

• 论 著 •

基质金属蛋白酶-9、同型半胱氨酸及脂蛋白(a)在急性脑卒中患者中的水平及临床意义

杜 坤¹, 张 洁², 项忠伟¹, 张广慧^{1△}

(上海交通大学医学院附属新华医院:1. 检验科;2. 医务部, 上海 200092)

摘要:目的 探讨急性脑卒中患者血清中基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、同型半胱氨酸(Hcy)及脂蛋白(a) [Lp(a)]水平检测的临床意义,分析各指标水平与急性脑卒中患者美国国立卫生研究所脑卒中量表(NIHSS)的相关性,以及与预后的关系。方法 选取经影像学检查确诊的急性脑卒中患者 203 例纳入脑卒中组,其中缺血性脑卒中患者 165 例,出血性脑卒中患者 38 例。选择同期体检健康者 100 例纳入对照组。分别测定急性脑卒中患者入院第 2 天及健康体检者体检当日的 MMP-9、Hcy、Lp(a)等指标水平,记录患者入院时的 NIHSS 评分,并根据 NIHSS 评分分为重度组、中度组、轻度组。对所有患者进行 6 个月的随访观察,记录患者发生不良事件的情况。结果 脑卒中组与对照组有高血压史、吸烟史患者比例,空腹血糖、三酰甘油、D-二聚体、Hcy、载脂蛋白(a)、白细胞计数、C 反应蛋白、降钙素原、MMP-9、Lp(a)水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。NIHSS 评分重度组和中度组的患者血清中的 MMP-9、Hcy、Lp(a)水平高于轻度组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。Pearson 相关分析结果显示,患者血清 MMP-9、Hcy、Lp(a)与 NIHSS 评分呈显著正相关(r 分别为 0.572、0.475、0.590, $P = 0.001$)。患者入院时的 MMP-9、Hcy、Lp(a)的表达水平与 6 个月内的不良事件发生率密切相关,是影响脑卒中患者预后的独立危险因素。结论 急性脑卒中患者血清 MMP-9、Hcy、Lp(a)水平明显升高,且与病情的严重程度及不良事件发生率相关,可在一定程度上反映急性脑卒中严重程度,并用于评估预后。

关键词:脑卒中; 基质金属蛋白酶-9; 脂蛋白(a); 同型半胱氨酸; 美国国立卫生研究所脑卒中量表

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.16.016

中图法分类号:R446.1

文章编号:1673-4130(2020)16-1987-04

文献标识码:A

Levels and clinic significant of matrix metalloproteinase-9, homocysteine and lipoprotein (a) in patients with acute stroke

DU Kun¹, ZHANG Jie², XIANG Zhongwei¹, ZHANG Guanghui^{1△}

(1. Department of Clinic Laboratory; 2. Department of Medical Affair, Xinhua Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200092, China)

Abstract: **Objective** To investigate the significance of detection of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), homocysteine (Hcy) and lipoprotein(a) [Lp(a)] in patients with acute stroke. The relationship between the level of biomarkers and the National Institute of Health Stroke Scale (NIHSS), the prognosis of patients with acute stroke. **Methods** A total of 203 patients with acute stroke diagnosed by imaging examination were enrolled in stroke group, including 165 patients with ischemic stroke and 38 patients with hemorrhagic stroke. A total of 100 cases who underwent healthy physical examination at the same time were selected as control group. The levels of MMP-9, Hcy, Lp(a) and other indicators of acute stroke patients were measured at the time of admission, those of healthy person were measured at the time of physical examination, and the NIHSS scores of patients admitted to hospital were recorded, and according to the NIHSS score, they were divided into severe group, moderate group and mild group. All patients were followed up for 6 months to record the patient's serious adverse events. **Results** The proportion of patients with a history of hypertension and smoking, fasting blood glucose, triglyceride, d-dimer, Hcy, apolipoprotein a, white blood cell count, C-reactive protein, procalcitonin, MMP-9, Lp(a) between stroke group and control group were statistically significant ($P < 0.05$). The levels of MMP-9, Hcy, and Lp(a) in the serum of patients in severe group and moderate group were higher than those of the mild group ($P < 0.05$). Serum MMP-9, Hcy, Lp(a) and NIHSS scores correlated pos-

作者简介:杜坤,男,主管技师,主要从事临床生物化学研究。△ **通信作者,** E-mail: zhangguanghui@xinhua.med.com.cn.

