

急性一氧化碳中毒后迟发性脑病预测因子的研究

李晟 陈潜妙 池学锋 刘伟

【摘要】 目的 分析急性一氧化碳中毒(ACMP)后迟发性脑病(DEACMP)的临床、基因及神经生化标志物等因素,探讨 DEACMP 的预测因子。方法 选择 ACMP 患者 189 例,根据是否发生 DEACMP 分成 DEACMP 组 37 例,无 DEACMP 组 152 例。收集两组患者的临床、生化及影像学资料,并采用 DNA 直接测序 HIF-1 α 基因中 rs3783752、rs4899056、rs1957757、rs10873142 等 4 个单核苷酸多态性位点,采用单因素分析法筛选出 DEACMP 的影响因素,采用二分类非条件 logistic 回归分析独立预测因子。结果 单因素分析显示年龄、MRI 异常发生率、昏迷持续时间、高压氧治疗疗程、入院时两组神经特异性烯醇化酶(NSE)、S-100B、髓鞘碱性蛋白(MBP)、动脉血乳酸含量及 HIF-1 α 基因(rs4899056)基因型分布频率的差异有统计学意义($P < 0.05$),DEACMP 的预测模型: $\text{logit}(p) = -5.81 + 1.24X_1 - 2.00X_2 + 1.33X_3 + 1.20X_4 + 0.06X_5$, logistic 回归模型拟合能力 AUC 为 0.88,灵敏度为 0.79,特异度为 0.86;最大 Youden 指数为 0.65,对应的预测概率为 0.49,确定该点为最佳截断值。结论 使用 HIF-1 α 基因多态性联合多个预测因子构建的 logistic 回归模型,能在一定程度上为 DEACMP 的临床预测提供依据。

【关键词】 急性一氧化碳中毒 低氧诱导因子-1 α logistic 回归模型 预测因子

Predictive indicators of delayed encephalopathy after acute carbon monoxide poisoning LI Sheng, CHEN Qianmiao, CHI Xuefeng, et al. Department of Neurology, PLA 906 Hospital, Wenzhou 325000, China

【Abstract】 Objective To explore the predictive indicators of delayed encephalopathy after acute carbon monoxide poisoning (DEACMP). Methods One hundred and eighty nine patients with carbon monoxide poisoning were enrolled in this study, including 37 cases of DEACMP and 152 cases without DEACMP. The clinical, biochemical and imaging information were collected. The polymorphisms of HIF-1 α rs3783752, rs4899056, rs1957757, rs10873142 were analyzed. Results The univariate analysis showed that DEACMP was associated with age of the patients, the incidence of abnormal MRI, coma duration, hyperbaric oxygen therapy treatment, NSE, S100B, MBP, arterial blood lactate levels, HIF-1 α gene type frequency distribution. The DEACMP predicting model was $\text{logit}(p) = -5.81 + 1.24X_1 - 2.00X_2 + 1.33X_3 + 1.20X_4 + 0.06X_5$. The AUC of Logistic regression model was 0.88. When 0.49 was taken as cut-off value, the sensitivity was 0.79, specificity was 0.86, Youden index was 0.65. Conclusion The logistic regression model containing HIF-1 α gene polymorphism and multiple predictive indicators may provide a basis for predicting DEACMP.

【Key words】 Carbon monoxide poisoning HIF-1 α Logistic regression model Predictors

急性一氧化碳中毒(acute carbon monoxide poisoning, ACMP)昏迷患者在意识清醒后的 2~60d 假愈期内约 10%~30%可发生 ACMP 后迟发性脑病(delayed encephalopathy after ACMP, DEACMP),该病主要表现为以急性痴呆为主的神经精神症状,致残率高。DEACMP 中枢神经损伤机制与众多因素相关,包括中毒环境、治

疗方案及遗传因素。前期研究提示低氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)基因多态性与一氧化碳中毒患者中枢神经损伤具有一定的相关性^[1],多种脑特异性蛋白表达水平也与 ACMP 病情相关^[2]。虽然判断 DEACMP 的指标层出不穷,但每个指标各有其优缺点,单一指标很难同时兼顾灵敏度、特异度和准确度。本研究分析 DEACMP 的临床、基因及神经生化标志物等因素,探讨 DEACMP 的预测因子,现将研究结果报道如下。

