DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.12.022
第26卷第12期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 12
1088 2004年6月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jun. 2004

论著

文章编号:1000-5404(2004)12-1088-03

雌激素对老年早期大鼠脑心脏毛细血管结构的影响

常 青[1],张巧玉[1],应大君[2],史常旭[1] (第三军医大学:[1]西南医院妇产科,[2]基础医学部解剖学教研室,重庆市生物力学实验室,重庆 400038)

提 要:目的 探讨老年前期大鼠应用雌激素后脑、心微血管结构的变化,了解雌激素对脑、心血管的影响,为临床合理应用雌激素替代治疗提供实验依据。方法 制作老年早期衰老大鼠模型,通过内源性碱性磷酸酶显示法、动脉插管墨汁灌注观察应用雌激素后大鼠脑额叶、海马、下丘脑,心脏毛细血管结构的变化。结果 苯甲酸雌二醇组(estradiol benzoate, EB)脑额叶皮层、海马、下丘脑、心肌等部位毛细血管面积均明显高于对照组($P<0.05$)。结论 老年前期雌性大鼠应用雌激素后可影响脑、心脏微血管结构,改善心、脑供血。

关键词:雌激素;大鼠;脑;心脏;微血管结构
中图法分类号:R322.13;R339.34;R977.12 文献标识码:A

Effects of estrogen on the microvascular structure in the brain and heart of aged mice

CHANG Qing[1], ZHANG Qiao-yu[1], YING Da-jun[2], SHI Chang-xu([1]Department of Obstetrics and Gynecology, Southwest Hospital, [2]Department of Anatomy, College of Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To study the changes of microvascular structure in the brain and heart of aged mice at earlier stage after treatment with estrogen, and to provide experimental evidence for estrogen replacement therapy in clinical practice. Methods Model of aged mice at early stage was established. Changes of the microvascular structure in the cerebral cortex, hippocampi, hypothalami, and heart of aged mice at earlier stage were observed by enzymatic histochemistry and vascular perfusion. Results The area of the cerebral cortex, hippocampi, hypothalami, and heart micro blood vessels in EB (Estradiol benzoate) group increased. Conclusion The study indicates that estrogen may improve the blood supply of the brain and heart.

Key words: estrogen; rat; brain; heart; microvascular structure

有研究表明雌激素替代治疗(estrogen replacement therapy, ERT)可改善绝经后患者大脑血灌流,减少老年性痴呆发病的危险;有效缓解围绝经期妇女心血管功能紊乱。雌激素通过影响血管张力,血管平滑肌细胞增殖、移行,血管内皮细胞功能,心血管结构等直接影响血管功能等[1~3]。本研究拟通过观察老年早期大鼠应用雌激素后脑、心微血管结构的变化,了解雌激素对脑、心血管的影响,为临床合理应用ERT提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物模型的建立

老年早期大鼠:16月Wistar雌性大鼠20只,体质量300~350 g(均购自重庆市中药研究所)。作阴道细胞学涂片1~2个月。碱性美蓝染色观察阴道上皮细胞成熟指数。大鼠发情周期短,规律性强,4~5 d一个周期。采用连续阴道细胞学涂片可发现规律性变化。当出现动情周期长、随后持续动情、反复假妊娠时,确认为进入老年前期[4]。大鼠随机奇、偶分组,分为2组,每组10只,治疗组分别予以苯甲酸雌二醇(estradiol benzoate, EB)皮下注射。对照组注射等量的灭菌水。根据文献[5]用药剂量为:EB 100 μg/100 g,每周2次腹部皮下注射,共治疗3个月。

1.2 心、脑血管配布的观察[6,7]

1.2.1 墨汁灌注液的配制 低分子右旋糖苷12 ml+碳素墨水42 ml+30%甲醛6 ml。

1.2.2 灌注方法 动物用0.5%戊巴比妥(0.5 ml/100 g)腹腔注射麻醉后,自腹主动脉插管,37 ℃肝素生理盐水50 ml中洗后,予以墨汁灌注液缓慢推注。标本置4 ℃冰箱过夜后,取脑视交叉至桥脑部分,心脏心尖部分,常规石蜡包埋。切片10 μm,脱水,透明,封片。

