

# 血清胆红素对重度窒息新生儿心肌细胞作用的研究

唐永春, 张士发

( 皖南医学院第一附属医院 弋矶山医院 儿科 安徽 芜湖 241001)

**【摘要】**目的: 探讨重度窒息新生儿血清胆红素水平的变化对心肌细胞的作用。方法: 回顾性分析我科 2013 年 1 月 ~ 2015 年 1 月收治的 85 例足月重度窒息新生儿出生后 72 h 血清肌酸激酶同工酶( creatine kinase isoenzyme ,CK-MB) 和总胆红素( total bilirubin ,TB) 水平; 以血清 TB 值为 X 轴( 自变量) ,CK-MB 值为 Y 轴( 因变量) 绘制散点图再绘制曲线 根据曲线结果对曲线进行分段分析 明确不同水平 TB 与 CK-MB 水平间的关系 根据 TB 水平分为高( A) 、中( B) 和低( C) 水平组; 其中 B 组研究对象再以 CK-MB 水平分为 B1( CK-MB < 50 U/L) 和 B2 组( CK-MB ≥ 50 U/L) 。结果: ①TB 与 CK-MB 呈曲线关系 且两者之间具有较为显著的二次函数关系(  $F = 44.091$  , $P = 0.000$  , $R^2 = 0.518$  ) 。②A、B 和 C 三组间 CK-MB 水平有统计学意义(  $P < 0.05$  ) ,而三组间 Apgar 评分无统计学意义(  $P$  均  $> 0.05$  ) 。③B1 组血清 TB 水平高于 B2 组 [ (  $101.7 \pm 21.5$  )  $\mu\text{mol/L}$  vs (  $85.2 \pm 26.3$  )  $\mu\text{mol/L}$  ] ,有统计学意义(  $P < 0.05$  ) ,两组出生后 1 分钟 Apgar 评分差异无统计学意义(  $P > 0.05$  ) 。结论: 重度窒息新生儿早期血清 TB 水平在一定范围内(  $101.7 \pm 21.5 \mu\text{mol/L}$  ) 可能对心肌细胞具有部分保护性作用 ,高水平 TB(  $> 150 \mu\text{mol/L}$  ) 可能对心肌细胞具有损伤作用。

**【关键词】**重度窒息; 肌酸激酶同工酶; 总胆红素; 新生儿

**【中图分类号】**R 722.12 **【文献标识码】**A

**【DOI】**10.3969/j.issn.1002-0217.2016.01.011

## Effects of serum bilirubin level on the myocardial cells in neonates after severe asphyxia

TANG Yongchun ZHANG Shifa

Department of Pediatrics ,The First Affiliated Hospital of Wannan Medical College ,Wuhu 241001 ,China

**【Abstract】Objective:** To observe the effects of serum bilirubin level changes on the cardiac muscle cells newborns after severe asphyxia. **Methods:** Retrospectively analysis was performed regarding the levels of reatine kinase isoenzyme( CK-MB) and total bilirubin( TB) determined in 72 h in 85 asphyxial term infants admitted to our department between January of 2013 and 2015. Serum TB value was set as independent variable( X-axis) and CK-MB as dependent variable( Y-axis) to map the scatterplot for examining the relationship between TB and CK-MB ,based on which the newborns were allocated to group A( high) ,B( moderate) and C( low) by the TB level ,and group B were subgrouped into B1 ( CK-MB < 50 U/L) and B2 ( CK-MB ≥ 50 U/L) . **Results:** ① TB and CK-MB presented with curvilinear relationship and significant quadratic function relation(  $F = 44.091$  , $P = 0.000$  , $R_2 = 0.518$  ) ; ② Group A ,B and C demonstrated significant differences concerning the concentration of CK-MB(  $P < 0.05$  ) ,yet no significance pertaining to Apgar scores (  $P > 0.05$  ) ; ③The serum TB level was higher in group B1 than group B2 [ (  $101.7 \pm 21.5$  )  $\mu\text{mol/L}$  vs. (  $85.2 \pm 26.3$  )  $\mu\text{mol/L}$  ] ,the difference was significant(  $P < 0.05$  ) ,whereas the difference was not significant regarding the Apgar scores one minute after birth between the two groups(  $P > 0.05$  ) . **Conclusion:** Serum TB level at (  $101.7 \pm 21.5$  )  $\mu\text{mol/L}$  may be protective effects on the cardiac muscle cells in asphyxial term infants ,yet higher TB content(  $> 150 \mu\text{mol/L}$  ) may lead to injury of the myocardial cells.

