

Efficacy of EPO on Treatment of Intrauterine Infection in Preterm Infants with Brain Injury

Zhengyang Zhang¹, Yongfeng Zhang^{2*}, Fang Zhang¹

¹Department of Pediatrics, Weifang Medical College, Weifang Shandong

²Department of Pediatrics, Affiliated Hospital of Weifang Medical College, Weifang Shandong

Email: ^{*}zy20050415@163.com, 905862896@qq.com

Received: May 21st, 2018; accepted: Jun. 8th, 2018; published: Jun. 15th, 2018

Abstract

Objective: To investigate the effect of postnatal EPO treatment on brain damage in premature infants caused by intrauterine infection. **Methods:** Ninety-six preterm infants delivered from June 2017 to December 2017 in our department of obstetrics were enrolled. The placenta of the pregnant mothers was examined for chorioamnionitis to determine whether there was intrauterine infection. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used. The levels of cytokines IL-1 β , IL-6, TNF- α , and IL-10 in serum of preterm infants were measured. Brain MRI was performed 3 - 7 days after birth in preterm infants. Brain imaging was performed to determine whether there was brain injury. Children with internal infection and brain injury were treated with EPO and serum cytokine levels were measured again after 2 weeks. **Results:** 1) The incidence of brain injury in children with placenta pathology diagnosed as chorioamnionitis was 67.5% (27/40 cases), and the prevalence of brain injury in non-chorionic amnion group was 16.1% (9/56 cases). The difference in prevalence was statistically significant ($P < 0.05$). 2) Serum levels of IL-1 β , IL-6, TNF- α and IL-10 in the infected group were (5.78 ± 1.31) $\mu\text{g/L}$, (7.62 ± 1.24) $\mu\text{g/L}$, (5.21 ± 1.14) $\mu\text{g/L}$, (1.18 ± 0.15) $\mu\text{g/L}$, respectively. Compared with non-infected group, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). 3) The levels of serum IL-1 β , IL-6, TNF- α and IL-10 in the brain damage group of preterm infants were (6.17 ± 1.42) $\mu\text{g/L}$, (7.39 ± 1.17) $\mu\text{g/L}$, (5.54 ± 1.05) $\mu\text{g/L}$, (1.21 ± 0.12) $\mu\text{g/L}$, compared with the inflammatory cytokines without brain injury, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). 4) The serum cytokines IL-1 β , IL-6, TNF- α and IL-10 in children with intrauterine infection brain injury after EPO treatment were (3.40 ± 1.14) $\mu\text{g/L}$ and (4.47 ± 1.34) $\mu\text{g/L}$, respectively. (3.59 ± 0.81) $\mu\text{g/L}$, (1.53 ± 0.16) $\mu\text{g/L}$, there was a significant difference in serum cytokine levels before and after EPO treatment ($P < 0.05$). **Conclusions:** Premature infants with intrauterine infection are prone to brain damage. Cytokines may play an important role in the process of brain injury induced by intrauterine infection in preterm infants. EPO intervention plays an active role in intrauterine infection of brain damage in preterm infants.

