

Ultra Microscopic Observation of Canine Pyometra

Youpei Shao, Shaohua Zhai, Xuewei Liu, Leqiang Wang, Peng Yue, Wei Lu, Caishan Li, Qinyong Guo*

Laboratory of Ultramicroscopy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi Xinjiang
Email: *549525517@qq.com

Received: Dec. 23rd, 2017; accepted: Jan. 5th, 2018; published: Jan. 12th, 2018

Abstract

In this study, 4 cases of uterine empyema dogs and 2 normal female dogs were subjected to hysterectomy, and observed under the scanning electron microscope, transmission electron microscope the mucosal layer changed. By observing the occurrence of lesions, understanding the pathogenesis, providing guidance for the treatment of the disease, thereby the cure rate of the disease was improved. Also, for the domestic research in this area, it provided more information on the observation of the microstructure. Scanning electron microscope 20 KV 50 multiple to 300 multiple, its epithelial shedding showed honeycomb structure, the lower tissue exposed, the lumen expanded, and tissue gap widened, showing edema state. Transmission electron microscope 3500 multiple to 8000 multiple observed cell membrane rupture of extracellular matrix and organelles extravasation, and can see some of the organelles, such as mitochondria and endoplasmic reticulum will increase, the mitochondria is becoming vacuolization, and secreted secretions will increase.

Keywords

Canine Pyometra, The Dog, Scanning Electron Microscopy, Transmission Electron Microscopy

犬子宫积脓的超显微观察

邵友培, 翟少华, 刘学伟, 王乐强, 岳鹏, 卢威, 李才善, 郭庆勇*

新疆农业大学超显微实验室, 新疆 乌鲁木齐
Email: *549525517@qq.com

收稿日期: 2017年12月23日; 录用日期: 2018年1月5日; 发布日期: 2018年1月12日

摘要

本实验对4只患有子宫积脓的犬和2只正常的母犬进行了子宫切除, 并在扫描电镜、透射电镜下观察两者
*通讯作者。

文章引用: 邵友培, 翟少华, 刘学伟, 王乐强, 岳鹏, 卢威, 李才善, 郭庆勇. 犬子宫积脓的超显微观察[J]. 亚洲兽医病例研究, 2018, 7(1): 1-7. DOI: 10.12677/acrpvm.2018.71001

黏膜层发生的变化。通过观察所发生的病变,了解发病机理,为该病的治疗提供相应的指导,从而提高该病的治愈率,也为国内在这方面所进行的微观结构的观察提供更多的资料。扫描电镜20 KV下50倍到300倍其上皮脱落呈现蜂窝状结构,下层组织暴露,管腔扩张,组织间隙增宽,呈现水肿状态。透射电镜3500倍到8000倍下观察细胞内膜破裂细胞基质及细胞器外渗,并且可以看到部分的细胞器,例如线粒体和内质网都会增大,线粒体空泡化,分泌的分泌物会增多。

关键词

子宫积脓,犬,扫描电镜,透射电镜

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

犬子宫积脓是临床病例中较为常见的一种疾病,雌激素预先作用后,长期受孕酮的作用并伴发细菌感染所致,进而引发一连串病理反应,特征是子宫内异常并继发细菌感染使得管腔内产生大量脓汁[1][2]。修晓茜认为,子宫内膜囊性增生,腺体增多是发生子宫蓄脓的重要过程[3]。钱存忠等发现,超显微结构下子宫内膜上皮细胞形态、结构、绒毛长短及细胞完整性有明显的变化[4]。张志强发现,发生子宫积脓的犬,子宫的组织学损伤表现为内膜的增厚或萎缩,以及子宫腺不同程度的囊性变化[5]。子宫积脓多发于发情期之后,引起其发病因素较多,例如不洁交配,细菌感染、生殖激素分泌、年龄等,患病的犬如果不进行治疗,常会因脓毒败血症而死亡,本课题组近年来一直在从事相关研究,本次实验是从超显微结构对比的角度,观察正常与病理情况下子宫黏膜层所发生的变化。

2. 样品采集与处理

2.1. 样品的采集

病理子宫样品来自于动物医院门诊接诊的病例,通过手术方法进行采集,包括卵巢、子宫角和部分子宫颈,先用生理盐水进行清洗,将污染物和分泌物清洗干净后放入戊二醛固定液中,进行固定,编号标记;正常样品为门诊接诊的做绝育手术的母犬子宫颈和卵巢,处理方法同病理样品。

