

## • 论著 •

## 丁苯酞对急性脑梗死患者疗效及 VEGF、BDNF、bFGF 水平的影响

刘凌云 汤永红

南华大学第二附属医院神经内科 湖南省衡阳市 421001

**摘要:** 目的 观察丁苯酞软胶囊治疗急性脑梗死 (ACI) 患者疗效及血清中 VEGF、BDNF、bFGF 水平变化。方法 选取符合标准 ACI 患者 80 例,随机分为 40 例治疗组(男性 21 例,女性 19 例)和 40 例对照组(男性 20 例,女性 20 例),对照组行常规药物治疗,治疗组在此基础上加用丁苯酞软胶囊。采用美国国立卫生研究院卒中量表 (NIHSS) 和日常生活活动能力评分量表 (ADL 量表) 评价疗效。采用酶联免疫分析法 (ELISA) 检测血清中 3 种因子的水平,比较两组患者治疗前后血清中 3 种因子水平变化。结果 治疗后两组患者血清中 3 种因子水平均较治疗前显著升高 ( $P < 0.01$ ),治疗组比对照组增高更明显 ( $P < 0.01$ )。两组治疗后 ADL 量表评分较治疗前显著增高 ( $P < 0.01$ ),治疗组比对照组增高更明显 ( $P < 0.01$ )。两组治疗后 NIHSS 评分较治疗前显著减少 ( $P < 0.01$ ),治疗组比对照组减少更明显 ( $P < 0.01$ )。结论 丁苯酞可提高 ACI 患者血清 BDNF、VEGF、bFGF 的表达,疗效优于常规药物且安全。

**关键词:** 急性脑梗死; 血管内皮生长因子; 脑源性神经营养因子; 碱性成纤维细胞生长因子; 丁苯酞

### Clinical efficacy of dl-3n-butylphthalide and its effect on VEGF, BDNF, and bFGF levels in patients with acute ischemic stroke

LIU Ling-Yun, TANG Yong-Hong. Department of Neurology, the Second Affiliated Hospital of University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China

**Abstract: Objective** To examine the clinical efficacy of dl-3n-butylphthalide (NBP) in patients with acute cerebral infarction (ACI) and associated changes in serum levels of vascular endothelial growth factor (VEGF), brain-derived neurotrophic factor (BDNF), and basic fibroblast growth factor (bFGF). **Methods** A total of 80 patients with ACI were randomly divided into control (20 females and 20 males) and treatment groups (19 females and 21 males). In the control group, patients received conventional medication; in the treatment group, patients received NBP (soft capsules) on the basis of conventional medication. The clinical efficacy of NBP was assessed using the National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) and Activities of Daily Living Scale (ADL). Serum VEGF, BDNF, and bFGF levels were measured by enzyme-linked immunosorbent assay, in order to examine relevant changes in the two groups of patients before and after treatment. **Results** Serum VEGF, BDNF, and bFGF levels were significantly higher in both groups of patients after treatment than before treatment ( $P < 0.01$ ), and the increase was higher in the treatment group than in the control group ( $P < 0.01$ ). Similarly, the ADL score was significantly higher after treatment than before treatment ( $P < 0.01$ ), and the increase was higher in the treatment group than in the control group ( $P < 0.01$ ). In contrast, the NIHSS score was significantly lower in both groups of patients after treatment than before treatment ( $P < 0.01$ ), and the decrease was higher in the treatment group than in the control group ( $P < 0.01$ ). **Conclusions** NBP can significantly increase serum VEGF, BDNF, and bFGF levels in patients with ACI. This drug is safe and it has better efficacy than conventional drugs.

**Key words:** acute ischemic stroke; vascular endothelial growth factor; brain-derived neurotrophic factor; basic fibroblast growth factor; dl-3n-butylphthalide

急性脑梗死 (acute cerebral infarction, ACI) 起病急, 发病率、致残率、病死率高, 严重威胁人们的健康及生命安全, 造成个人、家庭及国家的严重负担。ACI 一旦发生, 体内会发生一系列序贯性的生

