

· 全科医学论著 ·

急性脑梗死患者血清 VEGF、PEDF 表达及其比值的变化和临床意义

金岗生¹, 卢一², 冯炯¹, 陈衍¹, 胡浩宇¹, 徐宾¹, 郑水红¹, 金姬³

1. 浙江中医药大学附属金华市中医医院神经内科, 浙江 金华 321000;

2. 上海交通大学医学院附属上海市第一人民医院眼科, 上海 200080;

3. 浙江大学医学院附属儿童医院眼科, 浙江 杭州 310052

摘要:目的 探讨急性脑梗死患者血清中血管内皮生长因子(VEGF)、色素上皮衍生因子(PEDF)的表达以及其比值的动态变化,并探讨其临床意义。方法 采用前瞻性对照实验的研究方法分为脑梗死组和正常对照组,对新诊断的41例急性脑梗死患者入院第1、3、7、14、28天应用双抗体夹心酶联免疫吸附分析法(ELISA)检测血清 PEDF、VEGF 浓度并计算 VEGF/PEDF 的比值变化,健康体检者作为正常对照组。结果 急性脑梗死患者血清 VEGF 浓度随病程逐渐增高,第7天达到最高浓度(214.72±55.95)ng/L,与对照组比较,差异有统计学意义($t=2.439, P<0.05$)。而急性脑梗死组血清 PEDF 浓度在入院后第1天最低(28.77±8.60)ng/L,与对照组比较差异有统计学意义($t=2.063, P<0.05$),随病程时间延长逐渐提高,第14天接近健康人正常水平。急性脑梗死组患者发病第1、3、7天血清 VEGF/PEDF 比值分别为 7.48±1.98、7.86±2.83、7.39±2.18,均高于对照组 5.93±1.99,差异有统计学意义(分别 $t=3.63, P<0.001; t=3.68, P<0.001; t=3.24, P<0.01$)。结论 VEGF/PEDF 比值可以作为诊断急性脑梗死的一个检测指标,血清 VEGF、PEDF 浓度及其比值变化在急性脑梗死患者发病过程中有重要临床意义。

关键词:色素上皮衍生因子;血管内皮生长因子;酶联免疫分析;急性脑梗死

中图分类号: R743.3 R446.61 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-4152(2017)01-0007-03

DOI: 10.16766/j.cnki.issn.1674-4152.2017.01.002

Changes and significance of serum VEGF, PEDF, VEGF/PEDF ratio in acute ischemic stroke patients JIN Gang-sheng, LU Yi, FENG Jiong, et al. Department of Neurology, Jinhua City Hospital of Traditional Chinese Medicine, Jinhua, Zhejiang 321000, China

Abstract: Objective To investigate the changes of serum vascular endothelial growth factor (VEGF), pigment epithelium-derived factor (PEDF) and VEGF/PEDF ratio in patients with acute ischemic stroke, and to evaluate their effects and possible clinical application in diagnosis and treatment of acute ischemic stroke. **Methods** Total 41 patients with acute ischemic stroke were included in our study, with 45 healthy adults as control. The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the expression of PEDF and VEGF in sera of days 1, 3, 7, 14 and 28 after the subjects were hospitalized. **Results** The VEGF expression in patients' sera increased during the 28-day-long observation after hospitalization. It reached to its peak at day 7 post-stroke (214.72±55.95) ng/L, which was significantly increased when compared to the control group ($t=2.439, P<0.05$). Meanwhile, the PEDF expression in patients' sera was significantly lower than the control group at the day hospitalized [(28.77±8.60) ng/L, (34.63±16.21) ng/L, respectively; $t=2.063, P<0.05$]. After, the expression level of PEDF in patients' sera increased gradually, and reached to a relatively high level at post-stroke day 14. There was no significant difference of serum VEGF and PEDF between the patients and control groups at other time points detected than the days 1 and 7 after hospitalization ($P>0.05$). The ratios of serum VEGF/PEDF in patients group were 7.48±1.98, 7.86±2.83, 7.39±2.18 at days 1, 3, 7, 14 and 28 after acute ischemic stroke. The VEGF/PEDF ratios of all time points detected other than day 28 were higher than the control group (5.93±1.99). The statistical analysis showed that from post-stroke day 1 to day 7, the serum VEGF/PEDF ratio was significantly higher than the control group ($t=3.63, P<0.001; t=3.68, P<0.001; t=3.24, P<0.01$; respectively), while no significant difference was found between two groups for post-stroke day 14 and 28 ($P>0.05$). **Conclusion** VEGF/PEDF ratio could be served as a diagnostic marker of acute ischemic stroke, serum VEGF, PEDF and VEGF/PEDF ratio might play an important role in the pathological process of acute ischemic stroke.

