

· 临床研究 ·

常压氧联合高压氧对急性脑梗死患者血清细胞间黏附分子及基质金属蛋白酶-9的影响

袁海成*, 许 波, 宋 博, 孙 锋

(青岛市中心医院神经内科, 青岛 266042)

【摘要】目的 探讨常压氧(NBO)联合高压氧(HBO)对急性脑梗死血清细胞间黏附分子及基质金属蛋白酶-9(MMP-9)水平的影响。**方法** 选择2011年12月至2014年3月在青岛市中心医院神经内科住院且发病24h内来院就诊的168例急性脑梗死患者为急性脑梗死组,将其随机分为常规治疗、HBO治疗及NBO联合HBO治疗3个亚组,分别在治疗前、治疗10d后采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定各亚组血清可溶性细胞间黏附分子(sICAM-1)、可溶性E-选择素(sE-selectin, sES)及MMP-9水平,分析各亚组治疗前后神经功能缺损变化。另以50名正常人组成正常对照组。**结果** 3个亚组治疗10d后,血清sICAM-1、sES和MMP-9水平分别较治疗前显著下降($t=8.754\sim 11.351$, $P<0.01$);HBO亚组、NBO+HBO亚组患者显著低于常规亚组($t=2.237\sim 4.162$, $P<0.05$ 或 0.01);与HBO亚组比较,NBO+HBO亚组患者血清sICAM-1、sES和MMP-9水平均显著下降($t=2.141\sim 2.366$, $P<0.01$);HBO亚组、NBO+HBO亚组治疗10d后,NIHSS评分较常规亚组显著下降($t=5.367$, $P<0.01$; $t=9.943$, $P<0.01$),而NBO+HBO亚组较HBO亚组治疗后NIHSS评分显著下降,差异具有统计学意义($t=2.827$, $P<0.01$)。**结论** NBO联合HBO治疗抑制血清sICAM-1、sES和MMP-9水平优于HBO亚组,且更能改善急性脑梗死患者临床预后。

【关键词】 脑梗死; 细胞间黏附分子1; 基质金属蛋白酶9; 高压氧合作用; 常压氧

【中图分类号】 R743.33; R341.6

【文献标识码】 A

【DOI】 10.3724/SP.J.1264.2014.000210

Effect of normobaric oxygen combined with hyperbaric oxygen on serum soluble intercellular adhesion molecule and matrix metalloproteinase-9 in patients with acute cerebral infarction

YUAN Hai-Cheng*, XU Bo, SONG Bo, SUN Feng

(Department of Neurology, Central Hospital of Qingdao, Qingdao 266042, China)

【Abstract】 Objective To determine the effect of the combination of normobaric oxygen (NBO) and hyperbaric oxygen (HBO) on the serum levels of soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1), soluble E-selectin (sE-selectin, sES) and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in the patients with acute cerebral infarction. **Methods** A total of 168 patients with acute cerebral infarction within 24 h after onset hospitalized in our department from December 2011 to March 2014 were enrolled in this study as acute cerebral ischemia group. They were prospectively and randomly divided into 3 subgroups, that is, routine treatment subgroup, HBO subgroup and NBO+HBO subgroups. Their serum levels of sICAM-1, sES and MMP-9 were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) before and at 10d after treatment. The National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) was employed to assess their neurological defects. The other 50 practical health persons were enrolled as control group. **Results** After 10 days' treatment, the serum levels of sICAM-1, sES and MMP-9 were significantly decreased in all 3 treatment groups. ($t=8.754\sim 11.351$, $P<0.01$), with those of HBO and NBO+HBO subgroups obviously lower than the routine group ($t=2.237\sim 4.162$, $P<0.05$ or 0.01). Compared with the HBO subgroup, these levels were more significantly decreased in the NBO+HBO subgroup ($t=2.141\sim 2.366$, $P<0.01$). The HBO and NBO+HBO subgroups had markedly lower NIHSS scores than the routine subgroup at 10d after treatment ($t=5.367$, $P<0.01$; $t=9.943$, $P<0.01$), and the scores of the NBO+HBO subgroup were more significantly decreased than that of HBO subgroup ($t=2.827$, $P<0.01$). **Conclusion** The combined therapy of NBO+HBO is superior to HBO monotherapy in the inhibition of serum sICAM-1, sES and MMP-9 levels, and improves the clinical prognosis of the patients with acute cerebral infarction.