1 对象和方法

1.1 对象 选择 2013 年 1 月至 2017 年 12 月本院收

DOI:10.12056/j.issn.1006-2785.2019.41.11.2018-231

基金项目:温州市公益性科技计划项目(Y20150168)

作者单位:325000 联勤保障部队第 906 医院温州医疗区神经内科(李晟、池学锋、刘伟),影像科(陈潜妙)

通信作者:刘伟, E-mail:lisheng_216@163.com

治的 ACMP 患者 189 例,男 82 例,女 107 例,年龄 22~81 (52.12±13.81) 岁。DEACMP 国家颁布的《职业性 ACMP 诊断标准及处理原则》诊断标准^[3]:ACMP 意识障碍恢复后,经过 60d 的“假愈期”之后 90d 内再次出现以下临床表现:(1)精神及意识障碍(痴呆、木僵、谵妄状态或去皮质状态);(2)锥体外系神经障碍(震颤麻痹综合征的表现);(3)锥体系神经损害(偏瘫、病理反射阳性或二便失禁);(4)大脑皮质局灶性功能障碍(如失语、失明或出现继发性癫痫)。CT 或 MRI 检查可发现双侧苍白球对称性病灶和大脑白质广泛脱髓鞘改变;脑电图检查可发现中度和重度广泛性异常。根据这一标准将 189 例患者分为 DEACMP 组(37 例)及无 DEACMP 组(152 例),纳入标准:(1)诊断标准参照;(2)病例资料完整。排除标准:(1)合并各种病因的脑卒中、严重心肺脑疾病、脏器功能衰竭及恶性肿瘤的患者;(2)昏迷、死亡及治疗过程中主动要求退出该研究项目者。本研究经医院伦理委员会批准,所有患者签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 一般资料及辅助指标的比较

记录患者性别、年龄、中毒时间、昏迷持续时间(从发现昏迷至意识清楚的时间)。入院当天急诊查碳氧血红蛋白;次日常规检测肝肾心功能、血常规、S-100B、神经元特异性烯醇化酶(NSE)、髓鞘碱性蛋白(MBP)。入院第 2~7 天行头颅 MRI 检查并由 2 位高级职称的影像科医师记录分析影像学资料,入院初期头颅 MRI 异常主要表现为:(1)双侧皮质和(或)皮质下白质损害为主;(2)双侧基底核(主要为双侧苍白球)损害;(3)皮质下白质和(或)侧脑室周围白质与基底核同时受损害。MRI 改变多为双侧对称性,点状、斑片状或融合病灶, T_1WI 呈低信号, T_2WI 、 T_2WI -FLAIR、DWI 呈高信号,记录为入院初期头

颅 MRI 异常。

1.2.2 HIF-1 α 基因 SNP 的选择基因多态性检测

抽取 5ml 静脉血 EDTA 抗凝,提取 DNA。选取 HIF-1 α 基因具有代表性的 SNPs 位点共 4 个(rs3783752、rs4899056、rs1957757、rs10873142)。使用 Primer 5.0 设计引物,采用直接测序方法读取个体的基因型(表 1)。

表 1 HIF 基因 SNPs 位点分型所用引物及测序引物

SNP 编号	上/下游引物 5'-3'
rs3783752F	GCCAATAGGACCTGCTAGA
rs3783752R	AAGTACCGAATTCCTCCACCC
rs4899056F	TCAATAATTCGAGACCGTGTAGT
rs4899056R	TGAAAAGCGCTCCAAAGGAC
rs1957757F	TTGAGTTTGACCAGCAGACTGT
rs1957757R	AAAGGCAAAACCGCTTTCAGG
rs10873142F	ACTCAAATTATCTTGTACTGGGA
rs10873142R	GGGGCCAGCAAAGTTAAAGC

