

颈动脉斑块内新生血管超声造影分级与炎症反应的相关性研究

谭玉婷 朱阳阳 王陇利 王彦清 聂芳

摘要 **目的** 应用超声造影半定量评估颈动脉斑块内新生血管,分析其与循环血中性粒细胞与淋巴细胞计数比值(NLR)的相关性,探讨NLR对斑块内新生血管及斑块易损性的影响。**方法** 选取行颈动脉斑块超声造影检查的受试者132例,应用超声造影半定量评估斑块内新生血管的分级并进行分组:1~2级60例(A组)、3级44例(B组)和4级28例(C组)。同时获取各组循环血白细胞计数(WBC)、中性粒细胞计数(NE)、淋巴细胞计数(LY)及NLR。采用Spearman相关性分析斑块超声造影分级与循环血中白细胞各亚型的相关性;Logistic回归进一步分析影响斑块内新生血管的独立危险因素。**结果** A、B、C组间WBC和NE依次增高,LY依次减低,各组间比较差异均有统计学意义(均 $P<0.01$);A组NLR最小,C组NLR最大,各组间比较差异均有统计学意义($P<0.01$)。斑块内新生血管分级与循环血中WBC、NE和NLR均呈正相关($r=0.30, 0.59, 0.77$, 均 $P<0.01$),与LY呈负相关($r=-0.50, P<0.01$)。三组中脑梗死患者构成比在C组最高,差异有统计学意义($P<0.05$)。Logistic回归分析显示NLR是斑块内新生血管的独立危险因素,且循环血中NLR每增加1.08,斑块内新生血管分级增加一级。**结论** 循环血中NLR与斑块内新生血管密切相关,是其独立危险因素;NLR每增加1.08,斑块内新生血管分级增加一级。

关键词 超声检查;造影剂;颈动脉斑块;白细胞;中性粒细胞与淋巴细胞计数比值

[中图法分类号]R445.1;R543

[文献标识码]A

Correlation between contrast-enhanced ultrasound grading of neovascularization and inflammatory response in carotid plaque

TAN Yuting, ZHU Yangyang, WANG Longli, WANG Yanqing, NIE Fang

Department of Ultrasound, Lanzhou University Second Hospital, Lanzhou 730030, China

ABSTRACT **Objective** To investigate the correlation between semi-quantitative contrast-enhanced ultrasonography in evaluating neovascularization in carotid plaques and circulating blood neutrophil/lymphocyte ratio (NLR), and explore the role of NLR in plaque neovascularization and plaque vulnerability influences. **Methods** A total of 132 subjects who underwent carotid plaque contrast ultrasonography were selected and grouped according to the classification of neovascularization in the plaque by semi-quantitative contrast-enhanced ultrasound: 60 cases in grades 1~2 (group A) and 44 cases in grade 3 (group B) and 28 cases in grade 4 (group C). Meanwhile, the number of circulating blood white blood cells (WBC), neutral cells (NE), and lymphocytes (LY) and neutrophil/lymphocyte ratio (NLR) were obtained from the three groups. Spearman correlation was used to analyze the correlation between plaque contrast-enhanced ultrasound classification and leukocyte subtypes in circulating blood. Logistic regression was used to further analyze the independent risk factors that affected neovascularization within the plaque. **Results** WBC and NE increased sequentially in groups A, B, and C, while LY decreased in order, and the differences were statistically significant (all $P<0.01$); NLR was the lowest in group A and the highest in group C, the differences were statistically significant ($P<0.01$). The neovascularization grade of carotid plaque was positively correlated with WBC, NE and NLR in blood circulation ($r=0.30, 0.59$ and 0.77 , all $P<0.01$), but negatively correlated with LY ($r=-0.50, P<0.01$). The proportion of patients with cerebral infarction among the three groups was the highest in group C, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Logistic regression analysis indicated that NLR was an independent risk factor for neovascularization in the plaque.

For every 1.08 increase of NLR in blood circulation, the neovascularization grading increased by one level. **Conclusion** NLR in circulating blood is closely related to neovascularization in the plaque and is an independent risk factor. For every 1.08 increase in NLR, the neovascularization grading increases by one level.

