

PTX-3 在蛛网膜下腔出血后脑血管痉挛发病机制中的作用*

胡晓芳¹, 袁 笑^{1,2}, 苏 晓^{1,2}, 王玉红¹, 孟冬娅¹, 安殿梅³, 郑 伟^{1△} (1. 沈阳军区总医院检验科, 沈阳 110840; 2. 辽宁医学院研究生院, 辽宁锦州 121001; 3. 辽宁省沈阳市计量测试院, 沈阳 110179)

【摘要】 目的 探讨正五聚蛋白-3 (PTX-3) 在蛛网膜下腔出血 (SAH) 后脑血管痉挛 (CVS) 发生过程中的作用机制。**方法** 分别检测 SAH 患者和健康对照组外周血白细胞 (WBC)、中性粒细胞百分比 (NE%) 和脑脊液 (CSF) 中 WBC、PTX-3 水平。**结果** SAH 患者外周血 WBC、NE% 和 CSF WBC、多个核细胞数均显著高于健康对照组 ($P < 0.01$, $P < 0.05$); 并且, 血清和 CSF PTX-3 水平也显著高于健康对照组 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)。SAH 患者痉挛组 WBC、NE% 与未痉挛组相比, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 与之相反, SAH 患者痉挛组 CSF WBC、多个核细胞数显著高于未痉挛组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 值得关注的是, 血清 PTX-3 水平与未痉挛组相比, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 而 CSF PTX-3 水平显著高于未痉挛组 ($P < 0.01$)。SAH 患者痉挛组 WBC、NE% 和 CSF WBC、多个核细胞数在 1、2、3、5、7 d 均显著高于健康对照组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$); 并且, SAH 患者痉挛组血清和 CSF PTX-3 水平在 1、2、3、5、7 d 均显著高于健康对照组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。**结论** SAH 患者机体存在高强度的全身和局部炎症反应。局部炎症反应与 CVS 的发生密切相关。CSF 高水平 PTX-3 可能通过诱导局部炎症反应而介导 CVS 的发生。CVS 的发生依赖于患者机体高强度炎症反应的持续存在, 而 PTX-3 可能是介导高强度炎症反应持续存在的关键效应分子。

【关键词】 正五聚蛋白-3; 蛛网膜下腔出血; 脑血管痉挛; 发病机制

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2013.18.001 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)18-2353-03

Role of pentraxin-3 in pathogenesis with cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage* HU Xiao-fang¹, YUAN Xiao^{1,2}, SU Xiao^{1,2}, WANG Yu-hong¹, MENG Dong-ya¹, AN Dian-mei³, ZHENG Wei^{1△} (1. Department of Clinical Laboratory, General Hospital of Shenyang Military Command, Shenyang, Liaoning 110840, China; 2. Graduate School of Liaoning Medical University, Jinzhou, Liaoning 121001, China; 3. Measurement and Testing Institute of Shenyang, Shenyang, Liaoning 110179, China)

【Abstract】 Objective To investigate the mechanism of pentraxin-3 (PTX-3) in pathogenesis of cerebral vasospasm (CVS) after subarachnoid hemorrhage (SAH). **Methods** The levels of white blood cell (WBC), neutrophil percentage (NE%) and PTX-3 in cerebrospinal fluid (CSF) and peripheral blood from SAH patients and healthy subjects were detected respectively. **Results** WBC and NE% levels of peripheral blood and CSF in SAH group were significantly higher than healthy controls ($P < 0.01$, $P < 0.05$). Serum and CSF PTX-3 levels in SAH group were significantly higher than healthy controls ($P < 0.01$, $P < 0.05$). CSF levels of WBC, NE% and PTX-3 in SAH patients with CVS were higher than SAH patients without CVS ($P < 0.05$), but the difference of serum PTX-3 level was not significant ($P > 0.05$). On 1, 2, 3, 5 and 7 days after SAH, CSF and peripheral blood levels of WBC, NE% and PTX-3 in patients with CVS were significantly higher than healthy controls ($P < 0.01$). **Conclusion** The pathogenesis of CVS might be with high level systemic and local inflammatory response in SAH patients. High level of PTX-3 in CSF might mediate the onset of CVS by inducing local inflammatory reaction. The occurrence of CVS could be dependent on the persistence of highly intensive inflammatory response, of which PTX-3 might be the key mediating molecule.

