DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.11.048
第24卷第11期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 11
2002年11月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Nov. 2002

文章编号:1000-5404(2002)11-1355-03

论著

子宫内膜异位症并发不孕患者子宫内膜超微结构观察

王 琳,史常旭,常 青,梁志清 (第三军医大学附属西南医院妇产科,重庆 400038)

提 要:目的 探讨子宫内膜异位症(EM)并发不孕患者围着床期子宫内膜的超微结构。方法 选择轻度子宫内膜异位症并不孕患者10例为研究组,已生育妇女7例作为对照组,选择在月经周期第19~22天刮取少量子宫内膜,进行扫描及透射电镜观察。结果 异位症患者围着床期子宫内膜出现超微结构改变,内膜表面腺体开口数少,纤毛再生不全,分泌细胞表面微绒毛极少,子宫内膜着床窗的形态学标记-细胞表面胞饮小泡减少或缺失;胞质肿胀疏松,有的细胞出现核固缩。结论 异位症患者围着床期在位子宫内膜出现超微结构改变,细胞出现轻度变性,可能是其不孕的原因之一。

关键词:子宫内膜异位症;不孕症;超微结构;子宫内膜
中图法分类号:R711.71;R361+.3 文献标识码:A

Observations on endometrial ultrastructure of infertile women with mild endometriosis

WANG Lin, SHI Chang-xu, CHANG Qing, LIANG Zhi-qing (Department of Obstetrics and Gynecology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the ultrastructure of peri-impantation endometrium in infertile women with endometriosis. Methods Ten cases infertile women with mild endometriosis were taken as study group and 7 fertile women as control group. All specimens obtained by endometrial biopsy performed in the peri-implantation phase (19~22th day of menstrual cycle) were examined with scanning and transmission electron microscopy. Results Ultrastructural defects in peri-implantation endometrium of infertile women with endometriosis were found, namely: a reduced number of glandular ostia, irregular non-ciliated cells with rare microvilli, incomplete ciliogenesis on ciliated cells, reduced or non-existent specific markers of the implantation window of the endometrium (pinopodes). Swelling and pyknosis in cytoplasm and karyopyknosis in some cells were found. Conclusion Existence of ultrastructural detects in peri-implantation endometrium of women with endometriosis and cell degeneration may be a factor resulting in endometriosis-associated infertility.

Key words: endometriosis; infertility; ultrastructure; endometrium

已有的研究资料表明,子宫内膜异位症(Endometriosis,EM)患者异位与在位内膜存在很大差别[1],异位内膜比在位内膜的ER,PR及其mRNAs低得多。但EM患者在位子宫内膜与正常有生育妇女子宫内膜的比较研究资料较少。随着人工助孕技术的提高,对EM不孕患者行体外授精-胚胎移植(*In vitro* fertilization and embryo transfer,IVF-ET)时胚胎移植率可高达85%,但妊娠率仅20%左右,表明EM患者的在位子宫内膜存在影响胚胎着床的因素[2]。我们研究了EM并发不孕患者围着床期子宫内膜的超微结构,并与同期有生育力妇女子宫内膜作对照,探讨EM患者不孕的子宫因素。

1 资料与方法

1.1 资料

选择1998年10月至1999年12月在我院经腹腔镜检查及活检诊断为轻度子宫内膜异位症的不孕患者10例为研究组。已生育因患子宫浆膜下肌瘤,单纯卵巢囊肿而手术的妇女7例作为对照组,患者年龄在25~35岁,月经周期规则,术前三月未服任何激素类药物,在月经周期第19~22天刮取子宫内膜均制成电镜标本,取部份内膜作石腊切片,HE染色,同时抽静脉血测量孕酮水平。

1.2 方法

玻璃平皿内放入冰块,冰块上放一蜡板,其上滴加少量组织固定液,子宫内膜离体后立即用等渗的生理盐水冲洗表面血液,洗后将粘膜面朝上,用大头针将组织固定于蜡板上,切一半组织按浸透,包埋,聚合等超薄切片常规步骤,制得与扫描电镜观察部位相对应的超薄切片,进行透射电镜观察(JEM-100SX,Japan)。另一半组织经乙醇梯度脱水后再干燥,金属镀膜处理后进行扫描电镜观察子宫内膜表面。

