

5 种脑脊液酶在癫痫和帕金森病中的检测应用*

刘辰庚¹, 高原^{1,2}, 王培昌^{1△}

(1. 首都医科大学宣武医院检验科/首都医科大学临床检验诊断学系, 北京 100053;

2. 中国医学科学院阜外医院输血科, 北京 100037)

摘要:目的 初步研究脑脊液天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、乳酸脱氢酶(LDH)、 α -羟丁酸脱氢酶(α -HBDH)、谷胱甘肽过氧化酶(GPx)和谷胱甘肽还原酶(GR)检测对癫痫和帕金森病的诊断价值。方法 利用日立 7600 全自动生化分析仪和思龙 722s 型分光光度计检测癫痫和帕金森病患者和对照组脑脊液中 AST、LDH、 α -HBDH、GPx 和 GR 的活性水平。结果 癫痫和帕金森病患者脑脊液 AST、LDH、 α -HBDH 的酶活性均有不同程度升高,与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$);与对照组比较,癫痫患者脑脊液中 AST、LDH 和 α -HBDH 的诊断阈值分别为 16、16、14 U/L,帕金森病患者分别为 14、17 和 14 U/L,差异均有统计学意义($P < 0.05$);而 GPx 和 GR 在癫痫和帕金森病中的活性均显著低于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论 脑脊液中 5 种酶检测对癫痫和帕金森病的诊断和鉴别诊断具有潜在价值。

关键词: 癫痫; 帕金森病; 天门冬氨酸氨基转移酶; 乳酸脱氢酶; α -羟丁酸脱氢酶; 谷胱甘肽过氧化酶; 谷胱甘肽还原酶

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.23.002

中图法分类号:R446.14;R742.1

文章编号:1673-4130(2018)23-2853-04

文献标识码:A

The determination of 5 enzymes in cerebrospinal fluid for epilepsy and Parkinson's disease*

LIU Chengeng¹, GAO Yuan^{1,2}, WANG Peichang^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory Xuanwu Hospital of Capital Medical University/ Department of Clinical Laboratory Diagnostics of Capital Medical University, Beijing 100053, China; 2. Department of Blood Transfusion, Fuwai Hospital of Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100037, China)

Abstract: Objective To study the diagnostic value of cerebrospinal fluid aspartate aminotransferase (AST), lactate dehydrogenase (LDH) and α -hydroxybutyrate dehydrogenase (α -HBDH), glutathione peroxidase (GPx) and glutathione reductase (GR) in the diagnosis of epilepsy and Parkinson's disease. **Methods** The levels of AST, LDH, α -HBDH, GPx and GR in cerebrospinal fluid of patients with epilepsy and Parkinson's disease and control group were detected by Hitachi 7600 automatic biochemical analyzer and Sloan 722s spectrophotometer. **Results** The levels of AST, LDH, and α -HBDH enzyme activity in cerebrospinal fluid of patients with epilepsy and Parkinson's disease were increased to varying degrees, and there was a statistically significant difference compared with the control group ($P < 0.05$). Compared with the control group, the diagnostic thresholds of AST, LDH and α -HBDH in cerebrospinal fluid of epilepsy patients were 16, 16 and 14 U/L, respectively, and those of Parkinson's disease patients were 14, 17 and 14 U/L respectively, and there were a statistically significant difference ($P < 0.05$). The activities of GPx and GR in epilepsy and Parkinson's disease were significantly lower than those in the control group, and there were a statistically significant difference ($P < 0.05$). **Conclusion** The detection of five enzymes in cerebrospinal fluid has potential value in the diagnosis and differential diagnosis of epilepsy and Parkinson's disease.

Key words: epilepsy; parkinson disease; aspartate aminotransferases; lactate dehydrogenases; hydroxybutyrate dehydrogenase; glutathione peroxidase; glutathione reductase; cerebrospinal fluid

脑脊液(CSF)是充满在各脑室、蛛网膜下腔和脊髓中央管内的无色透明液体,100~150 mg,具有一定

化学成分和压力,对维持颅压的稳定有重要作用。目前,CSF 临床常见的检测项目主要有常规、生化检查、

* 基金项目:国家自然科学基金青年基金资助项目(81401734);国家重点研发计划资助项目(2016YFC1306301);北京市医院管理局“青苗”计划项目(QML20150804);首都医科大学本科生科研训练项目(XSKY2018148)。

作者简介:刘辰庚,男,副主任技师,主要从事神经系统疾病机制研究和标志物筛选。△ 通信作者,E-mail:pcw1905@126.com。

本文引用格式:刘辰庚,高原,王培昌.5种脑脊液酶在癫痫和帕金森病中的检测应用[J].国际检验医学杂志,2018,39(23):2853-2856.

