

癫痫患者血浆 Glu, Asp, Gly 和 GABA 水平检测与智力缺损程度的相关性研究

漆明^a, 王宇^a, 李春^b, 黄翔^a (广西脑科医院 a. 检验科; b. 神经内科, 广西柳州 545005)

摘要: **目的** 探讨癫痫患者血浆谷氨酸 (glutamic acid, Glu)、天冬氨酸 (aspartic acid, Asp)、甘氨酸 (glycine, Gly) 及 γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA) 水平与智力缺损程度的关系。**方法** 选取2018年8月~2019年11月广西脑科医院神经内科就诊的癫痫患者82例为研究组, 采用超高效液相-串联质谱法测定癫痫组及对照组血浆 Glu, Asp, Gly 和 GABA 浓度; 采用韦氏智力量表 (WAIS-RC) 测量癫痫组及对照组智商 (FIQ); 同期健康体检者30例作为对照组。**结果** 癫痫组血浆 Glu, Asp 水平 (38.00 ± 2.26 , 10.01 ± 1.76 ng/ml) 高于对照组 (9.10 ± 1.48 , 2.53 ± 1.17 ng/ml), 差异有统计学意义 ($t=64.916$, 21.502 , 均 $P<0.001$); 癫痫组血浆 Gly, GABA 水平 (45 ± 3.18 , 27.00 ± 3.49 ng/ml) 低于对照组 (63.00 ± 4.31 , 54.00 ± 2.72 ng/ml), 差异有统计学意义 ($t=23.891$, 38.206 , 均 $P<0.001$)。癫痫组 FIQ 分值 (64.43 ± 15.72) 低于对照组 (101.50 ± 18.40), 差异有统计学意义 ($t=8.557$, $P<0.001$)。癫痫组 FIQ 分值与血浆 Glu, Asp 水平呈正相关 ($r=0.879$, 0.724 , 均 $P<0.01$), 与 Gly, GABA 水平呈负相关 ($r=-0.775$, -0.459 , 均 $P<0.01$)。**结论** 癫痫患者血浆 Glu, Asp, Gly 和 GABA 水平与其智力缺损的严重程度相关, 可能是癫痫患者智力缺损程度的潜在标志物。

关键词: 癫痫; 谷氨酸; 天冬氨酸; 甘氨酸; γ -氨基丁酸; 智商

中图分类号: R749.17; R446.11 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2021) 02-101-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2021.02.024

Study on the Correlation between the Levels of Plasma Glu, Asp, Gly, GABA and the Degree of Mental Retardation in Patients with Epilepsy

QI Ming^a, WANG Yu^a, LI Chun^b, HUANG Xiang^a

(a.Department of Clinical Laboratory; b.Department of Neurology, Guangxi Brain Hospital, Guangxi Liuzhou 545005, China)

Abstract: Objective To investigate the relationship between the levels of Glutamic acid (Glu), Aspartic acid (Asp), Glycine (Gly) and γ -aminobutyric acid (GABA) and the degree of mental retardation in epileptic patients. **Methods** From August 2018 to November 2019, 82 patients with epilepsy were selected as the study group. The plasma concentrations of Glu, Asp, Gly and GABA in the epilepsy group and the control group were determined by UPLC-MS. Wechsler Intelligence Scale (WAIS-RC) was used to measure IQ (FIQ) of epilepsy group and control group. In the same period, 30 healthy subjects were used as the control group. **Results** The levels of plasma Glu and Asp in epilepsy group (38.00 ± 2.26 , 10.01 ± 1.76 ng/ml) were higher than those in control group (9.10 ± 1.48 , 2.53 ± 1.17 ng/ml), the difference were statistical significance ($t=64.916$, 21.502 , all $P<0.001$). The levels of plasma GLY and GABA in the epilepsy group (45 ± 3.18 , 27.00 ± 3.49 ng/ml) were lower than those in the control group (63.00 ± 4.31 , 54.00 ± 2.72 ng/ml), and the difference was statistically significant ($t=23.891$, 38.206 , all $P<0.001$). The FIQ score of epilepsy group (64.43 ± 15.72) was lower than that of control group (101.50 ± 18.40), and the difference was statistically significant ($t=8.557$, $P<0.001$). In epilepsy group, FIQ score was positively correlated with plasma Glu and Asp levels ($r=0.879$, 0.724 , all $P<0.01$), and negatively correlated with Gly and GABA levels ($r=-0.775$, -0.459 , all $P<0.01$). **Conclusion** The levels of plasma Glu, Asp, Gly and GABA are correlated with the severity of mental retardation in patients with epilepsy, which may be a potential marker of mental retardation in patients with epilepsy.

