

• 论 著 •

microRNA-19a 和 TNF-α 对剖宫产产后出血风险的预测价值*

张忠霞,王 茹,邓乾葆,许 琳,罗 书[△]

海南医学院第二附属医院产科,海南海口 570311

摘 要:**目的** 探讨产前血清 microRNA 和系统性炎症因子对剖宫产产后出血的预测价值,构建相关列线图模型并评估其应用价值。**方法** 选取 2017 年 1 月至 2022 年 6 月在该院行剖宫产的 535 例孕产妇作为研究对象,根据是否发生产后出血分为产后出血组和未产后出血组,比较两组临床资料、产前 microRNA 及系统性炎症因子水平,采用多因素 Logistic 回归分析分析影响剖宫产术后发生产后出血的独立预测因素,绘制独立预测因素预测产后出血的受试者工作特征(ROC)曲线,基于独立预测因素构建预测剖宫产术后发生产后出血风险的列线图模型,并采用 Bootstrap 法和校准曲线对列线图模型进行内部验证。**结果** 产后出血组产前血清 microRNA-19a 相对表达水平明显高于未产后出血组,差异有统计学意义($P<0.05$)。产后出血组产前血清白细胞介素(IL)-6、IL-8、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)水平明显高于未产后出血组,差异有统计学意义($P<0.05$)。多因素 Logistic 回归分析显示,前置胎盘、妊娠期高血压、产前血清 microRNA-19a、产前血清 TNF-α 为影响剖宫产术后发生产后出血的独立预测因素($P<0.05$)。ROC 曲线分析显示,microRNA-19a 的截断值为 15.6×10^{-4} ,曲线下面积(AUC)为 0.835,TNF-α 的截断值为 41.3 ng/L,AUC 为 0.713。基于多因素分析结果所构建的列线图模型区分度评价指标 C 指数为 0.868,与校准曲线对比表明其具有较好的预测效能。**结论** 基于 microRNA-19a 和 TNF-α 构建的列线图模型能较为准确的预测剖宫产术后产后出血风险。

关键词: 产前 microRNA; 系统性炎症因子; 剖宫产; 产后出血; 列线图模型

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.16.006 **中图法分类号:**R714.461

文章编号:1673-4130(2023)16-1944-05 **文献标志码:**A

Predictive value of microRNA-19a and TNF-α in predicting the risk of postpartum hemorrhage after cesarean section*

ZHANG Zhongxia, WANG Ru, DENG Qianbao, XU Lin, LUO Shu[△]

Department of Obstetrics, the Second Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Haikou, Hainan 570311, China

Abstract: Objective To explore the predictive value of prenatal serum microRNA and systemic inflammatory factors in postpartum hemorrhage after cesarean section, construct a related line chart model and evaluate its application value. **Methods** Totally 535 pregnant women who underwent cesarean section in a hospital from January 2017 to June 2022 were divided into postpartum hemorrhage group and non-postpartum hemorrhage group according to the occurrence of postpartum hemorrhage. The clinical data, prenatal microRNA and systemic inflammatory factors levels were compared between the two groups. Multivariate Logistic regression analysis was used to analyze the independent predictive factors of postpartum hemorrhage after cesarean section, and draw the receiver operating characteristic (ROC) curve of independent predictors of postpartum hemorrhage. A line chart model for predicting the risk of postpartum hemorrhage after cesarean section was constructed based on independent predictive factors, and the Bootstrap method and calibration curve were used to verify the line chart model internally. **Results** The relative expression level of serum microRNA-19a in the postpartum hemorrhage group was significantly higher than that in the group non-postpartum hemorrhage, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The levels of serum interleukin (IL)-6, IL-8 and tumor necrosis factor-α (TNF-α) in the postpartum hemorrhage group were significantly higher than those in the group non-postpartum hemorrhage, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Multiple

* 基金项目:海南省卫生计生行业科研项目(21A200473)。

作者简介:张忠霞,女,主治医师,主要从事产科方向临床研究。 [△] 通信作者, E-mail: luoshu-79@163.com。

Logistic regression analysis showed that placenta previa, gestational hypertension, prenatal serum microRNA-19a and prenatal serum TNF- α were independent predictors of postpartum hemorrhage after cesarean section ($P < 0.05$). ROC curve analysis showed that the cutoff value of microRNA-19a was 15.6×10^{-4} , the area under the curve (AUC) was 0.835, the cutoff value of TNF- α was 41.3 ng/L, and the AUC was 0.713. The C index of the nomogram model based on the results of multi-factor analysis was 0.868, and the comparison with the calibration curve showed that it had better prediction efficiency. **Conclusion** The nomogram model can accurately predict the risk of postpartum hemorrhage after cesarean section based on microRNA-19a and TNF- α .

