

DOI:10.3969/j.issn.1000-9760.2018.05.011

87 例新生儿羊水吸入死亡案例法医病理学分析*

邵玉铭¹ 李国良¹ 丁润涛¹ 王旭¹ 马莉^{2△}(¹ 济宁医学院司法鉴定中心, 济宁 272067; ² 济宁医学院附属济宁市第一人民医院, 济宁 272011)

摘要 目的 通过对 87 例新生儿羊水吸入死亡案例进行法医病理学检查与分析, 探讨在法医病理学新生儿尸体检验鉴定中对新生儿吸入的羊水成分对肺泡表面活性物质分泌的影响。方法 选取 2014 年 1 月至 2018 年 1 月济宁医学院附属医院济宁市第一人民医院及济宁医学院司法鉴定中心鉴定的 87 例新生儿羊水吸入死亡案例为 AFI 组, 31 例非羊水吸入死亡案例为对照组, 常规 HE 染色观察羊水成分, 免疫组织化学 SP 法检测 SP-A、SP-B 蛋白在肺组织中的表达情况。结果 AFI 组细支气管及肺泡腔内均可见多量红染的胎粪样小体、毳毛及角化上皮等羊水成分; AFI 组 SP-A 阳性表达率为 40.2%, SP-B 阳性表达率为 41.4%, 与对照组相比阳性表达率显著降低, 差异具有统计学意义 ($\chi^2_{SP-A} = 10.549, P < 0.05$; $\chi^2_{SP-B} = 11.878, P < 0.05$); 羊水吸入与 SP-A、SP-B 分泌量呈相关性 ($r_{SP-A} = -0.818, P < 0.005$; $r_{SP-B} = -0.829, P < 0.005$)。结论 羊水成分吸入量和肺泡表面活性物质分泌量之间有相关性, 羊水成分的存在会抑制或减少肺泡表面活性物质分泌。

关键词 法医病理学; 尸体检验; 新生儿窒息; 羊水吸入; 肺泡表面活性物质

中图分类号: D919.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-9760(2018)10-348-04

Forensic pathological analysis of 87 death cases of amniotic fluid inhalation in newborns

SHAO Yuming¹, LI Guoliang¹, DING Runtao¹, WANG Xu¹, MA Li^{2△}(¹ Judicial Expertise Center of Jining Medical University, Jining 272067, China;² Jining No. 1 People's Hospital & the Affiliated Hospital of Jining Medical University, Jining 272011, China)

Abstract: Objective Through the forensic pathology examination and analysis of 87 cases of neonatal amniotic fluid inhalation, the relationship between the maturity of lung tissue development and the composition of amniotic fluid and the secretion of surfactant in the newborn was discussed. **Methods** A total of 87 cases of neonatal amniotic fluid inhalation death identified by Jining No. 1 People's Hospital & the Affiliated Hospital of Jining Medical University and the Judicial Expertise Center of Jining Medical University from January 2014 to January 2018 were selected as AFI group and 31 cases of non-amniotic fluid inhalation death as control group (wax block). Routine HE staining was used to observe the components of amniotic fluid, and the expression of SP-A and SP-B protein in lung tissue was detected by immunohistochemical SP method. **Results** A large number of red-stained meconium-like bodies, velvet hair and keratinizing epithelium were found in the bronchioles and alveolar cavities of AFI group. The positive expression rate of SP-A and SP-B in AFI group was 40.2% and 41.4% respectively, compared with control group. The expression rate was significantly decreased ($\chi^2_{SP-A} = 10.549, P < 0.05$; $\chi^2_{SP-B} = 11.878, P < 0.05$). The amniotic fluid inhalation was significantly correlated with SP-A, SP-B secretion ($r_{SP-A} = -0.818, P < 0.05$; $r_{SP-B} = -0.829, P < 0.05$). **Conclusion** There is a correlation between amniotic fluid components inhalation and alveolar surfactant secretion. The presence of amniotic fluid components inhibits alveolar surfactant secretion.

Keywords: Forensic pathology; Autopsy; Neonatal asphyxia; Amniotic fluid inhalation; Pulmonary surfactant

* [基金项目] 济宁医学院青年教师科研扶持基金 (JY2017FY007)

