

• 短篇论著 •

血清 IL-33、NOX4 联合检测对急性脑出血患者的预后评估价值*

柴 祥¹, 熊建平¹, 郑宏伟¹, 王嗣嵩¹, 罗 磊¹, 罗永川^{2△}

1. 三六三医院神经外科, 四川成都 610041; 2. 自贡市第一人民医院神经外科, 四川自贡 643030

摘要:目的 探究血清白细胞介素(IL)-33、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶 4(NOX4)联合检测对急性脑出血(ACH)患者的预后评估价值。方法 选取 2018 年 1 月至 2023 年 1 月三六三医院收治的 ACH 患者 110 例为 ACH 组, 同期体检健康者 110 例为对照组。ACH 组患者经治疗后统计其预后情况, 根据预后分为预后良好组(71 例)和预后不良组(39 例)。采用酶联免疫吸附试验检测血清中 IL-33 与 NOX4 水平, 采用多因素 Logistic 回归分析 ACH 患者预后不良的影响因素, 采用受试者工作特征(ROC)曲线分析血清中 IL-33、NOX4 水平对 ACH 患者预后的预测价值。结果 ACH 组血清 IL-33、NOX4 水平明显高于对照组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 预后不良组美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)评分、血清 IL-33、NOX4 水平高于预后良好组, 入院时格拉斯哥昏迷量表(GCS)评分低于预后良好组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 多因素 Logistic 回归分析结果显示, IL-33、NOX4 水平升高均是影响 ACH 患者预后不良的独立因素($OR = 1.495, 1.523$, 均 $P < 0.05$); 血清 IL-33、NOX4 及联合预测 ACH 患者预后不良的曲线下面积分别为 0.848(95%CI 0.767~0.909)、0.767(95%CI 0.677~0.843)、0.891(95%CI 0.817~0.942), 联合诊断优于各指标单独诊断($Z_{IL-33} = 1.978, Z_{NOX4} = 2.485$, 均 $P < 0.05$)。结论 IL-33、NOX4 水平在 ACH 患者及其预后不良患者血清中均升高, 二者对 ACH 患者预后不良发生具有一定的预测价值, 且二者联合检测优于各指标单独检测。

关键词:白细胞介素-33; 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶 4; 急性脑出血; 预后

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2024.20.024

中图法分类号:R743.3

文章编号:1673-4130(2024)20-2546-04

文献标志码:A

当大脑部分的血液供应中断或减少时, 就会发生脑卒中, 其特点是发病率高、残疾率高、病死率高、复发率高^[1]。在卒中疾病中, 急性脑出血(ACH)是发病率和致死率最高的亚型之一, 占有脑卒中疾病的 15%~20%, 严重影响患者的生活质量, 给家庭和社会带来沉重的经济负担^[2]。目前缺少准确、高效的生物标志物用于评估 ACH 患者预后。免疫炎症反应在 ACH 的病理机制中起着至关重要的作用。白细胞介素(IL)-33 是 IL-1 家族的一员, 是一种重要的促炎细胞因子, 可调节先天免疫应答。研究发现, IL-33 在动脉瘤性蛛网膜下腔出血患者血清中高表达, 可作为患者短期预后的标志物^[3]。CHEN 等^[4]研究表明, 血清 IL-33 是急性缺血性卒中出血转化和结果的新型预测生物标志物。烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶 4(NOX4)在缺血或出血损伤脑组织的神经元、星形胶质细胞、小胶质细胞和血管内皮细胞中水平升高^[5]。血清 NOX4 水平与出血严重程度密切相关, 与出血性卒中后迟发性脑缺血和不良临床结局独立相关, 血清 NOX4 是动脉瘤性蛛网膜下腔出血的有前途的预后生物标志物^[6]。然而 ACH 患者血清 IL-33、NOX4 水平与预后不良的关系尚不清楚, 本研究对此展开探讨。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2018 年 1 月至 2023 年 1 月三