免疫学及细菌学检验等,其检验项目相对有限。有研究提示,当有神经系统疾患时 CSF 酶活性亦可随之发生改变,因此,CSF 酶学检查对于中枢神经系统疾病的诊断和鉴别诊断至关重要^[1-3]。本文主要对两种神经系统疾病,即癫痫和帕金森综合征患者的 CSF 天门冬氨酸氨基转移酶(ST)、乳酸脱氢酶(LDH)、 α -羟丁酸脱氢酶(α -HBDH)、谷胱甘肽过氧化酶(GPx)和谷胱甘肽还原酶(GR)5 种酶活性进行比较分析,拟在整合生化酶学项目准确快捷的特点,探讨针对不同类型神经系统疾病 CSF 酶活性检测的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本课题研究对象为首都医科大学宣武医院的 156 例住院患者,其中癫痫患者 90 例(癫痫组,男 49 例,女 41 例,平均年龄 31 岁),帕金森综合征患者 36 例(帕金森病组,男 23 例,女 13 例,平均年龄 57 岁),30 例(对照组男 17 例,女 13 例,平均年龄 43 岁),均排除神经系统疾病。对照组均排除其他神经系统疾病且 CSF 生化及常规检查正常。癫痫及帕金森病均已通过相应诊断指南作出确诊。

1.2 试剂与仪器 使用日立 7600 型全自动生化分析仪(日本,东京)检测 AST、LDH 和 α -HBDH 活性。

AST 和 α -HBDH 检测使用北京中生公司试剂,LDH 检测使用北京柏定公司试剂,检测参数为首都医科大学宣武医院检验科研发的 CSF 检测专用参数;测定时仪器处于正常的鉴定、保养、定标和室内质控状态。使用分光光度法检测 GPx 和 GR 活性,试剂由碧云天公司(中国,上海)提供,仪器为思龙 722s 型分光光度计(中国,上海),所有检测操作均严格按照说明书进行。CSF 标本采集后 1 h 内送检验科,30 min 内 3 000 g 离心 5 min,取上清液 2 h 内上机检测。

1.3 统计学处理 应用 SPSS18.0 统计软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 SNK-*q* 检验;临界值使用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)按约登指数最大值计算,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组 CSF 中 AST、LDH、 α -HBDH(U/L)活性比较 与对照组比较,癫痫组和帕金森病组 AST、LDH、 α -HBDH 活性均升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$);与癫痫组比较,帕金森组 LDH 和 α -HBDH 活性显著降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 三组 CSF 中 AST、LDH、 α -HBDH 活性比较($\bar{x} \pm s$)

| 项目(U/L) | 癫痫组(n=90) | 帕金森病组(n=36) | 对照组(n=30) | F | P | | |
|----------------|----------------------------|----------------------------|--------------|-------|------------|-----------|------------|
| | | | | | 癫痫 vs. 帕金森 | 癫痫 vs. 对照 | 帕金森 vs. 对照 |
| AST | 18.86 ± 7.47 ^a | 18.92 ± 5.50 ^a | 10.53 ± 4.52 | 2.691 | 0.635 | 0.011 | 0.025 |
| LDH | 24.41 ± 16.55 ^a | 21.75 ± 4.51 ^{ab} | 13.07 ± 4.58 | 3.261 | 0.018 | 0.000 | 0.000 |
| α -HBDH | 22.63 ± 13.52 ^a | 16.31 ± 3.97 ^{ab} | 12.50 ± 4.94 | 5.613 | 0.002 | 0.000 | 0.000 |

