



• 药物与临床 •

## 不同频率服用左炔诺孕酮对于大鼠卵泡数目和颗粒细胞凋亡的影响研究

张 皓 何则军 匡自德 许亚玲 欧 倩 章 炜 (长沙医学院 湖南长沙 410219)

**摘要:**目的 研究不同频率使用左炔诺孕酮对大鼠卵泡数目和颗粒细胞凋亡的影响,为左炔诺孕酮用于紧急避孕药对于卵泡数目和颗粒细胞凋亡的作用。方法 选用雌性 60 天 SD 大鼠 20 只,随机分为 i、ii、iii、iv、v 5 组(每组 4 只)。i 组每天灌胃一次生理盐水,ii、iii、iv、v 组灌药频率分别为 1、5、10、15 天一次。实验 30 天后,取出大鼠卵巢切片,制作标本,显微镜观察大鼠各级卵泡数目比例和颗粒细胞凋亡的情况。结果 大鼠给药频率越快,原始卵泡数目越多,初级卵泡、次级卵泡、成熟卵泡数目越少,有明显差异,在颗粒细胞凋亡率方面,无明显差异。结论 左炔诺孕酮能抑制卵泡的生成,但对颗粒细胞的凋亡还有待于进一步的研究。

**关键词:**左炔诺孕酮 频率 卵泡数目 颗粒细胞

**中图分类号:**R96 **文献标识码:**A **文章编号:**1009-5187(2018)03-160-02

左炔诺孕酮(Levonorgestrel),为全合成强效避孕药,主要作用于下丘脑和垂体,使月经中期 FSH 和 LH 水平的高峰明显降低或消失,卵巢不排卵,有明显的抗雌激素活性,能使宫颈粘液变稠阻碍精子穿透。对于子宫内膜转化显示极强的孕激素活性,可使子宫内膜变薄,内膜上皮细胞呈低柱形,分泌功能不良,不利于孕卵着床。然而细胞凋亡是机体本身基因控制的细胞有序死亡方式,是机体自身调节的结果。细胞发生了凋亡,细胞膜将会萎缩,染色质变深,最后断裂成小块碎片,进一步发生染色质被细胞膜分割,包裹形成凋亡小体。凋亡小体是细胞凋亡的标志<sup>[1]</sup>。大量数据表明,卵泡生长发育的每个时期都会存在出现细胞凋亡,起到控制卵泡排卵和闭锁重要条件是生殖激素对于颗粒细胞凋亡<sup>[2]</sup>。目前国内外对于研究不同频率使用左炔诺孕酮对大鼠卵泡数目和颗粒细胞凋亡的影响研究很少,该课题在于研究左炔诺孕酮避孕机制。

### 1 实验材料与方法

#### 1.1 实验材料

1.1.1 实验动物:雌性 50 天 SD 大鼠 20 只,体重(431.73±48.21)g,由长沙市开福区湘华生物提供。基础饲料长沙市开福区湘华生物加工制造。饲养环境温度范围(26±1)℃。

1.1.2 主要仪器设备:恒温水浴箱、石蜡切片机、微波炉、Olympus 光学显微镜、数码显微摄影装置、冰箱。

1.1.3 主要药品与试剂:0.9%生理盐水、酒精、石蜡切片固定液、Harris 苏木精、伊红染液、自来水、OCT 包埋剂、二甲苯、中性树胶、左炔诺孕酮(北京紫竹药业有限公司)。

#### 1.2 实验方法

1.2.1 动物分组及给药将实验动物随机分为 5 组,每组 4 只,其中 i 组给予每天一次生理盐水灌胃。ii、iii、iv、v 组大鼠分别每天一次、每 5 天一次、每 10 天一次、每 15 天一次灌胃给予左炔诺孕酮。iii、iv、v 组在不需给药的时候给予每天一次 1mL 的生理盐水。用药剂量根据人临床实验剂量换算。将药物研磨成药粉,按“每只大鼠每天需要的剂量/1mL 生理盐水”的浓度配药。在实验的时候采用灌胃给药方式,每只大鼠每次 1 毫升。人临床给药剂量:左炔诺孕酮临床常用剂量为 1.5mg,因此本实验选用 1.5mg 的剂量,临床持续给药实验,给药最长时间为 150 天,约为人的 5 个性周期<sup>[3]</sup>。大鼠的性周期为 5 天,因此本实验把持续给药的时间定为 30 天(使五组大鼠同时给药,同时停药)人与大鼠的剂量换算公式: $db=da \times Rb/Ra \times (Wa/Wb)^{1/3}$ ,其中 da、db 为人和大鼠每千克体重剂量(mg/kg);Ra(人的体重系数)=0.1;Rb(大鼠的体重系数)=0.09;Wa(人的体重值)=50kg;Wb(大鼠的体重值)=每组大鼠的平均体重<sup>[4]</sup>。不同频率给药实验剂量见表 A。