六三医院收治的 ACH 患者 110 例为 ACH 组, 同期体检健康者 110 例为对照组。ACH 组中男 51 例, 女 59 例; 年龄 < 60 岁 57 例, ≥ 60 岁 53 例; 对照组中男 54 例, 女 56 例; 年龄 < 60 岁 52 例, ≥ 60 岁 58 例。ACH 组和对照组性别、年龄比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 具有可比性。ACH 患者纳入标准: (1)符合《中国脑出血诊治指南(2019)》中 ACH 的诊断标准^[7]; (2)颅脑磁共振成像和电子计算机断层扫描确诊为 ACH。排除标准: (1)年龄 < 18 岁; (2)合并有恶性肿瘤; (3)患有传染性及代谢性疾病; (4)继发性脑出血。本研究经三六三医院伦理委员会批准的方案进行。

1.2 方法

1.2.1 收集资料 收集研究对象的性别、年龄、疾病史、出血部位、出血破入脑室、发病至手术时间、颅内血肿量等一般资料。ACH 患者入院时进行格拉斯哥昏迷量表(GCS)评分^[8]和美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)评分。

1.2.2 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 IL-33、NOX4 水平 在禁食 1 夜后, 于清晨空腹收集研究对象的静脉血。将血样收集在缺乏肝素的真空采血管中, 并以 3 000 r/min 离心 10 min 分离血清。将上清液分成 100 μ L 等分试样, 并用 Forma 89000 系列立

* 基金项目: 成都市卫生健康委员会 2022 年成都市医学科研项目(2022110)。

△ 通信作者, E-mail: piaoyue001@163.com。

式超低温冰箱(广州东锐科技有限公司)储存直至处理。ELISA 检测血清 IL-33、NOX4 水平。所有样品至少重复 3 次。IL-33 ELISA 试剂盒(AZ0064)购北京普利莱(APPLYGEN)基因技术有限公司; NOX4 ELISA 试剂盒(BY-hlk1826)购自上海白益生物科技有限公司。

1.2.3 预后评估 对患者进行为期 6 个月的随访, 根据 GCS 评分^[9]对患者进行预后评估。根据预后将 ACH 患者分为预后良好组(GCS 评分>4 分)71 例和预后不良组(GCS 评分≤4 分)39 例。

1.3 统计学处理 采用 SPSS25.0 软件对数据进行处理和分析。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验; 计数资料以例数和百分率表示, 组间比较采用 χ^2 检验; 采用多因素 Logistic 回归分析 ACH 患者预后不良的影响因素; 采用受试者工作特征(ROC)曲线分析血清中 IL-33、NOX4 水平对 ACH 患者预后的诊断价值。

2 结 果

2.1 ACH 组和对照组血清中 IL-33、NOX4 水平比较 ACH 组血清 IL-33、NOX4 水平明显高于对照组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$), 见表 1。

表 1 ACH 组和对照组血清中 IL-33、NOX4 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	IL-33(pg/mL)	NOX4(ng/mL)
对照组	110	19.85±5.16	5.87±1.23
ACH 组	110	48.21±7.39	16.97±2.84
<i>t</i>		33.001	37.616
<i>P</i>		<0.001	<0.001

2.2 预后良好组和预后不良组临床资料比较 预后良好组和预后不良组性别、年龄、疾病史、出血部位、出血破入脑室、发病至手术时间、颅内血肿量比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。预后不良组 NIHSS 评分、血清 IL-33、NOX4 水平高于预后良好组, 入院时 GCS 评分低于预后良好组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 多因素 Logistic 回归分析 ACH 患者预后不良的影响因素 ACH 患者预后情况(预后不良=1、预后良好=0)作为因变量, NIHSS 评分、入院时 GCS 评分、IL-33、NOX4 水平为自变量(实测值), 经多因素 Logistic 回归分析结果显示, IL-33、NOX4 水平升高均是影响 ACH 患者预后不良的影响因素($OR =$