Key words: Pigment epithelium-derived factor; Vascular endothelial growth factor; Enzyme-linked immunosorbent assay; Acute cerebral infraction

脑梗死是指由于脑部血液供应障碍、缺血、缺氧引

起的局限性脑组织的缺血性坏死或脑软化,脑梗死是致残、致死率、复发率极高的疾病,5年内平均复发率在30%左右^[1-2]。最近的研究发现,在缺血中心坏死灶的周围,存在着相对缺血区域,称缺血性半暗带,这个区域内的神经元经过数天潜伏期后,会出现一些神经元死亡,称之为“迟发性神经元损伤(DND)”^[3]。目

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81070704/H1201, 81270973/H1201);2011年度浙江省金华市科学技术研究计划(重点)(2011-3-015)

通信作者:金姬, E-mail: jinji2@sina.com.cn

前,对于急性脑梗死患者,延长缺血区神经细胞的存活时间(即对脑梗死半暗带区域的保护),尽快恢复缺血区的血氧供应,是其临床治疗的主要研究方向。血管内皮生长因子(VEGF),也称血管通透性因子或血管调理素,是一种特异作用于血管内皮细胞的强有力的多功能细胞因子,主要由平滑肌细胞和垂体滤泡星状细胞产生和分泌,VEGF可促使血管内皮细胞分裂、增生,增加血管通透性并促使新生血管生成^[4]。近年来,许多研究报道VEGF在缺血性脑卒中患者组织中的表达及其与血管发生有着密切的关系^[5]。色素上皮衍生因子(pigment epithelium-derived factor, PEDF)是近年来发现的体内天然存在的神经营养因子,能够抑制新生血管形成,减轻炎症反应,与VEGF等一起调控新生血管的发生过程^[6-7]。为探讨PEDF及VEGF与急性脑梗死之间的关系,本研究通过检测急性脑梗死患者血清中PEDF及VEGF浓度的动态表达及其比值的变化,为临床诊断和治疗急性脑梗死提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 临床资料 本研究取得本院医学伦理委员会同意后,采用前瞻性对照实验的研究方法,分为脑梗死组和正常组,脑梗死组为本院神经内科新诊断为急性脑梗死的初诊的住院病例,共41例,男性20例,女性21例,最大82岁,最小40岁,平均(56.70±16.21)岁。正常对照组为健康体检者,共45人,男性22人,女性23人,最大86岁,最小41岁,平均(57.30±17.57)岁。2组研究对象的年龄、性别等基线资料差异无统计学意义($P>0.05$)。急性脑梗死病例纳入标准:所有患者均经头颅CT或MRI确诊,诊断符合全国第四届脑血管病学术会议第三次修订的缺血性脑血管病诊断标准。所有患者签署了知情同意书,入院前无感染史及心、肾、肝、肿瘤病史,且排除血脂异常。所有急性脑梗死患者发病当天抽血后开始常规药物治疗(阿司匹林肠溶片0.1g,1次/d,阿托伐他汀钙片20mg每日1次,依达拉奉30mg静脉输液,2次/d,丁苯酞0.2g,3次/d)。

1.2 检测方法 全部急性脑梗死患者入院第1、3、7、14、28天各抽空腹肘静脉血2ml一次,对照组体检时抽1次,所有标本均室温放置30min,分离血清,-70℃储存待测。采用双抗体夹心ELISA法检测血清VEGF和PEDF浓度,试剂盒由上海安妍生物有限公司提供,检测步骤严格按照说明书操作。

1.3 统计学方法 所有数据均采用SPSS 17.0统计软件进行分析,计量数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组均数比较采用单因素方差分析,2组间比较采用 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2组患者血清VEGF浓度测定 急性脑梗死组患者发病第1、3、7、14、28天血VEGF浓度分别为(203.15±47.30)ng/L、(206.41±49.76)ng/L、(214.72±55.95)ng/L、(203.80±42.36)ng/L、(188.34±42.82)ng/L。均高于对照组健康体检者(185.97±53.36)ng/L。急性脑梗死组患者血VEGF浓度随病程逐渐增加,第7天血VEGF浓度最高($t=2.439, P<0.05$),第7天达到高峰后开始下降,第28天降至接近正常对照组水平,见表1。