△ [通信作者] 马莉, E-mail: mali3303@163.com

胎儿宫内窘迫是指因各种因素导致胎儿宫内缺氧,严重者导致胎儿死亡,为产科工作中较为常见的病症,在临床中常以持续正压通气辅以肺泡表面活性物质治疗^[1]。表面活性蛋白 A、B (SP-A、SP-B) 由肺泡 II 型细胞和 Clara 细胞分泌,是表面活性物质重要成分。机体正常呼吸的维持有赖于肺泡表面活性物质对肺泡表面张力的降低。当表面活性物质分泌减少或缺失时,肺泡因表面张力过大导致塌陷,无法进行有效的气体交换而造成死亡^[2-4]。在法医病理学尸体检验工作中常常受理到新生儿死亡案例,尸检后发现此类新生儿肺泡发育均正常,且肺内全都有羊水吸入情况,只是在吸入量上有所差异。而在临床实践中不乏羊水吸入新生儿救治成功案例,这表明羊水吸入量与肺泡表面活性物质分泌量对于此类患儿生存有重要关系,然而临床上缺乏客观的可观测指标和诊断标准,无法准确判断救治方式和程度,难免会出现诊治不当抑或过度治疗情况,反而造成不必要的医疗损害甚至死亡^[5-6]。

本文对存在羊水吸入的新生儿尸检标本进行羊水成分吸入量和肺泡表面活性物质分泌量测定,并对两者之间的关系作出客观评价,以提高法医病理学鉴定准确率。

1 资料与方法

1.1 一般资料

本文选自 2014 年 1 月至 2018 年 1 月济宁医学院附属第一人民医院及济宁医学院司法鉴定中心鉴定完毕的总计 87 例羊水吸入死亡的新生儿肺组织蜡块 (AFI 组),同期选取 31 例非羊水吸入死亡的足月新生儿的肺组织蜡块作为对照组。AFI 组男 38 例,女 49 例;对照组男 14 例,女 17 例。所有标本的 HE 染色切片经复诊后均符合组织学诊断标准。

1.2 病例入选和排除标准

入选标准:所有新生儿均为 7 日内解剖、双肺标本完整独立固定;AFI 组均为经过济宁医学院司法鉴定中心鉴定确诊为羊水吸入致死的新生儿;对照组均为非羊水吸入致死,死因包括机械性窒息因素、出血性疾病、感染性疾病。

排除标准:糖尿病母亲、先天畸形、严重遗传代

谢性疾病以及早产儿。

1.3 HE 染色与免疫组织化学染色

石蜡组织连续切片,常规 HE 染色应用伊红苏木素,羊水成分着红色;免疫组织化学染色以 EDTA 溶液进行抗原修复,采用 SP 法进行免疫组化染色。一抗均为鼠抗人单克隆抗体工作液,SP-A、SP-B 抗体购自中杉金桥生物技术公司。其余步骤按试剂盒说明书进行,最后经 DAB 显色,苏木素复染。以 PBS 代替一抗作阴性对照。

1.4 判断标准

常规 HE 染色应用伊红苏木素,羊水成分着红色。SP-A、SP-B 在胞浆表达,当细胞质和分泌的表面活性物质出现棕黄色或棕褐色颗粒为阳性表达,其阳性结果判定标准:计算 5 个高倍视野中阳性细胞所占的比例;-:阳性细胞 < 5%;+:5% ≤ 阳性细胞 < 30%;++:30% ≤ 阳性细胞 < 60%;+++ :阳性细胞 ≥ 60%。肺泡腔内见到羊水成分即认定为羊水吸入,阳性结果判断标准:计算肺组织 5 个低倍视野中含有羊水成分的肺泡数量所占比例;+ (少量):阳性肺泡 < 10%;++ (多量):10% ≤ 阳性肺泡 < 20%;+++ (大量):阳性肺泡 ≥ 30%。本文中将免疫组织化学结果 +、++、+++ 合并为阳性,以简化数据处理。每张病理切片均由 2 位法医病理鉴定人双盲法阅片,其对案例资料均不了解。

1.5 统计学方法

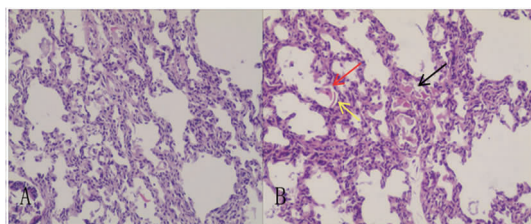
所得数据用统计软件采用 SPSS19.0 软件包,用 χ^2 检验分析羊水吸入和非羊水吸入新生儿死亡案例肺组织中 SP-A、SP-B 蛋白表达的是否存在差异性。采用 Spearman 等级相关法检验羊水成分吸入量和肺泡表面活性物质分泌量之间是否存在相关性, $\alpha = 0.05$ 作为检验水准。

2 结果

2.1 两组羊水成分情况

对照组所有肺组织肺泡腔较大,扩张明显,细支气管及肺泡腔内均干净,而 AFI 组细支气管及肺泡腔内均可见多量红染的胎粪样小体、毳毛及角化上皮等羊水成分,肺泡腔不大、未充分扩张,大多数为腺样肺泡,肺间隔较厚;细支气管上皮排列紊乱,呈不同程度增生;细支气管腔内有脱落的上皮和多

