

[文章编号] 1671-587X(2024)03-0786-05

DOI:10.13481/j.1671-587X.20240323

## 急性缺血性脑卒中患者血清中同型半胱氨酸与炎症反应及氧化应激的关联性分析

唐晶<sup>1</sup>, 李环<sup>2</sup>, 张硕<sup>1</sup>, 姜立刚<sup>1</sup>

(1. 吉林医药学院附属医院神经内科二疗区, 吉林 吉林 132013; 2. 北华大学公共卫生学院环境卫生教研室, 吉林 吉林 132013)

**[摘要]** **目的:** 探讨同型半胱氨酸(Hcy)与炎症反应及氧化应激的相关性, 分析其在急性缺血性脑卒中(AIS)发生发展中的作用。**方法:** 选取首次发病的38例AIS患者作为AIS组, 并按照病例对照研究原则, 选取同期体验的健康体验者45名作为对照组。采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测2组研究对象血清中Hcy水平和炎症因子白细胞介素(IL)-6及肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )水平, 免疫比浊法检测2组研究对象血清中超敏C反应蛋白(hs-CRP)水平, 化学比色法检测2组研究对象血清中丙二醛(MDA)水平和超氧化物歧化酶(SOD)活性。采用Pearson相关分析法分析AIS患者血清Hcy水平与炎症因子及氧化应激指标水平的相关性。**结果:** 与对照组比较, AIS组患者血清中Hcy、hs-CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-6和MDA水平均明显升高( $P < 0.05$ ), SOD活性明显降低( $P < 0.05$ )。AIS患者血清Hcy水平与hs-CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-6和MDA水平呈正相关关系( $r = 0.615$ ,  $P < 0.05$ ;  $r = 0.632$ ,  $P < 0.05$ ;  $r = 0.598$ ,  $P < 0.05$ ;  $r = 0.612$ ,  $P < 0.05$ ), 与SOD活性呈负相关关系( $r = -0.325$ ,  $P < 0.05$ )。**结论:** AIS患者血清中Hcy水平与炎症因子及氧化损伤有密切关联。Hcy能够促进氧化自由基及炎症因子产生, 并对内皮细胞造成损伤, 在AIS发生发展过程中具有一定临床意义。

**[关键词]** 急性缺血性脑卒中; 同型半胱氨酸; 炎症因子; 氧化应激; 白细胞介素6

**[中图分类号]** R743.3 **[文献标志码]** A

## Analysis on association between serum homocysteine and inflammatory response and oxidative stress in patients with acute ischemic stroke

TANG Jing<sup>1</sup>, LI Huan<sup>2</sup>, ZHANG Shuo<sup>1</sup>, JING Ligang<sup>1</sup>

(1. Department of Neurology, Affiliated Hospital, Jilin Medical College, Jilin 132013, China; 2. Department of Environmental Health, School of Public Health, Beihua University, Jilin 132013, China)

**ABSTRACT** **Objective:** To discuss the correlation between homocysteine (Hcy) and inflammatory responses as well as oxidative stress, and to analyze its role in the occurrence and development of acute ischemic stroke (AIS). **Methods:** Thirty-eight patients with their first incidence of AIS were selected as AIS group, and according to the principles of case-control study, 45 healthy individuals underwent routine