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与癫痫组比较,^b $P < 0.05$

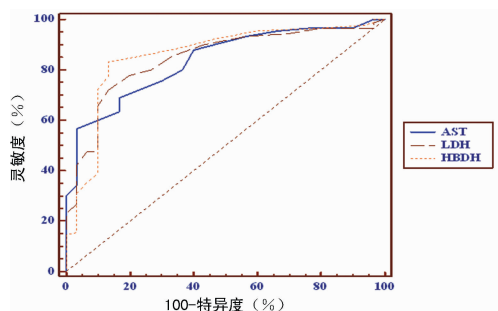


图 1 癫痫组与对照组间 AST、LDH 和 HBDH 诊断界值的 ROC 曲线

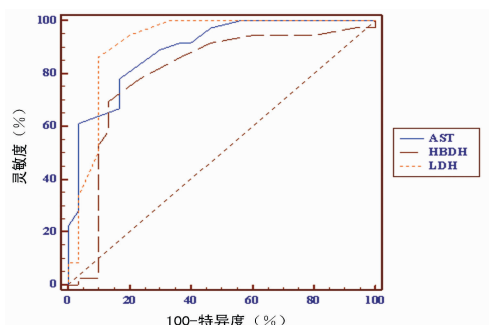


图 2 帕金森病组与对照组间 AST、LDH 和 HBDH 诊断界值的 ROC 曲线

2.2 3 组 AST、LDH 和 α -HBDH 诊断界值的 ROC 曲线分析 相对于对照组,癫痫组 AST、LDH 和 α -HBDH 的诊断界值分别为 16、16 和 14 U/L,帕金森病组分别为 14、17 和 14 U/L,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2、图 1~2。

表 2 癫痫组和帕金森病组 CSF 中 AST、LDH 和 HBDH 诊断界值的 ROC 曲线分析结果

| 组别 | 项目 | 曲线下面积 | 临界值(U/L) | 灵敏度(%) | 特异度(%) | 约登指数 | P |
|-------|----------------|-------|----------|--------|--------|-------|-------|
| 癫痫组 | AST | 0.836 | 15.8 | 56.7 | 96.7 | 0.534 | <0.05 |
| | LDH | 0.845 | 23.8 | 72.2 | 86.7 | 0.589 | <0.05 |
| | α -HBDH | 0.858 | 21.4 | 83.3 | 86.7 | 0.700 | <0.05 |
| 帕金森病组 | AST | 0.890 | 20.4 | 77.8 | 83.3 | 0.611 | <0.05 |
| | LDH | 0.917 | 44.3 | 86.1 | 90.0 | 0.761 | <0.05 |
| | α -HBDH | 0.987 | 10.1 | 69.4 | 86.7 | 0.561 | <0.05 |

2.3 3 组 GPx 和 GR 检测结果比较 癫痫组和帕金森病组患者 CSF 中 GPx 和 GR 活性均显著低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),但癫痫组与帕金森病组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 3。

表 3 癫痫组和帕金森组 CSF 中 GPx 和 GR 检测结果(±s)

| 项目(U/L) | 癫痫组(n=90) | 帕金森病组(n=36) | 对照组(n=30) | F | P | | |
|---------|-------------------------|------------------------|------------|-------|------------|-----------|------------|
| | | | | | 癫痫 vs. 帕金森 | 癫痫 vs. 对照 | 帕金森 vs. 对照 |
| GPx | 11.62±1.19 ^a | 9.92±0.98 ^a | 21.05±3.36 | 4.319 | 0.601 | 0.001 | 0.000 |
| GR | 1.39±0.13 ^a | 1.77±0.15 ^a | 4.05±0.47 | 3.177 | 0.863 | 0.009 | 0.002 |

注:与对照组比较,^aP<0.05

3 讨 论

癫痫、帕金森病是常见的两种中枢神经系统疾病,但由于二者的临床表现及 CSF 的不典型化,特别是疾病的早期表现或因不规则治疗给诊断造成一定困难,且常规检查又有一定的局限性,标本周转时间(TAT)一般较长,因此,建立快速、灵敏、特异的诊断技术非常关键^[4-6]。

CSF 中的酶已知有 20 多种,正常情况下,由于血脑屏障的完整性,CSF 中的酶水平远比血清中低。由于 CSF 中酶水平不受中枢神经系统外疾病的影响,因此,酶活力测定可反映中枢神经系统的病变。但当有些神经系统疾患时,如血脑屏障通透性增高、各种原因引起的脑组织损伤等均可使 CSF 中各种酶活性增高,这些变化可反映脑组织损伤的程度^[7-10]。

癫痫是多种原因导致的脑部神经元高度同步化异常放电的临床综合征,中枢神经系统感染是导致癫痫发作的常见病因。脑外伤、脑出血、脑梗死、脑肿瘤及颅内感染等脑组织损伤均可导致血脑屏障被破坏,神经细胞内的酶溢出,使 CSF 中 AST、LDH、α-HBDH 水平增加^[11]。正常情况下,大脑中具有正常生理功能的血脑屏障能够保护大脑内环境稳定,避免血液中有毒化合物的侵害。帕金森病是多巴胺能神经元变性、丢失引起的神经系统变性疾病,典型的运动症状包括静止性震颤、运动减少、肌强直及步态异常,患者常合并自主神经功能的损害。血脑屏障功能异常可能是帕金森病的发病机制。因此,对于癫痫和帕金森病这类临床表现相对类似的神经系统疾病,研发快速检测手段对其加以鉴别很有必要。脑毛细血管壁的改变,使血脑屏障发生破坏,神经细胞内的酶溢出,可能是导致 CSF 中 AST、LDH、α-HBDH 水平增加的原因之一^[12-14]。

