论著

文章编号:1000-5404(2010)07-0700-04

APOE基因多态性与动脉瘤性蛛网膜下腔出血后早期脑功能改变的相关性

林 斌,孙晓川,张晓冬,但 炜,朱 继,何朝晖,吴海涛,印晓鸿 (400016 重庆,重庆医科大学附属第一医院神经外科)

[摘要] 目的 探讨载脂蛋白E(apolipoprotein E, apoE代表载脂蛋白,APOE代表编码载脂蛋白的基因)基因多态性与动脉瘤性蛛网膜下腔出血(subarachnoid hemorrhage,SAH)后早期脑功能改变的相关性。**方法** 于入院时收集79例动脉瘤性SAH患者的临床资料。分别于入院当天和发病后第3~5天行脑电图检查以评判脑功能。与第1次脑电图比较,如随访脑电图α波频率下降、慢波增多或波幅下降等判定为脑电图异常程度加重。反之,未出现上述情况者则判定为脑电图异常程度减轻。APOE基因多态性通过聚合酶链反应限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)而确定。**结果** 在17例APOEε4等位基因携带者中有10例(58.8%)脑电图异常程度加重,明显高于非ε4携带者(29.0%,$P=0.023$)。而ε2、ε3携带者中出现脑电图异常程度加重比例与非ε2、ε3携带者比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。单因素Logistic回归分析提示高Fisher分级($P=0.028$, $OR=2.917$, 95% $CI=1.124\sim7.572$)及ε4($P=0.027$, $OR=3.492$, 95% $CI=1.150\sim10.604$)均是动脉瘤性SAH后脑电图异常程度加重的危险因素。调整临床资料后行多因素Logistic回归分析,发现APOEε4与脑电图变化的关系更为显著($P=0.007$, $OR=5.741$, 95% $CI=1.625\sim20.280$)。**结论** APOE ε4等位基因是动脉瘤性SAH后早期脑功能损伤加重的危险因素,同时其也可能参与了SAH后早期脑损伤。

[关键词] 载脂蛋白E类;蛛网膜下腔出血;脑电图;早期脑损伤;流行病学,分子

[中图法分类号] R743.35;R338.25;R338.8 **[文献标志码]** A

Association between APOE polymorphism and brain function in early stage of aneurysmal subarachnoid hemorrhage

Lin Bin, Sun Xiaochuan, Zhang Xiaodong, Dan Wei, Zhu Ji, He Zhaohui, Wu Haitao, Yin Xiaohong (Department of Neurosurgery, First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China)

Abstract: Objective To explore the association of APOE gene polymorphism with the brain function in the early stage of aneurysmal subarachnoid hemorrhage (SAH). **Methods** Totally 79 patients with aneurysmal SAH admitted in our hospital from March 2008 to April 2009 were recruited and their clinical data were collected. Electroencephalography (EEG) was recorded on admission and in 3 to 5 d after onset to assess the change of brain function of the patients in acute stage of SAH. The result of the second EEG recording was defined as EEG deterioration if the decrease in alpha wave frequency, increase in slow wave or decline in amplitude were observed when compared with the first EEG recording. The APOE polymorphism was determined by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). **Results** Ten of 17 patients with APOE ε4 (58.8%) showed the deteriorated EEG, which was significantly different from those without APOE ε4 (18 of 62 patients, 29.0%, $P=0.023$). However, neither the presence of ε2 nor of ε3 was significantly different from those absent of it ($P>0.05$). Univariate logistic regression analyses showed that both high Fisher grade ($P=0.028$, $OR=2.917$, 95% $CI=1.124$ to 7.572) and APOEε4 ($P=0.027$, $OR=3.492$, 95% $CI=1.150$ to 10.604) were risk factors to EEG aggravation after aneurysmal SAH. The association of APOEε4 for deteriorated EEG was more significant after adjustment for age, gender, Hunt-Hess grade on admission, and Fisher grade ($P=0.007$, $OR=5.741$, 95% $CI=1.625$ to 20.280). **Conclusion** Our findings suggest that the APOEε4 allele is a risk factor to brain function aggravation in the early stage of aneurysmal SAH, and it may contribute to early brain injury after SAH.

