

❖ 心脏、血管影像学

CEUS in quantitative evaluation of vulnerable plaques in patients with large artery atherosclerosis stroke: Correlation with leukocytes

LI Zhaojun¹, BAI Yun¹, LI Wanbin¹, GAO Feng¹, KUANG Yi¹,DU Lianfang¹, LUO Xianghong^{2*}

(1. Department of Ultrasound, 2. Echocardiography Division, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200080, China)

[Abstract] **Objective** To observe the correlation between CEUS quantitative parameters of carotid plaques and leukocytes in patients with acute ischemic stroke. **Methods** Sixty-two patients with large artery atherosclerosis stroke (LAAS group) confirmed by CT or MRI were enrolled, while 54 patients in the same period of hospitalization, age and gender-matched, no history of cardiovascular events with atherosclerosis were taken as control group. The correlation between CEUS quantitative parameters of carotid plaques and leukocytes in two groups were compared. Multiple linear regression model was built and the risk factors of CEUS quantitative parameters were analyzed. **Results** The total leukocytes count, neutrophils count and neutrophil/lymphocyte ratio in LAAS group were higher, while the lymphocytes count was lower than those in control group (all $P < 0.05$). CEUS parameters, including time-intensity curve (TIC) peak (TIC-P), mean (TIC-M), fitting curve (FC) peak (FC-P), sharpness (FC-S) and area under the curve (FC-AUC) of carotid plaques were higher than those in control group (all $P < 0.05$), while neutrophils count and neutrophil/lymphocyte ratio were positively correlated with FC-AUC ($r = 0.298$ and 0.739 , respectively; all $P < 0.05$). Total leukocytes count was independent risk factor of TIC-P, and neutrophil/lymphocyte ratio was independent risk factor of FC-AUC (all $P < 0.05$). **Conclusion** CEUS quantitative parameters of carotid plaques related to leukocytes count. Increased leukocytes or neutrophil/lymphocyte ratio might rise vulnerability of plaques.

[Key words] Ultrasonography; Contrast media; Plaque, atherosclerotic; Carotid arteries

DOI: 10.13929/j.1003-3289.201708002

CEUS 定量评估大动脉粥样硬化性脑卒中患者
易损斑块及其与循环血白细胞的相关性李朝军¹, 白云¹, 李万斌¹, 高峰¹,匡 祎¹, 杜联芳¹, 罗向红^{2*}

(1. 上海交通大学附属第一人民医院超声科, 2. 超声心动图室, 上海 200080)

[摘要] **目的** 分析急性缺血性脑卒中患者颈动脉斑块 CEUS 定量参数与循环血白细胞的相关性。**方法** 收集经头颅 CT 或 MR 证实的首发急性大动脉粥样硬化性脑卒中患者 62 例(LAAS 组), 选取同期住院且年龄、性别匹配, 无心脑血管事件发生史的动脉硬化患者 54 例为对照组。比较 2 组循环血白细胞指标与颈动脉斑块 CEUS 定量参数的相关性, 建

[基金项目] 上海市科学技术委员会医学引导类科技项目(15411969100、16411969300)、上海交通大学医工交叉研究基金(YG2015MS28)、上海市卫生和计划生育委员会基金(201440290、201640043)、促进市级医院临床技能与临床创新能力三年行动计划(16CR3105B)、上海交通大学医学院科技处技术转移推广项目(ZT201710、ZT201711)。

