

基于人类胎盘体外循环灌注模型探讨艾司西酞普兰的胎盘透过性[△]

姚勤*,王晶晶,李 骞,王思捷,黄 桦,柳汝明,张 峻*(昆明医科大学第一附属医院临床药学科,昆明650032)

中图分类号 R971⁺.4 文献标志码 A 文章编号 1672-2124(2022)11-1306-05
DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2022.11.005



摘要 目的:应用人胎盘体外循环灌注模型,对艾司西酞普兰进行胎盘透过性研究。方法:选择刚娩出的健康足月人胎盘,建立胎盘体外循环灌注模型,循环灌注3 h,期间从母体池和子体池取样,检测pH、氧分压、 β -人绒毛膜促性腺激素、葡萄糖消耗量、乳酸生成量、子体池液体损耗量以及阳性对照物安替比林和艾司西酞普兰的浓度以评估其胎盘透过率。结果:本研究共进行了158例人类胎盘体外循环灌注模型的建立,符合模型建立成功标准的有15例。3 h循环灌注后,艾司西酞普兰胎盘透过率为 $(9.09 \pm 2.80)\%$,相对透过率为 $(23.35 \pm 4.37)\%$ 。结论:艾司西酞普兰可少量透过胎盘而导致胎儿暴露于艾司西酞普兰中。

关键词 艾司西酞普兰;胎盘转运;体外人胎盘灌注模型

Placental Permeability of Escitalopram Based on Human Placental Extracorporeal Circulation Perfusion Model[△]

YAO Qin, WANG Jingjing, LI Qian, WANG Sijie, HUANG Hua, LIU Ruming, ZHANG Jun (Dept. of Clinical Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To probe into the placental permeability of escitalopram by human placental extracorporeal circulation perfusion model. **METHODS:** Healthy and full-term human placentas that had just been delivered were selected, the placental extracorporeal circulation perfusion model was established and circularly perfused for 3 h. During this period, samples were taken from the maternal pool and the fetal pool, and the pH, PO₂, β -human chorionic gonadotropin, glucose consumption, lactate production, fluid loss from the fetal pool, the concentrations of positive controls of antipyrine and escitalopram were detected to assess the placental transmission rates. **RESULTS:** In this study, 158 human placental extracorporeal circulation perfusion models were performed, and 15 cases met the criteria for successful model establishment. After 3 h of circulation perfusion, the placental permeation rate of escitalopram was $(9.09 \pm 2.80)\%$ and the relative permeation rate was $(23.35 \pm 4.37)\%$. **CONCLUSIONS:** Escitalopram can penetrate the placenta in small dose and lead to fetal exposure to escitalopram.

KEYWORDS Escitalopram; Placental transfer; Extracorporeal human placental circulation perfusion

妊娠期抑郁为妊娠期较常见的精神疾病,可危害母婴健康,影响胎儿早期脑发育,造成子代永久性内分泌和神经功能受损^[1-2]。心理治疗效果不佳的重度抑郁患者应采取药物治疗。选择性5-羟色胺再摄取抑制剂(SSRI)以安全性方面的优势,已占据抑郁症治疗的主导地位,对于缺乏用药经验的妊娠期抑郁患者,指南推荐SSRI作为一线用药^[3-4]。其中,艾司西

酞普兰对5-羟色胺转运体选择性最强,不良反应较少,得到了较广泛的应用^[5]。但目前关于妊娠期艾司西酞普兰安全性的研究有限且存在争议,可获得的安全性资料较少^[6]。本研究采用人胎盘体外循环灌注模型,研究在母体侧有效剂量下,子体侧的直接药物暴露量以及药物的胎盘透过率,为临床提供直接、可靠的妊娠期用药安全性依据。

1 材料与方法

1.1 胎盘

胎盘均来源于我院产科临产室剖宫产或自然阴道分娩的健康足月(37~41周)胎盘。本研究方案经我院伦理委员会批准,且胎盘均为产妇签字同意交医院处理。胎盘娩出后立即浸于含肝素的0.9%氯化钠溶液中,10 min内运送回实验室,30 min内建立循环。

[△] 基金项目:云南省卫生和计划生育委员会医学人才培养计划项目(No. L-201614, No. D-2018043, No. H-2017051, No. H-2018081);云南省教育厅科学研究基金项目(No. 2019J1237);云南省基础研究计划—昆医联合专项项目(No. 2019FE001-208)

