doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2020.06.012

❖论著❖

亚低温治疗对重型颅脑损伤患者血清中 sFas、sFasL、NSE 表达的影响

漆建,苟章洋,刘洪军,唐晓平,唐文国
(川北医学院附属医院神经外科,四川 南充 637000)

【摘要】**目的:** 探讨重型颅脑损伤后血清中 sFas、sFasL、NSE 的变化规律及与神经细胞损伤和凋亡的关系,进一步探讨 sFas、sFasL、NSE 在亚低温治疗中的临床意义。**方法:** 将 126 例重型颅脑损伤患者分为亚低温治疗组和对照组,分别于伤后第 1、3、5、7 天抽取肘静脉血,用 ELISA 双抗夹心法检测血清中的 sFas、sFasL、NSE 含量,比较两组患者各时间段测定值的差异性以及预后。**结果:** 亚低温治疗组和对照组的血清中 sFas、sFasL、NSE 含量均在伤后第 3 天达高峰,随后逐渐降低,而亚低温治疗组较对照组各时间段均降低明显,差异有统计学意义($P<0.05$);亚低温治疗组的患者预后好于对照组,且对照组的致死率高于亚低温组,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论:** 重型颅脑损伤患者血清中 sFas、sFasL、NSE 的表达与脑损伤后的病理变化过程一致,可作为神经细胞损伤或凋亡的检测指标。亚低温治疗可明显降低表达,抑制神经细胞的损伤和凋亡,改善重型颅脑损伤患者的预后,值得临床推广应用。

【关键词】亚低温治疗;重型颅脑损伤;血清 sFas、sFasL、NSE 含量
【中图分类号】R651.15 【文献标志码】A

Effect of mild hypothermia therapy on the expression of sFas, sFasL and NSE after severe traumatic brain injury

QI Jian, GOU Zhang-yang, LIU Hong-jun, TANG Xiao-ping, TANG Wen-guo
(*Department of Neursurgery, the Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong* 637000, *Sichuan, China*)

【**Abstract**】**Objective**: To investigate the changes of sFas, sFasL, and NSE in serum after severe traumatic brain injury (sTBI) and the relationship with nerve cell injury and apoptosis, and to further explore the clinical significance of sFas, sFasL, and NSE in the treatment of mild hypothermia. **Methods**: 126 patients with sTBI were divided into a mild hypothermia treatment group and a conventional treatment group (control group). The cubital vein blood was drawn on the 1, 3, 5, and 7 days after the injury, and detected the content of sFas, sFasL, and NSE in the serum by ELISA double antibody sandwich method. The differences in the measured values of the two groups of patients at each time period and the comparison of prognosis were compared. **Results**: The serum levels of sFas, sFasL, and NSE in the mild hypothermia treatment group and the control group all reached their peak on the third day after the injury and then gradually decreased, while the mild hypothermia treatment group was significantly lower than the control group at each period, and the differences were significant ($P<0.05$). The prognosis of patients in the mild hypothermia treatment group was significantly better than that of the control group, and the lethality rate of the control group was significantly higher than that of the mild hypothermia group, the difference was significant ($P<0.05$). **Conclusion**: The expressions of sFas, sFasL, and NSE in the serum of patients with sTBI are consistent with the pathological changes after brain injury and can be used as detection indicators of nerve cell injury or apoptosis. Mild hypothermia treatment can significantly reduce its expression, inhibit nerve cell damage and apoptosis, and improve the prognosis of patients with sTBI. It is worthy of clinical application.

【**Key words**】Mild hypothermia therapy; sTBI; Serum sFas, sFasL and NSE contents

重型颅脑损伤(severe traumatic brain injury, sTBI)后继发性脑损害是当今社会高致死率或致残率的主要原因之一。近年来,国内外学者进行了大量的脑损伤机制及临床救治方面的研究,并取得了较大的进步,但也存在许多不足与困惑。随着对血清生物标志物研究的不断开展,许多反映神经细胞损伤或凋亡的检测指标逐渐受到学者们的关注和重视。

