

无症状性颈动脉狭窄患者血脑屏障通透性变化的研究

阴晓坤^{1,3}, 叶靖², 于海龙¹, 陈蓓蕾¹

摘要: **目的** 使用动脉自旋标记(ASL)灌注成像技术、动态对比增强磁共振成像(DCE-MRI)技术及人工智能脑结构分析平台,探讨无症状性颈动脉狭窄(ACAS)患者脑灌注、血脑屏障(BBB)通透性、灰质体积的变化及其相关性。**方法** 对纳入研究的40例ACAS患者进行MRI检查,通过ASL技术评估患者两侧大脑半球脑血流灌注的情况,通过DCE-MRI技术评估两侧大脑半球BBB通透性(用容积转运常数 K_{trans} 值表示)的变化,并通过人工智能脑结构分析平台计算颈动脉供血区域的灰质体积。将以上数据以及患者的临床资料进行统计分析和检验。**结果** 与对侧相比,ACAS患者颈动脉狭窄侧的脑灌注降低($P < 0.001$),且 K_{trans} 值升高($P < 0.05$)。除此之外,ACAS患者颈动脉狭窄侧大脑皮质灰质的体积小于对侧($P < 0.001$),其中颞叶、额叶、顶叶及岛叶灰质体积相比差异均具有统计学意义(均 $P < 0.05$)。相关性分析结果显示,ACAS患者颈动脉狭窄侧的 K_{trans} 值与CBF值之间具有负相关关系($r = -0.334, P < 0.05$)。**结论** ACAS患者存在狭窄侧颈动脉供血区的低灌注及BBB通透性增高,同时存在相应供血区的大脑皮质灰质体积的萎缩。且颈动脉狭窄侧的BBB通透性增高与低灌注有关。

关键词: 颈动脉狭窄; 磁共振成像; 血脑屏障; 脑低灌注; 脑萎缩

中图分类号:R743

文献标识码:A

Study on changes of blood brain barrier permeability in asymptomatic carotid artery stenosis patients YIN Xiaokun, YE Jing, YU Hailong, et al. (Department of Neurology, Subei people's Hospital, Yangzhou 225001, China)

Abstract: **Objective** To investigate the changes and correlations of the permeability of blood brain barrier (BBB), the cerebral brain perfusion and the volume of gray matter in patients with asymptomatic carotid artery stenosis (ACAS) by arterial spin labeling (ASL) MRI, dynamic contrast-enhanced (DCE) MRI and artificial intelligence. **Methods** ASL-MRI, DCE-MRI and three-dimension brain volume (3D-BRAVO) imaging were performed respectively on 40 patients with ACAS, then transferred them to the workstation for image post-processing to obtain cerebral blood perfusion, BBB permeability (which was expressed by volume transport constant K_{trans}) and gray matter volume of both side. The above data were statistically analyzed and tested. **Results** Compared with the contralateral side, the stenosed side had a significant lower cerebral brain perfusion ($P < 0.001$) and higher K_{trans} value ($P < 0.05$) in patients with ACAS. The volume of gray matter of the stenosed side was significantly smaller than the contralateral side ($P < 0.001$), there were significant differences between bilateral temporal lobe, frontal lobe, parietal lobe and insular lobe (all $P < 0.05$). Correlation analysis shows there was a negative correlation between K_{trans} value and CBF value on the stenosed side ($r = -0.334, P < 0.05$). **Conclusion** In patients with ACAS, there are lower cerebral brain perfusion and higher BBB permeability in the stenosed side. The increase BBB permeability in the stenosed side in patients with ACAS is related to the decrease in cerebral brain perfusion.