[Key words] apolipoprotein E; subarachnoid hemorrhage; electroencephalogram; early brain injury; epidemiology, molecular

Corresponding author: Zhang Xiaodong, E-mail: doctor.zxd@gmail.com

[通信作者] 张晓冬,E-mail:doctor.zxd@gmail.com

蛛网膜下腔出血(subarachnoid hemorrhage,SAH)主要为颅内动脉瘤破裂后血液进入蛛网膜下腔所致,近年来虽然在诊断和治疗上有所进展,但其病死率及致残率依然极高,目前认为早期脑损伤可能对疾病的发展及预后具有重要的影响作用,是未来SAH治疗的新方向[1]。载脂蛋白E(apolipoprotein E, apoE代表载脂蛋白,APOE代表编码载脂蛋白的基因)在脑内主要由星形胶质细胞合成并发挥神经保护作用,其ε4等位基因被认为是SAH发病及预后不良的危险因子[2,3]。本研究通过对SAH后早期脑电图(electroencephalography, EEG)改变的观测,以探讨APOE基因多态性与SAH后早期脑功能改变的相关性。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选择2008年3月至2009年5月在重庆医科大学附属第一医院神经外科就诊并符合以下条件的79例动脉瘤性SAH患者为研究对象:①发病后5 d内入我院;②SAH经头颅CT或腰椎穿刺证实;③动脉瘤经CTA或DSA证实。排除标准:①发病前有头颅外伤史或其他神经系统疾病;②CTA或DSA检查阴性或者SAH由血管畸形及烟雾病等所导致的非动脉瘤性SAH。所有病例控制血压(收缩压<140 mmHg)及监测血糖,采用尼莫地平静脉制剂(拜耳公司)抗脑血管痉挛,用氨甲环酸行抗纤溶治疗以及预防性使用抗癫痫药物和镇痛药。性别、年龄、高血压病史、Hunt-Hess分级及CT的Fisher分级等临床资料在入院时采集。

1.2 APOE基因型鉴定

APOE具有3个等位基因,即ε2、ε3和ε4,它们的主要区别是其DNA序列上存在2个位点的碱基替代,造成它们所编码蛋白在第112位和第158位的氨基酸残基发生了相应的变化。根据江涌等[4]的方法,采用聚合酶链反应限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)检测APOE基因型。

1.3 脑电图检测与判读

所有病例均按照国际10-20系统安放电极,作16导单极导联采样,耳电极为参考电极。分别于患者入院当天及发病后第3~5天行脑电图检测,每次做10~15 min,确保能采集到足够安静闭目无伪迹图形。全部脑电图由工作10年以上的脑电图专业医师检测,排除低温、药物或者血糖的影响。在监测过程中,与第1次比较,如α慢波增多或慢波频率更低,波幅下降等判定为脑电图异常程度加重,反之,未出现上述情况则判定为脑电图异常程度减轻。

1.4 统计学分析

对临床资料中的计数资料采用χ^2检验;采用Logistic单因素回归分析分别对各因素及是否携带ε2、ε3、ε4和脑电图变化情况进行相关性分析,进一步调整临床资料后再采用Logistic多元回归分析ε4等位基因和脑电图变化的相关性。Logistic多元回归分析方程采用前进型逐步法(Forward:Wald),变量入选标准:$P<0.05$,剔除标准:$P>0.10$。数据分析采用SPSS 17.0统计软件。

2 结果

2.1 基因型分布

本研究中,79例动脉瘤性SAH患者的基因型中包含了除ε2/ε2型之外的其余5种基因型:ε2/ε3,12例;ε2/ε4,2例;ε3/ε3,50例;ε3/ε4,14例;ε4/ε4,1例。其中APOEε4携带者共有17例,基因型分布和等位基因频率符合遗传学Hardy-Weinberg定律。

