

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.01.034

未足月胎膜早破合并绒毛膜羊膜炎孕妇血清中 NE, Ox-AT 及 IL-8 水平变化及临床意义

翁廷松¹ 何美玲² 刘非³ 韩田骏¹ 冯绮玲² 古聪敏⁴

(1 广州市妇女儿童医疗中心产科 广东 广州 510120; 2 中山大学孙逸仙纪念医院内分泌血液科 广东 广州 510120; 3 广州市妇女儿童医疗中心检验科 广东 广州 510120; 4 广州市妇女儿童医疗中心病理科 广东 广州 510120)

摘要 目的:探讨未足月胎膜早破(PPROM)合并绒毛膜羊膜炎(HCA)孕妇血清中性粒细胞弹性蛋白酶(NE)、氧化型 α 1-抗胰蛋白酶(Ox-AT)及白细胞介素-8(IL-8)水平变化及对妊娠结局的影响。方法:选择2015年3月至2016年2月我院收治的PPROM孕妇86例,根据患者是否合并HCA分为HCA组($n=46$)和非HCA组($n=40$),HCA组包括轻度($n=16$)、中度($n=15$)和重度($n=15$),同期选择来我院进行产检的正常孕妇45例作为对照组。应用酶联免疫吸附测定法测定孕妇产前血清NE、Ox-AT及IL-8水平,对比其不同组孕妇间的差异,分析HCA与PPROM孕妇的妊娠结局的关系。结果:HCA组及非HCA组孕妇血清NE、Ox-AT及IL-8水平均显著高于对照组,且HCA组均显著高于非HCA组,差异均具有统计学意义($P<0.05$)。随着HCA的程度加重,孕妇血清中NE、Ox-AT及IL-8水平明显升高,分别与HCA严重程度呈正相关($r=0.732, 0.694, 0.787$; 均 $P<0.05$)。HCA组中孕妇产后出血率、剖宫产率及早产儿肺炎率明显高于非HCA组,而Apgar评分显著低于非HCA组,差异均具有统计学意义($P<0.05$)。结论:血清NE、Ox-AT及IL-8与PPROM合并HCA孕妇的发生、发展有关,及时检查上述指标有助于改善此类孕妇的妊娠结局。

关键词: 未足月胎膜早破;绒毛膜羊膜炎;中性粒细胞弹性蛋白酶;氧化型 α 1-抗胰蛋白酶;白细胞介素-8;妊娠结局

中图分类号: R714.433 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2017)01-133-04

Change of Serum NE, Ox-AT and IL-8 in Pregnant Woman with Preterm Premature Rupture of Membranes Combined with Chorioamnionitis and Its Clinical Significance

WENG Ting-song¹, HE Mei-ling², LIU Fei³, HAN Tian-jun¹, FENG Qi-ling², GU Cong-min⁴

(1 Department of Obstetrics, Guangzhou Women and Children's Medical Center, Guangzhou, Guangdong, 510120, China; 2 Department of Endocrinology and Hematology, Sun Yat-Sen Memorial Hospital, Sun Yat-Sen University, Guangzhou, Guangdong, 510120, China;

