

• 论 著 •

新生儿 HIE 患儿血清细胞因子的变化及临床意义

杨铭华¹, 阚秀梅¹, 李月英¹, 栾聪颖¹, 孔月¹, 关秀茹^{2△}

(1. 黑龙江省哈尔滨市儿童医院检验科 150010; 2. 哈尔滨医科大学附属第一医院实验诊断教研室, 哈尔滨 150001)

摘要:目的 探讨新生儿缺氧缺血性脑病(HIE)患儿血清中白介素-18(IL-18)、超敏 C 反应蛋白(hsCRP)的变化及临床意义。方法 采用 ELISA 法检测出生后 3、7 d 的 32 例 HIE 患儿与 24 例健康新生儿血清中 IL-18 及 hsCRP 水平。结果 出生后 3 d HIE 患儿和健康新生儿血清中 IL-18 水平分别为(485.90±413.80)pg/mL、(50.35±1.69)pg/mL ($P<0.01$); 出生后 7 d 分别为(316.25±368.18)pg/mL、(51.3±4.20)pg/mL ($P<0.01$)。出生后 3 d HIE 患儿和健康新生儿血清中 hsCRP 水平分别为(23.31±44.52)mg/L、(1.38±0.82)mg/L ($P<0.01$); 出生后 7 d 分别为(4.72±5.95)mg/L、(1.67±1.24)mg/L ($P<0.05$), 且两者均与病情严重程度相关。结论 IL-18、hsCRP 参与 HIE 的病理、生理过程, 动态监测 IL-18 和 hsCRP 水平对判断其病情轻重及预后有重要意义。

关键词: 婴儿, 新生儿; 缺氧缺血性, 脑; 白细胞介素 18; C 反应蛋白质

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.16.012

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)16-1814-02

Study on the clinical significance of changes of serum cytokines in neonates with hypoxia ischemic encephalopathy

Yang Minghua¹, Kan Xiumei¹, Li Yueying¹, Luan Congying¹, Kong Yue¹, Guan Xiuru^{2△}

(1. Department of Clinical Laboratory, Children's Hospital, Harbin 150010, China; Teaching and Research section of Laboratory Diagnosis, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, China)

Abstract: Objective To explore the clinical significance of changes of serum interleukin-18(IL-18) and hypersensitive C reactive protein (hsCRP) in neonatus with neonatal hypoxic ischemic encephalopathy(HIE). Methods 32 cases of neonatus with HIE (HIE group) and 24 cases of healthy neonatus(control group) were enrolled and detected for IL-18 and hsCRP by using ELISA, 3 and 7 days after birth. Results 3 days after birth, the levels of IL-18 in HIE group and control group were 485.90±413.80 and 50.35±1.69 pg/mL ($P<0.01$), respectively, and 7 days after birth, the levels were 316.25±368.18 and 51.3±4.20 pg/mL ($P<0.01$). 3 days after birth, the levels of hsCRP in HIE group and control group were 23.31±44.52 and 1.38±0.82 mg/L ($P<0.01$), respectively, and 7 days after birth, the levels were 4.72±5.95 and 1.67±1.24 mg/L ($P<0.05$). The serum levels of IL-18 and hsCRP were both correlated with the severity of HIE. Conclusion IL-18 and hsCRP were both involved in the pathophysiological process of HIE. Monitoring the trend of IL-18 and hsCRP could be helpful to judge the severity of disease and estimate the prognosis.

