

· 论著 ·

癫痫和热性惊厥患儿一氧化氮 一氧化氮合酶的研究

施旭来, 胡鸿文, 李光乾, 陈翔, 叶秀云, 林忠东

(温州医学院附属育英儿童医院神经科, 浙江 温州 325027)

[摘要] 目的 探讨癫痫(EP)和热性惊厥(FC)患儿血清和脑脊液(CSF)一氧化氮(NO)和一氧化氮合酶(NOS)的含量及其与EP和FC的发病机制的关系。方法 分别采用硝酸还原酶法、酶测定法测定EP和FC患儿惊厥发作后24h内血清和CSF NO和NOS的含量。结果 EP组和FC组CSF NO水平均明显低于对照组, 差异有显著性($P < 0.05$); 而EP组和FC组血清NO水平均明显高于对照组, 差异有显著性($P < 0.05$)。FC组CSF NOS活性也明显低于对照组($P < 0.05$)。结论 EP和FC患儿CSF NO水平明显低于对照组, 提示NO可能与阻止惊厥发作有关, 并可能有抗惊厥作用。FC患儿CSF NOS活性明显低于对照组, 与FC患儿CSF NO水平下降一致, 进一步支持NO在FC中可能有抗惊厥作用, 这一结果可为EP的临床药物治疗和研制开发提供新的思路。

[中国当代儿科杂志, 2004, 6(5): 394-396]

[关键词] 癫痫; 热性惊厥; 一氧化氮; 一氧化氮合酶; 儿童

[中图分类号] R742.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2004)05-0394-03

Levels of nitric oxide and nitric oxide synthase in serum and cerebrospinal fluid of children with epilepsy or febrile convulsions

Xu-Lai SHI, Hong-Wen HU, Guang-Qian LI, Xiang CHEN, Xiu-Yun YE, Zhong-Dong LIN. Department of Neurology, Yu-Ying Children's Hospital Affiliated to Wenzhou Medical College, Wenzhou, Zhejiang 325027, China (Email: sumyiwz48@sohu.com)

Abstract: Objective To examine nitric oxide (NO) and nitric oxide synthase (NOS) concentrations in serum and cerebrospinal fluid (CSF) of children with epilepsy (EP) or febrile convulsions (FC) and to investigate the role of NO in the pathogenesis of EP and FC. **Methods** The serum and CSF concentrations of NO and NOS in children with EP (EP group, $n = 31$) or FC (FC group, $n = 39$) were examined by nitrate reductase and enzyme determination assays respectively within 24 hours after seizures. The results were compared with 38 control children with upper respiratory infection. **Results** Both EP and FC groups demonstrated a lower CSF NO levels compared with the Control group ($P < 0.05$). In contrast, serum NO levels in both groups were significantly higher than those in the Control group ($P < 0.05$). CSF levels of NOS in the FC group decreased significantly when compared with the Control group ($P < 0.05$). **Conclusions** CSF NO levels decreased after seizures in children with either EP or FC. CSF levels of NOS also decreased in the FC children. The results indicate a possible role of NO in anti-convulsion.

[Chin J Contemp Pediatr, 2004, 6(5): 394-396]

Key words: Epilepsy; Febrile convulsion; Nitric oxide; Nitric oxide synthase; Child

癫痫(epilepsy, EP)和热性惊厥(febrile convulsions, FC)是儿科常见的发作性疾病;EP和FC的发病机制虽有所进展,但仍不明确。近年来,随着神经科学的发展,神经递质及调质在EP发病机制中的研究已受到广泛重视,其中一氧化氮(nitric ox-

ide, NO)是研究的重点。NO是一种高扩散性,自由基性质的气体,在中枢神经系统内被确认为一种逆向信使及气体性神经递质,参与多种形式的突触传递及病理过程。NO内源合成的关键酶是一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)。大量的研究

[收稿日期] 2003-11-18; [修回日期] 2004-03-26

[作者简介] 施旭来(1972-),男,硕士,住院医师。主攻方向:小儿神经系统疾病。

[通讯作者] 施旭来,浙江省温州医学院附属育英儿童医院神经内科,邮编:325027。

表明 NO 有致病作用^[1],但也有较多证据证明 NO 具有抗 EP 作用^[2]。总之,NO 参与了 EP 的发生发展,但不同学者报道不一,其确切的作用机制有待于进一步研究。本实验通过测定 EP、FC 病儿惊厥发作后 24 h 内血清和 CSF NO、NOS 的浓度,来确认它们与惊厥发作的关系,旨在为研究 EP、FC 发病机制和临床药物治疗提供新的思路。

1 对象和方法

1.1 研究对象

EP 组:31 例,均符合原发性全面性发作的诊断标准的有 EEG 或视频脑电图阳性证据而头颅 CT、MRI 检查阳性的住院 EP 病儿^[3],其中男 25 例,女 6 例,年龄 3 月至 13 岁,平均 4.3 岁。根据惊厥发作的频率和单次发作持续时间分为两组:严重组(采集标本前 24 h 内发作 ≥ 3 次和/或单次发作时间 ≥ 10 min)和普通组(采集标本前 24 h 内发作 < 3 次及单次发作时间 < 10 min)。

