

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research基于 EGFR/PI3K/AKT 信号通路探讨延胡索乙素
对子宫内膜异位症痛经 SD 大鼠的作用Effects of Tetrahydropalmatine on endometriosis dysmenorrhoea in SD rats based
on EGFR/PI3K/AKT signaling pathway

张作良¹, 王婉润¹, 林祥羽¹,
王家兴¹, 胡安鑫¹, 张志瑞¹,
杨亚玲², 武权生¹

(1. 甘肃中医药大学 中医临床学院, 甘肃 兰州 730000; 2. 甘肃中医药大学 附属医院 妇产科, 甘肃 兰州 730030)

ZHANG Zuo-liang¹,
WANG Wan-run¹,
LIN Xiang-yu¹, WANG Jia-xing¹,
HU An-xin¹, ZHANG Zhi-rui¹,
YANG Ya-ling², WU Quan-sheng¹

(1. School of Clinical Chinese Medicine,
Gansu University of Chinese Medicine,
Lanzhou 730000, Gansu Province, China;
2. Department of Gynecology and
Obstetric, Affiliated Hospital of Gansu
University of Chinese Medicine, Lanzhou
730030, Gansu Province, China)

基金项目: 国家自然科学基金资助项目
(82260949); 甘肃省自然科学基金
资助项目(23JRR1199); 甘肃省中
医药科研基金资助项目(GZKP-
2022-22); 兰州市科技计划基金资
助项目(2021-1-97); 甘肃中医大
学附属医院内课题基金资助项
目(gzfy-2021-03)

作者简介: 张作良(1996-), 男, 博士研究生, 主
要从事妇科血瘀证基础及临床研究

通信作者: 杨亚玲, 副主任医师

MP: 1389367762

E-mail: yangylyy@sina.com

摘要:目的 观察延胡索乙素对子宫内膜异位症痛经 SD 大鼠表皮生长因子受体(EGFR)/磷酸肌醇 3-激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(AKT) 信号通路的影响。
方法 将 60 只 SPF 级雌性 SD 大鼠用自体移植法复制子宫内膜异位症痛经模型, 造模成功后, 按体质量随机分为模型组、对照组和低、中、高剂量实验组, 每组 12 只; 另取 12 只正常大鼠作为空白组。空白组及模型组均灌胃给予 10 mL · kg⁻¹ 0.9% NaCl, 对照组灌胃给予 0.25 mg · kg⁻¹ 孕三烯酮混悬液。低、中、高剂量实验组分别灌胃给予 10、20、40 mg · kg⁻¹ 延胡索乙素混悬液。6 组大鼠每天给药 1 次, 连续给药 4 周。末次给药后, 给予缩宫素 2 U 诱发宫缩, 观察大鼠扭体反应。用酶联免疫吸附试验法测定各组大鼠血清中肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、表皮生长因子(EGF)和 EGFR 含量, 用蛋白质印迹法检测异位子宫内膜组织中 EGFR、PI3K 和 AKT 蛋白的相对表达水平。
结果 中、高剂量实验组和对照组、模型组、空白组的扭体次数分别为(9.25 ± 1.42)、(8.33 ± 1.88)、(11.17 ± 2.41)、(28.67 ± 2.15)和 0 次, 扭体反应抑制率分别为 67.74%、70.95%、61.05%、0 和 0, 血清 TNF-α 含量分别为(281.96 ± 13.06)、(278.75 ± 10.39)、(282.12 ± 14.47)、(303.59 ± 9.09)和(274.26 ± 15.33) ng · L⁻¹, 血清 EGF 含量分别为(313.82 ± 13.23)、(308.26 ± 10.90)、(311.39 ± 19.52)、(336.04 ± 17.60)和(301.67 ± 27.17) pg · mL⁻¹, 血清 EGFR 含量分别为(315.71 ± 7.56)、(311.43 ± 11.04)、(313.75 ± 7.26)、(333.56 ± 14.22)和(307.86 ± 17.94) ng · L⁻¹, EGFR 蛋白相对表达水平分别为 1.60 ± 0.39、1.26 ± 0.30、1.40 ± 0.40、2.08 ± 0.41 和 1.00 ± 0.22, PI3K 蛋白相对表达水平分别为 1.60 ± 0.42、1.21 ± 0.18、1.27 ± 0.24、2.01 ± 0.41 和 1.00 ± 0.19, AKT 蛋白相对表达水平分别为 1.27 ± 0.18、1.11 ± 0.10、1.27 ± 0.16、1.64 ± 0.28 和 1.00 ± 0.07。中、高剂量实验组的上述指标与模型组相比, 在统计学上差异均有统计学意义(P < 0.01, P < 0.05)。
结论 延胡索乙素可能通过干预 EGFR/PI3K/AKT 信号通路, 对子宫内膜异位症痛经起到治疗作用。

