

不同剂量促红细胞生成素对于早产儿神经发育的作用

祝炼 刘春梅 谢莉莉 李晓鸥 方成志

【摘要】 目的 探讨不同剂量促红细胞生成素(rhEPO),对早产儿神经系统发育的影响。**方法** 入住本院 NICU 病房的早产儿,按入院先后次序分为 rhEPO 组(治疗组)和对照组,其中治疗组 120 例,对照组 30 例,其中 rhEPO 治疗组又随机分为 3 组,低剂量组($750 \text{ U} \cdot \text{周} \cdot \text{kg}^{-1}$),中等剂量组($1\,500 \text{ U} \cdot \text{周} \cdot \text{kg}^{-1}$),高剂量组($2\,000 \text{ U} \cdot \text{周} \cdot \text{kg}^{-1}$)。比较 2 组早产儿在纠正胎龄 40 周时的新生儿神经行为测定(NBNA)评分和 6,12 月时的 Gesell 发育量表的评估得分。**结果** rhEPO 组 NBNA 评分显著高于对照组,中等剂量和高剂量组分别优于低剂量组($P < 0.05$),中等剂量和高剂量组无明显差异;生后 6 个月时 rhEPO 组优于对照组大运动和适应能力,12 个月时大运动、语言能力及精细动作得分实验组亦高于对照组($P < 0.05$)。**结论** 早期使用大剂量 EPO 可显著改善早产儿预后,促进其神经系统发育。

【关键词】 促红细胞生成素 早产儿 神经发育

【中图分类号】 R743 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1007-0478(2016)01-0009-04

【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2016.01.003

Different doses of erythropoietin protect neural development in premature infant Zhu Lian*, Liu Chunmei, Xie Lili, et al. * Department of Neonatology, Hospital for women and Children's Health Care in Xiaogan, Hubei 432000

【Abstract】 Objective This study of rhEPO treatment in premature, observe whether rhEPO has influence to the development of the nervous system in premature infants, and the effect of different doses have differences. **Methods** In our NICU ward of premature infants. According to admission order divided into rhEPO treatment group and control group, the treatment group 120 cases, control group 30 cases, Including rhEPO treatment group was randomly divided into three groups, low doses of $750 \text{ u} \cdot \text{W}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$, medium dose of $1\,500 \text{ u} \cdot \text{W}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$, high dose of $2\,000 \text{ u} \cdot \text{W}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$. Compare two groups of premature infants in the correct determination of neonatal neurobehavioral gestational age at 40 weeks (NBNA) scores and 6 and 12 months of Gesell developmental scale assessment score. **Results** RhEPO group's NBNA score significantly higher than that of control group, Moderate dose and high dose group's score higher than the low dose group, middle dose and high dose group, no difference; treatment group after 6, 12 months for two groups of children with evaluation of Gesell developmental scale, 6 months big movement and the ability to adapt the experimental group is better than that of control group, 12 months big movement, language and fine motor score of experimental group is higher than that of control group, compared to similar between the two groups have statistical significance. **Conclusion** The early use of large dose of rhEPO can significantly improve the prognosis of premature infants, promote the development of the nervous system.

【Key words】 Recombinant human erythropoietin Premature infants Nervous system

随着早产儿急救技术的提高和 NICU 的广泛应用,早产儿的救治成功率大大提高,但由于早产儿有不同于足月儿的解剖生理结构特点,室管膜

下生发层血管发育不成熟,特别是胎龄越小的早产儿发生脑损伤的机会越大^[1]。临床研究显示,最常见的早产儿脑损伤是脑室周围白质软化(PVL)及脑室内出血(IVH)^[2],大约 10% 脑损伤早产儿远期出现脑瘫、智力障碍或者认知功能发育不良,影响后期生存质量^[3]。目前,早产儿的脑损伤无特效治疗方法。近年来的研究发现,促红

作者单位: 432000 湖北省孝感市妇幼保健院新生儿科(祝炼);武汉大学人民医院新生儿科[刘春梅 谢莉莉 李晓鸥 方成志(通信作者)]