本文引用格式:杜坤,张洁,项忠伟,等. 基质金属蛋白酶-9、同型半胱氨酸及脂蛋白(a)在急性脑卒中患者中的水平及临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(16): 1987-1990.

itively in patients ($r = 0.572, 0.475, 0.590, P = 0.001$). Follow-up of the patients revealed that the expression level of MMP-9, Hcy, and Lp(a) at the time of admission closely related to the incidence of adverse events within 6 months, and were independent risk factors for the prognosis of stroke patients. **Conclusion** The levels of MMP-9, Hcy and Lp(a) in patients with acute stroke increased significantly, and related to the severity of the disease and the incidence of adverse events, which could reflect the severity of acute stroke and evaluate the prognosis.

Key words: stroke; matrix metalloproteinase-9; lipoprotein(a); homocysteine; National Institute of Health Stroke Scale

急性脑卒中是临床常见的脑血管疾病之一,是由于脑部血管突然破裂或因血管阻塞等急性脑循环障碍导致血液不能流入大脑而引起的脑组织全面性或者局限性功能损伤^[1]。根据急性脑卒中发病机制将脑卒中分为缺血性脑卒中(IS)和出血性脑卒中(ICH),其中大约 70% 为 IS^[2]。急性脑卒中具有发病率高、病死率高和致残率高的特点,是中国成年人残疾的首要原因之一,对患者造成巨大的痛苦,给家庭、社会均带来了沉重的负担^[3]。脑卒中与高血压、糖尿病、血脂异常、炎性反应等多种危险因素相关,是多种疾病共同作用的结果^[4-6]。本研究通过对急性脑卒中患者血清中基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、同型半胱氨酸(Hcy)、脂蛋白(a)[Lp(a)]水平进行测定,探讨急性脑卒中患者检测 MMP-9、Hcy、Lp(a)的临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2018 年 7 月至 2019 年 1 月本院急诊中心收治的经头颅电子计算机断层扫描、磁共振成像等影像学检查确诊的急性脑卒中患者 203 例纳入脑卒中组,其中 IS 患者 165 例,ICH 患者 38 例;男 103 例,女 100 例;平均(75.34±12.06)岁;体质指数(BMI)为(22.16±2.41)kg/m²。记录患者入院时的美国国立卫生研究所脑卒中量表(NIHSS)评分,根据 NIHSS 评分将患者分为轻度组(NIHSS<5 分)72 例,中度组(NIHSS 为 5~15 分)70 例和重度组(NIHSS>15 分)61 例。选取同期体检健康者 100 例纳入对照组,其中男 53 例,女 47 例;平均(67.40±9.24)岁;BMI 为(21.75±2.19)kg/m²。排除标准:(1)合并恶性肿瘤、代谢及免疫疾病患者。(2)合并各种感染性疾病,1 年内患过心肌梗死或进行过大手术的患者。(3)大面积脑梗死及其他脑血管疾病患者。脑卒中组与对照组性别构成比、年龄、BMI 比较,差异无统计学意义($\chi^2 = 0.025, P = 0.998; t = 0.784, P = 0.218; t = 0.134, P = 0.079$),具有可比性。

1.2 随访观察 对所有患者进行 6 个月的随访观察,记录发生不良事件的患者例数,不良事件包括死亡、再梗死入院等,发生不良事件的患者 49 例(24.1%)。

1.3 标本采集 患者入院后第 2 天及健康体检者体

检当日清晨采集空腹静脉血 3~5 mL(无抗凝剂),4℃ 4 000 r/min 离心 10 min 分离血清,分离得到的血清置于-80℃冰箱保存待测。所有操作均严格按照相关标准操作进行。

