临床研究 文章编号:0253-3626(2010)01-0091-03

阿托伐他汀对急性自发性脑出血患者血清 IL-1β、TNF-α 和 OX-LDL 水平的影响

谭家泽,朱勤岚,刘光维,王咏龙
(重庆医科大学附属第一医院神经内科,重庆 400016)

【摘 要】目的:观察阿托伐他汀对急性脑出血患者血清 IL-1β、TNF-α、和 OX-LDL 血脂的影响,探讨阿托伐他汀对急性脑出血脑保护作用。方法:60 例脑出血患者分为 4 组:急性脑出血血脂正常组(A 组)、急性脑出血高血脂组(AH 组)、血脂正常急性脑出血阿托伐他汀治疗组(AT 组)、高血脂急性脑出血阿托伐他汀治疗组(AHT 组)。神经功能缺损程度评分(Neurological deficiency score,NDS)检测临床治疗效果。双抗体夹心 ELISA 法测定 IL-1β、TNF-α 和 OX-LDL,生物化学法测定血脂。结果:AT 组血清 IL-1β、TNF-α、OX-LDL 浓度和 A 组比较显著降低 ($P<0.05$),经过阿托伐他汀治疗 2、4、6 周后 IL-1β、TNF-α、OX-LDL 浓度值和治疗前比较无明显变化($P>0.05$)。AHT 组血清 IL-1β、TNF-α、OX-LDL 浓度和 AH 组比较显著降低($P<0.01$),经过阿托伐他汀治疗 4 周、6 周后 IL-1β、TNF-α、OX-LDL 浓度值和治疗 2 周值比较明显降低($P<0.01$)。结论:阿托伐他汀能够降低急性脑出血患者血清 IL-1β、TNF-α、OX-LDL 水平,阿托伐他汀对急性脑出血可以通过抑制炎症反应和氧化应激发挥治疗保护作用。

【关键词】急性自发性脑出血;阿托伐他汀;炎症;氧化应激
【中国图书分类法分类号】743.3 【文献标识码】A 【收稿日期】2009-04-02

Effects of atorvastatin on serum levels of IL-1β, TNF-α and OX-LDL in cerebral spontaneous hemorrhage

TAN Jia-ze, et al
(*Department of Neurology, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abatract】*Objective*: To observe the influence of atorvastatin on serum levels of IL-1β, TNF-α, OX-LDL and serum lipid in cerebral spontaneous hemorrhage to study its protection mechanisms for cerebral spontaneous hemorrhage. *Methods*: Sixty patients with cerebral hemorrhage were divided into normal serum lipid level group with cerebral spontaneous hemorrhage (A), and higher serum lipid level group with cerebral spontaneous hemorrhage (AH), normal serum lipid level cerebral spontaneous hemorrhage group with atorvastatin treatment (AT), and higher serum lipid level cerebral spontaneous hemorrhage group with atorvastatin treatment (AHT). Neurological deficiency score was examined. IL-1β, TNF-α, and OX-LDL were measured by enzyme linked immunosorbent assay; and serum lipid level was measured by biochemistry. *Results*: The serum levels of IL-1β, TNF-α, and OX-LDL in AT group were significantly decreased compared with those of A group ($P<0.05$). At 2w, 4w and 6w after treatment, the serum levels of IL-1β, TNF-α, and OX-LDL had no obvious change compared with those before treatment ($P>0.05$); The serum levels of IL-1β, TNF-α, and OX-LDL in AHT group were significantly lower than those in AH group, and compared with those at 2w, all the levels at 4w and 6w were significantly lower ($P<0.01$). *Conclusion*: Atorvastatin can decrease the serum levels of IL-1β, TNF-α, and OX-LDL and may have protecting functions on cerebral spontaneous hemorrhage by restraining inflammation and oxidative stress.

【Key words】Cerebral spontaneous hemorrhage; Atorvastatin; Inflammation; Oxidative stress

他汀类药物(Statins),即 3-羟基-3-甲基戊二酸单酰辅酶 A (3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A, HMG-CoA)还原酶抑制剂,是一类强效降胆固醇药物,具有安全性高,耐受性好等优点,该类药物除能明显调节血脂外[1,2],能显著降低血液粘稠度,减轻急性出血性脑损伤的症状[3,4]。出血性脑损伤是一个多因素、多机制、多环节的恶性级联过程,自由基反应、炎症和细胞凋亡是造成出血性脑损伤的中心环节。氧化低密度脂蛋白(Oxidized low-density lipoprotein, OX-LDL)在动脉粥样硬化和自发性脑出血的发生发展中起着非常重要的作用[5,6],动脉粥样硬化的发生、发展与低密度脂蛋白