**【Keywords】** severe asphyxia; creatine kinase isoenzyme; total bilirubin; neonate

近年来 随着研究的不断深入 越来越多的体外实验及动物实验表明胆红素( bilirubin ,BR) 并非单纯的血红素代谢产物 同时具有强烈的抗氧化作用 ,是体内天然的生理性抗氧化剂 ,可能对部分心血管疾病、代谢性疾病、癌症、自身免疫性疾病及神经精神疾病具有防治作用。生理情况下各种形式的胆红素均能有效地抑制自由基对机体组织细胞的损伤。

Shekeeb 等<sup>[1]</sup>证实: 高胆红素血症患儿血清总胆红素( total bilirubin ,TB) 在  $200 \mu\text{mol/L}$  可清除机体内的氧化物质 对各器官具有保护性作用。然而 ,窒息时因缺氧、酸中毒等因素导致胆红素代谢障碍可致血清胆红素浓度升高<sup>[2]</sup>。但同时有研究发现<sup>[3]</sup> ,窒息后新生儿体内的胆红素浓度和窒息程度无相关性 ,重度窒息新生儿血清 TB 浓度明显低于轻度窒息新生儿血清 TB 浓度。重度窒息时新生儿血清 TB

收稿日期: 2015-06-29

作者简介: 唐永春( 1981-) ,男 2013 级硕士研究生 ( 电话) 15357454286 ( 电子信箱) 1026668925@qq.com;

张士发 ,男 ,主任医师 硕士生导师 ( 电子信箱) wuhuzhangs2@163.com 通讯作者 .

水平的变化对各器官尤其心肌细胞作用如何,目前尚未见相关的报道。本文通过回顾性分析我科收治的85例重度窒息新生儿出生后72h血清TB和CK-MB水平及两者间变化的关系,探讨不同水平TB对重度窒息新生儿心肌细胞作用的差异。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性分析我科收治2013年1月~2015年1月足月窒息新生儿共85例,全部病例均符合第4版《实用新生儿学》重度窒息的诊断标准及相关指南即所有患儿均符合脐动脉血显示严重代谢性或混合性酸中毒,pH值<7,出生后1分钟Apgar评分0~3分,并且持续时间>5min,新生儿有神经系统等表现,出生后有多个器官功能不全的证据。研究对象平均胎龄(38±1)周,平均体质量(2878±349)g,体质量变异度CV:12.1%,85病例均为产道分娩,排除母子血型不合、头颅血肿、甲状腺疾病及G-6-PD缺陷症、感染、先天性心脏病等母亲及患儿孕期存在基础疾病。

1.2 研究方法 临床确诊患儿,72h采集2mL静脉全血,离心取其血清同时检测其血清TB、CK-MB水平。采用SPSS 17.0统计学软件对数据进行分析。首先绘制TB与CK-MB的散点图,分析后绘制曲线。

通过曲线以血清TB水平高低分为A、B、C共3组,A组:血清TB水平50μmol/L,B组:血清TB水平为50~150μmol/L,C组:血清TB水平>150μmol/L,各组之间患儿出生体质量、胎龄均没有差异。分析三组血清TB水平及出生后1分钟Apgar评分差异性。再选择TB介于50~150μmol/L的数据根据文献<sup>[4-5]</sup>及我院实验室水平以CK-MB水平大于50U/L为新生儿心肌损伤诊断标准,将B组分为2组:B1(CK-MB<50U/L)和B2组(CK-MB≥50U/L),通过t检验分析两组血清TB浓度之间的差异性。

