

急性脑梗死患者血清 TNF- α 和 IL-6 的表达及疏血通干预的临床意义

王咏龙, 邹晓辉, 党利华

(广东省深圳市第八人民医院, 广东深圳 518000)

摘要: 目的 研究急性脑梗塞患者血清肿瘤坏死因子(TNF- α)和血清白介素 6(IL-6)水平及疏血通干预后的变化,探讨其神经保护机制和临床意义。方法 用临床随机对照的观察方法,将 56 例急性脑梗死患者按随机数字表法将入院的急性脑梗死患者随机分为疏血通治疗组和灯盏细辛对照组。两组疗程均为 14d。分别在治疗 1d、3d、7d 和 14d 检测血清 TNF- α 和 IL-6 含量。结果 疏血通治疗组治疗后患者血清 TNF- α 和 IL-6 含量明显减少,与灯盏细辛对照组比较差异有显著性($P<0.05$)。结论 疏血通能减少血清 TNF- α 和 IL-6 含量来改善急性脑梗塞患者缺损的神经功能。

关键词: 急性脑梗塞; 疏血通; TNF- α ; IL-6

中图分类号: R255.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2723(2013)02-0070-03

急性脑梗死损伤是一个多因素多机制多环节的复杂过程,包括梗死周围除极化、钙超载、神经细胞凋亡、兴奋性氨基酸毒性、自由基反应、白细胞浸润等环节。研究显示脑缺血神经保护治疗是作用其一或几个过程,使之可能成为干预治疗的靶点。本研究探讨疏血通干预下急性脑梗死患者血清 TNF- α 和 IL-6 变化及临床疗效,为急性缺血性脑损伤的治疗提供依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

(1)急性脑梗死病例:深圳市宝安区人民医院神经内科 2010 年 9 月至 2012 年 10 月住院的急性脑梗死患者 56 例,包括动脉粥样硬化性血栓形成和腔隙性梗死患者,其中男 33 例,女 23 例,年龄 32~88 岁。病例纳入标准:1 周内发病,头颅 CT 或 MRI 显示脑梗死部位在颈内动脉系统和/或椎基底动脉系统,意识清楚或嗜睡、昏睡,瘫痪肢体肌力 0~4 级。所有病例均符合中华医学会第 4 次脑血管疾病学术会议修订的脑血管疾病诊断标准。不包括严重的心、肝、肾功能障碍、炎症、肿瘤、心肌梗死病史以及 1 个月内服用抗血小板聚集和抗凝药的患者。(2)正常对照组(N group):宝安区人民医院医院体检科健康体检人员 28 例,其中男 15 例,女 13

例,年龄 29~78 岁,无脑血管疾病家族史,无肝、肾、血液病、自身免疫性疾病和甲状腺疾病史。

1.2 实验方法

1.2.1 治疗方法

实验分为疏血通治疗组(T group)和灯盏细辛对照组(C group),每组均 28 例。两组均常规使用拜阿司匹林或氯吡格雷抗血小板聚集、营养脑神经、调控高血压在合适水平、纠正高血糖、预防脑水肿、维持水电解质酸碱平衡等对症支持治疗。在常规处理基础上,疏血通治疗组给予疏血通注射液(牡丹江友博药业有限责任公司生产)6mL 加入生理盐水 250mL 静脉滴注,每日 1 次;灯盏细辛对照组则在常规治疗的基础上加用灯盏细辛 40mL,加入生理盐水 250mL 静滴,每日 1 次;两组疗程均为 14d。观察 1 个疗程。

1.2.2 血清 TNF- α 和 IL-6 测量方法

疏血通治疗组和灯盏细辛对照组患者均于入院后 1d、3d、7d 和 14d 清晨采取空腹肘静脉血约 2mL,置于 0.1mol/L 枸橼酸三钠 1:9 抗凝的试管内摇匀,常温下离心 3 000r/min 15min,分离血清后置于-70℃低温冰箱保存。TNF- α 和 IL-6 含量测定前置于室温下复苏,使用同一批号试剂进行测定。采用双抗体夹心酶联免疫法测定患者血清 TNF- α 和

