

扫描可准确发现血肿增长情况,增强扫描与常规扫描结合下,可准确诊断外伤性脑梗死,检出患者脑梗死具体情况,为患者早期治疗、个体化治疗提供可靠鉴别诊断依据,促进患者临床治疗效果的提升。

〔参考文献〕

- (1) 汪保平. CT平扫在老年颅脑外伤性硬膜下血肿临床应用分析(J). 医学影像学杂志, 2022, 32(9): 1588-1590.
- (2) 余伟. 60岁以上的急性脑出血患者16层螺旋CT检查的影像学表现(J). 包头医学, 2022, 46(3): 5-7.
- (3) 郭彦璞. CT灌注成像和CTA, DSA在诊断早期外伤性脑梗死中的应用价值(J). 现代诊断与治疗, 2020, 31(21): 3474-3475.
- (4) 李群武, 冉宇, 武得昊. CT在外伤性颅内血肿合并大面积脑梗死诊断中的运用(J). 影像研究与医学应用, 2020, 4(16): 178-179.
- (5) 陈云鹏, 李在雨, 杨正月, 等. 早期外伤性脑梗死的MRS及MRI临床分析(J). 岭南现代临床外科, 2019, 19(1): 80-82.
- (6) 张秋苑. 外伤性脑梗死患者睡眠障碍现状调查及影响因素分析(J). 世界睡眠医学杂志, 2021, 8(6): 954-955.
- (7) 王亚楠. 重症外伤性脑损伤患者去骨瓣减压术后并发外伤性脑梗死的影响因素(J). 河南医学研究, 2021, 30(34): 6468-6470.
- (8) 韦硕, 范月超, 杨帆, 等. 外伤性脑梗死的临床诊治及危险因素分析(J). 徐州医科大学学报, 2019, 39(4): 277-280.
- (9) 肖文, 张建军, 潘宁, 等. 不同阶段大面积脑梗死头颅CT、MRI检查影像学征象及其预后评估价值(J). 中国CT和MRI杂志, 2022, 20(8): 22-23, 34.
- (10) 黄宇芬, 赖智民, 严朝钦. MRI与CT诊断老年多发性脑梗死的临床价值分析(J). 影像研究与医学应用, 2022, 6(8): 4-6.
- (11) 崔树凯, 管云, 王雪娇. 老年多发性脑梗死中行磁共振和CT诊断的价值(J). 中外医学研究, 2022, 20(20): 70-73.
- (12) 柴蓉静, 龚万庆, 鄢广平, 等. 对比MRI与CT对诊断老年多发性脑梗死的有效性(J). 中国CT和MRI杂志, 2022, 20(1): 13-15.

〔文章编号〕 1007-0893(2023)03-0060-04

DOI: 10.16458/j.cnki.1007-0893.2023.03.019

血小板反应蛋白、血管生成素与复发性流产患者绒毛组织的关系研究

李秋霞 周芸 汪来来

(上饶市妇幼保健院, 江西 上饶 334000)

〔摘要〕 **目的:** 探讨复发性流产(RSA)患者绒毛组织血管生成状况,并分析血小板反应蛋白(TSP)、血管生成素(Ang)与RSA的关系。**方法:** 选取2020年6月至2022年6月在上饶市妇幼保健院妇产科医院行清宫术的116例患者作为研究对象,对照组为正常妊娠后行人工流产术,观察组患者为RSA,每组58例,采用免疫组化SP法检测两组研究对象Ang-1、Ang-2、TSP-1、TSP-2的表达情况,并检测微血管密度(MVD)值,分析其与上述指标的相关性。**结果:** 观察组患者绒毛组织中Ang-1、Ang-2、TSP-2的表达水平均高于对照组($P < 0.05$),TSP-1表达水平低于对照组;而且观察组患者的MVD值显著低于对照组;Ang-1、TSP-2、Ang-2与MVD值呈负相关性($P < 0.05$),TSP-1与MVD值呈正相关($P < 0.05$)。**结论:** RSA患者绒毛组织中Ang-1、Ang-2和TSP-2高表达,TSP-1低表达时胎儿发生RSA的概率较高,上述指标均是胎儿出现RSA的影响因素。