Key words: infant, hewborn; hypoxic-ischemic, brain; interleukin-18; C-reactive protein

新生儿缺氧缺血性脑病(hypoxic ischemic encephalopathy, HIE)是新生儿窒息的严重并发症,其病情重、病死率高,是足月儿围生期脑损伤的最常见原因。有研究认为,窒息儿复苏后出现兴奋激惹,出生后 3~6 h 加重或转为嗜睡、抑制,并伴有肢体肌张力减弱和拥抱、握持反射减弱,便可考虑早期诊断 HIE^[1]。近年来,免疫系统在 HIE 发病中的作用日益受到重视,但确切机制尚未完全阐明^[2]。白介素-18(interleukin-18, IL-18)是与炎性有关的细胞因子,而超敏 C 反应蛋白(hypersensitive C reactive protein, hsCRP)是全身炎性反应的一种标志物。为探讨他们与新生儿 HIE 的相互关系,本研究应用 ELISA 法动态检测新生儿 HIE 及正常足月新生儿血清 IL-18、hsCRP 水平,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 HIE 病例组为 2008 年 6~12 月哈尔滨市儿童医院急救中心收治住院的 32 例 HIE 患儿,其中男 18 例、女 14 例、胎龄为 37~42 周,出生体质量为 2.5~4.0 kg,均有窒息史。根据意识障碍、肌张力改变、原始反射异常、惊厥等临床表现及 CT 检查结果分为轻度 8 例,中度 15 例,重度 9 例。HIE 诊断符合 1996 年杭州会议制定《新生儿缺氧缺血性脑病诊断标准和临床 CT 分度标准》。对照组为同期妇幼保健院产科分娩的正常足月顺产新生儿 24 例,其中男 13 例,女 11 例,胎龄为 37~42 周,出生体质量为 2.5~4.0 kg,无宫内发育迟

缓,宫内及生后无窒息并排除宫内感染,出生后 7 d 内无并发症。母亲孕期身体健康,分娩前无明显感染史,无血制品、免疫抑制剂、增强剂使用史。

1.2 方法

1.2.1 血液标本采集 病例组与健康对照组患儿于出生后 3、7 d 采集股静脉血 3 mL,静置 30 min 后,在室温下经离心机 3 000 r/min 离心 10 min 后分离血清,置于 -70 °C 冰箱保存备用。

1.2.2 IL-18 水平检测 应用双抗体夹心酶联免疫吸附试验(ELISA),通过加样、加酶结合物、孵育、洗板、加显色剂、终止液,最后在 490 nm 波长处用酶标仪读数计算结果。IL-18 ELISA 试剂盒由 Rapid Bio Lab, Calabasas, California, USA 提供。

1.2.3 hsCRP 检测 应用美国 Beckman Coulter 公司 IMMAGE 特种蛋白分析仪,采用散射比浊法检测。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 13.0 统计软件进行资料统计。定量数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组样本间比较采用了 Wilcoxon 秩和检验,多组样本间比较采用 Kruskal-Wallis H 检验,配对资料采用 Wilcoxon 符号秩和检验。

2 结果

2.1 HIE 患儿血清 IL-18 水平的变化 出生后 3、7 d, HIE 患儿血清中 IL-18 水平均较对照组明显升高 ($P<0.01$); 且随着

△ 通讯作者, E-mail: guanxiuru0451@sohu.com。

病情的加重也逐渐升高, 差异均有统计学意义 ($P < 0.01, P < 0.05$)。经住院期间系统性治疗, 出生后 7 d HIE 患儿血清中 IL-18 水平较出生后 3 d 明显下降 ($P < 0.01$), 但仍高于对照组, 见表 1。

2.2 HIE 患儿血清 hsCRP 水平的变化 出生后 3、7 d, HIE

患儿血清中 hsCRP 水平较对照组明显升高 ($P < 0.01, P < 0.05$); 且病情愈严重, hsCRP 的水平升高得愈明显, 差异均有统计学意义 ($P < 0.01, P < 0.05$)。经住院期间系统性治疗, 出生后 7 d HIE 患儿血清中 hsCRP 水平较出生后 3 d 明显下降 ($P < 0.01$), 但仍高于对照组, 见表 1。