收稿日期: 2012-11-19 修回日期: 2013-04-02

作者简介: 王咏龙(1974~),男,汉族,湖南岳阳人,主治医师,博士研究生,研究方向:脑血管疾病。

IL-6 含量 (TNF- α 和 IL-6 试剂盒试剂盒由北京晶美生物工程有限公司提供)。ELISA 操作步骤严格按照说明书进行。

1.2.3 神经功能评价

所有病例均在入院 1d、3d、7d 和 14d 完成美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)评分^[1]。

1.3 统计学方法

所有数据均用 SPSS11.0 统计软件包处理数据。各项数据均以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用单因素方差分析,同一时相点两组之间的比较采用 t 检验,同组不同时相点的比较采用 q 检验。 $P<0.05$ 即认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TNF- α 检测结果

疏血通治疗组和灯盏细辛对照组患者入院后 1d 血清 TNF- α 含量无显著差异($P>0.05$)。两组入院 3d、7d 和 14d 后 NSE 检测结果比较差异均有显著性($P<0.05$),对比灯盏细辛对照组,疏血通治疗组治疗后 3d、7d 和 14d 血清 TNF- α 水平明显降低;疏血通治疗组及灯盏细辛对照组各时段与健康对照组($4.8\pm 3.4\text{ng/L}$)比较差异有高度显著性(P 均 <0.01),疏血通治疗组 14d 与健康对照组比较差异无显著性,恢复至正常水平(见表 1)。

表 1 疏血通治疗组和灯盏细辛对照组患者血清 TNF- α 含量

组别	1d	3d	7d	14d
T group	42.3 $\pm$ 8.5*	21.4 $\pm$ 6.7**	10.1 $\pm$ 5.0**	3.8 $\pm$ 2.3*
C group	39.1 $\pm$ 7.2*	36.0 $\pm$ 6.9*	29.1 $\pm$ 5.7*	16.3 $\pm$ 6.6*

注: * $P<0.01$ 与健康对照组比较, ** $P<0.05$ 与灯盏细辛对照组比较

2.2 IL-6 检测结果

疏血通治疗组和灯盏细辛对照组患者入院后 1d 血清 IL-6 含量无显著差异($P>0.05$)。两组治疗后 3d、7d 和 14d 后 IL-6 检测结果比较差异均有显著性($P<0.05$);对比灯盏细辛对照组,疏血通治疗组治疗后 3d、7d 和 14d 血清 IL-6 水平明显降低;疏血通治疗组及灯盏细辛对照组各时段与健康对照组($11.0\pm 1.8\text{ng/L}$)比较差异有高度显著性(P 均 <0.01),疏血通治疗组 14d 与健康对照组比较差异无显著性,恢复至正常水平(见表 2)。

表 2 疏血通治疗组和灯盏细辛对照组患者血清 IL-6 含量 (ng/L)

组别	1d	3d	7d	14d
T group	62.6 $\pm$ 7.1*	36.8 $\pm$ 4.7**	20.3 $\pm$ 5.0**	9.3 $\pm$ 2.1*
C group	58.5 $\pm$ 6.3*	50.2 $\pm$ 5.5*	38.3 $\pm$ 6.4*	22.4 $\pm$ 4.9*

注: * $P<0.01$ 与健康对照组比较, ** $P<0.05$ 与灯盏细辛对照组比较

2.3 美国国立卫生院神经功能缺损评分(NIHSS)

