

阿托伐他汀抑制急性脑梗死患者炎症反应与增强血管修复

谢 婧 魏有东

摘 要 **目的** 观察阿托伐他汀对急性脑梗死患者血清 VEGF、IL-1 β 和 TNF- α 的影响,探讨阿托伐他汀对急性脑梗死脑保护作用机制。**方法** 实验分为对照组和阿托伐他汀治疗组(低剂量组、高剂量组)。对照组和阿托伐他汀治疗组基础用药相同,阿托伐他汀治疗组选取治疗后 2 天、3 天、5 天、7 天、10 天、14 天作为观察点。神经功能缺损程度评分(neurological deficiency score, NDS)和日常生活能力评分(activity daily living, ADL)评定临床治疗效果,采用酶联免疫吸附法检测急性脑梗死患者 VEGF、IL-1 β 和 TNF- α 血清水平。**结果** 经过阿托伐他汀治疗后与对照组比较 NDS 和 ADL 评分显著增高($P < 0.05$)。经过阿托伐他汀治疗后 IL-1 β 和 TNF- α 血清水平均有不同程度下降,经过阿托伐他汀治疗后 VEGF 活性均有不同程度升高,低剂量组治疗 1 周后有明显变化($P < 0.05$),高剂量组治疗 3 天后明显变化($P < 0.01$)。**结论** 阿托伐他汀能降低急性脑梗死血清 IL-1 β 和 TNF- α 水平、增强 VEGF 活性,阿托伐他汀可以通过抑制急性脑梗死炎症反应和增强血管修复发挥脑保护作用。

关键词 急性脑梗死 阿托伐他汀 血管内皮生长因子 炎症

Atorvastatin Inhibits Inflammation and Increases Serum Level of VEGF in Acute Cerebral Infarct. Xie Jing, Wei Youdong. Department of Inner Medicine, Chongqing Red - Cross Hospital, Sichuan 400025, China

Abstract Objective To investigate the effect of atorvastatin influences on serum level of VEGF, IL-1 β and TNF- α in acute cerebral infarct patients, and to study neuroprotection mechanism of atorvastatin for acute cerebral infarct. **Methods** Acute cerebral infarct patients were divided into control group and atorvastatin treatment groups(low - dose group, high - dose group). The clinical measurement was introduced by Neurological deficiency score and Activity daily living. Serum level of IL-1 β , TNF- α and VEGF was measured by enzyme linked immunosorbent assay. **Results** After atorvastatin treatment, serum level of IL-1 β and TNF- α decreased and the expression of VEGF increased in acute cerebral infarct patients. These indicators changed significantly after one week treatment in Low - dose group ($P < 0.05$), after three day treatment in high - dose group ($P < 0.01$). **Conclusion** Atorvastatin can restrain the expression of IL-1 β and TNF- α and increase the expression of VEGF in acute cerebral infarct patients. Atorvastatin can enhance recovery of vascular cognitive impairment to protect neural function by restraining neuroinflammation.

Key words Acute cerebral infarct; Atorvastatin; Vascular endothelial growth factor; Inflammation

缺血性脑损伤是一个多因素、多机制、多环节的恶性级联过程,炎症反应、血管性危险因素参与了急性脑梗死的发生与发展^[1, 2]。他汀类药物,即 3-羟基-3-甲基戊二酸单酰辅酶 A (3-hydro-xy-3-methylglutaryl coenzyme A, HMG-CoA) 还原酶抑制剂,是一类强效降胆固醇药物,具有安全性高,耐受性好等优点,该类除能明显调节血脂外,能显著降低血液黏稠度,减轻急性出血性脑损伤的症状^[3, 4]。阿托伐他汀对急性脑梗死脑保护机制脑保护机制仍然不明确,所以,我们检测急性脑梗死患者血清血管修复因子血管内皮生长因子(vascular endo-

thelial growth factor, VEGF) 和炎症因子 IL-1 β 、TNF- α 水平,观察阿托伐他汀对其的影响,探讨阿托伐他汀对急性脑梗死的脑保护作用机制。

