

激活素 A 对胎龄小于 34 周早产儿脑损伤的早期预测价值

黄玮玲 卢红艳 王秋霞 常 明 张 强

摘 要 **目的** 探讨脐血及羊水激活素 A 对早产儿脑损伤的早期预测价值。**方法** 选取早产儿 98 例,根据头颅影像学检查分为脑损伤组和无脑损伤组(对照组),其中脑损伤组又分为轻度脑损伤组和重度脑损伤组。采用酶联免疫吸附试验检测脐血及羊水激活素 A 水平,并比较脐血、羊水激活素 A 水平在脑损伤组和对照组、轻度和重度脑损伤组之间的差异。**结果** 脑损伤组脐血及羊水激活素 A 水平均明显高于对照组($P < 0.05$)。重度脑损伤组脐血及羊水激活素 A 水平均明显高于轻度脑损伤组($P < 0.05$)。以 27.49ng/dl 为截断值,脐血激活素 A 预测脑损伤的敏感度为 86.8%,特异性为 91.7%。羊水激活素 A 以 28.33ng/dl 为截断值预测脑损伤的敏感度为 68.4%,特异性为 73.3%。**结论** 激活素 A 对早产儿脑损伤的早期预测及严重程度评估具有一定价值。

关键词 激活素 A 脑损伤 早产儿

中图分类号 R72

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.06.025

Predictive Value of Activin A in Early Brain Injury in Preterm Infants. Huang Weiling, Lu Hongyan, Wang Qiuxia, et al. Department of Pediatrics, Affiliated Hospital of Jiangsu University, Jiangsu 212000, China

Abstract **Objective** To explore the predictive value of umbilical cord blood and amniotic fluid activin A in early brain injury in preterm infants. **Methods** Totally 98 cases of premature infants were divided into brain injury group and control group according to the cranial imaging examination, and the brain injury group was further divided into mild brain injury group and severe brain injury group. Activin A levels of umbilical cord blood and amniotic fluid were detected by ELISA, then the comparisons of activin A levels between brain injury group and control group, mild and severe brain injury group were implemented, to finding out their differences. **Results** Activin A levels of umbilical cord blood and amniotic fluid in brain injury group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). Activin A levels of umbilical cord blood and amniotic fluid in the severe brain injury group were significantly higher than in the mild brain injury group ($P < 0.05$). At a cut-off of 27.49ng/dl, the sensitivity and specificity of cord blood Activin A in predicting premature brain injury were 86.8% and 91.7%, respectively. At a cut-off of 28.33ng/dl, the sensitivity and specificity of amniotic fluid activin A in predicting premature brain injury were 68.4% and 73.3%, respectively. **Conclusion** Activin A may have a certain value for the early prediction and severity assessment of brain injury in preterm infants.

Key words Activin A; Brain injury; Premature infants

早产儿脑发育不成熟,易受各种高危因素影响而发生脑损伤。早产儿脑损伤是早产儿死亡和遗留神经系统后遗症的重要原因。早期预测脑损伤并及时干预,对提高早产儿生存质量具有重要意义。目前,影像学检查是诊断早产儿脑损伤的主要手段。近年,寻找特异而敏感的脑损伤生物学标志物成为研究热

点。激活素 A 是转化生长因子(TGF- β)超家族成员,在脑损伤早期,激活素 A 在脑脊液、血清及尿液中的水平即明显增高,激活素 A 可能是早期预测新生儿脑损伤的敏感标志物^[1-3]。目前联合脐血及羊水激活素 A 水平研究早产儿脑损伤的报道甚少,本研究通过检测脐血及羊水激活素 A 水平,探讨激活素 A 对早产儿脑损伤的早期预测价值,旨在为早产儿脑损伤的早期干预提供有力依据。

资料与方法

1. 临床资料:研究对象为 2013 年 8 月~2015 年 12 月在江苏大学附属医院产科分娩的胎龄 < 34 周的单胎早产儿。排除遗传代谢疾病、神经系统畸形、神