1.3 统计学处理

采用 SPSS20.0 统计软件。计数资料以百分率表示,比较采用 χ^2 检验。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验。采用单因素分析法筛选出 DEACMP 的影响因素,采用二分类非条件 logistic 回归分析独立预测因子,将有统计学意义的因素作为自变量,通过二分类非条件 logistic 回归分析筛选自变量,并建立 DEACMP 预测模型。判断模型拟合能力的指标采用 ROC 曲线 AUC、一致率,Youden 指数=灵敏度+特异度-1,根据最大 Youden 指数确定最佳临界点。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者一般资料及 NSE、S-100B、MBP、动脉血乳酸含量比较

见表 2。

表 2 两组患者一般资料及 NSE、S-100B、MBP、动脉血乳酸含量比较

组别	n	性别 (男/女,n)	年龄 (岁)	碳氧血红蛋白 血症(%)	昏迷持续 时间(h)	高压氧疗程 (d)	入院初期头颅 MRI 异常[n(%)]	NSE ($\mu\text{g/L}$)	乳酸 (mmol/L)	S-100B (pg/ml)	MBP (ng/ml)
DEACMP 组	37	16/21	60.52 ± 11.73	21.01 ± 7.13	64.28 ± 19.78	10.84 ± 4.27	23(62.16)	17.57 ± 3.45	4.08 ± 0.49	62.32 ± 48.05	1.83 ± 0.51
无 DEACMP 组	152	66/86	38.78 ± 14.82	18.94 ± 7.45	12.41 ± 6.96	14.31 ± 6.9	63(41.45)	9.95 ± 1.93	3.46 ± 0.49	36.44 ± 7.68	1.64 ± 0.51
t/χ^2 值		0.03	-8.31	-1.53	-26.45	2.93	4.35	-10.95	-10.22	-15.95	-8.82
P 值		0.87	0.00	0.13	0.00	0.00	0.04	0.00	0.03	0.00	0.03

由表 2 可见,与无 DEACMP 组比较,DEACMP 组年龄大,昏迷持续时间长,高压氧治疗疗程短,入院初期头颅 MRI 异常发生率高,NSE、S-100B、MBP、乳酸水平均较高,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。

2.2 两组患者 HIF-1 α 基因 4 个多态性位点的基因型

分布频率比较 见表 3。

由表 3 可见,与无 DEACMP 组比较,DEACMP 组 rs4899056 基因型分布频率比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),余基因型比较差异无统计学意义。

2.3 DEACMP 独立预测因子的单因素和 logistic 回归

分析 见表 4、5。

表 3 两组患者 HIF-1 α 基因 4 个多态性位点的基因型分布频率比较[例(%)]

基因位点 基因型	rs3783752			rs4899056			rs1957757			rs10873142		
	CC	CT	TT	CC	CT	TT	CC	CT	TT	GG	GA	AA
DEACMP 组	3(8.11)	8(21.62)	26(70.27)	29(78.38)	7(18.92)	1(2.7)	24(64.86)	8(21.62)	5(13.51)	5(13.51)	8(21.62)	24(64.86)
无 DEACMP 组	7(4.61)	28(18.42)	117(76.97)	89(58.55)	39(25.66)	24(15.79)	98(64.47)	39(25.66)	15(9.87)	25(16.45)	52(34.21)	75(49.34)
χ^2 值	1.03			6.28			0.57			3.02		
P 值	0.60			0.04			0.75			0.22		

表 4 多指标联合预测 DEACMP 的 logistics 回归模型
各协变量的赋值

协变量	赋值
昏迷持续时间	<24h=0; 24~72h=1; >72h=2
HIF-1 α 基因(rs4899056)多态性	CC/CT 基因型=0; TT 基因型=1
入院初期头颅 MRI 异常表现	有=1; 无=0
NSE	0~16.3 μ g/L=0; >16.3 μ g/L=1
年龄	赋值为其评分本身

表 5 多指标作为协变量同时代入 logistics 回归方程预测
DEACMP 的结果

协变量	β 值	SE 值	P 值	OR 值	95% CI
昏迷持续时间(X_1)	1.24	0.93	0.02	3.44	0.55~21.43
HIF-1 α 基因(rs4899056)多态性(X_2)	-2.00	1.78	0.03	0.14	0.01~4.48
入院初期 MRI 头颅异常表现(X_3)	1.33	2.10	0.03	3.79	0.06~23.27
NSE(X_4)	1.20	0.97	0.02	3.30	0.49~21.97
年龄(X_5)	0.06	0.03	0.04	1.06	0.99~1.12
常量	-5.81	6.27	0.04	0.00	-