资料与方法

1. 研究对象:2005 年 10 月~2008 年 8 月急性脑梗死患者 103 例住院患者,男性 58 例,女性 55 例,年龄 18~75 岁,平均 59.9 岁。组间年龄和性别均无差异($P > 0.05$)。入选标准:符合颈内动脉系统急性脑梗死诊断标准^[5],发病在 72h 以内者;年龄在 18~75 岁,性别不限;临床用药前两天停用其他治疗或未做过治疗;NIH 评分 ≥ 5 分, ≤ 22 分。排除标准:经检查证实由颅内占位性病变,脑出血、外伤及眼病等引起者;年龄在 18 岁以下或 75 岁以上者;妊娠或哺乳期妇女;合并有心血管、肝肾严重原发疾病。肝功能(ALT、AST)超过正常的 1.5 倍;心肌酶超过正常范围内者;造血系统严重原发疾病;精神疾病患者;酒精依赖者;镇静药物依赖者。

作者单位:400025 重庆市红十字会医院内科(谢婧);400016 重庆医科大学附属第一医院神经内科(魏有东)

2. 方法:抽取患者清晨空腹肘静脉血,以检测血清 VEGF、IL-1 β 和 TNF- α 水平,室温放置 2h,以 2000r/min 离心 10min,提取血清 100 μ l,放置-70℃冰箱保存,用同一批号试剂测定。实验分为对照组和阿托伐他汀治疗组(低剂量组,10mg/d,T1 组;高剂量组,20mg/d,T2 组)。对照组和阿托伐他汀治疗组基础用药相同,阿托伐他汀治疗组选取治疗后 2 天、3 天、5 天、7 天、14 天作为观察点。神经功能缺损程度评分(neurological deficiency score, NDS)和日常生活能力评分(activity daily living, ADL)评定临床治疗效果。基础用药:拜阿斯匹林(100 毫克/片,生产企业:Bayer HealthCare AG,进口药品注册证号:H20050059,产品批号:20050302),丹参注射液(10 毫升/瓶,广东省博罗先锋药业集团有限公司生产,批准文号:国药准字 Z44021013,批号:050712);剂量与给药途径:拜阿斯匹林 100 毫克/片,口服,1 日 1 次;丹参注射液 20ml,加入 500ml 注射用生理盐水或 5% 葡萄糖溶液中混匀,静脉滴注,1 日 1 次,连续 14 天。酶联免疫法(ELISA)测定血清 IL-1 β 和 TNF- α 水平(VEGF、IL-1 β 和 TNF- α 试剂盒:上海西唐生物科技有限公司提供,美国 A&D 公司生产)。ELISA 操作步骤严格按照说明书进行。以标准品的浓度为横轴,OD 值为纵轴在半对数纸上做图,画出标准曲线;根据样品之 OD 值在该曲线上查出相应 VEGF、IL-1 β 和 TNF- α 含量。

3. 统计学处理:所有数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,全部数据采用 SPSS11.0 软件包进行统计学处理,同一组内不同时相点的比较采用 q 检验,两组之间同一时相点的比较采用单因素方差分析。组间年龄和性别均无差异($P>0.05$)。

结 果

1. 一般资料:C 组:30 例患者,年龄小于 30 岁者 2 例,30~40 岁者 4 例,45~55 岁 9 例,大于 55 岁 15 例,男性 16 例,女性 14 例。T1 组:36 例患者,年龄小于 30 岁者 3 例,30~40 岁者 5 例,45~55 岁 10 例,大于 55 岁 18 例,男性 19 例,女性 17 例。T2 组:37 例患者,年龄小于 30 岁者 3 例,30~40 岁者 4 例,45~55 岁 11 例,大于 55 岁 19 例,男性 19 例,女性 18 例。

