

## 缺氧诱导因子与胎儿生长受限的相关性

黄红丽, 杨恒, 姜艳华, 刘晓瑛

作者单位: 深圳市罗湖区妇幼保健院妇产科, 广东 深圳 518000

通信作者: 姜艳华, 女, 主任医师, 硕士生导师, 研究方向为妇产科临床, E-mail: 1453751387@qq.com

基金项目: 深圳市罗湖区软科学研究计划项目(201727)

**摘要:**目的 探讨缺氧诱导因子-1 $\alpha$ (hypoxia-inducible factor, HIF-1 $\alpha$ )在胎儿生长受限(fetal growth restriction, FGR)发生中的意义。方法 选取2017年7月至2018年7月深圳市罗湖区妇幼保健院产检的60例孕妇,其中FGR组30例,健康组30例,检测所有孕妇孕30~32周、分娩前的母体外周血、分娩后脐血的HIF-1 $\alpha$ 水平及胎盘组织中HIF-1 $\alpha$ 的表达,并检测孕30~32周、分娩前的胎盘动脉收缩期/舒张期(systolicphase/diastolicphase, S/D)值,分析HIF-1 $\alpha$ 、胎盘动脉S/D值与FGR的关系。结果 FGR组孕妇孕30~32周的HIF-1 $\alpha$ (118.36 $\pm$ 12.21)pg/L、分娩前的母体外周血的HIF-1 $\alpha$ (119.25 $\pm$ 12.31)pg/L、分娩后脐血的HIF-1 $\alpha$ (120.08 $\pm$ 13.12)pg/L水平明显高于健康组孕30~32周的HIF-1 $\alpha$ (48.23 $\pm$ 4.65)pg/L、分娩前的母体外周血的HIF-1 $\alpha$ (47.69 $\pm$ 4.38)pg/L、分娩后脐血的HIF-1 $\alpha$ (48.11 $\pm$ 4.85)pg/L, FGR组孕妇分娩后胎盘组织中HIF-1 $\alpha$ 的阳性表达43.33%(13/30)明显高于健康组6.67%(2/30),差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); FGR组孕妇孕30~32周、分娩前的胎盘动脉S/D值明显高于健康组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); Pearson相关性分析显示,分娩前母体外周血HIF-1 $\alpha$ 水平与分娩后胎盘组织中HIF-1 $\alpha$ 的表达呈正相关( $r = 0.615, P = 0.005$ )。结论 孕妇HIF-1 $\alpha$ 表达增高、胎盘动脉S/D升高与FGR的发生发展密切相关;孕期可通过监测孕妇血清HIF-1 $\alpha$ 的水平、胎盘动脉S/D值来指导医生处理FGR。

**关键词:** 缺氧诱导因子1; 胎儿生长迟缓; 胎盘功能试验; 胎盘血液循环; 酶联免疫吸附测定; 超声检查,多普勒,彩色

## Correlation between hypoxia-inducible factor and fetal growth restriction

HUANG Hongli, YANG Heng, JIANG Yanhua, LIU Xiaoying

Author Affiliation: Department of Obstetrics and Gynecology, Shenzhen Luohu District Maternal and Child Health Hospital, Shenzhen, Guangdong 518000, China