〔关键词〕 复发性流产;绒毛组织;血管生成素;血小板反应蛋白

〔中图分类号〕 R 714.21 〔文献标识码〕 B

复发性流产(recurrent spontaneous abortion, RSA) 是妇产科中常见的一种疾病,会给孕妇及其家庭都带来

〔收稿日期〕 2022-12-06

〔作者简介〕 李秋霞,女,主治医师,主要研究方向是妇产科相关疾病的诊治,试管婴儿,复发性流产保胎。

极大的精神压力, 该疾病是指孕妇在妊娠 28 周以内连续发生 3 次或者 3 次以上的胎儿流产, 大多数为早期流产, 只有少数患者是晚期流产。在妊娠 3 个月以内出现的早期流产原因一般包括免疫系统出现异常、胚胎染色体核型异常以及甲状腺功能低下、母胎免疫因素等, 而妊娠 3~7 个月内出现的流产原因大多为子宫解剖结构异常, 自身免疫异常等^[1]。在女性妊娠过程中, 从受精卵着床到胎盘形成的每个阶段都与血管形成有密切关系^[2]。血管形成通常包括发生和生成两种, 血管发生是指胚胎发育过程中内皮细胞前体转化为血管的过程; 而血管生成则是已有的血管细胞增殖的过程。这一过程依赖于多种血管生成刺激因子和抑制因子的调节。血管生成素 (angiopoietin, Ang) 是一个由血管内皮细胞分泌的 123 个氨基酸残基组成的碱性蛋白, 属于核糖核酸酶超家族, 是与血管生成有关的蛋白质生长因子, 具有促进血管生成必不可少的酶活性。血小板作为血管中流动的血液的重要组成部分, 在某些刺激因素下会导致活化, 发生聚集、黏附等反应, 而血小板反应蛋白 (thrombospondin, TSP) 也是该家族中的一种重要糖蛋白, 具有多项功能, 对于血管的生成有着重要作用, 一般其表达异常时多见于各种妊娠疾病。微血管密度 (microvessel density, MVD) 是血管形成的量化指标, CD34 是其标记物。近年来有研究表明患者胎盘绒毛血管状态与妊娠结局有密切关系, 血管生成功能异常时也会导致胚胎着床失败、流产等^[3]。因此本研究探讨 RSA 患者绒毛组织中 Ang 和 TSP 的表达情况以及与血管生成的关系, 旨在为临床研究治疗方案时提供科学依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集上饶市妇幼保健院妇产科 2021 年 6 月至 2022 年 6 月收治的流产清宫者作为研究对象, 58 例对照组为正常妊娠并行人工流产术者, 58 例观察组为 RSA 患者。对照组年龄 20~36 岁, 平均 (28.42 ± 3.15) 岁, 孕周 3~8 周, 平均 (5.46 ± 1.38) 周; 孕次 2~3 次, 平均 (2.74 ± 0.65) 次; 观察组年龄 20~35 岁, 平均 (27.94 ± 3.25) 岁, 孕周 2~9 周, 平均 (6.13 ± 1.67) 周, 孕次 3~4 次, 平均 (3.38 ± 0.72) 次。两组研究对象的一般资料比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性。

1.2 病例选择

1.2.1 纳入标准 (1) 经过超声检查可以看到子宫发育处于正常状态; (2) 月经规律; (3) 经检测夫妻染色体核型均正常; (4) 甲状腺功能正常; (5) 对照组为自愿终止妊娠; (6) 所有研究对象及其家属均知情同意本研究, 在手术过程中也征得研究对象同意后留取

组织病理标本。

1.2.2 排除标准 (1) 精神意识功能障碍; (2) 存在异位妊娠; (3) 有血栓形成倾向; (4) 存在其他免疫性疾病; (5) 在孕期存在感染现象 (例如细菌感染等)。

1.3 实验试剂

抗 Ang-1 多克隆抗体、抗 Ang-2 多克隆抗体、抗 TSP-1 多克隆抗体、辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗、DAB 显色试剂盒、磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered saline, PBS)、苏木素复染液等。

1.4 仪器设备

石蜡切片机 (XGNP29-NP-Q)、鼓风干燥箱 (BGZ-76)、恒温培养箱 (GSP-9080MBE)、摇床 (TS-1000)、高压锅、病理图像分析系统以及奥林巴斯双目显微镜。

1.5 检测方法

采用 THBS1 免疫组化试剂盒测定血液中 Ang 和 TSP 的含量, 试剂盒购置于上海恪敏生物科技有限公司, 将标本置于载玻片上, 使用 10% 甲醛溶液固定 10 min, 在载玻片上加上 1% Triton X-100 试剂, 室温下孵育 10 min, PBS 冲洗 3 次, 必要时可以加过氧化物酶阻断试剂, 孵育 10 min 冲洗^[4]。使用高压加热方法进行抗原修复, 将组织切片放置于含有乙二胺四乙酸 (ethylenediamine tetraacetic acid, EDTA) 的高压锅内加热, 等自然冷却之后将切片浸于 PBS 中, 等待抗原修复完毕后, 加 Ang-1、Ang-2、TSP-1、TSP-2 多克隆抗体后 4℃ 孵育过夜, 第 2 天取出后 PBS 清洗 3 次, 室温孵育羊抗兔二抗免疫球蛋白 G 1 h, 最后根据检测试剂盒选择相应的显色系统, 进行常规脱水、固定、封片^[5]。

