

外伤及肾的孕鼠实验研究

上海中医学院 沈 雁 匡调元 张伟荣 肖 頔 张 俊

有人曾在死于急性损伤(烧伤、车祸等外伤)和慢性消耗性疾病患者的睾丸病理组织切片中,发现其精子成熟过程受阻及间质细胞变性⁽¹⁾,此现象已在雄性小白鼠动物实验中获得证实⁽²⁾。中医认为,女子胞与肾及冲任二脉的关系密切,我们在上述工作的基础上,对不同孕龄的小鼠进行了人为骨折的实验,从形态学上观察外伤及肾而致孕鼠胚胎生长发育的变化,从中发现了一些病变规律,进一步论证了中医有关肾本质的基本理论。

一、材料与方法

本实验选用雌性昆明种纯种成熟小白鼠,体重 27 ± 3 克,共120只;另选60只雄性昆明种纯种成熟小白鼠,体重 35 ± 3 克。由于一般小鼠自然交配率为10~11%⁽³⁾,为了取得足量的孕鼠,我们用60只笼子,每笼放2只雌鼠1只雄鼠。因小白鼠交配时间多在半夜,所以我们在下午3~5时左右将雌雄鼠合笼,次日晨8时,检查雌鼠阴道,以有阴栓者为受孕标志。有阴栓的第一天即为受孕1天,依次类推。将受孕小鼠随机分为六个组,三个组为骨折孕鼠,另三个组为正常孕鼠,每组各8~10只。骨折孕鼠以见阴栓的第一天起开始用钢钳夹断其双后肢股骨上端,造成人为

骨折,尔后每天扭折骨折处,以加重损伤。骨折孕鼠三个组分别于受孕第6天、12天及18天用颈椎脱位法处死;正常孕鼠三个组也同样分别于相应时间即受孕第6天、12天及18天用上法处死。

动物处死后立即取出其脑垂体、肾上腺、心、肝、脾、肺、肾及胚胎等组织块,经10%中性福尔马林固定后,石蜡包埋切片,作HE染色及PAS染色,另将一侧肾上腺及部分肝脏作维生素C和线粒体等特殊染色,并作光镜观察。

二、实验结果

(一)外观、体重变化及死亡情况:正常组孕鼠神态矫健,行动敏捷,皮毛光泽而密;骨折组孕鼠毛蓬松而无光泽,行动缓慢,活动量少,神疲乏力。此外,在实验过程中,常可见到骨折组孕鼠的阴道口有少许血迹;而正常组孕鼠未见此现象。正常组小鼠无一死亡;骨折组小鼠孕6天组第4天有1只死亡,孕18天组在第9天、第14天各有1只小鼠死亡。附表示,孕6天、孕12天、孕18天正常组小鼠实验后比实验前体重明显增加(P 均 <0.01),而骨折组小鼠各孕期体重无明显变化(P 均 >0.05)。

(二)大体检查:在孕6天骨折组的小鼠中,仅见

附表 正常组与骨折组实验前后体重(克)变化的比较

时 间	正 常 组			骨 折 组		
	实验前均值	实验后均值	实验后-实验前 均差值±标准误	实验前均值	实验后均值	实验后-实验前 均差值±标准误
孕6天	26.55	30.18	3.63 ± 0.80	25.93	25.53	-0.40 ± 0.37
孕12天	29.74	44.44	14.70 ± 1.49	30.00	34.50	4.50 ± 3.50
孕18天	26.67	51.31	24.64 ± 5.18	26.21	25.24	-0.97 ± 1.88

1只小鼠的子宫表面有6个隆起胚囊结节,直径约半粒米大,表面充血,子宫下段阴道部分饱满,壁增厚,双侧卵巢比未受孕卵巢略增大;正常组孕6天的小鼠,其子宫表面均见有8~10个胚囊结节,直径约一粒米大。孕18天骨折组的小鼠其子宫表面见有约3

~11个胚胎结节,直径为0.2~0.5厘米不等;而孕12天正常组的小鼠,其子宫表面见有约11~14个胚胎结节,直径0.8厘米左右。孕18天骨折组的小鼠中,外检未发现有肉眼胚胎,仅见一只小鼠的子宫异常扩张,直径约0.8厘米,内充满橘红色的液体,另一

只子宫稍有扩张,表面及其两侧末端充满淡黄色的稀薄粘液;孕18天的正常组小鼠,其子宫表面均见有8~11只胚胎,约 $1.5 \times 1.2 \times 1.0$ 厘米大小,胚胎平均重为1.92克/只,外观发育正常,无畸形。