细胞生成素(EPO)及其受体(EPOR)在脑组织中也有低水平表达,EPO在大脑中发挥着营养和保护神经作用。动物实验已经表明应用 rhEPO 能减轻缺氧缺血性脑损伤^[4]。但 rhEPO 对人类早产儿的神经系统发育的影响尚不完全清楚,本研究通过在早产儿中应用 rhEPO,以探讨 rhEPO 是否对早产儿神经系统发育有影响。

1 对象与方法

1.1 研究对象 2011 年 10 月~2013 年 10 月入住本院 NICU 病房的早产儿。纳入标准:出生后 5 d 内胎龄 28~33 周,体重 900~2 200 g,出生时无贫血、红细胞增多及母子血型不合,无凝血功能障碍及先天发育异常和严重感染的早产儿,经过治疗病情稳定,并取得家长同意。按入院时间先后次序分为 rhEPO 组(治疗组)和对照组,其中治疗组 120 例,对照组 30 例,2 组胎龄分别为 28~33(30.5±1.7)周和 28~35(30.6±1.9)周($P>0.05$);出生体重分别为 1 250~2 280 g(1 523±338)g 和 1 230~2 300 g(1 460±249)g($P>0.05$);男女比例分别是 68:52 和 17:13($P>0.05$);2 组在生后 5 min Apgar 评分的差异不显著($P>0.05$)。其中 rhEPO 组又随机分为 3 组,低剂量组 750 U·周·kg⁻¹,中剂量组 1 500 U·周·kg⁻¹,高剂量组 2 000 U·周·kg⁻¹^[5]。

1.2 治疗^[6] 治疗组早产儿于生后第 5 d 开始分别给予 rhEPO 低剂量组 750 U·周·kg⁻¹,中剂量组 1 500 U·周·kg⁻¹,高剂量组 2 000 U·周·kg⁻¹,隔日 1 次,每周 3 次,第 1 次为皮下注射,第 2、3 次均静脉注射,疗程 4 周。除 EPO 组外,2 组早产儿的其它常规治疗相同。

1.3 新生儿行为神经测定(Neonatal Behavioral and Neurological Assessment, NBNA) 4 组早产儿均在矫正胎龄满 40 周时由本院儿童保健科医师(不知情情况下)常规检查并进行 NBNA 评分,在室温 24~26 ℃、安静环境中进行,包括行为能力 6 项,主动肌张力 4 项,被动肌张 4 项,原始反射 3 项,一般状况 3 项,每项评分有 3 个分度(0 分,1 分,2 分),总分 40 分。

1.4 婴幼儿期智能发育评估 所有参加研究的早产儿分别于胎龄纠正至 6、12 个月时采用 Gesell 发育诊断量表进行智能发育检查。

1.5 统计学处理 采用 SPSS16 软件,样本均数用 F 和 Z 检验。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 新生儿行为神经测定(NBNA)见表 1。

表 1 4 组 NBNA 得分($\bar{x}\pm s$,分)

组别	例数	NBNA 得分
对照组	29	36.10±1.91
低剂量组	28	37.45±1.78◇
中等剂量组	27	38.34±2.31◇▼
高剂量组	29	38.45±2.49◇▼

注:与对照组比较,◇ $P<0.05$;与低剂量组比较,▼ $P<0.05$

4 组分别有死亡、放弃等情况,最终纳入例数对照组(29 例),低剂量组(28 例),中剂量组(27 例),大剂量组(29 例)。

2.2 Gesell 发育量表评估值见表 2~3。

表 2 生后 6 个月 4 组 Gesell 发育量表评估($\bar{x}\pm s$,分)

组别	大运动	适应能力	精细动作	社交行为
对照组	63.1±6.3	66.4±5.3	61.1±6.3	71.3±5.9
低剂量组	68.3±4.8◇	73.1±7.4◇	64.3±7.2	73.1±7.3
中等剂量组	72.1±7.4◇	76.4±5.9◇	65.2±7.1◇	74.8±7.2
高剂量组	73.4±6.2◇▼	77.3±7.4◇▼	66.7±7.7◇	75.7±7.8◇

注:与对照组比较,◇ $P<0.05$;与低剂量组比较,▼ $P<0.05$

表 3 生后 12 个月 4 组 Gesell 发育量表评估($\bar{x}\pm s$,分)

