

·论著·

三种宫内发育迟缓大鼠模型方法的比较

柯志勇 刘军 丘小汕

[摘要] 目的 对比常用的三种建立宫内发育迟缓(IUGR)大鼠模型的方法,选择适用于儿科研究 IUGR 对出生后生长发育和代谢远期影响的动物实验模型。方法 15 只孕鼠平均分为 3 组采用子宫动脉结扎法、更生霉素腹腔注射法、被动吸烟法建立 IUGR 动物模型,以自然分娩为结束妊娠的方式,比较仔鼠的体重,IUGR 发生率及围产期死亡率。结果 三个实验组的仔鼠平均体重分别为 5.546 g,5.377 g,5.103 g,以正常对照组平均体重减 2 个标准差为 IUGR 的标准,孕鼠产出的 IUGR 仔鼠发生率分别为 27.8%,42.2%,61.6%,仔鼠围产期死亡率分别为 61.1%,17.8%,6.7%。结论 被动吸烟法及更生霉素腹腔注射法均能成功建立 IUGR 大鼠模型,尤以前者更适用于儿科研究。

[关键词] IUGR;动物模型;更生霉素;被动吸烟

[中图分类号] R-332 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2000)01-0024-03

Evaluation of Three Rat Model of Intrauterine Growth Retardation

KE Zhi-Yong, LIU Jun, QIU Xiao-San.

Department of Pediatrics, First Affiliated Hospital,

Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou 510080

Abstract: **Objective** To evaluate three models of intrauterine growth retardation (IUGR) in the rat for use in long-term metabolism and development. **Methods** Fifteen pregnant rats were divided into 3 groups, in which IUGR was produced by either 1) uterine artery ligation, 2) abdominal injection of Dactinomycin, or 3) passive smoking. Newborn rats were delivered vaginally, and their body weights, rates of IUGR and perinatal death rates were compared. **Results** The average body weight of the newborn rats in each group was 5.546g, 5.377g, 5.103g; the IUGR rates were 27.8%, 42.2%, 61.6%; the perinatal death rates were 61.1%, 17.8%, 6.7%, respectively. **Conclusion** Both Dactinomycin abdominal injection and passive smoking can successfully establish an IUGR rat model, IUGR achieved through passive smoking has a higher rate of fetal growth retardation and a lower mortality rate, suggesting that this may be a preferred model.

Key words: IUGR; Animal model; Dactinomycin; Passive smoking

近年研究表明宫内发育迟缓(Intrauterine growth retardation, IUGR)不仅与生后体格生长落后关系密切,而且由于多种激素的敏感性改变是 IUGR 病理生理和代谢轴中普遍存在的现象,其远期影响使 IUGR 儿在成年后发生代谢综合征(又称 X 综合征,包括糖耐量减低、型糖尿病、高血压、冠心病等)的易感性明显增加^[1]。这已日益受到产科和儿科医务工作者的关注。目前已有多种建立 IUGR 动物模型的方法,其中比较常用的有子宫动脉结扎

法、更生霉素腹腔注射法、被动吸烟法等。鉴于以往的动物实验研究侧重在 IUGR 的发病机理及产前药物干预方面,因此多采用在分娩前剖腹取胎盘及胎仔研究的方法,而儿科研究 IUGR 生后的远期影响则需要获取活产的 IUGR 动物,故本文采用自然分娩取得仔鼠的方式,以相同的实验室条件、相同的参加人员同时开展了下述三组实验,并对其进行比较,结果报告如下。

[基金项目] 广东省自然科学基金资助课题分题(950331)

[作者简介] 柯志勇,男,1969年生,讲师。

[作者单位] 510080 广州,中山医科大学附一医院儿科(柯志勇,丘小汕);广州医学院附二医院儿科(刘军)

1 材料与方法

1.1 实验动物

由中山医科大学动物实验中心提供的 Sprague - Dawley 大鼠,于发情期将雌、雄大鼠各 1 只合笼过夜,次晨作阴道拭子涂片,以显微镜下检出精子之日定为受孕第 1 天。27 只孕鼠分成对照组、子宫动脉结扎组、更生霉素腹腔注射组、被动吸烟组共 4 组,其中对照组 12 只,余各组均 5 只。