**Abstract: Objective** To investigate the significance of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) in the development of fetal growth restriction (FGR). **Methods** Sixty pregnant women were selected from July 2017 to July 2018 in Shenzhen Luohu District Maternal and Child Health Hospital. Among them, 30 cases of FGR were in FGR group and 30 cases of normal pregnancy were in normal group. The levels of HIF-1 $\alpha$  in 30-32 weeks of gestation, maternal peripheral blood before delivery, umbilical cord blood after delivery and the expression of HIF-1 $\alpha$  in placenta tissues of all pregnant women were detected. The systolicphase/diastolicphase (S/D) values of 30-32 weeks of gestation and placental arteries before delivery were measured. The relationship between HIF-1 $\alpha$  or S/D and FGR was analyzed. **Results** The levels of HIF-1 $\alpha$  in 30-32 weeks of gestation [(118.36 $\pm$ 12.21) pg/L vs. (48.23 $\pm$ 4.65) pg/L], maternal peripheral blood before delivery [(119.25 $\pm$ 12.31) pg/L vs. (47.69 $\pm$ 4.38) pg/L] and umbilical cord blood after delivery [(120.08 $\pm$ 13.12) pg/L vs. (48.11 $\pm$ 4.85) pg/L] of FGR group were significantly higher than those of normal group. The positive expression of HIF-1 $\alpha$  in placenta tissues after delivery of FGR group [43.33%, (13/30)] was significantly higher than [6.67%, (2/30)] of normal group, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). The S/D value in 30-32 weeks of gestation and placental artery before delivery of FGR group was significantly higher than that in normal group at and before delivery, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). Pearson correlation analysis showed that the level of HIF-1 $\alpha$  in maternal peripheral blood before delivery was positively correlated with the expression of HIF-1 $\alpha$  in placenta after delivery ( $r = 0.615, P = 0.005$ ). **Conclusions** The increased expression of HIF-1 $\alpha$  and S/D of placental artery in pregnant women are closely related to the occurrence and development of FGR. During pregnancy, doctors can be guided to deal with FGR by monitoring the level of serum HIF-1 $\alpha$  and S/D value of placental artery.

**Key words:** Hypoxia-inducible factor 1; Fetal growth restriction; Placental function tests; Placental circulation; Enzyme-linked immunosorbent assay; Ultrasonography, doppler, color

胎儿生长受限(fetus growth reception, FGR)的病因研究受到广大医学领域的重视<sup>[1-2]</sup>。有研究显示,胎盘的生长发育与多种血管生成因子密切相关,其缺血缺氧状态可能会导致胎盘的发育不全<sup>[3]</sup>。同时有文献报道,缺氧诱导因子-1 $\alpha$ (hypoxia-inducible factor, HIF-1 $\alpha$ )是胎盘进行血氧调和的主要因素之一,其具有细胞增殖作用<sup>[4-5]</sup>,但有关该因子与FGR的关系还有待深入研究。本研究通过对分娩前FGR母血、分娩后脐血及胎盘中HIF-1 $\alpha$ 进行检测,同时于分娩前监测胎盘动脉收缩期/舒张期(systolic phase/diastolic phase, S/D)值,探讨其与FGR的关系,现报告如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取2017年7月至2018年7月深圳市罗湖区妇幼保健院产检的60例孕妇,纳入标准:①单胎,②经期正常,③无家族遗传史,④本人或其近亲属签署知情同意书。排除标准:①合并其他妊娠症,②有心、肝、肾、血液性等严重性疾病,③拒不配合者。将FGR 30例为FGR组,正常妊娠30例为健康组,其中FGR组:年龄( $28.69 \pm 2.68$ )岁,范围为23~35岁,分娩孕周( $38.25 \pm 3.12$ )周,范围为35~40周,孕次( $1.58 \pm 0.68$ )次,范围为1~3次,体质指数( $24.21 \pm 2.68$ ) kg/m<sup>2</sup>,范围为19.65~29.65 kg/m<sup>2</sup>;健康组:年龄( $28.71 \pm 2.76$ )岁,范围为23~36岁,分娩孕周( $38.13 \pm 3.11$ )周,范围为35~41周,孕次( $1.51 \pm 0.65$ )次,范围为1~3次,体质指数( $24.45 \pm 2.56$ ) kg/m<sup>2</sup>,范围为19.65~30.12 kg/m<sup>2</sup>。两组一般资料比较差异无统计学意义(年龄: $t = 0.35$ ,  $P = 0.73$ ;分娩孕周: $t = 0.41$ ,  $P = 0.71$ ;孕次: $t = 0.52$ ,  $P = 0.69$ ;体质指数: $t = 0.37$ ,  $P = 0.72$ )。本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求。