脑梗死属中医学“中风”、“卒中”等范畴,是以突然昏仆,半身不遂,语言謇涩或失语,口舌歪斜,偏身麻木为主要表现,并具有起病急,变化快,如风邪善行数变的特点的疾病,是中老人群的常见病及多发病。中医病因病机系正气不足、内风妄动、风邪入中(气虚邪中)、饮食伤脾、痰湿阻络、暴怒伤肝、气机逆乱火热亢盛、上扰神窍、劳欲伤肾、脉络麻痹、气虚血瘀等。本病中医症候主要为神志昏蒙,偏身麻木,半身不遂,口舌歪斜,言语謇涩或语不达意,甚或不语;或出现瞳神变化,目偏不瞬,头痛,步履不稳,饮水发呛,眩晕等症候。

疏血通治疗组和灯盏细辛对照组患者入院 1d NIHSS 评分与两组治疗 3d、7d 和 14d 后结果比较差异均有显著性($P<0.01$),治疗后 NIHSS 评分均降低,说明两种药物均对急性脑梗死患者有较好的治疗,见表 3。

表 3 疏血通治疗组和灯盏细辛对照组 NIHSS 评分比较

组别	1d	3d	7d	14d
T group	9.8 $\pm$ 1.3	7.3 $\pm$ 0.8*	5.4 $\pm$ 2.0*	4.2 $\pm$ 2.1*
C group	10.6 $\pm$ 2.1	7.2 $\pm$ 1.8*	6.1 $\pm$ 1.1*	5.2 $\pm$ 0.9*

注: * $P<0.01$

3 讨论

疏血通注射液主要由水蛭和地龙等动物类中药组方而成,其成分主要为水蛭素和蚓激酶,是一种临床上常用的抗凝血、降低血黏度、改善微循环的药物。研究显示,水蛭素能与凝血酶形成特殊复合物,从而抑制凝血酶的蛋白水解功能,抑制受凝血酶刺激的血小板释放作用,具有抗凝及抗血栓作用。蚓激酶则具有降纤和抗凝作用。蚓激酶能直接溶解纤维蛋白凝块,降低人体血液中纤维蛋白原,同时具有抗血小板聚集,防止血栓形成。

肿瘤坏死因子(TNF- α)是一种由单核巨噬细胞

产生的多肽调节因子,具有多种生物学活性,与脑缺血损伤关系密切^[2-3]。研究显示,TNF- α 能激活凋亡通路,其分子结构中有致死区域,致死区域可募集 TNFR 结合死亡域蛋白,并通过它导致细胞凋亡。TNF- α 还可损伤髓鞘和少突胶质细胞,增强星形胶质细胞增生,促进脑缺血后的脱髓鞘和反应性胶质增生。此外,TNF- α 是缺血性脑血管病炎症反应中重要的炎症介质,参与了脑梗死的发生发展。TNF- α 在触发炎症反应中处于中心地位,能诱导炎症因子生成和激活,诱导黏附分子的表达,并刺激细胞生长。TNF- α 通过上调粘附分子表达,诱导胶原酶生成,刺激和释放趋化剂使炎症细胞从血管向神经组织移行。炎症细胞迁移至缺血脑组织中,产生炎症反应,并可能发生呼吸爆发,产生大量自由基。TNF- α 还通过血小板因子、血栓素的合成和释放,抑制蛋白 C、蛋白 S 系统,影响血管舒缩活性物质(如内皮素)的表达,促进血栓的形成。TNF- α 引起血管内凝血,导致血栓形成。TNF- α 引起内皮细胞释放促凝物质,如血小板激活因子、血管性血友病因子等。这些促凝物质能阻碍蛋白 C 和(或)蛋白 S 的聚积,减少抗凝物质在内皮细胞表面形成。本实验显示疏血通治疗组治疗后 3d、7d 和 14d 血清 TNF- α 水平明显降低,说明单核巨噬细胞产生的多肽调节因子 TNF- α 减少,减少细胞凋亡、减少炎症反应,从而缩小急性脑梗死灶面积、神经功能缺损程度得到一定程度恢复。

