

DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20170810.030

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1049.R.20170810.1144.060.html>.

补充叶酸及维生素对妊娠期高血压患者内皮损伤及胎盘血流灌注的影响

林薇¹, 马莎²✉, 杨林³

(1.湖北省武汉市红十字会医院(武汉市第十一医院),湖北武汉 430015;2.湖北省武汉市妇女儿童保健中心,湖北武汉 430015;3.湖北省武汉市同济医院过敏反应科,湖北武汉 430030)

[摘要] **目的:**研究补充叶酸及维生素对妊娠期高血压患者内皮损伤及胎盘血流灌注的影响。**方法:**选择2015年3月~2017年2月在武汉市红十字会医院诊断为子痫前期的62例患者作为研究对象,随机分为两组,观察组接受叶酸、维生素及常规对症治疗,对照组接受常规对症治疗。治疗前及治疗后2周时,检测血清中内皮损伤标志物、氧化应激指标的含量;分娩后,检测胎盘中细胞凋亡基因的表达量。**结果:**治疗后2周时,两组患者血清中内皮素-1(ET-1)、组织型转谷氨酰胺酶(tTG)、可溶性血管内皮生长因子受体1(sFlt-1)、可溶性内皮因子(sEng)、髓过氧化物酶(MPO)、缺血修饰白蛋白(IMA)、丙二醛(MDA)、晚期氧化蛋白产物(AOPP)含量均显著显著低于治疗前($P < 0.05$),且观察组患者血清中ET-1、tTG、sFlt-1、sEng、MPO、IMA、MDA、AOPP的含量显著低于对照组($P < 0.05$);分娩后,观察组患者胎盘组织中自杀相关因子(Fas)、Bcl-2相关X蛋白(Bax)、含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-3(Caspase-3)mRNA表达量显著低于对照组($P < 0.05$),B淋巴细胞瘤-2基因(Bcl-2)、生存素(Survivin)、Livin的mRNA表达量显著高于对照组($P < 0.05$)。**结论:**补充叶酸及维生素对妊娠期高血压患者内皮损伤及胎盘血流灌注均具有显著的改善作用。

[关键词] 妊娠期高血压疾病;叶酸;维生素;内皮损伤;凋亡

[中图分类号] R714.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-1237(2017)15-2127-04

Effect of folic acid and vitamin supplement on endothelial injury and placental blood perfusion in patients with hypertensive disorder complicating pregnancy

LIN Wei¹, MA Sha²✉, YANG Lin³

(1. Department of Obstetrics and Gynecology, Wuhan Red Cross Hospital (Wuhan No.11 Hospital), Wuhan 430015, China; 2. Department of Obstetrics and Gynecology, Wuhan Women and Children's Health Care Center, Wuhan 430015, China; 3. Branch of Allergic Reactions, Tongji Hospital in Wuhan, Wuhan 430030, China)

[Foundation Project]: This study was supported by Public Health Research Project of Wuhan Health and Family Planning Commission (Grant No. WG13D85)

[Author]: LIN Wei (1980-), Female, Wuhan Hubei, Attending Physician, M.B., Tel: 18062519060, E-mail: wlvhsntmw@163.com.

[Correspondence to]: MA Sha, Tel: 13871569621, E-mail: 9393561@qq.com.

Received: 2017-07-17 Revised: 2017-07-20

JHMC, 2017; 23(15): 2127-2130

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[ABSTRACT] Objective: To study the effect of folic acid and vitamin supplement on endothelial injury and placental blood perfusion in patients with hypertensive disorder complicating pregnancy. **Methods:** A total of 62 patients who were diagnosed with preeclampsia in Wuhan Red Cross hospital between March 2015 and February 2017 were selected as the research subjects and randomly divided into observation group and control group. Patients in observation group received folic acid, vitamin and

[基金项目] 武汉市卫计委公共卫生科研项目(WG13D85)

[作者简介] 林薇(1980-),女,湖北武汉人,主治医师,学士,电话:18062519060,Email: wlvhsntmw@163.com.

