

引用本文:李丹,徐沙丽,陈乔.缺血性脑卒中后癫痫的影响因素分析[J].安徽医药,2023,27(7):1400-1403.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2023.07.028.

◇临床医学◇



缺血性脑卒中后癫痫的影响因素分析

李丹^a,徐沙丽^a,陈乔^b

作者单位:华中科技大学同济医学院附属梨园医院,^a神经内科,^b心血管临床医学中心,
湖北 武汉 430077

通信作者:陈乔,女,副主任医师,研究方向为心脑血管疾病、抗衰老等,Email:99384789@qq.com

基金项目:武汉市卫生和计划生育委员会资助项目(WZ18Q07)

摘要: **目的** 分析缺血性脑卒中后癫痫的影响因素。**方法** 选取华中科技大学同济医学院附属梨园医院2019年3月至2021年3月收治的146例缺血性脑卒中病人和149例健康体检者,分别记为疾病组($n=146$)和健康组($n=149$)。疾病组治疗前抽取外周血、健康组采用体检剩余外周血测定血清微RNA-181a(miR-181a)表达并比较;疾病组随访1年比较癫痫组与无癫痫组血清miR-181a表达;以logistic多元回归分析探讨缺血性脑卒中后癫痫的影响因素。**结果** 疾病组血清miR-181a表达高于健康组($P<0.001$);疾病组癫痫发生率为26.71%,其中早发型癫痫、迟发型癫痫、单次发作、反复发作、癫痫大发作、小发作、局灶性发作、精神运动性发作构成比分别为38.46%、61.54%、43.59%、56.41%、64.10%、10.26%、20.51%、5.13%;癫痫组血清miR-181a表达高于无癫痫组[(1.84 ± 0.40)比(1.58 ± 0.35)]($P<0.001$);癫痫组入院NIHSS评分高于无癫痫组[(15.22 ± 2.38)比(9.88 ± 2.07)]($P<0.001$),出血性转化占比高于无癫痫组(25.64%比11.21%)($P=0.031$),且入院美国国立卫生研究院脑卒中量表(NIHSS)评分、出血性转化与血清miR-181a表达均为缺血性卒中后癫痫的危险因素。**结论** 缺血性脑卒中病人血清miR-181a表达升高,癫痫的发生风险高,且入院NIHSS评分、出血性转化、血清miR-181a表达均是其危险因素。

关键词: 卒中; 脑梗死; 美国国立卫生研究院脑卒中量表(NIHSS); 微RNA-181a; 癫痫

Influencing factors for epilepsy after ischemic stroke

LI Dan^a, XU Shali^a, CHEN Qiao^b

Author Affiliation:^aDepartment of Neurology, ^bCardiovascular Clinical Medical Center, Liyuan Hospital Affiliated to Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430077, China

Abstract: **Objective** To analyze the influencing factors for epilepsy after ischemic stroke. **Methods** A total of 149 patients with ischemic stroke and 146 healthy persons treated in Liyuan Hospital Affiliated to Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology from March 2019 to March 2021 were selected and recorded as disease group ($n=146$) and health group ($n=149$), respectively. The expression of serum microRNA-181a (miR-181a) was detected and compared between the disease group and the healthy group. The disease group was followed up for 1 year to compare the expressions of serum miR-181a between epilepsy group and no-epilepsy group. Logistic multiple regression analysis was used to explore the influencing factors of secondary epilepsy in the disease group. **Results** The expression of serum miR-181a in the disease group was higher than that in the healthy group ($P<0.001$), and the incidence of epilepsy in the disease group was 26.71%. Among them, early-onset epilepsy, late-onset epilepsy, single seizure, recurrent seizures, major seizures, minor seizures, focal seizures and psychomotor seizures accounted for 38.46%, 61.54%, 43.59%, 56.41%, 64.10%, 10.26%, 20.51% and 5.13%, respectively. The expression of serum miR-181a in epilepsy group was higher than that in no-epilepsy group [(1.84 ± 0.40) vs. (1.58 ± 0.35)] ($P<0.001$). The NIHSS score in the epilepsy group was significantly higher than that in the no-epilepsy group [(15.22 ± 2.38) vs. (9.88 ± 2.07)] ($P<0.001$), and the hemorrhagic transformation in the epilepsy group were significantly higher than those in the no-epilepsy group (25.64% vs. 11.21%) ($P=0.031$), and the NIHSS score, hemorrhagic transformation and serum miR-181a expression were risk factors for epilepsy. **Conclusion** The expression of serum miR-181a in patients with ischemic stroke is increased, and the risk of epilepsy is high, and NIHSS score and hemorrhagic transformation and the expression of serum miR-181a are risk factors.

