

老年脓毒症患者血清循环 Netrin-1 表达水平对发生脑损伤风险的预测价值研究

于大勇^a, 卢新^b, 任平香^b, 刘海芳^b, 李志祥^a

(唐山市丰润区人民医院 a. 重症加强护理病房; b. 神经内科, 河北唐山 064000)

摘要:目的 探讨神经导向因子-1(Netrin-1)在老年脓毒症并发脑损伤(sepsis-associated encephalopathy, SAE)患者血清中表达情况及临床意义。方法 选择2017年1月~2020年12月在唐山市丰润区人民医院就诊的老年脓毒症患者162例为观察对象,其中并发脑损伤患者67例作为SAE组,未并发脑损伤患者95例作为对照组;根据患者28天内死亡情况,将SAE患者分为存活组35例和死亡组32例。酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测血清中Netrin-1和神经元特异性烯醇化酶(neuron specific enolase, NSE)表达水平,免疫层析法检测中枢神经特异蛋白(S100 β)表达水平,对患者进行急性生理健康与慢性疾病(acute physical health and chronic diseases, APACHE II)评分、序贯器官衰竭估计(Sequential Organ Failure Assessment, SOFA)评分, Pearson分析血清Netrin-1水平与NSE, S100 β , APACHE II和SOFA评分相关性,受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线分析血清Netrin-1对SAE的预测价值。结果 SAE患者住重症加强护理病房(intensive care unit, ICU)时间 8.72 ± 1.81 天, APACHE II为 20.10 ± 6.46 分和SOFA为 11.57 ± 4.83 分,显著高于对照组的ICU时间 4.52 ± 1.34 天, APACHE II 14.20 ± 5.31 分和SOFA 8.41 ± 3.56 分,差异均有统计学意义($t=4.794\sim 16.971$, 均 $P < 0.001$)。SAE患者血清Netrin-1水平为 114.57 ± 30.21 ng/ml,显著低于对照组(162.81 ± 35.43 ng/ml)的表达水平;NSE和S100 β 分别为 9.62 ± 1.76 ng/ml和 1.03 ± 0.32 μ g/ml,显著高于对照组(7.32 ± 1.35 ng/ml与 0.75 ± 0.21 μ g/ml),差异均有统计学意义($t=6.723\sim 9.408$, 均 $P < 0.001$)。死亡组SAE患者血清Netrin-1水平为 93.78 ± 25.62 ng/ml,显著低于存活组的 134.26 ± 28.05 ng/ml;NSE和S100 β 高于存活组(13.01 ± 1.81 ng/ml vs 7.23 ± 1.14 ng/ml; 1.29 ± 0.35 μ g/ml vs 0.81 ± 0.19 μ g/ml),其APACHE II和SOFA显著高于对照组(22.15 ± 6.21 分 vs 18.23 ± 5.64 分; 13.25 ± 3.42 分 vs 10.45 ± 2.95 分),差异具有统计学意义($t=2.708\sim 15.782$, 均 $P < 0.05$)。相关性分析结果显示,SAE患者血清Netrin-1水平与NSE, S100 β , APACHE II和SOFA评分呈负相关性($r=-0.451, -0.503, -0.514, -0.409$, 均 $P < 0.001$)。血清Netrin-1联合NSE和S100 β 预测老年脓毒症患者发生脑损伤风险敏感度和特异度分别为95.52%和89.47%(AUC=0.969, 95%CI: 0.942~0.996, $P < 0.001$),联合诊断优于血清Netrin-1单独检测(AUC=0.873, 95%CI: 0.819~0.928, $P < 0.001$)。结论 老年SAE患者血清Netrin-1水平降低。血清Netrin-1单独或联合NSE和S100 β 检测对预测老年脓毒症患者发生脑损伤风险具有一定临床应用价值。

关键词:脓毒症;脑损伤;神经导向因子-1

中图分类号: R631, R651.15; R446.11 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414(2022)02-076-05
doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2022.02.016

