

醒脑静注射液对急性脑梗死患者 神经功能缺损的影响及其机制

卢志刚^{1,2} 刘芸² 方家华³

(1. 湖北省荆门市第一人民医院神经内科, 湖北 荆门 448000; 2. 荆楚理工学院, 湖北 荆门 448000;
3. 长沙市第一人民医院眼科, 湖南 长沙 410005)

【摘要】 目的 观察醒脑静注射液对急性脑梗死(ACI)患者外周血单个核细胞(PBMC)中 γ -谷氨酰半胱氨酸合成酶(γ -GCS)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、过氧化氢酶(CAT)及美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)评分的影响,探讨其神经功能的保护作用机制。**方法** 选择2015年1月至11月在湖北省荆门市第一人民医院神经内科住院的70例确诊为ACI患者,按随机数字表法分为对照组和观察组,每组35例。两组均进行一般常规治疗,观察组在常规治疗基础上静脉滴注(静滴)醒脑静注射液30 mL(加入0.9%生理盐水注射液250 mL中),每日1次,连用14 d。同时选取本院35例健康志愿者作为健康对照组。治疗前和治疗后7 d、14 d监测对照组和观察组患者NIHSS评分的变化;比较3组受试者外周血单个核细胞(PBMC)中 γ -GCS、GSH-Px 和 CAT 水平;采用 Pearson 相关分析法分析抗氧化应激因子水平与 NIHSS 评分的相关性。**结果** 两组治疗后 NIHSS 评分均较治疗前降低, γ -GCS、GSH-Px、CAT 均较治疗前明显升高,且以观察组治疗后14 d 的变化较对照组更显著[NIHSS 评分(分): 6.18 ± 0.36 比 11.27 ± 1.26 , γ -GCS (ng/L): 91.72 ± 30.29 比 67.51 ± 23.96 , GSH-Px (mg/L): 202.25 ± 55.80 比 185.25 ± 49.93 , CAT (kU/L): 230.25 ± 81.29 比 200.38 ± 72.78 ; 均 $P < 0.05$];治疗前及治疗后14 d NIHSS 评分与 γ -GCS、GSH-Px 和 CAT 呈显著负相关(治疗前 r 值分别为 -0.696 、 -0.549 、 -0.427 , P 值分别为 0.000 、 0.001 、 0.015 ;治疗后 r 值分别为 -0.435 、 -0.452 、 -0.406 , P 值分别为 0.011 、 0.009 、 0.037)。**结论** 醒脑静注射液可明显改善 ACI 患者的神经功能缺损,可能与上调 γ -GCS、GSH-Px 和 CAT 水平密切相关。

【关键词】 脑梗死,急性; 醒脑静注射液; γ -谷氨酰半胱氨酸合成酶; 谷胱甘肽过氧化物酶; 过氧化氢酶

Effect of Xingnaojing injection on neurologic impairment in patients with acute atherothrombotic cerebral infarction and its mechanisms Lu Zhigang*, Liu Yun, Fang Jiahua. *Department of Neurology, Jingmen No.1 People's Hospital, Jingmen 448000, Hubei, China; Medicinal College of Jingchu University of Technology, Jingmen 448000, Hubei, China

