

小剂量阿司匹林对血管紧张肽原基因多态孕妇产前预防作用

宋成文, 谢守珍, 陈枝岚, 连俊红

(广州军区武汉总医院妇产科, 430070)

[摘要] 目的 探讨小剂量阿司匹林预防子痫前期的疗效。方法 对孕 16~18 周中期妊娠妇女进行筛查, 选出 60 例具有血管紧张肽原 (AGT) 基因多态的孕妇, 按照所具基因型 (MM、MT、TT) 随机分为两组: 治疗组口服小剂量阿司匹林 ($100 \text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$), 对照组口服维生素 C $0.4 \text{ g} \cdot \text{d}^{-1}$, 观察孕晚期子痫前期的发生率。结果 治疗组子痫前期发生率 6.67%, 显著低于对照组子痫前期的发生率 (36.67%, $P < 0.01$)。基因型 TT 治疗组的孕妇产前预防子痫前期发生率明显低于对照组 ($P < 0.01$)。而 MM、MT 型的治疗组孕妇与对照组比较差异无显著性 ($P > 0.05$)。两组宫内发育迟缓、产后出血、胎盘早剥、早产的发生率均差异无显著性。结论 携带有 AGT 基因 TT 型的妇女与 MM、MT 型子痫前期发病危险升高。小剂量阿司匹林可有效预防 AGT 基因 TT 型高危孕妇产前预防子痫前期的发生, 而对围产期母儿的健康无不良影响。

[关键词] 阿司匹林; 子痫前期; 血管紧张肽原基因

[中图分类号] R973.2; R714.245

[文献标识码] A

[文章编号] 1004-0781(2008)12-1473-02

子痫前期是常见的妊娠并发症。研究调查表明, 肾素-血管紧张肽系统 (ren-angiotensin system, RAS) 是机体调节血压的关键系统, 其中血管紧张肽原 (AGT) 基因 M235T 多态通过在子宫螺旋动脉中的表达参与子痫前期的发病^[1]。子痫前期是围产期母儿的主要死亡原因, 如何早期识别易发子痫前期的对象并给予预防性治疗, 是降低子痫前期发生率的关键。2004 年 7 月~2007 年 4 月, 笔者对孕 16~18 周孕妇筛选, 选出具有 AGT 基因 M235T 多态的高危孕妇服用小剂量阿司匹林预防子痫前期, 探讨其疗效。

1 资料与方法

1.1 临床资料 收集广州军区武汉总医院妇产科产检的孕妇, 孕龄为孕 16~18 周, 抽血筛查选出具有血清 AGT 基因多态的孕妇 60 例作为研究对象, 追踪观察到分娩结束。年龄 (30.5 ± 3.7) 岁, 均无心、肝、肾、慢性高血压及糖尿病病史。

1.2 治疗方法 将 60 例孕妇按照所具基因型随机分为治疗组与对照组各 30 例。治疗组从孕 20 周口服小剂量阿司匹林 ($100 \text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$, 拜耳医药保健有限公司生产, 批准文号: 国药准字 H20056946)。对照组则自孕 20 周口服维生素 C $0.4 \text{ g} \cdot \text{d}^{-1}$, 均于孕 36 周停药。60 例研究对象追踪随访至分娩结束。子痫前期诊断标准^[2]: 间隔 6 h 测量血压 $\geq 140/90 \text{ mmHg}$ ($1 \text{ mmHg} = 0.133 \text{ kPa}$), 伴随机尿蛋白含量 $> 300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 或 24 h 尿蛋白 $> 300 \text{ mg}$; 妊娠 20 周前血压正常, 妊娠前无心血管疾病或肾脏疾病。所有症状于产后 3 个月消失。

1.3 实验方法

1.3.1 血液标本采集 取孕妇 EDTA 抗凝血 4 mL, 溶血离心去上清液, 留取沉淀的白细胞, 用 SDS 蛋白酶 K 消化, 酚、三氯甲烷、异戊醇沉淀去除蛋白质, 乙醇沉淀 DNA 法提取模版 DNA。