组别	大运动	适应能力	精细动作	社交行为
对照组	85.1±7.8	92.4±7.3	83.1±6.3	81.3±6.9
低剂量组	92.3±8.8◇	98.1±8.4◇	94.3±8.2	86.1±7.6◇
中等剂量组	94.1±8.4◇	100.4±8.9◇	96.2±8.4◇	88.8±7.8◇
高剂量组	98.4±9.2◇▼	102.3±9.4◇▼	98.7±7.7◇▼	92.7±8.8◇▼

注:与对照组比较,◇ $P<0.05$;与低剂量组比较,▼ $P<0.05$

3 讨论

随着医学的发展和监护技术的提高,早产儿的发生率越来越高,本院 NICU 中早产儿占住院患者比例高达 35%,与早产相关的并发症越来越多,早产儿脑损伤是其中重要的一种,胎龄越小,发生脑损伤的几率越大。研究表明 44%的脑瘫患儿出生胎龄<37 周^[7]。早产儿脑损伤主要表现室管膜下出血及脑室周围白质软化,其发生与脑血管发育未成熟,少突胶质细胞及轴突发育不成熟、缺乏神经生长因子等内源性保护因子有关,同时宫内感染也是重要因素之一^[4]。

EPO 是一种分子量约 34000 道尔顿的糖蛋白激素,由 166 个氨基酸组成的酸性糖蛋白,EPO 及其受体广泛存在于人和动物体内的组织和器官中,在神经系统的正常发育中起着重要作用^[8]。

Turner等报道,大脑中神经元的数量与脑功能密切相关,缺氧性脑损伤后应用 rhEPO 能够增强金属蛋白酶的磷酸化水平,降低金属蛋白酶的活性,从而增加缺氧性脑损伤中存活神经元细胞的数量。Kumral 等研究发现缺氧可致星形胶质细胞中缺氧诱导因子激活并且进入细胞核,引起细胞核内 EPOmRNA 转录增加,细胞内 EPO 的浓度随之增加^[9]。已有的研究表明在缺氧缺血性脑损伤、局灶性脑缺血、脑及脊髓的创伤性损伤的动物模型中应用 rhEPO,都表现出减轻脑损伤,改善神经功能的作用^[10]。

rhEPO 的脑保护作用的机制包括以下几个方面^[11]:(1)抗凋亡作用。Ding 等研究发现,EPO 可以改善缺氧缺血小鼠的认知和行为缺陷,通过抑制缺氧小鼠神经细胞的凋亡,诱导其神经元增殖和分化来实现。另外,EPO 可使抑凋亡基因 BCLXL 的表达增加,并能使促凋亡基因的表达减少;(2)降低兴奋性神经递质的毒性。谷氨酸是脑内正常的兴奋性神经递质,脑缺氧缺血后能量代谢障碍可导致谷氨酸大量释放,应用 EPO 后能够减少神经元释放谷氨酸,从而减轻缺血导致的神经损伤;(3)减轻炎症反应,缺氧损伤后的大脑会释放大炎症因子和介质,EPO 有抗炎作用,通过增强血脑屏障的稳定来减轻炎症反应。

传统认为 EPO 作为一个大分子不易透过血脑屏障,但是缺氧缺血脑损伤的小鼠在使用 EPO 后小鼠在迷宫中的反应变好,觅水反射好于未使用 EPO 组,证明 EPO 明显提高了小鼠的远期行为,改善了空间记忆能力,并且组织学检查发现海马的神经元数量增加。进一步研究发现 EPO 通过毛细血管内皮细胞转运到大脑从而影响脑功能;动物研究证实静脉注射 EPO 后脑脊液中的 EPO 浓度也增加^[12]。Xiong 等报道,用生物素标记 rhEPO 给小鼠腹腔单次注射每周 $5\,000\text{ U} \cdot \text{kg}^{-1}$,5 h 后取脑组织进行免疫组化检查发现生物素标记的 rhEPO 在脑组织中出现,并主要分布在脑组织血管周围,这些实验结果均证明 EPO 能透过动物的血脑屏障^[13]。国内王迎红等^[14]也临床证实由于早产儿给予 EPO 后其脑脊液中 EPO 的浓度会增加,表明 EPO 可以通过早产儿不成熟的血脑屏障而到达神经系统。