本研究将 126 例 sTBI 患者分为亚低温治疗组和对照组,通过测定不同时间段外周静脉血中可溶

基金项目: 四川省教育厅科研资助项目(16ZB0234)
作者简介: 漆建(1963-),男,教授。E-mail:979866279@qq.com

性凋亡相关因子(soluble apoptosis related factors, sFas)、可溶性凋亡相关因子配体(soluble apoptosis related factor ligands, sFasL)、神经元特异性烯醇化酶(neuron specific enolase, NSE),研究其变化规律及相关性,并进一步探讨亚低温治疗的脑保护机制。

1　资料与方法

1.1　一般资料

本研究选取川北医学院附属医院 2016 年 6 月至 2018 年 12 月收治的符合格拉斯哥昏迷评分标准(glasgow Coma Scale, GCS)≤8 分的 126 例 sTBI 患者为研究对象,研究对象均伤后 6 h 内入院。其中,男性 77 例,女性 49 例;年龄 15 ~ 65 岁,平均(32 ± 5.6)岁;入院时 GCS 评分(5.2 ± 2.3)分。根据临床表现及头颅 CT 检查结果,诊断脑挫裂伤合并颅内血肿 66 例,单纯性脑挫裂伤 30 例,单纯性颅内血肿 19 例,弥散性轴索损伤 6 例,原发性脑干损伤 5 例。手术治疗 70 例,非手术治疗 56 例。根据病情,将所有患者分为亚低温治疗组和对照组,每组各 63 例。亚低温治疗组与患者家属讲明病情并签订知情同意书。亚低温治疗组平均年龄(34.8 ± 2.5)岁,GCS 平均(5.7 ± 1.4)分;对照组平均年龄(35.4 ± 4.3)岁,GCS 平均(5.9 ± 2.3)分。两组患者平均年龄和 GCS 评分比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

1.2　治疗方法

除常规药物及手术治疗外,亚低温治疗组患者入院或手术后立即使用亚低温治疗仪(Blanketrol II 型,美国 CSE 公司)行全身及头部降温,并持续静脉滴注冬眠合剂(等渗盐水 500 mL + 氯丙嗪 100 mg + 异丙嗪 100 mg + 苯磺酸阿曲库铵 400 mg),使肛温控制在 32 ℃ ~35 ℃,3 ~7 d 后停止亚低温并自然复温至 37℃左右。

1.3　检测项目及方法

所有患者于入院后第 1、3、5、7 天早晨 7: 00 抽取肘静脉血,分离血清并在 -70 ℃下保存待测。采用酶联免疫吸附剂双抗体夹心法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)检测血清中 sFas、sFasL、NSE 含量,严格按照试剂盒说明书进行检测,每个样本重复检测 3 次,取平均值。血清 sFas、sFasL 检测试剂盒为上海一研生物科技公司产品(产品货号: YY-ELISA0972、YY-ELISA0971),NSE 检测试剂盒为上海恒远生物科技有限公司产品(产品货号: HY21794E)。

1.4　评定方法

对比两组患者不同时间段 sFas、sFasL、NSE 测定值,伤后 3 个月以格拉斯哥预后评分(glasgow outcome scale, GOS)标准判定预后。

1.5　统计学分析

用 SPSS18.0 统计软件进行统计分析。一般计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,对两组数据采用 t 检验进行组间比较;计数资料用率表示,行 χ^2 检验。$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　两组患者各时间段血清中 sFas、sFasL、NSE 含量的变化规律比较

两组患者入院第 1 天血清中 sFas、sFasL、NSE 含量均增高,第 3 天达高峰,随后逐渐降低,第 3 天起亚低温治疗组较对照组明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1　两组患者不同时间段血清中 sFas、sFasL、NSE 含量的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	sFas(pg/mL)	sFasL(pg/mL)	NSE(ng/mL)
亚低温治疗组($n = 63$)			
1 d	54.65 ± 7.28	92.48 ± 5.24	35.52 ± 10.28
3 d	72.55 ± 11.28 *	110.26 ± 17.53 *	59.42 ± 9.43 *
5 d	45.21 ± 7.67 *	70.32 ± 2.95 *	30.19 ± 7.08 *
7 d	30.58 ± 11.24 *	51.17 ± 4.99 *	24.22 ± 7.65 *
对照组($n = 63$)			
1 d	66.28 ± 5.24	102.34 ± 11.25	44.57 ± 9.23
3 d	120.57 ± 12.63	174.33 ± 20.56	98.74 ± 10.55
5 d	84.33 ± 9.54	122.48 ± 8.94	60.36 ± 7.58
7 d	62.34 ± 2.75	100.23 ± 12.55	45.07 ± 15.32