1.3 统计学分析 采用SPSS 17.0统计学软件对数据进行分析。正态数据血清TB、CK-MB浓度用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组之间数据采用t检验,多组定量数据之间采用F检验,非正态分布出生后1分钟Apgar评分数据使用M(P<sub>25</sub>,P<sub>75</sub>)表示,采用秩和检验。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 重度窒息新生儿血清TB与CK-MB呈曲线关系,且两者之间具有较为显著的二次函数关系(F =

44.091, P = 0.000, R<sup>2</sup> = 0.518),TB值在100μmol/L时血清中CK-MB值处于最小值(见图1)。

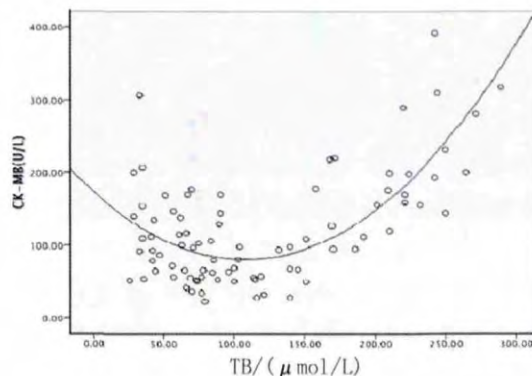


图1 窒息新生儿血清TB与血清CK-MB之间的关系

2.2 A、B和C组的CK-MB水平差异显著,有统计学意义(P<0.05),而三组间的Apgar评分无统计学意义(P>0.05)(见表1)。

表1 不同血清TB水平组窒息新生儿CK-MB水平及出生后1分钟Apgar评分[M(P<sub>25</sub>,P<sub>75</sub>)]

组别	例数	CK-MB/(U/L)	Apgar评分
A组	16	120.5±80.4	2(1,3)
B组	44	85.2±66.1	2(2,2)
C组	25	203.2±87.0	2(1,2)
F(χ <sup>2</sup> )		18.50	0.65
P		0.000	0.700

2.3 以CK-MB水平将85例窒息新生儿分为B1组和B2组,B1组TB水平显著高于B2组,有统计学意义(P<0.05),两组出生后1分钟Apgar评分差异无统计学意义(见表2)。

表2 两组新生儿血清TB水平及出生后1分钟Apgar评分[M(P<sub>25</sub>,P<sub>75</sub>)]

组别	例数	TB/(μmol/L)	Apgar评分
B1组	28	101.7±21.5	2(1,2)
B2组	16	85.2±26.3	2(1,3)
t(χ <sup>2</sup> )		-2.13	-0.34
P		0.039	0.734

3 讨论

分娩时因缺氧、挤压等刺激因素可导致新生儿体内产生大量的氧活性分子即氧自由基,从而破坏机体氧化-抗氧化平衡<sup>[6-7]</sup>。重度窒息新生儿氧化-抗氧化系统可能破坏得更为严重,由此造成出生后多个器官损伤。机体内诸多抗氧化物质将参与清除氧自由基,使机体氧化-抗氧化系统恢复平衡。近年

