

癫痫患者神经元特异性烯醇化酶和胰岛素样生长因子 1 的变化及临床意义

高艳波¹, 张晖², 王宝军², 宁涛¹, 朱燕¹, 杨红燕¹

1. 包头市中心医院内分泌科, 内蒙古包头市 014000

2. 包头市中心医院神经内科, 内蒙古包头市 014000

摘要:目的 观察癫痫发作 3 d 内患者血清神经元特异性烯醇化酶(NSE)和胰岛素样生长因子 1(IGF-1)浓度的变化及其临床意义。方法 选取 63 例特发性癫痫患者作为病例组,以 37 例年龄及性别相匹配的体检健康者作对照组。采用 ECLIA、ELISA 测定血清 NSE 和 IGF-1 的浓度。结果 病例组血清 NSE 和 IGF-1 浓度与对照组比较明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。血清 NSE 和 IGF-1 ROC 曲线下面积分别为 0.767 和 0.663。癫痫患者血清 NSE 和 IGF-1 浓度之间存在相关性($r = 0.379$, $P < 0.01$)。结论 血清 NSE、IGF-1 浓度在痫性发作后 3 d 内升高,提示其可作为判断痫性发作后早期脑损伤及机体早期启动神经保护的生化指标,具一定临床应用价值。癫痫患者血清 NSE 和 IGF-1 浓度之间存在相关性,提示它们可能共同参与了癫痫的发病过程。

关键词:癫痫;脑损伤;神经保护;神经元特异性烯醇化酶;胰岛素样生长因子 1

Serum neuron specific enolase and insulin-like growth factor-1 levels in patients with epilepsy

GAO Yan-Bo, ZHANG Hui, WANG Bao-Jun, NING Tao, ZHU Yan, YANG Hong-Yan. Baotou Central Hospital, Baotou, Inner Mongolia 014000, China

Abstract: Objective To study serum levels of neuron specific enolase (NSE) and insulin-like growth factor-1 (IGF-1) in patients with epilepsy and their significance. **Methods** Sixty-three patients with idiopathic epilepsy were enrolled in this study. Serum NSE and IGF-1 levels were determined using ECLIA and ELISA within 3 days after seizure attacks. Thirty-seven healthy volunteers served as control group matched with age and sex to the epilepsy group. **Results** Serum NSE and IGF-1 levels increased significantly in the epilepsy group compared with the control group ($P < 0.05$). The area under the ROC curve of serum NSE and IGF-1 was 0.767 and 0.663 respectively. Serum NSE level was positively correlated with serum IGF-1 level ($r = 0.379$, $P < 0.01$) in the epilepsy group. **Conclusions** Serum NSE and IGF-1 levels increase within 3 days after seizure attacks, suggesting that they might be used as early biochemical indicators of seizure-induced brain damage and neuroprotection starting. A positive correlation between serum NSE and IGF-1 levels indicates that they might participate in the process of seizures together.

Key words: epilepsy; brain damage; neuroprotection; neuro specific enolase; insulin-like growth factor-1

癫痫是神经系统疾病中仅次于脑卒中的第二大常见疾病。长期反复癫痫发作若得不到良好的控制,智能减退、精神障碍及痴呆是其常见的转归。癫痫发作致脑组织损伤,是目前的热点问题。癫痫发作引起缺血缺氧性神经元损伤已被许多动物实验和临床观察证实^[1,2]。因此,如果能够在癫痫发作后早期及时准确的发现脑损伤,并给予相应

的干预措施,可大大减少癫痫患者的后遗症,提高生命质量。目前发现一些生化标志物可以用来判断癫痫发作后早期是否存在脑损伤及机体是否启动神经保护^[3],并发现这些生化标志物在早期优于神经电生理及神经影像学检查,其中 NSE、IGF-1 在癫痫中的作用已经受到人们的重视。

本研究通过测定血清 NSE、IGF-1 浓度来探讨

收稿日期:2012-02-21;修回日期:2012-05-24

作者简介:高艳波(1986-),女,住院医师,医学硕士,主要从事癫痫与脑损伤的临床研究。

通讯作者:张晖(1965-),女,教授,硕士生导师,主任医师,医学硕士,主要从事癫痫与脑损伤的临床研究。

其能否作为临床上反映上述变化的指标,并初步研究两个指标反映上述变化的灵敏度、特异性及二者之间的相关性。

1 材料与方法

1.1 实验对象(均签署知情同意书)

