

## 肝豆状核变性早期诊断的研究进展

叶群荣 程楠 胡纪源 韩咏竹

[关键词] 肝豆状核变性;早期诊断  
doi:10.3969/j.issn.1000-0399.2010.08.063

肝豆状核变性(hepatolenticular degeneration, HLD)又名 Wilson 病(Wilson's disease, WD),是一种常染色体隐性遗传铜代谢障碍疾病,不同人群的发病率为(1~3.3)/10 万,其基因定位于 13q14.3, cDNA 编码一种分子量约 165 Kda 的 P 型铜转运 ATP 酶(copper-transporting P-type ATPase, ATP7B)。HLD 患者由于 ATP7B 基因突变引起铜蓝蛋白(ceruloplasmin, CP)合成障碍及胆汁中铜的排泄受限,过量的铜不能排出体外而在肝、脑、角膜等组织脏器中沉积,出现肝硬化、神经/精神症状、角膜 K-F 环(Kayser-Fleischer ring)等临床表现<sup>[1]</sup>。

HLD 是少数可以治疗的神经遗传病之一,患者如果能在发病早期或症状前期被确诊并得到及时治疗,大多预后良好,反之病情逐渐加重甚至危及生命。因此,早期诊断尤其是对有先证者的家系成员进行症状前期诊断对本病的预后至关重要<sup>[1]</sup>。但由于铜在不同脏器中沉积的速度和程度不同,本病患者早期症状复杂多样,极易被误诊为其他疾病<sup>[2]</sup>。为了提高 HLD 的早期诊断水平并减少误诊的发生,众多学者尝试从循证医学角度寻找能用于 HLD 早期诊断(包括症状前诊断和产前诊断)的临床和实验室诊断指标。本文将近年来的研究进展综述如下。

### 1 症状学研究

虽然典型的 HLD 患者根据肝脏及(或)神经系统症状体征、实验室铜代谢生化检查及角膜 K-F 环检查等不难诊断,但 HLD 累及多系统、多脏器,具有高度的临床异质性。大量临床资料表明,半数以上的患者在发病早期并无典型的 HLD 特征性临床改变<sup>[3]</sup>。胡纪源<sup>[4]</sup>等一组 HLD 患者的大样本研究资料也发现,有近 1/4 的患者(125/516)以泌尿系、骨关节系统、血液系统和内分泌系统等非肝、脑症状起病,且其误诊率明显高于以肝、脑症状起病的典型 HLD 患者。美国肝脏疾病研究学会(American Association for the Study of Liver Diseases, AASLD)制定的《肝豆状核变性诊疗指南》(2008 年版)中列出了 HLD 患者常见的临床症状(表 1)<sup>[5]</sup>,在出现这些症状而不能用其他疾病解释时,需行实验室相关检查诊断或排除 HLD。Ferenci 等<sup>[6]</sup>则设计了一套包括症状学指标在内的 HLD 综合评分系统(表 2),在儿童患者中进行的一项前瞻性研究中初步证实了该评分系统的可行性<sup>[6]</sup>。

### 2 角膜 K-F 环研究

表 1 HLD 的主要临床表现

肝症状	无症状性肝肿大 不明原因的脾肿大 血清转氨酶(AST, ALT)持续升高 脂肪肝 急性肝炎 类似于自身免疫性肝炎 肝硬化(代偿性或失代偿性) 急性肝衰竭
神经系统症状	运动障碍(震颤,不自主运动) 流涎,构音障碍 动作呆板,肌张力障碍 假性球麻痹 自主神经功能障碍 偏头痛 失眠 癫痫发作
精神症状	抑郁症 神经症 人格改变 精神病样改变
其他系统症状	肾脏改变:氨基酸尿症,肾结石 骨骼系统改变:早发性骨质疏松,关节炎 心血管系统改变:心肌病,心律失常 胰腺炎 甲状腺腺功能减退 月经失调,不孕症,反复流产

角膜 K-F 环最早由德国眼科专家 Kayser (1902) 和 Fleischer (1903) 分别报道而得名,是位于角膜缘的棕色色素环(也可呈黄绿色、宝石红或深蓝色),被公认为 HLD 的特征性临床改变<sup>[6]</sup>。目前认为, HLD 患者肝脏铜蓄积饱和后释放入血并在体内重新分布,当其沉积于角膜后弹力层即形成 K-F 环,因此在发病早期较为少见,仅见于约 40% 的症状前期患者和 65%~70% 的肝型患者,而见于绝大多数脑型 HLD 患者。由于裂隙灯检查角膜 K-F 环在多数医院中均可开展,因此是 HLD 早期诊断必行的筛选指标。但在脑型 HLD 患者中仍有 5% 为角膜 K-F 环阴性<sup>[6]</sup>,因此角膜 K-F 环阴性

