

# 血浆触珠蛋白与蛛网膜下隙出血后症状性脑血管痉挛关系的临床观察

毛群 尉辉杰 王焕宇 佟小光 范一木 张建国

**【摘要】** 探讨蛛网膜下隙出血患者血浆触珠蛋白表达变化与症状性脑血管痉挛间的关系。共观察 43 例自发性蛛网膜下隙出血患者, 其中 19 例于发病后 3~14 天出现症状性脑血管痉挛, 酶联免疫吸附试验显示血浆触珠蛋白水平 $[(0.29 \pm 0.14) \text{ g/L}]$  低于 24 例无症状性脑血管痉挛患者 $[(0.78 \pm 0.48) \text{ g/L}]$ , 差异有统计学意义 $(t=4.848, P=0.000)$ 。提示蛛网膜下隙出血后血浆触珠蛋白水平降低可能与症状性脑血管痉挛发生有关。

**【关键词】** 触珠蛋白类; 蛛网膜下腔出血; 脑缺血发作, 短暂性

## Concentration of plasma haptoglobin and symptomatic cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage

MAO Qun<sup>1</sup>, WEI Hui-jie<sup>2</sup>, WANG Huan-yu<sup>1</sup>, TONG Xiao-guang<sup>1</sup>, FAN Yi-mu<sup>1</sup>, ZHANG Jian-ning<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Neurosurgery, Tianjin Huanhu Hospital, Tianjin 300060, China

<sup>2</sup>Department of Neurosurgery, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China

Corresponding author: ZHANG Jian-ning (Email: jianningzhang@hotmail.com)

**【Abstract】** The relation of plasma haptoglobin concentration to symptomatic cerebral vasospasm (SCVS) after subarachnoid hemorrhage (SAH) was investigated. The plasma concentration of haptoglobin was analyzed by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). SCVS was determined by aggravated headache, deteriorated conscious state a few days after ictus or by new neurologic impairment and new ischemic injuries on repeated CT scans. The mean concentration of plasma haptoglobin in 19 patients with SCVS was  $(0.29 \pm 0.14) \text{ g/L}$ , whereas it was  $(0.78 \pm 0.48) \text{ g/L}$  in 24 patients without SCVS. These findings may suggest that plasma haptoglobin concentration seems to be associated with the development of SCVS after SAH.

**【Key words】** Haptoglobins; Subarachnoid hemorrhage; Ischemic attack, transient

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 005CB522600), Program of National Natural Science Foundation for Young Scientists (No. 81200907), Tianjin Basic Research and Research in Cutting-edge Technology Planning Fund for Young Scientist (No. 12JCQNJC06800) and Tianjin Science and Technology Program (No. 07KZ40).

自发性蛛网膜下隙出血(SAH)后约46%患者出

doi:10.3969/j.issn.1672-6731.2013.08.014

基金项目:国家自然科学基金资助项目(项目编号:005CB522600);国家自然科学基金青年科学基金项目(项目编号:81200907);天津市应用基础及前沿技术研究计划青年基金资助项目(项目编号:12JCQNJC06800);天津市科技计划项目(项目编号:07KZ40)

作者单位:300060 天津市环湖医院神经外科[毛群(现在天津市第三医院神经外科,邮政编码:300250),王焕宇,佟小光,范一木];300052 天津医科大学总医院神经外科(尉辉杰,张建国)

通讯作者:张建国(Email:jianningzhang@hotmail.com)

现症状性脑血管痉挛(SCVS)<sup>[1]</sup>,造成脑组织缺血缺氧或继发性脑损害,其中20%~40%患者将会因此死亡或形成永久性神经功能障碍<sup>[2]</sup>。对脑血管痉挛预测因素的研究,不仅可以筛查高危患者,而且可为临床提供新的治疗方向和靶点。研究表明,蛛网膜下隙出血后脑血管痉挛是多种机制参与的病理生理学过程<sup>[3]</sup>,红细胞崩解产物血红蛋白(Hb)是发生脑血管痉挛的始动因子,起关键作用<sup>[1,3-4]</sup>。触珠蛋白(Hp)又称结合珠蛋白,是 $\alpha_2$ 球蛋白中的一种酸性糖蛋白,广泛存在于人类和许多哺乳动物的血浆中,在脑脊液、胸腹腔积液及关节液中均有发现,

