

· 短篇论著 ·

阿托伐他汀对急性脑出血患者血清可溶性 Fas 和可溶性 Fas 配体的影响观察

饶芝国 贺小旭 杨二静

【摘要】目的 观察阿托伐他汀对急性脑出血患者血清可溶性 Fas(sFas)和可溶性 Fas 配体(sFasL)蛋白的影响,探讨阿托伐他汀对急性脑出血脑保护作用。**方法** 30 例脑出血患者随机分成试验组及对照组。试验组患者在待病情稳定后,加用阿托伐他汀(立普妥)20 mg 鼻饲或口服,每日 1 次治疗。所有患者起病第 1、2、3、4、5、6、7 天分别抽取空腹外周静脉血,酶联免疫吸附(ELISA)法测定血清 sFas 和 sFasL 蛋白水平。**结果** 对照组血清 sFas 浓度入院后逐渐增高,于第 5 天达高峰后逐渐回落,仍明显高于试验组血清 sFas 浓度($P < 0.01$);对照组血清 sFasL 浓度入院后逐渐增高,于第 4 天达高峰后逐渐回落,和试验组血清 sFasL 相比,血浆浓度相差显著($P < 0.01$)。**结论** 阿托伐他汀能够降低急性脑出血患者血清 sFas 和 sFasL 蛋白水平。

【关键词】 脑出血; 阿托伐他汀; 可溶性 Fas; 可溶性 Fas 配体

脑出血是严重威胁人类健康及生活质量的常见疾病,其病死率和致残率较高。近年来,国内外许多研究表明,细胞凋亡机制参与了脑出血所致的神经系统继发损伤,且与病情的严重程度密切相关。可溶性 Fas(sFas)和可溶性 Fas 配体(sFasL)系统参与脑出血后神经细胞凋亡的发生。他汀类药物治疗心血管疾病的研究已经日益深入,在心、脑血管疾病的防治方面有着广泛的作用,但其影响机制还不是很清楚。本研究观察口服阿托伐他汀对脑出血患者血清 sFas 和 sFasL 的影响,探讨其在减少脑出血后继发性神经损伤中的作用。

一、资料与方法

1. 一般资料:选取我院自 2007~2011 年急性自发性脑出血患者,发病 4 h 以内入院,共 30 例,符合 1996 年全国第四届脑血管病会议修订的脑出血诊断标准^[1],全部病例在入院后均经 CT 扫描证实为脑实质出血,依据“多田公式”计算出出血量:出血量(ml) = 长(cm) × 宽(cm) × 层面(cm) × $\pi/6$,患者出血量均约 15~35 ml。排除标准:为防止出血后血肿清除对试验结果的影响,故排除出血后给予血肿清除术的病例;若观察过程中出现出血量增多,则排除出本组。并除外外伤性颅内出血,脑血管畸形出血,合并有急慢性感染、肿瘤、风湿活动、各种创伤、严重肝肾功能不全或糖尿病患者。本试验经过医院伦理委员会的批准,所有入选患者均向患者本人或家属告知试验的过程、收益及可能存在的危险性,家属签署知情同意书。

2. 分组:患者按照随机数字表法分为 2 组,分别为试验组与对照组,2 组患者年龄、性别匹配,出血量具有可比性(表 1)。

表 1 两组患者基本情况

| 组别 | 例数 | 男/女(例) | 年龄(岁, $\bar{x} \pm s$) | 出血量(ml, $\bar{x} \pm s$) |
|------------|----|--------|-------------------------|---------------------------|
| 试验组 | 15 | 10/5 | 64.1 ± 8.5 | 34.9 ± 8.1 |
| 对照组 | 15 | 8/7 | 60.1 ± 7.5 | 31.5 ± 5.6 |
| <i>P</i> 值 | | 0.539 | 0.780 | 0.090 |

DOI:10.3877/ema.j.issn.1674-0785.2013.10.074

作者单位:100039 北京大学航天临床医学院重症医学科

通讯作者:饶芝国,Email:raozhiguo2002@aliyun.com

3. 治疗:两组患者入院后均应用脱水降颅压、防治并发症等基础治疗,试验组于病情稳定的第 1 天晚间加用阿托伐他汀(立普妥)20 mg(辉瑞制药有限公司)鼻饲或口服,每日 1 次治疗。

