

肺出血新生儿血清血小板活化因子水平变化及意义

潘德锋¹, 李湘红¹, 周筱艳²

(1. 南华大学附属第二医院儿科, 湖南 衡阳 421001; 2. 南华大学公共卫生学院)

摘要: **目的** 探讨新生儿肺出血时血清血小板活化因子(PAF)水平的变化及其与预后的关系。 **方法** 采用酶联免疫吸附法(ELISA)分别检测对照组($n=20$)、肺出血组初期($n=28$)和极期($n=28$)、肺出血存活组恢复期($n=20$)和肺出血组死亡前期($n=8$)新生儿血清 PAF 水平。 **结果** 肺出血组初期、极期血清 PAF 水平明显升高,均高于与对照组($P<0.01$);肺出血死亡前期血清 PAF 水平升高更明显,高于肺出血组极期($P<0.05$);肺出血恢复期血清 PAF 水平较极期明显下降($P<0.01$),但仍高于对照组($P<0.01$)。 **结论** PAF 参与了新生儿肺出血的肺损伤过程,动态监测血清 PAF 水平,有助于新生儿肺出血的早期防治及预后判断。

关键词: 血小板活化因子; 肺出血; 新生儿

中图分类号: R722.15

文献标识码: A

Change of Serum Platelet Activating Factors in Newborns With Pulmonary Hemorrhage

PAN Defeng, LI Xianghong, ZHOU Xiaoyan

(Department of Pediatrics, the Second Affiliated Hospital, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China)

Abstract: **Objective** To observe the level change of the serum platelet activating factors (PAF) and the relationship with prognosis in newborns with pulmonary hemorrhage. **Methods** According to prognosis and the outcome, the newborns with pulmonary hemorrhage were divided to three stages: early stage ($n=28$), acute stage ($n=28$), survival stage ($n=20$) or death stage ($n=8$). 20 healthy neonates served as control group. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) were used to measure the levels of serum PAF in groups. **Results** The levels of serum PAF in newborns with pulmonary hemorrhage in early stage and acute stage were significantly higher than those in controls ($P<0.01$). The level of serum PAF in death stage was higher than that in acute stage group ($P<0.05$). The level of serum PAF in survival stage was markedly lower than that in acute stage group ($P<0.01$), but it was still higher than that in control group ($P<0.01$). **Conclusion** PAF may be involved in the process of lung injury in pulmonary hemorrhage of the newborn. Dynamic monitoring of serum PAF is useful for the early prevention, treatment and evaluation of diagnosis of pulmonary hemorrhage of the newborn.

Key words: platelet activating factors; pulmonary hemorrhage; newborn

新生儿肺出血(PHN)为新生儿常见危重病症之一,见于多种新生儿疾病的严重阶段,病情凶险、发展迅速、死亡率较高,但其病理机制目前仍未完全明确,其可能的主要病理机制之一为肺动脉高压和肺血管内皮细胞破坏,毛细血管跨膜压增加,肺内炎

症失控,导致肺泡壁超微结构改变及肺微血管损伤,血管通透性增加^[1]。大量炎性因子及氧自由基过度释放,启动了新生儿肺出血的肺损伤过程。血小板活化因子(platelet activating factor, PAF)作为一种广泛生物活性的磷脂类炎性介质,与血小板活化因子受体(PAF-R)结合而发挥生物效应,可使血小板活化,导致血管收缩,通透性增高,微循环障碍及放大炎症反应。PAF在多种炎症性疾病如急性肺损伤

