

论著·临床研究

## 轻度胃肠炎伴婴幼儿良性惊厥患儿血清硫化氢水平变化的研究

张远达 顾芳 谢会卿 冀超玉 张小龙 张瑜 庞微微

(保定市儿童医院, 河北保定 071000)

**[摘要]** **目的** 研究轻度胃肠炎伴婴幼儿良性惊厥(BICE)患儿血清硫化氢(H<sub>2</sub>S)水平的变化及意义。**方法** 选择住院治疗的42例BICE患儿为观察组,同期因单纯急性胃肠炎入院的46例患儿为对照组。使用分光光度计法检测其血清H<sub>2</sub>S水平。**结果** 观察组患儿血清H<sub>2</sub>S水平显著低于对照组(28±12 μmol/L vs 45±10 μmol/L, P<0.01)。惊厥发作次数≥2次患儿血清H<sub>2</sub>S水平显著低于发作次数<2次患儿(P<0.05)。BICE患儿惊厥发作次数与血清H<sub>2</sub>S水平呈负相关(r=-0.485, P=0.001);惊厥持续时间≥5 min组患儿的发作时间与血清H<sub>2</sub>S水平呈负相关(r=-0.736, P=0.004)。**结论** 内源性H<sub>2</sub>S水平的降低可能是BICE患儿发病原因之一;血清H<sub>2</sub>S水平下降程度与惊厥发生的次数及发作超过5 min的持续时间有关,其临床意义有待于更多的研究证实。

[中国当代儿科杂志, 2014, 16(11): 1096-1099]

**[关键词]** 轻度胃肠炎; 良性惊厥; 硫化氢; 儿童

### Serum hydrogen sulfide levels in children with benign infantile convulsions associated with mild gastroenteritis

ZHANG Yuan-Da, GU Fang, XIE Hui-Qing, JI Chao-Yu, ZHANG Xiao-Long, ZHANG Yu, PANG Wei-Wei. Baoding Children's Hospital, Baoding, Hebei 071000, China (Email: ydzhang666@163.com)

**Abstract: Objective** To study the changes and significance of serum hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) levels in children with benign infantile convulsions associated with mild gastroenteritis (BICE). **Methods** Forty-two hospitalized children diagnosed with BICE were recruited to the observation group, and 46 children admitted due to acute gastroenteritis alone were recruited to the control group. Serum H<sub>2</sub>S levels were measured by a spectrophotometer. **Results** The serum H<sub>2</sub>S level in the observation group was significantly lower than in the control group (28±12 μmol/L vs 45±10 μmol/L; P<0.01). The patients with a number of convulsions greater than or equal to two had significantly lower serum H<sub>2</sub>S levels than those with a number less than two (P<0.05). The number of convulsions was negatively correlated with serum H<sub>2</sub>S level in BICE patients (r=-0.485, P=0.001). When a convulsion exceeded 5 minutes in duration, the duration was negatively correlated with serum H<sub>2</sub>S level (r=-0.736, P=0.004). **Conclusions** The reduction in endogenous H<sub>2</sub>S level might be one of the causes of convulsions in BICE patients. The degree of reduction in H<sub>2</sub>S level is associated with the number of convulsions and the duration of convulsion (when it exceeds 5 minutes). Further investigation is needed to determine the clinical significance of these results.

[Chin J Contemp Pediatr, 2014, 16(11): 1096-1099]

**Key words:** Mild gastroenteritis; Benign convulsions; Hydrogen sulfide; Child

轻度胃肠炎伴婴幼儿良性惊厥(BICE)是1982年由日本学者Morooka首次提出的。目前对于BICE的病因及发病机制尚无明确的定论。有的学者考虑其发病机制同高热惊厥有一定的共性:小儿的脑发育尚未成熟,在一定的诱因影响之下,

体内的环境受到了影响,引起大脑细胞异常放电从而发生了惊厥<sup>[1]</sup>。硫化氢(H<sub>2</sub>S)是人们继一氧化氮(NO)与一氧化碳(CO)之后所发现的又一个气体信号传导分子,随着研究的深入,有越来越多的证据显示,H<sub>2</sub>S对于人体具有广泛的病理生