KEY WORDS Ultrasonography; Contrast agent; Carotid plaque; White blood cells; NLR

动脉粥样硬化斑块中易损斑块的破裂是心脑血管疾病发生的一个重要的病理基础,易造成脑梗死^[1]。既往研究^[2-3]表明,斑块内炎症反应和新生血管是斑块易损的两大重要标志。超声造影可显示颈动脉斑块内的细小血流,半定量地可视化斑块内新生血管并评估其易损性^[4]。中性粒细胞与淋巴细胞计数比值(neutrophil/lymphocyte ratio, NLR)是反映全身炎症情况的一个可靠指标,其变化水平与动脉粥样硬化的进展有一定的相关性^[5]。本研究应用超声造影半定量评估颈动脉斑块内新生血管并进行视觉分级,分析其与NLR的相关性,旨在探究NLR对斑块内新生血管及斑块易损性影响。

资料与方法

一、研究对象

选取2018年9月至2019年6月于我院超声医学中心行颈动脉斑块超声造影检查的受试者132例,其中男109例,女23例,年龄42~87岁,平均(64.85±10.27)岁。纳入标准:①双侧颈动脉的二维超声至少有一侧颈动脉存在厚度>1.5 mm的动脉粥样硬化斑块;②无恶性肿瘤、血液系统疾病等影响血循环白细胞及各亚型水平的疾病。排除标准:①斑块内有颗粒状的钙化影;②有严重的心肺功能障碍;③对超声造影剂过敏,不能耐受超声造影检查。依据超声造影评估斑块内新生血管的分级^[6]进行分组:1~2级60例(A组)、3级44例(B组)和4级28例(C组)。本研究经我院医学伦理委员会批准,受试者均签署知情同意书。

二、仪器与方法

1. 一般资料获取:所有受试者检查前24 h禁止吸烟、饮酒或咖啡,当天停用降压药、降糖药,记录性别、年龄、收缩压、舒张压及病史。

2. 超声造影检查:使用Philips iU 22彩色多普勒超声诊断仪,L9-3探头,频率为5~9 MHz,内置造影技术软件。造影剂使用SonoVue(意大利Bracco公司)。使用前与5.0 ml生理盐水充分混合摇匀制成白色微泡混悬液备用。受试者取仰卧位,首先按照颈总、颈内外动脉的纵切面和横切面的顺序,行双侧颈部动脉标准扫查,记录颈动脉斑块个数及分布情况,评估颈动脉狭窄程度。选取最大的动脉粥样硬化斑块行超声造影检查。将配置好的造影剂混悬液经肘静脉团

注2.4 ml,随后推注5.0 ml生理盐水,推进造影剂同时启动造影模式,在双屏对比模式下完成检查,连续录制采集感兴趣区域的图像约90 s,存储供后期分析。

3. 颈动脉斑块内新生血管的超声造影分级标准:依据文献[6],将斑块内新生血管分为4级:1级,斑块内及斑块的基底部均未见超声造影剂增强影;2级,斑块的基底部即动脉壁的滋养血管,可见超声造影剂增强影;3级,斑块的肩部及基底部即动脉壁的滋养血管,均可见超声造影剂增强影;4级,斑块内各部位均可见弥散的超声造影剂增强影。

三、循环血中白细胞及各亚型的计数和NLR的计算

行超声造影前,受试者在空腹状态下采集静脉血约5.0 ml,应用Sysmex-1000i全自动血液分析仪器计数白细胞(white blood cell, WBC)、中性粒细胞(neutrophil, NE)和淋巴细胞(lymphocytes, LY),并计算NLR。

四、统计学处理

应用SPSS 22.0统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较行Kruskal-Wallis检验,两两比较行Mann-Whitney U检验。相关性分析采用Spearman相关分析法。Logistic回归分析影响颈动脉斑块内新生血管的独立危险因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