Study on the Value of Serum Circulating Netrin-1 Expression Level in Predicting the Risk of Brain Injury in Elderly Patients with Sepsis

YU Da-yong^a, LU Xin^b, REN Ping-xiang^b, LIU Hai-fang^b, LI Zhi-xiang^a

(a. Intensive Care Unit; b. Department of Neurology, Fengrun District People's Hospital of Tangshan City, Hebei Tangshan 064000, China)

Abstract: Objective To explore the expression and clinical significance of neural guidance factor-1 (Netrin-1) in the serum of elderly sepsis patients with brain injury (SAE). **Methods** A total of 162 elderly patients with sepsis in Tangshan Fengrun People's Hospital from January 2017 to December 2020 were selected as the observation objects, including 67 patients with brain injury as SAE group and 95 patients without brain injury as control group. According to the death within 28 days, the patients were divided into survival group ($n=35$) and death group ($n=32$). The expression levels of Netrin-1 and neuron specific enolase (NSE) in serum were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), the expression level of central nerve specific protein (S100 β) was detected by immunochromatography, acute physiology chronic health evaluation (APACHE II)

基金项目: 河北省2020年度医学科学研究课题计划(编号:20200400)。

作者简介: 于大勇(1975-),男,硕士研究生,副主任医师,研究方向:危重症病人的应激性高血糖, E-mail: ydy8890@163.com。

score and sequential organ failure assessment (SOFA) score were performed, the correlation between serum level of Netrin-1 and NSE, S100 β , APACHE II and SOFA scores were analyzed by Pearson analysis, and the predictive value of serum Netrin-1 for SAE was analyzed by receiver operating characteristic(ROC) curve. **Results** SAE patients stayed in ICU for 8.72 ± 1.81 days, APACHE II 20.10 ± 6.46 points and SOFA 11.57 ± 4.83 points, and they were all significantly higher than the control group ICU time 4.52 ± 1.34 days, APACHE II 14.20 ± 5.31 points and SOFA 8.41 ± 3.56 points, the differences were statistically significant($t=4.794\sim 16.971$, all $P < 0.001$). The serum Netrin-1 level of SAE patients was 114.57 ± 30.21 ng/ml, which was significantly lower than that of the control group (162.81 ± 35.43 ng/ml), and the NSE level and the S100 β expression level were 9.62 ± 1.76 ng/ml and 1.03 ± 0.32 μ g/ml, respectively, with significantly higher than the control group (7.32 ± 1.35 ng/ml and 0.75 ± 0.21 μ g/ml), the differences were statistically significant ($t=6.723\sim 9.408$, all $P < 0.001$). The serum Netrin-1 level of SAE patients in the death group was 93.78 ± 25.62 ng/ml, which was significantly lower than that of the survival group(134.26 ± 28.05 ng/ml), and NSE, S100 β , APACHE II and SOFA were 13.01 ± 1.81 ng/ml vs 7.23 ± 1.14 ng/ml, 1.29 ± 0.35 μ g/ml vs 0.81 ± 0.19 μ g/ml, 22.15 ± 6.21 vs 18.23 ± 5.64 points and 13.25 ± 3.42 vs 10.45 ± 2.95 scores, with significantly higher than the control group, the differences were statistically significant ($t=2.708\sim 15.7827$, all $P < 0.05$). The results of correlation analysis showed that the level of serum Netrin-1 was negatively correlated with NSE, S100 β , APACHE II and SOFA scores ($r=-0.451, -0.503, -0.514, -0.409$, all $P < 0.001$). The sensitivity, the specificity and the area under the curve of serum Netrin-1 combined with NSE and S100 β to predict the risk of brain injury in elderly patients with sepsis were 95.52% and 89.47% (AUC=0.969, 95%CI: 0.942~0.996, $P < 0.001$), respectively. The combined diagnosis was better than the detection of serum Netrin-1 alone (AUC=0.873, 95%CI=0.819~0.928, $P < 0.001$). **Conclusion** The expression level of serum Netrin-1 in elderly SAE patients decreased. Serum Netrin-1 alone or in combination with NSE and S100 β have a certain value in predicting the risk of brain injury in elderly patients with sepsis, and has certain clinical application significance.