**[收稿日期]** 2023-09-01

**[基金项目]** 吉林省中医药管理局重点研究室项目(2022-Z70); 吉林省吉林市科技局科技创新发展计划项目医疗卫生指导性专项(20230406105)

**[作者简介]** 唐晶(1988-), 女, 吉林省吉林市人, 主治医师, 医学硕士, 主要从事神经退行性疾病及脑血管病的基础和临床方面的研究。

**[通信作者]** 姜立刚, 主任医师, 硕士研究生导师(E-mail: beihua78726@163.com)

health examination during the same period were selected as control group. The levels of homocysteine and inflammatory cytokine interleukin (IL)-6, and tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in serum of the subjects in two groups were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method; the level of highly sensitive C-reactive protein (hs-CRP) of the subjects in two groups was detected by immunoturbidimetry; the levels of malondialdehyde (MDA) and activities of superoxide dismutase (SOD) in serum of the subjects in two groups were detected by chemical colorimetry; Pearson's correlation analysis was used to analyze the correlation between serum Hcy level and levels of inflammatory markers and oxidative stress indicators of the AIS patients. **Results:** Compared with control group, the levels of Hcy, hs-CRP, TNF- $\alpha$ , IL-6, and MDA in serum of the patients in AIS group were significantly increased ( $P < 0.05$ ), while the activity of SOD was significantly decreased ( $P < 0.05$ ). The level of Hcy in serum of the AIS patients was positively correlated with the levels of hs-CRP, TNF- $\alpha$ , IL-6, and MDA ( $r = 0.615, P < 0.05$ ;  $r = 0.632, P < 0.05$ ;  $r = 0.598, P < 0.05$ ;  $r = 0.612, P < 0.05$ ), and negatively correlated with the activity of SOD ( $r = -0.325, P < 0.05$ ). **Conclusion:** The Hcy level in serum of the AIS patients is closely associated with the inflammatory factors and oxidative damage. Hcy can promote the production of oxidative free radicals and inflammatory factors and cause damage to the endothelial cells and play a significant clinical role in the occurrence and development of AIS.

**KEYWORDS** Acute ischemic stroke; Homocysteine; Inflammatory cytokines; Oxidative stress; Interleukin-6

同型半胱氨酸 (homocysteine, Hcy) 是一种含有巯基的非蛋白质生成性氨基酸, 对机体细胞周期进展和细胞稳态维持等生理过程至关重要。衰老、吸烟和氧化应激等危险因素会导致血清中 Hcy 水平升高<sup>[1]</sup>。研究<sup>[2]</sup>显示: 炎症与高同型半胱氨酸血症间存在密切关联。因此, Hcy 会导致与氧化应激和炎症有关的疾病发生, 包括心血管或神经元功能障碍。研究<sup>[3]</sup>显示: Hcy 水平与神经元、内皮细胞和神经胶质细胞等细胞类型的活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 产生有关。轻度高同型半胱氨酸血症导致 Wistar 大鼠脑促炎细胞因子增加, 如肿瘤坏死因子  $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 (interleukin, IL)-1 $\beta$ 、IL-6 和趋化因子单核细胞趋化蛋白 1 (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)<sup>[4]</sup>。炎症和氧化应激途径是缺血性脑卒中的主要机制<sup>[5]</sup>。研究<sup>[6]</sup>表明: 高同型半胱氨酸血症是影响心脑血管事件发生的独立危险因素, 但在急性缺血性脑卒中 (acute ischemic stroke, AIS) 发生发展过程中, Hcy 与炎症反应及氧化应激的相关作用报道较少。本研究探讨 Hcy 与炎症反应及氧化应激在缺血性疾病发生发展过程中的作用, 为 AIS 的发病机制研究提供临床依据。

## 1 资料与方法

1.1 研究对象 选取 2023 年 7 月—2024 年 3 月于

吉林医药学院附属医院就诊的首次发病 AIS 患者 38 例, 作为 AIS 组。纳入标准: ①发病时间  $< 24$  h; ②存在明确的神经功能缺损症状, 如偏瘫、失语和意识障碍等, 同时符合世界卫生组织规定的 AIS 标准<sup>[7-8]</sup>; ③经吉林医药学院附属医院电子计算机断层扫描 (computed tomography, CT) 或磁共振弥散成像 (magnetic resonance diffusion imaging, DWI) 影像学检查确诊为 AIS。排除标准: ①出血性脑卒中, 如颅内出血、动脉瘤性蛛网膜下腔出血、外伤性挫伤、血管畸形和抗凝药物过量引起的颅内出血; ②CT 和 DWI 等影像学检查未见责任病灶, 如短暂性缺血性中风; ③并发其他全身性疾病, 如全身性炎症性疾病、恶性肿瘤和自身免疫性疾病等; ④颅内静脉血栓, 如静脉窦血栓形成; ⑤发病前服用影响 Hcy 水平的药物, 如叶酸、维生素 B6 或维生素 B12 等。选取同期于吉林医药学院附属医院体检中心体检的健康体检者 45 名, 作为对照组。对照组研究对象年龄、性别和高血压及糖尿病病史等一般资料与 AIS 组患者均具有可比性。根据病历和体检报告, 收集 2 组研究对象的年龄、性别和文化程度等人口学特征及高血压和糖尿病等既往病史发生情况。