2 结果

2.1 光镜观察

石腊切片,光镜观察结果表明,所有子宫内膜标本均处于分泌中期。

2.2 扫描电镜观察

2.2.1 正常围着床期子宫内膜 子宫内膜表面呈均质相,皱襞明显,表面有大量子宫腺体开口,腺腔口大而圆,见图1。内膜表面有分泌细胞及纤毛细胞两种。分泌细胞发育正常,呈多形性,分泌细胞明显多于纤毛细胞。分泌细胞顶部覆盖着纤细、浓密的微绒毛,纤毛细胞主要位于近腺体的开口处,其纤毛发育良好,纤毛再生完全。7例有生育力妇女,有5例在其子宫内膜表面见到大量发育良好的胞饮小泡(Pinopode),分别出现在周期第20天($n=2$),21 d($n=2$)和22 d($n=1$),这是子宫内膜着床窗开放的典型形态学标记。

2.2.2 EM不孕患者围着床期子宫内膜 内膜表面异质性

作者简介:王 琳(1964-),女,四川省巴中县人,博士,副教授,主要从事子宫内膜异位症的研究,发表论文21篇。电话:(023)68754409
收稿日期:2002-05-07;修回日期:2002-09-12

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

明显，腺体开口数少，腺腔分布不规则，腺腔开口小而形状不规则，见图2。纤毛细胞少，纤毛细胞与分泌细胞的比例较正常有生育妇女低，纤毛再生大部分不全，部份纤毛倒伏，分泌细胞形态不规则，在细胞顶部表面微绒毛极少且分布不规则，见图3。10例患者中仅2例见粘膜表面吞饮小泡较多，其余均极少或无吞饮小泡。

2.3 透射电镜观察

2.3.1 正常围着床期子宫内膜 正常着床期子宫内膜上皮呈假复层排列。可见微腺腔，细胞间的连接正常，分泌细胞顶部可见微绒毛多，细胞内可见大量线粒体，胞质内糖原丰富，细胞核大，靠近细胞顶部，胞质内可见许多分泌小泡。

2.3.2 EM不孕患者围着床期子宫内膜 上皮呈单层排列，细胞间的连接疏松，微绒毛数量少，微绒毛变短，消失，部份细胞肿胀变性，胞质内可见髓鞘样结构形成，胞质疏松，出现局部灶性空化，见图4，核周见空泡。有的细胞出现核固缩。

2.4 血中孕激素水平

EM不孕组血中孕激素浓度均值为(26.8±6.9) nmol/L，对照组为(27.3±7.5) nmol/L，采用 t 检验两者相比无显著性差异($P>0.05$)。



图1 对照组子宫内膜可见大量子宫腺体开口，腺腔大而圆 (SEM×150)

Fig 1 Large number of glandular ostia with big and rounded lumen in the endometrium in control group (SEM×150)



图2 EM组子宫内膜表面腺体开口数少，腺腔开口小而形态不规则 (SEM×150)

Fig 2 Number of glandular ostia reduced and glandular ostia were small and irregular in the EM group (SEM×150)

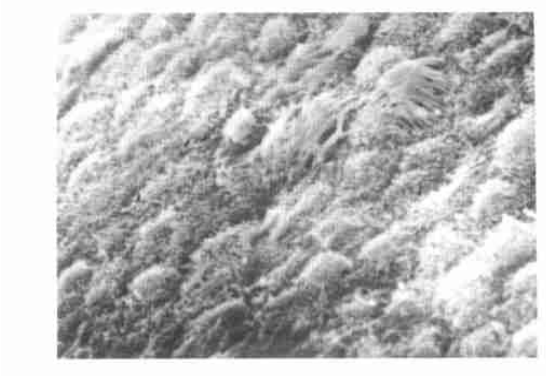


图3 EM组纤毛细胞较少，纤毛再生大部分不全，纤毛倒伏，分泌细胞表面微绒毛极少 (SEM×3 000)

Fig 3 Ciliated cells scanty ciliogenesis incomplete and loding in EM group, microvilli in secretory cells very rare (SEM×3 000)