Keywords: sepsis; brain injury; Netrin-1

脓毒症相关性脑病 (Sepsis-associated encephalopathy, SAE) 是继发于脓毒症后表现出的急性弥漫性脑功能障碍, 其临床表现为急性、长期神经功能障碍, 并伴注意力不足、记忆力下降、定向障碍、精神恍惚或思维紊乱等精神错乱症状, 在重症加强护理病房 (intensive care unit, ICU) 住院的脓毒症患者中, 发生 SAE 的概率约为 50%^[1]。并发脑功能障碍的脓毒症患者其病死率明显升高, 尤其是老年人 SAE 的发病率高, 病死率高, 因此对 SAE 进行早期诊断、及时治疗以降低患者病死率具有重要的意义^[2-3]。神经导向因子-1(Netrin-1) 是一种由底板细胞分泌的可溶性蛋白, 为最早被发现的神经导向因子, 在多种神经系统疾病如多发性硬化症、脑梗死、阿尔茨海默病等发挥重要作用^[4-5]。GUO 等^[6]研究表明, 缺血性脑卒中患者血清 Netrin-1 水平显著降低, 血清 Netrin-1 是缺血性脑卒发病机制潜在标志物。李晨光等^[7]研究表明, 右侧大脑中动脉闭塞大鼠模型给予 Netrin-1 后, 大鼠实验性脑梗死后同侧丘脑血脑屏障破坏显著改善, 并促进梗死后神经功能恢复。然而 Netrin-1 在脓毒症相关性脑病患者中的表达情况尚不清楚, 本研究检测 Netrin-1 在老年 SAE 患者血清中表达情况, 探讨 Netrin-1 对老年脓毒症患者发生脑损伤风险的预测价值。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选择 2017 年 1 月~2020 年 12 月在唐山市丰润区人民医院就诊的老年脓毒症患者 162

例为观察对象, 其中男性 88 例, 女性 74 例, 年龄 60~80 岁, 平均年龄 70.20 ± 8.70 岁。其中并发脑损伤患者 67 例作为 SAE 组, 男性 37 例, 女性 30 例, 年龄 61~80 岁, 平均年龄 70.30 ± 8.30 岁, 住 ICU 时间 8.72 ± 1.81 天, 急性生理健康与慢性疾病 (acute physical health and chronic diseases, APACHE II) 20.10 ± 6.46 分, 序贯器官衰竭估计 (sequential organ failure assessment, SOFA) 11.57 ± 4.83 分; 并发脑损伤患者 95 例作为对照组, 其中男性 51 例, 女性 44 例, 年龄 60~79 岁, 平均年龄 69.70 ± 8.60 岁, 住 ICU 时间 4.52 ± 1.34 天, APACHE II 14.20 ± 5.31 分, SOFA 8.41 ± 3.56 分。对照组与 SAE 组的年龄、性别比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 而住 ICU 时间、APACHE II, SOFA 两组比较, 差异均有统计学意义 ($t=4.794\sim 16.971$, 均 $P < 0.001$)。

根据患者 28 天内死亡情况, 将 SAE 组分为存活组 35 例和死亡组 32 例。纳入标准: ①符合 2016 年美国重症医学会 (SCCM) 与欧洲重症医学会 (ESICM) 联合发布的脓毒症诊断标准^[8]; ②临床资料完整; ③患者或家属知情同意并签署知情同意书。排除标准: ①并发中枢神经系统感染者; ②脑血管意外或者颅内器质性病变; ③存在精神障碍或者其他可引起意识障碍的代谢性脑病者; ④心、脑、肺复苏术后。SAE 诊断标准: 脓毒症患者采用 ICU 意识模糊评估法 (CAM-ICU) 评估, 并排除既往中枢神经系统疾病史, 或影响中枢神经系统症状判

