 1007-0478(2019)06-0764-03
【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2019.06.032

出血转化是缺血性脑卒中溶栓治疗后常见的并发症。组织型纤溶酶原激活剂是唯一有效的治疗药物。出血转化的发生降低了组织型纤溶酶原激活剂治疗急性缺血性脑卒中的使用率。因此,了解出血转化的发生机制可为寻找新的治疗方法以及干预措施提供更好的依据。

缺血性脑卒中是全球范围内死亡和致残的主要原因之一,给家庭和社会都带来了沉重的负担^[1]。目前,组织型纤溶酶原激活剂(recombinant tissue plasminogen activator, rt-PA)是急性缺血性脑卒中患者唯一有效的治疗药物^[2]。然而,在静脉注射 rt-PA 的临床使用方面存在很多局限性。首先,静脉注射 rt-PA 必须限制在急性缺血性脑卒中发病的 4.5 h 以内,治疗时间窗如此狭窄,只有少数患者有机会用此药物获益^[3]。然而,接受这种疗法的患者受到出血性转化(hemorrhagic transformation, HT)风险的限制^[4]。急性缺血性脑卒中后自发出血性转化的发生率为 13%~43%,尸检结果显示这一比例高达 38%~71%,而使用 rt-PA 使这种风险增加了 10 倍^[5-6]。了解出血转化的发生机制及预测因素不仅可以提高患者后期的生存率,还可以减少更多并发症的出现。

1 出血性转化的分类及发病率

用 MRI 梯度回波扫描将 HT 分为出血性脑梗死(hemorrhagic infarction, HI, 低级别)或实质血肿(parenchymal hematoma, PH, 高级别);根据梗死面积及占位效应将 PH 分为 PH1(占位面积≤30%,略有占位效应);PH2(占位面积>30%,显著占位效应)^[7]。大量数据表明急性缺血性脑卒中后 HI(9%)的发生率高于 PH(3%)^[8]。急性缺血性脑卒中患者的尸检研究中自发性 HT 的发病率为 38%~71%,在急性缺血性脑卒中患者的头部 CT 研究中为 13%~43%,而症状性 HT 的发病率为 0.6%~20%^[8]。发病率取决于许多因素例如年龄、血糖水平、使用的溶栓剂、给药途径以及开始治疗的时间窗等^[8]。

2 HT 发生的机制

HT 是缺血性脑卒中患者常见的并发症,严重影响患者的预后。当患者接受组织型纤溶酶原激活剂的溶栓再灌注治疗时 HT 的风险就会增加。了解 HT 发生的机制可以为找寻新的治疗药物提供依据,相关预测指标能更好地为临床

工作提出指导意义。HT 的发生机制极其复杂,在此本研究主要从蛋白水解、白细胞浸润、氧化应激、再灌注和与 DNA 的相关性这几个方面来阐述。

2.1 蛋白水解

数据表明缺血性脑卒中 rt-PA 治疗后 HT 的发生可能与神经血管基质内细胞外蛋白水解失调有关^[9]。基本成分的降解产生渗漏和破裂,从而加重脑水肿并使脑损伤进一步恶化。结构证据表明,导致血液外渗的基本机制是血脑屏障的破坏。虽然在正常和缺血条件下许多蛋白酶在大脑中表达,但是动物和人的研究都表明基质金属蛋白酶(MMP)家族起着中心作用^[10]。其中基质金属蛋白酶-9(MMP-9)的激活研究最为广泛^[11]。MMP-9 通过引起紧密连接(tight junctions, TJ)蛋白和细胞外基质的进一步降解而导致严重的 BBB 损伤^[6]。有研究表明 MMP-9 阳性中性粒细胞浸润与缺血性脑卒中后红细胞外渗增强和基底层 IV 型胶原严重降解有关^[10]。同时,rt-PA 可通过脂蛋白受体信号途径上调 MMPs(尤其是 MMP-9),加重 BBB 的进一步损伤,从而引起出血转化的发生^[4]。缺血性脑卒中后人脑组织和血清中 MMP-9 活性显著升高,高水平血清 MMP-9 可独立预测经 tPA 治疗的患者的 HT^[12]。另一研究显示,急性缺血性脑卒中后死亡患者的 MMP-9 mRNA 水平几乎是存活者的 3 倍^[13]。因此,MMP-9 mRNA 的水平升高可能预示缺血性脑卒中后的不良结局和病死率。Demir 等^[14]人报道缺血性脑卒中急性期血浆 MMP-9 水平显著升高,并与病情严重程度和梗死体积有关。实验研究提示,MMP-9 在缺血性脑卒中后 BBB 延迟开放中起重要作用。在短暂性大脑中动脉闭塞(MCAO)大鼠模型中 Prasas 等^[15]人证实 MMP-9 在 4 h-4 d 内被诱导激活。在 MCAO 的小鼠模型中 Kaplan 等^[16]显示脑缺血 2~4 h 后 MMP-9 的表达水平和活性升高,血脑屏障通透性增加。内源性 tPA 在发育和成熟的大脑中广泛表达,主要由神经元及小胶质细胞表达。被认为是介导兴奋性毒性损伤后神经元死亡和小胶质细胞激活。外源性 tPA 还可以穿过完整的或受伤的 BBB 进入脑实质,产生神经毒性作用,并进一步诱导激活 MMP-9 造成损伤^[17-19]。