1.2.3 利用内源性碱性磷酸酶显示组织中的微血管分布 脑片置TSM_1 5×2次→TSM_2 5×2次→NBT/BICP显色液(1∶50,TSM_2稀释),室温下避光显色1~3 h→裱片、脱水、透明、封片。

作者简介:常 青(1963-),女,湖南省长沙市人,博士,副主任医师,副教授,主要从事妇科内分泌方面的研究,发表论文15篇。电话:(023)68765399

收稿日期:2003-08-22;修回日期:2004-03-28

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

TSM_1 配制: 1 mol/L Tris (pH 7.5) 100 ml, 终浓度 0.1 mol/L; + 5 mol/L NaCl 20 ml, 终浓度 0.1 mol/L; + 1 mol/L $MgCl_2$ 2 ml 终浓度 2 mol/L; BSA 30 g, 终浓度 3%; 以上溶液用双蒸水定容至 1 000 ml。

TSM_2 配制: 1 mol/L Tris (pH 9.5) 100 ml, 终浓度 0.1 mol/L; + 5 mol/L NaCl 20 ml, 终浓度 0.1 mol/L; + 1 mol/L $MgCl_2$ 2 ml 终浓度 2 mol/L; 以上溶液用双蒸水定容至 1 000 ml。

1.3　脑、心脏毛细血管配布

每只动物选样 5 张切片, 脑切片取额叶, 海马、下丘脑, 心脏选择 5 个视野检测, 测量毛细血管面积(Sv)。

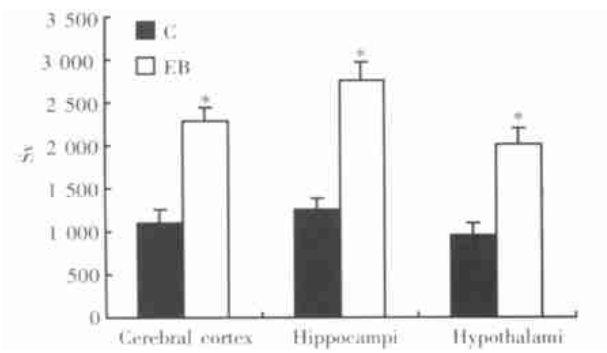
1.4　统计学处理

采用 SPSS 10.0 进行配对 t 检验。

2　结果

2.1　用药后毛细血管结构的变化

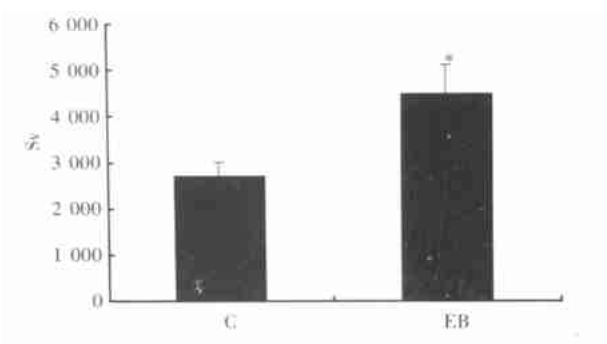
β-雌二醇组脑额叶皮层、海马、下丘脑等部位毛细血管面积(Sv)与对照组比有显著差异(t= 2.08, P< 0.05)(图 1, 2, 3A)。



*: P< 0.05 *vs* control group

图 1　脑切片毛细血管分布

Fig 1　Sv of the microvascular in different area of the brain



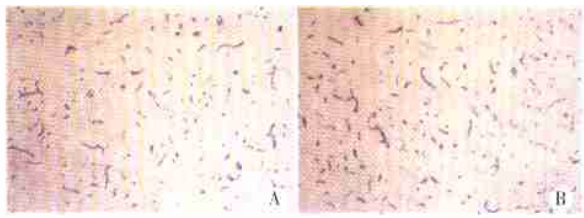
*: P< 0.05 *vs* control group

图 2　心肌毛细血管分布

Fig 2　Sv of the microvascular of the heart

2.2　用药后心脏毛细血管结构的变化

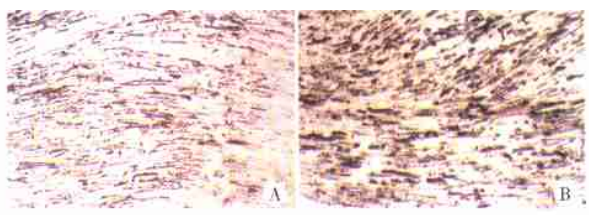
老年前期雌性大鼠用β-雌二醇后可见心肌毛细血管面积明显高于对照组(t= 2.89, P< 0.05)(图 3B, 4A、B)。



