DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.16.030
第25卷第16期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 16
2003年8月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Aug. 200

文章编号:1000-5404(2003)16-1473-03

论著

小儿惊厥血清和脑脊液中NSE和NO/NOS改变及其临床意义

黄 志[1],陈 琼[2] (重庆医科大学儿童医院:[1]神经内科,[2]检验科,重庆 400014)

提 要:目的 探讨小儿惊厥发作,发作时间,引起惊厥原因对脑神经元的损伤及其程度。方法 按照引起小儿惊厥的病因及惊厥发生持续的时间及次数进行分组,分别为五组、三组和三组。应用酶联免疫法和分光光度法测定惊厥发作后不同时间患儿血清和脑脊液中NSE,NO/NOS的含量。结果 ①除热性惊厥组外,所有惊厥患儿血清及脑脊液中NSE,NO/NOS明显高于正常对照组($P<0.05$, $P<0.01$);②无论任何原因引起惊厥,惊厥时间越长,血清和脑脊液中NSE,NO/NOS越高,两者成正相关($r=80.5\sim82.4$, $P<0.01$);③在所有病因中,颅内感染者由于惊厥平均次数最多及平均持续时间最长,故脑脊液及血清中NSE,NO/NOS水平升高最明显,且持续时间最长,尤其是有昏迷或严重神经系统并发症者尤为突出,而热性惊厥者NSE,NO/NOS则无明显升高或只有轻微升高。结论 惊厥发作时由于伴有不同程度神经元损伤,从而使血清和脑脊液中NSE,NO/NOS水平其升高,其程度与惊厥发作持续时间,引起惊厥病因及脑损伤程度成正相关。

关键词:惊厥;NSE;NO/NOS;神经元损伤
中图法分类号:R446.1;R749.4 文献标识码:A

Changes of NSE and NO/NOS in serum and cerebrospinal fluid after convulsion in children and the clinical significance

HUANG Zhi, CHEN Qiong (Department of Neurology, Children's Hospital, Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 400014, China)

Abstract: Objective To explore the relationship of neuron injury and its severity with the cause and the duration of convulsion. Methods Patients were divided into 5 groups or 3 groups according to the causes of convulsion or duration of convulsion in children. The levels of neuron-specific enolase (NSE) and nitrogen monoxide and nitricoxide synthase (NO/NOS) in serum and cerebrospinal fluid (CSF) were tested by ELISA and spectrophotography at different time points after convulsion in children. Results The levels of NSE and NO/NOS in serum and CSF of all objective groups except the febrile convulsion group were apparently higher than those in control group ($t=15.4\sim47.7$, $P<0.05\sim0.01$). No matter what the causes might be, the levels of NSE and NO/NOS in serum and CSF increased in a time-dependent manner. There was a positive correlation between them ($r=80.5\sim82.4$, $P<0.01$). Because of more average times and longer duration of convulsion, the levels of NSE and NO/NOS in serum and CSF in children with intracranial infection were the highest and lasted for the longest time in all convulsion-induced causes, especially in those with coma and severe nervous system complications. However, no increase or just slight increase of the levels of NSE and NO/NOS was found in serum and CSF in children with febrile convulsion. Conclusion Convulsion accompanied by different degrees of neuron injury leads to increased levels of NSE and NO/NOS in serum and CSF which are positively correlated with the duration and causes of convulsion and the severity of the brain damage.

