

# ÇOCUKLARDA EPİLEPTİK NÖBET SONRASI SERUM NÖRON SPESİFİK ENOLAZ DÜZEYLERİ

Tülin HIZLI\*, Hüseyin GÜLEN\*\*, Pınar AKAN\*\*\*, Meral FADİLOĞLU\*\*\*, Eray DİRİK\*\*

D.E.Ü. Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Pediatrik Nöroloji Bilim Dalı\*

D.E.Ü. Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı\*\*

D.E.Ü. Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı\*\*\*

## ÖZET

Nöron spesifik enolaz (NSE) bazı akut nörolojik bozukluklar ve konvülsiyonlardan sonra gelişebilen beyin zedelenmesini gösteren ve serumda da artışı saptanabilen bir göstergedir. Bu çalışmada 16 konvülsiyon vakası ve 21 kontrol vakasında serum NSE(s-NSE) değişiklikleri araştırıldı. Hasta grubunda s-NSE seviyelerine konvülsiyondan sonraki ilk iki saatte, 24., 48., 72., 96. saatlerde bakıldı. Konvülsiyon sonrası ilk iki saatteki s-NSE düzeyleri, 24. ve 48. saatlerdeki s-NSE düzeyleri ile karşılaştırıldığında aradaki fark anlamlı bulundu, fakat 72. ve 96. saatlerdeki değerlerle karşılaştırıldığında ise anlamlı farklılık saptanmadı. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hasta grubunun ortalama pik s-NSE düzeyleri belirgin şekilde yüksek bulundu. Sonuç olarak 24. ve 48. saatlerde saptanan s-NSE yüksekliği epileptik vakalarda konvülsiyonların geçici beyin hasarına yol açabildiğini düşündürmektedir.

**Anahtar sözcükler:** Nöron spesifik enolaz, epilepsi, çocuklar ve beyin zedelenmesi

## SUMMARY

Serum neuron specific enolase (s-NSE) is a marker of brain injury after some acute neurologic insults and seizures. We report changes in serum-NSE(s-NSE) after epileptic seizures in 16 children. The mean peak s-NSE was significantly increased as compared with normal controls. Although there were no significant difference between first two hours s-NSE and 72<sup>nd</sup> and 96<sup>th</sup> hours s-NSE levels, there were statistically significant s-NSE changes between first two hours s-NSE and 24<sup>th</sup> and 48<sup>th</sup> hours s-NSE levels. These sign that epileptic seizures may cause s-NSE rising and transient brain injury in children.

**Key words:** Neuron specific enolase, epilepsy, children and brain injury.

Konvülsiyonların beyin hasarına yol açtıkları tartışmalı bir konu olmasına rağmen, status epileptikusun nöronal hasara yol açtığı hem insanlarda, hem de deneysel hayvan çalışmalarında net bir şekilde gösterilmiştir (1-4). Nöronal hasarı ve derecesini gösterecek şekilde hem beyin-omurilik sıvısı (BOS) hem de seruma çeşitli maddeler salınmaktadır. Nöronal hasarı değerlendirilmek için bu maddelerin beyinde, özellikle de

hücre içi kompartmanda yüksek konsantrasyonda bulunmaları gereklidir (5-7). Enolaz da beyin dokusu çözünebilir proteinlerinin %1.5'unu oluşturan glikolitik bir enzimdir ve  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  şeklinde üç farklı dimerik yapıdadır (3,4). Enzimin  $\alpha$  yapısı astrositlerde bulunurken,  $\gamma$  formu özellikle nöronlar ve bazı nöroektodermal hücrelerde bulunup nöron spesifik enolaz (NSE) olarak bilinmekte ve nöronal hücre metabolizmasında 2-fosfoglisaratın fosfoe-

nolpiruvat'a çevrilmesinde rol oynamaktadır (8-12). Serebrovasküler olaylar, hipoksik beyin zedelenmesi, kardiyak arrest'e bağlı koma ve nöronal hücre kültürlerinde hücre ölümü sonrası hücresele toksisiteyi gösteren oldukça hassas bir belirteçdir (8,13-15). 1983'de Royds ve arkadaşlarının (16) yaptığı bir çalışmada; değişik nedenlerle beyin hasarı gelişen 121 hastada NSE'nin, hasarın derecesiyle ilişkili olarak beyin tipi kreatin kinaz (KK-BT) ve aldolaz'dan daha erken ve doğru orantılı olarak serumda yükseldiği gösterilmiştir. NSE ayrıca nöroblastoma ve küçük hücreli akciğer kanserlerinde tümör markeri olarak da kullanılmaktadır (8,17). Rabinowicz ve arkadaşları (3) 1996'da yayınladıkları bir çalışmada 15 epileptik ve 10 non-epileptik bulgulu hastada sürekli video/EEG monitorizasyonu eşliğinde s-NSE değişikliklerini araştırmışlar ve epileptik grupta nöbet sonrası s-NSE düzeylerinin bazal ve kontrol değerlere göre belirgin şekilde yükseldiğini göstermişlerdir. Fakat özellikle çocukluk çağı konvülsif bozukluklarında s-NSE düzeylerine ilişkin yeterli veri bulunmamaktadır. Bu çalışmada çocukluk çağı epilepsilerinde nöbet sonrası s-NSE değişiklikleri araştırılmıştır.