4. 标本采集:2 组患者中的对照组与试验组均在入院后第 1、2、3、4、5、6、7 天分别抽取空腹外周静脉血 5 ml,置于混有 EDTA 和柠檬酸盐的抗凝管中,立即以 3000 r/min 离心 15 min,分离血清,保存于 -80 °C 冰箱中待测。

5. sFas 和 sFasL 蛋白检测:试剂盒外购于北京博奥森生物试剂有限公司。采用酶联免疫吸附(ELISA)法,严格按照操作说明书进行,测定标本在 450 nm 波长下的吸光度值(OD 值),根据标准曲线的直线回归方程计算出样品的浓度。

6. 统计学分析:运用 SPSS 18.0 统计软件,计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组患者性别比较以 χ^2 检验,血肿量及年龄以独立样本 *t* 检验;两组间不同时间点的 sFas 及 sFasL 值采用重复测量数据的方差分析,交互效应轮廓图分别显示两组血清 sFas 及 sFasL 间的差别及交互效应。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

二、结果

1. 2 组患者血清 sFas 及 sFasL 值(表 2):对照组患者血清 sFas 值出血后一直上升,至第 5 天为高峰期,余后逐渐下降,试验组血清 sFas 值上升幅度较前明显减缓,二者差异有统计学意义($P < 0.01$)。对照组患者血清 sFasL 值出血后一直上升,至第 4 天为高峰期($P < 0.01$)。余后逐渐下降,试验组血清 sFasL 值上升幅度较前明显减缓,二者差异有统计学意义。

2. 两组间血清 sFas 及 sFasL 值交互效应折线图显示:见图 1,提示血浆 sFas 从第 3 天开始,差异显著($P < 0.01$),第 5 天达高峰。血浆 sFasL 从第 3 天开始,差异显著,第 4 天达高峰($P < 0.01$)。

三、讨论

脑出血后的神经功能恶化,除血肿的占位效应和血肿进一步扩大因素外,主要是血肿周围脑组织的继发性脑水肿和脑损伤所致^[2],细胞凋亡是参与脑出血后继发性脑损伤的重要因素^[3]。在脑出血发病后 24 h 内的血肿周围组织中即可检测到凋亡细胞。凋亡细胞数逐渐增加,5 d 达峰值^[4]。细胞膜上 Fas 结

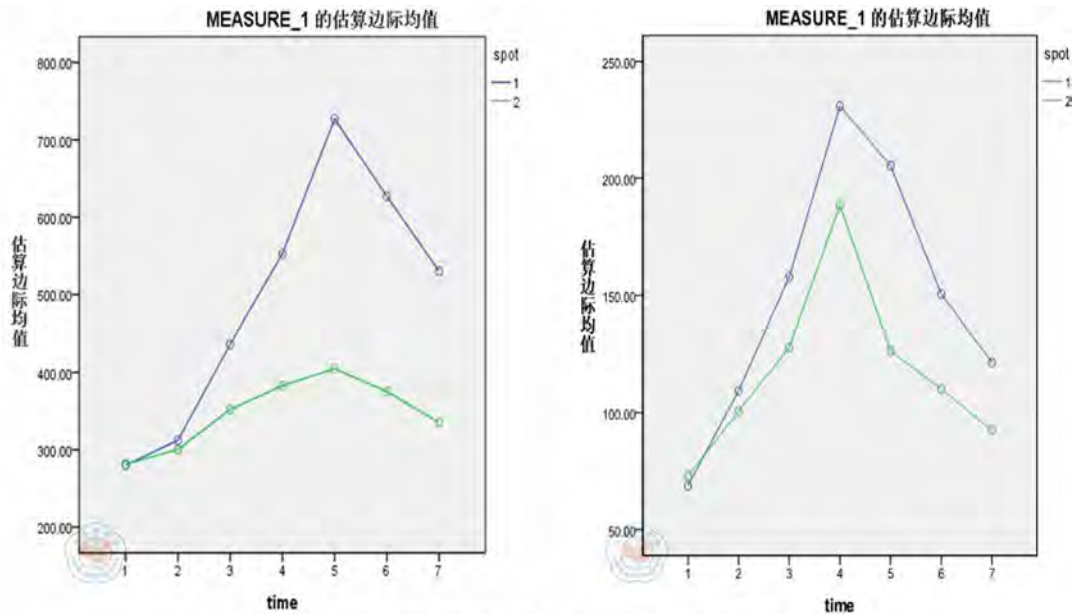


图1 两组间血清sFas及sFasL水平交互效应折线图

表2 两组血清 sFas 及 sFasL 值 (ng/L, $\bar{x} \pm s$)