【Key words】 cerebral infarction; intercellular adhesion molecule-1; matrix metalloproteinase 9; hyperbaric oxygen; normobaric oxygen

Corresponding author: YUAN Hai-Cheng, E-mail: yuanhaicheng@sina.com

急性脑梗死具有高发病率、高致残率及高死亡率等特点。研究表明,急性脑梗死后,细胞黏附分子介导的炎症反应及基质金属蛋白酶(matrix metallo-proteinase, MMP)表达上调,参与缺血缺氧过程和脑水肿的形成,而纠正组织低氧状态是有效缓解患者预后的重要因素。我们前期研究表明高压氧(hyperbaric oxygen, HBO)能够减轻缺血再灌注损伤及炎症反应,下调患者血清可溶性细胞间黏附分子(soluble intercellular adhesion molecule-1, sICAM-1)、可溶性E-选择素(soluble E-selectin, sE-selectin)及MMP-9水平而发挥神经保护作用^[1];动物实验已经证实,早期常压氧(normobaric oxygen, NBO)治疗能够抑制氧化应激及炎症反应,而起到缩小梗死体积,改善神经功能预后的作用^[2]。本研究拟进一步探讨NBO联合HBO对急性脑梗死进行早期干预,并分析对急性脑梗死患者细胞黏附分子和MMP-9水平的影响,现报道如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选择2011年12月至2014年3月在青岛市中心医院神经内科住院的急性脑梗死患者,均为发病24h内来院就诊,且入院前未接受任何治疗。所有患者入院诊断符合全国第四届脑血管病会议制定的急性脑梗死诊断标准,并经头颅CT平扫或MRI平扫确诊。所有患者参照急性脑梗死的英国牛津郡社区脑卒中项目(Oxfordshire Community Stroke Project, OCSF)分型分为前循环梗死、后循环梗死,同时采用美国国立卫生研究院脑卒中量表(National Institutes of Health Stroke Scale, NIHSS)进行神经功能缺损评价,并排除严重肝肾功能障碍、风湿免疫性疾病、感染性疾病、恶性肿瘤、血液系统疾病及外伤等。对于接受HBO治疗患者,进展性及大面积脑梗死、意识障碍或NIHSS评分 ≥ 15 分不能独立完成HBO治疗者、继发性癫痫、合并高血压且药物控制不理想者(血压 $> 160/100\text{mmHg}$; $1\text{mmHg} = 0.133\text{kPa}$)、既往有中毒及氧过敏者均排除。急性脑梗死组共纳入168例急性脑梗死患者,其中男84例,女84例,年龄(66.4 ± 11.5)岁;合并冠心病19例,高血压40例,糖尿病24例,高脂血症34例。该组患者随机分为3个亚组,每个亚组各56例,即常规治疗亚组(常规亚组)、HBO治疗亚组(HBO亚组)和NBO + HBO亚组,3个亚组患者间性别、年龄、既往史、神经功能缺损评分及OCSF分型示前后循环梗死比例差异均无统计学意义($P > 0.05$)。正常对照组选择同期

在我院接受健康体检的正常人50名,其中男27例,女23例,年龄(65.7 ± 10.6)岁,年龄和性别与急性脑梗死组患者相比,差异无统计学意义,并排除急性脑梗死、严重肝肾功能障碍、自身免疫性疾病、感染性疾病、恶性肿瘤、外伤等。

1.2 干预措施

所有急性脑梗死患者均在入院24h内接受常规药物治疗及HBO治疗干预。常规亚组参照2010年中华医学会神经病学分会制定的《急性脑卒中诊治指南》的推荐^[3],给予抗血小板聚集、他汀类药物调脂治疗,曲克芦丁(维脑路通, troxerutin)静滴输液治疗,并早期针灸及功能康复训练干预。HBO亚组在接受常规药物治疗的基础上,加用HBO治疗:采用国产中型多人空气加压氧舱,加压30min至压力为0.2MPa后稳压,患者戴面罩吸氧60min,氧浓度保持99.0%,缓慢减压40min出舱,1次/d,连续治疗10次为1个疗程,共治疗1个疗程。对HBO + NBO亚组的患者,除给予常规药物治疗及HBO治疗外,另给予NBO治疗:利用常压吸氧设备,在常压下采用面罩吸纯氧,1次/d,60min/次,连续10d。