#### GEREÇ ve YÖNTEM

Epileptik nöbetlerde s-NSE değişikliklerini araştırmak için sekiz'i kompleks parsiyel, altı'sı generalize tonik- klonik ve birer tanesi basit parsiyel ve myoklonik epilepsili 16 hastada prospektif olarak nöbet sonrası s-NSE düzeylerine bakıldı. Nöbet sınıflandırması International League Against Epilepsy (ILAE)'ye göre yapıldı (18).

Epileptik nöbet sonrası ilk iki saatte hastaneye başvuran hastalar çalışmaya dahil edildi. Hastalar ve ailelerine bilgi verildikten sonra başvuru anında ve nöbet sonrası 24., 48., 72. ve 96. saatlerde kan örnekleri alındıktan sonra 4000 devir/dk'da 15 dk süreyle santrifüj edilerek en az 2'şer ml serum ayrıldı. NSE analizi yapılmaya kadar -70°C'de muhafaza edildi. NSE analizi "Boehringer Mannheim" ticari kiti kullanılarak "ES-300" otoanalizöründe enzim immünoassay tekniğiyle yapıldı. Hemolizli serum örnekleri çalışmaya dahil edilmedi. Kontrol grubu olarak nörolojik hastalık yada epilepsi öyküsü olmayan, çeşitli nedenlerle hastaneye başvurmuş 21 çocuktan serum örnekleri elde edildi. Epileptik grubun ortalama pik s-NSE düzeyleri kontrol grubunun değerleri ile karşılaştırıldı. Hasta grubu ile normal kontrol grubunun değerleri arasındaki farklılıkları karşılaştırmak için "Mann-Whitney U testi" kullanıldı. Ayrıca hasta grubunda başvuru anındaki, 24., 48., 72. ve 96. saatlerdeki s-NSE düzeyleri arasındaki farklılıklar da "Wilcoxon Signed Ranks testi" ile karşılaştırıldı.

#### BULGULAR

Hasta grubu yaş ortalamaları  $9.16 \pm 5.44$  yıl olan 11 kız ve 5 erkek hastadan oluşuyordu. Normal kontrol grubu da yaş ortalamaları  $6.09 \pm 5.4$  yıl olan 12 kız, 9 erkek hastadan oluşuyordu (Tablo 1). Kontrol grubunun ortalama s-NSE düzeyi  $13.69 \pm 3.67$  ng/ml ölçüldü. Tüm hasta grubunun, epileptik nöbet sonrası 2. saate kadarki ortalama s-NSE düzeyi  $10.17 \pm 2.99$  ng/ml bulundu. Hasta grubunun ortalama pik s-NSE düzeyi ise

23.92±9.65ng/ml idi ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında belirgin derecede yüksek olduğu görüldü (p<0.01). Hasta grubunun 24., 48., 72. ve 96. Saatlerdeki s-NSE düzeyleri sırasıyla 18.57±7.8ng/ml, 19.31±9.11ng/ml, 17.04±10.73ng/ml ve 12.05±3.55ng/ml idi. Hastaların hemen hepsinde epileptik nöbet sonrası 24. ve 48. saatlerdeki s-NSE düzeylerinin, başvuru anındaki değerlere göre yüksek olduğu görüldü (Tablo II). Sadece jeneralize tonik-klonik konvülsiyonlu bir hastada 24. saatteki s-NSE düzeyi, başvuru anındaki düzeyinden düşük ölçüldü. Başvuru anındaki s-NSE düzeyleri ile 24. ve 48. saatlerdeki düzeyler arasındaki farklılık önemli bulundu (p <0.01), fakat başvuru anındaki değerlerle 72. ve 96. saatlerdeki s-NSE karşılaştırıldığında anlamlı farklılık saptanmadı. Kompleks parsiyel nöbetlilerin ortalama pik s-NSE düzeyi 24.90±11.75 ve jeneralize tonik-klonik grubunun 20.92±7.38 ölçüldü. İkinci saate kadarki ortalama s-NSE düzeyleri kompleks parsiyel grupta 10.85±2.47 ve jeneralize tonik-klonik grupta 10.56±4.44 idi. Tüm hasta grubunda ilk iki saatteki ve 96. saatteki s-NSE düzeyleri yaklaşık olarak eşit izlendi(sırasıyla 10.17±2.99 ve 12.05±3.54) (Tablo II) ve düzeyler arasında anlamlı farklılık bulunmadı.