[第一作者] 李朝军(1975—), 男, 山西芮城人, 硕士, 副主任医师。研究方向: 心血管超声。E-mail: lzj_1975@sina.com

[通信作者] 罗向红, 上海交通大学附属第一人民医院超声心动图室, 200080。E-mail: lxh_20050703@sina.com

[收稿日期] 2017-08-01 **[修回日期]** 2017-11-01

立多元线性回归模型,分析 CEUS 定量参数的影响因素。**结果** LAAS 组总白细胞计数、中性粒细胞计数、中性粒细胞/淋巴细胞比均高于对照组,而淋巴细胞计数低于对照组(P 均 <0.05)。LAAS 组颈动脉斑块 CEUS 参数时间-强度曲线(TIC)峰值强度(TIC-P)、强度均值(TIC-M)、伽马拟合曲线(FC)峰值(FC-P)、锐度(FC-S)和曲线下面积(FC-AUC)均大于对照组(P 均 <0.05);且中性粒细胞计数和中性粒细胞/淋巴细胞比值与 FC-AUC 值相关($r=0.298, 0.739, P<0.05$)。总白细胞计数是 TIC-P 独立影响因素,中性粒细胞/淋巴细胞比是 FC-AUC 独立影响因素(P 均 <0.05)。**结论** 颈动脉斑块 CEUS 定量参数与循环血白细胞存在相关性。循环血白细胞计数增高或中性粒细胞/淋巴细胞比值增大可致斑块易损性增加。

[关键词] 超声检查;造影剂;斑块;动脉粥样硬化;颈动脉

[中图分类号] R543.4; R445.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003-3289(2018)02-0223-05

大动脉粥样硬化性脑卒中(large artery atherosclerosis stroke, LAAS)与颈动脉斑块易损性密切相关^[1],且斑块内炎性活动在 LAAS 的发生、发展及转归中扮演重要角色^[2]。最新“外向内”学说^[3]认为循环血内炎细胞通过新生血管蔓延,可导致斑块内炎性活动,循环血白细胞与斑块内新生血管(intraplaque neovascularization, IPN)可能具有相关性。本研究采用 CEUS 观察 LAAS 患者颈动脉 IPN,评价 CEUS 定量参数与循环血白细胞间的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性分析 2016 年 6 月—2017 年 6 月经头颅 CT 或 MRI 证实的首发 LAAS 患者 62 例(LAAS 组),男 48 例,女 14 例,年龄 53~80 岁,平均(67.7 ± 8.8)岁。入组标准:①首次发生脑梗死,且发病时间 <7 天;②斑块厚度 >2.0 mm,多个斑块时选择最大者;③无钙化或钙化较少;④脑卒中罹患血管同侧颈动脉斑块。排除标准:①造影剂禁忌证,如过敏,急性心内膜炎、急性心力衰竭及不稳定型心绞痛等;②短暂性脑缺血发作;③近期活动性出血史,或伴恶性肿瘤、血液病等。选取同期住院且年龄、性别匹配,无心脑血管事件发生史的动脉硬化患者 54 例为对照组,男 42 例,女 12 例,年龄 51~79 岁,平均(64.7 ± 6.7)岁。所有受检者检查当天停用降压药,禁止吸烟、饮酒或咖啡 24 h。本研究经我院医学伦理委员会批准,受检者均签署知情同意书。

1.2 仪器与方法 检查当天清晨空腹静脉采血,检测空腹血总白细胞、中性粒细胞和淋巴细胞计数,计算中性粒细胞/淋巴细胞比。

采用 Siemens Sequoia 512 和 S 2000 彩色多普勒超声诊断仪,探头 9L4,频率 5~9 MHz,内置高频超声造影技术,工作站内置 QontraXt 定量分析软件。

颈动脉超声检查^[4-5]:嘱受试者平卧静息 10 min。采用高频超声检查双侧颈总动脉、颈内动脉、颈外动脉及椎动脉,记录颈动脉斑块个数及分布范围,评估颈动

脉狭窄程度。随后选择优势斑块(斑块位于颈动脉窦部或颈内动脉起始部远侧壁)行 CEUS。造影模式设置:机械指数 0.06~0.08, CPS 增益 0 dB,焦点 2~3 cm。超声造影剂采用声诺维,经肘静脉注射 2.5 ml,随后注入 5 ml 生理盐水。连续采集 90 s 动态图像,存储供脱机分析。