2.2 白细胞浸润

在再灌注过程中白细胞募集、活化和浸润在 HT 中起着关键性的作用。活化的白细胞通过趋化信号附着于内皮细胞,接着产生基质金属蛋白酶和中性粒细胞衍生的氧化剂,造成血脑屏障的破坏。白细胞又从毛细血管中渗出并渗透到脑组织中,释放出介导炎症的细胞因子,最终导致缺血半暗带的恶化^[18]。白细胞浸润是一系列过程,包括趋化信号

引导白细胞迁移,白细胞在内皮上滚动,通过受体/配体相互作用粘附到微血管内皮细胞表面,促进基质金属蛋白酶的产生,降低血脑屏障通透性,白细胞渗入脑组织,最后释放细胞因子到脑组织触发炎症反应^[19]。一些动物实验研究表明白细胞浸润在大脑缺血再灌注组织中发生有害作用。在 MCAO 的大鼠脑梗死模型中 Zhang 等^[20]人发现,神经元损伤部位的中性粒细胞聚集在再灌注组织中比在永久性动脉闭塞致使缺血脑组织中更早发生并且发生的程度更大。此外,白细胞浸润在再灌注损伤中的贡献也受到中性粒细胞耗竭的有益作用的支持,其中短暂脑缺血发作后的动物在施用抗中性粒细胞抗血清或单克隆抗体时显示出较小的梗死面积^[21]。再灌注损伤最终可导致 BBB 破坏和出血性转化。一些直接证据表明白细胞浸润涉及 HT,进一步支持白细胞浸润在再灌注损伤中的作用。例如,接受 HT 溶栓治疗后缺血性脑卒中患者的白细胞计数显著高于非缺血性脑卒中患者^[22]。随后增强的白细胞浸润可进一步加重微血管内皮细胞的损伤,并加剧 BBB 功能障碍。

2.3 氧化应激的作用

氧化应激发生时主要是过氧化物和自由基的抗氧化能力。过量产生的活性氧对所有细胞组分直接损害包括蛋白质、DNA、RNA 和脂质^[23]。缺血再灌注后活性氧产生的一个主要来源是线粒体^[24];另一个重要来源是 NADPH⁺ 氧化酶,它是质膜中电子传递链的关键成分,通过将一个电子转移至分子氧产生自由基^[25]。虽然大量的动物研究已经证实氧化应激是再灌注损伤的重要机制,但是临床缺血性脑卒中患者的直接证据却很少。在接受 rt-PA 再通治疗的缺血性脑卒中患者的临床研究中 Domínguez 等^[26]发现氧化应激标志物水平较缺血性脑卒中的基线水平增加,而在 rt-PA 再通后没有进一步增加。这一数据表明了氧化应激与再灌注损伤之间的关系。

2.4 BBB 在再灌注中的损伤

血脑屏障是一种选择性的渗透屏障,将血液循环与脑组织分开,主要由内皮细胞、周细胞和星形胶质细胞组成。BBB 破坏是脑缺血-再灌注损伤的共同病理生理特征,在某种程度上可以认为是上述所有缺血-再灌注损伤机制的结果,这些机制包括氧化应激、白细胞浸润、血小板活化和补体激活^[27]。充血与细胞毒性水肿有关,血管源性水肿和 BBB 紧密连接的破坏有关,这最终导致大分子穿过 BBB 的渗透性增加^[27]。动物和临床研究都提供了令人信服的证据,表明 BBB 在脑再灌注过程中发生破坏,并可导致血管源性水肿和出血性转化。

2.5 HT 的发生与 DNA 的相关性

氧化性 DNA 损伤有碱基损伤和链断裂两种形式,可以在细胞死亡之前的阶段在缺血性脑血管病患者中检测到,这种损伤被认为是通过各种细胞内信号途径触发而导致的细胞死亡。DNA 损伤分为 2 组:根据损伤机制分为活性 DNA 损伤和被动 DNA 损伤。氧化应激主要是被动 DNA 损伤。活性 DNA 损伤是由 DNA 内切酶介导的,内切酶主要包括半胱-天冬氨酸酶激活的脱氧核酸酶、凋亡诱导因子和内切酶 G,它们导致 DNA 双链断裂^[28]。被动 DNA 损伤是由于