Keywords

Intrauterine Infection, Premature Infants, Brain Injury, Erythropoietin

*通讯作者。

EPO治疗宫内感染早产儿脑损伤的疗效分析

张正杨¹, 张永峰^{2*}, 张 芳¹

¹潍坊医学院儿科学教研室, 山东 潍坊

²潍坊医学院附属医院儿科, 山东 潍坊

Email: zy20050415@163.com, 905862896@qq.com

收稿日期: 2018年5月21日; 录用日期: 2018年6月8日; 发布日期: 2018年6月15日

摘 要

目的: 探讨促红细胞生成素(EPO)治疗宫内感染致早产儿脑损伤中的疗效。**方法:** 选择2017年6月至2017年12月于我院产科分娩的早产儿96例, 对孕母胎盘、胎膜行病理检查, 确定是否存在宫内感染(绒毛膜羊膜炎); 采用ELISA法测定早产儿血清中细胞因子IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、IL-10水平; 早产儿生后3~7天行颅脑MRI, 通过头颅影像学表现判断是否存在脑损伤; 筛选出存在宫内感染并脑损伤的患儿给予EPO治疗, 2周后再次检测血清细胞因子水平。**结果:** 1) 脑损伤发生率: 胎盘病理诊断为绒毛膜羊膜炎组为67.5% (27/40例), 无感染组为16.1% (9/56例), 比较两组脑损伤发生率, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 2) 感染组血清IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、IL-10水平分别为(5.78 \pm 1.31) $\mu\text{g/L}$ 、(7.62 \pm 1.24) $\mu\text{g/L}$ 、(5.21 \pm 1.14) $\mu\text{g/L}$ 、(1.18 \pm 0.15) $\mu\text{g/L}$, 与非感染组细胞因子比较, 二者差异有统计学意义($P < 0.05$); 3) 早产儿脑损伤组血清IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、IL-10水平分别为(6.17 \pm 1.42) $\mu\text{g/L}$ 、(7.39 \pm 1.17) $\mu\text{g/L}$ 、(5.54 \pm 1.05) $\mu\text{g/L}$ 、(1.21 \pm 0.12) $\mu\text{g/L}$, 与无脑损伤组炎症性细胞因子比较, 二者差异有统计学意义($P < 0.05$); 4) 宫内感染脑损伤组患儿经EPO治疗, 血清细胞因子IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、IL-10分别为(3.40 \pm 1.14) $\mu\text{g/L}$ 、(4.47 \pm 1.34) $\mu\text{g/L}$ 、(3.59 \pm 0.81) $\mu\text{g/L}$ 、(1.53 \pm 0.16) $\mu\text{g/L}$, EPO治疗前后, 血清细胞因子水平差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 早产儿宫内感染易诱发脑损伤; 细胞因子在宫内感染致早产儿脑损伤的病程中可能发挥重要作用; EPO干预在宫内感染致早产儿脑损伤过程中起到积极作用。

关键词

宫内感染, 早产儿, 脑损伤, 促红细胞生成素

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

随着产科和新生儿重症监护治疗技术的提高, 早产儿在临床中的成活率得到明显提升, 然而早产儿脑损伤的发生却呈现逐年增多的趋势[1]。宫内感染是导致早产儿脑损伤的重要原因, 与早产儿脑损伤及后期神经系统功能障碍的关系日益受到重视, 已成为国内外的研究热点, 有数据报道国外宫内感染发生率约4%~10.5%, 国内为0.67%~5% [2]。近年来有研究发现, EPO在神经系统也有不同程度的表达, 具

有神经营养、神经保护等作用，在神经功能受损的修复过程中疗效显著，能够明显改善预后，降低患儿脑瘫等神经系统后遗症的发生率[3]。目前 EPO 在治疗新生儿脑损伤中疗效已得到一定程度的肯定。本研究重点讨论早产儿宫内感染与脑损伤的关系，探究促红细胞生成素在早产儿脑损伤当中的疗效，为早产儿宫内感染导致脑损伤的治疗提供临床依据。

2. 资料与方法

2.1. 临床资料

选择 2017 年 6 月至 2017 年 12 月于我院产科分娩的早产儿 96 例(胎龄 32~36 + 6 周，出生体重 1400~3400 g)。注意排除下述人群：孕妇患有妊娠期高血压、妊娠期糖尿病、贫血、心脏病等，既往存在酗酒、吸烟等不良生活习惯史及特殊药物应用史；早产儿有围生期缺氧窒息史，遗传代谢性疾病筛查异常及神经系统畸形。所选早产儿胎龄、性别、出生体重、分娩方式等一般资料经统计学分析差异无显著意义($P > 0.05$)。

2.2. 研究方法

2.2.1. 胎盘、胎膜病理

胎盘娩出后，取孕母胎盘全层组织，石蜡包埋、切片，HE 染色后光镜观察标本炎症浸润情况，并记录每高倍镜视野白细胞数值，查见白细胞数大于 5 个同时结合孕母临床表现如出现发热、体温 $> 37.5^{\circ}\text{C}$ 、心率 > 100 次/min、羊水臭味、子宫压痛等定义为宫内感染。依据病理及临床诊断标准，将早产儿分为感染组和非感染组。

2.2.2. 头颅磁共振检查

两组患儿分别在生后 3~7 d 内行头颅磁共振检查，检查序列包括 T1WI、T2WI、DWI。侧脑室周围短 T1 信号和短 T2 信号，弥散加权成像对病变部位可以显示异常的高信号。半卵圆中心、侧脑室旁呈现点状、斑点状或斑片状 DWI 高信号是早产儿早期脑白质局灶性损伤的表现，伴或不伴短 T1 短 T2 信号；弥漫性的脑白质损伤可见侧脑室旁白质大片状的高信号，符合上述影像学表现即可诊断为脑白质损伤。

2.2.3. 炎性细胞因子检测

早产儿生后取股静脉血 3 ml，以 3000 r/min 离心 5 min 后收集上层血清于 -70°C 保存，等待送检。采用 ELISA 法检测血清 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、IL-10 水平。EPO 治疗组 2 周后以相同方法再次检测上述细胞因子水平。