| 组别 | | 第1天 | 第2天 | 第3天 | 第4天 | 第5天 | 第6天 | 第7天 |
|-----|-------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| 对照组 | sFas | 280.11 ± 48.19 | 312.26 ± 58.21 | 436.41 ± 65.17 | 552.74 ± 78.32 | 727.08 ± 79.37 | 627.18 ± 67.91 | 530.13 ± 55.46 |
| | sFasL | 67.96 ± 10.17 | 108.59 ± 12.02 | 158.19 ± 16.67 | 232.97 ± 19.95 | 204.34 ± 16.38 | 150.05 ± 14.28 | 121.27 ± 12.56 |
| 试验组 | sFas | 281.44 ± 59.83 | 300.42 ± 52.76 | 352.06 ± 61.64 | 383.01 ± 66.69 | 404.82 ± 74.94 | 375.39 ± 48.64 | 335.16 ± 51.66 |
| | sFasL | 73.01 ± 11.43 | 100.69 ± 13.82 | 127.91 ± 12.75 | 188.37 ± 16.72 | 126.35 ± 13.64 | 110.17 ± 10.44 | 92.51 ± 11.92 |

注:试验组与对照组比较, sFas: $F = 190.693, P < 0.01$; sFasL: $F = 268.138, P < 0.01$

合 FasL 可直接启动细胞凋亡的信号途径,是介导细胞凋亡最为重要的膜蛋白分子。Fas 受体属于神经生长因子/肿瘤坏死因子受体超家族,人类 Fas 的 mRNA 变异可使其翻译产物因缺乏跨膜区而呈可溶性分泌形式 sFas 出现在外周血中;FasL 为死亡因子,是 Fas 的天然配体,是属于肿瘤坏死因子家族成员的跨膜蛋白,膜结合 FasL 可被金属蛋白酶类裂解,形成一种相对分子质量为 26 000 的糖蛋白,即 sFasL, sFas 与 FasL 虽有很高的亲和力,但因 sFas 缺乏死亡区,与 FasL 结合后不具备生物活性,导致 FasL 提供的凋亡信号被阻断,从而抑制凋亡,是一种细胞凋亡抑制因子,血清 sFas 浓度在一定程度上可反应细胞凋亡水平,徐沙贝等^[5] 研究结果显示,脑出血患者急性期血清 sFas 浓度明显高于对照组。血浆 sFas 增高可能与血肿灶周神经细胞 Fas 过度表达有关,出血后过多的 Fas 与 FasL 结合后促进神经细胞的凋亡,加重血肿灶周的继发性损伤。另一方面,血清 sFas 增多很可能是机体的一种自我保护机制,拮抗 Fas-FasL 所介导的神经细胞凋亡。sFasL 也可结合 Fas 诱导细胞凋亡发生,王兆平等^[6] 试验结果显示脑出血后患者血清 sFas、sFasL 峰值随着出血灶的增大而增高,且与脑出血的严重程度密切相关,出血灶形状与血清 sFas、sFasL 水平有一定的相关性,表现为在相同容积的出血情况下,不规则形出血较类圆形及梭形表达更高的 sFas、sFasL 水平。Ertel 等^[7] 研究表明,重度颅脑损伤的患者脑脊液 sFasL 水平较对照组明显增高,并且与颅脑损伤的严重程度密切相关。因此,血清中 sFas 和 sFasL 浓度可反应细胞凋亡水平。有试验报道脑

出血后,患者血清 sFas 和 sFasL 浓度较正常对照组显著增高^[8]。本组试验研究发现,脑出血后,血清 sFas 和 sFasL 浓度逐渐升高,且第 5 天达到高峰,随后逐渐下降,与 Qureshi 等^[4] 分析的结果一致。