A: Control group; B: EB group

图 3　额叶皮层毛细血管分布　(酶组化× 20)

Fig 3　Distribution of blood capillary in the cerebral cortex (enzymatic histochemistry× 20)



A: Control group; B: EB group

图 4　对照组, 心肌毛细血管分布　(墨汁灌注× 20)

Fig 4　Distribution of blood capillary in myocardium (vascular perfusion× 20)

3　讨论

老年衰老早期大鼠开始出现动情周期延长, 之后持续动情, 反复假妊娠, 最后进入老年无动情状态。在其血清性激素、促性腺激素水平、动情周期、卵巢子宫形态方面与妇女围绝经期表现极为相似, 可用作生殖内分泌系统衰老研究的动物模型[4]。通过阴道细胞学检查显示, 本实验选用 16 月龄雌性 Wistar 大鼠出现动情周期不规律状态, 宜用作围绝经期雌激素替代治疗模型。

近年来研究观察表明, 雌激素影响脑结构及功能。雌激素替代治疗可改善低雌激素状态患者大脑血灌流, 减少老年痴呆发病的危险性。我们通过临床观察曾发现围绝经妇女服用结合雌激素(倍美力)后, 可对围绝经期妇女脑血流产生明显影响, 雌激素替代治疗后降低大脑中动脉、颈内动脉的血管搏动指数, 脑血流增加[8,9]。本研究表明老年前期雌性大鼠应用雌激素后髂叶皮层、海马、下丘脑毛细血管面积显著高于对照组。提示雌激素可能影响以上区域的毛细血管结构, 改善脑供血。学习记忆主要与额叶与海马相关[10], 以上区域脑供血的改善是否可影响神经细胞的结构和功能有待以后进一步研究。通过同时观察实验动物心脏的毛细血管结构显示, 应用雌激素后, 心肌毛细血管面积均明显高于对照组。雌激素可通过对血管壁直接作

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

用,影响血管内皮细胞、平滑肌细胞功能,本研究表明雌激素对老年前期雌性大鼠脑、心脏毛细血管结构的影响可能为以上作用的结果。

参考文献:

[1] Bhalla R C, Toth K F, Bhatty R A, *et al*. Estrogen reduces proliferation and agonist induced calcium increase in coronary artery smooth muscle cell [J]. Am J Physiol, 1997, 272(4 Pt 2): H1996—H2003.

[2] Westendrop I C, Veld B A, Bots M L, *et al*. Hormone replacement therapy and intima-media thickness of the common carotid artery: the Rotterdam study[J]. Stroke, 1999, 30(12): 2562—2567.

[3] Barnes J F, Farish E, Rankin M, *et al*. A comparison of the effects of two continuous HRT regimens on cardiovascular risk factors[J]. Atherosclerosis, 2002, 160(1): 185—193.

[4] 程化奇, 熊舜华, 殷新尤, 等. 大鼠更年期实验模型研究[J]. 上海实验动物科学, 1993, 13(4): 192—196.

[5] 王小明, 林守清, 张 颖, 等. 雌激素对雌性大鼠心肌蛋白激酶A活力的影响[J]. 生殖医学杂志, 1996, 5(1): 21—24.

[6] Chen W J, Ying D J, Liu Z J, *et al*. Analysis of the arterial supply of the extrahepatic bile ducts and its clinical significance[J]. Clin Anat, 1999, 12(4): 245—249.

[7] 陈卫军, 应大君, 刘正津. 肝外胆道壁内的血管配布及体视学计量研究[J]. 第三军医大学学报, 1996, 18(6): 480—483.

[8] 常 青, 陈 勇, 史常旭. 妇女雌激素替代治疗与脑血流变化的观察[J]. 重庆医药, 2002, 31(2): 104—105.

[9] 常 青, 应大君, 史常旭. 雌激素对下丘脑神经元结构及雌激素受体表达水平的影响[J]. 第三军医大学学报, 2001, 23(30): 318—320.

[10] Das A, Dikshit M, Srivastava S R, *et al*. Effect of ovariectomy and estrogen supplementation on brain acetylcholinesterase activity and passive-avoidance learning in rats[J]. Can J Physiol Pharmacol, 2002, 80(9): 907—914.