1.495、1.523, 均 $P < 0.05$)。见表 3。

2.4 血清中 IL-33、NOX4 水平对 ACH 患者预后不良的预测价值 以血清 IL-33、NOX4 水平为检验变量, 以 ACH 患者预后不良为状态变量绘制 ROC 曲线。ROC 曲线结果显示, 血清中 IL-33 诊断预后不良发生的曲线下面积(AUC)为 0.848(95%CI 0.767~0.909), 灵敏度为 71.79%, 特异度为 95.77%, 最佳临界值为 55.05 pg/mL; NOX4 诊断预后不良发生的 AUC 为 0.767(95%CI 0.677~0.843), 灵敏度为 56.41%, 特异度为 94.37%, 最佳临界值为 20.46 ng/mL; 二者联合检测的 AUC 为 0.891(95%CI 0.817~0.942), 联合诊断优于各指标单独诊断($Z_{IL-33} = 1.978$ 、 $Z_{NOX4} = 2.485$, 均 $P < 0.05$), 灵敏度为 84.62%, 特异度为 87.32%。见表 4。

表 2 预后良好组和预后不良组临床资料比较 [*n*(%)或 $\bar{x} \pm s$]

项目	预后良好组 (<i>n</i> =71)	预后不良组 (<i>n</i> =39)	χ^2/t	<i>P</i>
性别			2.452	0.117
男	29(40.85)	22(56.41)		
女	42(59.15)	17(43.59)		
年龄(岁)			0.100	0.752
<60	36(50.70)	21(53.85)		
≥60	35(49.30)	18(46.15)		
疾病史				
高血压	35(49.30)	16(41.03)	0.692	0.405
糖尿病	16(22.54)	12(30.77)	0.899	0.343
高脂血症	20(28.16)	12(28.20)	0.083	0.774
出血部位			0.742	0.690
基底节	37(52.11)	17(43.59)		
脑室内	19(26.76)	12(30.77)		
脑叶内	15(21.13)	10(25.64)		
出血破入脑室	8(11.27)	9(23.08)	2.687	0.101
发病至手术时间(h)	4.37±0.68	4.51±0.72	1.012	0.314
颅内血肿量(mL)	48.93±8.65	53.27±9.36	2.445	0.016
NIHSS 评分(分)	12.19±2.08	15.34±2.67	6.857	<0.001
入院时 GCS 评分(分)	12.78±2.14	9.86±1.89	7.127	<0.001
IL-33(pg/mL)	40.75±10.06	61.79±15.78	8.528	<0.001
NOX4(ng/mL)	14.28±3.97	21.87±6.23	7.794	<0.001

表 3 影响 ACH 患者预后不良的多因素 Logistic 分析

因素	β	SE	Wald χ^2	<i>P</i>	OR	95%CI
NIHSS 评分	0.252	0.143	3.113	0.077	1.287	0.972~1.703
入院时 GCS 评分	0.281	0.156	3.237	0.072	1.324	0.975~1.798
IL-33	0.402	0.139	8.369	0.004	1.495	1.139~1.963
NOX4	0.421	0.148	8.080	0.004	1.523	1.140~2.036

表 4 IL-33、NOX4 水平对 ACH 患者预后不良的预测价值

因素	AUC	灵敏度(%)	特异度(%)	95%CI	最佳临界值	P
IL-33	0.848	71.79	95.77	0.767~0.909	55.05 pg/mL	<0.001
NOX4	0.767	56.41	94.37	0.677~0.843	20.46 ng/mL	<0.001
二者联合	0.891	84.62	87.32	0.817~0.942	—	<0.001

