

鼠神经生长因子对早产儿脑损伤血清神经损伤标志物和神经行为学的影响

王丹丹, 孙健伟, 张磊, 张家洁* (河南省人民医院, 郑州 450000)

摘要: 目的 探究和分析鼠神经生长因子对早产儿脑损伤血清神经损伤标志物和神经行为学的影响。方法 选取河南省人民医院 2016 年 2 月—2018 年 2 月早产脑损伤患儿 160 例, 随机分为对照组和观察组, 每组各 80 例, 对照组使用常规治疗方法并每日静脉滴注胞二磷胆碱钠注射液, 观察组在对照组基础上加用鼠神经生长因子肌肉注射, 评估疗效、神经行为, 分别检测治疗前后血清糖分解烯醇酶(serum neuron-specific enolase, NSE)、胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)、髓鞘碱性蛋白(myelin basic protein, MBP)、S100 钙结合蛋白 β (S100 calcium-binding protein β , S-100 β) 和 Toll 样受体-4(Toll-like receptor-4, TLR-4) 的含量, 并观察治疗期间不良反应发生情况。结果 观察组改善率为 93.75%, 对照组改善率为 72.50%, 明显低于观察组($\chi^2=16.10, P<0.05$); 治疗后 2 组各项新生儿神经行为测定评分均明显升高($P<0.05$), 观察组较对照组更明显($P<0.05$); 2 组治疗后 NSE、GFAP、MBP、S-100 β 和 TLR-4 较治疗前明显下降($P<0.05$), 观察组较对照组更明显($P<0.05$); 对照组和观察组不良反应发生情况差异不显著。结论 鼠神经生长因子治疗能明显提升脑损伤早产儿临床疗效, 改善各项血清学指标, 改善患儿神经行为, 且临床用药安全。

关键词: 鼠神经生长因子; 早产儿脑损伤; 血清神经损伤标志物; 神经行为学

中图分类号: R969.4 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2020)01-0074-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.01.014

引用本文: 王丹丹, 孙健伟, 张磊, 等. 鼠神经生长因子对早产儿脑损伤血清神经损伤标志物和神经行为学的影响[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(1): 74-77.

Effects of Mouse Nerve Growth Factor on Serum Nerve Injury Markers and Neuroethology in Premature Infants with Brain Injury

WANG Dandan, SUN Jianwei, ZHANG Lei, ZHANG Jiajie* (Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou 450000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore and analyze the effects of mouse nerve growth factor on serum nerve injury markers and neuroethology in premature infants with brain injury. **METHODS** One hundred and sixty premature infants children patients with brain injury from February 2016 to February 2018 in Henan Provincial People's Hospital were selected and randomly divided into control group and observation group, with 80 cases in each group. Control group was given routine treatment and daily intravenous infusion of cytidine diphosphate choline injection, and observation group was supplemented with intramuscular injection of mouse nerve growth factor on the basis of control group. The efficacy and neurobehavior were evaluated. Serum neuron-specific enolase(NSE), glial fibrillary acidic protein(GFAP), myelin basic protein(MBP), S100 calcium-binding protein β (S-100 β) and Toll-like receptor-4(TLR-4) were measured before and after treatment, and the occurrence of adverse reactions during treatment was observed. **RESULTS** The improvement rate of observation group was 93.75%, which was significantly higher than that of control group(72.50%)($\chi^2=16.10, P<0.05$). The neonatal behavioral neurological assessment in the two groups were significantly increased after treatment($P<0.05$), it were more significant in observation group compared with control group($P<0.05$). The levels of of NSE, GFAP, MBP, S-100 β and TLR-4 after treatment were significantly decreased compared with those before treatment($P<0.05$), and it were more significant in observation group compared with control group($P<0.05$). There was no significant difference in the occurrence of adverse reactions between control group and observation group. **CONCLUSION** Mouse nerve growth factor therapy can significantly improve the clinical efficacy of premature infants with brain injury, enhance various serological indicators, and improve neurobehavior and it will not increase adverse reactions. Moreover, it is safe in the clinical practice.

