

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.13.039

新生儿持续性肺动脉高压患儿血浆 VEGF 与 TGF- β 1 水平变化及临床意义

杜岚岚¹ 王健^{2Δ} 陈佳¹ 梁树¹ 向建文¹

(1 广州医科大学附属广东省妇幼保健院 新生儿科 广东 广州 511400; 2 广州呼吸疾病研究所 广东 广州 510120)

摘要 目的:探讨新生儿持续性肺动脉高压(PPHN)患儿血浆血管内皮生长因子(VEGF)与转化生长因子- β 1 水平变化及临床意义。**方法:**选择 2014 年 5 月至 2016 年 2 月我院 PPHN 患儿(观察组)及足月正常儿(对照组)各 30 例,根据肺动脉压力(PAMP)将观察组患儿分为轻度($n=11$),中度($n=11$)及重度($n=8$)。对观察组患儿进行常规治疗(NO+ 高频振荡通气),采用酶联免疫吸附(ELISA 法)检测对照组与观察组治疗前、后血浆 VEGF、TGF- β 1 水平,分析各指标与 PAMP 的相关性。**结果:**观察组治疗前血浆 VEGF、TGF- β 1 与 PAMP 水平高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);且观察组治疗后显著降低,与治疗前比较差异具有统计学意义($P<0.05$)。观察组患儿血浆 VEGF、TGF- β 1 与 PAMP 水平随着严重程度的增加而增加,其中重度>中度>轻度,差异具有统计学意义($P<0.05$)。线性相关分析显示,血浆 VEGF、TGF- β 1 水平均与 PAMP 呈正相关($r=0.744, r=0.765$, 均 $P<0.05$)。**结论:**PPHN 患儿血浆 VEGF、TGF- β 1 水平显著升高,与病情的发展有关,可用于临床疾病诊断及疗效评估。

关键词:新生儿肺动脉高压; VEGF; TGF- β 1; 肺动脉压力

中图分类号:R725.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2017)13-2550-03

Change of Plasma VEGF and TGF- β 1 Levels of Newborns with Persistent Pulmonary Hypertension and Its Clinical Significance

DU Lan-lan¹, WANG Jian^{2Δ}, CHEN Jia¹, LIANG Shu¹, XIANG Jian-wen¹

(1 Guangdong Provincial Maternity and Child Care Center affiliated to Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong, 511400, China;

2 Guangzhou Institute of Respiratory Disease, Guangzhou, Guangdong, 510120, China)

ABSTRACT Objective: To compare the difference of plasma vascular endothelial growth factor (VEGF) and transforming growth factor β 1 (TGF- β 1) in newborns with persistent pulmonary hypertension(PPHN) and healthy newborns, and to explore the application value of VEGF and TGF- β 1 in the early diagnosis of PPHN. **Methods:** 30 cases of normal term newborns (control group) and 30 cases of PPHN (observation group) were selected in our hospital from May 2014 to February 2016, the observation group was divided into mild ($n=11$), moderate ($n=11$) and severe ($n=8$) according to the PPHN severity. The observation group was treated with routine treatment (NO+high frequency oscillatory ventilation), enzyme linked immunosorbent assay (ELISA method) was used to detect the plasma VEGF and TGF- β 1 levels in control group and observation group before and after treatment, in the same time, tested the mean pulmonary artery pressure (PAMP) levels in two groups, then analyzed the correlation of each indexes. **Results:** The levels of plasma VEGF, TGF- β 1 and PAMP in observation group before treatment were higher than the control group, the differences were statistically significant($P<0.05$), and those indexes in the observation group after treatment decreased significantly, compared with before treatment, the differences were statistically significant ($P<0.05$). Linear correlation analysis showed that the levels of plasma VEGF, TGF- β 1 were positively correlated with PAMP respectively ($r=0.744, r=0.765$, all $P<0.05$). **Conclusion:** The levels of plasma VEGF, TGF- β 1 are significantly increased, which are correlated to the occurrence and development of the disease, and could be used for clinical disease diagnosis and evaluation of curative effect.