3 Department of Laboratory Medicine, Guangzhou Women and Children's Medical Center, Guangzhou, Guangdong, 510120, China;

4 Department of Pathology, Guangzhou Women and Children's Medical Center, Guangzhou, Guangdong, 510120, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the change of neutrophil elastase (NE), Oxidized α 1-antitrypsin (Ox-AT) and interleukin-8 (IL-8) in pregnant woman with preterm premature rupture of membranes (PPROM) combined with chorioamnionitis (HCA) and its influence on the pregnancy outcome. **Methods:** 86 cases of pregnant women with PPROM were selected from March 2015 to February 2016, the women combined with HCA were divided into HCA group ($n=46$), the women without HCA were non HCA group ($n=40$), and HCA group was divided into mild ($n=16$), moderate ($n=15$) and severe ($n=15$). Meanwhile 45 cases of healthy pregnant women underwent antenatal care in our hospital were treated as control group. Levels of serum NE, Ox-AT and IL-8 in prenatal were detected by Enzyme linked immunosorbent assay method, and their difference were compared in different groups, at the same time the relationship of pregnancy outcomes and HCA were analyzed. **Results:** The level of serum NE, Ox-AT and IL-8 of HCA group and non HCA group were significantly higher than those of control group, and HCA group were significantly higher than those of the non HCA group, which the differences were statistically significant ($P<0.05$). With the increasing of degree of HCA, levels of serum NE, Ox-AT and IL-8 increased significantly ($r=0.732, 0.694, 0.787$; all $P<0.05$); The postpartum haemorrhage rate, caesarean delivery rate and premature pneumonia rate in HCA group were significantly higher than non HCA group, while Apgar score was significantly lower than non HCA group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion:** Serum NE, Ox-AT and IL-8 relate to the occurrence and development of pregnant women with PPROM combined with HCA, inspecting the above indicators is helpful to improve pregnancy outcomes in this kind of pregnant women.

作者简介:翁廷松(1981-),男,本科,主治医师,从事围产医学方面的研究, E-mail: wengtongsong1212@sina.com

(收稿日期:2016-06-27 接受日期:2016-07-24)

Key words: Preterm premature rupture of membranes;Chorioamnionitis;Neutrophil elastase;Oxidized α 1-antitrypsin;Interleukin-8; Pregnancy outcome

Chinese Library Classification(CLC): R714.433 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)01-133-04

前言

早产是孕妇围产期常见并发症之一,引发早产的主要原因之一是未足月胎膜早破 (preterm premature rupture of membranes, PPRM)^[1]。PPROM 指的是孕周低于 37 周的产妇在临产前出现自发性的胎膜破裂,发病率逐年升高,对产妇及新生儿产生重大影响,甚至可能造成胎儿死亡^[2]。引起 PPRM 的病因尚未明确,是多种因素综合作用引发的,其中感染是最常见的病因之一,而且与 PPRM 形成恶性循环,感染的临床主要表现为绒毛膜羊膜炎 (chorioamnionitis, HCA)^[3]。PPROM 合并 HCA 孕妇起病隐匿,早期临床症状不明显,如果检测到明显的临床症状时,可能已经对孕妇和新生儿造成严重影响,所以人们在不断寻找快速诊断方法^[4]。传统培养羊水细菌和胎盘胎膜的病理诊断方式对早期患者诊断效果不明显,血清 C-反应蛋白 (C-reactive protein, CRP) 诊断的敏感性和特异性存在争议^[5]。有研究发现^[6],中性粒细胞弹性蛋白酶 (Neutrophil elastase, NE) 与氧化型 α 1-抗胰蛋白酶 (Oxidized α 1-antitrypsin, Ox-AT) 与 PPRM 合并 HCA 关系密切,并调节其炎症反应,除此之外,细胞因子也可能与 PPRM 合并 HCA 的产生有关系,其中起主要作用的细胞因子是白细胞介素-8 (interleukin-8, IL-8)^[7]。本

研究中通过检测 PPRM 合并 HCA 孕妇血清中 NE、Ox-AT 及 IL-8 水平的变化,探讨其与 PPRM 合并 HCA 之间的联系,并观察分析妊娠结局。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选择 2015 年 3 月至 2016 年 2 月我院收治的 PPRM 孕妇 86 例,所有患者诊断标准参考《妇产科学》^[8]中的相关规定,纳入标准:①均为单胎头位且孕周明确;②月经周期为 28~32 天;③临床无明显的感染症状;④进组前半月内未使用抗生素;⑤临床资料完整并配合整个研究过程。排除标准:①合并心、肝、肾等重大脏器病变患者;②妊娠期糖尿病、高血压产妇等妊娠期并发症;③胎儿畸形、死胎等发育异常;④出现未知原因发热。患者年龄 23~38 岁,平均 (28.32 $\pm$ 2.04) 岁;孕次 1~3 次,平均 (1.12 $\pm$ 0.22) 次。根据 HCA 的诊断标准^[9]将患者分为 HCA 组 (包括轻度、中度和重度) 46 例和非 HCA 组 40 例,各组患者的临床资料如表 1 所示。另外选择同期来我院进行产检的正常孕妇 45 例,作为对照组,年龄 24~36 岁,平均 (28.17 $\pm$ 2.24) 岁;孕次 1~3 次,平均 (1.08 $\pm$ 0.25) 次,两组孕妇的年龄和孕次之间的差异无统计学意义,具有可比性 ($P>0.05$)。