作者介绍:谭家泽(1972-),女,护师,
研究方向:脑血管疾病。

(Low-density lipoprotein,LDL)有关。LDL 促进动脉粥样硬化的发生发展主要通过 OX-LDL 的作用得以实现。OX-LDL 的产生是氧化应激的产物,自由基可以引发氧化应激效应,加速脂质过氧化。脂类代谢异常、脂质过氧化(OX-LDL)是引起动脉硬化和自发性脑出血的重要危险因素。本实验采用阿托伐他汀对急性自发性脑出血患者进行治疗干预,观察其对急性自发性脑出血患者血清 IL-1β、TNF-α、OX-LDL 和血脂水平的影响,探讨阿托伐他汀对急性自发性脑出血的脑保护作用机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料

1.1.1 脑出血组 (Cerebral hemorrhage,CH) 重庆医科大学附属第一医院神经内科 2005 年 1 月至 2008 年 1 月自发性脑出血住院患者。入选标准:急性发病 2 h 内;CT 证实出血部位在基底节区; 神经功能缺损以瘫痪程度和意识障碍为准:意识水平均为嗜睡或昏睡、瘫痪肢体肌力 0~3 级之间。且所有病例均符合 1995 年全国第四次脑血管疾病学术会议修订的诊断标准[7],不包括心源性、动脉炎、外伤和血液病等引起的脑出血;排除患有严重肝肾疾病、甲状腺疾病和最近 3 个月服用降脂药和抗凝药。共 60 例,男 32 例,女 28 例,最大年龄 76 岁,最小年龄 21 岁,平均年龄(56 ± 14)岁。

1.1.2 高脂血症入选标准 血清总胆固醇(Total cholesterol,TC)≥5.72 mmol/L 或低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)≥3.64 mmol/L 作为入选条件,合并高血压 16 例,冠心病 8 例,排除肝肾疾病及甲状腺功能减低等引起的继发性高脂血症,排除感染、肿瘤及自身免性疾病等疾病。

1.2 方法

分别抽取患者清晨空腹肘静脉血, 以检测血清 IL-1β、TNF-α、OX-LDL、血脂,室温放置 2 h,以 2 000 r/min 离心 10 min,提取血清 100 μl,放置 -70℃冰箱保存,用同一批号试剂测定。双抗体夹心酶联免疫法(ELISA)测定血清 IL-1β、TNF-α、OX-LDL(试剂盒:上海西唐生物科技有限公司提供,美国 A&D 公司生产)。ELISA 操作步骤:设标准孔 8 孔,每孔中各加入 100 μl 标准品稀释液, 第 1 孔中加入 1 000 pg/ml 的标准品 100 μl, 混匀后从第 1 孔中用加样器吸出 100 μl 移至第 2 孔,混匀后用加样器再吸出 100 μl 移至第 3 孔,如此反复作对倍稀释至第 5 孔,最后,从第 7 孔中吸出 100 μl 弃去,使之体积均为 100 μl。第 8 孔为空白对照。从而分别得到 1 000、500、250、125、62.5、31.2、15.6、0 pg/ml 的标准品;在反应板待测品孔中,每孔各加入待测样品 100 μl;将反应板充分混匀后置 37℃孵育 120 min;用稀释 20 倍后的洗涤液将反应板充分洗涤 5 次,放滤纸上印干;标准孔及待测品孔中各加入第一抗体工作液 50 μl;将反应板置 37℃孵育 60 min,洗板,每孔各加入酶标抗体工作液 100 μl;将反应板置 37℃ 60 min;洗板;每孔各加底物工作液 100 μl,并将反应板置 37℃暗处 5~10 min;每孔各加入 50 μl (1 滴)终止液混匀;在 492 nm 处测吸光值(OD_{450})。以标准品的浓度为横轴,OD 值为纵轴在半对数纸上作图, 画出标准曲线; 根据样品之 OD 值在该曲线上查出相应 IL-1β 和 IFN-α 含量。实验在重庆市神经病学重点实验室进行。实验分为 4 组:急性脑出血血脂正常组(A 组)、急性脑出血高血脂组(AH 组)、血脂正常急性脑出血阿托伐他汀治疗组(AT 组)、高血脂急性脑出血阿托伐他汀治疗组(AHT 组)。患者给预阿托伐他汀 10 mg/d 口服治疗,选择治疗后 2 周、4 周、6 周为观察点。神经功能缺损程度评分(Neurological deficiency score,NDS)检测临床治疗效果。