测定结束后采用图像分析软件对血管相关指标, TSP 和 Ang 测出的积分光密度 (integrated optical density, IOD) 值进行半定量分析, 分析结果中阳性反应明显程度和颜色深浅呈正相关关系, Ang 的 IOD 值和 Ang 表达水平呈正相关, TSP 的 IOD 值和表达水平呈负相关^[6]。

MVD 的判定方法: 对两组研究对象的组织血管进行免疫组化染色, 在显微镜下观察两组研究对象血管内皮细胞中呈现棕黄色的区域, 该区域被称为 CD34 标记^[9]。统计出现 CD34 标记的数目, 一般将管腔 < 8 个红细胞的血管或者单个着色内皮细胞系称为 1 个微血管, 将显微镜视野放大 500 倍后观察微血管数目, 平均值作为患者组织切片的 MVD 值^[7]。MVD 计数方法: 调整视野至显微镜下处于清晰状态时, 选取 5 个视野中能够观察到的微血管数目, 统计结果后计算平均值。

1.6 统计学分析

采用 SPSS 20.0 软件进行数据处理, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$

表示, 采用 t 检验, 计数资料用百分比表示, 采用 χ^2 检验, 数据相关性分析采用 Pearson 相关性分析, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组研究对象绒毛组织中 Ang 含量的 IOD 值比较
观察组患者绒毛组织中的 Ang-1、Ang-2 的 IOD 值以及 Ang-1/Ang-2 比值均高于对照组, 差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 1。

表 1 两组研究对象绒毛组织中 Ang 含量的 IOD 值比较
($n = 58, \bar{x} \pm s$)

组别	Ang-1	Ang-2	Ang-1/Ang-2
对照组	27.95 ± 6.82	36.84 ± 7.31	0.82 ± 0.34
观察组	76.82 ± 9.45 ^a	74.68 ± 9.37 ^a	1.15 ± 0.32 ^a

注: Ang-1、Ang-2 结果为 IOD 值; Ang-1 血管生成素; IOD 一积分光密度。
与对照组比较, ^a $P < 0.05$ 。

2.2 两组研究对象绒毛组织中 TSP 含量的 IOD 值比较
观察组患者绒毛组织中 TSP-1 的 IOD 值高于对照组, TSP-2 的 IOD 值低于对照组, TSP-1/TSP-2 比值低于对照组, 差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 2。

表 2 两组研究对象绒毛组织中 TSP 含量的 IOD 值比较
($n = 58, \bar{x} \pm s$)

组别	TSP-1	TSP-2	TSP-1/TSP-2
对照组	185.24 ± 2.97	195.41 ± 3.65	1.13 ± 0.06
观察组	193.67 ± 3.48 ^b	178.69 ± 5.72 ^b	0.92 ± 0.04 ^b

注: TSP-1、TSP-2 结果为 IOD 值; TSP-1 血小板反应蛋白; IOD 一积分光密度。
与对照组比较, ^b $P < 0.05$ 。

2.3 两组研究对象绒毛组织中的 MVD 值比较

观察组患者绒毛组织中的 MVD 值为 $(21.67 \pm 2.48) \mu\text{m} \cdot \text{mm}^{-1}$, 对照组绒毛组织中的 MVD 值为 $(29.60 \pm 3.25) \mu\text{m} \cdot \text{mm}^{-1}$, 观察组的 MVD 值显著低于对照组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.4 RSA 患者绒毛组织中各指标的相关性分析

RSA 患者绒毛组织 TSP-1 的表达水平与 MVD 呈正相关 ($r = 0.745, P < 0.05$), TSP-2 的表达水平与 MVD 呈负相关 ($r = -0.776, P < 0.05$); Ang-1、Ang-2 的表达均与 MVD 值呈负相关 ($r = -0.312, r = -0.936, P$ 均 < 0.05)。