关键词: 延胡索乙素; 子宫内膜异位症; 痛经; 表皮生长因子受体/磷酸肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B 信号通路

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.03.017

中图分类号: R28 文献标志码: A

文章编号: 1001-6821(2025)03-0381-06

Abstract: Objective To observe the effect of Tetrahydropalmatine on the epidermal growth factor receptor / phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B (EGFR/PI3K/AKT) signaling pathway in endometriosis dysmenorrhoea SD rats. **Methods** The endometriosis dysmenorrhoea model was replicated by auto-transplantation in 60 female SD rats of SPF grade. After successful modelling, the rats were randomly divided

into model group, control group and experimental -L, -M, -H groups according to body mass, with 12 rats in each group; and another 12 normal rats were taken as the blank group. The blank and model groups were given $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 0.9% NaCl by gavage, and the control group was given $0.25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ progesterone suspension by gavage. The experimental -L, experimental -M, experimental -H groups were given 10, 20 and $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Tetrahydropalmatine suspension by gavage, respectively. Six groups of rats were administered once daily for 4 weeks. After the last administration, 2 U of oxytocin was given to induce contractions, and the rats were observed for torsional responses. The serum levels of tumor necrosis factor - α (TNF - α), epidermal growth factor (EGF), and EGFR were measured by enzyme-linked immunosorbent assay in each group of rats, and the expression levels of EGFR, PI3K and AKT proteins in ectopic endometrial tissues were detected by Western blotting. **Results** The number of twists in the experimental -M, -H groups and control group, model group, blank group were 9.25 ± 1.42 , 8.33 ± 1.88 , 11.17 ± 2.41 , 28.67 ± 2.15 and 0; the inhibition rates were 67.74%, 70.95%, 61.05%, 0 and 0; serum TNF - α levels were (281.96 ± 13.06), (278.75 ± 10.39), (282.12 ± 14.47), (303.59 ± 9.09) and (274.26 ± 15.33) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$; serum EGF levels were (313.82 ± 13.23), (308.26 ± 10.90), (311.39 ± 19.52), (336.04 ± 17.60) and (301.67 ± 27.17) $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$; serum EGFR levels were (315.71 ± 7.56), (311.43 ± 11.04), (313.75 ± 7.26), (333.56 ± 14.22) and (307.86 ± 17.94) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$; the relative expression levels of EGFR protein were 1.60 ± 0.39 , 1.26 ± 0.30 , 1.40 ± 0.40 , 2.08 ± 0.41 and 1.00 ± 0.22 ; the relative expression levels of PI3K protein were 1.60 ± 0.42 , 1.21 ± 0.18 , 1.27 ± 0.24 , 2.01 ± 0.41 and 1.00 ± 0.19 ; the relative expression levels of AKT protein were 1.27 ± 0.18 , 1.11 ± 0.10 , 1.27 ± 0.16 , 1.64 ± 0.28 and 1.00 ± 0.07 , respectively. Statistically significant differences were found between the above indicators in the experimental -M, -H groups compared to the model group ($P < 0.01$, $P < 0.05$). **Conclusion** Tetrahydropalmatine may play a therapeutic role in endometriosis dysmenorrhoea by interfering with the EGFR/PI3K/AKT signaling pathway.