由表 4、5 可见,各协变量的赋值情况 DEACMP 的预测模型: $\text{logit}(p)=-5.81+1.236X_1-1.995X_2+1.333X_3+1.195X_4+0.058X_5$ 其中昏迷持续时间、入院初期头颅 MRI 异常表现、NSE、年龄为危险因素($OR=3.44$ 、 3.79 、 3.30 、 1.06),HIF-1 α 基因(rs4899056)多态性 TT 基因型为保护因素($OR=0.17$)。

2.4 logistic 回归模型拟合能力分析 & 最佳临界点确定见图 1。

由图 1 可见,ROC 曲线分析显示,logistic 回归模型拟合能力 ROC 曲线 AUC 为 0.88,95%CI:0.82~0.93,标准误为 0.03($P<0.01$)。该模型拟合能力较高,根据 ROC 曲线,灵敏度为 0.79,特异度为 0.86;最大 Youden 指数为 0.65,对应的预测概率为 0.49,确定该点为最佳临界点。

3 讨论

DEACMP 是指 ACMP 经过 2~60d 表现正常或接近正常的“假愈期”后再次出现神经精神症状^[5]。突然出现以痴呆、精神和锥体外系症状为主的功能障碍。目前

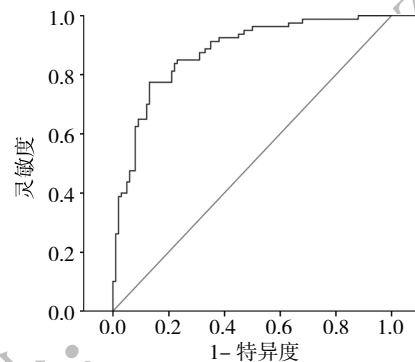


图 1 logistic 回归模型预测价值的 ROC 曲线

DEACMP 发病机制尚不清楚,普遍认为 ACMP 性脑病是由于缺血缺氧导致脑组织坏死并激发严重免疫反应性髓鞘受损。

DEACMP 的发生难以预测,且预后较差,是当前临床领域的难题,本研究建立一个基于 logistic 回归分析的数学预测诊断模型。单因素分析显示年龄、MRI 异常发生率、昏迷持续时间、行高压氧治疗疗程、入院时 NSE、S-100B、MBP、动脉血乳酸含量、HIF-1 α 基因(rs4899056)基因型分布频率均是 DEACMP 的影响因子。在方法学上,统计学者 Pepe^[6]最先报道了使用 logistic 回归模型拟合多项指标建立新的联合预测因子的方法。但该方法目前在国内报道较少,国内大多数研究仍停留在使用单一指标对预后进行判断的阶段。近年来,关于神经生化标志物研究较多,王继刚^[2]研究提示,NSE 特异地存在于大脑神经元和神经内分泌细胞中,是判断中枢神经细胞坏死的客观指标;S-100B 是一种酸性钙结合蛋白,在中枢神经系统胶质细胞分布广泛,由于其半衰期短、特异度高,因此认为是一种高敏感度、有效地判断中枢神经损害的生化标志物;MBP 是神经组织所特有的膜蛋白组分,是中枢神经系统损害和急性脱髓鞘的特异性生化指标^[7]。但是,这些指标在灵敏度、特异度、准确度上存在不同程度的缺陷,更多的基础研究也仅仅在动物实验上进行^[8]。其次,在前期对 HIF-1 α 基因多态性研究的基础上^[1],本课题再

次对 ACMP 患者数据进行深层分析,提示 rs4899056 基因型分布频率,DEACMP 组 TT 基因型分布频率较无 DEACMP 组低,考虑 HIF-1 α 基因 rs4899056 位点的变异与 ACMP 中枢神经脱髓鞘损伤及 DEACMP 的发生有一定影响,基因变异引起相关编码蛋白的氨基酸序列改变,影响相关 HIF 蛋白功能表达的稳定性和功能,为 DEACMP 发生的独立预测因子之一。