(ALI) / 急性呼吸窘迫综合征 (ARDS)、哮喘、急性慢性炎症反应、关节炎等发病过程中起重要作用^[2], 但与新生儿肺出血的关系尚少见报道。本研究通过测定肺出血新生儿血清中 PAF 水平变化, 以进一步探讨新生儿肺出血的发病机制, 为本病的早期防治及预后判断提供一定的理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2006 年 6 月 ~ 2011 年 6 月本院肺出血新生儿 28 例为肺出血组, 均符合中华医学会儿科学分会新生儿学组制定的新生儿肺出血诊断标准^[3], 其中男 18 例, 女 10 例, 胎龄 29⁺² ~ 41⁺⁵ 周, 其中胎龄 < 37 周者 10 例, ≥ 37 周者 18 例, 发病期 2 h ~ 8 天, 出生体质量 1 150 ~ 4 080 g, 其中体质量 < 2 500 g 者 11 例, ≥ 2 500 g 者 17 例。原发病分别为: 新生儿重度窒息 8 例, 胎粪或羊水吸入综合征 5 例, 新生儿肺炎 8 例, 败血症 5 例, 新生儿寒冷损伤综合征 2 例, 所有患儿均经呼吸机治疗, 20 例存活, 8 例死亡。按临床表现及病情进展分为肺出血初期 (入院时、治疗前)、肺出血极期 (上呼吸机后气道内吸出大量的血性液体)、肺出血恢复期 (气道无血性液体吸出, 撤离呼吸机后自主呼吸平稳) 以及死亡前期 (抢救无效临终前)。对照组 20 例均为本院婴儿室或儿童保健门诊体检的正常新生儿, 母亲无妊娠高血压疾病等并发症, 新生儿均无缺氧窒息, 无病理性黄疸、新生儿感染性疾病及凝血功能异常等疾病, 其中男 12 例, 女 8 例, 胎龄 28⁺⁴ ~ 41⁺¹ 周, 其中胎龄 < 37 周者 7 例, ≥ 37 周者 13 例, 日龄为生后 1 ~ 8 天, 出生体质量 1 100 ~ 4 050 g, 其中体质量 < 2 500 g 者 8 例, ≥ 2 500 g 者 12 例。两组均非多胎儿, 两组生产方式、胎龄、日龄、出生体质量相比差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性。

1.2 标本采集

肺出血组分别于肺出血初期、极期、恢复期采血, 死亡前期于临终前采血, 对照组于生后 7 天内采血, 分别取静脉血 2 mL, 注入普通试管中, 待血液凝固后, 以 3 000 r/min 离心 10 ~ 15 min, 取上层血清置于 EP 试管中, 予 - 70 ℃ 冰箱保存待测。采集血标本均经家长及本院伦理委员会知情同意。

1.3 PAF 测定方法

采用酶联免疫吸附法 (ELISA) 定量测定各组血

清 PAF, 试剂由武汉博士德公司提供, 酶标仪为美国 BIO-RAD 公司生产 550 型, 操作程序严格按照试剂说明书进行, 由本院检验科专业人员操作。

1.4 统计学分析

应用 SPSS17.0 统计学软件, 数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组内比较采用重复测量的方差分析, 两组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结 果

对照组与肺出血组血清 PAF 水平变化见表 1。肺出血患儿初期、极期血清 PAF 水平均显著高于对照组 ($t = 25.55, t = 18.86, P < 0.01$); 其中 8 例死亡患儿死亡前期血清 PAF 水平升高更明显, 高于肺出血极期 ($t = 2.39, P < 0.05$); 20 例肺出血存活患儿恢复期血清 PAF 水平较极期明显下降 ($t = 13.33, P < 0.01$), 但仍高于对照组 ($t = 13.03, P < 0.01$)。

表 1 对照组与肺出血组血清 PAF 水平变化
Table 1 Changes of serum platelet activating factors in newborns with pulmonary hemorrhage and control group