基金项目:安徽省卫生厅基金资助项目(01043713)

作者单位:230061 合肥 安徽中医学院神经病学研究所附属医院

通信作者:韩咏竹

的疑诊患者并不能排除 HLD 的可能,需进一步行铜代谢等检查以明确或排除诊断。

表 2 HLD 诊断评分系统

症状	评分
<b>K-F 环(裂隙灯检查)</b>	
阳性	2
阴性	0
<b>支持 HLD 的神经/精神症状(或典型的颅脑 MRI 表现)</b>	
阳性	2
阴性	0
<b>溶血性贫血 Coombs 试验阴性(+血清铜增高)</b>	
有	1
无	0
<b>实验室检查</b>	
<b>24h 尿铜检测(无急性肝炎)</b>	
正常	0
1~2 倍正常上限	1
>2 倍正常上限	2
正常,但予青霉胺 2x0.5g 口服 1d 后>5 倍正常上限	2
<b>肝铜定量(无胆汁淤积)</b>	
正常	-1
达到 5 倍正常上限	1
>5 倍正常上限	2
<b>肝细胞硫氨酸铜染色(在肝铜定量检测的可靠性受怀疑时检测)</b>	
阴性	0
阳性	1
<b>血铜蓝蛋白(比浊测量法正常值&gt;20mg/dl)</b>	
正常	0
10~20	1
<10	2
<b>基因突变检测</b>	
每条染色体均有致病突变	4
只有 1 条染色体有致病突变	1
未检测到致病突变	0
<b>总分</b>	
对 HLD 诊断的得分判定	
4 分以上:高度支持 HLD 的诊断	
2~3 分:部分支持 HLD 的诊断,但需要进一步的证据	
0~1 分:基本不支持 HLD 的诊断	

3 实验室检查指标研究

3.1 铜代谢生化检查(CP、24h 尿铜、血清铜) HLD 患者由于 CP 合成障碍,血清 CP 减低、24h 尿铜和血清铜增高等铜代谢指标异常是其特征性的生化改变,是 HLD 的主要诊断指标(1 级证据)<sup>[9]</sup>。一项以血清 CP 作为独立筛选指标的前瞻性研究显示,在 2867 例肝病者中只有 17 例 CP 低于正常水平<sup>[9]</sup>。一组 55 例 HLD 确诊患者的 CP 检测结果发现有 12 例血清 CP 在正常范围<sup>[9]</sup>。而在有先证

者的家系成员中约有 20% 的杂合子可以出现血清 CP 减低<sup>[9]</sup>。对 24h 尿铜检测的评估结果也存在同样问题。另外,由于肝细胞坏死时细胞中的铜释放入血可引起血清游离铜不同程度地增加,HLD 患者在不同病理阶段其血清铜可减低、增高或正常<sup>[11]</sup>,故有学者认为血清铜对 HLD 的诊断价值不如血清铜蓝蛋白和 24h 尿铜<sup>[12]</sup>。因此,尽管铜生化检测指标是 HLD 早期诊断的重要依据,但其检测结果正常并不能排除本病,还需参考临床表现和其他辅助检查。

近来,Wilde 等<sup>[13]</sup>基于液相-串联质谱分析(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)技术检测了 HLD 患者干血斑(dried blood spots)中的 CP,建立了一种快速、高通量且具有极高灵敏度的新生儿 HLD 筛选方法。Kenji 等<sup>[14]</sup>应用一种新的尿 CP 检测方法检测了日本北海道地区 11362 名 3 岁儿童,结果发现 1 例尿 CP 明显减低,经铜代谢和基因检测确诊为 HLD。这些高通量的铜代谢检测技术可用于大样本人群中早期 HLD 的筛选。

3.2 青霉胺负荷试验(penicillamine challenge test, PCT) 对于临床高度怀疑为 HLD 的患者,当铜代谢生化指标检测结果正常又未发现角膜 K-F 环时,PCT 可为其提供进一步的诊断依据。一项在儿童患者中进行的 PCT 研究结果显示,口服青霉胺 500mg 并于 12h 后再服 500mg,同时留取 24h 尿液测定 24h 尿铜,尿铜>1600 μg/24h(25 μmol/24h)有肯定性诊断价值(1 级证据)<sup>[15]</sup>。Muller 等<sup>[16]</sup>对 PCT 特异性和灵敏度进行评估的一项研究结果显示,对于以肝症状起病的早期 HLD 患者而言,其灵敏度和特异性不亚于肝穿刺活检和基因检测等方法,但阴性结果并不能排除 HLD 的可能。虽然这两项研究结果仅限于儿科肝病者,且有学者对其敏感性提出了怀疑<sup>[17]</sup>,但 PCT 为 HLD 患者的早期诊断提供了一种标准化的无创性检测手段<sup>[18,19]</sup>。

