

· 论 著 ·

# 低分子肝素治疗胎儿宫内生长受限效果及对胎盘电镜结构与 FPR2 表达的影响

方颖, 杜鹃

中国医科大学附属盛京医院产科, 辽宁 沈阳 110004

**摘要:** **目的** 探讨低分子肝素治疗胎儿宫内生长受限(FGR)的效果以及对胎盘电镜结构与甲酸基肽受体 2(FPR2)表达的影响。**方法** 回顾性分析 2017 年 11 月至 2019 年 1 月在妇产科进行治疗的 98 例 FGR 患者的临床资料,根据治疗方法分为研究组( $n=50$ )、常规组( $n=32$ )和对照组( $n=16$ ),3 组均给予加强营养支持、注意补充微量元素、左侧卧位卧床休息,在此基础上,研究组给予低分子肝素治疗,常规组给予常规治疗,对照组无特殊治疗。比较 3 组临床治疗效果,采用免疫组织化学 SP 法检测并比较各组胎盘组织中 FPR2 表达水平,同时采用透射电镜观察胎盘超微结构。**结果** FGR 的临床治疗总有效率研究组(90.00%)高于对照组(56.25%)( $P<0.017$ )。透射电镜观察显示,研究组胎盘中的合体滋养细胞表面含有大量的整齐微绒毛,呈指状,其中胞质内具有丰富的粗面内质网和线粒体,核染色质致密且分布均匀,绒毛间质内胶原纤维较少,毛细血管较扩张。FGR 胎盘的滋养细胞、绒毛间质细胞以及内皮细胞中的 FPR2 蛋白表达水平与着色强度呈研究组>常规组>对照组( $P<0.01$ )。**结论** 低分子肝素治疗 FGR 的临床效果明显,且能够有效改善胎盘组织的超微结构,提高胎盘中 FPR2 蛋白的表达水平。

**关键词:** 低分子肝素; 胎儿宫内生长受限; 胎盘; 电镜结构; 甲酸基肽受体 2

**中图分类号:** R 714.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2020)08-1037-04

## Low molecular weight heparin in the treatment of fetal intrauterine growth restriction and its influence on the structure of placenta electron microscope and FPR2 expression

FANG Ying, DU Juan

*Department of Obstetrics, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang, Liaoning 110004, China*

**Abstract: Objective** To investigate the effect of low molecular weight heparin (LMWH) in the treatment of fetal intrauterine growth restriction (FGR) and its influence on the structure of placenta electron microscope and the expression of formate peptide receptor 2 (FPR2). **Methods** The clinical data of 98 patients with FGR who were treated in obstetrics and gynecology from November 2017 to January 2019 were analyzed retrospectively. The patients were divided into research group ( $n=50$ ), routine group ( $n=32$ ) and control group ( $n=16$ ) according to the treatment method. The research group was given LMWH treatment, the conventional group was given conventional treatment, and the control group was given no special treatment. The clinical treatment effects of the three groups were compared, and the immunohistochemical SP method was used to detect the expression levels of FPR2 in the placental tissue of each group, and the ultrastructure of the placenta was observed by transmission electron microscopy. **Results** The total effective rate of clinical treatment of FGR in research group(90.00%) was higher than that in control group(56.25%)( $P<0.017$ ). Transmission electron microscopy showed that the surface of syncytiotrophoblasts in the placenta of research group contained a large number of neat microvilli, which were finger-like. The cytoplasm was rich in rough endoplasmic reticulum and mitochondria. The nuclear chromatin was dense and evenly distributed. There were fewer collagen fibers and dilated capillaries. The expression level and staining intensity of FPR2 protein in trophoblast cells, villous interstitial cells and endothelial cells of FGR placenta were as follows: research group > conventional group > control group( $P<0.01$ ). **Conclusion** The clinical effect of LMWH on FGR is obvious, and at the same time, it can effectively improve the ultrastructure of placental tissue and increase the expression level of FPR2 protein in placenta.