量胎粪样小体、毳毛及角化上皮。见图 1。



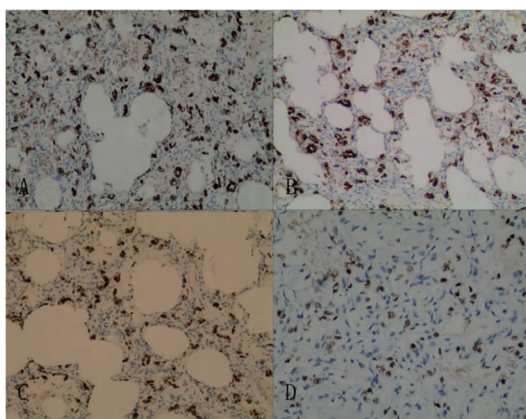
注: A. 对照组羊水成分情况; B. AFI 组羊水成分情况;
↑代表角化上皮; ↑代表毳毛; ↑代表胎粪样小体

图 1 对照组及 AFI 组肺泡镜下改变 (HE, ×100)

2.2 两组 SP-A、SP-B 表达情况

SP-A、SP-B 表达阳性细胞胞质和分泌的表面活性物质中呈棕黄色颗粒着色, 在肺泡 II 型细胞、分泌的表面活性物质和呼吸性支气管上皮细胞表达。

AFI 组中, 存在羊水成分的肺泡、呼吸性支气管上皮 SP-A、SP-B 表达呈弱阳性, 分布少而散在。对照组中 SP-A、SP-B 表达相对均匀, 所有病例均有阳性表达。见图 2。



注: A. 对照组肺泡 SP-A 表达情况;
B. 对照组肺泡 SP-B 表达情况;
C. AFI 组肺泡 SP-A 表达情况;
D. AFI 组肺泡 SP-B 表达情况

图 2 对照组与 AFI 组肺泡表面 SP-A、SP-B
表达情况 (HE, ×100)

2.3 两组肺组织 SP-A、SP-B 阳性表达情况

与对照组相比, AFI 组 SP-A、SP-B 蛋白的阳性表达率显著降低, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组间 SP-A、SP-B 在肺组织中
阳性表达情况比较 (n/%)

组别	n	阳性 (SP-A)	阳性 (SP-B)
AFI 组	87	35/40.2	36/41.4
对照组	31	23/74.2	24/77.4
χ^2		10.549	11.878
P		0.001	0.001

2.4 羊水成分吸入量和肺泡表面活性物质分泌量相关情况

87 例羊水吸入肺组织中, SP-A 阳性表达率为 40.2% (35/87), SP-B 阳性表达率为 41.4% (36/87), 羊水吸入量分别为: 38 (+ 少量, 阳性肺泡 < 10%), 32 (+ + 多量, $10\% \leq$ 阳性肺泡 < 20%), 17 (+ + + 大量, 阳性肺泡 $\geq 30\%$), Spearman 等级相关法检验表明羊水吸入和肺泡表面活性物质分泌量呈相关性 ($r_{\text{SP-A}} = -0.818, P < 0.05; r_{\text{SP-B}} = -0.829, P < 0.05$)。见表 2、表 3。

表 2 羊水成分吸入量和 SP-A 分泌量之间的相关情况

SP-A	羊水吸入量			合计
	+	++	+++	
-	22	18	12	52
+	11	10	4	25
++	3	3	1	7
+++	2	1	0	3
合计	38	32	17	87

表 3 羊水成分吸入量和 SP-B 分泌量之间的相关情况

SP-B	羊水吸入量			合计
	+	++	+++	
-	23	17	11	51
+	10	10	5	25
++	4	4	1	8
+++	1	1	0	3
合计	38	32	17	87

3 讨论

AFI 是新生儿特别是早产儿死亡的常见疾病, 多见宫内窘迫儿。病理特点是在肺泡腔内可见多量胎粪样小体、毳毛及角化上皮, 肺泡腔不大、未充分扩张, 大多数为腺样肺泡, 肺间隔较厚; 细支气管上皮排列紊乱, 呈不同程度增生; 细支气管腔内有