Keywords: epilepsy; glutamic acid; aspartic acid; glycine; γ -aminobutyric acid; intelligence quotient

资料显示, 我国癫痫的总患病率接近 3%, 每年新发病例约 50 万人, 且呈逐年上升趋势^[1]。与此同时, 伴有智力 (认知功能) 缺损的癫痫患者达 30%~40%^[2]。智力缺损 (障碍) 是癫痫患者的常见

共患症之一, 伴有智力缺损的癫痫患者比例不低。智力缺损已经成为临床医生诊治癫痫患者必定考虑的内容^[3]。近年来, 在对癫痫及其智力缺损的发病机制研究发现, 癫痫发作与体内兴奋性氨基酸类神

基金项目: 广西壮族自治区卫健委科研项目 (Z20180062)。

作者简介: 漆明 (1973-), 男, 副主任技师, 主要从事临床检验技术的开发及应用, E-mail: 13978087019@139.com。

经递质谷氨酸 (glutamic acid, Glu), 天冬氨酸 (aspartic acid, Asp) 含量的增高或抑制性神经递质 γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA), 甘氨酸 (glycine, Gly) 含量的下降有关, 但具体发病机制研究未明。目前对癫痫患者血浆 Glu, Asp, Gly 及 GABA 水平与智力缺损程度的研究目前报道较少。本研究旨在探讨癫痫患者血浆 4 种氨基酸类神经递质: Glu, Asp, Gly 及 GABA 水平与智力缺损程度的关系, 为研究癫痫患者智力缺损的发病机理及临床诊治提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取 2018 年 8 月 ~ 2019 年 11 月广西脑科医院神经内科门诊或住院病人中符合《2010 年国际癫痫联盟诊断标准及分类方案》的癫痫病患者 82 例为研究组, 男性 37 例, 女性 45 例, 平均年龄 36.5 ± 11.2 岁, 排除严重心、肝、肾等器质性病变、脑血管疾病、急性脑外伤、失语、瘫痪等神经系统严重器质性病变和精神障碍患者。对照组为 30 例同期健康体检人员, 平均年龄 37.8 ± 12.6 岁, 两组间性别构成比及平均年龄比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。所有研究对象及对照组均自愿加入研究并签署知情同意书, 本研究获广西脑科医院医学伦理委员会批准。

1.2 仪器及试剂 氨基酸测定仪器为岛津超高效液相色谱与三重四极杆质谱仪联用系统。具体配置为: 输液泵 (LC-20ADXR CL $\times 2$), 在线脱气机 (DGU-20A5R CL), 自动进样器 (SIL-20ACXR CL), 柱温箱 (CTO-20ACXR CL), 系统控制器 (CBM-20A CL), 三重四极杆质谱仪 (LCMS-8040 CL), 色谱工作站 (LabSolutions Ver. 5.91)。分析条件: ①色谱条件: 色谱柱: 氨基酸专用色谱柱; 流动相 A 0.1g/dl 甲酸水溶液; 流动相 B 0.1g/dl 甲酸乙腈; 流速: 0.35ml/min; 柱箱温度: 40℃; 进样体积: 1 μ l; 洗脱方式: 等度洗脱; A 相浓度: 98%。B 相浓度: 2%。②质谱条件: 分析仪器: LCMS-8040 CL; 离子源: ESI (+); 雾化气流速: 3.0L/min; 干燥气流速: 15.0 L/min; DL 温度: 250℃; 加热模块温度: 400℃; 扫描模式: 多反应监测 (MRM)。