2.2. 扫描电镜的样品制作

将清洗干净的子宫切成 $0.8\text{ cm} \times 0.8\text{ cm}$ 的样品,放入2%戊二醛固定液中固定24 h,固定好的样品用 0.1 mol/L 磷酸缓冲溶液冲洗3次,每次15 min,后将样品置于不同浓度的乙醇逐级脱水(30% 15 min、50% 15 min、70% 过夜、80% 15 min、90% 15 min、95% 15 min、100% 10 min 3次),之后无水乙醇/丙酮(1:1)、无水乙醇/丙酮(1:4)、纯丙酮进行置换,后喷镀金膜,扫描电镜观察。

2.3. 透射电镜的样品制作

固定:将清洗干净的子宫切成大约 $1\text{ mm} \times 1\text{ mm} \times 3\text{ mm}$ 长块状,加入1 ml 2.5%的戊二醛固定液固定24 h。细胞固定后,弃固定液加入1 ml 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH7.2)连续冲洗5次,每次15 min。再用1%锇酸固定组织1.5 h,之后再用磷酸盐缓冲液(0.1 mol/L)冲洗5次,每次15 min。脱水:依次用乙醇逐级脱水30% 15 min、50% 15 min、70% 15 min、80% 15 min、90% 15 min、95% 15 min、100% 10 min。置换:

无水乙醇/丙酮(1:1)、无水乙醇/丙酮(1:4)、纯丙酮进行置换, EPon812 包埋剂/丙酮(1:1)、EPon812 包埋剂/丙酮(4:1)、纯 EPon812 包埋剂对细胞进行渗透, EPon812 包埋剂对细胞进行包埋, 分别在 37℃、42℃、60℃ 温度下聚合 72 h, 100 nm 厚度切片, 并用铜网捞取切片, 进行醋酸铀和柠檬酸铅双重染色, 电镜观察[6]。

3. 观察结果

3.1. 扫描电镜

正常的子宫表面较为光滑腺体开口排列有序, 开口也较为的明显, 并且能看到表面的褶皱, 正常的子宫纤毛和微绒毛及组织结构排列有序, 管腔结构很明显(图 1, 图 2), 发生病变后上皮脱落呈现蜂窝状

