

脑小血管病患者病程进展与血管内皮功能障碍因子表达水平的相关性研究

范玲玲, 李亚军, 马姗, 李军朝, 张蓓

西安医学院第一附属医院, 陕西省西安市 710077

摘要: **目的** 探讨脑小血管病(CSVD)患者病程进展与血管内皮功能障碍(ED)因子[同型半胱氨酸(Hcy)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素6(IL-6)和C反应蛋白(CRP)]表达水平的相关性。**方法** 选取2016年6月至2017年9月在我科诊断为CSVD的患者60例作为研究对象,所有患者均进行了头颅MRI检查。采集外周血,利用ELISA检测与血管内皮功能障碍相关因子Hcy、TNF- α 、IL-6和CRP的表达水平。对所纳入患者进行1年时间的随访,随访期内均进行头颅MRI检查。根据随访观察结果,将所纳入患者分为进展组和无进展组,比较两组患者血清Hcy、TNF- α 、IL-6和CRP表达水平的差异,并分析它们与CSVD进展的相关性。**结果** 在60例患者中,病程进展的有38例,病程无进展的有22例。与病程无进展组相比,病程进展组患者血清Hcy(17.62 ± 7.23 VS 11.35 ± 5.41 , $P=0.007$)和IL-6(17.46 ± 6.97 VS 8.48 ± 4.67 , $P=0.001$)的表达水平高;TNF- α 和CRP的表达水平在两组间无差异。经Spearman等级相关分析发现,CSVD患者的病程进展与血清Hcy($r=0.587$, $P=0.015$)和IL-6($r=0.644$, $P=0.009$)的表达水平存在相关性;而与TNF- α 和CRP的表达水平不存在相关性。**结论** CSVD患者血清中血管内皮功能障碍因子Hcy、IL-6的表达水平与病程进展存在相关性,检测这些因子的表达对于判断病情预后具有一定参考意义。

关键词: 脑小血管病;内皮功能障碍因子;同型半胱氨酸;白细胞介素6;肿瘤坏死因子 α ;C反应蛋白

DOI: 10.16636/j.cnki.jinn.2019.05.013

A study on the correlation between disease progression and expression levels of endothelial dysfunction-related factors in patients with cerebral small vessel disease

FAN Ling-Ling, LI Ya-Jun, MA Shan, LI Jun-Chao, ZHANG Bei. Department of Neurology, First Affiliated Hospital of Xi'an Medical College, Xi'an 710077, China

Corresponding author: ZHANG Bei, E-mail: bud8092doc@163.com

Abstract: Objective To investigate the correlation between disease progression and expression levels of endothelial dysfunction (ED)-related factors (homocysteine [Hcy], tumor necrosis factor- α [TNF- α], interleukin-6 [IL-6], and C-reactive protein [CRP]) in patients with cerebral small vessel disease (CSVD). **Methods** A total of 60 patients who were diagnosed with CSVD in our department from June 2016 to September 2017 were enrolled as study subjects. All the patients underwent a cerebral MRI examination. The peripheral blood samples of the patients were collected and tested for expression levels of ED-related factors (Hcy, TNF- α , IL-6, and CRP) using ELISA. All the patients enrolled were followed up for 1 year, during which cerebral MRI examinations were regularly performed. According to the follow-up results, the patients were divided into progression group and progression-free group. The two groups were compared for differences in the expression levels of serum Hcy, TNF- α , IL-6, and CRP. Meanwhile, the correlation between these indices and CSVD progression was analyzed. **Results** Among the 60 patients, 38 had disease progression, and 22 had no disease progression. Compared with the progression-free group, the progression group had significantly higher levels of Hcy (11.35 ± 5.41 vs 17.62 ± 7.23 , $P=0.007$) and IL-6 (8.48 ± 4.67 vs 17.46 ± 6.97 , $P=0.001$), but there were no significant differences in the expression levels of TNF- α and CRP between the two groups. A Spearman rank correlation analysis revealed that disease progres-

基金项目:陕西省教育厅基金(18JK0661)

收稿日期:2019-03-01;修回日期:2019-09-01

作者简介:范玲玲(1981-),女,硕士,主治医师,从事神经内科基础研究和临床工作10余年。

通信作者:张蓓(1980-),女,博士,硕士研究生导师,副主任医师,从事神经内科基础研究和临床工作15年。E-mail:bud8092doc@163.com。

sion was correlated with the expression levels of Hcy ($r=0.587$, $P=0.015$) and IL-6 ($r=0.644$, $P=0.009$) but not correlated with the expression levels of TNF- α and CRP in patients with CSVD. **Conclusions** The expression levels of ED-related factors in serum such as Hcy and IL-6 are correlated with disease progression in patients with CSVD. Therefore, measuring the expression of these factors can provide a reference for the prognosis of the disease.

Key words: cerebral small vessel disease; endothelial dysfunction-related factors; homocysteine; interleukin-6; tumor necrosis factor- α ; C-reactive protein

脑小血管病 (cerebral small vessel disease, CSVD) 是由于各种病因影响了脑部小血管如小动脉、微动脉、小静脉和微静脉的功能而导致的一种具有临床、影像和病理改变的综合征^[1]。CSVD 约占缺血性脑卒中的四分之一,是导致腔隙性脑梗死、血管性痴呆和血管性帕金森综合征的重要病理因素^[2,3]。CSVD 的主要临床表现包括神经认知功能损害、记忆力下降、生活能力下降和痴呆^[1,4]。CSVD 的典型 MRI 表现包括脑白质病变、腔隙性脑梗死、血管周围间隙增大、脑微出血和脑萎缩^[5]。CSVD 患者的临床症状和头颅 MRI 表现会随着时间的推移而逐渐进展,但导致这一结果的原因和机制尚不明确。有研究者发现外周血中某些凝血因子与 CSVD 的病程进展存在相关性,比如纤维蛋白原、组织因子和 β 血小板球蛋白与表现为腔隙性脑梗死、血管性痴呆和血管性帕金森综合征的 CSVD 患者的影像学进展存在密切联系^[6]。新近的研究发现血管粥样硬化只能解释 CSVD 的一小部分机制,还有其他更为重要的因素参与了 CSVD 的病理机制和病程进展。其中,内皮功能障碍 (endothelial dysfunction, ED) 被认为是导致脑小血管病变的重要机制^[7]。在外周血中存在许多与 ED 相关的生物学标志物,其中临床常用和易于检测的包括同型半胱氨酸 (homocysteine, Hcy)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、白细胞介素 6 (interleukin 6, IL-6) 和 C 反应蛋白 (C-reactive protein, CRP)。这些 ED 相关因子是否与 CSVD 的病程进展存在相关性还不清楚,为了初步探讨这一问题,我们开展了此项临床研究。

1 对象和方法

1.1 研究对象

纳入 2016 年 6 月至 2017 年 9 月在我院诊断为 CSVD 的患者 60 例作为研究对象。具体的纳入标准包括:①临床表现和 MRI 特征符合 CSVD 的诊断标准^[8];②临床资料完整;③患者及其家属知晓并签署相关知情同意书。排除标准包括:①合并有

高血压、糖尿病、冠心病等慢性疾病;②伴有明显的颈动脉狭窄 (狭窄率超过 50%) 症状;③合并有其他急性或慢性炎症性疾病;④合并有其他自身免疫性疾病;⑤合并有恶性肿瘤。

所有纳入患者均签署了知情同意书,所有患者的血液标本只用于本研究。西安医学院第一附属医院伦理委员会批准开展此项研究。

1.2 方法

1.2.1 初始临床资料的收集 记录所纳入的 60 例 CSVD 患者的性别、年龄、病程等一般情况。

1.2.2 随访临床资料的收集 所有纳入患者均进行 1 年时间的随访,第一次采集临床资料是在来我院初诊时,第二次是在初诊并纳入研究的 1 年后。所采集的临床资料主要包括性别、年龄、现病史、既往病史,与 CSVD 相关的临床症状,头颅 MRI 检查结果。其中,临床症状和头颅 MRI 检查结果是判断患者是病情否进展的决定性指标。

1.2.3 头颅 MRI 对于病情进展的判断 本研究中,所纳入患者共进行了 2 次头颅 MRI 检查,一次是在患者初诊并纳入研究时,另一次是在 1 年后。根据文献报道,MRI 判断 CSVD 是否进展的方法如下^[9]。头颅 MRI 关于 CSVD 的主要影像学表现和病情是否进展的判定标准包括腔隙性脑梗死、脑室周围或深部脑室周围的白质病变和血管周围间隙等。根据脑白质病变的大小,可以将 CSVD 划分为不同的等级:①轻度是指单个脑白质病变直径 ≤ 9 mm 或多个脑白质病变的直径总和 ≤ 20 mm;②中度是指单个脑白质病变直径为 10 ~ 20 mm 或多个脑白质病变的直径总和 ≥ 20 mm;③重度是指单个脑白质病变或多个脑白质病变中的任何一个病灶直径均 ≥ 20 mm。另外,血管周围间隙是否增大或是否出现腔隙性脑梗死也是一个判断标准。综上,根据 MRI 结果,可以将 CSVD 的影像学得分划定分为 0 ~ 4 分。如果 CSVD 患者的脑白质病变等级升高一级则得 1 分,血管周围间隙增大也计 1 分。根据这个标准,影像学无进展则得 0 分,进展最大的则

为4分。即得分越高,说明CSVD患者的病情进展越明显。

1.2.4 外周血的收集及血清的分离 在CSVD患者初诊同意纳入研究并符合纳入标准时,用无菌干燥肝素化的血标本采集管从每位CSVD患者收集外周静脉血2 mL,然后在2 h之内用高速离心机将血清分离出来。分离出的血清分装后保存于-80℃条件下,后续用于检测内皮功能障碍指标Hcy、TNF-α、IL-6和CRP的表达水平。

1.2.5 酶联免疫吸附试验 CSVD患者外周血血清中Hcy、TNF-α、IL-6和CRP的表达水平是通过酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒检测的。具体的操作步骤参照ELISA试剂盒上的说明进行,通过平均吸光度(optical density, OD)的数值来计算Hcy、TNF-α、IL-6和CRP的表达水平。为了保证实验结果的可靠性,每个样本检测3次后取平均值。

1.3 统计学分析

将结果输入Microsoft Excel 2007建立数据库,采用SPSS 13.0软件进行统计学分析。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)的形式表示,两计量变量间的比较采用 t 检验,两变量间的关系采用Spearman等级相关进行分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者的一般临床资料

研究共纳入CSVD患者60例,男性34例,女性26例,平均年龄57.8岁。既往无高血压、糖尿病、冠心病病史,未合并自身免疫性疾病,未合并恶性肿瘤。所纳入患者(60例)均有不同程度的CSVD临床症状,如头晕、记忆力下降、认知功能下降等;平均病程0.6年。MRI检查(60例)均可见与CSVD相关的影像学表现,如脑白质病变、血管周围间隙增大、脑微出血等。

2.2 CSVD进展和无进展患者的临床资料比较

对所有CSVD患者完成1年时间的随访后,根据患者临床症状和MRI结果得分情况,对患者病情是否进展进行了判定和划分。38例患者进展,22例患者无进展。通过比较进展组和无进展组患者的性别、年龄、病程等数据发现二者无差异。但两组患者在头颅MRI进展得分上有明显差异。见表1。

表1 CSVD进展和无进展患者的临床资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

变量	进展组($n=38$)	无进展组($n=22$)	t	P
男性/女性	21/17	13/9	0.712	0.565
年龄(岁)	58.4 ± 8.23	56.7 ± 7.36	1.335	0.214
病程(年)	0.7 ± 0.18	0.6 ± 0.24	1.682	0.136
CSVD影像得分(分)	2.3 ± 0.47	0	7.426	<0.001

