

# 清开灵注射液对急性脑梗死患者血小板 CD62P 与细胞因子的影响

谭 峰 顾 卫 黄 涛 王金良 吴海科 黄 彪

**摘要** 目的 观察清开灵注射液对急性脑梗死(ACI)患者的临床疗效及血小板 CD62P 阳性表达率与细胞因子含量动态变化的影响。方法 65 例发病在 3 天以内的 ACI 患者随机分为两组,治疗组用清开灵注射液和低分子右旋糖酐治疗,对照组用低分子右旋糖酐治疗。采用流式细胞仪(FCM)电化学发光(ECL)等技术测定两组 ACI 患者治疗前后血小板 CD62P 的阳性表达率与肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-2 受体(IL-2R)、白细胞介素-6(IL-6)等指标的水平,并以 30 例健康人作正常对照及相关分析。结果 ACI 患者治疗前后 CD62P、TNF- $\alpha$ 、IL-2R、IL-6 水平均显著高于健康人组( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),ACI 患者 CD62P 表达与 TNF- $\alpha$ 、IL-2R、IL-6 水平升高呈正相关,治疗组治疗后 CD62P、TNF- $\alpha$ 、IL-2R、IL-6 水平的降低较对照组显著( $P < 0.05$ )。临床治愈率、显效率亦明显高于对照组( $P < 0.05$ )。结论 清开灵注射液治疗 ACI 的作用机制与其抑制血小板活化增强、减轻细胞因子介导的中枢神经系统免疫应答及炎症损伤等有关。

**关键词** 清开灵注射液 急性脑梗死 血小板 CD62P 细胞因子

**Effect of Qingkailing Injection on Platelet CD62P and Cytokines in Patients with Acute Cerebral Infarction** TAN Feng, GU Wei, HUANG Tao, et al *Foshan Hospital of TCM, Guangdong* (528000)

**Objective :** To study the therapeutic effect of Qingkailing Injection (QKL) for acute cerebral infarction (ACI) and its influence on platelet CD62P expression and cytokines contents in peripheral blood in patients. **Methods :** Sixty-five patients of ACI with in the first 72 hrs after onset were randomly divided into treated group (treated with QKL and low molecular dextran) and the control group (treated with low molecular dextran alone). Another group of 30 healthy adults was set up for normal control. Platelet CD62P expression was measured by flow cytometry and the levels of tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-2 receptor (IL-2R) and interleukin-6 (IL-6) were measured by electrochemoluminescence (ECL) before and after treatment. **Results :** Levels of CD62P, TNF- $\alpha$ , IL-2R and IL-6 in the ACI patients, either before or after treatment, were all obviously higher than those in the normal control group ( $P < 0.01$  or  $P < 0.05$ ), the elevation of CD62P expression was positively related with the elevation of the TNF- $\alpha$ , IL-2R and IL-6. After treatment, all the criteria tested decreased more significantly in the treated group after treatment than those in the control group ( $P < 0.05$ ), and the clinical cure rate and markedly effective rate were also higher in the former than those in the latter ( $P < 0.05$ ). **Conclusion :** The mechanism of QKL in treating ACI is related with its actions in inhibiting platelet activation, reducing the cytokines mediated immune response of central nerve system and eliminating inflammatory injury.

**Key words** Qingkailing Injection, acute cerebral infarction, platelet CD62P, cytokines

CD62P 作为血小板活化的特异性分子标志物,在介导血小板与中性粒细胞及内皮细胞的粘附,加重脑缺血—再灌注损伤中起重要作用<sup>[1~4]</sup>。细胞因子介导的免疫应答及炎症反应是急性脑梗死(acute cerebral infarction, ACI)脑缺血过程中神经细胞损伤、变性、凋亡的重要病理环节<sup>[4~6]</sup>。笔者前瞻性地研究了 2001 年 3 月—2001 年 11 月间在本院神经内科住院的 65 例 ACI 患

者,观察清开灵注射液(简称清开灵)治疗 ACI 患者的临床疗效,并从细胞分子水平上探讨清开灵对 ACI 患者不同时间血小板 CD62P 阳性表达率与肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-2 受体(IL-2R)、白细胞介素-6(IL-6)等细胞因子水平变化的影响,旨在探索清开灵治疗 ACI 提供更为科学的新依据。