Key words: Carotid stenosis; Magnetic resonance imaging; Blood brain barrier; Cerebral hypoperfusion; Brain atrophy

无症状性颈动脉狭窄(asymptomatic carotid artery stenosis, ACAS)是指发生在颈动脉颅外段的动脉粥样硬化性狭窄,且不伴由于缺血性卒中、短暂性脑缺血发作或颈动脉狭窄相关的其他神经系统体征或症状,多数研究将时间界定为既往6个月内无上述症状发生^[1]。基础研究结果显示,颈动脉狭窄所致的慢性低灌注可能与血脑屏障(blood brain barrier, BBB)通透性的变化有关^[2,3]。作为维持大脑内环境稳定的关键因素, BBB受损可导致神经细胞死亡及神经系统功能障碍^[4]。动态对比增强磁共振(dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging, DCE-MRI)以组织微循环系统为基础,经连续快速的扫描得到对比剂注入前后动态增强的图像,通过对其相关参数的计算分析组织的改变,还能从定量的角度进一步做出解释^[5]。以往的研究聚焦

于脑血管病、神经退行性疾病等疾病过程中BBB通透性变化所致的病理生理学表现^[6],但是这种改变是否发生在明显的病理改变之前,即ACAS患者中,以及这种改变与脑血流灌注及脑萎缩之间是否有关目前尚不明确。本研究将使用DCE-MRI技术非侵入性地评估ACAS患者BBB通透性变化,并观察上述变化对脑血流及脑组织的相关影响。

收稿日期:2022-09-11;修订日期:2022-12-10

基金项目:扬州科技发展计划(YZ2020081)

作者单位:(1.扬州大学附属苏北人民医院神经内科,江苏扬州225001;2.扬州大学附属苏北人民医院医学影像科,江苏扬州225001;3.滨州医学院烟台附属医院神经内科,山东烟台264199)

通讯作者:陈蓓蕾, E-mail: chenbeilei1301@126.com

1 研究对象与方法

1.1 研究对象 根据入排标准连续纳入 2020 年 7 月 - 2021 年 10 月因体检发现颈动脉狭窄就诊于苏北人民医院神经内科,经临床和影像学诊断为无症状性颈动脉狭窄的患者 40 例,年龄 60 ~ 83 (68.8 ± 6.9) 岁。

入组标准:(1) 年龄 ≥ 60 周岁;(2) 经头颈动脉 CTA 证实存在单侧颈动脉颅外段(C1 段)中度以上狭窄(狭窄程度 ≥ 50%);(3) 6 个月内无缺血性卒中、短暂性脑缺血发作或颈动脉狭窄相关的神经系统体征、症状发生。

排除标准:(1) 经临床和 MRI 明确诊断为脑梗死或短暂性脑缺血发作的患者;(2) 既往有动静脉畸形、静脉窦血栓、头颈部血管动脉瘤、夹层等血管疾病;(3) 既往有脑肿瘤、脑部手术、外伤史或其他脑损伤等;(4) 不能配合相关检查的患者。

本研究方案经苏北人民医院医学伦理委员会审查批准(伦理审批号:苏北人民医院医学伦理委员会 2019KY-037),患者或其家属均签署了诊疗知情同意书。

1.2 研究方法 采用自身对照的研究方法,使用 DCE-MRI 对入组的 40 例 ACAS 患者进行头部 MRI 扫描,并对影像资料进行图像后处理以得到其颈动脉狭窄侧和对侧大脑半球 K_{trans} 值、CBF 值及灰质体积,并对以上所得到的数据资料进行分析、检验。

1.3 MRI 检查 MRI 的扫描使用 3.0T 750W 磁共振[通用电器医疗集团公司(美国 GE 公司)]完成,按序完成 T_1 加权成像(T_1 -weighted imaging, T_1WI)、 T_2 加权成像(T_2 -weighted imaging, T_2WI)、动脉自旋标记(arterial spin labeling, ASL)灌注成像、动态对比增强灌注加权成像(dynamic contrast-enhanced perfusion weighted imaging, DCE-PWI)及 3D 纯轴位脑容积(3-dimensional axial brain volume, 3D AxBRAVO)增强序列的扫描。 T_1WI 、 T_2WI 为快速自旋回波,其扫描参数:重复时间/回波时间 2 534 ms/29 ms (T_1WI)、5 324 ms/101 ms (T_2WI),视野 240 × 240 mm²,层厚 5 mm,无间距。3D 质子快速自旋回波为连续螺旋采集 ASL 技术扫描参数:TR/TE 4 632 ms/1.5 ms,矩阵 96 × 61,视野 240 × 240 mm²,层厚 5 mm,无间距,标记后延迟 1 535 ms。DCE-PWI 则采用轴位梯度回波 T_1WI 序列扫描,参数:重复时间/回波时间 5.26 ms/1.67 ms,矩阵 192 × 168,视野 220 × 220 mm²,层厚 5 mm,无间距,翻转角度包括 3°、6°、9°、12°、15°。完成 5 组 T_1WI 平扫后进行 DCE 检查(共 60 次采集),在第 5 次采集