【Key words】 pentraxin-3; subarachnoid hemorrhage; cerebral vasospasm; pathogenesis

脑血管痉挛 (CVS) 是蛛网膜下腔出血 (SAH) 后一种常见并发症, 是蛛网膜下腔中脑动脉持续性狭窄的病理状态^[1]。CVS 的发生与动脉瘤破裂密切相关, 也常见于外伤性脑损伤后^[2]。CVS 引起血供中断导致的神经缺失、梗死和不可逆的脑损伤, 正是造成 SAH 患者预后不佳的重要因素。每年世界范围内约有 100 万人因 CVS 死亡或严重致残, 而用于治疗

CVS 的费用高达数百万美元^[3]。因此, 充分阐明 CVS 的发生机制, 已成为目前需要解决的重点课题。

迄今的研究显示, 炎症是介导 SAH 后发生 CVS 的重要病理基础, 其在动脉狭窄过程中发挥着举足轻重的作用^[4]。然而, 目前关于炎症介导 CVS 的机制尚不明确。尤其是, 全身炎症和局部炎症在 CVS 发生中的作用尚未阐明。本研究以

* 基金项目: 辽宁省自然科学基金项目 (201102240)。△ 通讯作者, E-mail: zhengweidr@yahoo.cn。

SAH 后 CVS 患者为研究对象,系统观察全身及局部炎症的动态变化,尤其聚焦于探讨脑脊液中特征性炎性标志物正五聚蛋白-3(PTX-3)的变化特点,以期深入探讨 SAH 后发生 CVS 的机制,进而为 CVS 的诊断、治疗提供新的理论和实验依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2010 年 11 月至 2012 年 1 月沈阳军区总医院神经外科和急诊科病区 SAH 患者共 60 例,男 27 例,女 33 例,平均年龄(55.77±10.72)岁。其中 CVS 组 30 例,未痉挛组 30 例。入组标准:患者均有脑血管造影、颅脑 CT 和/或 MRI 等影像证据,诊断符合全国第 4 次脑血管会议制定的《脑血管疾病分类(1995)》中 SAH 诊断标准。排除有肝肾疾病、糖尿病、恶性肿瘤、甲状腺功能异常、妊娠、服用抗惊厥药物者。健康对照组共 60 例,男 29 例,女 31 例,平均年龄(47.00±6.42)岁,均为同期健康体检者随机个体,肝功、肾功、血糖、血脂及其他相关指标均在正常参考范围内,并排除肝脏、肾脏、内分泌和心脑血管疾病。

1.2 方法

1.2.1 主要仪器与试剂 全血细胞检测仪(美国 Beckman coulter 公司),PTX-3 试剂盒(北京爱迪博生物有限公司)。

1.2.2 标本采集与指标检测 所有研究对象(SAH 组和健康对照组)均空腹 12 h 以上,分别于第 1、2、3、5、7 天抽取静脉血和行腰椎穿刺抽取脑脊液。分别采集 3 mL 无抗凝静脉血和 3 mL 乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝静脉血。3 mL EDTA-K₂ 抗凝静脉血应用美国 Beckman coulter 全血细胞检测仪检测。无抗凝静脉血 1 h 内离心(3 000 r/min,10 min)抽出上层血清,置于一 70 ℃冰箱保存待用,用于血清 PTX-3 水平检测。腰椎穿刺收集脑脊液 5 mL,2 mL 脑脊液用于显微镜计数检测,3 mL 脑脊液 1 h 内离心(3 000 r/min,10 min)吸出上清,置于一 70 ℃冰箱保存待用,用于脑脊液 PTX-3 水平检测。

1.3 统计学方法 用 SPSS17.0 统计软件包进行数据处理。所得数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 *t* 检验进行统计学分析。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

