

急性脑梗死外周血中 NOX2、SOD 水平变化的临床意义

朱菁锋,张健生,黎志镛,李天宝,张家济,薛光华

(广东省佛山市南海区第九人民医院神经内科,广东 佛山 528203)

摘要:目的 探讨外周血 NOX2、SOD 水平与急性脑梗死的关系。方法 收集 98 例急性脑梗死患者,采用 ELISA 法以及 WST-1 还原法分别测定急性脑梗死患者患病后 24 h、3 d、7 d、14 d 以及对照组 SOD、NOX2 在外周血的水平,并与 91 例健康者进行比较。结果 脑梗死组外周血 SOD 值表达于发病后 24 h 内降低显著多于对照组 ($P < 0.01$),至 3~7 d 达到高峰 ($P < 0.01$),然后在发病后 14 d 逐渐升高,水平仍低于对照组,但差异无统计学意义 ($P > 0.05$);脑梗死组 NOX2 在发病后 24 h 即明显升高 ($P < 0.01$),至 3~7 d 达到最高值 ($P < 0.01$),之后又缓慢下降,至发病后 14 d 接近正常。进一步将脑梗死分为轻、中、重三组,发现发病 7 d 时重度、中度脑梗死组 NOX2、SOD 的水平与轻度脑梗死组、对照组比较,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 急性脑梗死患者外周血 NOX2 与 SOD 水平存在着动态变化,与脑梗死的严重程度有关,其浓度水平对急性脑梗死的病情变化及治疗具有重要的价值。

关键词: NOX2;SOD;脑梗死

中图分类号: R743.33

文献标识码: A

文章编号: 1001-5817(2015)03-0373-03

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2015.03.010

Clinical significance of peripheral blood NOX2, SOD changes in acute cerebral infarction

Zhu Jingfeng, Zhang Jiansheng, Li Zhiqiang, Li Tianbao, Zhang Jiayi, Xue Guanghua

(Department of Neurology, the Ninth People's Hospital of Nanhai District, Foshan 528203, Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To explore the relationship of acute cerebral infarction and peripheral blood NOX2 and SOD levels. **Methods** Ninety-eight cases of acute cerebral infarction patients were selected as the observation group, and 91 cases of healthy individuals (in physical examination) were chosen as control group. The peripheral blood NOX2 and SOD levels in patients with acute cerebral infarction and in objects of the control group were measured 24 hours, 3 days, 7 days, 14 days after disease attack were measured by using WST-1 reduction method and ELISA method, respectively. **Results** Patients of the cerebral infarction group had more significantly decreasing peripheral blood SOD expression than the control group within 24 hours ($P < 0.01$), reached to the peak from day 3 to 7 ($P < 0.01$), and elevated gradually on day 14 after disease attack, SOD level of the cerebral infarction group was still lower than the control group, but there was not statistically significant difference ($P > 0.05$). The NOX2 value of cerebral infarction group increased significantly within 24 hours after disease attack ($P < 0.01$), while the value reached the peak from day 3 to 7 ($P < 0.01$), and then slowly declined, decreasing to near normal condition 14 days after disease attack. Cerebral infarction group was further subdivided into moderate, medium, heavy three groups. We found on day 7 of disease attack, comparison of the SOD and NOX2 levels between medium, heavy cerebral infarction groups and moderate, control groups showed statistical differences ($P < 0.05$). **Conclusion** There exists dynamic peripheral blood NOX2 and SOD changes in patients with acute cerebral infarction, and it's correlated with the severity of cerebral infarction, its concentration plays an important role in predicting disease changes and treatment. 14 days

Key words: NOX2;SOD;cerebral infarction

目前认为,氧化应激在脑梗死后神经细胞的损伤发挥了重要的作用^[1-3]。本文通过观察急性脑梗死不同时间段 NOX2 以及 SOD 的变化水平,探讨其与急性脑梗死的关系,结果如下。

1 对象和方法

1.1 研究对象 观察组 98 例患者 2013 年 1 月~2013 年 12 月于我科住院的急性脑梗死患者,其中男性 58 例,女性 40 例,平均年龄 38~78 岁,平均年龄 (62.61±10.27)岁;诊断符合 1996 年第 4 届全国脑血管病学术会议修订的诊断标准^[4],并经头部影像学明