Key words: Tetrahydropalmatine; endometriosis; dysmenorrhoea; epidermal growth factor receptor/ phosphatidylinositol 3 - kinase/protein kinase B signaling pathway

子宫内膜异位症(endometriosis, EMT)是指子宫内膜组织出现在子宫腔外的地方,其特征是血管生成、增生、浸润、反复出血和神经炎性反应^[1]。EMT发病率高且呈年轻化趋势^[2],以疼痛、不孕和结节性肿块为主要临床表现,其中,EMT合并痛经患者高达71%~87%^[3],是临床患者就诊的主要原因,严重危害育龄期女性生殖和身心健康。延胡索是世界上首个具有低成瘾性和耐受性的镇痛中药^[4],其主要有效成分延胡索乙素对EMT痛经有很好的治疗作用,可以作为阿片类药物的代替物。本研究以EMT痛经SD大鼠疾病模型为研究对象,通过表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)/磷酸肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3 - kinase, PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B, AKT)信号通路探讨延胡索乙素对EMT的治疗作用机制。

材料与方法

1 材料

动物 SPF级雌性SD大鼠,鼠龄6~8周,体质

量(200 ± 20)g,购自甘肃中医药大学SPF级实验动物中心。动物使用许可证号:SYXK(甘)2021-0004。本实验经甘肃中医药大学伦理委员会批准(伦理批号:2023-426)。

药品与试剂 延胡索乙素,规格:每瓶1 000 mg,纯度:97%~100%,批号:C15665-29-6,孕三烯酮,规格:每瓶25 mg,纯度:97%~100%,批号:C16320-04-0,均由上海阿拉丁生化科技股份有限公司;缩宫素注射液,规格:每支1 mL/10 U,批号:202234JB,批准文号:国药准字H34020474,马鞍山丰原制药有限公司生产。大鼠肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor - α , TNF - α)、表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)、EGFR酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)科研试剂盒,均由江苏酶免实业有限公司生产;EGFR、PI3K、AKT、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde - 3 - phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体,均由英国Abcam公司生产;Goat - Anti Rabbit免疫球蛋白G(immunoglobulin G, IgG),美国Affinity公司生产;反转录试剂盒,上海翊圣生物科技有限公司生产。

仪器 AD0412LS - C50 电泳转印系统全套,美国 Bio - Rad 公司产品;ChemiDOC MP 全能成像系统,时代联想生物科技有限公司产品;K5800 微量核酸测定仪,北京凯奥科技发展有限公司产品;A300 聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)扩增仪,杭州朗基科学仪器有限公司产品;荧光定量 PCR 仪,鲲鹏基因科学仪器有限公司产品;SN100680221 显微拍照系统,山东志盈医学科技有限公司产品。

2 实验方法

2.1 模型构建

所有大鼠适应性喂养 1 周后,灌胃给予 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 戊酸雌二醇片,连续 5 d,使其进入统一动情周期。用随机数字表法,选取 12 只为空白组不予处理。其余大鼠按自体移植法^[5]复制 EMT 模型,术后给予 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 戊酸雌二醇片灌胃 5 d,以促进异位子宫内膜组织的生长。造模结束后第 28 天麻醉下开腹,可见异位子宫内膜组织增大,表面光滑,组织透亮,局部血管生成,部分可见异位子宫内膜组织与腹腔脏器粘连,评价为造模成功。

2.2 动物分组与给药方法

待造模成功后,按体质量随机分为模型组、对照组和低、中、高剂量实验组,每组 12 只。空白组及模型组均灌胃给予 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} 0.9\% \text{ NaCl}$;对照组灌胃给予 $0.25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 孕三烯酮混悬液;低、中、高剂量实验组分别灌胃给予 10、20、40 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 延胡索乙素混悬液。6 组大鼠每天给药 1 次,连续给药 4 周。

2.3 大鼠扭体反应观察

末次给药后,给予缩宫素 2 U 诱发宫缩,观察并记录大鼠 30 min 以内扭体次数。24 h 后处死大鼠,记录各组大鼠异位子宫内膜组织大小。异位子宫内膜组织体积(mm^3) = $0.52 \times \text{长} \times \text{宽} \times \text{高}$ ^[6]。

2.4 苏木精 - 伊红(hematoxylin - eosin, HE)染色观察异位子宫内膜组织病理变化^[7]