Fang 等^[15]认为 EPO 通过血脑屏障需要较高和稳定的血药浓度,一般需要大于治疗贫血的普通剂量才能达到神经保护的效果。本研究通过在第 5 d 静脉注射 rhEPO 到早产儿,观察其对早产儿的神

经发育方面的作用,在纠正胎龄 40 周时的检查 NBNA 评分,结果表明 rhEPO 组明显高于对照组($P < 0.05$),并且随着 rhEPO 剂量的增大,NBNA 评分越高,但是中剂量组和大剂量组差异没有统计学意义,表明 rhEPO 对早产儿有一定的神经保护作用,并不会无限随着剂量增加而加强;生后 6、12 月对 2 组患儿进行 Gesell 发育量表评价,6 月时 rhEPO 大运动和适应能力优于对照组,高剂量组优于对照组;12 个月时较 rhEPO 优于对照组;12 个月时中剂量组亦高于对照组,2 组比较差异有统计学意义,并且大剂量优于低剂量组,差异有统计学意义,中剂量组和高剂量组比较没有统计学意义上的差异;治疗 6 月龄时小剂量组,中剂量组语言能力与对照组比较没有差异,在 12 月时中剂量组、大剂量组比较对照组比较有显著差异,这表明 rhEPO 对中枢神经系统比较发育有重要作用^[16]。本研究结果表明治疗早产儿贫血剂量的 EPO 对神经发育的改善作用有限,而选用更大剂量的 EPO 效果更好。本研究中剂量和大剂量组有些项目没有差异,也有可能是剂量差距仅仅只有 500 U ,如果大剂量增加到 $2\,500 \sim 3\,000\text{ U} \cdot \text{周}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$,也有可能效果更好。但是,多大剂量是最佳剂量,仍需进一步评估远期疗效,并直到青春期。

有研究表明 rhEPO 在早产儿视网膜病(ROP)的发病机制中起双向作用,生后早期($<14\text{ d}$ 使用减少 ROP 的发病率,而在晚期使用($>14\text{ d}$)会增加 ROP 的发生率,本研究采用生后早期(第 5 d)使用,远期没有观察到不良副作用^[17]。

综上所述,本研究表明在早产儿的早期应用 rhEPO,可提高 NBNA、Gesell 评分,改善远期中枢神经系统的发育,且并不增加 ROP 的发生率,在临床大规模使用前尚需要进一步做多中心、大样本的研究,最佳合适剂量仍需进一步探索,在实施过程应进行更详细的分组研究:譬如按早产儿胎龄不同分组,尽可能减少胎龄的差距、脑功能不同分组,排除宫内感染所造成的损伤;选择合适的疗效判定标准,并坚持随访智力发育,认知功能,社交功能到青春期。

参 考 文 献

- [1] Zhou TF, Yu JG. Recombinant human erythropoietin attenuates neuronal apoptosis and cognitive defects via JAK2/STAT3 signaling in experimental endotoxemia[J]. J Surg Res, 2013, 183(1):304-312.

血浆胱氨酸蛋白酶抑制剂 C 水平与 脑小血管病关系的研究

李强 孙翠梅 刘建强 薛浩

【摘要】 目的 探讨血浆胱氨酸蛋白酶抑制剂 C(胱抑素 C)水平与脑小血管病(cerebral small vessel disease,CSVD)的关系。**方法** 选取经 MRI 确诊的脑小血管病患者(观察组)61 例及同期 MRI 检查正常者(对照组)53 例,采用颗粒增强免疫比浊法测定观察组和对对照组胱抑素 C 水平,并且对胱抑素 C 水平与脑小血管病的相关性进行分析。**结果** 脑小血管病患者胱抑素 C 水平显著高于对照组($P<0.01$);进行多因素 logistic 回归分析显示,Cys C 水平升高与 CSVD 的发生显著相关(OR 5.978,95% CI 4.847 - 11.471, $P<0.01$)。**结论** Cys C 水平升高是 CSVD 发生的独立危险因素,可以预测 CSVD 发生的危险性。

