

• 综 述 •

脑卒中诊断和风险预测的新标志物

巩岩霞 综述, 王金良 审核
(天津市公安医院检验科 300042)

关键词: 卒中; 诊断; 预测
DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.01.033 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-4130(2011)01-0069-03

全球约有 5 亿人患脑卒中或短暂性脑缺血, 直接和间接医疗费用约 6 890 亿美元。在西方国家, 脑卒中发病率和死亡率占第三位, 缺血性脑卒中占 85%^[1]。我国每年有 200 万患者发病, 因此, 早期发现和预测其发病风险已成为研究热点。现就近年来的脑卒中标志物的进展作一简介。

1 S100B 蛋白

S100B 蛋白是 S100 蛋白家族中的一员, 其亚单位为 $\alpha\beta$ 和 $\beta\beta$, 它在神经组织, 尤其是脑星形细胞、外周许旺细胞中含量丰富。其在 CSF 中比血中含量高 40 倍, 血中含量升高是血-脑屏障功能失常的指标, 脑梗死后 24 h 血中含量即可明显升高。Johnson 等^[2]发现, 血中 48 h 的含量与梗死面积相关。Jauch 等^[3]发现其含量与 NIHSS 积分间差异有统计学意义($r^2=0.263, P<0.0001$)。国内已有临床应用的报道, 但 S100B 蛋白的特异性不佳, 在脑损伤和创伤后也明显升高, 且不能鉴别出血性和缺血性脑卒中。

2 脂蛋白相关磷脂酶 A2(Lp-PLA2)

其是相对分子质量 50×10^3 的钙离子不依赖性丝氨酸酯酶, 水解氧化的磷脂释放促炎性反应溶磷脂酰胆碱和氧化脂肪酸。Lp-PLA2 结合于 LDL 在血中循环, 尤其易于和小而密的 LDL 颗粒结合。它产生和表达于富含巨噬细胞的动脉粥样硬化损伤部位, 并在冠状动脉损伤进展时显著表达。FDA 已经批准使用 Lp-PLA2 作为冠心病和卒中中长期预后风险的指标。鹿特丹研究项目包括大约 8 000 例年龄大于 55 岁的男性和女性^[4]。在平均随访的 6.4 年里有 110 例发生缺血性卒中, Lp-PLA2 活性第 1 和第 4 个四分位数相比, 经年龄和性别调整后的危险值为 2.0。而血脂参数(胆固醇和非 HDL 胆固醇)在卒中患者和对照人群无差异。另一项研究也显示, 在连续 6 年发生的 194 例缺血性卒中, 卒中组和对照组的血浆 Lp-PLA2 的平均基础值比较, 差异有统计学意义(分别为 443、374 $\mu\text{g/L}$, $P<0.001$)^[5]。Lp-PLA2 独立预测卒中的 HR 2.08 (95% CI 1.20~3.62)。

Lp-PLA2 可以测质量也可以测活性, 但在研究之间的测定法很少一致。质量法应用较多, 但两者的测定标准尚未实现。

3 非对称二甲精氨酸(ADMA)

其是通过 L-精氨酸转译后的甲基化作用形成, 在蛋白水解后释出。在血液、尿液和脑脊液中检测 ADMA 和对称二甲精氨酸(SDMA)。但 SDMA 没有活性, ADMA 是一氧化氮合酶的强有力的抑制剂, 它介导广泛的内皮损伤。因此, 血浆 ADMA 的升高被假定为卒中风险预测的标志物; 同时, 与其他传统的心血管风险因子相关, 包括高血压、糖尿病、高同型半胱氨酸血症、左心室肥厚和高胆固醇血症。ADMA 可以用 ELISA 或 HPLC/液质联用分析仪(LC-MS/MS)测定。几项临床研究证实了血浆 ADMA 和卒中风险相关。Yoo 和 Lee^[6]

观察了 52 例卒中患者和 36 例健康者, 证实 ADMA 含量在复发卒中(均值为 2.28 $\mu\text{mol/L}$), 首次卒中(均值为 1.46 $\mu\text{mol/L}$)与对照组(均值为 0.93 $\mu\text{mol/L}$)比较, 差异有统计学意义($P=0.0001$)。对照组中, 老年人群数值于 90 百分位数者, 其卒中风险升高优势比(OR)6.05, 95% CI 2.77~13.3 ($P=0.02$)。哥德堡妇女人口研究评估了 880 例妇女, 证实了 ADMA 含量在 24 年中轻微升高(0.15 $\mu\text{mol/L}$), 可以使卒中和心肌梗死发生提高 30%, 在最高五分位数的 ADMA 含量($<0.71 \mu\text{mol/L}$)的相对危险性(RR)为 1.75; (95% CI 1.18~2.59)最高。国内张福青等^[7]的研究也表明, 卒中患者血浆中 ADMA 明显升高, 与血管内皮功能损伤有关。ADMA 是 1 种新的生物学标志物, 和心血管死亡率、内皮损伤、卒中风险相关, 但需要深入研究来明确保证其临床使用的有效性。