注：—为此项无数据。

3 讨 论

ACH 是一种原发性非创伤性脑出血, 占所有脑卒中的 15%~20%, 死亡率高达 30%。迄今为止, 尚未开发出有效降低 ACH 死亡率的特定治疗方法^[10]。在 ACH 中, 脑组织暴露于血液成分会导致受损大脑中炎症细胞(如中性粒细胞、单核细胞和活化小胶质细胞)迅速增加, 这些促炎细胞释放并产生活性氧(ROS)、细胞因子和趋化因子, 致使脑卒中后发生严重不良反应^[11]。因此, 检测血清中炎症因子、氧化相关细胞因子水平可用来评估 ACH 患者预后不良。

ACH 会引起明显的炎症, 从而加重神经损伤。IL-33 是 IL-1 家族中新发现的成员, 与其受体 ST2 结合已被证实参与银屑病等各种炎症性疾病的发生发展^[12]。研究发现在 ACH 发生后, IL-33 水平以时间依赖性方式升高^[13]。IL-33 水平在老年急性脑梗死患者血清中升高, 并与 NIHSS 评分密切相关^[14]。孙军等^[15]研究表明, IL-33 水平升高是颅内复杂动脉瘤患者预后不良的独立影响因素。NIHSS 评分在临床上常用作预测 ACH 患者预后的指标, 但评分因带有主观性质, 影响结果可信度。本研究发现, 在 ACH 患者血清中 IL-33 水平升高, ACH 患者预后不良发生率为 35.45%, ACH 患者预后不良风险高, 需要高度重视。此外本研究发现, 预后不良组血清 IL-33 水平高于预后良好组, 多因素 Logistic 回归分析结果显示, IL-33 水平升高是 ACH 患者预后不良的影响因素, 且对 ACH 患者预后不良发生具有一定的诊断价值。提示, IL-33 在临床上可用作诊断患者预后不良的潜在指标。

氧化应激是 ACH 后神经元死亡的重要因素。NOX4 是 NOX 家族的一个主要亚型基因, 可促进分子氧转化为不同的 ROS, 也负责 ROS 的产生, 并在神经元、血管内皮细胞、星形胶质细胞和小胶质细胞中广泛表达, 在氧化应激的形成中发挥重要作用, 同时被认为是缺血性卒中神经退行性病变的主要来源^[16]。有研究表明, NOX4 与继发性脑损伤有关, 包括急性缺血性脑卒中、自发性脑出血和动脉瘤性蛛网膜下腔出血^[17-19]。此外, 抑制 NOX4 可以减弱氧化应激, 从而抑制动脉瘤性蛛网膜下腔出血、缺血性卒中或脑缺血/再灌注损伤后大鼠的脑炎症、神经元凋亡和改善血脑屏障的通透性^[17-18, 20]。因此, 笔者假设 NOX4 可能是 ACH 的潜在预后生物标志物。本研究发现, 在 ACH 患者血清中 NOX4 水平升高, ACH 患者预后不良组血清 NOX4 水平高于预后良好组, 多因素 Logis-

tic 回归分析结果显示, NOX4 水平升高是 ACH 患者预后不良的影响因素, 且对 ACH 患者预后不良发生具有一定的诊断价值。血清 IL-33、NOX4 及联合预测 ACH 患者预后不良的 AUC 分别为 0.848(95%CI 0.767~0.909)、0.767(95%CI 0.677~0.843)、0.891(95%CI 0.817~0.942), 灵敏度分别为 71.79%、56.41%、84.62%, 特异度分别为 95.77%、94.37%、87.32%, 联合诊断优于各指标单独诊断($Z_{IL-33}=1.978, Z_{NOX4}=2.485$, 均 $P<0.05$)。

综上所述, 在 ACH 患者血清中 IL-33、NOX4 水平升高, 预后不良组血清 IL-33、NOX4 水平高于预后良好组, IL-33、NOX4 水平升高均是 ACH 患者预后不良的影响因素, 二者对 ACH 患者预后不良发生具有一定的诊断价值, 且二者联合诊断优于各指标单独诊断。血清中 IL-33、NOX4 水平可作为预测 ACH 患者预后不良的潜在指标。但本研究依然存在不足之处, IL-33、NOX4 参与 ACH 疾病的发生发展的具体作用机制仍需 in 细胞和动物实验中进一步的阐明, 这也是后续研究内容。

参考文献

[1] ZHOU Z R, ZHAO Y H, SUN R, et al. Effects of Xingnaojing on serum high-sensitivity C-reactive protein and neuron-specific enolase in patients with acute cerebral hemorrhage: a protocol of systematic review and meta-analysis[J]. Medicine (Baltimore), 2020, 99(45): e21379-e21382.