【关键词】 脑小血管病 小动脉硬化 胱氨酸蛋白酶抑制剂 C

【中图分类号】 R743 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1007-0478(2016)01-0012-03

【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2016.01.004

The clinical research on level of plasma cystatin C in small vessel disease Li Qiang, Sun Cuimei, Liu Jian-qiang, et al. Central Hospital of Zibo City, Zibo 255036

【Abstract】 Objective To observe the correlation between plasma Cystatin C(Cys C) and the cerebral small vessel disease(CSVD). **Methods** 61 patients with cerebral small vessel disease diagnosed by MRI and 53 healthy subjects were recruited in this study. Level of Cys C was tested by particle enhanced immune nephelo-

作者单位: 255036 山东省淄博市中心医院神经内科[李强 孙翠梅(通信作者) 刘建强 薛浩]

[2] Elmahdy H,El-Mashad AR,El-Bahrawy H,et al. Human re-combinant erythropoietin in asphyxia neonatorum: pilot trial [J]. Pediatrics,2010,125(5):e1135-e1142.

[3] Bendix I,Schulze C,Haefen Cv,et al. Erythropoietin modulates autophagy signaling in the developing rat brain in an in vivo model of oxygen-toxicity[J]. Int J Mol Sci,2012,13(10):12939-12951.

[4] Turner JD,Mammis A,Prestigiacomo CJ. Erythropoietin for the treatment of subarachnoid hemorrhage: a review [J]. World Neurosurg,2010,73(5):500-507.

[5] Fan X, Van Bel F, Van Der Kooij MA, et al. Hypothermia and erythropoietin for neuroprotection after neonatal brain damage [J]. Pediatr Res,2013,73(1):18-23.

[6] Springborg JB, M?ller C, Gideon P, et al. Erythropoietin in patients with aneurysmal subarachnoid haemorrhage: a double blind randomised clinical trial [J]. Acta Neurochir (Wien), 2007,149(11):1089-1101; discussion 1101.

[7] Tseng MY, Hutchinson PJ, Richards HK, et al. Acute systemic erythropoietin therapy to reduce delayed ischemic deficits following aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a Phase II randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Clinical article [J]. J Neurosurg,2009,111(1):171-180.

[8] Wu YW, Bauer LA, Ballard RA, et al. Erythropoietin for neuroprotection in neonatal encephalopathy: safety and pharmacokinetics[J]. Pediatrics,2012,130(4):683-691.

[9] Kumral A, Tüzün F, Oner MG, et al. Erythropoietin in neonatal brain protection: the past, the present and the future [J]. Brain Dev,2011,33(8):632-643.

[10] Müller B, Evangelopoulos DS, Bias K, et al. Can S-100B serum protein help to save cranial CT resources in a peripheral trauma centre? A study and consensus paper [J]. Emerg Med J, 2011,28(11):938-940.

[11] Hempel C, Hyttel P, Staalsø T, et al. Erythropoietin treatment alleviates ultrastructural myelin changes induced by murine cerebral malaria [J]. Malar J,2012,11:216.

[12] Wojtczak-Soska K, Lelonek M. S-100B protein: An early prognostic marker after cardiac arrest [J]. Cardiol J,2010,17(5):532-536.

[13] Xiong T, Qu Y, Mu D, et al. Erythropoietin for neonatal brain injury: opportunity and challenge [J]. Int J Dev Neurosci, 2011,29(6):583-591.

[14] 王迎红,朱长连. 促红细胞生成素通过早产儿脑脊液屏障的观察 [J]. 实用儿科临床杂志,2005,20(10):1005-1006.

[15] Fang AY, Gonzalez FF, Sheldon RA, et al. Effects of combination therapy using hypothermia and erythropoietin in a rat model of neonatal hypoxia-ischemia [J]. Pediatr Res,2013,73(1):12-17.

[16] Zhu C, Kang W, Xu F, et al. Erythropoietin improved neurologic outcomes in newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy [J]. Pediatrics,2009,124(2):e218-e226.

[17] 刘后存, 闫平. 促红细胞生成素对改善早产儿脑损伤的效果研究 [J]. 中国医药导报,2014,11(12):60-63.

(2015-03-27 收稿 2015-10-15 修回)