

妊娠高血压综合征患者血清、胎盘组织中细胞因子水平及 循环 EPC 数量分析

吕丰收¹, 王凌霄¹, 高凤兰¹, 李东豫²

¹河南医学高等专科学校 河南郑州

²河南省第二人民医院 河南郑州

【摘要】目的 探讨妊娠高血压综合征作为远期高血压发生危险因素的可能性。**方法** 自制调研问卷, 针对妇产科就诊患者进行调查, 妊娠高血压综合征 60 例, 列入观察组, 非妊娠高血压综合征 60 例, 列入对照组。检测各研究对象血清细胞因子的表达水平、胎盘组织中高度相关性细胞因子蛋白的表达水平以及外周血循环内皮细胞内皮祖细胞数量。**结果** 观察组孕妇血清 VEGF 水平低于对照组, 血清 AGEs、TGF- β 1 水平则高于对照组 (均 $P < 0.05$)。观察组孕妇胎盘组织中 VEGF 阳性表达率均低于对照组, 而 AGEs、TGF- β 1 阳性表达率均高于对照组 (均 $P < 0.05$)。观察组孕妇循环 EPC 数量低于对照组 ($P < 0.05$)。血清及胎盘组织中 VEGF 水平与循环 EPC 数量与妊娠期高血压疾病严重程度呈负相关, AGEs、TGF- β 1 则与疾病严重程度呈正相关 (均 $P < 0.05$)。**结论** 妊娠高血压综合征孕妇血清和胎盘组织 VEGF 含量均明显低于正常孕妇, 且与其病情的严重性成负相关; 而妊娠高血压综合征孕妇血清和胎盘中的 TGF- β 1 含量明显高于正常孕妇, 且与其病情的严重性有明显的正相关性; 妊娠高血压综合征孕妇外周血循环内皮细胞内皮祖细胞数量显著低于正常妊娠孕妇, 与病情严重程度呈负相关。四者与妊娠高血压疾病密切相关, 在临床评估疾病进展中有重要意义。

【关键词】 妊娠高血压; 远期高血压; 危险因素

【课题项目】 2018 年度河南省医学科技攻关计划联合共建项目; “妊娠高血压综合征相关血清标志物的筛选及意义研究”, 课题编号: 2018020532

Analysis of cytokine levels and circulating EPC in serum and placental tissue of patients with pregnancy-induced hypertension syndrome

Fengshou Lv¹, Lingxiao Wang¹, Fenglan Gao¹, Dongyu Li²

¹Henan Medical College, Zhengzhou, Henan

²The Second People's Hospital of Henan Province, Zhengzhou, Henan

【Abstract】Objective: To explore the possibility of pregnancy-induced hypertension syndrome as a risk factor for long-term hypertension. **Methods:** A self-made questionnaire was used to investigate the patients in obstetrics and gynecology. 60 cases of pregnancy-induced hypertension were included in the observation group, and 60 cases of non-pregnancy-induced hypertension were included in the control group. The expression levels of serum cytokines, the expression levels of highly correlated cytokine proteins in placental tissue and the number of endothelial progenitor cells in peripheral blood circulating endothelial cells were detected. **Results:** The serum VEGF level of pregnant women in the observation group was lower than that in the control group, while the serum AGEs and TGF- β 1 levels were higher than those in the control group (all $P < 0.05$). The positive expression rates of VEGF in placenta tissue of pregnant women in the observation group were lower than those in the control group, while the positive expression rates of AGEs and TGF- β 1 were higher than those in the control group (all $P < 0.05$). The number of circulating EPCs in the observation group was lower than that in the control group ($P < 0.05$). The levels of VEGF in serum and placental tissue and the number of circulating EPCs were negatively correlated with

the severity of gestational hypertension, while AGEs and TGF- β 1 were positively correlated with the severity of the disease (all $P < 0.05$). **Conclusion:** VEGF levels in serum and placenta of pregnant women with PIH were significantly lower than those in normal pregnant women, and were negatively correlated with the severity of their disease; while the levels of GF- β 1 in serum and placenta of women with PIH were significantly higher than those in normal pregnant women, and There is a significant positive correlation with the severity of the disease; the number of endothelial progenitor cells in peripheral blood circulating endothelial cells of pregnant women with pregnancy-induced hypertension is significantly lower than that of normal pregnant women, which is negatively related to the severity of the disease. The four are closely related to gestational hypertension and are of great significance in clinical assessment of disease progression.