**Key words:** Low molecular weight heparin; Fetal intrauterine growth restriction; Placenta; Electron microscope structure; Formate peptide receptor 2

胎儿宫内生长受限(FGR)是一种能够导致胎儿出现早产、窒息以及脑瘫等的病理妊娠状态<sup>[1]</sup>。有研究显示,病理妊娠状态与过度激活的炎症反应相关<sup>[2-3]</sup>。FGR 以往多采用丹参联合葡萄糖治疗,但不良反应较多。低分子肝素是一种能够降低血液黏稠度,降低孕妇血管阻力以及局部抗炎,促进胎儿生长发育的新型药物<sup>[4]</sup>。甲酸基肽受体 2(FPR2)主要是 G-蛋白偶联受体超家族的成员,分布于胎盘、肠道等多种器官中,并在炎症过程中发挥抗炎及促炎症消退等作用<sup>[5]</sup>,且 FPR2 与妊娠存在着密切关系<sup>[6]</sup>。因此,本次研究分析低分子肝素治疗 FGR 的效果,观察低分子肝素对胎盘电镜结构以及 FPR2 表达的影响。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 对 2017 年 11 月至 2019 年 1 月在我院妇产科进行治疗的 98 例 FGR 患者的临床资料进行回顾性分析。按治疗方式将纳入对象归入研究组( $n=50$ )、常规组( $n=32$ )和对照组( $n=16$ )。纳入标准:(1)符合《妇产科学》第 7 版中关于 FGR 的诊断标准<sup>[7]</sup>;(2)年龄 $\geq 20$  岁;(3)患者/家属签署知情同意书。排除标准:(1)母体营养等其他因素导致的 FGR;(2)产检显示胎儿畸形、胎盘早剥以及多胎等;(3)既往伴有精神病史以及药物过敏者;(4)长期饮酒、吸烟者;(5)严重肝肾心功能不全以及本次研究不能够完全配合者。本次研究已获得我院医学伦理委员会批准。3 组孕妇的年龄、发病孕周、孕次、终止妊娠孕周以及妊娠合并症等基线资料比较无统计学差异( $P>0.05$ )。见表 1。

### 1.2 方法

**1.2.1 治疗方法** 本研究的 3 组孕妇均给予加强营养支持,并注意微量元素的补充,同时指导其采用左侧卧位进行卧床休息。其中研究组给予低分子肝素(生产厂家:法国安万特制药公司;国药标准 J20090095)4 100 U 皮下注射,1 次/d,7 d 为 1 个疗程,并在治疗期间注意检查凝血功能状况。常规组给予丹参 10 ml + 10% 葡萄糖 500 ml + 复方氨基酸

250 ml 静脉注射,1 次/d,7 d 为 1 个疗程,且 1 个疗程完成后休息 1 周再进行下个疗程,共进行 3 个疗程治疗。在治疗观察期间密切观察孕妇情况,一旦出现任何不适应及时通知医生。对照组无特殊治疗。

**1.2.2 检测方法** 标本制作:胎儿娩出后,采集部分胎盘组织进行标本制作,使用 10% 福尔马林固定,免疫组织化学 SP 法检测胎盘 FPR2 蛋白表达情况,将标本进行常规的石蜡包埋以及切片,采用华美生物工程公司生产的 SP 免疫组化试剂盒进行检测,兔抗人 FPR2 多克隆抗体购自武汉博士德公司,具体操作严格按照说明书进行,阳性染色为棕黄色。采用 BL-2000 2.0 图像分析测量软件测定 100 倍镜下视野中着色细胞的平均灰度值并进行定量分析。另选择 15 例(每组 5 例)的部分胎盘组织使用 2.5% 戊二醛进行固定后,采用 JEM21010 型透射电镜观察其胎盘超微结构变化。

**1.3 疗效判定标准与观察指标** (1)疗效判定<sup>[8]</sup>:治疗后以 Philips iU22 彩色多普勒超声检测胎儿生长情况,主要包括胎儿的胎头双顶径、股骨长度、腹围、头围及孕妇腹围、宫高增长等,随后根据检查结果进行疗效评价。经过治疗后孕妇宫高、腹围增长较快,每周双顶径增长超过 1.4 mm,未出现新生儿窒息等相关并发症及死亡为显效;经过治疗后孕妇宫高、腹围均有所增加,每 2 周胎儿双顶径增长 1.4 ~ 2.0 mm,未出现新生儿窒息等相关并发症及死亡为有效;经过治疗后孕妇宫高、腹围未增加,胎儿双顶径增长不明显,且新生儿出生后出现并发症或死亡为无效。总有效率 = (显效 + 有效) / 总例数  $\times$  100%。(2)一般资料:观察记录本研究孕妇的年龄、发病孕周、孕次、终止妊娠孕周以及妊娠合并症等临床基本资料。(3)FPR2 蛋白主要是分布在胎盘组织的滋养细胞(合体滋养细胞与细胞滋养细胞)、绒毛间质细胞以及内皮细胞中,分析比较各组对象 FGR 胎盘中的滋养细胞、绒毛间质细胞以及内皮细胞中 FPR2 蛋白表达情况。