表 1 各组孕妇临床资料比较
Table 1 Comparison of clinical data in different groups

Groups	n	Age(year)	Gestational week (Week)	Gravida(Time)	Time from rupture to fetal delivery(h)
Mild	16	27.87 $\pm$ 2.57	31.17 $\pm$ 2.08	1.12 $\pm$ 0.21	75.88 $\pm$ 7.04
Moderate	15	28.15 $\pm$ 2.68	32.01 $\pm$ 2.19	1.13 $\pm$ 0.22	77.13 $\pm$ 6.92
Severe	15	28.98 $\pm$ 2.49	31.89 $\pm$ 2.06	1.18 $\pm$ 0.26	76.31 $\pm$ 7.24
Non HCA group	40	28.42 $\pm$ 2.36	31.32 $\pm$ 2.22	1.11 $\pm$ 0.23	76.37 $\pm$ 6.84
F		2.013	1.874	2.375	2.641
P		0.123	0.146	0.079	0.058

1.2 方法

采集所有孕妇产前肘静脉血 4 mL,以转速 4000 r/min 离心 10 min,取上清液置于 -80℃ 冰箱中待测,应用酶联免疫吸附测定法检测血清中的 NE、Ox-AT 及 IL-8 水平,严格按照说明书进行操作,试剂盒由美国 B&D 公司提供。统计 PPRM 孕妇的妊娠结局,其中包括分娩方式、产后出血、新生儿窒息及新生儿肺炎等情况,并进行分析。

1.3 诊断标准

HCA 诊断通过胎膜病理切片进行确诊^[9];进行 HE 染色后观察,绒毛膜及羊膜组织中中性粒细胞的浸润情况,超过 3~4 个 / 高倍视野为 HCA;若低于 3 个 / 高倍视野或未出现浸润现象则为无感染症状。同时根据胎膜中浸润中性白细胞的数量的数量分为三个等级:轻度,中性白细胞 5~10 个 / 高倍视野;中度,中

性白细胞 11~30 个 / 高倍视野;重度,中性白细胞超过 30 个 / 高倍视野。

新生儿窒息情况采用阿普加 (Apgar) 评分^[10]进行评估,其中包括五项内容:心率、呼吸、肌张力、导管插鼻反应及皮肤颜色,每项 0~2 分,共 10 分。

1.4 统计学方法

应用 SPSS19.0 软件对数据进行统计分析,计量资料用平均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,两组比较采用 t 检验,三组比较采用方差检验;计数资料用百分率 (%) 表示,组间比较采用 χ^2 检验,检测指标与 HCA 严重程度之间的关系采用 Spearman 相关性分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同组孕妇血清 NE、Ox-AT 及 IL-8 水平比较

HCA 组及非 HCA 组孕妇血清 NE、Ox-AT 及 IL-8 水平均有统计学意义($P<0.05$),如表 2 所示。明显高于对照组,且 HCA 组均显著高于非 HCA 组,差异均具

表 2 不同组孕妇血清 CRP、NE、Ox-AT 及 IL-8 水平比较

Table 2 Comparison of serum levels of NE, Ox-AT and IL-8 in different groups

Groups	n	NE(ng/L)	Ox-AT(ng/L)	IL-8(ng/L)
HCA group	46	0.68± 0.13**	2.56± 0.38**	0.93± 0.21**
Non HCA group	40	0.32± 0.08 [#]	1.64± 0.35 [#]	0.51± 0.14 [#]
Control group	45	0.17± 0.05	0.89± 0.22	0.26± 0.06
F		356.522	304.103	229.631
P		0.000	0.000	0.000

Note: Compared with control group, [#] $P<0.05$; Compared with the HCA group, ** $P<0.05$.