理作用,内源性 H<sub>2</sub>S 具有很强的抗氧化以及保护神经的功能,并在惊厥的发生、发展过程中起着重要的作用,但是内源性 H<sub>2</sub>S 是否参与了 BICE 的发病机制目前尚不清楚。本研究通过测定在我院住院治疗的 42 例 BICE 患儿血清 H<sub>2</sub>S 水平的变化,分析其在 BICE 病程中的意义及临床价值。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

2012 年 1 月至 2014 年 1 月在我院确诊为 BICE 并住院治疗的 42 例患儿作为观察组,其中男 22 例,女 20 例,平均年龄  $1.7 \pm 1.2$  岁。选择同期因单纯急性胃肠炎入院治疗的 46 例患儿为对照组,其中男 25 例,女 21 例,平均年龄  $1.8 \pm 1.3$  岁。对照组患儿既往健康,发育正常,均无惊厥病史。本研究经过了医院医学伦理委员会批准并均签署了家属知情同意书。

### 1.2 诊断标准

BICE 的诊断标准<sup>[2]</sup>: (1) 婴儿既往健康; (2) 惊厥发作时不发热,可有轻度脱水,但无明显酸中毒和电解质紊乱; (3) 常发生在冬季急性胃肠炎病程的第 1~5 天; (4) 惊厥基本形式为全身强直一阵挛性发作,可为单次或多次发作; (5) 发作间歇期脑电图正常; (6) 血清电解质、血糖、脑脊液常规检查正常。

### 1.3 静脉血的采集

在确诊后的 24 h 内两组患儿用无抗凝干燥管分别抽取静脉血 2 mL,在室温下静置约 30 min,然后保持温度在 4℃,离心分离血清后保存在 -60℃ 的冰箱里。

### 1.4 H<sub>2</sub>S 的检测方法

在空试管中加入醋酸锌 0.5 mL (10 g/L),然后加入 0.1 mL 解冻好的血清标本,充分振荡摇匀,使血浆中的硫离子与醋酸锌结合形成硫化锌胶体,再先后加入 0.5 mL 的 20 mmol/L 对苯二铵盐酸盐以及 0.4 mL 的 30 mmol/L 三氯化铁溶液,在室温下放置约 20 min,之后加入三氯醋酸 (100 g/L),在蛋白沉淀后再加入去离子水使之定容至 2.5 mL,离心 12000 r/min,5 min,吸取上清液,使用分光光度计在 670 nm 处来测定吸光度值。最后根据 H<sub>2</sub>S 标准曲线计算出 H<sub>2</sub>S 水平。以上试剂均购自美国 Sigma 公司。

## 1.5 统计学分析

应用 SPSS 17.0 统计软件包进行统计分析,计量资料用均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,组间比较采用方差分析或成组 *t* 检验。相关分析采用 Pearson 线性相关分析检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组患儿血清 H<sub>2</sub>S 水平的比较

观察组患儿血清 H<sub>2</sub>S 水平显著低于对照组,差异有统计学意义 (*P* < 0.01),见表 1。

表 1 两组患儿血清 H<sub>2</sub>S 水平的比较 ( $\bar{x} \pm s$ , μmol/L)

组别	例数	H <sub>2</sub> S
对照组	46	45 ± 10
观察组	42	28 ± 12
<i>t</i> 值		3.91
<i>P</i> 值		<0.01

### 2.2 不同惊厥发作次数、惊厥持续时间患儿血清 H<sub>2</sub>S 水平的比较

BICE 患儿不同惊厥发作次数 (<2 次和 ≥ 2 次) 患儿血清 H<sub>2</sub>S 水平比较差异有统计学意义 (*t* = 2.46, *P* = 0.018)。不同惊厥持续时间 (<5 min 和 ≥ 5 min) 患儿血清 H<sub>2</sub>S 比较差异无统计学意义 (*t* = 0.93, *P* = 0.36)。见表 2。

表 2 不同惊厥发作次数、惊厥持续时间患儿血清 H<sub>2</sub>S 水平的比较 ( $\bar{x} \pm s$ , μmol/L)

组别	例数	H <sub>2</sub> S
惊厥发作次数		
<2 次	22	32 ± 13
≥ 2 次	20	24 ± 10 <sup>a</sup>
惊厥发作时间		
<5 min	29	29 ± 10
≥ 5 min	13	25 ± 15