2.2 2组患者血清PEDF浓度测定 急性脑梗死组患者发病当天、第3、7、14、28天血PEDF浓度分别为(28.77±8.60)ng/L、(29.04±9.50)ng/L、(30.07±8.47)ng/L、(33.70±7.89)ng/L、(33.91±9.41)ng/L。与对照组健康体检者(34.63±16.21)ng/L比较,均低于后者。经统计学处理,急性脑梗死组患者发病第1天血清PEDF浓度立即显著降低($t=2.063, P<0.05$),其他时间点与对照组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。急性脑梗死组患者血PEDF浓度立即降低,然后随病程逐渐增加,第14天达到较高水平,然后缓慢增加至接近正常对照组水平,见表1。

2.3 2组患者血清VEGF/PEDF比值测定 急性脑梗死组患者发病当天、第3、7、28天血VEGF/PEDF比值分别为7.48±1.98、7.86±2.83、7.39±2.18。与对照组健康体检者(5.93±1.99)比较,均高于后者(第28天的除外),急性脑梗死组患者发病第1、3、7天血清VEGF/PEDF比值立即显著增高($t=3.63, P<0.001$; $t=3.68, P<0.001$; $t=3.24, P<0.01$),与对照组比较差异有统计学意义,第14、28天与对照组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。急性脑梗死组患者血清VEGF/PEDF比值发病时立即升高,持续7d,然后逐渐降低,缓慢接近正常对照组水平,见表1。

表1 急性脑梗死组不同病程血VEGF、PEDF表达水平及其比值比较($\bar{x}\pm s, \text{ng/L}$)

组别	时间	例数	VEGF(ng/L)	PEDF(ng/L)	VEGF/PEDF
脑梗死组	第1天	41	203.15±47.30	28.77±8.60 ^b	7.48±1.98 ^c
	第3天	41	206.41±49.76	29.04±9.50	7.86±2.83 ^c
	第7天	41	214.72±55.95 ^a	30.07±8.47	7.39±2.18 ^b
	第14天	31	203.80±42.36	33.70±7.89	6.20±1.14
	第28天	30	188.34±42.82	33.91±9.41	5.78±1.19
正常对照组		45	185.97±53.36	34.63±16.21	5.93±1.99

注:与正常对照组比较,^a $P<0.05$,^b $P<0.01$,^c $P<0.001$;第14天和第28天因时间间隔长,有患者未来抽血,脱漏。

3 讨论

脑梗死是由于脑组织的微循环障碍导致脑组织缺血缺氧,VEGF普遍存在于中枢神经系统内,缺血缺氧能诱导组织VEGF表达,VEGF与血管内皮细胞上的VEGF受体结合,诱导各种血管活性因子产生,调控血

管新生、组织和血管的重构,促进血管发育和刺激侧支血管的形成^[8-9]。本研究对41例急性脑梗死患者血清VEGF浓度动态观察发现,患者发病当天,第3、7天血清VEGF浓度逐渐增高,第7天达高峰后开始下降,但仍维持在较高水平,第28天接近正常对照组水平,这与国内的文献报道基本吻合^[10]。急性脑梗死引起机体对VEGF表达上调,从而在新生血管形成过程中发挥重要作用,对改善脑组织供血供氧、减少对脑组织的损伤具有重要的意义,也是机体的一种重要的代偿和保护机制。因此,有学者提出^[11]用VEGF基因治疗脑梗死。然而,VEGF治疗会增加血管通透性,引起血管性水肿,促使“脑梗死半暗带区”扩大,加重继发脑损害,而且VEGF还能促进异常血管生长、细胞增殖,故VEGF基因治疗脑梗死还需要进一步研究。

色素上皮细胞衍生因子(PEDF),是丝氨酸蛋白酶家族成员,分子量为46 kD,现已能从人和鼠中克隆和纯化,并且在正常人血浆、脑组织中存在,是一种神经营养因子。有研究发现PEDF对脑神经元起营养作用和促进生存作用,还能有效保护神经元免受快速神经毒性侵害(如谷氨酸毒性),PEDF“胶质细胞静息”效应和神经元存活及减轻炎症反应等特性会对许多中枢神经疾病(包括脑梗死)的治疗有益^[12-13]。此外,PEDF能够抑制新生血管生长,具有特异性和高效性,只作用于缺血区的血管内皮细胞,能够抑制血管生成刺激因子引起的血管内皮细胞的增殖和移动,而对正常组织的血管内皮细胞无明显的抑制作用,抑制血管生成的作用强于其他血管抑制剂^[14]。本研究急性脑梗死组患者发病时血PEDF浓度立即降低,然后逐渐增加,第14天达到较高水平,然后缓慢增加至接近正常对照组水平。说明脑梗死引起的缺血缺氧对PEDF的表达有强烈的下调作用,提示我们在急性脑梗死发病的第一时间内补充PEDF或许能最大限度减少脑梗死所造成的脑损害,可以治疗脑梗死等中枢神经疾病。