其主要生理功能是参与游离血红蛋白的代谢,通过与游离血红蛋白结合形成触珠蛋白-血红蛋白复合物(Hp-Hb),后者被转运至肝脏代谢或被单核-巨噬细胞系统吞噬,触珠蛋白与多种出血性疾病关系密切<sup>[5]</sup>,但有关触珠蛋白与颅内出血性疾病的相关研究鲜见文献报道。为探讨触珠蛋白与血红蛋白之间的关系,本研究对自发性蛛网膜下隙出血后血浆触珠蛋白的表达变化进行观察,以寻找新的脑血管痉挛预测因子,筛查高危患者,并为临床提供新的治疗方向和靶点。

## 资料与方法

### 一、观察对象

1. 病例纳入与排除标准 (1)性别不限,年龄>18岁。(2)为首次发作的非外伤性自发性蛛网膜下隙出血。(3)入院时头部CT检查Fisher分级为Ⅲ~Ⅳ级、Hunt-Hess分级为Ⅱ~Ⅲ级。(4)既往无脑血管病病史、无其他中枢神经系统疾病病史、无输血史,排除溶血状态、贫血(血红蛋白<8g/L)、肝脏疾病或肝功能障碍、自身免疫性疾病、白血病及颅内动-静脉畸形(AVM)、烟雾病(MMD)患者。

2. 症状性脑血管痉挛的判定标准 (1)蛛网膜下隙出血后3~7d头痛症状明显加重,10~14d后逐渐减轻。(2)蛛网膜下隙出血后3~7d意识状态明显下降、Glasgow昏迷量表(GCS)评分降低 $\geq 3$ 分,10~14d后症状缓解但无法用颅内高压、颅内感染、颅内动脉瘤、脑积水或颅内血肿解释。(3)蛛网膜下隙出血后3~7d,在治疗过程中出现新发神经功能缺损症状但无法用颅内高压、颅内感染、颅内动脉瘤、脑积水或颅内血肿解释。(4)入院后头部CT检查与入院前相比,出现新发缺血性损伤(颅内任何部位),可伴或不伴临床症状<sup>[6]</sup>。凡符合上述4项中任一项者即可判断病程中出现症状性脑血管痉挛。

3. 一般资料 根据病例纳入与排除标准,选择2008年10月-2009年6月在天津市环湖医院住院治疗且诊断明确的自发性蛛网膜下隙出血患者共计43例,男性19例,女性24例;年龄46~74岁,平均(55.12 $\pm$ 10.36)岁。其中19例经上述标准判断存在明确的症状性脑血管痉挛(SCVS组),余24例未发现症状性脑血管痉挛(NSCVS组),两组患者一般情况比较,除性别( $P=0.003$ )外,其余各项资料差异均无统计学意义( $P>0.05$ ,表1),具有可比性。

表1 两组患者一般资料的比较

Table 1. Basic data of 2 groups

Item	SCVS (N=19)	NSCVS (N=24)	$\chi^2$ or $t$ value	P value
Sex case (%)			8.891	0.003
Male	2 (10.53)	13 (54.17)		
Female	17 (89.47)	11 (45.83)		
Age ( $\bar{x} \pm s$ , year)	51.05 $\pm$ 11.64	57.38 $\pm$ 10.24	1.864	0.073
GCS ( $\bar{x} \pm s$ , score)	13.32 $\pm$ 2.89	13.92 $\pm$ 1.56	0.818	0.421
Fisher ( $\bar{x} \pm s$ , grade)	3.16 $\pm$ 0.38	3.04 $\pm$ 0.20	1.220	0.234
Hunt-Hess ( $\bar{x} \pm s$ , grade)	2.32 $\pm$ 0.58	2.17 $\pm$ 0.38	0.970	0.342
Aneurysm case (%)	16 (84.21)	14 (58.33)	3.367	0.067
Hydrocephalus case (%)	2 (10.53)	4 (16.67)	0.333	0.564
Nosocomial infection case (%)	5 (26.32)	5 (20.83)	0.179	0.728
Hospital stay ( $\bar{x} \pm s$ , d)	19.37 $\pm$ 9.60	17.21 $\pm$ 6.03	0.901	0.373