【Keywords】 gestational hypertension; long-term hypertension; risk factors

妊高征是妊高征, 临床表现为高血压、蛋白尿、水肿、全身多器官损害, 严重时会出现抽搐、昏迷、母婴死亡^[1]。妊高征是一种病因不明的妊娠多器官疾病, 至今仍然是一项世界性的妇产科问题。目前已有大量的研究表明^[2], 某些生物标志物可以用于监测妊高征的发展和进展, 但其特异性和可预见性较差; 因此, 这两种方法都很难用于常规的临床检验。本研究通过与河南省第二人民医院妇产科合作, 收集妊高征患者及正常孕妇产前、产后外周血和产后胎盘组织, 并对研究对象进行相关因素流行病学调查。多重细胞因子检测试剂盒(Luminex 法)对所有样本外周血细胞因子进行高通量检测, 进行统计学分析, 筛选出高度相关细胞因子, 然后对胎盘组织进行常规病理检查, 免疫组织化学方法检测胎盘组织中高度相关因子蛋白表达水平, 统计分析各组血清高度相关细胞因子, 胎盘组织高度相关因子蛋白相对水平, 综合研究特异性细胞因子与妊高征发病、进展及产前产后的相关性, 旨在为妊高征早期预防、早期诊断和治疗提供理论指导^[3]。本文通过血清细胞因子筛选, 同时进行流式细胞仪检测外周血循环内皮细胞及循环内皮祖细胞数量, 探讨炎症反应介导的血管内皮损伤和血清细胞因子在妊娠高血压疾病发生、发展中的协同作用, 为临床预测妊高征的发生及评估严重程度提供理论指导。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

2018 年 9 月至 2019 年 6 月, 收集河南省第二人民医院妇产科住院的 60 例左右妊娠高血压综合征患者产前、产后外周血及产后胎盘组织标本。所有患者年龄、孕龄、体重指数等总数据均无显著性

差异 ($P > 0.05$)。同时选取 60 例正常妊娠晚期患者作为对照组, 未发生任何合并症。所有入选的病人都签了知情同意书; 排除标准: 高血压、心脑血管疾病、内分泌疾病; 有肝肾功能异常、凝血功能障碍、感染性疾病等。观察组与对照组年龄、孕龄、BMI 等一般数据的比较, 差异均不显著 ($P > 0.05$)。

1.2 实验方法及步骤

(1) 多重细胞因子检测法检测各组血清细胞因子水平。

(2) 应用免疫组化方法检测高度相关性血清细胞因子蛋白在胎盘组织中的表达, 并分析与血清中表达水平的相关性。

各组在娩出胎盘后, 避开胎盘梗塞和钙化灶部位, 在离脐带移植点 5 cm 处垂直剖开胎盘。参考 Sood 等文献, 将胎盘组织纵向分成 3 个部分, 分别是母体面、中间面和胎面三部分。经冰预冷冻的磷酸盐缓冲液中彻底冲洗, 然后将其置于 4% 的聚甲醛溶液中, 与液氮一起贮存。

免疫组化检测: 胎盘组织以 10% 福尔马林固定 6~12h 后, 石蜡包埋, 连续切片, 并以苏木素伊红(HE)染色复染。采用 PBS 缓冲液代替一抗作为阴性对照。DAB 显色剂显色。免疫组化检测法检测胎盘组织中高度相关因子蛋白表达, 采用生物学图像分析系统对图像进行分析。每张切片随机测定 5 个区域的阳性细胞平均光密度, 作为细胞因子的相对水平^[4]。

(3) 通过流式细胞仪检测外周血循环内皮细胞及内皮祖细胞数量

分别采集每位研究对象清晨空腹抗凝静脉血 2mL, 混匀, 取 100 μ L 加入到 20 μ L CD146-PE 和 5 μ L CD3-APC 的专用流式细胞仪试管中。对照管取 100 μ L 标本加入到 20 μ L IgGa-PE 和 5 μ L CD3-APC 的