断的疾病,并且患者存在记忆力、注意力以及定向力改变则诊断为SAE。本研究样本采集均经过本院伦理委员会批准。

1.2 仪器与试剂 人神经导向因子-1(Netrin-1)、人神经特异性烯醇化酶(NSE)ELISA试剂盒购自默沙克公司,S100- β 蛋白(S100- β)检测试剂盒(免疫层析法)购自武汉明德生物科技股份有限公司。

1.3 方法

1.3.1 样品采集及保存:血清样品:采集所有观察对象清晨空腹静脉血5ml,在室温条件下静置30min,3000r/min离心10min后收集血清,分装后置于-80℃冰箱保存备用。

1.3.2 检测血清Netrin-1,NSE,S100 β 表达水平:以酶联免疫吸附法检测血清Netrin-1和NSE表达水平,免疫层析法检测S100 β 水平,具体操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。

1.3.3 其他资料收集:分别收集两组观察对象年龄、性别、ICU住院时间及APACHE II评分、SOFA评分等资料。

1.4 统计学分析 利用SPSS 22.0进行统计学分析,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验;Pearson分析血清Netrin-1水平与NSE,S100 β ,APACHE II,SOFA评分的相关性,ROC曲线分析血清Netrin-1对老年脓毒症患者发脑损伤风险的预测价值, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组观察对象血清Netrin-1,NSE,S100 β 表达水平比较 见表1。与对照组相比,SAE患者血清Netrin-1表达水平显著降低,NSE,S100 β 表达水平显著升高,差异有统计学意义(均 $P<0.001$)。

表1 两组血清Netrin-1,NSE,S100 β 表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

项目	对照组 ($n=95$)	SAE组 ($n=67$)	t 值	P 值
Netrin-1 (ng/ml)	162.81 \pm 35.43	114.57 \pm 30.21	9.060	<0.001
NSE (ng/ml)	7.32 \pm 1.35	9.62 \pm 1.76	9.408	<0.001
S100 β (μ g/ml)	0.75 \pm 0.21	1.03 \pm 0.32	6.723	<0.001

2.2 28天不同预后SAE患者血清Netrin-1,NSE,S100 β 及APACHE II,SOFA评分比较 见表2。与存活组比较,死亡组SAE患者血清Netrin-1表达水平显著降低,NSE,S100 β 及APACHE II,SOFA评分显著升高,差异有统计学意义(均 $P<0.05$)。

2.3 SAE患者血清Netrin-1水平与NSE,S100 β ,

APACHE II,SOFA评分的相关性 相关性分析结果显示,SAE患者血清Netrin-1水平与NSE,S100 β ,APACHE II,SOFA评分呈负相关性($r=-0.451,-0.503,-0.514,-0.409$,均 $P<0.001$)。

2.4 血清Netrin-1联合NSE,S100 β 对老年脓毒症患者发生脑损伤风险的预测价值 见图1。血清Netrin-1(AUC=0.873,95%CI:0.819~0.928, $P<0.001$)预测老年脓毒症患者并发脑损伤风险敏感度为85.07%,特异度为75.79%,截断值为116.51ng/ml,血清Netrin-1联合NSE,S100 β (AUC=0.969,95%CI:0.942~0.996, $P<0.001$)预测老年脓毒症患者发生脑损伤风险敏感度为95.52%,特异度为89.47%,联合诊断优于血清Netrin-1单独诊断。

表2 28天不同预后SAE患者血清Netrin-1,NSE,S100 β 及APACHE II,SOFA评分比较($\bar{x}\pm s$)