Key words: Persistent pulmonary hypertension of newborn; VEGF; TGF- β 1; Pulmonary artery pressure

Chinese Library Classification(CLC): R725.4 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)13-2550-03

前言

作者简介:杜岚岚(1980-),女,硕士,副主任医师,从事小儿内科方面的研究, E-mail: dunannan1980@sina.com

Δ 通讯作者:王健(1962-),男,博士,教授,从事肺血管疾病发病机制及药物研发方面的研究

(收稿日期:2016-09-13 接受日期:2016-10-10)

新生儿持续性肺动脉高压(persistent pulmonary hypertension of newborn, PPHN)是一种常见的临床表现,可由多种心、肺疾病引起,PPHN 为足月儿或过期产儿较为常见的危重症,病情的严重程度直接影响患儿的预后水平。其发病机制目前尚未明确,较多研究理论认为其与血管内皮细胞出现损伤有关^[1,2]。转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)以及血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)均

与肺血管重建有关^[3,4]。以往对于 PPHN 的研究多是针对某一因子^[5],而一种因子所激发的细胞反应可影响其他因子的水平,因此笔者认为,研究多种因子水平的变化可能更具有科学性。本研究通过探讨正常新生儿与 PPHN 患儿中的 VEGF、TGF- β 1 水平变化,通过分析两者与肺动脉压力(mean pulmonary artery pressure,PAMP)的关系,探讨两者在 PPHN 发生发展中的动态变化及临床意义。研究内容如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2014 年 5 月至 2016 年 2 月我院 PPHN 患儿 30 例作为观察组,纳入标准:参考《实用新生儿学》^[6]符合 PPHN 诊断标准,围产期病史:有产前与产时窘迫,或出生后有复苏抢救史或伴有严重羊水胎粪污染记录;PAMP $\geq$ 20 mmHg,于出生后 12 h 内发生呼吸急促以及严重青紫,在经通气治疗后发绀、气促的症状仍然无明显改善;生后 72 h 内发病经本科常规治疗(NO+高频振荡通气)7 d 内临床症状好转;家属均签署知情同意书。排除标准:患儿存在严重先天性心血管疾病、膈疝及肺发育不良;常规治疗 7 d 内临床症状仍持续加重,提示治疗无效者;患儿家属不同意参与研究;未能按研究方案完成研究者。观察组男性 17 例,女性 13 例,年龄 38~42 周,平均(41.12 $\pm$ 4.76)周;体重 2.6kg~3.8 kg,平均(3.32 $\pm$ 1.84)kg。根据 PPHN 严重程度分为 3 级,即 20 $\leq$ PAMP $\leq$ 40 mmHg 为轻度,40<PAMP<60 mmHg 为中度,PAMP $\geq$ 60 mmHg 为重度。其中轻度 11 例,中度 11 例,重度 8 例。另选择同期于我院分娩的足月正常儿 30 例作为对照组。纳入标准:PAMP<20 mmHg,产妇无异常产科病史,产前无特殊用药史,自然分娩或因社会因素行剖宫产;出

生后均无发绀、气促、低氧血症等异常表现;3-7 d 随母出院,无需特殊医疗干预。其中男性 16 例,女性 14 例,年龄 37~42 周,平均(39.23 $\pm$ 5.17)周,体重 2.5 kg~4 kg,平均(3.22 $\pm$ 1.67)kg。两组患儿在性别、年龄、体重的比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 研究方法

对照组在出生后第 7 d 采集静脉血 1 mL 送检,而观察组患儿在常规治疗(NO+高频振荡通气)前、常规治疗临床症状好转 24 h 内分别采集静脉血 1 mL 送检。两组血液样本均以 3000 r/min 离心 10 min,采用酶联免疫吸附(ELISA 法)检测血浆 VEGF 与 TGF- β 1 的水平,试剂盒购自美国 Assay Designs,检测步骤按试剂盒操作进行。同时采用彩色多普勒超声法检测患儿 PAMP。

1.3 统计学方法

运用 SPSS20.0 软件对数据进行处理,计量资料经由($\bar{x} \pm s$)表示,多组数据的比较经由 F 检验,两两比较经由 t 检验,计数资料经由 n(%)表示,数据经由卡方 χ^2 比较;PAMP 与 VEGF、TGF- β 1 的相关性经由线性相关分析, $P<0.05$ 时认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组各指标比较

结果显示,观察组治疗前血浆 VEGF、TGF- β 1 与 PAMP 水平高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),观察组治疗后血浆 VEGF、TGF- β 1 与 PAMP 水平明显低于治疗前,差异有统计学意义($P<0.05$),观察组治疗后血浆 VEGF、TGF- β 1 与 PAMP 水平与对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

表 1 两组各指标比较

Table 1 Comparison of various indexes in the two groups

Groups	VEGF(pg/mL)	TGF- β 1(pg/mL)	PAMP(mmHg)
Control group (n=30)	394.55 $\pm$ 22.36	730.56 $\pm$ 31.34	17.23 $\pm$ 2.12
Observation group (n=30)	Before treatment	623.90 $\pm$ 41.37*	910.31 $\pm$ 67.21*
	After treatment	405.53 $\pm$ 24.81 ^a	745.22 $\pm$ 34.11 ^a

Note: compared with the control group,* $P<0.05$; compared with the before treatment, ^a $P<0.05$.