1.3 方法

1.3.1 血浆样品采集、前处理及氨基酸类神经递质的测定: 研究组及对照组均采集空腹静脉血 5~6ml, EDTA 抗凝, 离心 10min (3 000r/min), 吸取血浆于 2ml 冻存管中, 低温 (-70℃) 保存; 检测时将血浆样品室温解冻, 离心 10min (3 000r/min), 吸取 100 μ l 离心后的上清液到新的离心管中, 加入 300 μ l 甲醇乙腈去蛋白沉淀剂 (乙腈: 甲

醇=1:1), 静置 3 min, 涡旋 2 min 混匀, 离心 10 分钟 (13 000r/min), 取 120 μ l 上清液, 按 1.2 色谱及质谱条件分析, 进样体积 1 μ l。

1.3.2 标准贮备液制备: 实验所用试剂均为质谱纯。Glu, Asp, Gly 和 GABA 购自中国食品药品检定研究院; 甲醇、乙腈为德国默克 (Merck) 公司生产。准确称取 4 种氨基酸标准品各 20mg, 分别置于 50ml 容量瓶中, 用 0.1mol/L 乙酸定容至刻度, 配制成 400 μ g/ml 的氨基酸储备溶液, 4℃ 冰箱保存备用。

1.3.3 标准曲线的建立: 将前述 4 种氨基酸贮备液用纯水稀释成浓度为 10~4 000ng/ml 若干梯度浓度的混合标准溶液, 按前述 1.3.1~1.3.2 条件及处理方法处理后上机进样分析。以氨基酸浓度为横坐标, 以氨基酸峰面积为纵坐标, 采用外标法建立标准曲线。

1.3.4 FIQ 测定及分级: 智力缺损程度以智商测量表 (FIQ) 值表示, 由本院有经验的心理测试师采用韦氏成人智力测试量表 (WAIS-RC) 完成。测量分项目包括数字广度、相似性、知识、图画填充及木块图案等。FIQ 测定值分组: FIQ > 90 分为正常, 80~89 分为低于正常, 70~79 分为临界, 50~69 分为轻度缺陷, 35~49 分为中度缺陷, 20~34 分为重度缺陷, < 20 分为极度缺陷。

1.4 统计学分析 采用 SPSS19.0 软件进行数据统计分析, 计量资料服从正态分布以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 差异比较采用 t 检验; 相关性分析采用 Sperrman 秩相关法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 癫痫组及对照组血浆 4 种氨基酸检测结果 见表 1。按 1.2~1.3 分析条件及处理方法对两组血浆样本进行 4 种氨基酸类神经递质含量测定。癫痫组血浆 Glu, Asp 水平高于正常对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.001$); Gly, GABA 水平低于正常对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.001$)。

表 1 癫痫组与对照组血浆 4 种氨基酸检测结果 ($\bar{x} \pm s$, ng/ml)

项目	癫痫 (n=82)	对照 (n=30)	t	P
Glu	38.00 ± 2.26	9.10 ± 1.48	64.916	<0.001
Asp	10.01 ± 1.76	2.53 ± 1.17	21.502	<0.001
Gly	45 ± 3.18	63.00 ± 4.31	23.891	<0.001
GABA	27.00 ± 3.49	54.00 ± 2.72	38.206	<0.001

2.2 癫痫组及对照组智商测量表 (FIQ) 测定结果比较 见表 2。癫痫组 FIQ 平均分 (64.43 ± 16.11) 低于正常对照组 (101.50 ± 31.40), 差异有统计学意义 ($t=8.557$, $P < 0.001$)。癫痫组 FIQ 异常

的总构成比为 96.3%，其中智力低于平常水平者（FIQ=80~89）占 10.9%，智力低于临界水平者占 19.51%，智力障碍者占 63.85%；癫痫组在数字广度、相似性、知识及图画填充及木块图案方面分值均低于正常对照组，差异均有统计学意义（ $t=5.306 \sim 21.685$ ，均 $P<0.001$ ）。见表 2。

2.3 癫痫患者血浆 Glu, Asp, Gly, GABA 水平与智力缺损程度之间的相关性分析 见图 1~4。癫痫组 FIQ 分值与血浆 Glu, Asp 水平呈正相关（ $r=0.879, 0.724$ ，均 $P<0.01$ ），与 Gly, GABA 水平呈负相关（ $r=-0.775, -0.459$ ，均 $P<0.01$ ）；正常对照