[2] ZHOU T, LI T, ZHU L, et al. Comparing the efficacy and safety of the Skyflow device with those of the Solitaire FR stent in patients with acute ischemic stroke: a prospective, multicenter, randomized, non-inferiority clinical trial [J]. J Neurointerv Surg, 2022, 14(11): 1130-1134.

[3] 曹兵, 丁奇, 刘熙鹏, 等. 血清 IL-33 和 netrin-1 对动脉瘤性蛛网膜下腔出血手术治疗患者短期预后的临床价值 [J]. 西部医学, 2022, 34(6): 866-870.

[4] CHEN Z, HU Q, HUO Y, et al. Serum interleukin-33 is a novel predictive biomarker of hemorrhage transformation and outcome in acute ischemic stroke[J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2021, 30(2): 105506-105512.

[5] 巩鹤松, 刘曼嘉, 赵晓春. Nox4/Nrf2 通路在小鼠海马神经细胞出血损伤中的作用[J]. 解剖科学进展, 2020, 26(4): 458-461.

[6] PAN J, LAO L, SHEN J, et al. Utility of serum NOX4 as a potential prognostic biomarker for aneurysmal subarachnoid hemorrhage[J]. Clin Chim Acta, 2021, 517(1):

- 9-14.
- [7] 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. 中国脑出血诊治指南(2019)[J]. 中华神经科杂志, 2019, 52(12): 994-1005.
- [8] 杨培娜, 李凡, 王亮亮. 血清 NPY EPO 在早产儿脑损伤诊断及严重程度评估中的价值[J]. 临床心身疾病杂志, 2022, 28(4): 110-113.
- [9] 薛笑仙, 杨清成, 张建刚. 血清 PTX3、Cav-1 与急性脑出血患者病情及预后的关系[J]. 河南医学研究, 2023, 32(17): 3169-3172.
- [10] ZOU Y, ZHANG W, HUANG C, et al. Clinical significance of neutrophil to lymphocyte ratio and platelet to lymphocyte ratio in acute cerebral hemorrhage with gastrointestinal hemorrhage, and logistic regression analysis of risk factors[J]. Exp Ther Med, 2019, 18(3): 1533-1538.
- [11] ZHENG G R, CHEN B, SHEN J, et al. Serum myeloperoxidase concentrations for outcome prediction in acute intracerebral hemorrhage[J]. Clin Chim Acta, 2018, 487(1): 330-336.
- [12] ZHOU X, HU Y, LIU L, et al. IL-33-mediated activation of mast cells is involved in the progression of imiquimod-induced psoriasis-like dermatitis[J]. Cell Commun Signal, 2023, 21(1): 52-63.
- [13] ZHENG P, XIU Y, CHEN Z, et al. Group 2 innate lymphoid cells resolve neuroinflammation following cerebral ischaemia[J]. Stroke Vasc Neurol, 2023, 8(5): 424-434.
- [14] 李星, 张保朝, 赵伟, 等. 老年急性脑梗死病人血清 IL-33 水平变化及其与病情严重程度的相关性研究[J]. 中西医结合
- 结合心脑血管病杂志, 2020, 18(17): 2892-2894.
- [15] 孙军, 张丽阳, 高军, 等. 血清 RDW、CRP 及 IL-33 对颅内复杂动脉瘤患者血流导向装置治疗短期预后的预测价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2022, 14(12): 2064-2067.
- [16] ZHU Y, NI T, LIN J, et al. Long non-coding RNA H19, a negative regulator of microRNA-148b-3p, participates in hypoxia stress in human hepatic sinusoidal endothelial cells via NOX4 and eNOS/NO signaling[J]. Biochimie, 2019, 163(1): 128-136.
- [17] SHEN J, LI G, ZHU Y, et al. Foxo1-induced miR-92b down-regulation promotes blood-brain barrier damage after ischaemic stroke by targeting NOX4[J]. J Cell Mol Med, 2021, 25(11): 5269-5282.
- [18] XIE J, LV H, LIU X, et al. Nox4-and Tf/TfR-mediated peroxidation and iron overload exacerbate neuronal ferroptosis after intracerebral hemorrhage; involvement of EAAT3 dysfunction[J]. Free Radic Biol Med, 2023, 199(1): 67-80.
- [19] 刘备, 李小芳, 张彪, 等. 血清 Melatonin、NOX4 水平在动脉瘤性蛛网膜下腔出血患者预后评估中的应用[J]. 标记免疫分析与临床, 2021, 28(12): 2116-2120.
- [20] ZHANG T, HAN H, ZHOU Y, et al. MicroRNA-454 modulates the oxidative stress and neuronal apoptosis after cerebral ischemia/reperfusion injury via targeting NADPH oxidase 4 (NOX4)[J]. J Biochem Mol Toxicol, 2022, 36(10): e23153-23162.