为排除生活方式危险因素对 2 组研究对象血清中 Hcy 水平的影响, 本研究所选的研究对象均不吸烟且不饮酒, 具有健康的生活方式。所有受试者均

签署知情同意书,并通过吉林医药学院附属医院伦理委员会批准(伦理审批号:2023120515)。

**1.2 主要试剂和仪器** 酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒、免疫比浊法试剂盒、硫代巴比妥酸法试剂盒和黄嘌呤氧化酶法试剂盒均由南京建成生物工程研究所有限公司提供。7600全自动生化分析仪购自日本日立公司,酶标仪(型号:BKP-MPR600)购自南京佰抗生物科技有限公司。

**1.3 血清样本采集** AIS组患者入院当日采集4 mL外周静脉血,采集后给予常规抗凝离心分离血清,−80 °C保存待检。

**1.4 试剂盒检测2组研究对象血清中Hcy、炎症因子和氧化应激指标水平** 采用ELISA试剂盒检测2组研究对象血清中Hcy、IL-6和TNF- $\alpha$ 水平,免疫比浊法试剂盒检测2组研究对象血清中超敏C反应蛋白(hypersensitive C-reactive protein, hs-CRP)水平,硫代巴比妥酸法试剂盒和黄嘌呤氧化酶法

试剂盒分别检测2组研究对象血清中丙二醛(malondialdehyde, MDA)水平和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性。所有操作步骤和注意事项均参照试剂盒说明书进行。

**1.5 统计学分析** 采用SPSS 19.0统计软件进行统计学分析。2组研究对象血清中Hcy、炎症因子和氧化应激指标水平经正态性检验均符合正态分布,以 $\bar{x}\pm s$ 表示,2组间样本均数比较采用两独立样本 $t$ 检验。研究对象人口学特征和既往病史的发生情况以例数表示,构成比比较采用 $\chi^2$ 检验。Pearson相关分析计算AIS患者血清Hcy水平与Hcy、TNF- $\alpha$ 、IL-6、hs-CRP和MDA水平及SOD活性的相关性。检验水准为 $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

**2.1 2组研究对象的一般资料** 2组研究对象性别、年龄和文化程度分布和高血压及糖尿病的既往病史发生情况比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。见表1。

表1 2组研究对象一般资料  
Tab.1 General data of subjects in two groups [n( $\eta$ /%)]

Indicator	Control group(n=45)	AIS group(n=38)	$\chi^2$	P
Gender				
Male	20(44.44)	18(47.37)	0.070	0.790
Female	25(55.56)	20(52.63)		
Age (year)				
<40	4(8.89)	3(7.89)	1.500	0.683
40-49	7(15.56)	9(23.69)		
50-59	11(24.44)	11(28.95)		
$\geq 60$	23(51.11)	15(39.47)		
Education level				
Primary school	8(16.78)	7(17.32)	0.120	0.990
Junior school	12(25.57)	11(27.93)		
High school	13(32.23)	11(32.11)		
University and above	12(25.42)	9(22.64)		
Hypertension				
Yes	30(66.67)	25(65.79)		
No	15(33.33)	13(34.21)	0.010	0.933
Diabetes				
Yes	12(26.67)	12(31.58)		
No	33(73.33)	26(68.42)	0.240	0.623