组 FIQ 分值与血浆 Glu, Asp, Gly 及 GABA 浓度无相关性。

表 2 癫痫组与对照组智商评分比较

类别	癫痫 (n=82)	对照 (n=30)	t	P
FIQ	64.43 ± 16.11	101.50 ± 31.40	8.557	<0.001
知识	6.27 ± 2.07	17.18 ± 5.23	16.381	<0.001
相似性	4.66 ± 1.43	17.95 ± 5.16	21.685	<0.001
数字广度	9.72 ± 3.85	14.03 ± 4.71	5.306	<0.001
图画填充	4.98 ± 1.36	12.71 ± 3.77	16.461	<0.001
木块图案	16.79 ± 5.20	28.71 ± 9.05	9.132	<0.001

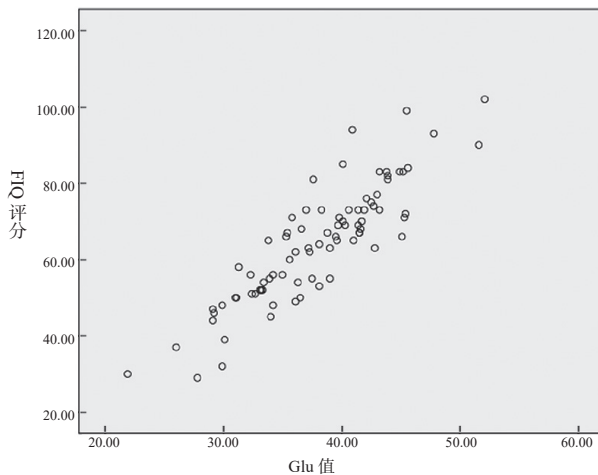


图 1 Glu 与 FIQ 评分相关性分析

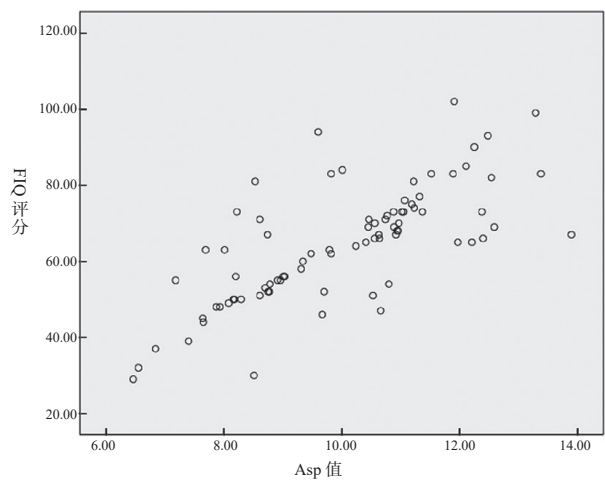


图 2 Asp 与 FIQ 评分相关性分析

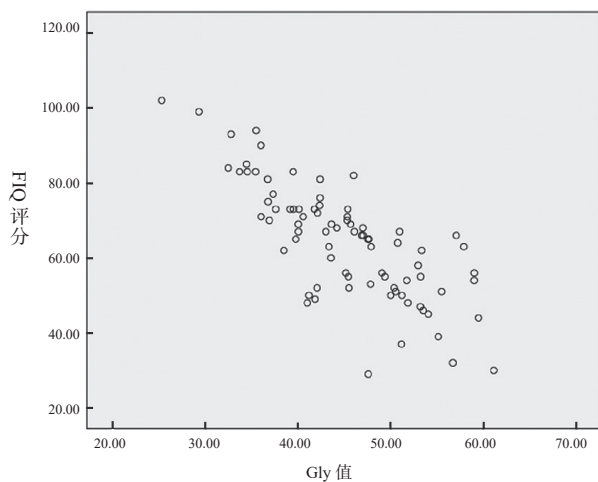


图 3 Gly 与 FIQ 评分相关性分析

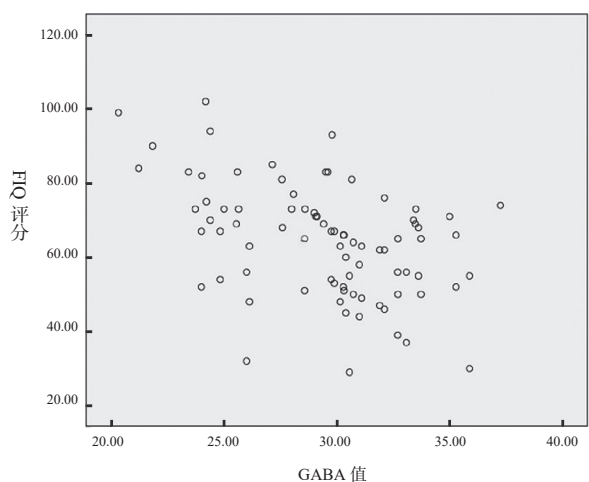


图 4 GABA 与 FIQ 评分相关性分析

3 讨论

Glu, Asp, Gly 和 GABA 是人体内重要的氨基酸类神经递质，参与维系脑部的血液循环，对神经系统的功能起着重要的介导作用。研究发现，体内兴奋性氨基酸类神经递质 Glu, Asp 和抑制性氨基酸类神经递质 GABA, Gly 参与癫痫的发病过程，其平衡一旦被打破，可能导致癫痫发作及智力下

降^[4]。癫痫发作可引起细胞外 Glu 升高，进而引起兴奋性毒性损害，慢性癫痫发作可改变神经元和神经胶质细胞上的谷氨酸受体和谷氨酸转运蛋白的表达，进一步促进癫痫发生。明确氨基酸类神经递质在癫痫患者体内水平的变化及其与智力缺损的相关性，对癫痫及其智力缺损的诊断、治疗均有重要意义。吴浪龙等^[5]研究发现兴奋性氨基酸的毒性作用

