

BOLD-fMRI方法探讨尤瑞克林治疗急性脑梗死的疗效及其作用机制

袁芳 胡涛 王艺东 黄穗乔 潘经锐 邱宇 彭英

【摘要】 目的 通过血氧水平依赖功能磁共振成像(BOLD-fMRI)的方法观察尤瑞克林治疗急性脑梗死的疗效及其作用机制。 方法 将 23 例急性脑梗死患者按随机数字表法分成对照组(11 例)和治疗组(12 例),对照组给予常规治疗,治疗组在常规治疗的基础上加用尤瑞克林,疗程均为 12~14 d。观察治疗前后 BOLD-fMRI 影像和患侧食指肌力评分和美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)评分的变化。 结果 治疗后,治疗组患侧感觉运动皮层(SMC)激活频率和激活体积较治疗前明显增加(11/12 vs 4/12; 199.58±169.41 vs 105.17±197.23),且治疗前后激活体积之差明显大于对照组(94.42±51.57 vs 16.09±106.61),差异有统计学意义($P<0.05$);治疗后,治疗组患侧食指肌力评分和 NIHSS 评分较治疗前明显改善(2.67±1.44 vs 1.25±1.48; 4.92±2.94 vs 10.42±3.80),且治疗前后 NIHSS 评分之差明显大于对照组 (5.50±1.31 vs 3.18±2.48), 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。 结论 促进脑功能区 SMC 的激活恢复可能是尤瑞克林治疗脑梗死的一个重要机制。

【关键词】 血氧水平依赖功能磁共振成像; 脑梗死; 激肽释放酶

【中图分类号】 R743.3 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-8925(2009)07-0721-04

Therapeutic effect of human urinary kallidinogenase in patients with acute cerebral infarction and its mechanism: evaluation by blood oxygen level dependent functional magnetic resonance imaging YUAN Fang, HU Tao, WANG Yi-dong, HUANG Sui-qiao, PAN Jing-rui, QIU Yu, PENG Ying.

Department of Neurology, Second Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China

Corresponding author: WANG Yi-dong, Email: wydys@yahoo.com.cn

【Abstract】 Objective To investigate the therapeutic effect of human urinary kallidinogenase in patients with acute cerebral infarction and explore the mechanism by blood oxygen level dependent functional magnetic resonance imaging (BOLD-fMRI). **Methods** twenty-three patients with acute cerebral infarction were randomized into control group ($n=11$) and treatment group ($n=12$) to receive conventional treatment and additional human urinary kallidinogenase treatment for 12 to 14 days, respectively. BOLD-fMRI was performed, and the affected forefinger muscle strength and NIHSS score were recorded before and after the treatment. **Results** In the treatment group, the activated frequency and volume in the sensorimotor cortex (SMC) ipsilateral to the infarct increased significantly after the treatment (11/12 vs 4/12; 99.58±169.41 vs 105.17±197.23, $P<0.05$). The increment in the activated volume in the SMC was significantly greater in the treatment group than in the control group (94.42±51.57 vs 16.09±106.61, $P<0.05$). The forefinger muscle strength and NIHSS score in the treatment group improved significantly after treatment (2.67±1.44 vs 1.25±1.48; 4.92±2.94 vs 10.42±3.80, $P<0.05$), and the improvement in NIHSS score was significantly greater in the treatment group than in the control group (5.50±1.31 vs 3.18±2.48, $P<0.05$). **Conclusion** The therapeutic effect of human urinary kallidinogenase on acute cerebral infarction is mediated essentially by promoting the activation in the SMC in the functional area of the brain.