项目	存活组 ($n=35$)	死亡组 ($n=32$)	t 值	P 值
Netrin-1 (ng/ml)	134.26 \pm 28.05	93.78 \pm 25.62	9.372	<0.001
NSE (ng/ml)	7.23 \pm 1.14	13.01 \pm 1.81	15.782	<0.001
S100 β (μ g/ml)	0.81 \pm 0.19	1.29 \pm 0.35	7.058	<0.001
APACHE II (分)	18.23 \pm 5.64	22.15 \pm 6.21	2.708	0.009
SOFA (分)	10.45 \pm 2.95	13.25 \pm 3.42	3.597	0.001

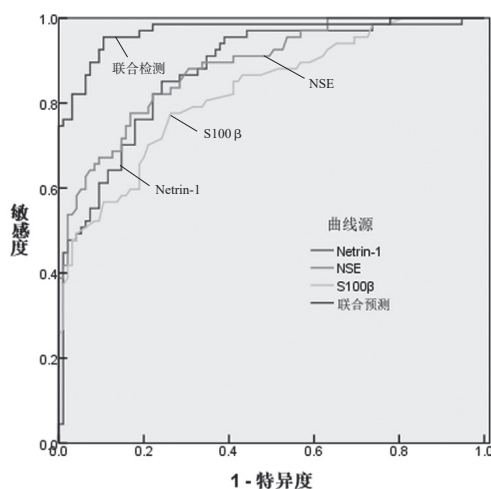


图1 血清Netrin-1联合NSE,S100 β 对老年脓毒症患者并发脑损伤风险的预测价值

3 讨论

SAE是脓毒症常见的并发症之一,临床表现为急性、长期神经功能障碍,SAE为急危重症,治疗比较困难,病死率高,严重影响患者生活质量和身心健康,因此,早期诊断与积极治疗对改善SAE患者预后、提高生活质量具有重要意义^[9-10]。

Netrin 是一系列高度保守的层黏连蛋白,对于神经生长、发育、分化与损伤后修复具有重要作用。Netrin-1 属于 Netrin 家族,是最早被发现的神导向因子,在神经系统等多种组织中均有表达,Netrin-1 不仅是轴突导向因子,而且还参与神经炎症反应、神经元迁移、血管生成以及抗凋亡等过程^[11-12]。Netrin-1 缺乏将导致中枢神经系统发育异常,Netrin-1 过表达可改善实验性卒中后的神经行为结果,并通过抑制 Notch1 通路减少梗死面积^[13]。本研究结果显示,与对照组相比,SAE 患者血清 Netrin-1 表达水平显著降低,提示 Netrin-1 与脓毒症患者发生脑损伤有关。以往研究显示^[14],外源性的 Netrin-1 可抑制神经元发育过程中的凋亡,Netrin-1 还可通过 PI3K/AKT-eNOS 修复高糖条件下血管内皮细胞损伤和促进血管生成。

因此,推测脓毒症患者发生脑损伤可能与 Netrin-1 水平过低有关。有研究^[15]通过检测 3346 例缺血性卒中患者血清 Netrin-1 水平,并对所有患者在卒中发作后 3 个月进行了随访,结果显示血清 Netrin-1 升高与主要预后风险降低相关,表明血清 Netrin-1 可能是缺血性卒中的潜在预后生物标志物。CHEN 等^[16]研究表明,在小鼠蛛网膜下腔出血模型中,静脉滴注重组 Netrin-1,可通过过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ)/NF- κ B 途径,改善小鼠神经功能障碍,降低脑含水量,减轻神经元凋亡。表明 Netrin-1 对脑损伤具有保护作用,可能作为 SAE 治疗的潜在靶标。