**1.4 统计学方法** 采用 SPSS 24.0 软件进行统计分

表 1 3 组孕妇临床基本资料的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	年龄(岁)	发病孕周(周)	孕次(次)	终止妊娠孕周(周)	妊娠合并症[例(%)]
研究组	50	26.87 $\pm$ 3.23	26.87 $\pm$ 3.41	2.10 $\pm$ 1.09	37.26 $\pm$ 1.19	23(46.00)
常规组	32	27.12 $\pm$ 3.54	27.98 $\pm$ 3.11	2.12 $\pm$ 1.12	37.24 $\pm$ 1.20	15(46.88)
对照组	16	26.87 $\pm$ 3.41	28.67 $\pm$ 2.20	2.11 $\pm$ 1.67	37.19 $\pm$ 1.22	7(43.75)
$F/\chi^2$ 值		0.064	1.132	0.003	0.021	0.042
$P$ 值		0.942	0.328	0.997	0.980	0.979

析。年龄、孕周等计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用单因素方差分析及两两比较的 Dunnett-*t* 检验;计数资料用例数(百分比)描述,采用  $R \times C$  表  $\chi^2$  检验,两两比较时检验水准校正为  $\alpha' = 0.017$ 。检验水准  $\alpha = 0.05$ , 双侧检验。

## 2 结果

2.1 3 组 FGR 临床治疗效果比较 FGR 的临床治疗总有效率研究组高于对照组( $P < 0.017$ )。见表 2。

2.2 3 组对象 FGR 胎盘的超微结构变化 研究组胎盘中的合体滋养细胞表面含有大量的整齐微绒毛,呈指状,其中胞质内具有丰富的粗面内质网和线粒体,核染色质致密且分布均匀,绒毛间质内胶原纤维较少,毛细血管较扩张;常规组 FGR 胎盘中合体滋养细胞表面的微绒毛出现部分缺失,呈指状,其中胞质内的粗面内质网和线粒体出现微扩张,核染色质致密且分布均匀,绒毛间质内毛细血管较少;对照组 FGR 胎盘中合体滋养细胞表面的微绒毛出现部分缺失,其中线粒体呈髓鞘样变化,内质网的高度出现扩张,纤曲或呈泡状,且部分膜溶解,脱颗粒,绒毛间质毛细血管明显减少,且大量胶原出现沉积。见图 1。

2.3 3 组对象 FGR 胎盘中 FPR2 表达情况比较 胎盘的滋养细胞、绒毛间质细胞以及内皮细胞中的 FPR2 蛋白表达水平与着色强度呈研究组 > 常规组 > 对照组( $P < 0.01$ )。见表 3、图 2。

表 2 3 组 FGR 临床治疗效果比较 [例(%)]

组别	例数	显效	有效	无效	总有效
研究组	50	36(72.00)	9(18.00)	5(10.00)	45(90.00)
常规组	32	13(40.63)	10(31.25)	9(28.12)	23(77.88)
对照组	16	5(15.63)	4(12.50)	7(43.75)	9(56.25) <sup>a</sup>
$\chi^2$ 值					9.185
<i>P</i> 值					0.010

注:与研究组比较,<sup>a</sup> $P < 0.017$ 。

表 3 3 组胎盘中 FPR2 表达情况比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	滋养细胞	绒毛间质细胞	内皮细胞
研究组	50	145.39 ± 5.34	178.44 ± 6.34	180.34 ± 7.42
常规组	32	138.87 ± 5.01 <sup>ab</sup>	166.23 ± 7.10 <sup>ab</sup>	168.45 ± 7.12 <sup>ab</sup>
对照组	16	110.65 ± 5.42 <sup>a</sup>	158.34 ± 7.23 <sup>a</sup>	159.52 ± 7.20 <sup>a</sup>
<i>F</i> 值		176.149	43.908	38.382
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000