1.1.1 病例组 选取我院特发性癫痫患者63例。入选标准:①所有患者均于痫性发作后3 d内采集空腹静脉血;②所有患者均采集临床反复发作病史;③所有患者均于采血同时行24小时动态 EEG 监测,大多数患者可见癫痫发作期或发作间期尖波、尖慢波、棘波、棘慢波等痫样放电。排除标准:①排除合并癫痫的神经系统进展性疾病;②排除中枢神经系统感染、颅脑外伤、脑卒中、可逆性缺血性神经功能缺失、脑肿瘤、多发性硬化、格林-巴利综合症等可引起血清中 NSE、IGF-1 升高的疾病;③排除全身进展性疾病、各脏器肿瘤、恶病质等全身衰竭性疾病;④排除血液系统疾病、内分泌系统疾病、精神系统疾病、心源性脑缺氧缺血病患者;⑤排除已知的使用免疫抑制剂,使用影响生长激素分泌药物的患者(4岁患儿需排除低体重儿、巨大儿、早产儿、过期产儿、高龄产儿);⑥排除严重的心、肝、肾脏疾病及严重感染性疾病;⑦排除侏儒症、营养不良症及变性病。⑧排除不合作者及精神异常者。

详细登记患者的性别(男28例,女35例)、年龄(在4~46岁之间,平均为22.51岁),同时行24小时动态脑电图监测。根据患者痫性发作临床表现结合24小时动态脑电图进行分类,部分性发作为神经元过度放电始于一侧大脑的某一部位,临床表现仅限于一侧身体的某部,全面性发作为发作最初的临床及脑电图改变均提示双侧半球受累者。其中部分性发作24例,全面性发作39例。

1.1.2 对照组 选取我院体检健康的成人及儿童(4岁患儿需排除低体重儿、巨大儿、早产儿、过期产儿、高龄产儿)37例(其中男16例、女21例,年龄在4~46岁)作为对照组,平均年龄为22.83岁。病例组和对照组的年龄和性别差异无统计学意义。

1.2 实验材料

人 NSE 电化学发光法(electrochemiluminescence assay, ECLIA)试剂盒,由罗氏诊断产品(上海)有限公司提供,美国 Roche 公司生产。人 IGF-1 酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒,由北京冬歌生物科技有限公司提

供,美国 GBD 公司生产。

1.3 标本采集及保存

癫痫患者于痫性发作后3 d内清晨采集空腹静脉血4 ml,同时对照组于清晨空腹采集静脉血2~3 ml,送检标本均半小时内 3000 转/分离心5 min,取血清,于-70℃冰箱中保存,批量检测。

1.4 统计学分析

所有实验数据均采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,应用 SPSS 13.0 统计学软件进行统计学分析,并进行正态分布检验和方差齐性检验,两样本均数比较采用 *t* 检验,构成比的比较采用 χ^2 检验,NSE、IGF-1 二者间进行 Spearman 秩相关分析,并绘制受试者工作特征(receiver operator characteristic, ROC)曲线评价二者的灵敏度及特异性。以 $\alpha = 0.05$ 作为检验水准,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 癫痫患者痫性发作3 d内血清NSE、IGF-1浓度的变化

63例癫痫组中全面性发作39例,部分性发作24例。

血清 NSE 的比较显示癫痫组与对照组差异有统计学意义($F = 26.303, P = 0.000$,方差不齐, $P < 0.05$);全面性发作组与对照组比较差异有统计学意义($F = 13.797, P = 0.000$,方差不齐, $P < 0.05$);部分性发作组与对照组比较差异有统计学意义($F = 57.710, P = 0.000$,方差不齐, $P < 0.05$);全面性发作与部分性发作比较差异无统计学意义($F = 2.121, P = 0.150$,方差齐, $P > 0.05$)。

血清 IGF-1 的比较显示癫痫组与对照组比较差异有统计学意义($F = 4.279, P = 0.041$,方差不齐, $P < 0.05$);全面性发作组与对照组比较差异有统计学意义($F = 5.105, P = 0.027$,方差不齐, $P < 0.05$);部分性发作组与对照组比较差异无统计学意义($F = 2.514, P = 0.118$,方差齐, $P > 0.05$);全面性发作组与部分性发作比较差异有统计学意义($F = 1.765, P = 0.189$,方差齐, $P < 0.05$),见表1。

表1 癫痫组和对照组NSE、IGF-1水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	NSE 浓度(ng/ml)	IGF-1 浓度(ng/ml)
癫痫组	63	13.45 ± 5.35 *	280.76 ± 160.57 *
部分发作组	24	12.76 ± 5.63 *	218.69 ± 85.76
全面发作组	39	13.87 ± 5.19 **	318.96 ± 183.53 **
对照组	37	8.86 ± 1.61	206.52 ± 75.36