取固定在多聚甲醛中的子宫内膜组织约 0.5 g,用病理切片机行石蜡切片,经二甲苯脱蜡、乙醇梯度脱水,行 HE 染色、二甲苯透明、封片,在显微镜下观察病理学改变。

2.5 ELISA 法检测大鼠血清中 TNF - α 、EGF 和 EGFR 含量^[8]

将大鼠麻醉后,心包取血,静置分层后,以 $3\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 30 min,取上清液。按照大鼠 ELISA 试剂盒说明书的步骤进行操作,测定各孔光密度(optical density, OD)值,计算各组大鼠血清中 TNF - α 、EGF 和 EGFR 含量。

2.6 蛋白质印迹法检测异位子宫内膜组织中 EGFR、PI3K 和 AKT 蛋白的相对表达水平^[9]

取冷冻组织 0.1 g,预冷 $0.9\% \text{ NaCl}$ 冲洗干净以后,加钢珠,加入裂解液后,低温匀浆,在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下,以 $1.2 \times 10^4 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min,取上清液。用 BCA 蛋白定量试剂盒检测蛋白含量, $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温金属浴加热 10 min 使蛋白变性,分装冻存。取样品 $3\text{ }\mu\text{L}$ 进行十二烷基硫酸钠 - 聚丙烯酰胺凝胶电泳、转膜, 5% 脱脂奶粉封闭、TBST 洗膜后,用 EGFR、PI3K、AKT (1:2 000) 及 GAPDH (1:5 000) 一抗 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 摇床孵育过夜, TBST 充分洗涤后加二抗 (1:1 000) 室温孵育 1 h, TBST 洗涤后, ECL 化学发光法曝光,用 Image J 软件检测蛋白条带的灰度值。

2.7 实时荧光定量 PCR 法检测异位子宫内膜组织中 EGFR、PI3K 和 AKT 的相对表达水平^[10]

提取异位子宫内膜组织总 RNA 并计算总 RNA 浓度及纯度,按照逆转录扩增试剂盒说明书所述方法,将 RNA 逆转录为 cDNA,逆转录条件为 $42\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 45 min、 $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 失活 5 min,再参考 SYBR Green 说明进行循环扩增,扩增条件: $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min、 $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性 10 s、 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 退火 20 s、 $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 20 s,共 40 个循环。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。GAPDH 为内参,用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法对相对定量值进行统计分析。

3 统计学处理

用 SPSS 25.0 软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,服从正态分布多组间比较用单因素方差分析;计数资料用率(%)表示,比较用卡方检验。

结 果

1 对大鼠疼痛反应的影响

低、中、高剂量实验组分别给予 10、20、40 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 延胡索乙素混悬液;对照组给予 $0.25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 孕三烯酮混悬液;空白组及模型组均给予 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} 0.9\% \text{ NaCl}$ 。

每组大鼠给予缩宫 2 U 后,空白组大鼠未出现典型扭体反应,模型组的扭体次数显著增加($P < 0.01$);对照组及低、中、高剂量实验组大鼠扭体次数均较模型组显著减少(均 $P < 0.01$),其抑制率分别为 61.05%、62.79%、67.74% 和 70.95%。中、高剂量实验组的扭体次数均较对照组显著减少(均 $P < 0.01$),抑制率增高,提示延胡索乙素的止痛作用优于孕三烯酮。

2 对大鼠异位子宫内膜组织体积及质量的影响

开腹后,空白组大鼠腹壁正常,其余各组大鼠腹

壁可见大小不等异位子宫内膜组织,表面光滑,组织透亮,局部血管生成,评价为造模成功。对照组和高剂量实验组大鼠的异位子宫内膜组织体积指数均较模型组明显降低($P < 0.05$, $P < 0.01$);对照组及中、高剂量实验组大鼠的异位子宫内膜组织质量均较模型组明显降低($P < 0.05$, $P < 0.01$),见表1。

3 对大鼠异位子宫内膜组织病理学的影响

HE染色结果显示:空白组EMT大鼠子宫内膜排列整齐,腺体及间质生长完整,腺腔小,间质致密;模型组大鼠异位子宫内膜明显增厚,腺上皮细胞高柱状,假复层,可见内膜间质及子宫腺肌症,局部可见巨噬细胞吞噬血黄素,纤维结缔组织增生,形成粘连和