1.3 统计学处理

各项数据均以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析,两组之间同一时相点的比较采用 t 检验。$P \leq 0.05$ 有统计学意义。用 SPSS11.0 统计软件包处理数据。

2 结 果

2.1 各组 NDS 评分结果

与同时点出血对照组比较, 治疗组 NDS 均有显著降低($P<0.05$)。见表 1。

2.2 脑出血血脂正常组和脑出血血脂正常治疗组检测结果(表 2)

AT 组血清 IL-1β、TNF-α、OX-LDL 浓度和 A 组比较显著降低($P<0.05$),经过阿托伐他汀治疗 2 周、4 周、6 周后 IL-1β、TNF-α、OX-LDL 浓度值和治疗前比较无明显变化($P>0.05$)。TC、LDL-C 值 AT 组和 A 组也无明显变化(表 2)。

2.3 脑出血高血脂组和脑出血高血脂治疗组检测结果(表3)

AHT 组血清 IL-1β、TNF-α、OX-LDL 浓度和 AH 组比较显著降低($P<0.01$),经过阿托伐他汀治疗 4 周、6 周后 IL-1β、TNF-α、OX-LDL 浓度值和治疗 2 周值比较明显降低($P<0.01$),TC、LDL-C 值 AHT 组明显变化,和 IL-1β、TNF-α、OX-LDL 浓度变化具有方向一致性(表 3)。

表 2 和表 3 显示 AHT 组血清 IL-1β、TNF-α、OX-LDL 浓度均比 AT 组增高,AH 组血清 IL-1β、TNF-α、OX-LDL 浓度均比 A 组也增高,且 AHT 组 2 周、4 周、6 周值比 AT 组相同时相点都明显增高($P<0.01$)。

3 讨 论

出血性脑损伤的原因之一是炎症反应和氧化应激反应。OX-LDL 由血浆中的 LDL 经过氧化修饰形成脂质过氧化产物, 是粥样斑块的特征性成分之一。OX-LDL 可通过促进 MMP 表达有关,OX-LDL 能够诱导巨噬细胞, 血管内皮细胞和平滑肌细胞 MMP-2 和 MMP-9 表达。动脉粥样硬化发生时 OX-LDL 损伤动脉内膜,刺激血管内皮细胞分泌 MMP 降解基底膜,为 OX-LDL 的渗透、平滑肌细胞的增殖和迁移创造

表 1 各组 NDS 评分结果

组别	样本数	NDS(分)		
		2 周	4 周	6 周
A	20	28.12 ± 4.32	24.14 ± 2.24	22.12 ± 4.31
AT	16	22.22 ± 3.26[a]	19.31 ± 4.28[a]	16.26 ± 3.67[a]
AH	12	28.21 ± 1.12	26.60 ± 5.18	23.48 ± 5.28
AHT	12	21.32 ± 1.18[a]	20.02 ± 5.22[a]	18.02 ± 5.22[a]

注:与出血对照组比较,[a]$P<0.05$

表 2 A 组和 AT 组 IL-1β (ng/L)、TNF-α (ng/L)、OX-LDL(ng/L)、血脂(mmol/L)值

	A 组			AT 组		
	2 周	4 周	6 周	2 周	4 周	6 周
IL-1β	5.61 ± 1.12	5.52 ± 1.15	5.50 ± 1.04	4.63 ± 1.60[a]	4.58 ± 1.02[a]	4.36 ± 1.21[a]
TNF-α	6.12 ± 1.34	6.06 ± 1.12	6.02 ± 1.03	5.32 ± 2.12[a]	5.28 ± 2.05[a]	5.06 ± 2.22[a]
OX-LDL	22.80 ± 3.13	21.05 ± 3.33	20.05 ± 3.24	16.13 ± 4.13[a]	15.15 ± 4.56[a]	14.15 ± 4.64[a]
TC	4.51 ± 0.14	4.53 ± 0.12	4.52 ± 0.13	4.33 ± 0.17	4.27 ± 0.12	4.12 ± 0.16
LDL-C	2.53 ± 0.83	2.53 ± 0.62	2.51 ± 0.62	2.35 ± 0.64	2.26 ± 0.71	2.23 ± 0.44