组别	<i>n</i>	PAF (μg/L)
对照组	20	2.76 ± 0.46
肺出血组	初期	21.87 ± 4.13 ^a
	极期	25.58 ± 6.33 ^a
存活组	恢复期	8.35 ± 1.91 ^{ab}
	死亡前期	34.43 ± 4.48 ^c
<i>F</i> 值		123.24
<i>P</i> 值		< 0.05

a: 与对照组比较, $P < 0.01$; b: 与肺出血组极期比较, $P < 0.01$; c: 与肺出血组极期比较, $P < 0.05$

3 讨 论

随着新生儿医学的快速发展, 许多新生儿重要疾病的发病率、死亡率均明显降低, 然而 PHN 仍为新生儿期主要危重疾病及死亡病因, 发病率占活产婴儿的 0.1% ~ 0.5%, 死亡率却高达 40% 左右, 因此该病一直备受临床医生的关注。其病因与窒息缺氧、感染、早产、低出生体重、低体温寒冷损伤综合征、心力衰竭、凝血障碍等诸多因素有关, 但确切发病机制仍未阐明。20 世纪 90 年代国外学者提出, 肺出血发病与肺毛细血管张力衰竭有关, 表现为肺动脉及肺毛细血管压力增高, 导致肺泡壁超微结构改变, 肺泡毛细血管内皮细胞和肺泡上皮细胞肿胀

变性,基膜层断裂,血管渗透性增加,红细胞渗出^[3-4]。目前多数学者认同新生儿肺出血其实为ARI/ARDS在新生儿的特殊表现,两者病理机制是一致的,都是肺部过度炎症反应的表现^[4]。而PAF作为一种重要的炎性介质,参与了许多炎症性疾病的病理生理过程。已有研究证实^[5],成人ALI血清PAF显著升高,提示PAF参与了ALI的病理过程。本研究资料显示,与正常新生儿相比,肺出血新生儿血清PAF水平明显升高,死亡患儿临终前的血清PAF水平升高更明显,提示PAF参与了新生儿肺出血的病理过程。

PAF是2-花生四烯酰基磷脂酰胆碱在磷脂酶A2(PLA2)的作用下,由多种细胞包括单核巨噬细胞、多型核中性粒细胞(PMN)、内皮细胞、血小板、II型肺泡上皮细胞在内毒素、凝血酶、肿瘤坏死因子- α 、白三烯、PAF本身等刺激下产生,作为一种内源性具有广泛生物活性的磷脂介质,在ALI、新生儿肺出血疾病病理过程中,PAF主要通过与其细胞膜表面PAF受体(PAF-R)结合发挥以下生物效应:①PAF直接引起毛细血管床平滑肌收缩,尤其是毛细血管后静脉,导致毛细血管静水压升高,血管内液体和大分子物质向血管外渗出,甚至进一步发展为右心负荷过重和前负荷降低,导致心泵衰竭、出血性肺水肿^[6]。②PAF为很强的血小板活化诱导剂,激活的血小板可形成血小板聚合物,和白细胞聚集阻塞肺微血管,而造成肺循环障碍及凝血机制异常,同时释放大量的血栓素A2(TXA2)、白三烯及PAF,加重炎症反应。③PAF可诱导中性粒细胞聚集和活化,增强细胞的趋化性,并释放各种炎性因子,参与呼吸爆发和超氧化物形成,并启动细胞因子网络系统,引起PMN、弹性蛋白酶和PLA2在肺部积聚,造成对内皮细胞和基底膜的继发性损伤,致红细胞渗出,发生肺出血。④PAF对肺血管还有直接损伤作用,PAF激活中性粒细胞,促进氧自由基产生,抑制肺组织气管黏膜抗氧化还原系统,加重肺损伤。⑤PAF能直接作用于肺血管内皮细胞并引起内皮屏障功能障碍如内皮收缩、间隙增宽等,从而增加肺血管对蛋白质、大分子物质的通透性。体外研究发现PAF呈浓度和时间依赖的方式上调肺微血管内皮细胞中Src抑制的蛋白激酶C底物(SSeCKS),使肺微血管内皮细胞形态及骨架结构改变,使肺微血管通透性增高^[7]。⑥PAF参与核转录因子 κ B(NF- κ B)的激活,后者是肺损伤发生、发展的关键性核转录因子, Lee