Key words: Stroke; Brain infarction; National institutes of health stroke scale(NIHSS); MicroRNA-181a; Epilepsy

缺血性脑卒中是常见的脑血管病,可影响脑部血液循环,损伤中枢神经系统功能。调查显示^[1],我

国脑卒中的发病率约为0.4%,其中有60%~70%的病人属于缺血性脑卒中。另有资料指出^[2],缺血性脑卒

中病人并发症发生风险高,其中急性期有2%~33%的病人并发癫痫,恢复期及后遗症期有3%~67%的病人并发癫痫。微小核糖核酸-181a(miR-181a)属于miR-181家族的重要成员,可表达于脑组织,且其异常表达与多种神经系统疾病有关,包括脑卒中、癫痫等^[3]。有研究^[4]指出,在急性缺血性脑卒中病人中血清miR-181a表达高于健康对照人群,且可预测神经功能缺损程度;另有资料^[5]显示,miR-181a高表达可影响海马神经元突触生长和大脑中烟酰胺腺嘌呤二核苷酸含量,参与癫痫的发生。根据上述报道推测血清miR-181a表达可能与缺血性脑卒中继发癫痫的风险有关,但尚需要进一步研究证实该推测。基于此,本研究选取149例缺血性脑卒中病人和149例健康体检者进行试验探讨上述问题,旨在为此类病人继发癫痫的防治研究提供新方向。

1 资料与方法

1.1 一般资料 样本量计算方法:根据样本量计算公式 $n=Z^2 \times [P \times (1-P)]/E^2$,其中置信区间为95%, Z 取值1.96; E 为误差值(根据预实验为0.071), P 为概率值(根据预试验为0.26),计算 $n=146$,并根据预试验发现失访率约为2%,最终可得 n 取值149。健康对照样本量与缺血性脑卒中病人相等。

参照纳入与排除标准,选取华中科技大学同济医学院附属梨园医院2019年3月至2021年3月收治的149例缺血性脑卒中病人和149例健康体检者,分别记为疾病组和健康组。纳入标准:①疾病组均确诊为缺血性脑卒中^[6],健康组均为健康体检者;②接受随访;③签署本研究知情同意书。排除标准:①有原发性癫痫或其它神经系统疾病引起的癫痫者;②有其它类型疾病影响miR-181a表达者,如缺血性心肌病等;③有精神障碍者;④合并恶性肿瘤、肝肾功能不全等疾病者;⑤无法配合完成本研究者。疾病组男91例、女58例,年龄范围为32~78岁,年龄 (66.17 ± 11.23) 岁,合并症:高血压56例、2型糖尿病40例、高脂血症49例,入院美国国立卫生研究院卒中量表(national institutes of health stroke scale, NIHSS)7~18分,NIHSS (11.30 ± 2.15) 分;健康组男88例、女61例,年龄范围为30~80岁,年龄 (66.45 ± 10.37) 岁。两组性别、年龄均差异无统计学意义($\chi^2=0.44$, $P=0.512$; $t=0.30$, $P=0.613$)。病人或其近亲属知情同意,本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求。

1.2 方法 血清miR-181a表达检测:疾病组均于治疗前抽取外周血3 mL、健康组均采用体检剩余外周血检测血清miR-181a表达。3 000 r/min离心5 min,离心半径10 cm、温度4℃。取上清液采用Trizol试

