

临床研究

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2020.15.011

凉血通瘀方对脑出血实证患者血清神经营养因子和氧化应激的影响

李建香¹, 丁德经^{2*}, 张兰坤³, 何小刚⁴, 过伟峰⁵, 赵杨¹, 王敬卿¹

1. 南京中医药大学附属南京中医院, 江苏省南京市秦淮区大明路 157 号, 210022; 2. 江苏省睢宁县中医院; 3. 南京中医药大学第二附属医院; 4. 江苏省昆山市中医医院; 5. 南京中医药大学

摘要 目的 观察凉血通瘀方治疗脑出血实证患者的临床疗效, 并探讨可能作用机制。方法 将 85 例脑出血患者随机分为对照组 42 例和治疗组 43 例, 对照组给予西医内科治疗, 治疗组在对照组基础上口服或鼻饲凉血通瘀方, 每日 1 剂, 疗程均为 14 天。观察两组治疗前及治疗 7、14 天后中风病类诊断评分、美国国立卫生研究院卒中量表 (NIHSS) 评分, 检测血清脑源性神经营养因子 (BDNF)、神经生长因子 (NGF)、超氧化物歧化酶 (SOD) 和丙二醛 (MDA) 水平, 治疗后评价临床疗效。结果 治疗组临床疗效总有效率为 93.0%, 高于对照组的 83.3% ($P < 0.05$)。与本组治疗前比较, 治疗组治疗 7、14 天后中风病类诊断评分和 NIHSS 评分降低, 血清 BDNF 和 SOD 水平升高, MDA 水平降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与对照组同时间比较, 治疗组治疗 14 天后中风病类诊断评分和 NIHSS 评分降低, 血清 BDNF、NGF 和 SOD 水平升高, MDA 水平降低 ($P < 0.01$)。结论 凉血通瘀方治疗脑出血实证患者可改善症状和体征, 促进神经功能恢复, 提高临床疗效, 其作用机制可能与提高神经营养因子和减轻氧化应激有关。

关键词 凉血通瘀方; 脑出血; 实证; 神经营养因子; 氧化应激; 超氧化物歧化酶; 丙二醛

脑出血起病迅速, 预后极差, 是导致人类残疾和死亡的主要疾病之一^[1]。目前内科药物治疗和外科手术治疗取得一定进展, 但致残率和致死率没有明显下降^[2]。我们前期研究^[3]结果显示, 凉血通瘀方可以改善脑出血患者神经功能缺损, 提高日常生活活动能力, 显著提高疗效, 改善预后。动物实验^[4-5]亦证实, 本方可以减轻脑出血大鼠氧化应激和炎症反应, 调节脑肠肽发挥神经保护作用。本研究进一步观察凉血通瘀方对脑出血实证患者外周血脑源性神经营养因子 (BDNF)、神经生长因子 (NGF)、超氧化物歧化酶 (SOD) 和丙二醛 (MDA) 的影响, 探讨其治疗脑出血的可能作用机制。

1 临床资料

1.1 诊断标准

西医诊断标准采用《中国脑出血诊治指南

(2014)》^[6]中脑出血诊断标准。中医诊断标准参照《中风病诊断与疗效评定标准 (试行)》^[7]中中风病诊断标准, 辨证标准参照《中风病辨证诊断标准 (试行)》^[8]中属实证者, 包括风证、火热证、痰 (热) 证、血瘀证。

1.2 纳入标准

符合上述诊断及辨证标准者; 年龄 18 ~ 80 岁, 性别不限; 住院或急诊观察室患者, 发病 72 h 以内入院; 美国国立卫生研究院卒中量表 (NIHSS) 评分^[9] ≥ 6 分且 ≤ 21 分; 签署知情同意书。

1.3 排除标准

合并蛛网膜下腔出血、短暂性脑缺血发作、脑梗死者; 由血液病、肿瘤或外伤引起的颅内出血者; 合并严重原发性疾病者。

1.4 剔除标准

入院后 24 h 内死亡; 未按研究方案治疗而影响疗效判定者; 发生严重不良事件者。

1.5 一般资料

病例来自 2016 年 10 月至 2018 年 12 月南京中医药大学附属南京中医院、江苏省睢宁县中医院、

基金项目: 国家自然科学基金 (81704017); 中央本级重大增减支项目 (2060302); 南京市卫生科技发展专项资金项目 (JQX18006, ZKX15038); 南京市卫生青年人才培养工程 (QRX17186); 南京中医药大学护理学优势学第三期开放课题 (2019YSHL093)