1.4 检测方法 Hcy 使用四川迈克生物科技有限公司试剂盒,采用循环酶法进行检测。Lp(a)使用日本 wako 原装试剂,采用免疫比浊法进行检测。Hcy 和 Lp(a)的检测均在日立 7600 全自动生化分析仪上进行。降钙素原使用罗氏公司原装试剂盒,采用电化学发光法检测,在罗氏 cobas e411 电化学发光全自动免疫分析仪上进行。MMP-9 使用上海钰森生物技术有限公司试剂盒,采用酶联免疫吸附试验法,使用科华 KH-BST-360 酶标仪进行检测读数。

1.5 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理及统计学分析。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,多组间中两两比较采用 SNK- q 检验;计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;相关分析采用 Pearson 相关;采用 Cox 比例风险回归模型进行多因素分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 脑卒中组和对照组一般情况比较 两组有无高血压史、吸烟史患者比例,空腹血糖、三酰甘油、D-二聚体(D-D)、Hcy、载脂蛋白(a)、白细胞计数、C 反应蛋白、降钙素原、MMP-9、Lp(a)水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 不同 NIHSS 评分组患者 MMP-9、Hcy、Lp(a)水平比较 重度组和中度组患者血清中的 MMP-9、Hcy、Lp(a)水平均明显高于轻度组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 患者血清 MMP-9、Hcy 及 Lp(a)与 NIHSS 评分的相关分析 Pearson 相关分析结果显示,患者血清 MMP-9、Hcy 及 Lp(a)与 NIHSS 评分呈显著正相关($r = 0.572, 0.475, 0.590, P = 0.001$)。

2.4 脑卒中患者发生不良事件影响因素的 Cox 回归分析 以脑卒中患者入院时 MMP-9、Hcy 及 Lp(a)的表达水平为因变量,以 6 个月内发生不良事件的发生率为自变量进行 Cox 回归分析,结果显示患者入院

时 MMP-9、Hcy、Lp(a) 表达水平均是影响脑卒中患者预后的独立危险因素($P<0.05$)。见表 3。

表 1 脑卒中组 and 对照组一般情况比较

组别	<i>n</i>	高血压史 [<i>n</i> (%)]	吸烟史 [<i>n</i> (%)]	空腹血糖 ($\bar{x}\pm s$, mmol/L)	总胆固醇 ($\bar{x}\pm s$, mmol/L)	三酰甘油 ($\bar{x}\pm s$, mmol/L)	高密度脂蛋白 ($\bar{x}\pm s$, mmol/L)	低密度脂蛋白 ($\bar{x}\pm s$, mmol/L)	载脂蛋白 E ($\bar{x}\pm s$, mg/dL)	D-D ($\bar{x}\pm s$, ng/mL)
脑卒中组	203	186(91.89)	78(38.65)	8.43 $\pm$ 3.77	4.27 $\pm$ 1.09	1.61 $\pm$ 1.05	1.27 $\pm$ 0.42	2.36 $\pm$ 0.86	4.49 $\pm$ 1.93	0.56 $\pm$ 0.85
对照组	100	65(65.00)	27(27.00)	7.04 $\pm$ 3.73	4.78 $\pm$ 1.00	1.93 $\pm$ 1.48	1.49 $\pm$ 0.45	2.79 $\pm$ 0.81	4.15 $\pm$ 1.42	0.20 $\pm$ 0.17
χ^2/t		1.743	0.347	0.942	0.364	3.423	0.744	0.056	0.335	0.239
<i>P</i>		0.001	0.048	0.046	0.551	0.008	0.412	0.805	0.056	0.002

