

淋巴细胞亚群对脑缺血再灌注损伤认知功能障碍的早期预测价值

屈继波¹⁾, 祝玲²⁾, 候炳辉³⁾, 白松¹⁾, 谢安木³⁾

(1)昆明医科大学附属红河医院/云南省滇南中心医院神经内科, 云南 蒙自 661100;

2)昆明医科大学第五附属医院/红河州滇南中心医院神经内科, 云南 个旧 661000;

3)山东省青岛大学附属医院神经内科, 山东 青岛 266003

[摘要] **目的** 探讨淋巴细胞亚群对脑缺血再灌注损伤认知功能障碍的早期预测价值。**方法** 将2023年1月-2023年12月昆明医科大学附属红河医院收治的68例脑缺血患者进行研究,分为观察组($n=30$)例和对照组($n=38$)例。比较一般情况、淋巴细胞亚群检测结果及蒙特利尔认知评估(Montreal cognitive assessment, MoCA)评分差异,分析其相关性、灵敏度、特异度。**结果** 观察组既往糖尿病史占比高于对照组($P<0.05$), $CD3^+$ 、 $CD8^+$ 及MoCA评分均低于对照组($P<0.05$), $CD4^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$ 、NK、 $CD19^+$ 均高于对照组($P<0.05$); $CD3^+$ 、 $CD8^+$ 与MoCA评分呈正相关($P<0.05$); $CD4^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$ 、NK、 $CD19^+$ 与MoCA评分呈负相关($P<0.05$); 淋巴细胞亚群联合检测对脑缺血再灌注损伤认知功能障碍诊断的灵敏度为93.45%, 特异度100.00%。**结论** 淋巴细胞亚群检测对脑缺血再灌注损伤认知功能障碍的发生有较好的预测价值,可作为特异性标志物。

[关键词] 脑缺血; 再灌注损伤; 认知功能障碍; 淋巴细胞亚群

[中图分类号] R74 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2095-610X(2024)12-0129-06

Early Predictive Value of Lymphocyte Subsets for Cognitive Dysfunction in Cerebral Ischemia-reperfusion Injury

QU Jibo¹⁾, ZHU Ling²⁾, HOU Binghui³⁾, BAI Song¹⁾, XIE Anmu³⁾

(1) Dept. of neurology, Affiliated Honghe Hospital of Kunming Medical University/ Diannan Central

Hospital, Mengzi Yunnan 661100; 2) Dept. of neurology, 5th Affiliated Hospital of Kunming

Medical University/Diannan Central Hospital of Honghe Region, Gejiu Yunnan 661000; 3) Dept. of

neurology, Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao Shandong 266003, China)

[Abstract] **Objective** To explore the early predictive value of lymphocyte subsets for cognitive impairment in cerebral ischemia-reperfusion injury. **Methods** A study was conducted on 68 patients with cerebral ischemia admitted to Honghe Hospital affiliated to Kunming Medical University from January 2023 to December 2023, divided into observation group ($n=30$) and control group ($n=38$). The general situation, lymphocyte subsets detection results and Montreal Cognitive Assessment Scale (MoCA) score were compared. Their correlation, sensitivity, specificity were analyzed. **Results** The proportion of patients with diabetes and levels of $CD3^+$, $CD8^+$ and MoCA score in the observation group were lower than those in the control group ($P<0.05$), the levels of $CD4^+$, $CD4^+/CD8^+$, NK and $CD19^+$ in the observation group were higher than those in the control group ($P<0.05$); $CD3^+$ and $CD8^+$ were positively correlated with MoCA score ($P<0.05$); $CD4^+$, $CD4^+/CD8^+$, NK and $CD19^+$ were negatively correlated with MoCA score ($P<0.05$). The sensitivity and specificity of lymphocyte subsets combined detection for the diagnosis of cognitive dysfunction in cerebral ischemia-reperfusion injury were 93.45% and 100.00%, respectively. **Conclusion** The lymphocyte subsets have good predictive value for the occurrence of

[收稿日期] 2024-10-28

[基金项目] 青岛大学医疗集团科研基金资助重点项目(YLJT20221006)

[作者简介] 屈继波(1973~), 男, 云南建水人, 医学硕士, 主任医师, 教授, 主要从事脑血管疾病与认知障碍研究工作。

[通信作者] 谢安木, E-mail: hhqjb@126.com

cognitive dysfunction in cerebral ischemia-reperfusion injury. It can be used as a specific marker.