Corresponding author: Lu Zhigang, Email: luzg7501@sina.com

【Abstract】 Objective To observe the effects of Xingnaojing injection on γ -glutamylcysteine synthetase (γ -GCS), glutathione peroxidase (GSH-Px), catalase (CAT) in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) and National Institute of Health stroke scale (NIHSS) score of patients with acute cerebral infarction (ACI), and to investigate the mechanism of protective effect on nerve function. **Methods** Seventy patients admitted to Department of Neurology in Jingmen No.1 People's Hospital from January to November 2015 were enrolled, and they were randomly divided into a control group and an observation group, each 35 cases. Both groups received conventional treatment, and the observation group additionally was given Xingnaojing injection 30 mL + 0.9% normal saline 250 mL intravenous drip, once a day for consecutive 14 days, one therapeutic course. Meanwhile 35 healthy volunteers in our hospital were recruited and assigned as a healthy control group. Before treatment and 7 days and 14 days after treatment, the changes of NIHSS scores were observed in control group and observation group; the levels of γ -GCS, GSH-Px and CAT in PBMC were compared among the three groups. Pearson correlative analytic method was applied to analyze the correlations between the levels of anti-oxygenation stress factors and NIHSS scores. **Results** The NIHSS score after treatment was lower than that before treatment in the two groups, γ -GCS, GSH-Px, and CAT were significantly higher than those before treatment, and the degrees of changes of above indexes on 14 days after treatment in observation group were more obvious than those in the control group [NIHSS score: 6.18 ± 0.36 vs. 11.27 ± 1.26 , γ -GCS (ng/L): 91.72 ± 30.29 vs. 67.51 ± 23.96 , GSH-Px (mg/L): 202.25 ± 55.80 vs. 185.25 ± 49.93 , CAT (kU/L): 230.25 ± 81.29 vs. 200.38 ± 72.78 , all $P < 0.05$]; the correlations between NIHSS score before and 14 days after treatment were negatively correlated with serum levels of γ -GCS, GSH-Px and CAT (the r values before treatment were -0.696 , -0.549 , -0.427 , the P values were 0.000 , 0.001 , 0.015 ; the r values after treatment were -0.435 , -0.452 , -0.406 , the P values were 0.011 , 0.009 , 0.037

respectively). **Conclusion** Xingnaojing injection can obviously improve the extent of nervous function defect, and the acting mechanism may be closely related to up-regulating the levels of γ -GCS, GSH-Px and CAT in patients with ACI.

【Key words】 Acute cerebral infarction; Xingnaojing injection; γ -glutamylcysteine synthetase; Glutathione peroxidase; Catalase

急性脑梗死(ACI)是神经内科的常见病和多发病,其发病率、复发率、致残率及病死率呈逐年升高趋势。ACI 的发病机制较为复杂,其中氧化应激发病学说越来越引起人们的关注,该学说认为,ACI 在脑组织急性缺血性损伤出现时就有氧化应激发生,在脑缺血/再灌注(I/R)时产生的大量氧自由基可导致神经元细胞损伤、凋亡^[1]。在清除氧自由基的过程中, γ -谷氨酰半胱氨酸合成酶(γ -GCS)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、过氧化氢酶(CAT)在氧化应激中起着很重要的作用^[2-4],并对 ACI 的发展过程及预后产生极其重要的影响。目前关于醒脑静注射液干预 ACI 后氧化应激变化的报道较少,本研究观察了醒脑静注射液对 ACI 患者外周血单个核细胞(PBMC)中 γ -GCS、GSH-Px 和 CAT 水平的影响,旨在探讨 ACI 后脑保护的治疗方法。

1 资料与方法

1.1 病例选择及纳入和排除标准

1.1.1 病例选择:采用前瞻性研究方法,选择 2015 年 1 月至 11 月在本院在神经内科住院的 70 例确诊为 ACI 的患者。

1.1.2 纳入标准:①急性发病,出现局灶性神经功能缺损,症状和体征持续 24 h 以上,并经头颅 CT 或磁共振成像(MRI)证实;②发病 24 h 内入院,年龄 40~80 岁;③颈动脉内中膜厚度 ≥ 1.0 mm;④患者及家属均知情同意。

1.1.3 排除标准:心、肺、肝、肾等器官功能不全;3 个月内有手术、放化疗、生物免疫制剂治疗等特殊病史;短暂性脑缺血发作(TIA)、出血性梗死、无症状性梗死、腔隙性梗死,以及各种因素导致的脑栓塞、糖尿病;有出血倾向及意识不清等。