2.2 HCA 程度与血清 NE、Ox-AT 及 IL-8 水平的相关性 平明显升高, 分别与 HCA 严重程度呈正相关($r=0.732$ 、 0.694 、 0.787 ; $P=0.025$ 、 0.038 、 0.012),如表 3 所示。

表 3 不同程度 HCA 孕妇血清 NE、Ox-AT 及 IL-8 水平之间的相关性

Table 3 Correlation between serum levels of NE, Ox-AT and IL-8 and different degrees of HCA pregnant woman

Groups	n	NE(ng/L)	Ox-AT(ng/L)	IL-8(ng/L)
Mild	16	0.58± 0.13	2.38± 0.29	0.79± 0.16
Moderate	15	0.67± 0.12*	2.57± 0.32*	0.91± 0.19*
Severe	15	0.79± 0.17**	2.75± 0.37**	1.04± 0.22**
F		8.573	4.947	6.639
P		0.001	0.012	0.003

Note:Compared with mild group,** $P<0.05$;compared with moderate group, * $P<0.05$.

2.3 HCA 组和非 HCA 组妊娠结局对比 显高于非 HCA 组,而 Apgar 评分显著低于非 HCA 组,差异均具有统计学意义($P<0.05$),如表 4 所示。

表 4 HCA 组和非 HCA 组妊娠结局对比

Table 4 Comparison of pregnancy outcome of HCA group and non HCA group

Groups	n	Postpartum haemorrhage[n(%)]	Cesarean delivery[n(%)]	Premature infant pneumonia[n(%)]	Apgar score(points)
HCA group	46	13(28.26)	25(54.35)	18(39.13)	5.34± 1.03
Non HCA group	40	7(17.50)	12(30.00)	11(27.50)	7.12± 1.08
t/ χ^2		6.726	6.827	6.773	2.321
P		0.035	0.033	0.034	0.023

3 讨论

羊膜和绒毛膜共同形成封闭环境,即为胎膜,胎膜具有弹性,对胎儿具有保护作用,机体在正常状态下,胎膜的弹性由细胞外基质滑动调节影响其张力变化,胎膜至妊娠中期后不再生长,在妊娠晚期变薄^[11],并且分娩前不容易出现破裂,孕妇在孕早期受到其他因素的影响,通过降低胎膜张力和弹性后,使得变薄的胎膜承受不住羊膜腔压力而发生破裂^[12]。胎膜早破可以引起早产,对产妇及新生儿造成严重影响,而 HCA 是造成 PPRM 发生的危险因素之一,并且随着破膜时间的延长,胎儿宫内感染机率增加,通过检测病原微生物对临床诊断 PPRM 合并 HCA 的意义并不大,因此急需寻找一套有效的检测指标^[13]。

NE 作为一种丝氨酸中性蛋白水解酶,由中性粒细胞内溶酶体分泌,在炎症的发生发展过程中起着重要作用,可以促进

炎症因子的释放,机体在正常状态下,其水平极低^[14]。 α 1-AT 是一种在肝脏中合成的丝氨酸蛋白酶抑制剂,可以竞争性抑制胰蛋白酶、胶原酶等的分泌,具有抗炎和抗感染的作用,可以与 NE 处于平衡状态从而保护组织,Ox-AT 是局部炎症导致 α 1-AT 氧化的存在形式,对 NE 及炎症反应无抑制作用,加速 PPRM 的产生^[15]。IL-8 也称为中性粒细胞激活肽,是一种糖蛋白,主要分布在上皮细胞、巨噬细胞、干细胞、绒毛膜细胞等,是一种重要的炎症因子和免疫因子,可以使得中性粒细胞趋化并激活,对机体的炎症反应及创伤愈合具有重要作用^[16]。本研究发现,无论是否合并 HCA 的 PPRM 孕妇血清 NE、Ox-AT 及 IL-8 水平均明显高于健康孕妇,并且 PPRM 合并 HCA 孕妇显著高于单纯 PPRM 孕妇,说明血清 NE、Ox-AT 及 IL-8 水平异常升高与 PPRM 发病有关,当上述指标升高到一定程度后,可能并发 HCA,出现这种现象的主要原因是炎症反应加速