注:与 A 组比较,[a]$P<0.05$

表 3 AH 组和 AHT 组 IL-1β (ng/L)、TNF-α (ng/L)、OX-LDL(ng/L)、血脂(mmol/L)值

	AH 组			AHT 组		
	2 周	4 周	6 周	2 周	4 周	6 周
IL-1β	6.45 ± 1.12	6.45 ± 1.15	6.44 ± 1.12	5.26 ± 1.62[a]	5.22 ± 1.32[a]	4.51 ± 2.16[ab]
TNF-α	7.35 ± 3.09	7.35 ± 3.22	7.35 ± 3.15	6.46 ± 2.06[a]	6.01 ± 2.20[a]	5.46 ± 2.18[ab]
OX-LDL	30.85 ± 8.25	30.82 ± 8.51	30.84 ± 9.14	24.45 ± 8.11[a]	23.37 ± 8.17[a]	19.35 ± 8.14[ab]
TC	6.50 ± 0.13	6.51 ± 0.18	6.52 ± 0.15	5.16 ± 0.16[a]	5.03 ± 0.11[a]	4.61 ± 0.18[ab]
LDL-C	4.48 ± 0.26	4.45 ± 0.14	4.52 ± 0.17	3.82 ± 0.31[a]	3.04 ± 0.26[a]	2.84 ± 0.22[ab]

注:与 A 组比较,[a]$P<0.01$;与 2 周 AHT 组比较,[b]$P<0.01$

条件。OX-LDL 也是反映动脉粥样硬化斑块的严重程度和稳定性的良好指标[8,9]。临床和基础研究都表明动脉粥样硬化参与了自发性脑出血的病理生理机制。许多流行病学调查揭示了动脉粥样硬化、高血压病、糖尿病在内的血管性危险因素对自发性脑出血的患病风险构成影响[10,11]。我们研究发现 OX-LDL 的活性在脑出血发生后持续数天升高。同时我们又对 IL-1β、TNF-α 这两个炎症细胞因子进行了检测,也发现 IL-1β、TNF-α 急性脑出血患者急性期 IL-1β、TNF-α 血清水平也显著升高。IL-1β、TNF-α 高峰值与 OX-LDL 比较具有滞后性,证实了急性自发性脑出血后炎症反应可以增强血管基底膜氧化应激的病理性损伤参与了急性脑出血的发病机制。

炎症反应参与了急性脑出血的发生与发展,其中炎症因子 IL-1β 和 TNF-α 从中发挥了重要作用。他汀类药物抗炎症作用有多种机制,包括减弱炎症细胞向斑块内的趋化和聚集,抑制巨噬细胞可溶性细胞间黏附分子及金属蛋白酶的表达等[11]。本实验结果显示经过阿托伐他汀治疗后 IL-1β、TNF-α、OX-LDL 浓度值和治疗前比较显著降低，而且神经功能缺损程度评分显著降低。证明了阿托伐他汀具有抑制急性脑出血炎症反应和氧化应激反应发挥脑保护作用。而且 AHT 组血清 IL-1β、TNF-α 浓度均比 AT 组增高,AH 组血清 IL-1β、TNF-α、OX-LDL 浓度均比 A 组也增高，且 AHT 组 2 周、4 周、6 周值比 AT 组相同时点都明显增高。所以,我们实验也说明了血脂代谢异常通过炎症过程和氧化应激效应促发了急性脑出血的发生,进一步证实了阿托伐他汀可以通过降低急性脑出血患者 IL-1β、TNF-α、OX-LDL 表达发挥其保护作用。

总之,炎症反应和氧化应激参与了急性脑出血的发病机制。同时，也证明了阿托伐他汀可以通过降低 IL-1β、TNF-α、OX-LDL 表达，抑制急性脑出血炎症反应和氧化应激反应发挥其脑保护作用。由于本实验样本量少,观察时间点不多,对于阿托伐他汀对急性脑出血的脑保护作用未作充分的研究,但目前临床上已广泛应用于治疗心脑血管疾病和神经变性疾病的防治,对于急性脑出血伴血脂增高的病人具有保护作用。

参 考 文 献

[1] Moreno M, Ramalho LN, Sancho-Bru P, et al. Atorvastatin attenuates angiotensin II-induced inflammatory actions in the liver [J]. Am J

临床研究 文章编号:0253-3626(2010)01-0094-03

动脉脉搏波速度对冠心病的预测

吴 艳,邓昌明,黄 晶,杨 刚,刘地川
(重庆医科大学附属第二医院心血管内科,重庆 400010)

