

ARTPQ 对雌性大鼠生殖内分泌影响

邢成锋, 徐 勤, 钟泽娜, 梁礼珍, 高 岩, 梁 艳, 卢 圆

广州中医药大学科技产业园有限公司, 广东 广州 510445

摘 要: 目的 研究新一代青蒿素抗疟药物 ARTPQ 重复给药对雌性大鼠生殖内分泌的影响。方法 Wistar 大鼠随机分 4 组, 对照组和 ARTPQ 低、中、高剂量组 (35、70、120 mg/kg), 每组 15 只, ig 给药 14 d。给药后每天测量大鼠动情周期, 给药结束后采集大鼠血液, Elisa 方法检测大鼠血液雌激素、肾上腺皮质激素水平, 肉眼观察各脏器变化及称量大鼠子宫、卵巢、肾脏及肾上腺的质量。结果 连续给药 3 d 后大鼠动情周期紊乱 (维持于动情后期或间期), 大鼠子宫未见有扩张, 平均质量低于对照组。ARTPQ 低、中、高剂量组大鼠肾上腺系数高于对照组 ($P < 0.05$ 、 0.01)。ARTPQ 高剂量组大鼠雌激素水平低于对照组 ($P < 0.05$), 而 ARTPQ 低、中、高剂量组大鼠肾上腺素水平高于对照组 ($P < 0.05$ 、 0.01)。结论 ARTPQ 作用于肾上腺, 肾上腺增生, 肾上腺皮质激素的水平升高, 雌激素水平降低, 表现为大鼠发情周期的紊乱。

关键词: ARTPQ; 大鼠; 雌激素; 肾上腺皮质激素; 动情周期

中图分类号: R992 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2014)04-0338-03

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2014.04.010

Effects of ARTPQ on reproductive and endocrine system of female rats

XING Cheng-feng, XU Qin, ZHONG Ze-na, LIANG Li-zhen, GAO Yan, LIANG Yan, LU Yuan

Science and Technology Park Co., Ltd., Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510445, China

Abstract: To study the ARTPQ toxicity in reproduction and endocrinology by repeated administration toxicity. **Methods** Wistar rats were divided into four groups randomly, they were control and ARTPQ low-, med- and high-dose (35, 70, and 120 mg/kg) groups, which were ig administered for 14 d. The estrous cycles of rats were measured daily after administration. At the end of the administration, blood was collected and measured by Elisa for the content of estrogen and cortin in rats. The changes of visceral organ were observed by eye. And uterus, ovaries, kidneys and adrenals in rats were weighed. **Results** The estrous cycles of rats were disordered (maintained in postestrus and anestrus) after 3 d of continuous administration, there was no expansion of the rat uterus, the average weight was lower than that in the control group. The factors of adrenal in ARTPQ low-, med-, and high-dose groups were higher than those in the control group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The contents of estrogen in ARTPQ high-dose group were higher than those in the control group ($P < 0.05$), and the contents of cortin in ARTPQ low-, med-, and high-dose groups were higher than those in the control group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion** ARTPQ acts on the adrenal glands, adrenal hyperplasia, and adrenal hormone levels rise, while estrogen levels lower, so that the rat estrous cycle disorders.

Key words: ARTPQ; rats; estrogen; adrenal cortical hormone; estrous cycle

ARTPQ 为新一代的青蒿素抗疟药物, 该药以速效、高效无抗性、低毒、短疗程为特点, 是一个理想的抗疟药, 特别对抗药性恶性疟具有良好的治疗效果。在大鼠 14 d 给药毒性试验研究中, ARTPQ 低、中、高剂量 (35、70、120 mg/kg) 组大鼠子宫质量分别为 (0.424 ± 0.064)、(0.415 ± 0.068)、(0.431 ± 0.071) g, 低于阴性对照组 (0.623 ± 0.209) g, 差异具有显著性。病理检查结果显示各剂量组子宫未出

