

DOI:10.3724/SP.J.1008.2008.00357

L-型钙离子通道阻断剂硝苯地平及硫酸镁对人足月妊娠子宫平滑肌收缩功能的抑制作用

张兰梅¹, 王杨凯², 沙金燕¹, 倪鑫^{2*}

1. 第二军医大学长海医院妇产科, 上海 200433

2. 第二军医大学基础部生理学教研室, 上海 200433

[摘要] **目的:** 研究 L-型钙离子通道阻断剂硝苯地平(nifedipine)、硫酸镁对人妊娠子宫平滑肌收缩功能的抑制作用及其与临产的关系。**方法:** 剖宫产时取足月妊娠临产、未临产子宫下段平滑肌, 将肌条置于组织器官浴中, 加入催产素(10^{-9} mol/L)诱发平滑肌收缩, 依次加入 10^{-8} 、 10^{-7} 、 10^{-6} 、 10^{-5} mol/L 的硝苯地平或 1、2、4、8、16 mmol/L 的硫酸镁, 通过离体肌肉等长张力测定试验, 计算用药前后单位时间内子宫收缩的频率、收缩幅度及子宫收缩曲线下面积, 并计算药物抑制百分比。**结果:** 硝苯地平对催产素诱发的人妊娠子宫平滑肌收缩的抑制作用呈剂量依赖性, 对临产组的抑制作用较未临产组明显减弱, 两组比较差异显著($P < 0.05$); 硫酸镁对人妊娠子宫肌收缩也有抑制作用, 但临产组与未临产组比较差异不显著($P > 0.05$)。**结论:** 硝苯地平对临产后子宫平滑肌的抑制作用下降, 可能提示临产后子宫平滑肌对硝苯地平的敏感性发生了改变; 硫酸镁对人妊娠子宫肌的抑制作用与是否临产无关, 提示 Mg^{2+} 对子宫平滑肌收缩的抑制作用除通过钙离子通道外, 可能还有其他作用机制。

[关键词] 妊娠; 子宫收缩; 硝苯地平; 硫酸镁

[中图分类号] R 337.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2008)04-0357-04

Inhibitory effects of L-type Ca^{2+} -channel blocker nifedipine and magnesium sulfate on uterine contractility of full term pregnant women

ZHANG Lan-mei¹, WANG Yang-kai², SHA Jin-yan¹, NI Xin^{2*}

1. Department of Obstetrics and Gynecology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

2. Department of Physiology, College of Basic Medical Sciences, Second Military Medical University, Shanghai 200433

[ABSTRACT] **Objective:** To investigate the inhibitory effects of L-type Ca^{2+} -channel blocker nifedipine and magnesium sulfate on uterine contractility of full term pregnant women and its relation with labour. **Methods:** Myometrial strips, prepared from biopsies taken at caesarean section from labouring and non-labouring women at full term pregnancy, were mounted in organ chambers for isometric tension recording. Oxytocin(10^{-9} mol/L) was employed to induce stable contraction. The cumulative effects of nifedipine(10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} and 10^{-5} mol/L) and magnesium sulfate (1, 2, 4, 8 and 16 mmol/L) were studied by calculating the frequency, amplitude and AUC of contractions before and after drug applications, and the inhibitory rates were also calculated. **Results:** Nifedipine exerted a concentration-dependent relaxant effect on human term pregnant myometrial contractions induced by oxytocin. The relaxant effect was greater in the myometrium of non-labouring than that in the labouring group($P < 0.05$). Magnesium sulfate also inhibited the contractility in both groups, with no significant difference between the 2 groups($P > 0.05$). **Conclusion:** Decreased inhibition of human uterine contractility by L-type Ca^{2+} -channel blocker nifedipine in term labouring myometrium may reflect sensitivity changes of Ca^{2+} -channel to nifedipine after the onset of labour. The inhibitory effects of Mg^{2+} are not affected by labour, suggesting that Mg^{2+} may also exert its effect on contractility through other pathways besides Ca^{2+} -channel.