SCVS, symptomatic cerebral vasospasm, 症状性脑血管痉挛; NSCVS, non-symptomatic cerebral vasospasm, 非症状性脑血管痉挛; GCS, Glasgow Coma Scale, Glasgow昏迷量表

表2 两组患者血浆触珠蛋白水平的比较( $\bar{x} \pm s$ , g/L)

Table 2. Haptoglobin level of 2 groups ( $\bar{x} \pm s$ , g/L)

Group	Haptoglobin	$t$ value	P value
SCVS	0.29 $\pm$ 0.14	4.848	0.000
NSCVS	0.78 $\pm$ 0.48		

SCVS, symptomatic cerebral vasospasm, 症状性脑血管痉挛; NSCVS, non-symptomatic cerebral vasospasm, 非症状性脑血管痉挛

### 二、研究方法

1. 血浆触珠蛋白水平检测 (1)血液样本的采集:采集两组患者的晨起空腹肘静脉全血共2ml,并以0.50ml枸橼酸钠溶液抗凝,离心后提取上清液,于-80℃保存。(2)血浆触珠蛋白测定:采用酶联免疫吸附试验(ELISA)进行检测,试剂盒购自美国AssayMax公司,实验步骤严格按照试剂盒说明书进行,以Bio-Rad酶标仪检测标准品及样本数值,以Curve Expert 1.3曲线制作软件建立标准曲线并计算各组样本触珠蛋白表达量。

2. 统计分析方法 采用SPSS 16.0统计软件行数据处理与分析。计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,两样本均数的比较采用独立样本的 $t$ 检验;计数资料以相对数构成比(%)或率(%)表示,行 $\chi^2$ 检验。以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 结 果

检测结果显示,症状性脑血管痉挛组患者血浆

触珠蛋白水平低于无症状性脑血管痉挛组,且差异具有统计学意义( $P=0.000$ ,表2)。

## 讨 论

触珠蛋白的主要生理功能包括:(1)参与游离血红蛋白代谢,通过与血红蛋白结合形成稳定的触珠蛋白-血红蛋白复合物,再转运至肝脏代谢或被单核-巨噬细胞系统清除,在溶酶体内被分解代谢并转变为亚铁血红素,最终转变为胆绿素<sup>[5]</sup>。(2)抗氧化活性,血红蛋白可以引起羟基自由基产生和脂质过氧化反应,导致组织损伤。游离血红蛋白可以氧化亚麻酸、低密度脂蛋白等,而触珠蛋白则是非常有效的抗氧化剂,通过与血红蛋白结合而直接抑制亚麻酸及保护低密度脂蛋白<sup>[7]</sup>。(3)抑制血红蛋白与一氧化氮相互作用,后者为强效血管扩张剂,血红蛋白可与一氧化氮迅速结合,血红蛋白 $>0.10$  g/L可阻断一氧化氮介导的血管舒张作用<sup>[8]</sup>,触珠蛋白与血红蛋白结合即可限制血红蛋白与一氧化氮相互作用。(4)抗菌作用,游离血红蛋白中的铁离子为嗜铁性细菌生长的基本条件,与触珠蛋白结合后血红蛋白中的铁离子则不能被细菌有效利用。(5)抑制前列腺素,触珠蛋白通过与血红蛋白结合封闭使前列腺素合成酶具有完整活性所必需的基团,从而降低前列腺素合成酶的活性,导致前列腺素合成受阻,在人体抗炎反应中发挥重要作用。

对本组自发性蛛网膜下腔出血患者的观察显示,无症状性脑血管痉挛患者血浆触珠蛋白水平显著高于症状性脑血管痉挛者,发病后出现新发神经功能缺损症状及缺血性损伤者明显减少,目前国内尚未见类似报道。我们认为,血浆触珠蛋白水平较高的蛛网膜下腔出血患者,具有较强的结合和清除游离血红蛋白的能力,触珠蛋白除具有对抗脑血管痉挛、保护神经的作用,还可通过抗氧化反应、提高一氧化氮水平、抗炎反应及抗感染能力等综合作用改善患者预后,降低脑血管痉挛发生率。本研究未将脑血管造影作为明确诊断脑血管痉挛的标准,是因为其与临床症状的严重程度并不完全相符<sup>[1]</sup>,以临床症状作为脑血管痉挛的诊断标准使研究结果更具临床价值。