【摘 要】目的:探讨动脉脉搏波速度(Pulse wave velocity,PWV)对冠心病的预测价值。方法:采用日本 Colin 公司生产的动脉硬化检测仪检测冠心病患者(n=67 例)和非冠心病患者(n=72 例)ABI 和 baPWV。冠心病患者根据血管病变支数分为 1 支血管病变组(n=22 例)、2 支血管病变组(n=27 例)和 3 支血管病变组(n=18 例),探讨血管病变支数与 ABI、baPWV 的关系。结果:冠心病组和非冠心病组 ABI 分别为 1.06 ± 0.12 和 1.27 ± 0.21,差别无统计学意义(P>0.05);而 baPWV 分别为(1978.6 ± 289.5) cm/s 和(1267.4 ± 332.8) cm/s,差别具有统计学意义(P<0.01)。1 支血管病变、2 支血管病变和 3 支血管病变亚组 ABI 值分别为 1.22 ± 0.09、1.16 ± 0.15 和 1.02 ± 0.21,差别无统计学意义;而 baPWV 值分别为(1493.7 ± 282.4) cm/s、(1897.2 ± 322.3) cm/s 和(2319.6 ± 372.2) cm/s,差别具有统计学意义(P<0.05)。结论:baPWV 对冠心病有一定的预测价值,它随冠状动脉病变程度的增加而增大,可作为预测冠心病严重程度的无创指标之一。

【关键词】冠心病;动脉粥样硬化;脉搏波速度
【中国图书分类法分类号】R541.4 【文献标识码】A 【收稿日期】2009-08-05

Predicting value of arterial pulse wave velocity for the patients with coronary artery disease

WU Yan, et al
(*Department of Cardiology, the Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the predicting value of arterial pulse wave velocity for the patients with coronary artery disease. *Methods*: BaPWV and ABI were measured in 67 patients with coronary artery disease and 72 patients without coronary artery disease confirmed by coronary artery angiography, 67 patients with coronary artery disease were divided into three groups according to the number of affected coronary branches: single branch affected group(n=22), double branches affected group(n=27), and three branches affected

作者介绍:吴 艳(1979-),女,硕士,
研究方向:冠心病诊断及治疗。
通讯作者:邓昌明,男,副主任医师,副教授,E-mail:dy070308@126.com。
基金项目:重庆市自然科学基金资助(编号:CSTC2006BB5280)。

Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2009, 296(2): 147-156.

[2] Yang Y J, Qian H Y, Huang J, et al. Atorvastatin treatment improves survival and effects of implanted mesenchymal stem cells in post-infarct swine hearts[J]. Eur Heart J, 2008, 29 (12): 1578-1590.

[3] Cheng G, Wei L, Zhi-Dan S, et al. Atorvastatin ameliorates cerebral vasospasm and early brain injury after subarachnoid hemorrhage and inhibits caspase-dependent apoptosis pathway [J]. BMC Neurosci, 2009, 10 (1): 7.

[4] Karam J G, Loney-Hutchinson L, McFarlane SI. High-dose atorvastatin after stroke or transient ischemic attack: The Stroke Prevention by Aggressive Reduction in Cholesterol Levels (SPARCL) Investigators[J]. J Cardiometab Syndr, 2008, 3(1): 68-69.

[5] Zhou J F, Wang J Y, Luo Y E, et al. Influence of hypertension, lipometabolism disorders, obesity and other lifestyles on spontaneous intracerebral hemorrhage[J]. Biomed Environ Sci, 2003, 16 (3): 295-303.

[6] Nonaka N, Matsukado Y, Oribe Y, et al. Lipids metabolism of the patients with subarachnoid hemorrhage due to ruptured intracranial aneurysm, in comparison with other cerebrovascular diseases[J]. 1984, 36(4): 389-395.

[7] 王新德.各类脑血管疾病诊断要点[J].中华神经科杂志, 1996, 29 (6): 379-381.

[8] Tai M H, Kuo S M, Liang H T, et al. Modulation of angiogenic processes in cultured endothelial cells by low density lipoproteins subfractions from patients with familial hypercholesterolemia[J]. Atherosclerosis, 2006, 186(2): 448-457.

[9] Wilson D, Massaeli H, Pierce GN, et al. Native and minimally oxidized low density lipoprotein depress smooth muscle matrix metalloproteinase levels[J]. Mol Cell Biochem, 2003, 249 (1-2): 141-149.

[10] Cahoon W D J r, Crouch M A. Preprocedural statin therapy in percutaneous coronary intervention[J]. Ann Pharmacother, 2007, 41(10): 1687-1693.

[11] Karatzis E, Lekakis J, Papamichael C, et al. Rapid effect of pravastatin on endothelial function and lipid peroxidation in unstable angina[J]. Int J Cardiol, 2005, 101(1): 65-70.

(责任编辑:关蕴良)