确诊断(CT 或 MRI)。根据患者 NIHSS 评分将观察组进一步分为轻度(NIHSS 评分<5 分)、中度(NIHSS 评分 5~15 分)及重度脑梗死组(NIHSS 评分>15 分)。本次研究轻度患者 30 例,男 18 例,女 12 例,年龄 39~76 岁,平均年龄(61.23±10.11)岁;中度患者 41 例,男 23 例,女 18 例,年龄 38~77 岁,平均年龄(62.45±10.14)岁;重度患者 27 例,男 17 例,女 10 例,年龄 39~78 岁,平均年龄(63.02±10.56)岁。入组标准:①初次发病,明确诊断为脑梗死,发病距离治疗 24 h 内;②患者年龄在 18~80 岁之间。排除标准:

①CT 证实为出血性梗死如颅内出血、蛛网膜下腔出血、外伤性出血；②出血倾向、凝血功能障碍、精神疾患及严重心肝肾疾病；③恶性肿瘤及免疫性疾病；④患者本人或者家属不同意签署知情同意书。同时选择同期我院健康体检者 91 例为对照组，其中男 55 例，女 36 例，年龄 40~77 岁，平均(61.01±8.63)岁。两组患者在年龄、性别构成方面差异无统计学意义($P > 0.05$)。脑梗死组中脑梗死危险因素高血压、高脂血症、吸烟、饮酒等比例与对照组比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)，见表 1。

表 1 两组的一般临床资料对比

项目	观察组	对照组	χ^2/t	P
性别				
男($n, \%$)	58(59.18)	55(60.44)	0.031	0.86
女($n, \%$)	40(40.82)	36(39.56)		
年龄(岁)	62.61±10.27	61.01±8.63	1.16	0.250
高血压($n, \%$)	76(77.55)	60(65.93)	3.16	0.076
高脂血症($n, \%$)	60(61.22)	45(49.45)	2.65	0.104
吸烟($n, \%$)	50(51.02)	45(49.45)	0.05	0.829
饮酒($n, \%$)	35(35.71)	28(30.77)	0.52	0.471

1.2 方法 分别在患者发病后 24 h、3 d、7 d 及 14 d 采集所有患者空腹静脉血两管，一管离心后取血清。对照组在体检当天抽取空腹静脉血，离心后取血清。所有样本经由-20℃保存，避免反复冻融。待标本收集完毕后由本院检验中心同一名检验科医师测血清 SOD 的水平。SOD 的水平采用双抗夹心酶联免疫吸附法(ELISA 法)，测定的具体步骤根据试剂盒提供。应用 Muhiskan ex 酶标仪在波长 492 nm 处读取 OD 值。灵敏度：最小可测人 SOD 水平达 8 ng/ml。另一管血采用 WST-1 还原法测定 NOX2 的活性。密度梯度法对血样中的单核淋巴细胞进行分离后制备成匀浆液，离心，取上层清液，测定 450 nm 波长处的吸光度值(A450 I)，然后加入 NOX2 试剂(6 momol/L)，再次测定吸光度值为 A450 II。NOX2 活性等于(A450 II - A450 I)/蛋白含量(RLU/mg 蛋白)。试剂盒均购自江苏碧海云天生物试剂公司。

1.3 统计学方法 应用 SPSS 15.0 统计学软件进行分析，组间计量资料比较采用 t 检验，计数资料比较采用 χ^2 检验，以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 外周血 NOX2 和 SOD 的水平 脑梗死组外周血 SOD 值表达于发病后 24 h 内即降低显著低于对照组($P < 0.01$)，至 3~7 d 达到高峰($P < 0.01$)，然后在发病后 14 d 逐渐升高，水平仍低于对照组，但差异无统计学意义($P > 0.05$)；脑梗死组 NOX2 在发病后 24 h 即升高($P < 0.01$)，而至 3~7 d 达到最高值($P < 0.01$)，之后又缓慢降低，至发病后 14 d 增加至接近正常，见表 2。

2.2 发病 7 d NOX2 和 SOD 的水平 将脑梗死组分为重度、中度和轻度三组后，发现重度组、中度组发病 7 d 时 NOX2 水平均高于轻度脑梗死组和对照组($P < 0.05$)，然而轻度脑梗死组与对照组比较，重度与中

度组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)；重度组、中度组 SOD 水平均低于轻度脑梗死组和对照组($P < 0.05$)；而轻度脑梗死组与对照组比较，重度组与中度组相比，差异均无统计学意义($P > 0.05$)，见表 3。