褶皱。对照组和低、中、高剂量组大鼠不同程度上异位子宫内膜组织变薄,腺腔扩张,细胞矮低,单层,内膜间质宽度变小,未见含铁血黄素及子宫腺肌症。这说明延胡索乙素能在一定程度上减轻子宫内膜异位症的病理改变。结果见图1。

4 对大鼠血清TNF- α 、EGF、EGFR的影响

模型组与空白组比较,大鼠血清TNF- α 、EGF和EGFR含量均明显升高,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$);对照组及中、高剂量实验组大鼠血清TNF- α 、EGF和EGFR含量均较模型组明显降低,在统计学上差异均有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结果见表2。

表1 延胡索乙素对子宫内膜异位症大鼠疼痛反应及异位子宫内膜组织体积和质量的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effects of Tetrahydropalmatine on pain response and volume and weight of ectopic endometrial tissue in rats with endometriosis ($\bar{x} \pm s$)

Groupe	Dose(mg · kg ⁻¹)	n	NT	IR(%)	Volume(mm ³)	Weight(g)
Blank	0	12	0	0	0	0
Model	0	12	28.67 ± 2.15**	0	28.09 ± 5.88	1.01 ± 0.12
Control	0.25	12	11.17 ± 2.41▲▲	61.05	24.40 ± 3.63▲	0.92 ± 0.10▲
Experimental - L	10.00	12	10.67 ± 2.06▲▲	62.79	25.68 ± 3.01	0.99 ± 0.08
Experimental - M	20.00	12	9.25 ± 1.42▲▲☆☆	67.74	25.70 ± 4.16	0.92 ± 0.12▲
Experimental - H	40.00	12	8.33 ± 1.88▲▲☆☆	70.95	22.80 ± 4.02▲▲	0.80 ± 0.09▲▲

NT: Number of twists; IR: Inhibition rate; Compared with blank group, ** $P < 0.01$; Compared with model group, ▲ $P < 0.05$, ▲▲ $P < 0.01$; Compared with control group, ☆☆ $P < 0.01$.

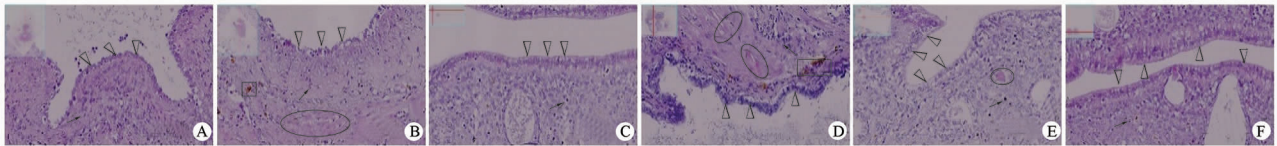


图1 延胡索乙素对子宫内膜异位症大鼠病理组织学影响(×400)

Figure 1 Effects of Tetrahydropalmatine on the pathohistology of endometriosis in rats(×400)

A: Blank group; B: Model group; C: Control group; D, E, F: Experimental - L, - M, - H groups respectively; Triangles: Endometrial glandular epithelium; Arrows: Endometrial mesenchymal cells; Rectangle: Iron - containing haemoflavin; Oval: Myometrial tissue.

表2 延胡索乙素对子宫内膜异位症大鼠血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、表皮生长因子(EGF)和表皮生长因子受体(EGFR)含量的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effects of Tetrahydropalmatine on serum tumour necrosis factor - α (TNF - α), epidermal growth factor(EGF) and epidermal growth factor receptor(EGFR) levels in rats with endometriosis($\bar{x} \pm s$)

Groupe	n	TNF- α (ng · L ⁻¹)	EGF(pg · mL ⁻¹)	EGFR(ng · L ⁻¹)
Blank	8	274.26 ± 15.33	301.67 ± 27.17	307.86 ± 17.94
Model	8	303.59 ± 9.09**	336.04 ± 17.60**	333.56 ± 14.22**
Control	8	282.12 ± 14.47▲▲	311.39 ± 19.52▲	313.75 ± 7.26▲▲
Experimental - L	8	289.81 ± 11.98▲	327.19 ± 17.54	331.94 ± 12.13
Experimental - M	8	281.96 ± 13.06▲▲	313.82 ± 13.23▲	315.71 ± 7.56▲▲
Experimental - H	8	278.75 ± 10.39▲▲	308.26 ± 10.90▲	311.43 ± 11.04▲▲

Dose refer to table 1; Compared with blank group, ** $P < 0.01$; Compared with model group, ▲ $P < 0.05$, ▲▲ $P < 0.01$.