* 副主任药师。研究方向:体内药物分析。E-mail: 23357999@qq.com

通信作者:主任药师,硕士。研究方向:临床药学。E-mail: zhangjunyang@126.com

1.2 仪器

XPE105 型电子分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司); SB3222 型超声仪[必能信(上海)超声有限公司]; Simplicity 纯水仪(美国 Millipore 公司); 移液器(德国 Eppendorf 公司); 蠕动泵(美国 Cole-Parmer 公司); 磁力搅拌器、HH-6 型恒温水浴锅均购自常州国华电器有限公司; 密闭式静脉留置针(20 G×1.16", 批号: 1322498)、动脉采血器(批号: 1284336)和一次性血气分析针(批号: 5331863)均购自美国 BD 公司。

1.3 药品与试剂

艾司西酞普兰对照品(大连美仑生物技术有限公司, 纯度>99.9%, 批号: 00710AS); 安替比林对照品(瑞士 Adamas Reagent 公司, 纯度>99.9%, 批号: 100506-200301); 0.9% 氯化钠注射液(上海百特有限责任公司, 批号: S1709062); Krebs-Ringer Bicarbonate Buffer(迈晨科技有限公司, 批号: 11801060); 5% 碳酸氢钠注射液(遂成药业股份有限公司, 国药准字 H41021050, 批号: 11807201); 注射用青霉素钠(华北制药股份有限公司, 国药准字 H13020657, 批号: F7032124); 肝素钠注射液(江苏万邦生化医药股份有限公司, 国药准字 H32020612, 批号: 51809105); 小牛血清蛋白干粉(美国 VWR Life Science 公司, 批号: 0306C272); 低分子右旋糖酐干粉(瑞士 Adamas Reagent 公司, 批号: P1054729); 超纯水(自制,

Millipore 纯水仪)。

1.4 胎盘体外循环的建立

本研究采用课题组前期成功建立并已获得专利的人胎盘体外循环灌注模型^[7-8], 在母体侧选择一块完好的小叶, 在对应的子体侧选择一对相互伴行的动脉、静脉血管进行穿刺插管, 结扎动脉上下两端的多余分支, 建立单个胎盘小叶子体侧循环。灌入灌流液后若无液体渗出且动静脉流速一致, 则将胎盘母体侧向上放入托盘内, 置于 37℃ 恒温水浴中, 将一端连接有导管的两根钝头针插入灌流小叶母体绒毛膜间隙 2~3 mm, 建立母体侧循环。通过蠕动泵, 分别向母体侧和子体侧泵入灌流液, 建立胎盘小叶母体侧和子体侧闭合循环, 如图 1—2。

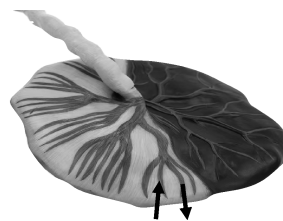
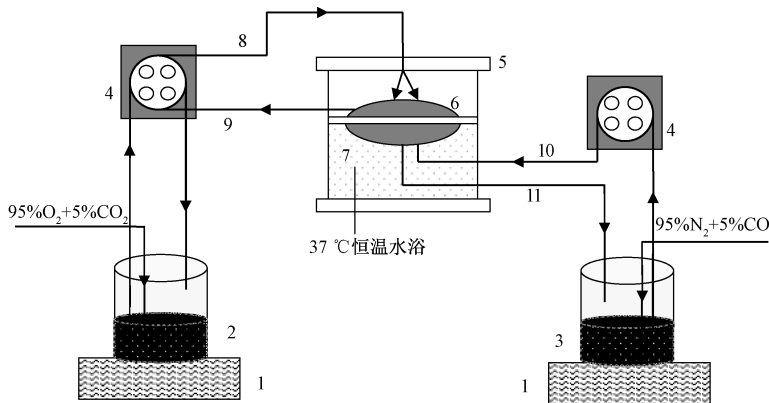


图 1 子体侧单个胎盘小叶单向循环灌注模型示意图
Fig 1 Schematic diagram of unidirectional circulation perfusion model of a single placental cotyledon of the fetal



1. 磁力加热搅拌器; 2. 母体侧灌流池; 3. 子体侧灌流池; 4. 蠕动泵; 5. 胎盘舱; 6. 灌注胎盘小叶; 7. 恒温水浴槽; 8. 母体动脉; 9. 母体静脉; 10. 子体动脉; 11. 子体静脉; 血流及气流方向如箭头所示

