

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2016.08.025

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2016.08.025>

急性脑出血患者血清HIF-1 α 与VEGF、Hsp70动态表达情况研究

岑丽霞, 靳敏, 袁汝康

(中山市广济医院神经内科, 广东 中山 528427)

[摘要] 目的: 研究分析急性脑出血患者血清低氧诱导因子(hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)与血管生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、热休克蛋白70(heat shock protein 70, Hsp70)动态表达情况。方法: 将2014年3月至2015年4月我院急诊收治的35例急性脑出血患者, 根据其出血量分为小量组、中量组、大量组, 测定比较各分组人员发病后12 h、1 d、3 d、5 d、7 d的静脉血HIF-1 α 与VEGF、Hsp70差异, 同时研究分析这三者与出血量之间的相关关系。结果: 大量组患者不同时间点HIF-1 α 与VEGF、Hsp70指标均明显高于同时间点其他两组患者, $P < 0.05$; 单因素方差分析HIF-1 α 与VEGF、Hsp70与患者出血量间关系, 均成正相关($r = 0.563$, $P < 0.05$; $r = 0.771$, $P < 0.05$; $r = 0.602$, $P < 0.05$)。结论: HIF-1 α 、VEGF、Hsp70在急性脑出血患者中表达较高, 在脑出血12 h后升高, 并随着脑出血的发展呈现动态表达, 且与出血量成正相关关系。

[关键词] 急性脑出血; 低氧诱导因子-1 α ; 血管生长因子; 热休克蛋白70

The study of HIF-1 α and VEGF, Hsp70 dynamics expression with acute cerebral hemorrhage patients

CEN Lixia, JIN Min, YUAN Rukang

(Department of Neurology, Guangji Hospital, Zhongshan Guangdong 528427, China)

Abstract **Objective:** To study hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) and vascular endothelial growth factor (VEGF), heat shock protein 70 (Hsp70) dynamics expression with acute cerebral hemorrhage patients. **Methods:** 35 acute cerebral hemorrhage patients in our emergency department from March 2014 to April 2015 were selected, divided the patients into small group, middle group, large group according to the amount of bleeding, determined and compared the difference of blood HIF-1 α and VEGF, Hsp70 of patients after the onset of 12 h, 1 d, 3 d, 5 d, 7 d, and analyzed the relationship among the bleeding amount between the three groups. **Results:** The HIF-1 α and VEGF, Hsp70 indicators of large group patients at different time were significantly higher than those at the same time in the other two groups, $P < 0.05$; ANOVA between HIF-1 α and VEGF, Hsp70 and the amount of bleeding in patients relationship, all positive related ($\beta = 0.012$, $P < 0.05$; $\beta = 0.146$, $P < 0.05$; $\beta = 0.943$, $P < 0.05$). **Conclusion:** HIF-1 α , VEGF, Hsp70 expression in acute cerebral hemorrhage patients were at a high stage, and at 12 h after cerebral hemorrhage increased, dynamic expressed with the development of cerebral

收稿日期 (Date of reception): 2016-04-06

通信作者 (Corresponding author): 岑丽霞, Email: ceilixia1982@163.com

hemorrhage presents, and positively related to the bleeding amount.

Keywords acute cerebral hemorrhage; hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α); vascular endothelial growth factor (VEGF); heat shock protein 70 (Hsp70)

急性脑出血是临床上一种十分常见的危害人体生命健康的多发病, 其多指机体颅脑实质内出血, 常伴有起病急、病情发展快、致死致残率高的临床特点。随着近年来对急性脑出血的不断研究^[1-2]发现, 急性脑出血患者致死致残不仅由于颅内血肿的占位效应及血肿周围脑组织的水肿, 同时由于颅内血管源性损伤致各种细胞因子、氧化自由基等释放造成严重脑损伤。近期, 随着对炎性介质、细胞因子的深入研究, 低氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor -1 α , HIF-1 α); 血管生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF); 热休克蛋白70(heat shock protein 70, HSP70)被广泛认为与急性脑出血相关。此次, 笔者重点研究分析急性脑出血患者血清HIF-1 α 与VEGF、Hsp70动态表达情况。现具体报道如下:

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2014年3月至2015年4月我院急诊收治的35例急性脑出血患者, 其中男20例, 女15例, 年龄43~76岁, 平均年龄(57.8 \pm 7.3)岁; 对照组健康志愿者25名, 年龄43~70岁, 平均年龄(55.8 \pm 7.4)岁。

