

不同癫痫类型患儿发作后血清褪黑素、催乳素水平的变化及意义

蒋春明 杜建民 陈丽琼 冯 梅 刘占利 黄先玫

摘 要 **目的** 探讨不同发作类型的癫痫患儿发作后血清褪黑素(MEL)和催乳素(PRL)水平的变化及临床意义。**方法** 本研究共纳入 120 例儿童,其中癫痫组(EP 组)71 例,分全身强直阵挛发作组(GTCS 组)31 例、复杂部分发作组(CPS 组)18 例和简单部分发作组(SPS 组)22 例;非痫性发作组(NEP 组)23 例;对照组为上呼吸道感染发热无惊厥患儿 26 例。采用酶联免疫吸附法(ELISA)和双抗体夹心电化学发光法分别测定各组患儿血清 MEL、PRL 水平。**结果** EP 患儿血清 MEL 中位数水平为 12.16ng/L,均显著低于 NEP 组(24.28ng/L)和对照组(26.10ng/L) ($P < 0.01$);而 EP 患儿血清 PRL 中位数水平为 24.80 μ g/L,均显著高于 NEP 组(10.07 μ g/L)和对照组(9.41 μ g/L) ($P < 0.01$);NEP 组和对照组血清 MEL、PRL 水平均无显著性差异 ($P > 0.05$)。EP 组患儿痫性发作后 2h 血清 MEL、PRL 水平的关系存在显著负相关($r = 0.624, P < 0.001$)。血 PRL 水平对痫性发作诊断敏感性和特异性分别为 56.34% 和 93.02%。**结论** 癫痫患儿发作后 2h 血清 MEL 水平降低,而血清 PRL 水平上升,尤其以 GTCS 和 CPS 为著,提示两者可能与癫痫发病机制有关。早期联合检测可能是临床诊断痫性发作困难病例的一种辅助检查手段。

关键词 褪黑素 催乳素 癫痫 儿童

Change and Significance of Serum Melatonin and Prolactin Levels after the Onset of Different Types of Epileptic Seizure in Children. Jiang Chunming, Du Jianming, Chen Liqiong, Feng Mei, Liu Zhanli, Huang Xianmei. Department of Paediatrics, Hangzhou First People's Hospital, Zhejiang 310003, China

Abstract **Objective** To observe the changes of serum melatonin(MEL) and prolactin(PRL) levels after the onset of epilepsy (EP) in children, and to study the relationship between them and epilepsy. **Methods** The study included 120 children met standard, seventy-one children with EP(GTCS group had thirty-one children with generalized tonic-clonic seizures type, CPS group had eighteen children with complex partial seizures type and SPS group had twenty-two children with simple partial seizures type), twenty-three children with non-epilepsy onset(NEP group) and twenty-six upper respiratory infections children with fever and no seizure (Control group). Serum MEL and PRL levels were measured within two hours after onset of their illness. Serum MEL and PRL were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and Electrochemiluminescence double antibody sandwich method respectively. **Results** The median serum MEL levels of EP group (12.16ng/L) was significantly lower than the NEP group (24.28ng/L) and control group (26.10ng/L) ($P < 0.01$) and the median serum PRL levels (24.80 μ g/L) compared with the NEP group (10.07 μ g/L) and control group (9.41 μ g/L) increased significantly ($P < 0.01$). But the median serum MEL, PRL levels between NEP and control groups were not significantly different ($P > 0.05$). There was a significant negative correlation ($r = 0.624, P < 0.001$) between serum MEL, PRL level in EP group. The diagnostic sensitivity and specificity of the serum PRL level to epileptic seizure were 56.34% and 93.02% respectively. **Conclusion** The serum MEL increased in 2h after the onset of epilepsy in children, but the serum PRL level decreased, particularly in the GTCS and CPS as forward, which shows they may be related to the pathogenesis of epilepsy. Early combined detection of them may be a valuable method of auxiliary laboratory tests to difficult clinical diagnosis cases of epileptic seizures.