1.2 方法

1.2.1 对照组 孕鼠单独笼养,置于室温 25 左右,通风、安静的环境,饲料、水供应充足,直至自然分娩。以下各组饲养方法亦同。

1.2.2 子宫动脉结扎组 参照 Terry Hagashi 等^[2]的 Wigglesworth 改良法,于孕第 17 天以乙醚吸入麻醉后,从下腹正中作纵行切口,暴露子宫,以温生理盐水纱布保护子宫,寻找到子宫角动脉,在结扎处并行置一 0 号钢丝,一并结扎子宫动脉和钢丝,然后将钢丝轻轻抽出,远端动脉即可见血液充盈,但充盈程度不及近端。结扎双侧子宫角动脉后关腹,腹壁肌肉注射青霉素 G 1 000 IU/g 体重。继续饲养至分娩,分娩后 1 周处死并解剖母鼠。

1.2.3 更生霉素腹腔注射组 参照张为远等^[3]的方法,在孕第 10 天腹腔注射更生霉素,剂量 0.1 μg/g 体重,继续饲养至分娩。

1.2.4 被动吸烟组 确定妊娠第 2 天开始进行被动吸烟,方法为将孕鼠连笼置于特制的半封闭木箱(长、宽、高为 46cm ×38cm ×28cm)中,侧面相对各留一通气口,以羊城牌香烟点燃置箱中,每天分别于 9Am,12Am,2pm,4pm 各进行一次,前 10 d 每次燃 1 支香烟,后 10 d 每次 2 支,共 20 d,后待其自然分娩。

以上 4 组孕鼠分娩后,即称量鼠仔体重,部分仔鼠进行解剖称量脏重。

2 结果

2.1 产仔情况

除结扎组 1 鼠未分娩、更生霉素组 1 鼠孕期死亡外,各组孕鼠分娩时间均在受孕后第 22 ~ 24 天内。对照组共产鼠仔 140 个,平均体重为 6.268 g,以此平均体重减两个标准差得 5.144 g 为界定 IU-GR 的标准。各组的仔鼠数目、体重、IU GR 发生率及围产期死亡率(包括死产或生后 24 h 内死亡,不包括宫内死胎者)等,详见表 1。

2.1.1 IU GR 发生率 三个实验组中,以被动吸烟组产仔最多,更生霉素组次之,结扎组最少。实验组的仔鼠平均体重均较对照组轻,差别均有显著性意义($P < 0.01$),其中尤以被动吸烟组最明显,甚于更生霉素组及结扎组,但无统计学意义($t = 1.324$ 及 1.420, $P > 0.05$)。实验组每组同样 5 只孕鼠,获得的 IU GR 仔鼠分别为 37,19,5 只。IU GR 发生率以被动吸烟组最高(与更生霉素组比较, $u = 1.774$, $P > 0.05$;与结扎组比较, $u = 2.253$, $P < 0.05$),更生霉素组次之,结扎组最低(与更生霉素组比较, $u = 0.776$, $P > 0.05$)。

2.1.2 围产期死亡率 围产期死亡率在实验组中以被动吸烟组最低,更生霉素组次之(与被动吸烟组比较, $u = 1.459$, $P > 0.05$),结扎组死亡率最高(与被动吸烟组及更生霉素组比较, $u = 4.795$ 及 3.079, $P < 0.01$)。结扎组的母鼠产后约一周均作剖腹检查,可见 4 只母鼠的子宫内有死胎机化吸收现象,其中一孕鼠于预产期后 7 d 仍未分娩剖腹见全部 12 只胎鼠均为死胎已机化。

表 1 各组孕鼠产仔情况($\bar{x} \pm s$)

Table 1. Newborn number and total body weight, IU GR and perinatal death rate in each group.

组别	母鼠数	产仔数	仔鼠体重(g)	IU GR		围产期死亡	
				例数	率	例数	率
对照组	12	140	6.268 ±0.562	4	0.029	0	0.000
结扎组	5	18	5.546 ±1.017 ²⁾	5	0.278 ³⁾	11	0.611
更生霉素组	4 ¹⁾	45	5.377 ±0.837 ²⁾	19	0.422 ³⁾	8	0.178
被动吸烟组	5	60	5.103 ±1.199 ²⁾	37	0.616 ³⁾	4	0.067

注:1) 1 只孕鼠突然死于第 21 天; 2) 与对照组相比, $P < 0.01$; 3) 与对照组相比, $P < 0.01$

表 2 更生霉素组死胎与自然分娩仔鼠的比较($\bar{x} \pm s$, g)

Table 2. Total body, liver, brain weight of natural delivered rats and dead fetuses in Dactinomycin group.