* 通讯作者: 307147639@qq.com, 17372916503

南京中医药大学第二附属医院、江苏省昆山市中医医院患者。采用多中心、随机、平行对照设计方案。用 SPSS 22.0 统计软件产生随机排列表分为对照组 42 例和治疗组 43 例。对照组中男 23 例，女 19 例；平均年龄 (63.55 ± 7.35) 岁；平均病程（发病至入院时间） (31.38 ± 18.15) h；平均 NIHSS 评分 (14.95 ± 3.44) 分。治疗组中男 30 例，女 13 例；平均年龄 (62.63 ± 7.04) 岁；平均病程 (26.95 ± 16.63) h；平均 NIHSS 评分 (15.19 ± 3.77) 分。两组患者一般资料比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)，具有可比性。本研究经南京中医药大学附属南京中医院伦理委员会批准（编号 KY2015007、KY2018019）。

2 方法

2.1 治疗方法

两组均采用西医内科治疗^[8]，包括一般治疗，管理血压、血糖、体温，脱水降颅压，维持水电解质平衡，防治并发症等。治疗组在西医内科治疗基础上口服或鼻饲凉血通瘀方，药物组成：熟大黄 10 g，水牛角 30 g（先煎），生地黄 20 g，赤芍 15 g，牡丹皮 10 g，石菖蒲 10 g。每日 1 剂，分 2 次水煎服。两组患者疗程均为 14 天。

2.2 观察指标及方法

2.2.1 中风病类诊断评分 分别于治疗前及治疗 7、14 天后进行中风病类诊断评分^[9]。分级标准：1~13 分为轻型；14~26 分为普通型；27~39 分为重型；40 分以上为极重型。

2.2.2 NIHSS 评分^[9] 分别于治疗前及治疗 7、14 天后进行评分，评估意识水平、视觉功能、运动功能、感觉和忽视、小脑功能。

2.2.3 血清 BDNF、NGF、SOD 和 MDA 水平检测 分别于治疗前及治疗 7、14 天后空腹抽取静脉血，取上清液。采用酶联免疫吸附法（ELISA）检测血清 BDNF、NGF、SOD 和 MDA 水平。试剂盒：BDNF（批号：20181002L7）、NGF（批号：20181011K0）、SOD（批号：20181008M2）、MDA（批号：20181009F1），均购自上海酶联生物科技有限公司，均按说明书操作。

2.3 疗效判定标准

参照《中风病诊断与疗效评定标准（试行）》^[9]以中风病类诊断评分评定，减分率 =（治疗前评分 - 治疗后评分）/ 治疗前评分 $\times 100\%$ 。基本恢复：减分率 $> 80\%$ ；显著进步：减分率为

56%~80%；进步：减分率为 36%~55%；稍进步：减分率为 11%~35%；无变化：减分率为 $< 11\%$ ；恶化（包括死亡）：减分率为负值。

2.4 统计学方法

应用 SPSS 25.0 统计软件处理数据，计数资料采用 χ^2 检验；计量资料符合正态分布以均值 $\pm$ 标准差 $(\bar{x} \pm s)$ 表示，两组之间比较采用 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

对照组 1 例因病情加重转院治疗，1 例病情加重死亡，治疗组 1 例家属放弃治疗，均无法搜集治疗 14 天后评分和血清指标资料，在临床疗效评价中均归为恶化。最终对照组在治疗 14 天后纳入统计 40 例，治疗组治疗 14 天后纳入统计 42 例。

3.1 两组患者不同时间中风病类诊断评分和 NIHSS 评分比较

表 1 示，治疗前两组患者中风病类诊断评分和 NIHSS 评分差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与本组治疗前比较，两组患者治疗 7、14 天后中风病类诊断评分和 NIHSS 评分均明显降低 ($P < 0.01$)。治疗 7 天后两组间比较，治疗组中风病类诊断评分降低 ($P < 0.05$)；治疗 14 天后两组间比较，治疗组中风病类诊断评分和 NIHSS 评分均明显降低 ($P < 0.01$)。

