

· 临床研究 ·

高压氧对脑出血患者血清基质金属蛋白酶-9、
细胞间黏附分子-1 及脑水肿的影响

朱向阳 董政协 周永 李嘉 朱连海 龚沈初

【摘要】目的 探讨高压氧(HBO)治疗对急性脑出血患者血清基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)和脑水肿的影响及其相互关系。**方法** 选取脑出血患者 76 例(常规治疗组 40 例,HBO 治疗组 36 例)及正常对照组 30 例,分别观察治疗前、后血清 MMP-9 及 ICAM-1 含量的动态变化,并于病程第 5~7 天和第 25 天进行头颅 MRI 检查,T₂WI 图像观测脑水肿的范围,计算脑水肿绝对体积和相对体积。**结果** (1)常规治疗组和 HBO 治疗组入院当日血清 MMP-9 及 ICAM-1 含量明显高于正常对照组($P < 0.01$),入院后第 5 天达到高峰,2 组间差异无统计学意义($P > 0.05$);第 15 天和第 25 天 HBO 治疗组(HBO 分别治疗 1,2 个疗程)血清 MMP-9 及 ICAM-1 含量明显低于常规治疗组,2 组相比差异有统计学意义($P < 0.01$)。(2)病程第 5~7 天、第 25 天 HBO 治疗组的绝对脑水肿体积和相对脑水肿体积均小于常规治疗组($P < 0.05$, $P < 0.01$)。(3)血清 MMP-9 和 ICAM-1 含量与脑水肿体积呈正相关,美国国立卫生研究院卒中量表评分(NIH-SS)的差值与血清 MMP-9 和 ICAM-1 水平(病程 5 天时)呈负相关。**结论** HBO 治疗能降低脑出血患者血清 MMP-9 和 ICAM-1 浓度,减轻脑水肿程度和范围,有利于神经功能恢复。早期、连续多次 HBO 治疗可使患者受益。

【关键词】 高压氧; 脑出血; 脑水肿; 磁共振; 基质金属蛋白酶-9; 细胞间黏附分子-1

The effects of hyperbaric oxygen on serum matrix metalloproteinase-9, intercellular adhesion molecule-1 and brain edema in patients with intracerebral hemorrhage ZHU Xiang-yang*, DONG Zheng-xie, ZHOU Yong, LI Jia, ZHU Lian-hai, GONG Shen-chu. * Department of Neurology, The Second Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, China

【Abstract】Objective To investigate the effects of hyperbaric oxygen (HBO) therapy on serum matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) levels, and on brain edema in patients with intracerebral hemorrhage. **Methods** Seventy-six subjects with intracerebral hemorrhage were divided into a routine treatment group (40 cases) and a HBO treatment group (36 cases). 30 healthy persons served as a control group. Serum MMP-9 and ICAM-1 levels were measured before and after treatment. MRI images of the subjects' brains were prepared at the 5~7 th and 25th days. Absolute edema volumes and relative edema volumes were measured on T₂-weighted images. **Results** (1)The serum MMP-9 and ICAM-1 levels in the routine therapy and HBO groups were higher than those in the control group at the outset ($P \leq 0.01$). Both indices peaked on the 5th day, but there was no significant difference between the two treated groups. At the 15th and 25th day (after 10 and 20 HBO treatments), the serum MMP-9 and ICAM-1 levels in the HBO group had decreased remarkably and were significantly lower than those in the routine therapy group ($P \leq 0.01$). (2)At the 5~7th and 25th days, both absolute edema volumes and relative edema volumes in the HBO group were significantly smaller than those in the routine therapy group ($P \leq 0.05$, $P \leq 0.01$). (3)Serum MMP-9 and ICAM-1 levels were positively correlated with the brain edema volumes, and negatively correlated with decreased NIHSS scores (between pre- and post-treatment). **Conclusions** HBO therapy may reduce serum MMP-9 and ICAM-1 levels in patients with intracerebral hemorrhage, and lessen the severity and range of brain edema. HBO is helpful for restoring nerve function. Early and repeated multiple HBO treatments are beneficial for patients.