DNA 直接与氧自由基反应或与脂质或蛋白质反应产生的产物间接而引起的,导致核苷酸碱基的修饰。DNA 损伤不仅影响神经元,而且影响组成血脑屏障的星形胶质细胞、小胶质细胞、血管细胞等的整个结构系统^[28],这种损伤有可能是造成 HT 发生的相关因素。

Mallolas 等^[29]在研究 Survivin 基因启动子区域多态性中显示,具有突变型等位基因的患者发生 HT 的风险较低,并且发生了 HT 后存在出血不严重的趋势,通过研究而进一步猜想突变基因型是通过除了蛋白水解酶释放的机制以外的机制保护内皮而降低 HT。

3 HT 的预测

引起出血转化的病因是非常复杂的,所以早期的生物标志物和预测分子就显得尤为重要,让我们能找到新的治疗方法并预测患者的临床结局。1 个潜在的候选因子是血液中的 MMP-9,超急性期血浆中 MMP-9 水平似乎是 rt-PA 溶栓后 HT 的有力预测因子^[30]。血清钙结合蛋白(S100B)是一种星形胶质细胞细胞质蛋白,也被证明与缺血性脑卒中后 HT 有关。溶栓治疗前高水平的 S100B 可预测进一步的脑实质出血,是 HT 的独立危险因素^[31]。这两项已经被很多研究所证明与 HT 的发生有明显相关性。最近,发现急性缺血性脑卒中患者血浆 F2-异前列腺素水平高于对照组^[32],并与血浆 MMP-9 水平相关。F2-异前列腺素是否可以用作 HT 的血液生物标志物需要更多研究去证实。

综上所述,出血转化的发生是上述机制共同作用的结果,不是一个独立的因素造成的,各因素之间相互交叉协同,使出血转化的发生率也大大增加了,以至于严重限制了急性缺血性脑卒中后溶栓药物在临床中的使用。同时,鉴于 HT 发生机制的复杂性,需要我们不断大量的深入研究来寻找出更多的预测分子或者标志物来降低出血转化的发生率,并很好地指导临床出血转化病例的治疗。

参 考 文 献

- [1] Gauberti M, Potzeka F, Vivien D, et al. Impact of bradykinin Generation during thrombolysis in ischemic stroke[J]. Frontiers in Medicine, 2018, 5: 195.
- [2] Trindade AB, Schestatsky P, Torres VF, et al. Functional and regenerative effects of local administration of autologous mononuclear bone marrow cells combined with silicone conduit on transected femoral nerve of rabbits[J]. Res Vet Sci, 2015, 102: 27-33.
- [3] Jickling GC, Liu DZ, Stamova B, et al. Hemorrhagic transformation after ischemic stroke in animals and humans[J]. Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism, 2014, 34(2): 185-199.
- [4] Sun MS, Jin H, Sun X, et al. Free radical damage in Ischemia-Reperfusion injury: an obstacle in acute ischemic stroke after revascularization therapy[J]. Oxid Med Cell Longev, 2018, (2): 1-17.
- [5] Zhu Z, Fu Y, Tian D, et al. Combination of an immune modulator fingolimod with alteplase in acute ischemic stroke: a pilot trial[J]. Circulation, 2015, 132(12): 1104-1112.
- [6] Sifat AE, Vaidya B, Abbruscato TJ. Blood-Brain barrier protec-

