维普资讯 http://www.cqvip.com

氯蔗酚胺治疗前后的子宫内膜染色体分析

第二医院妇产科 彭 林 顾美礼

提 要 研究了用直接法制备子宫内膜细胞染色体的技术及细胞分裂相与组织学分期的关系。结果显示直接法制备子宫内膜细胞染色体成功率为40.3%，增生期与分泌期子宫内膜组织的分裂相出现率统计学上无显著性差别。用子宫内膜细胞染色体畸变率分析方法对服用氯蔗酚胺的妇女于用药前、用药三月、用药六月作子宫内膜细胞染色体的自身对照研究，结果提示氯蔗酚胺对用药妇女子宫内膜无可察觉的致突变、致癌的遗传学效应

关键词 氯蔗酚胺 子宫内膜 染色体
中图分类号 R977.1 R711 Q78

子宫内膜染色体分析是医学遗传学、遗传毒理学的新的研究课题，国内未见报道。由于制备染色体技术要求高、难度大，细胞分裂指数不多，结果不够理想，进展不大，我们对直接法制备子宫内膜染色体的技术进行了研究，并应用于探讨临床最常用的促排卵药物氯蔗酚胺的遗传学效应，对其遗传安全性进行评价。

材料与方法

1. 观察对象

选择一年以上不孕妇女为研究对象，在月经来潮前1～5天取内膜组织，时间根据患者月经周期及基础体温确定。病理组织检查结果：(1)增生晚期子宫内膜19例。(2)分泌中期子宫内膜102例。(3)分泌晚期子宫内膜33例。共制备154例标本。

不孕两年以上门诊就诊妇女，排除生殖道畸形，输卵管因素及男方不育因素，诊断为无排卵或黄体功能不全的患者18名为服用氯蔗酚胺的对象，年龄24～34岁，平均29岁，无全身器质性疾病及家族遗传病史，以往未服过氯蔗酚胺及其它性激素药物。作用药前、用药三月、用药六月的自身对照研究。15名作用药前、用药三月自身对照，12名作用前药、用药六月自身对照（其中9名为用药三月、六月连续观察对象）。氯蔗酚胺用法：月经周期第五天开始服用，50～150mg/日×5天，连续服用三月或六月。

2. 取 材

用刮匙刮取内膜组织20～30mg，平均分成2～3份，其中1份送病理组织检查，剩余的1～2份制备染色体标本，每份标本制片3～4张。

3. 观察项目

对氯蔗酚胺用药前，用药三月、六月妇女作子宫内膜细胞染色体畸变分析。每例观察15～20个中期分裂相，记录染色体数目异常（超二倍体、亚二倍体、多倍体）和结构异常（染色单体断裂、染色体断裂、裂隙、环状染色体、双着丝粒染色体），分别计算出异常数及百分率。

4. 制备染色体方法

采用Bowey[1]的直接法进行改良，将获取的新鲜子宫内膜组织在生理盐水中洗净，每份重量10mg，放入含20%小牛血清的RPMI 1640培养基中（pH 7.2），用眼科剪尽量绞碎。加秋水仙素0.4μg/ml，置37℃温浴中2～2$\frac{1}{2}$h，去培养液，加入预热的0.075 M KCl 8ml，低渗25～30min，去低渗液，加入

维普资讯 http://www.cqvip.com

1ml甲醇、冰醋酸(3:1)混合液预固定1min，去固定液，然后反复两次加入5ml固定液固定10min后，去固定液，再加入2ml固定液置室温下过夜至清晨，800转/5分钟离心，去上清液，加入少许固定液混匀，将细胞悬液滴在冰冻玻片上，空气干燥，常规Giemsa染色，镜检。

结 果

1. 直接法制备子宫内膜染色体的成功率

154例子宫内膜标本制片有62例出现分裂相，占40.3%，可进行核型分析的有57例，占37.0%，分裂相数目的分布情况见表1。

2. 组织学分期与分裂相出现率的关系

三组作x^2检验，P>0.05，统计学上无显著性差别。

3. 氯蔗酚胺用药前后组比较

（1） 用药前组与用药三月比较

用药前组染色体数目异常率4.84%，结构异常率1.61%，用药三月组染色体数目异常率6.60%，结构异常率为2.20%，两组畸变率分别作u检验，P>0.05，统计学上无显著性差别。结果见表3。