超声造影评估斑块内新生血管的分级见图1。

一、各组一般资料比较

A、B、C组在性别比、年龄、收缩压、舒张压、高血压病和糖尿病构成比等比较,差异均无统计学意义,见表1;C组脑梗死构成比最高,与A、B组比较差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。

二、血WBC、NE、LY及NLR比较

与A组比较,C组循环血WBC计数明显增高,差异有统计学意义($P < 0.01$)。NE计数在A、B、C组依次增高,而LY计数依次减低,差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)。A组NLR最小,C组NLR最大,各组间比较差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)。见表2。

三、相关性分析

斑块内新生血管分级与循环血中WBC、NE、NLR均呈正相关($r = 0.30, 0.59, 0.77$, 均 $P < 0.01$),与LY呈负

相关($r=-0.50, P<0.01$),见图2。Logistic 回归分析发现,NLR 是斑块内新生血管的独立危险因素。标准回

归系数提示,循环血中NLR 每增加1.08,斑块内新生血管分级增加一级。见表3。

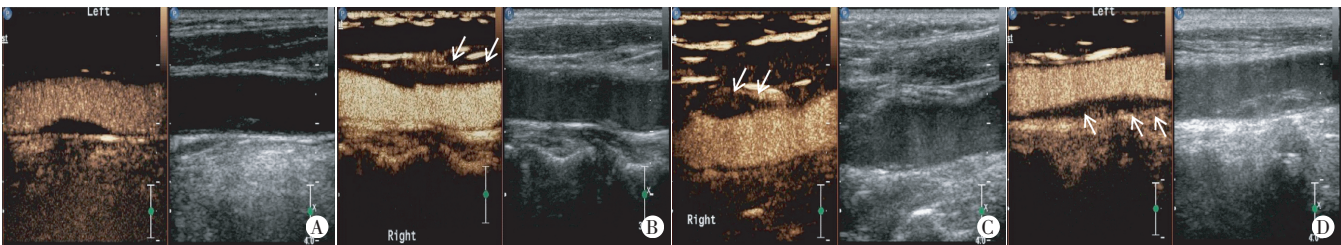


图1 斑块内新生血管分级的超声造影图
A:1级,斑块内及基底部无造影剂增强;B:2级,斑块基底部滋养血管壁造影剂增强(箭头示);C:3级,斑块基底部及肩部均见造影剂增强(箭头示);D:4级,斑块内广泛且弥散的造影剂增强(箭头示)

表1 各组一般资料比较

组别	性别(女/男)	年龄(岁)	收缩压(mm Hg)	舒张压(mm Hg)	糖尿病(例)	高血压病(例)	脑梗死(例)
A组	11/49	63.5±10.0	131.0±21.5	82.2±10.8	16	22	18
B组	8/36	66.7±10.8	139.7±17.9	85.4±12.3	19	25	15
C组	4/24	64.9±9.5	141.6±19.0	80.2±12.8	11	16	16
χ^2 值	0.24	3.70	0.00	1.70	3.40	5.40	6.30
P值	0.89	0.15	0.99	0.41	0.19	0.07	0.04

1 mm Hg=0.133 kPa

表2 各组循环血中WBC、NE、LY、NLR比较($\bar{x}\pm s$)

项目	WBC($\times 10^9/L$)	NE($\times 10^9/L$)	LY($\times 10^9/L$)	NLR
A组	6.3±1.9	3.4±1.5	2.2±1.0	1.7±1.0
B组	6.7±1.9	4.5±1.3 [#]	1.6±0.6	3.1±1.2 [#]
C组	7.8±2.2 [#]	5.9±2.1 [#]	1.2±0.4 ^{#△}	5.6±3.3 ^{#△}
χ^2 值	9.0	39.2	34.3	75.1
P	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

与A组比较,[#] $P<0.01$;与B组比较,[△] $P<0.01$ 。WBC:白细胞计数;NE:中性粒细胞计数;LY:淋巴细胞计数;NLR:中性粒细胞与淋巴细胞计数比值