中性粒细胞在病灶部位的集中和活化,同时提高 NE 释放量,NE 作为炎症损伤因子对细胞外基质具有降解作用,还可以促进 IL-8 的分泌,进一步地促进中性粒细胞的迁移和趋化,加重炎症的损伤程度^[14],同时炎症反应还可以氧化 α 1-AT 形成 Ox-AT,而失去抗炎的活性,同时下调糖皮质激素受体的表达,增加炎症因子的释放,使组织修复过程受阻^[15]。且本研究发现,血清 NE、Ox-AT 及 IL-8 水平随着 HCA 的程度加重而升高,两者呈正相关关系,说明血清 NE、Ox-AT 及 IL-8 水平与 PPRM 合并 HCA 疾病进展有关。

研究中对 HCA 组和非 HCA 组孕妇的妊娠结局进行分析发现,HCA 组中孕妇剖宫产率、产后出血量及早产儿肺炎率明显高于非 HCA 组,而 Apgar 评分显著低于非 HCA 组,且差异均具有统计学意义($P < 0.05$),说明 HCA 对 PPRM 孕妇的妊娠结局造成不良影响。随着破膜时间的延长,感染几率增加,导致孕妇宫缩乏力,延长产程,同时孕周不足,胎儿发育不全,体积较小,容易出现头盆不对称现象,增加了难产的机率,因此大多数会选择剖宫产^[17];产妇在分娩后 24 h 内出血量超过 500 mL 的现象称为产后出血,已经成为导致产妇死亡的首要原因,炎症对胎膜及子宫肌层造成影响,使得其对缩宫素敏感性下降,宫缩乏力,延长产程,产后出血现象增多^[18]。当 PPRM 孕妇合并发生 HCA 时,炎症因子通过母体将病原体垂直感染胎儿,或者是在分娩过程中吸入感染的羊水和分泌物,导致新生儿出现肺炎^[19]。另外,随着羊水的外溢,脐带受到挤压,胎儿在子宫内缺氧,炎症增加了缺氧的现象,从而提高新生儿窒息的严重性^[20]。

综上所述,NE、Ox-AT 及 IL-8 水平与 PPRM 合并 HCA 的发生及发展密切相关,动态监测 PPRM 合并 HCA 孕妇血清中上述指标的变化可以对妊娠结局进行早期预测,从而可以及时采取有效的干预措施,从而降低不良妊娠结局的发生率。

参考文献(References)