1. magnetic heated stirrer; 2. maternal perfusion pool; 3. fetal perfusion pool; 4. peristaltic pump; 5. placenta capsule; 6. perfusion of placental cotyledon; 7. homothermal water-bathing; 8. maternal arterial; 9. maternal venous; 10. fetal arterial; 11. fetal venous; the arrow represents the direction of blood flow and airflow

图 2 单个胎盘小叶双向循环灌注模型

Fig 2 Schematic diagram of bidirection circulating perfusion model of a single placenta cotyledon

整个实验均在 37℃ 条件下完成。胎盘灌流液为 Krebs-Ringer 缓冲液[含葡萄糖(Glu) 1.8 g/L, 氯化钾 0.34 g/L, 氯化镁 0.046 g/L, 氯化钠 7.0 g/L, 磷酸二氢钠 0.18 g/L, 磷酸氢二钠 0.1 g/L]加入肝素钠注射液 25 IU/mL、注射用青霉素钠 1 600 IU/mL、小牛血清蛋白 30 g/L、右旋糖酐 8.4 g/L(母体池)和右旋糖酐 30 g/L(子体池), 再加入适量碳酸氢钠注射液调节 pH 至 7.20~7.40^[7,9], 充分搅拌溶解。灌流开始前, 子体池通入 95% N₂/CO₂ 模拟子宫内低氧环境, 母体池通入 95% O₂/CO₂ 保证母体侧氧含量。蠕动泵速度为子体侧 3 mL/min, 母体侧 12 mL/min。

正式灌注前先进行 30 min 预灌注, 清除动脉、静脉血管内

残留的血液, 使温度、气体分压和灌流流速等达稳定状态。预灌注结束后, 换用新鲜的 Krebs-Ringer 缓冲液, 在母体池加入的艾司西酞普兰和阳性对照物安替比林标准溶液, 使得艾司西酞普兰和安替比林的浓度分别为 100 ng/mL 和 100 μg/mL。持续灌注 3 h, 于 0、10、20、30、45、60、90、120、150 和 180 min 取样, 用本实验室所建立的超快速液相色谱-串联质谱法测定母体池和子体池艾司西酞普兰和安替比林浓度。于 0、30、60、90、120、150 和 180 min 取样, 测定 Glu、乳酸(Lac)、β-人绒毛膜促性腺激素(β-hCG)、pH 和氧分压(PO₂) 水平。

1.5 人胎盘体外循环灌注模型评价指标

以下条件均满足, 则人胎盘体外循环灌注模型建立成功。

1.5.1 温度:实验过程中,为模拟人体子宫内的正常温度,放置胎盘的水浴槽以及母体池和子体池中灌流液的温度均需维持在 36.5~37.5 °C。

1.5.2 子体侧渗漏量:渗漏量是模型建立是否成功的最直观表现形式。循环灌注过程中,胎盘结构损伤及循环灌注压力可能导致子体侧灌流液渗出,蓄积在胎盘血管或组织内,导致实验结果不可靠。但由于灌流液需持续加热、通入气体,也会存在一定量的液体蒸发,因此,该模型实验过程中允许但限制子体池中有少量液体损失。循环结束时量取子体池中灌流液体积,子体侧渗漏率 $\leq 4 \text{ mL/h}^{[10]}$,3 h 渗漏量应 $< 12 \text{ mL}$ 。

1.5.3 pH、PO₂:人体内酸碱平衡是维持机体进行正常生理活动的重要条件之一。实验过程中,子体池和母体池灌流液 pH 需维持在 7.20~7.40,以保证胎盘组织的正常代谢功能^[7,9]。O₂ 是维持胎儿生命最重要的物质,实验过程中,为维持胎盘小叶活性,子体池灌流液 PO₂ 应维持在 75~112.5 mm Hg (1 mm Hg=0.133 kPa),母体池灌流液 PO₂ 应维持在 187.5~262.5 mm Hg^[9,11]。