最近的研究表明,触珠蛋白在小鼠脑实质出血模型中具有神经保护作用,通过封闭游离血红蛋白结合位点而抑制其氧化功能,发挥神经细胞保护作用<sup>[9]</sup>。该研究将血红蛋白注射至大鼠腹腔,使之结

合触珠蛋白,降低血浆触珠蛋白水平,结果显示,血浆触珠蛋白水平较高的大鼠颅内血肿周围水肿程度较轻,神经元损伤及神经功能障碍程度明显轻于血浆触珠蛋白水平较低者,提示触珠蛋白的神经保护作用确实与血浆触珠蛋白水平有关。血浆触珠蛋白水平对症状性脑血管痉挛可能具有重要影响,可成为未来脑血管痉挛的预测因子之一,也为其治疗提供了新的途径;对其他颅内出血性疾病如脑实质出血、外伤性颅内出血等均有广泛的应用前景。

## 参 考 文 献

- [1] Rahimi SY, Brown JH, Macomson SD, Jensen MA, Alleyne Jr CH, Liu K, Zhi DS. Evolution of the treatment of cerebral vasospasm. Zhongguo Xian Dai Shen Jing Ji Bing Za Zhi, 2007, 7:131-133. [Scott Y Rahimi, John H Brown, Samuel D Macomson, Michael A Jensen, Cargill H Alleyne Jr, 刘睽, 只达石. 脑血管痉挛的治疗进展. 中国现代神经疾病杂志, 2007, 7: 131-133.]
- [2] Washington CW, Zipfel GJ. Participants in the International Multi-disciplinary Consensus Conference on the Critical Care Management of Subarachnoid Hemorrhage. Detection and monitoring of vasospasm and delayed cerebral ischemia: a review and assessment of the literature. Neurocrit Care, 2011, 15:312-317.
- [3] Fan YF, Han RQ. Two models of cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage in rats. Zhongguo Xian Dai Shen Jing Ji Bing Za Zhi, 2010, 10:468-472. [范议方, 韩如泉. 大鼠蛛网膜下腔出血脑血管痉挛模型的建立. 中国现代神经疾病杂志, 2010, 10:468-472.]
- [4] Zhao WH, Huang HL, Huang Y, Xu X, Mo LD. Experimental study on the correlation between the cerebral energy metabolism and cerebral blood flow changes in rats with subarachnoid hemorrhage-induced delayed cerebral vasospasm. Zhongguo Xian Dai Shen Jing Ji Bing Za Zhi, 2007, 7:146-151. [赵卫华, 黄慧玲, 黄楹, 徐翔, 莫立冬. 蛛网膜下腔出血并迟发性脑血管痉挛大鼠脑能量代谢与脑血流量变化的实验研究. 中国现代神经疾病杂志, 2007, 7:146-151.]
- [5] Levy AP, Asleh R, Blum S, Levy NS, Miller-Lotan R, Kalet-Litman S, Anbinder Y, Lache O, Nakhoul FM, Asaf R, Farbstein D, Pollak M, Soloveichik YZ, Strauss M, Alshiek J, Livshits A, Schwartz A, Awad H, Jad K, Goldenstein H. Haptoglobin: basic and clinical aspects. Antioxid Redox Singal, 2010, 12:293-304.
- [6] Neurosurgery Branch of Chinese Medical Association. Consensus of treatment for cerebral vasospasm by experts of neurosurgery. Zhonghua Yi Xue Za Zhi, 2008, 88:2161-2165. [中华医学会神经外科分会. 脑血管痉挛防治神经外科专家共识. 中华医学杂志, 2008, 88:2161-2165.]
- [7] Alayash AI. Haptoglobin: old protein with new functions. Clin Chim Acta, 2011, 412:493-498.
- [8] Azarov I, Chen L, Reynolds H, Tsekouras Z, Lee JS, Gladwin MT, Kim-Shapiro DB. Mechanisms of slower nitric oxide uptake by red blood cells and other hemoglobin-containing vesicles. J Biol Chem, 2011, 286:33567-33579.
- [9] Zhao X, Song S, Sun G, Strong R, Zhang J, Grotta JC, Aronowski J. Neuroprotective role of haptoglobin after intracerebral hemorrhage. J Neurosci, 2009, 29:15819-15827.

(收稿日期:2013-06-05)