注: * 为与对照组比较;#为与全面性发作组比较,差异均有统计学意义, $P < 0.05$ 。

2.2 癫痫组发作后不同采血时间 NSE、IGF-1 水平变化

将 63 例癫痫患者按发作后采血时间不同分成两组,发作后 1 天内采血组 36 例,发作后 2~3 天内采血组 27 例。由于对照组入选标准为体检健康的成人及儿童,不存在发作后何时采血问题,因此不将其列入比较范畴。

不同采血时间 NSE 的比较差异无统计学意义 ($F=0.045, P=0.833$, 方差齐, $P>0.05$); 不同采血时间 IGF-1 的比较差异无统计学意义 ($F=1.751, P=0.191$, 方差齐, $P>0.05$), 见表 2。

表 2 癫痫组发作后不同采血时间 NSE、IGF-1 水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

采血时间	例数	NSE (ng/ml)	IGF-1 (ng/ml)
≤1 d	36	13.73 ± 5.24	265.86 ± 172.73
2-3 d	27	13.07 ± 5.56	300.63 ± 143.54

2.3 癫痫患者血清 NSE、IGF-1 的相关性研究

用 Spearman 秩相关系数分析血清 NSE、IGF-1 浓度的相关性 $r=0.379, P<0.05$, 有统计学意义。

2.4 癫痫患者病性发作 3 天内血清 NSE、IGF-1 的 ROC 曲线

癫痫患者病性发作 3 d 内血清 NSE 的 ROC 曲线下面积为 (AUC) 0.767, 血清 NSE 可用于诊断病性发作后早期脑损伤 ($P=0.000$), 曲线下面积 95% 可信区间 (0.673, 0.860), 不包括 0.5。癫痫患者病性发作 3 d 内血清 IGF-1 的 ROC 曲线下面积为 (AUC) 0.663, 血清 IGF-1 可用于诊断病性发作后机体早期启动神经保护 ($P=0.007$), 曲线下面积 95% 可信区间 (0.556, 0.770), 不包括 0.5。

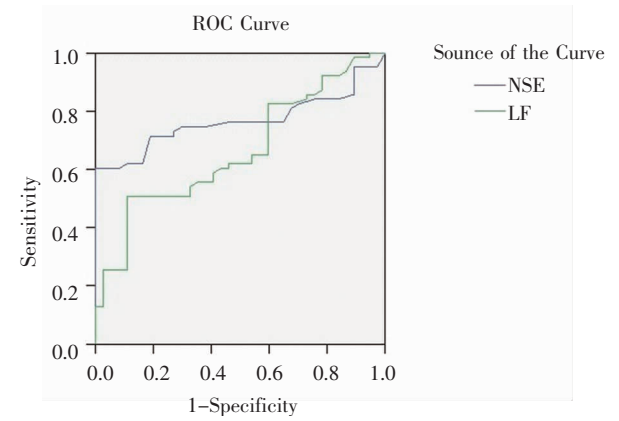


图 1 癫痫患者病性发作 3 d 内血清 NSE 和 IGF-1 的 ROC 曲线

表 3 NSE、IGF-1 ROC 曲线相关数据

指标	ROC 曲线下面积	P 值	95% 可信区间
NSE	0.767	0.000	0.673 ~ 0.860
IGF-1	0.663	0.007	0.556 ~ 0.770

3 讨论

癫痫发作可致不同程度的脑损伤已被许多动物实验及临床研究证实。NSE 是 1965 年 Moors 发现的特异地存在于神经元和神经内分泌细胞胞浆中的具有烯醇化酶活性的葡萄糖代谢途径的关键酶^[4,5]。血清 NSE 升高可作为反映神经元损伤的特异性生化指标^[6]。而且通过对 CNS 疾病脑损害后标志酶活性的检测显示 NSE 是判断神经系统损害的生化指标^[7]。1957 年, Salmon 和 Daughaday 发现 IGF-1^[8]。它是一种受生长激素调节的、具有胰岛素样作用的肽类激素, 可起到促进生长、抑制细胞凋亡、降低血糖的作用。IGF-1 在正常脑组织中有广泛而低水平表达。IGF-1 与神经元和胶质细胞中 IGF-1 受体结合后, 发挥神经保护作用^[9]。