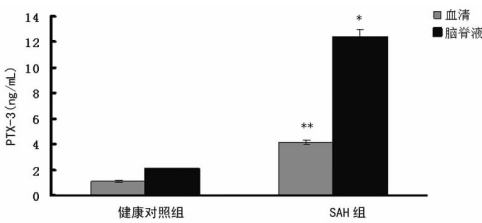
2 结 果

2.1 SAH 组和健康对照组比较 SAH 组外周血白细胞(WBC)、中性粒细胞百分比(NE%)和脑脊液(CSF)中 WBC、多个核细胞数与健康对照组比较差异具有统计学意义(*P* < 0.01),见表 1。SAH 组血清和脑脊液中 PTX-3 与健康对照组比较差异具有统计学意义(*P* < 0.01,*P* < 0.05),见图 1。

表 1 两组外周血 WBC、NE%和 CSF 中 WBC、多个核细胞数的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	外周血		CSF	
	WBC(×10 ⁹ /L)	NE%(%)	WBC(×10 ⁹ /L)	多个核细胞数(%)
健康对照组	6.13±1.07	61.35±5.15	7.00±5.00	5.20±5.00
SAH 组	14.34±4.99 [#]	84.75±9.46 [#]	458.39±376.59 [*]	75.11±12.72 [*]

注:与健康对照组比较,[#]*P* < 0.01,^{*}*P* < 0.05。



注:与健康对照组比较,***P* < 0.01,^{*}*P* < 0.05。

图 1 两组 PTX-3 水平的比较

2.2 SAH 患者痉挛和未痉挛组比较 SAH 患者痉挛组外周血 WBC 和 NE%与未痉挛组相比,差异无统计学意义(*P* > 0.05),相反,SAH 患者痉挛组 CSF 中 WBC 和 CSF 多个核细胞数与未痉挛组相比,差异具有统计学意义(*P* < 0.05),见表 2。SAH 患者 CVS 组血清 PTX-3 与未痉挛组相比,差异无统计学意义(*P* > 0.05)。与之相反,SAH 患者 CVS 组 CSF PTX-3 水平与未痉挛组相比,差异具有统计学意义(*P* < 0.01),见表 3。

表 2 两组外周血 WBC、NE%和 CSF 中 WBC、多个核细胞数的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	外周血		CSF	
	WBC(×10 ⁹ /L)	NE%(%)	WBC(×10 ⁹ /L)	多个核细胞数(%)
CVS 组	14.84±5.55 [▲]	82.91±13.95 [▲]	557.22±186.05 [*]	76.80±10.30 [*]
未痉挛组	13.55±3.92	84.79±11.70	411.86±134.94	62.50±23.63

注:与未痉挛组比较,[▲]*P* > 0.05,^{*}*P* < 0.05。

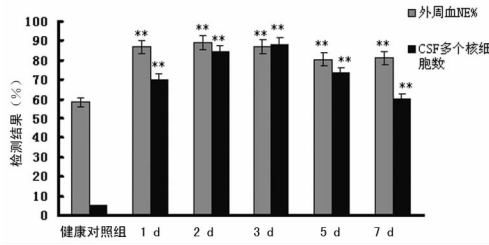
表 3 两组血清和 CSF 中 PTX-3 水平比较($\bar{x} \pm s$,ng/mL)

组别	血清 PTX-3	CSF PTX-3
CVS 组	4.27±1.83 [▲]	21.64±12.99 ^{**}
未痉挛组	3.94±2.03	10.09±6.19

注:与未痉挛组比较,[▲]*P* > 0.05,^{**}*P* < 0.01。

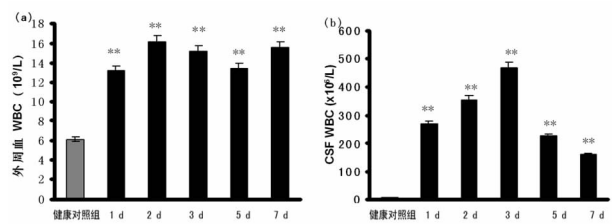
2.3 SAH 患者痉挛组各指标动态比较 SAH 患者痉挛组外周血 NE%和 CSF 多个核细胞数水平在 1、2、3、5、7 d 与健康对照组相比,差异具有统计学意义(*P* < 0.01),见图 2。SAH 患者痉挛组外周血和 CSF WBC 水平在 1、2、3、5、7 d 与健康对照组相比,差异具有统计学意义(*P* < 0.01),见图 3。SAH 患者痉挛组血清和脑脊液 PTX-3 水平在 1、2、3、5、7 d 与对照组相