Key words: convulsion; neuron-specific enolase; nitrogen monoxide; nitricoxide synthase; neuron injury

小儿惊厥是儿科常见病,其发病率比成人高5~10倍,惊厥引起脑损伤已被越来越多的基础和临床研究所证实。我们拟通过检测对判断脑神经元损伤或坏死较敏感的神经元特异烯醇化酶(Neuron-specific enolase,NSE和NO/NOS(NOS)来了解有关小儿惊厥发作时间,引起惊厥原因与脑损伤及其程度的关系,并探讨其临床变化规律和意义。

1 材料和方法

1.1 检测对象

选自1997年2月至2001年2月在我院内科因惊厥而住院的患儿168例(所有患儿入院前均有一次以上典型惊厥发作),其中男91例,女77例,年龄0.25~12.8(3.34±2.54)岁。对照组30例(入院时疑有神经系统疾病,经过各种检查排除了神经

作者简介:黄 志(1959-),男,四川省隆昌县人,硕士,副教授,主要从事小儿神经系统疾病方面的研究。电话:(023)63624424
收稿日期:2003-04-12;修回日期:2003-06-20

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

系统疾病的儿童)，男 17 例，女 13 例，年龄 2.0～7.3(4.0±2.15)岁。在 168 例患者中做脑脊液常规、生化、培养和/或病毒学检查 125 例(74.4%)，其中异常 102 例(81.6%)；CT 或 MRI 检查 125 例(74.4%)，异常 53 例(42.4%)，做脑电图检查 125 例(74.4%)，异常 102 例(81.6%)，肝肾功能检查 125 例(74.4%)，异常 50 例(40%)。168 例患者作为观察对象，并根据患者病因，惊厥持续时间及次数进行分组，见表 1、2。

1.2 标本采集

所有受试者均于入院后 24～48 h 以及入院后 7 d(惊厥已停止)做腰穿，在无菌、密闭条件采集脑脊液 1.0～1.2 ml，同时采集静脉血 2 ml，分别置于离心机中，3 000 r/min 离心 10 min，分离上清液或血清，然后置于－20 ℃冰箱保存待测。

1.3 检测方法

1.3.1 NSE 含量测定　按试剂盒(由北京北方生物技术研究所提供)说明要求进行操作，用 ELISA 酶联免疫法，HOMAREADER 全自动酶标仪在 492 nm 处比色分别测脑脊液或血清光密度，从标准曲线上得出脑脊液或血清中 NSE 含量(ng/ml)。

1.3.2 NO/NOS 含量　按试剂盒(由中国军事医学科学院提供)说明要求进行操作，用分光光度法(AT638 半自动生化分析仪)在 545 nm 处比色测脑脊液或血清光密度，从标准曲线然后在脑脊液或血清中加入反应底物，立即计时，振荡、分别在 401、421 nm 波长下测每一样本的光密度，同时每隔 30 s 记录一次，最后计算出每毫升脑脊液或血清中每分钟产生 NO 量，即为 NOS 活性($\mu mol \cdot ml^{-1} \cdot min^{-1}$)。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 统计软件包进行方差分析、相关分析和 t 检验等。

2 结果

2.1 不同病因所致惊厥情况比较，见表 1

从表 1 中可以看出：①除热性惊厥组外，各观察组血和脑脊液中 NSE，NO/NOS 均显著高于正常对照组($F=15.4$，$F=47.74$，$P<0.05$，$P<0.01$)；②颅内感染所引起小儿惊厥平均次数，持续时间均显著高于癫痫组，中毒性脑病组，其它组及热性惊厥组($t=2.4$，$t=7.15$，$P<0.05$，$P<0.01$)，因而血清及脑脊液中 NSE，NO/NOS 水平最高，其次为癫痫组，中毒性脑病组，其他组及热性惊厥组，差异非常显著($t=2.2$，$t=3.2$，$P<0.05$，$P<0.01$)；③颅内感染组在病后一周，血清及脑脊液中 NSE，NO/NOS 升高持续时间也明显高于癫痫等其它各组，表明该组患者脑神经元损伤程度远远大于其它各组。

表 1　不同病因所致惊厥有关情况比较($\bar{x}\pm s$)

Tab 1　Comparison of different causes of convulsion($\bar{x}\pm s$)