1.1.4 伦理学:本研究符合医学伦理学标准,并经本院伦理委员会批准,所有治疗和检测方法取得患者及家属知情同意,并签署知情同意书。

1.2 病例分组:70 例患者中男性 37 例,女性 33 例;年龄 45~85 岁,平均(60.7 \pm 8.7)岁。按随机数字表法分为对照组和观察组,每组 35 例。两组患者性别、年龄、既往史、发病时间及神经功能损伤程度等一般资料比较差异均无统计学意义(均 $P>0.05$;表 1),说明两组资料均衡,有可比性。同时选取在本院健康体检的 35 例志愿者作为健康对照组。

1.3 治疗方法:所有患者入院后均按照《中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2014》^[5]制定的常规方案进行治疗,同时口服瑞舒伐他汀钙 10 mg/d,静脉滴注(静滴)依达拉奉注射液 60 mg/d。观察组在对照组治疗的基础上加用醒脑静注射液 30 mL(加入 0.9% 生理盐水注射液 250 mL 中静滴),每日 1 次。治疗 14 d 为 1 个疗程。

1.4 观察指标

1.4.1 PBMC 的分离:清晨空腹采集健康对照组及 ACI 患者在治疗前后的外周静脉血 5 mL,肝素抗凝后 2 h 内用 Ficoll 淋巴细胞分离液无菌分离出外周血淋巴细胞,提取 PMBC,在 1640 培养液中洗涤 2 次,经重悬后即收集 PMBC^[6]。

1.4.2 炎症因子的检测:采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 PMBC 中 γ -GCS、GSH-Px、CAT 含量,操作严格按试剂盒说明书要求进行。

1.4.3 神经功能损伤情况:采用美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)评分,由神经内科医师和康复科医师共同评价治疗前后的神经功能缺损情况,两者总分相加后取平均值。

1.4.4 相关性分析:采用 Pearson 相关法分析抗氧化应激因子水平与治疗前及治疗后 14 d ACI 患者 NIHSS 评分的相关性。

1.5 统计学方法:使用 SPSS 17.0 统计软件处理数据,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组内比较采用配对 t 检验,组间比较使用独立样本 t 检验;

表 1 3 组受试者基线资料及 NIHSS 评分比较

组别	例数 (例)	性别(例)		年龄 (岁, $\bar{x}\pm s$)	既往史(例)			发病时间 (h, $\bar{x}\pm s$)	NIHSS 评分(分, $\bar{x}\pm s$)		
		男性	女性		饮酒史	吸烟史	高血压病史		治疗前	治疗后 7 d	治疗后 14 d
健康对照组	35	17	18	58.8 \pm 9.2	12	11					
对照组	35	19	16	59.9 \pm 8.7	15	15	15	16.2 \pm 7.6	17.42 \pm 2.58	14.40 \pm 1.34 ^a	11.27 \pm 1.26 ^a
观察组	35	18	17	60.1 \pm 8.5	14	14	16	17.9 \pm 6.8	17.19 \pm 1.37	11.36 \pm 1.70 ^{ab}	6.18 \pm 0.36 ^{ab}

注:与健康对照组比较,^a $P<0.05$;与对照组比较,^b $P<0.05$;空白代表无此项

表 2 两组 ACI 患者治疗前后抗氧化应激因子水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数 (例)	γ -GCS (ng/L)			GSH-Px (mg/L)			CAT (kU/L)		
		治疗前	治疗后 7 d	治疗后 14 d	治疗前	治疗后 7 d	治疗后 14 d	治疗前	治疗后 7 d	治疗后 14 d
健康对照组		97.32 ± 23.51			215.17 ± 32.65			237.93 ± 57.89		
对照组	35	32.46 ± 12.34 ^a	60.72 ± 21.58 ^b	67.51 ± 23.96 ^b	87.68 ± 24.22 ^a	142.37 ± 38.17 ^b	185.25 ± 49.93 ^b	105.42 ± 115.39 ^a	165.48 ± 48.52 ^b	200.38 ± 72.78 ^b
观察组	35	36.60 ± 13.35 ^a	86.29 ± 28.47 ^{cd}	91.72 ± 30.29 ^{cd}	86.26 ± 26.19 ^a	170.15 ± 46.37 ^{cd}	202.25 ± 55.80 ^{cd}	101.81 ± 49.53 ^a	192.27 ± 76.45 ^{cd}	230.25 ± 81.29 ^{cd}