近来文献报道,抑制 Fas/FasL 能改善其他中枢神经系统疾病的预后,在脊髓外伤动物模型实验中,蛛网膜下腔注入 sFas 受体能增加神经细胞或少突细胞存活率,改善临床症状^[9]。脑缺血动物模型中,抑制 FasL 也能减轻继发性神经功能损害^[10]。阿托伐他汀是第三代他汀类降脂药,近年研究发现,他汀类调脂药物除降低血脂外,还具有消除炎症、迅速改善血管内皮功能等多向性效应^[11]。但对脑出血后的保护作用机制可能是多方面的。Jung 等^[12] 研究表明,阿托伐他汀能通过降低炎症反应减少血肿周围神经细胞死亡,对脑出血有保护作用。崔景晶等^[13] 研究大鼠脑出血模型实验显示阿托伐他汀在脑出血急性期发挥了抗炎作用,且剂量越大效果越明显。用药时间越长,阿托伐他汀抗炎作用越明显,可能通过减轻脑出血后炎症反应导致的脑组织损伤从而促进神经细胞恢复。在本组试验中可以看出,应用阿托伐他汀后,试验组血浆 sFas/sFasL 均较对照组明显降低,具有统计学意义。说明阿托伐他汀降低患者血清 sFas/sFasL 浓度水平,可能是其神经保护,减少脑出血后血肿周围神经细胞凋亡的机制之一。综合本次试验结果,阿托伐他汀对脑出血患者减少继发性神经细胞凋亡有帮助作用。

参考文献

[1] 全国脑血管病学术会议. 各类脑血管疾病诊断要点. 中华神经科

杂志,1996,29:379-380.

[2] Manno EM, Atkinson JL, Fulgh AM, et al. Emerging medical and Surgical management strategies in the evaluation and treatment of intracerebral hemorrhage. *Mayo Clin Proc*, 2005, 80:420-433.

[3] Sairanen T, Karjalainen-Lindsberg ML, Paetau A, et al. Apoptosis dominant in the peri-infarct area of human ischaemic stroke : a possible target of antiapoptotic treatments. *Brain*, 2006, 129:189-199.

[4] Qureshi AI, Suri MF, Ostrow PT, et al. Apoptosis as a form of cell death in intracerebral hemorrhage. *Neurosurgery*, 2003, 52:1041-1047.

[5] 徐沙贝,许峰,杨业新,等. 脑出血急性期外周血 sFas 和 sFas 配体水平的观察. *华中科技大学学报:医学版*, 2008, 37:672-674.

[6] 王兆平,主文静,时鹏,等. 急性脑出血患者外周血 sFas 和 sFasL 的变化及意义. *山东医药*, 2011, 51:4-6.

[7] Ertel W, Keel M, Stocker R, et al. Detectable concentrations of Fas ligand and in cerebrospinal fluid after severe head injury. *J Neuroimmunol*, 1997, 80:93-96.

[8] 唐峰,张丽. 高血压脑出血患者血清细胞凋亡因子 Fas 及 Fas-L 的变化. *黑龙江医学*, 2009, 33:91-93.

[9] Martin-Villalba A, Hahne M, Kleber S, et al. Therapeutic neutralization of CD95-ligand and TNF attenuates brain damage in stroke. *Cell Death*

Differ, 2001, 8:679-686.

[10] Ackery A, Robins S, Fehlings MG. Inhibition of Fas-mediated apoptosis through administration of soluble Fas receptor improves functional outcome and reduces posttraumatic axonal degeneration after acute spinal cord injury. *J Neurotrauma*, 2006, 23:604-616.

[11] Hogue JC, Lamarche B, Tremblay AJ, et al. Differential effect of atorvastatin and fenofibrate on plasma oxidized low-density lipoprotein, inflammation markers, and cell adhesion molecules in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*, 2008, 57:380-386.

[12] Jung KH, Chu K, Jeong SW, et al. HMG-CoA Reductase Inhibitor, Atorvastatin, Promotes Sensorimotor Recovery, Suppressing Acute Inflammatory Reaction After Experimental Intracerebral Hemorrhage. *Stroke*, 2004, 35:1744-1749.

[13] 崔景晶,王东,高飞. 阿托伐他汀对脑出血大鼠脑组织病理变化及血浆 hs-CRP、HCY 水平的影响. *中国老年学杂志*, 2011, 31:1391-1393.

(收稿日期:2013-04-03)

(本文编辑:戚红丹)

饶芝国,贺小旭,杨二静. 阿托伐他汀对急性脑出血患者血清可溶性 Fas 和可溶性 Fas 配体的影响观察[J/CD]. *中华临床医师杂志:电子版*, 2013, 7(10):4538-4540.