[KEY WORDS] pregnancy; uterine contraction; nifedipine; magnesium sulfate

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2008, 29(4): 357-360]

近年来, 尽管对子宫的生理进行了很多研究, 但 早产的发生率并没有下降。目前, 临床上常用的子

[收稿日期] 2007-07-28 **[接受日期]** 2008-02-24

[作者简介] 张兰梅, 博士, 副教授、副主任医师. E-mail: zllmm1100@163.com

* 通讯作者(Corresponding author). Tel: 021-25070308, E-mail: nxljq2003@yahoo.com.cn

宫松弛剂有硫酸镁、 β_2 受体激动剂(如盐酸利托君)、环氧化酶抑制剂(如吲哚美辛)、一氧化氮供体(如硝酸甘油)及钙离子通道阻断剂(如硝苯地平),但治疗效果并不令人满意,这在很大程度上是由于对妊娠子宫平滑肌收缩的调节机制尚不完全清楚。子宫的收缩性是由肌细胞内的游离 Ca^{2+} 浓度决定的。 Ca^{2+} 通道阻断剂通过降低 Ca^{2+} 内流抑制平滑肌收缩, Mg^{2+} 也通过钙离子通道降低 Ca^{2+} 内流抑制平滑肌收缩。分娩的启动源于子宫由静息期向激活期,进而向收缩期的转化。研究表明,离子通道在妊娠期维持子宫静息中起重要作用,而随着分娩的启动,这种抑制作用可能降低。本实验拟研究 L-型钙离子通道阻断剂硝苯地平及硫酸镁对人足月妊娠子宫平滑肌收缩功能的抑制作用及其与临产的关系,并探讨其可能的作用机制。

1 材料和方法

1.1 实验仪器及设备 组织灌流装置、张力换能器及 Medlab 生物信号采集系统均为南京美易医疗器械公司产品。

1.2 实验药品及溶液 硝苯地平、硫酸镁、催产素均为 Sigma 公司产品。硝苯地平溶于 DMSO 中配成 0.1 mol/L 备用。硫酸镁溶于双蒸水中,配成 16×10^3 mmol/L 备用。催产素(10^{-3} mol/L)用前临时配制。Krebs-Henseleit 溶液的配制(mmol/L): NaCl 119, KCl 4.7, $MgSO_4$ 1.2, KH_2PO_4 1.2, $NaHCO_3$ 25, $CaCl_2$ 2.5, Glucose 11.5, EDTA 0.026。

1.3 标本的采集及制备 本研究获得长海医院伦理委员会批准,所有患者均签署知情同意书。子宫组织取自足月妊娠剖宫产孕妇,分临产组及未临产组,每组 6 例,均除外妊娠合并症。麻醉方式为持续

硬膜外麻醉。标本取自子宫下段上缘,横行切取子宫肌条,立即放入 $0^\circ C$ Krebs-Henseleit 液中,带回实验室。去除浆膜及内膜,将肌条修剪成 $3\text{ cm} \times 3\text{ cm} \times 10\text{ cm}$ 肌条,实验在 6 h 内进行。

1.4 肌条等长张力测定 子宫肌条垂直悬挂在含 10 ml Krebs-Henseleit 液的器官浴中,一端固定于器官浴的底部,另一端与张力传感器相连。通以 $95\% O_2$ 及 $5\% CO_2$ 混合气体,保持液体温度 $37^\circ C$,肌条在液体中平衡 1.5~2 h,期间每 20 min 更换液体 1 次,并逐渐增加前负荷至 2 g。

1.5 给药方法 为排除肌条产生的不规律收缩的影响,平衡约 1.5 h 左右加入催产素(10^{-9} mol/L)诱发规律宫缩,20 min 后依次加入 10^{-8} 、 10^{-7} 、 10^{-6} 、 10^{-5} mol/L 的硝苯地平或 1、2、4、8、16 mmol/L 的硫酸镁,每次用药间隔 20 min。计算用药前后单位时间内子宫收缩的频率、收缩幅度及子宫收缩曲线下面积(AUC),计算方法见参考文献^[1],并计算药物抑制百分比。药物抑制百分比=(用药前 AUC-用药后 AUC)/用药前 AUC $\times 100\%$ 。

1.6 统计学处理 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 ANNOVA 方差分析。不同药物浓度、组间比较采用非配对的 *t* 检验。

2 结果

人足月妊娠子宫平滑肌对催产素高度敏感,在浓度为 10^{-9} mol/L 时,临产及未临产子宫肌均能产生规律性收缩。两组肌条收缩的次数及幅度均无差异。未临产组及临产组肌条收缩次数分别为 (18.2 ± 2.4) 及 (19.8 ± 3.2) 次/h,收缩幅度分别为 (4.36 ± 0.38) g 及 (4.52 ± 0.48) g。见图 1。