**2.2 2组研究对象血清中Hcy、炎症因子和氧化应激指标水平** 与对照组比较,AIS组患者血清中Hcy、hs-CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-6和MDA水平均明显升高( $P<$

0.05),SOD活性明显降低( $P<0.05$ )。见表2。

**2.3 AIS组患者血清中Hcy水平与炎症因子和氧化应激指标水平的相关性** AIS组患者血清中Hcy

表2 2组研究对象血清中Hcy、炎症因子和氧化应激指标水平

Tab. 2 Levels of Hcy, inflammatory factors, and indicators of oxidative stress in serum of subjects in two groups

Group	<i>n</i>	Hcy [ $c_B/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$ ]	Hs-CRP [ $\rho_B/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$ ]	TNF- $\alpha$ [ $\rho_B/(\text{ng}\cdot\text{L}^{-1})$ ]	IL-6 [ $\rho_B/(\text{ng}\cdot\text{L}^{-1})$ ]	MDA [ $c_B/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$ ]	SOD [ $\lambda_B/(\text{U}\cdot\text{mL}^{-1})$ ]
Control	45	11.55±4.85	2.76±0.49	7.04±2.96	6.39±1.88	2.23±0.50	106.46±14.70
AIS	38	20.85±5.18*	10.37±2.23*	17.98±2.05*	10.68±1.82*	2.96±0.83*	97.57±12.65*

\* $P<0.05$  compared with control group.

水平与hs-CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-6和MDA水平呈正相关关系 ( $r=0.615$ ,  $P<0.05$ ;  $r=0.632$ ,  $P<0.05$ ;  $r=0.598$ ,  $P<0.05$ ;  $r=0.612$ ,  $P<0.05$ ), 与SOD活性呈负相关关系 ( $r=-0.325$ ,  $P<0.05$ )。

### 3 讨论

目前人类的疾病谱主要以慢性非传染性疾病为主, 脑血管疾病是人类死亡和残疾的主要原因。研究<sup>[9]</sup>显示: 在中国与脑卒中相关的死亡人数已达230万。因此, 分析脑卒中患者的发病因素对于优化脑卒中患者的医疗保健具有重要意义。缺血性脑卒中的病理基础为动脉粥样硬化促发的局部脑组织缺血性坏死, 高同型半胱氨酸血症在动脉粥样硬化的发生发展过程中具有重要的促进作用。血清中Hcy水平升高可通过致炎和氧化损伤机制对血管内皮细胞造成损伤, 使冠状动脉血管张力的调节功能发生改变, 促进动脉粥样硬化修饰和斑块形成<sup>[10]</sup>。研究<sup>[11]</sup>表明: Hcy水平与脑卒中的发生发展有密切关联。研究<sup>[12]</sup>显示: Hcy水平与急性脑梗死风险存在显著的剂量反应相关性。本研究结果与TU等<sup>[13]</sup>的前瞻性研究结果相似, AIS患者血清中Hcy水平明显高于对照组, 提示血清中Hcy水平升高是缺血性脑血管病发生的危险因素。

脑卒中的发病机制主要包括氧化应激和炎症反应。炎症因子不仅可以诱导功能损伤的细胞死亡, 还可通过调节巨噬细胞、细胞因子和白细胞黏附分子诱导内皮功能障碍、斑块形成和破裂、血小板聚集及血栓形成, 成为动脉粥样硬化发展的基础<sup>[14-15]</sup>。因此, 炎症反应参与了缺血性脑卒中发生发展的全过程, 部分炎症因子可作为脑卒中发生的预测因子<sup>[16-18]</sup>。由肝脏产生的糖蛋白hs-CRP是一种炎症标志物, 与动脉粥样硬化斑块的稳定性及血栓形成有关, 在脑卒中发病进程中, 由炎症细胞因子诱导其表达上调, 通过促进动脉粥样硬化的发生发展、激活补体系统、抑制纤溶系统和促进血栓形成, 继而增加缺血性脑损伤<sup>[19-20]</sup>。研究<sup>[21]</sup>表明:

脑卒中后血清IL-6和TNF- $\alpha$ 等促炎因子水平升高, 并刺激机体产生大量的hs-CRP激活补体, 从而导致炎性损伤加重。本研究结果显示: 与对照组比较, AIS组患者血清中hs-CRP、TNF- $\alpha$ 和IL-6水平明显升高, 提示首次发生AIS的病理过程即可激活炎症反应, 炎症因子参与AIS的发生发展。本研究结果显示: AIS患者血清中Hcy水平与炎症因子水平呈正相关关系。AIS患者血清中Hcy水平升高与炎症介质存在相关性, Hcy能够刺激多种炎症介质分泌, 进而通过炎症反应激活参与AIS的发生发展。

氧化应激是缺血性脑卒中的重要病理生理机制, 可作为细胞死亡的重要原因, 并与多种疾病的发生发展有关<sup>[22]</sup>。研究<sup>[23-24]</sup>表明: 血清中氧化应激指标和抗氧化系统指标水平是心脑血管疾病治疗反应或预后的预测因素。MDA是脂质过氧化物, SOD可作为机体清除氧自由基重要的抗氧化酶, MDA水平升高和SOD活性降低可提示机体处于氧化应激状态。本研究结果显示: AIS患者血清中MDA水平升高, SOD活性降低, 提示AIS患者体内氧化应激处于失衡状态, AIS病理过程中存在过度的自由基生成而未被清除, 自由基对血管内皮细胞具有高度毒性, 可加速动脉粥样硬化进展。Hcy氧化可产生大量的自由基<sup>[24]</sup>。本研究结果显示: AIS患者血清中Hcy水平与MDA水平呈正相关关系, 与SOD活性呈负相关关系, 提示在AIS病理过程中, Hcy可通过生成自由基, 进而介导氧化应激损伤神经血管。

综上所述, 血清中Hcy水平与AIS患者炎症因子及氧化损伤有密切关联。Hcy能够促进氧自由基及炎症因子产生, 并对内皮细胞造成损伤, 在AIS发生发展过程中具有一定临床意义。