	Time after admission	Intracranial infection ($n=56$)	Epilepsy ($n=38$)	Poisoning encephalopathy ($n=25$)	Febrile convulsion ($n=27$)	Other ($n=22$)	Control ($n=30$)
Convulsion degree(times)		6.80±5.00	5.05±4.11▲	5.26±4.13▲	1.50±1.00▲▲	5.33±2.36▲	0
Convulsion time(min)		15.48±13.82	10.6±15.14▲	12.85±15.9▲	10.70±12.60▲	8.79±10.66▲▲	0
NSE in serum(ng/ml)	24～48 h	8.04±4.14**	7.91±4.04**	7.29±2.80*	4.24±1.24	6.72±2.40*	3.38±0.64
	7 d	8.43±4.07**	8.03±4.01**	7.86±2.63*	3.65±0.98	7.32±2.37*	
NSE in CSF(ng/ml)	24～48 h	9.18±4.42**	8.56±4.49**	8.56±2.78**	4.59±1.55	7.82±2.74*	3.70±0.30
	7 d	10.17±4.94**	9.51±4.99**	9.29±2.82**	4.09±0.70	9.43±2.87*	
NO/NOS in serum($\mu mol \cdot ml^{-1} \cdot min^{-1}$)	24～48 h	0.73±0.08**	0.68±0.09*	0.73±0.09*	0.61±0.08	0.74±0.08*	0.50±0.04
	7 d	0.72±0.07**	0.67±0.09*	0.75±0.06*	0.56±0.07	0.75±0.06*	
NO/NOS in CSF($\mu mol \cdot ml^{-1} \cdot min^{-1}$)	24～48 h	0.70±0.08**	0.67±0.08*	0.74±0.07*	0.61±0.08	0.72±0.07*	0.48±0.03
	7 d	0.68±0.09**	0.71±0.09*	0.75±0.06*	0.58±0.06	0.75±0.06*	

▲：$P<0.05$，▲▲：$P<0.01$ *vs* intracranial infection；*：$P<0.05$，**：$P<0.01$ *vs* control

表 2　惊厥持续时间、次数与脑脊液和血液中 NSE，NO/NOS 关系($\bar{x}\pm s$)

Tab 2　Relationship between duration and times of convulsion and levels of NSE and NO/NOS in serum and CSF($\bar{x}\pm s$)

	Time after admission	Convulsion time		Convulsion degree			
		<30 min ($n=99$)	30～60 min ($n=41$)	60～120 min ($n=28$)	<5 times ($n=74$)	5～10 times ($n=56$)	>10 times ($n=38$)
NSE in serum(ng/ml)	24～48 h	6.21±3.69	8.00±3.90	10.69±5.09##	5.84±2.30△△	7.77±3.53△	11.20±4.90
	7 d	6.69±3.65	8.66±4.06	12.28±1.84##	5.57±2.65△△	8.18±3.37△	11.00±4.62
NSE in CSF(ng/ml)	24～48 h	7.60±4.08	9.65±4.54	11.57±3.96##	6.37±2.81△△	8.76±3.60△	12.30±5.30
	7 d	8.51±4.60	10.85±5.08	15.2±0.04##	7.16±3.65△△	8.86±3.57△	13.30±5.62
NO/NOS in serum($\mu mol \cdot ml^{-1} \cdot min^{-1}$)	24～48 h	0.62±0.085	0.84±0.05	1.07±0.05##	0.62±0.09△△	0.66±0.08△△	0.85±0.05
	7 d	0.61±0.09	0.81±0.09	0.97±0.05#	0.62±0.07△△	0.68±0.07△△	0.78±0.06
NO/NOS in CSF($\mu mol \cdot ml^{-1} \cdot min^{-1}$)	24～48 h	0.67±0.09	0.82±0.10	1.07±0.05##	0.64±0.07△△	0.74±0.07△△	0.90±0.05
	7 d	0.66±0.08	0.80±0.09	0.96±0.11#	0.63±0.05△△	0.70±0.07△△	0.81±0.06