2. 各组 NDS 和 ADL 评分:与 C 组比较,治疗 7 天后 T1 组 NDS 评分有不同程度降低,ADL 评分有不同程度增高($P<0.01$),治疗 5 天后 T2 组 NDS 评分有不同程度降低,ADL 评分有不同程度增高($P<0.01$)。与 T1 组比较,治疗 7 天后 T2 组 NDS 评分有不同程度降低,ADL 评分有不同程度增高($P<0.01$) (表 1 和表 2)。

表 1 各组 NDS 评分结果

组别	入院时	2 天	3 天	5 天	7 天	10 天
C	38.12 $\pm$ 1.32	38.14 $\pm$ 1.24	38.12 $\pm$ 1.31	37.41 $\pm$ 1.38	32.10 $\pm$ 1.45	27.18 $\pm$ 1.36
T1	38.22 $\pm$ 1.26	38.31 $\pm$ 1.28	38.26 $\pm$ 1.67	37.68 $\pm$ 1.23	30.60 $\pm$ 1.42 $\blacklozenge$	25.32 $\pm$ 1.28 $\blacklozenge$
T2	38.21 $\pm$ 1.12	38.60 $\pm$ 1.18	38.48 $\pm$ 1.28	36.45 $\pm$ 1.52 $\blacklozenge$	29.32 $\pm$ 1.18 $\blacklozenge\blacktriangle$	22.02 $\pm$ 1.22 $\blacklozenge\blacktriangle$

与对照组和 T1 比较, $\blacktriangle P<0.01$;与对照组比较, $\blacklozenge P<0.01$

表 2 各组 ADL 评分结果

组别	入院时	2 天	3 天	5 天	7 天	10 天
C	68.12 $\pm$ 3.32	68.14 $\pm$ 2.24	68.12 $\pm$ 2.31	68.41 $\pm$ 2.38	72.10 $\pm$ 2.45	78.18 $\pm$ 0.36
T1	68.24 $\pm$ 2.26	68.32 $\pm$ 2.28	68.26 $\pm$ 2.67	68.68 $\pm$ 2.23	77.60 $\pm$ 2.42 $\blacklozenge$	83.32 $\pm$ 2.28 $\blacklozenge$
T2	68.22 $\pm$ 2.42	66.60 $\pm$ 2.13	67.48 $\pm$ 2.28	71.45 $\pm$ 2.52 $\blacklozenge$	82.32 $\pm$ 2.18 $\blacklozenge\blacktriangle$	86.02 $\pm$ 2.22 $\blacklozenge\blacktriangle$

与对照组和 T1 比较, $\blacktriangle P<0.01$;与对照组比较, $\blacklozenge P<0.01$

3. 阿托伐他汀对急性脑梗死患者血清 VEGF、IL-1 β 和 TNF- α 水平的影响:与 C 组比较,治疗 5 天后 T1 组急性脑梗死患者血清 IL-1 β 、TNF- α 水平有显著降低($P<0.01$),治疗 2 天后 T2 组急性脑梗死患者血清 IL-1 β 、TNF- α 水平也显著降低($P<$

0.01)。与 C 组比较,治疗 5 天后 T1 组急性脑梗死患者血清 VEGF 水平有显著升高($P<0.01$),治疗 2 天后 T2 组急性脑梗死患者血清 VEGF 水平也显著升高($P<0.01$) (表 3~表 5)。

表 3 阿托伐他汀对急性脑梗死患者血清 IL-1 β (pg/ml) 水平的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	入院时	2 天	3 天	5 天	7 天	10 天
C	7.14 $\pm$ 0.35	7.12 $\pm$ 0.24	7.08 $\pm$ 0.31	6.41 $\pm$ 0.38	6.16 $\pm$ 0.45	5.18 $\pm$ 0.38
T1	7.12 $\pm$ 0.26	7.01 $\pm$ 0.28	6.96 $\pm$ 0.67	5.68 $\pm$ 0.23 $\blacklozenge$	5.60 $\pm$ 0.42 $\blacklozenge$	4.72 $\pm$ 0.28 $\blacklozenge$
T2	7.20 $\pm$ 0.32	6.50 $\pm$ 0.18 $\blacklozenge\blacktriangle$	6.48 $\pm$ 0.28 $\blacklozenge\blacktriangle$	5.45 $\pm$ 0.52 $\blacklozenge\blacktriangle$	4.32 $\pm$ 0.18 $\blacklozenge\blacktriangle$	4.02 $\pm$ 0.22 $\blacklozenge\blacktriangle$