完成后经肘静脉注入钆双胺对比剂[欧乃影,通用电气药业(上海)有限公司](总量以 0.2 mg/kg 计算,速率为 3 ml/s),随后再以相同速率注射等渗盐水。最后扫描 3D AxBRAVO 增强序列,参数:重复时间/回波时间 7.8 ms/3.0 ms,矩阵 512 × 512,视野 240 × 240 mm²,层厚 1.2 mm,重叠层间距 0.6 mm。

1.4 MRI 图像资料后处理

1.4.1 ASL 图像后处理 将 ASL 序列图像传入 GE 公司的 ADW4.6 图像后处理工作站,使用 Funtool 软件处理得到患者颈动脉狭窄侧及对侧大脑半球的脑血流量(cerebral blood flow, CBF)伪彩图。ROI 区域的选择由 2 名工作经验丰富的放射科医师协助完成,在原始图像资料中狭窄侧大脑半球颈动脉供血区域的 3 个不同层面上各随机勾画 3 个 ROI(共 9 个),并通过镜像选定对侧同源的 ROI 区域面积差值 < 5 mm²,注意避开血管所在区域。测定所选取 ROI 区域 CBF 值并计算其平均值。

1.4.2 DCE-MRI 图像后处理 将 MRI 图像的原始资料传入 GE 公司的工作站,使用 Omni-Kinetics 软件[GE 医疗,中国]进行后处理以得到 BBB 通透性改变(用 K_{trans} 值表示)的相关数据资料。使用 Extendtofts linear 双室模型对脑组织感兴趣区(area of interest, ROI)进行后处理,血管输入函数以脑组织的时间-信号强度曲线表示。在颈动脉狭窄侧大脑半球选取与 ASL 序列中相同的 ROI 区域,并通过镜像选定对侧同源的 ROI 区域,得到 ROI 内 K_{trans} 值后,分别计算颈动脉狭窄侧及对比侧 ROI 的 K_{trans} 平均值。 K_{trans} 是从血浆到组织间隙的体积转移常数,代表对比剂的摄取, K_{trans} 值越高,则代表大脑半球血-脑屏障通透性越高^[7]。

1.4.3 3D AxBRAVO 图像后处理 3D AxBRAVO 序列图像则传入联影智能公司的人工智能脑结构分析平台,由人工智能系统对脑区进行自动划分,并自动计算出颈动脉狭窄侧及对侧皮质各脑功能区灰质及皮质下灰质的体积。

1.5 统计学分析 使用 SPSS 26.0 软件对以上数据进行统计学分析。使用 Shapiro-Wilk 检验对计量资料进行正态性检验,不符合正态分布的计量资料以 M(P25, P75)表示。ACAS 患者两侧大脑半球的 CBF 值、 K_{trans} 值和灰质体积差异的比较采用 Wilcoxon 非参数秩和检验。ACAS 患者颈动脉狭窄侧脑灌注、血脑屏障通透性和皮质灰质体积之间使用 Spearman 相关分析。 $P \leq 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 颈动脉狭窄患者两侧大脑半球血流灌注

比较 ACAS 患者颈动脉狭窄侧的 CBF 值较对侧明显降低,分别为 40.439 0 (33.161 8,49.685 8) ml/(100 g · min)、44.197 2 (39.513 5,49.719 3) ml/(100 g · min),差异有统计学意义 ($Z = -4.288, P < 0.001$)。ACAS 患者颈动脉狭窄侧大脑半球血流灌注低于对侧 (见图 1)。