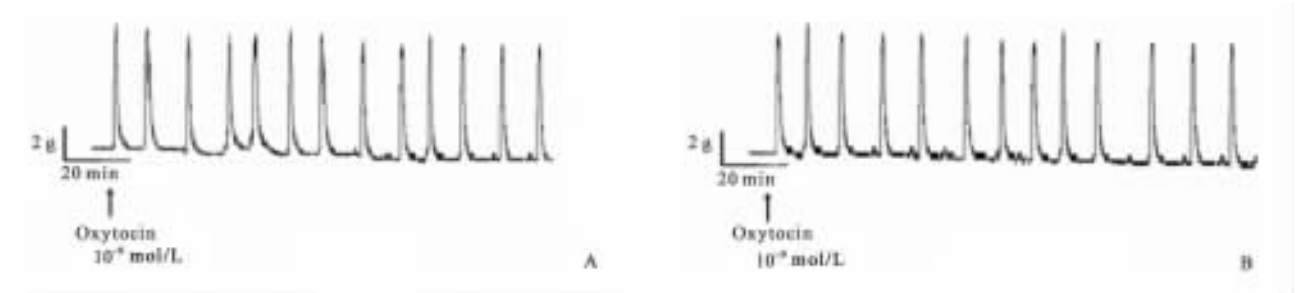


图 1 催产素诱发的人足月妊娠子宫平滑肌收缩曲线

Fig 1 Recordings of oxytocin-induced contraction in human term pregnant myometrial strips

A: Term non-labouring group; B: Term labouring group

硝苯地平($10^{-8} \sim 10^{-5}$ mol/L)对人妊娠子宫平

滑肌收缩有明显的抑制作用,该作用为剂量依赖性,

对未临产组的抑制作用较临产组强。两组间比较, 收缩频率无明显差异, 而收缩幅度及 AUC 比较差异

显著, 最大抑制率分别为 (92.3 ± 4.0)% 及 (81.5 ± 5.0)%。见图 2、图 3。

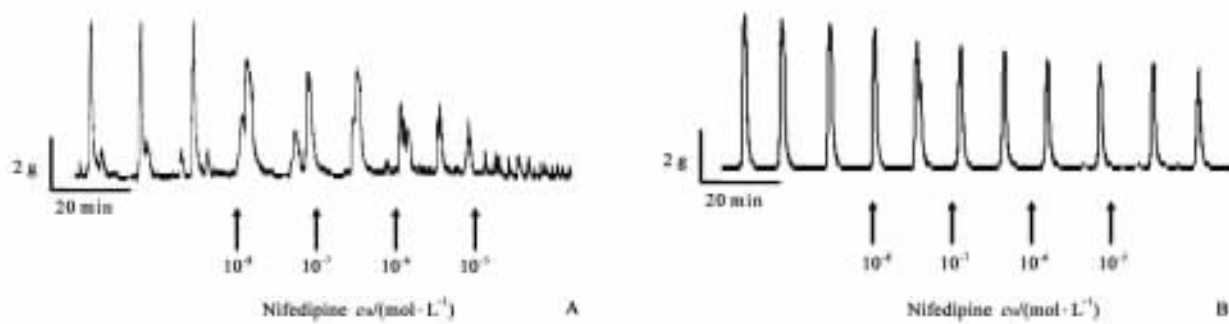


图 2 硝苯地平对人足月妊娠子宫平滑肌收缩的抑制作用曲线

Fig 2 Inhibitory effect of nifedipine on contractions in human term pregnant myometrium

A: Term non-labouring group; B: Term labouring group

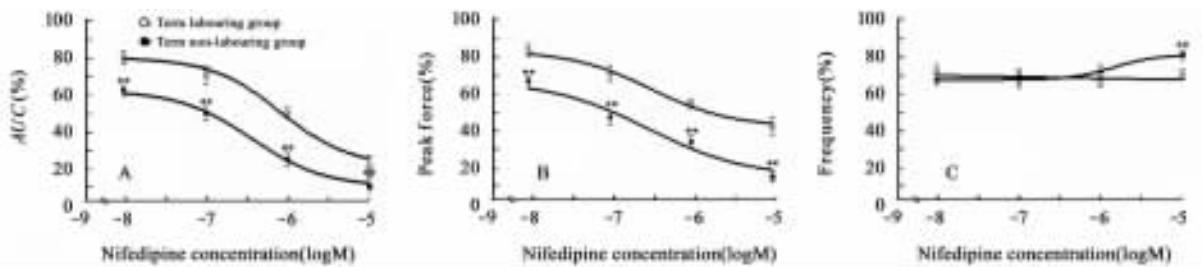


图 3 硝苯地平 (10⁻⁸~10⁻⁵ mol/L) 对催产素诱发的子宫平滑肌收缩的抑制作用

Fig 3 Inhibitory effect of nifedipine (10⁻⁸-10⁻⁵ mol/L) on oxytocin-induced contractility of human term pregnant myometrium