1.2 入选标准及排除标准

35例观察组患者符合全国第四届脑血管学会制定的急性脑出血诊断标准^[3], 且均头颅CT确诊; 对照组健康志愿者均为同期我院健康体检者, 所有入选人员均排除肿瘤、免疫系统疾病、炎症感染、凝血功能障碍及心肺、肝肾重要脏器功能障碍等情况。两组人员均获得本人及其家属知情同意。

1.3 方法

1.3.1 出血量计算^[4]

利用公式: 出血量(mL)= $\pi/6 \times A \times B \times C$, A(cm)是指各血肿层面中最大的长度, B(cm)是与A同一平面的垂直最大径线长度, C(cm)是指血肿层面数; 并根据出血量分为小量、中量、大量3组, 小量组出血量<20 mL, 中量组出血量在20~30 mL之间, 大量组出血量>30 mL。

1.3.2 血清样本采集、测定

观察组患者在急性脑出血后12 h、1 d、3 d、5 d、7 d进行肘前静脉静处抽取3 mL左右的静脉血, 静置1 h候置于3 000 r/min的离心机内行10 min的离心, 收集上清液置于-80 $^{\circ}$ C环境下保存, 最后利用双抗体夹心ELISA法对所有入选人员进行血清HIF-1 α 与VEGF、Hsp70的测定; 所有对照组志愿者在入院后行一次空腹血清抽样检查。

1.4 统计学处理

应用SPSS16.0软件进行数据统计, 计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 形式表示, 并且采用 t 检验, 同时利用单因素方差分析对HIF-1 α 与VEGF、Hsp70与患者出血量间关系行相关关系分析, $P < 0.05$ 时表示数据差异显著, 数据差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 不同出血量患者血清 HIF-1 α 表达情况

根据出血量计算公式, 观察组35例患者中出血量小量组16例, 中量组11例, 大量组8例, 对照组35例, 统计各分组急性脑出血患者不同时间点的血清HIF-1 α 表达情况, 其中对照组志愿者入院后血清HIF-1 α 为(521.2 \pm 47.6) ng/mL, 而观察组不同亚组患者在出血3 d时达到峰值, 且不同时间点不同出血量患者间HIF-1 α 表达量不同, $P < 0.05$ 。详见表1。

2.2 不同出血量患者血清 VEGF 的表达情况

统计不同出血量分组急性脑出血患者不同时间点的血清VEGF表达情况, 发现对照组志愿者血清VEGF为(83.2 \pm 5.9) ng/mL, 不同出血量患者在出血7 d时达到峰值, 且不同时间点不同出血量患者间VEGF表达量不同, $P < 0.05$ 。详见表2。

2.3 不同出血量患者血清 Hsp70 的表达情况

统计不同出血量分组急性脑出血患者不同时间点的血清Hsp70表达情况, 发现对照组志愿者血清Hsp70为(6.4 \pm 0.7) ng/mL, 不同出血量患者在出血3 d时达到峰值, 且不同时间点不同出血量患者间Hsp70表达量不同, $P < 0.05$ 。详见表3。

表1 不同出血量患者血清HIF-1 α 表达情况(ng/mL)Table 1 Serum HIF-1 α expression of patients with different amount of bleeding (ng/mL)

时间	小量组(n=16)	中量组(n=11)	大量组(n=8)	P1	P2	P3
12 h	835.9 \pm 74.1	1 183.2 \pm 94.7	1 469.8 \pm 49.6	<0.01	<0.01	<0.01
1 d	948.6 \pm 96.7	1 411.5 \pm 167.9	1 750.3 \pm 193.4	<0.01	<0.01	<0.01
3 d	1 357.9 \pm 123.7	2 101.2 \pm 344.8	3 144.0 \pm 304.9	<0.01	<0.01	<0.01
5 d	1 213.6 \pm 117.9	1 879.9 \pm 324.0	2 670.1 \pm 199.6	<0.01	<0.01	<0.01
7 d	1 073.2 \pm 125.9	1 719.1 \pm 293.8	2 311.2 \pm 243.6	<0.01	<0.01	<0.01

P1代表小量组与中量组相比的P值; P2代表小量组与大量组相比的P值; P3代表中量组与大量组相比的P值。

P1 on behalf of small amount group compared with the middle amount group; P2 on behalf of small amount group compared with large amount group; P3 on behalf of middle amount group compared with large amount group.