1.3.2 AGT 基因检测及诊断标准 引物 1: 5'-GATGCGC-ACAAGTCTCTGTC-3'; 引物 2: 5'-CAGGGTGCTGTCCACA-CTGG-3'。引物由上海生工生物工程技术有限公司合成, SANGON 编号 AW37996-AW37997。总反应体积 $50 \mu\text{L}$, 条件: Primer $18 \mu\text{L}$, Primer $28 \mu\text{L}$, $10 \times \text{Buffer}$ $5 \mu\text{L}$, $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ dNTP $1 \mu\text{L}$, $25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氯化镁 (MgCl_2) 溶液 $3 \mu\text{L}$, 双蒸水 $22 \mu\text{L}$, 模板 DNA $3 \mu\text{L}$ 。反应体系滴加石蜡油后上扩增仪。94 °C 预变性 4 min, 94 °C 1 min, 57 °C 1 min, 72 °C 1 min, 循环 30 次, 72 °C 延伸 10 min。扩增产物 2% 琼脂糖 TBE 电泳紫外灯下观察, 确认成功得到所需产物。取 PCR 产物, 采用 Promega 的 Tth 内切酶加样方法 (批号: 195986): RE10 \times Buffer $2 \mu\text{L}$, BSA $0.2 \mu\text{L}$, Pcr 产物 $1.5 \mu\text{L}$, DW $15.3 \mu\text{L}$, Tth $1.0 \mu\text{L}$ 。共 $20 \mu\text{L}$ $65 \text{ }^\circ\text{C}$ 酶切 2 h, 加入 $5 \mu\text{L}$ 上样缓冲液, 聚丙烯酰胺垂直电泳 4 h。硝酸银染色观察记录结果。出现 303 bp 片段者基因型为纯合子 M/M 型, 出现 279 bp 和 24 bp 两个片段, 为纯合子 TT 型, 同时显示上述三条片段者为杂合子 M/T 型。

1.4 统计学方法 采用 χ^2 检验及 t 检验。

2 结果

2.1 两组不同基因型 AGT 孕妇发生子痫前期的比较 对照组 TT 型孕妇产前预防子痫前期发生 8 例, 分别高于同组中 MM 型和 MT 型孕妇 ($P < 0.01$)。治疗组 TT 型孕妇中子痫前期发生仅 2 例, 与对照组比较明显降低 ($P < 0.01$)。治疗组中 MM 型和 MT 型孕妇经小剂量阿司匹林治疗后子痫前期发生率与对照组比较差异无显著性 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 AGT 不同基因型在治疗组与对照组中发生子痫前期比较 例

组别	例数	子痫前期			无子痫前期			发生率/ %
		MM	MT	TT	MM	MT	TT	
治疗组	30	0 ^{*1}	0 ^{*1}	2 ^{*2}	8 ^{*1}	12 ^{*1}	8 ^{*2}	93.3
对照组	30	1	2	8	7	10	2	63.3

与对照组比较, ^{*1} $P > 0.05$, ^{*2} $P < 0.01$, ^{*3} $P < 0.05$

2.2 围产期并发症结果 产后出血、胎盘早剥、剖宫产、早产的发生率两组间进行 χ^2 检验, 新生儿体重、产后出血平均量进行 t 检验, 均差异无显著性 ($P > 0.05$)。见表 2。

[收稿日期] 2008-02-26

[作者简介] 宋成文 (1970-), 女, 黑龙江哈尔滨人, 主治医师, 硕士, 主要从事妊娠期高血压疾病的研究。电话: 027-68878572, E-mail: chengwen606@sina.com。

表2 围产期并发症观察结果 例

组别	例数	产后出血 血/mL	产后出血 >500 mL	胎盘 早剥	剖宫 产	顺产早产	宫内发育迟缓	
							胎儿体质 量<2 500 g	新生儿体 质量/g
对照组	30	275.34	3	1	18	9	3	3 212.2 ± 167.5
治疗组	30	285.79	5	0	15	14	1	2 324.1 ± 251.2

3 讨论

3.1 AGT 基因 TT 型与子痫前期的关系 研究表明 RAS 失衡是导致妊娠期发生高血压的原因。子痫前期的患者肾素-血管紧张肽轴受损,特别是血浆肾素浓度显著下降^[3,4]。AGT 是肾素作用的唯一底物,其浓度变化可限制其转化速度,因此在 RAS 系统中占重要地位。KOBASHI 等^[5]研究发现,AGT 基因第 2 外显子 704 位上的碱基 T 突变为 C,导致 AGT 第 235 位的蛋氨酸(Met, M)被苏氨酸(Thr, T)替换, M235T 可能与子痫前期的发生存在相关性。MORGAN 等^[6]研究发现 TT 纯合子的孕妇子宫螺旋动脉 AGT 表达升高,易于发生子痫前期。本研究结果显示,带 AGT 基因 TT 型发生子痫前期危险性增高。对照组中 AGT 基因 TT 型发生子痫前期 8 例明显高于其他基因型孕妇(MM 型 1 例, MT 型 2 例),这也与笔者早期研究结果相符^[1]。这可能因为除了经典的循环系统中的 RAS,局部组织中的 RAS 也可产生血管紧张肽,AGT 基因可能作为子宫螺旋动脉 RAS 中的一部分,在螺旋动脉重构中起作用,因为 AGT 表达可导致血管紧张肽水平增高,所以 AGT 可能是病理生理改变的标记物。