5 对大鼠异位子宫内膜组织 EGFR、PI3K 和 AKT 蛋白表达的影响

模型组与空白组比较,大鼠异位子宫内膜组织中 EGFR、PI3K、AKT 蛋白相对表达水平均明显上升,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P<0.01$);对照组及中、高剂量实验组大鼠异位子宫内膜组织中 EGFR、PI3K、AKT 蛋白相对表达水平均较模型组明显下降,在统计学上差异均有统计学意义($P<0.05$, $P<0.01$)。结果见表 3 和图 2。

6 对大鼠异位子宫内膜组织 EGFR、PI3K 和 AKT mRNA 表达的影响

模型组与空白组比较,大鼠异位子宫内膜组织中 EGFR、PI3K、AKT mRNA 相对表达水平均明显上升,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P<0.01$)。对照组及中、高剂量实验组大鼠异位子宫内膜组织中 EGFR、PI3K、AKT mRNA 相对表达水平均较模型组明显下降,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P<0.01$)。结果见表 3。

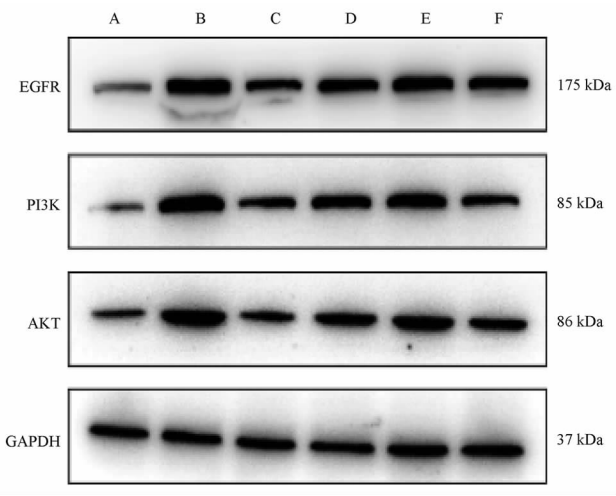


图 2 用蛋白质印迹法检测 6 组大鼠异位子宫内膜组织中 EGFR、PI3K 和 AKT 蛋白的表达情况

Figure 2 Expression of EGFR, PI3K and AKT proteins in ectopic endometrial tissues of six groups of rats by Western blotting

A: Blank group; B: Model group; C, D, E: Experimental - H, - M, - L groups, respectively; F: Control group.

表 3 对大鼠异位子宫内膜组织中表皮生长因子受体(EGFR)/磷酸肌醇 3-激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(AKT)蛋白和 mRNA 表达水平的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect on the protein and mRNA expression levels of epidermal growth factor receptor (EGFR)/phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (AKT) in ectopic endometrial tissues from rats($\bar{x} \pm s$)

Groupe	Protein			mRNA		
	EGFR	PI3K	AKT	EGFR	PI3K	AKT
Blank	1.00 ± 0.22	1.00 ± 0.19	1.00 ± 0.07	1.02 ± 0.22	1.00 ± 0.08	1.00 ± 0.06
Model	2.08 ± 0.41 **	2.01 ± 0.41 **	1.64 ± 0.28 **	3.59 ± 0.21 **	4.48 ± 0.60 **	3.57 ± 0.13 **
Control	1.40 ± 0.40 ▲▲	1.27 ± 0.24 ▲▲	1.27 ± 0.16 ▲▲	2.20 ± 0.33 ▲▲	3.68 ± 0.09 ▲▲	1.82 ± 0.11 ▲▲
Experimental - L	1.71 ± 0.40 ▲	1.74 ± 0.38	1.41 ± 0.19 ▲	3.29 ± 0.16 ▲▲	3.93 ± 0.25 ▲	3.50 ± 0.16
Experimental - M	1.60 ± 0.39 ▲	1.60 ± 0.42 ▲	1.27 ± 0.18 ▲▲	2.62 ± 0.15 ▲▲	3.52 ± 0.37 ▲▲	2.35 ± 0.03 ▲▲
Experimental - H	1.26 ± 0.30 ▲▲	1.21 ± 0.18 ▲▲	1.11 ± 0.10 ▲▲	1.45 ± 0.34 ▲▲	2.99 ± 0.72 ▲▲	1.77 ± 0.13 ▲▲

Dose and n refer to table 2; Compared with blank group, ** $P<0.01$; Compared with model group, ▲ $P<0.05$, ▲▲ $P<0.01$.