[**Key words**] Cerebral ischemia; Reperfusion injury; Cognitive dysfunction; Lymphocyte subsets

脑缺血再灌注损伤属于急重症,其诱发因素较多,具有较高的致残率和死亡率^[1]。相关调查研究显示,脑缺血再灌注损伤患者容易出现运动、感觉及认知障碍,严重威胁患者的身体健康^[2]。如何在再灌注损伤后早期发现上述风险并予以有效控制备受临床医师的关注,也是临床研究的重点和难点。相关研究报道指出,脑缺血再灌注损伤的应激反应可导致机体免疫功能紊乱,使得免疫功能受到一定的抑制,部分患者还存在炎症反应,2者均可对神经系统产生不良作用,这也是引发认知功能障碍的重要原因^[3]。有专家提出,针对脑缺血再灌注损伤进行免疫功能评估可能早期发现认知功能障碍,但国内对于此方面的研究报道较少^[4]。基于此,昆明医科大学附属红河医院对脑缺血再灌注损伤患者的T淋巴细胞亚群表现特征进行分析,以期对再灌注损伤后认知功能障碍的早期预测和控制提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

按照国家卫生健康委脑卒中防治工程委员会发布的《中国脑卒中防治指导规范(第2版)》^[5]将2023年1月-2023年12月昆明医科大学附属红河医院收治的门诊及住院部68例脑缺血患者进行研究。按照是否发生认知功能障碍分为观察组(脑缺血再灌注损伤合并认知功能障碍)30例和对照组(单纯脑缺血)38例。观察组男女比例为18:12,年龄为18~75岁,平均(61.44±6.35)岁,体质指数(BMI)为18.52~27.47 kg/m²,平均(24.12±2.61) kg/m²,受教育程度:小学及以下9例、中学10例、高中及以上11例;对照组男女比例为22:16,年龄为18~75岁,平均(60.75±6.48)岁,BMI为18.64~28.12 kg/m²,平均(24.23±2.58) kg/m²,受教育程度:小学及以下12例、中学13例、高中及以上13例。以上基本资料数据间比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。该项研究获得昆明医科大学附属红河医院伦理委员会审批(HY2022LLSC-76)。

1.2 纳入和排除标准

纳入标准:(1)符合脑缺血和/或认知功能障碍的诊断标准^[6],经实验室指标、影像学等检查

结合临床症状确诊,经蒙特利尔认知评估量表(MoCA)^[7]评估明确存在认知功能障碍;(2)接受淋巴细胞亚群分析检查;(3)年龄为18~75岁;(4)本次研究经医院伦理委员会批准,患者签署知情同意书。排除标准^[6]:(1)发病前即存在认知功能障碍者;(2)确诊为急性脑梗死患者、有恶性肿瘤、心肝肾功能障碍或原发性免疫功能缺陷者;(3)哺乳期女性或孕妇;(4)资料不全者。

1.3 方法

该研究采用串联试验依次进行,所有患者均进行淋巴细胞亚群检测:抽取EDTA抗凝全血5 mL,放入10 mL普通试管中,加入相应抗体10 μL,混匀,置暗处(避光)60 min,加入溶血素250 μL,混匀后放入37℃水浴箱温浴10 min,加入生理盐水500 μL,混匀置于暗处。15 min后取出,1500 γ/min,离心15 min,弃去上清液,向沉淀中加生理盐水300 μL,混匀后上机检测。采用FC500型流式细胞器(贝克曼Coulter公司生产)测定CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、NK、CD19⁺,并计算CD4⁺/CD8⁺。