表 1 两组脑出血实证患者不同时间中风病类诊断评分和 NIHSS 评分比较（分， $\bar{x} \pm s$ ）

组别	时间	例数	中风病类诊断评分	NIHSS 评分
对照组	治疗前	42	20.50 $\pm$ 7.43	14.95 $\pm$ 3.44
	治疗 7 天后	42	17.38 $\pm$ 8.62*	11.26 $\pm$ 3.98*
	治疗 14 天后	40	12.88 $\pm$ 7.24*	7.30 $\pm$ 3.34*
治疗组	治疗前	43	21.05 $\pm$ 6.44	15.19 $\pm$ 3.77
	治疗 7 天后	43	14.00 $\pm$ 6.08* Δ	10.30 $\pm$ 3.26*
	治疗 14 天后	42	8.93 $\pm$ 5.78* $\Delta\Delta$	5.31 $\pm$ 3.16* $\Delta\Delta$

注：NIHSS，美国国立卫生研究院卒中量表；与本组治疗前比较，* $P < 0.01$ ；与对照组同时时间比较， $\Delta P < 0.05$ ， $\Delta\Delta P < 0.01$

3.2 两组患者临床疗效比较

对照组 42 例患者基本恢复 10 例，显著进步 10 例，进步 9 例，稍进步 6 例，无变化 4 例，恶化 3 例，总有效率 83.3%。治疗组 43 例患者基本恢复 17 例，显著进步 16 例，进步 5 例，稍进步 2 例，无变化 2 例，恶化 1 例，总有效率 93.0%。治疗组总有效率高于对照组 ($P < 0.05$)。

3.3 两组患者不同时间血清 BDNF、NGF、SOD 和 MDA 水平比较

表 2 示，治疗前两组患者血清 BDNF、NGF、

表 2 两组脑出血实证患者不同时间血清 BDNF、NGF、SOD 和 MDA 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	例数	BDNF (ng/ml)	NGF (ng/ml)	SOD (ng/ml)	MDA (nmol/ml)
对照组	治疗前	42	36.78 ± 5.46	445.67 ± 48.48	109.66 ± 25.51	6.97 ± 0.81
	治疗 7 天后	42	32.69 ± 4.38**	388.60 ± 34.58**	82.46 ± 22.39**	6.84 ± 0.89
	治疗 14 天后	40	33.41 ± 4.18**	347.06 ± 32.19**	68.03 ± 22.80**	7.20 ± 0.86
治疗组	治疗前	43	37.76 ± 5.49	456.55 ± 52.20	116.73 ± 20.87	6.02 ± 0.83
	治疗 7 天后	43	43.90 ± 5.99**△	491.08 ± 40.09△	149.27 ± 29.34**△	5.04 ± 1.21**△
	治疗 14 天后	42	49.67 ± 6.46**△	493.43 ± 26.09△	167.23 ± 25.57**△	4.75 ± 1.12**△

注: BDNF, 脑源性神经营养因子; NGF, 神经生长因子; SOD, 超氧化物歧化酶; MDA, 丙二醛; 与本组治疗前比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与对照组同时间比较, △ $P < 0.01$

SOD 和 MDA 水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与本组治疗前比较, 对照组治疗 7、14 天后血清 BDNF、NGF 和 SOD 水平均明显降低 ($P < 0.01$); 治疗组治疗 7、14 天后血清 BDNF 和 SOD 水平明显升高, MDA 水平降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与对照组同时间比较, 治疗组治疗 7、14 天后血清 BDNF、NGF 和 SOD 水平均明显升高, MDA 水平明显降低 ($P < 0.01$)。

4 讨论

脑出血来势急骤, 病情凶险, 中医学认为其发病以窍闭神昏、瘀热互结为特点, 治宜直折病势, 防止传变。凉血通瘀方源自犀角地黄汤和桃核承气汤, 功效凉血散瘀、通腑泻热, 方以大黄通腑逐瘀、下瘀清热, 予邪出路; 水牛角清热泻火、凉血清心、宁血解毒, 二者相伍阻断血中邪热煎熬成瘀, 防止瘀热生风化痰, 以达火平热降、毒解血宁目的; 生地黄凉血滋阴、养血止血; 赤芍、牡丹皮清热凉血、活血散瘀; 石菖蒲开窍豁痰、引药上行。诸药合用防止瘀热搏结, 凉血散瘀、血凉热清, 防止煎熬血液、瘀血胶固; 通腑泻热、釜底抽薪, 防止热盛伤津、瘀郁生热。