[通讯作者] 马莎,电话:13871569621,Email: 9393561@qq.com.

[收稿日期] 2017-07-17 **[修回日期]** 2017-07-20 **网络出版时间:** 2017-08-10 11:44:23

conventional symptomatic treatment, while those who were in control group accepted conventional symptomatic treatment. Before treatment and 2 weeks after treatment, serum contents of endothelial injury markers and oxidative stress indexes were detected, and after delivery, the expressions of apoptosis genes in the placenta were detected. **Results:** Two weeks after treatment, serum ET-1, tTG, sFlt-1, sEng, MPO, IMA, MDA and AOPP levels of both groups of patients were significantly lower than those before treatment ($P < 0.05$), and serum ET-1, tTG, sFlt-1, sEng, MPO, IMA, MDA and AOPP levels of observation group were significantly lower than those of control group ($P < 0.05$). After delivery, Fas, Bax and Caspase-3 mRNA expression levels in placenta tissue of observation group were significantly lower than those of control group ($P < 0.05$) while Bcl-2, Survivin and Livin mRNA expression levels were significantly higher than those of control group ($P < 0.05$). **Conclusions:** Folic acid and vitamin supplement can significantly improve the endothelial injury and placental blood perfusion in patients with hypertensive disorder complicating pregnancy.

[KEY WORDS] Hypertensive disorder complicating pregnancy; Folic acid; Vitamin; Endothelial injury; Apoptosis

妊娠期高血压疾病是妊娠期常见的并发症,其中以子痫前期(preeclampsia, PE)最为常见,至今病因未明且缺乏有效的治疗手段,终止妊娠及娩出胎盘仍是目前治疗子痫前期最根本的手段。母体内皮功能损伤及胎盘血流灌注减少、胎盘发育异常是子痫前期患者重要的病理特征^[1,2]。高同型半胱氨酸是受到越来越多关注的心脑血管疾病独立危险因素,近年来也被证实与子痫前期的发病密切相关。子痫前期病程中,异常蓄积的同型半胱氨酸能够通过炎症反应、氧化应激、细胞凋亡等途径影响内皮功能及胎盘发育^[3,4]。叶酸以及维生素 B₁₂ 是同型半胱氨酸代谢途径中所必须的辅基,补充叶酸及维生素能够改善同型半胱氨酸代谢、降低同型半胱氨酸含量。本研究分析了补充叶酸及维生素对妊娠期高血压患者内皮损伤及胎盘血流灌注的影响,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2015 年 3~2017 年 2 月在武汉市红十字会医院诊断为子痫前期的 62 例患者作为研究对象,所有患者符合子痫前期的诊断标准,排除妊娠前合并高血压的患者以及合并妊娠期糖尿病、妊娠期肝胆胆汁淤积症的患者。采用随机数表法将入组的 62 例子痫前期患者分为两组,每组各 31 例。观察组患者年龄 24~34 岁,分娩时孕周 36~39 周;对照组患者的年龄 23~34 岁,分娩时孕周 36~38 周。两组患者一般资料的比较无显著性差异($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 子痫前期的治疗方法

对照组患者给予常规对症治疗,方法如下:25%硫酸镁注射液 60 mL 加入 5%葡萄糖液 1 000 mL,静脉滴注,1 次/d;硝苯地平片 10 mg 口服,3 次/d。观察组患者在常规对症治疗的基础上给予叶酸及维生素治疗,方法如下:叶酸片 400 μ g、维生素 B₁₂ 片 50 μ g、维生素 C 片 1.0 g、维生素 E 片 400 IU 口服,1 次/d,连续服用至分娩。