组别	<i>n</i>	Hcy ($\bar{x}\pm s$, μ mol/L)	载脂蛋白(a) ($\bar{x}\pm s$, mg/dL)	白细胞计数 ($\bar{x}\pm s$, $\times 10^9$ /L)	血红蛋白 ($\bar{x}\pm s$, g/L)	C 反应蛋白 ($\bar{x}\pm s$, mg/L)	降钙素原 ($\bar{x}\pm s$, ng/mL)	MMP-9 ($\bar{x}\pm s$, ng/mL)	Lp(a) ($\bar{x}\pm s$, mg/dL)
脑卒中组	203	20.48 $\pm$ 8.69	37.77 $\pm$ 23.94	10.98 $\pm$ 6.24	127.53 $\pm$ 23.34	14.95 $\pm$ 8.48	0.071 $\pm$ 0.042	125.11 $\pm$ 60.05	34.53 $\pm$ 10.47
对照组	100	10.15 $\pm$ 4.19	13.16 $\pm$ 9.30	6.72 $\pm$ 2.47	134.82 $\pm$ 16.15	5.23 $\pm$ 3.65	0.046 $\pm$ 0.013	69.21 $\pm$ 15.13	21.75 $\pm$ 6.24
χ^2/t		0.187	2.473	0.348	0.431	1.305	1.638	0.455	1.943
<i>P</i>		0.001	0.001	0.001	0.054	0.001	0.001	0.001	0.001

表 2 3 组 NIHSS 评分患者的 MMP-9、Hcy、Lp(a) 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	MMP-9(ng/mL)	Hcy(μ mol/L)	Lp(a)(mg/dL)
轻度组	72	97.45 $\pm$ 47.88	15.56 $\pm$ 4.42	24.38 $\pm$ 6.17
中度组	70	127.35 $\pm$ 72.16	19.30 $\pm$ 5.11	35.42 $\pm$ 7.84
重度组	61	154.95 $\pm$ 53.67	26.37 $\pm$ 6.85	49.05 $\pm$ 4.65
<i>F</i>		21.904	18.456	16.441
<i>P</i>		0.001	0.001	0.001

表 3 脑卒中患者发生不良事件影响因素的 Cox 回归分析

变量	β	<i>S.E</i>	Wals	<i>P</i>	95%CI
MMP-9	0.804	0.878	0.477	0.009	2.371(1.367~4.856)
Hcy	0.923	0.654	0.674	0.017	2.256(1.457~3.546)
Lp(a)	0.976	0.557	0.455	0.014	2.443(1.342~4.572)

3 讨 论

根据 2016 年全球疾病负担(GBD)研究数据显示脑卒中是目前我国病死率最高的疾病,每年有 195 万例新发病例^[7]。有研究结果显示,脑卒中与动脉血压、动脉斑块、脑组织应激反应和脑血管内炎性反应均相关^[8]。

MMP-9 作为近年来研究的热点,其通过降解细胞外基质,导致血脑屏障的破坏,在脑缺血损伤中发挥了重要的作用,被认为是脑血管疾病过程中最重要的因子之一,参与了脑卒中的炎性反应,是急性脑梗死重要的病理基础^[9-11]。有学者研究发现,MMP-9 水平也与脑卒中的严重程度呈正相关,NIHSS 评分高的患者,MMP-9 水平较高^[12-13]。近年来 Hcy 作为一种新型的脑卒中危险因素逐渐被人们重视,Hcy 通过损伤血管平滑肌细胞和内皮细胞,诱导内皮细胞及凝血酶的激活,提高血小板的黏附聚集能力和组织因子活性,从而可以促进血管内血栓形成^[14]。有研究发现,Hcy 可以使动脉内膜增厚,促进动脉斑块的形成,与动脉粥样硬化的发生、发展密切相关,是脑卒中的主要危险因素之一^[15]。与 Hcy 类似,Lp(a)也主要通过血管内皮损伤,使血管壁发生氧化应激,刺激产生细胞因子,促进泡沫细胞的产生,同时 Lp(a)可与血

