

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2016.18.006

文章编号: 1005-8982(2016)18-0030-04

论著

## 小剂量低分子肝素联合硫酸镁治疗重度子痫前期对血清和胎盘中病情相关分子的调节作用

戴薇, 许吟, 马星卫, 张莉, 仲青  
(贵州省人民医院 产科, 贵州 贵阳 550002)

**摘要:** **目的** 分析小剂量低分子肝素联合硫酸镁治疗重度子痫前期对血清和胎盘中病情相关分子的调节作用。**方法** 选取 2012 年 7 月 - 2014 年 7 月于本院收治的重度子痫前期患者 68 例作为研究对象, 随机分为观察组及对照组。对照组患者接受单纯硫酸镁治疗, 观察组患者接受小剂量低分子肝素联合硫酸镁治疗, 对比两组患者的血清及胎盘组织中激肽释放酶表达、妊娠相关血浆蛋白 A(PAPP-A)、妊娠特异性  $\beta_1$  糖蛋白(SPI)、胎盘生长因子(PLGF)、人胎盘催乳素(HPL)水平、转化生长因子  $\beta_1$ (TGF- $\beta_1$ )、血管细胞黏附分子 1(VCAM-1)及 E 选择素水平等差异。**结果** 观察组患者的治疗后血清及胎盘组织中激肽酶表达量均高于对照组患者, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 血清及胎盘组织中 PAPP-A 水平低于对照组患者, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 血清及胎盘组织中, TGF- $\beta_1$  水平高于对照组, VCAM-1 及 E 选择素水平低于对照组患者, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论** 重度子痫前期患者接受小剂量低分子肝素联合硫酸镁治疗, 可以促进内源性激肽释放酶表达, 降低妊娠期高血压相关预测因子水平, 减弱细胞滋养细胞的浸润能力。

**关键词:** 重度子痫前期; 小剂量低分子肝素; 硫酸镁; 病情相关分子

**中图分类号:** R714.245

**文献标识码:** A

## Regulation effect of small doses of low molecular weight heparin combined magnesium sulfate treatment on serum and placental disease-related molecules of severe preeclampsia patients

Wei Dai, Yin Xu, Xing-wei Ma, Li Zhang, Qing Zhong

(Department of Obstetrics, Guizhou People's Hospital, Guiyang, Guizhou 550002, China)

**Abstract:** **Objective** To analyze the regulation effect of small doses of low molecular weight heparin combined magnesium sulfate treatment on serum and placental disease-related molecules of severe preeclampsia patients. **Methods** Sixty-eight cases of severe preeclampsia patients between July 2012 to July 2014 in our hospital were chosen as research subjects and randomly divided into observation group and control group. The control group patients received magnesium sulfate treatment alone, the observation group patients received small doses of low molecular weight heparin combined magnesium sulfate treatment. The serum and placental levels of kallikrein expression, PAPP-A, SPI, PLGF, HPL, TGF- $\beta_1$ , VCAM-1 and E-selectin were compared between the two groups. **Results** The serum and placental kallikrein and TGF- $\beta_1$  levels of the observation group were significantly higher than those of the control group ( $P < 0.05$ ); while the serum and placental PAPP-A, VCAM-1 and E-selectin levels were lower than those of the control group ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** In severe preeclampsia patients, treatment with pancreatic kallikrein and magnesium sulfate can promote endogenous kallikrein expression, reduce the levels of gestational hypertension-related predictive factors, weaken the invasive capacity of cytotrophoblast cells.

**Keywords:** severe preeclampsia; small dose of low molecular weight heparin; magnesium sulfate; disease-related molecule

收稿日期: 2016-02-23

[通信作者] 许吟, E-mail: 1065075313@qq.com; Tel: 13885060061

重度子痫前期发生于妊娠 20 周之后,临床体征主要表现为高血压及蛋白尿,可以导致母婴严重危害,是围产期主要妊娠并发症之一<sup>[1]</sup>。对于重度子痫前期患者必须进行积极干预并早期终止妊娠,硫酸镁是预防重度子痫前期发展为子痫的首选药物,具有解痉、控制子痫抽搐的作用。但是血液中镁离子治疗的有效浓度非常狭窄,血镁离子浓度过高将导致呼吸、肝肾功能损害甚至猝死发生,故硫酸镁不可长期大量应用<sup>[2]</sup>。小剂量低分子肝素具有改善微循环的作用,目前已经开始应用于子痫前期患者的治疗中,获得了肯定的疗效。本次研究主要分析小剂量低分子肝素联合硫酸镁治疗重度子痫前期对血清和胎盘中病情相关分子的调节作用,现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象及分组