1.3 血清指标检测方法

治疗前及治疗后 2 周时,采集两组患者的肘静脉血 3~5 mL,离心分离血清后采用酶联免疫吸附试剂盒测定内皮

素-1(ET-1)、组织型转谷氨酰胺酶(tTG)、可溶性血管内皮生长因子受体 1(sFlt-1)、可溶性内皮因子(sEng)、髓过氧化物酶(MPO)、缺血修饰白蛋白(IMA)、丙二醛(MDA)、晚期氧化蛋白产物(AOPP)的含量。

1.4 胎盘中基因表达的检测方法

分娩后 30 min 内采集适量胎盘组织,避开钙化部位及大血管,生理盐水反复多次清洗直至血液基本洗净,在液氮中短暂冷冻后加入 Trizol 裂解液,萃取组织中的总 RNA 并反转录合成 cDNA,采用荧光定量 PCR 试剂盒对 cDNA 进行扩增,扩增的目的基因为自杀相关因子(Fas)、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)、含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-3(Caspase-3)、B 淋巴细胞瘤-2 基因(Bcl-2)、生存素(Survivin)、Livin,根据扩增曲线计算 mRNA 表达量。

1.5 统计学处理

采用 SPSS17.0 软件录入数据并分析,两组间数据的分析采用 *t* 检验,按照 $P < 0.05$ 判断差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清中内皮损伤标志物的含量

治疗前及治疗后 2 周时,两组患者血清中内皮损伤标志物 ET-1(μ g/mL)、tTG(ng/mL)、sFlt-1(ng/mL)、sEng(ng/mL)的分析如下:两组患者治疗前血清中 ET-1、tTG、sFlt-1、sEng 的含量无显著性差异($P > 0.05$);治疗后 2 周时,两组患者血清中 ET-1、tTG、sFlt-1、sEng 的含量均显著显著低于治疗前($P < 0.05$),且观察组患者血清中 ET-1、tTG、sFlt-1、sEng 的含量显著低于对照组($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组治疗前后血清内皮损伤标志物的含量比较($n = 31, \bar{x} \pm s$)

组别	时间	ET-1	tTG	sFlt-1	sEng
观察组	治疗前	4.51 \pm 0.67	10.38 \pm 1.56	7.62 \pm 0.89	4.23 \pm 0.52
	治疗后	1.93 \pm 0.24* [#]	4.59 \pm 0.76* [#]	2.55 \pm 0.34* [#]	1.87 \pm 0.24* [#]
对照组	治疗前	4.47 \pm 0.69	10.81 \pm 1.49	7.81 \pm 0.92	4.41 \pm 0.59
	治疗后	2.77 \pm 0.35 [#]	7.61 \pm 0.83 [#]	3.89 \pm 0.52 [#]	2.77 \pm 0.36 [#]

注:观察组与对照组比较,* $P < 0.05$;治疗前与治疗后比较,[#] $P < 0.05$ 。

2.2 血清中氧化应激指标的含量

治疗前及治疗后 2 周时,两组患者血清中氧化应激指标 MPO(pg/mL)、IMA(ng/mL)、MDA(nmol/mL)、AOPP 的分析如下:两组患者治疗前血清中 MPO、IMA、MDA、AOPP

的含量无显著性差异($P>0.05$);治疗后2周时,两组患者血清中MPO、IMA、MDA、AOPP的含量均显著显著低于治疗前($P<0.05$),且观察组患者血清中MPO、IMA、MDA、AOPP的含量显著低于对照组($P<0.05$)。见表2。

表2 两组治疗前后血清中氧化应激指标的含量比较($n=31, \bar{x} \pm s$)

组别	时间	MPO	IMA	MDA	AOPP
观察组	治疗前	1341±1.85	57.41±7.61	8.31±0.93	142.41±19.45
	治疗后	8.34±1.03*#	33.25±4.57*#	3.44±0.52*#	83.41±10.24*#
对照组	治疗前	13.87±1.91	58.12±7.94	8.24±0.98	144.10±17.64
	治疗后	10.93±1.42#	42.94±5.65#	5.73±0.61#	113.48±14.48#