目前关于 SAE 的发病机制尚不完全清楚,比较认可的机制可能与血脑屏障受损、线粒体功能障碍、神经元受损及凋亡、神经递质紊乱、氧化应激及炎症反应等有关^[17]。在脓毒症患者中,由于机体炎症反应产生的大量炎性介质刺激大脑,进而引起脑细胞对炎性介质产生反应,导致脑损伤的发生。NSE 是一种脑损伤的特异性生物标志物,是重要的脑蛋白,脑神经细胞受到损伤后可引起 NSE 的释放,在脑创伤、心肺复苏术后脑损伤具有重要应用价值,也是 SAE 的标志物^[18]。S100 β 为特异性脑损伤标志物,主要分布在星形胶质细胞和中枢神经系统少突胶质细胞中,在炎症反应、氧化损伤和缺血再灌注作用下,由受损星形胶质细胞释放并分泌到血液循环中,可反映 SAE 的严重程度^[19-20]。本研究结果显示,SAE 患者血清 NSE、S100 β 表达水平显著升高,与先前报道一致。另外本研究通过分析 28 天不同预后 SAE 患者血清 Netrin-1, NSE, S100 β 及 APACHE II, SOFA 评分,结果显示,死亡组 SAE 患者血清 Netrin-1 表达水平显著低于存活组, NSE, S100 β 及 APACHE II, SOFA 评分

显著高于存活组,提示 Netrin-1, NSE, S100 β 水平及 APACHE II, SOFA 评分与 SAE 患者不良预后有关。相关性分析显示,SAE 患者血清 Netrin-1 水平与 NSE, S100 β , APACHE II, SOFA 评分呈负相关性,提示 Netrin-1 水平与 SAE 患者的脑损伤程度和病情严重程度相关。进一步研究发现,血清 Netrin-1 预测老年脓毒症患者发生脑损伤风险敏感度为 85.07%,特异度为 75.79%,截断值为 116.51ng/ml,提示血清 Netrin-1 水平对于预测老年 SAE 有一定准确性,血清 Netrin-1 联合 NSE, S100 β 预测老年脓毒症患者发生脑损伤风险敏感度为 95.52%,联合诊断优于血清 Netrin-1 单独检测,表明血清 Netrin-1 单独或联合 NSE, S100 β 可用于老年脓毒症患者发生脑损伤的诊断。

综上所述,老年 SAE 患者血清 Netrin-1 水平降低,血清 Netrin-1 水平单独或联合 NSE, S100 β 对预测老年脓毒症患者发生脑损伤风险具有一定价值,具有一定临床应用意义,但其具体作用机制尚不清楚,仍需扩大样本做进一步研究。

参考文献:

- [1] SONNEVILLE R, DE MONTMOLLIN E, POUJADE J, et al. Potentially modifiable factors contributing to sepsis-associated encephalopathy[J]. Intensive Care Medicine, 2017, 43(8): 1075-1084.
- [2] MOLNÁR L, FÜLESDI B, NÉMETH N, et al. Sepsis-associated encephalopathy: A review of literature[J]. Neurology India, 2018, 66(2): 352-361.
- [3] 颜珊珊,高敏,陈欢,等. 脓毒症相关性脑病患者血清胶质纤维酸性蛋白的表达及其临床意义[J]. 中南大学学报(医学版), 2019, 44(10):1137-1142.
YAN Shanshan, GAO Min, CHEN Huan, et al. Expression level of glial fibrillary acidic protein and its clinical significance in patients with sepsis-associated encephalopathy [J]. Journal of Central South University(Medical Science), 2019, 44(10):1137-1142.
- [4] MULERO P, CORDOVA C, HERNÁNDEZ M, et al. Netrin-1 and multiple sclerosis: a new biomarker for neuroinflammation[J]. European Journal of Neurology, 2017, 24(9): 1108-1115.
- [5] 张子良,廖祥萍,黄樱. Netrin-1 在阿尔茨海默病中的研究进展[J]. 中国老年学杂志, 2020, 40(17):3781-3784.
ZHANG Ziliang, LIAO Xiangping, HUANG Ying. Research progress of Netrin-1 in Alzheimer's disease[J]. Chinese Journal of Gerontology, 2020, 40(17):3781-3784.
- [6] GUO Daoxia, QIAO Ying, LI Zaihan, et al. Decreased serum Netrin-1 is associated with ischemic stroke: A case-control study[J]. Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases, 2020, 30(12): 2328-2334.

(下转第 114 页)