**1.2 方法** 检测所有孕妇孕30~32周、分娩前的母体外周血、分娩后脐血的HIF-1 $\alpha$ 水平及胎盘组织中HIF-1 $\alpha$ 的表达,并检测孕30~32周、分娩前的胎盘动脉S/D值,方法如下。

①血清及胎盘选取:所有孕妇于孕30~32周、分娩前抽取3 mL静脉血置入无菌A试管中,胎儿顺利产出后重复抽血操作,分离血清(3 000 r/min, 10 min),冷冻存储(温度80 ℃)待检,之后切取大小约为1 cm×1 cm×1 cm胎盘组织,选取依据避开梗死、出血、钙化灶原则。

②血清检测:采取酶联免疫吸附法检测HIF-1 $\alpha$ 水平;采取免疫组织化学SP法检测胎盘组织中HIF-1 $\alpha$ 的表达,将所有胎盘组织经10%甲醛固定和石

蜡,包埋后,连续切片进行脱蜡,切片厚度均为4  $\mu$ m,之后由高浓度到低浓度乙醇(95%乙醇2 min→95%乙醇2 min→70%乙醇1 min→蒸馏水1 min→蒸馏水1 min)进行水化,给予柠檬酸(pH 6.0)高压热修复:喷气2 min,冷却后用蒸馏水清洗,描线上机(PBS预洗一次→3%过氧化氢10 min→PBS缓冲液冲洗1次→一抗孵育60 min→PBS缓冲液冲洗1次→二抗孵育15 min→PBS缓冲液冲洗2次→DAB显色4 min→蒸馏水冲洗2次),最后用苏木素快速染水中返蓝,吹干封片,以PBS缓冲液代替一抗作阴性对照,并设阳性对照,实验步骤严格按照试剂盒说明书操作,所有试剂盒均购自广州易锦生物技术有限公司。

③胎盘动脉S/D值:采取多普勒超声诊断仪对孕妇胎盘血流动力学情况进行彩色多普勒血流显像(CDFI)监测,从胎盘根部与脐动脉对应的小动脉开始采集,频率为4 MHz,确保血流波采集线平行于靶动脉血管方向,且声束与血流夹角 $< 15^\circ$ ,波形稳定后停顿,分析测得S/D。每次样至少获取5个以上波形,每次测定3次,取平均值。

**1.3 指标观察和标准** 统计分析所有孕妇孕30~32周、分娩前的母体外周血、分娩后脐血的HIF-1 $\alpha$ 水平及胎盘组织中HIF-1 $\alpha$ 的表达,并检测孕30~32周、分娩前的胎盘动脉S/D值,其中HIF-1 $\alpha$ 表达应在高倍视野( $\times 200$ 倍),按随机数字表法选择5个视野观察,根据SP法染色以细胞浆中出现变异性染色的深浅进行评分,阳性强度以无色为0分;淡黄色为1分;黄色为2分;棕黄色为3分。根据组织染色细胞所占总细胞数百分比评分:阳性细胞数 $< 5\%$ 为阴性(0分);5%~25%(1分);26%~50%(2分);51%~75%(3分); $> 75\%$ (4分)。两者评分相乘,0分为阴性(-),1~4分为弱阳性(+),5~8分为阳性(++),9~12分为强阳性(+++),方便试验操作和分析,用(-)代表阴性,(+)(++)(+++代表阳性,阳性代表高表达<sup>[6-7]</sup>。

**1.4 统计学方法** 采用SPSS 22.0软件处理数据。计数资料以例(%)表示,组间比较采用 $\chi^2$ 检验。计量资料(符合正态分布)以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 $t$ 检验。两变量关联性分析采用Pearson相关性分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 两组各孕周母体外周血、脐血的HIF-1 $\alpha$ 水平比较** FGR组孕妇孕30~32周、分娩前的母体外周血,分娩后脐血的HIF-1 $\alpha$ 水平明显高于健康组( $P < 0.05$ ),见表1。

**表1** 胎儿生长受限(FGR)组和胎儿健康组各孕周母体外周血、分娩后脐血的HIF-1 $\alpha$ 水平比较/(pg/L,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别   | 例数 | 孕30~32周            | 分娩前                | 分娩后脐血              |
|------|----|--------------------|--------------------|--------------------|
| 健康组  | 30 | 48.23 $\pm$ 4.65   | 47.69 $\pm$ 4.38   | 48.11 $\pm$ 4.85   |
| FGR组 | 30 | 118.36 $\pm$ 12.21 | 119.25 $\pm$ 12.31 | 120.08 $\pm$ 13.12 |
| t值   |    | 29.399             | 29.998             | 28.182             |
| P值   |    | <0.001             | <0.001             | <0.001             |