浆纤溶酶原竞争结合血管内皮细胞表面的受体,阻碍正常的血管内纤维蛋白原的溶解,对动脉斑块的形成和维持都发挥重要的作用^[16]。

本研究结果显示,有高血压史、吸烟史患者比例,空腹血糖、三酰甘油、D-D、Hcy、载脂蛋白 a、白细胞计数、C 反应蛋白、降钙素原、MMP-9、Lp(a)水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$),提示高血压、糖尿病、血脂异常、炎性反应等多种因素均参与脑卒中疾病的发生和发展,加强对血压、血糖、血脂和炎性反应因素等可调控因素的控制,可以有效降低脑卒中发生的风险。本研究根据急性脑卒中患者入院时的 NIHSS 评分情况,将患者分为轻度组、中度组和重度组,发现随着患者 NIHSS 评分的增加,血清 MMP-9、Hcy、Lp(a)水平明显增加,且三者水平与 NIHSS 评分呈明显正相关。

有研究发现,MMP-9 水平也是脑卒中预后的独立预测因素,MMP-9 水平与脑卒中后出血的风险密切相关,发生脑卒中后出血的患者中 MMP-9 水平明显升高^[17]。本研究通过对急性脑卒中患者进行随访发现,患者入院时的 MMP-9、Hcy、Lp(a)的表达水平与 6 个月内的不良事件发生率密切相关,是脑卒中患者预后的独立危险因素。

同时,本研究还存在一定的不足:(1)本研究样本量较小,且缺乏多中心研究,具有一定的片面性。(2)本研究为横断面研究,虽然对患者进行了随访,但是未能监测相关生物标志物的动态变化,以及探讨这些动态变化是否会对脑卒中患者的预后产生影响,因此,需在今后的工作中继续深入研究。

4 结 论

血清 MMP-9、Hcy 及 Lp(a)水平升高与急性脑卒中密切相关,可以反映急性脑卒中的严重程度,是脑卒中患者预后的独立危险因素,控制其水平有助于对脑卒中进行预防,以及改善其预后。