白介素 6 (IL-6) 是一种由有核细胞如单核细胞、B 细胞、T 细胞、成纤维细胞、内皮细胞、星形胶质细胞和小胶质细胞等产生的蛋白质,具有多种生物学功能的细胞因子,是参与细胞调节、炎症反应和造血调控的重要细胞因子。IL-6 具有多种生物效应,对神经系统发挥神经营养、神经保护及神经毒性双重作用。正常神经细胞表达低密度的 IL-6,有中枢免疫介导和神经修复等生理作用;而在缺血状态下,高浓度的 IL-6 则参与了神经损伤。IL-6 促进磷脂酶释放,通过花生四烯酸途径产生自由基,同时白细胞透过血管壁,侵入病变区释放多种化学毒物,其形成的聚集物阻塞微小血管,引起血流动力

学改变,促进血栓形成,加重局部缺血缺氧,使梗死范围扩大;此外,炎症因子增高可促进脑局部及机体处于促凝血状态以及脑细胞坏死和凋亡。研究证实急性脑梗死患者血清 IL-6 水平增加时急性脑梗死患者体内淋巴细胞和单核巨噬细胞等均处于激活状态,脑梗死后血清 IL-6 水平增加的程度可反映脑缺血后炎性病理损伤的程度,IL-6 可能参与了脑梗死的发生、发展过程^[4]。血清 IL-6 水平升高在急性脑梗死发生、发展中具有重要作用,可作为患者病情判断及转归预测的标志物。本实验显示疏血通治疗组治疗后第 3 天、第 7 天和第 14 天血清 IL-6 水平明显减少,从而减少 IL-6 对缺血神经的损伤,减轻急性脑梗塞过程的炎症反应,提高临床疗效。

急性脑梗死损伤病理生理过程十分复杂,涉及多种因素,是一个多环节、多途径、多因素损伤的酶促级联反应,干预其中某一环节或途径单一的治疗经临床证实疗效甚微。我们选择分析疏血通对急性脑梗死患者体内 TNF- α 和 IL-6 表达的影响,探讨脑梗死患者血清 TNF- α 和 IL-6 的浓度变化以及这种变化与脑梗死复杂的病理生理关系,作为一种潜在性的脑保护剂机制有待进一步研究。

参考文献

- [1] Mori M, Naganuma M, Okada Y, et al. Early Neurological Deterioration within 24 Hours after Intravenous rt-PA Therapy for Stroke Patients: The Stroke Acute Management with Urgent Risk Factor Assessment and Improvement rt-PA Registry[J]. *Cerebrovasc Dis*, 2012, 34(2): 140-6.
- [2] Gutiérrez-Fernández M, Leci?ana MA, Rodríguez-Frutos B, et al. CDP-choline at high doses is as effective as i. v. thrombolysis in experimental animal stroke [J]. *Neurol Res*, 2012, 34(7): 649-56.
- [3] Khan MM, Motto DG, Lentz SR, et al. ADAMTS13 reduces VWF-mediated acute inflammation following focal cerebral ischemia in mice [J]. *Cerebrovasc Dis*, 2012, 33 (5): 453-60.
- [4] Medeiros CA, de Bruin VM, Andrade GM, et al. Obstructive sleep apnea and biomarkers of inflammation in ischemic stroke[J]. *Acta Neurol Scand*, 2012, 126(1): 17-22.

(编辑:迟越)

(英文摘要见第 86 页)

同学们的疑问。同时,考虑加入一些设计型实验,只给出题目及要求,其余的所有工作都由学生自主完成。要求同学提前查阅相关资料、确定实验方案设计、安排小组分工和实验进程,提交所需药品及仪器需求单等,当实验全部结束后,再以小论文形式提交实验报告。这种设计型实验,不但可以使

3.2 加强实践环节的建设,合理安排实训

制药工程专业是一个实践性很强的专业,因此除了在实验教学方面进行改革外,还需要加强在生产环节的实训,使学生能尽早接触和认识生产过程。我们可以在大三安排了学生到药厂的认识实习,以参观的形式进行,使学生对药厂有一个初步的认识。在教学进行到不同阶段时,安排相应的内容,到合作单位的实训基地进行集中培训,进行各单元的操作训练,使学习从课堂到实验再到生产,形成了一个合理的教学过程。