现病理改变, 且各剂量组子宫质量均处于正常值范围内 (对照组子宫质量偏高因为 30% 个体处于发情期), 故 14 d 给药毒性试验认为药物 ARTPQ 对大鼠子宫无毒副作用。在试验审查中生殖毒理人员认为此药物可能影响大鼠生殖内分泌系统, 进一步影响大鼠动情周期。因此, 按照 14 d 给药毒性试验剂量进行生殖内分泌相关的毒性试验设计, 进一步探讨 ARTPQ 对大鼠生殖内分泌系统的作用。

收稿日期: 2014-04-01

基金项目: 广东省科技计划项目 (2011B010500008, 2012B010300003)

作者简介: 邢成锋 (1982—), 硕士研究生, 研究方向为药物毒理学。Tel: (020)87434135 E-mail: xcf618@126.com

*通信作者 徐 勤, 教授, 硕士生导师, 主要从事中药安全性评价研究工作。Tel: (020)87470536 E-mail: xuqin@163.com

1 材料与方法

1.1 材料

ARTPQ 由新南方青蒿药业有限公司提供, 批号 20130510。雌性 Wistar 大鼠 60 只, 采购自北京维通利华实验动物有限公司, 合格证号 44007200004261。试剂盒采购于上海酶联生物科技有限公司, 批号 201310。

1.2 方法

动物随机分 4 组, 对照组和 ARTPQ 低、中、高剂量组 (35、70、120 mg/kg), 每组 15 只, ig 给药 14 d, 每天给药 1 次, 给药后用湿润医用棉签缓慢插入大鼠阴道, 沿背侧阴道壁取出阴道上皮细胞样本, 均匀涂布于载玻片上, 采用巴氏染色法染色, 显微镜低倍镜下观察大鼠发情周期。末次给药后 24 h, 大鼠不同动情期均采用眼眶采血法采集血液标本, 酶联免疫法测定大鼠雌激素和肾上腺皮质激素的量。大鼠处死后进行大体解剖观察, 称量卵巢、

子宫、肾脏和肾上腺的质量, 并计算其脏器系数, 采用 SPSS19.0 软件进行统计分析。

2 结果

2.1 对大鼠动情周期的影响

ARTPQ 低、中、高剂量组给药 2 d 后出现动情周期阶段不明显, 给药 3 d 后出现动情周期紊乱, 给药 5 d 后动情周期消失, 大鼠维持在动情后期或动情间期。表明 ARTPQ 影响大鼠动情周期, 抑制了卵泡的成熟与排卵。

2.2 对大鼠卵巢、子宫、肾脏、肾上腺系数的影响

大鼠子宫系数结果同 14 d 给药毒性试验, ARTPQ 低、中、高剂量组大鼠子宫质量低于对照组, 结果同大鼠动情周期检查相吻合。ARTPQ 低、中、高剂量组大鼠卵巢系数及肾脏系数与对照组比较差异无显著性。ARTPQ 低、中、高剂量组大鼠肾上腺系数高于对照组 ($P < 0.05$ 、 0.01), 且呈现剂量线性相关性, 结果见表 1。

表 1 ARTPQ 对大鼠卵巢、子宫、肾脏和肾上腺系数的影响

Table 1 Effect of ARTPQ on coefficient of ovary, uterus, kidney, and adrenal gland in rats

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	卵巢/%	子宫/%	肾脏/%	肾上腺/%
对照	—	0.022±0.003	0.231±0.141	0.341±0.010	0.012±0.002
ARTPQ	35	0.022±0.002	0.140±0.088	0.364±0.172	0.016±0.001*
	70	0.024±0.007	0.135±0.018	0.378±0.304	0.018±0.001**
	120	0.021±0.003	0.150±0.017	0.395±0.139	0.019±0.002**

与对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control group

2.3 大鼠雌激素与肾上腺皮质激素的影响

ARTPQ 低、中、高剂量组大鼠雌激素水平低于对照组, 其中高剂量组与对照组比较差异具有显著性 ($P < 0.05$)。ARTPQ 低、中、高剂量组大鼠肾上腺皮质激素水平高于对照组, 差异具有显著性 ($P < 0.05$ 、 0.01), 结果见表 2。