Cumulative data of AUC (A), amplitude (B), and frequency (C) showing effect of nifedipine on oxytocin-induced contractility of human term pregnant myometrium. Increasing concentrations of nifedipine (10⁻⁸-10⁻⁵ mol/L) are applied to pregnant myometrial strips. * * P < 0.01 vs term labouring group; n = 6, $\bar{x} \pm s$

硫酸镁对人妊娠子宫肌收缩也有抑制作用, 当浓度为 2 mmol/L 时, 硫酸镁逐渐产生抑制作用, 当浓度达 4 mmol/L, 抑制作用明显。该作用表现为收缩幅度降低的同时, 收缩频率也有下降, 但两组间比

较, 收缩频率、收缩幅度及 AUC 差异均不显著, 最大抑制率分别为 (80.3 ± 7.2)% 和 (72.2 ± 13.0)%。见图 4。

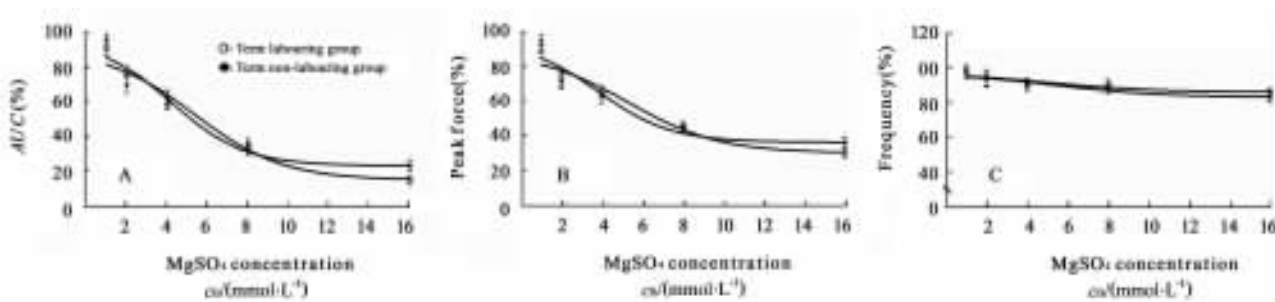


图 4 硫酸镁 (1~16 mmol/L) 对催产素诱发的子宫平滑肌收缩的抑制作用

Fig 4 Inhibitory effect of magnesium sulfate (1 to 16 mmol/L) on oxytocin-induced contractility of human term pregnant myometrium

Cumulative data of AUC (A), amplitude (B), and frequency (C) showing effect of MgSO₄ on oxytocin-induced contractility of human term pregnant myometrium. Increasing concentrations of MgSO₄ (1-16 mmol/L) are applied to pregnant myometrial strips. n = 6, $\bar{x} \pm s$

3 讨论

早产的发生源于分娩的过早发动,即子宫由静息向激活状态的过早转化^[2-3]。子宫肌的收缩性是由细胞内的游离 Ca^{2+} 浓度决定的。离子通道通过控制细胞膜电位及调节细胞内钙离子水平在调节平滑肌活性方面起重要作用。钙离子通道阻断剂通过减少钙离子内流而抑制平滑肌收缩^[2-5]。

催产素是临床上最常用的子宫收缩剂,本研究使用催产素诱发子宫平滑肌收缩,结果表明:人足月妊娠子宫平滑肌对催产素高度敏感,在浓度为 10^{-9} mol/L 时,临床及未临产子宫肌均能产生规律宫缩。