1.5.4 Glu、Lac 检测:机体代谢过程中的呼吸作用会消耗 Glu,同时代谢产生 Lac。母体侧循环与子体侧循环持续有 Glu 消耗及 Lac 生成,且 Glu 消耗量(ΔGlu)与 Lac 生成量(ΔLac)无较大波动,表明被灌注小叶组织活性正常,即 $\Delta\text{Glu} > 0$, $\Delta\text{Lac} > 0$ ($\Delta\text{Lac} = C_b - C_a$, $\Delta\text{Glu} = C_a - C_b$, C_a 表示前一个时间点含量测定结果, C_b 表示后一个时间点含量测定结果)。

1.5.5 β -hCG 生成量($\Delta\beta$ -hCG): β -hCG 是人绒毛膜促性腺激素的 β 亚单位,是由胎盘合体滋养层细胞分泌的一种糖蛋白。正常活性的人胎盘能够持续分泌 β -hCG,即母体池胎盘灌流液中 $\Delta\beta$ -hCG >0 ($\Delta\beta$ -hCG = $C_b - C_a$)。

1.5.6 安替比林透过率:安替比林是人类胎盘体外循环灌注模型中常用阳性标记物。安替比林可通过被动扩散的方式透过胎盘屏障进入胎儿循环,且其胎盘透过率不受灌流液中蛋白含量以及灌流液中其他药物的影响,因此,其透过率也是评判胎盘体外循环灌注模型中胎盘活性的标准之一。一般要求当安替比林经胎盘转运达到平衡后,安替比林胎盘透过率 $> 20\%$ ^[9,12]。

1.6 艾司西酞普兰胎盘透过率

药物胎盘透过率计算公式为,透过率 = $C_{F(180 \text{ min})} / C_{M(0 \text{ min})}$,即子体池最终药物浓度与母体池初始浓度之比。

1.7 灌流液中安替比林及艾司西酞普兰浓度检测

使用课题组建立的高效液相色谱-串联质谱法测定灌流液中安替比林及艾司西酞普兰的浓度,详见文献[13-14]。

2 结果

本研究共进行了 158 例人类胎盘体外循环灌注模型的建立,符合模型建立成功所有评价指标的共 15 例。

2.1 人胎盘体外循环灌注模型成功建立的评价指标结果

2.1.1 温度:本研究成功建立的 15 例艾司西酞普兰人类胎盘体外循环灌注模型中,在 3 h 的双向循环灌注过程中,水浴槽内、子体池与母体池内胎盘灌流液的温度均维持在 36.5~37.5 °C 的正常范围内,能够模拟人体子宫内的正常温度,符合循环建立成功的评价指标。

2.1.2 子体侧渗漏量:本研究成功建立的 15 例艾司西酞普兰

人胎盘体外循环灌注模型中,在 3 h 的双向循环灌注过程中子体侧漏液量 $< 12 \text{ mL}$,漏液率均 $< 4 \text{ mL/h}$,符合循环建立成功的评价指标。

2.1.3 pH、PO₂:本研究成功建立的 15 例艾司西酞普兰人胎盘体外循环灌注模型中,3 h 循环灌注过程子体池和母体池 pH、PO₂ 见表 1。两池胎盘灌流液中 pH 均维持在 7.20~7.40;子体池与母体池 PO₂ 均符合要求。

表 1 艾司西酞普兰胎盘透过性实验中 pH、PO₂ 结果 ($\bar{x} \pm s, n = 15$)

Tab 1 pH and pO₂ in the placental permeability test of escitalopram ($\bar{x} \pm s, n = 15$)

时间/min	子体侧		母体侧	
	pH	PO ₂ /mm Hg	pH	PO ₂ /mm Hg
0	7.36±0.13	137.07±19.07	7.32±0.15	190.8±31.95
30	7.33±0.16	120.64±24.90	7.29±0.17	196.1±50.37
60	7.31±0.15	102.47±29.00	7.27±0.17	192.2±39.70
90	7.35±0.15	105.13±25.29	7.26±0.16	192.5±20.43
120	7.36±0.13	108.60±23.53	7.29±0.14	195.7±29.37
150	7.40±0.14	95.07±31.95	7.31±0.12	195.0±30.31
180	7.42±0.15	100.27±32.98	7.33±0.12	193.3±32.17

2.1.4 ΔGlu 、 ΔLac 及 $\Delta\beta$ -hCG:本研究成功建立的 15 例艾司西酞普兰人胎盘体外循环灌注模型中,子体池与母体池的 ΔGlu 、 ΔLac 、母体池的 $\Delta\beta$ -hCG 见表 2。3 h 循环灌注过程中, ΔGlu 和 ΔLac 均 >0 ,母体侧 $\Delta\beta$ -hCG >0 ,提示整个循环灌注过程中胎盘组织始终保持活性。