1.4 观察指标

观察2组患者的一般情况、淋巴细胞亚群检测结果及MoCA评分差异,MoCA评分标准^[7]:包含视空间执行能力、延迟记忆、定向力等8项内容,总分为30分,低于26分表示存在认知功能障碍,得分越高认知功能越好。

1.5 统计学分析

数据的统计和分析使用SPSS 25.0软件包,服从正态分布的计量资料描述采用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)、计量资料比较采用 t 检验;对计数资料描述采用数量(n)和百分比(%),计数资料的比较采用 χ^2 检验,等级资料为秩和检验。采用Pearson方法分析淋巴细胞亚群检测结果与脑缺血再灌注损伤认知功能障碍的相关性,通过ROC曲线计算淋巴细胞亚群检测结果预测脑缺血再灌注损伤认知功能障碍的灵敏度、特异性。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2组一般资料,淋巴细胞亚群结果及MoCA评分
观察组既往糖尿病史占比高于对照组,CD3⁺、

CD8⁺及 MoCA 评分均低于对照组, CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺、NK、CD19⁺均高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 2 组性别、年龄、受教育程度、既往高血压与冠心病占比、不良习惯分布比较, 统计学结果无显著差异($P > 0.05$), 见表 1。

2.2 淋巴细胞亚群与 MoCA 评分的相关性

Pearson 直线相关性分析结果显示 CD3⁺、CD8⁺与 MoCA 评分呈正相关($P < 0.05$); CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺、NK、CD19⁺与 MoCA 评分呈负相关($P < 0.05$), 见表 2。

表 1 2 组一般资料、淋巴细胞亚群检测结果及 MoCA 评分的比较($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Comparison of general information lymphocyte subset detection results and MoCA scores between two groups($\bar{x} \pm s$)

项目	观察组($n=30$)	对照组($n=38$)	$\chi^2/Z/t$	P
男	18(60.00)	22(57.89)	0.031	0.854
女	12(40.00)	16(42.11)	0.031	0.854
年龄(岁)	61.44 ± 6.35	60.75 ± 6.48	0.797	0.215
BMI(kg/m ²)	24.12 ± 2.61	24.23 ± 2.58	0.312	0.681
小学及以下	9(30.00)	12(31.58)	0.037	0.964
中学	10(33.33)	13(34.21)	0.037	0.964
高中及以上	11(36.67)	13(34.21)	0.037	0.964
糖尿病	9(30.00)	6(15.79)	4.541	0.031*
高血压	19(63.33)	21(55.26)	0.587	0.443
冠心病	17(56.67)	16(42.11)	2.053	0.154
抽烟	16(53.33)	18(47.37)	0.281	0.592
饮酒	16(53.33)	21(55.26)	0.065	0.794
CD3 ⁺ (%)	8.41 ± 2.16	22.74 ± 3.63	48.752	<0.001*
CD4 ⁺ (%)	48.33 ± 5.10	42.15 ± 4.42	8.905	<0.001*
CD8 ⁺ (%)	22.74 ± 3.63	28.65 ± 3.15	11.964	<0.001*
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1.86 ± 0.33	1.53 ± 0.31	7.348	0.007*
NK(%)	20.04 ± 5.02	13.63 ± 4.10	9.383	<0.001*
CD19 ⁺ (%)	10.76 ± 3.12	8.91 ± 2.23	4.357	0.014
MoCA 评分	16.41 ± 3.06	27.62 ± 1.53	26.920	<0.001*

* $P < 0.001$, 受教育程度: 小学及以下, 中学, 高中及以上。既往病史: 糖尿病, 高血压, 冠心病。不良习惯: 抽烟, 饮酒。

表 2 淋巴细胞亚群与 MoCA 评分的相关性(r, P)

Tab. 2 The correlation between lymphocyte subsets and MoCA score(r, P)

指标	r	P
CD3 ⁺ (%)	0.296	<0.01*
CD4 ⁺ (%)	-0.473	<0.01*
CD8 ⁺ (%)	0.394	<0.01*
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	-0.887	<0.01*
NK(%)	-0.353	<0.01*
CD19 ⁺ (%)	-0.348	<0.01*