收稿日期: 2014-07-15; 修回日期: 2014-10-08

作者简介: 刘凌云 (1989-), 女, 在读研究生, 主要从事脑血管病的相关研究。Email: 1614026179@qq.com。

通讯作者: 汤永红 (1962-), 男, 主任医师, 教授, 硕士生导师, 主要从事脑血管病及神经干细胞移植的相关研究。

理、病理反应, Marti 等<sup>[1]</sup>研究表明, 脑缺血缺氧后 24 h 内, VEGF 等神经营养因子( neurotrophic factors, NF) 大量应激性增殖, 随后内皮细胞开始大量在缺血半暗带区生成并向梗死区进展延伸。NF 由机体自身产生, 是神经元生长以及存活必需的一类肽类或蛋白质分子。对神经干细胞( neural stem cells, NSCs) 的存活、分化和功能维持都起到非常重要作用<sup>[2]</sup>。研究表明 NF 可被药物诱导表达, 进而调控内源性 NSCs 的增殖、分化及定向迁移。已经证实丁苯酞( dl-3-n-Butylphthalide, NBP) 可阻断 ACI 作用的多个病理环节, 修复缺损的神经功能, 保护神经组织, 是强有力的 ACI 治疗药物。此外, 李其富等<sup>[3]</sup>实验表明 NBP 可促进梗死的大鼠脑组织中 bFGF、VEGF 及其 mRNA 的表达。

本研究采用神经内科常规治疗加用丁苯酞对 ACI 患者进行治疗, 比较患者血清中血管内皮生长因子( vascular endothelial growth factor, VEGF)、脑源性神经营养因子( brain-derived neurotrophic factor, BDNF)、碱性成纤维细胞生长因子( basic fibroblast growth factor, bFGF) 含量治疗前后的变化、临床疗效以及不良反应, 探讨丁苯酞治疗 ACI 的疗效和恢复患者神经功能的可能机制。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

选择 2013 年 6 月至 2014 年 8 月在南华大学第二附属医院治疗的 ACI 患者 80 例, 按入院顺序随机分成 2 组: 对照组 40 例, 其中男性 20 例, 女性 20 例, 年龄 46 ~ 68 岁, 平均( 59.03 ± 7.37) 岁; 治疗组 40 例, 男性 21 例, 女性 19 例, 年龄 45 ~ 70 岁, 平均( 58.3 ± 7.69) 岁。两组患者性别、年龄、基础疾病、入院时 NIHSS、ADL 评分等一般资料差异无统计学意义(  $P > 0.05$  ), 具有可比性。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 纳入及排除标准

1.2.1.1 纳入标准 两组患者均满足中华医学会第四次脑血管病学术会议规定的脑梗死诊断标准, 均经头颅 CT、MRI( 超急性期加用 DWI) 检查确诊, 发病 72 h 内, 神志清楚, 生命体征稳定, 病情在发病 48 h 内无进展, 第一次发病, 偏身瘫痪, 吞咽功能正常。

1.2.1.2 排除标准 合并脑外伤、造血系统及严重精神疾病、脑出血、严重肝脏、肾脏、消化系统( 消化道溃疡等) 疾病、传染性疾病、肿瘤、自身免疫性疾病等。研究过程中再发脑梗死者。

### 1.2.2 治疗方法

1.2.2.1 对照组 给予常规治疗, 包括控制血压、血脂、血糖, 抗血小板聚集( 阿司匹林, 拜耳医药保健有限公司生产, 入院当天给予剂量 300 mg/次, 以后 100 mg/次, 每晚一次), 护脑( 胞磷胆碱钠胶囊, 齐鲁制药有限公司 0.2 g/次, 3 次/d), 脑水肿患者给予 20% 甘露醇或甘油果糖脱水治疗、维持水电解质平衡等。

1.2.2.2 治疗组 在对照组治疗基础上加用丁苯酞软胶囊( 商品名: 恩必普, 由石药集团恩必普药业有限公司生产) 0.2 g/次 3 次/d, 12 d 为一个疗程。

### 1.2.3 观测方法

1.2.3.1 血清 VEGF、BDNF、bFGF 含量测定 入选病例均于入院时及治疗后第 12 天清晨空腹肘静脉血 4 ml, 室温放置, 离心后, 保留上清液, 放于 -80℃ 低温冰箱中保存待检。应用双抗体夹心固相酶联免疫吸附实验对 VEGF、BDNF、bFGF 含量进行检测。

1.2.3.2 神经功能缺损程度评分 采用美国国立卫生研究院卒中量表( NIHSS) 对两组患者入院时及治疗 12 d 后神经功能缺损进行评分。

1.2.3.3 日常生活活动能力评分 采用日常生活活动能力评分量表( ADL 量表) 对两组患者入院时及治疗 12 d 后日常生活活动能力进行评分。

### 1.3 统计学处理

应用 SPSS 18.0 统计软件, 计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示, 使用  $t$  检验、 $\chi^2$  检验。  $P < 0.01$  说明差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组患者治疗前后血清 BDNF 的含量比较

两组患者治疗前后血清 BDNF 的含量比较, 治疗后两组患者 BDNF 的含量较治疗前均明显升高(  $P < 0.01$  ), 且治疗组较对照组升高程度更明显(  $P < 0.01$  )。见表 1。