本研究结果显示, 在西医内科治疗基础上应用凉血通瘀方治疗脑出血实证患者可以降低中风病类诊断评分和 NIHSS 评分, 说明可以明显改善患者症状和体征, 促进神经功能恢复, 治疗总有效率高于对照组, 与既往研究结果^[4]一致。

BDNF 和 NGF 是神经营养因子家族的重要成员, 可促进神经元的再生和分化, 调节突触可塑性, 具有神经保护作用^[10]。BDNF 主要分布在中枢神经系统, 参与神经元与胶质细胞的分化和存活、髓鞘形成、神经元迁移, 保护损伤后的神经元, 促进卒中后运动、学习和康复^[11]。NGF 主要来源于脑内胆碱能神经元支配区, 促进神经纤维再生和神经鞘膜修复, 抑制神经元凋亡; 促进脑组织新生血管形成和血流灌注水平, 提高血管内皮细胞

迁移能力^[12]。研究证实, 血清 BDNF 水平降低与卒中风险增加和卒中预后不良相关^[13]; 卒中患者血清 NGF 水平明显低于健康人群^[14]。本研究结果显示, 治疗 7、14 天后治疗组较对照组均可以升高脑出血实证患者血清 BDNF、NGF 水平, 而对照组患者血清 BDNF 和 NGF 较治疗前降低, 说明凉血通瘀方发挥了保护神经元作用。

SOD 和 MDA 是反映氧化应激状态的主要标志物, 氧化应激参与了脑出血的发生发展, 是导致脑组织损伤的基本机制之一^[15]。脑出血时体内产生大量脂质过氧化物和自由基, 增强细胞兴奋毒性, 损伤线粒体功能, 破坏血脑屏障, 导致脑细胞发生不可逆性凋亡, 影响神经功能恢复^[16]。本研究结果显示, 治疗 7、14 天后凉血通瘀方可以提高脑出血患者血清 SOD 水平, 降低 MDA 水平, 而对照组患者血清 SOD 水平较治疗前降低, MDA 水平无变化, 说明凉血通瘀方可减轻氧化应激反应, 而西医内科治疗无此作用。我们认为, 经过内科治疗或合用凉血通瘀方治疗, 患者病情会有向愈倾向, 故本研究未进行治疗后不同时间点的比较。

综上所述, 在西医内科治疗基础上应用凉血通瘀方治疗脑出血实证患者可以明显提高临床疗效, 发挥保护神经元和减轻氧化应激作用, 其机制可能与其升高血清 BDNF、NGF 和 SOD 水平, 降低 MDA 水平有关。关于神经营养因子与氧化应激之间的深层次关系需进一步研究。

参考文献

- [1] DONG XS, SONG GF, WU CJ, et al. Effectiveness of rehabilitation training combined with acupuncture on aphasia cerebral hemorrhage: a systematic review protocol of randomized controlled trial [J]. Medicine, 2019, 98(24): e16006.
- [2] 顾建军, 王子亮, 李天晓. 自发性脑出血继发缺血性脑损伤的研究进展 [J]. 中华神经外科疾病研究杂志, 2018, 17(3): 286-288.
- [3] 过伟峰, 张兰坤, 吴勉华, 等. 凉血通瘀中药治疗脑出

- 血急性期 168 例疗效观察 [J]. 北京中医药大学学报, 2012, 35(9): 603-606.
- [6] 顾恒, 李建香, 刘云芳, 等. 凉血通瘀方对脑出血大鼠氧化应激和炎症反应的影响 [J]. 中医药学报, 2019, 47(5): 9-12.
- [7] 李建香, 赵杨, 过伟峰, 等. 凉血通瘀方对脑出血模型大鼠脑组织、肠组织、血清胆囊收缩素 8 的影响 [J]. 中医杂志, 2019, 60(8): 684-688.
- [8] 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. 中国脑出血诊治指南 (2014) [J]. 中华神经科杂志, 2015, 48(6): 435-444.
- [9] 国家中医药管理局脑病急症协作组. 中风病诊断与疗效评定标准 (试行) [J]. 北京中医药大学学报, 1996, 19(1): 55-56.
- [10] 国家中医药管理局脑病急症科组. 中风病辨证诊断标准 (试行) [J]. 北京中医药大学学报, 1994, 17(3): 64-66.
- [11] RUNDE D. Calculated decisions: national institutes of health stroke scale [J]. Emerg Med Pract, 2019, 21(suppl 6): CD1-CD3.
- [12] 代云飞, 王通通, 马微, 等. 神经生长因子、脑源性神经生长因子及其前体在神经系统中的效应 [J]. 中国

组织工程研究, 2018, 22(28): 4580-4586.

