

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2014.07.010

论著·临床研究

## 促红细胞生成素对新生儿缺氧缺血性脑病患儿血清NSE和S-100B的影响

裴雪梅 高然 张国英 林菱 万胜明 邱素清

(南方医科大学附属宝安医院儿科, 广东 深圳 518101)

**[摘要]** **目的** 探讨促红细胞生成素(EPO)对缺氧缺血性脑病(HIE)患儿血清NSE、S-100B水平的影响及其作用机制。**方法** 40例HIE患儿随机分为常规治疗组(20例)和EPO治疗组(20例), EPO治疗组在常规治疗基础上于生后第2天加用EPO, 每日200 IU/kg静脉注入, 疗程7 d。另选择健康足月新生儿20例作为正常对照组。检测3组新生儿血清中NSE、S-100B的水平。**结果** 治疗前2组HIE患儿血清中NSE、S-100B的水平高于正常新生儿( $P<0.01$ ), 而2组HIE患儿之间血清中NSE、S-100B的水平差异无统计学意义( $P>0.05$ )。3组新生儿生后第9天血清NSE、S-100B水平均低于第1天水平( $P<0.01$ )。治疗后EPO治疗组血清NSE、S-100B水平低于常规治疗组( $P<0.05$ )。**结论** 动态检测血清中NSE、S-100B的水平, 可能有助于HIE的早期诊断和判断HIE脑损伤的修复程度; EPO可能对神经元及神经胶质细胞均有修复作用。

[中国当代儿科杂志, 2014, 16(7): 705-708]

**[关键词]** 促红细胞生成素; 新生儿缺氧缺血性脑病; 神经元特异性烯醇化酶; S-100B; 新生儿

### Effects of erythropoietin on serum NSE and S-100B levels in neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy

PEI Xue-Mei, GAO Ran, ZHANG Guo-Ying, LIN Ling, WAN Sheng-Ming, QIU Su-Qing. Department of Pediatrics, Bao'an Hospital Affiliated to Southern Medical University, Shenzhen, Guangdong 518101, China (Email: peixm163@163.com)

**Abstract: Objective** To study the effects of erythropoietin (EPO) on serum levels of neuron-specific enolase (NSE) and S-100B in neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy (HIE) and the underlying mechanism. **Methods** Forty neonates with HIE were randomly divided into conventional treatment ( $n=20$ ) and EPO treatment groups ( $n=20$ ). Twenty healthy full-term neonates born during the same period were randomly selected as the normal control group. The conventional treatment group received conventional treatment, while the EPO treatment group received conventional treatment as well as EPO [200 IU/(kg·d)] which was given by intravenous infusion from the second day after birth. The course of treatment was 7 days. Blood samples of the three groups were collected on the first day after birth (before treatment) and the ninth day after birth (after treatment). Serum levels of NSE and S-100B were measured by double-antibody sandwich ABC-ELISA. **Results** Before treatment, the two treatment groups had significantly higher serum NSE and S-100B levels than the normal control group ( $P<0.01$ ), whereas no significant differences in the levels of NSE and S-100B were observed between the conventional treatment and EPO treatment groups ( $P>0.05$ ). The serum NSE and S-100B levels on the ninth day after birth were significantly lower than those on the first day after birth in the three groups ( $P<0.01$ ). After treatment, the serum NSE and S-100B levels were significantly lower in the EPO treatment group than in the conventional treatment group ( $P<0.05$ ). **Conclusions** Dynamic monitoring of serum NSE and S-100B levels may be helpful for the early diagnosis of HIE and the assessment of brain injury repair in newborns with HIE. EPO may be helpful for the repair of neurons and glial cells. [Chin J Contemp Pediatr, 2014, 16(7): 705-708]

**Key words:** Erythropoietin; Hypoxic-ischemic encephalopathy; Neuron-specific enolase; S-100B; Newborn

[收稿日期] 2014-01-07; [接受日期] 2014-02-21

[作者简介] 裴雪梅, 女, 硕士研究生, 主治医师。

新生儿缺氧缺血性脑病(hypoxic-ischemic encephalopathy, HIE)是导致新生儿死亡和婴幼儿神经系统功能障碍的主要原因之一。近年来,促红细胞生成素(erythropoietin, EPO)被认为是最有前途的防治新生儿脑损伤的药物之一<sup>[1]</sup>,能促进HIE患儿神经功能的早期恢复<sup>[2]</sup>,并可减少HIE后遗症的发生<sup>[3]</sup>。但其作用机制尚不明确。神经元特异性烯醇化酶(neuron-specific enolase, NSE)是神经元的特异性生化标志物,S-100B是神经胶质细胞的标记蛋白,正常情况下,血中NSE和S-100B含量甚少,神经细胞损伤时含量增加,因此两者变化能及时反映神经细胞的受损状态。那么EPO对HIE的作用是否与NSE或S-100B有关呢?目前国内外未见有关报道。因此本研究拟通过检测HIE患儿EPO治疗前后血清中NSE、S-100B的变化,了解EPO对HIE的神经细胞是否有修复作用,探讨EPO治疗脑损伤的作用机制,为临床应用提供依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