3.3 肝铜含量测定和肝铜染色检查 采用肝穿刺活检来测定肝铜含量和用硫氨酸/红氨酸进行肝铜染色的方法则具有更高的可靠性,在对高度怀疑的不典型病例中具有极高的诊断价值。多个大样本的研究证实,肝铜含量≥250 μg/g 肝干质量具有显著的特异性,是 HLD 早期诊断的最佳诊断指标(1 级证据)。但由于肝穿刺活检属创伤性检查手段,且 HLD 患者多伴有肝功能异常和凝血机制障碍,难以作为常规检查方法。另外,由于受到肝铜含量在不同的发病阶段的差异及铜在肝组织中非均匀分布的特定,其诊断价值也受到限制,即使肝铜含量和肝铜染色检查结果阴性的患者也不能排除 HLD 的可能<sup>[9]</sup>。

4 影像学检查指标研究

4.1 颅脑影像学检查 早年对症状前期或肝型 HLD 患者行颅脑 CT/MRI 等影像学检查的小样本研究中大多未发现异常改变,但 Kozić 等报道 7 例未经治疗的肝型 HLD 患者行颅脑 MRI 检查,均发现有异常信号<sup>[18]</sup>。喻绪恩等<sup>[19]</sup>观察了 6 例肝型 HLD 的颅脑 MRI 表现,所有患者的壳核均有异常信号,其中 4 例丘脑存在异常信号。因此,颅脑影像学检查(特别是颅脑 MRI 检查)不仅可以评估以神经系统症状为主要临床表现的 HLD 病情的严重程度,也可作为非脑型 HLD 早期诊断的参考指标。

4.2 肝脏影像学检查 胡纪源等<sup>[20]</sup>总结 1200 例 HLD 患者腹部超声检查结果,发现几乎所有患者肝脏声像图均有异常改变,主要表

现为回声光点增多、增粗、增强,即使是无临床表现的症状前期患者也不例外。另外,患者还可出现脾脏肿大、慢性胆囊炎、胆囊壁水肿、胆石症、肾脏皮质回声增粗、增强等声像图改变。Akhan等<sup>[21]</sup>采用腹部超声、CT和MRI等观察了HLD的肝脏改变,发现上述检查方法能在患者发病早期即可检出肝实质病变,且腹部超声检查的精确性优势更为明显。

### 5 基因诊断研究

在HLD基因被克隆之前,Figus等<sup>[22]</sup>即采用RFLP-家系连锁分析方法对HLD家系成员及先证者进行了产前诊断和杂合子检测的研究。随着HLD基因的克隆,各种HLD基因突变检测技术被用于HLD患者早期诊断和产前诊断的研究。Thomas等<sup>[23]</sup>首先采用PCR-SSCP结合DNA测序方法发现H1069Q在欧美裔HLD患者中有较高的突变率。Maier等<sup>[24]</sup>则采用PCR-酶切法对HLD患者的H1069Q突变位点进行检测,证实了其在HLD患者特别是症状前期患者诊断中的价值。国内多家单位研究发现R778L是中国人HLD患者的突变热点<sup>[25,30]</sup>,为国人HLD患者的基因诊断提供了理论依据。杜娟等<sup>[27]</sup>应用DHPLC结合DNA测序技术在4个HLD家系中发现了2例妊娠期胎儿存在致病突变,证实了基因检测在HLD产前诊断中的应用价值。

HLD基因外显子突变位点众多,目前已发现超过300种形式的基因突变,且存在人种间的差异<sup>[28]</sup>,而已有的各种基因检测技术在HLD确诊患者中的突变检出率约为80%~90%<sup>[29,30]</sup>,因此其实际应用价值收到了限制。基于此,有学者提出采用各种高通量的基因序列分析方法对包括非编码区的HLD全基因组序列进行检测以达到检出所有突变的目的<sup>[31]</sup>。在这些方法中,DNA微阵列技术以其固有的小型化、并行性和高通量等特点,与HLD基因的遗传异质性特点相契合,已被用于HLD早期诊断的研究。Gojova等<sup>[32]</sup>应用一种能检测87个突变位点和17种多态的DNA微阵列芯片筛查了97例HLD患者,共检出43种突变和15种多态,其检测结果与DNA测序结果完全相符。虽然HLD的微阵列芯片检测技术目前尚处于研究阶段,但该研究初步显示了其在HLD早期诊断中的应用前景。