表 2 两组 NOX2 和 SOD 的动态变化

组别	n	NOX2 (RLU/mg 蛋白)	SOD (ng/L)
急性脑梗死发病 24 h	98	12.21±3.45 ^b	93.67±9.56 ^b
急性脑梗死发病 3 d	98	15.21±4.23 ^b	90.33±8.558 ^b
急性脑梗死发病 7 d	98	15.54±4.48 ^b	91.49±8.87 ^b
急性脑梗死发病 14 d	98	10.5±3.87 ^a	98.56±10.35
对照组	91	9.33±3.17	100.35±11.23

注：与对照组相比较，a： $P < 0.05$ ，b： $P < 0.01$

表 3 观察组各亚组之间发病 7 d 时 NOX2 和 SOD 的水平

组别	n	NOX2 (RLU/mg 蛋白)	SOD (ng/L)
重度脑梗死组	27	17.21±4.33 ^{ab}	88.20±7.48 ^{ab}
中度脑梗死组	41	16.34±4.18 ^{ab}	90.13±7.39 ^{ab}
轻度脑梗死组	30	10.25±3.63	97.89±8.67
对照组	90	9.33±3.17	100.35±11.23

注：与对照组相比较，a： $P < 0.05$ ；与轻度组相比较，b： $P < 0.05$

3 讨论

氧化应激在脑梗死的发生机发展机制中起着重要的作用，ROS 涉及到动脉粥样斑块的形成、管腔狭窄以及心源性卒中^[5]。脑梗死后，局部的缺血诱发局部的炎症反应，而再灌注可能通过自由基的产生而进一步损害神经细胞。而这些 ROS 在缺血的边缘地带也就是我们临床所指的“缺血半暗带”尤为明显^[6]。研究也证实急性期，由于线粒体趋向于无氧酵解，神经元内 NAD⁺与 NOX2 的电子传递减少，从而氧自由基增加。

动物实验研究发现在脑梗死后，在脑中 NOX2 的显著升高(由小胶质细胞以及巨噬细胞合成)^[7]，NOX2 降低 NOX 和缩小的梗死面积相关^[8]。而在对 NOX2 敲除鼠的研究中发现，NOX2 敲除鼠脑血屏障的通透性和卒中后的脑水肿都较对照组大鼠明显改善^[9-10]。然后对于 NOX2 的脑损伤机制尚不完全清楚，可能通过对血管内皮生长因子受体-2 的磷酸化而促进细胞凋亡(通过 PI3K/Akt 和 ERK 1/2 通路)^[11]，另外通过脂质过氧化、蛋白变性以及 DNA 的修饰也是 NOX2 的脑损伤机制^[12]。本组资料证明，脑梗死后 NOX2 水平升高，在 3~7 d 达到高峰，之后至 14 d 仍有轻度增高。氧化应激的损伤一方面与 NOX2 诱导的 ROS 增加有关，也与体内清除自由基的抗氧化系统 SOD 的耗竭有关，尤其是 SOD 的降低。我们的研究发现患者外周血中 SOD 降低明显且以低水平维持约 1 d，之后又慢慢上升直至 14 d 仍还低于正常水平。另外随着脑梗死病情的加重，SOD 值降低明显。因此提高急性期脑梗死患者的 SOD 水平以及降低

(下转第 379 页)

配合患者健康的生活方式可以有效控制患者的体重,而瑞格列奈与二甲双胍的作用机制不同,但二者作用模式互补,联合使用更能有效患者血糖,降低患者体重。从实验结果来看,联合用药的观察组患者治疗后的 BMI 为 $(22.8 \pm 4.0) \text{ kg/m}^2$ 较治疗前的 24.2 ± 3.9 明显降低,且观察组患者治疗后的空腹血糖、餐后 2 h 血糖水平较同期对照组患者差异有统计学意义, $P < 0.05$ 。可见,二甲双胍联合瑞格列奈的确可以更有效地控制患者血糖水平及患者体质量。而且,观察组患者在 hs-CRP、血浆黏度、血细胞比容、血脂(HDL、LDL)这些心血管病变危险因素上治疗后均明显改善,且相比于治疗后的对照组患者均有显著优势, $P < 0.05$ 。由此得出结论,二甲双胍联合瑞格列奈治疗 2 型糖尿病患者可以有效降低患者心血管病变危险因素的相关指标水平。

综上所述,二甲双胍联合瑞格列奈可以有效降低患者的血糖,同时可以调节患者血脂,改善患者的血管内皮功能及血浆黏度,较好地控制了心血管病变的危险因素,是一种较为理想的临床用药组合方案。

参考文献:

- [1] 何敏. 瑞格列奈联合二甲双胍治疗 2 型糖尿病临床观察[J]. 中国实用医药, 2013, 2(8): 144.
- [2] Yamagishi S, Matsui T, Ueda S, et al. Clinical utility of acarbose, an alpha-glucosidase inhibitor in cardiometabolic disorders[J]. Curr Drug Metab, 2009, 10(2): 159-163.