注: a 示与惊厥发作 <2 次组比较, *P* < 0.01。

### 2.3 相关性分析

BICE 组患儿惊厥发作次数与血清 H<sub>2</sub>S 水平呈负相关 (*r* = -0.485, *P* = 0.001),见图 1;惊厥持续时间与血清 H<sub>2</sub>S 水平呈负相关性 (*r* = -0.457, *P* = 0.002)。分组统计后显示,惊厥持续时间 <5 min 组患儿的发作时间与血清 H<sub>2</sub>S 水

平无明显相关性 ( $r=0.135$ ,  $P=0.486$ )，惊厥持续时间  $\geq 5$  min 组患儿的发作时间与血清  $H_2S$  水平呈负相关 ( $r=-0.736$ ,  $P=0.004$ )，见图2。

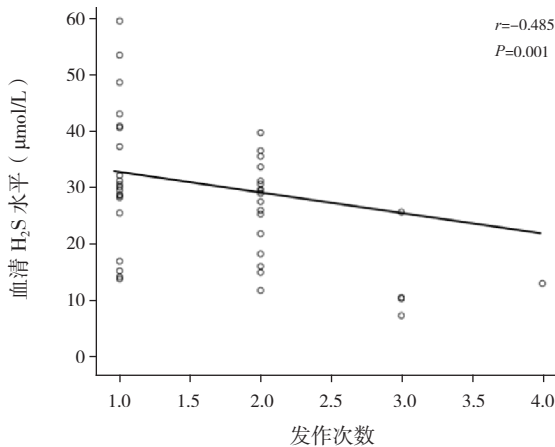


图1 惊厥发作次数与血清  $H_2S$  水平的关系

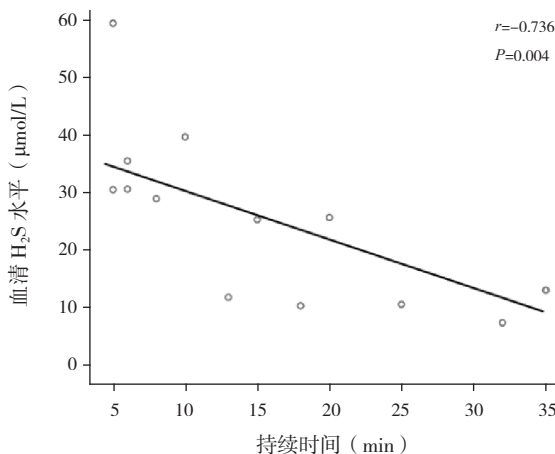


图2 惊厥持续时间  $\geq 5$  min 组患儿惊厥发作时间与血清  $H_2S$  水平的关系

### 3 讨论

既往研究多数认为 BICE 预后良好，并无后遗症出现，但随着对 BICE 研究的逐渐增多，对 BICE 的临床表现及预后有了较为深入的认知。有研究报道在 755 例轮状病毒肠炎患者中，17 例出现了热性惊厥，42 例出现了无热惊厥，并且无热惊厥发作的频率要比热性惊厥发作的频率显著增高<sup>[3]</sup>。路新国等<sup>[4]</sup>考虑 BICE 在频繁惊厥发作时对中枢神经元会造成损伤。国外有报道 BICE 向癫痫的转化率为 2.3%，热性惊厥发生率为 5.5%，复发率为 4.7%<sup>[5]</sup>。国内也有报道 40 例 BICE 患儿中 1

例进展为癫痫，另外有 8 例在发作间期检测到癫痫样放电<sup>[6]</sup>。

$H_2S$  分子小，并且脂溶性较高，无需特异性的载体就可以进出细胞膜来进行介导各种生物学效应的特点。哺乳动物体内的  $H_2S$  主要是 L-半胱氨酸的代谢，体内胱硫醚- $\beta$ -合成酶 (CBS) 同胱硫醚- $\gamma$ -裂解酶 (CSE) 能裂解半胱氨酸产生  $H_2S$ ，它们同属于磷酸吡多醛-5'-磷酸依赖性酶，经过它们的酶解催化是体内产生  $H_2S$  的主要途径<sup>[7]</sup>。大多数的 CBS 存在于中枢神经系统，在皮层、丘脑、纹状体、海马、小脑的神经元胞体以及突起都有表达。

