

## 阿替普酶联合胞磷胆碱对急性脑梗死患者凋亡因子及血清 miR-124、miR-21 的随机对照研究

邵帅, 滕跃华, 王倩

辽阳市中心医院神经内四科, 辽宁 辽阳 111000

**摘要:**目的 探讨阿替普酶联合胞磷胆碱治疗急性脑梗死(AIS)的临床效果。方法 选取2018年3月—2020年5月该院 AIS 患者124例进行前瞻性随机对照研究,以随机数字表分为观察组(62例)和对照组(62例)。常规治疗基础上,对照组予以阿替普酶,观察组予以阿替普酶联合胞磷胆碱,均治疗2周。对比两组疗效、不良反应与治疗前、治疗2周后美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)评分、血清细胞凋亡有关因子[可溶性凋亡相关因子配体(sFasL)、可溶性凋亡相关因子(sFas)、B淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)]、miR-124、miR-21水平。结果 观察组总有效率为91.94%(57/62),对照组为77.42%(48/62),两组比较,差异具有统计学意义( $P<0.05$ );两组治疗期间不良反应发生率比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。治疗2周后,两组NIHSS评分均降低,观察组低于对照组( $P<0.05$ )。治疗2周后,两组血清sFasL、sFas水平均降低,观察组低于对照组( $P<0.05$ );Bcl-2水平均提高,观察组高于对照组( $P<0.05$ )。治疗2周后,两组血清miR-124、miR-21水平均降低,观察组降低幅度高于对照组( $P<0.05$ )。结论 阿替普酶联合胞磷胆碱治疗AIS临床疗效显著,可能通过调控凋亡因子、miR-124、miR-21表达减轻脑损伤,使患者神经功能明显改善。

[国际神经病学神经外科学杂志, 2021, 48(2): 138-142]

**关键词:**急性脑梗死;阿替普酶;胞磷胆碱;神经功能;凋亡因子;miR-124;miR-21

中图分类号:R743.33

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.1673-2642.2021.02.008

## Effect of alteplase combined with citicoline on apoptotic factors and serum levels of miR-124 and miR-21 in patients with acute ischemic stroke: A randomized controlled trial

SHAO Shuai, TENG Yue-Hua, WANG Qian

Department of Neurology, Central Hospital of Liaoyang, Liaoyang, Liaoning 111000, China

Corresponding author: SHAO Shuai, Email: shhaf3@163.com

**Abstract:** **Objective** To investigate the clinical effect of alteplase combined with citicoline in the treatment of acute ischemic stroke (AIS). **Methods** A total of 124 patients with AIS in our hospital from March 2018 to May 2020 were enrolled in a prospective randomized controlled trial, and they were divided into observation group and control group using a random number table, with 62 patients in each group. In addition to conventional treatment, the patients in the control group were given alteplase, and those in the observation group were given alteplase combined with citicoline; the course of treatment was 2 weeks for both groups. The two groups were compared in terms of clinical outcome and adverse reactions, as well as National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) score and serum levels of apoptosis-related factors [soluble Fas ligand (sFasL), soluble Fas (sFas), and B-cell lymphoma-2 (Bcl-2)], miR-124, and miR-21 before treatment and after 2 weeks of treatment. **Results** The observation group had a significantly higher overall response rate than the control group [91.94% (57/62) vs 77.42% (48/62),  $P<0.05$ ], while there were no significant differences between the two groups in the incidence rates of adverse reactions during treatment ( $P>0.05$ ). Both groups had a reduction in NIHSS score after 2 weeks of treatment, and the observation group had a significantly lower score than the control group ( $P<0.05$ ). After 2 weeks of

收稿日期:2020-09-28;修回日期:2020-12-06

作者简介:邵帅(1983-),女,硕士研究生,副主任医师,研究方向:神经病学。Email:shhaf3@163.com。

treatment, both groups had reductions in the serum levels of sFasL and sFas, and the observation group had significantly lower levels than the control group ( $P<0.05$ ); both groups had an increase in the level of Bcl-2, and the observation group had a significantly higher level than the control group ( $P<0.05$ ). After 2 weeks of treatment, both groups had reductions in the serum levels of miR-124 and miR-21, and compared with the control group, the observation group had significantly greater reductions ( $P<0.05$ ). **Conclusions** Alteplase combined with citicoline has a marked clinical effect in the treatment of AIS and can alleviate brain injury and improve neurological function by regulating the expression of apoptotic factors, miR-124, and miR-21. [Journal of International Neurology and Neurosurgery, 2021, 48(2): 138-142]