* $P < 0.05$ 与对照组比较。

2.2　比较两组患者 3 个月 GOS 预后

亚低温治疗组患者恢复良好率为 44.4%(28/63),高于对照组的 23.8%(15/63),差异有统计学意义($P < 0.05$);而亚低温治疗组患者死亡率为 14.3%(9/63),低于对照组的 34.9%(22/63),差异有统计学意义($P < 0.05$)。

3 讨论

sTBI 患者常因继发性脑损伤致残或死亡,国内外学者进行了大量的脑损伤机制及临床救治方面的研究,并取得了较大的进步。但许多药物实验在脑损伤的动物模型中的脑保护作用仍收效甚微,究其原因可能在于缺少治疗干预追踪的中枢神经系统(CNS)生物标志物。而生物标志物在表征 sTBI 严重性和时间分布方面可以发挥关键作用。检测相关生物标志物可以监测疾病进展,预测临床结果并提供有关 sTBI 正在进行的病理生物学变化的分子水

平信息[1],此类信息对治疗干预措施和评估患者对此类干预措施的反应至关重要。

Fas(Apo-1,CD95)和Fas-Ligand(FasL,CD95L)分别是TNF受体和TNF配体家族的典型成员,在调节凋亡过程(包括激活诱导的细胞死亡)中起着关键作用。通过死亡受体Fas引起的细胞凋亡已经在免疫系统中得到了很好的证明。Fas和FasL的表达包括CNS在内的多种组织中普遍存在,如:胸腺、心脏、大脑、卵巢、睾丸、肝脏、肺脏、脾脏和肠道。另外,免疫细胞,如巨噬细胞及活化的B和T淋巴细胞也可表达Fas,且Fas的功能已被证明具有多效性。Fas除了具有典型的促凋亡作用外,还与胚胎的生长、炎症、分化和增殖有关[2-4]。有趣的是,Fas在中枢神经系统中的功能调节非常复杂,且Fas可以是神经保护性或促凋亡的,FasL和Fas的上调在各种神经系统疾病的凋亡过程中起着决定性作用[5],这也表明Fas信号传导途径在神经变性过程中起作用。

研究表明,脑损伤后神经细胞凋亡在继发性脑损伤中有重要作用。凋亡发生的原因和凋亡机制广泛而复杂,参与因素众多,Fas/FasL途径是典型的死亡受体途径。从结构上讲,所有死亡受体的特征是在胞外域中存在富含半胱氨酸的重复序列,在细胞质尾部中存在一种蛋白质-蛋白质相互作用基序,称为"死亡域"(DD)。Fas通过死亡结构域(DD),Fas相关死亡结构域(FADD),死亡效应子结构域(DED)和procaspase-8与FasL结合,这些受体形成诱导死亡的信号复合物(DISC),从而激活启动子胱天蛋白酶并导致细胞凋亡,尤其是产生大量的胱天蛋白酶8并直接激活效应胱天蛋白酶,特别是胱天蛋白酶3,并导致重要细胞底物的裂解和细胞凋亡[6]。

在本研究中创伤性脑损伤后颅脑损伤区周围血脑屏障遭到破坏,导致外周血中升高FasL与神经细胞表面的Fas结合,启动外源性天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶(Caspase)激活途径,procaspase-8活化为具有活性的caspase-8并进一步通过级联反应激活下游caspase-3,最终导致细胞凋亡;而外周血中sFas的含量升高并与血清中的FasL结合促进细胞凋亡,sFas与sFasL的表达在脑损伤后48~72 h几乎呈同步升高,提示脑损伤后神经细胞的凋亡于48~72 h达到高峰[7-8],神经元损伤及凋亡的发生表明异常表达的凋亡基因可直接参与其中,颅脑损伤严重损害程度可使用相关凋亡因子的表达量来直观评估,并对临床预后起到预测作用,sFas、sFasL水平直接调节细胞凋亡进程[9-10]。