1.3 CEUS 定量分析 参照 Li 等^[6]的研究方法,将 CEUS 动态图像导入 QontraXt 软件,由 1 名超声医师盲法观察图像,描记斑块感兴趣区,不确定时邀请另 1 名超声医师并协商达成一致意见,定量分析斑块时间-强度曲线(time-intensity curve, TIC)和 TIC 曲线的伽马拟合曲线(fitting curve, FC),记录 TIC 曲线中峰值强度(peak, TIC-P)及强度均值(mean, TIC-M),FC 曲线中峰值(peak, FC-P)、锐度(sharpness, FC-S)和曲线下面积(area under the curve, FC-AUC)。1 周后随机调取 10 例受试者的 CEUS 图像,重复测量 FC-P 和 FC-AUC,行重复性检验。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 13.0 统计分析软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用两样本 t 检验比较 2 组间循环血白细胞指标与 CEUS 诸参数。以 Blant-Altman 分析 CEUS 参数 FC-P 和 FC-AUC 的重复性。采用 Pearson 相关分析观察 CEUS 诸参数与循环血白细胞指标间的相关性。以 CEUS 诸参数为因变量,循环血白细胞各指标为自变量,行多元线性回归分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 循环血白细胞指标比较 LAAS 组总白细胞计数、中性粒细胞计数及中性粒细胞/淋巴细胞比均高于对照组,而淋巴细胞计数低于对照组(P 均 <0.05),见表 1。

2.2 颈动脉斑块 CEUS 参数比较 于所有受检者均成功获取 1 个优势斑块完成 CEUS 检查(图 1)。LAAS 组 TIC-P、TIC-M、FC-P、FC-S 和 FC-AUC 值均大于对照组(P 均 <0.05),见表 2。

2.3 颈动脉斑块 CEUS 参数与循环血白细胞指标的相关性 中性粒细胞计数与 FC-S、FC-AUC 值呈正相关($r=0.261, 0.298, P$ 均 <0.05)。淋巴细胞计数与 TIC-P、TIC-M、FC-P 值呈负相关($r=-0.291, -0.263, -0.270, P$ 均 <0.05)。中性粒细胞/淋巴细胞比与 FC-S、FC-AUC 值呈正相关($r=0.532, 0.739, P$ 均 <0.05)。

2.4 多因素析 多因素分析显示总白细胞计数是 TIC-P 的独立影响因素,中性粒细胞/淋巴细胞比是 FC-AUC 的独立影响因素(P 均 <0.05),见表 3。

2.5 重复性检验 Blant-Altman 分析显示 FC-P 和 FC-AUC 两次测值的差值与均值呈一致性改变(图 2)。

3 讨论

动脉粥样硬化斑块破裂是导致急性缺血性卒中的

主要病因^[7],而斑块内慢性炎症和 IPN 是易损斑块破裂的重要特征。循环血白细胞计数和中性粒细胞/淋巴细胞比值的变化可反映机体炎性状态,并与斑块内炎性活动相关,但与 IPN 的相关性尚未明确。分析斑块 IPN 与循环血白细胞间的相关性有利于进一步认识斑块内炎性活动机制,预警斑块易损性。既往“内向外”假说^[8]认为斑块内炎症的起因在于单核细胞黏附于内皮细胞,引发由内向外的炎性反应,而斑块内炎性状态和斑块易损性与循环血白细胞变化无相关性。本研究中 LAAS 组总白细胞计数、中性粒细胞计数和中性粒细胞/淋巴细胞比值均高于对照组,提示 LAAS 斑块易损性可能与循环血白细胞或中性粒细胞/淋巴细胞比值变化相关。外膜滋养血管是内外膜间沟通的主要途径,也是 IPN 的主要来源^[9]。研究^[10]表明,外

表 1 2 组循环血白细胞指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	总白细胞计数 ($\times 10^9/L$)	中性粒细胞计数 ($\times 10^9/L$)	淋巴细胞计数 ($\times 10^9/L$)	中性粒细胞/ 淋巴细胞比
LAAS 组($n=62$)	7.05 $\pm$ 2.33	4.59 $\pm$ 1.72	1.67 $\pm$ 0.54	2.59 $\pm$ 1.40
对照组($n=54$)	6.01 $\pm$ 1.82	3.71 $\pm$ 1.59	1.99 $\pm$ 0.91	2.11 $\pm$ 1.68
t 值	2.235	2.409	-1.929	4.479
P 值	0.028	0.018	0.047	<0.001

表 2 2 组颈动脉斑块 CEUS 参数比较($\bar{x} \pm s$)