Key words Melatonin; Prolactin; Epilepsy; Child

近年来发现褪黑素(melatonin, MEL)具有抗感染、抗氧化、抗惊厥和神经保护作用而成为研究热点之一,有研究报道其与癫痫(epilepsy, EP)有关,但主

要集中在动物实验中^[1-4]。动物研究证实 MEL 与下丘脑激素催乳素(prolactin, PRL)的合成分泌存在精密调节^[5]。早期检测血清 PRL 水平是鉴别痫性发作和其他非痫性发作性疾病的一个重要方法。EP 是儿童最常见的发作性疾病之一,但目前仍不清楚这两者在 EP 患儿中的变化及关系。本研究拟通过检测患

儿血清 MEL 和 PRL 水平,与对照组和非痫性发作组患儿进行比较,从而探讨 MEL 和 PRL 在儿童 EP 中的可能关系及作用,并为 MEL 用于 EP 治疗寻找理论依据。

对象与方法

1. 研究对象:所有惊厥患儿来自 2008 年 12 月~2011 年 3 月笔者医院儿科收治病例,均要求 7:00~18:00 时间段发作,共 120 例,排除伴有代谢性疾病、运动发育迟滞、脑外伤、脑血管畸形、颅内感染、抗 EP 药物及精神活性药物、免疫性疾病或应用免疫抑制剂、激素者,分为以下 4 个研究组:①癫痫组(epilepsy, EP)(EP 组):共 71 例,根据详细病史、临床特征、视频和(或)动态脑电图、CT 和(或)MRI 等辅助检查而首次确诊为原发性癫痫,根据发作类型分为 3 亚组:全身性强直阵挛发作(generalized tonic-clonic seizures, GTCS)(GTCS 组)31 例、复杂部分性发作(complex partial seizures, CPS)(CPS 组)18 例、简单部分性发作(simple partial seizures, SPS)(SPS 组)22 例;②非痫性发作对照组(non-epileptic events)(NEP 组):共 23 例,为同期笔者医院住院收治的根据详细病史、临床特征、视频和(或)动态脑电图、CT 和(或)MRI 等检查而确诊为非痫性发作患儿,包括屏气发作、癔症、睡眠肌阵挛、晕厥、偏头痛;③对照组共 26 例,为同期笔者医院住院收治伴发热的急性上呼吸道感染患儿,排除惊厥性疾病及家族史。

2. 研究方法:(1)标本收集:所有血样本均在惊厥发作后 2h 内抽血,发热对照组在体温升高 $> 38.5^{\circ}\text{C}$ 时采血,要求在 7:00~18:00 时间段采血。所有标本均肘静脉血 3.0ml,血标本均装入经 EDTA 抗凝试管,立即 4°C 3000r/min,离心 10min,分离血清,分装在 Eppendorf 管中, -70°C 冻存待测,检测时缓慢均匀解冻。(2)标本测定:①褪黑素含量的测定:采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定患儿血清褪黑素含量。褪黑素试剂盒购自美国 ADL 公司,为 96 孔兔抗人型。仪器为瑞士 HAMILTON 公司生产的全自动酶联免疫连体机(型号: FAME-STAR combi 8H224/20)。检测操作均严格按照试剂盒说明进行;②PRL 水平测定:采用双抗体夹心电化学发光法检测 PRL,试剂盒购置于德国罗氏公司,仪器为 Roch 公司生产的 Elecsys-1010 全自动免疫分析仪。以 PRL 其对应的吸光度做标准曲线,依照标准曲线计算出每个样品的 PRL 浓度($\mu\text{g/L}$),正常临床参考值为 $3.84 \sim 23.00 \mu\text{g/L}$ 。检测操作均严格按照试剂盒说明进行。