剂盒提取总核糖核酸,鉴定纯度。将总核糖核酸反转录,配置聚合酶链反应体系。引物序列:miR-181a正向5'-ATCTGAGATGCGAT-3',反向5'-TGC-TAGAGCTTAGAGC-3',预计扩增产物长度210 bp;U6(内参)正向5'-ATGCTTAGAGCTAG-3',反向5'-CTAGGATCTAGAGCTAG-3',预计扩增产物长度186 bp。聚合酶链反应流程:95℃、45 s预变性、94℃、30 s变性、55℃、30 s退火、72℃、60 s延伸,共35个循环,最后72℃、5 min延伸完整。将扩增产物凝胶电泳,绘制溶解曲线,计算 $2^{-\Delta\Delta Ct}$,其中 $\Delta Ct=Ct$ (目的基因)- Ct (内参), $\Delta\Delta Ct=Ct$ (目的基因)- Ct (内参)-[Ct (基准样品)- Ct (内参)]。

治疗、随访及癫痫判定:疾病组均参照《中国脑卒中防治报告》^[7]进行治疗,通过电话、微信及复查等方式随访1年,并参照《临床诊疗指南癫痫病分册》^[8]判定是否发生癫痫,具体:①有发作病史,并排除心源性晕厥、低血糖、低血钙引起的抽搐及瘧病等;②有肢体抽搐、无目的行走、自言自语、幻听、幻视、幻嗅、肢体麻木或疼痛感觉等癫痫发作形式;③脑电图检查发现异常波;④常规头颅影像学检查排除脑内异常结构或畸形。将缺血性脑卒中发病后2周内继发癫痫者记为早发性癫痫,否则记为迟发性癫痫。将疾病组中继发性癫痫者记为癫痫组,否则记为无癫痫组。

1.3 观察指标 比较疾病组与健康组血清miR-181a表达;统计癫痫发生情况,比较癫痫组与无癫痫组血清miR-181a表达;分析疾病组发生癫痫的影响因素,将性别、年龄、合并症、吸烟史(有吸烟史定义为一生中连续或累积至少吸烟6个月者)、饮酒史(有饮酒史定义为每个月平均至少饮酒1次且连续半年)、入院NIHSS评分、卒中类型、卒中部位、血清miR-181a表达、出血性转化记为自变量,是否发生癫痫记为因变量。

1.4 统计学方法 选用SPSS 21.0软件进行统计学分析。计量资料经Shapiro-Wilk检验 $P>0.05$ 证实符合正态分布,采用 $\bar{x} \pm s$ 描述,组间比较采用独立样本 t 检验;计数资料例(%)组间比较采用 χ^2 检验,若有单元格理论频数 <5 需对其校正;等级资料采用秩和检验;采用logistic多元回归分析确定疾病组发生癫痫的影响因素。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 疾病组与健康组血清miR-181a表达比较 疾病组随访期间有2例并发急性心肌梗死救治无效死亡、有1例失访,均剔除本研究。

疾病组血清miR-181a表达范围为1.12~1.96,miR-181a表达为 1.65 ± 0.38 ;健康组血清miR-181a表达范围为1,miR-181a表达为1。疾病组高于健康

组,差异有统计学意义($t=20.88, P<0.001$)。

2.2 癫痫发生情况及癫痫组与无癫痫组血清 miR-181a 表达比较 疾病组 146 例病人中共有 39 例发生癫痫,发生率为 26.71%,其中 15 例早发型癫痫(38.46%)、24 例迟发型癫痫(61.54%),单次发作 17 例(43.59%)、反复发作 22 例(56.41%);癫痫类型:癫痫大发作 25 例(64.10%)、小发作 4 例(10.26%)、局灶性发作 8 例(20.51%)、精神运动性发作 2 例(5.13%)。

癫痫组血清 miR-181a 表达为 1.84 ± 0.40 , 范围为 1.34~1.96;无癫痫组血清 miR-181a 表达为 1.58 ± 0.35 , 范围为 1.12~1.75。癫痫组高于无癫痫组,差异有统计学意义($t=3.82, P<0.001$)。