#：$P<0.05$，##：$P<0.01$ *vs* convulsion time<30 min；△：$P<0.05$，△△：$P<0.01$ *vs* convulsion degree> 10 times

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.2　惊厥持续时间、次数与脑脊液和血清中 NSE, NO/NOS 改变关系, 见表 2

从表 2 中可以看出: ①惊厥持续时间大于 30 min, 血清及脑脊液中 NSE, NO/NOS 水平即明显升高, 且随着惊厥持续时间的越长, 血清及脑脊液中 NSE, NO/NOS 升高也越明显, 尤其是惊厥持续时间超过 2 h, 血清及脑脊液中 NSE, NO/NOS 升高水平远远大于惊厥持续时间小于 30 min 组, 差异非常显著(t= 2.05, t= 8.72, P< 0.05, P< 0.01); ②惊厥发作次数越多, 血清及脑脊液中 NSE, NO/NOS 升高也越明显, 尤其是惊厥持续次数大于 10 次组, 血清及脑脊液中 NSE, NO/NOS 升高水平远远大于惊厥小于 10 次各组, 差异非常显著(t= 3.59, t= 7.15, P< 0.05, P< 0.01)。表明惊厥持续时间越长, 短时间内发作次数越多, 脑神经元受损程度越重, 因而惊厥停止后, 血清及脑脊液中 NSE, NO/NOS 恢复也越慢。

3　讨论

神经元特异性烯醇化酶(NSE)主要存在于脑神经元的胞质中, 是神经元损伤的敏感性标志, 现已证实脑外伤, 脑出血及癫痫发作时均可出现脑脊液和血清中 NSE 的升高, 其升高程度与脑损伤轻重密切相关[1,2], 而一氧化氮(NO)是兼有细胞内和细胞间信使和神经传递作用的气体物质, 它既具有通过多种途径传递神经元信息, 调节脑血流, 保护神经元的功能[3], 但在过量情况下又有广泛的细胞毒作用, 有研究表明在各种脑病时, 由于 Ca^{2+} 大量内流, 通过调钙蛋白(CaM)激活 iNOS, 引起 NO 合成增加, 大量的 NO 反过来又加重脑神经元损伤[4]。

本研究表明: 惊厥时, 由于均有不同程度的神经元损伤存在, 故直接导致 NSE 的"漏出", 继而通过被破坏的脑脊液－脑屏障和血－脑屏障进入脑脊液和血液[5], 其升高程度与惊厥持续时间、次数以及引起惊厥的病因密切相关。从表 2 中可以看出惊厥持续时间越长, 一定时间内惊厥发作次数越多, 脑脊液和血清中 NSE 升高越明显。尤其是一次惊厥持续超过 2 h 或/和 1 周内惊厥发作次数超过 10 次时, 脑脊液及血清中 NSE 升高最明显, 表明长期的、反复的惊厥将造成较严重的甚至不可逆的神经元损伤; 从表 1 中还可以看出, 颅内感染组所引起的惊厥, 由于惊厥平均次数最多, 且平均持续时间也最长, 故其脑脊液和血清中 NSE 升高程度最显著, 并在 1 周后仍保持较高水平的 NSE 浓度, 其次为中毒性脑病组, 癫痫组和其它组, 而热性惊厥组 NSE 升高的程度最低。推测其原因, 颅内感染等诸组均有不同程度脑器质性病变存在, 其颅内病理改变在不断变化中, 可以加重, 也可以恢复。即使处于恢复中也有一个相当长的过程, 因此脑神经元损伤相对重, 恢复时间也更长。即便是癫痫组虽其发作为一个较短的病理过程, 但颅内也有器质性病灶－癫痫灶存在, 故 NSE 的改变也与颅内感染组相似, 而热性惊厥患者, 由于颅内无器质性病灶存在, 故脑脊液和血液中 NSE 升高并不明显[6], 且很快恢复正常。