3. 统计学方法:所有数据均由 SPSS 12.0 for windows 软件进行统计处理,常规进行正态分布、方差齐性检验,正态计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)进行统计描述,偏态分布资料以中位数和四分位间距进行统计描述。偏态分布资料采用 Kruskal-Wallis H 检验法,两两比较采用 Mann-Whitney U 检验;率的比较采用 Pearson chi-square 检验。两变量相关分析采用 Spearman's 相关分析。检验水准 $P \leq 0.05$ 为差异有显著性意义。

结 果

1. 一般资料:EP 组共 71 例,其中男性 37 例,女性 34 例,年龄为 5 个月~10 岁;入院当天抽搐次数为 1~14 次,平均 4 ± 2 次,惊厥持续时间为 0.5~75.0min,平均 17.8 ± 13.9 min。其中 GTCS 组 31 例,男性 18 例,女性 13 例,年龄 5 个月~10.6 岁,中位数 3.7(1.9~4.7)岁;抽搐次数为 1~8 次,中位数 3(2~5)次;惊厥持续时间为 0.5~50.0min,中位数 15.0(8~25)min。CPS 组 18 例,男性 9 例,女性 9 例,年龄 5 个月~7.7 岁,中位数 3.7(1.9~4.7);抽搐次数为 1~9 次,中位数 5(3~6)次,惊厥持续时间为 2~75min,中位数 16.5(9~25)min。SPS 组 22 例,男性 10 例,女性 12 例,年龄 9 个月~10 岁,中位数 4(2.1~5.7);抽搐次数为 1~14 次,中位数 4(3~6)次,惊厥持续时间为 0.5~45.0min,中位数 13.0(8.0~22.0)min。EP 组中有 43.66%(31 例)为 GTCS,25.35%(18 例)为 CPS,30.99%(22 例)为 SPS。NEP 组 23 例,男性 12 例,女性 11 例,年龄为 6 个月~12 岁,中位数 4.9(2.7~6.8)岁,包括 34.78%(8 例)癔症性发作,21.74%(5 例)屏气发作,17.39%(4 例)睡眠障碍(包括梦魇、睡行征、睡眠肌阵挛),17.39%(4 例)偏头痛,8.70%(2 例)晕厥。对照组 26 例,男性 15 例,女性 11 例,年龄 5 个月~8 岁,平均 3.68 ± 2.7 岁。各研究组在发作次数、年龄、性别分布均无显著性差异($P > 0.05$)。

2. 各组血清 MEL 水平的比较:对照组与 NEP 组血清 MEL 水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。EP 组患儿痫性发作后血清 MEL 水平较对照组和 NEP 组显著下降($P < 0.001$)(表 1、表 2)。两两比较发现 EP 组 3 亚组血清 MEL 水平[GTCS 组 9.99(8.26~12.01)ng/L、CPS 组 12.52(11.09~14.14)ng/L 和 SPS 组 15.22(12.16~17.50)ng/L]均显著低于对照组和 NEP 组[对照组 26.10(19.30~30.61)ng/L 和 NEP 组 24.28(20.70~28.67)ng/L]($P < 0.05$)。GTCS 组平均血清 MEL 水平较 CPS 组低,后者亦较 SPS 组下降,差异均有统计学意义($P < 0.05$)(表 2)。

表 1 各研究组患儿血清 MEL 和 PRL 水平的比较

组别	n	血清 MEL(ng/L)	血清 PRL($\mu\text{g/L}$)
EP 组	71	12.16(9.99~14.93)	24.80(15.49~39.37)
NEP 组	23	24.28(20.70~28.67)	10.07(6.73~13.37)
对照组	26	26.10(19.30~30.61)	9.41(7.57~12.64)
Chi-Square		68.002	48.034
P		0.000	0.000