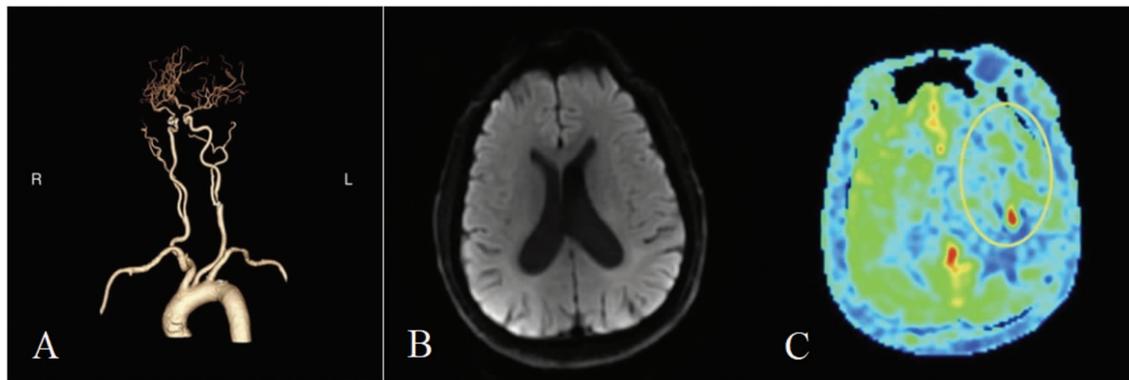
2.2 颈动脉狭窄侧与对侧 Ktrans 值比较

ACAS 患者颈动脉狭窄侧 Ktrans 值较对侧明显升高,分别为 0.004 8(0.001 2,0.005 7)/min,0.004 8

(0.001 1,0.005 4)/min,差异有统计学意义 ($Z = -2.527, P = 0.012$)。ACAS 患者颈动脉狭窄侧大脑半球血脑屏障通透性高于对侧 (见图 2)。

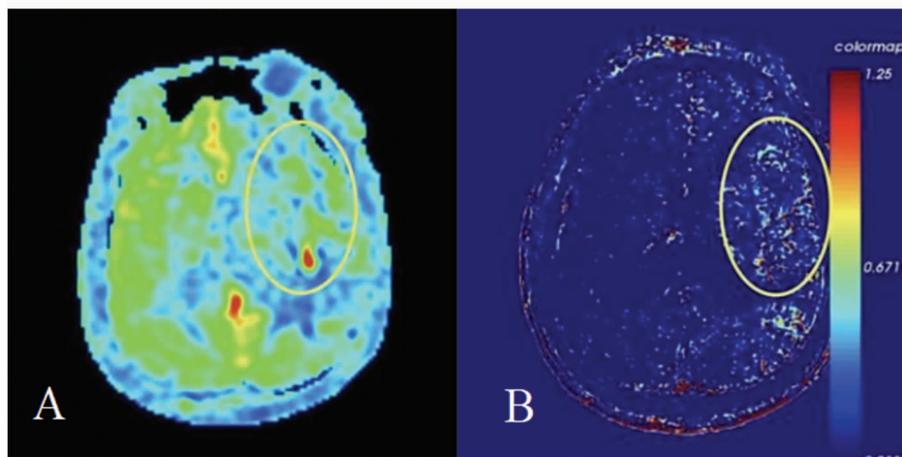
2.3 颈动脉供血区域皮质灰质体积的变化

ACAS 患者颈动脉狭窄侧颈动脉供血区大脑皮质灰质的体积明显低于对比侧,其中,两侧颞叶、额叶、顶叶及岛叶颈动脉狭窄侧的体积与对侧相比均有萎缩,差异具有统计学意义。但两侧皮质下灰质体积相比差异不具有统计学意义 (见表 1)(见图 3)。



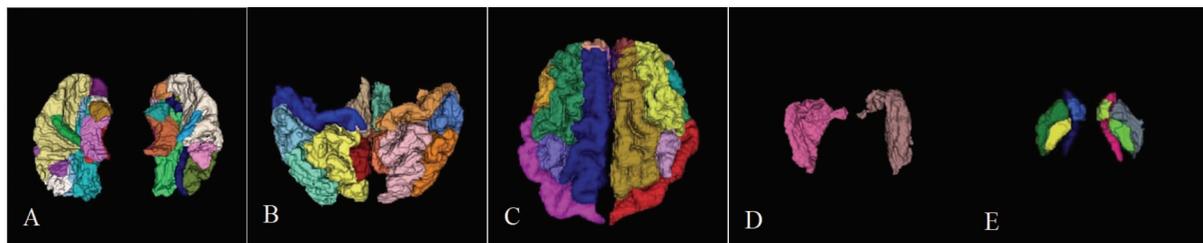
A:头颈部动脉 CT 血管成像,示左侧颈动脉 C1 段重度狭窄;B:头部 MRI 弥散加权成像序列,示无急性卒中病灶;C:将 ASL 序列后处理得到 CBF 伪彩图,示左侧大脑半球灌注低于对侧