为2012年5月至2013年8月入住我院的HIE患儿40例,诊断及分度参照HIE诊断标准和临床分度标准<sup>[4]</sup>。纳入病例符合下列条件:(1)入院日龄 $\leq 24$  h,出生体重 $\geq 2500$  g的足月新生儿;(2)无严重先天畸形,如膈疝、染色体异常或脑发育不全;(3)无头部产伤或颅骨骨折导致的大量颅内出血、无严重呼吸道阻塞性疾病、无贫血。排除标准:疗程小于7 d者,包括未开始治疗即死亡或放弃治疗者。

40例HIE患儿随机分为两组:常规治疗组和EPO治疗组(各20例)。另选择产科同期出生1 d的健康足月新生儿20例作正常对照组。

### 1.2 治疗方法

两组患儿常规治疗均根据新生儿HIE治疗方案<sup>[5]</sup>进行。EPO治疗组于出生后第2天给予EPO(雪达升重组人红细胞生成素注射液3000 IU/支,西林瓶包装,哈药集团生物工程有限公司提供),按每日200 IU/kg静脉注入,连续用药7 d。

### 1.3 标本采集

两组HIE患儿均于出生后第1天和第9天(即

EPO治疗前和治疗后)分别采集股静脉血3 mL,同时采取正常对照组新生儿股静脉血3 mL,置于无热原和内毒素的试管内,3000 rpm离心10 min,分离血清,去除溶血标本,每份血清分为两份,按组标记,-70℃冰箱保存待测。

### 1.4 血清NSE和S-100B检测

采用双抗体夹心ABC-ELISA法进行血清NSE和S100B的检测。ELISA试剂盒由上海恒远生物科技有限公司提供。

### 1.5 统计学分析

应用SPSS 20.0统计学软件进行统计学分析。计数资料采用卡方检验。计量资料用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,进行正态检验和方差齐性检验,两组间比较采用配对设计的 $t$ 检验,多组间比较采用单因素方差分析,均数的两两比较采用LSD检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 3组新生儿一般资料比较

常规治疗组20例(轻度6例,中度13例,重度1例),EPO治疗组20例(轻度7例,中度11例,重度2例),其中中重度HIE患儿为68%。两组患儿病情分度差异无统计学意义( $\chi^2 = 0.577$ ,  $P = 0.749$ );3组新生儿的性别、年龄、出生体重、胎龄、生产方式差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表1。

### 2.2 治疗前后HIE患儿和对照组血清NSE和S-100B水平的变化

治疗前2组HIE患儿血清中NSE、S-100B的水平高于正常对照组;而2组HIE患儿之间血清中NSE、S-100B的水平差异无统计学意义。

对照组出生后第9天NSE、S-100B水平较第1天明显下降( $P < 0.01$ );2组HIE患儿第9天血清NSE、S-100B水平也均低于第1天,表明在正常情况下和疾病状态下,NSE、S-100B水平在新生儿体内可能存在自然降低过程。

治疗后(生后第9天),HIE常规治疗组和EPO治疗组血清中NSE、S-100B水平仍高于正常对照组( $P < 0.05$ ),其中EPO治疗组血清中NSE、S-100B水平低于常规治疗组( $P < 0.05$ ),见表2。

表 1 3 组新生儿一般资料比较

| 组别            | 例数 | 性别<br>(男 / 女, 例) | 年龄<br>( $\bar{x} \pm s$ , h) | 出生体重<br>( $\bar{x} \pm s$ , kg) | 胎龄<br>( $\bar{x} \pm s$ , d) | 生产方式<br>(顺 / 剖, 例) |
|---------------|----|------------------|------------------------------|---------------------------------|------------------------------|--------------------|
| 正常对照组         | 20 | 8/12             | 10 $\pm$ 6                   | 3.1 $\pm$ 0.4                   | 274 $\pm$ 10                 | 14/6               |
| 常规治疗组         | 20 | 11/9             | 11 $\pm$ 8                   | 3.2 $\pm$ 0.4                   | 275 $\pm$ 12                 | 15/5               |
| EPO 治疗组       | 20 | 12/8             | 13 $\pm$ 7                   | 3.3 $\pm$ 0.4                   | 279 $\pm$ 12                 | 13/7               |
| $\chi^2(F)$ 值 |    | 1.735            | (0.884)                      | (0.549)                         | (0.804)                      | 0.476              |
| <i>P</i> 值    |    | 0.420            | 0.419                        | 0.581                           | 0.453                        | 0.788              |