表 1 两组患者血清 BDNF 含量比较 ( ng/ml;  $\bar{x} \pm s$ ;  $n = 40$  )

组别	治疗前	治疗后	升高程度
治疗组	3.96 ± 0.84	5.72 ± 0.48 <sup>1 2</sup>	1.90 ± 0.39 <sup>2</sup>
对照组	4.01 ± 0.70	4.62 ± 0.36 <sup>1</sup>	0.58 ± 0.52

注: 1 为组间治疗前后比较  $P < 0.01$ ; 2 为治疗组与对照组比较  $P < 0.01$ 。

### 2.2 两组患者治疗前后血清 VEGF 的含量比较

两组患者治疗前后血清 VEGF 的含量比较, 治疗后两组患者 VEGF 的含量较治疗前均明显升高(  $P < 0.01$  ), 且治疗组较对照组升高程度更明显

( $P < 0.01$ )。见表 2。

表 2 两组患者血清 VEGF 含量比较 (pg/ml;  $\bar{x} \pm s$ ;  $n=40$ )

组别	治疗前	治疗后	升高程度
治疗组	230.13 $\pm$ 60.20	517.29 $\pm$ 89.27 <sup>1 2</sup>	287.45 $\pm$ 56.38 <sup>2</sup>
对照组	236.60 $\pm$ 34.34	412.38 $\pm$ 36.35 <sup>1</sup>	168.35 $\pm$ 69.35

注:1 为组间治疗前后比较  $P < 0.01$ ;2 为治疗组与对照组比较  $P < 0.01$ 。

### 2.3 两组患者治疗前后血清 bFGF 的含量比较

两组患者治疗前后血清 bFGF 的含量比较,治疗后两组患者 bFGF 的含量较治疗前均明显升高 ( $P < 0.01$ ),且治疗组较对照组升高程度更明显 ( $P < 0.01$ )。见表 3。

表 3 两组患者血清 bFGF 含量比较 ( $\mu\text{g/ml}$ ;  $\bar{x} \pm s$ ;  $n=40$ )

组别	治疗前	治疗后	升高程度
治疗组	8.17 $\pm$ 1.91	14.67 $\pm$ 2.96 <sup>1 2</sup>	5.92 $\pm$ 1.06 <sup>2</sup>
对照组	7.94 $\pm$ 1.71	10.24 $\pm$ 3.08 <sup>1</sup>	3.23 $\pm$ 1.24

注:1 为组间治疗前后比较  $P < 0.01$ ;2 为治疗组与对照组比较  $P < 0.01$ 。

### 2.4 两组患者治疗前后日常生活活动能力评分比较

两组患者治疗前后日常生活活动能力评分比较,治疗后两组患者 ADL 评分较治疗前均明显升高 ( $P < 0.01$ ),且治疗组较对照组升高程度更明显 ( $P < 0.01$ )。见表 4。

表 4 两组治疗后日常生活活动能力评分比较 (分;  $\bar{x} \pm s$ ;  $n=40$ )

组别	治疗前	治疗后	升高程度
治疗组	30.6 $\pm$ 15.4	64.5 $\pm$ 15.3 <sup>1 2</sup>	30.28 $\pm$ 13.02 <sup>2</sup>
对照组	31.9 $\pm$ 15.6	53.8 $\pm$ 15.1 <sup>1</sup>	23.35 $\pm$ 13.64

注:1 为组间治疗前后比较  $P < 0.01$ ;2 为治疗组与对照组比较  $P < 0.01$ 。

### 2.5 两组患者治疗前后神经功能缺损程度评分比较

两组患者治疗前后神经功能缺损程度评分比较,治疗后两组患者 NIHSS 评分较治疗前均明显降低 ( $P < 0.01$ ),且治疗组较对照组降低程度更明显 ( $P < 0.01$ )。见表 5。

表 5 两组治疗后神经功能缺损评分比较 (分;  $\bar{x} \pm s$ ;  $n=40$ )

组别	治疗前	治疗后	降低程度
治疗组	6.12 $\pm$ 3.24	1.02 $\pm$ 2.56 <sup>1 2</sup>	4.88 $\pm$ 2.02 <sup>2</sup>
对照组	5.88 $\pm$ 3.39	3.65 $\pm$ 2.42 <sup>1</sup>	2.35 $\pm$ 2.20