与对照组和 T1 比较, $\blacktriangle P<0.01$;与对照组比较, $\blacklozenge P<0.01$

表 4 阿托伐他汀对急性脑梗死患者血清 TNF- α 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$) (pg/ml)

组别	入院时	2 天	3 天	5 天	7 天	10 天
C	22.52 $\pm$ 2.21	22.82 $\pm$ 2.05	21.27 $\pm$ 2.22	20.72 $\pm$ 2.14	18.27 $\pm$ 1.27	16.72 $\pm$ 2.14
T1	22.44 $\pm$ 2.25	21.50 $\pm$ 2.21	20.24 $\pm$ 2.21 [♦]	19.91 $\pm$ 2.62 [♦]	17.24 $\pm$ 1.26 [♦]	15.91 $\pm$ 2.16 [♦]
T2	22.23 $\pm$ 2.20	20.62 $\pm$ 2.25 [♦]	20.01 $\pm$ 3.23 ^{♦▲}	18.12 $\pm$ 3.20 ^{♦▲}	16.01 $\pm$ 2.22 ^{♦▲}	14.12 $\pm$ 2.20 ^{♦▲}

与对照组和 T1 比较, [▲] $P < 0.01$; 与对照组比较, [♦] $P < 0.01$

表 5 阿托伐他汀对急性脑梗死患者血清 VEGF 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$) (ng/L)

组别	入院时	2 天	3 天	5 天	7 天	10 天
C	20.02 $\pm$ 3.61	22.82 $\pm$ 3.05	22.27 $\pm$ 3.22	23.72 $\pm$ 3.14	24.27 $\pm$ 3.27	25.72 $\pm$ 3.14
T1	20.44 $\pm$ 3.25	22.50 $\pm$ 3.21	24.24 $\pm$ 3.21 [♦]	25.91 $\pm$ 3.62 [♦]	26.24 $\pm$ 3.26 [♦]	27.91 $\pm$ 3.16 [♦]
T2	20.23 $\pm$ 3.20	26.62 $\pm$ 3.25 [♦]	27.01 $\pm$ 3.23 ^{♦▲}	28.12 $\pm$ 3.20 ^{♦▲}	29.01 $\pm$ 3.22 ^{♦▲}	30.12 $\pm$ 3.20 ^{♦▲}

与对照组和 T1 比较, [▲] $P < 0.01$; 与对照组比较, [♦] $P < 0.01$

讨 论

炎症是缺血性脑组织损伤的主要因子。近年的研究表明炎症反应对脑组织的损伤与脑组织缺血和缺氧程度及再灌注密切相关。一般认为在完全性缺血缺氧时这种损伤程度较轻,在缺血再灌注时,由于炎症反应使损伤更加严重^[6,7]。所以抑制炎症反应可起到神经保护作用。其中炎症因子 IL-1 β 和 TNF- α 从中发挥了重要作用。我们实验通过酶联免疫法对急性脑梗死患者血清 IL-1 β 、TNF- α 含量升高。提示炎症反应参与了急性脑梗死的病理生理机制。经过阿托伐他汀治疗后 IL-1 β 、TNF- α 含量均有不同程度下降,且能明显改善急性脑梗死患者的神经缺损功能,提示阿托伐他汀通过对急性脑梗死患者抑制炎症反应效应发挥脑保护作用。

