论著

文章编号:1000-5404(2008)06-0530-03

巴马香猪腹腔皮下种植子宫内膜建立子宫内膜异位症模型的研究

马玉霞,王 琳,孔 燕,梁志清 (第三军医大学西南医院妇产科,重庆 400038)

摘 要:目的 为研究子宫内膜异位症(endometriosis, EMS)的治疗提供理想的动物模型。**方法** 选取雌性巴马香猪6头,从子宫后壁选取内膜组织,种植于腹腔和皮下,观察异位组织变化情况。**结果** 皮下和腹腔种植的部分内膜组织形成异位病灶,呈包块或小囊泡状。病理证实为子宫内膜,表明动物建模成功。**结论** 成功建立子宫内膜异位症的动物模型。

关键词:子宫内膜异位症;动物模型;巴马香猪

中图法分类号:R-332;R617;R711.71 **文献标识码**:A

Establishment of animal model of endometriosis in Bama miniature pigs

MA Yu-xia, WANG Lin, KONG Yan, LIANG Zhi-qing (Department of Gynecology and Obstetrics, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To establish an animal model to study endometriosis. Methods Six female Bama miniature pigs that were sexually mature were chosen and their endometrial tissues were acquired surgically. The endometrial tissues were implanted to abdominal cavity and subcutaneous tissues. Results The ectopic endometria in the implant location formed mass or cyst that was verified pathologically to be similar to normal endometrial tissues. Conclusion The establishment of ectopic endometriosis in Bama miniature pigs is successful, which provides an ideal model for further therapeutic study of endometriosis.

Key words: endometriosis; animal model; pig

子宫内膜异位症(endometriosis, EMS)是具有生长功能的子宫内膜出现于正常子宫内膜以外部位生长所致疾病,主要引起不孕、痛经、盆腔包块等,是妇科常见疾病之一。人群发病率达10%~15%,且有逐渐增加的趋势[1],严重影响生育年龄妇女的身心健康,也是妇科领域的重要研究课题之一。巴马香猪与人的亲缘关系近,采用手术自体移植的方法以建立EMS模型,为下一步的治疗研究提供基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 健康雌性成熟未孕巴马香猪6头,体质量13~14 kg,4~5月龄,由第三军医大学实验动物中心提供并饲养。

1.1.2 实验器材和药物 常规手术器械包一套、两脚规,苯甲酸雌二醇注射液[2 mg/ml,上海通用药业股份有限公司,(国药准字H 31021114)]、盐酸氯胺酮注射液[福建古田药业有限公司(国药准字H 35020148)]、速眠新Ⅱ注射液[军事医学科学院军事兽医研究所(长春 吉.兽药试字2004)(005013)]。

作者简介:马玉霞,女,甘肃省临夏市人,硕士研究生,主治医师,主要从事女性不孕方面的研究。电话:(023)68773147

通信作者:王 琳,电话:(023)68765399,E-mail: drwangl@yahoo.com.cn

收稿日期:2007-10-12;修回日期:2008-01-06

1.2 方法

1.2.1 术前准备 术前3、6 d分次注射苯甲酸雌二醇30 μg/kg。

1.2.2 麻醉方法 皮下注射盐酸氯胺酮15 mg/kg、速眠Ⅱ注射液0.1 ml。

1.2.3 建立模型

1.2.3.1 腹腔种植 备皮、消毒、铺巾,取下腹正中耻骨联合上1 cm做纵形切口2~3 cm,入盆腔后于子宫后壁正中切开0.5 cm,取出内膜组织约100 mg,切成2~3 mm的碎片,无菌PBS冲洗2次,去除血块和细胞碎屑,再放入青、链霉素各100 U/ml的PBS溶液,60 min内种植于子宫切口、前壁和底部,左侧阔韧带、卵巢和输卵管;对应的右侧阔韧带、卵巢和输卵管用小刀划痕,取肠系膜脂肪组织直接种植,4-0丝线缝合于划痕处;庆大霉素、生理盐水冲洗腹腔,关腹。术后肌注青、链霉素各80万U,连续5 d;每5天注射苯甲酸雌二醇30 μg/kg。