基金项目:江苏省科技创新与成果转化专项基金资助项目(生命健康科技 BL2012058)

作者单位:212000 镇江,江苏大学附属医院儿科(黄玮玲、卢红艳、王秋霞、常明、张强);437100 咸宁市中心医院、湖北科技学院附属第一医院新生儿科(黄玮玲)

通讯作者:卢红艳,电子邮箱:lhy5154@163.com

经系统感染性疾病。本研究经江苏大学附属医院医学伦理委员会批准,患儿家属均知情同意。

2. 脐血及羊水激活素 A 检测:分娩时经无菌技术穿刺抽取羊水 2ml,胎儿娩出、新生儿第 1 次自主呼吸建立前用预先肝素化处理的注射器采集脐血 2ml。所有标本抽取后置于未加抗凝剂的试管中,室温放置,0.5h 内放入离心机,3000r/min 离心 10min,取上清液置 -80℃ 冰箱保存待测。羊水及脐血激活素 A 水平检测采用酶联免疫吸附(ELISA)法,试剂盒由 RayBiotech 公司提供,操作步骤严格按说明书由专人完成。

3. 早产儿脑损伤的影像学检查:所有早产儿生后 3 天内行首次头颅超声检查,后隔周复查 1 次,直至出院。对头颅超声未见异常,但疑有颅内病变者依据患儿病情,生后 1 周~1 个月行头颅 MRI 或 CT 检查进一步确诊是否存在脑损伤。早产儿脑损伤可分为^[4]:①颅内出血:包括脑室内出血(intraventricular hemorrhage, IVH)、蛛网膜下腔、小脑、基核及脑桥等出血;②脑室周围白质软化(periventricular leukomalacia, PVL);③其他如脑梗死等。脑梗死早期在超声中表现为梗死部位呈强回声反射,晚期则呈现低回声或无回声^[5]。因头颅 MRI 是诊断脑梗死的金标准,故所有头颅超声疑似脑梗死者均行头颅 MRI 检查确诊。有上述改变之一者均纳入脑损伤组。

4. IVH、PVL 分级与分度:根据 Papile 分类法对 IVH 进行分级^[6],Ⅰ级:单或双侧室管膜下生发层基质出血;Ⅱ级:室管膜下出血冲破室管膜,引起脑室内出血,但无脑室增大;Ⅲ级:脑室内出血伴脑室增大;Ⅳ级:脑室内出血伴脑室周围出血性梗死。Ⅰ~Ⅱ级为轻度 IVH,Ⅲ~Ⅳ级为重度 IVH。采用 devries 分级法对 PVL 进行分级,Ⅰ级:脑室周围局部回声增强持续或>7 天,其后无囊腔出现;Ⅱ级:脑室周围局部回声增强,其后转变为局部小囊腔改变;Ⅲ级:脑室周围广泛性回声增强,其后转变为广泛性囊腔改变;Ⅳ级:脑室周围广泛性回声增强,并涉及皮质下浅表白质,其后转变为脑室周围和皮质下浅表白质弥漫性囊腔改变。Ⅰ~Ⅱ级为轻度 PVL,Ⅲ~Ⅳ级为重度 PVL^[7,8]。

5. 统计学方法:采用 SPSS 17.0 统计软件对数据进行处理,资料均以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)或例数表示,组间比较采用 *t* 检验或 χ^2 检验。应用受试者工作特征(ROC)曲线分析激活素 A 预测早产儿脑损伤的敏感度、特异性。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学