（2） 用药前组与用药六月组比较

用药前组染色体数目异常率为4.44%，结构异常率为1.67%，用药六月组数目异常率为4.19%，结构异常率为3.59%，两组畸变率分别作u检验，P>0.05，统计学上无显著性差别。结果见表4。

表1 细胞分裂相数目的分布情况

每一标本分裂相数(个)	1～5	6～10	11～15	16～20	21～25	26～30
例数	9	23	14	11	4	1

表2 组织学分期与分裂相出现率的关系

组织学分期	例数	阳性例数	阳性率%	分裂相均数 ($\bar{X}\pm Se$)
增生晚期	19	5	26.3	21.00±11.83
分泌中期	102	46	45.0	15.09±11.53
分泌晚期	33	11	33.3	13.67± 8.94

表3 15例用药前，用药三月妇女的子宫内膜细胞染色体畸变

组别	观察细胞数	染色体数目				数目异常%	染色体结构异常					结构异常%
		二倍体	亚二倍体	超二倍体	多倍体		染色体断裂	裂隙	环状染色体	双着丝粒染色体		
服药前	310	295	10	4	1	15 4.84	1	4	0	0	5	1.61
服药三月	227	212	13	2	0	15 6.60	2	2	1	0	5	2.20

表4 12例服药前、服药六月妇女子宫内膜细胞染色体畸变

组别	观察细胞数	染色体数目				数目异常%	染色体结构异常					结构异常%
		二倍体	超二倍体	亚二倍体	多倍体		染色体断裂	裂隙	环状染色体	双着丝粒染色体		
服药前	180	172	0	8	0	8 4.44	2	1	0	0	3	1.67
服药六月	167	160	1	6	0	7 4.19	4	2	0	0	6	3.59

维普资讯 http://www.cqvip.com

讨 论

1. 直接法制备子宫内膜染色体的成功率

子宫内膜活检取材方法简便，对人体危害性及损伤性小，内膜组织又有周期性变化在一月内可自行修复且可重复取材的特点。从增生期开始，内膜组织生长旺盛，功能活跃，上皮及间质细胞核分裂相增多。我们采用的方法是直接法制备子宫内膜的自发性有丝分裂细胞。实验结果在154例中，62例出现分裂相占40.3%，其中可供进行丹佛体制核型分析者57例占37.0%。略高于Bowey及Stanley[2]直接法制备染色体的成功率25.6%与26.2%。子宫内膜细胞不同于PHA刺激生长的外周血淋巴细胞以及生长旺盛的绒毛膜细胞，自发性分裂指数低。但从制备的染色体形态分散较佳来看，此方法获得了一定的成功。

绒毛细胞直接制备染色体取得成功以来，该技术已较普遍用于产前诊断。对于绒毛细胞直接制备染色体方法的母体污染问题，有不同看法。Simoni等[3]认为在直接法制备染色体进行分析时，从未发现有母体细胞的自发分裂相；而Blakemore等[4]则认为母体蜕膜细胞的自发分裂与滋养层自发分裂率相比，有很大差距，但若不除尽蜕膜细胞，仍有母体细胞污染的可能。我们研究结果发现直接法制备子宫内膜自发分裂率高达40.3%，认为在绒毛直接制片时应仔细除去母体蜕膜细胞，避免母体细胞造成的污染。

2. 组织学分期与分裂相出现率的关系

在制备染色体时会碰到是取增生期还是分泌期子宫内膜的问题。我们对19例增生晚期宫内膜(月经第11～13天)，102例分泌中期宫内膜(月经第22～24天)，33例分泌晚期宫内膜（月经第25～27天）与分裂相出现率的关系进行了探讨，结果表明统计学上无显著性差别。