3.2 小剂量阿司匹林预防子痫前期的疗效评价 GAUER 等^[7]证明阿司匹林对高危孕妇的子痫前期确有预防作用,而且药效与用药时间和方法有关。RUANO 等^[8]通过对低危及高危人群的研究表明,小剂量阿司匹林对子痫前期具温和的降压及预防效果。本研究结果显示:治疗组孕妇于孕 16 ~ 18 周开始口服阿司匹林 100 mg · d⁻¹,子痫前期的发生率 6.67%,显著低于对照组 36.67% (P < 0.05)。携带 AGT 基因 TT 型孕妇经治疗,子痫前期发生 2 例,与对照组比较有明显治疗效果。说明小剂量阿司匹林对有发生子痫前期危险因素的孕妇有良好的预防作用。小剂量阿司匹林对携带 AGT 基因 TT 型的孕妇发生子痫前期有很好的预防作用,但还需要大样本进一步的研究。

3.3 应用阿司匹林的安全性 小剂量阿司匹林作为预防用药是安全可靠的。德国的一项研究表明,小剂量阿司匹林而不是维生素 C 或维生素 E,对子痫前期有缓和的预防效果而未发现该药对胎儿有致畸作用,新生儿体重或围产期并发症无区别^[9]。本研究结果表明:对照组与治疗组产后出血量或新生儿

出血均无差异,并且不增加剖宫产率。本研究结果发现,产发生率治疗组比对照组有所减少,但差异无显著性。可能因为对照组子痫前期发生率高且发生孕周较早而使胎儿未足月而提前终止妊娠所致。总之,小剂量阿司匹林预防子痫前期是有效的,而且安全可靠,阿司匹林并未致胎儿畸形,也未增加产后出血及胎盘早剥。

本研究结果还显示,对 AGT 基因 MM 型及 MT 型孕妇,对照组与治疗组子痫前期的发生率差异无显著性,而对 TT 型孕妇经治疗有明显效果,这与 RUANO 等^[8]的研究结果相一致,即小剂量阿司匹林对低危组孕妇无明显疗效,对高危组孕妇有效。

【参考文献】

- [1] 宋成文,谢守珍,唐 瑛,等. 肾素-血管紧张肽系统基因多态在先兆子痫中相关性研究[J]. 实用医学杂志,2007,23(3):354-357.
- [2] CUNNINGHAM F G. Williams Obstetrics[M]. 21 版. 北京:科学出版社,2002:596-597.
- [3] BOUBA I, MAKRYDIMAS G, KALAITZIDIS R, et al. Interaction between the polymorphisms of the renin-angiotensin system in preeclampsia[J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2003, 110(1): 8-11.
- [4] GALAO A O, DE SOUZA L H, DA COSTA B E, et al. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in preeclampsia and normal pregnancy[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2004, 191(3):821-824.
- [5] KOBASHI G, SHIDO K, HATA A, et al. Multivariate analysis of genetic and acquired factors, T235 variant of the angiotensinogen gene is a potent independent risk factor for preeclampsia [J]. *Semin Thromb Hemost*, 2001, 27(2):143-147.
- [6] MORGAN T, CRAVEN C, LALOUEL J M, et al. Angiotensinogen Thr235 variant is associated with abnormal physiologic change of the uterine spiral arteries in first-trimester decidua [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 1999, 180(1 Pt 1):95-102.
- [7] GAUER R, ATLAS M, HILL J. Does low-dose aspirin reduce preeclampsia and other maternal-fetal complications [J]. *J Fam Pract*, 2008, 57(1):54-56.
- [8] RUANO R, FONTES R S, ZUGAIB M. Prevention of preeclampsia with low-dose aspirin—a systematic review and meta-analysis of the main randomized controlled trials [J]. *Clinics*, 2005, 60(5):407-414.
- [9] KLOCKENBUSCH W, SCHREPFER F. Current recommendations for the treatment of preeclampsia [J]. *Gynakol Geburtshilfliche Rundsch*, 2007, 47(4):209-214.