- [13] MANG CS, CAMPBELL KL, ROSS CJ, et al. Promoting neuroplasticity for motor rehabilitation after stroke: considering the effects of aerobic exercise and genetic variation on brain-derived neurotrophic factor [J]. Phys Ther, 2013, 93(12): 1707-1716.
- [14] 彭娟, 崔莉红, 秦有智. 神经生长因子辅助治疗高血压性脑出血的效果及对水通道蛋白、氧化应激因子水平的影响 [J]. 卒中与神经疾病, 2019, 26(2): 182-185.
- [15] STANNE TM, ABERG ND, NILSSON S, et al. Low circulating acute brain-derived neurotrophic factor levels are associated with poor long-term functional outcome after ischemic stroke [J]. Stroke, 2016, 47(7): 1943-1945.
- [16] 李磊. NTF 和 NGF 水平检测在脑梗塞诊断中应用价值研究 [J]. 实验与检验医学, 2019, 37(3): 508-510.
- [17] DUAN X, WEN Z, SHEN H, et al. Intracerebral hemorrhage, oxidative stress, and antioxidant therapy [J]. Oxid Med Cell Longev, 2016, 2016: 1203285. doi: 10.1155/2016/1203285.
- [18] 柯国秀, 王国军, 王建生, 等. 早期继续出血的自发性脑出血患者不同时间点氧化应激及炎性介质水平的变化 [J]. 卒中与神经疾病, 2017, 24(4): 306-309.

Effects of *Liangxue Tongyu Formula* (凉血通瘀方) on Serum Neurotrophic Factors and Oxidative Stress in Cerebral Hemorrhage Patients with Excess Syndrome

LI Jianxiang¹, DING Dejing², ZHANG Lankun³, HE Xiaogang⁴, GUO Weifeng⁵, ZHAO Yang¹, WANG Jingqing¹

1. Nanjing Traditional Chinese Medicine Hospital Affiliated to Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing, 210022; 2. Traditional Chinese Medicine Hospital of Suining County, Jiangsu Province; 3. Second Affiliated Hospital of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine; 4. Traditional Chinese Medicine Hospital of Kunshan City, Jiangsu Province; 5. Nanjing University of Chinese Medicine

ABSTRACT Objective To observe the clinical efficacy of *Liangxue Tongyu Formula* (凉血通瘀方) in treating cerebral hemorrhage patients with excess syndrome, and to explore the possible mechanism. **Methods** A total of 85 patients were randomly divided into 42 cases in the control group and 43 cases in the treatment group. The control group was treated with internal medicine of western medicine. The treatment group received oral or nasal feeding *Liangxue Tongyu Formula* on the basis of the control group, 1 dose per day, all courses for 14 days. The stroke diagnosis score, the National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) score, serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF), nerve growth factor (NGF), superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) were observed in both groups before treatment and after 7 and 14 days of treatment. Clinical efficacy was evaluated after treatment. **Results** The total effective rate of clinical efficacy of the treatment group was 93.0%, which was higher than that in the control group, 83.3% ($P < 0.05$). Compared with those before treatment in this group, after 7 and 14 days of treatment, stroke diagnosis score and NIHSS score decreased, serum BDNF and SOD levels increased, and MDA levels decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$) in the treatment group; Compared with the same time of the control group, the stroke diagnosis score and NIHSS score decreased, serum BDNF, NGF, and SOD levels increased, and MDA levels decreased after 14 days of treatment in the treatment group ($P < 0.01$). **Conclusion** *Liangxue Tongyu Formula* can improve the symptoms and signs, promote the recovery of nerve function and improve the clinical efficacy of cerebral hemorrhage patients with excess syndrome. Its mechanism may be related to the improvement of neurotrophic factors and the reduction of oxidative stress.

Keywords *Liangxue Tongyu Formula* (凉血通瘀方); cerebral hemorrhage; excess syndrome; neurotrophic factor; oxidative stress; superoxide dismutase; malondialdehyde

(收稿日期 2019-12-02; 修回日期: 2020-03-19)

编辑: 邓 媛