表2 不同出血量患者血清VEGF的表达情况(ng/mL)

Table 2 Serum VEGF expression of patients with different amount bleeding (ng/mL)

时间	小量组(n=16)	中量组(n=11)	大量组(n=8)	P1	P2	P3
12 h	92.6 \pm 19.7	111.3 \pm 6.5	154.7 \pm 7.1	<0.01	<0.01	<0.01
1 d	124.2 \pm 33.3	139.1 \pm 11.3	189.3 \pm 21.9	>0.05	<0.01	<0.01
3 d	150.1 \pm 34.5	163.8 \pm 10.4	231.9 \pm 20.0	>0.05	<0.01	<0.01
5 d	172.1 \pm 35.1	196.2 \pm 23.4	265.3 \pm 23.7	>0.05	<0.01	<0.01
7 d	195.0 \pm 35.5	224.8 \pm 20.7	304.7 \pm 18.2	<0.01	<0.01	<0.01

P1代表小量组与中量组相比的P值; P2代表小量组与大量组相比的P值; P3代表中量组与大量组相比的P值。

P1 on behalf of small amount group compared with the middle amount group; P2 on behalf of small amount group compared with large amount group; P3 on behalf of middle amount group compared with large amount group.

表3 不同出血量患者血清Hsp70的表达情况(ng/mL)

Table 3 Serum Hsp70 expression of patients with different amount bleeding (ng/mL)

时间	小量组(n=16)	中量组(n=11)	大量组(n=8)	P1	P2	P3
12 h	9.1 \pm 1.0	13.4 \pm 0.9	17.1 \pm 1.8	<0.01	<0.01	<0.01
1 d	15.6 \pm 3.1	25.6 \pm 1.4	36.5 \pm 3.1	<0.01	<0.01	<0.01
3 d	26.4 \pm 3.3	36.5 \pm 2.7	48.9 \pm 4.5	<0.01	<0.01	<0.01
5 d	21.4 \pm 3.2	32.0 \pm 3.1	43.8 \pm 4.9	<0.01	<0.01	<0.01
7 d	13.2 \pm 2.1	22.4 \pm 1.1	33.9 \pm 3.4	<0.01	<0.01	<0.01

P1代表小量组与中量组相比的P值; P2代表小量组与大量组相比的P值; P3代表中量组与大量组相比的P值。

P1 on behalf of small amount group compared with the middle amount group; P2 on behalf of small amount group compared with large amount group; P3 on behalf of middle amount group compared with large amount group.

2.4 患者峰值 HIF-1 α 、VEGF、Hsp70 与出血量之间相关性

患者急性脑出血3 d时的HIF-1 α 、Hsp70与患者脑出血量成明显正相关($r=0.563$, $P<0.01$; $r=0.602$, $P<0.01$); 同时患者急性脑出血7 d时的Hsp70与出血量之间成明显正相关($r=0.771$, $P<0.01$)。

3 讨论

急性脑出血是临床的常见复杂疾病, 该疾病往往发病急, 预后差异性较大, 对患者的生命安全和生活质量造成较大的影响^[5]。HIF-1 α 、VEGF、Hsp70是目前临床上被较为普遍接受的与脑出血有关的检测指标, 且这些指标被广泛认为

在急性脑出血后脑损伤的保护中具有重要作用(但具体机制不明), 故探究其在急性脑出血过程中的动态表达及与相关关系显得具有十分重要的临床意义。

HIF-1 α 作为一种DNA结合蛋白中的特殊活性亚基, 其在全身缺氧、脑血管阻塞等情况下表达水平明显增高。有研究^[6-7]显示, 脑出血患者在血肿基底占位效应及凝血酶分解吸收血肿过程中, 可以引起血管调节功能异常及继发脑损伤最终导致HIF-1 α 的表达、释放增加。国内学者刘庆新等^[8]在其研究中发现, HIF-1 α 在脑出血4 h后开始表达增加, 于出血3 d左右达到峰值。我们此次试验结果显示, 不同出血量小组患者均在出血12 h即开始升高, 并在出血3 d时达到最高, 与上述结论相符。同时Zhu等^[9]发现, 出血量超过60 mL的HIF-1 α 表达阳性率明显高于出血量小于60 mL的脑出血患者, $P < 0.05$ 。我们通过对患者急性脑出血3 d时的HIF-1 α 表达情况与出血量情况进行相关分析, 发现其呈正相关关系($r = 0.563$, $P < 0.01$)。目前, HIF-1 α 脑缺氧缺血损伤保护中被认为主要是能调节细胞对缺氧环境的适应能力, 利用基因编码使红细胞增殖, 从而改善局部缺氧情况, 对脑组织产生保护作用。

