



穿心莲内酯抗子宫内膜异位症药效研究

▲天津天士力集团研究院药理毒理所 张莉华 王晶 曹晶 颜璐璐 马晓慧 河北医科大学药理教研室 张国红
上海复旦大学附属妇产科医院 郭孙伟 天津天士力集团研究院研发项目管理部 陆文亮 周水平

研究结果

>>>

研究一 穿心莲内酯改善小鼠子宫内膜异位症模型的药效评价

对痛阈值的影响 与正常组比较,模型组痛阈值明显降低($P<0.01$),说明子宫内膜异位症小鼠对痛觉的敏感程度增强。给药后各组痛阈值有所提高,给药第一周时,穿心莲内酯高剂量组、达那唑组及安痛定组痛阈值明显提高,且与模型组比较差异有统计学意义($P<0.05$, $P<0.01$);

随着给药进程的推进,各组改善效果均逐渐增强,末次给药后,穿心莲低、中、高剂量组、达那唑组及安痛定组痛阈值明显提高,且与模型组比较差异有统计学意义($P<0.05$, $P<0.01$,表1)。

对子宫重量、子宫系数及血清雌激素水平的影响 与正常组比较,模型组雌激素明显降低($P<0.01$)。

给药后各组雌激素水平有所提高。穿心莲内酯低、中、高剂量组显示出抑制雌激素趋势,且有一定的剂量依赖性。与正常组比较,模型组子宫重量、子宫系数明显降低($P<0.01$)。给药后各用药组子宫重量、子宫系数有所降低,但与模型组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

病理组织学检查结果

子宫取材后,每组随机抽取8只样本送检。HE染色后光镜下观察:正常对照组内膜、腺体及肌层结构分布正常;模型组8只送检动物内膜上皮细胞增生活跃,内膜全层较其他组增厚,多处呈乳头增生,可见腺体呈囊性扩张;穿心莲内酯低、中、高剂量组及达那唑组内膜均较正常对照组增厚。

资料与方法

>>>

研究一 小鼠子宫内膜异位症模型

制备小鼠子宫内膜异位症模型。SPF级CD-1孕鼠30只,观察并记录小鼠出生时间,于出生后2d开始口服给予他莫昔芬1mg/kg,连续给药4d制备小鼠子宫内膜异位症模型。于出生后21d与母鼠分离,挑选出雌性小鼠,于出生后4周开始,每4周进行1次热板实验,记录数据。

出生16周后,将造模成功的小鼠随机分为6组,分别为模型组、阳性对照组达那唑(164mg/kg)组、穿心莲内酯

低剂量(30mg/kg)组、穿心莲内酯中剂量(60mg/kg)组及穿心莲内酯高剂量(120mg/kg)组,每组分别灌胃各自药物,给药4周,安痛定(21mg/kg)组于热板实验前60min腹腔注射给药,正常对照组灌胃等量生理盐水,各组动物每周测定热板实验1次,于末次给药后60min进行最后1次热板实验后处死动物,取血清测定血清中雌激素含量,取双侧子宫称重,进行病理组织学检查。

研究二 大鼠子宫内膜异位症

制备50只大鼠子宫内膜自体移植模型。于造模后2d,将大鼠随机分为5组:假手术组、模型组、穿心莲内酯低剂量组(15mg/kg)组、穿心莲内酯高剂量(30mg/kg)组及阳性药对照药达那唑(80mg/kg)组,每组10只。每组分别灌胃各

自药物,连续给药4周。末次给药后第二天处理动物,取血清,测定血清中雌二醇及孕酮的含量;打开腹腔,测量移植子宫组织的体积,比较各组大鼠异位子宫体积大小;取正常子宫及异位子宫内膜组织,进行HE染色,观察组织病理学改变。

统计方法

实验数据用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用one-way

ANOVA进行统计分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

研究二 穿心莲内酯对大鼠子宫内膜异位症模型的药效评价

对血清激素水平的影响 模型组与假手术组相比,血清雌二醇和孕酮的浓度无明显差异($P>0.05$);达那唑组孕酮浓度明显升高,且与模型组比较差异有统计学意义($P<0.05$),而其雌二醇浓度与模型组相比无明显差异($P>0.05$);穿心莲内酯各组血清雌二醇和孕酮浓度与模型组相比均无统计学差异($P>0.05$,表2)。

对异位子宫体积的影响 经肉眼和镜下观察确定异位子宫膜的成模情况,

表2 穿心莲内酯对大鼠子宫内膜异位症模型血清激素水平影响($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	剂量 (mg/kg)	雌二醇 (pg/ml)	孕酮 (ng/ml)
假手术组	10	—	344±134	3.6±2.4
模型组	7	—	297±73	2.3±1.0
穿心莲内酯低剂量组	6	15	266±82	2.1±1.4
穿心莲内酯高剂量组	8	30	308±133	1.8±1.7
达那唑组	10	80	336±138	4.2±1.8*

与模型组比较,* $P<0.05$

给药4周后,达那唑组大鼠腹壁子宫组织的体积明显缩小($P<0.05$),穿心莲内酯高剂量组异位子宫组织的体积与模型组相比明显减少($P<0.01$)。

病理组织学观察结果

HE染色后光镜下观察,假手术组腹壁组织为肌肉组织,未见宫内膜;模型组有7只动物腹壁可见宫内膜,异位宫内膜呈囊泡状,异位上皮同子宫内膜,可见间质和腺体;达那唑

组10只均有宫内膜,有2例可见局部间质;穿心莲内酯低剂量组有6只出现异位宫内膜,其中2例可见间质;穿心莲内酯高剂量组有8只出现异位宫内膜,其中2例可见间质。

讨论

>>>

本实验针对小鼠子宫内膜异位症的实验研究中,采用口服他莫昔芬建立小鼠子宫腺肌病模型。该模型方法简便、造模率高,是研究腺肌症发生、发展的极佳模型。他莫昔芬是一种经典的雌激素受体调节剂,其导致子宫腺肌病的发病机制尚未完全阐明,其是否影响小鼠成年时的雌激素水平及动情周期的情况目前尚无定论。本研究发现,模型小

鼠痛阈值、雌激素水平均较正常组降低,子宫发育异常,子宫重量及子宫系数较正常组明显降低,这可能与其幼年服用他莫昔芬而引起子宫肌层分化紊乱及影响成年鼠动情周期变化等因素有关。给予穿心莲内酯及达那唑治疗4周后,小鼠痛阈值均明显提高;子宫重量及子宫系数较模型组有所降低,但差异无统计学意义。血清雌激素检测发现,穿心莲

内酯能改变模型鼠雌激素水平,且随着剂量的降低,雌激素水平升高明显,呈现一定的剂量依赖性;病理组织学检测发现,给予穿心莲内酯及达那唑治疗4周后,给药组出现子宫腺肌症及浸润趋势的例数较模型组减少,说明穿心莲内酯对改善子宫腺肌症小鼠病理变化及疼痛症状有一定的效果。

大鼠实验中,模型组大鼠腹壁子宫移植物体积

增大,并有液体积聚,病理结果显示,异位子宫内膜同位于子宫内膜,说明造模成功。阳性对照药达那唑可明显缩小移植子宫的体积,异位子宫的间质和腺体减少,增加血清孕酮浓度,对雌二醇无明显影响,此结果与文献相同。穿心莲内酯高剂量组可明显缩小异位子宫体积($P<0.01$),但对大鼠雌、孕激素水平的影响与模型组比较未显示出统计学差异。