流式试管中。混匀, 室温避光孵育 20min。加 2mL 溶血素, 室温避光孵育 10min。1500r/min 离心 5min, 倒去上清, 加入 2mL 缓冲液洗涤。1500r/min 离心 5min, 倒去上清, 加入 100 μ L 缓冲液, 上机检测 CEC 数量^[5]。

分别采集每位研究对象清晨空腹抗凝静脉血 5mL, 取 200 μ L 采用 FITC 标记的 KDR、PE 标记 CD34 各 5 μ L, 在避光培养 20 分钟后进行红细胞裂解, 2%多聚甲醛固定后, 采用流式细胞术测定 CD34、KDR 的表达。

(4) 统计分析血清高度相关细胞因子, 胎盘组织高度相关细胞因子蛋白相对水平, 外周血循环内皮细胞及内皮祖细胞数量三个研究指标间的相关性。

1.3 统计学处理

统计数据用 SPSS17.0 进行, 用 ($\bar{x} \pm s$) 表示,

表 1 各组孕妇血清中 VEGF、AGEs、TGF- β 1 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	VEGF (pg/ml)	AGEs (ng/ml)	TGF- β 1 (ng/ml)
观察组	60	37.66 \pm 8.08	46.03 \pm 3.96	10.68 \pm 2.11
对照组	60	48.55 \pm 5.66	39.15 \pm 2.02	6.68 \pm 1.05
t	/	7.934	5.915	8.286
P	/	<0.001	<0.001	<0.001

表 2 b 各组孕妇胎盘组织中 VEGF、AGEs、TGF- β 1 阳性表达率比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	VEGF 阳性	AGEs 阳性	TGF- β 1 阳性
观察组	60	28 (46.67)	56 (93.33)	52 (86.67)
对照组	60	52 (86.67)	4 (6.67)	8 (13.33)
χ^2	/	3.782	5.028	8.672
P	/	0.004	0.002	0.000

2.3 各组孕妇循环 EPC 数量

观察组孕妇循环 EPC 数量 (0.015 \pm 0.002)%, 与对照组 (0.022 \pm 0.006) 相比, 差异有显著性 (t=1.729, P=0.031)。

2.4 血清、胎盘中 VEGF、AGEs、TGF- β 1 水平以及循环 EPC 数量与疾病严重程度相关性分析

血清、胎盘中 VEGF 与妊娠高血压病情严重程度呈负相关 (r=-0.258, P=0.015), 血清、胎盘中 AGEs、TGF- β 1 水平与与妊娠高血压病情严重程度呈正相关 (r=0.268, P=0.008; r=0.302, P=0.003)。循环 EPC 的数量与妊娠高血压的病情严重程度有显著的负相关性 (r=-0.729, P=0.000)。

用 t 检验或方差分析, 用 Pearson 线性相关法进行相关, 用 Spearman 分级相关法进行分级相关; P<0.05 为显著性差异。

2 结果

2.1 各组孕妇血清中 VEGF、AGEs、TGF- β 1 表达水平比较

观察组与对照组相比, VEGF 的水平明显降低; 血清 AGEs、TGF- β 1 水平明显更高, 两者间有显著性差异 (P<0.05); 请参阅表 1。

2.2 各组孕妇胎盘组织中 VEGF、AGEs、TGF- β 1 阳性表达率比较

观察组孕妇胎盘组织 VEGF 阳性表达率低于对照组, 而 AGEs、TGF- β 1 的阳性表达率明显高于对照组, 两者之间存在显著差异 (P<0.05)。请参阅表 2。

3 讨论

妊娠高血压综合征简称为妊高征, 临床表现为高血压、蛋白尿、水肿、全身多器官损害, 严重时会出现抽搐、昏迷、母婴死亡^[6]。妊高征是一种病因不明的妊娠多器官疾病, 至今仍然是一项世界性的妇产科问题。目前已有大量的研究表明^[7], 某些生物标志物可以用于监测妊高征的发展和进展, 但其特异性和可预见性较差; 因此, 这两种方法都很难用于常规的临床检验。孕妇的心理压力、营养摄入、产检次数、孕期体重等都会导致妊娠期高血压综合症的发生。目前国内外对妊高征的病因尚未完全清楚, 所以在临床上开展了大量的临床防治工作,