1.3 检测指标和方法

常规、HBO及NBO + HBO3个亚组患者分别于治疗前、治疗10d后清晨空腹抽血静脉血5ml,对照组清晨空腹采血1次,室温中放置,以3000r/min的离心10min,留取上清液,置于 -85°C 低温冰箱中保存待测。应用酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)测定血清sICAM-1、sES和MMP-9水平,严格按照试剂盒(奥地利Bender Med System公司和美国R&D Systems公司)说明书进行操作。

1.4 疗效评定方法

患者入院时及入院10d时采用NIHSS评定其神经功能缺损情况。

1.5 统计学处理

采用SPSS19.0版软件包进行统计学分析。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,各亚组治疗前后比较采用配对t检验,3个亚组治疗后,亚组间两两比较采用t检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3个亚组患者血清sICAM-1、sES和MMP-9的水平比较

治疗前常规、HBO和NBO + HBO3个亚组患者组

间两两比较,血清sICAM-1、sES和MMP-9水平均显著高于对照组($t = 8.754 \sim 11.351$, $P < 0.01$);但3亚组间两两比较,差异无统计学意义($t = 0.088 \sim 1.480$, $P > 0.05$)。治疗10d后,3亚组患者血清sICAM-1、sES和MMP-9水平与治疗前相比均下降,差异具有统计学意义($t = 8.754 \sim 11.351$, $P < 0.01$)。其中,HBO亚组、NBO + HBO亚组与常规亚组比较,血清sICAM-1、sES和MMP-9水平均显著降低($t = 2.237 \sim 4.162$, $P < 0.05$ 或 0.01);而NBO + HBO亚组与HBO亚组比较,血清sICAM-1、sES和MMP-9水平亦显著下降,差异具有统计学意义($t = 2.141 \sim 2.366$, $P < 0.01$;表1)。

2.2 各亚组患者治疗前后NIHSS评分及临床疗效比较

常规、HBO与NBO + HBO3亚组治疗后NIHSS评分较同亚组治疗前下降,差异有统计学意义($t = 2.183$, $P < 0.05$; $t = 5.968$, 7.638 , $P < 0.01$);而HBO亚组、NBO + HBO亚组治疗后NIHSS评分较常规亚组治疗后下降,差异有统计学意义($t = 5.367$, $P < 0.01$; $t = 9.943$, $P < 0.01$)。NBO + HBO亚组较HBO亚组治疗后NIHSS评分显著下降,差异具有统计学意义($t = 2.827$, $P < 0.01$;表2)。

3 讨论

局灶性缺血再灌注能够诱导中性粒细胞向缺血区浸润,并释放氧自由基等物质,损伤神经元及神经胶质细胞,并释放促炎症因子,从而进一步加重炎症反应。急性脑梗死能够诱导血清sICAM-1升高而促进中性粒细胞黏附于血管内皮细胞表面,导致微循环障碍,同时产生和释放大氧自由基及血小板激活因子引起血管内皮细胞损伤,加重脑组织缺血低氧。sES主要参与中性粒细胞与内皮细胞的

起始黏附作用。MMP-9过度表达可通过破坏脑血管基膜,在血脑屏障破坏及脑水肿形成过程中发挥关键作用。

血清sICAM-1、sES等细胞黏附分子表达上调参与脑梗死的发病机制,而HBO能够通过降低血清sICAM-1、sES及MMP-9水平而改善患者神经功能缺损。然而HBO临床应用也有一定限制,对于急性脑梗死合并高血压患者,在HBO治疗过程中由于血压骤升骤降,导致脑动脉破裂或低灌注,从而增加脑出血及脑梗死风险。