脱落的上皮和多量胎粪样小体、毳毛及角化上皮。本文在 HE 染色下可见 AFI 组中有大量的羊水成分存在和挛缩肺泡,新生儿不能完成气体交换,引起缺氧缺血,最终导致呼吸衰竭死亡。有研究认为羊水吸入与新生儿肺发育不成熟、表面活性蛋白减少有关^[7-8]。肺泡表面活性物质主要成分是磷脂、类脂和一些表面特异性活性蛋白(SP)。SP-A、SP-B 是减小表面张力的主要功能蛋白,能插入到气-液界面的磷脂单分子层,降低肺泡表面张力^[9]。SP-A、SP-B 由肺泡 II 型上皮细胞和支气管 Clara 细胞分泌,随着胚胎发育、肺组织成熟而表达增强,人胚胎 18 周开始在支气管树表达。本文观察到 AFI 组肺泡上皮 SP-A、SP-B 表达明显减少,与对照组相比,差异明显,说明在发生羊水吸入后,肺泡表面活性物质分泌减少,同时通过比较 AFI 组内羊水吸入量与 SP-A、SP-B 表达量发现,肺内羊水吸入的量越多,其肺泡上皮 SP-A、SP-B 的表达越少,二者相关性分析呈明显负相关,分析认为这与新生儿肺发育不良,特别是早产儿肺泡结构不成熟,导致 SP-A、SP-B 的分泌量少^[10-11],但本文的结果表明,SP-A、SP-B 的分泌量与羊水吸入量之间呈现线性相关的特点,故本文认为羊水成分对于肺泡上皮存在一定的影响,抑制或减少表面活性物质的分泌,从而导致肺泡表面活性物质减少,进而引起肺不张抑或通气障碍。具体是羊水里面哪种成分影响了肺泡 II 型上皮细胞和支气管 Clara 细胞分泌功能尚有待进一步研究发现,或可对推进临床治疗宫内窘迫和羊水吸入新生儿产生极大的帮助。

参考文献:

- [1] 赵燕凤,张志群,芦蕙,等.脐动脉血气分析联合 Apgar 评分对新生儿窒息多器官损害的诊断意义[J].中华全科医学,2017,15(2):267-269. DOI:10.16766/j.issn.1674-4152.2017.02.026.
- [2] Zhu R, Nie Z. A clinical study of the N-terminal pro-brain natriuretic peptide in myocardial injury after neonatal asphyxia[J]. *Pediatr Neonatol*, 2016, 57(2): 133-139. DOI:10.1016/j.pedneo.2015.08.001.
- [3] 王吉,徐巧,李超,等.晚期早产儿呼吸窘迫综合征应用猪肺泡表面活性物质治疗的临床研究[J].中华医院感染学杂志,2016,26(7):1634-1636. DOI:10.11816/cn.ni.2016-152796.
- [4] 陈嘉妮,陈继樑,杨文仲,等.新生儿肺透明膜病伴羊水吸入性肺炎死亡法医解剖附 1 例报告[J].大理大学学报,2018,3(2):82-84. DOI:10.3969/j.issn.2096-2266.2018.02.020.
- [5] Fla Koueta, Kisito Nagalo, Leatitia Ouedraogo, et al. Verbal autopsy of stillbirths and neonatal deaths in a rural area of burkina faso open [J]. *Journal of Pediatrics*, 2015, 5, 164-170. DOI:10.4236/ojped.2015.52025.
- [6] Sweet DG, Carnielli V, Greisen G, et al. European consensus guidelines on the management of neonatal respiratory distress syndrome in preterm infants-2013 update [J]. *Neonatology*, 2013, 103(4): 353-68. DOI:10.1159/000349928.
- [7] Dehdashtian M, Malakian A, Aramesh MR, et al. Effectiveness of intratracheal salbutamol in addition to surfactant on the clinical course of newborns with respiratory distress syndrome: a clinical trial [J]. *Ital J Pediatr*, 2016, 42:6. DOI:10.1186/s13052-016-0215-1.
- [8] Erickson S, Schibler A, Numa A, et al. Acute lung injury in pediatric intensive care in Australia and New Zealand: a prospective, multicenter, observational study [J]. *Pediatr Crit Care Med*, 2007, 8(4): 317-323. DOI:10.1097/01.PCC.0000269408.64179.FF.
- [9] El-Gendy N, Kaviratna A, Berkland C, et al. Delivery and performance of surfactant replacement therapies to treat pulmonary disorders [J]. *Ther Deliv*, 2013, 4(8): 951-980. DOI:10.4155/tde.13.72.
- [10] Barbas CS, Isola AM, Caser EB. What is the future of acute respiratory distress syndrome after the Berlin definition [J]. *Current Opinion in Critical Care*, 2014, 20(1): 10-16. DOI:10.1007/s00134-013-3110-x.
- [11] Belenkiy SM, Buel AR, Cannon JW, et al. Acute respiratory distress syndrome in wartime military burns: application of the Berlin criteria [J]. *J Trauma Acute Care Surg*, 2014, 76(3): 821-827. DOI:10.1097/TA.0b013e3182aa2d21.

(收稿日期 2018-09-06)

(本文编辑:石俊强)