Key words: prenatal microRNA; systemic inflammatory factors; cesarean section; postpartum hemorrhage; nomogram model

产后出血是剖宫产术后常见的并发症,并且剖宫产的发生风险高于阴道分娩,其发病率占分娩总数的 3%~9%,是导致孕产妇死亡的主要原因之一^[1-2]。虽然近年来孕产妇的病死率整体呈下降趋势,但产后出血仍是导致孕产妇死亡的首要原因。据研究报道,世界范围内由产后出血导致的孕产妇死亡约占有死亡原因的 25%^[3]。引起产后出血的原因主要有子宫收缩乏力、胎盘因素、多胎妊娠、瘢痕子宫、软产道损伤和凝血功能障碍,其中子宫收缩乏力性出血占产后出血总数的 60%~70%,但其确切机制尚不清楚^[4]。早期预测产后出血风险,探索产后出血的高危因素和流行病学新特点,降低产后出血发病率和致死率,具有重要的临床意义^[5]。近年来,有研究报道 microRNA 和系统性炎症因子与妊娠期相关并发症、妊娠启动机制及不良妊娠结局等有关^[6-7]。本研究旨在通过分析剖宫产产后出血孕产妇的临床资料,探讨产前 microRNA 和系统性炎症因子对剖宫产产后出血的预测价值,并构建相关列线图模型,为临床剖宫产术后产后出血的精准评估和防治提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 1 月至 2022 年 6 月在本院行剖宫产的 535 例孕产妇作为研究对象,平均年龄(29.4 ± 5.7)岁,根据是否发生产后出血分为产后出血组 45 例和未产后出血组 490 例。纳入标准:(1)年龄 ≥ 18 周岁;(2)均行剖宫产分娩;(3)心、肺、肝、肾功能正常;排除标准:(1)阴道分娩;(2)既往有慢性高血压、糖尿病、严重血液系统疾病及自身免疫性疾病病史;(3)合并恶性肿瘤。

1.2 产后出血诊断标准 产后出血的诊断标准参照第八版《妇产科学》:产后 24 h 内阴道流血量超过 500 mL。严重产后出血为产后 24 h 内阴道流血量超过 1 000 mL。产后出血量计算:采用容积法、面积法、称重法。本研究涉及的其他妊娠期并发症如妊娠期高血压、妊娠期糖尿病诊断标准均参照第 2 版《中华妇产科学》。

1.3 方法

1.3.1 临床资料收集方法 收集孕产妇临床资料如年龄、孕前体重指数、妊娠状态、孕周、前置胎盘、妊娠期高血压、妊娠期糖尿病、人工流产史情况。

1.3.2 实验室检测方法 抽取所有研究对象产前的空腹静脉血,采用酶联免疫吸附试验法(ELISA)检测白细胞介素(IL)-6、IL-8、超敏 C-反应蛋白(hs-CRP)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)。另抽取所有研究对象静脉血 5 mL,于采集后 1 h 内于中心实验室进行分离处理,获得 RNA 沉淀,加入无水乙醇,充分混匀,离心过滤,然后进行 RNA 洗涤,再抽提 microRNA,提取基因组高质量的 microRNA,以 microRNA-19a、microRNA-200、microRNA-214、microRNA-34a、microRNA-34b 为目标基因,以上目标基因的反转录引物进行反转录,荧光定量 PCR 仪进行扩增,其结果用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算目标基因的相对表达水平。