是造成癫痫患儿脑损害的主要原因。血脑屏障的存在,血脑屏障中的氨基酸转运系统能将血浆氨基酸转运至大脑,同时将脑中神经递质类氨基酸逆浓度梯度转运至血液^[6],静脉血和脑脊液内氨基酸水平存在着一定的相关性^[7]。王晓梅等^[8]发现癫痫患者脑脊液中 GABA 含量低于正常对照组, Glu 高于正常对照组。王威等^[9]研究发现:癫痫患者的基础血清 Glu, GABA 和谷氨酰胺水平明显高于健康对照组;张赞等^[10]研究认为:与癫痫的发作密切相关的氨基酸类神经递质 Glu 及 GABA 分别是最重要的兴奋性与抑制性神经递质。本研究癫痫组血浆兴奋性氨基酸类神经递质 Glu, Asp 水平高于对照组,而抑制性氨基酸类神经递质 Gly, GABA 低于对照组,与前述吴浪龙等^[5]研究结论相似。证明前述 4 种递质 Glu, Asp, Gly 和 GABA 与癫痫的发病相关。本研究癫痫组 FIQ 异常的总构成比为 96.3%,癫痫组在数字广度、相似性、知识及图画填充及木块图案等测量项目的分值均低于正常对照组,其中智力障碍患者发生率(63.85%)高于国内宋新勤^[11]等的报道。

血液学标志物应用于癫痫患者的智力缺损程度评估目前研究较少。国内通常采用智力量表测量法或功能神经影像学检查(如 MRI)法单独或联合进行评估癫痫患者的智力缺损程度。国内王丽丽等^[12]检测癫痫患者血清触珠蛋白(haptoglobin, HP)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)及丙二醛(malondialdehyde, MDA)水平,联合蒙特利尔认知评估量表(MoCA)对癫痫患者进行认知功能分级,发现老年急性脑出血并发癫痫患者血清 SOD, MDA, HP 的表达水平与认知功能损害的严重程度相关。目前国内 FIQ 评估法包括龚耀先修订的韦氏成人智力量表中国修订版(WAIS-RC)、简易智能精神状态检查量表(MMSE)、蒙特利尔认知评估量表(MoCA)^[13-15]等。由于 WAIS-RC 每个测试分项目的分值与最终智商得分密切相关,其准确性依赖于检测过程的连贯性,当外界干扰、患者注意力缺陷或疲劳等情况使检测意外中断会导致结果失准。张鹏^[16]利用三维动脉自旋标记技术研究单独全面性强直阵挛癫痫患者全脑血流量的变化情况,结合蒙特利尔认知评估量表(MoCA)进行认知功能评价研究发现:单独全面性强直阵挛癫痫患者存在认知功能下降。但功能神经影像学检查存在特异度不高等诸多缺点。本研究通过对 82 例癫痫患者及 30 例健康正常人血浆氨基酸类神经递质 Glu, Asp, Gly 和 GABA 水平及 FIQ 分值测定,发现癫痫患者血浆 Glu, Asp 水平与 FIQ 分值呈正相关,血浆 Gly, GABA 水平与 FIQ 分值呈负相关,相关性优于前述张鹏及王丽丽等^[12,16]采用的方法。