2.2 不同程度 PPHN 患儿各指标比较

PPHN 患儿血浆 VEGF、TGF- β 1 与 PAMP 水平随着严重程度的增加而增加,其中重度 > 中度 > 轻度,差异均有统计学

意义(均 $P<0.05$)。经线性相关分析表明,PAMP 与血浆 VEGF、TGF- β 1 水平均呈正相关($r=0.744, 0.765$, 均 $P<0.05$)。见表 2。

表 2 观察组不同程度 PPHN 各指标比较

Table 2 Comparison of different degrees of PPHN patients in the observation group

Classification	VEGF(pg/mL)	TGF- β 1(pg/mL)	PAMP(mmHg)
Mild	450.11 $\pm$ 27.76	800.23 $\pm$ 40.12	26.43 $\pm$ 2.71
Moderate	580.76 $\pm$ 32.18*	895.12 $\pm$ 57.12*	51.12 $\pm$ 3.45*
Severe	711.22 $\pm$ 50.24* ^a	972.11 $\pm$ 78.12* ^a	67.12 $\pm$ 6.76* ^a
F	120.441	20.724	185.062
P	0.000	0.000	0.000

Note: compared with mild patients,* $P<0.05$; compared with moderate patients, ^a $P<0.05$.

3 讨论

肺动脉高压是指在静息状态下肺动脉压 >25 mmHg,在运动时肺动脉压 >30 mmHg^[7]。PPHN 患者如不及时治疗,可

能进展为肺动脉高压危象,严重影响患者的预后。对于 PPHN 的研究已经有一百多年的历史,但其发病机制尚未完全研究清楚。正常肺脏血管内膜覆盖有一层扁平的血管内皮细胞,对于内环境的稳定具有重要作用,除了具有改善血管通透性保证血管的完整性以外,还可分泌多种活性物质,调节血管的舒缩程度。PPHN 患儿病理改变主要包括平滑肌细胞增生以及血管内皮细胞出现损伤^[89]。血管内皮细胞释放的细胞因子及生产因子包括 VEGF、TGF- β 1、表皮生长因子等,它们参与了血管内皮细胞异常增生、损伤、肺血管重构等。国外研究人员通过实验^[90],推测 PPHN 的发病机制与晚期宫内高血压下调肺部组织中 VEGF 的表达,损害 VEGF 的信号转导有关。本研究通过分析 PPHN 患儿的血浆 VEGF、TGF- β 1 水平,旨在探讨 PPHN 的发病机制,并为其临床诊断及病情控制提供参考。

本研究结果显示,观察组治疗前血浆 VEGF、TGF- β 1 与 PAMP 水平高于对照组($P<0.05$),以上结果表明,发生 PPHN 后血浆 VEGF、TGF- β 1 与 PAMP 水平明显升高。VEGF 是刺激肺血管重塑的重要因子,和细胞受体结合后发挥其功能,促血管内皮细胞的分裂与增殖,具有较强的促血管形成作用,有研究应用苏拉明阻断 VEGF 与其受体的相互作用,具有预防肺动脉高压的效应^[11,12]。此外,VEGF 通过释放内皮衍生性舒张因子即一氧化氮对抗内皮素的作用。随着病变的发展,进一步引起动脉壁平滑肌增生肥厚、内膜细胞增生或纤维化、中膜和内膜增厚、细胞外基质增多、血管弹性下降、血管腔狭窄或闭塞以致细小动脉肌性化,最终引起 PPHN^[13,14]。TGF- β 1 不但能有效地调节平滑肌细胞的增殖,同时还可诱导成纤维细胞向成肌纤维细胞转化,为 VEGF 的增效剂。TGF- β 1 作为 VEGF 的上游因子,诱导 VEGF 的表达来调节血管的形成,在 PPHN 的发生、发展过程中起到一定作用^[15,16]。有文献资料表明,抑制 VEGF 的合成及释放,将对有效抑制肺动脉高压及其肺血管重建、防治肺动脉高压提供新的途径^[17-19]。不同分级 PPHN 患儿血浆 VEGF、TGF- β 1 与 PAMP 水平随着 PPHN 严重程度的增加而增加($P<0.05$)。线性相关回归分析显示,观察组血浆 VEGF、TGF- β 1 水平与 PAMP 呈正相关($r=0.744, r=0.765, P<0.05$)。血清 VEGF、TGF- β 1 水平随肺动脉压力的增高而增加,提示血浆 VEGF、TGF- β 1 参与了 PPHN 的形成,表明其水平变化可以反映 PPHN 患儿的肺动脉高压程度,分析原因因为这两种生长因子通过上述机制作用于 PPHN 的发生发展,在肺动脉高压的形成中相互调控,两因子起到相互协同作用^[20],且 TGF- β 1 的趋化作用尤为显著,可有效的促进 VEGF 的表达。