1.4 统计学处理 采用 SPSS25.0 和 R 4.2.3 统计软件对数据进行分析,符合正态分布计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用两独立样本 t 检验,计数资料以率或构成比表示,采用 χ^2 检验,比较两组产妇一般临床资料,产前血清 microRNA 及系统性炎症因子,采用多因素 Logistic 回归分析获得影响剖宫产术后发生产后出血的独立预测因素,绘制独立预测因素预测产后出血的受试者工作特征(ROC)曲线,基于独立预测因素构建预测剖宫产术后发生产后出血风险的列线图模型,并采用 Bootstrap 法和校准曲线对列线图模型进行内部验证, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组临床资料比较 产后出血组中发生严重产后出血者 6 例(13.3%),产后 24 h 平均出血量为(795.9 ± 313.7)mL。产后出血组妊娠状态(初产/经产)比例、前置胎盘(是/否)比例、妊娠期高血压(是/否)比例、妊娠期糖尿病(是/否)比例及人工流产史(是/否)比例明显高于未产后出血组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 两组产前血清 microRNA 相对表达水平比较 产后出血组产前血清 microRNA-19a 相对表达水平明显高于未产后出血组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 两组临床资料比较($\bar{x} \pm s$ 或 n/n)				
临床资料	产后出血组 ($n=45$)	未产后出血组 ($n=490$)	t/χ^2	P
年龄(岁)	30.8±6.4	28.2±5.8	2.013	0.113
孕前体重指数(kg/m ²)	24.8±3.1	22.5±3.2	1.453	0.245
妊娠状态(初产/经产)	10/35	320/170	6.245	0.013
孕周(周)	37.9±4.1	36.8±3.2	0.918	0.342
前置胎盘(是/否)	29/16	51/439	8.345	0.002
妊娠期高血压(是/否)	32/13	43/447	9.102	<0.001
妊娠期糖尿病(是/否)	25/20	87/403	5.166	0.038
人工流产史(是/否)	23/22	105/385	4.678	0.045

表 2 两组产前血清 microRNA 相对表达水平比较($\bar{x} \pm s$)				
microRNA	产后出血组 ($n=45$)	未产后出血组 ($n=490$)	t	P
microRNA-19a($\times 10^{-4}$)	19.4±7.3	10.5±6.8	9.872	<0.001
microRNA-200($\times 10^{-4}$)	7.8±2.2	7.3±2.1	2.018	0.095
microRNA-214($\times 10^{-4}$)	9.8±2.5	9.1±2.3	1.456	0.234
microRNA-34a($\times 10^{-4}$)	3.1±1.4	2.8±1.2	1.231	0.287
microRNA-34b($\times 10^{-4}$)	4.5±1.7	4.2±1.9	0.927	0.396

2.3 两组产前系统性炎症因子水平比较 产后出血组产前血清 IL-6、IL-8、TNF- α 水平明显高于未产后出血组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 两组产前系统性炎症因子水平比较($\bar{x} \pm s$)				
项目	产后出血组 ($n=45$)	未产后出血组 ($n=490$)	t	P
IL-6(mg/L)	26.7±5.8	19.7±6.2	6.013	0.018
IL-8(mg/L)	31.8±5.2	23.5±6.1	7.543	0.009
TNF- α (ng/L)	45.6±5.1	31.2±6.3	11.234	<0.001
hs-CRP(mg/L)	16.4±3.1	15.8±2.8	1.432	0.312

2.4 影响产后出血的多因素 Logistic 回归分析 以

产后出血(是=1,否=0)为因变量,以表 1~3 中单因素分析中有统计学意义的指标:妊娠状态(经产=1,初产=0)、前置胎盘(是=1,否=0)、妊娠期高血压(是=1,否=0)、妊娠期糖尿病(是=1,否=0)、人工流产史(是=1,否=0)、IL-6(实际值)、IL-8(实际值)、TNF- α (实际值)及 microRNA-19a(实际值)为自变量代入多因素 Logistic 回归模型,采用最大似然比前进法,校正和控制混杂变量后,前置胎盘、妊娠期高血压、产前血清 microRNA-19a、产前血清 TNF- α 为影响剖宫产术后发生产后出血的独立预测因素($P < 0.05$),其中产前血清 microRNA-19a 每上升 10^{-4} ,发生产后出血的风险增加 1.686 倍($OR: 2.686, 95\% CI: 1.234 \sim 3.156, P = 0.007$),产前血清 TNF- α 每增加 1 ng/L,发生产后出血的风险增加 1.514 倍($OR: 2.514, 95\% CI: 1.456 \sim 3.357, P = 0.008$)。见表 4。

2.5 产前 microRNA-19a 和 TNF- α 预测产后出血的 ROC 曲线 根据产前血清 microRNA-19a 和 TNF- α 预测产后出血的 ROC 曲线选取截断值,以产前血清 microRNA-19a 为 15.6×10^{-4} 作为截断值来预测产后出血的灵敏度和特异度分别为 85.5% 和 79.5%,曲线下面积(AUC)为 0.835 ($95\% CI: 0.738 \sim 0.891$),以产前血清 TNF- α 为 41.3 ng/L 作为截断值来预测产后出血的灵敏度和特异度分别为 76.1% 和 70.9%,AUC 为 0.713 ($95\% CI: 0.676 \sim 0.824$)。见图 1。