目前动物实验已证实VEGF和PEDF的比例失衡与缺血诱导的视网膜新生血管以及角膜新生血管的发生发展有关^[15],局灶脑缺血模型鼠缺血侧海马区的VEGF及PEDF表达大量增多,正常对照组只有极少量VEGF及PEDF的阳性表达,比较差异有统计学意义^[16]。目前已经证实血管内皮生长因子与色素上皮衍生因子之间的不平衡的表达对缺血侧脑组织血管新生起着重要调节作用,故而,我们对本组脑梗死病例VEGF/PEDF比值变化进行了观察,研究表明虽然急性脑梗死患者发病后不同时间的血清VEGF和PEDF水平变化不一致,但VEGF/PEDF比值在发病后的前7d保持高值状态,与正常组比较,差异有统计学意义,说

明急性脑梗死能引起机体VEGF/PEDF比值快速提高并维持7d左右的时间。因此,我们推断VEGF/PEDF比值可以作为诊断急性脑梗死的一个检测指标,对可能发生脑梗死的高危人群进行VEGF/PEDF比值的动态监测,有助于临床医师监测脑梗死的发生、发展及转归,对临床工作具有一定的指导意义。

参考文献

- [1] 江飞飞,林海燕,丁关萍.急性脑梗死患者血小板超微结构及相关参数变化的研究[J].浙江医学,2016,38(2):126-127.
- [2] 邵大荣,孟治木,武华,等.MTHFR C677T与缺血(出血)性脑卒中风险相关性评估[J].安徽医学,2016,37(4):393-397.
- [3] Heiss WD. The ischemic penumbra; how does tissue injury evolve? [J]. Ann N Y Acad Sci,2012,1268(2):26-34.
- [4] Glen C, Jickling, Bradley P, Ander, Xinhua Zhan, et al. microRNA Expression in Peripheral Blood Cells following Acute Ischemic Stroke and Their Predicted Gene Targets[J]. Plos One,2014,9(6):e99283.
- [5] Jian-hai Guo, Xu Zhu, Xiao-ting Li, et al. Impact of Serum Vascular Endothelial Growth Factor on Prognosis in Patients with Unresectable Hepatocellular Carcinoma after Transarterial Chemoembolization [J]. Chin J Cancer Res,2012,24(1):36-43.
- [6] ChaVan S, Hudson LK, Li JH, et al. Identification of pigment epithelium-derived factor as an adipocyte derived inflammatory factor[J]. Mol Med,2012,18(5):1161-1168.
- [7] Hong H, Zhou T, Fang S, et al. Pigment epithelium-derived factor (PEDF) inhibits breast cancer metastasis by down-regulating fibronectin[J]. Breast Cancer Research & Treatment,2014,148(1):61-72.
- [8] Emerich DF, Silva E, Ali O, et al. Injectable VEGF hydrogels produce near complete neurological and anatomical protection following cerebral ischemia in rats[J]. Cell Transplant,2010,19(9):1063-1071.
- [9] Matsuo R, Ago T, Kamouchi M, et al. Clinical significance of plasma VEGF value in ischemic stroke-research for biomarkers in ischemic stroke (REBIOS) study[J]. BMC Neurology,2013,13(1):1-8.
- [10] 官俏兵,张晓玲,王琰萍,等.血清血管生长因子浓度变化与急性脑梗死后神经功能康复的关系[J].实用医学杂志,2013,29(5):726-728.
- [11] Giacca M, Zacchigna S. VEGF gene therapy: therapeutic angiogenesis in the clinic and beyond[J]. Gene Ther,2012,19(6):622-629.
- [12] Yamagishi S, Adachi H, Abe A, et al. Elevated serum levels of pigment epithelium-derived factor in the metabolic syndrome [J]. Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism,2013,91(6):2447-2450.
- [13] Chuderland D, Benami I, Kaplankraicer R, et al. The role of pigment epithelium-derived factor in the pathophysiology and treatment of ovarian hyperstimulation syndrome in mice [J]. Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism,2013,98(2):258-266.
- [14] Ji D, Li M, Zhan T, et al. Prognostic role of serum AZGP1, PEDF and PRDX2 in colorectal cancer patients [J]. Carcinogenesis,2013,34(6):1265-1272.
- [15] Kampfer C, Saller S, Windschüttl S, et al. Pigment-Epithelium Derived Factor (PEDF) and the human ovary: A role in the generation of ROS in granulosa cells [J]. Life Sciences,2014,97(2):129-136.