注:与研究组比较,<sup>a</sup> $P < 0.01$ ;与对照组比较,<sup>b</sup> $P < 0.01$ 。

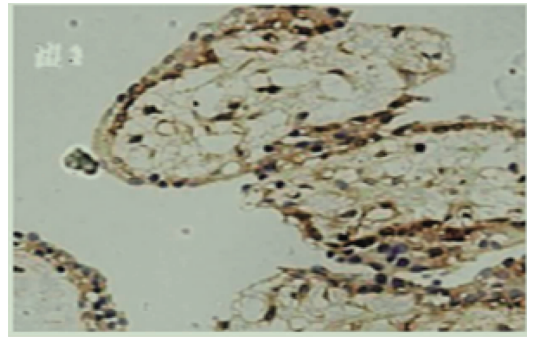


图 2 研究组胎盘 FPR2 表达的病理图 (SP 染色, ×200)

## 3 讨论

现临床上关于 FGR 的发病机制虽尚未明确,但较多研究认为,孕妇 FGR 发生可与胎盘血液灌注不足相关<sup>[9]</sup>。可能是由于子宫滋养细胞层的重铸障碍使胎盘血液灌注不足以及炎症因子过度激活,从而导致 FGR 的发生<sup>[10]</sup>。低分子肝素的相对分子量主要在 4 000 ~ 6 500,并具有吸收快、效果快以及不良反应少等优点,临床应用能够增加凝血酶 III 活性,降低孕妇血液黏稠度与血管阻力,维持血液流动的稳定性,保护血管内皮细胞功能,同时抑制炎症发生,并已获得临床医生的广泛关注与认可<sup>[11-13]</sup>。本研究主要对 FGR 进行低分子肝素治疗,并分析低分子肝素对胎盘电镜结构与 FPR2 表达的影响,其结果显示,研究组 FGR 的临床治疗总有效率明显高于对照组,提示低分子肝素能够有效提高 FGR 临床疗效,可能是由于低分子肝素能够加快血液循环,增加胎儿血液灌注,降低炎症反应<sup>[14]</sup>。本研究经过透射电镜显示,研究组胎盘中的合体滋养细胞表面含有大量的整齐微绒毛,呈指状,其中胞质内具有丰富的粗面内质网和线粒体,核染色质致密且分布均匀,绒毛间质内胶原纤维较少,毛细血管较扩张;而未给特殊治疗的 FGR 胎盘中合体滋养细胞表面的微绒毛出现部分缺失,其中线粒体呈髓鞘样变化,内质网的高度出现扩张,纤曲或呈泡状,且部分膜溶解,脱颗粒,绒毛间质毛细血管明显减少,且大量胶原出现沉积,由此可见,低分子肝素治疗能够改善 FGR 合体滋养细胞表面的微绒毛、绒毛间质内胶原纤维以及毛细血管的通透性<sup>[15]</sup>。

FPR2 是 LXA4 最主要的受体,同时又是 G-蛋白偶联受体超家族的成员之一,主要表达于中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、单核巨噬细胞、上皮细胞、成纤维细胞、肾脏系膜细胞等,并分布于机体的胎盘等多种器官,且能够被脂多糖、多种炎症因子等上调,具有重要的抗炎作用<sup>[16-17]</sup>。妊娠本身是一个炎症反应过程,而过激的炎症反应却能够导致其出现早产、FGR 等多种病理妊娠状态<sup>[18]</sup>。相关研究显示,FGR 时

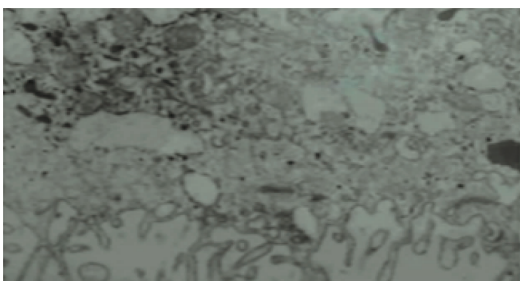


图 1 研究组胎盘超微结构的电镜图 (×8 000)

FPR2 表达降低,并导致胎盘功能出现障碍<sup>[19]</sup>。本研究显示,FGR 胎盘中滋养细胞、绒毛间质细胞以及内皮细胞的 FPR2 蛋白表达水平与着色强度呈研究组 > 常规组 > 对照组,表示低分子肝素能够促进胎盘 FPR2 表达水平升高,从而降低过激的炎症反应,改善 FGR 等病理妊娠状态,促进胎儿发生发育。