**2.2 两组分娩后胎盘组织中HIF-1 $\alpha$ 的表达比较** FGR组孕妇分娩后胎盘组织中HIF-1 $\alpha$ 的阳性表达43.33%(13/30)明显高于健康组6.67%(2/30),差异有统计学意义( $\chi^2 = 10.756, P = 0.001$ ),见图1,2。

**2.3 两组同孕周的胎盘动脉S/D值比较** FGR组孕妇孕30~32周、分娩前的胎盘动脉S/D值明显高于健康组( $P < 0.05$ ),见表2。

**表2** 胎儿生长受限(FGR)组和胎儿健康组同孕周的胎盘动脉S/D值比较/ $\bar{x} \pm s$ 

| 组别   | 例数 | 孕30~32周         | 分娩前             |
|------|----|-----------------|-----------------|
| 健康组  | 30 | 2.41 $\pm$ 0.29 | 1.98 $\pm$ 0.23 |
| FGR组 | 30 | 3.51 $\pm$ 0.48 | 3.35 $\pm$ 0.54 |
| t值   |    | 10.743          | 12.785          |
| P值   |    | 0.000           | 0.000           |

**2.4 分娩前母血HIF-1 $\alpha$ 水平与分娩后胎盘HIF-1 $\alpha$ 表达的Pearson相关性分析** Pearson相关性分析显示,分娩前母血HIF-1 $\alpha$ 与分娩后胎盘HIF-1 $\alpha$ 表达呈正相关( $r = 0.615, P = 0.005$ )。

### 3 讨论

近年来,我国生育政策改变,FGR发病率日益上升,因此如何降低FGR的发生具有重要的临床价值<sup>[8-9]</sup>。

有研究显示,从受精卵开始植入子宫内膜至胎儿足月分娩的整个妊娠过程中,胎盘的氧浓度在每个妊娠阶段都在发生变化,这种氧浓度变化构成了胎盘发育的必要条件,提示胎盘成长可能与其血氧供应密切相关<sup>[10]</sup>。文献报道,HIF-1 $\alpha$ 是临床常见的血氧调节指标,可有效改善细胞的发育及机体的免疫功能,尤其在细胞低氧应答机制中扮演重要角色,当细胞处于持续缺氧状态时,其水平会发生异常变化<sup>[11]</sup>。此外,胎盘动脉S/D值是反映血管的血流变化,其与胎盘的的生长发育密切相关<sup>[12]</sup>。

对此,本研究通过检测所有孕妇的HIF-1 $\alpha$ 及胎盘动脉S/D值,结果发现FGR组孕妇孕30~32周、分娩前的母体外周血、分娩后脐血的HIF-1 $\alpha$ 水平明显高于健康组,FGR组孕妇分娩后胎盘组织中HIF-1 $\alpha$ 的阳性表达明显高于健康组。蒋玲玲等<sup>[13]</sup>学者的