图 1 某左侧 ACAS 患者影像学资料



A:左侧大脑半球灌注低于对侧;B:左侧大脑半球血脑屏障通透性较对侧升高

图 2 CBF 伪彩图与 Ktrans 图



A:颞叶;B:额叶;C:顶叶;D:岛叶;E:皮质下灰质。颈动脉狭窄侧灰质体积小于对侧

图 3 人工智能脑结构分析平台进行脑区分析

表1 ACAS患者颈动脉狭窄侧及对侧灰质体积比较[M(P25,P75),cm³]

项目	狭窄侧灰质体积	对侧灰质体积	Z值	P值
皮质灰质	191.378 2 (177.970 0,202.525 0)	197.221 8 (185.652 5,204.819 0)	-4.449	<0.001
颞叶	54.490 0 (50.655 0,56.953 0)	55.980 0 (51.240 0,58.494 5)	-2.93	0.003
额叶	75.199 4 (70.757 5,78.336 2)	76.992 4 (72.342 5,80.662 5)	-2.379	0.017
顶叶	54.924 3 (51.110 0,57.860 0)	57.101 8 (52.800 0,60.090 0)	-3.105	0.002
岛叶	6.764 6 (6.352 5,7.072 5)	7.147 6 (6.455 0,7.340 0)	-2.44	0.015
皮质下灰质	9.622 1 (9.000 0,10.157 5)	9.995 9 (9.278 7,10.287 5)	-1.828	0.068

注:两侧皮质灰质、颞叶、额叶、顶叶、岛叶体积相比具有统计学差异($P < 0.05$),两侧皮质下灰质体积相比不具有统计学差异($P > 0.05$)

2.4 Ktrans 值、CBF 值和皮质灰质体积的相关性分析 ACAS 患者颈动脉狭窄侧大脑半球的 Ktrans 值与 CBF 值之间具有负相关关系 ($r = -0.334, P = 0.035$), Ktrans 值与皮质灰质体积之间 ($P = 0.583$)、CBF 值与皮质灰质体积之间 ($P = 0.539$) 不具有统计学相关性。

3 讨论

由于缺乏敏感性高且无创的手段对 BBB 的变化进行定量评估,以往的研究对 ACAS 与 BBB 通透性改变的相关性鲜有报道。由于具有非侵入性、能够定量分析、高敏感性的特点,DCE-MRI 不仅应用于急性脑血管病、肿瘤等疾病,在一些神经退行性疾病、细微 BBB 通透性改变的研究中也有着良好的表现。近年来的研究发现,DCE-MRI 可以定量评估细微的血脑屏障通透性变化,并且具有良好的重复性^[5]。

本项研究使用 DCE-MRI 技术进行评估后发现,ACAS 虽然没有发生急性脑血管事件等严重的后果,但在这类患者中已经出现了颈动脉狭窄侧相应供血区域 BBB 通透性的升高。已有的研究发现 BBB 通透性的改变通常发生在具有明显症状的疾病中,如急性脑血管病、阿尔茨海默病等^[5]。本项研究结果则显示,在明显的病理改变发生之前就已经出现了 BBB 通透性的改变,这提示无症状性颈动脉狭窄不应该被认为是“无症状”的,在临床工作中发现 ACAS 患者时,应当注意随访,必要时进行干预。

颈动脉狭窄是动物实验中脑低灌注相关研究常用的模型,临床研究也显示超过 80% 的 ACAS 患者颈动脉狭窄侧大脑半球血流灌注低于对侧^[8]。本研究使用 ASL 技术对 ACAS 患者两侧大脑半球 CBF 值