## 临 床 资 料

1 病例选择 参照 1995 年第四届全国脑血管病学术会议制订“各类脑血管疾病诊断要点”的统一诊断

标准<sup>[7]</sup>选择符合标准的初次发病在3天以内的ACI患者65例,所有病例均为本院神经内科住院的患者,并经头颅CT或MRI证实,全部患者发病前1个月内均未使用肾上腺皮质激素和免疫抑制剂。凡急性心肌梗死、肿瘤、血液病、严重感染、活动性肺结核、肝肾功能严重损害、上消化道大出血、2型糖尿病及自身免疫性疾病患者等均予剔除。按Pullicino提出的公式(长×宽×CT或MRI扫描阳性层数÷2)计算脑梗死体积( $\text{cm}^3$ )<sup>[8]</sup>,将其分为大梗死灶( $>10\text{cm}^3$ )、中梗死灶( $5\sim10\text{cm}^3$ )、小梗死灶( $<5\text{cm}^3$ )并依脑卒中患者临床神经功能缺损程度评分标准<sup>[9]</sup>对患者入院时进行评分。

2 一般资料 采用完全随机数字表法把入选病例分为两组。治疗组33例,男21例,女12例;年龄44~79岁,平均( $57.0\pm9.3$ )岁;发病到入院时间为9~71h,平均( $51.0\pm13.9$ )h;入院时血压平均为( $140.76\pm21.7/89.5\pm11.9$ )mmHg,神经功能缺损程度评分平均为( $29.12\pm5.83$ )分;基底节梗死18例,脑叶梗死6例,丘脑梗死5例,脑干梗死2例,小脑梗死2例;其中小梗死灶11例,中梗死灶18例,大梗死灶4例;梗死灶体积平均为( $8.16\pm5.32$ ) $\text{cm}^3$ 。对照组32例,男19例,女13例;年龄41~76岁,平均( $55.0\pm7.9$ )岁;发病到入院时间为11~69h,平均( $47.0\pm10.7$ )h;入院时血压平均为( $144.4\pm23.4/87.5\pm10.7$ )mmHg,神经功能缺损程度评分平均为( $28.76\pm6.49$ )分;基底节梗死17例,脑叶梗死7例,丘脑梗死4例,脑干梗死3例,小脑梗死1例;其中小梗死灶12例,中梗死灶17例,大梗死灶3例;梗死灶体积平均为( $7.95\pm4.87$ ) $\text{cm}^3$ 。两组性别、年龄、病程、病位、梗死灶体积、神经功能缺损程度评分经统计学处理差异无显著性,具有可比性。另选择30例健康体检者作为正常对照,其中男19例,女11例;年龄为41~79岁,平均( $58.0\pm5.9$ )岁;均无心、脑、肝、肾、肺、高血压、糖尿病等疾患。

## 方 法

1 治疗方法 两组基础治疗均用低分子右旋糖酐500ml与5%葡萄糖注射液100ml加胞二磷胆碱0.5g,每日静脉滴注1次;口服尼莫地平片40mg/次,脑复康片0.8g/次,皆每日3次。治疗组同时加用清开灵注射液(主要成分为胆酸、水牛角、黄芩苷、金银花、栀子等,每支10ml,含黄芩苷50mg、总氮25mg,北京中医药大学药厂生产)40ml加0.9%氯化钠注射液250ml静脉滴注,1日1次。其它酌情处理如吸氧、降颅压、调

节血压、纠正水电解质及酸碱失衡、控制感染、支持与对症措施等两组基本相同。两组病例治疗14日后作疗效评定。

2 测定指标和方法 全部患者均于治疗前及治疗后清晨空腹抽取静脉血4.5ml,其中1.5ml血缓慢注入0.5ml 1%  $\text{Na}_2\text{ESTA}$  塑料试管中轻混匀,用Epics-XL型流式细胞仪(美国Coulter公司生产)检测血小板CD62P的阳性表达率,采用单克隆抗体Ig-FITC, CD62P-FITC(由美国Coulter公司提供),按试剂盒说明书操作;其余3ml血分离血清,用美国DPC化学发光自动分析仪测定细胞因子TNF- $\alpha$ 、IL-2R、IL-6的含量,发光试剂盒由美国DPC化学公司提供。