表 2 ARTPQ 对大鼠雌激素与肾上腺皮质激素的影响

Table 2 Effect of ARTPQ on estrogen and adrenal cortical hormone in rats

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	雌激素/(ng·mL ⁻¹)	肾上腺皮质激素/(ng·mL ⁻¹)
对照	—	116.2±8.4	110.3±47.1
ARTPQ	35	90.6±17.7	163.5±15.8**
	70	90.3±5.8	146.3±35.6*
	120	81.7±27.7*	163.1±12.6**

与对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control group

3 讨论

大鼠动情周期受下丘脑-垂体-卵巢内分泌细胞调节轴的控制, 当大鼠卵巢黄体萎缩后, 血液中雌激素和孕激素水平下降, 负反馈促进促性腺激素释放激素 (GnRH)、腺垂体促性腺激素卵泡刺激素 (FSH) 及黄体生成素 (LH) 释放逐渐增多, 刺激卵泡发育和分泌继续增加, 子宫内膜出现增生期变化, 大鼠表现为动情后期。随着卵泡的发育成熟, 高浓度雌激素对下丘脑 GnRH 释放产生脉冲式强正反馈调节, 并进而促进腺垂体 LH、FSH 分泌高峰, 诱发排卵, 大鼠表现为动情间期。LH、FSH 在排卵后迅速下降, 排卵后破裂的卵泡形成的黄体在 LH 作用下, 继续分泌雌激素及分泌孕激素, 于排卵后出现雌激素及孕激素高峰, 子宫内膜由增生期变为分泌期, 大鼠表现为动情前期。若大鼠未受孕, 排卵后的卵泡发育为黄体, 则高雌激素水平在同时存在的孕激素水平协同下, 对下丘脑及垂体产生负反

馈调节, GnRH、LH 和 FSH 分泌进一步减少, 随着黄体的萎缩, 血液中雌激素、孕激素含量下降, 子宫内膜坏死脱落, 大鼠表现为动情期。

大鼠黄体形成后为非功能性黄体, 交配刺激可形成功能性黄体, 故未经交配刺激的大鼠黄体不能分泌孕激素, 黄体萎缩速度较快, 大鼠动情周期时间较短(约 4~5 d)。若大鼠经过交配刺激而大鼠未受孕, 则交配后一段时间受黄体分泌孕激素的作用, 而表现为与受孕大鼠一样的特征, 如摄食量、饮水量及体质量的迅速增加。

肾上腺激素为雌性动物雄激素的主要来源, 可抑制卵巢功能, 抑制 FSH 水平, 引起卵巢卵泡不能发育成熟, 不能排卵, 形成囊状卵泡。试验过程中发现个别大鼠卵巢卵泡密集且较小, 颜色暗红色, 同时给药剂量组大鼠肾上腺质量高于对照组且呈线性相关性, 且大鼠肾上腺激素明显高于对照组, 初步判定, 大鼠的动情周期紊乱为药物作用于肾上腺

促进肾上腺激素的分泌增加引起。具体作用机制有待进一步研究。

肾上腺激素的功能较多, 对实验动物生殖功能的影响易被忽略, 且生殖毒性的特殊性, 病理切片下不能发现的情况, 在重复给药毒性试验下很容易忽略药物对实验动物生殖系统的影响。所以在重复给药毒性实验中加强对生殖系统功能的关注尤其是对实验动物内分泌功能的检测, 更能反映药物的真实毒性结果。

参考文献

- [1] 朱士恩. 动物生殖生理学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2006.
- [2] 戴丽军, 黄月玲, 叶炳飞, 等. 雌性 Wistar 大鼠、NIH 小鼠性周期血清激素含量分析 [J]. 实验动物科学, 2007, 24(2): 11-13.
- [3] 王 洁, 吴素慧, 尚海霞, 性成熟雌性 SD 大鼠动情周期的观察 [J]. 当代医学, 2013, 19(28): 25-26.