1.2.2 取材:用颈椎脱臼法处死大鼠,迅速取出子宫和双侧卵巢。石蜡切片固定液固定 12 小时以上。

1.2.3 HE 染色:卵巢和子宫用石蜡切片固定液固定 12 小时以上,酒精脱水,石蜡包埋设置切片厚度为 7 μm,每隔十张取一张裱片。在

切片脱蜡、复水后,Harris 苏木精染 30-40 分钟,自来水、盐酸和酒精分色、蓝化、脱水至 95%酒精浓度,伊红染色 10-15 分钟,无水酒精脱水、加二甲苯透明,中性树胶封片。在普通光镜下统计各发育时期的卵泡数目,统计颗粒细胞凋亡率,比较不同频率使用左炔诺孕酮,大鼠卵巢各级卵泡数目和颗粒细胞凋亡率的差别。

表 A

| 动物分组 | 平均体重(g) | 给药剂量(mg) |
|------|---------|----------|
| i    | 225.80  | 1mL 生理盐水 |
| ii   | 254.65  | 0.03996  |
| iii  | 214.81  | 0.03568  |
| iv   | 218.93  | 0.03613  |
| v    | 230.16  | 0.03735  |

#### 1.3 统计分析

对每个大鼠的每个卵巢组织,随机取 1 张切片,即每只大鼠取 2 张切片,统计每张切片上的各级卵泡数目。在每张切片上选取一个染色清晰的次级卵泡,放大至 100 倍,在 Olympus 光学显微镜下 100 倍,中统计颗粒细胞数目及总细胞数目,以平均数和标准差的形式显示并计算颗粒细胞凋亡率。

### 2 结果

#### 2.1 不同频率使用米非司酮后各级卵泡数目的变化

在 HE 染色下,五组数据对比,原始卵泡间、初级卵泡间、次级卵泡、成熟卵泡间差异有统计学意义( $P < 0.05$ );i、ii、iii、iv、v 间比较,大鼠给药频率越快,原始卵泡数目越多,初级卵泡、次级卵泡、成熟卵泡数目越少,见表 B。

表 B:不同频率使用左炔诺孕酮时 i、ii、iii、iv、v 组的各级卵泡数目比例( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别  | 原始卵泡        | 初级卵泡       | 次级卵泡        | 成熟卵泡       |
|-----|-------------|------------|-------------|------------|
| i   | 42.56±0.41  | 6.88±0.28  | 16.09±0.43  | 1.46±0.31  |
| ii  | 58.04±0.38* | 3.81±0.52* | 7.09±0.41*  | 0.93±0.25* |
| iii | 55.76±0.89* | 4.22±0.39* | 9.34±0.30*  | 0.91±0.71* |
| iv  | 52.25±0.25* | 4.98±0.29* | 11.76±0.39* | 1.23±0.55* |
| v   | 49.86±0.67* | 5.78±0.31* | 13.22±0.43* | 1.30±0.29* |

注:与 i 组(生理盐水组)相比,\* $P < 0.05$

表 C:不同组细胞凋亡率的比较( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别  | 凋亡细胞(个)    | 总细胞数(个)     | 凋亡率(%)      |
|-----|------------|-------------|-------------|
| i   | 41.66±0.34 | 102.29±0.22 | 40.22±0.54  |
| ii  | 49.11±0.84 | 129.23±0.45 | 38.68±0.56* |
| iii | 45.76±0.58 | 117.33±0.28 | 39.07±0.77* |
| iv  | 49.85±0.36 | 118.69±0.18 | 42.76±0.36* |
| v   | 46.54±0.81 | 113.51±0.85 | 40.99±0.45* |