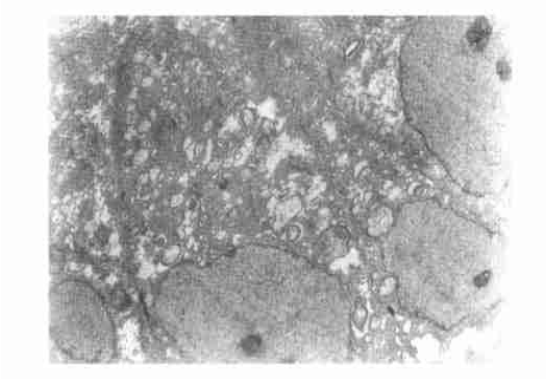


图4 EM组细胞肿胀变性，胞质疏松，出现局部灶性空化 (TEM×5 000)

Fig 4 Hydropic degeneration in cytoplasm of patients with endometriosis (TEM×5 000)

3 讨论

子宫内膜异位症引起不孕的机制仍然不明，可能与多种因素有关，如排卵功能障碍，输卵管功能失调、内分泌紊乱、免疫系统应答改变等[3]。而子宫内膜因素在其致不孕中的作用尚不清楚。许多研究表明，EM不孕患者存在胚胎着床障碍[4]，对EM不孕患者行宫腔内人工授精或IVF-ET时，其妊娠率低于其它原因所致不孕患者。Fedele等[5]研究了异位症不孕患者排卵前子宫内膜的光镜和电镜下结构。光镜下进行了形态测量分析，发现异位症组腺体数、基质有丝分裂和有核下空泡的细胞数较对照组显著减少。扫描电镜显示异位症组腺腔分布不规则，77%的患者出现表面异质性，透射电镜分析显示异位症组分泌细胞微绒毛少、发育不良、纤毛细胞的纤毛再生不全，发育不良。但两组雌激素水平正常。

我们研究了EM不孕患者围着床期子宫内膜，发现EM组腺体数较少，光镜下显示内膜组织均处于黄体中期。扫描电镜显示EM组表面异质性明显，腺体

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

开口数少，微绒毛少，纤毛细胞纤毛再生不全。仅在 2 例见到发育良好的胞饮小泡，而胞饮小泡的出现与消失与着床窗具有完全的同步性，被视为着床窗的特殊形态学标记[6]，这表明 EM 患者可能存在着床窗发育障碍，导致胚胎不易着床而引起不孕。透射电镜显示细胞有轻度变性，但两组孕激素水平在正常范围，表明 EM 患者的子宫内膜对正常孕激素存在异常反应，也可能与孕激素受体异常表达有关。EM 患者子宫内膜超微结构的改变可能是其胚胎不易着床的重要原因，其机制尚不十分清楚，生化改变可能是其结构改变的基础，EM 患者存在多种免疫异常，抗心鳞脂抗体水平升高，抗子宫内膜抗体阳性率升高，C3 和 C4 补体局部沉积于子宫内膜表面，PRL 升高，黄素化卵泡未破裂综合征等，均可引起内膜上皮细胞发生超微结构改变 导致胚胎与子宫内膜发育不同步，从而影响胚胎着床而致其不孕。

参考文献：

[1] 马良坤，郁 琦. 在位内膜与异位内膜的分子生物学研究[J]. 国外医学：妇产科分册，1995，26(5)：284－289.
[2] Arici A, Oral E, Bukulmez O, *et al*. The effect of endometriosis on implantation: results from the Yale University *in vitro* fertilization and embryo transfer program[J]. Fertil Steril, 1996, 65(3): 603－607.
[3] Giudice L C, Tazuke S T, Swiersz L. Status of current research on endometriosis[J]. J Reprod Med, 1998, 43(3 suppl): 252－262.
[4] Panidis D K, Matalliotakis I M. Subfertility associated with minimal to mild endometriosis. Main mechanism[J]. J Reprod Med, 1998, 43(12): 1 034－1 042.
[5] Fedele L, Marchini M, Bianchi S, *et al*. Structural and ultrastructural defects in preovulatory endometrium of normo-ovulating infertile women with minimal or mild endometriosis[J]. Fertile Steril, 1990, 53(6): 989－993.
[6] Develioglu O H, Hsiu J G, Nikas G, *et al*. Endometrial estrogen and progesterone receptor and pinopode expression in stimulated cycles of oocyte donors[J]. Fertil Steril, 1999, 71(6): 1 040－1 047.