注:1 为组间治疗前后比较  $P < 0.01$ ;2 为治疗组与对照组比较  $P < 0.01$ 。

### 2.6 不良反应观察

在治疗及随访中,治疗组患者 1 例出现轻微恶心想,1 例出现轻微皮疹,未予处理,症状自行消失。对照组患者 2 例治疗中出现头痛,减慢输液速度好

转。肝功能异常者治疗组 2 例,对照组 1 例,但 AST 及 ALT 增高均小于正常值的 2 倍,未予处理,1 月后复查肝功能恢复正常。其他指标(血常规、肾功能、电解质、凝血功能、心电图等)复查基本正常。采用  $\chi^2$  检验显示 2 组患者不良反应比较,差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

### 3 讨论

ACI 发病过程中细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  超载、兴奋性氨基酸的毒性作用、炎症反应、氧自由基破坏、细胞凋亡、能量耗竭等病理生理作用使机体经历了一系列的缺血级联反应,对神经组织的破坏性极大。与此同时,机体也在进行自我保护和神经系统的修复,脑内存在大量的内源性 NSCs 在 ACI 等急性应激时,促进 NF 的大量合成,反过来 NF 又可诱导内源性 NSCs 增殖、分化并定向迁移至受损部位<sup>[4-7]</sup>,形成一个良性循环。NF 不但可以减少神经变性,阻止机体神经功能的进一步损伤,对轴突的生长及再生也起到关键作用<sup>[8]</sup>。

BDNF、VEGF、bFGF 是 NF 家族中的重要成员,对 ACI 的治疗、神经元的再生、生长、增殖、分化以及神经系统发育起重要作用。研究表明 BDNF 在神经元再生,突触可塑性起重要作用<sup>[9]</sup>。VEGF 具有内皮细胞特性,是潜能的有丝分裂原,能促进内皮细胞的增殖与分化,可促进新生血管发生、受损血管恢复、侧枝循环建立,具有神经细胞亲嗜性。VEGF 能促进血管新生,挽救缺血周边区的组织,从根本上改善卒中预后<sup>[10]</sup>。bFGF 在脑组织中存在大量的靶细胞发挥强有力的营养神经作用,对神经系统损伤修复以及正常功能发挥起重要作用<sup>[11]</sup>。然而 BDNF、VEGF、bFGF 作用于 NSCs 的机制仍然不明,需要进一步深入研究。

BDNF、VEGF、bFGF 广泛分布于整个神经系统系统,3 种因子可作用于 ACI 病理过程中的各个方面,减少神经组织的进一步损伤,挽救缺血半暗带,促进神经元及轴突的修复、再生。BDNF 可阻止细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  超载、抗氧自由基、减少细胞凋亡、抑制炎症反应。

VEGF 能促进脑内血管生成,改善脑内微循环、减轻脑水肿、延长治疗的时间窗、改善血流供应挽救、缩小梗死面积。此外研究发现,携带 VEGF 的骨髓间充质干细胞可以向神经元样细胞定向诱导分化、刺激内源性神经干细胞的增殖、分泌神经营养因子和保护因子,从而促进脑梗死患者的感觉、认知和运动功能的恢复<sup>[12]</sup>。bFGF 可减少兴奋性氨基酸的释

放,此外也有抗氧自由基、抗细胞凋亡、促进血管形成作用。由此可见3种NF之间起着协同作用。Greenberg等<sup>[13]</sup>研究也进一步证明VEGF可促进脑血管修复、内源性NSCs的增殖,增强ACI疗效。

NBP主要药效成分为左旋芹菜甲素,可从芹菜籽中提取也可以人工合成,作为I类新药,NBP的优势在于其可阻断ACI中的系列病理损伤过程:促进大脑能量代谢、活血化瘀、减轻脑水肿,保护线粒体,抗血小板聚集、抗自由基损伤,减少氧化应激损伤、炎症反应及兴奋性氨基酸的释放、缩小脑梗死面积等<sup>[14-17]</sup>。并且根据研究发现,NBP还可增加脑部微血管数量、逆转脑血管结构<sup>[18]</sup>,NBP预处理对体外培养大鼠皮质神经元生长的保护作用<sup>[19]</sup>。因此NBP具有强大的抗脑缺血作用。

从作用机制来看NBP与BDNF、VEGF、bFGF对ACI的治疗有协同作用。BDNF、VEGF、bFGF对内源性NSCs的增殖、分化、迁移作用早已证实。而通过本观察显示,NBP治疗组较常规药物对照组患者血清中BDNF、VEGF、bFGF水平升高更显著,神经功能缺损评分减少更显著,日常生活活动能力提高更显著,进一步证实BDNF、VEGF、bFGF可促进神经系统功能恢复,修复缺损的神经功能,更表明NBP可诱导BDNF、VEGF、bFGF表达进而促进神经功能缺损程度的恢复,发挥神经系统保护作用,这可能是NBP促进ACI患者神经功能恢复的机制之一,但NBP通过何种途径影响血清VEGF、BDNF、bFGF含量,其机制则有待进一步深入研究。笔者认为,药物诱导BDNF、VEGF、bFGF等其他因子增殖,进一步诱导内源性NSCs存活、增殖、分化,将成为新的研究切入点。