组别	TIC-P(dB)	TIC-M(dB)	FC-P	FC-S(s^{-1})	FC-AUC
LAAS 组($n=62$)	55.08 $\pm$ 14.57	25.29 $\pm$ 8.89	25.24 $\pm$ 8.92	0.71 $\pm$ 0.27	17.22 $\pm$ 8.38
对照组($n=54$)	42.92 $\pm$ 14.63	21.88 $\pm$ 8.15	23.89 $\pm$ 8.09	0.20 $\pm$ 0.11	4.40 $\pm$ 1.97
t 值	9.628	1.986	1.995	8.489	7.292
P 值	<0.001	0.046	0.041	<0.001	<0.001

表 3 颈动脉斑块 CEUS 参数与危险因素的多元线性回归分析[回归系数(标准回归系数)]

项目	TIC-P	TIC-M	FC-P	FC-S	FC-AUC
总白细胞计数	3.99(0.66)	1.20(0.32)	1.25(0.33)	-0.01(-0.07)	1.00(0.31)
淋巴细胞计数	-6.56(-0.40)	-5.10(-0.51)	-4.97(-0.49)	2.83(0.93)	3.05(0.35)
中性粒细胞计数	-4.39(-3.82)	-0.80(-1.12)	-0.91(-1.26)	-0.85(-3.93)	-3.03(-4.86)
中性粒细胞/淋巴细胞比值	6.92(4.05)	1.33(1.26)	1.49(1.40)	1.47(4.59)	5.26(5.68)*

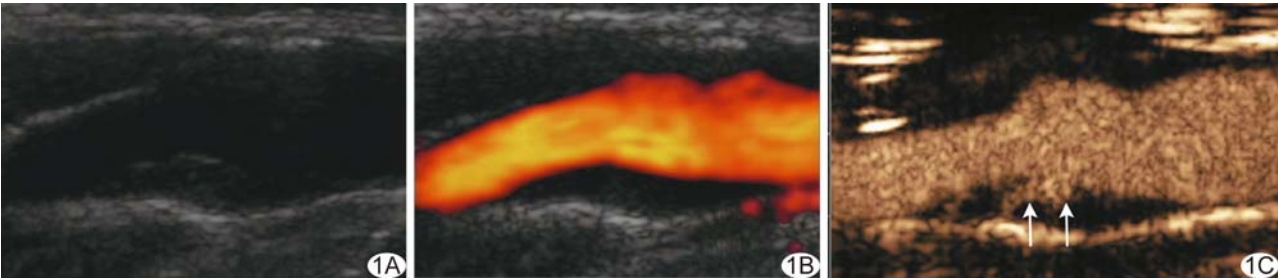


图 1 患者男,67 岁,大动脉粥样硬化性脑卒中,患侧颈动脉斑块声像图 A. 灰阶图; B. 能量图; C. CEUS 示斑块内新生血管(箭)

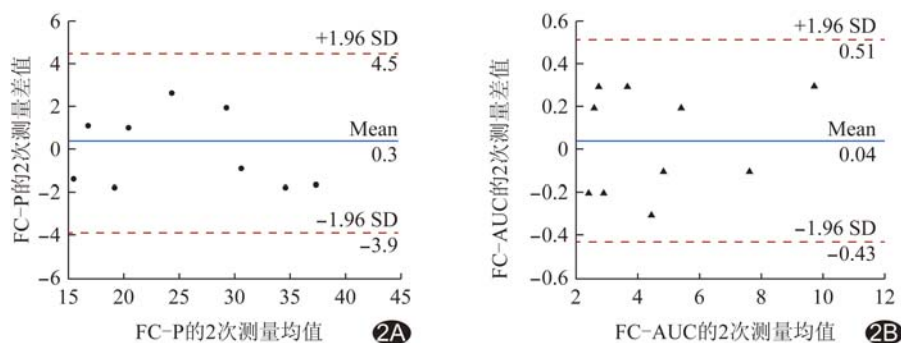


图 2 FC-P 和 FC-AUC 的 2 次测量 Bland-Altman 分析 A. FC-P 测量; B. FC-AUC 测量

膜也可能在斑块进展中发挥关键作用。依据新“外向内”学说^[11],斑块内炎性活动首先发生于外膜层,随后通过外膜滋养血管和 IPN 由外向内蔓延所致^[12],提示机体炎性状态可致斑块易损性增加。