3.3 加强师资队伍建设

为适应高素质复合型应用性人才培养的需要,改善教师的知识结构和能力结构,提高教师的业务水平和综合素质,造就一支既具有应用性人才培养能力,又具有产学研合作能力的应用性教师队伍。可以通过校企合作方式,以学校师资与企业工程技术人员为依托,组建服务于企业、学校的“产教结合”教学科研团队。企业保证给予学校技术、设备、人员上的支持,保证学校“双师型”教师的培训,保证提供学生实习、就业的机会。形成一支了解社会需求、教学经验丰富、专兼职结合、既懂药学知识又

具有扎实制药工程技术知识的师资队伍。

4 总结

本校制药工程专业实验教学通过以上改革呈现出崭新的面貌,不仅更新了实验内容,突出了中医药特色,而且培养了学生的动手和创新能力。应用型人才的培养,离不开实验教学,实验教学体系的改革是一项艰巨而系统的工程,需要我们高校教师依靠本校特色在教学实践的过程中不懈的努力,不断完善,坚持长期进行,这样,才能为我国制药领域内的发展和药学应用型人才的培养做出应有的贡献^[7]。

参考文献

- [1] 邱俊,王亚红,钟芳丽,等. 制药工程专业实验教学改革探索与实践[J]. 广东化工,2011,38(1):245-246.
- [2] 熊磊,陈林兴,肖兵,周青. 云南中医学院办学特色初探[J]. 云南中医学院学报,2007,30(4):57-60.
- [3] 刘小平,徐海星,李湘南,等. 制药工程专业实验教学改革研究[J]. 实验室科学,2009,12(6):15-17.
- [4] 何洁,刘文洪,梁泽华,等. 中医药背景制药工程专业实验课程体系改革与实践[J]. 中国中医药信息杂志,2011,18(9):106-107.
- [5] 马红梅,侯志安,徐仲玉,等. 制药工程专业实验课程建设的探索与实践[J]. 实验室研究与探索,2010,29(5):112-115.
- [6] 朱鑫庆,刘火安,陈笈,傅亚,徐刚. 制药工程专业教育模式初探[J]. 重庆科技学院学报(社会科学版),2008(12):204-205.
- [7] 冯淑华,林强,李可意. 制药工程专业实践教学体系的探索[J]. 北京联合大学学报(自然科学版),2007,21(4):85-87.

(编辑:徐建平)

(原文见第 70 页)

Expression of TNF- α and IL-6 in Patients with Acute Cerebral Infarction after Clinical intervention of Shuxuetong Injection and Clinical Significance

WANG Yong-long, ZOU Xiao-hui, DANG Li-hua

(Shenzhen Eighth People's Hospital, Shenzhen Guangdong 518000)

ABSTRACT: **Objective** To observe influence of Shuxuetong injection on serum Tumor necrosis factor (TNF- α) and Interleukin 6 (IL-6) in patients with acute cerebral infarction and explore its neurological protective mechanisms and clinical significance. **Methods** with clinical randomized controlled observation method, 56 cases were randomly divided into Shuxuetong injection treatment group and the control group of Erigeron breviscapus, 28 cases in each group. The period of treatment of two groups was 14 days. On 1d, 3d, 7d and 14d of treatment, serum TNF- α and IL-6 levels were detected. **Results** Compared with the control group, serum TNF- α and IL-6 were significantly decreased after treatment of 3d, 7d and 14d and there were significant differences ($P < 0.05$). **Conclusion** Shuxuetong injection can decrease TNF- α and IL-6 level of treatment group patients to improve neural function defect of acute cerebral infarction patients.

KEY WORDS: acute cerebral infarction; Shuxuetong injection; TNF- α ; IL-6