3 统计学方法 计数资料用 $\chi^2$ 检验,统计分析用美国SAS软件包处理。

## 结 果

1 疗效评定标准 参照1988年全国中风协作组制定的《中风病中医诊断、疗效评定标准》计分法<sup>[10]</sup>,由专人对患者入院时及治疗后的神志、语言、肢体功能、生活自理等项目进行综合评定,满分为28分,起点分值最高不超18分。基本治愈:积分值增加 $>14$ 分或积分值 $>24$ 分者;显效:积分值增加 $>10$ 分者;有效:积分值增加 $>4$ 分者;无效:积分值增加 $<4$ 分者;恶化:病情加重,积分值减少或死亡者。

2 两组疗效比较 治疗组33例,基本治愈5例(15.2%),显效15例(45.4%),有效6例(18.2%),无效4例(12.1%),恶化3例(9.1%),其中死亡2例(6.1%),愈显率为60.6%,总有效率为78.8%;对照组32例,基本治愈2例(6.2%),显效6例(18.8%),有效17例(53.1%),无效3例(9.4%),恶化4例(12.5%),其中死亡2例(6.3%),愈显率为25.0%,总有效率为78.1%。经统计学处理,两组愈显率比较差异有显著性( $\chi^2=8.39, P<0.01$ ),总有效率比较差异无显著性( $\chi^2=0.04, P>0.05$ )。

3 两组患者治疗前后血小板CD62P的阳性表达率与细胞因子水平比较 见表1。两组ACI患者治疗前CD62P、TNF- $\alpha$ 、IL-2R、IL-6水平均显著高于健康人组( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ );治疗后CD62P、TNF- $\alpha$ 、IL-2R、IL-6水平均显著低于治疗前( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),且治疗组较对照组降低更显著( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。

表 1 两组患者治疗前后 CD62P 及细胞因子水平的比较 (  $\bar{x} \pm s$  )

组别	例数		CD62P( % )	TNF- $\alpha$ ( ng/L )	IL-2R( kU/L )	IL- $\alpha$ ( ng/L )
治疗	33	治疗前	7.97 $\pm$ 1.29 **	25.37 $\pm$ 4.68 **	1206.43 $\pm$ 225.19 **	26.95 $\pm$ 2.74 **
		治疗后	3.19 $\pm$ 0.75 * $\triangle$ $\blacktriangle$	9.08 $\pm$ 2.27 * $\triangle$ $\blacktriangle$	633.94 $\pm$ 146.52 * $\triangle$ $\blacktriangle$	7.63 $\pm$ 2.38 * $\triangle$ $\triangle$ $\blacktriangle$ $\blacktriangle$
对照	32	治疗前	8.13 $\pm$ 1.28 **	24.17 $\pm$ 3.69 **	1197.85 $\pm$ 199.57 **	24.79 $\pm$ 2.88 **
		治疗后	5.26 $\pm$ 1.13 * $\triangle$	16.52 $\pm$ 2.16 ** $\triangle$	835.27 $\pm$ 139.66 * $\triangle$	14.87 $\pm$ 2.59 * $\triangle$ $\triangle$
健康人	30		1.69 $\pm$ 0.39	6.03 $\pm$ 1.27	618.34 $\pm$ 119.57	6.97 $\pm$ 1.62

注 :与健康人组比较 , \*  $P < 0.05$  , \*\*  $P < 0.01$  ;与本组治疗前比较 ,  $\triangle P < 0.05$  ,  $\triangle\triangle P < 0.01$  ;与对照组治疗后比较 ,  $\blacktriangle P < 0.05$  ,  $\blacktriangle\blacktriangle P < 0.01$

4 不良反应 治疗期间治疗组、对照组分别出现肢体皮疹 2 例、3 例 ,治疗组出现头晕 1 例 ,对照组出现颜面潮红 1 例 ,口干 1 例 ,两组均无尿、粪异常 ,肝肾功能检查无异常改变。