FC 组:39 例,均系我科住院确诊的 FC 病儿,既往没有无热惊厥病史,均经腰穿检查排除颅内感染,EEG 和头颅 CT 均为正常。其中男 26 例,女 13 例;年龄 3 月至 7 岁,平均 2.4 岁。同样,根据惊厥发作的频率和单次发作持续时间分为两组:严重组(采集标本前 24 h 内发作 ≥ 2 次和/或单次发作时间 ≥ 10 min)和普通组(采集标本前 24 h 内发作 < 2 次及单次发作时间 < 10 min)。

对照组:38 例,其中男 21 例,女 17 例;年龄 6 月至 10 岁,平均 4.1 岁,均为我科住院的入院时疑诊为颅内感染最后确诊为急性上呼吸道感染病儿。

1.2 标本采集、试剂来源和测定方法

EP 组和 FC 组病儿在发作后 24 h 内同时抽取 CSF 和静脉血各 2 ml,离心后取上清液存于 -70°C 冰箱中待测。对照组入院时抽取标本,处理同研究组。剔除所有溶血标本。NO、NOS 试剂盒购自南京建成生物工程研究所,分别采用硝酸还原酶法、酶测定法测定。

1.3 统计学处理

应用 SPSS 11.0 统计软包,实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。所有数据进行方差齐性检验,组间均数差别的显著性比较采用 One-Way ANOVA(单因素方差分析),两两比较采用 q 检验。

2 结果

2.1 NO 的测定结果

EP 组和 FC 组血清 NO 含量均明显高于对照组,而 CSF NO 水平均明显低于对照组。EP 组和 FC 组血清和 CSF NO 水平比较差异无显著性均 $P > 0.05$,见表 1。

表 1 EP 组、FC 组和对照组血清和 CSF 中 NO 水平

Table 1 Serum and CSF NO levels in the EP, FC and Control groups ($\mu\text{mol/L}$)

组别	例数	血清 NO 水平	CSF NO 水平
对照组	38	22.44 \pm 7.80	24.03 \pm 15.01
EP 组	31	46.97 \pm 25.44 ^a	12.17 \pm 4.72 ^a
FC 组	39	41.13 \pm 29.14 ^a	12.21 \pm 7.89 ^a

注: a 与对照组比较 $P < 0.05$

2.2 NOS 的测定结果

FC 组 CSF NOS 活性明显低于 EP 组和对照组,而 EP 组血清和 CSF NOS 活性及 FC 组血清 NOS 活性与对照组相比,差异均无显著性,见表 2。

表 2 EP 组、FC 组和对照组血清和 CSF 中 NOS 活性

Table 2 Serum and CSF NOS levels in the EP, FC and Control groups (U/ml)

组别	例数	血清 NOS 活性	CSF NOS 活性
对照组	38	18.98 \pm 5.47	4.02 \pm 1.96
EP 组	31	19.74 \pm 3.02	4.40 \pm 1.64
FC 组	39	20.33 \pm 4.26	2.09 \pm 1.33 ^a

注: a 与对照组及 EP 组比较 $P < 0.01$

2.3 严重组与普通组 NO 水平的比较

严重组 EP 病儿血清和 CSF NO 水平与普通组 EP 相比,差异无显著性($P > 0.05$)。严重组 FC 血清和 CSF NO 水平与普通组 FC 相比,差异亦无显著性。见表 3。

表 3 严重组、普通组 EP 和 FC 病儿血清和 CSF NO 水平

Table 3 Serum and CSF NO levels in the severe and moderate EP or FC patients ($\mu\text{mol/L}$)

组别	例数	血清 NO 水平	CSF NO 水平
EP 严重组	20	45.91 \pm 26.71	13.68 \pm 8.20
EP 普通组	11	41.09 \pm 26.21	15.19 \pm 7.77
FC 严重组	18	40.09 \pm 27.68	18.08 \pm 24.46
FC 普通组	21	37.86 \pm 33.34	12.46 \pm 7.81

2.4 严重组与普通组 NOS 活性的比较

严重组 EP 患儿血清和 CSF NOS 活性与普通组相比,差异均无显著性(均 $P > 0.05$)。严重组 FC 血清和 CSF NOS 活性与普通组相比,差异亦无显著性($P > 0.05$),见表 4。

表 4 严重组、普通组 EP 和 FC 患儿血清和 CSF NOS 活性
Table 4 Serum and CSF NOS levels in the severe and moderate EP or FC patients (U/ml)

组别	例数	血清 NOS 活性	CSF NOS 活性
EP 严重组	20	20.27±3.05	3.82±1.04
EP 普通组	11	19.33±3.06	4.77±1.87
FC 严重组	18	20.43±3.75	2.66±1.73
FC 普通组	21	20.25±4.77	1.70±0.81