**Tablo I:** Hasta ve kontrol gruplarının yaş-cins özellikleri.

	Hasta Grubu	Kontrol Grubu
Yaş(ortalama±SD yıl)	9.16±5.44	6.09±5.4
Cinsiyet		
Erkek olgu	5	9
Kız olgu	11	12

**Tablo II:** Hasta ve kontrol gruplarının s-NSE değerleri.

s-NSE (ortalama ± SD ng/ml)	Hasta Grubu	Kontrol Grubu	P
0-2. saat	10.17±2.99	13.69±3.67	>0.05
24. saat	18.57±7.81		
48. saat	19.31±9.11		
72. saat	17.04±10.73		
96. saat	12.05±3.55		
Pik s-NSE(ortalama ±SD ng/ml)	23.92±9.65		<0.01

### TARTIŞMA

Serebrovasküler olaylarda, Creutzfeld-Jacob hastalığında, kafa travması ve koma sonrasında s-NSE düzeyleri yükselmektedir (3,16,19-21). Bu klinik tablolardaki s-NSE yükseklikleri nöronal zedelenmeye bağlıdır. Konvülsiyonlardaki s-NSE değişiklikleri hakkında rölatif olarak daha az bilgi vardır. Ko ve arkadaşları (22) afebril konvülsiyonlu çocukların basit febril konvülsiyon geçirenlerden daha yüksek s-NSE düzeyleri olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada tüm epilepsi grubunun ortalama pik s-NSE düzeyi, bazal değer olarak kabul edilebilecek ilk iki saatteki s-NSE düzeyine göre anlamlı yükselmiş olarak bulundu (10.17±2.99ng/ml'den 23.92±9.65 ng/ml'ye, p<0.01). Bazal değer ile karşılaştırıldığında 24. ve 48. saatlerdeki yükselmiş s-NSE düzeyleri anlamlı bulundu ve bu yükseklik nöbet sonrası 72. ve 96. saatlerde devam etti, fakat istatistiki olarak anlamlı bulunmadı. Bu veriler konvülsiyon sonrası s-NSE düzeylerinin 24. ve 48. saatlerde pik düzeye ulaştığını, yaklaşık 72. ve 96. saatlerde yavaşça düşmeye başladığını göstermektedir. NSE'nin seruma salınmadan önce

ilk olarak BOS'a geçtiği gösterilmiştir (10,23,24). Rabinowicz ve arkadaşları (13) methohexital aktivasyonundan sonra 60 dk içinde BOS'da NSE'nin yükselmeye başladığını, DeGiorgio ve arkadaşları da (10) status epileptikuslu 19 hastada s-NSE düzeylerinin 24-48 saat içinde pik değere ulaştığını bildirmişlerdir. Buradaki bulgular da literatürdeki bilgileri desteklemektedir. Nöbet sonrası s-NSE yükseklikleri muhtemelen kan-beyin bariyeri permeabilitesindeki artışa bağlıdır (12,23). Kimyasal ve elektriksel olarak indüklenmiş nöbetler sırasında kan beyin bariyeri permeabilitesinin arttığı gösterilmiştir (1). s-NSE

düzeylelerine ilaveten S-100 proteini (5), serum kortizolu, laktat ve kreatin kinaz gibi nöronal hasarı gösteren başka belirteçler de vardır, fakat bunların sensitivitesi ve tanımlayıcı değeri s-NSE'den daha azdır.

Bu çalışmada saptanan s-NSE yükseklikleri, epileptik nöbet sonrası en azından geçici nöronal zedelenmenin oluşabileceğini desteklemektedir. Daha geniş gruplarda, konvülsiyon cinsleri arasındaki farkı gözlemek amacıyla yeni çalışmaların yapılmasının uygun olacağı ve konvülsiyonlarda yol gösterebileceği görülmektedir.