【Key words】 Hyperbaric oxygen; Intracerebral hemorrhage; Brain edema; Magnetic resonance; Matrix metalloproteinase-9; Intercellular adhesion molecule-1

近年来,炎症反应在脑出血急性期的作用越来越

受到重视,它由多种炎症细胞及炎症介质共同参与并介导。动物实验显示,血清基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)及细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)的过度表达与血肿后继发脑水肿形成及血肿周围神经细胞死亡密切

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2009.04.014

基金项目:南通市社会发展计划项目(S5030)

作者单位:226001 南通,南通大学第二附属医院神经内科(朱向阳、董政协、周永、李嘉、朱连海),影像科(龚沈初)

相关^[1,2]。高压氧(hyperbaric oxygen, HBO)能下调脑外伤大鼠 MMP-9 及黏附分子等的表达,减轻炎症激活的程度及改善血脑屏障通透性,可能起到神经保护作用^[3]。但有关 HBO 对脑出血患者血清 MMP-9、ICAM-1 及脑水肿影响的临床研究很少。本研究通过观察 HBO 治疗前、后脑出血患者血清 MMP-9、ICAM-1 浓度的动态变化,探究其与脑水肿和神经功能缺损的相关性,为应用 HBO 治疗脑出血提供理论依据。

对象与方法

一、对象

选取 2005 年 5 月至 2007 年 11 月间我院收治的幕上脑出血患者(发病后 24 h 内入院,血肿量在 10~40 ml)76 例,均经头颅 CT 检查证实。随机分为常规治疗组和 HBO 治疗组。常规治疗组 40 例中,男 27 例,女 13 例;年龄 36~74 岁,平均(57.5 ± 11.8)岁;平均病程(7.6 ± 2.3)h;血压 166/95 mmHg;出血部位为基底节区 33 例,脑叶 7 例;血肿体积(18.4 ± 8.5)cm³;美国国立卫生研究院卒中量表评分(the National Institutes of Health Stroke Scale, NIHSS)中位值 8.2 分(4~24 分)。HBO 治疗组 36 例中,男 26 例,女 10 例;年龄 35~75 岁,平均(56.5 ± 12.5)岁;平均病程(7.5 ± 2.4)h;血压 165/92 mmHg;出血部位为基底节区 30 例,脑叶 6 例;血肿体积(18.6 ± 8.2)cm³;NIHSS 中位值 8.0 分(2~23 分)。2 组患者年龄、性别、病程、血压、基线 NIHSS 评分、血肿部位及体积间差异无统计学意义($P > 0.05$)。正常对照组 30 例,均为本院健康体检者,男 15 例,女 15 例;年龄 35~70 岁,平均(51.2 ± 10.6)岁;无高血压、糖尿病、高血脂及心脑血管病史。所有病例均排除以下情况:病前 1 个月内有急性感染、发热史;3 个月内有心脑血管疾病或手术外伤史;合并慢性炎症或肿瘤;严重肝肾功能不全;发病后即昏迷或继发癫痫;其他不适应 HBO 治疗的疾病等。

二、治疗方法

1. 常规治疗组:自入院当日开始给予适量脱水、能量合剂、多种维生素及其他对症处理。

2. HBO 治疗组:在常规治疗基础上,于入院后 3~5 d 开始应用 HBO 治疗(保证患者生命体征平稳,血压低于 180/90 mmHg,无癫痫发作,无严重意识障碍)。HBO 治疗使用烟台产高压氧舱,患者进入空气加压舱,加压 20 min,稳压压力 0.20 MPa,稳压面罩吸氧 80 min,中间吸舱内空气 10 min,减压 20 min,每日 1 次,10 次为 1 个疗程,连续治疗 2 个疗程,共 20 d。

三、标本采集及检测

常规治疗组和 HBO 治疗组分别于入院当日及入

院后第 5、15、25 天抽取空腹肘静脉血 5 ml,正常对照组抽取清晨空腹血 1 次,注入 VACUETTE 公司的配套试管中。采用双抗体夹心酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)测定 MMP-9、ICAM-1 含量,检测仪器为 ROCHE 公司生产,型号 ELECSYS2010,试剂盒由法国 DIACLONE 公司提供,所有操作严格按照试剂盒说明书进行。