表 2 各研究组患儿血清 MEL 和 PRL 水平的比较

组别	血清 MEL			血清 PRL		
	Mann - Whitney U	Z	P	Mann - Whitney U	Z	P
GTCS 组 - CPS 组	143.000	-2.821	0.005	186.000	-1.929	0.405
GTCS 组 - SPS 组	94.000	-4.459	0.000	101.000	-4.332	0.000
GTCS 组 - NEP 组	29.000	-5.729	0.000	49.000	-5.379	0.000
GTCS 组 - 对照组	15.000	-6.216	0.000	61.000	-5.479	0.000
CPS 组 - SPS 组	118.500	-2.161	0.030	95.000	-2.800	0.004
CPS 组 - NEP 组	19.000	-4.939	0.000	24.000	-4.807	0.000
CPS 组 - 对照组	22.000	-5.061	0.000	29.000	-4.893	0.000
SPS 组 - NEP 组	45.000	-4.723	0.000	135.000	-2.679	0.007
SPS 组 - 对照组	65.000	-4.573	0.000	143.500	-2.949	0.003
NEP 组 - 对照组	298.500	-0.10	0.992	290.000	-0.180	0.857

3. 各组血清催乳素水平的比较:对照组与 NEP 组血清 PRL 水平差异无统计学意义($P>0.05$)(表 2)。EP 组患儿痫性发作后血清 PRL 水平较对照组和 NEP 组显著升高($P<0.05$)(表 1、表 2)。两两比较发现 EP 组 3 亚组血清 PRL 水平[GTCS 组 37.50(25.65~46.41)μg/L、CPS 组 23.76(17.62~36.96)μg/L 和 SPS 组 15.62(10.01~21.92)μg/L]均显著高于对照组和 NEP 组[对照组 9.41(7.57~12.64)μg/L 和 NEP 组 10.07(6.73~12.37)μg/L]($P<0.05$)。GTCS 组平均血清 PRL 水平较 CPS 组有升高,但差异无统计学意义($P>0.05$);而后者较 SPS 组显著升高($P<0.05$)(表 2)。

4. EP 组患儿大于参考值血清 PRL 在检测时间内的分布:结果发现 42 例血清 PRL 阳性(>临床参考值 23μg/L)患儿,包括 80.65%(25 例)GTCS、55.55%(10 例)CPS、22.73%(5 例)SPS、5.88%(2 例)CFS、3.57%(1 例)SFS 出现增高。发作后 2h 内,血 PRL 水平升高对于痫性发作的诊断敏感性和特异性分别为 56.34%(40/71)和 93.02%(40/43)。图 3 显示,血清 PRL 阳性的 EP 组患儿血清 PRL 水平随检测时间延长而迅速下降,越早对痫性发作的诊断敏感性越高,效度越好(图 1)。

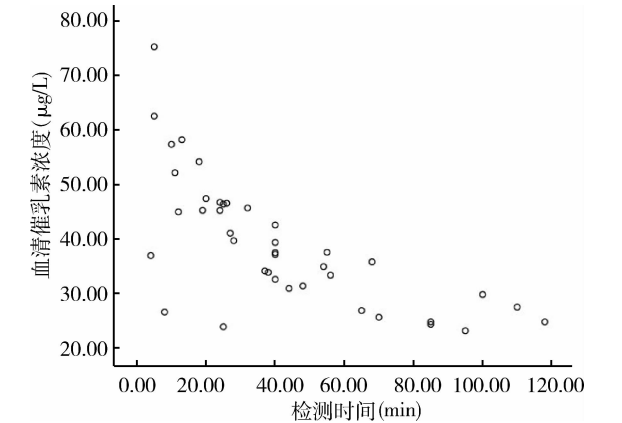


图 1 EP 组血清 PRL 水平阳性患儿随检测时间延长的变化($n=40$)