韩颖等<sup>[8]</sup>报道  $H_2S$  能够上调 GABA<sub>B</sub> 受体。 $H_2S$  上调 GABA 受体可能对于维持大脑兴奋/抑制平衡方面起重要的作用。生理浓度的  $H_2S$  可以通过调节  $\gamma$ -氨基丁酸受体以维持大脑神经元兴奋/抑制的平衡状态<sup>[9]</sup>。Timm 染色结果显示 CBS 抑制剂 hydroxylamine 干预后的海马发芽加重，NaHS 干预后的海马苔藓纤维发芽减轻。海马苔藓纤维发芽可引起基于轴突发芽基础上的新的回返兴奋环路的形成和突触重构，从而引起突触兴奋性的增高以及惊厥阈下降<sup>[10]</sup>。以上研究表明  $H_2S$  的减少可以引起惊厥阈值的下降。有研究报道  $H_2S$  可以抑制 NOS 的酶活性，还可以降低 NO 对 CGMP 的敏感性，从而使 NO 产出减少<sup>[11]</sup>。有报道 NO 的代谢产物在轮状病毒所导致的 BICE 患儿血清以及脑脊液中升高，而在脑炎、化脓性脑膜炎、热性惊厥及正常儿童中正常<sup>[12]</sup>。同时有研究报道 NO 可增加患儿对惊厥的敏感性<sup>[13]</sup>。基于以上研究考虑体内  $H_2S$  水平下降可能会引起体内 NO 水平的升高，从而导致患儿易出现惊厥。Huang 等<sup>[2]</sup>认为婴幼儿在急性胃肠炎或病毒血症状态下，惊厥的发生与“惊厥阈值”降低有关。本研究显示，BICE 组患儿血清  $H_2S$  水平较对照组明显降低。从而可以推测，在 BICE 患儿病程中，患儿体内的 CBS 受到抑制，致使内源性  $H_2S$  生成减少，对 NOS 的酶活性抑制减少，NO 合成增多，导致 BICE 患儿的惊厥阈值降低，容易诱发惊厥发作。

有研究报道  $H_2S$  可以通过增加抗氧化剂谷胱甘肽的水平并且激活 KATP 以及氯离子通道从而保护神经细胞氧化应激，同时通过清除氧自由基来保护神经元<sup>[14-15]</sup>。有报道  $H_2S$  可直接清除氧自

由基<sup>[16]</sup>。而氧自由基生成增多是氧化应激损伤脑组织的重要的机制。H<sub>2</sub>S可以通过抑制NO/NOS体系,防止由于NO过度增多所造成的自由基损伤<sup>[9]</sup>。H<sub>2</sub>S还可以通过舒张血管从而改善脑血液循环<sup>[17]</sup>。有报道过度抑制缺血-再灌注损伤初期大鼠升高的H<sub>2</sub>S可以加重脑损伤<sup>[18]</sup>。在脑损伤的早期给予小剂量H<sub>2</sub>S可以使内源性H<sub>2</sub>S达到生理水平,可以明显减轻脑损伤<sup>[19]</sup>。以上研究表明内源性H<sub>2</sub>S具有保护神经元的作用,提示体内H<sub>2</sub>S的水平与脑损伤的程度密切相关,而早期给予外源性H<sub>2</sub>S可以减轻脑损伤。本研究发现BICE组患儿血清H<sub>2</sub>S水平显著低于对照组,惊厥发作次数与血清H<sub>2</sub>S水平呈负相关;在惊厥持续时间的分组统计中,惊厥持续时间<5 min组患儿的发作时间与血清H<sub>2</sub>S水平无明显相关性,而惊厥持续时间≥5 min组患儿的发作时间与血清H<sub>2</sub>S水平呈负相关。考虑BICE患儿惊厥持续时间大于5 min后血清H<sub>2</sub>S水平存在随惊厥持续时间的延长而降低的趋势。内源性H<sub>2</sub>S水平与BICE患儿惊厥发作的次数以及持续时间有关。推测BICE患儿惊厥发作早期体内自由基大量产生,为清除体内大量的自由基而过度消耗内源性H<sub>2</sub>S,导致体内的内源性H<sub>2</sub>S进一步减少。而体内H<sub>2</sub>S水平降低越明显,患儿惊厥持续时间越长,惊厥发作次数越频繁,患儿出现脑损伤的可能性越大。

血清H<sub>2</sub>S的检测对于判断BICE的发生以及惊厥持续时间、惊厥发作次数具有重要价值,其水平降低程度对于预测BICE患儿的预后也有一定的参考价值。检测血清H<sub>2</sub>S的操作简单方便,所需费用较低,方便在医院普遍开展,建议在临床工作中开展血清H<sub>2</sub>S水平的检测。