研究结果也提示HIF-1 $\alpha$ 的变化与FGR的发生有关,本研究与此基本一致。说明FGR孕妇在不同孕周期均出现高水平HIF-1 $\alpha$ 表达,进一步提示FGR存在持续性缺氧状态。这可能是正常的胚胎发育是在缺氧的环境中进行,此环境有利于毛细血管的形成,且随着胚胎逐渐成形,血管内皮细胞向外扩散,并加大血管,提高血液流动和渗透能力,进一步波及蜕膜组织,增加新生血管,而此时子宫胎盘动脉循环建立,胚胎摆脱缺氧环境,母体通过动脉循环源源不断往胎儿注入高氧物质,保障胎儿正常发育,HIF-1 $\alpha$ 水平恢复正常。而当孕妇出现FGR疾病时,胚胎的发育可能因绒毛小动脉水肿、痉挛、闭塞等因素导致血管内皮细胞无法向外扩张,继而影响及蜕膜组织正常功能,最终导致胎盘血流灌注变小,无法增加新生血管,使宫内缺氧环境持续保持,影响胎儿生长发育。同时本研究还发现FGR组孕妇孕30~32周、分娩后的胎盘动脉S/D值明显高于健康组,表明FGR孕妇在不同孕周期的胎盘动脉S/D值存在异常,进一步提示此时胎儿可能存在供血不畅状态。究其原因可能是当胎儿发育不良时,胎盘的的生长和发育受到阻滞,导致胎盘的血管不畅,营养无法正常供应,从而影响血流阻力和血流速度,最终造成血流比值降低幅度变缓<sup>[13-14]</sup>。故检测孕妇的胎盘动脉S/D可预测胎儿的发育状态。此外,Pearson相关性分析显示,分娩前母血HIF-1 $\alpha$ 与分娩后胎盘HIF-1 $\alpha$ 表达呈正相关( $P < 0.05$ ),提示临床医生可在FGR孕妇产检时定期检测血清HIF-1 $\alpha$ 水平以评估胎儿的发育情况。若其水平变化异常,可结合胎儿胎盘动脉S/D值来指导产科医生处理FGR<sup>[15]</sup>。

综上所述,母血中HIF-1 $\alpha$ 水平、胎盘动脉S/D值可间接评估FGR孕妇胎盘功能状态或胎儿宫内状况。孕期可通过监测孕妇血清HIF-1 $\alpha$ 的水平、胎盘动脉S/D值来指导产科医生处理FGR。

(本文图1,2见插图10-4)

### 参考文献

- [1] FIGUERAS F, GRATACÓS E. Update on the diagnosis and classification of fetal growth restriction and proposal of a stage-based management protocol [J]. Fetal Diagnosis & Therapy, 2014, 36(2): 86-98.
- [2] COTECHINI T, KOMISARENKO M, SPEROU A, et al. Inflammation in rat pregnancy inhibits spiral artery remodeling leading to fetal growth restriction and features of preeclampsia [J]. Journal of Experimental Medicine, 2014, 211(1): 165-179.
- [3] 汪敏, 赵敏. 单绒毛膜双羊膜囊选择性胎儿生长受限30例临床



- 分析[J].安徽医药,2018,22(4):631-634.
- [4] ROBB KP, COTECHINI T, ALLAIRE C, et al. Inflammation-induced fetal growth restriction in rats is associated with increased placental HIF-1 $\alpha$  accumulation[J]. PLoS One, 2017, 12(4):e0175805. DOI:10.1371/journal.pone.0175805.
- [5] 陈继来.彩色多普勒超声在帆状胎盘单胎妊娠中的诊断价值[J].医学临床研究,2016,33(7):1422-1424.
- [6] SAVCHEV S, FIGUERAS F, SANZ-CORTES M, et al. Evaluation of an optimal gestational age cut-off for the definition of early- and late-onset fetal growth restriction[J]. Fetal Diagnosis & Therapy, 2014, 36(2):99-105.
- [7] 屈莉红,荆鲁宁.胎盘组织缺氧诱导因子-1 $\alpha$ 和内皮素-1表达对糖尿病妊娠的影响[J].中国现代医学杂志,2016,26(20):44-47.
- [8] UNTERSCHEIDER J, O'DONOGHUE K, DALY S, et al. Fetal growth restriction and the risk of perinatal mortality—case studies from the multicentre PORTO study[J]. BMC Pregnancy & Childbirth, 2014, 14(1):63-63.
- [9] GORDIJN SJ, BEUNE IM, THILAGANATHAN B, et al. Consensus definition of fetal growth restriction: a Delphi procedure[J]. Ultrasound in Obstetrics & Gynecology, 2016, 48(3):333-339.
- [10] 庞颖,包雨微,孙子燕,等.BOLD-MRI对高氧状态下胎盘氧合状况改变的初步探索[J].放射学实践,2018,33(3):290-293.
- [11] 马宗丽,沙红兰,朱东兵,等.葡萄糖转运蛋白-1、缺氧诱导因子-1 $\alpha$ 在宫颈上皮癌变过程中的表达及意义[J].中国临床研究,2016,29(12):1675-1677.
- [12] 葛明珠,张珂,潘钰.脐动脉血流检测在延期妊娠监测胎盘功能中的作用[J].浙江预防医学,2016,28(11):1165-1167.
- [13] 蒋玲玲,刘曼华,乔海风,等.孕妇血清HIF-1 $\alpha$ 、胎盘血流与胎儿生长受限的相关性研究[J].中国妇幼保健,2017,32(15):3523-3526.
- [14] 黄黛,姚丽霞,黄燕.缺氧诱导因子-1 $\alpha$ 联合脐血流S/D检测在重度子痫前期患者中的意义[J].实用医学杂志,2015,31(14):2402-2403.
- [15] 陈宇毅,廖瑜,肖小敏.胎盘缺氧诱导因子表达及绒毛血管变化与胎儿窘迫的关系[J].暨南大学学报(自然科学与医学版),2017,38(4):337-342.

