

· 论 著 ·

脑脊液中 cAMP 浓度与新生儿窒息后 脑损伤关系的临床研究

刘汉楚, 常立文, 陈晔, 夏世文

(华中科技大学同济医学院附属同济医院儿科, 湖北 武汉 430030)

【摘 要】 目的 脑细胞能量衰竭被认为是新生儿缺氧缺血性脑病(HIE)的重要发病机制之一, 但如何评价其与脑损伤的关系报道较少。本研究通过检测窒息新生儿脑脊液(CSF)中环一磷酸腺苷(cAMP)的浓度变化以探讨其与脑损伤的关系。方法 36例足月新生儿, 中-重度HIE 12例, 轻度HIE 13例, 无HIE(对照组)11例。于生后36~72 h内取CSF和血液, 放免法测定cAMP浓度。出院患儿于半岁、1岁时随访, 运用贝利婴幼儿发展量表测定其智力发展指数(MDI)及精神运动发展指数(PDI)。结果 中-重度HIE组CSF中cAMP浓度 (8.60 ± 2.47) nmol/L, 低于轻度组 (14.83 ± 2.84) nmol/L和对照组 (24.43 ± 2.39) nmol/L, 差异有显著性意义($P < 0.01$); 轻度组的CSF cAMP浓度也低于对照组($P < 0.01$); 而血浆中cAMP浓度亦是中-重度HIE组最低, 对照组最高, 但轻度HIE组与对照组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。中-重度HIE组MDI和PDI分别为 84.79 ± 13.34 和 83.50 ± 13.28 , 低于轻度HIE组(102.19 ± 7.02 , 99.94 ± 9.08)和对照组(116.63 ± 12.08 , 116.69 ± 10.87), 差异均有显著性($P < 0.01$), 轻度HIE的MDI和PDI也小于对照组($P < 0.05$)。CSF中cAMP浓度与MDI及PDI呈高度正相关(r 分别为0.68, 0.75, P 均 < 0.01)。结论 CSF中cAMP浓度与缺氧性脑损伤关系密切, 可作为新生儿窒息后早期评估脑损伤和评价预后的敏感指标之一。 [中国当代儿科杂志, 2003, 5(5): 431-434]

【关 键 词】 窒息; 腺苷环一磷酸; 脑脊液; 婴儿, 新生

【中图分类号】 R722.12 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1008-8830(2003)05-0431-04

Relationship Between the cAMP Level in Cerebrospinal Fluid and Hypoxic Brain Damage Following Asphyxia in Newborns

Han-Chu LIU, Li-Wen CHANG, Ye CHEN, Shi-Wen XIA. Department of Pediatrics, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China (Email: liuhc266@hotmail.com)

Abstract: **Objective** Energy failure of cerebral cells was regarded as one of the main mechanisms that led to hypoxic-ischemic encephalopathy(HIE) in the asphyxiated newborn. Few reports have discussed how to assess the relationship between energy failure and brain damage. The aim of the study is to explore the relationship between 3', 5'-cyclin adenosine monophosphate (cAMP) and hypoxic brain damage by measuring the cAMP level in cerebrospinal fluid (CSF) of the asphyxiated newborn. **Methods** Thirty six full-term newborns were divided into three groups; moderate-severe HIE group ($n=12$), mild HIE group ($n=13$) and non-HIE group (control group, $n=11$). The levels of cAMP in CSF and plasma were measured by RIA between 36 hs and 72 hs after birth. The discharged newborns were followed up when they were 6 and 12 months old for measuring the mental development index (MDI) and psychomotor development index (PDI) by the Bayley Scales of Infant Development (BSID). **Results** The CSF cAMP level in the moderate-severe HIE group was (8.60 ± 2.47) nmol/L, significantly lower than that of the mild HIE group (14.83 ± 2.84) nmol/L and the control group (24.43 ± 2.39) nmol/L (both $P < 0.01$). There was a significant difference in the CSF cAMP level between the mild HIE group and control group ($P < 0.01$). The cAMP level in plasma in the moderate-severe group was the lowest, and that in the control group was the highest, but no significant difference was