4 基质蛋白金属酶(MMPs)

MMPs 是锌离子和钙离子依赖性的内切酶家族, 主要用于细胞外基质蛋白的转移及降解。MMP 的活性调节对组织修复、炎症反应、血管生成和癌细胞代谢有重要意义。十多年前就发现缺血性脑组织中 MMP-9 含量增加^[8]。脑组织损伤时 MMP-9 含量上调, 并导致血脑屏障漏出和细胞死亡。血液中 MMP-9 含量迅速升高也和梗死、神经系统预后不良和出血后并发症有关。1 项最新的研究显示, 接受 rtPA 治疗的卒中患者的 MMP-9 含量升高, 可能提示“洗脱”现象^[9]。超急性的 MMP-9 含量升高可作为 rtPA 治疗后出血并发症的预测。目前, 所有 MMP-9 的测定方法均为酶免疫分析法, 尚未实现标准化; 各研究间的界限值和检测参数不能通用。

5 N-甲基-D-天门冬氨酸(NMDA)受体肽及其抗体

NMDA 与神经递质中的谷氨酸结合, 和所有脑组织中的神经细胞异质。典型的 NMDA 受体有 4 个亚单位, 2 个 NR1 和 2 个 NR2 亚单位, 当脑组织局部缺血或有神经毒性时, NR2 可分解为 NR2A 和 NR2B 肽片段。缺血性事件发生后, 免疫系统调节产生 NMDA 受体抗体, 不管是自身抗体还是 NR2 肽片段自身都可以在 CSF 和血液中定量测定。Dambinova 等^[10]用 ELISA 法测定了 105 例卒中或 TIA 患者和 255 例对照者的 NR2A/2B 自身抗体, 缺血性卒中和 TIA 患者 NR2 抗体的量明显升高($P<0.0001$), 但不能鉴别缺血性卒中和 TIA。以大于或等于 2.0 $\mu\text{g/L}$ 为界限, 缺血性卒中或 TIA 症状出现的 3 h 内, 诊断的敏感性(97%)和特异性(98%)很高, 缺血性卒中或 TIA 阳性预示值分别为 86% 和 91%, 阴性预示值均为 98%。1 项前瞻性多中心临床研究测定了 557 例进行冠状动脉手术患者 NR2 抗体含量, 来评估其预测发生神经系统并发症的能力, 结果只有 25 例患者外科手术前 NR2 抗体含量大于或等于 2.0 $\mu\text{g/L}$, 但是 25 例中 24 例患者在手术 48 h 内发生了神经系统并发症(RR 17.9, 95% CI 11.6~27.6)。因此, NR2 抗体可能在预测高风险个体发生神经系统事件方面有重

要作用^[11]。

6 胶质纤维酸性蛋白(GFAP)

GFAP 是只在大脑星形胶质细胞发现的单体细丝状蛋白。尽管 GFAP 的确切作用还未知,但是它参与了多种神经细胞活动,并在血脑屏障内神经功能发挥部分作用。最初的临床研究证实,与对照组相比,缺血性卒中患者血清 GFAP 含量升高,在症状出现 2~4 d 时达到峰含量。Foerch 等^[12]报道了包括 135 例卒中患者的前瞻性研究,这些患者在发病 6 h 内入院。入院时立即采集了血液标本,采用 CT 或 MRI 结果诊断为出血性或缺血性卒中。应用自动酶免疫技术,81% 的 ICH 患者检测出了 GFAP,而只有 5% 的缺血性卒中患者检出 GFAP。ICH 患者血清 GFAP 含量高达 111.6 ng/L,而缺血性卒中患者仅为 0.4 ng/L($P < 0.001$)。以 2.9 ng/L 为界限值时,用 GFAP 鉴别 ICH 和缺血性卒中的诊断敏感性为 79%,特异性为 98%($P < 0.001$)。同组人群的随后研究中,GFAP 的检测窗口期为卒中症状出现后的 2~6 h^[13]。

