

【基础研究】

通信作者:李玉洁(1972-),女,河南周口人,硕士,教授,主任医师,硕士研究生导师,研究方向:不孕和生殖;E-mail:645482554@qq.com。

7.81, $P < 0.05$). The pathological changes of hepatic tissues of rats in the control group included the hepatocellular edema, loose cytoplasm, much cellular steatosis, more spotty necrosis, hepatic sinusoid narrowing, bile duct dilatation and cholestasis. The pathological changes of hepatic tissues of rats in the combined treatment group included some hepatocellular edema, a few cellular steatosis, cholangiectasis and inflammatory cell infiltrate. **Conclusion** The dexamethasone combined with ursodeoxycholic acid can reduce the levels of liver enzymes and TBA in ICP rats, protect the hepatocytes of pregnant rats and improve the prognosis of pregnancy.

Key words: intrahepatic cholestasis of pregnancy; dexamethasone; ursodeoxycholic acid

妊娠期肝内胆汁淤积症 (intrahepatic cholestasis of pregnancy, ICP) 是妊娠中晚期常见的、严重的妊娠并发症, 其发病率为 2.3% ~ 6.0%^[1-2]。ICP 以孕期出现皮肤瘙痒、皮肤抓痕、肝酶异常、总胆汁酸 (total bile acid, TBA) 浓度升高为主要特征, 产妇产后一般良好^[3]。虽然多数学者认为 ICP 的发生与遗传易感性、孕妇体内激素、免疫情况及硒缺乏等相关^[4], 但其具体致病机制尚未明确。该病可诱使胆汁酸基因调控网络发生异常, 继发围产儿不良预后结局。因此, 需要找到一种较好的治疗方法来改善妊娠预后, 降低围生儿病死率。本实验以 ICP 模型大鼠为研究对象, 观察熊去氧胆酸和地塞米松联合治疗 ICP 的效果。

1 材料与方法

1.1 实验动物 清洁级 Sprague Dawley 大鼠 80 只, 雌雄比例 1 : 1, 体质量 250 ~ 280 g, 由河南省实验动物中心提供。雌雄大鼠同笼饲养, 饲养温度 18 ~ 28 ℃, 相对湿度 40% ~ 70%, 每日观察雌鼠阴栓脱落情况, 阴栓脱落日定为妊娠第 1 天, 饲养至妊娠第 10 天待用。本实验接受新乡医学院动物实验伦理委员会监督。

1.2 ICP 模型制备及分组 自妊娠第 10 天开始, 大鼠经腹腔注射黄体酮注射液 (225 mg · kg⁻¹ · d⁻¹), 连续给药 5 d, 制备 ICP 大鼠模型。大鼠血清 TBA (> 10 μmol · L⁻¹) 及谷氨酸氨基转移酶 (alanine transaminase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST) 水平升高 (> 40 U · L⁻¹) 视为 ICP 大鼠模型制备成功^[5]。随机选取造模成功的 30 只孕鼠分为联合治疗组和对照

组, 每组 15 只。在妊娠第 15 ~ 19 天, 2 组孕鼠均每日给予熊去氧胆酸溶液灌胃 (100 mg · kg⁻¹), 共 5 d; 在此基础上, 联合治疗组孕鼠每日肌肉注射地塞米松 (1 mg · kg⁻¹), 共 5 d^[6]。

1.3 观察指标 分别于治疗前 (妊娠第 15 天) 及治疗后 (妊娠第 20 天) 采集孕鼠心脏静脉血 2 mL, 1 500 r · min⁻¹ 离心 10 min, 取上层血清; 采用生物化学法检测血清 ALT、AST、TBA 及总胆红素 (total bilirubin, TBIL) 水平。待孕鼠临产后, 腹腔注射 60 g · L⁻¹ 水合氯醛溶液 (250 mg · kg⁻¹) 麻醉, 立即剖腹取胎, 记录胎鼠数、死胎数及胎鼠体质量, 快速留取孕鼠肝组织, 大小约 1.0 cm × 1.0 cm × 0.5 cm。将肝组织置于 100 g · L⁻¹ 多聚甲醛溶液中固定 48 h, 常规制作石蜡切片; 苏木精-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色, 光学显微镜 (× 400) 下观察肝组织病理学改变。

1.4 统计学处理 应用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析。计量数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用 *t* 检验; 计数资料以百分率表示, 组间比较采用 χ^2 检验; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组孕鼠治疗前后血清生物化学指标比较 结果见表 1。治疗前 2 组孕鼠血清 ALT、AST、TBA 及 TBIL 水平比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。2 组孕鼠治疗后血清 ALT、AST、TBA 及 TBIL 水平均低于治疗前, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 治疗后, 联合治疗组孕鼠血清 ALT、AST、TBA 及 TBIL 水平均低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 1 2 组孕鼠治疗前后血清生物化学指标比较

Tab.1 Comparison of serum biochemistry indexes of pregnant rats between the two groups before and after treatment

($\bar{x} \pm s$)					
组别	<i>n</i>	ALT/(U · L ⁻¹)	AST/(U · L ⁻¹)	TBA/(μmol · L ⁻¹)	TBIL/(μmol · L ⁻¹)
对照组	15				
治疗前		62.40 ± 10.10	76.90 ± 18.81	27.34 ± 3.81	17.79 ± 1.61
治疗后		48.50 ± 3.36 ^a	58.20 ± 7.89 ^a	15.31 ± 1.94 ^a	6.30 ± 0.61 ^a
联合治疗组	15				
治疗前		60.80 ± 10.07	75.60 ± 17.12	25.25 ± 4.04	16.90 ± 0.56
治疗后		38.80 ± 4.98 ^{ab}	50.40 ± 7.30 ^{ab}	10.48 ± 1.72 ^{ab}	4.30 ± 0.60 ^{ab}

注: 与治疗前比较^a $P < 0.05$; 与对照组比较^b $P < 0.05$ 。

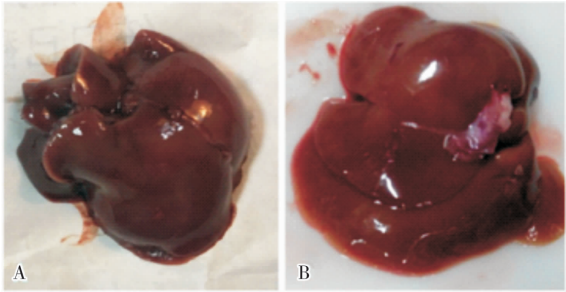
2.2 2组死胎率及胎鼠体质量比较 结果见表2。联合治疗组胎鼠体质量高于对照组($t = 12.83, P < 0.05$),死胎率低于对照组($\chi^2 = 7.81, P < 0.05$),差异均有统计学意义。

表2 2组胎鼠体质量和死胎率比较
Tab.2 Comparison of body mass and still birth rate of fetal rats between the two groups

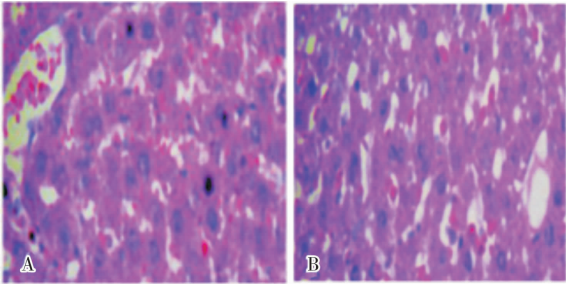
组别	n	总胎数	死胎/只(%)	胎鼠体质量/g
对照组	15	124	18(14.5)	4.01 ± 0.33
联合治疗组	15	129	13(10.1) ^a	4.89 ± 0.53 ^a

注:与对照组比较^a $P < 0.05$ 。

2.3 2组孕鼠肝组织病理学改变 肉眼观:对照组孕鼠肝组织明显水肿,暗红色,边缘圆钝(图1A);联合治疗组孕鼠肝组织轻度水肿,颜色与正常肝组织相近,边缘规则(图1B)。光学显微镜下观察,对照组孕鼠肝细胞水肿明显,细胞质疏松,大量细胞脂肪变性,点状坏死较多,肝血窦变窄,胆管扩张且有胆汁淤积(图2A);联合治疗组孕鼠肝细胞轻度水肿,少许肝细胞出现脂肪变性,可见毛细血管扩张及部分炎性细胞浸润(图2B)。



A:对照组;B:联合治疗组。
图1 2组孕鼠肝脏大体观
Fig.1 Gross morphology of the liver of gestation rats in the two groups



A:对照组;B:联合治疗组。
图2 2组孕鼠肝组织病理学变化(HE染色,×400)
Fig.2 Pathology changes of the liver tissues of pregnant rats in the two groups(HE staining,×400)

3 讨论

ICP 是孕妇妊娠中晚期常见的并发症,以孕妇

皮肤瘙痒、胆汁淤积、黄疸为主要表现,瘙痒常见于手掌和脚掌,且夜间加重,产后症状迅速消失,对母体并无严重影响,但可引起胎儿窘迫、死胎、早产、死产等,增加围生儿病死率。ICP 的发病机制目前尚不明确,可能是肝脏对妊娠期生理性增加的雌激素代谢反应过强,影响胆汁酸在肝内的转运过程^[7]。高浓度的 TBA 沉积在胎盘内,诱导人胎盘绒毛膜血管收缩和脐静脉收缩,胎盘的血流灌注减少,导致胎儿急性缺氧甚至突发死胎。熊去氧胆酸是临床上治疗 ICP 的一线药物,其在肝内主要与甘氨酸结合,随肠肝循环分泌入胆汁。正常情况下,服用熊去氧胆酸将增加胆汁的分泌量和胆汁中胆汁酸含量,减少胆汁酸在体内积聚,保护肝细胞^[8]。有研究表明,熊去氧胆酸在缓解皮肤瘙痒、降低血清中胆红素和胆酸等水平、延长孕周、改善母胎预后等方面有显著效果,但停药后病情易反复。

地塞米松能减轻 ICP 症状,恢复肝功能,改善胎儿预后,近年来也开始应用于临床治疗。由于 ICP 的发病时间早,持续时间长,并且高浓度的胆汁酸引起的细胞毒性作用后果严重,所以,地塞米松用于临床治疗时剂量大,且疗程长。地塞米松能通过胎盘屏障作用于胎儿肾上腺组织,阻遏脱氢表雄酮的分泌,使体内雌激素水平降低,从而缓解胆汁的蓄积。有研究表明,给予地塞米松治疗后,孕妇脐血流阻力指数、搏动指数、脐动脉收缩末期峰值与舒张末期峰值比值及胎盘血流阻力明显下降^[9]。地塞米松还能通过免疫抑制作用解除小血管痉挛性收缩,降低周围血管阻力,改善母体循环及胎盘灌注功能,并能促进肺胎成熟,防治早产儿呼吸窘迫综合征^[10]。另有研究表明,地塞米松能有效调节法尼醇受体/胆盐输出泵的表达,对细胞起到保护作用^[11]。

本研究结果显示,使用地塞米松和熊去氧胆酸联合治疗后,胎鼠死胎率下降,胎鼠体质量增加,孕鼠肝脏病变程度减轻,肝酶、胆酸等水平明显下降。这说明在服用熊去氧胆酸的基础上辅以地塞米松治疗可明显改善 ICP 孕鼠预后,降低血清胆汁酸、肝酶等水平,改善妊娠结局,治疗效果优于单用熊去氧胆酸。该研究为临床治疗提供了实验依据,但受实验条件限制,本实验样本量较小,结果可能会存在一定的偏差,另外,糖皮质激素的不良反应尚需临床上进一步严密观察。

参考文献:

[1] 张雅琴,沈玲珑.餐后2小时血清甘胆酸测定对妊娠期肝内胆汁淤积症的早期诊断意义[J].中华全科医学,2015,13(4):36-37.

[6] 杨雪,苏和平,杨浩峰. 逍遥散联合舍曲林对脑卒中后抑郁患者的临床疗效及机制[J]. 世界中医药,2018,13(1):60-63.

[7] 李静,郑振雨,王静,等. 卒中后抑郁患者载脂蛋白 H 与认知功能的相关性[J]. 新乡医学院学报,2017,34(8):719-722.

[8] TARKOWSKI E,ROSENGREN L,BLOMSTRAND C,*et al.* Early intrathecal production of interleukin-6 predicts the size of brain lesion in stroke[J]. *Stroke*,1995,26(8):1393-1398.

[9] 朱玉萍,赵晓晖,杨娟,等. 脑卒中后不同时段抑郁障碍患者血清 IL-1、IL-6 变化特点[J]. 卒中与神经疾病,2013,20(2):87-90,112.

[10] ZAREMBA J,LOSJ J. Early TNF- α levels correlate with ischaemic stroke severity[J]. *Acta Neurol Scand*,2001,104(5):288-295.

[11] 朱鸣峰. 脑卒中后抑郁与血清中细胞因子水平的相关性[J]. 吉林医学,2012,33(9):1840-1841.

[12] 蔡萧君,王磊,吴超全,等. 宁神灵对卒中后抑郁血浆 IL-1 β 、IL-2、IL-6 和 TNF- α 影响的研究[J]. 黑龙江中医药,2017,47(4):2-5.

[13] 樊延霞. 缺血性脑卒中与血清白细胞介素-1 β 、白细胞介素-2、肿瘤坏死因子- α 的相关性[D]. 泰安:泰山医学院,2015.

[14] 孙德锦,曾庆宏,姜建东,等. 脑梗死急性期患者辅助性 T 细胞亚群及其细胞因子 IFN- γ 、IL-4 的变化及意义[J]. 北京医学,2016,38(2):105-109.

[15] 苏静. 卒中后 Th17/Treg 调节免疫炎症反应与抑郁发生关系研究[D]. 新乡:新乡医学院,2017.

[16] YAMAZAKI K,YANO T,KAMEYAMA T,*et al.* Clinical significance of serum TH1/TH2 cytokines in patients with pulmonary adenocarcinoma[J]. *Surgery*,2002,131(1 Suppl):S236-S241.

[17] ANISMAN H. Cascading effects of stressors and inflammatory immune system activation: implications for major depressive disorder[J]. *J Psychiatry Neurosci*,2009,34(1):4-20.

[18] JIN R,YANG G,LI G. Inflammatory mechanisms in ischemic stroke:role of inflammatory cells[J]. *J Leukoc Biol*,2010,87(5):779-789.

[19] FREIDIN M,BENNETT M V,KESSLER J A. Cultured sympathetic neurons synthesize and release the cytokine interleukin 1 β [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,1992,89(21):10440-10443.

[20] DUNN A J,SWIERGIEL A H,DE BEAUREPAIRE R. Cytokines as mediators of depression;what can we learn from animal studies[J]. *Neurosci Biobehav Rev*,2005,29(4/5):891-909.

[21] 安中平,王艳,王景华,等. 脑卒中后焦虑和抑郁障碍的影响因素分析[J]. 中国神经精神疾病杂志,2010,36(9):562-564.

(本文编辑:徐自超 英文编辑:徐自超)

(上接第 21 页)

[2] 王利霞,韩利伟,魏丹丹. 茵栀黄颗粒对妊娠期肝内胆汁淤积症糖脂代谢及胆盐载体的影响[J]. 世界中医药,2018,13(8):1871-1874.

[3] 廖志,张勇,罗红权,等. 妊娠期肝内胆汁淤积症孕妇所产新生儿脐动脉血清诱导 A549 细胞凋亡的机制研究[J]. 中华实用儿科临床杂志,2014,29(2):98-100.

[4] ABU-HAYYEH S,PAPACLEOVVOULOU G,LOVGREN-SANDBLOM A,*et al.* Intrahepatic cholestasis of pregnancylevels of sulfated progesterone metabolites inhibit farnesoid X receptorre-sulting ih a cholestatic phenotype[J]. *Hepatology*,2013,57(2):716-726.

[5] 周婷婷,王慧,南燕,等. 雌激素、孕激素及雌激素联合孕激素诱导中孕期大鼠胆汁淤积症模型的比较[J]. 新乡医学院学报,2017,34(5):369-373.

[6] 徐英芳,杜洁. 熊去氧胆酸胶囊治疗正常肝内胆汁淤积症患者的疗效及对妊娠结局的影响[J]. 中国妇幼保健,2017,32(8):1646-1649.

[7] 喻玲,赵莹,丁依玲. 地塞米松对乙炔雌二醇诱发的肝内胆汁淤积症孕鼠儿茶酚氧位甲基转移酶活性、胎盘和肝脏组织雌激素受体表达的影响[J]. 国际病理科学与临床杂志,2010,30(4):282-283.

[8] 郑金萍,赵英,张伯鹏. 异甘草酸镁联合熊去氧胆酸治疗原发性胆汁性肝硬化的临床研究[J]. 世界中医药,2017,12(2):289-292.

[9] 中华医学会妇产科学分会产科学组. 妊娠期肝内胆汁淤积症诊疗指南[J]. 中华妇产科杂志,2015,50(7):481-485.

[10] 周婷婷,王慧,祝燕莉,等. 不同胆汁酸水平对妊娠期肝内胆汁淤积症孕妇和胎儿的影响[J]. 现代诊断与治疗,2017,28(11):2026-2027.

[11] 周婷婷. 地塞米松治疗孕鼠肝内胆汁淤积症中的调控机制探讨[D]. 新乡:新乡医学院,2017.

(本文编辑:孟 月 英文编辑:孟 月)