2.2 临床资料分析

本组79例动脉瘤性SAH患者中,有28例早期脑电图出现异常程度加重。如表1所示,脑电图异常程度加重组与减轻组在年龄、性别、高血压病史、Hunt-Hess分级的构成上,差异无统计学意义($P>0.05$)。而脑电图异常程度加重组中Fisher分级3~4级的构成比较减轻组高,其差别有统计学意义($P=0.026$)。

表1 脑电图异常程度加重组与减轻组相关临床资料比较

相关因素	EEG异常加重	EEG异常减轻	P值
性别			
男	12	24	0.720
女	16	27	
年龄(岁)			
<60	18	36	0.565
≥60	10	15	
高血压			
无	15	32	0.427
有	13	19	
Hunt-Hess分级			
1~2级	9	28	0.063
3~5级	19	23	
Fisher分级			
1~2级	12	35	0.026
3~4级	16	16	

2.3 基因型与SAH后早期脑电图变化的关系

如表2示,17例APOE ε4携带者中10例(58.8%)脑电图异常程度加重,显著高于非ε4携带者(62例中18例脑电图异常程度加重,29.0%,$P=0.023$);ε2、ε3携带者中出现脑电图异常程度加重比例与非ε2、ε3携带者比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

表2 APOE等位基因ε2、ε3及ε4各自携带患者与脑电图改变的情况

脑电图异常程度	ε2等位基因		ε3等位基因		ε4等位基因	
	ε2+	ε2-	ε3+	ε3-	ε4+	ε4-
加重	3	25	26	2	10	18
减轻	11	40	50	1	7	44
P值	0.368		0.591		0.023	

Logistic回归分析:如表3所示,分别对性别、年龄、高血压、Hunt-Hess分级和Fisher分级等相关因素及ε2、ε3、ε4与脑电图异常程度加重与否作单因素Logistic回归分析,发现ε4是脑电图异常程度加重的危险因素($P=0.027$,$OR=3.492$,95% $CI=1.150\sim10.604$),同时Fisher分级也与脑电图变化具有相关性($P=0.028$,$OR=2.917$,95% $CI=1.124\sim7.572$)。进一步调整临床资料后作多元Logistic回归分析,发现ε4仍是脑电图异常

程度加重的危险因素($P=0.007$,$OR=5.741$,95% $CI=1.625\sim20.280$)。

表3 各因素与脑电图变化相关性的单因素 Logistic 回归分析

相关因素	P 值	OR 值	95% CI
性别	0.720	1.185	0.468~3.000
年龄	0.565	1.333	0.500~3.553
高血压	0.428	1.460	0.573~3.717
Hunt-Hess 分级	0.055	2.570	0.978~6.753
Fisher 分级	0.028	2.917	1.124~7.572
APOE ε2	0.236	0.436	0.111~1.719
APOE ε3	0.281	0.260	0.023~3.003
APOE ε4	0.027	3.492	1.150~10.604

3 讨论

虽然有多种分级系统被用于 SAH 患者预后的评估,但在临床运用中都存在着诊断一致性不足的现象。目前多用 GOS 作为预后的评判指标,但对于那些仅有认知功能或神经行为学障碍而并没有明显神经功能障碍的存活者,目前仍没有一个统一的预后评判标准[5]。脑电图作为检测脑功能的一种神经电生理技术,与脑的生物代谢密切相关,对缺血缺氧敏感,并与意识状态具有极高的相关性。SAH 后病程中脑电图的一些特征性改变也可提示预后不良[6]。在疾病的急性期,脑电图可能较其他指标更为合适而且方便地反应 SAH 患者脑功能的变化。本研究以脑电图评判 SAH 后早期脑功能的变化,结果发现脑电图异常程度加重组的 Fisher 分级明显高于减轻组,同时 Logistic 回归分析也发现其是脑功能损伤加重的危险因素,这可能与 SAH 后的血细胞分解产物引起的直接脑损伤有关[7]。