VEGF是一种特殊提取的蛋白, 近期有研究^[10]指出, 脑出血患者8 h的VEGF蛋白表达明显增加, 且随着出血时间延长而相应增加。从我们此次的研究结果来看, 急性脑出血患者的VEGF在出血12 h后即开始增高, 在出血7 d时达到最高, 同时我们对其在脑出血7 d时的VEGF与患者脑出血量进行相关分析, 发现两者呈明显正相关关系($r = 0.771$, $P < 0.01$)。有学者^[11-12]指出, VEGF主要作用在于通过抑制细胞凋亡以保护神经血管, 而脑出血后患者已发生脑水肿, 引起血管性及细胞毒性脑水肿, 破坏血脑屏障从而致血清VEGF含量上升显著。VEGF且积极参与了机体神经血管的保护其不仅可抑制脑出血部位细胞的死亡, 同时通过神经元微导管对大脑的修复、重生产生重要作用, 此外, 其还可通过诱导内皮细胞利用轴索生成等提高神经元的存活最终达到保护脑组织的目的。

Hsp70可在因缺血、缺氧等情况造成脑损伤后表达增加, 在动物实验中, Hsp70在缺血区域内的血管和周边神经胶质细胞、神经元中表达明显, 其被认为是保护早期脑缺血的重要物质^[13-15]。从我们的研究结果来看, 急性脑出血患者在出血12 h后开始升高, 并在出血3 d时达到峰值, 同时我们对其在脑出血3 d时的Hsp70F与患者脑出血量

进行相关分析, 发现两者呈明显正相关($r = 0.602$, $P < 0.01$)。有文献^[16]称, Hsp70蛋白在大脑缺血缺氧后的损伤保护作用中主要与其抑制细胞色素Caspase-3的抗凋亡, 并能够清楚异常蛋白、内源性细胞毒性因子以及抑制机体内因缺氧、缺氧、内毒素所致的炎症反应有着十分密切的关系。

综述所述, HIF-1 α 、VEGF、Hsp70在急性脑出血患者中表达较高, 在脑出血12 h后升高, 并随着脑出血的发展呈现动态表达, 且与出血量成正相关关系, 故此类指标的升高可印证对临床上急性脑出血的怀疑, 并通过其指标值的高低对患者预后进行一定预测, 指导改进其临床治疗方案, 而且对临床利用一些药物降低此类指标或根据此类指标的作用机制研究出新的急性脑出血治疗方案具有重要引导意义。

参考文献

1. 刘玉杰, 张明辉, 孟庆鹏, 等. 急性脑出血患者血清VEGF变化意义[J]. 中国保健营养: 临床医学学刊, 2010, 19(8): 7-9.
LIU Yujie, ZHANG Minghui, MENG Qingpeng, et al. Acute cerebral hemorrhage patients with serum VEGF change meaning[J]. China Health Care & Nutrition: Clinical Studies Journal, 2010, 19(8): 7-9.
2. 刘文锋, 汤长发, 印大中, 等. 模拟不同海拔高住低练对大鼠心肌VEGF和HSP70的影响[J]. 中国运动医学杂志, 2012, 31(1): 42-47.
LIU Wenfeng, TANG Changfa, YIN Dazhong, et al. Effects of simulated living high-training low on the myocardial VEGF and Hsp70 of rats[J]. Chinese Journal of Sport Medicine, 2012, 31(1): 42-47.
3. Chen C, Ostrowski RP, Zhou C, et al. Suppression of hypoxia-inducible factor-1 α and its downstream genes reduces acute hyperglycemia-enhanced hemorrhagic transformation in a rat model of cerebral ischemia[J]. J Neurosci Res, 2010, 88(9): 2046-2055.
4. 李强, 王爱岳, 刘运生. HIF-1 α 在脑出血灶周的表达及其与脑水肿的关系[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2007, 12(3): 161-164.
LI Qiang, WANG AiYue, LIU Yunsheng. Expression of HIF-1 α after intracerebral hemorrhage and its correlation with brain edema[J]. Chinese Journal of Otorhinolaryngology-skull Base Surgery, 2007, 13(3): 161-164.
5. 刘娜, 徐树军, 任中秀, 等. 脑出血后血肿周围血管内皮生长因子的表达[J]. 中国血液流变学杂志, 2011, 21(1): 31-35.
LIU Na, XU Shujun, REN Zhongxiu, et al. The expression of VEGF in perihematoma with intracerebral hemorrhage in rat[J]. Chinese Journal of Hemorheology, 2011, 21(1): 31-35.
6. Oladipupo S, Hu S, Kovalski J, et al. VEGF is essential for hypoxia-inducible factor-mediated neovascularization but dispensable for