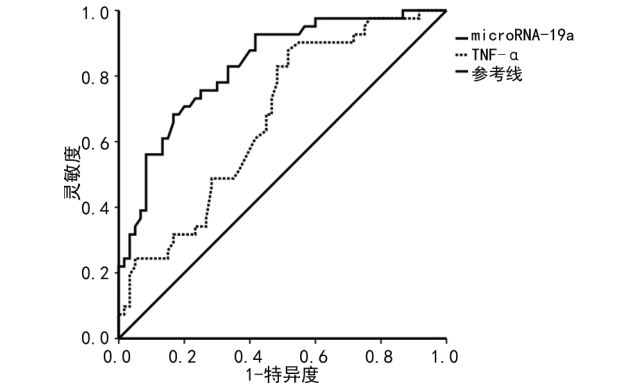


图 1 产前 microRNA-19a 和 TNF- α 预测产后出血的 ROC 曲线

表 4 影响产后出血的多因素 Logistic 回归分析						
自变量	β	SE	OR	95%CI	Walds	P
前置胎盘	1.345	0.223	3.968	2.014~6.123	9.874	0.002
妊娠期高血压	1.214	0.201	3.743	2.876~5.896	6.745	0.009
microRNA-19a	0.945	0.312	2.686	1.234~3.156	7.103	0.007
TNF- α	0.823	0.189	2.514	1.456~3.357	6.854	0.008

2.6 列线图模型的构建与验证 基于多因素分析获得的独立预测因素:前置胎盘、妊娠期高血压、产前血清 microRNA-19a、产前血清 TNF- α 结合其影响权重构建预测剖宫产术后发生产后出血风险的列线图模型,对列线图预测模型采用 Bootstrap 法进行内部验证,

自抽样 1 000 次,其区分度评价指标 C 指数为 0.868(95%CI:0.775~0.959),列线图模型的校准曲线显示,剖宫产术后产后出血风险的预测值与实际观测值十分接近($\chi^2=0.042, P=0.886$)。见图 2、3。