(收稿日期:2019-04-19,修回日期:2019-06-28)

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2019.10.015

◇临床医学◇

## 桂枝汤加减方调和营卫联合个性化护理 用于围绝经期综合征的疗效观察

刘芹,唐军伟,蒋纯

作者单位:南充市中心医院中西医结合科,四川 南充 637000

**摘要:**目的 探讨应用桂枝汤加减方调和营卫联合个性化护理对围绝经期综合征病人疗效的影响。方法 选取2016年5月至2017年5月南充市中心医院围绝经期综合征病人120例为研究对象,所有研究对象均采用桂枝汤加减方治疗为机体调和营卫的基础治疗,根据随机数字表法分为研究组和对照组,对照组60例采用常规护理方式,研究组60例在其基础上加以个性化护理干预,比较两组病人护理后的临床疗效。结果 研究组总有效率为95.0%(57/60),对照组为75.0%(45/60),研究组显著高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );两组治疗后血清雌二醇(E<sub>2</sub>)水平降低,促卵泡激素(FSH)水平升高,研究组性激素水平改善优于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );两组治疗后Kupperman各项评分均显著降低,且治疗后研究组显著低于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 应用桂枝汤加减方结合个性化护理治疗围绝经期综合征病人临床有效率较高,能够舒缓病人不良情绪,改善围绝经期综合征病人的心理状态,提高生活质量,值得临床广泛应用。

**关键词:**围绝经期; 音乐疗法; 按摩; 健康教育; 桂枝汤; 营卫; 围绝经期综合征; 个性化护理

## Observation on the curative effect of *Guizhi* decoction added and subtracted recipe for regulating *yingqi* and *weiqi* combined with personalized care on patients with perimenopausal syndrome

LIU Qin, TANG Junwei, JIANG Chun

Author Affiliation: Department of Integrated Chinese and Western Medicine, Nanchong Central Hospital, Nanchong, Sichuan 637000, China

**Abstract: Objective** To explore the curative effect of *Guizhi* decoction added and subtracted recipe for regulating *yingqi* and *weiqi* combined with personalized care on patients with perimenopausal syndrome. **Methods** A total of 120 patients with perimenopausal syndrome were selected as研究对象, all研究对象均采用桂枝汤加减方治疗为机体调和营卫的基础治疗,根据随机数字表法分为研究组和对照组,对照组60例采用常规护理方式,研究组60例在其基础上加以个性化护理干预,比较两组病人护理后的临床疗效。结果 研究组总有效率为95.0%(57/60),对照组为75.0%(45/60),研究组显著高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );两组治疗后血清雌二醇(E<sub>2</sub>)水平降低,促卵泡激素(FSH)水平升高,研究组性激素水平改善优于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );两组治疗后Kupperman各项评分均显著降低,且治疗后研究组显著低于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 应用桂枝汤加减方结合个性化护理治疗围绝经期综合征病人临床有效率较高,能够舒缓病人不良情绪,改善围绝经期综合征病人的心理状态,提高生活质量,值得临床广泛应用。