比,差异具有统计学意义($P<0.01$),见图 4。



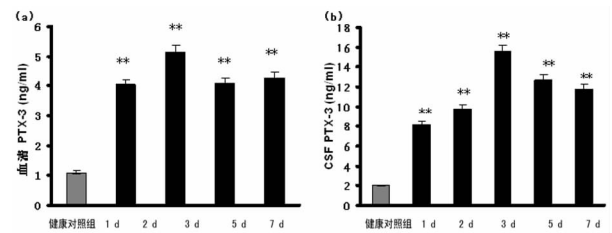
注:与健康对照组比较, ** $P<0.01$ 。

图 2 SAH 患者痉挛组外周血 NE%和 CSF 中多个核细胞数在第 1、2、3、5、7 天与健康对照组比较



注:(a)外周血 WBC 动态变化;(b)CSF 中 WBC 动态变化;与健康对照组比较, ** $P<0.01$ 。

图 3 SAH 患者痉挛组外周血 WBC 和 CSF WBC 水平在第 1、2、3、5、7 天与健康对照组比较



注:(a)血清 PTX-3 水平动态变化;(b)CSF PTX-3 水平动态变化;与健康对照组比较, ** $P<0.01$ 。

图 4 SAH 患者痉挛组血清和脑脊液 PTX-3 水平在第 1、2、3、5、7 天与健康对照组比较

3 讨论

CVS 是 SAH 患者最常见并发症,其发病率高达 30%~90%,也是患者致死、致残的主要原因。目前关于 CVS 的发生机制尚未充分阐明。迄今研究显示,炎症在 SAH 后 CVS 的发病中发挥着重要作用。然而,关于其介导 CVS 发生的具体机制尚未明确,尤其缺乏理想的炎症标志物评估 CVS 发生过程中的炎症状态^[5-6]。

炎症是指具有血管系统的活体组织对损伤因子的防御反应。炎症作为一种重要机制参与了脑血管疾病的发生,并成为独立的危险因素。本研究结果显示,SAH 患者外周血 WBC、NE%和脑脊液中 WBC、多个核细胞数水平均明显高于健康对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$),提示 SAH 患者存在全身和局部炎症。其可能机制为:SAH 后脑组织受损,儿茶酚胺和类固醇激素等分泌增加,促使 WBC 活化,引起大量炎性物质浸润,影响脑血流量、损害脑实质及破坏血脑屏障导致微循环堵塞、脑缺血加重,进而诱发炎症^[6-7]。此外,本研究进一步显示,SAH 患者血清和脑脊液中 PTX-3 水平均显著高于健康对照组($P<0.05$),进一步说明 SAH 患者机体炎症状态与 PTX-3 密切相关。

本研究结果显示,CVS 患者外周血 WBC 和 NE%水平与未痉挛组相比,差异无统计学意义($P>0.05$)。值得关注的是,脑脊液中 WBC 和多个核细胞数水平均显著高于未痉挛组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。由此提示,局部炎症在 CVS 的发病机制中可能发挥着重要作用。PTX-3 是新近发现的一种炎症标志物,主要由单核-巨噬细胞、内皮细胞、颗粒型 WBC、树突状细胞和平滑肌细胞等在脉管系统局部产生,反映局部炎症状态^[8],同时 PTX-3 也可通过促使补体分子 C1q 和 C3b 与凋亡细胞表面结合,活化补体系统作为介导局部炎症的关键效应分子,其水平的升高与炎症强度和组织损伤程度密切相关。本研究结果显示,CVS 患者血清 PTX-3 水平与未痉挛组相比,差异无统计学意义($P>0.05$)。与之相反,脑脊液中 PTX-3 水平显著高于未痉挛组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。由此提示,PTX-3 可能通过介导局部炎症参与 CVS 的发生。正常情况下 PTX-3 在脑组织中没有表达,但在接触促炎因子的刺激后明显升高^[9],因此本文证实,脑脊液中 PTX-3 水平可以作为反映脑局部炎症状态进而评估 CVS 发生的理想标志物。PTX-3 通过参与炎症而介导 SAH 后 CVS 的机制可能为:脑组织损伤后,在炎症因子作用下,血管收缩因子和细胞黏附分子明显高表达,导致内皮细胞和中性粒细胞分泌 PTX-3 增加,并产生一系列血管活性效应,造成 WBC 在损伤局部募集,进而参与 CVS 的发生^[10]。值得关注的是,痉挛血管本身也可作为诱因介导炎症介质 PTX-3 的释放^[11]。因此,在 PTX-3 的释放和 CVS 发生之间可能存在正反馈的作用模式。此外,PTX-3 还可由血管内皮细胞和巨噬细胞等在白细胞介素-6 诱导下产生,以协同刺激血管内皮细胞不断合成和释放炎性介质。因此本文证实,SAH 后 CVS 的发生可能正是 PTX-3 和 WBC 对于炎症级联放大作用的结果。