* $P < 0.05$, 观察组与对照组比较。

2.3 淋巴细胞亚群联合检测对脑缺血再灌注损伤认知功能障碍的诊断效能分析

CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、NK⁺、CD19⁺以及CD4⁺/CD8⁺联合检测的诊断灵敏度显著高于单独检测($P <$

0.05), 见表 3。

2.4 ROC 曲线分析

通过 ROC 曲线分析, CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、NK⁺、CD19⁺以及 CD4⁺/CD8⁺联合检测的曲线下面积显著高于单独检测, $P < 0.05$, 见表 4, 图 1。

3 讨论

3.1 脑缺血再灌注损伤对认知功能障碍的影响

缺血再灌注损伤主要指多种原因导致的脑组织缺血患者恢复血流再灌注之后出现的脑组织、神经细胞等的损伤, 严重时可引发神经、记忆等方面的功能障碍, 危害性较高^[8]。目前, 相关研究认为, 脑缺血再灌注损伤患者出现认知功能障碍是多种因素协同作用的结果, 包括细胞内酸中

表 3 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、NK⁺、CD19⁺以及 CD4⁺/CD8⁺联合检测对脑缺血再灌注损伤认知功能障碍的诊断效能分析(SE, SP)

Tab. 3 Diagnostic efficacy analysis of CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, NK⁺, CD19⁺ and CD4⁺/CD8⁺ combined detection for cognitive impairment in cerebral ischemia-reperfusion injury(SE, SP)

诊断方法	准确率(%)	灵敏度(%)	特异度(%)	阳性预测值(%)	阴性预测值(%)
CD3 ⁺ (%)	74.40	49.56	84.98	64.53	79.01
CD4 ⁺ (%)	61.43	23.76	86.21	43.25	66.72
CD8 ⁺ (%)	70.67	73.54	71.46	55.42	81.95
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	46.01	49.92	42.78	31.36	60.96
CD19 ⁺ (%)	82.17	55.43	100.00	100.00	79.52
NK细胞(%)	85.77	62.41	100.00	100.00	82.83
联合检测	96.70	93.45	100.00	100.00	95.21

表 4 ROC 曲线分析(AUC)

Tab. 4 ROC curve analysis(AUC)

诊断方法	β	标准误	Wald χ^2	AUC	AUC(95%CI)	P
CD3 ⁺ (%)	1.674	10.983	1.832	0.725	0.724-0.856	<0.001*
CD4 ⁺ (%)	0.956	9.462	0.955	0.762	0.646-0.821	<0.001*
CD8 ⁺ (%)	0.851	4.357	8.352	0.775	0.742-0.848	<0.001*
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	0.572	3.925	5.823	0.648	0.821-0.954	<0.001*
CD19 ⁺ (%)	0.674	2.357	6.834	0.624	0.625-0.921	<0.001*
NK细胞(%)	0.218	0.019	57.84	0.779	0.765-0.845	<0.001*
联合检测	0.472	1.032	4.463	0.798	0.743-0.861	<0.001*

*P < 0.001

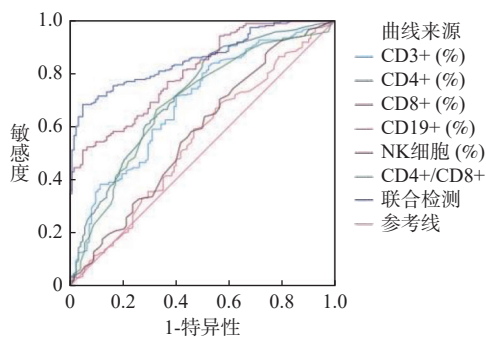


图 1 ROC 曲线分析

Fig. 1 ROC curve analysis

毒、炎性反应、凋亡调控基因激活等^[9]。但由于认知功能障碍涉及的危险因素复杂,且相互之间有影响,临床上对于该病的发生原因及作用机制尚未完全阐明^[10]。但及时确诊认知功能障碍并给予有效控制是改善患者预后的关键,因此如何早期预测和评估缺血再灌注损伤后认知功能障碍成