- tion as a therapeutic strategy for acute ischemic stroke[J]. *AAPS J*, 2017, 19(4):957-972.
- [7] Yu S, Liebeskind DS, Dua S, et al. Postischemic hyperperfusion on arterial spin labeled perfusion MRI is linked to hemorrhagic transformation in stroke[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2015, 35(4):630-637.
 - [8] Zhang J, Yang Y, Sun H, et al. Hemorrhagic transformation after cerebral infarction: current concepts and challenges[J]. *Ann Transl Med*, 2014, 2(8):81.
 - [9] Del Zoppo GJ, Mabuchi T. Cerebral microvessel responses to focal ischemia[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2003, 23(8):879-894.
 - [10] Rosell A, Cuadrado E, Ortega-Aznar A, et al. MMP-9-positive neutrophil infiltration is associated to blood-brain barrier breakdown and basal lamina type IV collagen degradation during hemorrhagic transformation after human ischemic stroke[J]. *Stroke*, 2008, 39(4):1121-1126.
 - [11] Chen SY, Chen ZZ, Cui JK, et al. Early abrogation of gelatinase activity extends the time window for tPA thrombolysis after embolic focal cerebral ischemia in mice[J]. *Eneuro*, 2018, 5(3):317-319.
 - [12] Inzitari D, Nencini P, Gori AM, et al. MAGIC study group MMP9 variation after thrombolysis is associated with hemorrhagic transformation of lesion and death[J]. *Stroke*, 2013, 44(10):2901-2903.
 - [13] Graham CA, Chan RW, Chan DY, et al. Matrix metalloproteinase 9 mRNA: An early prognostic marker for patients with acute stroke[J]. *Clin Biochem*, 2012, 45(4/5):352-355.
 - [14] Demir R, Ulvi H, Ozel L, et al. Relationship between plasma metalloproteinase-9 levels and volume and severity of infarct in patients with acute ischemic stroke[J]. *Acta Neurol Belg*, 2012, 112(4):351-356.
 - [15] Planas AM, Sole S, Justicia C. Expression and activation of matrix metalloproteinase-2 and -9 in rat brain after transient focal cerebral ischemia[J]. *Neurobiology of Disease*, 2001, 8(5):834-846.
 - [16] Kaplan RC, Smith NL, Zucker SA, et al. Matrix metalloproteinase-3 (MMP3) and MMP9 genes and risk of myocardial infarction, ischemic stroke, and hemorrhagic stroke[J]. *Atherosclerosis*, 2008, 201(1):130-137.
 - [17] Adibhatla RM, Hatcher JF. Tissue plasminogen activator (tPA) and matrix metalloproteinases in the pathogenesis of stroke: therapeutic strategies[J]. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2008, 7(3):243-253.
 - [18] Pan J, Konstas AA, Bateman BA, et al. Reperfusion injury following cerebral ischemia: pathophysiology, Mr imaging, and potential therapies[J]. *Neuroradiology*, 2007, 49(2):93-102.
 - [19] Stanimirovic D, Satoh K. Inflammatory mediators of cerebral endothelium: a role in ischemic brain inflammation[J]. *Brain Pathology*, 2010, 10(1):113-126.
 - [20] Vivien D, Gauberti M, Guedin P, et al. Cerebral ischemia (2), How to neutralize the neurotoxic effects of tPA[J]. *Med Sci (Paris)*, 2009, 25(10):855-857.
 - [21] Zhang RL, Chopp M, Chen H, et al. Temporal profile of ischemic tissue damage, neutrophil response, and vascular plugging following permanent and transient (2H) middle cerebral artery occlusion in the rat[J]. *Journal of the Neurological Sciences*, 1994, 125(1):3-10.
 - [22] Bednar MM, Raymond S, McAuliffe T, et al. The role of neutrophils and platelets in a rabbit model of thromboembolic stroke[J]. *Stroke*, 1991, 22(1):44-50.
 - [23] Yingqi, Xing, Zhen ZN, et al. Increased globulin and its association with hemorrhagic transformation in patients receiving intra-arterial thrombolysis therapy[J]. *Neurosci Bull*, 2014, 30(3):469-476.
 - [24] Fabian RH, Dewitt DS, Kent TA. In vivo detection of superoxide anion production by the brain using a cytochrome electrode[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1995, 15(2):242-247.
 - [25] Sanderson TH, Reynolds CA, Kumar R, et al. Molecular mechanisms of ischemia-reperfusion injury in brain: pivotal role of the mitochondrial membrane potential in reactive Oxygen species Generation[J]. *Mol Neurobiol*, 2013, 47(1):9-23.
 - [26] Lambeth JD, Lambeth JD. NOX enzymes and the biology of reactive Oxygen. *Nat Rev Immunol* 4:181-189[J]. *Nat Rev Immunol*, 2004, 4(3):181-189.
 - [27] Dominguez C, Delgado P, Vilches AA, et al. Oxidative stress after Thrombolysis-Induced reperfusion in human stroke[J]. *Stroke*, 2010, 41(4):653-660.
 - [28] Khatri R, McKinney AM, Swenson BA. Blood-brain barrier, reperfusion injury, and hemorrhagic transformation in acute ischemic stroke[J]. *Neurology*, 2012, 79(13, 1):S52-S57.
 - [29] Li P, Hu X, Gan Y, et al. Mechanistic insight into DNA damage and repair in ischemic stroke; exploiting the base excision repair pathway as a model of neuroprotection[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 14(10):1905-1918.
 - [30] Mallolas J, Rodríguez R, Gubern C, et al. A polymorphism in the promoter region of the survivin gene is related to hemorrhagic transformation in patients with acute ischemic stroke[J]. *Neuromolecular Med*, 2014, 16(4):856-861.
 - [31] Lakhan SE, Kirchgessner A, Tepper D, et al. Matrix metalloproteinases and blood-brain barrier disruption in acute ischemic stroke[J]. *Front Neurol*, 2013, 4:32.
 - [32] Foerch C, Wunderlich MT, Dvorak F, et al. Elevated serum S100B levels indicate a higher risk of hemorrhagic transformation after thrombolytic therapy in acute stroke[J]. *Stroke*, 2007, 38(9):2491-2495.

(2019-03-20 收稿)