表 2 3 组新生儿血清 NSE 和 S-100B 水平的比较

| 组别         | 例数 | 治疗前 (第 1 天)                  |                             | 治疗后 (第 9 天)                    |                                |
|------------|----|------------------------------|-----------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
|            |    | NSE                          | S-100B                      | NSE                            | S-100B                         |
| 正常对照组      | 20 | 6.1 $\pm$ 3.3                | 1.7 $\pm$ 0.5               | 3.8 $\pm$ 1.1 <sup>d</sup>     | 1.3 $\pm$ 0.4 <sup>d</sup>     |
| 常规治疗组      | 20 | 48.8 $\pm$ 25.7 <sup>a</sup> | 16.3 $\pm$ 9.5 <sup>a</sup> | 18.5 $\pm$ 8.8 <sup>b,d</sup>  | 4.4 $\pm$ 2.6 <sup>b,d</sup>   |
| EPO 治疗组    | 20 | 45.8 $\pm$ 22.5 <sup>a</sup> | 15.8 $\pm$ 7.3 <sup>a</sup> | 8.1 $\pm$ 5.3 <sup>b,c,d</sup> | 2.9 $\pm$ 1.8 <sup>b,c,d</sup> |
| <i>F</i> 值 |    | 28.938                       | 28.753                      | 32.166                         | 13.969                         |
| <i>P</i> 值 |    | <0.01                        | <0.01                       | <0.01                          | <0.01                          |

注: a 示与同时间正常对照组比较,  $P < 0.01$ ; b 示与同时间正常对照组比较,  $P < 0.05$ ; c 示与同时间常规治疗组比较,  $P < 0.05$ ; d 示与本组治疗前第 1 天比较,  $P < 0.01$ 。

### 3 讨论

NSE 是胞浆内糖酵解烯醇化酶神经元的形态, 生物半衰期约 24 h<sup>[6]</sup>, 主要存在于神经元和神经内分泌细胞中, 正常血液中 NSE 含量甚微, 波动范围小, 相对稳定, 脑损伤后神经细胞受损, 血脑屏障破坏, NSE 释放入脑脊液及血液。研究表明, NSE 可以作为早期判断神经细胞损伤的灵敏指标, 且与 HIE 病情严重程度成正相关, 可随 HIE 病程的延长, 病情的好转而逐渐降低<sup>[7]</sup>。血清 NSE 的水平可用来评估 HIE 的严重程度<sup>[8]</sup>。S-100B 是一种酸性钙结合蛋白, 生物半衰期为 0.5 h, 被认为是神经胶质细胞的特异性标志物。正常情况下血清中含量甚微, 研究显示, 血清 S-100B 蛋白水平首先取决于脑损伤的范围和严重程度<sup>[9]</sup>; 血清 S-100B 水平可以作为脑损伤的敏感性和特异性标记物<sup>[10-11]</sup>。本研究结果显示, HIE 患儿经历了缺氧缺血以后, 血清中 NSE、S-100B 水平均显著升高, 表明 HIE 患儿的神经元及神经胶质细胞均受到损伤。由此可见, 临床上遇有缺氧缺血病史并有神经系统症状和体征的患儿, 同时检测外周血中 NSE、S-100B 水平的变化, 有助于了解患儿有无神经元及神经胶质细胞损伤。

研究发现, 中枢神经系统有 EPO 及其受体 (EPO-R) 的表达, 在缺氧缺血刺激下表达增加,

并证实 EPO 具有神经营养及神经保护作用<sup>[12]</sup>; 动物研究发现, EPO 可以减少神经细胞凋亡, 改善脑功能障碍<sup>[13]</sup>, 外源性 EPO 可抑制细胞死亡途径的激活, 促进神经细胞和血管的再生, 对多种脑损伤动物模型具有神经保护作用<sup>[14-17]</sup>, 国内外研究表明, EPO 在治疗 HIE 时, 可以保护因缺氧缺血损害的神经细胞, 可以促进 HIE 患儿的神经行为发育, 改善 HIE 的预后, 减少后遗症的发生<sup>[18-20]</sup>。

本研究结果显示, 健康新生儿和两组 HIE 患儿第 9 天血清 NSE、S-100B 水平均低于第 1 天水平, 表明在正常情况下和疾病状态下, NSE、S-100B 水平在新生儿体内可能存在自然降低过程。目前国内尚未见文献报道这一现象。新生儿从宫内到外界环境中, 经历了分娩这一特殊过程, 体内多种生化指标可随日龄的增加而变化 (如白细胞、心肌酶、胆红素等)。因此, 要把新生儿血清 NSE、S-100B 水平的变化作为判断神经元和神经胶质细胞损伤及其损伤程度的指标时, 应当考虑新生儿日龄因素对其造成的影响。本研究结果显示, 治疗后 (生后第 9 天) HIE 患儿常规治疗组和 EPO 治疗组血清中 NSE、S-100B 水平仍高于正常对照组, 表明经过 7 d 治疗后神经元和神经胶质细胞尚未完全恢复, 仍需继续治疗。可能是因为本研究选择的 HIE 患儿中重度的比例 (68%) 较大, 脑损伤的恢复需要较长时间所致。