本实验对病性发作后 3 d 内血清 NSE 浓度进行了比较分析, 结果发现在年龄和性别相匹配的情况下, 癫痫组高于对照组, 并且癫痫组的两种发作类型分别也明显高于对照组。癫痫组两种发作类型相比较时, 发现全面性发作较部分性发作略高但差别无统计学意义, 说明病性发作后可引起血清 NSE 的升高, 这与文献报道相一致^[10], 从而反映了癫痫发作可引起神经元的损伤。但癫痫组两种发作类型比较无统计学差异, 提示 NSE 作为反映神经元损伤的生化指标其灵敏度较高。无论何种类型癫痫发作, 均可引起血清 NSE 高于正常水平。理论上不能完全说明全面性发作与部分性发作血清 NSE 水平无差异, 且临床实验由于受试验方法、操作技术、个人因素等影响, 具体需大样本临床研究证实。

最初, IGF-1 被认为是一种有丝分裂原, 影响着胚胎的发育和分化。随着研究的不断深入, 发现 IGF-1 具有促进神经元和神经胶质细胞生长、分化、营养和保护作用。在本实验关于 IGF-1 的比较中我们发现, 癫痫组血清 IGF-1 浓度高于对照组, 全面性发作组与对照组比较差别有统计学意义, 部分性发作组与对照组比较差异无统计学意义, 且癫痫组两种发作类型相比较时, 发现全面性发作组较部分性发作组血清 IGF-1 水平高。这反映癫痫发作后可以引起血清 IGF-1 水平的升高, 但并不是所

有的痫性发作都可以导致其升高。从而提示不是所有类型的痫性发作都可以在 3 d 内使 IGF-1 升高的。而 Beilharz 等^[11]的动物实验也表明,脑损伤后,IGF-1 表达明显增加并与损伤程度呈正相关,损伤较轻时,IGF-1 表达仅限于大脑皮层,损伤严重时,IGF-1 弥漫分布于整个受损半球。这亦支持血清 IGF-1 水平与脑损伤程度相关。

综上所述,癫痫患者血清中 NSE 的浓度能作为反映痫性发作后早期脑损伤的指标,而早期脑损伤后并不是所有癫痫类型均立即启动神经保护。

此外,动物研究表明,缺氧缺血性脑损伤后的神经元损害发生在两个时相,第一时相发生于损伤过程中,第二时相发生在损伤后 6 ~ 12 h,持续 48 ~ 72 h^[12],也称迟发性神经元死亡。第二阶段较第一阶段更重要,是脑损害的主要阶段,可预示神经系统后遗症的严重程度。因此,本实验于痫性发作后 3 d 内采血,观察癫痫发作后早期脑损伤及机体启动神经保护情况。血清 NSE、IGF-1 水平在痫性发作后 1 d 及 2 ~ 3 d 内分别比较差异均无统计学意义,痫性发作后 3 d 内可引起 NSE、IGF-1 的升高,提示 3 d 内不同时段采血均可了解神经系统损害的严重程度。这仍需大样本多个时段临床研究证实。

NSE 和 IGF-1 二者之间存在一定的线性关联,且为正相关。可能的机制是:癫痫发作后,释放大量的兴奋性氨基酸(excitatory amino acid, EAAs),EAAs 通过其受体 NMDA 使过量 Ca^{2+} 内流,造成细胞内 Ca^{2+} 超载,从而激活一系列酶,如蛋白激酶 C、磷脂酶、蛋白磷酸酶、一氧化氮合成酶、caspase-3 等,并介导自由基产生,形成细胞毒性介质 - 氧自由基,导致神经细胞凋亡和坏死^[13]。NSE 从受损的神经细胞释放入血液,表达增加。caspase-3 的激活是神经元凋亡和坏死的共同通路,选择性抑制 caspase-3 可能对癫痫后的脑损伤具有保护作用^[14]。而 IGF-1 可通过 PL3K/Akt 激酶通路调节其下游底酶 FKHRL1 抑制 caspase-3 活性从而抑制神经元和胶质细胞的凋亡,发挥神经保护作用^[15,16]。但二者之间并非完全正相关,可能与癫痫的发作类型、放电范围、放电极度、用药情况等临床特征有关。间接反映了癫痫发作后早期有脑损伤,但并不是脑损伤后即刻启动了神经保护机制,此时应用神经保护药物的重要性就显得尤为重要。但也应想到,全面性发作存在脑损伤的同时机体已

经启动了神经保护,而此时的脑损伤程度亦相对较重,此时机体启动的应激性神经保护机制能否保护脑组织不受损伤仍需进一步研究。

同时根据 ROC 曲线,曲线下面积越大,诊断价值越高。由两者 ROC 曲线下面积可知,用 NSE 诊断痫性发作早期存在脑损伤有统计学意义。而用 IGF-1 诊断癫痫脑损伤后早期机体启动神经保护有统计学意义。