[收稿日期] 2003-02-07; [修回日期] 2003-05-06

[基金项目] 湖北省重点科技发展计划项目(基金号:20002P1601)。

[作者简介] 刘汉楚(1959-),男,博士研究生,副主任医师。现在武汉市儿童医院工作。主攻方向:新生儿疾病。

[通讯作者] 刘汉楚,武汉市儿童医院,邮编:430016。

found between the mild HIE group and the control group. The results which were followed up showed that MDI and PDI of the moderate-severe HIE group were the lowest (84.79 ± 13.34 , 83.50 ± 13.28 , respectively); those of the mild HIE group were the second lowest (102.19 ± 7.02 , 99.94 ± 9.08 , respectively) and those of the control group were the highest (116.63 ± 12.08 , 116.69 ± 10.87 , respectively). There were significant differences among the three groups ($P < 0.01$). The cAMP level in CSF was significantly positively correlated to PDI and MDI ($r = 0.68$, $r = 0.75$, respectively, both $P < 0.01$).

Conclusions There is a significant correlation between the cAMP level in CSF and hypoxic-ischemic brain damage. So the cAMP level in CSF following neonatal asphyxia might be used as one of the sensitive markers in evaluating the severity of brain damage at an early stage and predicting the future outcome.

[Chin J Contemp Pediatr, 2003, 5(5): 431-434]

Key words: Asphyxia; 3', 5'-cyclin adenosine monophosphate; Cerebrospinal fluid; Infant, neonatal

围生期窒息所致缺氧缺血性脑病(hypoxic-ischemic encephalopathy, HIE)是严重威胁新生儿生命以及致残的常见原因。国内外研究已证实,围生期缺氧缺血性脑损伤是多种病理机制相互作用的结果。在诸多因素中,脑细胞能量衰竭被认为是首先发生的重要环节。能量产生障碍使细胞正常功能不能维持,各种损伤机制相继“瀑布”般发生,最终导致神经细胞不可逆损伤^[1]。最近国外学者研究发现,这种能量衰竭使脑组织环一磷酸腺苷(3', 5'-cyclin adenosine monophosphate, cAMP)明显减少,并可通过脑脊液(cerebrospinal fluid, CSF)的浓度变化检测出来^[2]。Pourcyrus等^[2]研究了窒息后CSF中cAMP的变化规律,发现窒息后前20 min cAMP迅速增高达正常3倍以上,20~40 min降至基线,恢复早期(60 min) cAMP又有所上升,继续恢复则cAMP降至基线50%左右而不再上升。若cAMP浓度持续较低,则预示脑损伤严重。本研究在窒息后恢复期(36~72 h)检测cAMP,正是利用这一机制。目前国内关于血清中cAMP浓度变化与脑损伤关系的研究较多,尚无CSF中cAMP浓度变化与脑损伤关系的报道。本研究通过测定窒息新生儿CSF中cAMP浓度,并对存活者进行1年随访,以期阐明cAMP浓度与脑损伤的关系及对预后的影响。

1 对象和方法

1.1 病例选择与分组

1999年10月至2000年4月我院新生儿病房日龄小于2 d的足月适于胎龄儿共36例,其中男28例,女8例;重度窒息13例,轻度窒息12例,无窒息11例。所有患儿于生后4~7 d行头颅CT(或B超)检查,中枢神经系统感染、出血性疾病等其他原因所致脑损伤患儿除外。根据1996年杭州新生儿会议上制定的HIE诊断标准^[3],结合病史、临床表现及头颅CT等检查,36例分为3组:中-重度HIE组12例,轻度HIE组13例,无HIE 11例。3组间

胎龄、日龄及出生体重,经方差分析无统计学差异。

1.2 标本采集

于生后36~72 h行腰椎穿刺,取CSF 0.5 ml,同时取静脉血1.5 ml,分别置入2支预冷的含有EDTA的试管中,静脉血立即混匀、低温离心、分离血浆,标本置-80℃冰箱中备检。