(编辑 刘洪娥)

(上接1087页)

2 结果

2.1 随访结果

随访2年,10例患者中,2例均在术后1年内死亡,其余8例存活,目前该8例患者近期复查均未发现复发征象。

2.2 死亡分析

例1患者45岁,ⅢIb期宫颈腺癌,腔内后装足量放疗后无效,出现双输尿管扩张盆腔肿块达盆侧壁,左输尿管下段及膀胱部分受累,行子宫超广泛切除术加盆腔淋巴清扫术,左输尿管及膀胱部分切除吻合术,术后10 d出现膀胱阴道瘘,术后4个月死于盆腔肿瘤复发。例2患者31岁,宫颈鳞癌ⅡIb期在外院行根治术,术后未接受任何治疗,半年复发。检查发现阴道癌灶侵润达中段,溃疡型伴感染,阴道大量浓液伴恶臭,盆腔肿块5 cm达盆侧壁,并已侵犯直肠,膀胱及输尿管,术中成功切除肿块,将左输尿管部份切除后吻合至右输尿管,术后2个月出现直肠阴道瘘,术后3个月死于消化道转移所至大出血。

2.3 并发症

晚期及复发宫颈癌手术难度大,术中出血>1 000 ml 1例,>500 ml 6例,平均出血(736±89)ml。手术伤及盆腔内血运及自主神经纤维,术后出现不同程度的膀胱逼尿肌功能障碍,以致排尿困难,术后平均留置尿管时间为(14.4±3.2) d。术后发生膀胱阴道瘘1例,直肠阴道瘘1例,无术中死亡发生。

3 讨论

虽然宫颈癌的手术和/或放疗已取得了很大成功,但晚期及复发宫颈癌的治疗仍无大的突破,病死率高。目前放射治疗合并化疗是治疗中晚期宫颈癌的主要手段[2]。但接收放化疗的患者仍有半数以上得不到治愈,尤其是对盆腔巨大包块型、宫颈管膨大型及宫颈腺癌的疗效差。国内学者对宫颈癌的手术指征多限于Ⅰa~Ⅱa期患者[3],在复发性宫颈癌患者中,大多数都有单侧或双侧输尿管梗阻,当患者出现输尿管梗阻和盆腔肿块固定于盆壁时,多认为不能手术[4]。本组患者有5例有固定于盆壁的肿块,2例出现输尿管梗阻,手术均成功切除盆腔肿块,通过输尿管梗阻段切除后与膀胱吻合或与对侧输尿管端侧吻合,解除了输尿管梗阻。我们认为,手术成功与否取决于充分的术前准备,周密的手术方案和熟练的手术技能及判断能力,与泌尿科医师协作手术以及精心的术后护理。国外学者开展晚期及复发宫颈癌的手术已积累较多经验,手术方式不断改进,如盆腔脏器切除术及填充、回肠代膀胱及阴道重建等[5],手术并发症和病死率已明显减少,多数治疗中心的病死率已不到10%。5年生存率已逐渐改善。国内的相关患者手术情况报道较少,经验尚在积累中,如何改善疗效,提高生存率是今后研究的课题。

关键词:宫颈癌;外科手术方法;预后
中图法分类号:R737.33 文献标识码:B

参考文献:

[1] Creasman W T. Editorial: New gynecologic cancer staging[J]. Gynecol Oncol, 1995, 58: 157.

[2] Nagata Y, Araki N, Kimura H, *et al*. Neoadjuvant chemotherapy by transcatheter arterial infusion method for uterine cervical cancer[J]. J Vasc Interv Radiol, 2000, 11(3): 313—319.

[3] 孔北华, 张友忠. 宫颈癌的手术治疗及并发症的处理[J]. 实用妇产科杂志, 2001, 17(2): 65—66.

[4] 章文华. 晚期及复发性子宫颈癌[A]. 见: 连利娟主编. 林巧稚妇科肿瘤学[M]. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 1993. 353—357.

[5] Ngotho D, Pather S, Moodley J, *et al*. Passive ileal segment urinary diversion in advanced cervical carcinoma: a retrospective review[J]. S Afr J Surg, 2000, 38(1): 4—6.

(编辑 刘洪娥)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net