【Key words】 Functional magnetic resonance imaging, blood oxygen level-dependent; Cerebral infarction; Kallikrein

DOI:10.3760/cma.j.issn.1671-8925.2009.07.019

基金项目:广州市科技攻关重点项目(2006Z1-E0111)

作者单位:510120 广州,中山大学附属第二医院神经科

通信作者:王艺东,Email: wydys@yahoo.com.cn

脑卒中幸存者会有一定程度的运动、感觉和(或)认知功能恢复,这种功能恢复通常被认为是脑损伤后中枢神经系统某种形式功能重组的结果。血管舒缓素(kallikrein)能选择性扩张缺血部位细小动脉,促进血管再生和神经再生,抑制凋亡和炎症发生,促进胶质细胞的存活和迁移,有效地改善急性脑梗死后的神经功能缺损^[1-5]。但血管舒缓素如何促进卒中后脑功能的重组目前尚不清楚。血氧水平依赖功能磁共振成像(blood oxygen level depended-functional magnetic resonance imaging, BOLD-fMRI)是利用不同神经活动状态下大脑局部脱氧血红蛋白含量的不同来显示相应的脑皮层激活区,以此了解局部脑功能的情况。BOLD-fMRI 已逐渐成为研究活体脑功能生理、病理活动的一种重要手段,也为脑卒中患者治疗、康复以及预后的评价提供一个新的研究方法。本研究拟利用 BOLD-fMRI 方法观察尤瑞克林(主要成分为从健康男性尿液中提取的人组织血管舒缓素)治疗急性脑梗死的疗效,从脑功能重组角度探讨尤瑞克林的作用机制。

资料与方法

一、一般资料

患者入组标准:(1)首次发病的颈内动脉系统血栓性脑梗死患者,累及上肢食指运动功能;(2)年龄 18~80 岁;(3)起病 72 h 内;(4)美国国立卫生研究院卒中量表(the national institute of health stroke scale, NIHSS)评分 4~22 分;(5)CT 排除脑出血;(6)患者或家属知情同意,并签署书面知情同意书。排除标准:(1)NIHSS 评分 ≤ 3 或 ≥ 23 分;(2)合并有其他脏器或系统性严重疾病;(3)近期患出血性疾病或有出血性倾向者;(4)严重精神病患者,包括痴呆;(5)过敏体质,对药物有过敏史;(6)妊娠期或哺乳期妇女;(7)左手优势者;(8)曾从事音乐或计算机等行业;(9)因各种原因不能继续治疗方案,或主动要求退出试验者。

自 2006 年 9 月至 2008 年 3 月共有 31 例符合入组标准的患者参加本次临床试验,其中 1 例患者在使用尤瑞克林治疗 2 d 后发生胃肠不适而中止试验,4 例患者在治疗过程中病情加重或并发其他系统的严重疾病致死亡而中止试验(与尤瑞克林使用无关),3 例患者未能复查 BOLD-fMRI 而退出试验,共 23 例患者完成了本次试验。患者按随机数字表法分 2 组,其中治疗组 12 例,包括男性 6 例,女性 6 例,年龄(68.9 \pm 8.4)岁;对照组 11 例,包括男性 6 例,女性 5 例,年龄(66.2 \pm 8.6)岁。两组间年龄、性别、伴发疾病等情况比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

二、治疗方案及实验室检查

对照组予常规治疗;药物包括抗血小板聚集剂、胞二磷胆碱和三七总皂甙等;接受针灸和康复治疗;存在颅内高压者予脱水治疗。治疗组在常规治疗的基础上加用尤瑞克林注射液 0.15 PANU(广东天普生化医药股份有限公司生产),加入生理盐水 250 mL 内静滴,每日 1 次,连用 12~14 d。治疗组禁止使用血管紧张素转换酶抑制剂。所有患者每天上午 7 时和下午 4 时监测双上臂血压,控制血压不高于 200/120 mm Hg。两组患者均于入院当天和治疗结束时检测血尿常规、肝肾功能。若患者出现任何不良反应情况,立即予以停药、对症处理并登记上报,留取标本送检。

三、BOLD-fMRI 检查

1. 检查方法:在治疗前和治疗后(起病 14 d)行 BOLD-fMRI 检查。采用 Intera Master 1.5T 超导型 MR 机(荷兰 Philips 公司)扫描。常规扫描:T1WI 参数为 TR/TE=530 ms/15 ms;T2WI 参数为 TR/TE=2500 ms/120 ms;FLAIR 参数为 TR/TE=6000 ms/120 ms。fMRI 扫描采用回波平面成像加上快速梯度回波序列,扫描参数为 TR/TE=3000 ms/15 ms。运动任务设计:采用组块设计方法,手运动采用被动运动方式进行。具体方法为:受试者掌面向下平放于一硬板上,由检查者捏住受试者患侧食指做上下运动,食指运动频率为 1.0~2.0 Hz,幅度 30~45 度。告诫受检查者尽可能放松双手,分散注意力。fMRI 图像采集以静止—运动的方式交替进行,共 80 个动态,1600 幅图。

2. 图像处理和分析:应用 SPM 神经系统图像处理软件(SPM2 版本)对 fMRI 图像进行后处理,获得各脑区的激活图像,选取患肢对侧感觉运动皮层区(sensorimotor cortex, SMC)及小脑进行统计学分析,分别比较治疗前后 SMC 和小脑的激活频率和激活体积的变化。激活体积直接引用 SPM 分析结果,激活体积单位为 k,1 k=10 voxels,1 voxel=2 mm \times 2 mm \times 2 mm。成像分析人员不清楚患者治疗情况。

四、其他观察指标

所有患者于治疗前和治疗后(起病 14 d)进行患侧食指肌力评分,并采用 NIHSS 评估患者的神经功能缺损情况。评估者不清楚患者治疗情况。

五、统计学方法

用 SPSS13.0 统计软件进行数据处理,正态分布资料间比较采用两独立样本 t 检验和配对 t 检验,非正态分布资料间比较采用独立样本秩和检验,率的比较采用卡方检验, $P\leq 0.05$ 示差异有统计学意义。

结 果

一、脑功能区激活情况

1. 脑功能区激活频率比较:治疗前后治疗组与对照组 SMC 和小脑的激活频率比较差异均无统计学意义($P>0.05$),但治疗后治疗组 SMC 和小脑激活频率较治疗前明显增加,差异有统计学意义($P<0.05$),而对照组 SMC 和小脑激活频率治疗前后比较差异无统计学意义($P>0.05$)。(表 1)

2. 脑功能区激活体积比较:治疗前后治疗组与对照组 SMC 和小脑的激活体积比较差异均无统计学意义($P>0.05$),但治疗后治疗组 SMC 激活体积较治疗前明显增加,差异有统计学意义($P<0.05$),而治疗组小脑激活体积、对照组 SMC 和小脑激活体积治疗前后比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。(表 2,图 1)

3. 治疗前后脑功能区激活体积之差的比较:治疗前后治疗组和对照组 SMC 激活体积之差分别为

94.42±51.57 和 16.09±106.61,比较差异有统计学意义($t=2.275, P=0.034$)。治疗前后治疗组和对照组小脑激活体积之差分别为 8.67±20.46 和 10.09±32.75,比较差异无统计学意义($t=0.126, P=0.901$)。

二、患侧食指肌力评分和 NIHSS 评分情况

1. 患侧食指肌力评分、NIHSS 评分的比较:治疗前后治疗组与对照组食指肌力评分、NIHSS 评分比较差异均无统计学意义($P>0.05$),但治疗后治疗组食指肌力评分、NIHSS 评分均较治疗前明显改善,对照组 NIHSS 评分亦较治疗前有明显改善,差异均有统计学意义($P<0.05$),而对照组食指肌力评分治疗前后差异无统计学意义($P>0.05$)。(表 3)

2. 治疗前后患侧食指肌力评分之差、NIHSS 评分之差的比较:治疗前后治疗组和对照组患侧食指肌力评分之差为 1.42±0.67 和 0.91±1.47,比较差异无统计学意义($t=1.096, P=0.285$);治疗前后治疗组和对照组 NIHSS 评分之差为 5.50±1.31 和 3.18±2.48,比较差异有统计学意义($t=2.834, P=0.010$)。

表 1 两组患者脑功能区激活频率的比较

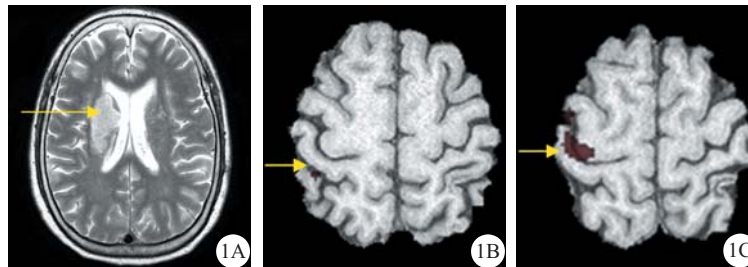
Tab.1 Activated frequency of the functional area of the brain in the two groups

组别	例数	SMC				小脑			
		治疗前	治疗后	χ^2 值	P 值	治疗前	治疗后	χ^2 值	P 值
治疗组	12	4/12	11/12	6.400	0.009	2/12	8/12	4.286	0.036
对照组	11	7/11	8/11	0.000	1.000	3/11	3/11	0.000	1.000
χ^2 值		1.072	0.000			0.012	2.165		
P 值		0.220	1.000			0.640	0.100		

表 2 两组患者脑功能区激活体积的比较($\bar{x}\pm s, k$)

Tab.2 The activated volume of the function area of the brain in the two groups ($Mean\pm SD, k$)

组别	例数	SMC				小脑			
		治疗前	治疗后	t 值	P 值	治疗前	治疗后	t 值	P 值
治疗组	12	105.17±197.23	199.58±169.41	6.342	0.000	14.00±25.57	22.67±23.09	1.467	0.170
对照组	11	114.55±222.43	130.64±226.60	0.501	0.628	16.91±33.23	27.00±47.41	1.022	0.331
t 值		0.107	0.831			0.237	0.283		
P 值		0.916	0.415			0.815	0.780		



1A: MRI 示右侧基底节区梗死;1B: 治疗前 BOLD-fMRI 示右侧 SMC 少量激活;1C: 治疗后 BOLD-fMRI 示激活区范围增大;红色部分代表脑激活区

图 1 1 例 72 岁女性治疗组患者的 MRI 和 BOLD-fMRI 图像

Fig.1 MRI and fMRI in a patient in the treatment group

表 3 两组患侧食指肌力评分、NIHSS 评分的比较($\bar{x}\pm s$)Tab.3 Affected forefinger muscle strength and NIHSS score in the two groups (*Mean* \pm *SD*)

组别	例数	食指肌力评分				NIHSS评分			
		治疗前	治疗后	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	治疗前	治疗后	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
治疗组	12	1.25 \pm 1.48	2.67 \pm 1.44	7.340	0.000	10.42 \pm 3.80	4.92 \pm 2.94	14.497	0.000
对照组	11	1.55 \pm 1.21	2.45 \pm 1.29	2.085	0.064	10.18 \pm 3.52	7.00 \pm 3.10	4.251	0.002
<i>t</i> 值		0.520	0.371			0.153	1.655		
<i>P</i> 值		0.609	0.714			0.880	0.113		

三、实验室检查及不良反应观察

整个临床实验过程中未发现药物过敏反应, 血尿常规和肝肾功能监测没有发现骨髓抑制和肝肾功能损害发生。4 例治疗组患者治疗后复查 BOLD-fMRI 显示脑梗死灶出现微量渗血(最大量 < 0.2 mL), 但神经功能缺损症状无加重。

讨 论

本研究采用患侧食指被动运动模式观察脑功能区的激活情况。恒定一致的被动运动任务既可消除患者对任务的注意、准备等认知过程, 也可保证不同受试者之间刺激任务强度的一致性, 大大拓宽了脑梗死受试者的选择范围, 是一种研究急性期伴有肢体运动障碍脑梗死患者的可行的 fMRI 研究方法。

在脑梗死后运动功能恢复中, 哪侧半球的哪些脑区起着关键作用, 目前的 fMRI 研究尚无一致结论。多个 fMRI 研究发现脑梗死早期健侧半球可出现多脑区的激活, 但这些活动对于运动恢复而言并不是关键因素。SMC 是手运动功能的高级控制中枢。既往研究显示手运动任务以激活 SMC 为主。本研究的运动任务采用患侧食指被动运动方式, 着重观察了对侧 SMC 的激活情况。同时, 由于小脑对运动有协调、校正、补偿等重要的控制作用, 本实验对小脑的激活情况亦进行了观察。

本研究发现, 治疗前后治疗组与对照组 SMC 和小脑的激活频率与体积比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 而同组治疗前后比较, 发现治疗组 SMC 的激活频率与体积明显增加, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 治疗组治疗前后 SMC 激活体积的变化亦明显大于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。所以, 尤瑞克林的使用使脑梗死患者的 SMC 激活恢复更早, SMC 激活恢复的患者更多, 而且能促使更多的脑细胞参与运动功能的重建和恢复。既往研究多数显示患侧半球 SMC 激活越早, 患者运动功能恢复越好。本实验没有发现小脑激活在运动皮层修复过程中所起的作用, 此还有待进一步研究。

同期进行的患侧食指肌力评分和 NIHSS 评分

的观察显示, 两组间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 但治疗组 NIHSS 评分的好转更明显, 即尤瑞克林的使用可更大幅度地改善脑梗死患者的神经功能。这与 fMRI 的观察结果基本相应, 尤瑞克林对脑功能区 SMC 的激活恢复的作用可能促进了神经功能的改善。

在研究过程中我们观察到治疗组有较多患者治疗后梗死灶出现微量渗血, 可能与尤瑞克林选择性扩张缺血部位细小动脉有关。梗死部位由于缺血缺氧, 血管壁受损, 在尤瑞克林的扩血管作用下可能导致微血管的破裂, 但这些微量的渗血并没有导致患者病情的加重。

总之, 尤瑞克林能加快脑功能恢复的速度, 而这与其促进脑功能区 SMC 的激活恢复有关。促进脑功能区 SMC 的激活恢复可能是尤瑞克林治疗脑梗死的一个重要机制。但本研究也存在一定的局限性, 如例数偏少, 患者间神经功能缺损程度相差较大, 观察时间较短等。这些都需要在进一步的研究中克服。

参 考 文 献

- [1] Nagano H, Suzuki T, Hayashi M, et al. Effect of a human urinary kininogenase (SK-827) on cerebral microcirculation after glass bead-induced cerebral embolism in rabbits[J]. In Vivo, 1992, 6(5): 497-502.
- [2] Xia CF, Yin H, Yao YY, et al. Kallikrein protects against ischemic stroke by inhibiting apoptosis and inflammation and promoting angiogenesis and neurogenesis[J]. Hum Gene Ther, 2006, 17(2): 206-219.
- [3] Ling L, Hou Q, Xing S, et al. Exogenous kallikrein enhances neurogenesis and angiogenesis in the subventricular zone and the peri-infarction region and improves neurological function after focal cortical infarction in hypertensive rats[J]. Brain Res, 2008, 1206(1): 89-97.
- [4] Xia CF, Yin H, Borlongan CV, et al. Kallikrein gene transfer protects against ischemic stroke by promoting glial cell migration and inhibiting apoptosis[J]. Hypertension, 2004, 43(2): 452-459.
- [5] 吕瑞妍, 杨炼红, 沈庆煜, 等. 腺病毒介导 Kallikrein 基因过度表达对脑梗死周边区细胞凋亡的作用 [J]. 中华神经医学杂志, 2008, 7(9): 886-890.

(收稿日期: 2009-03-24)

(本文编辑: 刘凯)