本研究结果显示, 生后第9天EPO治疗组血清中NSE、S-100B水平低于常规治疗组, 提示EPO对神经元及神经胶质细胞均有修复作用。其修复机制可能为: 在HIE患儿中, 缺氧使血脑屏障的通透性增加, 也使神经元和星形胶质细胞转录EPO-R增加, 外源性的EPO通过血脑屏障进入脑脊液, 与EPO-R结合, 使EPO受体蛋白, 信号蛋白Janus家族酪氨酸蛋白激酶2(JAK-2)构象发生变化, 诱导EPO受体和JAK-2的磷酸化, 从而起到抗凋亡和对脑白质的保护作用<sup>[12]</sup>; EPO直接调节神经祖细胞和干细胞的增殖和分化, 增强神经祖细胞的产生, 促进生产神经前体细胞, 从而达到对神经元及神经胶质细胞的再生和修复作用。EPO对HIE患儿脑损伤的具体修复机制以及EPO在临床应用时的疗程和剂量及其不良反应还有待进一步研究。

#### 【参 考 文 献】

- [1] Kumral A, Tuzun 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.
- [2] 康文清, 朱长连, 熊虹, 等. 重组人促红细胞生成素治疗新生儿缺氧缺血性脑病的疗效[J]. 实用儿科临床杂志, 2006, 21(2): 86-87.
- [3] 郭敏, 巨容, 刘秀香, 等. 重组人促红细胞生成素治疗新生儿缺氧缺血性脑病疗效分析[J]. 中华神经医学杂志, 2007, 6(5): 523-525.
- [4] 中华医学会儿科学分会新生儿学组. 新生儿缺氧缺血性脑病诊断标准[J]. 中国当代儿科杂志, 2005, 7(2): 97-98.
- [5] 周丛乐, 宋琳琳. 新生儿缺氧缺血性脑病[M]// 金汉珍, 黄德珉, 官希吉. 实用新生儿学. 第3版. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 770.
- [6] Tiainen M, Roine RO, Pettila V, et al. Serum neuron-specific enolase and S-100B protein in cardiac arrest patients treated with hypothermia[J]. Stroke, 2003, 34(12): 2881-2886.
- [7] 戴宏清, 罗艳华. 新生儿缺氧缺血性脑病脑电图背景活动及血清神经元特异性烯醇化酶变化与临床意义[J]. 中国当代儿科杂志, 2009, 11(3): 173-176.
- [8] Celtik C, Acunas B, Oner N, et al. Neuron-specific enolase as a marker of the severity and outcome of hypoxic ischemic encephalopathy[J]. Brain Dev, 2004, 26(6): 398-402.
- [9] Nygaard O, Langbakk B, Romner B. Age- and sex-related changes of S-100 protein concentrations in cerebrospinal fluid and serum in patients with no previous history of neurological disorder[J]. Clin Chem, 1997, 43(3): 541-543.
- [10] Muller 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] Wojtczak-Soska K, Lelonek M. S-100B protein: An early prognostic marker after cardiac arrest[J]. Cardiol J, 2010, 17(5): 532-536.
- [12] Xiong T, Qu Y, Mu D, et al. Erythropoietin for neonatal brain injury: opportunity and challenge[J]. International journal of developmental neuroscience: the official journal of the International Society for Developmental Neuroscience, 2011, 29(6): 583-591.
- [13] 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.
- [14] Hempel C, Hyttel P, Staalso T, et al. Erythropoietin treatment alleviates ultrastructural myelin changes induced by murine cerebral malaria[J]. Malar J, 2012, 11: 216.
- [15] Bendix I, Schulze C, Cv H, 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.
- [16] Fan X, van Bel F, Kooij MA, et al. Hypothermia and erythropoietin for neuroprotection after neonatal brain damage[J]. Pediatr Res, 2013, 73(1): 18-23.
- [17] 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.
- [18] 王英娟, 潘凯丽, 赵晓莉, 等. 促红细胞生成素治疗新生儿缺氧缺血性脑病疗效观察[J]. 中国当代儿科杂志, 2011, 13(11): 855-858.
- [19] 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.
- [20] Wu YW, Bauer LA, Ballard RA, et al. Erythropoietin for neuroprotection in neonatal encephalopathy: safety and pharmacokinetics[J]. Pediatrics, 2012, 130(4): 683-691.

(本文编辑: 王庆红)