2.3 癫痫组与无癫痫组病人的一般资料比较 癫痫组与无癫痫组性别、年龄、合并症、吸烟史、饮酒史、卒中类型、卒中部位比较差异无统计学意义($P>0.05$);癫痫组入院 NIHSS 评分、出血性转化占比均高于无癫痫组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

2.4 疾病组发生癫痫的影响因素分析 将单因素分析结果中 $P<0.05$ 的因素作为自变量并纳入 logistic 多元回归分析模型,包括入院 NIHSS 评分(否=0,是=1)、血清 miR-181a 表达(否=0,是=1)、出血性转化(否=0,是=1),是否发生癫痫(否=0,是=1)作为因变量。采用逐步向前法筛选危险因素。logistic 多元回归分析显示,入院 NIHSS 评分、血清 miR-181a 表达、出血性转化均是疾病组发生癫痫的危险因素($OR=6.46$ 、 8.26 、 $5.33, P=0.028, 0.001, 0.010$),见表 2。

3 讨论

本研究中疾病组癫痫的发生率为 26.71%,与既往 Raja 等^[9]报道的 30% 接近,提示缺血性脑卒中继发癫痫的风险高。但本研究中癫痫的发生率高于邸丹丹等^[10]报道的 20.83% 和张雅静等^[11]报道的 14.29%,可能与所选病例病情、分期、临床治疗方案及治疗依从性、随访时间等差异有关。此外,本研究中早发型癫痫与迟发型癫痫占比分别为 38.46%、61.54%,单次发作、反复发作者占比分别为 43.59%、56.41%,包括癫痫大发作、小发作、局灶性发作及精神运动性发作,可知缺血性脑卒中继发癫痫病人的时间不固定、发作频率不一、发作类型复杂多样,而分析此类病人发生癫痫的相关因素有利于加强预防,降低癫痫发生率,作用重大。

本研究结果中疾病组血清 miR-181a 表达高于健康组,提示缺血性脑卒中病人血清 miR-181a 高表达,这与既往 Song 等^[12]的研究相符,推测可能是因为缺血性脑卒中的发生导致大脑神经元损伤,机体 miR-181a 代偿性升高以保护大脑神经元,减轻认知功能损伤。本研究还发现癫痫组血清 miR-181a 表达水平高于无

表 1 缺血性脑卒中病人 146 例一般资料比较

一般资料	癫痫组 (n=39)	无癫痫组 (n=107)	$\chi^2(t)$ 值	P 值
性别/例(%)			0.14	0.721
男	25(64.10)	65(60.75)		
女	14(35.90)	42(39.25)		
年龄/(岁, $\bar{x}\pm s$)	67.20 $\pm$ 11.39	66.08 $\pm$ 10.59	(0.58)	0.564
合并高血压/例(%)			1.63	0.202
是	18(46.15)	37(34.58)		
否	21(53.85)	70(65.42)		
合并 2 型糖尿病/例(%)			0.30	0.581
是	12(30.77)	28(26.17)		
否	27(69.23)	79(73.83)		
合并高脂血症/例(%)			0.75	0.386
是	15(38.46)	33(30.84)		
否	24(61.54)	74(69.16)		
吸烟史/例(%)			0.46	0.496
有	17(43.59)	40(37.38)		
无	22(56.41)	67(62.62)		
饮酒史/例(%)			0.23	0.631
有	11(28.21)	26(24.30)		
无	28(71.79)	81(75.70)		
入院 NIHSS 评分/ (分, $\bar{x}\pm s$)	15.22 $\pm$ 2.38	9.88 $\pm$ 2.07	(11.55)	<0.001
卒中类型/例(%)				
部分前循环	27(69.23)	76(71.03)	0.04	0.833
完全前循环	11(28.21)	24(22.43)	0.52	0.470
后循环	1(2.56)	7(6.54)	0.27 ^①	0.601
卒中部位/例(%)			2.25	0.133
皮质	33(87.18)	81(75.70)		
皮质下	5(12.82)	26(24.30)		
出血性转化/例(%)			4.65	0.031
是	10(25.64)	12(11.21)		
否	29(74.36)	95(88.79)		