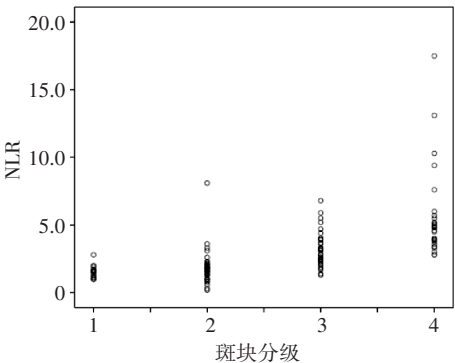


图2 斑块的超声造影分级与NLR的相关性散点图

表3 循环血WBC、NE、LY及NLR对斑块超声造影分级的影响

自变量	标准回归系数 β	标准误	Wald χ^2 值	95%可信区间	P值
WBC	-0.27	0.38	0.59	-0.97~0.43	0.44
NE	0.62	0.41	2.24	-0.19~1.42	0.14
LY	0.27	0.48	0.32	-0.67~1.21	0.57
NLR	1.08	0.28	14.76	0.53~1.63	<0.01

WBC:白细胞计数;NE:中性粒细胞计数;LY:淋巴细胞计数;NLR:中性粒细胞/淋巴细胞计数比

讨论

动脉粥样硬化斑块中的易损斑块是心脑血管事件发生的重要致病因素之一^[7]。既往研究^[8]表明,斑块内炎症反应和斑块内新生血管形成是其易损性的重要病理学特征。斑块内炎症反应可反映全身炎症状态^[5]。因此,探讨反映全身炎症状态的指标NLR与斑块易损性的关系,对预警心脑血管事件意义重大。本研究旨在探讨超声造影半定量评估颈动脉斑块内新生血管与循环血中NLR的相关性。

超声造影作为无创检测斑块内新生血管的重要手段之一,可提示并评估斑块的易损性^[4]。Schmidt等^[3]应用颈动脉斑块超声造影与颈动脉内膜剥脱术所剥脱的斑块免疫组化染色进行对比研究,结果发现斑块内超声造影显影增强位置与免疫组化染色显示的新生血管位置呈正相关。本研究结果发现,C组28例受试者中,有16例为脑梗死患者,其脑梗死比例高于A组和B组,提示斑块内新生血管分级越高,斑块易损性越大,则脑血管事件发生率越高。这可能是由于斑块内新生血管发育不成熟,当机体处于炎症状态时,循环血中的炎症、免疫细胞等可通过新生血管的运输作用,进入到斑块内部,产生炎症、免疫反应,进而促使斑块内新生血管形成,增加其易损性^[9]。

循环血中的WBC、NE、LY及NLR等指标在一定程度上可反映全身及斑块局部炎症的状态。NLR作

为一种敏感性较高的炎症指标,在肿瘤、心血管、类风湿性疾病等的诊断中广泛应用^[10]。本研究结果表明,当颈动脉斑块超声造影的新生血管分级越高,其循环血中的 WBC、NE 和 NLR 越高,而 LY 越低,提示受试者机体炎症状态与斑块易损性密切相关。分析原因:一方面可能是 NE 在被激活后可以释放如基质金属蛋白酶、髓过氧化物酶及弹性蛋白酶等,这些酶可溶解斑块的纤维帽,使斑块易损破裂^[11-12];另一方面,NE 具有肾上腺素受体效能,受相应的交感神经调节其数量及功能^[13],而 LY 具有胆碱能受体效能,受相应的副交感神经调节其数量及功能^[5]。因此,NLR 可反映自主神经系统平衡状态,若自主神经系统失衡可加速动脉粥样硬化的进展^[14]。本研究结果还发现,NLR 可作为影响颈动脉斑块超声造影新生血管分级的独立危险因素,进而影响斑块的易损性,这与 Li 等^[15]研究结果一致。值得一提的是,本研究还发现 NLR 每增加 1.08,斑块内新生血管分级增加一级,提示应用超声造影半定量视觉评估斑块内新生血管时,应结合 NLR 对斑块内新生血管分级进行适当调整。