斑块发生、发展和转归的中心环节是 IPN 形成。既往研究^[13]证实,CEUS 是定量评估动脉外膜滋养血管和 IPN 的有效手段。本研究中 LAAS 组颈动脉斑块 CEUS 定量参数均大于对照组,提示 LAAS 颈动脉斑块 IPN 增多,斑块稳定性差,发生心脑血管事件风险增加;分析原因,可能为斑块内新生血管细胞间隙大、基底膜不完整、平滑肌细胞少和发育不成熟而易出血,最终导致斑块破裂和发生心脑血管事件^[14]。声诺维为血池显像剂,其对比信号强度可反映组织微血管的多寡^[15]。目前评估 IPN 主要通过肉眼观察进行半定量分级,但斑块不同断面和直径小于 50 μm 的 IPN (视觉分辨率 $\geq 50 \mu\text{m}$) 均可影响斑块易损性的分级。基于计算机图像分析的 QontraXt 软件可定量检测 CEUS 的对比信号强度,其参数 TIC-P、TIC-M 和 FC-P 均可定量反映斑块内新生血管形成。本研究中 LAAS 组 TIC-P、TIC-M 和 FC-P 均高于对照组,提示 LAAS 斑块微血管密度相关^[16];反映组织血液灌注量的参数 FC-AUC 亦增高,提示斑块 IPN 增多,血液灌注量增大^[17]。本研究 1 周后随机调取 10 例受试者的 CEUS 图像,检验 FC-P 和 FC-AUC 的重复性,结果表明定量分析软件重复性好,其定量参数客观、准确^[15]。

外膜中新生滋养血管是抗原、细胞因子和趋化因子转运的通道,也是斑块内炎性活动和 IPN 形成的桥梁^[18],且外膜是淋巴组织和淋巴细胞积聚的主要部位。研究^[19]表明,外膜滋养血管与斑块内炎性活动密切相关。本研究发现中性粒细胞、淋巴细胞及中性粒细胞/淋巴细胞比与 CEUS 诸参数相关,提示斑块内炎性活动与循环血白细胞相关,为“外向内”学说提供

了新的证据。本研究还发现 LAAS 组增高的循环血总白细胞计数和中性粒细胞/淋巴细胞比是 CEUS 定量参数的独立影响因素,提示循环血白细胞计数增加或中性粒细胞/淋巴细胞比值增大可导致斑块内炎性活动,促进斑块 IPN 形成、易损性增加,最终导致脑血管事件风险增加^[20],提示通过动态观察循环血白细胞变化、定量准确检测 IPN

来评估斑块的稳定性有利于降低脑血管事件。

本研究的不足:样本量较少;未分型比较 LAAS 斑块破裂和非破裂;未分析斑块内炎性活动与循环血白细胞及白细胞分类间关系。

综上所述,CEUS 可评估颈动脉斑块的易损性,其定量参数与循环血白细胞和白细胞分类比例变化相关,有助于进一步认识斑块内炎性活动。循环血白细胞计数增加或中性粒细胞/淋巴细胞比增大可致斑块易损性增高。

[参考文献]

- [1] Li Z, Du L, Wang F, et al. Assessment of the arterial stiffness in patients with acute ischemic stroke using longitudinal elasticity modulus measurements obtained with shear wave elastography. *Med Ultrason*, 2016,18(2):182-189.
- [2] Schinkel AF, Kaspar M, Staub D. Contrast-enhanced ultrasound: Clinical applications in patients with atherosclerosis. *Int J Cardiovasc Imaging*, 2016,32(1):35-48.
- [3] Stenmark KR, Yeager M, El Karim EC, et al. The adventitia: Essential regulator of vascular wall structure and function. *Annu Rev Physiol*, 2013,75:23-47.
- [4] Li ZJ, Liu Y, Du LF, et al. Evaluating arterial stiffness in type 2 diabetes patients using ultrasonic radiofrequency. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*, 2016,36(3):442-448.
- [5] 李朝军,孙昌琴,陆萍,等.实时剪切波技术评价急性缺血性脑卒中患者颈动脉纵向弹性模量. *中国医学影像技术*, 2015,31(11):1648-1652.
- [6] Li Y, Zhu Y, Deng Y, et al. The therapeutic effect of bevacizumab on plaque neovascularization in a rabbit model of atherosclerosis during contrast-enhanced ultrasonography. *Sci Rep*, 2016,6:30417.
- [7] Luengo-Fernandez R, Gray AM, Rothwell PM. A population-based study of hospital care costs during 5 years after transient ischemic attack and stroke. *Stroke*, 2012,43(12):3343-3351.
- [8] Orekhov AN, Bobryshev YV, Sobenin IA, et al. Modified low