动脉瘤性 SAH 的发病机制尚不明确,除了环境因素外,目前认为遗传因素在动脉瘤的形成和破裂出血中也发挥了巨大作用,但对于参与其中的基因的数目和类别仍然不清楚。APOE 基因多态性可能与动脉瘤形成之间存在着一定的联系,同时其 ε4 等位基因也增加了不良预后的风险[8]。近年来随着在 SAH 的早期诊断及治疗方面的进步,其病死率有下降趋势,但院前死亡率有可能成为进一步改善预后的瓶颈[9]。据文献[10]报道,大约 12.4% 的动脉瘤性 SAH 患者在未进入医院接受救治之前便已死亡,而后循环动脉瘤破裂出血者的猝死率更高。目前 SAH 后的早期脑损伤(early brain injury, EBI)逐渐被国内外学者所重视[1, 11]。EBI 是指发病后 72 h 以内整个脑组织发生的直接损害,涉及到脑血管痉挛发生之前脑组织内所发生的病理生理事件,包括脑组织细胞死亡,脑水肿,颅内压升高及脑水肿等。EBI 也对 SAH 后的继发性脑损害程度有重要的影响作用,可能是 SAH 死亡率较高的首要原因[12]。

在中国人群中也发现 ε4 是 SAH 预后不良的危险因子,同时 ε4 携带者早期临床危重状态(Hunt-Hess 3~5 级)的比例也要高于非携带者[13]。也有研究发现 SAH 发病后 24 h 内死亡的病例中 APOE ε4 的出现频率高达 37.5%[14]。以上结果提示了 ε4 等位基因似乎与动脉瘤性 SAH 后的早期死亡有关。为了进一步了解 ε4 等位基因是否影响 SAH 后早期脑功能的改变,我们进行了本次研究。本研究中脑电图的采集时间设定为发病后 5 d 内,患者入院后均接受了标准化的治疗,在入院后及介入或开颅术前进行了 2 次脑电图的检测以评判脑功能改变,结果发现 APOE ε4 等位基因是 SAH 后早期脑功能损伤加重的重要危险因子,这也为 APOE ε4 增加 SAH 后早期死亡率进一步提供了依据,同时也提示 APOE 多态性可能参与了 SAH 后早期脑损伤。

目前的研究多以发病后 3 或 6 个月的 GOS 等指标来评判神经功能,有观点认为 APOE ε4 是通过影响疾病后期的神经功能恢复从而发挥作用[15],与先前的研究不同,本研究结果提示其在疾病的早期便已经参与影响脑功能的改变。由于入院延迟时间(发病至医院就诊时间)的差异、院前处理措施以及动脉瘤部位大小等因素导致本研究存在一定的混杂偏倚,同时由于样本量偏小,这也造成本研究的检验效能受到了限制。下一步的研究需进一步增大样本量以及尽可能的了解发病后 3 d 内的脑功能变化,以进一步探讨 APOE 基因多态性在动脉瘤性 SAH 后早期脑损伤中的作用。随着对 APOE 基因多态性影响 SAH 发生和预后机制的研究的深入,势必可以通过某种途径削弱 APOE ε4 对 SAH 后早期脑功能的不良影响,从而进一步降低 SAH 早期死亡率和改善预后。

参考文献:

[1] Cahill J, Zhang J H. Subarachnoid hemorrhage: is it time for a new direction? [J]. Stroke, 2009, 40(3 Suppl): S86-S87.

[2] Sudlow C, Martinez-Gonzalez N A, Kim J, *et al*. Does apolipoprotein E genotype influence the risk of ischemic stroke, intracerebral hemorrhage, or subarachnoid hemorrhage? Systematic review and meta-analyses of 31 studies among 5961 cases and 17,965 controls[J]. Stroke, 2006, 37(2): 364-370.