**Keywords:** acute ischemic stroke; alteplase; citicoline; neurological function; apoptotic factor; miR-124; miR-21

脑血管管壁狭窄或闭塞是急性脑梗死 (acute ischemic stroke, AIS) 主要发病原因,严重影响脑部正常血供,进而导致局部脑细胞迅速凋亡,脑组织坏死,及时予以科学有效治疗是降低患者致残率及致死率的关键<sup>[1-2]</sup>。既往临床治疗重点多在于梗死区血液灌注快速恢复<sup>[3]</sup>,溶栓疗法是疏通血管最有效方式,其中阿替普酶属第3代新型溶栓药物,在促缺血半暗带供血恢复方面效果显著,进而减轻脑细胞受损<sup>[4-5]</sup>。但 AIS 病理生理变化较为复杂,部分患者经溶栓治疗后无法达到满意效果<sup>[6]</sup>,如何更大限度保护患者脑组织,改善其预后,仍需进一步研究。胞磷胆碱属神经保护剂,可有效促进脑组织中膜磷脂合成,清除游离脂肪酸,同时通过降低脑血管阻力使脑循环得到有效改善<sup>[7]</sup>。凋亡因子、miR-124、miR-21 均是反映 AIS 患者脑损伤程度与预后的关键性指标,为深入研究阿替普酶、胞磷胆碱联合治疗 AIS 的临床效果,本研究将其作为创新点实施分组对比分析,以期对临床治疗方案的改进提供思路参考。

## 1 对象与方法

### 1.1 研究对象

选取 2018 年 3 月—2020 年 5 月我院 AIS 患者 124 例进行前瞻性随机对照研究,以随机数字表分为观察组 (62 例) 和对照组 (62 例)。

纳入标准:①符合 AIS 临床诊断标准<sup>[8]</sup>,且经颅脑 CT、MRI 等影像学检查确诊;②均为首次发病;③病程<6 h,均在溶栓窗口期内;④各项基本生命体征稳定;⑤患者家属均知情本研究并签署同意书。

排除标准:①合并其他脑血管疾病;可疑蛛网膜下腔出血;②近 3 个月内手术、创伤史;③既往有颅内出血史;④存在活动性内出血;⑤存在急性出血倾向或凝血功能障碍;⑥多脑叶脑梗死,即颅脑 CT 检查显示低密度影超过大脑半球的 1/3;⑦存在严重意识、认知障碍、精神行为异常等无法有效配合临床治疗与检查以因素;⑧重要器官严重器质性病变;⑨对本研究所用治疗方案存在使用禁忌证;⑩全身严重感染性疾病。

本研究经辽阳市中心医院医学伦理委员会审核批准 (批准号:201800161)。

两组性别、年龄、体重指数 (BMI)、发病时间、病灶部

位等一般资料比较,差异均无统计学意义,具有可比性 ( $P>0.05$ )。见表 1。

表 1 两组一般资料比较 ( $n=62$ )

资料	观察组	对照组	$t/\chi^2$ 值	$P$ 值
性别	36/26	38/24	0.134	0.714
年龄/岁	57.66±6.10	58.05±6.17	0.354	0.724
BMI/(kg/m <sup>2</sup> )	23.12±1.69	23.46±1.62	1.144	0.255
发病时间/h	3.08±0.83	3.26±0.85	1.193	0.235
病灶部位 例 (%)			0.407	0.982
基底节	25(40.32)	27(43.55)		
脑叶	16(25.31)	15(24.19)		
脑干	10(16.13)	11(17.74)		
小脑	9(14.52)	7(11.29)		
其他	2(3.23)	2(3.23)		

### 1.2 研究方法

首先测得患者体重,嘱患者放松心情,连接床旁监测设备,建立静脉通道。根据患者个体情况实施低氧流吸氧,维持水电解质、酸碱平衡、降低颅内压、降压、降糖等基础治疗。

1.2.1 对照组 予以阿替普酶 (Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, 批准文号 S20160055) 治疗。总剂量为 0.9 mg/kg (最大剂量 90 mg),首先取 10% 剂量于 1 min 内快速静脉推注,后将剩余剂量加至 50 ml 注射用生理盐水中,于 1 h 内缓慢静脉泵注;溶栓 24 h 后复查颅脑 CT,排除出血征象后,实施长期维持性抗血小板治疗。

1.2.2 观察组 予以阿替普酶联合胞磷胆碱 (日本武田药品工业株式会社,批准文号 H20040632) 治疗。阿替普酶用法、用药剂量及溶栓后抗血小板治疗方案均同对照组;将 0.75 mg 胞磷胆碱加至 250 mL 注射用生理盐水中静脉滴注,持续时间需在 40 min 以上,1 次/d。两组均治疗 2 周。

### 1.3 疗效评估标准

根据治疗前后美国国立卫生研究院卒中量表 (NIHSS) 评分情况实施疗效评估,总分 0~42 分,评分越高神经功能越差。基本治愈:与治疗前比较,治疗 2 周后 NIHSS 评分降低 90% 以上;显效:与治疗前比较,治疗 2 周后

NIHSS评分降低46%~90%;有效:与治疗前比较,治疗2周后NIHSS评分降低18%~<46%;无效:与治疗前比较,治疗2周后NIHSS评分降低不及18%或升高不及18%;恶化:与治疗前比较,治疗2周后NIHSS评分升高18%及以上。总有效率=(基本治愈+显效+有效)/总例数×100%。

#### 1.4 凋亡因子、miR-124和miR-21检测

采集治疗前、治疗2周后晨起空腹肘外周静脉血约8 ml(2份),取其中1份血标本,低速离心分离血清,采用全自动生化分析仪(日本奥林巴斯,AU2700)以酶联免疫吸附法测定可溶性凋亡相关因子配体(sFasL)、可溶性凋亡相关因子(sFas)、B淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)水平。

取另1份血标本,以3000 r/min转速离心10 min,取血清,以RNA试剂盒(美国Digma-Aldrich)分离总RNA,以反转录试剂盒(日本TaKaRa)行反转录,采用扩增仪(ABI PCR System7300)行PCR反应,以荧光实时定量PCR法(RT-PCR)测定,并以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算miR-124、miR-21相对表达水平。

#### 1.5 统计学方法

采用SPSS 22.0软件进行数据处理。计数资料以例(%)表示,组间比较采用 $\chi^2$ 检验。计量资料以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用成组 $t$ 检验或配对 $t$ 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组疗效比较

治疗2周后,观察组总有效率高干对照组( $P < 0.05$ )。

见表2。

表2 两组疗效比较 [(n=62,例(%))]

组别	恶化	无效	有效	显效	基本治愈	总有效率
观察组	0(0.00)	5(8.06)	19(30.65)	25(40.32)	13(20.97)	57(91.94)
对照组	2(3.23)	12(19.35)	20(32.26)	19(30.65)	9(14.52)	48(77.42)
$\chi^2$ 值						5.035
$P$ 值						0.025

### 2.2 两组NIHSS评分比较

治疗前两组NIHSS评分差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。治疗2周后两组NIHSS评分较治疗前均降低;观察组较对照组低( $P < 0.05$ )。见表3。

表3 两组NIHSS评分比较 (n=62)

组别	治疗前	治疗2周后	$t$ 值	$P$ 值
观察组	16.94±2.38	7.15±1.47	27.557	<0.001
对照组	17.52±2.60	9.86±1.93	18.627	<0.001
$t$ 值	1.296	8.796		
$P$ 值	0.198	<0.001		

### 2.3 两组血清细胞凋亡有关因子水平比较

两组治疗前,血清sFasL、sFas、Bcl-2水平比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。治疗2周后,两组血清sFasL、sFas水平较治疗前降低,观察组低于对照组( $P < 0.05$ );Bcl-2水平较治疗前提高,观察组高于对照组( $P < 0.05$ )。见表4、图1。

表4 两组血清细胞凋亡有关因子比较 (n=62)

组别	sFasL/(ng/L)		sFas/(ng/L)		Bcl-2/(pg/mL)	
	治疗前	治疗2周后	治疗前	治疗2周后	治疗前	治疗2周后
观察组	0.46±0.15	0.21±0.07 <sup>①</sup>	4.64±1.38	2.52±0.69 <sup>①</sup>	3.59±0.36	8.42±0.64 <sup>①</sup>
对照组	0.50±0.13	0.32±0.09 <sup>①</sup>	4.75±1.60	3.38±0.76 <sup>①</sup>	3.48±0.32	6.27±0.41 <sup>①</sup>
$t$ 值	1.587	7.597	0.410	6.597	1.798	22.273
$P$ 值	0.115	<0.001	0.683	<0.001	0.075	<0.001

注①为与本组治疗前比较, $P < 0.05$

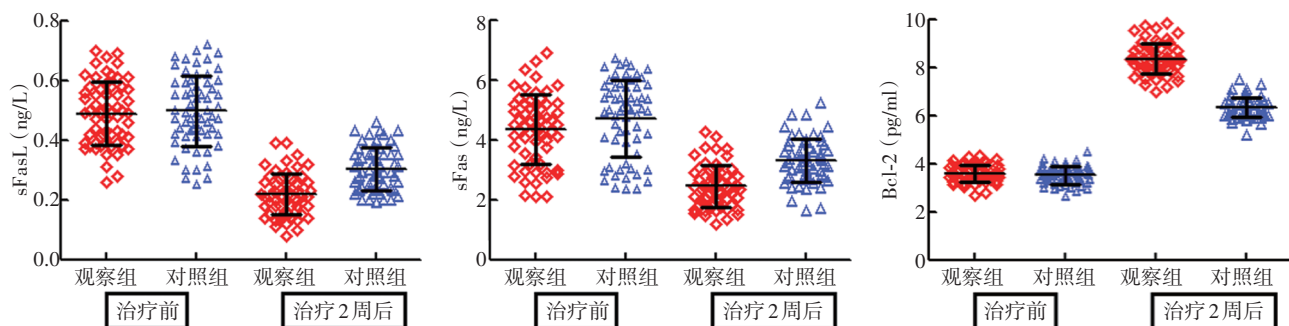


图1 两组血清细胞凋亡有关因子比较

## 2.4 两组血清 miR-124、miR-21 水平比较

两组治疗前,血清 miR-124、miR-21 水平比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。治疗 2 周后,两组血清 miR-124、miR-21 水平较治疗前降低,观察组低于对照组( $P<0.05$ )。见表 5、图 2。

表 5 两组血清 miR-124、miR-21 比较 ( $n=62$ )

组别	miR-124		miR-21	
	治疗前	治疗 2 周后	治疗前	治疗 2 周后
观察组	2.67±0.53	1.17±0.22 <sup>①</sup>	1.97±0.37	1.31±0.18 <sup>①</sup>
对照组	2.73±0.60	1.39±0.27 <sup>①</sup>	2.01±0.34	1.46±0.21 <sup>①</sup>
<i>t</i> 值	0.590	4.974	0.627	4.270
<i>P</i> 值	0.556	<0.001	0.532	<0.001

注:①为与本组治疗前比较, $P<0.05$

## 2.5 两组不良反应比较

治疗期间,两组不良反应发生率比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 6。

表 6 两组不良反应比较 [ $(n=62)$ ,例(%)]

组别	颅内出血	牙龈出血	头晕头痛	胃肠道反应	低血压	总发生率
观察组	0(0.00)	3(4.84)	1(1.61)	2(3.23)	1(1.61)	7(11.29)
对照组	1(1.61)	5(8.06)	0(0.00)	1(1.61)	2(3.23)	9(14.52)
$\chi^2$ 值						0.287
<i>P</i> 值						0.592

## 3 讨论

AIS 主要病理表现为脑供血突然中断、脑组织坏死等<sup>[9]</sup>,近年来其发病率呈现出逐年增高趋势,对患者生命健康及生活质量均造成了严重影响<sup>[10]</sup>。

病理学研究发现,AIS 发作时患者脑血管血流阻力明显增加,血流速度减慢,可形成局部微循环障碍,影响脑组织细胞能量代谢<sup>[11]</sup>,导致神经胶质、神经元凋亡,因此,早期抢救缺血半暗带及神经保护均是治疗 AIS 的关键<sup>[12]</sup>。基于上述分析,本研究在常规治疗基础上采用阿替普酶和胞磷胆碱联合方案实施治疗,结果显示,联合方案可有效提高临床疗效,在改善 AIS 患者神经功能方面具

有积极作用,且治疗安全性良好。与侯静等<sup>[13]</sup>相关研究相符,充分证实了阿替普酶和胞磷胆碱联合方案的良好临床应用价值。

阿替普酶属天然纤溶酶原激活剂,含 526 个氨基酸,主要通过赖氨酸残基与血栓纤维蛋白结合,对纤维酶原产生选择性激活作用,转变为纤溶酶,促进纤维蛋白溶解,进而开通血管,恢复缺血半暗带供血<sup>[14-15]</sup>。国内外多部诊疗指南已将阿替普酶静脉溶栓推荐作为 AIS 早期治疗的首选方案。既往临床研究证实,其对血液循环中游离纤溶酶原作用较弱,不易引发出血相关并发症,具有较高治疗安全性<sup>[16-17]</sup>。作为核苷衍生物,胞磷胆碱具有良好神经保护作用,在降低脑血管阻力、增加脑血流、促进脑组织代谢方面具有明显效果,同时还可增强脑干网状结构上行激活系统及椎体系统机能,促进脑部功能恢复,减轻运动麻痹<sup>[18]</sup>。临床实际应用发现,胞磷胆碱在改善 AIS 患者神经功能缺损方面效果良好,且不受发病时间限制<sup>[19]</sup>。阿替普酶可通过增加缺血半暗带供血挽救脑神经细胞,而胞磷胆碱增加脑血流、促进脑组织代谢多方面作用对脑神经发挥良好保护作用,因此,两者联合可在减轻神经损伤中发挥协同作用,进而有效促进患者神经功能恢复。

本研究以凋亡因子、miR-124、miR-21 表达为切入点进一步分析阿替普酶和胞磷胆碱联合方案的临床治疗效果及相关机制,结果显示,阿替普酶和胞磷胆碱联合方案可有效改善 AIS 患者血清 sFasL、sFas、Bcl-2 等凋亡因子水平,调控 miR-124、miR-21 表达,对患者预后改善具有积极作用。sFasL、sFas、Bcl-2 均是典型的凋亡因子,其水平可直观性反映脑组织损伤程度,对预后评估具有重要作用<sup>[20]</sup>。近年来病理学研究发现,miRNA 在 AIS 患者脑组织及血液中均呈异常变化状态,可通过炎症反应、细胞凋亡调控作用对疾病整个病理生理过程产生影响<sup>[21]</sup>。miR-124、miR-21 均是脑组织损伤诊断敏感性循环生物标志物,在 AIS 患者血清中均呈高表达状态<sup>[22]</sup>。由此推测,阿替普酶和胞磷胆碱联合方案可通过调节凋亡因子减轻脑细胞刺激,抑制损伤脑细胞,改善脑细胞能量代谢,抑制神经元凋亡、坏死,同时具有缓解脑局部缺氧作用,可通

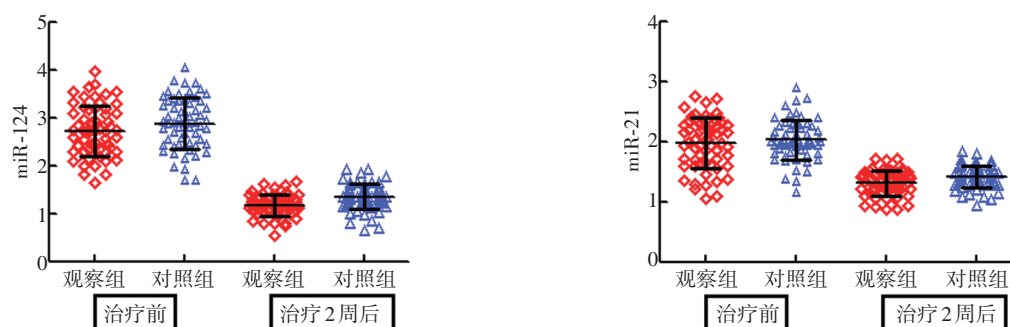


图 2 两组血清 miR-124、miR-21 水平比较



过调控 miR-124、miR-21 表达对中枢神经功能恢复发挥积极作用,促进脑部正常生理功能恢复。

综上所述,阿替普酶和胞磷胆碱联合应用临床效果显著,是治疗 AIS 的理想方案,临床疗效及安全性良好,可通过抑制神经细胞凋亡、调控中枢神经功能等多重作用加速患者神经功能恢复,可作为在溶栓时间窗内患者的可靠治疗方案。

#### 参 考 文 献

- [1] 刘艳艳,张敏,恽文伟,等. 中重度脑白质疏松对急性脑梗死静脉溶栓患者出血转化及预后的影响[J]. 中华神经科杂志, 2017, 50(12): 885-891.
- [2] Ballarin B, Tymianski M. Discovery and development of NA-1 for the treatment of acute ischemic stroke[J]. Acta Pharmacol Sin, 2018, 39(5): 661-668.
- [3] Zeng XW, Zhang GQ, Yang B, et al. Neopterin as a predictor of functional outcome and mortality in Chinese patients with acute ischemic stroke[J]. Mol Neurobiol, 2016, 53(6): 3939-3947.
- [4] 黄如月,罗敏,黄双双,等. 合并颅内动脉瘤的急性脑梗死静脉溶栓治疗四例报道及文献复习[J]. 中华神经医学杂志, 2017, 16(2): 183-185.
- [5] 李军. 依达拉奉联合阿替普酶对老年急性脑梗死患者脑血流及神经损伤的影响[J]. 河北医药, 2019, 41(19): 2993-2996.
- [6] Turc G, Maier B, Naggara O, et al. Clinical scales do not reliably identify acute ischemic stroke patients with large-artery occlusion[J]. Stroke, 2016, 47(6): 1466-1472.
- [7] 向勇,朱建萍. 胞磷胆碱联合普罗布考治疗急性脑梗死的疗效观察[J]. 现代药物与临床, 2019, 34(2): 318-321.
- [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. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2014[J]. 中华神经科杂志, 2015, 48(4): 246-257.
- [9] 张淑芬. 尤瑞克林联合依达拉奉治疗急性脑梗死的临床疗效分析[J]. 实用临床医药杂志, 2017, 21(21): 149-150.
- [10] Al-Khaled M, Matthis C, Binder A, et al. Dysphagia in patients with acute ischemic stroke: early dysphagia screening may reduce stroke-related pneumonia and improve stroke outcomes[J]. Cerebrovasc Dis, 2016, 42(1-2): 81-89.
- [11] 苗江永,王力娜,张祥建,等. 注射丹参多酚酸治疗急性脑梗死的前瞻性临床研究[J]. 脑与神经疾病杂志, 2019, 27(4): 199-202.
- [12] Buckner A, Boers AM, Bot JCJ, et al. Associations of ischemic lesion volume with functional outcome in patients with acute ischemic stroke: 24-hour versus 1-week imaging[J]. Stroke, 2017, 48(5): 1233-1240.
- [13] 侯静,王凌云,张勇. 胞二磷胆碱联合阿替普酶治疗急性脑梗死的疗效观察[J]. 现代药物与临床, 2018, 33(2): 256-259.
- [14] 赵平丽,吕哲. 阿替普酶联合疏血通注射液治疗溶栓时间窗外急性脑梗死的临床疗效[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2018, 16(24): 3704-3706.
- [15] 张立红,彭道勇,张策,等. 不同年龄急性脑梗死患者阿替普酶静脉溶栓疗效及安全性分析[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2018, 20(9): 962-965.
- [16] Powers WJ, Rabinstein AA, Ackerson T, et al. 2018 guidelines for the early management of patients with acute ischemic stroke: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association[J]. Stroke, 2018, 49(3): e46-e110.
- [17] 洪震,李泽钊,贾秀凤,等. 人尿激酶原酶联合阿替普酶静脉溶栓对急性脑梗死患者的神经系统、日常生活能力及不良反应的影响[J]. 河北医药, 2017, 39(13): 1978-1980.
- [18] 梁海云,王良,张茂. 灯盏花素联合阿替普酶溶栓治疗对溶栓时间窗外急性脑梗死区域组织灌注的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2019, 28(16): 1797-1800.
- [19] 吴喜端,黄齐亮,李剑,等. 胞磷胆碱钠注射液联合疏血通注射液治疗急性脑梗死的临床观察[J]. 云南中医中药杂志, 2018, 39(11): 30-31.
- [20] 张伟平,屈洪党,许力. 丁苯酞注射液对脑梗死患者血清细胞凋亡因子水平的影响[J]. 中华全科医学, 2019, 17(7): 1087-1089.
- [21] 李效丽. 进展型脑梗死患者 miRNA 的表达水平及临床意义[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2020, 47(2): 127-131.
- [22] 陈南耀,余丹. 联合检测血清 miR-124 与 miR-182 的表达水平对急性脑梗死诊断与预后评估的价值[J]. 中国动脉硬化杂志, 2019, 27(6): 502-506.

责任编辑:龚学民