- endothelial sprouting[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011, 108(32): 13264-13269.
7. 王爱岳, 李强, 周治平, 等. HIF-1 α 、VEGF在高血压脑出血灶周的表达和意义[J]. 现代预防医学, 2012, 39(10): 2524-2528.
WANG Aiyue, LI Qiang, ZHOU Zhiping, et al. Study on the expressions of HIF-1 α and VEGF after hypertensive intracerebral hemorrhage[J]. Modern Preventive Medicine, 2012, 39(10): 2524-2528.
 8. 刘庆新, 陈金波, 朱玉红, 等. 缺氧诱导因子-1 α 在脑出血早期脑水肿形成中的作用[J]. 国际脑血管病杂志, 2008, 16(3): 181-184.
LIU Qingxin, CHEN Jinbo, ZHU Yuhong, et al. Effect of hypoxia-inducible factor-1 α on early formation of brain edema during intracerebral hemorrhage[J]. International Journal of Cerebrovascular Diseases, 2008, 16(3): 181-184.
 9. Zhu S, Tang Z, Guo S, et al. Experimental study on the expression of HIF-1 α and its relationship to apoptosis in tissues around cerebral bleeding loci[J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2004, 24(4): 373-375.
 10. Webb JD, Coleman ML, Pugh CW. Hypoxia, hypoxia-inducible factors (HIF), HIF hydroxylases and oxygen sensing[J]. Cell Mol Life Sci, 2009, 66(22): 3539-3554.
 11. 邹伟, 刘思妤, 韩海伟, 等. 百会透曲鬓对脑出血急性期大鼠血清中VEGF、ICAM-1含量的影响[J]. 上海针灸杂志, 2013, 32(11): 948-950.
ZOU Wei, LIU Siyu, HAN Haiwei, et al. Experimental study of the effect of Baihui-to-Qubin acupuncture on rat serum contents of VEGF and ICAM-1 in the acute stage of cerebral hemorrhage[J]. Shanghai Journal of Acupuncture and Moxibustion, 2013, 32(11): 948-950.
 12. 巩法桃, 周广喜. 脑出血后不同时期脑水肿的形成机制与治疗对策[J]. 国际脑血管病杂志, 2006, 14(10): 767-770.
GONG Fatao, ZHOU Guangxi. The formation mechanism and therapeutic strategy of brain edema in the different periods after intracerebral hemorrhage[J]. International Journal of Cerebrovascular Diseases, 2006, 14(10): 767-770.
 13. Plate KH, Scholz A, Dumont DJ. Tumor angiogenesis and anti-angiogenic therapy in malignant gliomas revisited[J]. Acta Neuropathol, 2012, 124(6): 763-775.
 14. Chu SH, Feng DF, Ma YB, et al. Expression of HGF and VEGF in the cerebral tissue of adult rats with chronic hydrocephalus after subarachnoid hemorrhage[J]. Mol Med Rep, 2011, 4(5): 785-791.
 15. 刘慧, 谢明. 基底节区脑出血患者血清VEGF和CRP水平及其临床意义[J]. 中国医学科学杂志, 2013, 41(3): 297-300.
LIU Hui, XIE Ming. Clinical significance and levels of serum VEGF and CRP in the patients with cerebral hemorrhage of the basal ganglia territory[J]. Medical Science Journal of Central South China, 2013, 41(3): 297-300.
 16. 陈茁, 鲁旭阳, 王俊雄, 等. 热休克蛋白70基因与缺氧损伤神经元凋亡的相关性研究进展[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2014, 16(5): 554-555.
CHEN Chen, LU Xuyang, WANG Junxiong, et al. Research progress on the relationship between heat shock protein 70 gene and hypoxia induced neuronal apoptosis[J]. Chinese Journal of Geriatric Heart Brain and Vessel Diseases, 2014, 16(5): 554-555.

本文引用: 岑丽霞, 靳敏, 袁汝康. 急性脑出血患者血清HIF-1 α 与VEGF、Hsp70动态表达情况研究[J]. 临床与病理杂志, 2016, 36(8): 1177-1181. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2016.08.025

Cite this article as: CEN Lixia, JIN Min, YUAN Rukang. The study of HIF-1 α and VEGF, Hsp70 dynamics expression with acute cerebral hemorrhage patients[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2016, 36(8): 1177-1181. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2016.08.025