讨 论

EMT 造成的痛经是临床亟须解决的关键问题。本课题组用自体移植法构建 EMT 大鼠疾病模型,经延胡索乙素治疗后,EMT 大鼠疼痛反应减轻、异位子宫内膜组织体积及质量缩小,病理组织损伤减轻,说明延胡索乙素对 EMT 痛经有一定的治疗作用。前期有药代动力学研究发现,延胡索乙素在 EMT 大鼠体内吸收快、浓度高、消除慢的特点,可能与 EMT 血管生成、局部炎症反应、高雌激素血症等特殊的病理状态相关^[11]。因此,认为延胡索乙素是拮抗 EMT 痛经的重要效应物质。

EMT 造成疼痛的机制可能与解剖结构、外周及中枢神经系统敏化、盆腔炎症微环境改变等密切相关^[12]。EMT 痛经的发生发展与患者盆腔微环境中的炎性细胞、促炎因子、神经营养因子、新生神经纤维、血管及雌孕激素等密切相关。在 EMT 患者盆腔微环境中,TNF- α 含量增高,造成细胞因子失调,引起病理损伤,形成炎症刺激、放大炎症反应,从而产生疼痛^[13]。EGF 及其受体 EGFR 在异位子宫内膜细胞的生长、增殖、分化、黏附、迁移、种植、播散的过程中起着非常重要的作用。有研究证实,在 EMT 患者异位子宫内膜组织中,EGFR 呈高表达,并且其含量与病情严重程度呈正相关^[14]。PI3K/AKT 是 EGFR 下游参与细胞生长、代谢、凋亡的重要信号通路。EGFR 属于

酪氨酸激酶型受体,位于细胞膜表面,由 EGF 或 TGF- α 受体激活,激活后形成二聚体,诱导自身及下游 PI3K 磷酸化。当 PI3K 被磷酸化以后,可与其下游 AKT 的 N 端 PH 结构域结合,激活信号通路,发挥生物功能。研究表明,EGFR/PI3K/AKT 信号通路能通过正、负 2 种调控方式^[15],促进异位子宫内膜组织凋亡,抑制其细胞侵袭与转移、细胞周期调节、局部的血管形成,从而实现调控 EMT 痛经的分子生物学功能。

本研究提示,延胡索乙素能够通过抑制子宫内膜异位症痛经 SD 大鼠 EGFR/PI3K/AKT 信号通路,从而减轻炎性损伤、缓解疼痛反应、拮抗血管生成、改善发病进程。

参考文献:

- [1] GREEN I C, BURNETT T, FAMUYIDE A. Persistent pelvic pain in patients with endometriosis [J]. *Clin Obstet Gynecol*, 2022, 65 (4):775—785.
- [2] PARAZZINI F, ESPOSITO G, TOZZI L, et al. Epidemiology of endometriosis and its comorbidities [J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2017, 20(9):3—7.
- [3] AS-SANIE S, BLACK R, GIUDICE L C, et al. Assessing research gaps and unmet needs in endometriosis [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2019, 221(2):86—94.
- [4] 薛楚,刘思雪,黄芳. 罂粟科植物罂粟、延胡索和岩黄连镇痛作用的研究进展[J]. *药学研究*, 2019, 38(5):290—294.
- [5] 刘一鸣,刘志宏,连方. 基于 NCOA4/NF- κ B 信号通路介导的铁自噬探讨祛瘀解毒方对子宫内膜异位症模型大鼠子宫异位组织的影响[J]. *中医杂志*, 2024, 65(6):627—635.
- [6] 尚芳红,李攀红,陈乾,等. 加味佛手散在正常大鼠与子宫内异位症大鼠体内的药物代谢动力学比较[J]. *中华中医药杂志*, 2019, 34(12):5650—5655.
- [7] 王亭乔,任吴疆,吕梁彧,等. 水飞蓟提取物及复合制剂对乙醇中毒小鼠肝的保护作用[J]. *中国临床药理学杂志*, 2024, 40(7):1009—1013.
- [8] 李泽,谭军,明秋丽,等. 5'-N-乙酰酰胺基腺苷对大鼠脑缺血再灌注氧化损伤和脑组织 miR-29b、miR-125b 水平的影响[J]. *中国临床药理学杂志*, 2024, 40(10):1448—1452.
- [9] 于晓磊,李文鑫,陈盼盼,等. 小豆蔻明通过调节 Notch/NF- κ B 信号通路介导的细胞焦亡减轻意环类药物所致大鼠的心脏毒性[J]. *中国临床药理学杂志*, 2024, 40(9):1277—1281.
- [10] 何旻,巢琳,华亦汇. 细胞色素 P450 酶基因多态性与复发转移性乳腺癌疗效的相关性[J]. *中国临床药理学杂志*, 2024, 40(9):1252—1256.
- [11] 冯彬彬,张建海,牛小花,等. 川芎嗪、阿魏酸和延胡索乙素在模型与正常大鼠体内药动学比较研究[J]. *中草药*, 2015, 46(10):1493—1497.
- [12] 邹胜男,孙可丰,王鑫. 针药联合治疗 EMs 痛经对血清 TNF- α 、IL-6、TGF- β 水平的影响[J]. *时珍国医国药*, 2023, 34(6):1403—1405.
- [13] 谢岚,蒲丽蓉,张思沉. 血清及腹腔液中 IL-6、IL-37、TNF- α 水平与子宫内膜异位症不孕关系[J]. *中国计划生育学杂志*, 2021, 29(7):1497—1501.
- [14] 张艳青,周燕飞,龙玲,等. EGFR 和 Annexin-I 在子宫内膜异位症异位内膜的表达及意义[J]. *实用妇产科杂志*, 2012, 28(11):946—949.
- [15] 杜晓燕,安兰花,张金生,等. 基于 PI3K/Akt 信号通路探讨三七粉对血脂异常的疗效机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2023, 29(13):88—95.

(收稿日期 2024-07-10)

· 科学文摘 ·

不同剂量托拉塞米和呋塞米对于心力衰竭住院患者结局的影响

引自: NOUHRAVESH N, et al. Diuretic dosing and outcomes with torsemide and furosemide following hospitalization for heart failure: The TRANSFORM-HF trial [J/OL]. *Eur J Heart Fail*, 2024. 2024-10-04 [2024-12-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39363809/>.

TRANSFORM-HF 试验发现,因心力衰竭住院后,托拉塞米与呋塞米的临床结局无显著性差异。美国杜克临床研究所的 NOUHRAVESH 团队评估了利尿药剂量对主要和次要临床结局的影响。本次 TRANSFORM-HF 的事后分析根据出院时的利尿药剂量将患者分为 3 组: ≤ 40 mg(A 组)、 $>40 \sim 80$ mg(B 组)和 >80 mg(C 组;以呋塞米当量计算)。

该研究共纳入 2 379 例患者,平均年龄 65 岁,其中,883 例(37.1%)为女性,812 例(34.2%)为黑人。对于呋塞米:相较于 A 组, B 组的全因死亡校正风险比(adjusted hazard ratio, aHR)为 1.21[95% 置信区间(confidence interval, CI)=0.91~1.59], C 组的全因死亡 aHR 为 1.40(95% CI=1.04~1.88)。对于托拉塞米:相较于 A 组, B 组的全因死亡 aHR 为 1.74(95% CI=1.32~2.30), C 组的全因死亡 aHR 为 1.58(95% CI=1.14~2.19)。没有证据表明,利尿药类型和剂量与死亡率增加之间存在异质性(交互作用 $P=0.17$)。较高剂量的呋塞米和托拉塞米与全因住院风险以及包括全因死亡和住院在内的复合事件风险增加相关。

该研究提示:心力衰竭住院后,较高的利尿药剂量与较差的临床和患者报告的结局独立相关。无论使用何种利尿药,较高的利尿药剂量与结局之间的相关性是一致的。

(戴荣源 摘录)