选取 2012 年 7 月 -2014 年 7 月于贵州省人民医院收治的重度子痫前期患者 68 例作为研究对象。均符合《妇产科学》中对于重度子痫前期的诊断标准。根据治疗方式不同,随机将入组患者分为观察组及对照组,各 34 例。其中,对照组患者年龄 25 ~ 31 岁,平均(27.81 ± 2.33)岁,孕周 30 ~ 35 周,平均(32.18 ± 2.05)周;观察组患者年龄 24 ~ 33 岁,平均(26.92 ± 2.47)岁,孕周 31 ~ 36 周,平均(32.79 ± 2.32)周。两组患者的年龄、孕周、病情严重程度等基本资料比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

### 1.2 方法

两组患者入院后常规给予降压、镇静治疗,给予地塞米松促进胎儿肺成熟,若出现低蛋白血症则输入白蛋白,必要时使用呋塞米利尿(小剂量使用,密切观察患者尿量及胎儿情况)。

对照组患者接受单纯硫酸镁治疗,具体如下:25%硫酸镁(杭州民生药业有限公司,国药准字 1503106)50 ml 加入 5%葡萄糖液 500 ml 中,静脉滴注,控制滴注速度为 30 滴/min,控制硫酸镁每日总用量不大于 30 g。

观察组患者接受小剂量低分子肝素联合硫酸镁治疗,具体如下:5%葡萄糖液 500 ml+25%硫酸镁 40 ml,静脉滴注,30 滴/min。小剂量低分子肝素钙 4 100 u(天津葛兰素史克有限公司国药准字 J20090005)皮下注射,每日注射 2 次。

### 1.3 标本采集及处理

血液标本:接受不同治疗后留取患者的空腹外

周静脉血 5 ml,自然凝固 30 min 后经 4 000 r/min 离心 10 min,分离血清后冷冻备存。

胎盘组织:两组孕妇均于剖宫产中将胎盘娩出,取胎盘母体面正中组织 2 cm × 2 cm × 2 cm 大小,漂洗去除血液后置入 -80℃冰箱冷冻备存。

### 1.4 检测指标

**1.4.1 激肽释放酶基因的表达** 从血液及胎盘标本中提取高纯度 RNA,采用逆转录聚合酶链式反应法合成 cDNA,以肌动蛋白  $\beta$  作为内参,激肽释放酶质粒作为外参,正向引物 5'-CACAGCCAGTTTGTTCAT-3',反向引物 5'-GGAAGGTGGCAAAGACAC-3'。循环参数:94℃预变性 5 min,94℃变性 50 s,56℃退火 1 min,72℃延伸 50 s,共 35 个循环,最后 72℃再延伸 10 min 至 4℃完成反应。取聚合酶链式反应产物及质粒扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳观察结果。

**1.4.2 妊娠相关血浆蛋白 A (pregnancy associated plasmaprotein A, PAPP-A)、妊娠特异性  $\beta_1$  糖蛋白 (pregnancy specific  $\beta_1$  glycoprotein, SPI)、胎盘生长因子 (placental growth factor, PLGF) 及人胎盘催乳素 (human placenta lactogen, HPL) 水平** 采用酶联免疫吸附法测定血清及胎盘液中胎盘组织 PAPP-A、SPI、PLGF、HPL 水平。胎盘组织采用 400 ml Tris-HCl (含氨基酸蛋白酶抑制剂) 冲洗 2 次,4℃离心操作 20 min 后取上清液。酶标仪(美国 Biotek 公司,型号 EL × 800),具体操作步骤严格按照产品说明书进行。

**1.4.3 转化生长因子  $\beta_1$  (transforming growth factor -  $\beta_1$ , TGF- $\beta_1$ )、血管细胞黏附分子 1 (human vascular cell adhesion molecule 1, VCAM-1) 及 E 选择素水平** 采用酶联免疫吸附法测定血清 TGF- $\beta_1$ 、VCAM-1、E 选择素水平。采用免疫组织化学链霉素抗生物素蛋白 - 过氧化物酶连接法检测 TGF- $\beta_1$ 、VCAM-1 及 E 选择素在胎盘组织中的定位,而后对蛋白表达量进行半定量分析。酶联免疫试剂盒(美国 Biotek AB 公司,型号 ELH-GCSF-001)。

### 1.5 统计学方法

采用 SPSS 20.0 统计软件进行数据分析,计量资料用均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,用  $t$  检验。计数资料用  $\chi^2$  检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 激肽释放酶表达

治疗前两组患者的血液中激肽酶水平比较,差

异无统计学意义( $P>0.05$ );观察组患者治疗后血清及胎盘组织中激肽酶表达量均高于对照组患者,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 1。

## 2.2 PAPP-A、SPI、PLGF、HPL 水平

观察组患者接受治疗后的血清及胎盘组织中 PAPP-A 水平低于对照组患者,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),两组间 SPI、PLGF、HPL 水平比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 2。