#### 参 考 文 献

- [1] Marti HJ, Bernaudin M, Bellail A, et al. Hypoxia-induced vascular endothelial growth factor expression precedes neovascularization after cerebral ischemia. *AM J Pathol*, 2000, 156(3): 965-976.
- [2] Hu YE, Mao JH, Zhu Y, et al. Nerve growth factor pretreatment against glutamate-induced hippocampal neuronal injury: Action mechanism of phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10. *Neural Regen Res*, 2010, 5(1): 5-9.
- [3] 李其富,孔双艳,德吉曲宗,等. 丁基苯酞对大鼠局灶缺血脑组织VEGF及bFGF表达的影响. *四川大学学报(医学版)*, 2008, 39(1): 84-88.
- [4] Oliveira SL, Pillat MM, Cheffer A, et al. Functions of neurotrophins and growth factors in neurogenesis and brain repair. *Cytometry A*, 2013, 83(1): 76-89.
- [5] Jeong CH, Kim SM, Lim JY, et al. Mesenchymal Stem cells expressing brain-derived neurotrophic factor enhance endogenous neurogenesis in an ischemic stroke model. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 129-145.
- [6] 史学彤,李青. 外源性bFGF、VEGF对大鼠脊髓损伤后内源性神经干细胞增殖分化影响的实验研究. *贵州医药*, 2013, 37(1): 3-7.
- [7] White RE, Rao M, Gensel JC, et al. Transforming growth factor  $\alpha$  transforms astrocytes to a growth-supportive phenotype after spinal cord injury. *J Neurosci*, 2011, 31(42): 15173-15187.
- [8] Park JW, Kang YD, Kim JS, et al. 3D microenvironment of collagen hydrogel enhances the release of neurotrophic factors from human umbilical cord blood cells and stimulates the neurite outgrowth of human neural precursor cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 447(3): 400-406.
- [9] Rothman SM, Griffioen KJ, Wan R, et al. Brain-derived neurotrophic factor as a regulator of systemic and brain energy metabolism and cardiovascular health. *Ann N Y Acad Sci*, 2012, 1264(1): 49-63.
- [10] 黄娟娟,李龙宣. 脑缺血后脑内血管新生机制. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2014, 41(2): 134-137.
- [11] Chen SQ, Cai Q, Shen YY, et al. Combined use of NGF/BDNF/bFGF promotes proliferation and differentiation of neural stem cells in vitro. *Int J Dev Neuroscience*, 2014, 38: 74-78.
- [12] 张锋,胡昌龙,陈波,等. Ad-VEGF-骨髓间充质干细胞移植在脑梗死治疗中的作用. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2013, 40(5-6): 443-445.
- [13] Greenberg DA, Jin K. Vascular endothelial growth factors (VEGFs) and stroke. *Cell Mol Life Sci*, 2013, 70(10): 1753-1761.
- [14] Li J, Li Y, Ogle M, et al. DL-3-n-butylphthalide prevents neuronal cell death after focal cerebral ischemia in mice via the JNK pathway. *Brain Res*, 2010, 1359: 216-226.
- [15] Zhang T, Jia W, Sun X. 3-n-butylphthalide (NBP) reduce apoptosis and enhances vascular endothelial growth factor (VEGF) up-regulation in diabetic rats. *Neurol Res*, 2010, 32(4): 390-396.
- [16] Huang JZ, Chen YZ, Su M. dl-3-n-butylphthalide prevents oxidative damage and reduces mitochondrial dysfunction in an MPP<sup>+</sup>-induced cellular model of Parkinson's disease. *Neurosci Lett*, 2010, 475(2): 89-94.
- [17] 赵嘉,李玲,裴中,等. 丁苯酞对缺血性脑损伤作用的细胞靶点研究. *中国卒中杂志*, 2010, 5(2): 119-125.
- [18] 鄢学芬,詹瑾,黄叶宁,等. 丁苯酞的药理作用与临床评价. *中国医院药学杂志*, 2008, 28(12): 1498-1500.
- [19] 樊哲铭. 丁苯酞预处理对体外培养大鼠皮质神经元生长的保护作用. *中国实用神经疾病杂志*, 2014, 17(15): 37-38.