3. 氯蔗酚胺对用药妇女的遗传学效应

多数学者认为氯蔗酚胺的作用机制是该药的化学结构类似雌激素，并与后者竞争下丘脑细胞内的雌激素受体，而解除了雌激素对下丘脑的负反馈作用使下丘脑分泌促性腺激素释放激素(GnRH)，诱发排卵，1984年Adashi[5]重新探讨了氯蔗酚胺的作用机制和作用部位，认为氯蔗酚胺可以和一切含有雌激素受体的组织起作用，包括下丘脑、垂体、卵巢、子宫、肝和肾上腺，只是在下丘脑主要表现为抗雌素作用，在垂体及卵巢表现为雌素样作用。然而亦有学者提出氯蔗酚胺能与靶细胞胞浆受体结合后进入胞核，形成氯蔗酚胺—核受体复合物，干扰细胞浆受体的再补充，使细胞浆雌激素受体缺乏，靶细胞对随后的雌激素刺激不敏感而产生临床效应。而氯蔗酚胺—核受体复合物在靶细胞核内有长期蓄积作用。Clares[6]对7名无排卵妇女服用氯蔗酚胺前后的子宫内膜细胞进行染色体畸变分析，发现服药后染色体畸变率和非整倍体比用药前明显增高，认为系氯蔗酚胺在靶细胞核内蓄积所致。胡丽娜[7]对服药妇女外周血染色体畸变率、SCE率及微核率的观察，结果表明氯蔗酚胺不具可察觉的致突变，致癌等遗传学效应。本实验结果表明氯蔗酰胺用药前、后妇女子宫内膜细胞染色体畸变率无显著性差别。由于致突变、致畸、致癌三者之间有很高的相关性，而判断致癌，致畸结果需较长时间，所以目前多依据某种化学物质的致突变性来判断它是否具有潜在的致癌或致畸危险[8]。因而本文提示氯蔗酚胺对用药妇女无可察觉的致突变、致癌的作用。

参 考 文 献

[1] Bowey CE, Spriggs AI. J Med Genet 1967; 4:91

[2] Stanley Margaret A. Am J Obs Gyn

维普资讯 http://www.cqvip.com

1969; 104:99
[3] Simoni G etval. Hum Genet 1983; 63:349
[4] Blakemore KJ, etval. Humen Genet 1985; 69:380
[5] Adashi EY. Fertil Steril 1984; 42: 231
[6] Clares D, etval. J Obs Gyn Brit Com 1973; 80:264
[7] 胡丽娜，等.中华妇产科杂志 1988; 23:42
[8] 周永春.国外医学遗传学分册 1983; 6:71
(收稿日期1990—12—27)

CHROMOSOME ANALYSIS OF ENDOMETRIUM BEFORE AND AFTER CLOMIPHENE THERAPY

Peng Lin et al
Dept. of Obstefrics and Gynecology

This article presents a technique of chromosome analysis which are prepared from human endometrium directly. The success rate was 40.3%. It was shown that there was no statistical significant differences between mitotic index of proliferative and secretory phases. The same study had been carried out in women before and had been taking clomiphene for 3 cycles and 6 cycles. And also no detectable mutagenic, and no carcinegenic effects on endometrium were found

KEY WORDS Clomiphene, endometrium, chromosome

简讯

介绍《艾滋病防治知识》

本书由重庆医科大学病理生理教研室范维珂、皮肤性病学教研室周永华等医师编写，从艾滋病的病因学与免疫学、临床表现、诊断与治疗、流行病学与预防四个方面，深入浅出地介绍了艾滋病的防治知识。全书约2万字，附图表40幅，其中有8幅彩图。其特点为文字简明，图文并茂，通俗易懂，医群皆宜。可供各级医护人员、卫生防疫人员、临床检验人员、医院管理人员、对本病知识有兴趣人员、甚至公安、司法、旅游人员等阅读。每本估价为1.5元，欲购者请速与重庆市人民路236号重庆市科协学会部杨凤玉同志联系(邮编630015)。

(周永华)