(三)光镜观察:孕6天骨折组的小鼠光镜下见子宫内充满了陈旧性瘀血及散在的滋养叶细胞,子宫壁增厚,内膜呈蜕膜样变;孕6天正常组小鼠子宫内可见胚胎的外胚层、内胚层及卵黄囊腔等早期发生的胚层。孕12天骨折组小鼠子宫切面见腔内充满陈旧性瘀血,部分胚胎已退化并吸收,部分胚胎的生长明显迟于其孕龄,组织切片可见早期胚胎的三个胚层及血岛发生;孕12天正常组的小鼠胚胎切片可见肝的分化,已形成广泛肝细胞索,出现血岛和血窦,见有核红细胞混合于肝细胞索内分布,另见间充质细胞在未来的椎骨所在区密集而略具椎体的轮廓。从孕12天正常组胚胎肝及骨的二个生长阶段,均说明完全符合正常生长发育,而同期骨折组观察胚胎发育有明显障碍。孕18天骨折组的2只小鼠子宫扩大,镜下观察发现子宫腔明显比正常未孕子宫增大,腔内充满粘液及脱落的坏死细胞和数个退变的炎性细胞,这些变化可能是流产后液化的表现;孕18天正常组的小鼠胚胎骨组织已发育成熟,解剖后在生物镜下作外观检查,无异常发现。

上述孕6天、12天及18天的骨折组及正常组的小鼠,其心、肝、脾、肺、肾及一侧肾上腺和脑垂体作HE染色后光镜观察未发现异常,骨折组与正常组肝脏PAS线粒体及一侧肾上腺维生素C特殊染色均无明显差异。

三、讨论

肾在中医脏腑学说中占有重要的地位,历代医家称“肾为先天之本,生殖之源”。陈自明称“女子肾藏于胞络”(《妇人大全良方》),指出女子胞络与肾具有密切关系。王肯堂谓:“肾主下焦,冲任二脉系焉。二脉与少阴肾之大络同出肾下,起于胞中。”(《证治准绳》)进一步指出了肾与冲任及胞的相互关系。

本实验根据中医基本理论,采用人为骨折的外伤来观察其对肾的影响。受孕鼠不仅因骨折而遭到剧烈的疼痛刺激,更重要的是导致肾与冲任的功能失常。由于肾之阴阳失调,精气紊乱以致精血失控,从而直接或间接影响胞宫,而产生不孕、流产、胚胎生长发育障碍等一系列病理改变。我们在孕6天、12天及18天的骨折组及正常组小鼠的观察中发现,骨折组孕鼠在交配后其受孕率比正常组明显下降。从我们实验的观察中已看到在实验过程中,骨折组孕鼠的阴道口常有少许血迹,此现象可能就是受孕后有流产的一种表

现。

各骨折组孕鼠体重明显比正常组轻。体重的不同可以反映出两个方面:一是各正常组孕鼠在正常条件下本身自然生理状态的体重增长;另一是受孕的胚胎在胞宫内正常发育的体重增长。各骨折组孕鼠的体重相对下降也恰好反映由于外伤及肾而产生肾阴阳调节功能失常、冲任受损,而导致孕鼠及其胚胎生理环节受影响。肉眼及光镜检查显示,骨折组的胚胎数量及体积均比正常组明显减少及减小,光镜还观察到在孕12天的骨折组孕鼠,其胚胎部分退化,部分仅停留在早期胚胎的三个胚层及血岛阶段。胚胎发育第七天时,卵黄囊腔壁内开始出现由胚胎外中胚层细胞局部集结形成点状的细胞群落,称为血岛⁽⁴⁾。从该孕12天骨折组胚层生血功能尚停留在卵黄囊腔壁内血岛阶段,而相应的正常组生血功能已正常进入孕12天的肝索血窦血岛阶段的这一显著现象中可以推测,外伤及肾而致妊娠异常主要作用机理可能是:外伤引起疼痛及恐惧,影响下丘脑和垂体(肾阴阳功能失调),再引起神经、内分泌紊乱(冲任不固),最后导致不孕、流产、胚胎生长发育障碍等。另外,我们在孕18天的骨折组小鼠中,未见有一只残留的胚胎,仅发现其中2只孕鼠子宫腔明显扩张,内充满液体,镜下见仅有少许粘液、炎性细胞和脱落坏死细胞,未见残留胚胎痕迹。有人将小白鼠妊娠各期止孕规则分成三个演变阶段:在妊娠10天之前,早期胚胎死亡后留在子宫内被吸收;第二阶段一般在妊娠第11~13天,胚胎死亡之后也留在子宫里被吸收,在胚胎死亡过程中子宫出血;第三阶段为在妊娠第14天以后活胎流产⁽⁵⁾。由此而推测本实验孕18天的孕鼠流产期可能是第二阶段或第三阶段之前,由于实验刺激期长,因而流产后吸收较为完全,未留胚胎痕迹。

迄今为止,国内尚未见有关报道外伤及肾而引起妊娠异常的实验研究。本实验表明,外伤及肾具有使孕鼠胚胎生长发育迟缓、流产等作用,同时也为今后应用这一动物模型去进一步研究肾本质及其他补肾保胎的作用机理提供了实验手段与依据。本工作可能对优生优育妇婴保健的工作具有重大的指导意义。

参 考 文 献

- (1) 匡调元,中西医结合杂志 1989; 9(1):10.
- (2) 沈雁,等.外伤及肾的实验研究(待发表).
- (3) 张天萌,等.动物胚胎学实验指导.北京:高等教育出版社,1986:88.
- (4) 俞盛珠,等.小鼠胚胎发生.北京:科学出版社,1985:110.
- (5) 朱岩平,等.生殖与避孕 1981; 1(1):27.