分类	例数	体重	肝重	脑重
自然分娩	14	5.4210.801	0.174 \pm 0.014	0.199 \pm 0.023
死胎	12	5.201 \pm 0.716	0.323 \pm 0.141 *	0.187 \pm 0.033

*与自然分娩组比较 $P < 0.01$

2.2 更生霉素组死亡孕鼠之胎鼠情况

更生霉素组中 1 只孕鼠于妊娠第 21 天突然死亡(死前 4 h 生活尚正常),即作解剖,取胎鼠称体重、肝重、脑重。与同组自然娩出之部分仔鼠(按编号随机抽取)作比较(如表 2)。死胎体重及脑重略小于自然分娩者,但差别无统计学意义($t = 0.903$ 及 1.049 , $P > 0.05$),肝重则显著增大($t = 3.935$, $P < 0.01$)。

3 讨论

自从 Wiggles W 创建子宫动脉结扎法建立 IU-GR 大鼠模型以来,此方法一度较常应用。本法的机理是通过减少胎儿的血液供应从而影响胎儿的发育,但急剧且较完全的血液供应中断常导致相应部位胎死宫内而致死胎、流产、死产率过高。Terry H 等^[2]对此法进行了改良,采取部分结扎以使更接近临床病理改变。然而,改良的方法技术难度较高,结扎过紧则于钢丝抽出后血流的减少仍然太过分、宫内死胎率仍高,结扎过松则 IU GR 发生率较低。在本文的三种实验方法中,本法产仔数最少, IU GR 率最低、围产期死亡率最高、有较多死胎发生,这与结扎的松紧程度难以掌握有关,此外,与手术的创伤、麻醉和术中子宫暴露受刺激也有一些影响。本文该法 IU GR 率较 Terry H 等的低,可能是因为结束妊娠的方式不同。

更生霉素腹腔注射法是近年较常用的一种方法,通过药物抑制胎儿的细胞分裂增殖、减少其细胞数量而导致 IU GR。本法最大的优点是简单方便,仅需注射一次则可完成。张为远等^[3]用此法获得 66.2 % 的 IU GR 率,本文也有 42.2 % 的发生率。但更生霉素是一种化疗药物,毒性较大,一次性大剂量使用对孕鼠和胎鼠均有一定副作用。本文中该组胎、仔鼠围产期死亡率也较高,母鼠有一只于妊娠第

21 天死亡,其胎鼠肝脏明显增大,均属其毒副作用。动物实验要获取活产的 IU GR 仔鼠,也需要考虑到这些情况。

被动吸烟法是较常用的另一种方法。张秀泉等^[4]以大白兔作实验, IU GR 发生率为 48.33 %,并发现胎兔的脑、肝及胎盘组织的细胞分裂停滞于 G₀、G₁ 期,从而提示吸烟不但能影响子宫胎盘的血流等,也能直接影响细胞的生长,而造成 IU GR。本法虽然实施较麻烦,需连续多日多次被动吸烟,但作用较温和而持久,效果较好。本实验的结果显示,不但其产仔鼠数最多, IU GR 发生率也是三种方法中最高的,达 61.6 %,且围产期死亡率低,获取存活的 IU GR 仔鼠数量多,这些都显示出此法的优越性。

通过对上述三种实验方法的比较可看到,被动吸烟法和更生霉素腹腔注射法均能较好地建立起 I-U GR 大鼠模型,而子宫动脉结扎法则效果较差。更生霉素法实施方便,但围产期死亡率高。被动吸烟法可获取最多活产的仔鼠且 IU GR 发生率高。儿科工作者在 IU GR 方面的研究重点在于 IU GR 对出生后代谢的远期影响,故被动吸烟法可作为建立 IU GR 动物模型的首选方法之一。

[参 考 文 献]

[1] Guckman PD, Harding JE. The physiology and pathophysiology of intrauterine growth retardation. Horm Res, 1997; 48 (suppl 1): 11.

[2] Terry Hagashi, Mary Ellen Dorko. A rat model for the study of intrauterine growth retardation. Am J Obstet Gynecol, 1988, 158: 1203.

[3] 张为远,谷丽萍,阎国来. 胎儿宫内生长迟缓动物模型的建立. 中华医学杂志,1989, 69: 629.

[4] 张秀泉,严隽鸿,洪素英,等. 被动吸烟对胎兔组织细胞周期改变的影响. 中华妇产科杂志,1993, 28: 720.

(收稿日期:1999 - 11 - 08 修回日期:1999 - 12 - 21)

(本文编辑:黄志强)