本研究的不足:①纳入研究的样本量有限,可能对研究结果造成一定的影响;②颈动脉斑块的超声造影半定量视觉分级存在一定的主观性,可能使研究结果有一定的偏差;③研究未深入分析受试者的脑梗死分型及身高、体质量,以及服用降压、降糖等药物等对斑块超声造影分级或 NLR 的影响。

综上所述,NLR 是影响颈动脉斑块超声造影分级的独立危险因素。应用超声造影技术对颈动脉斑块内新生血管的进行半定量分析,评估斑块的易损性时,结合血 NLR 变化水平,可以更加准确评价识别易损斑块,具有重要的临床应用价值。

参考文献

- [1] Zhou M, Wang H, Zeng X, et al. Mortality, morbidity, and risk factors in China and its provinces, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017[J]. *Lancet*, 2019, 394(10204):1145–1158.
- [2] Ammirati E, Moroni F, Norata GD, et al. Markers of inflammation associated with plaque progression and instability in patients with carotid atherosclerosis [J]. *Mediators Inflamm*, 2015; 718329. doi: 10.1155/2015/718329.
- [3] Schmidt C, Fischer T, Rückert RI, et al. Identification of neovascularization by contrast-enhanced ultrasound to detect unstable carotid stenosis[J]. *PLoS One*, 2017, 12(4):e0175331.
- [4] Hoogi A, Adam D, Hoffman A, et al. Carotid plaque vulnerability: quantification of neovascularization on contrast-enhanced ultrasound with histopathologic correlation[J]. *Am J Roentgenol*, 2011, 196(2): 431–436.
- [5] Corriere T, Di Marca S, Cataudella E, et al. Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio is a strong predictor of atherosclerotic carotid plaques in older adults[J]. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2018, 28(1): 23–27.
- [6] Huang PT, Chen CC, Aronow WS, et al. Assessment of neovascularization within carotid plaques in patients with ischemic stroke[J]. *World J Cardiol*, 2010, 2(4):89–97.
- [7] 冯立群. 评估颈动脉粥样硬化易损斑块探索缺血性脑卒中分层处理[J]. *血管与腔内血管外科杂志*, 2016, 2(4):284–285.
- [8] Herrington W, Lacey B, Sherliker P, et al. Epidemiology of atherosclerosis and the potential to reduce the global burden of atherothrombotic disease[J]. *Circ Res*, 2016, 118(4):535–546.
- [9] Stenmark KR, Yeager ME, El Kasmī KC, et al. The adventitia: essential regulator of vascular wall structure and function [J]. *Annu Rev Physiol*, 2013, 75(11):23–47.
- [10] Chandrashekar S, Mukhtar Ahmad M, Renuka P, et al. Characterization of neutrophil-to-lymphocyte ratio as a measure of inflammation in rheumatoid arthritis[J]. *Int J Rheum Dis*, 2017, 20(10):1457–1467.
- [11] Carbone F, Mach F, Montecucco F. Update on the role of neutrophils in atherosclerotic plaque vulnerability [J]. *Curr Drug Targets*, 2015, 16(4):321–333.
- [12] Douglas GR, Brown AJ, Gillard JH, et al. Impact of fiber structure on the material stability and rupture mechanisms of coronary atherosclerotic plaques [J]. *Ann Biomed Eng*, 2017, 45(6): 1462–1474.
- [13] Abo T, Kawamura T. Immunomodulation by the autonomic nervous system: therapeutic approach for cancer, collagen diseases, and inflammatory bowel diseases[J]. *Ther Apher*, 2002, 6(5):348–357.
- [14] Kadoya M, Koyama H, Kurajoh M, et al. Sleep, cardiac autonomic function, and carotid atherosclerosis in patients with cardiovascular risks: HSCAA study[J]. *Atherosclerosis*, 2015, 238(2):409–414.
- [15] Li Z, Bai Y, Li W, et al. Carotid vulnerable plaques are associated with circulating leukocytes in acute ischemic stroke patients: an clinical study based on contrast-enhanced ultrasound [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):8849.

(收稿日期:2019-07-20)