(下转第 164 页)



性粒细胞(ANC)恢复至 $0.5 \times 10^9/L$ 的平均时间为 $(11.69 \pm 1.01)$ 天,这两种诱导化疗方案的血小板恢复时间、中性粒恢复时间以及造血恢复时间等均明显比其他诸如各种剂量 DAE、DA、MAE 及 HAA 诱导化疗方案,这可能是因为 HAE 与 HAT 诱导化疗方案的感染发生率比其他方案小<sup>[7]</sup>。除此之外,采取 HAE 与 HAT 诱导化疗方案治疗急性髓系白血病,还有可能导致患者发生心肾功能损害,但并不严重<sup>[8]</sup>。本次研究结果显示,HAE 组中有 3 例(9.09%)发生心肾功能损害,HAT 组中有 4 例(12.12%)发生心肾功能损害,且均为 I - II 级。由此可见,HAE 与 HAT 诱导化疗方案是较为安全且有效的急性髓系白血病治疗方法。

综上所述,HA 联合替尼泊苷或表柔比星在急性髓系白血病治疗中可取得较为理想的临床治疗效果,且毒副反应小,值得推广于临床中采用。

### 参考文献

- [1] 刘庆国,李尚珠,秘昌昌.HA 联合替尼泊苷或表柔比星治疗急性髓系白血病疗效观察[J].现代肿瘤医学,2018,26(3):446-448.
- [2] 潘莹,李迎伟,王会平,等.急性髓系白血病完全缓解患者髓外粒细胞肉瘤性复发一例并文献复习[J].白血病·淋巴瘤,2012,

21(2):95-97.

- [3] 沈志祥.我国急性髓系白血病(非 M3)的诊治现状[J].诊断学理论与实践,2017,15(1):1-2.

- [4] 彭静,马筱玲,孙晓曦,等.LukS-PV 通过 C5aR 诱导急性髓系白血病细胞 THP-1 凋亡的研究[J].安徽医科大学学报,2017,52(2):164-168.

- [5] 高雯慧,李红敏,于靖宜,等.不同挽救治疗方案对初始诱导失败和复发的急性髓系白血病患者的疗效比较[J].中国实验血液学杂志,2017,25(2):340-345.

- [6] 蔡大利,高峰,高然,等.异基因造血干细胞移植治疗急性髓系白血病以及骨髓增生异常综合征[J].中国医科大学学报,2017,46(1):45-49.

- [7] 努尔比亚·阿布都热西提,维尼拉·吐尔洪.地西他滨联合 CAG 方案治疗复发难治性急性髓系白血病的临床观察[J].世界临床医学,2017,11(4):23-25.

- [8] 李光,任婧婧,李罡灿,等.CLAG 方案和 MEA 方案治疗复发/难治急性髓系白血病的疗效比较[J].现代肿瘤医学,2018,23(2):15-18.

(上接第 160 页)

注:与 i 组(生理盐水组)相比,无显著性差异(\* $P > 0.05$ )

### 2.2 不同频率使用米非司酮后细胞凋亡率的变化

对每组所拍照片都选取一个长、宽各 15cm 的范围进行计数,得到每张照片的凋亡细胞个数和总细胞数,求得平均数和标准差并计算凋亡率。得出 i、ii、iii、iv、v 的凋亡率分别为:40.22%、38.68%、39.07%、42.76%、40.99% i、ii、iii、iv、v 间大鼠给药频率与颗粒细胞凋亡率比较无差异( $P > 0.05$ ),见表 C。

### 3 讨论

本实验对大鼠进行了不同频率使用左炔诺孕酮的实验,随着使用药物的频率不断加快,i、ii、iii、iv、v 间比较,大鼠给药频率越快,原始卵泡数目越多,初级卵泡、次级卵泡、成熟卵泡数目越少,有明显差异。我们推测,左炔诺孕酮可以抑制大鼠原始卵泡的生长发育,

使其停留在原始卵泡阶段。颗粒细胞凋亡率方面,i、ii、iii、iv、v 间比较,无明显差异。研究表明:左炔诺孕酮能抑制卵泡的生成,但对颗粒细胞的凋亡还有待于进一步的研究。