四、脑水肿体积测定

分别于病程第 5~7 天和第 25 天进行头颅 MRI 检查,采用 Siemens Magnetom Symphony 1.5T 超导磁共振成像系统,常规行 SE 序列 T1WI、TSE 序列 T₂WI、液体衰减反转恢复序列(fluid-attenuated inversion recovery, FLAIR)和 DWI 成像。脑水肿的 MRI 表现为 T1 低信号, T₂ 高信号,在 T₂WI 和 FLAIR 图像上设定感兴趣区后,测定脑水肿外缘体积。体积的计算由机器读取感兴趣区面积,乘以层厚为层面体积,再把各层面体积相加,参考 Gebel 等^[4]的方法计算脑水肿绝对体积(脑水肿外缘体积-脑血肿体积)和相对体积(脑水肿体积/脑血肿体积)。

五、临床病情程度评定

患者入院后第 1 天、第 25 天分别用 NIHSS 进行临床神经功能缺损程度评分,以评价患者神经功能。

六、统计学分析

使用 SPSS 12.0 版软件包进行统计学分析,结果以($\bar{x} \pm s$)表示, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。定量资料组间比较采用 t 检验,血肿体积和脑水肿体积的比较采用成组设计两样本比较的 t 检验。定量资料的相关性检验采用 Pearson 检验,等级资料的相关性检验采用 Spearman 检验(NIHSS 评分为等级资料)。

结 果

一、血清 MMP-9、ICAM-1 含量变化

常规治疗组与 HBO 治疗组入院后第 1、5 天血清 MMP-9、ICAM-1 含量均明显升高,与正常对照组比较差异有统计学意义($P < 0.01$),第 5 天升高更为显著,达到高峰浓度,但 2 组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$);第 15、25 天常规治疗组与 HBO 治疗组血清 MMP-9、ICAM-1 含量均下降, HBO 治疗组(HBO 分别治疗 1、2 个疗程后)显著低于常规治疗组,2 组间差异有统计学意义($P < 0.01$);尤其 HBO 治疗 2 个疗程后指标基本恢复正常,与正常对照组相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。2 组患者血清 MMP-9、ICAM-1 含量的检测结果见表 1。

二、常规治疗组和 HBO 治疗组患者脑水肿体积比较

常规治疗组和 HBO 治疗组分别于病程第 5~7

天、第 25 天通过 MRI 计算出脑血肿体积及脑水肿体积。结果显示,第 5~7 天和第 25 天测得的 2 组患者脑血肿体积大小差异无统计学意义($P>0.05$)。病程第 5~7 天,HBO 治疗组绝对脑水肿体积和相对脑水肿体积均小于常规治疗组,差异有统计学意义($P<0.05$);第 25 天,HBO 治疗组绝对脑水肿体积和相对脑水肿体积显著小于常规治疗组($P<0.01$)。见表 2。

表 1 常规治疗组与 HBO 治疗组血清 MMP-9 及 ICAM-1 含量变化($\mu\text{g/L}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	MMP-9	ICAM-1
常规治疗组	40		
入院后 1 d		196.54 $\pm$ 63.42 ^a	582.72 $\pm$ 104.26 ^a
入院后 5 d		327.49 $\pm$ 88.54 ^a	769.13 $\pm$ 145.64 ^a
入院后 15 d		284.61 $\pm$ 75.33 ^a	480.34 $\pm$ 113.79 ^a
入院后 25 d		211.37 $\pm$ 65.82 ^a	369.55 $\pm$ 84.32 ^a
HBO 治疗组	36		
入院后 1 d		204.37 $\pm$ 67.25 ^a	577.63 $\pm$ 112.47 ^a
入院后 5 d		319.76 $\pm$ 91.47 ^a	791.25 $\pm$ 152.46 ^a
入院后 15 d		220.14 $\pm$ 79.26 ^{ab}	372.56 $\pm$ 103.24 ^{ab}
入院后 25 d		153.62 $\pm$ 57.14 ^b	282.07 $\pm$ 96.55 ^b
正常对照组	30	132.46 $\pm$ 45.32	264.37 $\pm$ 61.72