- density lipoprotein and lipoprotein-containing circulating immune complexes as diagnostic and prognostic biomarkers of atherosclerosis and type 1 diabetes macrovascular disease. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(7):12807-12841.
- [9] Xu J, Lu X, Shi GP. Vasa vasorum in atherosclerosis and clinical significance. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(5):11574-11608.
- [10] 孙杰, 邓又斌, 刘琨, 等. 超声造影定量评价动脉粥样硬化斑块新生血管及其与组织病理学的相关性. *中国医学影像技术*, 2013, 29(8):1233-1236.
- [11] Gjurich BN, Taghavi-Moghadam PL, Ley K, et al. L-selectin deficiency decreases aortic B1a and Breg subsets and promotes atherosclerosis. *Thromb Haemost*, 2014, 112(4):803-811.
- [12] Weiner SD, Ahmed HN, Jin Z, et al. Systemic inflammation and brachial artery endothelial function in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Heart*, 2014, 100(11):862-866.
- [13] Jaipersad AS, Shantsila A, Silverman S, et al. Evaluation of carotid plaque neovascularization using contrast ultrasound. *Angiology*, 2013, 64(6):447-450.
- [14] Wang SJ, Qu ZS, Zhang QD, et al. The serum levels of MMP-9, MMP-2 and vWF in patients with low doses of urokinase peritoneal dialysis decreased uremia complicated with cerebral infarction. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(8):13017-13027.
- [15] 李振洲, 任力杰, 邵玉凤, 等. CEUS 颈动脉斑块灌注模式与短暂性脑缺血发作患者脑卒中发病的关系. *中国医学影像技术*, 2017, 33(4):534-538.
- [16] Saito K, Nagatsuka K, Ishibashi-Ueda H, et al. Contrast-enhanced ultrasound for the evaluation of neovascularization in atherosclerotic carotid artery plaques. *Stroke*, 2014, 45(10):3073-3075.
- [17] van den Oord SC, Akkus Z, Renaud G, et al. Assessment of carotid atherosclerosis, intraplaque neovascularization, and plaque ulceration using quantitative contrast-enhanced ultrasound in asymptomatic patients with diabetes mellitus. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*, 2014, 15(11):1213-1218.
- [18] Meijles DN, Pagano PJ. Nox and inflammation in the vascular adventitia. *Hypertension*, 2016, 67(1):14-19.
- [19] Majesky MW, Horita H, Ostriker A, et al. Differentiated smooth muscle cells generate a subpopulation of resident vascular progenitor cells in the adventitia regulated by Klf4. *Circ Res*, 2017, 120(2):296-311.
- [20] Fang H, Jiang W, Cheng J, et al. Balancing innate immunity and inflammatory state via modulation of neutrophil function: A novel strategy to fight sepsis. *J Immunol Res*, 2015, 2015:187048.

《中国医学影像技术》被数据库收录情况

《中国医学影像技术》杂志是由中国科学院主管, 中国科学院声学研究所主办的国家级学术期刊, 被以下数据库收录:

中国精品科技期刊

《中文核心期刊要目总览》收录期刊

中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)

中国科学引文数据库核心期刊

WHO《西太平洋区医学索引》(WPRIM)来源期刊

荷兰《医学文摘》收录源期刊

英国《科学文摘》收录源期刊

俄罗斯《文摘杂志》收录源期刊

《日本科学技术振兴机构中国文献数据库》(JSTChina)收录期刊