来研究证实窒息后新生儿机体内的血清 TB 有清除氧自由基的作用<sup>[8]</sup>,通过对窒息新生儿血清 TB 水平分析发现重度窒息新生儿血清 TB 水平低于轻度窒息新生儿<sup>[9-10]</sup>。其原因是胆红素属于机体内的还原性物质,有抗氧化作用<sup>[11]</sup>,在清除重度窒息患儿体内高水平的氧自由基时被消耗而导致低于轻度窒息 TB 血清水平。Yamada 等<sup>[12]</sup>体外人气管上皮细胞培养证明:外源性胆红素对氧自由基引起的气管上皮细胞损伤具有较强保护性作用。研究阐明<sup>[13]</sup>胆红素对抗氧自由基的机制为:①胆红素可以直接清除氧自由基,将自由基引起的损害终止在早期阶段。由于胆红素第 10 位的碳桥是氢饱和的,因而这个碳原子两侧的吡咯环可以旋转,容易形成分子内氢键,而成为不同于卟啉的卷曲结构,同时第 10 位碳桥上的氢充分暴露从而能与自由基最外层单电子结合,起到清除氧自由基阻止氧化作用。②胆红素能切断过氧化脂质引起的连锁反应。当存在断链的抗氧化剂时,自由基引起的链式反应可避免或延迟,从而阻止细胞膜的脂质过氧化,保持细胞结构的完整。③胆红素可与含金属的蛋白质结合,且有清除自由基作用,减少体内的氧自由基从而对机体及细胞形成保护作用。④胆红素作为抗氧化剂作用时转化为胆绿素,胆绿素是一种强还原性物质,对自由基有较强的清除作用。Clark JE 等<sup>[14]</sup>给予大鼠注射胆红素,可减轻缺氧缺血引起的心肌损伤,在离体心脏灌流液中加入胆红素可明显减少心肌梗死面积,进一步证实胆红素对心肌的保护作用。⑤胆红素能抑制蛋白激酶 C 从而恢复细胞内氧化抗氧化平衡。当机体处于氧化-抗氧化平衡状态时高水平胆红素却对各器官有毒害性作用,主要机制为:①胆红素为脂溶性,易透过脂质生物膜干扰细胞的正常代谢,也可与细胞质膜形成磷脂复合物从而改变脂膜的组成及功能,使细胞膜电位、能量代谢和神经递质的生成发生障碍;②胆红素增高时抑制细胞的三磷酸腺苷(ATP)酶活性,影响氧的交换和蛋白质的合成造成细胞急性损伤。

本文研究发现:重度窒息新生儿血清 TB 与 CK-MB 呈曲线关系,且两者之间具有较为显著的二次函数关系( $F = 44.091$ ,  $P = 0.000$ ,  $R^2 = 0.518$ ),TB 值在  $100 \mu\text{mol/L}$  时血清中 CK-MB 值处于最小值。当 TB 在适当的水平内,重度窒息后心肌细胞所受到的损害较小,产生这种现象的原因可能是:TB 在适合的水平范围内可直接清除氧自由基,终止自由基引起的早期损害,TB 被消耗后本身的毒害性却未能体现出。当 TB 小于  $50 \mu\text{mol/L}$  时,此时 TB 在抗

自由基时可能完全被消耗,所以患儿心肌细胞损害程度即 CK-MB 的血清水平与血清 TB 水平成负相关。重度窒息新生儿血清 TB 水平小于  $50 \mu\text{mol/L}$  时,虽然 TB 能清除部分氧自由基,但剩余氧自由基在达到氧化-抗氧化平衡之前继续对心肌细胞造成伤害。当 TB 水平大于  $150 \mu\text{mol/L}$  时,此时血清 CK-MB 水平随着血清 TB 水平的增大而增大。这一阶段造成心肌损害的原因可能为:虽然 TB 能消耗大部分氧自由基,使氧自由基对心肌细胞的伤害减小,但过多的胆红素反而对心肌细胞产生损伤,这与郭鲁闽等临床研究结果:血清 TB 水平较高时会对患儿心肌细胞造成伤害且引起相关心肌检测指标异常相符合<sup>[15]</sup>。当重度窒息患儿血清 TB 在  $50 \sim 150 \mu\text{mol/L}$  范围时,CK-MB 血清水平处于相对较低的水平,TB 不仅中和了大部分氧自由基且未出现 TB 本身对心肌细胞造成的毒害作用。本文结果发现:血清 TB 水平在  $50 \sim 150 \mu\text{mol/L}$  范围内,CK-MB  $< 50 \text{ U/L}$  新生儿血清 TB 平均水平高于 CK-MB  $\geq 50 \text{ U/L}$  的新生儿 [( $101.7 \pm 21.5$ ) vs ( $85.2 \pm 26.3$ )  $\mu\text{mol/L}$ ],有统计学意义( $P < 0.05$ )。提示重度窒息新生儿早期血清 TB 水平在一定范围内( $101.7 \pm 21.5$ )  $\mu\text{mol/L}$  可能对心肌细胞具有部分保护性作用,高水平 TB( $> 150 \mu\text{mol/L}$ ) 可能对心肌细胞具有损伤作用。