KEYWORDS: mouse nerve growth factor; premature infants with brain injury; serum nerve injury markers; neuroethology

早产儿是指胎龄<37 周的新生儿, 其出现脑瘫、发育迟缓、听力问题和视力问题的风险更大^[1]。早产儿脑损伤可能由多种因素引起, 如胎龄不足、

母亲骨盆或镊子/真空吸取装置引起的压力、难产、脐带或胎盘受到挤压和孕期用药不当等, 相较于足月儿, 早产儿的存活率较低且生存质量较差^[2-4]。

基金项目: 河南省医学科技攻关计划项目(201503162)

作者简介: 王丹丹, 女, 硕士, 主治医师 Tel: (0371)65580762 E-mail: onlywangdan@163.com *通信作者: 张家洁, 女, 主任医师 Tel: (0371)65897708 E-mail: 120594278@qq.com

报道显示,鼠神经生长因子(mouse nerve growth factor, mNGF)能够调节神经元的生长和存活,目前常用于神经外科以修复和保护神经系统^[5]。为了提高患儿存活率及生存质量,本研究拟使用神经促生长或保护类药物帮助常规治疗,以分析其对患儿血清神经损伤标志物表达水平和神经行为学的影响,详述如下。

1 资料与方法

1.1 研究设计

本研究按前瞻性、随机性、单盲、阳性药对照、单中心临床研究方法设计。

1.2 一般资料

将河南省人民医院新生儿科 2016 年 2 月至 2018 年 2 月符合纳入、排除标准的早产儿脑损伤患儿 160 例纳入研究。本研究经河南省人民医院伦理委员会批准[批准号:(2015)伦审第(06)号],且患儿家属均签署知情同意书。

纳入标准:符合《早产儿脑损伤诊断与防治专家共识》^[6]和《实用新生儿学》^[7]中的早产儿脑损伤诊断标准。排除标准:患先天性心、脑、肺等组织疾病者;免疫功能异常者;凝血功能障碍者。

按照 SPSS 软件随机生成序号,将 160 例早产儿脑损伤分为对照组和观察组,每组各 80 例,对照组患儿出生体质量(1.53±0.26)kg,胎龄(30.72±2.66)周;观察组患儿出生体质量(1.52±0.26)kg,胎龄(31.15±2.87)周;2 组胎龄和出生体质量差异不显著。

1.3 治疗方法

对照组使用常规治疗方法并胞二磷胆碱钠注射液(吉林百年汉克制药,国药准字 H22026208,规格:2 mL:0.25 g)125 mg,静脉滴注, qd。观察组在对照组治疗的基础上,加用 mNGF(未名生物制药,国药准字 S20060052;规格 18 μg:9 000 AU) 18 μg,用生理盐水溶解后肌肉注射, qd。2 组患者均接受 2 周治疗。

1.4 观察指标

①神经行为学测定及疗效:患儿矫正胎龄 40 周时进行新生儿 20 项神经行为测定(neonatal behavioral neurological assessment, NBNA)^[8],该测定表包含行为能力、被动肌张力、主动肌张力、原始反射和一般评估 5 个部分,共计 20 个项目,每项以 0~2 分分级判定,分数越高则情况越良好,满分为 40 分,分数>37 分为合格,反之则不合格,所有患儿由 1 个取得培训合格证书的固定医师完成测定。疗效标准:治疗前后 NBNA 评分差值≥

15 分,且患儿症状基本消失,体征基本恢复正常,判定为改善;5 分≤治疗前后 NBNA 评分差值<15 分,且患儿症状部分消失,判定为部分改善;治疗前后 NBNA 评分差值<5 分,且症状未消失,判定为未改善。②血清指标检测:分别出生 1 d 内和治疗 14 d 后清晨取患儿静脉血液 3 mL 为检测样本,-20 °C 冰箱保存,样本达到一定数量时,离心收集上层血清,严格按照 ELISA 说明书操作,分别测定血清糖分解烯醇酶(serum neuron-specific enolase, NSE)(试剂盒购自上海广锐生物科技有限公司,批号:ER2013),胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)、髓鞘碱性蛋白(myelin basic protein, MBP)、S100 钙结合蛋白 β(S100 calcium-binding protein β, S-100β)(试剂盒购自上海江莱生物科技有限公司,批号分别为 JL14821, JL19826, JL47435), Toll 样受体-4(Toll-like receptor-4, TLR-4)(试剂盒购自上海谷研科技有限公司,批号:GY6658)。③不良反应:观察治疗期间患儿不良反应,记录发生时间和症状,并给予及时治疗。

1.5 数据处理与分析

使用 SPSS 17.0 软件,计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间比较采用独立样本 *t* 检验,组内治疗前后比较采用配对 *t* 检验,不符合正态分布数据以中位数表示,采用非参数 Mann-Whitney *U* 检验;计数资料以 *n* 表示,使用 χ^2 检验;等级资料采用 Mann-Whitney *U* 检验;以 *P*<0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组疗效对比

观察组症状改善 75 例(93.75%),对照组症状改善 58 例(72.50%),对照组明显低于观察组($\chi^2=16.10, P<0.05$)。结果见表 1。