#### 利益冲突声明:

所有作者声明不存在利益冲突。

#### 作者贡献声明:

唐晶参与病例统计、数据收集和统计分析及论文撰写, 李环参与文献检索和数据整理, 张硕参与数据整理, 姜立刚

参与研究设计、论文撰写指导和论文审校。

#### [参考文献]

- [1] CHEN S F, WU P, ZHOU L, et al. Relationship between increase of serum homocysteine caused by smoking and oxidative damage in elderly patients with cardiovascular disease[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(3): 4446-4454.
- [2] ELSHERBINY N M, SHARMA I, KIRA D, et al. Homocysteine induces inflammation in retina and brain[J]. *Biomolecules*, 2020, 10(3): 393.
- [3] REHMAN T, SHABBIR M A, INAM-UR-RAHEEM M, et al. Cysteine and homocysteine as biomarker of various diseases[J]. *Food Sci Nutr*, 2020, 8(9): 4696-4707.
- [4] SCHERER E B S, LOUREIRO S O, VUADEN F C, et al. Mild hyperhomocysteinemia increases brain acetylcholinesterase and proinflammatory cytokine levels in different tissues[J]. *Mol Neurobiol*, 2014, 50(2): 589-596.
- [5] LAKHAN S E, KIRCHGESSNER A, HOFER M. Inflammatory mechanisms in ischemic stroke: therapeutic approaches[J]. *J Transl Med*, 2009, 7: 97.
- [6] 付洪伟. 缺血性脑血管病病人血清胱抑素C、MMP-9及Hcy水平与颈动脉粥样硬化斑块的相关性分析[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2019, 17(1): 143-145.
- [7] BOEHME A K, ESENWA C, ELKIND M S V. Stroke risk factors, genetics, and prevention [J]. *Circ Res*, 2017, 120(3): 472-495.
- [8] TSIVGOULIS G, PATOUSI A, PIKILIDOU M, et al. Stroke incidence and outcomes in northeastern Greece: the evros stroke registry[J]. *Stroke*, 2018, 49(2): 288-295.
- [9] TU W J, ZHAO Z P, YIN P, et al. Estimated burden of stroke in China in 2020 [J]. *JAMA Netw Open*, 2023, 6(3): e231455.
- [10] 鞠吉静, 吴明薪. 脑血管病患者血浆同型半胱氨酸水平分析[J]. *中国城乡企业卫生*, 2020, 35(6): 133-134.
- [11] WANG M Y, LIANG X S, CHENG M, et al. Homocysteine enhances neural stem cell autophagy in *in vivo* and *in vitro* model of ischemic stroke [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(8): 561.
- [12] WU X Y, ZHOU Q G, CHEN Q, et al. Association of homocysteine level with risk of stroke: a dose-response meta-analysis of prospective cohort studies [J]. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2020, 30(11): 1861-1869.
- [13] TU W J, CHAO B H, MA L, et al. Case-fatality, disability and recurrence rates after first-ever stroke: a study from bigdata observatory platform for stroke of China[J]. *Brain Res Bull*, 2021, 175: 130-135.
- [14] SEKERDAG E, SOLAROGLU I, GURSOY-OZDEMIR Y. Cell death mechanisms in stroke and novel molecular and cellular treatment options [J]. *Curr Neuropharmacol*, 2018, 16(9): 1396-1415.
- [15] WU L Q, XIONG X X, WU X M, et al. Targeting oxidative stress and inflammation to prevent ischemia-reperfusion injury [J]. *Front Mol Neurosci*, 2020, 13: 28.
- [16] 刘洁, 胡小辉, 龚道恺. 急性脑梗死患者外周血Th17、Treg、Th17/Treg及炎症因子的动态变化过程研究[J]. *临床神经病学杂志*, 2020, 33(2): 102-105.
- [17] SABIR RASHID A, HUANG-LINK Y, JOHNSON M, et al. Predictors of early neurological deterioration and functional outcome in acute ischemic stroke: the importance of large artery disease, hyperglycemia and inflammatory blood biomarkers [J]. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2022, 18: 1993-2002.
- [18] MOBARRA N, MOROVATDAR N, NAPOLI M D, et al. The association between inflammatory markers in the acute phase of stroke and long-term stroke outcomes: evidence from a population-based study of stroke [J]. *Neuroepidemiology*, 2019, 53(1/2): 20-26.
- [19] MENGOZZI M, KIRKHAM F A, GIRDWOOD E E R, et al. C-reactive protein predicts further ischemic events in patients with transient ischemic attack or lacunar stroke [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1403.
- [20] YE Z S, ZHANG H, SUN L L, et al. GWAS-supported CRP gene polymorphisms and functional outcome of large artery atherosclerotic stroke in Han Chinese [J]. *Neuromolecular Med*, 2018, 20(2): 225-232.
- [21] 关婷, 王思思. 银杏内酯注射液对高危非致残性缺血性脑卒中患者炎症因子水平及神经功能缺损的影响[J]. *现代中西医结合杂志*, 2019, 28(16): 1784-1787.
- [22] KAMAL F Z, LEFTER R, JABER H, et al. The role of potential oxidative biomarkers in the prognosis of acute ischemic stroke and the exploration of antioxidants as possible preventive and treatment options [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(7): 6389.
- [23] DARROUDI S, TAJBAKHSH A, ESMAILY H, et al. 50 bp deletion in promoter superoxide dismutase 1 gene and increasing risk of cardiovascular disease in Mashhad stroke and heart atherosclerotic disorder cohort study [J]. *Biofactors*, 2020, 46(1): 55-63.
- [24] GIBSON M S, DOMINGUES N, VIEIRA O V. Lipid and non-lipid factors affecting macrophage dysfunction and inflammation in atherosclerosis [J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 654.