### 参考文献

- [1] 纪玉强,谢明.细胞凋亡的形态学变化过程及相关的分子调节研究进展[J].微生物学免疫学进展,2003,31(3):47-50
- [2] 吴娣.两种避孕药对大鼠卵泡发育及颗粒细胞凋亡的影响[D].南昌;南昌大学,2006
- [3] Croxatto HB,Kovace L,Massia R,et al.Effects of long-term low-dose mifepristone on reproductive function in women[J].Hum Record,1998,13(4):793-798
- [4] 徐叔云,卞如谦,陈修.《药理实验方法学》(第三版),北京:人民卫生出版社,2002 年,第 219 页

(上接第 161 页)

化吸入沐舒坦的治疗方法通过内外联合给药,显著地提高了药物利用度,缩短了药物起效时间,获得了更加显著的疗效<sup>[6]</sup>。

综上所述,采取静脉滴注联合雾化吸入沐舒坦疗法对新生儿肺炎患儿实施治疗,可快速改善患儿的各项临床症状和呼吸指数,从而显著提高患儿的临床治疗效果。

### 参考文献

- [1] 付朝阳.沐舒坦雾化吸入联合静脉注射治疗新生儿肺炎的临床疗效观察[J].中国妇幼保健,2015,30(15):2442-2444.
- [2] 桑玮,朱兰霞.沐舒坦静脉滴注加雾化吸入治疗 30 例新生儿肺

炎的临床疗效观察[J].现代诊断与治疗,2014,15(26):3408-3409.

- [3] 赵敏君,李凤云,李光荣.沐舒坦不同用药途径治疗新生儿肺炎的临床疗效及安全性分析[J].数理医药学杂志,2015,04(19):539-541.

- [4] 白军辉.静脉滴注加雾化吸入沐舒坦治疗 34 例新生儿肺炎的临床疗效观察[J].大家健康(学术版),2015,13(20):77-78.

- [5] 苏增玲,黄海波,温艳芬,等.沐舒坦雾化吸入结合静脉滴注治疗新生儿肺炎的临床效果[J].中国医药指南,2014,18(10):173-174.

- [6] 张斌成,周琼.氧驱动雾化吸入沐舒坦治疗小儿哮喘急性发作期的疗效观察[J].现代中西医结合杂志,2015,24(29):3229-3231.

(上接第 162 页)

$\alpha 2$  肾上腺素受体激动剂,可以起到镇静、抗焦虑等作用,并且该药物还能有效抑制交感神经,降低阿片类药物的使用剂量,并且不会抑制患者呼吸,其持续输注可达到良好的镇痛、镇静效果,与此同时在不停跳冠状动脉搭桥术中,采用右美托咪定还能降低心肌氧自由基的产生,大量降低心肌酶,同时还能保护心肌,其主要的不良反应为抑制交感神经产生的低血压和心动过缓,因此在手术过程中应密切观察患者血流动力学情况<sup>[5]</sup>。

通过此次研究结果得出,采用右美托咪定可以有效稳定患者血流动力学,并且不良反应较低,可显著抵消血压以及心率波动,减少麻醉药用量,临床意义较为深远。

### 参考文献

- [1] 孙文波,张立民,吴春玲,等.不停跳冠状动脉搭桥术后不

同呼气末正压水平下应用右美托咪定镇静的比较研究[J].河北医科大学学报,2016,37(2):183-186.

- [2] 高杰,苏亚雄.不停跳冠状动脉搭桥术中血流动力学的改变[J].北京医学,2006,28(1):46-47.

- [3] 刘鲁祁,毕延斌,马延平,等.不停跳冠状动脉搭桥术中血流动力学稳定性的维持[J].山东大学学报:医学版,2004,42(5):617-618.

- [4] 罗伟,孙莹杰,刘晓宇,等.不同剂量右美托咪定对非体外循环冠状动脉旁路移植术中血流动力学的影响[J].医学研究生学报,2016,29(3):290-294.

- [5] 张春雷,卿恩明,刘亚光.右美托咪定对七氟烷麻醉下不停跳冠状动脉旁路移植术的血流动力学影响[J].中国医药,2015,10(10):1422-1426.