2.2 2 组神经行为学测定结果对比

与治疗前相比,治疗后 2 组各项 NBNA 评分均明显升高(*P*<0.05);与同时段对照组相比,观察组升高更明显(*P*<0.05)。结果见表 2。

表 1 2 组疗效对比

Tab. 1 Comparison of therapeutic effects between two groups

组别	<i>n</i>	治疗效果/例			改善率/%
		改善	部分改善	未改善	
对照组	80	39	19	22	72.50
观察组	80	49	16	5	93.75
χ^2					16.10
<i>P</i>					<0.05

2.3 2组血清指标对比

治疗后, 2组患者血清NSE、GFAP、MBP、S-100 β 和TLR-4含量较治疗前均明显下降($P<0.05$); 与同时段对照组相比, 观察组下降更明

显($P<0.05$)。结果见表3。

2.4 2组不良反应对比

2组患儿均观察到发热、躁动和肠胃反应的不良反应, 但差异不显著。结果见表4。

表2 2组神经行为学测定结果对比($\bar{x} \pm s, n=80$)

Tab. 2 Comparison of results on neurobehavioral tests between the two groups($\bar{x} \pm s, n=80$)

组别	时间	行为能力	被动肌张力	主动肌张力	原始反射	一般评估
对照组	治疗前	4.01 \pm 0.57	4.12 \pm 0.43	4.13 \pm 0.36	3.96 \pm 0.21	4.22 \pm 0.33
	治疗后	5.98 \pm 0.31 ²⁾	5.90 \pm 0.41 ²⁾	6.01 \pm 0.35 ²⁾	6.04 \pm 0.33 ²⁾	6.09 \pm 0.37 ²⁾
观察组	治疗前	4.06 \pm 0.43	4.10 \pm 0.37	4.11 \pm 0.38	4.00 \pm 0.24	4.21 \pm 0.35
	治疗后	6.20 \pm 0.29 ¹⁾²⁾	6.17 \pm 0.29 ¹⁾²⁾	6.24 \pm 0.33 ¹⁾²⁾	6.22 \pm 0.26 ¹⁾²⁾	6.20 \pm 0.31 ¹⁾²⁾

注: 与同时段对照组相比, ¹⁾ $P<0.05$; 与同组治疗前相比, ²⁾ $P<0.05$ 。

Note: Compared with the control group at the same time, ¹⁾ $P<0.05$; compared with before treatment in the same group, ²⁾ $P<0.05$.

表3 2组血清指标对比($\bar{x} \pm s, n=80$)

Tab. 3 Comparison of serological indicators between the two groups($\bar{x} \pm s, n=80$)

组别	时间	NSE/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	GFAP/ $\text{pg}\cdot\text{L}^{-1}$	MBP/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	S-100 β / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	TLR-4/ $\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$
对照组	治疗前	26.42 \pm 10.73	2 012.33 \pm 146.12	3.25 \pm 0.71	1.50 \pm 0.68	16.17 \pm 6.22
	治疗后	14.18 \pm 5.65 ²⁾	1 831.11 \pm 126.74 ²⁾	2.67 \pm 0.62 ²⁾	0.96 \pm 0.40 ²⁾	11.56 \pm 5.04 ²⁾
观察组	治疗前	25.87 \pm 10.29	2 001.56 \pm 148.75	3.26 \pm 0.73	1.48 \pm 0.68	16.10 \pm 6.31
	治疗后	11.46 \pm 4.31 ¹⁾²⁾	1 649.52 \pm 118.23 ¹⁾²⁾	2.05 \pm 0.59 ¹⁾²⁾	0.69 \pm 0.31 ¹⁾²⁾	8.22 \pm 4.23 ¹⁾²⁾

注: 与同时段对照组相比, ¹⁾ $P<0.05$; 与同组治疗前相比, ²⁾ $P<0.05$ 。

Note: Compared with the control group at the same time, ¹⁾ $P<0.05$; compared with before treatment in the same group, ²⁾ $P<0.05$.