- [3] Shankar A, Li J. Positive association between high-sensitivity C-reactive protein level and diabetes mellitus among US non-Hispanic black adults[J]. Exp Clin Endocrinol Diabetes, 2008, 116(8): 455-460.
- [4] 朱广平, 孙家忠. 艾塞那肽联合二甲双胍对肥胖 2 型糖尿病患者血管内皮功能的影响[J]. 山东医药, 2014, 54(42): 48-50.
- [5] Aroda VR, De Young MB. Clinical implications of exenatide as a twice-daily or once-weekly therapy for type 2 diabetes[J]. Postgrad Med, 2011, 123(5): 228-238.
- [6] 宋福晨, 郝清智. 糖尿病足患者肱动脉血管内皮功能、股动脉 IMT 变化及意义[J]. 山东医药, 2012, 52(2): 97-98.
- [7] 董海平. 瑞格列奈联合二甲双胍治疗肥胖型 2 型糖尿病的有效性研究[J]. 海峡药理学, 2012, 24(4): 201-203.
- [8] 张洁, 吕晓静, 董闪闪, 等. 地特胰岛素联合瑞格列奈对 2 型糖尿病患者血糖波动、氧化应激的影响[J]. 疑难病杂志, 2013, 12(7): 502.
- [9] Karagianni P, Polyzos SA, Kartali N, et al. Comparative efficacy of exenatide versus insulin glargine on glycemic control in type 2 diabetes mellitus patients inadequately treated with metformin monotherapy[J]. Adv Med SCI, 2013, 58(1): 38-43.

收稿日期: 2015-03-13; 修回日期: 2015-04-02

(上接第 374 页)

NOX2 水平, 对恢复患者体内的氧化-抗氧化动态平衡, 促进患者康复或许有作用。

参考文献:

- [1] 陆征宇, 董强. 脑缺血后神经血管保护机制和损伤机制研究进展[J]. 中华脑血管病杂志: 电子版, 2013, 7(3): 153-159.
- [2] Vivekananthan DP, Penn MS, Sapp SK, et al. Use of antioxidant vitamins for the prevention of cardiovascular disease: meta-analysis of randomised trials[J]. Lancet, 2003, 361(9374): 2017-2023.
- [3] Griending KK, Sorescu D, Ushio-Fukai M. NAD(P)H oxidase: role in cardiovascular biology and disease[J]. Circ Res, 2000, 86(5): 494-501.
- [4] 中华神经科学会, 中华神经外科学会. 各类脑血管疾病诊断要点[J]. 中华神经科杂志, 1996, 29(6): 379-380.
- [5] Sierra C, Coca A, Schiffrin EL. Vascular mechanisms in the pathogenesis of stroke[J]. Curr Hyperten Rep, 2011, 13(3): 200-207.
- [6] Iadecola C and Anrather J. The immunology of stroke: from mechanisms to translation[J]. Nat Med, 2011, 17(7): 796-808.
- [7] Green SP, Cairns B, Rae J, et al. Induction of gp91-phox, a component of the phagocyte NADPH oxidase, in microglial cells during central nervous system inflammation[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2001, 21(4): 374-384.

- [8] Walder CE, Green SP, Darbonne WC, et al. Ischemic stroke injury is reduced in mice lacking a functional NADPH oxidase[J]. Stroke, 1997, 28(11): 2252-2258.
- [9] Chen H, Song YS, and Chan PH. Inhibition of NADPH oxidase is neuroprotective after ischemia-reperfusion[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2009, 29(7): 1262-1272.
- [10] Kahles T, Luedike P, Endres M, et al. NADPH oxidase plays a central role in blood-brain barrier damage in experimental stroke[J]. Stroke, 2007, 38(11): 3000-3006.
- [11] Ushio-Fukai M. Redox signaling in angiogenesis: role of NADPH oxidase[J]. Cardiovasc Res, 2006, 71(2): 226-235.
- [12] Chen H, Yoshioka H, Kim GS, et al. Oxidative stress in ischemic brain damage: mechanisms of cell death and potential molecular targets for neuroprotection[J]. Antioxid Redox Signal, 2011, 14(8): 1505-1517.

收稿日期: 2014-12-31; 修回日期: 2015-03-20