注:与正常对照组比较,^a $P<0.01$;与常规治疗组同期比较,^b $P<0.01$

表 2 常规治疗组与 HBO 治疗组脑血肿及脑水肿体积比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	脑血肿体积(cm^3)	绝对脑水肿体积(cm^3)	相对脑水肿体积
常规治疗组	40			
入院后 5~7 d		19.86 $\pm$ 8.23	29.87 $\pm$ 13.42	1.68 $\pm$ 0.87
入院后 25 d		16.47 $\pm$ 7.82	14.76 $\pm$ 8.51	0.87 $\pm$ 0.50
HBO 治疗组	36			
入院后 5~7 d		20.32 $\pm$ 8.74	23.12 $\pm$ 13.06 ^a	1.23 $\pm$ 0.72 ^a
入院后 25 d		15.86 $\pm$ 8.15	9.64 $\pm$ 5.85 ^b	0.49 $\pm$ 0.36 ^b

注:与常规治疗组同期比较,^a $P<0.05$,^b $P<0.01$

三、血清 MMP-9、ICAM-1 含量与脑水肿体积的相关性

对常规治疗组和 HBO 治疗组每例患者血清 MMP-9、ICAM-1 含量(第 5、25 天)分别与同期脑血肿及脑水肿体积进行相关性分析,结果显示,血清 MMP-9、ICAM-1 含量与脑血肿大小无相关性,而与同期绝对脑水肿体积、相对脑水肿体积有相关性,尤其第 5 天时呈显著正相关。见表 3。

表 3 脑出血患者血清 MMP-9、ICAM-1 含量与血肿及水肿体积的相关性(r)

指标	脑血肿体积		绝对脑水肿体积		相对脑水肿体积	
	5~7 d	25 d	5~7 d	25 d	5~7 d	25 d
MMP-9	0.253	0.149	0.671 ^b	0.512 ^a	0.682 ^b	0.548 ^a
ICAM-1	0.272	0.213	0.715 ^b	0.559 ^a	0.746 ^b	0.580 ^a

注:^a $P<0.05$;^b $P<0.01$

四、血清 MMP-9、ICAM-1 水平与 NIHSS 评分的相

关性

入院时血清 MMP-9、ICAM-1 含量与基线 NIHSS 评分进行相关性分析呈正相关($r=0.624$, $r=0.582$,均 $P<0.05$);将常规治疗组和 HBO 治疗组每例脑出血患者治疗前和治疗后 25 d NIHSS 评分的差值作为神经功能改善的量化指标与病程第 5 天血清 MMP-9、ICAM-1(高峰浓度)进行相关性分析,结果显示二者呈负相关($r=-0.573$, $r=-0.612$,均 $P<0.05$)。

讨 论

MMP-9 又称明胶酶 B,主要降解脑血管周围基膜的 IV 型明胶原、层粘连蛋白和纤粘连蛋白,使脑血管基膜的通透性增高、渗出增加,造成血脑屏障破坏,大量水及有毒物质渗出,导致脑水肿及继发性脑损伤。ICAM-1 属免疫球蛋白超家族成员,是一类能介导细胞与细胞、细胞与细胞外基质相互黏附的糖蛋白或糖脂。白细胞与内皮细胞的黏附渗出可释放自由基、蛋白水解酶及其他毒性物质,造成血管内皮细胞和基底膜损伤,引起出血、血管源性脑水肿及脑组织损伤。