本研究还表明, 在中枢神经系统疾病时, 尤其是在颅内感染和颅脑损伤时, 由于内毒素或 T 淋巴细胞激活巨噬细胞使 iNOS 过量表达, 引起 NO 合成大量增加, 造成脑组织损伤, 加重其病理过程[7]。具体表现为: ①惊厥时, 尤其是脑有器质性病变存在时, 脑脊液和血清中 NO/NOS 明显升高, 升高的程度与脑神经元受损相一致, 即颅内感染组最高, 依次中毒性脑病组, 癫痫组, 其他组, 而热惊厥组升高相对最低, 但仍较正常对照组高, 我们的结果与国外其他作者报道的相一致[8,9]; ②惊厥持续越长, 脑脊液和血液中 NO/NOS 升高也越明显[10]。

总之, 除热性惊厥外, 无论其他什么原因引起的惊厥, 只要有颅内活动性病变和/或神经元损伤存在, 脑脊液和血液中就会有 NSE, NO/NOS 等升高, 且两者升高程度与惊厥病因, 惊厥持续时间, 一定时间内惊厥发作次数呈正相关(r= 80.5, P< 0.01); NSE, NO/NOS 两者间改变的程度也有较好的相关性(r= 88.3, P< 0.01)。即有脑器质性病变存在, 且病变持续时间越长, 发生反复惊厥及惊厥持续状态可能性越大, 因而脑神经元受损程度越重, 故脑脊液及血液中 NSE, NO/NOS 升高越明显, 持续时间越长, 恢复越缓慢, 反之亦然。

参考文献:

[1] 李国良, 章　蓓. 神经元特异性烯醇化酶变化在癫痫发作中的意义[J]. 国外医学神经病学神经外学分册, 1997, 24(4): 184－186.

[2] 王义刚, 邢永前, 郑　华, 等. 神经元特异性烯醇化酶与急性脑梗死[J]. 临床神经病学杂志, 2001, 14(2): 74－75.

[3] 田恒力, 张　镛, 张天锡, 等. 一氧化氮生物作用研究进展[J]. 国外医学神经病学神经外学分册, 1995, 22(2): 87－90.

[4] Moskvin A N, Zhiliaev S I u, Sharapov O I, *et al*. Cerebral blood flow modulates hyperbaric oxygen induced neurot oxicity by neuronal and endothelial nitric oxide[J]. Ross Fiziol Zh Im I M Sechenova, 2002, 88(7): 873－880.

[5] 张蓬川, 张　玉景. 神经元特异性烯醇化酶在急性颅脑损伤中的意义[J]. 国外医学神经病学神经外科学分册, 1999, 26(2): 127－129.

[6] Rodriguez-Nunez A, Cid E, Rodriguez-Garcia J, *et al*. Cerebrospinal fluid purine metabolite and neuron-specific enolase concentration after febrile seizure[J]. Brain Dev, 2000, 22(7): 427－431.

[7] Tsukahara H, Haruta T, Todoroki Y, *et al*. Oxidant and antioxidant activities in childhood meningitis[J]. Life Sci, 2002, 71(23): 2797－2806.

[8] Gulec G, Noyan B. Do recurrent febrile convulsions decrease the threshold for pilocarpine-induced seizures? Effects of nitric oxide[J]. Brain Res Dev Brain Res, 2001, 126(2): 223－228.

[9] Klyueva Y A, Bashkatova V G, Vitskova G Y, *et al*. Role of nitric oxide and lipid peroxidation in mechanisms of febrile convulsions in Wistar rat pups[J]. Bull Exp Biol Med, 2001, 131(1): 47－49.

[10] Sugimoto K, Iadecola C. Effects of aminoguanidine on cerebral ischemia in mice: comparison between mice with and without inducible nitric oxide synthase gene[J]. Neurosci Lett, 2002, 331(1): 25－28.

(编辑　王　红)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net