表 1 不同程度 HIE 患儿血清 IL-18、hsCRP 水平的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IL-18(pg/mL)		hsCRP(mg/L)	
		3 d	7 d	3 d	7 d
对照组	24	50.35 ± 1.69	51.30 ± 4.20	1.38 ± 0.82	1.67 ± 1.24
HIE 组	32	485.90 ± 413.80*★	316.25 ± 368.18	23.31 ± 44.52*★	4.72 ± 5.95
轻度	8	154.86 ± 256.97	96.21 ± 87.90	2.00 ± 1.20	2.25 ± 1.91
中度	15	457.21 ± 369.35	252.93 ± 292.40	12.00 ± 18.62	3.00 ± 3.68
重度	9	485.90 ± 413.80	316.25 ± 368.18	61.11 ± 69.07	9.78 ± 8.35
Z		5.495★	3.883★	4.379★	2.184▲
χ^2		11.976★	7.665▲	13.102★	7.550▲

Z: HIE 组与对照组比较; χ^2 : 病情的轻、中、重度比较; *: 出生后 3 d 与出生后 7 d 的比较; ★: $P < 0.01$, ▲: $P < 0.05$ 。

3 讨 论

脑缺血再灌注后脑组织局部过度炎症反应是导致新生儿 HIE 脑损伤的主要机制之一^[3], 而细胞因子在其损伤过程中发挥了重要的作用。IL-18 在脑组织内主要由小胶质细胞和星形胶质细胞产生, 是新发现的炎症致病机制的决定因子, IL-18 又称为 IL-1 γ , 它的结构、活化过程、受体、信号转导等方面都与 IL-1 β 极相似。IL-18 参与了 HIE 脑损伤过程及脑缺氧缺血迟发阶段的炎症反应。其损伤机制是介导半胱氨酸酶 1 (caspase-1) 的致炎效应; 诱导某些趋化因子和黏附分子的表达, 从而吸引、黏附、激活中性粒细胞、单核细胞和淋巴细胞; 刺激 IL-1 β 、TNF- α 及 IL-8 等其他炎症细胞因子的合成, 提高细胞介导的免疫细胞毒性。辛王月和初桂兰^[4] 在缺氧缺血性脑损伤的新生鼠中发现 IL-18 的表达水平渐增加, 6 d 达最高峰, 14 d 表达已明显下降, 但仍未恢复到正常水平, 呈现延迟性上调及相对持久的模式。王纯周等^[5] 报道 HIE 急性期血清中 IL-18 升高与 HIE 临床分度基本一致。本实验中出生后 3 d IL-18 水平较对照组显著增高, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 说明 IL-18 参与 HIE 的发病过程。随着综合性治疗时间的逐渐延长, 出生后 7 d IL-18 水平逐步下降, 但与对照相比仍较高, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 说明随着病程的延长, 缺氧缺血性脑损伤有所恢复, 但尚未降至正常。病情越重 IL-18 下降得越缓慢, 提示缺氧缺血后脑损伤越重, 恢复就越慢, 需要时间就越长。同时还发现, 无论是出生后 3 d 还是 7 d, 中、重度 HIE 组患儿 IL-18 的表达水平平均高于轻度 HIE 组患儿, 差异有统计学意义 ($P < 0.01, P < 0.05$), 可见 IL-18 作为促损伤因子, 它的表达水平与病情严重程度有关, 即脑细胞缺氧缺血越重, 脑水肿及脑细胞凋亡越严重, IL-18 的表达越明显。HIE 后 IL-18 的表达上调, 提示它参与了未成熟脑细胞 HIE 的病理过程及炎症反应, 对其表达和活性的合理干预可能抑制 HIE 后的过度炎症反应, 发挥神经保护作用^[6]。本研究的结果与以往报道相同^[7]。

hsCRP 是一种典型的急性时相蛋白, 当机体组织受到损伤时, 在细胞因子 IL-6 等的诱导下, 可以在肝脏中迅速合成大量 hsCRP。作为炎症标志物, hsCRP 可以敏感地反映机体炎症反应状态。临床实验室采用高敏感的检测技术, 测定出的低浓度 hsCRP (如 0.15~10 mg/L), 称为 hsCRP^[8]。HIE 是新生儿科的常见危重症, 近期一些研究证明^[9], 机体组织受到损伤时, 神经细胞通过合成和分泌一些炎症因子, 直接引起损伤局部的多核白细胞聚集和激活炎症介质释放, 还可通过诱导黏附因子的合成与释放进一步强化该作用。因此, hsCRP 的水