#### KAYNAKLAR

1. Rabinowicz AL, Correale JD, Bracht KA, et al. Neuron-specific enolase is increased after nonconvulsive status epilepticus. *Epilepsia* 1995; 36:475-479.
2. Siesjo B, Wieloch T. Epileptic brain damage: pathophysiology and neurochemical pathology. In: Delgado-Escueta AV, Ward A, Woodbury DM (eds). *Advances in Neurology* New York: Raven Press, 1986:813-847.
3. Rabinowicz AL, Correale JD, Boutros RB, Couldwell WT, Henderson CW, DeGiorgio CM. Neuron-specific enolase is increased after single seizures during inpatient video/EEG monitoring. *Epilepsia* 1996;37:122-125.
4. DeGiorgio CM, Tomiyasu U, Gott PS, et al. Hippocampal pyramidal cell loss in human status epilepticus. *Epilepsia* 1992 ;33:23-27.
5. Hardemark HG, Ericsson N, Kotwica Z, et al: S-100 protein and neuron -specific enolase in CSF after experimental traumatic or focal ischemic brain damage. *J Neurosurg* 1989;71 :727-731.
6. Endo E, Tanaka T, Kasai H, et al: Calcium dependent affinity chromatography of S-100 and calmodulin antagonist coupled sepharose. *J Biol Chem* 1981;256 : 12485-12489.
7. Marangos P, Schmechel D, Parma A, et al: Measurement of neuron- specific (NSE) and non-neuronal (NNE) isoenzymes of enolase in rat, monkey and human nervous tissue. *J Neurochem* 1979;33: 319-329.
8. Roine RO, Somer H, Kaste M, Viinikka L, Karonen SL. Neurological outcome after out-of-hospital cardiac arrest. Prediction by cerebrospinal fluid enzyme analysis. *Arch Neurol* 1989;46:753-756.
9. Marangos PJ, Zomzely-Neurath C, York C.

- Determination and characterization of neuron-specific protein (NSP) associated enolase activity. *Biochem Biophys Res Commun* 1976;68:1309-1316.
10. DeGiorgio CM, Correale JD, Gott PS, et al. Serum neuron-specific enolase in human status epilepticus. *Neurology* 1995;45:1134-1137.
11. Marangos PJ, Zis AP, Clark RL, et al. Neuronal, non-neuronal and hybrid forms of enolase in brain: structural, immunological and functional comparisons. *Brain Res* 1978;150:117-133.
12. Schmechel D, Marangos PJ, Zis AP, et al. Brain enolases as specific markers of neuronal and glial cells. *Science* 1978;199:313-315.
13. Rabinowicz AL, Correale JD, Couldwell WT, DeGiorgio CM. CSF neuron-specific enolase after methohexital activation during electrocorticography. *Neurology* 1994;44:1167-1169.
14. Hatfield R, McKernan R. CSF neuron-specific enolase as a quantitative marker of neuronal damage in a rat stroke model. *Brain Res* 1992;577:249-252.
15. Lafon-Cazal M, Bougailt I, Steinberg R, et al. Measurement of gamma enolase release, immune method for selective quantification of neurotoxicity independently from glial lysis. *Brain Res* 1992;593:63-68.
16. Royds JA, Aclwyn G, Davies Jones B, et al. Enolase isoenzymes in the cerebrospinal fluid of patients with diseases of the nervous system. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*.1983;46:1031-1036.
17. Carney DN, Marangos PJ, Ihde DJ, et al. Serum neuron specific enolase :a marker of disease extent and response to therapy of small cell lung cancer. *Lancet* 1982;1:583-585.
18. Commission of Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. *Epilepsia* 1981;22:489-501.
19. Royds JA, Timperley WR, Taylor CB. Levels of enolase and other enzymes in the cerebrospinal as indices of pathological change. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1988;19:1140-1144.
20. Steinberg R, Guenian C, Searna H, et al. Experimental brain ischemia:neuron specific enolase level in cerebrospinal fluid as an index of neuronal damage. *J Neurochem* 1984;43:19-24.
21. Persson L, Hardemark H, Gustafsson J, et al. S-100 protein and neuron specific enolase in cerebrospinal fluid and serum: markers of cell damage in human central nervous system. *Stroke* 1987;18:911-918.
22. Ko F, Chiang C,Wu C,et al. Studies of neuron specific enolase in serum and cerebrospinal fluid of children with neurological diseases. *Kaohsiung J Med Sci* 1990;6:137-143.
23. Mihaly A, Bozoky B. Immunohistochemical localization of extravasated serum albumin in the hippocampus of human subjects with partial and generalized epilepsies and epileptiform convulsions. *Acta Neuropathol (Berl)* 1984; 65:25-34.
24. Saija A, Princi P, Pisani SA, et al. Blood-brain barrier dysfunctions following systemic injection of kainic acid in the rat. *Life Sci* 1992;51:467-477.