5. EP 组患儿血清 MEL、PRL 水平的关系:采用 Spearman's 相关分析发现,EP 组患儿痫性发作后 2h 血清 MEL、PRL 水平的关系显著负相关($r=0.624,P<0.001,n=71$)。

讨 论

PRL 是由腺垂体 PRL 细胞分泌的一种多肽激素,与雌激素一起对乳腺发育起着关键作用。众多研究发现 PRL 与痫性发作存在密切相关,但对于其具体作用及机制均则存在着较大的分歧。本研究发现 EP 患儿痫性发作后 2h 内平均血清 PRL 水平显著升高,尤其在 GTCS 和 CPS 两类发作类型中升高更明显,而非痫性疾病及上感患儿均未有升高,这与多数学者的研究结果相符,支持以往关于血清 PRL 升高与痫性活动有关的假设,且提示可能与痫性放电范围及程度有关。有研究推测在 GTCS 患儿,可能是由于痫性电活动起源于下丘脑腹内侧,导致该区特殊的 PRL 调节因子释放到垂体门脉系统,通过直接刺激释放 PRL 或抑制 PRL 释放抑制因子而导致而导致血清 PRL 水平升高。研究还发现多巴胺、甲肾上腺素和 γ-氨基丁酸(GABA)可抑制 PRL 的分泌,推测痫性发作可通过改变这些神经递质起作用^[10]。研究证明多数 CPS 起源于颞叶,其电活动往往是从内侧颞叶结构扩布到边缘系统,这也可体现在发作期临床表现的变化上^[6,7]。这些没有出现 PRL 升高的患儿,可能是 EP 灶起源于额叶和辅助运动皮质区域,而没有累及边缘系统所致。Sperling 发现只有起源于单侧或双侧边缘系统,并且持续 20s 以上、高于 10Hz 的痫性放电才可能扩散到皮质下区域,而短程、易变或低频率、不累及边缘系统的放电不能扩布至下丘脑腹内侧区域。有人发现从内侧颞叶结构扩散到下丘脑核群的痫性发作,也可导致意识的改变。这可能解释了本研究众多 GTCS 和 CPS 患儿发作后血清 PRL 水平升高

的部分原因。而 SPS 发生血清 PRL 升高显著减少的原因,推测可能与其痫性放电范围及程度较 GTCS 和 CPS 减轻所致。我们发现随着 GTCS 发作后时间的延长,血清 PRL 水平进行性下降,可能也与痫性放电的逐步减少有关。这需要进一步的研究证实。

MEL 是松果体合成分泌的一种重要的神经物质,其合成、分泌具有稳定生物节律,是控制昼夜节律性变化的生物钟,具有诱导自然睡眠,提高睡眠质量的作用。推测对神经-免疫-内分泌网络具有复杂的调节作用。大量临床资料均睡眠紊乱在 EP 患儿中十分普遍,睡眠可以诱发 EP 发作和发作间期痫样放电,EP 也会改变睡眠结构而引起睡眠障碍,二者相互作用形成恶性循环。因此,有人推测 EP 患儿血清 MEL 水平明显降低,可能与 EP 患儿的睡眠紊乱有关。本研究发现痫性发作后早期血清 MEL 水平显著下降,这不能用 EP 导致睡眠紊乱来解释,且发现不同发作类型的 MEL 水平也存在差异,尤其 GTCS、CPS 下降明显,提示 MEL 可能参与癫痫发作和发作后脑损伤机制,推测 MEL 水平的降低可能是导致痫性发作的神经内分泌机制之一。有研究发现 MEL 表达缺乏可诱导 EP 发作,且外源性 MEL 及选择性 MEL 受体激动剂均具有抗 EP 作用^[3],提示 MEL 具有抗惊厥作用。此外,MEL 还可通过其强大的清除自由基和抗氧化作用发挥神经保护作用。痫性发作改变了机体对 MEL 分泌的调节机制,导致 MEL 水平降低,而 MEL 水平的降低又削弱了机体自身的抗惊厥和神经保护作用,从而引起癫痫复发和发作后脑损伤。

本研究发现患儿痫性发作后 2h 血清 MEL 水平的显著下降,且其与血清 PRL 水平变化存在显著负相关,可能与痫性放电范围和程度有关,推测痫性放电范围可抑制松果体对 MEL 的合成、分泌,导致发作后早期血清 MEL 显著下降,继而降低其对 PRL 的抑制作用,可能是导致痫性发作后早期血清 PRL 升高的机制之一。本研究发现对照组与非痫性发作组儿童血清 MEL 水平无明显差异,推测可能由于该类儿童无痫性放电基础而不会导致 MEL 水平的升高。