表 2 艾司西酞普兰胎盘透过性实验中 ΔGlu 、 ΔLac 及 $\Delta\beta$ -hCG ($\bar{x} \pm s, n = 15$)

Tab 2 Consumption of ΔGlu , ΔLac and $\Delta\beta$ -hCG in the placental permeability test of escitalopram ($\bar{x} \pm s, n = 15$)

时间/min	子体侧		母体侧		
	$\Delta\text{Glu}/(\text{mg/dL})$	$\Delta\text{Lac}/(\text{mmol/L})$	$\Delta\text{Glu}/(\text{mg/dL})$	$\Delta\text{Lac}/(\text{mmol/L})$	$\Delta\beta$ -hCG/(mIU/mL)
30	1.06±2.51	0.25±0.37	1.37±0.50	2.95±1.31	—
60	0.24±0.23	0.34±0.25	1.00±0.46	2.25±0.82	1 006.74±615.32
90	0.35±0.25	0.50±0.41	0.78±0.43	2.12±0.87	885.45±699.96
120	0.42±0.27	0.53±0.35	0.79±0.27	1.53±0.37	681.07±650.96
150	0.50±0.28	0.66±0.36	0.57±0.24	1.47±0.39	426.13±301.27
180	0.24±0.17	0.61±0.28	0.58±0.27	1.05±0.60	557.40±544.11

注:“—”表示未检测

Note:“—” means undetected

2.1.5 安替比林胎盘透过率:本研究成功建立的 15 例人胎盘体外循环灌注模型中,安替比林经胎盘转运达平衡后透过率见表 3。安替比林经胎盘转运的透过率-时间图见图 3。当循环灌注至 150~180 min 时,安替比林胎盘透过率趋近平衡,循环灌注结束时,安替比林平均胎盘透过率为 (38.41±6.91)% $> 20\%$,符合循环建立成功的评价指标。

2.2 艾司西酞普兰胎盘透过率结果

本研究共成功建立艾司西酞普兰灌流的人胎盘体外循环灌注模型 15 例,3 h 灌流结束后,艾司西酞普兰的平均胎盘透过率为 (9.09±2.80)%,见表 4、图 3。为减少因胎盘小叶厚度、大小等不同产生的差异,同时计算了艾司西酞普兰的相对透过率,即艾司西酞普兰与安替比林透过率的比值,以减少误差,见表 5。

3 讨论

妊娠期使用艾司西酞普兰的研究涉及伦理原则,可获得的

表3 胎盘透过性实验中安替比林的平均胎盘透过率 ($\bar{x}\pm s, n=15$)

Tab 3 Mean placental permeation rate of antipyrine in the placental permeability test ($\bar{x}\pm s, n=15$)

时间/min	安替比林平均胎盘透过率/%
0	ND
10	5.38±4.13
20	11.00±5.38
30	16.80±6.14
45	21.48±6.84
60	25.41±6.70
75	28.79±7.31
90	31.08±7.85
120	34.90±7.90
150	37.47±8.33
180	38.41±6.91

注:“ND”表示浓度低于最低定量限

Note:“ND” means the concentration is below the minimum quantitative limit

表4 艾司西酞普兰胎盘透过性实验中艾司西酞普兰的平均胎盘透过率 ($\bar{x}\pm s, n=15$)

Tab 4 Mean placental permeation rate of escitalopram in the placental permeability test of escitalopram ($\bar{x}\pm s, n=15$)

时间/min	平均透过率/%
0	ND
10	0.63±0.78
20	1.84±1.40
30	4.10±1.84
45	5.73±2.09
60	7.16±2.34
75	8.20±2.24
90	8.62±2.47
120	9.18±2.35
150	9.16±2.81
180	9.09±2.80