注：与健康对照组比较，^a $P < 0.01$ ；与本组治疗前比较，^b $P < 0.05$ ，^c $P < 0.01$ ；与对照组比较，^d $P < 0.05$ ；空白代表无此项

相关性采用 Pearson 相关系数进行分析； $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 治疗前后 NIHSS 评分比较 (表 1)：两个治疗组治疗前 NIHSS 评分比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。两个治疗组治疗后 NIHSS 评分较治疗前明显降低，以观察组的降低程度更显著 (均 $P < 0.05$)。

2.2 治疗前后抗氧化应激因子水平的比较 (表 2)：两个治疗组治疗前 PMBC 中 γ -GCS、GSH-Px、CAT 均明显低于健康对照组 (均 $P < 0.01$)。两个治疗组治疗后 γ -GCS、GSH-Px、CAT 均较治疗前明显升高，以观察组升高更显著 (均 $P < 0.05$)。

2.3 ACI 患者抗氧化应激因子水平与治疗前及治疗后 14 d NIHSS 评分的相关性分析 (表 3)：治疗前及治疗后 14 d ACI 患者 γ -GCS、GSH-Px、CAT 与 NIHSS 评分均呈显著负相关 (均 $P < 0.05$)。

表 3 抗氧化应激因子水平与 NIHSS 评分的相关性

指标	治疗前		治疗后	
	r 值	P 值	r 值	P 值
NIHSS 评分与 γ -GCS	-0.696	0.000	-0.435	0.011
NIHSS 评分与 GSH-Px	-0.549	0.001	-0.452	0.009
NIHSS 评分与 CAT	-0.427	0.015	-0.406	0.037

3 讨论

目前缺血性脑损伤的发病机制尚未完全清楚，涉及到氧化应激、钙超载、兴奋性氨基酸毒性、炎症级联反应及神经元细胞凋亡等多方面。大量研究发现，氧化应激在急性缺血性脑损伤的病理生理机制中发挥着非常重要的作用^[1,7]。现有研究发现，ACI 后氧化应激因子 γ -GCS、GSH-Px、CAT 在其病理过程中发挥了很大作用。

谷胱甘肽 (GSH) 是生物体内抗氧化应激的一种重要抗氧化剂，发挥着维持细胞组织正常功能结构和营养代谢的作用，其中 γ -GCS 可决定 GSH 生物合成的量和速率，调控 GSH 的形成，GSH 是合成反应中重要的限速酶， γ -GCS 表达水平反映了机

体抗氧化应激的能力，在脑梗死的发病过程中发挥较重要的保护作用^[8]。GSH 可作为 GSH-Px 催化反应中的底物，发挥清除氧自由基的功能。胞质内 GSH-Px 广泛存在于机体各组织中，具有清除氧自由基、降低细胞膜内多不饱和脂肪酸的过氧化反应、平衡氧化应激的作用，大量研究发现，在动脉粥样硬化较严重的患者体内，GSH-Px 活性明显降低，这可能是动脉粥样硬化产生的独立危险因素之一，也证实 GSH-Px 在动脉粥样硬化导致的 ACI 中起重要的作用^[9-10]。

CAT 存在于所有已知动物的许多组织中，大多是被细胞用来催化过氧化氢分解以及防止过氧化反应的发生，它能将 H_2O_2 分解成分子氧和无毒的水，且保护超氧化物歧化酶 (SOD) 不被体内有害自由基灭活，是细胞组织内活性氧清除结构中的重要物质，当血脑屏障遭到破坏不完整时，CAT 能够进入脑组织，进而使脑组织免受活性氧诱导的损伤，降低脑组织的氧化应激损伤，起到保护脑组织的作用^[11-12]。