综上所述,虽然HLD具有高度的临床和遗传异质性,但是其临床表现和实验室辅助检查均缺乏特异性,目前尚无用于HLD早期诊断的单一检测指标。在临床实践中需结合本病的临床表现和实验室辅助检查结果,并应用HLD评分系统进行综合评估以达到早期诊断的目的。由于DNA微阵列技术具有一次性、快速检出所有突变(包括已知和未知突变)的优势,一旦应用于临床,则能够实现真正意义上的HLD症状前期诊断和产前诊断。

### 参考文献

[1] Ala A, Walker AP, Ashkan K, et al. Wilson's disease. *Lancet*, 2007, 369: 397-408.  
[2] 胡纪源,吕达平,王共强,等.肝豆状核变性的临床误诊研究. *中华医学杂志*, 2001, 81: 642-644.  
[3] Roberts EA, Schilsky ML. Diagnosis and treatment of Wilson disease: an update. *Hepatology*, 2008, 47(6): 2089-2111.

[4] Ferenci P, Caca K, Loudianos G, et al. Diagnosis and phenotypic classification of Wilson disease. *Liver Inter*, 2003, 23: 139-142.  
[5] Koppikar S, Dhawan A. Evaluation of the scoring system for the diagnosis of Wilson's disease in children. *Liver Inter*, 2005, 25: 680-681.  
[6] Suvarna JC. Kayser-Fleischer ring. *J Postgrad Med*, 2008, 54(3): 238-240.  
[7] Demirkiran M, Jankovic J, Lewis RA, et al. Neurologic presentation of Wilson disease without Kayser-Fleischer rings. *Neurology*, 1996, 46: 1040-1043.  
[8] Cauza E, Maier-Dobersberger T, Polli C, et al. Screening for Wilson's disease in patients with liver diseases by serum ceruloplasmin. *J Hepatol*, 1997, 27: 358-362.  
[9] Steindl P, Ferenci P, Dienes HP, et al. Wilson's disease in patients presenting with liver disease: a diagnostic challenge. *Gastroenterology*, 1997, 113: 212-218.  
[10] Scheinberg IH, Sternlieb I. *Wilson's Disease*. Philadelphia: WB Saunders, 1984: 142.  
[11] 张永红,杨旭,罗虹雨,等.血清铜及血清游离铜对肝豆状核变性的诊断价值. *吉林大学学报(医学版)*, 2009, 35(1): 164-166.  
[12] Bewer GJ. Simple approaches to screening and definitive diagnosis// Brewer GJ. *Wilson disease: A clinician's guide to recognition diagnosis and management*. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2001: 202.  
[13] Wilde A, Sadilkova K, Sadilek M, et al. Tryptic peptide analysis of ceruloplasmin in dried blood spots using liquid chromatography-tandem mass spectrometry: application to newborn screening. *Clin Chem*, 2008, 54(12): 1961-1968.  
[14] Nakayama K, Kubota M, Katoh Y, et al. Early and presymptomatic detection of Wilson's disease at the mandatory 3-year-old medical health care examination in Hokkaido prefecture with the use of a novel automated urinary ceruloplasmin assay. *Mol Gen Metab*, 2008, 94: 363-367.  
[15] Martins da Costa C, Baldwin D, Portmann B, et al. Value of urinary copper excretion after penicillamine challenge in the diagnosis of Wilson's disease. *Hepatology*, 1992, 15: 609-615.  
[16] Muller T, Koppikar S, Taylor RM, et al. Re-evaluation of the penicillamine challenge test in the diagnosis of Wilson's disease in children. *J Hepatol*, 2007, 47: 270-276.  
[17] Schilsky ML. Non-invasive testing for Wilson disease: revisiting the d-penicillamine challenge test. *J Hepatol*, 2007, 47: 172-173.  
[18] Kozic D, Svetel B, Petrovic N, et al. MR imaging of the brain in patients with hepatic form of Wilson's disease. *Eur J Neurol*, 2003, 10: 537-592.  
[19] 喻绪恩,杨任民.肝豆状核变性132例颅脑MRI扫描分析. *中风与神经疾病杂志*, 2007, 24(1): 30-34.