平与 HIE 的炎症反应程度存在一定关联^[10]。本研究检测 32 例 HIE 患儿血清中的 hsCRP 水平, 并与对照组进行比较。结果表明, 出生后 3、7 d HIE 患儿血清 hsCRP 水平均高于对照组 ($P < 0.01, P < 0.05$); 而且随着 HIE 程度加重, hsCRP 水平呈上升趋势, 提示 hsCRP 水平与脑损伤程度相关 ($P < 0.01, P < 0.05$)。出生后 3 d hsCRP 水平明显升高, 综合治疗后下降明显 ($P < 0.01$), 推测可能由于恢复期脑组织损伤逐渐修复, 炎症反应逐渐改善, 因而其水平显著降低。由此可见, hsCRP 可以作为临床上了解新生儿 HIE 临床分度、治疗效果及预后判断的一个重要指标。

总之, HIE 脑组织损伤的病理过程复杂, 多种生物活性物质均参与此过程。本研究初步探讨了 IL-18 及 hsCRP 在 HIE 中的变化及其与病情程度的关系, 为研究 HIE 的发病机制、病情监测和免疫疗法提供了实验室依据, 说明对窒息新生儿开展 IL-18 和 hsCRP 的水平检测对了解是否存在 HIE 和判断病情严重程度、估计预后、指导治疗有重要意义。

参考文献

- [1] 秦琳. 新生儿缺氧缺血性脑病的早期诊断[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2009, 11(6): 91-92.
- [2] 陆勤, 王健, 王薇, 等. 新生儿缺氧缺血性脑病细胞因子与细胞免疫的变化[J]. 小儿急救医学, 2005, 12(4): 269-271.
- [3] 周毅红, 唐兰芬, 敖当, 等. 新生儿缺氧缺血性脑病血清细胞因子水平的研究[J]. 中国优生与遗传杂志, 2004, 12(4): 92-93.
- [4] 辛王月, 初桂兰. 白细胞介素-18 在缺氧缺血性脑损伤后的表达及其检测意义[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(2): 160-163.
- [5] 王纯周, 李树军, 赵东菊, 等. 新生儿缺氧缺血性脑病血清白介素-1 β 和白介素-18 测定及意义[J]. 小儿急救医学, 2005, 12(4): 264-266.
- [6] 王晶晶, 胡玉莲, 张家洁, 等. 缺氧缺血性脑病患儿脑脊液中 IL-18 的检测及意义[J]. 中国现代医生, 2008, 46(3): 48-49.
- [7] 柏金秀, 杨小巍, 姬静璐, 等. 新生儿缺氧缺血性脑病血清 IL-18 和钙离子的动态变化及意义[J]. 河北医药, 2010, 32(2): 394-395.
- [8] 周丽红, 王嗣欣. 脑缺血与细胞因子表达[J]. 国外医学免疫学分册, 2002, 25(6): 320-324.
- [9] 赵东长, 王淑珍. 血清补体活性和 C 反应蛋白水平及血小板计数与全身炎症反应综合征的预后[J]. 中华儿科杂志, 2002, 40(6): 169.
- [10] 刘玉梅, 闫萍, 宋莲荣, 等. 新生儿缺氧缺血性脑病血清超敏 C 反应蛋白的变化及意义[J]. 检验医师, 2004, 1(5): 50.