#### 【参考文献】

- [1] SHEKEEB SM, KUMAR P, SHANMA N, *et al.* Evaluation of oxidant and antioxidant status in term neonates: a plausible protective role of bilirubin[J]. Mol Cell Biochem 2008, 317(2): 51-59.
- [2] HANSEN TW. Mechanisms of bilirubin toxicity: clinical implications[J]. Clin Perinatol 2002, 29(4): 765-768.
- [3] 陈哲. 新生儿窒息程度与黄疸关系研究[J]. 中国妇幼保健, 2013, 28(24): 3949-3951.
- [4] 薛丹, 陈贻骥. 新生儿心肌损伤诊断的研究进展[J]. 临床儿科杂志 2012, 30(9): 891-894.
- [5] 陈自励, 刘敬, 封志纯. 新生儿窒息诊断和分度标准建议[J]. 中国当代儿科杂志 2013, 15(1): 1.
- [6] AYCICEK A, ERELO. Total oxidant/antioxidant status in jaundiced newborns before and after phototherapy[J]. J Pediatr (Rio J) 2007, 83(4): 319-322.
- [7] 郝翼中, 刘立新, 王阿璐. 微循环及氧自由基改变在窒息幼兔脑损伤中的作用[J]. 微循环学杂志, 1995, 20(3): 11-13.
- [8] 吴起武, 赵萍. 418 例新生儿窒息与高胆红素血症的关系分析[J]. 中国妇幼保健 2012, 27(32): 5111-5112.
- [9] KUMAR A, RAMAKRISHNA SV, BASU S, *et al.* Oxidative stress in perinatal asphyxia[J]. Pediatr Neurol, 2008, 38(3): 181-185.

## 三种方法检测儿童肺泡灌洗液中结核分枝杆菌结果分析

牛 波<sup>1</sup> 刘建华<sup>1</sup> 曹丽洁<sup>1</sup> 帅金凤<sup>1</sup> 刘新锋<sup>1</sup> 池跃朋<sup>2</sup>

( 1. 河北省儿童医院 呼吸二科 河北 石家庄 050000; 2. 河北省胸科医院 二病区 河北 石家庄 050000)

**【摘要】**目的: 探讨直接涂片法、离心涂片法和玻片沉淀法三种抗酸染色技术检测儿童肺泡灌洗液中结核分枝杆菌对于活动性肺结核的诊断价值。方法: 对 40 例疑似肺结核患儿的肺泡灌洗液标本同时进行直接涂片法、离心涂片法和玻片沉淀法检测抗酸杆菌, 比较三种方法的阳性率。结果: 直接涂片法、离心涂片法和玻片沉淀法阳性率分别为 12. 5% ( 5/40)、30. 0% ( 12/40)、77. 5% ( 31/40), 与直接涂片法及离心涂片法比较, 玻片沉淀法的阳性率较高, 差异有统计学意义( 配对  $\chi^2 = 24. 04$ ,  $P < 0. 001$ ; 配对  $\chi^2 = 15. 43$ ,  $P < 0. 001$ ); 直接涂片法和离心涂片法比较, 差异有统计学意义( 配对  $\chi^2 = 5. 14$ ,  $P < 0. 05$ )。结论: 三种方法中, 玻片沉淀法阳性率最高, 它是一种快速、简便、经济的检验技术, 值得临床推广应用。

**【关键词】**肺泡灌洗液; 肺结核; 儿童

**【中图分类号】**R 725. 6 **【文献标识码】**A

**【DOI】**10. 3969/j. issn. 1002-0217. 2016. 01. 012

## Outcomes of detecting the *Mycobacterium tuberculosis* in the bronchoalveolar lavage fluid from children by three different acid-fast staining

NIU Bo, LIU Jianhua, CAO Lijie, SHUAI Jinfeng, LIU Xinfeng, CHI Yuepeng

No. 2 Department of Respiratory Diseases, Hebei Provincial Children's Hospital, Shijiazhuang 050000, China

**【Abstract】Objective:** To assess the diagnostic value of applying conventional smear, centrifugal smear and cytopsin slides technique to detecting the *Mycobacterium tuberculosis* in the bronchoalveolar lavage fluid ( BALF) for diagnosis of pulmonary tuberculosis in children. **Methods:** The BALF samples were obtained from 40 children suspected with tuberculosis and detected by technique of direct smear, centrifugal smear and cytopsin slides, respectively. Then the positive rate was compared among the three techniques. **Results:** The positive rate was 12. 5% ( 5/40), 30. 0% ( 12/40) and 77. 5% ( 31/40) for direct smear, centrifugal smear and cytopsin slides, respectively. Cytopsin slide method demonstrated higher positive rate than the other two (  $\chi^2 = 24. 04$ ,  $P < 0. 001$ ;  $\chi^2 = 15. 43$ ,  $P < 0. 001$ ) and the difference was significant between direct smear and centrifugal smear method as well (  $\chi^2 = 5. 14$ ,  $P < 0. 05$ ). **Conclusion:** Of the three laboratory studies for *Mycobacterium tuberculosis* in BALF from children, cytopsin slide test may demonstrate highest positive rate, and is worthy of wider clinical recommendation because of its quick and simple process as well as low testing cost.

**【Keywords】** bronchoalveolar lavage fluid; pulmonary tuberculosis; children

基金项目: 河北省卫生厅重点科技研究计划( 20130397)

收稿日期: 2015-06-14

作者简介: 牛 波( 1978-), 女, 主治医师 ( 电话) 13833132393 ( 电子信箱) 24201475@qq. com;

池跃朋, 男, 主治医师 ( 电子信箱) chiyuepeng2013@163. com 通讯作者.

[10] 穆桂萍, 徐春莺, 翟长华. 新生儿窒息与心肌酶及血清胆红素动态变化的关系探讨[J]. 陕西医学杂志, 2010, 39( 1): 99 - 100, 125.

[11] 郭军, 高秋华, 杨中民, 等. 胆红素的抗氧化作用[J]. 生命的化学, 2002, 22( 2): 157 - 159.

[12] YAMADA N, YAMAYA M, OAKINAGA S, et al. Protective effects of heme oxygenase-1 against oxidant-induced injury in the cultured human tracheal epithelium[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 1999, 21( 3): 428 - 435.

[13] GEORGE EM, COLSON D, DIXON J, et al. Heme Oxygenase-1 At-

tenuates Hypoxia-Induced sFlt-1 and Oxidative Stress in Placental Villi through Its Metabolic Products CO and Bilirubin[J]. Int J Hypertens, 2012, 18( 6): 486053.

[14] CLARK JE, WONG RJ, JANG KY, et al. Heme oxygenase-1 deficiency promotes the development of necrotizing enterocolitislike intestinal injury in a newborn mouse model [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2013, 304( 11): G991 - G1001.

[15] 郭鲁闽, 许韞, 于群. 新生儿高胆红素血症对心肌细胞的影响[J]. 临床和实验医学杂志, 2013, 12( 10): 784 - 785.