注:观察组与对照组比较,* $P<0.05$;治疗前与治疗后比较,# $P<0.05$ 。

2.3 胎盘中凋亡基因的表达量

治疗后,两组患者胎盘中凋亡基因Fas、Bax、Caspase-3、Bcl-2、Survivin、Livin表达量的分析如下:观察组患者胎盘组织中Fas、Bax、Caspase-3的mRNA表达量显著低于对照组,Bcl-2、Survivin、Livin的mRNA表达量显著高于对照组。两组患者胎盘组织中Fas、Bax、Caspase-3、Bcl-2、Survivin、Livin表达量的差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3、4。

表3 两组患者胎盘促凋亡基因的表达量比较($n=31, \bar{x} \pm s$)

组别	Fas	Bax	Caspase-3
观察组	0.37±0.05	0.28±0.04	0.41±0.07
对照组	1.03±0.15	0.98±0.11	1.04±0.14
<i>t</i>	17.587	20.382	12.475
<i>P</i>	<0.05	<0.05	<0.05

表4 两组胎盘抗凋亡基因的表达量比较($n=31, \bar{x} \pm s$)

组别	Bcl-2	Survivin	Livin
观察组	2.37±0.41	1.97±0.28	2.55±0.45
对照组	1.05±0.12	0.97±0.14	1.03±0.16
<i>t</i>	13.484	10.928	16.584
<i>P</i>	<0.05	<0.05	<0.05

3 讨论

子痫前期(PE)是妊娠期高血压疾病的最常见类型。虽然目前PE的病因未明,但母体内皮损伤、胎盘缺血缺氧等病理环节与子痫前期的密切关系已经得到了一致认可^[5,6]。近年来,高同型半胱氨酸血症与子痫前期的关系受到了越来越多的关注。同型半胱氨酸是体内甲硫氨酸代谢循环中的副产物,其代谢去路包括以下两个途径^[7,8]:(1)约50%的同型半胱氨酸在维生素B₆的参与下分解为半胱氨酸,而后逐步降解并成为丙酮酸及水;(2)约50%的同型半胱氨酸在维生素B₁₂及叶酸的参与下与5-甲基四氢叶酸反应并合成甲硫氨酸。孕妇体内叶酸及维生素含量不足会影响同型半胱氨酸代谢并造成体内同型半胱氨酸含量升高,进而通过炎症反应、氧化应激、细胞凋亡等途径影响内皮功能及胎盘发育。基于同型半胱氨酸血症与子痫前期发病的密切相关,已有学者采用补充叶酸及维生素的方式来治疗子痫

前期并取得了积极疗效,能够有效降低同型半胱氨酸含量及血压水平^[9]。但是关于叶酸及维生素治疗对子痫前期病程中内皮损伤、胎盘缺氧等病理环节的影响尚未见报道。

母体内皮损伤是子痫前期患者的重要病理特征,同时也是引起小血管痉挛、微血栓形成及肾小球功能损害的重要原因。在内皮功能损伤的过程中,ET-1、tTG、sFlt-1、sEng等多种内皮标志分子大量释放进入血液循环。ET-1是由内皮细胞合成的缩血管活性物质,内皮损伤会造成ET-1释放增多并引起血管痉挛^[10];tTG是由胎盘滋养细胞合成并脱落进入血液循环的一类具有催化活性的蛋白质,主要介导NF- κ B所介导的炎症反应并通过炎症介质来引起内皮损伤;sFlt-1和sEng分别是Flt-1和Endoglin胞外结构脱落进入血液循环的产物,能够与VEGF、PLGF、TGF- β 等结合并拮抗其生物学功能、造成内皮损伤^[11,12]。为了明确补充叶酸及维生素对子痫前期患者内皮损伤程度的影响,本文对治疗前后血清中内皮损伤标志物含量的变化进行了分析,结果显示:两组患者治疗后血清中ET-1、tTG、sFlt-1、sEng的含量均显著显著低于治疗前,且观察组患者治疗后血清中ET-1、tTG、sFlt-1、sEng的含量显著低于对照组。这就说明常规解痉、降压药物能够在一定程度上减轻母体内皮损伤的程度,并且在常规治疗的基础上补充叶酸及维生素能够更为有效的减轻内皮损伤。