AST 广泛分布于人体内各组织,但在各组织中的含量不等,在脑组织中含量丰富,主要存在于脑组织的可溶性组分及颗粒性组分,主要参与中枢神经系统的氨基酸代谢,正常 CSF 中 AST 的活性约为血清酶活性的 1/2,本研究结果显示其活性在两种中枢神经系统疾病中均升高。LDH 是糖酵解过程中的重要酶,在正常 CSF 中,其活性约为 10.5 U/L,为血清酶活性的 1/10,新生儿略高。LDH 同工酶有 5 种形式,即 LDH-1、LDH-2、LDH-3、LDH-4 和 LDH-5; CSF-

LDH 同工酶以 LDH-1 和 LDH-2 为主。α-HBDH 可衡量 LDH-1 活性,因其是利用 α-羟丁酸取代丙酮酸作为底物时所测的 LDH 活性,LDH-1 对 α-羟丁酸的作用强于对丙酮酸。本研究也提示,癫痫组和帕金森病组 α-HBDH 水平高于对照组。癫痫和帕金森病均属脑损伤性疾病,而上述脑脊液酶均是经典的损伤性标志物,其改变在很多疾病中代表了组织细胞的损伤程度,在癫痫和帕金森病脑组织损伤程度中的评估价值值得进一步研究。

谷胱甘肽广泛存在于动植物体内,是生物体内最重要的非蛋白硫基化合物之一,具有还原型(GSH)和氧化型(GSSG)两种存在形式,GPx 和 GR 两种酶是调节其转换的关键酶,一起构成了重要的氧化还原的控制、调节系统^[15-16]。已有研究表明,氧化应激在帕金森病和癫痫患者的发病和病程演进中扮演了重要角色,其在细胞自噬、凋亡、基因和蛋白的稳定性等环节均可调节组织细胞的功能状态,高氧化应激状态对细胞具有诸多负面影响。由于患者 CSF 标本抽取量较少,故本研究中部分受试者未能进行 GPx 和 GR 检测,但已有的数据已呈现出统计学差异,即癫痫和帕金森病患者 CSF 中 GPx 和 GR 等代表抗氧化能力的标志物呈下降趋势,提示通过检测 CSF 中上述氧化应激相关指标,可能从一个侧面反映脑组织中的氧化应激状态,以帮助评估患者的疾病进展阶段和预后。

4 结 论

本研究发现,癫痫和帕金森病患者 CSF 中代表损伤情况的 AST、LDH 和 α-HBDH 活性升高,代表抗氧化状态的 GPx 和 GR 降低,提示上述酶可能作为癫痫和帕金森病诊断和鉴别诊断的潜在生物标志物,其在癫痫和帕金森病脑组织损伤程度和氧化应激程度中的评估价值值得进一步研究。

参考文献

[1] 李国强,王剑,傅启华. 癫痫的遗传学研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(23): 3459-3462.
 [2] JAIN S, HARRIS J, WARE J. Platelets: linking hemostasis and cancer[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2010, 30(12): 2362-2367.
 [3] REDDY V S, BUKKE S, DUTT N, et al. A systematic review and meta-analysis of the circulatory, erythrocytular

- and CSF Selenium levels in Alzheimer's disease; A metal meta-analysis (AMMA study-I) [J]. *J Trace Elem Med Biol*, 2017, 42: 68-75.
- [4] CHEN Z Y, LIU C Y, ZHANG J, et al. Cerebrospinal fluid A β 42, t-tau, and p-tau levels in the differential diagnosis of idiopathic normal-pressure hydrocephalus; a systematic review and meta-analysis [J]. *Fluids Barriers CNS*, 2017, 14(1): 13.
- [5] 朱中梁, 汪宏良, 曹雄彬, 等. CYP2C19 基因多态性与丙戊酸血药浓度相关性及其个体化用药研究 [J]. *国际检验医学杂志*, 2018, 39(1): 14-16.
- [6] STOPA E G, TANIS K Q, MILLER M C, et al. Comparative transcriptomics of choroid plexus in Alzheimer's disease, frontotemporal dementia and Huntington's disease: implications for CSF homeostasis [J]. *Fluids Barriers CNS*, 2018, 15(1): 18.
- [7] MARTIN DE PABLOS A, GARCÍA-MORENO J M, FERNÁNDEZ E. Does the cerebrospinal fluid reflect altered re-dox state but not neurotrophic support loss in parkinson's disease [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2015, 23(11): 893-898.
- [8] NAGHIZADEH B, MANSOURI M T. Protective effects of gallic acid against streptozotocin-induced oxidative damage in rat striatum [J]. *Drug Res (Stuttg)*, 2015, 65(10): 515-520.
- [9] NABAE E, KESMATI M, SHAHRIARI A, et al. Cognitive and hippocampus biochemical changes following sleep deprivation in the adult male rat [J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2018, 104: 69-76.
- [10] DARVESH S. Butyrylcholinesterase as a diagnostic and therapeutic target for alzheimer's disease [J]. *Curr Alzheimer Res*, 2016, 13(10): 1173-1177.
- [11] VIDA C, MARTINEZ D E, TODA I, GARRIDO A, et al. Impairment of several immune functions and redox state in blood cells of alzheimer's disease patients. relevant role of neutrophils in oxidative stress [J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 1974.
- [12] BUDRYN G, GRZELCZYK J, JAKIEWICZ A, et al. Evaluation of butyrylcholinesterase inhibitory activity by chlorogenic acids and coffee extracts assed in ITC and docking simulation models [J]. *Food Res Int*, 2018, 109: 268-277.
- [13] BAGNATO S, ANDRIOLO M, BOCCAGNI C, et al. Dissociation of cerebrospinal fluid amyloid- β and tau levels in patients with prolonged posttraumatic disorders of consciousness [J]. *Brain Injury*, 2018, 32(8): 1056-1060.
- [14] MATÉ I, CRUCES J, GIMÉNEZ-LLORT L, et al. Function and redox state of peritoneal leukocytes as preclinical and prodromic markers in a longitudinal study of triple-transgenic mice for Alzheimer's disease [J]. *J Alzheimers Dis*, 2015, 43(1): 213-226.
- [15] VIDA C, DE TODA I M, CRUCES J, et al. Role of macrophages in age-related oxidative stress and lipofuscin accumulation in mice [J]. *Redox Biol*, 2017, 12: 423-437.
- [16] MACDONALD I R, MAXWELL S P, REID G A, et al. Quantification of butyrylcholinesterase activity as a sensitive and specific biomarker of alzheimer's disease [J]. *J Alzheimers Dis*, 2017, 58(2): 491-505.
- (收稿日期: 2018-05-21 修回日期: 2018-08-18)
- (上接第 2852 页)
- [7] YUKI N. Infectious origins of, and molecular mimicry in, Guillain-Barré and Fisher syndromes [J]. *Lancet Infect Dis*, 2001, 1(1): 29-37.
- [8] JACOBS B C, ROTHBARTH P H, VAN DER MECH F G, et al. The spectrum of antecedent infections in Guillain-Barré syndrome; a case-control study [J]. *Neurology*, 1998, 51(4): 1110-1115.
- [9] 李海峰. Guillain-Barre 综合征和 Miller Fisher 综合征的新诊断分类和标准 [J]. *中国神经免疫学和神经病学杂志*, 2014, 21(6): 441-443.
- [10] ZHANG HL, WU J, NI FM, et al. Axonal variant of Guillain-Barre syndrome associated with campylobacter infection in Bangladesh [J]. *Neurology*, 2010, 75(2): 194-195.
- [11] FERRARO D, GALLI V, SIMONE A M, et al. Cerebrospinal fluid anti-Epstein-Barr virus specific oligoclonal IgM and IgG bands in patients with clinically isolated and Guillain-Barré syndrome [J]. *J Neurovirol*, 2017, 23(2): 329-334.
- [12] KHARWAR N K, PRASAD K N, SINGH K, et al. Polymorphisms of IL-17 and ICAM-1 and their expression in Guillain-Barré syndrome [J]. *Int J Neurosci*, 2017, 127(8): 680-687.
- [13] GELEIJNS K, ROOS A, HOUWING-DUISTERMAAT J J, et al. Mannose-binding lectin contributes to the severity of Guillain-Barré syndrome [J]. *J Immunol*, 2006, 177(6): 4211-4217.
- [14] CAPORALE C M, PAPOLA F, FIORONI M A, et al. Susceptibility to Guillain-Barré syndrome is associated to polymorphisms of CD1 genes [J]. *J Neuroimmunol*, 2006, 177(1/2): 112-118.
- [15] SINHA S, PRASAD K N, JAIN D, et al. Immunoglobulin IgG Fc-receptor polymorphisms and HLA class II molecules in Guillain-Barré syndrome [J]. *Acta Neurol Scand*, 2010, 122(1): 21-26.
- (收稿日期: 2018-05-11 修回日期: 2018-07-29)