进行测定和分析也得到了类似的结论。不仅如此,本研究对影像学资料分别进行 Ktrans 值和 CBF 值的处理后发现,ACAS 患者颈动脉狭窄侧大脑半球的颈动脉供血区域存在广泛低灌注状态的同时,也存在 BBB 通透性的升高。这一发现与既往的动物实验结果一致,Liu 等人对实验组大鼠进行双侧颈总动脉狭窄手术,对照组进行假手术,并评估术后两组大鼠的脑血流量和 BBB 通透性。结果显示,在实验组大鼠 CBF 明显下降后的第 2 天就出现了明显的 EB 外渗,而当实验组的脑灌注情况逐渐改善后,两组的 EB 外渗之间无明显差异^[3];Sekaran 等人使用同样的颈动脉狭窄模型,发现在术后 1 d 时实验组 BBB 通透性明显高于对照组,而 3、7、14、30 d 时两组的 BBB 通透性差异无统计学意义^[2];说明在颈动脉狭窄所致的低灌注发生后,出现了 BBB 通透性的损伤。本研究将经过后处理的 Ktrans 伪彩图与 CBF 伪彩图进行对比时可以看到,BBB 通透性升高的区域与灌注降低的区域并非完全一致,这可能与 Willis 环的代偿作用有关^[9],在低灌注发生早期时 Willis 环对缺血组织的代偿避免了 BBB 通透性改变的发生,而在晚期代偿不足时,相应区域发生了明显的 BBB 通透性变化。

颈动脉狭窄对大脑的影响不仅仅是改变了脑血流量和 BBB 的通透性。动物研究认为脑血流灌注的减少会导致大脑皮质萎缩^[10],Matsumoto 等人的临床研究显示,阿尔茨海默病患者内侧颞叶的萎缩与 BBB 通透性升高有关 ($r = 0.567, P = 0.0023$)^[11]。本研究使用人工智能分析软件对 ACAS 患者的皮质灰质进行了分割和体积计算,发现 BBB 通透性升高侧的大脑半球皮质灰质体积明显小于对侧。

Shen 等人在动物研究中通过病毒载体将血管生成素-1 与内皮细胞生长因子 1: 1 导入脑中动脉闭塞的小鼠体内,发现两者共同表达能够增加 BBB 的结构完整性,并减少了脑体积的萎缩^[12];Gu 等人也发现外源性药物 Poloxamer 188 对卒中患者的 BBB 具有保护作用,并且可以减少卒中发生 3 周后的脑萎缩程度^[13]。本项研究的结果显示 BBB 损伤区域的大脑半球皮质灰质出现萎缩,但两侧皮质下灰质的体积差异并不显著,这可能是由于在低灌注发生后,皮质灰质相比于皮质下的脑组织更容易受到影响^[14]。脑萎缩的患者通常伴有认知障碍的发生^[15],关于 ACAS 患者是否已经出现了认知功能的下降还有待进一步研究。

将上述结果进一步分析发现,ACAS 患者颈动脉狭窄侧的 Ktrans 值与 CBF 值之间具有负相关关系,这说明 ACAS 患者颈动脉狭窄侧大脑半球的 BBB 通透性增加与低灌注有关。低灌注会影响神经血管单元细胞之间的信号传导、神经血管偶联机制等,发生胶质细胞活化、血管内皮细胞代谢失调、毛细血管周细胞收缩等,使 BBB 通透性发生改变^[16]。但本研究并没有发现颈动脉狭窄侧的皮质灰质与 BBB 通透性、CBF 之间的统计学相关,一方面,本研究对于 BBB 通透性和 CBF 的测量是在颈动脉供血区的脑组织中进行的,所选择的 ROI 区域可能也包含一些白质组织,而体积的测定只包含了皮质灰质,另一方面,由于纳入的患者数较少,可能会造成统计学的偏倚。

综上所述,ACAS 患者中已经出现了颈动脉狭窄侧大脑半球脑血流量的减少和相应供血区域 BBB 的损伤,两者之间具有相关性。同时,在 BBB 通透性发生改变的大脑半球出现了皮质灰质的萎缩, BBB 通透性的改变与认知障碍之间的相关性有待进一步研究。本研究也为针对 ACAS 是否需要血管内干预提供了重要提示,及时地处理 ACAS 可能对大脑存在潜在地保护作用。