1.2.3.2 皮下种植 备皮、消毒腋下及腹股沟,铺巾,24处做纵形切口0.5 cm,切至皮下组织,种植采取的内膜组织,缝合。

1.3 观察指标和方法

每周2次触摸皮下内膜组织种植灶,观察包块情况。3周后开腹,两脚规测量移植灶体积。

取内膜、脂肪种植灶,HE染色,光镜观察腹腔及皮下种植灶组织形态学特点。

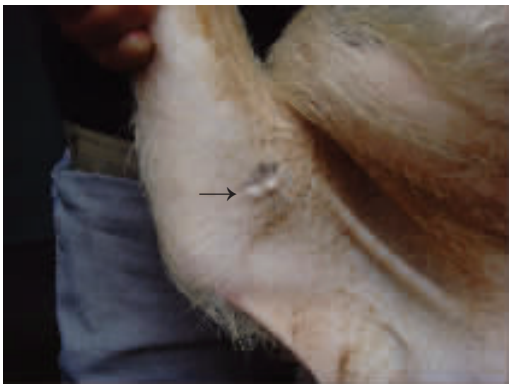
1.4 统计学方法

采用SPSS 12.0统计软件行χ^2检验和t检验,数据用$\bar{x} \pm s$表示。

2　结果

2.1　皮下种植灶

术后 1 周 ,6 头巴马香猪皮下种植部位均可扪及米粒大包块,质硬、边界清、尚活动、进行性增大;3 周后 75% 种植部位增生突起。见图 1。

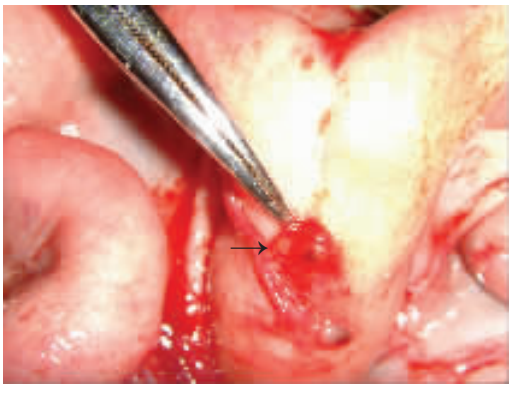


→:种植结节形成

图 1　皮下种植 3 周后皮下种植结节大体观察

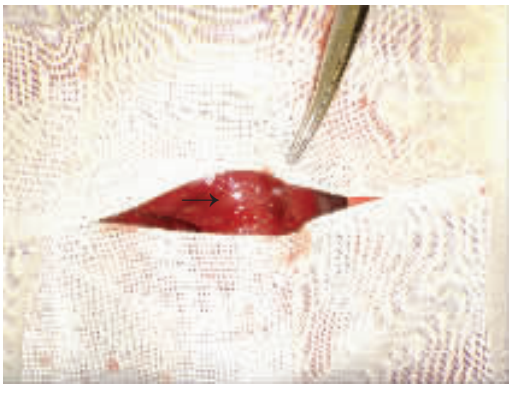
2.2　腹腔种植灶

腹腔 3 处内膜种植点与腹壁粘连紧密,不易分离,余其他点与周围组织粘连,易分离,91.7% 种植部位形成淡黄色质硬或囊性结节,取增生病灶送病检时囊性结节破裂,壁薄、内容黏稠膏状;见图 2、3。脂肪组织种植点未见结节形成。