综上所述,低分子肝素治疗 FGR 的临床效果明显,且能够有效改善胎盘组织的超微结构,提高胎盘中 FPR2 蛋白的表达水平。由于本研究样本较少,因此更多结果需进一步探讨。

## 参考文献

- [1] 朱晨,任芸芸,吴江南,等. 超声估测胎儿体重和多普勒参数评价晚发型胎儿生长受限的临床价值[J]. 中华超声影像学杂志, 2018, 27(9): 789 - 794.
- [2] Simpson W, Steiner M, Coote M, et al. Relationship between inflammatory biomarkers and depressive symptoms during late pregnancy and the early postpartum period: a longitudinal study[J]. *Braz J Psychiatry*, 2016, 38(3): 190 - 196.
- [3] Kalagiri R, Carder T, Choudhury S, et al. Inflammation in complicated pregnancy and its outcome[J]. *Amer J Perinatol*, 2016, 33(14): 1337 - 1356.
- [4] 韩宁,许雅娟. 固肾安胎丸联合低分子肝素干预复发性流产妇女血栓前状态的疗效[J]. 中成药, 2017, 39(12): 2481 - 2484.
- [5] Stalder AK, Lott D, Strasser DS, et al. Biomarker-guided clinical development of the first-in-class anti-inflammatory FPR2/ALX agonist ACT-389949[J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2017, 83(3): 476-486.
- [6] Lappas M, McCracken S, McKelvey K, et al. Formyl peptide receptor-2 is decreased in foetal growth restriction and contributes to placental dysfunction[J]. *Mol Hum Reprod*, 2018, 24(2): 94 - 109.
- [7] 乐杰. 妇产科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 401.
- [8] 陈永利. 阿斯匹林联合低分子肝素治疗胎儿生长受限的临床疗

效及对胎儿血流参数变化母婴结局的影响[J]. 河北医学, 2019, 25(3): 691 - 695.

- [9] Mazarico E, Peguero A, Camprubi M, et al. Study protocol for a randomised controlled trial: treatment of early intrauterine growth restriction with low molecular weight heparin (TRACIP) [J]. *BMJ Open*, 2018, 8(10): e020501.
- [10] 孙白云, 乔东艳, 于红. 滋养细胞焦亡与子痫前期发病机制的研究进展[J]. 国际妇产科学杂志, 2017, 44(6): 610 - 613, 625.
- [11] 袁燕, 郑九生. 低分子肝素在产科应用中的研究进展[J]. 现代妇产科进展, 2016, 25(8): 631 - 632.
- [12] 李博雅, 杨慧霞. 低分子肝素预防子痫前期的循证医学证据[J]. 中华妇产科杂志, 2018, 53(4): 278 - 281.
- [13] 金彦, 朱敏, 牛艳昕, 等. 低分子肝素联合硫酸镁治疗胎儿生长受限的效果及对围生儿结局的影响[J]. 中华全科医学, 2018, 16(10): 1677 - 1679.
- [14] 江志发, 许燕滨, 胡慧珍, 等. 低分子肝素早期干预治疗胎儿生长受限的临床效果监测[J]. 热带医学杂志, 2019, 19(6): 781 - 784.
- [15] 刘荣慧. 高压氧联合低分子肝素治疗胎儿生长受限的疗效观察[J]. 中华航海医学与高气压医学杂志, 2018, 25(4): 271 - 272, 274.
- [16] 董微, 尹利荣. LXA4 及其受体 FPR2 在不同母胎组织中表达水平的研究现状[J]. 天津医科大学学报, 2017, 23(6): 573 - 575.
- [17] Stama ML, Lacivita E, Kirpotina LN, et al. Functional N-formyl peptide Receptor 2 (FPR2) antagonists based on the ureidopropanamide scaffold have potential to protect against inflammation-associated oxidative stress [J]. *Chem Med Chem*, 2017, 12(22): 1839 - 1847.
- [18] 陈芳, 杜娟, 韩磊. 免疫-炎症反应在子痫前期病理过程中的作用新进展[J]. 中国计划生育和妇产科, 2017, 9(8): 13 - 17.
- [19] 赵慎之, 黄贤苹, 项慧秋, 等. 甲酸基肽受体 2 抑制滋养细胞增殖侵袭功能的机制[J]. 温州医科大学学报, 2018, 48(8): 552 - 556.

收稿日期: 2020 - 01 - 15 修回日期: 2020 - 02 - 05 编辑: 王娜娜