## 2.3 TGF- $\beta_1$ 、VCAM-1 及 E 选择素水平

观察组患者接受治疗后的血清及胎盘组织中, TGF- $\beta_1$  水平高于对照组, VCAM-1 及 E 选择素水

平低于对照组患者,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 3。

表 1 两组患者的治疗前后血液及胎盘组织中激肽释放酶表达水平比较 ( $n=34, \bar{x} \pm s$ )

组别	血清		胎盘
	治疗前	治疗后	
观察组	0.83 ± 0.07	1.58 ± 0.011	1.52 ± 0.09
对照组	0.84 ± 0.09	0.85 ± 0.08	0.86 ± 0.12
t 值	0.124	6.386	7.281
P 值	0.424	0.015	0.012

表 2 两组患者的血清及胎盘中 PAPP-A、SPI、PLGF、HPL 水平比较 ( $n=34, \bar{x} \pm s$ )

组别	血清				胎盘			
	PAPP-A/(mIU/ml)	SPI/( $\mu$ g/ml)	PLGF/(pg/ml)	HPL/( $\mu$ g/ml)	PAPP-A/(mIU/ml)	SPI/( $\mu$ g/ml)	PLGF/(pg/ml)	HPL/( $\mu$ g/ml)
观察组	1.13 ± 0.36	0.91 ± 0.08	327.66 ± 45.39	15.46 ± 1.77	1.16 ± 0.42	0.92 ± 0.07	352.18 ± 45.25	16.23 ± 1.77
对照组	1.96 ± 0.55	0.85 ± 0.07	335.75 ± 45.66	15.91 ± 1.73	1.87 ± 0.59	0.89 ± 0.09	376.91 ± 45.82	15.87 ± 1.68
t 值	8.183	0.361	0.414	0.232	7.385	0.183	0.263	0.212
P 值	0.009	0.723	0.882	0.572	0.011	0.462	0.634	0.583

表 3 两组患者的血清及胎盘中 TGF- $\beta_1$ 、VCAM-1 及 E 选择素水平比较 ( $n=34, \bar{x} \pm s$ )

组别	血清			胎盘		
	TGF- $\beta_1$ /(pg/ml)	VCAM-1/( $\mu$ g/L)	E 选择素/(ng/ml)	TGF- $\beta_1$ /%	VCAM-1/%	E 选择素/%
观察组	256.11 ± 39.82	45.92 ± 4.33	43.29 ± 2.83	70.93 ± 3.27	83.15 ± 4.11	53.47 ± 0.78
对照组	180.92 ± 23.14	102.71 ± 12.03	61.28 ± 4.27	34.28 ± 1.03	113.27 ± 8.34	87.92 ± 2.31
t 值	7.837	8.394	6.392	6.321	7.096	7.264
P 值	0.012	0.011	0.017	0.019	0.015	0.012

## 3 讨论

重度子痫前期是指子痫前期患者出现血压持续上升、大量蛋白尿、血肌酐水平上升、血小板水平显著降低等其中的一种或者几种,发病机制不明,可能与滋养细胞侵袭异常、免疫调节功能异常、血管内皮损伤、遗传因素等相关<sup>[3]</sup>。重度子痫前期的基本病理改变是全身小动脉痉挛及内皮功能障碍,可出现心血管、肝肾脑等靶器官的血流灌注减少及相关并发症。重度子痫前期是目前临床母婴损害的主要原因之一,鉴于其危险性及巨大的危害性,寻找合适的治疗方式一直是临床研究重点<sup>[4]</sup>。

硫酸镁是子痫前期治疗的首选药物,其解痉作用可以从多环节解除小动脉痉挛,减轻心脏负荷、促进血液循环、改善靶器官的血供,有效控制患者的血压。硫酸镁用于子痫前期治疗的效果显著,但是其安全剂量与危险剂量之间的差异较小,临床中发生大

量硫酸镁中毒事件并不少见<sup>[5]</sup>。激肽释放酶是一种蛋白水解酶,具有降解激肽原成激肽,发挥扩张血管及改善微循环的作用,胰激肽原酶同时具有激活纤溶酶原及防血栓作用,增加胎盘中激肽释放酶的表达以及血液循环中激肽释放酶的含量是治疗子痫前期的理想靶点。小剂量低分子肝素具有改善微循环的作用,目前已经开始应用于子痫前期患者的治疗中,与硫酸镁联合治疗可以在多靶点发挥治疗作用的同时又不会增加硫酸镁用量,确保的治疗安全性<sup>[6]</sup>。