3 讨论

近年来,国内外进行了大量的 NO 与 EP 相关性的动物和临床研究,NO 有致 EP 还是有抗 EP 作用,文献报道不一。国内外有大量证明 NO 有抗痫作用的动物研究文献。Ferraro 等^[4]研究了 NO 作为一种新的神经递质在控制海马和大脑皮质的兴奋性作用,以及其与谷氨酸系统的相互关系。结果提示神经系统 NO 水平的下降,导致兴奋性神经传递的功能传播,可能是由于缺乏 NO 介导的调节活动。从而,认为 NO 有神经保护作用,可能通过选择性抑制 NMDA 受体。Masahiro 等^[5]测定了 EP 易感性 EL 大鼠 CSF 和血清亚硝酸盐和硝酸盐水平,发现 CSF NO 产物水平明显低于对照组,推测脑中低 NO 产物可能与 EL 大鼠的 EP 易感性有关。

另外,国内外有 EP 或 FC 患者在惊厥发作后 CSF NO 和 NOS 活性升高的文献报道。赵秀鹤^[2]的研究资料显示,复杂部分性发作 3 日内 CSF 内 NO 及 NOS 活性均明显上升,提示酶活性增强,内源性 NO 产生增多,NO 可能参与了复杂部分性发作的病理生理过程。Sampsa^[6]为了评估 NO 代谢和 CSF 中 NO 代谢产物水平,他们测定了 31 个 West 综合征(West syndrome, WS)儿童 CSF NO 水平。结果发现 WS 组 CSF NO 水平明显高于对照组,继发性 WS 组 CSF NO 水平明显高于原发性 WS 组和对照组。

本研究表明 EP 和 FC 患儿 CSF NO 水平明显低于对照组,提示 NO 可能参与抗 EP 机制及可能具有抗 EP 作用。严重组 EP 和 FC CSF NO 水平与普通组相比,均没有显著性差异,支持 NO 与 EP 发作严重程度无关,也没有提示预后作用。FC 患儿 CSF NO 活性明显低于对照组,与 FC 患儿 CSF NO

水平的下降一致,提示 NOS 活性下降导致内源性 NO 生成减少,失去 NO 的保护作用,从而导致 FC 患儿惊厥发作。而且 FC 患儿 CSF NOS 活性明显低于 EP 组,EP 患儿 CSF NOS 活性与对照组相比,无统计学意义,表明 FC 患儿 CSF NOS 活性下降更加突出,而 EP 患儿下降不明显,EP 患儿 CSF NO 水平的下降可能还有其它机制的参与。目前还没有临床 EP 或 FC 患者在惊厥发作后 CSF NO 水平和 NOS 活性下降的类似文献报道。

本研究还表明 EP 和 FC 患儿血清 NO 水平明显高于对照组,而严重组 EP 和 FC 患儿血清 NO 水平与普通组比较,无显著性差异。EP 和 FC 患儿血清 NOS 活性与对照组比较,均无统计学意义。国内已有类似报道,汪学文^[7]测定了 24 例未经抗 EP 治疗的原发性 EP 患者和 15 名正常人血清 NO,结果显示患者组血清浓度明显高于对照组。但目前还没有 EP 或 FC 患儿惊厥发作后 CSF NO 水平下降同时血清 NO 水平升高这一矛盾现象的报道。作者认为 CSF NO 与血清 NO 相比,前者更能准确地反映脑损伤情况,因为后者受外周干扰因素的影响较多。CSF NO 水平的下降可反映脑内 NO 水平的下降,脑内 NO 水平下降与 EP 发作有关,表明 NO 可能有抗 EP 作用;而血清 NO 水平升高可能是机体一种代偿的结果。

[参 考 文 献]

- [1] 刘学源,乔健,俞丽云,吕传真. 癫痫病人血浆和脑脊液中生长抑素含量及其临床意义 [J]. 中国神经精神疾病杂志,1998, 24(1): 27-29.
- [2] 赵秀鹤,迟兆富,邓小梅. 复杂部分性发作 EP 患者脑内一氧化氮、一氧化氮合酶的测定 [J]. 中国实用内科杂志,2000, 20(7): 447.
- [3] 王艺,孙道开. 小儿癫痫的诊断与治疗进展 [J]. 中国当代儿科杂志,2001, 3(4): 341-344.
- [4] Ferraro G, Montalbano ME, La Grutta V. Nitric oxide and glutamate interaction in the control of cortical and hippocampal excitability [J]. Epilepsia, 1999, 40(7): 830-836.
- [5] Uchida M, Nagatomo I, Akasaki Y, Tominage M, Hashiguchi W, Kuchiiwa S, et al. Nitric oxide production is decreased in the brain of the seizure susceptible El mouse [J]. Brain Res Bull, 1999, 50(4): 223-227.
- [6] Vanhatalo S, Riikonen R. Nitric oxide metabolites, nitrates and nitrites in the cerebrospinal fluid in children with West syndrome [J]. Epilepsy Res, 2000, (46): 3-13.
- [7] 汪学文,苏卓娃,杜冀晖,刘洪. 原发性 EP 患者血清一氧化氮浓度的研究 [J]. 卒中与神经疾病杂志,1998, 5(2): 93-94.

(本文编辑:吉耕中)