并取得了很大进展。但孕妇患有高血压综合症, 将来会不会有长期的高血压, 这会对女性的身体造成更大的伤害; 这是一个值得探讨和探讨的课题。近年来有关高血压的许多研究显示, 家族史、血脂、血糖是导致高血压的主要原因; 肥胖程度, BMI, 性别; 吸烟史, 食盐摄入量, 性格等^[8]。虽然目前关于妊高征综合症的风险因子的研究很少, 但是对于高血压病的发生和防治具有一定的参考价值。

本研究通过与河南省第二人民医院妇产科合作, 收集妊高征患者及正常孕妇产前、产后外周血和产后胎盘组织, 并对研究对象进行相关因素流行病学调查。多重细胞因子检测试剂盒(Luminex法)对所有样本外周血细胞因子进行高通量检测, 进行统计学分析, 筛选出高度相关细胞因子, 然后对胎盘组织进行常规病理检查, 免疫组织化学方法检测胎盘组织中高度相关因子蛋白表达水平, 统计分析各组血清高度相关细胞因子, 胎盘组织高度相关因子蛋白相对水平, 综合研究特异性细胞因子与妊高征发病、进展及产前产后的相关性, 旨在为妊高征早期预防、早期诊断和治疗提供理论指导^[9]。本研究通过血清细胞因子筛选, 同时进行流式细胞仪检测外周血循环内皮细胞及循环内皮祖细胞数量, 探讨炎症反应介导的血管内皮损伤和血清细胞因子在妊娠高血压疾病发生、发展中的协同作用, 为临床预测妊高征的发生及评估严重程度提供理论指导。VEGF 是最强大的促 VEGF, 在妊娠初期, VEGF 在胎盘和血管内皮细胞中有较高的表达^[10]。VEGF 的作用是调控血管的生长、修复和维持, 从而保证胎盘的营养和新陈代谢。与王永萍等^[11]人的比较, 妊娠高血压综合征组、轻度 PE 组和重度 PE 组的 VEGF 水平均明显降低。因此推断, VEGF 在妊娠期的低水平表达, 会影响胎盘血管的形成和发育, 使胎盘不能得到母亲充足的血液供应和灌注; 同时还会发生缺血、缺氧、局部炎症等, 胎盘血管再生能力降低, 对炎症的抵抗力降低, 从而加重内皮细胞的损伤; 从而导致妊娠高血压综合症的发生。AGEs 是糖和蛋白过度结合的产物, 它可以与 RAGE 受体结合, 从而导致糖尿病、肥胖、动脉粥样硬化等多种疾病的发生。苏敏等人发现, 在氧化应激时, AGEs 会与其 RAGE 受体结合到血管内皮细胞和滋养细胞表面, 从而促进细胞内的氧化应激; 同时, TGF- β 1 基因的表达降低了基质金属蛋白酶

的产生, 从而造成胎盘血管管壁变薄、管腔变窄、造成组织损害。结果: 孕妇血清和胎盘组织中 AGEs、TGF- β 1 水平均明显增高, 而循环 EPC 水平则明显降低。因此, 血清和胎盘组织中 VEGF、AGEs、TGF- β 1 水平和循环 EPC 数量的不均衡, 可能会破坏胎儿的血管平衡, 进而诱发妊高征。

相关分析显示, 血清和胎盘中 VEGF 的表达水平和循环 EPC 的数量与其病情有显著的负相关性, 而血清和胎盘中的 AGEs 和 TGF- β 1 与病情有显著的正相关性。这一结果表明: VEGF、AGEs、TGF- β 1 和循环 EPC 的水平在妊娠期高血压病的发生过程中起着关键的作用。王佳佳^[12]的研究显示, VEGF 水平和循环 EPC 数量的减少会对绒毛滋养细胞的浸润和分化产生直接的影响; 子宫内的螺旋形小动脉的重塑会使病情恶化。GF- β 1 和 GF- β 1 的异常表达会导致血管内皮细胞的氧化应激和炎症反应, 从而导致胎盘的螺旋动脉浸润不足。因此, VEGF、AGEs、TGF- β 1 与血管内皮细胞及滋养细胞的浸润及分化有密切联系, 在妊娠高血压综合症的发生及进展中起重要作用。妊娠中晚期, 医生可通过监测血清和胎盘中 VEGF、AGEs 的水平、TGF- β 1 的检测和早期干预对促进滋养细胞的侵袭具有重要意义; 促进胎盘血管的再生, 为保证胎儿的健康提供依据。