2.2.4. 治疗方法

EPO 治疗组待抽取静脉血及行头颅磁共振后给予 EPO 800 U/kg，隔日 1 次，静脉注射，1 周 3 次，持续 2 周；对照组：常规治疗，如暖箱内保暖、营养支持、呼吸循环支持、并发症的治疗等。

2.3. 统计学分析

采用 SPSS17.0 软件对数据进行统计学处理，计量资料(符合正态分布)以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示，选用两独立样本及配对样本 t 检验；计数资料以百分比(%)表示，两组间比较采用双向无序列联表 χ^2 检验， $P < 0.05$ 代表差异有统计学意义。

3. 结果

3.1. 一般资料比较

纳入研究的 96 例早产儿中男 42 例，女 54 例，胎龄在 32~36 + 6 周，出生体重在 1400~3400 g。其中

感染组 46 例, 非感染组 56 例。比较两组早产儿性别、分娩方式、胎龄、出生体重, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

3.2. 胎盘、胎膜病理及头颅 MRI 检查结果

早产儿产妇产内感染患病率为 41.7% (40/96), 其中早产儿脑损伤患病率为 67.5% (27/40), 而未发生宫内感染的早产儿脑损伤患病率为 16.1% (9/56), 差异有统计学意义($\chi^2 = 26.33, P < 0.05$)。见表 2。

3.3. 早产儿感染组与非感染组血清细胞因子水平比较

早产儿感染组 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平较非感染组升高显著, IL-10 水平低于非感染组, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。结果见表 3。

3.4. 早产儿脑损伤组与非脑损伤组血清细胞因子水平比较

早产儿脑损伤组 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 显著高于早产儿无脑损伤组, IL-10 低于早产无脑损伤组, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。结果见表 4。

3.5. EPO 治疗前后宫内感染致脑损伤患儿血清细胞因子变化

EPO 治疗组较治疗前 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 表达水平明显降低, IL-10 经治疗后表达水平明显升高, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。提示 EPO 治疗可降低早产儿脑损伤程度。结果见表 5。

脑损伤组无宫内感染的 9 例早产儿亦给予相同 EPO 干预方案, 复测血清细胞因子水平, 较前明显降低; 对宫内感染致脑损伤的患儿于 EPO 疗程结束后复查头颅 MRI, 示脑损伤病灶不同程度减小, 甚至消失。

Table 1. Comparison of general data of two groups of premature infants

表 1. 2 组早产儿一般资料比较

组别	n	性别 (男/女)	分娩方式 (顺/剖宫)	胎龄 ($x \pm s$, 周)	出生体重 ($x \pm s$, g)
感染组	46	21/25	19/27	34.26 \pm 1.38	2477 \pm 456
非感染组	50	23/27	17/33	34.52 \pm 1.49	2334 \pm 539
t		0.39	0.05	0.78	1.61
P		0.56	0.75	0.43	0.11

Table 2. Comparison of the incidence of brain injury in two groups of premature infants

表 2. 2 组早产儿脑损伤发生率比较

组别	n	脑损伤组例	脑损伤组%	无脑损伤组	无脑损伤组%
感染组	40	27	67.5*	13	32.5
非感染组	56	9	16.1	47	83.9

* $P < 0.05$ 与早产儿非感染组比较。

Table 3. Comparison of serum cytokine levels in infected and non-infected preterm infants ($x \pm s$), $\mu\text{g/L}$

表 3. 早产儿感染组与非感染组血清细胞因子水平比较($x \pm s$), $\mu\text{g/L}$

组别	n	IL-1 β	IL-6	TNF- α	IL-10
感染组	40	5.78 \pm 1.31	7.62 \pm 1.24	5.21 \pm 1.14	1.18 \pm 0.15
非感染组	5	1.26 \pm 0.63	1.82 \pm 0.43	2.84 \pm 0.57	1.71 \pm 0.22
t		18.32	27.16	13.63	-15.83
P		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

Table 4. Comparison of serum cytokine levels in brain injury and non-brain damage in premature infants ($x \pm s$), $\mu\text{g/L}$
表 4. 早产儿脑损伤组与非脑损伤组血清细胞因子水平比较($x \pm s$), $\mu\text{g/L}$

组别	n	IL-1 β	IL-6	TNF- α	IL-10
脑损伤组	36	6.17 \pm 1.42	7.39 \pm 1.17	5.54 \pm 1.05	1.20 \pm 0.12
无脑损伤组	60	1.44 \pm 0.75	1.73 \pm 0.38	3.10 \pm 0.64	1.67 \pm 0.16
t		21.16	33.97	14.22	-15.83
P		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

Table 5. Changes of serum cytokines in children with brain injury caused by intrauterine infection before and after EPO treatment ($x \pm s$), $\mu\text{g/L}$
表 5. EPO 治疗前后宫内感染致脑损伤患儿血清细胞因子变化($x \pm s$), $\mu\text{g/L}$

组别	n	IL-1 β	IL-6	TNF- α	IL-10
治疗前组	27	6.78 \pm 0.95	7.61 \pm 1.29	5.99 \pm 0.81	1.20 \pm 0.11
治疗后组	27	3.40 \pm 1.14	4.47 \pm 1.34	3.59 \pm 0.81	1.53 \pm 0.16
t		25.21	26.52	30.24	-13.08
P		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

4. 讨论

早产儿脑损伤大多表现为以脑室周围-脑室内出血(PIVH)及脑室周围出血性梗死(见于较严重的PIVH)为主要代表的颅内出血和脑室周围白质软化(PVL)为代表的缺血性脑损伤[4]。导致其发生的病因复杂多样, 宫内感染是重要原因之一。炎症反应在宫内感染致脑损伤的病程中起着关键作用[5]。

宫内感染是诱发早产的重要原因之一, IL-6、IL-1 β 、TNF- α 等炎性细胞因子在早产儿脑脊液、脐血及外周血清中较正常胎儿均有显著升高[6]。有研究[7]建立孕鼠动物模型, 对其注入脂多糖致仔鼠宫内感染, 导致仔鼠发生脑损伤, 表明脑损伤的发生与宫内感染关系密切。致病微生物侵入母体, 引发宫内感染, 激活孕母及胎儿免疫系统, 启动瀑布式炎症级联反应, 刺激 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 等多种炎性细胞因子表达水平增高。炎性因子可使前体少突胶质细胞向星形胶质细胞增殖、分化, 而引起髓鞘过程的少突胶质细胞发育异常, 数量减少, 进而导致髓鞘形成障碍, 发生脑白质损伤[8]。宫内感染易诱发早产, 早产儿脑组织中少突胶质前体细胞与足月儿相比比例更高。此外, IL-10 作为抗炎细胞因子, 在孕母受到病原微生物感染的情况下分泌水平大幅降低, 使其保护作用减弱, 炎性因子与抗炎因子水平失衡, 致使早产儿更易发生脑损伤。本研究通过比较感染组与非感染组脑损伤的发生率, 表明两者差异有统计学意义($\chi^2 = 26.33, P < 0.05$), 宫内感染的早产儿更易发生脑损伤; 比较宫内感染组与非感染组血清细胞因子水平, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 炎症反应是宫内感染发生发展的重要病理机制; 脑损伤组血清炎性细胞因子水平较无脑损伤组高, 两者差异有统计学意义($P < 0.05$), 炎性细胞因子水平与脑损伤发生相关性显著。本研究所得结论与上述研究结论相符。EPO 为分子量 6~7 万的糖蛋白, 一般在贫血和低氧状态时, 根据自身组织对氧的需求, EPO 的供给量将增加。临床上多用于治疗各种贫血。近年来对 EPO 在脑损伤中的疗效取得了突破性进展, 在脑组织中亦发现 EPO 及其受体的表达, 并在脑损伤后表达水平明显增加, 可能在神经系统发育过程中具有重要作用[9]。

EPO 可抑制炎症反应; 改善脑组织血流动力学增加氧供; 抑制细胞凋亡, 影响神经细胞的再生、存活, 促进 OPC 分化成熟; 促进生长因子释放和血管形成, 发挥远期的营养和修复作用[10]; 拮抗兴奋性氨基酸(谷氨酸)的神经毒性, 对神经细胞起到保护作用[11]。

其中 EPO 的抗炎作用成为治疗早产儿宫内感染脑损伤的重要理论依据。炎症反应介导多类疾病的发

生与进展,也是继发脑损伤的重要病理机制。EPO可抑制炎性介质释放,稳固血脑屏障,减轻多种原因所致的大脑屏障破坏[12]。Chau等研究报道,在新生大鼠脑出血动物模型中,观察到EPO能够显著减少大鼠脑内IL-1 β 、IL-6、TNF- α mRNA,并且大大减少细胞凋亡的数量[13]。Shen等[14]通过建立动物模型发现rhEPO能降低脑组织胶质纤维酸性蛋白,可导致促炎因子mRNA水平明显降低。Kumral等[15]亦发现,EPO可以减轻脂多糖介导的仔鼠脑白质损害并减少相关促炎因子的释放。本研究分析EPO治疗前后宫内感染脑损伤组血清炎性细胞因子变化水平,两者差异有统计学意义($P < 0.05$),表明EPO可能通过其抗炎机制抑制炎症反应,从而减轻脑细胞损伤,与上述研究结果一致。