意义。

结 果

1. 对照组与脑损伤组一般情况比较:本研究纳入早产儿共 98 例,其中男性 57 例,女性 41 例,平均出生体重 1928 ± 331 g,平均胎龄 32.6 ± 1.2 周。根据颅脑影像学检查结果,分为对照组 60 例,脑损伤组 38 例。脑损伤组中 IVH 患儿 23 例,其中轻度 IVH 17 例,重度 IVH 6 例;PVL 患儿 10 例,其中轻度 PVL 8 例,重度 PVL 2 例;脑白质损伤伴颅内出血 3 例,小脑出血 1 例,脑梗死 1 例。两组间的性别、出生体重、胎龄比较,差异无统计学意义($P > 0.05$,表 1)。

表 1 对照组与脑损伤组一般情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	男性	女性	出生体重(g)	胎龄(周)
对照组	60	34	26	1930 ± 322	32.7 ± 1.1
脑损伤组	38	23	15	1925 ± 350	32.3 ± 1.2
<i>t</i> / χ^2		0.142		0.061	1.870
<i>P</i>		0.706		0.952	0.065

2. 对照组与脑损伤组激活素 A 水平比较:脑损伤组脐血及羊水激活素 A 水平明显高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$,表 2)。

表 2 对照组与脑损伤组激活素 A 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	脐血(ng/dl)	羊水(ng/dl)
对照组	60	24.20 ± 4.20	25.78 ± 6.59
脑损伤组	38	29.20 ± 5.16	32.57 ± 7.97
<i>t</i>		5.250	4.578
<i>P</i>		0.000	0.000

3. 轻度与重度脑损伤组激活素 A 水平比较:将轻度 IVH 和轻度 PVL 归为轻度脑损伤组,重度 IVH 和重度 PVL 归为重度脑损伤组,比较两组间脐血及羊水激活素 A 水平,结果重度脑损伤组明显高于轻度脑损伤组,差异有统计学意义($P < 0.05$,表 3)。

表 3 轻度、重度脑损伤组激活素 A 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	脐血(ng/dl)	羊水(ng/dl)
轻度脑损伤组	25	27.87 ± 5.68	30.29 ± 7.86
重度脑损伤组	8	32.89 ± 2.38	38.86 ± 6.89
<i>t</i>		2.407	2.757
<i>P</i>		0.022	0.010

4. 激活素 A 对早产儿脑损伤的预测价值:应用 ROC 曲线分析发现,脐血激活素 A 预测早产儿脑损

伤的敏感度为 86.8% ,特异性为 91.7% ;羊水激活素 A 预测早产儿脑损伤的敏感度为 68.4% ,特异性为 73.3% (表 4)。

表 4 激活素 A 对早产儿脑损伤的预测价值					
激活素 A	截断值 (ng/dl)	敏感度 (%)	特异性 (%)	曲线下面积 (AUC)	P
脐血	27.49	86.8	91.7	0.860	0.000
羊水	28.33	68.4	73.3	0.739	0.000

讨 论

早产儿脑损伤是早产儿常见并发症,是婴儿时期致残的主要原因,脑室内出血和脑室周围白质软化是其最常见的两种类型^[9]。Douglas – Escobar 等^[10]报道,20% ~25% 体重 <1500g 的早产儿会发生脑室内出血。PVL 好发于出生胎龄 <34 孕周的早产儿,发生率为 2.3% ~7.5%^[11-13]。

激活素 A 在机体的许多组织和细胞上均有表达,孕期可由胎盘和胎膜分泌至母体循环和羊水中,生理作用广泛,参与调节胚胎发育、免疫调控、组织损伤和炎症修复等多种生理过程,因此成为近年备受关注的细胞因子之一^[14]。田安好等^[15]利用新生大鼠制备缺氧缺血性脑损伤模型,发现脑损伤组大鼠脑组织激活素 A 的表达较正常组明显增高。Florio 等^[2]研究发现,缺氧缺血性脑病(HIE)患儿脐血激活素 A 水平明显高于对照组,且病情越严重,激活素 A 水平越高,以 66ng/dl 为截断值,激活素 A 预测 HIE 的敏感度为 93.33% ,特异性为 96.63% 。