表4 2组不良反应对比

Tab. 4 Comparison of adverse reactions between the two groups

组别	n	不良反应/例			总不良反应发生率/%
		发热	躁动	肠胃反应	
对照组	80	3	2	6	13.75
观察组	80	2	2	4	10.00
χ^2		0.210	0.000	0.430	0.672
P		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

3 讨论

研究发现, mNGF对修复周围神经损伤、改善血液流变学和神经传导速度效果明显, 说明mNGF的确能够帮助再生缓慢的神经加速恢复且改善血液循环^[9-10]。本研究对比2组疗效发现, 对照组明显低于观察组, 而后者改善率为93.75%, 说明胞二磷胆碱单独或联用mNGF治疗均能取得较好的治疗效果, 且联用mNGF治疗效果更优, 与报道一致。mNGF是一种神经营养因子, 分离于小鼠颌下腺, 主要参与某些靶神经元的生长、维持、增殖和存活的调节, 目前常用于神经外科, 以修复和保护神经系统, 从而减轻外援刺激对其造成的伤害^[11]。NBNA各项目评分改变情况中, 观察组较对照组更明显, 说明加用mNGF后治疗效果更加明显。这可能是因为mNGF通过与酪氨酸激酶A(tyrosine kinase, TrkA)受体结合驱动基因的表达, 其后TrkA受体刺激靶神经元增殖与存活。Lee等^[12]通过实验证实, 当用神经生长因子前体处

理时, 表达p75神经营养因子受体和TrkA的上颈神经节神经元死亡, 而mNGF处理这些神经元时, 靶细胞则能存活, 且可使轴突生长。这可能是因为当募集的细胞质衔接蛋白促进通过肿瘤坏死因子受体相关因子6信号转导时, 导致核因子 κB (nuclear factor κB , NF- κB)转录激活因子的释放, 而NF- κB 调节核基因转录以促进细胞存活^[13]。

本研究以胞二磷胆碱钠注射液及mNGF治疗早产脑损伤患儿, 发现2组患儿神经行为学测定结果均有提升, NSE等血清脑损伤标志物水平降低, 说明2种药物疗效确切, 这是因为胞二磷胆碱具有神经保护、降低血管阻力和促进血流的作用, 其作用机制可能是因为其刺激S-腺苷甲硫氨酸的合成, 保护细胞不受6-羟基多巴胺损害^[14]。而观察组效果较对照组更优的原因在于, 观察组在胞二磷胆碱的确切疗效上加以mNGF治疗。

血清神经损伤标志物既能够预测脑损伤程度, 也可作为治疗效果的评判依据之一, 笔者采集患儿血清, 分析NSE等的神经损伤标志物变化, 以全面、准确评估mNGF作用, 探讨mNGF可能机制。文中涉及神经损伤标志物的生理作用和意义简述如下^[14-15]: ①NSE特异性存在于神经元胞浆, 理化性质相对稳定, 当神经元结构崩解或代谢障碍时, NSE便被释放于脑脊液之中, 经由损坏血脑屏障进入外周血液, 其水平与神经元损伤

程度呈正比关系；②GFAP 在血清中的水平变化与 NSE 相似，作为星形胶质细胞的标志蛋白，其对胶质细胞损伤具有高度敏感性和特异性，血清水平高低与神经损害程度成正比例关系；③MPB 为神经髓鞘膜促成成分及髓鞘稳定维护因子，血脑屏障破坏进入外周血液；④S-100 β 作为一种脑特异性蛋白，其作用具有两面性，正常浓度下具有营养神经作用，浓度异常升高具有神经不良反应，正常情况下，外周血中含量较低，难以检测，当脑部遭受损伤时，S-100 β 经由胶质细胞渗透于血液，其在血清中的含量与血脑屏障破坏程度、胶质细胞损伤程度呈正相关；⑤TLR-4 则与 NF- κ B 有关，NF- κ B 被 TLR-4 激活，引起炎症反应，引发急性损伤，同样是脑损伤程度评估的有效因子之一。结合表 3 各神经损伤标志因子均显著降低的结果和上述各因子提升的原因和机制，笔者推测 mNGF 能够通过缩短神经电位潜伏期，提高神经纤维兴奋性，从而发挥促进胶质细胞及其他神经纤维的修复、再生作用^[16]，同时其或能通过抑制 TLR-4 水平，抑制炎症反应，逐渐修复血脑屏障，减轻脑损失程度。脑损伤机制复杂，涉及多种因子，上述推测仍需进一步研究证实，这正是本研究的不足之处和下一步研究方向，但能够从结果肯定，mNGF 在神经再生和功能重建中发挥了重要作用。

本研究治疗期间观察不良反应发现，2 组患儿均存在发热、躁动和肠胃反应的现象，可能是胞二磷胆碱作用的结果。周蕾等^[17]指出，mNGF 能够有效降低 MPB、TLR-4、S-100 β 等神经损伤标志物水平，表明其治疗脑损伤早产儿具有确切疗效，可明显改善患儿神经功能，与本研究结果一致；同时其研究显示，静脉注射胞二磷胆碱联合 mNGF 治疗易出现消化道不良反应，但反应轻微，与本研究观察结果一致。本研究发现 2 组间差异不明显，说明加用 mNGF 治疗未增加不良反应发生率，安全性较高。大量报道显示，mNGF 在治疗其他疾病(包括急性脑梗死、糖尿病、缺氧缺血性脑病和突发性耳聋等)时，并不会加重不良反应^[18]。