醒脑静注射液根据古方安宫牛黄丸精制而成，主要成分为麝香、冰片、郁金、栀子等，具有醒神开窍、清热止痉、解毒凉血、活血止痛等功效。现代药理学研究发现，脑静注射液具有兴奋神经系统、提高脑细胞缺氧耐受能力、保护受损脑组织、恢复受损细胞神经功能等多重药效^[13]。动物实验发现，醒脑静注射液可显著降低高血压脑缺血损伤模型大鼠丙二醛 (MDA) 含量，提高 SOD、GSH-Px 活性，发挥拮抗自由基损伤的作用^[14]。醒脑静也能减轻缺血性脑损伤后氧自由基水平，促进脑梗死患者神经功能缺损的恢复而起到脑保护作用^[15]。本课题组前期研究发现，醒脑静注射液对 ACI 有很好的免疫调节、抗炎及促进神经功能缺损恢复的作用^[7,16]。

本研究结果显示，醒脑静注射液在改善 ACI NIHSS 评分方面优于对照组，说明醒脑静可有效改善患者神经功能情况，促进患者康复。ACI 患者 PMBC 中 γ -GCS、GSH-Px、CAT 水平均明显低于健

康对照组;治疗后患者病情均明显减轻,同时 PMBC 中 γ -GCS、GSH-Px、CAT 均显著升高,抗氧化应激因子水平基本接近健康对照组水平。说明醒脑静注射液及常规治疗发挥了一定的协同作用,共同升高 ACI 患者 PMBC 中相关抗氧化应激因子的水平,其中醒脑静更易使 PMBC 中抗氧化应激因子接近正常值,说明醒脑静较常规治疗具有显著的抗氧化应激作用。另外,患者 PMBC 中相关抗氧化应激因子的水平与 NIHSS 评分呈负相关,表明 γ -GCS、GSH-Px、CAT 水平可以反映 ACI 患者病情严重程度,也表明抗氧化应激因子在 ACI 发病机制中的重要功能。

综上,醒脑静治疗 ACI 较常规治疗效果良好,可能与其能升高患者 PMBC 中 γ -GCS、GSH-Px、CAT 水平,发挥抗氧化应激作用有关。由于药物成分较复杂,作用靶点多,具体是通过什么机制升高 PMBC 中抗氧化应激相关因子水平还需要进一步探讨。