神经元特异性烯醇化酶是一种由ENO_2基因编码的γ-烯醇酶或烯醇酶2,其作为同型二聚体存在于成熟的神经元和神经内分泌细胞中。NSE升高可促进细胞外基质的降解,神经胶质细胞增生和肌动蛋白重塑,从而影响活化的巨噬细胞和小胶质细胞向损伤部位的迁移,并促进神经元细胞死亡。故NSE是颅脑损伤可靠的特异性和定量的生物标志物。研究[11]表明,血液和脑脊液中可测量的NSE可能是评估神经元损伤和脑损伤预后的潜在有用的生物标志物。颅脑损伤所致的神经髓鞘崩解和神经元坏死,使细胞质的NSE进入脑脊液中,而血清中NSE表达升高是通过受损的血脑屏障进入血中所致。随着脑损伤后脑组织的病理生理变化,血液和脑脊液中NSE的表达量随之升高或降低[12-13],与本研究相符。NSE可作为早期检测sTBI的特异性指标之一,可判断脑损伤严重程度,其含量越高,并可区分脑损伤的类型[14-15]。

本研究针对sTBI患者采用亚低温脑保护技术,拟下调血清中sFas、sFasL、NSE的表达。三组数据对比显示,亚低温治疗组血清中sFas、sFasL、NSE均明显降低,且呈正相关,与对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$),表明亚低温不仅能减轻脑损伤程度,而且能调控神经细胞凋亡的发生发展。结果还显示,两组中亚低温治疗组的患者预后明显好于对照组,且对照组的致死率明显高于亚低温组($P<0.05$),亚低温治疗可明显改善sTBI患者预后。

亚低温治疗能减轻脑损伤后脑水肿所致的颅内高压,改善微循环障碍,降低脑组织代谢及神经元凋亡水平,减轻炎症反应等继发性脑损害作用,从而促进神经功能的恢复,改善预后,降低死亡率和致残率。但客观地讲,亚低温的脑保护作用尚存在一些争议,在以后的研究中尚需进一步解决亚低温的持续时间、作用时间窗、伴随的并发症、其准确的作用机制等问题,随着对亚低温治疗的深入研究,将更好地服务于临床[16]。

参考文献

[1] Sharma R, Laskowitz DT. Biomarkers in traumatic brain injury[J]. Curr Neurol Neurosci Rep, 2012, 12(5): 560-569.

[2] Peter ME, Budd RC, Desbarats J, *et al*. The CD95 receptor: apoptosis revisited[J]. Cell, 2007, 129(3): 447-450.

[3] Lambert C, Landau AM, Desbarats J. Fas-beyond death: a regenerative role for Fas in the nervous system[J]. Apoptosis, 2003, 8(6): 551-562.

[4] Wajant H, Pfizenmaier K, Scheurich P. Non-apoptotic Fas signaling[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2003, 14(1): 53-66.

[5] Choi C, Benveniste EN. Fas ligand/Fas system in the brain: regulator of immune and apoptotic response[J]. Brian Res Rev, 2004, 44

(1):65 – 81.
[6] Wajant H, Pfizenmaier K, Scheurich P. Non-apoptotic Fas signaling [J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2003, 14(1):53 – 66.
[7] Qiu J, Whalen MJ, Lowenstein P, *et al*. Upregulation of Fas receptor death-inducing complex after traumatic brain injury in mice and humans[J]. J Neurosci, 2002, 22(9):3504 – 3511.
[8] Chen B, Wu Z, Yu J, *et al*. Calreticulin binds to Fas ligand and inhibits neuronal cell apoplosis induced by ischemia-reperfusion injury[J]. Biomed Res Int, 2015, 89(5):284 – 289.
[9] 赵永东. 丹参注射液对急性脑梗死患者血清可溶性凋亡相关因子及其配体水平的影响[J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(19):5457 – 5460.
[10] 黄从刚, 段发亮, 吴京雷, 等. 重型颅脑损伤患者 Homerla 蛋白表达及其与神经元损伤凋亡的关系研究[J]. 中华神经医学杂志, 2017, 16(6):595 – 598.
[11] Haque A, Polcyn R, Matzelle D, *et al*. New Insights into the Role of Neuron-Specific Enolase in Neuro-Inflammation, Neurodegeneration, and Neuroprotection[J]. Brain Sci, 2018, 8(2):33 – 44.
[12] Thelin EP, Jeppsson E, Frostell A, *et al*. Utiling of neuron – specific enolase in traumatic brain injury; relations to S100βLevls, outcome, and extracranial injury[J]. Crit Care, 2016, 8(20):285 – 290.
[13] Azar S, Hasan A, Younes R, *et al*. Biofluid proteomics and biomarkers in traumatic brain injury[J]. Methods Mol Biol, 2017, 159(8):45 – 63.
[14] 张刚利. NSE 在颅脑损伤中的临床意义[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2010, 37(2):161 – 164.
[15] 李俊, 刘红朝, 张刚利, 等. 重型颅脑损伤患者血清 NSE 检测及其临床意义[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2011, 40(2):225 – 228.
[16] Deyne D, Cathy S. Therapeutic hypothermia and traumatic brain injury [J]. Curr Opin Anaesthesiol, 2010, 23(2):258 – 262.