注:①表示对检验的校正。

表 2 缺血性脑卒中病人 146 例发生癫痫的影响多因素分析

影响因素	β 值	SE 值	Wald χ^2 值	P 值	OR 值	95%CI
入院 NIHSS 评分	1.87	0.86	4.66	0.028	6.46	(5.61, 6.99)
血清 miR-181a 表达	2.11	0.70	9.08	0.001	8.26	(7.41, 8.69)
出血性转化	1.67	0.68	5.97	0.010	5.33	(4.68, 5.75)

癫痫组,且该指标是疾病组发生癫痫的危险因素,可知血清 miR-181a 表达升高可增加缺血性脑卒中病人发生癫痫的风险。有研究^[13]指出,miR-181a 可通过调控 Toll 样受体 4、p63、核转录因子- κ B 等表达影响脑源性神经营养因子、神经元特异性烯醇化酶等因子水平,进而影响缺血性脑卒中病人的中枢神经功能缺损程度,且 miR-181a 高表达意味着病人神经功能损伤严重,很可能与加重炎症反应引起的脑组织损伤,还可影响神经生长因子的表达,导致中枢神经损伤,进而增加癫痫

痫、出血性转化等并发症的发生率有关。本研究结果与上述报道一致,这也说明了miR-181a高表达很可能是缺血性脑卒中后癫痫的危险因素。另有刘伟等^[14]报道显示,miR-181a模拟物原代海马神经元突触长度和突触分支数分别为 $(465.2 \pm 111.2) \mu\text{m}$ 和 3.84 ± 0.68 ,miR-181a抑制物分别为 $(1585.3 \pm 145.3) \mu\text{m}$ 和 15.12 ± 1.46 ,提示miR-181a可影响海马神经元突触生长,其高表达可减轻神经元损伤、减少神经元凋亡及细胞漏出,对癫痫起保护作用,本研究结果与该报道不符,可能是因为miR-181a可通过多途径参与癫痫发生,对癫痫发生同时具有促进与拮抗双重效应;本研究为临床试验而上述报道为体外细胞实验,可能不同环境miR-181a参与癫痫发生的机制也不相同。

另外,本研究还发现入院NIHSS评分、出血性转化均是疾病组发生癫痫的危险因素,与既往相关报道^[15-16]结果一致。邸丹丹等^[10]研究指出,NIHSS评分>15分是脑梗死病人继发癫痫的独立危险因素 $[OR=5.95, 95\%CI: (1.96, 18.12), P=0.002]$,本研究结果与该报道相符,可能是因为入院NIHSS评分越高表明病人神经功能受损越严重,大脑神经元损伤也越严重,可引起大脑神经元异常放电,使得轴突直接联系的神经元产生较大的兴奋性突触后电位,引发痫样放电的连续传播,因而癫痫的发生风险可显著增高;出血性转化可造成神经元二次损伤,且出血部位会出现胶质细胞增生导致神经元异常放电,神经系统兴奋-抑制反馈机制受损,再加上出血性转化可引起内源性神经元爆发放电,增强神经元电压依赖性钙电流使得其出现弥漫同步棘-慢波活动,引起癫痫发作^[17]。因此在临床实践中应针对上述因素实施干预以降低缺血性脑卒中后癫痫的概率。另有相关研究^[18-19]指出,年龄、合并基础疾病均是出血性卒中后癫痫的危险因素,本研究结果与上述报道不符,可能与病人诊疗依从性、饮食及生活习惯等差异有关,在临床实践中建议引起重视。

综上所述,缺血性卒中血清miR-181a表达升高,且发生癫痫的病人该指标表达更高,血清miR-181a表达可能增加缺血性脑卒中癫痫的发生风险,且入院NIHSS评分、出血性转化均是其危险因素,应积极控制上述因素以降低癫痫发生率。然而miR-181a参与癫痫发生的具体机制尚未完全清楚,后续仍需进一步探讨该问题。

参考文献

[1] 2019 STROKE COLLABORATORSGBD. Global, regional, and national burden of stroke and its risk factors, 1990-2019: a systematic analysis for the global burden of disease study 2019[J].