- [1] Sirak B, Mesfin E. Maternal and perinatal outcome of pregnancies with preterm premature rupture of membranes (PPROM) at tikur anbesa specialized teaching hospital, addis ababa, ethiopia[J]. Ethiop Med J, 2014, 52(4): 165-172
- [2] Crane JM, Magee LA, Lee T, et al. Maternal and perinatal outcomes of pregnancies delivered at 23 weeks' gestation [J]. J Obstet Gynaecol Can, 2015, 37(3): 214-224
- [3] Subramaniam A, Cliver SS, Smeltzer S, et al. Preterm premature rupture of membranes (PPROM):outcomes of delivery at 32 (° /7)-33 (6/7)weeks after confirmed fetal lung maturity(FLM)versus expectant management until 34 (° /7)weeks [J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2016, 29(12): 1895-1899
- [4] Wolf MF, Miron D, Peleg D, et al. Reconsidering the Current Preterm Premature Rupture of Membranes Antibiotic Prophylactic Protocol [J]. Am J Perinatol, 2015, 32(13): 1247-1250
- [5] Lee SY, Park KH, Jeong EH, et al. Intra-amniotic infection/inflammation as a risk factor for subsequent ruptured membranes after clinically indicated amniocentesis in preterm labor[J]. J Korean Med Sci, 2013, 28(8): 1226-1232
- [6] 周琴,赵敏,张高.蛋白酶在胎膜早破合并羊膜炎中的表达及对妊娠结局的影响[J].中华医院感染学杂志, 2014, 24(22): 5657-5659
- [7] Zhou Qin, Zhao Min, Zhang Gao. Expression of protease in preterm premature rupture of membranes complicated with histological chorioamnionitis and impact on pregnancy outcomes [J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2014, 24(22): 5657-5659
- [8] 白艳艳,胡明英,张建军,等.血清 IL-18、G-CSF 的测定在胎膜早破中的临床意义[J].辽宁医学院学报, 2014, 35(1): 54-56
- [9] Bai Yan-yan, Hu Ming-ying, Zhang Jian-jun, et al. Clinical Significance of Serum Levels of IL-18, G-CSF in Diagnosing Premature Rupture of Membranes [J]. Journal of Liaoning Medical University, 2014, 35(1): 54-56
- [10] 乐杰.妇产科学(第 8 版)[M].北京:人民卫生出版社, 2011: 112
- [11] Le Jie. Obstetrics and Gynecology (version 8)[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2011: 112
- [12] Burke C, Chin EG. Chorioamnionitis at Term: Definition, Diagnosis, and Implications for Practice[J]. J Perinat Neonatal Nurs, 2016, 30(2): 106-114
- [13] Gezer A, Parafit-Yalciner E, Guralp O, et al. Neonatal morbidity mortality outcomes in pre-term premature rupture of membranes[J]. J Obstet Gynaecol, 2013, 33(1): 38-42
- [14] Mariona FG, Roura LC. The role of placental alpha microglobulin-1 amnisure in determining the status of the fetal membranes;its association with preterm birth[J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2016, 29(6): 1016-1020
- [15] Perrini M, Mauri A, Ehret AE, et al. Mechanical and microstructural investigation of the cyclic behavior of human amnion [J]. J Biomech Eng, 2015, 137(6): 061010
- [16] Kim SA, Park KH, Lee SM. Non-Invasive Prediction of Histologic Chorioamnionitis in Women with Preterm Premature Rupture of Membranes[J]. Yonsei Med J, 2016, 57(2): 461-468
- [17] Korkmaz B, Jenne DE, Gauthier F. Relevance of the mouse model as a therapeutic approach for neutrophil proteinase 3-associated human diseases[J]. Int Immunopharmacol, 2013, 17(4): 1198-1205
- [18] Kim JS, Yoon YJ, Lee EJ. Studies on distribution of α 1-antitrypsin, lysozyme, lactoferrin, and mast cell enzymes in diseased middle ear mucosa[J]. Acta Otolaryngol, 2014, 134(8): 791-795
- [19] Adiloğlu AK, Gönülateş N, Işler M, et al. The effect of kefir consumption on human immune system:a cytokine study [J]. Mikrobiyol Bul, 2013, 47(2): 273-281
- [20] Matsunami S, Komazawa N, Kusaka Y, et al. A Case of Septic Shock Immediately following Cesarean Section [J]. Masui, 2015, 64 (8): 819-821
- [21] Cierny JT, Unal ER, Flood P, et al. Maternal inflammatory markers and term labor performance [J]. Am J Obstet Gynecol, 2014, 210(5): 447
- [22] Wolfs TG, Kramer BW, Thuijls G, et al. Chorioamnionitis-induced fetal gut injury is mediated by direct gut exposure of inflammatory mediators or by lung inflammation[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2014, 306(5): G382-G393
- [23] Hassell KJ, Ezzati M, Alonso-Alconada D, et al. New horizons for newborn brain protection:enhancing endogenous neuroprotection [J]. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed, 2015, 100(6): F541-F552