(收稿日期:2019 – 10 – 29　　学术编辑:马英)

(上接第 985 页)

[2] 马亦心, 马媛媛. 前牙美学修复中牙龈美学效果评价的研究进展[J]. 中华口腔医学杂志, 2018, 53(3):212 – 216.
[3] Kashbour WA, Rousseau NS, Thomason JM, *et al*. Provision of information on dental implant treatment: Patients' thoughts and experiences [J]. Clinical oral implants research, 2018, 29(3):309 – 319.
[4] 范盛梓, 谢志刚. 牙龈生物型对种植牙美学影响的研究进展[J]. 国际口腔医学杂志, 2017, 44(5):580 – 582.
[5] 戴文雍, 周国兴, 张晓真, 等. 前牙美学区种植义齿个体化修复及临床评价[J]. 上海口腔医学, 2014, 23(4):446 – 451.
[6] Raymond, Choi A. Rationale for Fixed Restorations Supported by Mini Dental Implants: Case Reports and Practical Case Selection Guidelines[J]. Compendium of Continuing Education in Dentistry, 2019, 40(4):238 – 245.
[7] Bramanti E, Norcia A, Cicciù M, *et al*. Postextraction Dental Implant in the Aesthetic Zone, Socket Shield Technique Versus Conventional Protocol[J]. Journal of Craniofacial Surgery, 2018, 29(4):1037 – 1041.
[8] 张春, 杨学文. 口腔义齿种植后美容效果的影响因素分析[J]. 口腔医学研究, 2015, 31(12):1258.
[9] 石茂林, 李洪友, 陈梦月. 二段式钛合金种植牙不同弹性模量组件及其组合对骨界面应力分布的影响[J]. 华侨大学学报(自然科学版), 2014, 35(4):361 – 366.
[10] Ggorges B, 王冰. 前牙螺丝固位个性化种植全瓷修复体制作技巧[J]. 实用口腔医学杂志, 2014, 30(4):586 – 588.
[11] 宓勇. CAD/CAM 二氧化锆全瓷固定桥的修复效果评价[J]. 实用口腔医学杂志, 2015, 31(4):580 – 582.
[12] 麦合甫孜·艾山, 阿孜古丽·赛依都拉, 葛菲, 等. 二氧化锆全瓷冠修复的远期效果研究[J]. 基因组学与应用生物学, 2016, 35(11):2975 – 2979.
[13] 李允允, 江方方, 郑衍亮, 等. CAD/CAM 高嵌体修复老年患者后牙牙体缺损的临床评价[J]. 实用口腔医学杂志, 2019, 35(4):575 – 578.
[14] 黄琛琛, 潘丽娜, 张伟, 等. CAD/CAM 全瓷高嵌体修复根管治疗后牙体缺损的临床评价[J]口腔医学研究, 2016, 32(10):1056 – 1059.
[15] 游嘉, 方利华, 张青, 等. 基于 SLM 技术的表面多孔钛金属多根牙种植体的骨结合研究[J]. 中国生物医学工程学报, 2015, 34(3):315 – 322.

(收稿日期:2020 – 05 – 05　　学术编辑:邓礼辉)