硝苯地平是 *L*-型 Ca^{2+} 通道阻断剂,动物及人实验均表明其对子宫平滑肌的收缩有抑制作用^[6-7]。本研究表明硝苯地平对未临产子宫肌收缩有明显的抑制作用,而对临产子宫肌收缩的抑制作用减弱,表明临产后子宫肌对硝苯地平的抵抗力提高,可能提示临产后子宫平滑肌 *L*-型 Ca^{2+} 通道对硝苯地平的敏感性降低,也可能为非硝苯地平敏感的钙信号机制发生了上调(如钙触发的钙内流)。这种改变的生理意义可能在于临产后子宫肌对各种生理及药理抑制剂的敏感性降低,允许更多的 Ca^{2+} 内流,产生更有力度的子宫收缩,同时也表明一旦早产临产发动,临床上使用硝苯地平抑制子宫收缩的疗效将降低。

与硝苯地平不同,硫酸镁对子宫收缩的抑制作用与临产无关。当浓度达 2 mmol/L 时,逐渐产生抑制作用,4 mmol/L 时抑制作用明显,这与临床用药有效浓度一致。尽管 Mg^{2+} 也通过钙离子通道减少 Ca^{2+} 内流而起抑制收缩的作用,但它阻断 Ca^{2+} 通道的特异性较弱,可能还有其他细胞内作用。既往研究表明^[8],在体外培养的人子宫平滑肌细胞中,硫酸镁可以抑制 IP_3 的生成,激活蛋白激酶 C,二者均可抑制收缩。另一种可能的机制是细胞内 Mg^{2+} 增加,干扰 Ca^{2+} 与调钙蛋白的结合,从而抑制收缩。Fomin 等^[9]研究了硫酸镁对妊娠子宫肌收缩性及细胞内钙浓度的作用,结果在药理浓度(5 mmol/L)时,硫酸镁通过细胞内及细胞外途径介导作用;在超药理浓度(10 mmol/L),硫酸镁即刻产生的强大的抑制作用,是通过细胞外途径介导的。因此,他们认

为硫酸镁是通过细胞内外结合机制发挥抑制平滑肌收缩作用的。

本研究结果表明,硫酸镁对临产子宫肌收缩的抑制作用无明显降低,提示早产临产后使用硫酸镁抑制宫缩仍较有效,但由于硫酸镁的副作用,可能限制了其临床使用。

目前临床常用的治疗早产药物疗效尚不确切,深入研究各种内分泌激素及药物对子宫肌的调节作用及其作用机制,对指导临床用药,降低早产率具有重要意义。

[参考文献]

- [1] Chanrachakul B, Pipkin F B, Warren A Y, Arulkumaran S, Khan R N. Progesterone enhances the tocolytic effect of ritodrine in isolated pregnant human myometrium[J]. Am J Obstet Gynecol, 2005, 192: 458-463.
- [2] Romero R, Mazor M, Munoz H, Gomez R, Galasso M, Sherer D M. The preterm labor syndrome[J]. Ann N Y Acad Sci, 1994, 734: 414-29.
- [3] Papatsonis D, Flenady V, Cole S, Liley H. Oxytocin receptor antagonists for inhibiting preterm labour[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2005, 20: CD004452.
- [4] Shmygol A, Wray S. Modulation of agonist-induced Ca^{2+} release by SR Ca^{2+} load: direct SR and cytosolic Ca^{2+} measurements in rat uterine myocytes[J]. Cell Calcium, 2005, 37: 215-223.
- [5] 范怀河,柯运. 钙通道阻滞药对平滑肌的作用与临床应用[J]. 中华实用医药杂志, 2005, 5: 232-233.
- [6] Maltaris T, Dragonas C, Hoffmann I, Mueller A, Schild R L, Schmidt W, et al. The extracorporeal perfusion of the swine uterus as an experimental model: The effect of tocolytic drugs[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2006, 126: 56-62.
- [7] Yamaoka K, Kameyama M. Regulation of *L*-type Ca^{2+} channels in the heart: overview of recent advances[J]. Mol Cell Biochem, 2003, 253: 3-13.
- [8] Hurd W W, Natarajan V, Fischer J R, Singh D M, Gibbs S G, Fomin V P. Magnesium sulfate inhibits the oxytocin-induced production of inositol 1, 4, 5-trisphosphate in cultured human myometrial cells[J]. Am J Obstet Gynecol, 2002, 187: 419-424.
- [9] Fomin V P, Gibbs S G, Vanam R, Morimiya A, Hurd W W. Effect of magnesium sulfate on contractile force and intracellular calcium concentration in pregnant human myometrium[J]. Am J Obstet Gynecol, 2006, 194: 1384-1390.

[本文编辑] 曹静