临床症状是痫性发作的主要诊断依据,这限制了发作后早期检测血清 PRL 水平对癫痫发作诊断的临床应用。既往多数研究采用 ROC 曲线选定发作后最佳 PRL 升高值标准,以 Hoppener 的标准 ($>25\text{ng/ml}$) 较为理想,其敏感性、特异性分别为 69.6%、93.8%,而本研究以 $>23\text{ng/ml}$ 为正常参考高值,发现血 PRL 水平升高对于痫性发作的诊断敏感性和特

异性分别为 56.34% 和 93.02%,因此对于痫性发作临床诊断困难的病例,其可能是一种经济有效的辅诊手段。一般认为,70%~90% 的 GTCS 和 CPS 发作后血清 PRL 升高,SPS 多不升高,故有人认为 PRL 升高与否对癫痫的分型有帮助。但本研究发现在发作后 2h 内,高达 80.65% 的 GTCS、55.55% 的 CPS 和 22.73% 的 SPS 可出现血清 PRL 升高,因此尚不能作为鉴别 EP 类型的一个特异性指标。本研究也发现痫性发作后 PRL 随发作后时间变化显著,因此临床应用判断的时候要充分考虑时间因素,这与最近的研究报道相一致^[8]。本实验室未有正常血清 MEL 参考值,因此未作敏感性和特异性分析。

综上所述,癫痫患儿发作后 2h 内血清 MEL 水平降低,而血清 PRL 水平上升,尤其以 GTCS 和 CPS 为著,两者存在负相关,推测可能是由于痫性放电累及相应脑区,导致 PRL 和 MEL 之间调节失衡,从而参与癫痫发作与癫痫后脑损伤的病理机制。早期血清 PRL 升高对痫性发作有高度特异性,推测早期联合检测可能是临床诊断痫性发作困难病例的一种辅助检查手段。

参考文献

- 1 Yahyavi - Firouz - Abadi N, Tahsili - Fahadan P, Riazi K, *et al.* Melatonin enhances the anticonvulsant and proconvulsant effects of morphine in mice; role for nitric oxide signaling pathway[J]. *Epilepsy Res*, 2007, 75(2-3):138-144
- 2 Yildirim M, Marangoz C. Anticonvulsant effects of melatonin on penicillin-induced epileptiform activity in rats[J]. *Brain Res*, 2006, 1099(1):183-188
- 3 Fenoglio - Simeone K, Mazarati A, Sefidvash - Hockley S, *et al.* Anticonvulsant effects of the selective melatonin receptor agonist ramelteon[J]. *Epilepsy Behav*, 2009, 16(1):52-57
- 4 郭静芳,姚宝珍. 癫痫和热性惊厥患儿血清褪黑素水平的变化及其临床意义[J]. *中国当代儿科杂志*, 2009, 11(4):288-290
- 5 Yang QH, Xu JN, Xu RK, *et al.* Inhibitory effects of melatonin on the growth of pituitary prolactin-secreting tumor in rats[J]. *J Pineal Res*, 2006, 40(3):230-235
- 6 Kokay IC, Petersen SL, Grattan DR. Identification of prolactin-sensitive GABA and kisspeptin neurons in regions of the rat hypothalamus involved in the control of fertility[J]. *Endocrinology*, 2011, 152(2):526-535
- 7 Xia R, Berger F, Piallat B, *et al.* Alteration of hormone and neurotransmitter production in cultured cells by high and low frequency electrical stimulation[J]. *Acta Neurochir (Wien)*, 2007, 149(1):67-73
- 8 Aydin S, Dag E, Ozkan Y, *et al.* Time-dependent changes in the serum levels of prolactin, nesfatin-1 and ghrelin as a marker of epileptic attacks young male patients[J]. *Peptides*, 2011, 32(6):1276-1280

(收稿:2011-06-06)

(修回:2011-07-27)