正常情况下,MMP-9、ICAM-1 仅有少量表达,脑出血急性期其含量明显上升,主要原因可能为血肿直接压迫周围脑组织和小血管,引起局部血流量降低,组织细胞缺血缺氧,从而激活 MMPs 及黏附分子系统,导致 MMP-9、ICAM-1 表达上调;同时脑出血后即刻启动炎症反应也导致血肿局部 MMP-9、ICAM-1 表达活性增高,过度表达的 MMP-9、ICAM-1 又引起血管通透性增高及血脑屏障破坏,从而使这些炎性物质进入外周循环系统。与此同时,脑出血还会导致全身免疫反应,使周围循环系统炎性细胞也合成与分泌 MMP-9、ICAM-1,从而使二者的血清浓度进一步上升。

动物实验证实,急性脑出血后数小时血块及其周围组织迅速出现炎症反应,中性白细胞、巨噬细胞浸润,小胶质细胞和星形胶质细胞被活化并诱导多种炎症介质表达,紧邻血肿区的血管也发现有 MMP-9 及 ICAM-1 表达的免疫反应,并持续数天之久^[5,6],可造成脑水肿进行性加重及继发脑损害。MMP-9 基因敲除后大鼠的 MMP-9 水平及脑组织含水量明显降低,最新发现的 U83836E 是一种新型 MMP-9 抑制剂,有望成为新的抗 MMP 药物^[6]。Rosell 等^[7]研究发现,缺血和出血性卒中后脑组织 MMP-9 水平均明显升高,但后者更为显著,说明脑出血后的炎症反应更强烈,引起的脑水肿及脑实质损害更严重。其他研究也证实,脑出血患者脑脊液或血肿引流液中 MMP-9 及 ICAM-1 表达明显上升,提示中枢神经组织局部高浓度的 MMP-9、ICAM-1 是导致脑损伤严重性的重要因素^[8,9],但临床上实际操作取样比较困难。

本研究采用血清学方法进行 MMP-9 及 ICAM-1 检测,结果显示,脑出血后 24 h 内血清 MMP-9、ICAM-1 含量即增高,第 5 天达高峰浓度,此时也正值临床脑水肿最严重时期,说明 MMP-9 及 ICAM-1 的表达规律与脑水肿的发生有相似的变化趋势。通过 MRI 检查计算出病程第 5~7 天、第 25 天时每例患者脑水肿体积大小,并与同期血清 MMP-9、ICAM-1 含量进行相关性分析,发现血清 MMP-9、ICAM-1 含量与脑水肿绝对和相对体积大小均具有相关性,尤其是第 5 天呈显著正相关,说明 MMP-9 及 ICAM-1 在血脑屏障破坏、脑水肿形成及继发脑损伤过程中发挥了关键作用。第 15 天 HBO 治疗 1 个疗程后,HBO 治疗组血清 MMP-9、ICAM-1 含量明显低于常规治疗组,第 25 天 HBO 治疗 2 个疗程后,HBO 治疗组指标基本恢复正常,而常规治疗组仍高于正常对照组,第 25 天的 MRI 结果显示,HBO 治疗组脑水肿体积明显小于常规治疗组,说明 HBO 治疗能显著下调 MMP-9 及 ICAM-1 的表达,有效抑制炎症反应,改善血脑屏障通透性,减轻脑水肿,降低颅内压,从而减少继发性脑损伤的发生。

脑出血后 24 h 血肿灶周围即出现明显低灌注,相当于轻-中度脑缺血改变^[10],这种缺血缺氧状态可触发一系列病理生理级联反应导致神经细胞死亡。因此,尽早提高脑灌注,增加脑组织氧供是治疗的关键所在^[11]。本研究对 36 例患者在病程第 3~5 天时开始 HBO 治疗,2~4 次后进行血肿及水肿体积测定,发现 HBO 治疗组和常规治疗组血肿大小差异无统计学意义,治疗过程中也无严重不良反应发生,说明早期 HBO 治疗是安全的。而 HBO 治疗组绝对脑水肿体积和相对脑水肿体积均小于常规治疗组,说明 HBO 治疗能快速提高血氧张力及氧的有效弥散距离,使缺血缺氧区域含有高浓度氧的血流增加,阻止再灌注损伤,提高再灌注后可挽救组织的体积;由于血管收缩、颅内压降低,从而切断脑缺氧与脑水肿的恶性循环。由此可认为,HBO 对缺血脑组织具有快速保护作用,尽早介入 HBO 治疗,可迅速阻断缺血损伤的级联反应,保护脑组织。这与 Veltkamp 等^[12]的研究结果基本一致。第 25 天即 HBO 治疗 2 个疗程后,HBO 治疗组绝对和相对脑水肿体积更显著小于常规治疗组,说明脑出血后由于炎症反应、脑水肿、血液流变学异常及细胞凋亡等多种病理生理异常往往历时较长时间,因此后期重复多次的 HBO 治疗可扩大治疗时间窗^[13],更有利于迟发脑水肿的消退,抑制炎症反应,减轻微循环障碍,改善神经功能。