本研究发现,脑损伤组脐血激活素 A 水平明显高于对照组,以 27.49ng/dl 为截断值,脐血激活素 A 预测早产儿脑损伤的敏感度为 86.8% ,特异性为 91.7% ,提示脐血激活素 A 可用于早期预测早产儿脑损伤,其预测脑损伤的敏感度和特异性均较高。研究还发现,脑损伤组早产儿羊水激活素 A 水平明显高于对照组,以 28.33ng/dl 为截断值,羊水激活素 A 预测早产儿脑损伤的敏感度为 68.4% ,特异性为 73.3% 。胎盘组织分泌的激活素 A 在胎儿 – 胎盘单位血氧不足的病理情况下明显升高^[16]。方渝等^[14]研究显示,胎儿窘迫组患儿羊水激活素 A 水平明显高于正常分娩组。提示羊水激活素 A 可作为一项敏感的生化指标,早期反映早产儿脑损伤及潜在的低氧血症。激活素 A 在脐血与羊水中表达量不同,羊水中表达量偏高,可能与羊水中激活素 A 一部分来自胎盘和胎膜的渗透有关。孙荣青等^[17]研究发现,患

者脑损伤后血清激活素 A 水平短时间内升高,脑损伤程度越重,其水平越高。

本研究发现,重度脑损伤组脐血及羊水激活素 A 水平均明显高于轻度脑损伤组,与文献报道一致,提示激活素 A 水平还可反映脑损伤严重程度。研究已证实,外源性激活素 A 对新生大鼠缺氧缺血性脑损伤后的神经元具有保护作用^[18]。鉴于激活素 A 具有诱发炎症效应和抑制炎症反应双重作用,早产儿脑损伤后内源性激活素 A 表达增加,推测可能与组织损伤和炎症修复有关^[19]。Sannia 等^[3]研究显示,在生后 0 ~72h 的各时间点,IVH 组早产儿尿激活素 A 水平均明显高于对照组,提示尿激活素 A 水平亦可反映早产儿脑损伤。脐血及尿标本容易获取、对新生儿无创,且脐血激活素 A 预测早产儿脑损伤的敏感度及特异性均较高,因此,可作为未来研究的一个方向。

综上所述,脑损伤组脐血及羊水激活素 A 水平均明显高于对照组,脑损伤越严重,激活素 A 水平越高,激活素 A 在脑损伤后表达改变,很可能是脑损伤与修复的内源性机制之一。因此,激活素 A 作为一种敏感的生化指标,对早期预测早产儿脑损伤、评估脑损伤严重程度具有一定价值。

参考文献

- 1 Lv H,Wang Q,Wu S,*et al.* Neonatal hypoxic ischemic encephalopathy – related biomarkers in serum and cerebrospinal fluid[J]. Clin Chem Acta,2015,450: 282 – 297
- 2 Florio P,Frigiola A,Battista R,*et al.* ActivinA in asphyxiated full – term newborns with hypoxic ischemic encephalopathy[J]. Front Biosci(Elite Ed),2010,2:36 – 42
- 3 Sannia A,Zimmermann LJ,Gavilanes AW,*et al.* Elevated Activin A urine levels are predictors of intraventricular haemorrhage in preterm newborns[J]. Acta Paediatr, 2013,102(10):e449 – 454
- 4 刘敬,杨于嘉,封志纯.“早产儿脑损伤诊断与防治专家共识”解读[J]. 中国当代儿科杂志,2012,14(12): 885 – 887
- 5 黄万杰,薛辛东. 新生儿脑梗死的研究进展[J]. 国际儿科学杂志,2009,36: 7 – 10
- 6 Papile LA,Burstein,Burstein R,*et al.* Incidence and evaluation of subependymal and intraventricular hemorrhage;a study of infants with birth weight less than 1500g[J]. J Pediatr,1978,92:529 – 534
- 7 Devries LS,Eken P,Dubowitz LMS. The spectrum of leukomalacia using cranial ultrasound[J]. Behav Brain Res,1992,49(1):1 – 6
- 8 常立文,刘敬,李文斌. 早产儿缺氧缺血性脑损伤的诊断与分度探讨[J]. 中国当代儿科杂志,2007,9(4):293 – 296
- 9 de Bruine FT,van den Berg – Huysmans AA,Leijser LM,*et al.* Clinical implications of MR imaging findings in the white matter in very preterm infants: a 2 – year follow – up study[J]. Radiology,2011,261(3): 899 – 906