综上所述，mNGF 治疗能明显降低脑损伤早产儿各项血清指标含量，改善患儿神经行为且临床用药安全。但本研究样本数量有限，未做长期跟踪随访，mNGF 对早产儿脑损伤的疗效及安全性有待进一步深入研究。

REFERENCES

- [1] BURD I, BALAKRISHNAN B, KANNAN S. Models of fetal brain injury, intrauterine inflammation, and preterm birth [J]. *Am J Reprod Immunol*, 2012, 67(4): 287-294.
- [2] GUNN A J, BENNET L. Fetal hypoxia insults and patterns of brain injury: insights from animal models [J]. *Clin Perinatol*, 2009, 36(3): 579-593.
- [3] BOARDMAN J P, WALLEY A, BALL G, et al. Common genetic variants and risk of brain injury after preterm birth [J]. *Pediatrics*, 2014, 133(6): 1655-1663.
- [4] MA L, WEN X H, YANG H B, et al. Influencing factors for brain injury in preterm infants [J]. *Chin J Contemp Pediatr*(中国当代儿科杂志), 2016, 18(6): 471-475.
- [5] 刘敬. 足月新生儿呼吸窘迫综合征的诊断与治疗[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2013, 28(14): 1117-1120.
- [6] 刘敬, 俞惠民, 毛健, 等. 早产儿脑损伤诊断与防治专家共识[J]. *中国当代儿科杂志*, 2012, 14(12): 883-884.
- [7] 邵肖梅, 叶鸿瑁, 丘小汕. 实用新生儿学[M]. 第四版. 北京: 人民卫生出版社, 2013.
- [8] WANG L, FU Y N, ZHENG H, et al. Prognosis of brainstorm auditory evoked and neurobehavior in newborns with different level of hyperbilirubinemia [J]. *Chin Gen Prac*(中国全科医学), 2015, 18(20): 2413-2417.
- [9] CHEN Q Z, SHI M X, LIU C F, et al. Mouse nerve growth factor injection via different ways for treatment of peripheral nerve injury [J]. *J Clin Rehabil Tis Eng Res*(中国组织工程研究), 2014, 18(33): 5356-5360.
- [10] 沈巍. 鼠神经生长因子、丹红注射液联合治疗对糖尿病周围神经病变患者血液流变学、神经传导速度的改善效果[J]. *中国老年学杂志*, 2013, 33(12): 2749-2750.
- [11] 孙鸿安, 张冬艳, 郝永红, 等. 大鼠坐骨神经损伤后不同部位注射鼠神经生长因子对脊髓运动神经元的保护[J]. *中国康复医学杂志*, 2016, 31(12): 1380-1382.
- [12] LEE R, KERMANI P, TENG K K, et al. Regulation of cell survival by secreted proneurotrophins [J]. *Science*, 2001, 294(5548): 1945-1948.
- [13] FUJITA Y, YAMASHITA T. Role of DAPK in neuronal cell death [J]. *Apoptosis*, 2014, 19(2): 339-345.
- [14] YANG M Q, YAN J Q, SIMA L J, et al. Effect of intraoperative body temperature protection on early POCD and serum levels of brain injury biomarkers in elderly patients undergoing TUVP [J]. *Anhui Med J*(安徽医学), 2018, 39(5): 509-513.
- [15] LIU Q A, ZHU W J, MO Y M, et al. Clinical application of PCT, NSE, hs-CRP and GFAP combined detection in evaluation of neonatal brain injury [J]. *Guangdong Med J*(广东医学), 2018, 39(11): 1650-1653.
- [16] RAO M A, HATCHER J F, DEMPSEY R J. Citicoline: neuroprotective mechanisms in cerebral ischemia [J]. *J Neurochem*, 2010, 80(1): 12-23.
- [17] ZHOU L, CAI Y, LIANG S Z, et al. Clinical trial of ganglioside combined with mouse nerve growth factor on serum markers of nerve injury in the treatment of children with premature brain injury [J]. *Chin J Clin Pharmacol*(中国临床药理学杂志), 2018, 34(5): 524-527.
- [18] TANG G H, LEI K J. Clinical observation of mouse nerve growth factor combined with ganglioside in the treatment of hypoxic-ischemic encephalopathy [J]. *China Pharm*(中国药房), 2017, 28(17): 2384-2388.

收稿日期: 2019-03-04

(本文责编: 李艳芳)