#### [参 考 文 献]

- [1] 吴慎,甘晓玲,姜舟,等.轻度胃肠炎伴婴幼儿良性惊厥24例[J].实用儿科临床杂志,2007,22(12):914-915.
- [2] Huang CC, Chang YC, Wang ST. Acute symptomatic seizure disorders in young children: a population study in southern Taiwan[J]. *Epilepsia*, 1998, 39(9): 960-964.
- [3] Kang B, Kim DH, Hong YJ, et al. Comparison between febrile and afebrile seizures associated with mild rotavirus gastroenteritis[J]. *Seizure*, 2013, 22(7): 560-564.
- [4] 路新国,廖建湘,周桂芬,等.轻度胃肠炎伴发良性婴幼儿惊厥30例脑脊液中神经元特异性烯醇化酶检测分析[J].中国实用儿科杂志,2010,25(12):948-949.
- [5] Verrotti A, Nanni G, Aqostinelli S, et al. Benign convulsions associated with mild gastroenteritis: a multicenter clinical study[J]. *Epilepsy Res*, 2011, 93(2-3): 107-114.
- [6] 黄铁栓,路新国,李冰,等.轻度胃肠炎并婴幼儿良性惊厥40例临床分析[J].中国当代儿科杂志,2010,12(7):533-535.
- [7] Stipanuk MH, Beck PW. Characterization of the enzymic capacity for cysteine desulphhydration in liver and kidney of the rat[J]. *Biochem J*, 1982, 206(2): 257-277.
- [8] 韩颖,秦炯,常杏芝,等.发育期大鼠高热惊厥前后海马γ2氨基丁酸β受体亚基表达的变化[J].北京大学学报:医学版,2003,35(3):288-291.
- [9] Han Y, Qin J, Chang X, et al. Modulating effect of hydrogen sulfide on gamma-aminobutyric acid B receptor in recurrent febrile seizures in rats[J]. *Neurosci Res*, 2005, 53(2): 216-219.
- [10] Hassan H, Pohle W, Rüttrich H, et al. Repeated long-term potentiation induces mossy fiber sprouting and changes the sensibility of hippocampal granule cells to subconvulsive doses of pentylentetrazol[J]. *Eur J Neurosci*, 2000, 12(4): 1509-1515.
- [11] 韩颖,秦炯,常杏芝,等.反复热性惊厥过程中气体信号分子硫化氢对一氧化氮/一氧化氮合酶体系的影响[J].中国病理生理杂志,2007,23(4):785-788.
- [12] Kawashima H, Inage Y, Ogihara M, et al. Serum and cerebrospinal fluid nitrite/nitrate levels in patients with rotavirus gastroenteritis induced convulsion[J]. *Life Sci*, 2004, 74(11): 1397-1405.
- [13] Rejdak K, Eikelenboom MJ, Petzold A, et al. CSF nitric oxide metabolites are associated with activity and progression of multiple sclerosis[J]. *Neurology*, 2004, 63(8): 1439-1445.
- [14] Kimura Y, Kimura H. Hydrogen sulfide protects neurons from oxidative stress[J]. *FASEB J*, 2004, 18: 1165-1167.
- [15] Kimura Y, Dargusch R, Schubert D, et al. Hydrogen sulfide protects HT22 neuronal cells from oxidative stress[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2006, 8(3-4): 661-670.
- [16] Meng JL, Mei WY, Dong YF, et al. Heat shock protein 90 mediates cytoprotection by H<sub>2</sub>S against chemical hypoxia-induced injury in PC12 cells[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2011, 38(1): 42-49.
- [17] Gong QH, Shi XR, Hong ZY, et al. A new hope for neurodegeneration: possible role of hydrogen sulfide[J]. *J Alzheimers Dis*, 2011, 24(2): 173-182.
- [18] 任彩丽,李东亮,赵红岗,等.全脑缺血-再灌注大鼠脑组织内源性硫化氢的动态变化[J].中国脑血管病杂志,2008,5(4):177-181.
- [19] Zhang M, Shah H, Wang T, et al. Dynamic change of hydrogen sulfide after traumatic brain injury and its effect in mice[J]. *Neurochem Res*, 2013, 38(4): 714-725.

(本文编辑:邓芳明)