3 讨论

女性妊娠期胚胎发育过程较为复杂, 血管也会重新发育生长, 而这一过程与血管生长促进因子和抑制因子具有密切的关系, 两者保持平衡才能保证稳定生长。此外,

很多血管相关因子与孕子宫内膜的生长功能等有密切关系, 而妊娠结局与子宫和卵巢功能相关, 因此推测血管相关因子的表达情况与 RSA 有一定关系^[8]。

Ang 是一类分泌型的生长因子, 该家族主要包括 Ang-1、Ang-2、Ang-3、Ang-4, 其中 Ang-1 主要是由血管周围细胞和平滑肌细胞分泌, 并且研究已经发现在胚胎期血管间质和成人肺组织、卵巢、前列腺等多处组织中都有表达。Ang-1 与人血管生成素受体酪氨酸激酶 2 (tyrosine kinase receptors 2, Tie-2) 能够特异性结合, 从而激活相应的受体, 使得受体蛋白磷酸化, 并导致血管周围细胞出现聚集, 互相发生作用, 加强细胞之间的连接, 从而有利于维持细胞的完整性, 促进血管重塑。而 Ang-2 主要由血管内皮细胞分泌, 在胎内血管、胎盘、子宫等器官组织中都有表达。Ang-2 与 Tie-2 结合效应不稳定, 当存在血管内皮生长因子时, Ang-2 就会导致血管稳定性破坏, 使得内皮细胞被激活后进一步影响迁移、增殖能力形成血管。缺乏血管内皮生长因子时, 激活后的内皮细胞会发生凋亡, 从而诱导内皮细胞发生分裂。Ang-1 和 Ang-2 对于血管中的一些酶也有一定的作用, 例如作用于内皮细胞分泌的酪氨酸激酶, 改变机体状态, 从而影响后续血管细胞的生长。研究还发现这两种 Ang 的表达能够激活内皮细胞 Erk1/2 通路, 刺激细胞分裂、分化, 此外还可以通过核转位进入细胞核, 促进基因的转录。Ang 作为一种血管生成促进因子, 在人体多种生理、病理过程中都发挥着重要的作用。Ang-1、Ang-2 的不同表达水平和胎儿的生长发育情况也有一定的关系, 如果这两种物质在体内过度表达时就会导致血管缺陷, 从而造成胚胎死亡^[9]。本研究通过比较 RSA 患者和对照组的 Ang 水平, 发现 RSA 患者绒毛组织中的 Ang-1、Ang-2 的 IOD 值以及 Ang-1/Ang-2 比值均高于对照组, 差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)。王欢^[10] 研究中指出 RSA 患者绒毛组织中的 MVD 值也显著低于蜕膜组织, 正常妊娠女性的 MVD 值却高于蜕膜组织, 这与本研究结论相符合, 进一步说明了胎盘绒毛血管形成与妊娠有着密切关系。而 MVD 作为量化血管生成的具体指标, 是反应血管生长的重要参数, 能够间接性判断血管形成能力^[11], Ang-1、Ang-2 与 MVD 呈负相关, 也说明了在 RSA 患者绒毛组织血管生成程度降低。

TSP 是一种调节性基质糖蛋白家族, 也被称为凝血酶敏感蛋白, 也是目前临床上已知的一种血管抑制因子。有研究显示这种 TSP 是由多种细胞合成的, 例如基质细胞、平滑肌细胞以及内皮细胞等, 分泌到细胞外基质后, 通过与受体结合后发挥抑制血管生成作用, 并且还参与肿瘤生长、创伤修复、组织重塑和止血等过程^[12]。目前

已知该蛋白家族包括 5 种亚型, 其中 TSP-1 和 TSP-2 结构较为类似, 已有研究证实 TSP-1 还能够拮抗血管内皮生长因子的作用, 还能够激活 TGF- β , 从而导致器官发生纤维化, 并且这种 TSP 还能够参与细胞之间的联系, 调节多种生长因子的表达。TSP-1 是 TSP 家族中的重要成员, 分子量大约为 450000, 是一种选择性分泌多肽, 并且在该分子上含有多个结构域, 由 3 条不同的肽链通过二硫键组成, 不同的结构域可以与不同配体相结合, 从而发挥调节细胞、血管生成作用^[13]。TSP-1 作为内源性血管抑制因子, 但是也有研究发现可以促进血管生成。本研究通过检测两组研究对象 TSP 含量, 发现观察组患者绒毛组织中 TSP-1 的 IOD 值高于对照组, TSP-2 的 IOD 值低于对照组, TSP-1/TSP-2 比值低于对照组, 差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$), 进一步说明 TSP-1 能够促进血管生成, TSP-1 低表达时会导致出现 RSA。而 TSP-2 表达出现异常时也会影响血管生长, 从而导致流产^[14]。此外, Pearson 相关性分析显示, TSP-1 的表达水平与 MVD 呈正相关 ($r = 0.745, P < 0.05$), TSP-2 的表达水平与 MVD 呈负相关 ($r = -0.776, P < 0.05$), 也表明 TSP-1 表达较低, TSP-2 表达较高时, 会导致血管生成障碍, 胎盘内皮细胞凋亡以及抑制血管形成, 从而导致胎盘缺氧缺血、子痫和 RSA 的发病风险升高^[15]。