妊娠期高血压疾病的基本病理变化是全身小动脉痉挛,临床治疗的根据也是改善患者微循环状态,优化各个靶器官的功能。激肽释放酶可以扩张血管改善微循环,降低血浆黏度、降低肾血管阻力并增加肾血流量<sup>[7]</sup>。上述研究中观察组患者的治疗后血清及胎盘组织中激肽释放酶表达量均增加,这就说明小剂量低分子肝素治疗能够激活患者体内激肽释放

酶-激肽系统,改善内源性的激肽释放酶基因表达抑制,最终通过增加全身激肽酶总量发挥抗子痫前期的效果。

胎盘组织 PAPP-A 是在妊娠期产生的大分子糖蛋白化合物,由胎盘滋养层细胞产生,可以调节优势卵泡及性激素,在子痫前期中具有重要的预测意义。SPI、PLGF、HPL 是由胎盘合体滋养层细胞合成并分泌的特异性分子,上升研究中观察组患者的治疗后 PAPP-A 水平降低,SPI、PLGF、HPL 水平并无显著改变,提示低剂量小分子肝素联合硫酸镁治疗可以优化患者的血压水平,减少因血压上升而诱导的 PAPP-A 大量表达。而 SPI、PLGF、HPL 在子痫前期的发生中并未发挥重要意义,或者上述治疗方案的调节靶点不在 SPI、PLGF、HPL 等分子上。

TGF- $\beta_1$  由多种组织细胞合成,可以调节细胞生长及分化。是一种免疫抑制因子,可以抑制局部免疫反应的产生。VCAM-1 是免疫球蛋白超家族成员,静息状态下不表达,主要存在于细胞因子活化的血管内皮细胞内,可以介导淋巴细胞和白细胞与血管内皮细胞的黏附作用。E 选择素仅表达于细胞因子活化的内皮细胞表面,病理状态下损伤的内皮细胞可过度表达 E 选择素,局部 TGF- $\beta$  的分泌对 E-选择素的表达具有抑制作用<sup>[8]</sup>。有研究显示,TGF- $\beta_1$ 、VCAM-1 及 E 选择素均参与子痫前期的发展过程,故本次研究中对治疗后两组患者的血清及胎盘 TGF- $\beta_1$ 、VCAM-1 及 E 选择素表达情况进行分析。观察组患者经低剂量小分子肝素联合硫酸镁治疗后,血清及胎盘组织中的 TGF- $\beta_1$  水平升高,VCAM-1 及 E 选择素水平降低,提示该治疗方案可以抑制胎盘局部的免疫反应,减弱滋养细胞的浸润能力、减少血管内皮损伤,去除患者血压升高的

成因。

综上所述,得出以下结论:重度子痫前期患者接受低剂量小分子肝素联合硫酸镁治疗,可以促进激肽释放酶表达,降低妊娠期高血压相关预测因子水平,减弱细胞滋养细胞的浸润能力,大幅提升患者的治疗效果并有利于治疗结局的优化,值得在日后临床实践中应用。

#### 参 考 文 献:

- [1] 杨欣,吴久玲. 257 例重度子痫前期 / 子痫硫酸镁应用现状分析[J]. 中国妇幼保健, 2012, 27(11): 2193-2195.
- [2] RAGHURAMAN N, MARCH M I, HACKER M R, et al. Adverse maternal and fetal outcomes and deaths related to preeclampsia and eclampsia in haiti [J]. *Pregnancy Hypertens*, 2014, 4 (4): 279-286.
- [3] BROWNFOOT F C, TONG S, HANNAN N J, et al. Effects of pravastatin on human placenta, endothelium, and women with severe preeclampsia[J]. *Hypertension*, 2015, 66(3): 687-697.
- [4] 吴克琴,涂燕平. 妊娠晚期血清和胎盘组织 PAPP-A 水平对高血压预测作用及其与胎盘病理的关系[J]. 中国妇幼保健, 2015, 30(9): 4117-4119.
- [5] 沈虹,程蔚蔚,陈一飞. 脂蛋白脂酶在重度子痫前期胎盘和脐血中的表达及其子代代谢异常的关系[J]. 实用妇产科杂志, 2014, 30(1): 39-41.
- [6] AHMED A. Molecular mechanisms and therapeutic implications of the carbon monoxide/hmx1 and the hydrogen sulfide/CSE pathways in the prevention of pre-eclampsia and fetal growth restriction[J]. *Pregnancy Hypertens*, 2014, 4(3): 243-244.
- [7] ORTNER C M, COMBRINCK B, ALLIE S, et al. Strong ion and weak acid analysis in severe preeclampsia: potential clinical significance[J]. *Br J Anaesth*, 2015, 115(2): 275-284.
- [8] 魏军,王炜,唐欢,等. 重度子痫前期患者外周血中性粒细胞表面黏附分子 LFA-1 水平变化的研究[J]. 中国医药大学学报, 2015, 44(3): 263-265.

(张蕾 编辑)