参考文献

[1] YE H,WANG L,YANG X K,et al. Serum S100B levels

- may be associated with cerebral infarction; a Meta-analysis[J]. *J Neurol Sci*, 2015, 348(112): 81-88.
- [2] KATAN M, LUFT A. Global burden of stroke[J]. *Semin Neurol*, 2018, 38(2): 208-211.
 - [3] WANG W, JIANG B, SUN H, et al. Prevalence, incidence, and mortality of stroke in China[J]. *Circulation*, 2017, 135(8): 759-771.
 - [4] FOROUZANFAR M H, LIU P, ROTH G A. Global burden of hypertension and systolic blood pressure of at least 110 to 115 mm Hg, 1990—2015[J]. *JAMA*, 2017, 317(2): 165-182.
 - [5] AIGNER A, GRITNER U, ROLFS A, et al. Contribution of established stroke risk factors to the burden of stroke in young adults[J]. *Stroke*, 2017, 48(7): 1744-1751.
 - [6] HERMANN D M, KLEINSCHNITZ C, GUNZER M. Implications of polymorphonuclear neutrophils for ischemic stroke and intracerebral hemorrhage: predictive value, pathophysiological consequences and utility as therapeutic target[J]. *J Neuroimmunol*, 2018, 321: 138-143.
 - [7] GBD 2016 Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980—2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016[J]. *Lancet*, 2017, 390(10100): 1151-1210.
 - [8] O'DONNELL M J, CHIN S L, RANGARAJAN S, et al. Global and regional effects of potentially modifiable risk factors associated with acute stroke in 32 countries (INTERSTROKE): a case-control study[J]. *Lancet*, 2016, 388(10046): 761-775.
 - [9] AKAMATSU Y, SAITO A, FUJIMURA M, et al. Stachybotrys microspora triphenyl phenol-7, a novel fibrinolytic agent, suppresses superoxide production, matrix metalloproteinase-9 expression, and thereby attenuates ischemia/reperfusion injury in rat brain[J]. *Neuroscience Letters*, 2011, 503(2): 110-114.
 - [10] ZHANG M M, CHANG X W, HAO X Q, et al. Association between matrix metalloproteinase 9 C-1562T polymorphism and the risk of coronary artery disease: an update systematic review and meta-analysis[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(10): 9468-9479.
 - [11] WANG L, GAO Z. Expression of MMP-9 and IL-6 in patients with subarachnoid hemorrhage and the clinical significance[J]. *Exp Ther Med*, 2018, 15(2): 1510-1514.
 - [12] RAMOS-FERNANDEZ M, BELLOLIO M F, STEAD L G. Matrix metalloproteinase-9 as a marker for acute ischemic stroke: a systematic review[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2011, 20(1): 47-54.
 - [13] ABDELNASEER M M, ELFAUOMY N M, ESMAIL E H, et al. Matrix metalloproteinase-9 and recovery of acute ischemic stroke[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2017, 26(4): 733-740.
 - [14] STEED M M, TYAGI S C. Mechanisms of cardiovascular remodeling in hyperhomocysteinemia[J]. *Antioxid Redox Sign*, 2011, 15(7): 1927-1943.
 - [15] ALSULAIMANI S, GARDENER H, ELKIN M S, et al. Elevated homocysteine and carotid plaque area and densitometry in the Northern Manhattan Study (NOMAS) [J]. *Stroke*, 2013, 44(2): 457-461.
 - [16] KHERA A V, DEMLER O V, ADELMAN S J, et al. Cholesterol efflux capacity, high-density lipoprotein particle number, and incident cardiovascular events: an analysis from the JUPITER Trial (justification for the use of statins in prevention: an intervention trial evaluating rosuvastatin) [J]. *Circulation*, 2017, 135(25): 2494-2504.
 - [17] SAPOJNIKOVA N, KARTVELISHVILI T, ASATIANI N, et al. Correlation between MMP-9 and extracellular cytokine HMGB1 in prediction of human ischemic stroke outcome[J]. *BBA-Mol Basis Dis*, 2014, 1842(9): 1379-1384.
- (收稿日期: 2019-12-02 修回日期: 2020-03-05)
-
- (上接第 1986 页)
- test accuracy study and economic evaluation[J]. *Health Technol Assess*, 2019, 23(23): 1-152.
- [10] ZHANG L, SHI X, ZHANG Y, et al. Analysis of factors influencing diagnostic accuracy of T-spot. TB for active tuberculosis in clinical practice[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 7764-7770.
 - [11] STEINGART K R, SOHN H, SCHILLER I, et al. Xpert® MTB/RIF assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2013(1): CD009593.
 - [12] KOHLI M, SCHILLER I, DENDUKURI N, et al. Xpert® MTB/RIF assay for extrapulmonary tuberculosis and rifampicin resistance[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2018(8): CD0012768.
 - [13] PILLA D M, HAGAR J A, HALDAR A K, et al. Guanylate binding proteins promote caspase-11-dependent pyroptosis in response to cytoplasmic LPS[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(16): 6046-6051.
 - [14] KIM B H, SHENOY A R, KUMAR P, et al. A family of IFN-gamma-inducible 65-kD GTPases protects against bacterial infection[J]. *Science*, 2011, 332(6030): 717-721.
 - [15] ROE J, VENTURINI C, GUPTA R K, et al. Blood transcriptomic stratification of short-term risk in contacts of tuberculosis[J]. *Clin Infect Dis*, 2019, 70(5): 731-737.
 - [16] 曲婧格, 王也, 李熙萌, 等. 系统性红斑狼疮患者外周血单个核细胞中 RSAD2 表达及意义[J]. *山东医药*, 2018, 58(30): 62-64.
- (收稿日期: 2020-01-12 修回日期: 2020-03-22)