子痫前期患者内皮功能损伤的发生与氧化应激反应的激活存在相互作用、相互影响的密切关系。内皮损伤所引起的小血管痉挛会造成胎盘血流灌注减少并处于缺血状态,进而造成氧自由基及氧化应激产物生成增多;由胎盘合成并释放进入母体的氧自由基及氧化应激产物又会进一步加重内皮损伤及血管痉挛。在氧化应激反应过程中,MPO、IMA、MDA、AOPP是反映氧化应激程度的标志分子。MPO是催化蛋白质、脂质发生氧化反应及相应集团发生缺氧修饰的催化酶;IMA是白蛋白的氮末端在缺血缺氧条件下被修饰、加工后的产物^[13];MDA和AOPP是脂质和蛋白质与自由基发生氧化反应的产物。同型半胱氨酸在体内的蓄积不仅具有直接的内皮损伤作用,还具有增加自由基生成、激活氧化应激反应并加重内皮氧化损伤的效应^[14,15]。为了明确补充叶酸及维生素对子痫前期患者氧化应激反应的影响,本文对治疗前后血清中氧化应激反应指标的变化进行了分析,结果显示:两组患者治疗后血清中MPO、IMA、MDA、AOPP的含量均显著显著低于治疗前,且观察组患者治疗后血清中MPO、IMA、MDA、AOPP的含量显著低于对照组。这就

说明常规解痉、降压药物能够在一定程度上减轻母体氧化应激反应的程度,并且在常规治疗的基础上补充叶酸及维生素能够更为有效减少自由基生成、改善氧化应激反应。

子痫前期病程中内皮损伤会造成血管痉挛并影响胎盘的血流灌注,胎盘在缺血缺氧状态下一方面会出现过度的氧化应激反应,另一方面也会出现过度的细胞凋亡。Fas 是胎盘组织中通过死亡受体途径调节细胞凋亡的重要分子,通过与配体 FasL 结合后能够启动下游 caspase 级联激活反应^[16];Bax 是胎盘组织中通过线粒体途径调节细胞凋亡的重要分子,通过增加线粒体内细胞色素 C 释放进入细胞的数量来启动下游 caspase 级联激活反应^[17]。在 Fas 和 Bax 的共同作用下,caspase 级联反应被激活并最终引起 caspase-3 活化,进而介导细胞凋亡^[18]。Bcl-2、Survivin、Livin 则是具有凋亡抑制作用的分子。Bcl-2 能够直接拮抗 Bax 的生物学效应并抑制细胞凋亡,Survivin、Livin 则能拮抗 caspase 级联激活反应过程中多种 caspase 分子的活化,进而抑制细胞凋亡^[19,20]。本文通过分析胎盘组织中上述促凋亡和抗凋亡基因的表达量可知:观察组患者胎盘组织中 Fas、Bax、Caspase-3 的 mRNA 表达量显著低于对照组,Bcl-2、Survivin、Livin 的 mRNA 表达量显著高于对照组。这就说明在常规治疗的基础上补充叶酸及维生素能够改善胎盘血流灌注、抑制缺氧所致细胞凋亡的过度激活。

