



电子、语音版

·论著·

颅脑损伤患者血清 miR-34a、miR-16 和纤维蛋白原水平与病情、预后的相关性

任登鹏, 周新管, 王磊

运城市中心医院神经外二科, 山西 运城 044000

摘要:目的 研究血清微小RNA(miR)-34a、miR-16及纤维蛋白原(FIB)与颅脑损伤程度、预后转归的相关性。方法 选取2018年7月—2020年7月运城市中心医院收治的97例颅脑损伤患者为研究组,同期该院体检健康者50例为对照组,对比两组血清miR-34a、miR-16相对表达水平及FIB值,对比不同病情、不同预后患者与其血清miR-34a、miR-16相对表达水平和FIB值的相关性,采用受试者工作特征(ROC)曲线分析血清miR-34a、miR-16相对表达水平及FIB值对颅脑损伤预后评估的价值。结果 研究组血清miR-34a、miR-16相对表达水平高于对照组($P<0.05$),研究组血清FIB值低于对照组($P<0.05$);重度组血清miR-34a、miR-16相对表达水平较轻度组升高($P<0.05$),重度组血清FIB值较轻度组降低($P<0.05$);预后不良组血清miR-34a、miR-16相对表达水平高于预后良好组($P<0.05$),预后不良组血清FIB值低于预后良好组($P<0.05$);血清miR-34a、miR-16相对表达水平与颅脑损伤病情及预后均呈正相关($P<0.05$);血清FIB值与颅脑损伤病情及预后均呈负相关($P<0.05$);ROC曲线显示,血清miR-34a、miR-16及FIB联合评估颅脑损伤预后的AUC是0.948(95%CI: 0.908~0.988),灵敏度是83.31,特异度是96.02。结论 血清miR-34a、miR-16及FIB水平与颅脑损伤病情程度、预后转归关系密切,3项指标水平联合检测对颅脑损伤患者预后有较高的评估价值。 [国际神经病学神经外科学杂志, 2022, 49(1): 22-25.]

关键词:微小RNA-34a;微小RNA-16;纤维蛋白原;颅脑损伤;病情程度;预后转归;相关性

中图分类号:R651.15

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.1673-2642.2022.01.005

Correlation of the serum levels of microRNA-34a, microRNA-16, and fibrinogen with disease severity and prognosis in patients with craniocerebral injury

REN Deng-Peng, ZHOU Xin-Guan, WANG Lei

The Second Department of Neurosurgery, Yuncheng Central Hospital, Yuncheng, Shanxi 044000, China

Abstract: **Objective** To investigate the correlation of the serum levels of microRNA-34a (miR-34a), microRNA-16 (miR-16), and fibrinogen (FIB) with the severity and prognosis of craniocerebral injury. **Methods** A total of 97 patients with craniocerebral injury who were admitted to our hospital from July 2018 to July 2020 were enrolled as study group, and 50 individuals who underwent physical examination in our hospital during the same period of time were enrolled as control group. The serum levels of miR-34a, miR-16, and FIB were compared between the two groups, and the correlation of the serum levels of miR-34a, miR-16, and FIB with severity and prognosis was compared between patients with different severities and prognoses. The receiver operating characteristic (ROC) curve was used to analyze the value of the serum levels of miR-34a, miR-16, and FIB in predicting the prognosis of craniocerebral injury. **Results** Compared with the control group, the study group had significantly higher serum levels of miR-34a and miR-16 ($P<0.05$) and a significantly lower serum level of FIB ($P<0.05$). Compared with the mild-to-moderate group, the severe group had significant increases in the serum levels of miR-34a and miR-16 ($P<0.05$) and a significant reduction in the serum level of FIB ($P<0.05$). Compared with the good prognosis group, the poor prognosis group had significantly higher serum levels of miR-34a and miR-16 ($P<0.05$) and a significantly lower serum level of FIB ($P<0.05$). The serum levels of miR-34a and miR-16 were positively correlated with

基金项目:运城市中心医院院级项目(2019009)

收稿日期:2021-06-29;修回日期:2022-02-05

the severity and prognosis of craniocerebral injury ($P < 0.05$), and the serum level of FIB was negatively correlated with the severity and prognosis of craniocerebral injury ($P < 0.05$). The ROC curve analysis showed that the serum levels of miR-34a, miR-16, and FIB in combination had an area under the ROC curve of 0.948 (95% confidence interval: 0.908–0.988) in evaluating the prognosis of craniocerebral injury, with a sensitivity of 83.31 and a specificity of 96.02. **Conclusions** The serum levels of miR-34a, miR-16, and FIB are closely associated with the severity and prognosis of craniocerebral injury, and the combined measurement of the levels of the three indicators has a high value in evaluating the prognosis of patients with craniocerebral injury. [Journal of International Neurology and Neurosurgery, 2022, 49(1): 22–25.]

Keywords: microRNA-34a; microRNA-16; fibrinogen; craniocerebral injury; disease severity; prognosis; correlation

颅脑损伤通常由交通事故、钝器击中头部、摔倒等因素造成,其发生率为每年120~150人/10万人口,病情复杂多变,严重者预后较差^[1]。颅脑损伤患者容易发生凝血功能紊乱,会对患者预后转归产生不利影响^[2]。微小RNA(microRNA, miR)为单链RNA小分子,能够在转录后水平对基因表达予以调节,参与调控诸多生物学过程,并与颅脑损伤关系密切^[3]。近期研究表明^[4-5],miR-34a、miR-16及凝血功能指标纤维蛋白原(Fibrinogen, FIB)在颅脑损伤患者体液中表达水平异常。为进一步探究上述指标与颅脑损伤的关系,本文分析了miR-34a、miR-16及FIB水平与颅脑损伤病情及预后的相关性,希望能进一步了解其临床意义,为临床工作提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2018年7月—2020年7月运城市中心医院收治的97例颅脑损伤患者为研究组。其中,男性60例,女性37例;年龄25~80岁,平均(51.30±6.41)岁;有吸烟史38例,饮酒史49例,高血压史55例,糖尿病史42例,冠状动脉粥样硬化性心脏病史18例;病程1~8 h,平均(3.52±1.12)h;致伤因素:车祸伤55例,打击伤8例,砸伤6例,高处坠落28例。另选同期在我院体检的健康者50例为对照组。其中,男性30例,女性20例;年龄25~78岁,平均(50.88±5.86)岁;吸烟史19例;饮酒史24例。研究组和对照组在性别构成、年龄及吸烟史和饮酒史方面比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。本研究经医院医学伦理委员会批准。

纳入标准:①颅脑损伤符合《外科学》中有关诊断标准^[6];②颅脑损伤后12 h内入院;③临床资料完整;④无传染性疾病、精神疾病及免疫系统疾病。排除标准:①合并凝血机制障碍或血液性疾病;②合并严重心脏、肝脏、肾脏功能不全;③入院前已实施相关治疗;④有颅脑损伤史;⑤合并颅内肿瘤或颅内感染;⑥合并其他系统损伤。

1.2 方法

1.2.1 血清miR-34a、miR-16及FIB水平检测 受试对象在入院1 h内留取5 mL静脉血,进行离心后血清在-80℃条件保存备用。①采用实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(real time fluorescence quantitative polymerase

chain reaction, qRT-PCR)检测血清miR-34a、miR-16相对表达水平,操作如下:用总RNA提取试剂盒(上海苗彩生物科技有限公司,批号XYB0901)提取血清中总RNA,用反转录试剂盒(北京伊塔生物科技有限公司,批号YT9036)将它逆转录成cDNA,以此cDNA为模板并根据引物序列(表1)行PCR扩增。扩增体系为:SYBR Premix Ex Taq 10 μL,正反向引物各0.5 μL,cDNA模板1 μL,加无核酶水将体系补充至20 μL。反应条件为:95℃预变性,10 min;95℃变性,15 s;60℃退火延伸,60 s;循环40次。根据扩增曲线对循环阈值(Cycle threshold, Ct)进行读取,内参照为GAPDH,应用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行计算。②采用光电磁速率法检测血清FIB水平,试剂盒购自上海梵态生物科技有限公司(批号FT-D24363)。

表1 引物序列

| 基因 | 引物序列(5'-3') | 扩增片段长度/bp |
|---------|-------------------------------|-----------|
| GAPDH | 正向:TCAACGACCACCTTTGCTCAAGCTCA | 105 |
| | 反向:GATGGTGGTCCAGGGGTCTTACT | |
| miR-34a | 正向:GAGCCTCAAAGA AACTGCAC | 168 |
| | 反向:AATTGGACAGCACCTTCTGG | |
| miR-16 | 正向:TGTGTGGAGAGCGTCAACC | 157 |
| | 反向:TGGATCCAGGTGTGCAGGT | |

1.2.2 病情程度判定^[7] 依据格拉斯哥昏迷量表(Glasgow coma scale, GCS)评分将颅脑损伤分为轻中度(GCS评分9~15分)、重度(GCS评分3~8分)。

1.2.3 治疗方案 患者入院确诊后,针对有手术指征的患者予以手术治疗,而对于无手术指征的患者予以抑制感染、改善微循环、脱水等保守治疗方案。在此基础上给予曲克芦丁脑蛋白水解物注射液(购自吉林四环制药有限公司,H22026572为国药准字),400 mg加入生理盐水250 mL(北京天坛生物制品股份有限公司)中,静脉滴注,1次/d,连续2周。

1.2.4 预后判定^[8] 随访6个月,用格拉斯哥预后量表(Glasgow outcome scale, GOS)对患者预后情况进行评估,1~3分为预后不良组,4~5分为预后良好组。

1.3 统计学方法

应用 SPSS 20.0 软件包对数据进行分析。计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 *t* 检验;计数资料采用例(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;相关性分析采用 Spearman 检验,绘制受试者工作特征(ROC)曲线。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清 miR-34a、miR-16 相对表达水平及 FIB 值情况

两组血清 miR-34a、miR-16 相对表达水平及 FIB 值比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与对照组比较,研究组血清 miR-34a、miR-16 相对表达水平上升及 FIB 值下降。见表 2。

表 2 两组血清 miR-34a、miR-16 相对表达水平及 FIB 值情况 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | miR-34a | miR-16 | FIB/(g/L) |
|------------|-----------|-----------|-----------|
| 对照组(n=50) | 0.37±0.12 | 0.92±0.36 | 3.12±0.86 |
| 研究组(n=97) | 3.03±0.82 | 4.36±1.79 | 1.86±0.13 |
| <i>t</i> 值 | -31.305 | -18.226 | 10.300 |
| <i>P</i> 值 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |

2.2 不同病情的患者血清 miR-34a、miR-16 相对表达水平及 FIB 值情况

不同病情的患者血清 miR-34a、miR-16 相对表达水平及 FIB 值比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。重度组血清 miR-34a、miR-16 相对表达水平较轻度组升高,重度组血清 FIB 值较轻度组降低。见表 3。

表 3 不同病情的患者血清 miR-34a、miR-16 相对表达水平及 FIB 值情况 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | miR-34a | miR-16 | FIB/(g/L) |
|------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 轻度组(n=23) | 1.98±0.51 | 3.11±1.00 | 2.15±0.32 |
| 中度组(n=40) | 2.45±0.70 ^① | 4.27±1.76 ^① | 1.83±0.19 ^① |
| 重度组(n=34) | 3.86±0.99 ^{①②} | 5.45±2.48 ^{①②} | 1.62±0.08 ^{①②} |
| <i>F</i> 值 | 48.060 | 10.390 | 46.780 |
| <i>P</i> 值 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |

注:①与轻度组比较, $P < 0.05$; ②与中度组比较, $P < 0.05$

2.3 不同预后的患者血清 miR-34a、miR-16 相对表达水平及 FIB 值情况

不同预后的患者血清 miR-34a、miR-16 相对表达水平及 FIB 值比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。预后不良组血清 miR-34a、miR-16 相对表达水平高于预后良好组,而 FIB 值低于预后良好组。见表 4。

2.4 血清 miR-34a、miR-16 相对表达水平及 FIB 值与病情及预后的相关性

血清 miR-34a、miR-16 相对表达水平与颅脑损伤病情

表 4 不同预后的患者血清 miR-34a、miR-16 相对表达水平及 FIB 值情况 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | miR-34a | miR-16 | FIB/(g/L) |
|-------------|-----------|-----------|-----------|
| 预后良好组(n=72) | 1.95±0.61 | 3.08±0.98 | 2.18±0.19 |
| 预后不良组(n=25) | 3.90±1.03 | 5.38±2.51 | 1.59±0.07 |
| <i>t</i> 值 | -8.937 | -4.465 | 22.342 |
| <i>P</i> 值 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |

及预后均呈正相关($P < 0.05$);血清 FIB 值与颅脑损伤病情及预后均呈负相关($P < 0.05$)。见表 5。

表 5 miR-34a、miR-16 相对表达水平及 FIB 值与颅脑损伤病情及预后的相关性

| 变量 | <i>r</i> _{病情} | <i>P</i> 值 | <i>r</i> _{预后} | <i>P</i> 值 |
|---------|------------------------|------------|------------------------|------------|
| miR-34a | 0.663 | 0.000 | 0.618 | 0.000 |
| miR-16 | 0.594 | 0.000 | 0.630 | 0.000 |
| FIB | -0.571 | 0.000 | -0.585 | 0.000 |

2.5 ROC 曲线

ROC 曲线显示,血清 miR-34a、miR-16 相对表达量及 FIB 值联合评估颅脑损伤预后的 AUC 是 0.948(95%CI 为 0.908~0.988),灵敏度是 83.31,特异度是 96.02。见表 6、图 1。

表 6 血清 miR-34a、miR-16 相对表达量及 FIB 值对颅脑损伤预后的评估价值

| 变量 | AUC | 特异度 | 灵敏度 | 95%CI | 截断值 | <i>P</i> 值 |
|---------|-------|-------|-------|-------------|------|------------|
| miR-34a | 0.832 | 84.00 | 75.02 | 0.728~0.936 | 2.43 | 0.000 |
| miR-16 | 0.787 | 68.01 | 88.91 | 0.667~0.906 | 4.01 | 0.000 |
| FIB | 0.814 | 72.01 | 80.60 | 0.705~0.923 | 1.83 | 0.000 |
| 联合 | 0.948 | 96.02 | 83.31 | 0.908~0.988 | - | 0.000 |

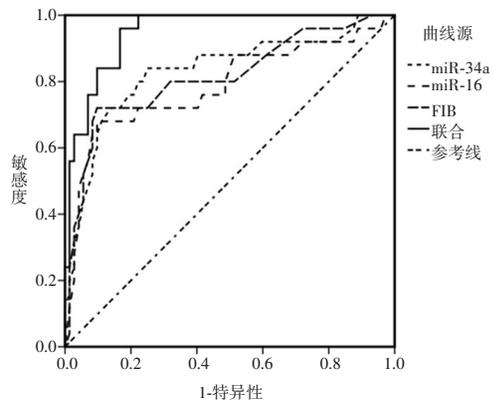


图 1 血清 miR-34a、miR-16 相对表达量及 FIB 值评估颅脑损伤预后的 ROC 曲线

3 讨论

miR 长度约为 22 个核苷酸,具有内源性,性质稳定,在体液中含量丰富,易透过血脑屏障,以往临床对 miR 的

研究探索多集中在肿瘤、神经退行性疾病、心血管疾病等。近年来,研究发现 miR 在脑外伤中有潜在的应用价值^[9]。miR-34a、miR-16 是 miR 家族成员,研究显示^[10]颅脑损伤患者外周血 miR-16 表达水平较矫形外科创伤患者升高。报道提示^[11],颅脑损伤患者血清和脑脊液内 miR-34a 含量均上调,且干预之后临床效果好的患者血清 miR-34a 表达量低于治疗效果差的患者。资料显示^[12],脑外伤 4 h 后 CT 检查结果阳性患者 miR-16 表达量为健康人群的 6.36 倍,呈现增高趋势。有学者用体外方法实验性诱导大鼠颅脑损伤后,发现 miR-34a 表达水平上调,提示 miR-34a 可能与颅脑损伤发生及发展有关^[13]。结合本次研究结果,研究组血清 miR-34a、miR-16 高于对照组,提示 miR-34a/16 在颅脑损伤患者外周血中呈高表达状态。此外,相关性分析显示血清 miR-34a/16 与颅脑损伤病情及预后均呈正相关,血清 miR-34a/16 随着颅脑损伤病情加重而表达量增加,且预后转归情况越差的患者其血清 miR-34a/16 水平越高,提示 miR-34a/16 与颅脑损伤病情及预后转归关系密切,其可能在颅脑损伤诊断、损伤程度、预后情况评估中有着重要意义。

机体遭受创伤时会引起凝血障碍,具有特殊的组织学特点的大脑更容易发生凝血纤溶系统异常^[14]。FIB 为凝血相关因子,由肝细胞合成,能够促进血小板聚集,介导毛细管形成以及血管生成,增加血液粘滞性,促进组织血运重建,参与机体凝血和止血过程,促进血栓形成^[15]。本研究结果显示,与对照组进行比较,研究组血清 FIB 水平下调,可见 FIB 在颅脑损伤患者外周血中呈低水平,这与既往报道一致^[16];进一步研究发现,重度组、预后不良组血清 FIB 较轻度组、预后良好组减少,提示病情程度越重及预后越差的颅脑损伤患者 FIB 水平下降越明显,其凝血功能越差。对其原因进行分析,可能是颅脑损伤发生时,患者脑组织受损,血脑屏障功能遭到破坏,凝血物质大量地释放入血,外源性凝血因子在血液循环系统中将外源性凝血途径刺激并活化,使血液处在一个高凝状态,导致机体凝血功能障碍,且血液高凝状态会随着病情的加重而越发严重。ROC 曲线显示,血清 miR-34a、miR-16 及 FIB 水平联合评估颅脑损伤预后的 AUC 是 0.948 (95%CI 为 0.908~0.988),提示有较高的评估价值,灵敏度是 83.31,特异度是 96.02,提示 3 项指标水平联合检测对颅脑损伤患者预后较高的评估价值,及早监测血清 miR-34a、miR-16 及 FIB 水平,为制定以及调整治疗方案予以一定参考,从而提升治疗疗效,改善患者预后情况。

综上所述,血清 miR-34a、miR-16 及 FIB 水平与颅脑损伤病情程度、预后转归关系密切,3 项指标水平联合检测对颅脑损伤患者预后较高的评估价值。但本研究样本数相对较少,且随访时间比较短暂,有待扩大样本进一步观察,且颅脑损伤病情多变,可根据伤情动态变化,设

置多个时间点动态监测上述血清指标,可能更有意义。

参 考 文 献

- [1] 符招泉,陈伟明,夏鹰.重度颅脑损伤术中应用阶梯式减压技术的疗效分析[J].国际神经病学神经外科学杂志,2019,46(3):251-253.
- [2] 岳龙华.神经节苷脂钠对重症颅脑损伤病人机体应激、神经损伤程度、神经功能重建相关因子及凝血指标的影响[J].血栓与止血学,2020,26(5):732-734.
- [3] GHAI V, FALLEN S, BAXTER D, et al. Alterations in plasma microRNA and protein levels in war veterans with chronic mild traumatic brain injury[J]. J Neurotrauma, 2020, 37(12): 1418-1430.
- [4] WANG SP, WANG D, LI HX, et al. Influence of miR-34a on cerebral neuronal apoptosis in rats with cerebral ischemia reperfusion through the Notch1 signaling pathway[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(18): 8049-8057.
- [5] PINCHI E, FRATI A, CIPOLLONI L, et al. Clinical-pathological study on β -APP, IL-1 β , GFAP, NFL, Spectrin II, 8OHdG, TUNEL, miR-21, miR-16, miR-92 expressions to verify DAI-diagnosis, grade and prognosis[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 2387.
- [6] 陈孝平,汪建平.外科学[M].8版.北京:人民卫生出版社,2013.
- [7] 余美红.S100B 和 NSE 联合检测对颅脑损伤患者早期预后判断的应用价值[J].浙江创伤外科,2019,24(3):571-572.
- [8] 张彬,毛小静,冯杰.影响颅脑创伤远期预后的因素分析[J].临床神经外科杂志,2020,17(1):71-76.
- [9] LEE SC, MARTIENSSEN RA. Phase separation in plant miRNA processing[J]. Nat Cell Biol, 2021, 23(1): 5-6.
- [10] 顾浩,冯东福.重型颅脑损伤病人外周血 miRNA 生物信息学分析[J].中国临床神经外科杂志,2019,24(12):749-751.
- [11] 王子钰,王家昕,王晓霞,等.大鼠创伤性脑损伤中差异表达基因 microRNA 调节网络的生物信息学研究[J].生物物理学,2020,8(4):39-46.
- [12] 潘长福,段景丽,何燕,等.轻型颅脑损伤患者血清 miR-16 和 miR-92a 的表达变化与预后的相关性研究[J].实验与检验医学,2020,38(5):843-846.
- [13] TOLOSA E, BOTTA-ORFILA T, MORATÓ X, et al. MicroRNA alterations in iPSC-derived dopaminergic neurons from Parkinson disease patients[J]. Neurobiol Aging, 2018, 69: 283-291.
- [14] SULIMAI N, LOMINADZE D. Fibrinogen and neuroinflammation during traumatic brain injury[J]. Mol Neurobiol, 2020, 57(11): 4692-4703.
- [15] CHEN W, SHEN J, ZHANG Y, et al. A randomised controlled trial of fibrinogen concentrate during scoliosis surgery[J]. Anaesthesia, 2020, 75(11): 1476-1481.
- [16] Muradashvili N, Charkviani M, Sulimai N, et al. Effects of fibrinogen synthesis inhibition on vascular cognitive impairment during traumatic brain injury in mice[J]. Brain Res, 2021, 1751: 147208.

责任编辑:王荣兵