→:种植结节形成

图 2　腹腔种植 3 周后子宫后壁大体观察



→:囊性种植结节形成

图 3　腹腔种植 3 周后子宫底部大体观察

2.3　移植内膜成活率

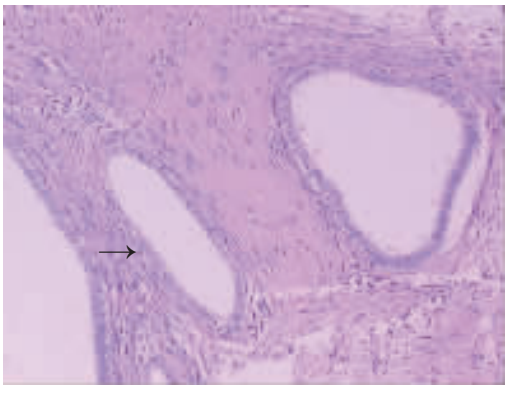
皮下种植 24 处,成功 18 处(75.0%),腹腔种植 36 处,成功 33 处(91.7%)($\chi^2 = 1.966$, $P = 0.161 > 0.05$,两者无显著性差异)。

2.4　异位病灶的体积

腹腔异位病灶 33 处,异位病灶体积(38.28 ± 12.15) mm^3,皮下异位病灶 18 处,异位病灶体积(33.25 ± 11.51) mm^3,两处异位病灶的体积相比差异无显著性差异($P > 0.05$)。

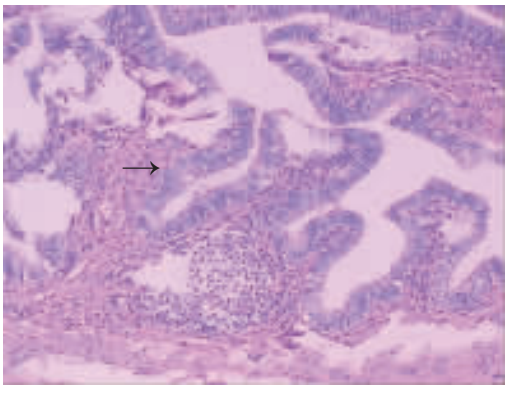
2.5　病理观察

种植组织含有子宫内膜上皮细胞、腺体和间质的生长,部分腺腔极度扩大,有乳头状突起,腺上皮呈柱状或立方形并有分泌活动,无有丝分裂相或侵袭性特征。见图 4、5。



→:具有腺体和间质

图 4　皮下种植 3 周后种植灶病理观察　(HE × 100)



→:具有腺体和间质

图 5　腹腔种植 3 周后卵巢种植灶病理观察　(HE × 100)

3　讨论

子宫内膜异位症是妇科常见病,有恶性生长特点,发病机制尚未完全阐明,种植学说占据主导地位[2]。近年由于剖腹产、人工流产等因素使该病有明显上升趋势,迫切需要积极有效的治疗。由于伦理学问题,很难在人体中进行子宫内膜异位症的对照研究,更不能反复进行创伤性检查。为了研究子宫内膜异位症的发病机制和治疗效果,需要建立子宫内膜异位症的动物

模型。许多动物如:狒猴、猕猴、兔等可以作为子宫内膜子宫内膜异位症的模型[3-5]。狒猴、猕猴具有月经周期,成本太高,面临绝种,受到国家保护;兔无动情周期,与人体情况相差较大,故不易建模。本研究选用雌性巴马香猪作模型,是因为猪与人的亲缘关系近,基因组有明显的同源性,复杂度和结构十分相似,器官大小、质量接近,便于观察,子宫内膜呈周期性变化,且成本低,因此,巴马香猪是器官移植和疾病模型的理想材料[6]。

本研究采用腹腔种植和皮下种植的方法建立动物模型。不同的方法在种植部位均成功形成子宫内膜异位灶,实验中观察到异位病灶的形成并体积不断增大,异位灶病检具有腺体和间质,得到病理检查证实。表明动物模型成功建立。通过本实验验证,采用手术方法建模成功率较高。皮下6处、腹腔3处未形成异位灶。分析原因:①多考虑与取材有关。有关研究表明[3]:单独的腺体和间质种植不能成活,皮下种植的组织未形成异位灶,自然消失。②本实验腹腔种植灶3处因严重粘连,无法分离,没有观察到形成的异位灶。这与手术开腹所造成创伤有关。③开腹观察右侧阔韧带、卵巢、输卵管处种植的脂肪组织未形成包块,导致自然消退。这与异位病灶形成需经过粘附、侵袭和血管生成等过程并需完整的内膜组织结构有关,脂肪组织未含有腺体和间质更无血管的形成过程,因此,不可能形成异位灶,出现自然消退过程。