1.3 cAMP浓度检测

采用放射免疫法测定(试剂盒由法国IMMUNOTECH公司提供),按说明书操作,由γ-计数器计算结果。

1.4 脑损伤程度判断

据窒息史及临床表现、治疗效果,结合生后12~14 d新生儿行为神经测定(neonatal behavioral neurological assessment, NBNA)^[4]等综合评估。无HIE, NBNA ≥ 35 分为无脑损伤;重度HIE, NBNA < 35 分为重度脑损伤;轻度HIE, NBNA < 35 分为轻度脑损伤。出院患儿于半岁、1岁时随访,由专人运用贝利婴幼儿发展量表(Bayley scales of infant development, BSID)测定其智力发展指数(mental development index, MDI)及精神运动发展指数(psychomotor development index, PDI)。

1.5 统计学处理

所有数据用均数 $\pm$ 标准差表示,采用SAS软件系统行方差分析、q检验和相关分析。

2 结果

2.1 各组CSF、血浆中cAMP浓度变化

中-重度HIE患儿CSF、血浆cAMP浓度均低于对照组和轻度窒息组($P < 0.01$);其中轻度HIE患儿血浆中cAMP与对照组差异无显著性($P > 0.05$),CSF中cAMP浓度低于对照组($P < 0.01$)。见表1。

2.2 各组CSF、血浆中cAMP浓度变化与脑损伤及预后的关系

中-重度HIE组12例中,死亡3例,其中2例

CSF 中 cAMP 浓度较低;9 例存活者,生后 12~14 d NBNA (26.22 ± 3.95)最低,低于对照组 (38.46 ± 2.85)和轻度 HIE 组 (36.92 ± 3.76), $P < 0.01$ 。轻度 HIE 组的 NBNA 评分也低于对照组, $P < 0.05$ 。6,12 个月后中-重度 HIE 组的平均 MDI, PDI 明显低于轻度 HIE 组和对照组 ($P < 0.01$),其中 2 例 CSF 中 cAMP 浓度较低者,其 MDI 和 PDI 均明显低于该组平均水平,且出现脑性瘫痪、智力低下等。轻度 HIE 组的 MDI 和 PDI 也低于对照组 ($P < 0.05$)。见表 2。轻度 HIE 组无 1 例出现脑性瘫痪及智力障碍。CSF 中 cAMP 与 MDI, PDI 呈高度正相关 (r 分别为 0.68 和 0.75, P 均 < 0.01),见图 1。血浆中 cAMP 与 MDI, PDI 无明显相关性 (r 分别为 0.34 和 0.33, P 均 > 0.05),见图 2。

表 1 各组新生儿 CSF、血浆中 cAMP 浓度比较

Table 1 Comparison of levels of cAMP in CSF and plasma among 3 groups ($\bar{x} \pm s$, nmol/L)

组别	例数	CSF 浓度	血浆中浓度
对照组	11	24.43 ± 2.39	39.07 ± 8.69
轻度 HIE	13	14.83 ± 2.84^a	35.94 ± 7.35
中-重度 HIE	12	$8.60 \pm 2.47^{a,b}$	$28.76 \pm 7.32^{a,b}$

注: a 与对照组比较 $P < 0.01$; b 与轻度 HIE 组比较 $P < 0.01$

表 2 各组新生儿随访结果比较

Table 2 Comparison of MDI and PDI among 3 groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	MDI	PDI
对照组	8	116.63 ± 12.08	116.69 ± 10.87
轻度 HIE	8	102.19 ± 7.02^c	99.94 ± 9.08^c
中-重度 HIE	7	$84.79 \pm 13.34^{a,b}$	$83.50 \pm 13.38^{a,b}$