注:“ND”表示浓度低于最低定量限

Note:“ND” means the concentration is below the minimum quantitative limit

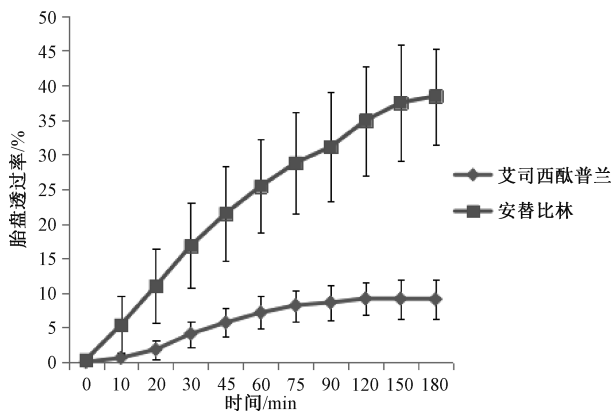


图3 15例艾司西酞普兰胎盘透过性实验中艾司西酞普兰和安替比林平均胎盘透过率

Fig 3 Mean placental permeation rates of escitalopram and antipyrine in the 15 cases of placental permeability test of escitalopram

临床数据有限。多数研究为回顾性研究,且结果差异较大。本研究首次利用人类胎盘体外循环灌注模型研究艾司西酞普兰在我国人群中的胎盘透过性。结果表明,艾司西酞普兰的平均胎盘透过率约为9.09%。药物经胎盘转运的程度取决于胎盘的功能活性、脐动静脉血液流速、母体子宫螺旋动脉血液流速、

表5 艾司西酞普兰胎盘透过性实验中艾司西酞普兰的相对胎盘透过率 ($\bar{x}\pm s, n=15$)

Tab 5 Relative placental permeation rate of escitalopram in the placental permeability test of escitalopram ($\bar{x}\pm s, n=15$)

编号	相对透过率/%	平均相对透过率/%
1	29.76	23.35±4.37
2	18.67	
3	17.46	
4	20.09	
5	17.87	
6	22.54	
7	28.70	
8	22.97	
9	23.05	
10	28.78	
11	19.62	
12	29.95	
13	21.79	
14	26.44	
15	22.55	

药物的理化性质、药物的药动学特性以及胎盘转运蛋白影响等。实验过程中,建立严格的质控标准,如pH、PO₂、ΔGlu、ΔLac、子体侧渗漏量、母体侧Δβ-hCG以及安替比林胎盘透过率均符合要求,保证胎盘维持正常活性和功能;通过查阅文献和预实验^[7,11-12],选择子体侧3 mL/min,母体侧12 mL/min的灌注速度,模拟母体子宫内血液流速及子体内血液流速;艾司西酞普兰血浆蛋白结合率较高,约80%,药物可能与血浆蛋白、胎盘小叶组织中蛋白结合,影响药物的胎盘透过性。本实验灌注液中加入接近妊娠期正常生理水平的蛋白含量,但由于人体内蛋白含量存在个体差异,可能会对本研究结果造成一定的影响。同时,药物经胎盘转运过程中还受转运蛋白的影响,目前研究结果发现大部分SSRI是外排转运体P糖蛋白(P-gp)的底物^[15-16],并对摄入转运体有机阳离子转运体3(OCT3)的转运功能有抑制作用^[17],P-gp能够将细胞内的药物泵回到母体侧,OCT3抑制药物从胎盘到子体侧的转运,从而减少妊娠期服用SSRI患者体内药物的胎儿暴露。尚未见针对艾司西酞普兰在胎盘屏障中相关转运蛋白的研究。

目前,利用人类胎盘体外循环灌注模型对SSRI进行研究的报道仅有1篇国外研究和1篇本课题组研究。Heikkine等^[18]利用该模型对氟西汀和西酞普兰进行了灌注,结果表明,2 h灌注结束后,氟西汀和西酞普兰透过率分别为8.7%和9.1%。其透过率计算方法与本研究不同,若本研究采用Heikkine等研究中的透过率计算方法,15例艾司西酞普兰平均胎盘透过率为4.45%。不同胎盘小叶之间存在大小、绒毛层厚度、血管壁厚度等差异,会造成胎盘透过率的差异。本课题组采用与本研究相同方法研究了氟西汀、去加氟西汀和舍曲林的胎盘透过性,其透过率分别为8.74%、10.7%和5.9%^[19]。与本研究结果相比较,舍曲林的胎盘透过率相对较低,提示胎儿的药物暴露及相关风险相对较小。

此外,本研究使用的胎盘均为足月胎盘,结果仅能代表艾司西酞普兰在足月胎盘屏障中的转移,不能代表整个妊娠期,这也是本实验的一个重要局限性。

综上所述,艾司西酞普兰可透过胎盘,妊娠期间母亲服用

(下转第1314页)