综上所述,癫痫患者血浆氨基酸类神经递质 Glu, Asp, Gly, GABA 水平可能是癫痫患者智力缺损程度的潜在标志物,对癫痫及其智力缺损程度的诊断、评估和治疗有一定的临床价值。

参考文献:

- [1] 张淑敏,伍国锋,王丽琨. 癫痫共患抑郁障碍与神经元突触可塑性的关系研究进展 [J]. 中华神经医学杂志, 2020,19(6):618-622.
ZHANG Shumin, WU Guofeng, WANG Likun. Research advance in relation between epilepsy comorbid depression and neuronal synaptic plasticity [J]. Chinese Journal of Neuromedicine, 2020,19(6):618-622.
- [2] RANTANEN K, ERIKSSON K, NIEMINEN P. Cognitive impairment in preschool children with epilepsy [J]. Epilepsia, 2011,52(8):1499-1505.
- [3] 陈美丽,白宇. 癫痫与认知功能关系的研究进展 [J]. 中国康复理论与实践, 2012,18(4):341-343.
CHEN Meili, BAI Yu. Relationship between epilepsy and cognition dysfunction(review) [J]. Chinese Journal of Rehabilitation Theory and Practice, 2012,18(4):341-343.
- [4] 漆明. 氨基酸类神经递质与智力及癫痫的关系 [J]. 医学信息, 2019,32(20):33-36.
QI Ming. Relationship between amino acid neurotransmitters and intelligence and epilepsy [J]. Medical Information, 2019,32(20):33-36.
- [5] 吴浪龙,万福生. 癫痫患儿不同时期脑脊液和血液中一氧化氮与氨基酸含量的变化 [J]. 中国康复理论与实践, 2012,18(12):1135-1137.
WU Langlong, WAN Fusheng. Level of nitric oxide and amino acids in cerebrospinal fluid and serum of epilepsy children in different time [J]. Chinese Journal of Rehabilitation Theory and Practice, 2012,18(12):1135-1137.
- [6] HAWKINS B T, EGGLETON R D. Fluorescence imaging of blood-brain barrier disruption [J]. J Neurosci Methods, 2006,151(2):262-267.
- [7] D'SOUZA D C, GIL R, CASSELLO K, et al. IV glycine and oral D-cycloserine effects on plasma and CSF amino acids in healthy humans [J]. Biol Psychiatry, 2000,47(5):450-462.
- [8] 王晓梅,关毅敏,张文利,等. 癫痫患者脑脊液中 GABA, Glu, Asp 的变化及其临床意义 [J]. 中风与神经疾病杂志, 1996,13(6):348-350.
WANG Xiaomei, GUAN Yimin, ZHANG Wenli, et al. The changes of GABA, Glu, Asp in cerebrospinal fluid of patients with epilepsy and their clinical significance [J]. Journal of Apoplexy and Nervous Diseases, 1996,13(6):348-350.
- [9] 王威,吴燕川,姜德春,等. logistic 回归及 ROC 曲线综合评价基础血清谷氨酸、GABA 和谷氨酰胺在癫痫诊断中的应用 [J]. 中国卫生统计, 2020, 37(4):527-529, 533.
WANG Wei, WU Yanchuan, JIANG Dechun, et al. Logistic regression and ROC curve were used to evaluate the application of basal serum glutamate, GABA and glutamine in the diagnosis of epilepsy [J]. Chinese Journal of Health Statistics, 2020,37(4):527-529, 533.

(下转第 139 页)