（编辑 王 红）

文章编号：1000-5404(2002)11-1357-02

个案与短篇

应用荧光定量 PCR 技术检测淋球菌等性传播疾病病原微生物

Detection of pathogens of sexual transmitted infections with real-time polymerase chain reaction

冯文曦，曹红卫，赵静怡，郑 红，钟白玉 （第三军医大学附属西南医院综合实验研究中心，重庆 400038）

在性传播疾病中，淋球菌(NG)，沙眼衣原体(CT)，解脲支原体(UU)的感染较为常见。我们采用的 PCR 方法结合了荧光探针的体外扩增和检测技术[1,2]，不仅把假阳性率降低到最低限度，同时还保留了常规 PCR 的高灵敏性和特异性。通过对人生殖道分泌物样本中以上 3 种病原体 DNA 的测定，检测了 1 122例临床送检可疑标本，为上述 3 种病原体感染的早期诊断以及性病高危人群的初筛等，提供了核酸水平上的参考依据。现报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 标本来源及取材方法 标本均由本院门诊妇科、皮肤性病科以及泌尿科等科室从疑为 NG，CT，UU 感染者，取其尿道，宫颈分泌物送检。共检测标本 1 122 例(男性标本 480 例，女性标本 642 例)，其中 NG269 例，CT419 例，UU434 例。取材方法：采样时，将消毒棉拭子伸入男性尿道及女性宫颈口 2～3 cm，转动一周以获得上皮细胞。将取样后的棉拭子放入 1.0 ml 无菌生理盐水中漂洗片刻，在管壁上挤干后丢弃。如果男性患者尿道口分泌物过少，则取前列腺液 2～3 滴。

1.1.2 仪器 美国 BIO-RAD iCylcer 荧光 PCR 检测仪。

1.1.3 试剂盒 NG，CT，UU 核酸扩增(PCR)荧光检测试剂盒均为深圳匹基生物技术开发有限公司产品。

1.2 方法

1.2.1 荧光定量 PCR 原理 该技术在常规 PCR 基础上，添加了一条标记了 2 个荧光基团的荧光双标记探针。一个标记在探针的 5′端，另一个标记在探针的 3′端。两者可构成能量传递结构，即 5′端荧光基团所发出的荧光可被另一荧光基团吸收或抑制。探针的 3′端羟基(-OH)已被去除或封闭，不具有延伸能力。探针在无特异性 PCR 发生时，荧光信号不改变。当有特异性 PCR 扩增发生时，探针会在 PCR 过程中被 Taq 酶的 5′→3′外切酶活性作用切断，切下的 3′端荧光基团抑制作用消失，从而引起切下的 5′端荧光基团信号的增长。荧光信号伴随着 PCR 的进行，PCR 产物的增长而增长[3]。

1.2.2 试剂盒使用方法 将标本 13 000 r/min 离心 10 min，去上清液，采用常规碱裂解法提取 NG、CT、UU-DNA。将各反应管放入 BIO-RAD iCylcer 荧光 PCR 检测仪上，按下列条件进行扩增：37 ℃5 min；94 ℃1 min；95 ℃5 s；60 ℃30 s。共作 42 个循环。反应体系设为 40 μl。反应结束后，由电脑自动分析计算出结果。每次检验均做阳性和阴性对照。

1.2.3 统计学方法 直接使用 BIO-RAD iCylcer 携带的数据统计程序进行分析。

2 结果

使用 BIO-RAD iCylcer 进行结果分析时，严格按照试剂盒说明进行。FQ-PCR 共检测标本 1 122 例，结果见表 1。

（下转 1360 页）

作者简介：冯文曦(1972－)，男，重庆市人，主管技师。电话：(023)68754437
收稿日期：2001-10-20；修回日期：2002-03-09

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