本研究结果进一步显示,CVS 患者外周血 WBC 和 NE%在发病后第 1 天开始升高,第 3 天达高峰,并持续至第 7 天,与对照组相比,差异具有统计学意义($P<0.05$)。由此提示,CVS 的发生依赖于患者机体高强度炎症的持续存在。更为重要的是,CVS 患者血清和脑脊液中 PTX-3 水平与 WBC 呈相同的变化趋势,由此进一步提示,PTX-3 可能正是介导高强度炎症持续存在的关键效应分子。

综上所述,SAH 患者机体存在高强度全身和局部的炎症,其中局部炎症与 CVS 的发生密切相关。而脑脊液中高水平的 PTX-3 可能正是通过协同诱导局部炎症而介导 CVS 的发生。与此同时,在 CVS 发生后,患者血清和脑脊液中 PTX-3 水平的持续升高可能正是通过维持高强度的炎症进而参与 CVS 的发生。

参考文献

- [1] Clark JF, Loftspring M, Wurster WL, et al. Chemical and biochemical oxidations in spinal fluid after subarachnoid hemorrhage[J]. Front Biosci, 2008, 13(13):1806-1812.
- [2] Tjahjadi M, Konig R, Wirtz CR, et al. Cerebral vasospasm and Health-Related quality of Life after subarachnoid hemorrhage[J]. World Neurosurg, 2012(12):1034-1036.
- [3] Zhang Y, Clark JF, Pyne-Geithman G, et al. Metallomics study in CSF for putative biomarkers to(下转第 2358 页)

的诊断指标之一。本研究表明,AKI 患者组 Cys C 水平显著高于其他组,说明在 AKI 发生过程中伴随着肾小球滤过率的变化及其他病理过程,Cys C 联合 NGAL 共同诊断 AKI 起着重要作用。

KIM-1 是受损近曲小管上皮细胞表达的黏附分子,是由 334 个氨基酸残基组成的跨膜蛋白,在正常的肾组织中几乎不表达,但是在缺血及肾毒性损伤后,近曲小管上皮细胞中却是呈高表达状态。有关 KIM-1 表达与肾脏病关系的研究还较少,现有研究也多为体外实验或动物模型研究,临床研究样本量较少,缺乏大规模临床研究数据。在多种肾脏疾病以及动物模型中肾组织和尿液 KIM-1 水平都明显升高,尿 KIM-1 水平与肾组织 KIM-1 表达水平一致^[10-11],并明显早于其他传统的生物标志物(如 Cr、BUN、尿 NAG 酶、尿糖、尿蛋白)的异常,有望成为诊断早期肾损伤的理想标志物,有助于临床早期干预治疗^[12-13]。本研究发现,AKI 患者组尿液 KIM-1 水平较其他研究组显著升高,说明尿液 KIM-1 为诊断 AKI 的理想指标。

综上所述,血清 NGAL、尿液 NGAL 和尿液 KIM-1 在 AKI 患者体内时显著升高,有早期诊断价值。目前其检测方法多用酶联免疫吸附法,对需及时检测以进行早期诊断的患者具有较大局限性,因此研究快速检测方法具有更大的临床应用价值。

参考文献

[1] 吴昱,李晓玫. 急性肾损伤相关生物标志物的研究进展[J]. 中国病理生理杂志,2010,26(8):1650-1653.
[2] 魏学全,年小燕. 急性肾损伤的概念及诊治进展[J]. 中国社区医师:医学专业,2010,12(9):12-13.
[3] Ding H, He Y, Li K, et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) is an early biomarker for renal tubulointerstitial injury in IgA nephropathy[J]. Clin Immunol, 2007, 123(2): 227-234.
[4] Michiko SW. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker of disease activity in pediatric lupus nephritis[J]. Pediatr Nephrol, 2008, 23(3): 403-412.