注: a 与对照组比较 $P < 0.01$; b 与轻度 HIE 组比较 $P < 0.01$; c 与对照组比较 $P < 0.05$

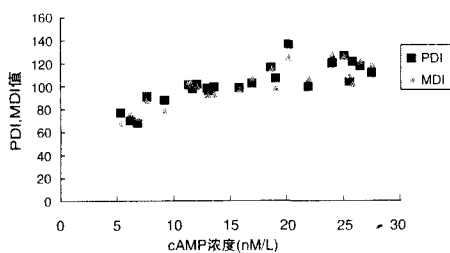


图 1 CSF 中 cAMP 浓度与 PDI 和 MDI 的关系

Figure 1 Relationship between the CSF cAMP levels and PDI, MDI scores

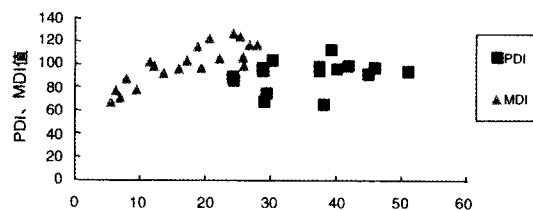


图 2 血浆中 cAMP 浓度与 PDI 和 MDI 的关系

Figure 2 Relationship between the cAMP levels in plasma and PDI, MDI scores

3 讨论

cAMP 是由 ATP 经腺苷酸环化酶 (adenylate cyclase, AC) 转化而来。除全身作用外,在中枢神经系统发挥重要作用:①参与中枢神经系统的突触传递过程;②影响神经细胞膜蛋白的结构和功能;③调节脑血管的舒缩功能:因为调节脑血管活性的多种生物活性物质(如前列腺素、脑内阿片类物质、血管加压素等)均是以 cAMP 作为第二信使参与调节。当 CSF 中 cAMP 减少时,以此作为第二信使的脑膜血管对刺激的扩张反应减弱,导致血管持续痉挛,脑组织缺血加重,影响神经系统功能和发育^[6,7]。窒息缺氧时 ATP 减少、AC 被抑制,即可导致脑组织 cAMP 减少,从而导致脑损伤。CSF 中 cAMP 是由神经元、神经胶质细胞、血管内皮细胞和血管平滑肌细胞主动转运而来,能量代谢障碍时此转运机制受阻。Parfenova 等^[8]研究发现,脑膜血管扩张与 CSF 中 cAMP 浓度呈显著正相关。本研究结果表明:中-重度 HIE 组 CSF 中 cAMP 浓度最低、临床症状重、死亡率高,远期随访 MDI 及 PDI 均较其它两组低,示脑损伤严重,且 CSF 中 cAMP 浓度与 MDI 及 PDI 呈高度正相关。轻度 HIE 组 cAMP 浓度高于中-重度组,则临床症状、转归、远期随访等均优于后者,与国外报道一致。

本研究同时发现血浆中 cAMP 浓度也是中-重度 HIE 组最低,但轻度组与对照组之间差异无显著性,且血浆中 cAMP 浓度与 MDI 及 PDI 无相关性。由于颅外器官耐受低氧能力较脑组织强,缺氧时可通过无氧酵解产生 ATP 而形成 cAMP;其它脏器病变(如心肌缺血性梗死^[9]),血浆中 ATP 或 cAMP 也会发生改变,从而影响 cAMP 浓度与 MDI 和 PDI 的相关性。因此,血浆中 cAMP 浓度测定虽然简单、损伤性小,但特异性较差。正如有些学者指出:血浆中 cAMP 浓度含量不单纯反映脑的改变,还与

其它脏器损害有关^[10]。

综上所述,CSF中cAMP浓度变化与窒息后脑损伤程度密切相关:浓度越低,脑损伤程度越重,且其特异性优于血浆cAMP浓度。因此,我们认为,CSF中cAMP浓度可作为早期评估缺氧缺血性脑损伤严重程度和判断预后的客观指标之一。

[参 考 文 献]

- [1] 周丛乐. 新生儿缺氧缺血性脑病时脑细胞能量代谢过程的监测[J]. 中国实用儿科杂志, 2000, 15(6): 330-331.
- [2] Pourcyrous M, Bada HS, Yang WJ, Parfenova H, Wong SP, Korones SB. Prognostic significance of cerebrospinal fluid cyclic adenosine monophosphate in neonatal asphyxia [J]. J Pediatr, 1999, 134(1): 90-96.
- [3] 中华医学会儿科分会新生儿学组. 新生儿缺氧缺血性脑病诊断依据和临床分度[J]. 中华儿科杂志, 1997, 35(2): 99-100.
- [4] 韩玉昆, 付文芳, 许植之. 实用新生儿急救指南[M]. 沈阳: 沈

阳出版社, 1997, 8-15.