(收稿日期: 2024-02-23 修回日期: 2024-06-29)

• 短篇论著 •

血清 HIF-1 α 、P2X7R 联合高频超声对慢性痛风性关节炎的诊断价值分析

谭 静¹, 舒志成^{2 Δ}

1. 武汉市第九医院超声科, 湖北武汉 430000; 2. 华润武钢总医院超声科, 湖北武汉 430000

摘要:目的 探讨高频超声联合缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)、嘌呤能离子通道型受体 7(P2X7R)在慢性痛风性关节炎(GA)中的诊断价值。方法 选取 2019 年 1 月至 2022 年 7 月武汉市第九医院收治的 98 例慢性 GA 患者为观察组,另选取同期在该院就诊的 86 例非 GA 患者作为对照组。采用酶联免疫吸附试验检测血清 HIF-1 α 、P2X7R 水平,分析血清 HIF-1 α 和 P2X7R、高频超声检查对 GA 的诊断效能。结果 观察组血清 HIF-1 α 、P2X7R 水平明显高于对照组($P < 0.05$);相关性分析显示,GA 患者血清 HIF-1 α 、P2X7R 均与点状强回声、“双轨”征、滑膜增厚征呈正相关($P < 0.05$),与非均匀回声结节、关节腔积液无明显相关性($P > 0.05$);受试者工作特征曲线结果显示,HIF-1 α 、P2X7R 诊断 GA 的曲线下面积分别为 0.882、0.881;高频超声诊断 GA 与临床诊断一致性较高($Kappa = 0.685, P < 0.05$);高频超声联合血清 HIF-1 α 、P2X7R 诊断 GA 的准确率为 89.67%,与临床诊断一致性较好($Kappa = 0.791, P < 0.05$),与高频超声、HIF-1 α 和 P2X7R 单独诊断比较,三者联合诊断 GA 的效能更高。结论 慢性 GA 患者血清 HIF-1 α 、P2X7R 水平升高,其联合高频超声诊断慢性 GA 具有较高的效能。

关键词:慢性痛风性关节炎; 高频超声; 缺氧诱导因子-1 α ; 嘌呤能离子通道型受体 7

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2024.20.025

中图法分类号:R445.1;R589.7

文章编号:1673-4130(2024)20-2549-05

文献标志码:A

痛风性关节炎(GA)是由于机体嘌呤代谢异常引

起尿酸水平超出正常范围,单钠尿酸盐(MSU)过量