补充叶酸及维生素治疗能够显著改善妊娠期高血压患者的内皮损伤,同时也能减轻氧化应激反应、抑制胎盘中的细胞凋亡。

参考文献

- Ahmed A, Rezai H, Broadway-Stringer S. Evidence-based revised view of the pathophysiology of preeclampsia [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 956:355-374.
- Ali SM, Khalil RA. Genetic, immune and vasoactive factors in the vascular dysfunction associated with hypertension in pregnancy [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2015, 19(11): 1495-1515.
- Shahbazian N, Jafari RM, Haghnia S. The evaluation of serum homocysteine, folic acid, and vitamin B₁₂ in patients complicated with preeclampsia [J]. *Electron Physician*, 2016, 8(10): 3057-3061.
- Kharb S, Aggarwal D, Bala J, et al. Evaluation of homocysteine, vitamin B₁₂ and folic acid levels during all the trimesters in pregnant and preeclamptic womans[J]. *Curr Hypertens Rev*, 2016, 12(3): 234-238.
- Brodowski L, Burlakov J, Hass S, et al. Impaired functional capacity of fetal endothelial cells in preeclampsia [J]. *PLoS One*, 2017, 12(5): e0178340.
- Korkes HA, De Oliveira L, Sass N, et al. Relationship between hypoxia and downstream pathogenic pathways in preeclampsia [J]. *Hypertens Pregnancy*, 2017, 36(2):145-150.
- Maru L, Verma M, Jinsiwale N. Homocysteine as predictive marker for pregnancy-induced hypertension-A comparative study of homocysteine levels in normal versus patients of PIH and its complications[J]. *J Obstet Gynaecol India*, 2016, 66 (Suppl 1): 167-171.
- Wadhvani NS, Patil VV, Mehendale SS, et al. Increased homocysteine levels exist in women with preeclampsia from early pregnancy [J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2016, 29(16): 2719-2725.
- Sayyah-Melli M, Ghorbanihaghjo A, Alizadeh M, et al. The effect of high dose folic acid throughout pregnancy on homocysteine (Hcy) concentration and pre-eclampsia; a randomized clinical trial [J]. *PLoS One*, 2016, 11(5):e0154400.
- Zeng Y, Li M, Chen Y, et al. Homocysteine, endothelin-1 and nitric oxide in patients with hypertensive disorders complicating pregnancy [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(11): 15275-152759.
- He Y, Xu B, Song D, et al. Correlations between complement system's activation factors and anti-angiogenesis factors in plasma of patients with early/late-onset severe preeclampsia [J]. *Hypertens Pregnancy*, 2016, 17:1-11.
- Lecarpentier É, Vieillefosse S, Haddad B, et al. Placental growth factor (PlGF) and sFlt-1 during pregnancy: physiology, assay and interest in preeclampsia[J]. *Ann Biol Clin (Paris)*, 2016, 74(3):259-267.
- Doğ an K, Guraslan H, Çankaya A, et al. Ischemia-modified albumin (IMA): A novel marker for preeclampsia independent of uterine artery notching identified by doppler ultrasound [J]. *Hypertens Pregnancy*, 2015, 34(4): 516-524.
- Can M, Guven B, Bektas S, et al. Oxidative stress and apoptosis in preeclampsia [J]. *Tissue Cell*, 2014, 46(6):477-481.
- Hu YY, Liu JC, Xing AY. Oxidative stress markers in intrahepatic cholestasis of pregnancy: a prospective controlled study [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2015, 19(17):3181-3186.
- Rešić Karara J, Zekić Tomas S, Maru ić J, et al. Fas and FasL expression in placentas complicated with intrauterine growth retardation with and without preeclampsia [J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2016, 29(7):1154-1159.
- Szpilbarg N, Castro-Parodi M, Reppetti J, et al. Placental programmed cell death: insights into the role of aquaporins [J]. *Mol Hum Reprod*, 2016, 22(1):46-56.
- Afroz SH, Kalagiri RR, Reyes M, et al. Apoptotic and stress signaling markers are augmented in preeclamptic placenta and umbilical cord [J]. *BBA Clin*, 2016, 25(6): 25-30.
- Bailey LJ, Alahari S, Tagliaferro A, et al. Augmented trophoblast cell death in preeclampsia can proceed via ceramide-mediated necroptosis [J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(2): e2590.
- Braga A, Maestá 1, Rocha Soares R, et al. Apoptotic index for prediction of postmolar gestational trophoblastic neoplasia[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2016, 215(3):336.