[3] Lanterna L A, Ruigrok Y, Alexander S, *et al*. Meta-analysis of APOE genotype and subarachnoid hemorrhage: clinical outcome and delayed ischemia[J]. Neurology, 2007, 69(8): 766-775.

[4] 江涌,孙晓川,夏玉先,等.载脂蛋白 E 基因多态性与颅脑损伤的相关性[J]. 中华创伤杂志,2005,21(7): 520-523.

[5] Bederson J B, Connolly E S Jr, Batjer H H, *et al*. Guidelines for the management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a statement for healthcare professionals from a special writing group of the Stroke Council, American Heart Association[J]. Stroke, 2009, 40(3): 994-1025.

[6] Claassen J, Hirsch L J, Frontera J A, *et al*. Prognostic significance of continuous EEG monitoring in patients with poor-grade subarachnoid hemorrhage[J]. Neurocrit Care, 2006, 4(2): 103-112.
[7] Dreier J P, Ebert N, Priller J, *et al*. Products of hemolysis in the subarachnoid space inducing spreading ischemia in the cortex and focal necrosis in rats: a model for delayed ischemic neurological deficits after subarachnoid hemorrhage? [J]. J Neurosurg, 2000, 93(4): 658-666.
[8] Louko A M, Vilkki J, Niskakangas T. APOE genotype and cognition after subarachnoid haemorrhage: a longitudinal study[J]. Acta Neurol Scand, 2006, 114(5): 315-319.
[9] Nieuwkamp D J, Setz L E, Algra A, *et al*. Changes in case fatality of aneurysmal subarachnoid haemorrhage over time, according to age, sex, and region: a meta-analysis[J]. Lancet Neurol, 2009, 8(7): 635-642.
[10] Huang J, van-Gelder J M. The probability of sudden death from rupture of intracranial aneurysms: a meta-analysis[J]. Neurosurgery, 2002, 51(5): 1101-1107.
[11] 郭宗铎, 孙晓川, 何朝晖, 等. 蛛网膜下腔出血后早期海马MMP-9的表达与海马神经元凋亡的相关性研究[J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(1): 71-74.
[12] Pluta R M, Hansen-Schwartz J, Dreier J, *et al*. Cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage: time for a new world of thought [J]. Neurol Res, 2009, 31(2): 151-158.
[13] Tang J, Zhao J, Zhao Y, *et al*. Apolipoprotein E epsilon4 and the risk of unfavorable outcome after aneurysmal subarachnoid hemorrhage [J]. Surg Neurol, 2003, 60(5): 391-397.
[14] 戴华浩, 李明昌, 石忠松, 等. 载脂蛋白E基因型与动脉瘤性蛛网膜下腔出血的相关性研究[J]. 中华神经医学杂志, 2006, 5(5): 465-467.
[15] Gallek M J, Conley Y P, Sherwood P R, *et al*. APOE genotype and functional outcome following aneurysmal subarachnoid hemorrhage [J]. Biol Res Nurs, 2009, 10(3): 205-212.

(**收稿**:2009-09-21;**修回**:2009-11-20)
(编辑 吴培红)

文章编号:1000-5404(2010)07-0703-01

个案与短篇

急性重症脑卒中并肝性脑病误诊2例

王海英,吕宪民,曹亦宾,张艳红,崔海燕,牟凤群 (063000 河北 唐山,唐山工人医院神经内科)