Lancet Neurol, 2021, 20(10):795-820.

[2] GALOVIC M, FERREIRA-ATUESTA C, ABRAIRA L, et al. Seizures and epilepsy after stroke: epidemiology, biomarkers and management[J]. Drugs Aging, 2021, 38(4):285-299.

[3] KIM M, LEE Y, LEE M. Hypoxia-specific anti-RAGE exosomes for nose-to-brain delivery of anti-miR-181a oligonucleotide in an ischemic stroke model [J]. Nanoscale, 2021, 13(33):14166-14178.

[4] 陈文斌, 张建华, 贾方增, 等. miR-181a对急性缺血性脑卒中患者神经功能缺损的预测价值[J]. 浙江临床医学, 2019, 21(10):1318-1320.

[5] KONG H, WANG H, ZHUO Z, et al. Inhibition of miR-181a-5p reduces astrocyte and microglia activation and oxidative stress by activating SIRT1 in immature rats with epilepsy [J]. Lab Invest, 2020, 100(9):1223-1237.

[6] 徐蕾, 龚涛. 缺血性脑卒中和短暂性脑缺血发作的诊断[J]. 中华全科医师杂志, 2012, 11(4):246-247.

[7] 王陇德. 中国脑卒中防治报告[M]. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2015:108-112.

[8] 中华医学会. 临床诊疗指南: 癫痫病分册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007:144-146.

[9] RAJA A, TRIVEDI PD, DHAMOON MS. Discharge against medical advice among neurological patients: characteristics and outcomes[J]. Health Serv Res, 2020, 55(5):681-689.

[10] 邸丹丹, 王会军, 李军霞, 等. 脑梗死患者继发癫痫对血清S100B、NSE水平的影响及其与认知功能的关系分析[J]. 湖南师范大学学报: 医学版, 2022, 19(1):14-17.

[11] 张雅静, 吕宪民, 王海英, 等. 急性脑梗死视频脑电图监测异常与癫痫发作的关系研究[J]. 中国全科医学, 2012, 15(32):3785-3787.

[12] SONG X, XUE Y, CAI H. Down-regulation of miR-181a-5p prevents cerebral ischemic injury by upregulating En2 and activating Wnt/ β -catenin pathway [J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2021, 30(3):105485. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2020.105485.

[13] ZHUO Y, CHEN W, LI W, et al. Ischemic-hypoxic preconditioning enhances the mitochondrial function recovery of transplanted olfactory mucosa mesenchymal stem cells via miR-181a signaling in ischemic stroke[J]. Aging (Albany NY), 2021, 13(8):11234-11256.

[14] 刘伟, 潘吴君, 赵静雅, 等. miR-181a调控海马神经元突触生长在癫痫发生中的作用及机制[J]. 中国老年学杂志, 2018, 38(5):1176-1179.

[15] DZIADKOWIAK E, GUZIŃSKI M, CHOJDAK-ŁUKASIEWICZ J, et al. Predictive factors in post-stroke epilepsy: retrospective analysis[J]. Adv Clin Exp Med, 2021, 30(1):29-34.

[16] 林斯革, 欧小凡. 脑卒中后癫痫的危险因素长期随访[J]. 神经损伤与功能重建, 2020, 15(4):224-226.

[17] 张静, 赵建华, 刘娜, 等. 脑卒中后癫痫发作的预测因素及预后[J]. 中华行为医学与脑科学杂志, 2022, 31(5):414-419.

[18] SUNDELIN HEK, TOMSON T, ZELANO J, et al. Pediatric ischemic stroke and epilepsy: a nationwide cohort study [J]. Stroke, 2021, 52(11):3532-3540.

[19] LOIKAS D, LINNÉR L, SUNDSTRÖM A, et al. Post-stroke epilepsy and antiepileptic drug use in men and women [J]. Basic Clin Pharmacol Toxicol, 2021, 129(2):148-157.

(收稿日期:2022-06-15, 修回日期:2022-09-12)