近年来,NBO能够在患者卒中发病时即可给予面罩高流量吸氧治疗,从而改善延缓脑梗死的形成,且设备简单、安全易行,能够有效延长溶栓治疗时间窗。NBO是指在正常气压环境下,采用面罩吸氧的方式吸入高浓度氧气的治疗方法。研究表明,尽管NBO不能直接提高血氧浓度,但通过提高脑梗死区域氧化血红蛋白的浓度、改善局部脑血流容积(cerebral blood volume, CBF)^[4,5],提高机体有氧代谢能力,保护缺血脑组织、改善血脑屏障的通透性^[6],提高缺血组织对缺氧的耐受能力,并为重组组织型纤溶酶原激活物(recombinant tissue-plasminogen activator, rt-PA)溶栓延长时间窗^[7]。

本组研究提示,早期NBO联合HBO能够有效降低急性脑梗死血清sICAM-1、sES和MMP-9水平,并且较HBO更能降低急性脑梗死患者炎症反应、改善患者临床预后,进一步支持NBO联合HBO治疗的临床疗效优于单纯HBO治疗^[8]。此外,有研究表明,急性脑梗死临床预后与NBO治疗启动时间有密切相关^[9],但过度延长NBO治疗诱导活性氧的生成,造成活性氧-抗氧化系统平衡紊乱,从而加重氧化损伤。目前研究结果支持NBO治疗以1~3h为宜。

表1 各组血清sICAM-1、sE-selectin和MMP-9水平比较
Table 1 Comparison of serum sICAM-1, sE-selection and MMP-9 between different groups ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	sICAM-1($\mu\text{g/L}$)	sE-selectin(mg/L)	MMP-9($\mu\text{g/L}$)
Control group	50	204.3 $\pm$ 39.2	10.7 $\pm$ 2.9	181.7 $\pm$ 85.4
Routine treatment subgroup	56			
Before treatment		345.6 $\pm$ 107.9**	22.3 $\pm$ 9.4**	373.5 $\pm$ 119.5**
10d after treatment		317.4 $\pm$ 92.7##	14.1 $\pm$ 2.9##	275.4 $\pm$ 135.8##
HBO subgroup	56			
Before treatment		352.4 $\pm$ 113.2**	21.8 $\pm$ 9.5**	389.5 $\pm$ 101.2**
10d after treatment		241.7 $\pm$ 119.3## Δ	11.5 $\pm$ 8.2## Δ	224.3 $\pm$ 124.5## Δ
NBO+HBO subgroup	56			
Before treatment		351.7 $\pm$ 107.4**	19.7 $\pm$ 9.2**	391.2 $\pm$ 104.2**
10d after treatment		193.2 $\pm$ 113.2## Δ Δ Δ	7.9 $\pm$ 7.9## Δ Δ Δ	175.1 $\pm$ 118.6## Δ Δ Δ

sICAM-1: soluble intercellular adhesion molecule; sE-selectin: soluble E-selectin; MMP-9: matrix metalloproteinase-9; HBO: hyperbaric oxygen; NBO: normobaric oxygen. Compared with control group, ** $P < 0.01$; compared with the same subgroup before treatment, ## $P < 0.01$; compared with

the routine treatment subgroup after treatment, $^{\Delta}P < 0.05$, $^{\Delta\Delta}P < 0.01$; compared with HBO subgroup after treatment, $^{**}P < 0.01$

表2 3个亚组患者治疗前后NIHSS评分比较

Table 2 Comparison of NIHSS scores in three subgroups before and after treatment ($n = 56$, $\bar{x} \pm s$)

Subgroup	Before treatment	After 10 days
Routine treatment	8.1 ± 4.5	$6.3 \pm 2.4^*$
HBO	8.2 ± 3.8	$3.2 \pm 3.6^{***}$
HBO+NBO	7.9 ± 4.3	$1.5 \pm 2.7^{***\Delta\Delta}$

NIHSS: National Institutes of Health Stroke Scale; HBO: hyperbaric oxygen; NBO: normobaric oxygen. Compared with before treatment in the same subgroup, $^*P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$; compared with the routine treatment subgroup, $^{***}P < 0.01$; compared with the HBO subgroup, $^{\Delta\Delta}P < 0.01$