1 项包括 S100B、神经元特异性烯醇化酶(NSE)、GFAP、和活性蛋白 C-蛋白抑制剂复合物(APC-PCI)的多中心研究证实了 GFAP 鉴别 ICH 和缺血性卒中的能力;而 S100B、NSE 和 APC-PCI 无此能力^[14]。GFAP 和 APC-PCI 联合检测 NIHSS 积分的诊断敏感性和阴性预示值均为 100%,故可快速排除 ICH 而开始早期 rtPA 治疗。检测 GFAP 唯一可用的方法为酶免疫分析法,但此方法目前还不能标准化。

7 PKRA7(也称为 DJ-1)蛋白

最初认为 RKRAT 蛋白是癌基因,随后认为是和帕金森病相关的常染色体隐性基因^[15]。尽管 PKRA7 的结构还未明确,但是现在认为它参与修复神经氧化应激损伤的过程。用 ELISA 法深入研究血浆 PKRA7 含量,证实缺血性卒中患者比对照组明显升高($P < 0.001$),以 14.1 $\mu\text{g/L}$ 为 PKRA7 的界限值,诊断的敏感性为 54%,特异性为 90%^[16]。PKRA7 含量升高不能准确地区分卒中的类型(缺血性、出血性或 TIA)。

8 二磷酸核苷激酶 A

其是促进多种二磷酸核苷上的磷酸盐互换的酶,为神经元表达并参与卒中后缺血过程。用 ELISA 法同时分析 NADK 和 PKRA7, NADK 在症状发作的早期就有升高,诊断敏感性(67%)和特异性(90%)比 PKRA7 略好^[17]。

9 其他生物标志物

炎性标志物 C 反应蛋白、内皮细胞黏附因子(VCAM-1)、巨噬细胞趋化蛋白(MCP-1)脂代谢相关的 ApoC₁、ApoC₃、游离脂肪酸结合蛋白(FABP)、脑损伤有关的髓碱性蛋白(MBP)、神经元特异性烯醇化酶(NSE)、血凝相关的 D-二聚体和 vWF 因子等,均非卒中的特异性标志物,但不排除其会在卒中的诊断、预后和治疗中发挥作用^[18]。

10 多种标志物联合运用的作用

Reynolds 等^[19]收集了 223 例卒中患者使用 1 组标志物,包括 S100B、B 型神经生长因子、vWF、MMP-9 和 MCP-1 等 50 种标志物。上述 5 种标志物联合测定在诊断缺血性卒中时可以获得较高的敏感性(91%)和特异性(97%),检测标本是在症状出现后的 12 h 内采集的。第 2 项研究分别对 65 例疑为缺血性卒中患者和 157 例对照人群检测了 26 种标志物^[20]。结果 S100B、MMP-9、VCAM-1 和 vWF 联合预示卒中的敏感性和特异性均为 90%。Laskowitz 等^[21]在 130 例患者中检测 D-二聚体、CRP、BNP、MMP-9 和 S100B,这组人包括疑为急性卒中和类似卒中的患者,在症状出现的 6 h 内检测。结果诊断

缺血性卒中的敏感性为 81%,特异性 70%。应用 Triage 公司的卒中组合项目及其床旁检测平台,检验了 1 100 例疑似卒中患者。从症状出现到获取标本不超过 24 h,区分卒中和类似卒中的敏感性为 86%,特异性为 37%^[22]。

Whiteley 等^[23]最近发表关于预测和诊断缺血性卒中的标志物的系统评价,分析了 21 项研究,评估了 58 个单独标志物和 7 种不同的生物标志物组合。大多数的生物标志物单独使用时有较高的敏感性或特异性,但是研究设计的局限性阻碍了其临床使用。这些缺陷包括:研究的规模较小、参考标准和对照人群选择不当、诊断的分割点不明确、总体缺乏足够的临床诊断和鉴别性能。没有 1 个联合标志物组合研究得出计算卒中发生可能性的回归方程式。