4 结论

癫痫患者血清 NSE 水平升高能作为反映痫性发作后脑损伤的早期指标,可能对于癫痫导致脑损伤具有预警作用;并通过对癫痫患者血清 IGF-1 浓度的检测证实癫痫脑损伤后早期机体启动了相应的神经保护机制。癫痫患者血清 NSE、IGF-1 浓度存在相关性,提示 NSE、IGF-1 共同参与了癫痫的发病机制。而二者的 ROC 曲线说明用血清 NSE、IGF-1 浓度反映痫性发作后早期脑损伤及机体启动神经保护具有一定临床应用价值。

参 考 文 献

- [1] Min BK, Bystritsky A, Jung KI, et al. Focused ultrasound-mediated suppression of chemically-induced acute epileptic EEG activity. *BMC Neurosci*, 2011, 12: 23.
- [2] Sadarangani M, Seaton C, Scott JA, et al. Incidence and outcome of convulsive status epilepticus in Kenyan children: a cohort study. *Lancet Neurol*, 2008, 7(2): 145-150.
- [3] Guzel A, Er U, Tatli M, et al. Serum neuron-specific enolase as a predictor of short-term outcome and its correlation with Glasgow Coma Scale in traumatic brain injury. *Neurosurg Rev*, 2008, 31(4): 439-444.
- [4] Brea D, Sobrino T, Blanco M, et al. Temporal profile and clinical significance of serum neuron-specific enolase and S100 in ischemic and hemorrhagic stroke. *Clin Chem Lab Med*, 2009, 47(12): 1513-1518.
- [5] Hein Née Maier K, Kohler A, Diem R, et al. Biological markers for axonal degeneration in CSF and blood of patients with the first event indicative for multiple sclerosis. *Neurosci Lett*, 2008, 436(1): 72-76.
- [6] Meric E, Gunduz A, Turedi S, et al. The prognostic value of neuron-specific enolase in head trauma patients. *J Emerg Med*, 2010, 38(3): 297-301.
- [7] Royds JA, Tim Perley WR, Taylor GB. Level of enolase and other enzymes in the cerebrospinal fluid as indices of Pathological change. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 1981, 44: 1129.
- [8] Lee SW, Lee SY, Lee SR, et al. Plasma levels of insulin-

- like growth factor-1 and insulin-like growth factor binding protein-3 in women with cervical neoplasia. *J Gynecol Oncol*, 2010,21(3):174-180.
- [9] Guan J, Beilharz EJ, Skinner SM, et al. Intracerebral Transportation and Cellular Localisation of insulin-like Growth Factor-1 Following Central to Rat with Localisation of Insulin-like Growth Hypoxic-Ischemic Brain Injury. *Brain Res*, 2000, 853:163-173.
- [10] 顾琴,汤继宏,王浙东,等. 实验性癫痫发作后早期血清NSE、S-100B、MBP的变化. *苏州大学学报*, 2008, 28(2):197-199.
- [11] Beilharz EJ, Russo VC, Butler G, et al. Co-ordinated and cellular specific induction of the components of the IGF/IGFBP axis in the rat brain following hypoxic-ischemic injury. *Brain Res*, 1998, 59(2):119-134.
- [12] Lin S, Fan LW, Rhodes PG, et al. Intranasal administration of IGF-1 attenuates hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats. *Exp Neurol*, 2009, 217(2):361-370.
- [13] Delorenzo RJ, Sun DA, Deshpande LS. Cellular mechanism underlying acquired epilepsy: the calcium hypothesis of the induction and maintenances of epilepsy. *Pharmacol Ther*, 2005, 105(3):229-266.
- [14] Henshall DC, Murphy BM. Modulators of neuronal cell death in epilepsy. *Curr Opin Pharmacol*, 2008, 8(1):75-81.
- [15] Zheng WH, Kar S, Qurion R. Insulin-like growth factor-1 induced phosphorylation of transcription factor FKHRL1 is mediated by phosphatidylinositol 3-kinase/Akt kinase and role of this pathway in insulin-like growth factor-1 induced survival of cultured hippocampal neurons. *Mol Pharmacol*, 2002, 62(2):223-225.
- [16] Joseph D, Ercole A, Ye P. Expanding the mind: insulin-like growth factor 1 and brain development. *Endocrinology*, 2008, 149(12):5958-5962.