为了临床研究的热点。

3.2 淋巴细胞亚群与脑缺血再灌注损伤认知功能障碍的相关性

国外相关研究报道指出,脑缺血再灌注损伤后应激反应可导致患者出现免疫功能调控紊乱、淋巴细胞亚群表达异常,因此认为免疫功能与脑缺血再灌注损伤所致的认知功能障碍关系密切,可以通过对免疫功能进行评估且在早期发现认知功能障碍并及时诊疗处理^[11]。国内部分动物试验也显示,免疫抑制及炎性反应对脑缺血再灌注损伤大鼠的神经系统具有关键的损害作用,对脑细胞凋亡有直接影响,从而引发认知功能障碍^[12-13]。T淋巴细胞亚群是机体重要细胞免疫组份,其在免疫系统中扮演着特殊的细胞免疫和免疫调节的重要角色,而且T淋巴细胞亚群之间也存在相互作用,对于机体免疫状态较为敏感,其平衡状态是保持免疫功能正常的关键^[14]。CD3⁺、CD4⁺、

CD8⁺ T 细胞以及 NK 细胞、CD19⁺ B 细胞均为免疫系统中的重要免疫细胞,也是评价患者免疫功能的重要指标:其中 CD3⁺ T 细胞参与 T 细胞的信号转导;CD4⁺ T 细胞能调节细胞免疫和协助体液免疫;CD8⁺ T 细胞则为抑制性 T 细胞^[15];NK 细胞参与免疫调节;CD19⁺ B 细胞主要参与 B 淋巴细胞的增殖、分化、活化及抗体产生^[16]。有临床研究表明,存在认知功能障碍的患者总淋巴细胞计数及 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T 淋巴细胞计数水平降低,CD4⁺/CD8⁺水平升高,CD19⁺ B 淋巴细胞计数水平降低,NK 升高,也证实免疫功能紊乱与认知功能的损害有紧密联系,进行淋巴细胞亚群分析可作为预测认知功能障碍发生的潜在指标^[17]。谭洪辉等^[18]对脑缺血再灌注损伤认知功能障碍患者的炎性指标及淋巴细胞亚群分析结果也显示,脑缺血再灌注损伤认知功能障碍患者的白介素-6(IL-6)、白介素-1(IL-1)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等炎性指标及 CD8⁺检测结果均较健康对照组明显升高($P < 0.05$),而 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺等淋巴细胞亚群检测结果均较健康对照组明显降低($P < 0.05$),也表明脑缺血再灌注损伤可促进炎症反应,增强免疫抑制,从而诱发和加重对认知功能的损害,淋巴细胞亚群分析可反映脑缺血再灌注损伤认知功能障碍^[19]。本研究结果显示,观察组既往糖尿病史占比高于对照组,CD3⁺、CD8⁺及 MoCA 评分均低于对照组,CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺、NK、CD19⁺均高于对照组,提示脑缺血再灌注损伤患者发生认知功能障碍时淋巴细胞亚群发生明显的异常改变,与上述研究报道相符。而 CD3⁺、CD8⁺与 MoCA 评分呈正相关($P < 0.05$),CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺、NK、CD19⁺与 MoCA 评分呈负相关($P < 0.05$),淋巴细胞亚群联合检测对脑缺血再灌注损伤认知功能障碍诊断的灵敏度为 93.45%,特异度 100.00%,则表明进行淋巴细胞亚群检测在预测认知功能障碍方面有良好作用。

综上所述,淋巴细胞亚群检测对脑缺血再灌注损伤认知功能障碍的发生有较好的预测价值,可作为特异性标志物。

[参考文献]