由此可见,采用不同方法和部位建立动物模型各有所长。归纳如下:①腹腔种植定位准确,但开腹创伤大、出血多、操作复杂,容易造成粘连、感染、观察和测量病灶有一定难度等问题;②皮下种植可连续、动态、直观地观察种植灶变化,且具有操作简单的优点,但不能更好地体现异位灶在宿主体内的自然生长过程;因此,采用2种不同的方法成功建模,利弊兼顾,扬长避短,更能准确反应病变的过程。

总之,理想的动物模型应尽可能地与人类疾病发生过程相似,能够准确再现疾病的特征和病情变化。本实验采用雌性巴马香猪,应用手术方法,成功建立子宫内膜异位症动物模型。实验中种植灶体积增大并形成结节,体现了子宫内膜增殖能力的特性,再现了异位症发生的特点。因此,模型的成功建立,为进一步探讨有效的治疗子宫内膜异位症提供了可靠的依据。

参考文献:

[1] Wells M. Recent advances in endometriosis with emphasis on pathogenesis, molecular pathology, and neoplastic transformation[J]. Int J Gynecol Pathol, 2004, 23(4): 316-320.

[2] 郎景和. 子宫内膜异位症研究的新里程[J]. 中华妇产科杂志, 2005, 40(1): 3-4.

[3] Silva J C R, Silva A C J S R, Reis F J C, *et al*. Development of an experimental model of endometriosis in rabbits[J]. International Congress Series, 2004, 1271: 248-251.

[4] Fisseha S, D'Hooghe T, Chai D, *et al*. V-3 Baboon model of endometriosis[J]. Fertil Steril, 2006, 86(3 Suppl): S516.

[5] Mwenda M, Kyama Cleophas M, Chai D C, *et al*. The baboon as an appropriate model for the study of multifactoral aspects of human endometriosis[M]// Wolfe-Coote S. The Laboratory Primate. Amsterdam: Academic Press Inc, 2005: 549-560.

[6] 罗 刚, 张 乐, 刘连生, 等. 我国实验用小型猪的应用研究前景[J]. 实验动物科学与管理, 2004, 6(2): 37-38.

(编辑 王 红)

(上接529页)

3 讨论

本实验观察到,吗啡戒断组大鼠肠系膜微循环明显障碍,说明模型成立。石菖蒲挥发油能够改善吗啡戒断大鼠肠系膜微循环障碍,而且在减少毛细血管渗出方面明显优于654-2,在改善微血管口径、血流速度方面与654-2的治疗作用无明显差异。654-2可能通过解除微血管痉挛、抑制血小板聚集、增加红细胞的变形性而起作用[2,3];石菖蒲挥发油可能通过抑制吗啡依赖大鼠戒断症状起作用[1],或者与石菖蒲挥发油直接作用于血管有关[4]。关于石菖蒲挥发油对吗啡戒断大鼠的肠系膜微循环障碍改善的机制还有待进一步探讨。

关键词: 石菖蒲挥发油;654-2(山莨菪碱);吗啡戒断;肠系膜;微循环障碍

中图法分类号: R971 **文献标识码:** B

参考文献:

[1] 刘秀平, 王亚龙, 张宏馨, 等. 石菖蒲水煎剂对吗啡依赖大鼠戒断症状的治疗作用[J]. 中国疼痛医学杂志, 2007, 13(3): 164-165, 170.

[2] 孙丽莎, 翟 辉, 杨露春. 红细胞变形能力的机制探讨[J]. 中国血液流变学杂志, 1998, 8(2): 5-7.

[3] 鲍颖霞, 李庆平, 汪 海. 山莨菪碱舒张微血管作用与血管内皮的关系[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2003, 17(1): 11-14.

[4] 赖先银, 梁 鸿, 赵玉英. 菖蒲属植物的化学成分和药理活性研究概况[J]. 中国中药杂志, 2002, 27(3): 161-165, 198.

(编辑 王小寒)