(下转第 113 页)

控关系,即每个 miRNA 均调控不止 1 个 mRNA,而每个 mRNA 均受到不止 1 个 miRNA 的调控。关键 miRNAs 中的 miR - 148b - 5p 可以调控这 6 个靶基因,另外有 5 个 miRNAs (miR - 181a - 5p、miR - 221 - 3p、miR - 222 - 3p、miR - 301a - 3p、miR - 320c) 分别交叉调控这 6 个关键靶基因。通过初步得到的数据,笔者推测这些 miRNAs 和 mRNAs 可能和先天性小耳畸形的发病存在某种联系,但这种联系到底是如何产生作用的,还需要对这些 miRNAs 和 mRNAs 进行进一步的研究。今后实验将针对筛选出来的具有差异表达的 miRNAs 和 mRNAs 在大样本中采取实时荧光定量 PCR 及 Western blot 法实验进一步验证,并采取进一步的动物实验验证这些 miRNAs 和 mRNAs 的生物意义及作用机制。

参考文献

- 1 陈佳鹏,张蕾,陈功,等. 中国 1993 - 1998 年出生缺陷检测能力分析[J]. 中华流行病学杂志,2006,27(5):392 - 395
- 2 Lim LP, Glasner ME, Yekta S, *et al.* Vertebrate microRNA genes[J]. Science,2003,299(5612):1540
- 3 Tavazoie SF, Alarcón C, Oskarsson T, *et al.* Endogenous human microRNAs that suppress breast cancer metastasis[J]. Nature,2008,451(7175):147 - 152
- 4 Huang S, Wu S, Ding J, *et al.* MicroRNA - 181a modulates gene expression of zinc finger family members by directly targeting their coding regions[J]. Nucleic Acids Res,2010,38(20):7211 - 7218
- 5 Ji J, Yamashita T, Budhu A, *et al.* Identification of microRNA - 181 by genome - wide screening as a critical player in EpCAM - positive hepatic cancer stem cells[J]. Hepatology,2009,50(2):472 - 480
- 6 Pan Q, Luo X, Toloubeydokhti T, *et al.* The expression profile of micro - RNA in endometrium and endometriosis and the influence of ovarian steroids on their expression[J]. Mol Hum Reprod,2007,13(11):797 - 806
- 7 Li YG, Zhang PP, Jiao KL, *et al.* Knockdown of microRNA - 181 by lentivirus mediated siRNA expression vector decreases the arrhythmo-

genic effect of skeletal myoblast transplantation in rat with myocardial infarction[J]. Microvasc Res, 2009,78(3):393 - 404