讨 论

有研究表明 ,血小板活化在 ACI 缺血和缺血/再灌注脑损害发生、发展过程中起着十分重要的作用 , CD62P 不仅参与了缺血脑组织病理损伤过程中的早期阶段 ,还促进血栓的形成与发展<sup>[1~4]</sup>。本研究显示本病患者 CD62P 阳性表达率均明显高于健康人组 ,治疗两周后 CD62P 虽有下降趋势 ,但仍显著高于健康人组 ,表明 ACI 患者急性期血小板高度活化 ,且持续时间较长 ,此为 ACI 早期溶栓和高危因素监控提供了一定的理论依据 ,同时亦提示 ACI 发病后期仍需抗血小板活化、粘附与聚集 ,以防治血栓形成引发再次梗死。TNF- $\alpha$ 、IL-2R、IL-6 介导细胞免疫应答及炎症反应是 ACI 脑缺血过程中神经细胞损伤、变性和凋亡的重要病理机制<sup>[4~6]</sup>。本研究显示 ACI 患者发病第 3 天、第 14 天 TNF- $\alpha$ 、IL-2R、IL-6 水平均显著高于健康人组 (  $P < 0.01$  ) ,说明 ACI 早期存在较强的炎症和免疫反应 ,而且炎性反应呈持续存在 ,此可能是迟发性神经元死亡的主要病理机制。因此 ,监测 ACI 患者不同时间 CD62P、TNF- $\alpha$ 、IL-2R、IL-6 水平的动态变化对缺血再灌注脑损害的功能评估、预后分析、免疫学干预治疗等方面有着非常积极意义。

清开灵注射液是由安宫牛黄丸衍化而成的一种纯中药复方注射液 ,具有清热解毒、镇静安神、化痰祛瘀、醒脑开窍之功效。近年来 ,清开灵注射液已广泛用于治疗急性脑血管病 ,并获得很好的效果<sup>[11~13]</sup>。本实验显示清开灵治疗后其愈显率较对照组为高 ,CD62P、TNF- $\alpha$ 、IL-2R、IL-6 均明显降低 ,说明清开灵可减轻血管内皮细胞受损 ,抑制血小板活化及血小板胞浆内- $\alpha$ 颗粒膜上糖蛋白 CD62P 的表达 ,阻止血小板与粒细胞及内皮细胞的粘附与连接 ;减轻 TNF- $\alpha$ 、IL-2R、IL-6 介导的炎性反应来维持机体的免疫平衡 ,以防止免疫应

答过盛以及活化的血小板和粒细胞引发脑组织的进一步损害 ,从而有效地防止 ACI 的形成和再发 ,促进疾病转归。这可能是清开灵治疗 ACI 效果显著的主要机制之一 ,此为清开灵治疗 ACI 赋予新的内涵 ,但其确切作用机制有等进一步探讨。

参 考 文 献

1 Suzuki H , Abe K , Tojo S , et al. Postischemic expression of p-selectin immunoreactivity in rat brain. J Neuro Sci Lett 1997 ;228 : 151.

2 Thomas WS , Mori E , Copeland BR , et al. Tissue factor contributes to microvascular defects following cerebral ischemia. J Stroke 1993 ;24:847.

3 Nurden AT , Bihour C , Driesch E , et al. Platelet activation in thrombotic disorder. J Nouv Rev Fr Hematol 1993 ;35( 1 ):67.

4 谭 峰 ,顾 卫 ,王金良等.急性脑梗塞 CD62P 与细胞因子的研究.中华新医学 2002 ;3( 8 ):679—681.

5 陆建明.急性脑梗死患者治疗前后血清 IL-2、IL-6 和 TNF 水平的变化.临床神经病学杂志 1999 ;12( 6 ):369.

6 Block F , Peters M , Nolden-Koch M. Expression of IL-6 in the ischemic penumbra. Neuroreport 2000 ;11( 5 ):963—967.

7 中华神经科学会、中华神经外科学会.各类脑血管疾病的诊断要点.中华神经科杂志 1996 ;29( 6 ):379—380.

8 Pullicino P. Small deep infarcts diagnosed on computed tomography. Neurology 1980 ;30:1090—1096.

9 陈清棠.脑卒中患者临床神经功能缺损程度评分标准.中华神经科杂志 1995 ;28( 6 ):381—382.

10 中华全国中医学会内科学会.中风病中医诊断疗效评定标准.中国医药学报 1986 ( 2 ):56.

11 刘清泉 ,江其敏 ,寇兰俊 ,等.清开灵注射液治疗中风危重症时效关系的临床研究.北京中医药大学学报 2002 ;25( 1 ):76—77.

12 岳少杰 ,罗自强 ,冯德云 ,等.清开灵对谷氨酸神经毒性脑损伤脑组织 c-fos 基因表达的影响.北京中医药大学学报 2002 ;25( 2 ):27—30.

13 曹晓岚.清开灵注射液治疗中风病的研究.中国中医急症 1999 ;8( 4 ):176—184.

( 收稿 2002 - 08 - 22 修回 2002 - 11 - 20 )