综上所述,PPHN 血浆 VEGF、TGF- β 1 水平显著升高,其水平与肺动脉压力呈正相关性,监测血浆 VEGF 和 TGF- β 1 对肺动脉高压发生发展及治疗疗效评估有重要的价值。

参考文献(References)

- [1] Malowitz JR, Forsha DE, Smith PB, et al. Right ventricular echocardiographic indices predict poor outcomes in infants with persistent pulmonary hypertension of the newborn [J]. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*, 2015, 16(11): 1224-1231
- [2] Wang C, Jing ZC, Huang YG, et al. Riociguat for the treatment of pulmonary hypertension: Chinese subgroup analyses and comparison[J]. *Heart Asia*, 2016, 8(1): 74-82
- [3] Fediuk J, Dakshinamurti S. A role for actin polymerization in persistent pulmonary hypertension of the newborn [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2015, 93(3): 185-194
- [4] Machado RF, Farber HW. Pulmonary Hypertension Associated with Chronic Hemolytic Anemia and Other Blood Disorders[J]. *Clin Chest Med*, 2013, 34(4): 739-752
- [5] Alwan S, Bandoli G, Chambers CD. Maternal use of selective serotonin-reuptake inhibitors and risk of persistent pulmonary hypertension of the newborn[J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2016, 100(1): 34-41
- [6] Chatmethakul T, Bhat R, Alkaabi M, et al. Infantile Hepatic Hemangioendothelioma: An Uncommon Cause of Persistent Pulmonary Hypertension in a Newborn Infant[J]. *AJP Rep*, 2016, 6(3): e260-e263
- [7] Gagnon MH, Wintermark P. Effect of persistent pulmonary hypertension on brain oxygenation in asphyxiated term newborns treated with hypothermia [J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2016, 29 (13): 2049-2055
- [8] Olschewski A, Nagaraj C, Olschewski H. A novel channelopathy in pulmonary arterial hypertension [J]. *N Engl J Med*, 2013, 369(22): 2161
- [9] O'Callaghan DS, Savale L, Montani D, et al. Treatment of pulmonary arterial hypertension with targeted therapies [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2011, 8(9): 526-538
- [10] Schermuly RT, Ghofrani HA, Wilkins MR, et al. Mechanisms of disease: pulmonary arterial hypertension[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2011, 8(8): 443-455
- [11] Giannakoulas G, Mouratoglou SA, Gatzoulis MA, et al. Blood biomarkers and their potential role in pulmonary arterial hypertension associated with congenital heart disease: a systematic review [J]. *Int J Cardiol*, 2014, 174(3): 618-623
- [12] Jain A, McNamara PJ. Persistent pulmonary hypertension of the newborn: Advances in diagnosis and treatment [J]. *Semin Fetal Neonatal Med*, 2015, 20(4): 262-271
- [13] Aggarwal S, Natarajan G. Echocardiographic correlates of persistent pulmonary hypertension of the newborn[J]. *Early Hum Dev*, 2015, 91 (4): 285-289
- [14] Sutendra G, Michelakis ED. The Metabolic Basis of Pulmonary Arterial Hypertension[J]. *Cell Metab*, 2014, 19(4): 558-573
- [15] Bendapudi P, Rao GG, Greenough A. Diagnosis and management of persistent pulmonary hypertension of the newborn[J]. *Paediatr Respir Rev*, 2015, 16(3): 157-161
- [16] Chai SD, Liu T, Dong MF, et al. Inactivated *Pseudomonas aeruginosa* inhibits hypoxia-induced pulmonary hypertension by preventing TGF- β 1/Smad signaling [J]. *Braz J Med Biol Res*, 2016, 49 (10): e5526
- [17] Ogo T, Chowdhury HM, Yang J, et al. Inhibition of overactive transforming growth factor- β signaling by prostacyclin analogs in pulmonary arterial hypertension[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2013, 48 (6): 733-741
- [18] Loyd JE. Pulmonary Arterial Hypertension: Insights from Genetic Studies[J]. *Proc Am Thorac Soc*, 2011, 8(2): 154-157
- [19] Li L, Zhang X, Li X, et al. TGF β 1 inhibits the apoptosis of pulmonary arterial smooth muscle cells and contributes to pulmonary vascular medial thickening via the PI3K/Akt pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13(3): 2751-2756
- [20] Derrett-Smith EC, Dooley A, Gilbane AJ, et al. Endothelial injury in a TGF- β dependent mouse model of scleroderma induces pulmonary arterial hypertension[J]. *Arthritis Rheum*, 2013, 65(11): 2928-2939