血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 又叫血管调素,是新近发现的一种生长因子,具有促内皮细胞分裂的作用,VEGF 可以促进血管的生长和侧支循环的建立。最近 VEGF 基因已克隆出来,有人应用重组 VEGF 给冠状动脉和下肢动脉闭塞的动物血管内持续灌注 14 天,证明可以促进血管的新生和侧支循环的建立,有效地防治心肌梗死和闭塞性血管病。VEGF 为动脉缺血性疾病的治疗提供了及其诱人的前景,因此把 VEGF 基因治疗称为“分子搭桥术”。局灶脑缺血的动物实验证实梗死后 3 天是最活跃的血管增生期,并可见明显的 VEGF 表达^[8,9],VEGF 作为脑缺血性损伤血管修复因子在脑缺血性疾病中的脑保护作用已被证实^[10]。经过阿托伐他汀治疗后 VEGF 含量均有不同程度升高,提示阿托伐他汀通过对急性脑梗死患者增强血管修复发挥脑保护作用。

本研究通过酶联免疫吸附法对急性脑梗死患者血清 VEGF、IL-1 β 和 TNF- α 检测显示:经过阿托伐他汀治疗后 VEGF 活性均有不同程度升高,IL-1 β 和 TNF- α 含量均有不同程度下降,表明阿托伐他汀

对急性脑梗死患者能有效促进 VEGF 的生物活性,降低血管性痴呆血清 IL-1 β 和 TNF- α 含量,提示阿托伐他汀可提高急性脑梗死患者抑制炎症反应和增强血管修复发挥脑保护作用。由于本组实验观察时间点少,观察时间短,对阿托伐他汀增高血清 VEGF 水平和降低 IL-1 β 和 TNF- α 水平的机制未进行充分研究。

参考文献

- Fagan SC, Hess DC, Machado LS, *et al.* Tactics for vascular protection after acute ischemic stroke. *Pharmacotherapy*, 2005, 25: 387 - 395
- Beridze MZ, Megrelishvili MK, Shakarishvili RR. [Dynamics of nitric oxide dependant oxidative stress in acute stage of ischemic stroke]. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova*, 2005; 58 - 62
- Cheng G, Wei L, Zhi - Dan S, *et al.* Atorvastatin ameliorates cerebral vasospasm and early brain injury after subarachnoid hemorrhage and inhibits caspase - dependent apoptosis pathway. *BMC Neurosci*, 2009, 10: 7
- Karam JG, Loney - Hutchinson L, McFarlane SI. High - dose atorvastatin after stroke or transient ischemic attack: The Stroke Prevention by Aggressive Reduction in Cholesterol Levels (SPARCL) Investigators. *J Cardimetab Syndr*, 2008, 3: 68 - 69
- 王新德. 各类脑血管疾病诊断要点. *中华神经科杂志*, 1996, 29: 379 - 380
- Potts MB, Koh SE, Whetstone WD, *et al.* Traumatic injury to the immature brain: inflammation, oxidative injury, and iron - mediated damage as potential therapeutic targets. *NeuroRx*, 2006, 3: 143 - 153
- De Luigi A, Fragiaco C, *et al.* Inflammatory markers in Alzheimer's disease and multi - infarct dementia. *Mech Ageing Dev*, 2001, 122 (16): 1985 - 1995
- Roberts WG, Palade GE. Increased microvascular permeability and endothelial fenestration induced by vascular endothelial growth factor [J]. *J Cell Sci*, 1995, 108 (Pt 6): 2369 - 2379
- Rafael H. Chronic brain ischemia and revascularization [J]. *J Neurosurg*, 2006, 105 (2): 339 - 340
- Wang YQ, Guo X, Qiu MH, *et al.* VEGF overexpression enhances striatal neurogenesis in brain of adult rat after a transient middle cerebral artery occlusion [J]. *J Neurosci Res*, 2007, 85 (1): 73 - 82

(收稿: 2009 - 12 - 24)