- [5] 张澍. 现代儿科学[M]. 北京: 人民军医出版社, 1998, 76-80.
- [6] Zhang JH, Sato M, Duzic E, Kubalak SW, Lanier SM, Webb JG. Adenylyl cyclase isoforms and vasopressin enhancement of agonist-stimulated cAMP in vascular smooth muscle cells [J]. AM J Physiol, 1997, 273(Heart Circ Physiol. 42): H971-980.
- [7] Husson I, Mesplès B, Bac P, Vamecq J, Evrard P, Gressens P. Melatoninergic neuroprotection of the murine periventricular white matter against neonatal excitotoxic challenge [J]. Ann Neurol, 2002, 51(1): 82-92.
- [8] Parfenova H, Shibata M, Zuckerman S, Mirro R, Leffler CW. Cyclic nucleotides and cerebrovascular tone in newborn pigs [J]. AM J Physiol, 1993, 265(Heart Circ Physiol. 34): H1972-1982.
- [9] 兰晓莉, 兰继承, 周玲, 裴著果. 大鼠心肌缺血适应中cAMP含量变化观察[J]. 放射免疫学杂志, 2002, 15(2): 71-73.
- [10] 李善宗, 钱采韵. 缺血性脑卒中患者CSF cAMP、cGMP测定[J]. 中国神经精神疾病杂志, 1995, 21(4): 226-227.

(本文编辑: 俞燕)

(上接第430页)

现小鼠发生脑缺血损伤24h后脑组织中有TGF- β 1 mRNA表达, 且表达程度较高。证实TGF- β 1在动物缺血性脑损伤的发生、发展过程中起重要作用。有作者对人缺血性卒中脑组织的TGF- β 1 mRNA表达进行研究^[7], 在缺血性脑卒中病人死亡后24h内, 分别取大脑缺血区、半影区和病灶对侧的脑组织, 发现缺血梗塞区和半影区有高水平的TGF- β 1 mRNA表达, 以半影区最高, 而对侧正常脑组织中则很少。以上研究及本研究均证实TGF- β 1与脑损伤有关。但TGF- β 1参与脑损伤发生发展及抗损伤的具体作用及机制尚需进一步研究(图片见封II)。

[参 考 文 献]

- [1] Knuckey NW, Finch P, Palm DE, Primiano MJ, Johanson CE, Flanders KC, et al. Differential neuronal and astrocytic expression of transforming growth factor beta isoforms in rat hippocampus following transient forebrain ischemia [J]. Brain Res Mol Brain Res, 1996, 40(1): 1-14.
- [2] Krohn K, Rozovsky I, Wals P, Teter B, Anderson CP, Finch CE. Glial fibrillary acidic protein transcription responses to transforming growth factor-beta1 and interleukin-beta1 are mediated by

a nuclear factor-1-like site in the near upstream promoter [J]. J Neurochem, 1999, 72(4): 1353-1361.

- [3] Lehrmann E, Kiefer R, Finsen B, Diemer NH, Zimmer J, Hartung HP. Cytokines in cerebral ischemia: expression of transforming growth factor beta-1 (TGF-beta 1) mRNA in the postischemic adult rat hippocampus [J]. Exp Neurol, 1995, 131(1): 114-123.
- [4] Henrich-Noack P, Prehn JH, Kriegstein J. TGF-beta1 protects hippocampal neurons against degeneration caused by transient global ischemia. Dose-response relationship and potential neuroprotective mechanisms [J]. Stroke, 1996, 27(9): 1609-1615.
- [5] Ali C, Docagne F, Nicole O, Lesne S, Toutain J, Young A, et al. Increased expression of transforming growth factor-beta after cerebral ischemia in the baboon: an endogenous marker of neuronal stress? [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2001, 21(7): 820-827.
- [6] Martinez G, Carnazza ML, Giacomo CD, Sorrenti V, Vanella A. Expression of bone morphogenetic protein-6 and transforming growth factor- β 1 in the rat brain after a mild and reversible ischemic damage [J]. Brain Res, 2001, 894(1): 1-11.
- [7] Krupinski J, Kumar P, Kumar S, Kaluza J. Increased expression of TGF-beta1 in brain tissue after ischemic stroke in humans [J]. Stroke, 1996, 27(5): 852-857.

(本文编辑: 俞燕)