目前尚没有报道应用EPO会发生严重的不良事件,但也缺少长期动态观察的循证医学证据,将EPO广泛应用于临床治疗,还需要更多大规模临床试验的证据支持。EPO对早产儿脑损伤的大规模研究已在多个国家开展,期望使其能够更加安全、有效的应用于临床治疗。

基金项目

潍坊市科学技术局,项目编号2017GX097。

参考文献

- [1] 蓝海燕,杨杰,孟娜娜. 宫内感染对早产儿脑损伤的影响及发病机制研究[J]. 中国妇幼健康研究, 2015, 11(3): 587-589.
- [2] Mwaniki, M.K., Atieno, M., Lawn, J.E., et al. (2012) Long-Term Neurodevelopmental Outcomes after Intrauterine and Neonatal Insults: A Systematic Review. *Lancet*, **379**, 445-452.
- [3] Kumral, A., Baskin, H., Gokmen, N., et al. (2004) Selective Inhibition of Nitric Oxide in Hypoxic-Ischemic Brain Model in Newborn Rats: Is It an Explanation for the Protective Role of Erythropoietin. *Biology of the Neonate*, **85**, 51-54.
- [4] 邹志慧,杨冰岩,王维琼,张晓敏,陈少波,赖春华,吕峻峰,杨春晖,段立锋. 组织学绒毛膜羊膜炎与早产儿脑损伤相关性分析[J]. 临床儿科杂志, 2014, 32(9): 843-845.
- [5] Zhao, J., Chen, Y., Xu, Y., et al. (2013) Effect of Intrauterine Infection on Brain Development and Injury. *International Journal of Developmental Neuroscience*, **31**, 543-549.
- [6] 夏世文,周茜茜,胡玉莲,等. 宫内感染早产儿血清及脑脊液炎性因子与脑损伤的关系[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2015, 30(18): 1425-1427.
- [7] 刘艳,徐三清,丰利芳,等. 宫内感染导致脑损伤幼鼠脑组织核因子—— κ B、肿瘤坏死因子—— α 表达的变化[J]. 实用医学杂志, 2010, 26(23): 4319-4322.
- [8] Xie, A., Zhang, W., Chen, M., et al. (2015) Related Factors and Adverse Neonatal Outcomes in Women with Preterm Premature Rupture of Membranes Complicated by Histologic Chorioamionionitis. *Medical Science Monitor*, **21**, 390-395.
- [9] 陈光福,李辉桃,黄进洁,王章星,李赟,杨传忠,吴本清,刘玉兰,刘丽辉,孔琦,刘荣添. 早产儿血清促红细胞生成素水平与脑损伤的关系[J]. 中国当代儿科杂志, 2016, 18(10): 947-952.
- [10] 胡燕,蒋犁,张敏,等. 促红细胞生成素对脑室周围白质软化新生大鼠髓鞘磷脂蛋白和神经生长相关蛋白的影响[J]. 实用儿科临床杂志, 2010, 14(25): 1046-1048.
- [11] 侯丽淳,关雪莲,韩凤,等. 促红细胞生成素对大鼠脑出血周边组织谷氨酸及脑水含量的影响[J]. 中风与神经疾病杂志, 2012, 29(2): 140-142.
- [12] 廖钊,胡晓,王建怡. 促红细胞生成素神经保护作用的研究进展[J]. 中风与神经疾病杂志, 2014, 31(5): 472-474.
- [13] Chau, M., Chen, D. and Wei, L. (2011) Erythropoietin Attenuates Inflammatory Factors and Cell Death in Neonatal Rats with Intracerebral Hemorrhage. *Acta Neurochirurgica Supplement*, **111**, 299-305.
- [14] Shen, Y., Yu, H.M., Yuan, T.M., et al. (2009) Erythropoietin Attenuates White Matter Damage Proinflammatory Cytokine and Chemokine Induction in Developing Rat Brain after Intra-Uterine Infection. *Neuropathology*, **29**, 528-535.
- [15] Kumral, A., Baskin, H., Yesilirmak, D.C., et al. (2007) Erythropoietin Attenuates Lipopolysaccharide-Induced White Matter Injury in the Neonatalrat Brain. *Neonatology*, **92**, 269-278.

知网检索的两种方式：

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择：[ISSN]，输入期刊 ISSN：2328-045X，即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入，输入文章标题，即可查询

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：acrp@hanspub.org