参考文献

- [1] 李玉兰,郭丹丹,杨有仙.缺血性卒中的病理生理级联效应[J].医学综述,2014,20(14):2510-2512.
- [2] 袁佳,王迪芬,刘颖,等.富氢水对创伤性脑损伤大鼠 Nrf2 表达及氧化应激损伤的影响[J].中华危重病急救医学,2015,27(11):911-915.
- [3] 李航,张连珊,刘青娟,等.叔丁基对苯二酚对早期糖尿病小鼠肾脏氧化应激损伤影响的实验研究[J].中华危重病急救医学,2011,23(3):191-192.
- [4] 曹婧然,骆彬,王海燕,等.谷氨酰胺对脓毒症小鼠氧化应激损伤的保护作用研究[J].中国中西医结合急救杂志,2015,22(4):374-377.
- [5] 中华医学会神经病学分会,中华医学会神经病学分会脑血管病学组.中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2014 [J].中华神经科杂志,2015,48(4):246-257.
- [6] 卢志刚,刘芸,吕晓强.醒脑静注射液对急性脑梗死血瘀证患者外周血单个核细胞 T-bet/GATA-3 平衡的影响[J].广东医学,2015,36(12):1925-1928.
- [7] 常虹,卢祖能.miR-151a-3p 在急性脑梗死患者血清中的表达及与炎症因子的相关性研究[J].中华危重病急救医学,2016,28(3):272-276.
- [8] 牛文民,刘智斌,杨晓航,等.针刺保肝护脑对脑缺血再灌注肝损伤大鼠 γ -谷氨酰半胱氨酸合成酶表达的影响[J].广州中医药大学学报,2012,29(5):537-540.
- [9] Roy H, Bhardwaj S, Yla-Herttuala S. Molecular genetics of atherosclerosis [J]. Hum Genet, 2009, 125(5-6):467-491.
- [10] 刘榕,黄东雅,安荷娣,等.谷胱甘肽过氧化物酶 1 基因 c594t 多态性与急性脑梗死的关系[J].临床神经病学杂志,2014,27(3):168-171.
- [11] Armogida M, Spalloni A, Amantea D, et al. The protective role of catalase against cerebral ischemia in vitro and in vivo [J]. Int J Immunopathol Pharmacol, 2011, 24(3):735-747.
- [12] Liu H, Zhang X, Du Y, et al. Leonurine protects brain injury by increased activities of UCP4, SOD, CAT and Bcl-2, decreased levels of MDA and Bax, and ameliorated ultrastructure of mitochondria in experimental stroke [J]. Brain Res, 2012, 1474:73-81.
- [13] 孙洪涛,程世翔,吴焕成,等.高压氧联合醒脑静注射液治疗颅脑创伤后脑梗死疗效观察[J].中国中西医结合急救杂志,2012,19(3):149-151.
- [14] 马斌,刘璐,张扬,等.醒脑静注射液对高血压脑梗死大鼠模型的神经保护作用[J].中西医结合心脑血管病杂志,2014,12(2):212-214.
- [15] 蒋昌伟,杨晓武,上官亚萍,等.醒脑静对急性脑梗死患者临床疗效及神经功能缺损症状的恢复[J].江西中医药,2010,41(10):29-30.
- [16] 卢志刚,刘芸,杨丽霞.醒脑静注射液对急性脑梗死血瘀证患者细胞因子以及临床疗效的影响[J].中国中西医结合急救杂志,2015,22(6):573-576.

(收稿日期:2016-05-11)

(本文编辑:邸美仙 李银平)

· 消息 ·

《中国中西医结合急救杂志》再次荣获“RCCSE 中国核心学术期刊(A)”

《中国学术期刊评价研究报告》由武汉大学中国科学评价研究中心发布。武汉大学中国科学评价研究中心是中国高等院校中第一个综合性的科学评价中心,是集科研、人才培养和评价咨询服务于一体的多功能中介性实体机构。中心由武汉大学信息管理学院、教育科学学院、图书馆、计算机中心、图书情报研究所、数学与统计学院等单位有关学科的研究人员组建而成,是一个文理交叉的跨学科重点研究基地。

《中国核心期刊评价研究报告》采用定量评价与定性分析相结合的方法,按照科学、合理的多指标评价体系,对 6 448 种中国学术期刊进行了分析评价,得出 65 个学科的学术期刊排行榜。

《中国学术期刊排行榜》是对我国所有学术期刊质量、水平和学术影响力的全面、系统的评价,对选刊投稿、期刊订购、学术评价、科研管理、人事管理等都有着非常重要的应用价值和实际指导作用。

第三届中国学术期刊评价既按照各期刊的指标综合得分排名,又按照排序将期刊分为 A+、A、A-、B+、B、C 6 个等级,以增加评价结果表示的合理性和充分性。本次共有 6 448 种中文学术期刊参与评价,经过综合评价后得到期刊相应的等级,在分学科评价中共计 1 939 种学术期刊进入核心期刊区,其中权威期刊(A+)327 种,核心期刊(A)964 种,扩展核心期刊(A-)648 种,准核心期刊(B+)1 298 种,一般期刊(B)1 922 种,较差期刊(C)1 289 种。

《中国中西医结合急救杂志》在第三届“中国学术期刊评价”中被再次分别评为“RCCSE 中国权威学术期刊”和“RCCSE 中国核心学术期刊”,这是本刊第三次蝉联该等级的荣誉。