[关键词] 急性;重症脑卒中;肝性脑病;误诊
[中图法分类号] R743.3 **[文献标志码]** B

1 临床资料

病例1:男性患者,52岁,因头痛5.5 h,进展加重3.5 h入院。既往乙型肝炎史20年;肝硬化、腹水,行脾切除术9年;高血压病史8年余。查体:BP 130/100 mmHg,神清语利,存在左侧肢体忽略。示齿对称,伸舌居中,余颅神经检查未见异常,脑膜刺激征阴性;左侧肢体肌力Ⅴ⁻,右侧肢体肌力Ⅴ级,四肢肌张力正常,双侧腱反射(++),左侧共济运动欠稳准,双侧Babinski's sign(-);心脏听诊心率76/min,律不齐,可闻及早搏,5~8/min,未闻及杂音,双肺及腹部查体未见异常。入院后辅助检查:①颅脑CT:右侧颞顶叶出血,量约57 ml;②心电图:偶见室性早搏;③化验检查:血常规、尿常规、尿素氮、肌酐、血糖、凝血系列、血氨、血气分析、电解质均正常,肝功能:各项转氨酶正常,HBSAg(+)、HBSAb(-)、HBeAg(-)、HBeAb(+)、HBcAb(+)、HBcAb IgM(-)。入院诊断:脑出血,高血压病2级(极高危),室性早搏,肝炎后肝硬变。入院后给予脱水、营养神经等治疗;患者入院后第4天出现言语增多,夜间间断有烦躁,复查颅脑CT:右侧颞顶叶脑出血较前无变化,但周围水肿明显,查血氨:33 μmol/L(正常值9~30 μmol/L),电解质、血糖正常,考虑患者精神症状与病灶及脑水肿有关,给予加用氟哌啶醇片口服,同时继续给予脱水降颅压等治疗,精神症状无好转,入院后26 d出现意识障碍,呼之不应,四肢偶有自主活动,无肢体抽搐,查体:BP 160/110 mmHg,昏睡-浅昏迷状态,双侧瞳孔正大等圆,光反射灵敏,余颅神经不合作,颈抵抗(-),四肢偶有自主活动,右侧肢体肌张力稍高,双侧腱反射(++),双侧病理征未引出,双肺呼吸音稍粗,未闻及干湿性啰音,腹部查体未见异常。复查颅脑CT:右侧颞顶叶脑出血吸收期,血肿较前减小,中线结构无移位。查血常规:WBC 15.51×10^9/L,凝血系列、血糖、电解质、血气分析、血氨均正常,胸片正常,脑电图监测:可见阵发性三相波,中度广泛异常脑电图。考虑同时存在肝性脑病,给予降氨、支链氨基酸、护肝、维持电解质酸碱平衡、抗感染等治疗后患者症状好转,入院后2个月复查颅脑CT右侧颞顶叶脑出血完全吸收,患者出院。

病例2:女性患者,71岁,言语不利,左侧肢体无力3 h入院,既往风湿性心脏病史30年,心房纤颤病史15年,脑梗死病史5年,无后遗症,丙型肝炎病史12年,肝硬化病史10年,脾亢、脾切除8年,双乳腺增生、双侧乳腺切除史4年,胆囊结石、胆囊切除史3年。查体:BP 126/71 mmHg,嗜睡状态,吐字欠清晰,双眼向右侧凝视,左侧中枢性面舌瘫,余颅神经检查未见异常,脑膜刺激征阴性;左侧肢体肌力0级,右侧肢体肌力正常,四肢肌张力正常,双侧腱反射(++),左侧Babinski's sign(+);心脏听诊第一心音强弱不等,心律绝对不齐,心室率66/min,心尖部可闻及Ⅲ/Ⅳ吹风样杂音,双肺及腹部查体未见异常。入院后辅助检查:①颅脑CT:右侧放射冠小片状低密度影;颅脑MRI提示两侧半卵圆中心、放射冠、基底节区、丘脑及右侧额颞岛叶脑梗死,颅脑DWI提示右侧额颞岛叶、基底节区病变较新。颅脑MRA提示右侧大脑中动脉未见显影;②心电

(下转707页)

[通信作者] 王海英,电话:(0315)3722511,E-mail:whytsgryy@sina.com