等^[8]直接气管内滴入PAF,发现其可引起NF- κ B活化,促使中性粒细胞在肺组织聚集,从而导致肺组织损伤。⑦PAF能同时活化2种独立的旁路(环加氧酶依赖途径和激活电压门控钾离子通道途径),而激发肺水肿甚至肺出血的发生。动物实验证实,直接往大鼠气管内滴注PAF,可产生ALI的病理变化,PAF抑制剂可阻止PAF引起ALI样变化^[9-10]。以上均提示PAF参与了ARI/ARDS、新生儿肺出血肺组织损伤的病理过程。

本研究资料显示,与正常新生儿相比,肺出血新生儿血清PAF水平明显升高,且与病情密切相关,与国内其他报道一致^[11],ALI患儿急性期血浆PAF水平明显升高,随着病情好转血浆PAF水平也逐渐下降,均提示PAF作为一种炎症介质,参与了新生儿肺出血、ALI的过度炎症反应,在肺组织损伤病理过程中起重要作用,而且血清PAF水平变化与病情进展也密切相关。本研究中存活患儿随着病情好转,血清PAF水平明显下降,但仍高于对照组,提示随着肺组织结构修复,炎症控制,炎症介质PAF也随之明显减少。而死亡患儿临终前的血清PAF水平升高更明显,提示肺内炎症严重失控,病情进一步恶化。故疾病急性期血清PAF水平显著上升可作为肺出血高危新生儿预警指标,有助于早期防治,对新生儿肺出血预后判断也很有一定参考价值,同时为临床使用PAF抑制剂治疗新生儿肺出血提供了一定的理论依据。但是本研究病例数目相对较少,研究结果难以避免以偏盖全,故血清PAF水平在新生儿肺出血病程中的作用及其与预后转归的关系仍需多中心、大样本临床试验设计进一步探讨。

参考文献:

- [1] 冯建华,陈祺棠,庞玉生. 新生儿肺出血发病机制的研究进展[J]. 中国临床新医学,2009,2(5):503-505.
- [2] 刘旭,张爱玲. 血小板活化因子病理、生理学研究进展[J]. 国际检验医学杂志,2008,29(8):710-711.
- [3] 中华医学会儿科学分会新生儿学组. 新生儿肺出血的诊治与治疗方案[J]. 中华儿科杂志,2001,39(4):248-249.
- [4] 韩玉昆,蔡栩栩. 新生儿肺出血与急性肺损伤[J]. 实用儿科临床杂志,2004,19(6):433-434.
- [5] 李晓亮,向小勇,陈力,等. TNF- α 、PAF、IL-10在急性肺损伤患者血清的变化及意义[J]. 重庆医科大学学报,2009,34(6):772-774.

(下转第419页)

(上接第 406 页)

- [6] Formela LJ, Galloway SW, Kingsnorth AN. Inflammatory mediators in acute pancreatitis [J]. Br J Surg, 2005, 82: 6-13.
- [7] 陈珊, 孙耕耘, 尤青海, 等. 血小板活化因子诱导大鼠肺微血管内皮细胞 Src 抑制的蛋白激酶 C 底物基因表达 [J]. 中国危重病急救医学, 2010, 22 (3): 135-138.
- [8] Bulger E, Arbabi S, Garcia I, et al. The macrophage response to endotoxin requires platelet activating factor [J]. Shock, 2002, 17(3): 173-179.
- [9] Lee Y, Hybertson B, Cho H, et al. Platelet-activating factor induces lung inflammation and leak in rats: Hydrogen peroxide production along neutrophil-lung endothelial cell interfaces [J]. Lab Clin Med, 2002, 140 (5): 312-319.
- [10] 黄宏, 周萍, 刘友生, 等. PAF 拮抗剂 BN50739 对大鼠急性肺损伤的作用研究 [J]. 第三军医大学学报, 2002, 24(8): 65-68.
- [11] 金益梅, 李昌崇, 何时军, 等. 急性肺损伤患儿血浆血小板活化因子和尿白三烯 E4 水平变化及其临床意义 [J]. 临床儿科杂志, 2010, 28(1): 44-46.