- [1] Soares R O S, Losada D M, Jordani M C, et al. Ischemia/reperfusion injury revisited: An overview of the latest pharmacological strategies[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(20): 5034–5034.
- [2] Wu M Y, Yiang G T, Liao W T, et al. Current mechanistic concepts in ischemia and reperfusion injury[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 46(4): 1650–1667.
- [3] 邓宇伟,张丽科,孔萍.脑卒中患者 C 反应蛋白、T 淋巴细胞亚群与脑损伤的关系[J].*深圳中西医结合杂志*, 2020, 30(14): 11–12.
- [4] 陈玉梅,高建华,李丽影.急性缺血性脑卒中后认知功能障碍评估及其影响因素分析[J].*中外医疗*, 2023, 42(12): 30–33, 42.
- [5] 国家卫生健康委脑卒中防治工程委员会.中国脑卒中防治指导规范(第2版)[M].北京:人民卫生出版社, 2021: 197–211.
- [6] 中华医学会神经病学分会,脑血管病学组缺血性脑卒中二级预防指南撰写组.中国缺血性脑卒中和短暂性脑缺血发作二级预防指南(2010)[J].*中国临床医生杂志*, 2011, 39(11): 7.
- [7] Carson N, Leach L, Murphy K J. A re-examination of montreal cognitive assessment (MoCA) cutoff scores[J]. *Int J Geriatr Psychiatry*, 2018, 33(2): 379–388.
- [8] 张怀祥,倪健强,高晗清,等.轻型脑梗死及短暂性脑缺血发作患者急性期认知功能的变化及影响因素分析[J].*中国现代医学杂志*, 2021, 31(9): 30–35.
- [9] 张竣婷,关卓,滕海艳,等.老年急性缺血性脑卒中后认知功能障碍预测模型的初步建立[J].*卒中与神经疾病*, 2024, 31(2): 132–136, 142.
- [10] 胡中强,杨悦,李明阔,等.柚皮素对脑缺血再灌注损伤神经保护机制及作用靶点研究进展[J].*河北医药*, 2023, 45(24): 3801–3805, 3810.
- [11] Grayson J M, Short S M, Lee C J, et al. T cell exhaustion is associated with cognitive status and amyloid accumulation in Alzheimer's disease[J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 15779–15779.
- [12] 向建军,李丽琴,李建铮,等.基于铁死亡探讨温阳复元方对脑缺血再灌注损伤大鼠神经损伤的保护机制[J].*中药新药与临床药理*, 2023, 34(12): 1649–1657.
- [13] Chen W, Zhou X, Meng M, et al. Hyperbaric oxygen improves cerebral ischemia-reperfusion injury in rats via inhibition of ferroptosis[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2023,

- 32(12): 107395.
- [14] 陈海云, 颜博, 何超明, 等. TREM2 通过激活 Th17 细胞调节神经免疫炎症并保护局灶性脑缺血再灌注损伤 [J]. *中国免疫学杂志*, 2023, 39(9): 1822–1828.
- [15] 张海岳, 关经纬, 孔琦, 等. 不同亚型急性脑卒中患者外周血中 T 淋巴细胞亚群的分布 [J]. *山西医科大学学报*, 2021, 52(12): 1621–1625.
- [16] 弓汶钰, 孙剑, 任珍. 急性缺血性脑卒中患者脑电图特征与 T 淋巴细胞亚群的相关性 [J]. *贵州医药*, 2023, 47(3): 437–438.
- [17] Zhao X, Li L, Ma X, et al. O papel de indicadores imunes e inflamatórios na disfunção cognitiva e gravidade da doença em pacientes com doença de Parkinson [J]. *J. Neural Transm. (Vienna)*, 2024, 131(1): 13–24.
- [18] 谭洪辉, 黄之文, 杨雀飞. 急性缺血性脑卒中患者 T 细胞亚群与 NIHSS 评分相关性研究 [J]. *海南医学*, 2018, 29(12): 1690–1692.
- [19] 周发英, 彭泽艳, 李玲. 急性缺血性脑卒中患者外周血 Th17/Treg 细胞亚群水平的变化及临床意义 [J]. *神经损伤与功能重建*, 2020, 15(12): 710–713.