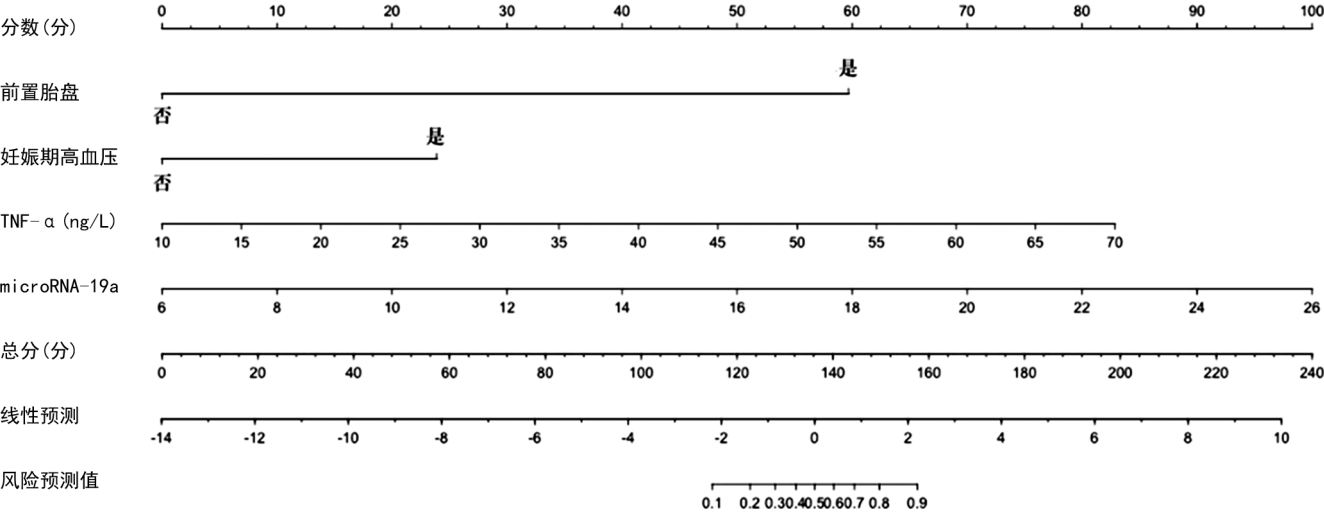


图 2 预测剖宫产术后产后出血风险的列线图模型

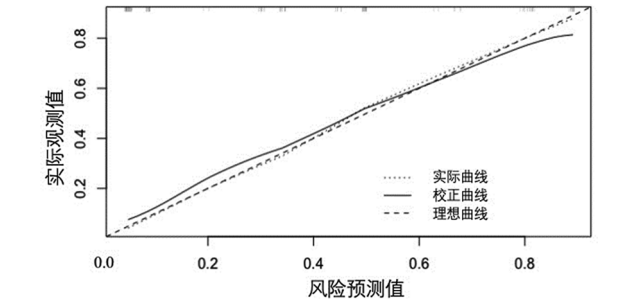


图 3 列线图模型的校准曲线

3 讨论

研究报道,发展中国家产后出血占分娩相关死亡的 25%~30%,并且产后出血发生率呈现增长趋势^[8-9]。但由于绝大多数产后出血导致的孕产妇死亡是可避免的,其关键在于早期诊断和正确处理,因此,分析产后出血的高危因素是防治产后出血的关键步骤。

本研究多因素 Logistic 回归分析结果显示,前置胎盘及妊娠期高血压是影响剖宫产术后发生产后出血的独立预测因素。YILDIRIM 等^[10]通过对孕产妇产后出血的高危因素进行分析,结果显示,年龄、剖宫产、妊娠期高血压、产程延长、流产史、瘢痕子宫、多胎妊娠、凝血功能障碍、前置胎盘等均为影响产后出血等不良妊娠结局的独立危险因素。此外,本研究多因素分析结果发现,产前血清 microRNA-19a 及 TNF- α 也是导致剖宫产术后产后出血的关键因素,这在以往研究中较为少见。

已有研究显示,凝血-免疫-炎症三大系统调节功能异常可能会导致早期或中晚期妊娠并发症的发生,妊娠期凝血-免疫-炎症功能改变在多种妊娠期相关疾病如复发性流产、子痫前期、妊娠期糖尿病、产后出血等过程中发挥重要作用,IL-6、IL-8、hs-CRP 和 TNF- α 是机体重要的炎症应激反应指标,其血清中上述指标水平增高可促进子宫动脉血管或者子宫平滑肌的损伤,其水平越高,越加剧出血^[11-12]。此外,血清炎症因子水平升高,可影响机体的凝血功能,使机体凝血时间延长,进而增加产后出血风险,但其具体的作用机制仍然需要进一步探讨。本研究对以上系统性炎症因子进行分析发现,仅 TNF- α 作为独立危险因素可用于预测剖宫产后出血,其他炎症指标对产后出血的影响有限,可能与本研究样本量有限有关,另外从侧面反映了 TNF- α 作为系统性炎症指标可能对产后出血的影响权重最大。

microRNA 是由约 80 个单链小分子组成的核酸类物质,通过与靶基因结合,调控靶基因表达,参与多种生物学过程和疾病的发生发展。相关研究发现, microRNA 在一些恶性肿瘤(乳腺癌、胃癌、肺癌)、糖尿病、高血压患者血清中表达水平异常升高,并且其表达水平与这些疾病的严重程度和预后转归密切相关^[13]。WANG 等^[14]的研究发现,血清 microRNA-34a 在人乳头瘤病毒(HPV)感染孕妇血清中明显升高,并且是导致 HPV 感染孕妇发生不良妊娠结局的关键因素。SOLAYMAN 等^[15]的研究结果显示,mi-

croRNA-19a 在妊娠期高血压患者血清和胎盘组织中表达水平明显升高,可作为诊断妊娠期高血压的生物标志物,并且妊娠期高血压组、轻度子痫前期组、重度子痫前期组 microRNA-19a 相对表达水平呈现递升趋势,与疾病的严重程度呈正相关。本研究结果显示,产后出血组产前血清 microRNA-19a 相对表达水平明显高于未产后出血组,差异有统计学意义($P < 0.05$),提示产前血清 microRNA-19a 可作为敏感的生物标志物用于预测产后出血,可能因为 microRNA-19a 异常升高与妊娠期高血压密切相关,microRNA-19a 相对表达水平越高,提示妊娠期高血压患者病情越严重,其发生产后出血等不良妊娠结局的风险也越高^[15],但其具体作用机制还需进一步研究。