本项研究对 ACAS 患者的脑灌注、BBB 通透性及脑体积之间的关系得到了一个初步的结论,也具有一定的局限性。首先,由于样本量较小,未能进一步分组以分析各脑区灌注、BBB 及体积的相关性。其次,因未将颈动脉轻度狭窄的患者纳入,因此无法进一步探讨 BBB 的损伤是否与颈动脉狭窄程度呈线性相关。另外,由于本项研究为自身对照研究,因此无法完成 BBB 通透性变化相关因素的分析。将来需要更大的样本量及多指标研究以得到更有说服力的结果。

- [1] 中国卒中学会科学声明专家组. 中国卒中学会关于无症状性颈动脉狭窄筛查的科学声明[J]. 中华医学杂志,2022,102(3):175-179.
- [2] Sekaran EH, Gan CY, Latiff AA, et al. Changes in blood brain barrier permeability and ultra-structure, and protein expression in a rat model of cerebral hypoperfusion[J]. Brain Res Bull, 2019, 152:63-73.
- [3] Liu Q, Radwanski R, Babadjouni R, et al. Experimental chronic cerebral hypoperfusion results in decreased pericyte coverage and increased blood-brain barrier permeability in the corpus callosum[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2019, 39(2):240-250.
- [4] Alahmari A. Blood-brain barrier overview: structural and functional correlation[J]. Neural Plast, 2021, 2021:6564585.
- [5] Varatharaj A, Liljeroth M, Darekar A, et al. Blood-brain barrier permeability measured using dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging: a validation study[J]. J Physiol, 2019, 597(3):699-709.
- [6] Lin X, Sur S, Liu P, et al. Blood-brain barrier breakdown in relationship to alzheimer and vascular disease[J]. Ann Neurol, 2021, 90(2):227-238.
- [7] Arledge CA, Sankepalle DM, Crowe WN, et al. Deep learning quantification of vascular pharmacokinetic parameters in mouse brain tumor models[J]. Front Biosci (Landmark Ed), 2022, 27(3):99.
- [8] Khan AA, Patel J, Desikan S, et al. Asymptomatic carotid artery stenosis is associated with cerebral hypoperfusion[J]. J Vasc Surg, 2021, 73(5):1611-1621.
- [9] Jones JD, Castanho P, Bazira P, et al. Anatomical variations of the circle of willis and their prevalence, with a focus on the posterior communicating artery: a literature review and meta-analysis[J]. Clin Anat, 2021, 34(7):978-990.
- [10] Gao L, Xiao Y, Xu H. Gray matter asymmetry in asymptomatic carotid stenosis[J]. Hum Brain Mapp, 2021, 42(17):5665-5676.
- [11] Matsumoto Y, Yanase D, Noguchi-Shinohara M, et al. Blood-brain barrier permeability correlates with medial temporal lobe atrophy but not with amyloid-beta protein transport across the blood-brain barrier in Alzheimer's disease[J]. Dement Geriatr Cogn Disord, 2007, 23(4):241-245.
- [12] Shen F, Walker EJ, Jiang L, et al. Coexpression of angiopoietin-1 with VEGF increases the structural integrity of the blood-brain barrier and reduces atrophy volume[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2011, 31(12):2343-2351.
- [13] Gu JH, Ge JB, Li M, et al. Poloxamer 188 protects neurons against ischemia/reperfusion injury through preserving integrity of cell membranes and blood brain barrier[J]. PLoS One, 2013, 8(4):e61641.
- [14] Avelar WM, D'abreu A, Coan AC, et al. Asymptomatic carotid stenosis is associated with gray and white matter damage[J]. Int J Stroke, 2015, 10(8):1197-1203.
- [15] Kolason S, Tward DJ, Brown T, et al. Cortical thickness atrophy in the transentorhinal cortex in mild cognitive impairment[J]. Neuroimage Clin, 2019, 21:101617.
- [16] Kaplan L, Chow BW, Gu C. Neuronal regulation of the blood-brain barrier and neurovascular coupling[J]. Nat Rev Neurosci, 2020, 21(8):416-432.