[5] Mishra J, Ma Q, Prada A, et al. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury[J]. J Am Soc Nephrol, 2003, 14(10): 2534-2543.
[6] Mishra J, Dent C, Tarabishi R, et al. Neutrophil elatinase-associated lipocalin(NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery[J]. Lancet, 2005, 365(9466): 1231-1238.
[7] 童俊容,何凤,罗正茂,等. 血清 NGAL 和 Cystatin C 对糖尿病肾病早期诊断的意义研究[J]. 中国全科医学, 2010, 13(8): 810-812.
[8] Herget-Rosenthal S, Marggrat G, Husing J, et al. Early detection of acute renal failure by serum cystatin C[J]. Kidney Int, 2004, 66(3): 1115-1122.
[9] 梁馨苓,史伟,叶智明,等. 血清半胱氨酸蛋白抑制剂 C 与急性肾衰竭预后关系的研究[J]. 中国病理生理杂志, 2006, 22(1): 177-181.
[10] Ichimura T, Bonventre JV, Bailly V, et al. Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule containing a novel immunoglobulin domain, is up-regulated in renal cells after injury[J]. J Biol Chem, 1998, 273(7): 4135-4142.
[11] Han WK, Bailly V, Abichandani R, et al. Kidney injury molecule-1 (KIM-1): a novel biomarker for human renal proximal tubule injury[J]. Kidney Int, 2002, 62(1): 237-244.
[12] Han WK, Bonventre JV. Biologic markers for the early detection of acute kidney injury[J]. Curr Opin Crit Care, 2004, 10(6): 476-482.
[13] Hewitt SM, Dear J, Star RA. Discovery of protein biomarkers for renal diseases[J]. J Am Soc Nephrol, 2004, 15(7): 1677-1689.

(收稿日期:2013-01-03 修回日期:2013-03-22)

(上接第 2355 页)

predict cerebral vasospasm[J]. Metallomics, 2010, 2(9): 628-637.
[4] Vergouwen MD, Ilodigwe D, Macdonald RL. Cerebral infarction after subarachnoid hemorrhage contributes to poor outcome by vasospasm-dependent and -independent effects[J]. Stroke, 2011, 42(4): 924-929.
[5] Shahlaie K, Keachie K, Hutchins IM, et al. Risk factors for posttraumatic vasospasm[J]. J Neurosurg, 2011, 115(3): 602-611.
[6] McGirt MJ, Mavropoulos JC, McGirt LY, et al. Leukocytosis as an Independent risk factor for cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage [J]. J Neurosurg, 2003, 98(6): 1222-1226.
[7] 吴弟梅,贺祖伟,向小俐,等. C-反应蛋白及白细胞的临床应用价值[J]. 检验医学与临床, 2009, 6(4): 260-261.

[8] Yano Y, Hatakeyama K. Inflammation and hypertension: new clinical information on pentraxin-3 [J]. Anadolu Kardiyol Derg, 2012, 12(4): 305-306.
[9] Zanier ER, Brandi G, Peri G, et al. Cerebrospinal fluid pentraxin 3 early after subarachnoid hemorrhage is associated with vasospasm[J]. Intensive Care Med, 2011, 37(2): 302-309.
[10] Muller B, Peri G, Doni A, et al. Circulating levels of the long pentraxin PTX3 correlate with severity of infection in critically ill patients[J]. Crit Care Med, 2001, 29(7): 1404-1407.
[11] Garlanda C, Bottazzi B, Moalli F, et al. Pentraxins and atherosclerosis: the role of PTX3[J]. Curr Pharm Des, 2011, 17(1): 38-46.

(收稿日期:2012-12-12 修回日期:2013-02-12)