此外,为提高本研究的临床应用价值,本研究基于多因素分析获得的独立预测因素:前置胎盘、妊娠期高血压、产前血清 microRNA-19a、产前血清 TNF- α 结合其影响权重构建预测剖宫产术后发生产后出血风险的列线图模型,其内部验证结果证实,本研究构建的列线图模型具有较高的预测价值。

综上所述,前置胎盘、妊娠期高血压、产前血清 microRNA-19a、产前血清 TNF- α 为影响剖宫产术后发生产后出血的独立预测因素,基于 microRNA-19a 和 TNF- α 构建的列线图模型能较为准确的预测剖宫产术后产后出血风险。

参考文献

[1] ANGER H,DUROCHER J,DABASH R,et al. How well do postpartum blood loss and common definitions of postpartum hemorrhage correlate with postpartum anemia and fall in hemoglobin[J]. PLoS One, 2019, 14 (8): e0221216.

[2] 刘兴会,陈锰. 全球产后出血指南异同[J]. 中国实用妇科与产科杂志,2017,33(6):556-559.

[3] CHARLES D,ANGER H,DABASH R,et al. Intramuscular injection, intravenous infusion, and intravenous bolus of oxytocin in the third stage of labor for prevention of postpartum hemorrhage: a three-arm randomized control trial[J]. BMC Pregnancy Childbirth,2019,19(1):38.

[4] 陈春林,李兵. 血管内介入技术在产后出血防治中的应用专家共识(2019)[J]. 中国实用妇科与产科杂志,2019,35(12):1333-1339.

[5] WETTA L A,SZYCHOWSKI J M,SEALS S,et al. Risk factors for uterine atony/postpartum hemorrhage requiring treatment after vaginal delivery[J]. Am J Obstet Gynecol,2013,209(1):e1-e6.

[6] DASHTINEJAD E,ABEDI P,AFSHARI P. Comparison of the effect of breast pump stimulation and oxytocin administration on the length of the third stage of labor, postpartum hemorrhage, and anemia: a randomized controlled trial[J]. BMC Pregnancy Childbirth,2018,18(1): 293.

[7] KOLIN D A,SHAKUR-STILL H,BELLO A,et al. Risk factors for blood transfusion in traumatic and postpartum hemorrhage patients: analysis of the CRASH-2 and WOMAN trials[J]. PLoS One,2020,15(6):e0233274.

[8] GROBMAN W A,RICE M M,REDDY U M,et al. Labor induction versus expectant management in low-risk nulliparous women[J]. N Engl J Med,2018,379(6):513-523.

[9] SENTILHES L,WINER N,AZRIA E,et al. Tranexamic acid for the prevention of blood loss after vaginal delivery [J]. N Engl J Med,2018,379(8):731-742.

[10] YILDIRIM D,OZYUREK S E,EKIZ A,et al. Comparison of active vs. expectant management of the third stage of labor in women with low risk of postpartum hemorrhage: a randomized controlled trial [J]. Ginekol Pol, 2016,87(5):399-404.

[11] ESSAM A,SALAH N M,HUSSEIN E A,et al. Carbeto-cin versus rectal misoprostol for management of third stage of labor among women with low risk of postpartum hemorrhage[J]. Int J Gynaecol Obstet, 2020, 148 (2): 238-242.

[12] KIM J H,CHO Y H,HONG Y C. MicroRNA expression in response to bisphenol A is associated with high blood pressure[J]. Environ Int,2020,141(8):105791.

[13] AUBEL J,HAUKE W,RUMP S,et al. Novel antisense therapy targeting microRNA-132 in patients with heart failure: results of a first-in-human Phase 1b randomized, double-blind, placebo-controlled study[J]. Eur Heart J, 2021,42(2):178-188.

[14] WANG X,SUNDQUIST K,PALMER K,et al. Macrophage migration inhibitory factor and microRNA-451a in response to mindfulness-based therapy or treatment as usual in patients with depression, anxiety, or stress and adjustment disorders [J]. Int J Neuropsychopharmacol, 2018,21(6):513-521.

[15] SOLAYMAN M H,LANGAEE T Y,GONG Y,et al. Effect of plasma microRNA on antihypertensive response to beta blockers in the pharmacogenomic evaluation of antihypertensive responses (PEAR) studies [J]. Eur J Pharm Sci,2019,131(4):93-98.