- 8 Shin KH, Bae SD, Hong HS, *et al.* miR - 181a shows tumor suppressive effect against oral squamous cell carcinoma cells by downregulating K - ras[J]. Biochem Biophys Res Commun,2011,404(4):896 - 902
- 9 李丹,郑高明. MiR - 221/222 表达与甲状腺癌临床病理特征的关系[J]. 中国医师杂志,2015,17(7):981 - 983
- 10 王鹏飞,黎文汉,洪顺明,等. MiR - 221/222 激活 Akt 通路增加恶性胶质瘤的放射抗性[J]. 中华放射医学与防护杂志,2015,35(3):177 - 182
- 11 刘友平,段春燕,陈川宁,等. MiR - 221/222 在肝癌细胞抵抗内质网应激凋亡中的作用[J]. 中华肝脏病杂志,2015,19(3):191 - 195
- 12 Polisenio L, Tuccoli A, Mariani L, *et al.* MicroRNAs modulate the angiogenic properties of HUVECs[J]. Blood,2006,108(9):3068 - 3071
- 13 Minami Y, Satoh M, Maesawa C, *et al.* Effect of atorvastatin on microRNA 221/222 expression in endothelial progenitor cells obtained from patients with coronary artery disease[J]. Eur J Clin Invest,2009,39(5):359 - 367
- 14 Shi W, Gerster K, Alajez NM, *et al.* MicroRNA - 301 mediates proliferation and invasion in human breast cancer[J]. Cancer Res,2011,71:2926 - 2937
- 15 蔡皎,李小娟,朱宝益,等. 微小 RNA - 301 a 介导高糖促进前列腺癌细胞周期 G₁/S 时相转换[J]. 中华实验外科杂志,2013,30(9):1927 - 1929
- 16 Sandhu R, Rivenbark AG, Coleman WB. Loss of post - transcriptional regulation of DNMT3b by microRNAs: a possible molecular mechanism for the hypermethylation defect observed in a subset of breast cancer cell lines[J]. Int J Oncol,2012,41(2):721 - 732
- 17 Hafliadottir BS, Berqsteinsdottir K, Praetorius C, *et al.* MiR - 148 regulates Mitf in melanoma cells[J]. PLoS One,2010,5(7):e11574
- 18 郝余庆,蒋徐维,徐玉振. MicroRNA - 148b 在肝细胞癌组织中的表达及其临床意义[J]. 中国临床医学,2015,22(4):471 - 474

(收稿日期:2016 - 12 - 17)

(修回日期:2016 - 12 - 27)

(上接第 101 页)

- 10 Douglas - Escobar M, Weiss MD. Biomarkers of brain injury in the premature infant[J]. Front Neurol,2012,3:185
- 11 陈惠金,魏克仑,姚裕家,等. 我国早产儿脑室周围白质软化发生率的多中心调查报告[J]. 中国当代儿科杂志,2008,10(6):686 - 692
- 12 姚裕家. 早产儿脑损伤的病因及病理生理机制研究进展[J]. 临床儿科杂志,2006,24(3):166 - 167
- 13 Hernández - Cabrera MA, Flores - Santos R, García - Quintanilla JF, *et al.* Periventricular leukomalacia prevalence in premature newborn[J]. Rev Med Inst Mex Seguro Soc,2009,47(2):147 - 150
- 14 方渝,徐志康,刘艳丽,等. 母血、脐血、羊水中激活素 A 水平对胎儿窘迫预测价值[J]. 中华实用诊断与治疗杂志,2011,25(6):560 - 561

- 15 田安好,赵薇,张蕾,等. 卵泡抑素、激活素 A 与 BMP - 4 在缺血缺氧性脑损伤大鼠脑组织中的表达[J]. 四川大学学报,2014,45(5):772 - 776
- 16 董燕,王临艳,何晓春,等. 激活素 A 预测急性胎儿窘迫的价值[J]. 中国妇幼保健,2016,31(5):1082 - 1083
- 17 孙荣青,史晓奕,杨宏富. 脑损伤程度与激活素 A 和 C - 反应蛋白表达的相关性研究[J]. 中华危重病急救医学,2013,25(11):682 - 684
- 18 Xu G, He J, Guo H, *et al.* Activin A prevents neuron - like PC12 cell apoptosis after oxygen - glucose deprivation[J]. Neural Regen Res, 2013,8(11):1016 - 1024
- 19 章易琳,倪观太. 激活素 A 与绒毛膜羊膜炎关系研究进展[J]. 医学综述,2010,16(8):1130 - 1133

(收稿日期:2016 - 10 - 26)

(修回日期:2016 - 11 - 05)