关于氧疗对于sICAM-1、sES的作用机制是直接抑制黏附分子mRNA表达, 还是间接作用于细胞因子从而影响黏附分子的水平, 目前尚不明确; 由于MMP-9的活性受到多种细胞因子调节^[10], HBO治疗如何抑制MMP-9表达的机制也不清楚。此外, 不同OCSP类型的急性脑梗死对NBO及HBO治疗的疗效有无差异, 仍待进一步探索。

本组研究表明, NBO联合HBO能够通过调节炎症介质水平发挥脑保护作用, 并且优于单纯HBO; 并且由于NBO简便易行, 可操作性强, 能够在急性脑梗死发生时即刻进行, 因此NBO结合HBO治疗, 对于尽早改善急性脑梗死缺血组织的血氧供应, 提高脑组织的缺血耐受性, 减轻患者神经功能缺损等均具有重要临床意义。

【参考文献】

- [1] Zhao RL, Wang CX, Yu Y, *et al.* Effects of hyperbaric oxygenation therapy on the concentrations of sICAM-1, sVCAM-1, sE-selectin and matrix metalloproteinase-9 in patients with cerebral infarction[J]. Chin J Phys Med Rehabil, 2007, 29(9): 612-616. [赵仁亮, 王春霞, 于扬, 等. 高压氧辅助治疗对脑梗死患者血清细胞黏附分子及基质金属蛋白酶-9的影响及其临床意义[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2007, 29(9): 612-616.]
- [2] Singhal AB, Ratai E, Benner T, *et al.* Magnetic resonance spectroscopy study of oxygen therapy in ischemic stroke[J]. Stroke, 2007, 38(10): 2851-2854.
- [3] Acute Ischemic Stroke Treatment Guidelines Writing Group, Society of Neurology of Chinese Medical Association. Guidelines for Diagnosis and Treatment of

Acute Ischemic Stroke in China 2010[J]. Chin J Neurol, 2010, 43(2): 146-153. [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): 146-153.]

- [4] Sun L, Strelow H, Mies G, *et al.* Oxygen therapy improves energy metabolism in focal cerebral ischemia[J]. Brain Res, 2011, 1415: 103-108.
- [5] Wu O, Lu J, Mandeville JB, *et al.* Dynamic functional cerebral blood volume responses to normobaric hyperoxia in acute ischemic stroke[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2012, 32(9): 1800-1809.
- [6] Liu BY, Zhang XM, Guo XS, *et al.* The effect of normobaric oxygenation on the blood-brain barrier damage after reperfusion in cerebral ischemic rats[J]. J Shandong Univ (Health Sci), 2010, 48(12): 27-31. [刘宝义, 张晓明, 郭晓笋, 等. 常压氧疗对大鼠脑缺血再灌注后血脑屏障损伤的作用及机制[J]. 山东大学学报(医学版), 2010, 48(12): 27-31.]
- [7] Liu W, Hendren J, Qin XJ, *et al.* Normobaric hyperoxia reduces the neurovascular complications associated with delayed tissue plasminogen activator treatment in a rat model of focal cerebral ischemia[J]. Stroke, 2009, 40(7): 2526-2531.
- [8] Michalski D, Härtig W, Schneider D, *et al.* Use of normobaric and hyperbaric oxygen in acute focal cerebral ischemia: a preclinical and clinical review[J]. Acta Neurol Scand, 2011, 123(2): 85-97.
- [9] Pan XL, Xu LM, Fan QR, *et al.* Application combination of normobaric and hyperbaric oxygen therapy in the elderly with hypertension cerebral infarction[J]. Chin J New Clin Med, 2009, 2(1): 66-67. [盘晓荣, 许立民, 樊秋萍, 等. 常压氧联合高压氧对老年高血压性脑梗死的治疗价值探讨[J]. 中国临床新医学, 2009, 2(1): 66-67.]
- [10] Liu A, Sui SJ, Zhou XC, *et al.* Effect of different durations of normobaric oxygenation on cerebral ischemic-reperfusion injury in rats[J]. J Nurs Sci, 2013, 28(6): 1-4. [刘 盎, 隋树杰, 周晓辰, 等. 常压氧持续不同时间对大鼠脑缺血再灌注损伤的影响[J]. 护理学杂志, 2013, 28(6): 1-4.]

(编辑: 李菁竹)