综上所述, Ang 和 TSP 在 RSA 患者中均有表达, 在妊娠过程中对于胎儿血管生成具有重要的作用, 正常表达时能促进胎儿正常发育, Ang-1、Ang-2 和 TSP-2 高表达, TSP-1 低表达时胎儿发生 RSA 的概率较高。鉴于本研究在研究过程中选择的样本数量有限, 临床上还需要进一步扩大样本探讨三者之间的关系以及样本与怀孕时间的关系, 为 RSA 病因提供更可靠的证据。

[参考文献]

- (1) 冯六连, 李儒佑. 血小板反应蛋白-1 在复发性流产患者绒毛膜组织中的表达及其价值探讨 (J). 现代中西医结合杂志, 2019, 28(14): 1533-1536.
- (2) 曾静, 王璟, 付琼. 复发性流产者绒毛组织中 miR-150, miR-155 表达及与血管生成因子关系 (J). 中国计划生育

- 学杂志, 2021, 29(11): 2282-2287.
- (3) 刘梅梅, 王珊, 李肖肖, 等. 血小板反应蛋白-1 等血管相关因子在复发性流产中的表达及临床研究 (J). 中华生殖与避孕杂志, 2018, 38(1): 39-43.
- (4) 赵骏达, 梁凌云, 武欣. 血管生成素和血小板反应蛋白在复发性流产 (RSA) 患者绒毛组织中的表达及其与血管生成的关系 (J). 复旦学报: 医学版, 2020, 47(4): 551-553, 559.
- (5) Broeren MGA, Wang JJ, Balzaretto G, et al. Proteogenomic analysis of the autoreactive B cell repertoire in blood and tissues of patients with Sjögren's syndrome (J). Annals of the rheumatic diseases, 2022, 81(5): 644-652.
- (6) 严婷, 李刚, 钟雷. 血小板反应蛋白-1, 组织蛋白酶 S 在冠状动脉粥样硬化性心脏病并发心力衰竭患者中的表达及意义 (J). 浙江实用医学, 2020, 25(3): 165-166, 170.
- (7) 李莉, 王媛, 石芳. 反复不明原因自然流产患者血清, 绒毛和蜕膜中 miR-129-5p 表达水平及临床意义 (J). 中国计划生育学杂志, 2022, 12(7): 1510-1513.
- (8) 郑超, 郑滨扬, 袁瑞. 药物流产后异常子宫出血妇女血管生成素-1 和血管生成素-2 的表达及子宫内膜病理组织学变化 (J). 中国妇幼保健, 2021, 36(11): 2583-2585.
- (9) 廖志梅, 楼建义, 范徐妃, 等. 血清和胎盘组织 TSP-1, Endoglin 表达与早发型子痫前期血管生成的相关性 (J). 中国妇幼健康研究, 2019, 30(2): 186-189.
- (10) 王欢. Ang-1、Ang-2、TSP-1 与复发性流产的相关性研究 (D). 太原: 山西医科大学, 2014.
- (11) 尹太郎, 丁锦丽, 张怡, 等. miR-150 在复发性流产患者绒毛组织中表达及在血管生成中的作用 (J). 医学分子生物学杂志, 2018, 15(6): 411-416.
- (12) 张婷婷, 李响. 血小板反应蛋白-1G14678A 位点基因多态性与复发性流产的相关性研究 (J). 中国性科学, 2022, 4(11): 124-127.
- (13) 陈秀慧, 曲军英. 血管生成素及血管内皮生长因子在进展期宫颈癌中的表达及其与放疗相关性 (J). 中国临床药理学杂志, 2014, 30(6): 490-492.
- (14) 李静娜, 张斯淼, 程丹, 等. 急性脑梗死中血小板反应蛋白 1 表达与血管生成因子的相关关系 (J). 中风与神经疾病杂志, 2022, 18(21): 157-159.
- (15) 张岚蓉, 戴晓莉, 章玉兰, 等. 复发性流产患者血清和绒毛组织中 IFN- γ , IL-18 的表达及意义 (J). 中国妇幼健康研究, 2017, 6(S1): 29-31.