2.3 CSVD进展和无进展患者的Hcy、TNF-α、IL-6和CRP的表达水平比较

所有CSVD患者在初诊时均进行了外周静脉血标本的采集,并利用ELISA检测了血清中Hcy、TNF-α、IL-6和CRP的表达水平。在完成随访时,CSVD患者被划分为进展和无进展组,通过比较两组患者的内皮障碍因子的表达水平发现,进展组Hcy和IL-6的表达水平明显高于无进展组,而TNF-α和CRP的表达水平在二组之间差异无统计学意义。见表2。

表2 CSVD进展和无进展患者的Hcy、TNF-α、IL-6和CRP的表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

变量	进展组($n=38$)	无进展组($n=22$)	t	P
Hcy(μmol/L)	17.62 ± 7.23	11.35 ± 5.41	2.141	0.007
TNF-α(pg/mL)	7.33 ± 3.22	6.69 ± 3.94	1.013	0.325
IL-6(pg/mL)	17.46 ± 6.97	8.48 ± 4.67	4.733	0.001
CRP(mg/dL)	1.61 ± 0.83	1.29 ± 0.86	1.728	0.132

2.4 CSVD进展患者Hcy、TNF-α、IL-6和CRP的表达水平与病情进展程度的相关性分析

为了进一步明确CSVD患者病情进展与内皮功能障碍因子Hcy、TNF-α、IL-6和CRP表达水平之间的关系,本研究将CSVD进展组患者Hcy、TNF-α、IL-6和CRP的表达水平与反映病情进展程度的MRI得分进行了相关性分析,结果发现MRI进展得分与Hcy和IL-6表达水平之间存在正相关关系,而与TNF-α和CRP表达水平之间不存在相关性。(表3)。

表3 CSVD进展患者Hcy、TNF-α、IL-6和CRP的表达水平与病情进展程度的相关性分析

变量	r	P
Hcy(μmol/L)	0.587	0.015
TNF-α(pg/mL)	0.752	0.397
IL-6(pg/mL)	0.644	0.009
CRP(mg/dL)	0.699	0.426

3 讨论

有研究发现白质病变的严重程度对于预测CSVD患者的病情进展具有重要意义,且其预测价值要高于血清中的生物标志物^[10]。还有研究发现存

在脑白质病变的 CSVD 患者的死亡率要明显高于无白质病变患者^[11]。然而,很少有研究对内皮功能障碍与 MRI 影像学进展之间的关系进行探讨。本研究发现 CSVD 患者外周血中 Hcy 和 IL-6 表达水平与脑白质病变的进展存在明显相关性,而 TNF- α 和 CRP 表达水平与病情进展无相关性。这一结果与某些研究相一致^[12],但与某些研究又不完全一致^[13]。但不管怎么样,我们和其他研究者的结果均提示同型半胱氨酸、炎症因子与内皮功能障碍和 CSVD 的病情进展存在密切联系。结合这些研究结果,可以分析出的结论就是在促炎因子、内皮功能障碍和 CSVD 之间存在复杂而又重要的联系。已有研究发现脑白质对于炎性介质非常敏感,正是这些炎症因子导致了血管内皮功能障碍和 CSVD^[14]。除了炎性介质 IL-6,高 Hcy 血症可以损害脑小血管,从而引发脑白质变性或无症状脑梗死等^[15]。还有研究者发现高 Hcy 促进了脑白质病变的出现,并与其病变程度存在密切联系^[16]。这些研究结果说明高 Hcy 血症是 CSVD 患者出现早期内皮功能障碍和脑白质病变的重要标志,因此在理论上用药物降低 Hcy 的表达水平可能对于延缓 CSVD 的病情进展具有一定的积极的作用。

通过临床观察研究,我们分析了 CSVD 患者病程进展与血管内皮功能障碍因子 Hcy、TNF- α 、IL-6 和 CRP 表达水平的相关性。在 60 例 CSVD 患者中,有 38 例患者在 1 年后出现了显著的影像学病情进展,且 Hcy 和 IL-6 的表达水平与病情进展存在明显相关性。这些结果提示:检测这些因子的表达对于判断 CSVD 的病情预后具有一定参考意义。

参 考 文 献

- [1] Noz MP, Ter Telgte A, Wiegertjes K, et al. Trained immunity characteristics are associated with progressive cerebral small vessel disease[J]. *Stroke*, 2018, 49(12): 2910-2917.
- [2] Shi Y, Li S, Li W, et al. MRI lesion load of cerebral small vessel disease and cognitive impairment in patients with CADASIL[J]. *Front Neurol*, 2018, 9(24): 862-869.
- [3] 滕振杰,冯静,吕佩源,等. 脑小血管病与卒中后认知障碍研究进展[J]. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2017, 44(1): 102-105.
- [4] 李萌,高立伟,董艳红. 脑微出血的影像学表现与认知功能障碍的研究[J]. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2018, 45(5): 536-539.
- [5] Jiang J, Huang X, Zhang Y, et al. Total MRI burden of cerebral vessel disease correlates with the progression in patients with acute single small subcortical strokes[J]. *Brain Behav*, 2018, 9(1): 61-70.
- [6] Staszewski J, Piusińska-Macoch R, Brodacki B, et al. Association between hemostatic markers, serum lipid fractions and progression of cerebral small vessel disease: a 2-year follow-up study[J]. *Neurol Neurochir Pol*, 2018, 52(1): 54-63.
- [7] Nezu T, Hosomi N, Aoki S, et al. Endothelial dysfunction is associated with the severity of cerebral small vessel disease[J]. *Hypertens Res*, 2015, 38(4): 291-297.
- [8] Bamford J, Sandercock P, Dennis M, et al. Classification and natural history of clinically identifiable subtypes of cerebral infarction[J]. *Lancet*, 1991, 337(8756): 1521-1526.
- [9] Wardlaw JM, Smith EE, Biessels GJ, et al. Standards for reporting vascular changes on neuroimaging (STRIVE v1). Neuroimaging standards for research into small vessel disease and its contribution to ageing and neurodegeneration[J]. *Lancet Neurol*, 2013, 12(8): 822-838.
- [10] Protopsaltis J, Kokkoris S, Korantzopoulos P, et al. Prediction of longterm functional outcome in patients with acute ischemic non-embolic stroke[J]. *Atherosclerosis*, 2009, 203(1): 228-235.
- [11] Debette S, Markus HS. The clinical importance of white matter hyperintensities on brain magnetic resonance imaging: systematic review and metaanalysis[J]. *BMJ*, 2010, 341(84): 145-152.
- [12] Umemura T, Kawamura T, Umegaki H, et al. Endothelial and inflammatory markers in relation to progression of ischaemic cerebral smallvessel disease and cognitive impairment: a 6-year longitudinal study in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2011, 82(11): 1186-1194.
- [13] Satizabal CL, Zhu YC, Mazoyer B, et al. Circulating IL-6 and CRP are associated with MRI findings in the elderly: the 3C-Dijon Study[J]. *Neurology*, 2012, 78(10): 720-727.
- [14] Kaiser D, Weise G, Moller K, et al. Spontaneous white matter damage, cognitive decline and neuroinflammation in middle-aged hypertensive rats: an animal model of early-stage cerebral small vessel disease[J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2014, 2(334): 169-175.
- [15] Shankle WR, Hara J, Barrentine LW, et al. CerefolinNAC therapy of hyperhomocysteinemia delays cortical and white matter atrophy in alzheimer's disease and cerebrovascular disease[J]. *J Alzheimers Dis*, 2016, 54(3): 1073-1084.
- [16] Lu D, Li P, Zhou Y, et al. Association between serum non-highdensity lipoprotein cholesterol and cognitive impairment in patients with acute ischemic stroke[J]. *BMC Neurol*, 2016, 16(1): 154-159.