参考文献

- [1] Saenger AK, Christensen RH. Stroke biomarkers: Progress and challenges for diagnosis, prognosis, differentiation, and treatment[J]. Clin Chem, 2010, 56(1): 21-23.
- [2] Johnson H, Johnson P, Birch-Jensen M, et al. S100B as a predictor of size and outcome of stroke after cardiac surgery[J]. Ann Thorac Surg, 2001, 71: 1433-1437.
- [3] Jauch EC, Lindsell C, Broderick J, et al. Association of serial biochemical markers with acute ischemic stroke: the National Institute of Neurological Disorders and Stroke recombinant tissue plasminogen activator[J]. Stroke, 2006, 37: 2508-2513.
- [4] Oei HH, van der Meer IM, Hofman A, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity is associated with risk of coronary heart disease and ischemic stroke: the Rotterdam Study[J]. Circulation, 2005, 111: 570-575.
- [5] Ballantyne CM, Hoogeveen RC, Bang H, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2, high sensitivity C-reactive protein, and risk for incident coronary heart disease in middle-aged men and women in the ARIC study[J]. Arch Intern Med, 2005, 165: 2479-2484.
- [6] Yoo JH, Lee SC. Elevated levels of plasma homocysteine and asymmetric dimethylarginine in elderly patients with stroke[J]. Atherosclerosis, 2001, 158: 425-430.
- [7] 张福青, 李新, 董茜, 等. 不对称性二甲基精氨酸与脑梗死的相关性研究[J]. 天津医药, 2001, 38(7): 55-56.
- [8] Anthony DC, Ferguson B, Matyzak MK, et al. Differential matrix metalloproteinases expression in cases of multiple sclerosis and stroke[J]. Neuropathol Appl Neurobiol, 1997, 23: 406-415.
- [9] Horstmann S, Kalb P, Koziol J, et al. Profiles of matrix metalloproteinases and their inhibitors, and laminin in stroke patients: influence of different therapies[J]. Stroke, 2003, 34: 2165-2170.
- [10] Dambinova SA, Khounteev GA, Izykenova G, et al. Blood test detecting autoantibodies to N-methyl-D-aspartate neuroreceptors for evaluation of patients with transient ischemic attack and stroke[J]. Clin Chem, 2003, 49: 1752-1762.
- [11] Bokesch PM, Izykenova GA, Justice JB, et al. NMDA receptor antibodies predict adverse neurological outcome af-

- ter cardiac surgery in high-risk patients[J]. *Stroke*, 2006, 37:1432-1436.
- [12] Foerch C, Curdt I, Yan B, et al. Serum glial fibrillary acidic protein as a biomarker for intracerebral haemorrhage in patients with acute stroke[J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2006, 77:181-184.
- [13] Dvorak F, Haberer I, Sitzler M, et al. Characterisation of the diagnostic window of serum glial fibrillary acidic protein for the differentiation of intracerebral haemorrhage and ischaemic stroke[J]. *Cerebrovasc Dis*, 2009, 27: 37-41.
- [14] Uden J, Strandberg K, Malm J, et al. Explorative investigation of biomarkers of brain damage and coagulation activation in clinical stroke differentiation[J]. *J Neurol*, 2009, 256:72-77.
- [15] Bonifati V, Rizzu P, van Baren MJ, et al. Mutations in the DJ-1 gene associated with autosomal recessive early-onset parkinsonism[J]. *Science (Wash DC)*, 2003, 299:256-259.
- [16] Lescuyer P, Allard L, Zimmermann-Ivol CG, et al. Identification of postmortem cerebrospinal fluid proteins as potential biomarkers of ischemia and neurodegeneration[J]. *Proteomics*, 2004, 4:2234-2241.
- [17] Allard L, Burkhard PR, Lescuyer P, et al. PARK7 and nucleoside diphosphate kinase A as plasma markers for the early diagnosis of stroke[J]. *Clin Chem*, 2005, 51:2043-2051.
- [18] 韩雪梅, 王金良. 脑损伤的标志物[J]. *江西医学检验*, 2007, 25(2):151-152.
- [19] Reynolds MA, Kirchick HJ, Dahlen JR, et al. Early biomarkers of stroke[J]. *Clin Chem*, 2003, 49:1733-1739.
- [20] Lynch JR, Blessing R, White WD, et al. Novel diagnostic test for acute stroke[J]. *Stroke*, 2004, 35:57-63.
- [21] Laskowitz DT, Blessing R, Floyd J, et al. Panel of biomarkers predicts stroke[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2005, 1053: 30.
- [22] Laskowitz DT, Kasner SE, Saver J, et al. Clinical usefulness of a biomarker-based diagnostic test for acute stroke: the biomarker rapid assessment in ischemic injury (BRAIN) study[J]. *Stroke*, 2009, 40:77-85.
- [23] Whiteley W, Chong WL, Sengupta A, et al. Blood markers for the prognosis of ischemic stroke: a systematic review[J]. *Stroke*, 2009, 40:380-389.
- (收稿日期:2010-05-20)