## 脑卒中患者健康教育研究进展

朱晴

[关键词] 脑卒中;健康教育;形式;内容  
doi:10.3969/j.issn.1000-0399.2010.08.064

脑卒中是急性脑循环障碍迅速导致局限性或弥漫性脑功能缺损的临床事件,是临床的常见病、多发病,其发病率、病死率、致残率较高,目前为人类三大死亡原因之一。我国每年新发脑卒中病例约150万<sup>[1]</sup>。在脑卒中的预防、治疗和康复过程中,健康教育尤为重要,已成为当前脑卒中防治工作的一项重要战略任务。随着医学科学技术和脑卒中防治研究的深入,针对脑卒中患者开展的健康教育的内容、方法和评价在不断地发展和完善,并且对健康教育参与者提出了更高的要求,现就脑卒中患者健康教育研究进展综述如下。

### 1 对脑卒中患者进行健康教育的意义

由于我国脑卒中患者的健康教育起步较晚,人们对健康教育知识了解较少,脑卒中偏瘫后大多数患者用不正确的方法进行康复,以致于发生严重的废用、过用、误用等并发症,给患者带来了痛苦,给家庭和社会带来沉重的负担。脑卒中患者的康复需全民参

作者单位: 230011 合肥市第二人民医院科教处

与,要把患者的个体作为一个整体,即思维、躯体及精神相互作用又与其所处环境相互作用的、具有活力的复杂的统一体,因而,对脑卒中患者健康教育应该是一个涵盖生理功能锻炼并兼顾心理、生理康复等在内的系列指导。健康教育要求提高相关人员的参与意识,了解患者的问题所在,促使他们去执行运动康复计划,给患者以正确练习机会和知道如何去强化。家庭人员和社区的康复员在脑卒中患者康复运动中担当了重要角色,医疗机构的康复工作者则担当指导者角色。

### 2 健康教育的形式

2.1 个别教育与群体教育相结合 针对患者及家属共同需要掌握的问题,将其组织起来集中指导。个别教育是最主要的教育形式,便于结合患者年龄、文化水平、病程等个体差异因人施教。邓秋兰等<sup>[2]</sup>研究发现,通过对脑卒中患者采取不同的健康教育方法可以看出系统、个性化的健康教育,其健康教育知识知晓率 RNADL 评

- [20] 胡纪源,洪铭范,苏增锋,等. 1200例肝豆状核变性的肝脾胆肾声像图表现及临床研究. 中国临床神经科学, 2003, 11(2): 161-165.
- [21] Akhan O, Akpınar E, Musturay K, et al. Imaging findings of liver involvement of Wilson's disease. Eur J Radiol, 2007, 69(1): 147-155.
- [22] Figus A, Lampis R, Devoto M, et al. Carrier detection and early diagnosis of Wilson disease by restriction fragment length polymorphism analysis. Med Genet, 1989, 26(2): 78-82.
- [23] Thomas GR, Forbes JR, Roberts EA, et al. The Wilson disease gene: spectrum of mutations and their consequences. Nat Genet, 1995, 9: 210-217.
- [24] Maier DT, Ferenci P, Polli C, et al. Detection of the His1069Glu mutation in Wilson disease by rapid polymerase chain reaction. Ann Intern Med, 1997, 127(1): 70-72.
- [25] 许月芳,范玉新,余龙,等. PCR直接测序在Wilson病基因第8外显子检出一个突变热点. 中华医学遗传学杂志, 1998, 15: 284-287.
- [26] 马少春,徐评议,梁秀龄,等. 肝豆状核变性8号14号外显子基因突变的检测. 中山医科大学学报, 1998, 19(1): 14-17, 26.
- [27] 杜娟,高伯笛,李麓芸,等. 应用变性高效液相色谱技术进行肝豆状核变性的基因突变筛查及产前诊断. 中华医学遗传学杂志, 2008, 25(5): 527-530.
- [28] Ferenci P. Regional distribution of mutations of the ATP7B gene in patients with Wilson disease: impact on genetic testing. Hum Genet, 2006, 120: 151-159.
- [29] 吴志英,王柠,林珉婷,等. Wilson病基因全长外显子的突变检测和分折. 中华神经科杂志, 2001, 34(3): 152-155.
- [30] Vrabelova S, Letocha O, Borsky M, et al. Mutation analysis of the ATP7B gene and genotype/phenotype correlation in 227 patients with Wilson disease. Mol Genet Metab, 2005, 86: 277-285.
- [31] Margulies M, Egholm M, Altman WE, et al. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. Nature, 2005, 437: 376-380.
- [32] Gojova L, Jansova E, Kulm M, et al. Genotyping microarray as a novel approach for the detection of ATP7B gene mutations in patients with Wilson disease. Clin Genet, 2008, 73: 441-452.
- [33] 杜益刚,程楠,胡纪源. 肝豆状核变性基因诊断技术的研究进展. 安徽医学, 2009, 30(4): 488-489.

(2010-03-28 收稿 2010-04-24 修回)