本研究通过基因遗传联合多预测因子构建 logistic 回归模型,分析 DEACMP 影响因素,为使模型更具针对性,建立基于基因多态性和临床资料及各项指标等多项影响因素风险模型,该模型预测 DEACMP 的能力较高,AUC 达到 0.875,其中昏迷持续时间、入院初期头颅 MRI 异常、NSE、年龄为危险因素。数据权重最大的预测因素为入院初期 MRI 异常表现,目前 MRI 中对于 DEACMP 的诊断价值较大的是 DWI。因其对检测缺血缺氧所致的组织细胞毒性水肿非常敏感,且可以量化中枢神经损害的程度。

综上,本研究认为 DEACMP 的发病危险因素与年龄增长、昏迷时间、入院初期头颅 MRI 检查显示 DWI 高信号以及 HIF-1 α 基因及神经生化标志物等因素有关,早期积极的高压氧治疗,可以减少 DEACMP 的发生率。结合本研究通过基因遗传联合多预测因子构建 logistic 回归模型,当个体将其危险因素的状况代入所建立的 logistic 回归模型时如果计算的概率 ≥ 0.49 时,即可对 ACMP 个体进行 DEACMP 预警,提示应加强并提供有效的个体治疗策略。

4 参考文献

- [1] 李晟,刘伟,池学锋,等.HIF-1 α 基因多态性与 CO 中毒患者急性期中枢神经损伤的相关性研究[J].浙江医学,2017,39(23):2089-2092,2097. DOI:10.12056/j.issn.1006-2785.2017.39.23.2017-533.
- [2] 王继刚,付文金,彭兰芬,等.急性 CO 中毒患者血清 S100B、NSE、MBP 的动态改变及其意义[J].国际医药卫生导报,2009,15(20):9-11. DOI:10.3760/cma.j.issn.1007-1245.2009.20.003.
- [3] 顾仁骏.急性一氧化碳中毒及其迟发性脑病的临床诊疗[J].中国全科医学,2013,16(17):1943-1945. DOI:10.3969/j.issn.1007-9572.2013.06.040.
- [4] 丛树艳,吕丹,佘剑非,等.一氧化碳中毒迟发性脑病临床和 MRI 特点分析[J].中华神经医学杂志,2012,11(5):512-515. DOI:10.3760/cma.j.issn.1671-8925.2012.05.018.
- [5] Guan L,Wen T,Zhang Y,et al.Induction heme oxygenase-1 with hemin attenuates hippocampal injury in rats after acute carbon monoxide poisoning[J].Toxicology,2010,262(2):144-146. DOI:10.1016/j.tox.2009.06.001.
- [6] Pepe MS, Cai T, Longton G. Combining predictors for classification using the area under the receiver operating characteristic curve[J]. Biometrics,2006,62(1):221-229. DOI:10.2307/3695724.
- [7] Azurmendi L, Degos V, Tiberti N, et al. Neopterin plasma concentrations in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage: correlation with infection and long-term outcome[J]. Journal of Neurosurgery,2016,124(5):1287-1299. DOI:10.3171/2015.3.JNS142212.
- [8] Zhang P, Dai Y, Xiong J, et al. iTRAQ-based differential proteomic analysis of the brains in a rat model of delayed carbon monoxide encephalopathy[J]. Brain Research Bulletin,2018,137:329-337. DOI:10.1016/j.brainresbull.2018.01.010.

(收稿日期:2018-01-20)

(本文编辑:杨丽)

(上接第 1149 页)

09231010.

- [7] Sezer S, UÇAR F, Ulusoy EK, et al. Serum amyloid A, fetuin-A, and pentraxin-3 levels in patients with ischemic stroke: novel prognostic biomarkers?[J]. Turk J Med Sci,2014,44(1):16-23. DOI:10.3906/sag-1211-90.

- [8] Rodriguez-Grande B, Varghese L, Molina-Holgado F, et al. Pentraxin 3 mediates neurogenesis and angiogenesis after cerebral ischaemia[J]. Journal of Neuroinflammation,2015,12(1):15. DOI:10.1186/s12974-014-0227-y.

(收稿日期:2017-10-27)

(本文编辑:杨丽)