血清 MMP-9、ICAM-1 含量与基线 NIHSS 评分及

其治疗前、后差值比较具有相关性,说明动态检测 MMP-9 及 ICAM-1 水平有利于了解病情严重程度,及时判断预后及转归。随着对脑出血后炎症机制认识的日益加深,简便易行的血清学检测 MMP-9 及黏附分子应广泛使用于临床。HBO 治疗联合相应的 MMPs 抑制剂和抗黏附分子治疗有望成为脑出血的有效治疗手段,降低其病死率及致残率,值得临床进一步深入研究。

参 考 文 献

- [1] 许宏伟,胡鸣一,杨期东,等. 实验性脑出血大鼠脑内基质金属蛋白酶-9 的表达研究. 中华老年心脑血管病杂志, 2005,7:53-55.
- [2] 刘兆孔,梁志刚,邹英,等. 脑出血大鼠脑组织 ICAM-1 的表达与脑含水量的变化及药物对其影响. 中华神经医学杂志, 2005,4:351-354.
- [3] Vlodavsky E, Palzur E, Soustiel JF. Hyperbaric oxygen therapy reduces neuroinflammation and expression of matrix metalloproteinase-9 in the rat model of traumatic brain injury. Neuropathol Appl Neurobiol, 2006,32:40-50.
- [4] Gebel JM Jr, Jauch EC, Brott TG, et al. Natural history of perihematomal edema in patients with hyperacute spontaneous intracerebral hemorrhage. Stroke, 2002,33:2631-2635.
- [5] Gong C, Hoff JT, Keep RF. Acute inflammatory reaction following experimental intracerebral hemorrhage in rats. Brain Res, 2000,871:57-65.
- [6] Tejima E, Zhao BQ, Tsuji K, et al. Astrocytic induction of matrix metalloproteinase-9 and edema in brain hemorrhage. J Cereb Blood Flow Metab, 2007,27:460-468.
- [7] Rosell A, Ortega-Aznar A, Alvarez-Sabin J, et al. Increased brain expression of matrix metalloproteinase-9 after ischemic and hemorrhagic human stroke. Stroke, 2006,37:1399-1406.
- [8] Kraus J, Gerriets T, Leis S, et al. Time course of VCAM-1 and ICAM-1 in CSF in patients with basal ganglia haemorrhage. Acta Neurol Scand, 2007,116:49-55.
- [9] 吴成翰,皇甫赞,王开宇,等. 脑出血患者血浆及血肿引流液中基质金属蛋白酶 9 的动态变化. 中华医学杂志, 2008,88:174-176.
- [10] 刘群,田晶,朱辉,等. 脑出血血肿周边局部脑血流量经时动态变化及 X_c-CT 的改变. 中华神经科杂志, 2007,40:257-259.
- [11] 丁新华,尤春景. 高压氧治疗的临床应用. 中华物理医学与康复杂志, 2006,28:644-646.
- [12] Veltkamp R, Siebing DA, Heiland S, et al. Hyperbaric oxygen induces rapid protection against focal cerebral ischemia. Brain Res, 2005,1037:134-138.
- [13] Yin D, Zhang JH. Delayed and multiple hyperbaric oxygen treatments expand therapeutic window in rat focal cerebral ischemic model. Neurocrit Care, 2005,2:206-211.

(修回日期:2008-12-12)

(本文编辑:松 明)