综上所述, 妊高征孕妇血清和胎盘组织 VEGF 水平、循环 EPC 水平均明显降低, 且与妊娠高血压患者的临床症状有明显的负相关性; 而妊高征妇女血清和胎盘中 AGEs、TGF- β 1 水平明显高于正常孕妇, 且与其病情的严重性有关。

参考文献

- [1] 朱海玲, 符津山, 商颖. 基于倾向性评分方法的妊娠高血压综合征发生的危险因素分析[J]. 中国卫生统计, 2022, 39(1): 3.
- [2] 简珊, 张灵慧, 张雪, 等. 贵州省铜仁地区农村 17~39 岁孕妇妊娠高血压综合征患病率及危险因素调查[J]. 现代预防医学, 2019(18): 5.
- [3] 简珊, 张灵慧, 张雪, et al. 贵州铜仁地区 17~39 岁孕妇妊娠高血压综合征患病现状及危险因素[J]. 中国公共卫生, 2019.
- [4] 谈炯新, 刘怀昌, 肖磊, 等. 初次妊娠高血压综合征患者再次妊娠发生子痫的高危因素[J]. 国际病理科学与临床杂

- 志,2020.
- [5] 黄胜珠,叶娟,黄雅铃,等.广西地区妊娠高血压综合征发生的危险因素及其风险预测模型[J].广西医学,2019,41(12):6.
- [6] 简珊,张灵慧,张雪,等.贵州铜仁地区 17~39 岁孕妇妊娠高血压综合征患病现状及危险因素[J].中国公共卫生,2019,35(4):5.
- [7] 王茹,庄文婷,王香林,等.血清血管紧张素转换酶和血管紧张素原水平与妊娠高血压综合征的相关性及其危险因素[J].解剖学报,2021,52(3):5.
- [8] 孟丽琴,汪苗琴,张楼英.妊娠高血压综合征患者免疫功能指标,血脂水平与病情严重程度的关系研究[J].现代实用医学,2020,32(8):3.
- [9] 马戎,鲁琰,顾巧玲,等.甘肃省少数民族地区妊娠高血压综合征流行病学调查及对母婴结局的影响[J].中国预防医学杂志,2020.
- [10] 吴军,朱小晖,蒋瑶,等.血清 D-二聚体,FIB 联合检测对妊娠期高血压综合征的早期预测价值[J].国际检验医学杂志,2020,41(10):4.
- [11] 王永萍,王莉.妊娠期高血压疾病的危险因素和母婴结局分析[J].中国临床医生杂志,2022,50(5):3.
- [12] 王佳佳,袁东敏,赵菊伟.妊娠期高血压疾病发生的危险因素及对母婴预后的影响[J].中国妇幼保健,2021,36(21):3.
- [13] 蓝永洪,饶朗毓,杨智等.妊娠高血压综合征患者胎盘组织中 HIF-1 α 和 HSP70 的表达及其意义[J].吉林大学学报(医学版),2018,44(2):346-349.

收稿日期: 2022 年 9 月 16 日

出刊日期: 2022 年 10 月 25 日

引用本文: 吕丰收, 王凌霄, 高凤兰, 李东豫, 妊娠高血压综合征患者血清、胎盘组织中细胞因子水平及循环 EPC 数量分析[J]. 国际医药研究前沿, 2022, 6(5): 32-36

DOI: 10.12208/j.imrf.20220171

检索信息: RCCSE 权威核心学术期刊数据库、中国知网(CNKI Scholar)、万方数据(WANFANG DATA)、Google Scholar 等数据库收录期刊

版权声明: ©2022 作者与开放获取期刊研究中心(OAJRC)所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS