·论　著·

雌孕激素诱导妊娠期肝内胆汁淤积症的研究

张利平，刘　建△

（川北医学院第二临床学院妇产科，四川南充 637000）

摘　要：目的　探讨雌孕激素诱导妊娠期肝内胆汁淤积症（ICP）的作用机制。**方法**　将妊娠 15 d SD 大鼠随机分成对照组、试验 A 组和试验 B 组，分别给予生理盐水，孕酮、苯甲酸雌二醇联合孕酮皮下注射 5 d。于用药前后检测血清生化指标；观察胎鼠生长发育情况；HE 染色观察肝脏、胎盘组织形态学变化。**结果**　用药后，试验组各项血清生化指标明显高于对照组（$P<0.05$）；对照组用药前后各项血清生化指标无明显变化（$P>0.05$）；试验组用药后各项血清生化指标较用药前显著升高（$P<0.05$）；试验组胎鼠体质量、死胎数与对照组相比差异有统计学意义（$P<0.05$）。HE 染色观察到 A 组孕鼠肝脏出现 ICP 典型表现，B 组肝脏结构紊乱，肝细胞肿胀，出现脂肪变性，并出现炎性改变。**结论**　雌激素具有明确的诱发 ICP 的作用，孕激素也可诱导母鼠 ICP。

关键词：胆汁淤积；　血清生化指标；　孕鼠

DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2011.03.015　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1673-4130(2011)03-0320-02

Estrogen and progesterone induced intrahepatic cholestasis of pregnancy study

Zhang Liping, Liu Jian△

(*The Obstetrics and Gynaecology of Nanchong Central Hospital, Nanchong* 637000, *China*)

Abstract: Objective　To study the mechanism of estrogen and progesterone to induce intrahepatic cholestasis of pregnancy (ICP). **Methods**　60 SD rats pregnant for 15 days were randomly divided into four group: control group, group A, group B and given the subcutaneously injection of estradiol benzoate(EB), progesterone or appropriate volume of NS for 5 days. In control group, the rats were given NS, In group A, the rats were given progesterone; In group B, the rats were given progesterone and(EB). venous blood was sampled for the measurement of serum ALT, AST, ALP, TBA, TBIL, DBIL, IBIL level for twice(before given medication, before delivery). Liver and placenta were taken for histological analysis with light microscope by H&E staining after delivery and the physiological index of the fetal rats has entering into statistic. **Results**　The serum levels of ALT, AST, ALP, TBA, TBIL, DBIL, IBIL in experiment group rats significantly increased ($P<0.05$) and control group had no changes ($P>0.05$). The physical indexs of fetal rats were analyzed, and results indicated that control group was better than experiment group ($P<0.05$). In group A, B there were obvious histopathological changes in liver indicated that intrahepatic cholestasis was induced by EB in pregnant rats. **Conclusion**　Estradiol benzoate is the best candidate for inducing animal model of ICP, progesterone can also induce ICP.

Key words: cholestasis;　serum biological indicators;　pregnant rat

妊娠肝内胆汁淤积症（intrahepatic homeostasis of pregnancy, ICP）是妊娠中晚期特有的并发症[1]。ICP 患者血中雌激素、孕激素随孕周增高，现已成功用大鼠复制出了 ICP 雌激素模型，而有关孕激素的研究还处于探索阶段。本组采用孕酮诱导妊娠远交群（Sprague Dawley, SD）大鼠产生 ICP 模型，检测血清生化指标及观察肝脏、胎盘的病理组织学变化，探讨了孕激素和雌孕激素诱发 ICP 的机制。

1　材料与方法

1.1　材料　SD 大鼠 60 只，随机分成 3 组，每组 20 只，分别为对照组、试验 A 组、试验 B 组。

1.2　方法

1.2.1　动物模型制备　妊娠 16 d 起，3 组 SD 大鼠每日分别颈后皮下注射生理盐水 2.5 mL/kg、孕酮 225 mg/kg、孕酮 75 mg/kg 联合苯甲酸雌二醇 2.5 mg/kg，连续 5 d。

1.2.2　标本的采集及处理　各组在用药前及用药 5 d 后，分别采股静脉血 2 mL，测定血清天冬氨酸转氨酶（aspartate aminotransferase, AST）、丙氨酸转氨酶（alanine aminotransferase, ALT）、脂蛋白（lipoprotein, LP）、组织多肽抗原（tissue polypeptide antigen, TPA）、血清总胆红素（total serum bilirubin, TBIL）、间接胆红素（indirect bilirubin, IBIL）、直接胆红素（direct bilirubin, DBIL）。于母鼠自然分娩 1 只胎鼠后，处死母鼠，立即行剖宫产剥离胎盘。取母体面胎盘组织 1 cm×1 cm×0.5 cm，用 10%多聚甲醛固定，常规石蜡切片。取母鼠肝脏，以相同方法制作石蜡切片，光镜下观察肝脏及胎盘病理变化。

1.3　统计学处理　所有数据经 SPSS8.1 统计学软件处理，结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示。

2　结　　果

2.1　各组母鼠用药前后血清生化指标比较　用药前，各组间的血清生化指标比较差异无统计学意义（$P>0.05$）。用药后，试验 A、B 组与对照组相比，B 组与 A 组比较，血清生化指标均显著升高，差异均有统计学意义（$P<0.05$），见表 1。

2.2　各组母鼠肝脏组织病理学改变　肉眼观察可见，对照组 SD 鼠肝脏表面光滑，外观色泽红润，边缘锐利规整；试验组 SD 鼠肝脏肿胀，呈暗红色，色泽灰暗，有棕黄色脂肪颗粒沉积，提示存在 ICP。经光学显微镜检查，对照组 SD 鼠肝脏形态结构大致正常，肝小叶完整，肝细胞结构清晰，试验 A 组 SD 鼠肝细胞肿胀，肝血窦变窄，少量细胞变性坏死，可见毛细胆管内胆栓和毛细胆管显影。试验 B 组 SD 鼠肝脏大量肝细胞胞质疏松，

△　通讯作者，E-mail: liu6898@sina.com。

部分脂肪变性，细胞坏死较多见，有胞质脂肪空泡形成，核固缩甚至融解，肝血窦变窄，有枯否细胞增生及炎性细胞浸润。

2.3　各组母鼠胎盘组织病理学改变　肉眼观察可见，对照组 SD 鼠胎盘中央厚边缘薄，母体面呈暗红色，胎盘小叶排列紧凑，胎儿面被半透明的羊膜覆盖，光滑；试验 A、B 组 SD 鼠胎盘中央部分较薄，胎盘小叶排列较松散，近胎盘边缘白色钙化点呈灶性分布，胎儿面羊膜混浊，光泽较暗；死胎的胎盘甚至可见母体面出血坏死灶。经光镜检查可见，对照组 SD 鼠胎盘结构正常，绒毛清晰，滋养层细胞边界完整，无明显增生；试验 A、B 组 SD 鼠胎盘绒毛肿胀、增粗、间隙变窄，滋养层细胞增生，合体结节增多，近胎盘母体面绒毛缺血性坏死增多，合体滋养细胞表面绒毛短少，空泡状结构增多，呈退行性变，出现水肿。

表 1　用药后各组母鼠血清生化指标水平比较

组别	ALT(U/L)	AST(U/L)	LP(mg/L)	TPA(U/L)	TBIL(μmol/L)	DBIL(μmol/L)	IBIL(μmol/L)
对照组	47.82±8.28	57.99±11.49	117.89±15.37	17.05±4.66	5.48±0.73	2.98±0.72	2.60±0.70
试验 A 组	67.30±13.52*	83.87±23.27*	163.60±30.77*	28.98±6.89*	16.14±3.94*	6.91±1.56*	9.21±3.50*
试验 B 组	1.78±11.84*#	106.38±15.90*#	200.05±16.98*#	39.04±6.08*#	28.04±5.18*#	13.39±4.11*#	14.25±3.64*#

注：与对照组比较，* $P<0.05$；与试验 A 组比较，# $P<0.05$。

2.4　各组分娩胎鼠生理指标比较　对照组、试验 A 组与试验 B 组的死胎率分别为 8.57%、14.18% 和 23.53%，3 组产仔数无明显差异，试验 B 组的胎死率高于对照组，差异有统计学意义（$P<0.05$）。与对照组胎鼠相比，试验 A 组胎鼠的平均身长、尾长、体质量均有所降低，但差异无统计学意义（$P>0.05$）；试验 B 组胎鼠体质量与对照组胎鼠的差异有统计学意义（$P<0.05$），尾长和身长比较，差异无统计学意义（$P>0.05$）。

3　讨　论

ICP 的病因和发病机制还不清楚，但大量研究认为，激素、环境因素、遗传因素及病毒性肝炎与它的发生和发展有着密切的关系[2]。ICP 患者口服孕酮预防早产，患者皮肤瘙痒症状出现早，停药后症状自然消失，说明孕激素可以诱发 ICP。口服孕激素类避孕药也可引起类似 ICP 的表现，由此推论，ICP 的发生与血中孕激素水平过高或是对孕激素过于敏感有关。孕激素诱发 ICP 的机制可能为：(1)孕酮代谢异常，代谢产物阻碍胆红素与葡萄糖醛酸结合后分泌到微胆管，引起血中非结合型胆红素浓度升高发病，硫酸化代谢产物大量增加，使肝脏相应的转运系统达到饱和，胆汁分泌硫化产物障碍而发病；(2)孕激素可降低胆管膜 Na^+-K^+-ATP 酶的活性，减少酶依赖性胆盐转运；(3)孕激素代谢改变可能发生载体竞争性抑制作用而导致胆汁淤积；(4)使胆管树的通透性增加，胆汁酸等有机阴离子返流增加；(5)使细胞膜流动性下降，阻碍载体移动；(6)使肝细胞膜脂质成分异常，影响胆汁分泌或使胆汁回流增加，产生 ICP 的病理生理改变。

孕酮在肝内被还原为孕烯醇酮和孕烷二醇，形成 3α/β、5α/β 4 种同分异构体，并进一步羟基化与葡萄糖醛酸或硫酸结合。ICP 患者与健康孕妇相比，血浆和尿中孕酮的葡萄糖醛酸代谢物仍正常，但硫酸盐代谢物显著增加，而粪和胆汁中排泄减少。其中 3α/5α 异构体浓度在血浆中显著增高，而 3β/5α 异构体却正常或降低，因而 3α/3β 比值增高；分娩后硫酸孕酮代谢物迅速从血清中消失[3]。此外，尿中双结合孕酮代谢物 5α-孕烷-3α，20α-二醇-3-硫酸盐和 20-N-乙酰葡萄糖胺也增高[4]。由病毒性肝炎引起胆汁瘀积的孕妇未见这些变化，因此血浆中硫酸化类固醇增加及 3α/3β 比值不同是 ICP 的特征。该变化早于临床诊断，可能是早期诊断 ICP 的最敏感和特异参数[5]。

如果孕酮代谢变化只是表面现象，并继发于胆汁酸分泌障碍，那么当胆道分泌受损时，血清和尿中孕酮代谢物的浓度应与胆汁中的浓度相似，但事实并非如此。测定尿、便中类固醇代谢物，未见孕酮合成增加，因而也不能以孕酮合成增加来解释血、尿、胆汁中硫酸化孕酮增高的机制。有学者提出，ICP 患者类固醇代谢物分泌入胆汁有 1 个选择性缺陷，它仅影响硫酸类固醇的分泌。因此孕酮诱导 ICP 的机制尚待进一步研究。推测可能是，孕激素的某个代谢产物或在代谢过程中产生的某个蛋白具有影响与胆汁淤积症发病有关的基因的调控，或是使这些基因产生缺失或移位等突变，从而导致肝内转运蛋白系统的异常，最终导致了 ICP。

参考文献

[1] Howard PJ, Murphy GM. Bile acid stress in the mother and baby unit[J]. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2003, 15(3): 317-321.

[2] 丁依玲，谭辉，王丽琼，等. 乙型肝炎病毒感染与妊娠期肝内胆汁淤积症的相关性研究[J]. 中国实用妇科与产科杂志，2004，20(1)：34-36.

[3] Sivall J, Reyes H. Bile acids and progesterone metabolitesin intrahepatic cholestasis of pregnancy[J]. Ann Med, 2005, 32(2): 94-106.

[4] Reves H, Báez ME, González MC, et al. Selenium, zinc and copper plasma levels in intrahepatic eholestatic cholestasis of pregnancy, in normol pregnancies and in health individuals, in child[J]. J Hepatology, 2000, 32(4): 542-549.

[5] Huang L, Hoffman T, Vore M. Adenosine triphosphate dependent transport of estradiol-17 beta-(beta-D-glucu-ronide) in membrane vesicles by MDR1 expressed in insectcells[J]. J Hepatology, 1998, 28(5): 1371-1377.

（收稿日期：2010-01-28）