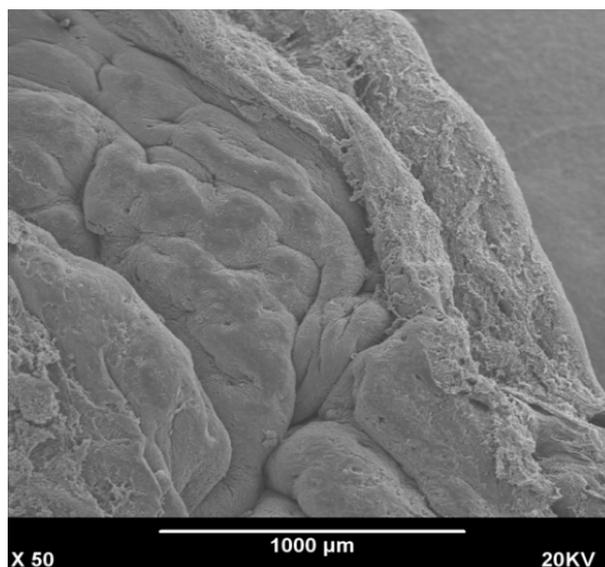


Figure 1. Normal endometrium surface

图 1. 正常子宫内膜表面

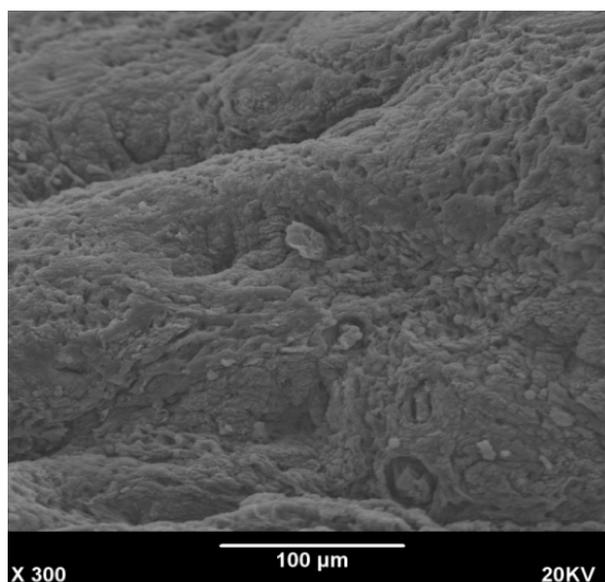


Figure 2. Normal endometrium surface

图 2. 正常子宫内膜表面

结构，下层组织暴露，管腔扩张，组织间隙增宽，呈现水肿状态(图 3，图 4)。表明：发生子宫积脓后首先黏膜脱落较为，后影响黏膜下层组织结构。

3.2. 透射电镜

正常的子宫细胞排列较为整齐(图 5，图 6)，发生子宫积脓后细胞内膜破裂细胞基质及细胞器外渗(图 7)，并且可以看到部分的细胞器，例如线粒体和内质网都会增大(图 8，图 9)，分泌的分泌物会增多。我们在图 10 中可以看到链球菌，并且在链球菌周围看到大量的分泌颗粒，说明在细菌感染下，会引起分泌细胞进行分泌。表明：蓄脓后对子宫内黏膜表面细胞发生很大的影响，使其结构发生改变，细胞器大小改变，细胞膜发生改变。

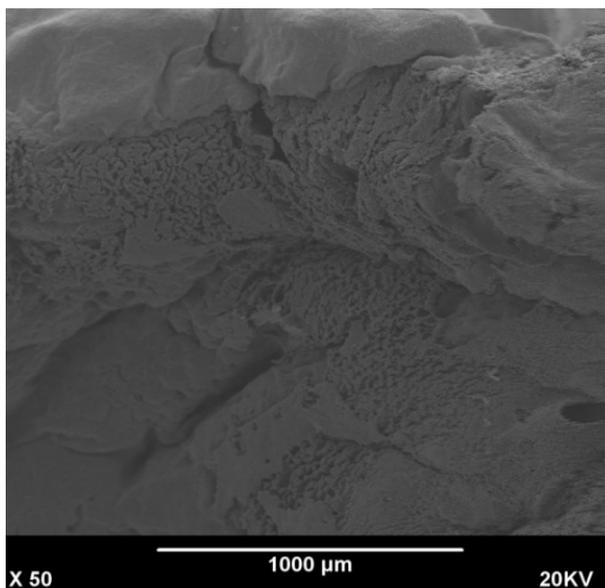


Figure 3. Abnormal surface of the uterine mucosa

图 3. 异常子宫黏膜表面

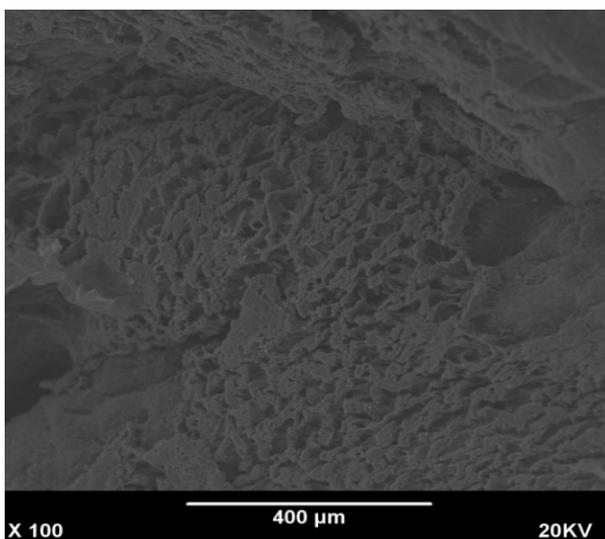
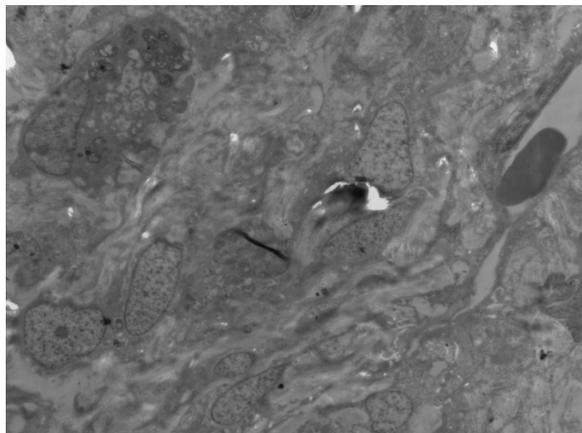


Figure 4. Abnormal uterine tissue space

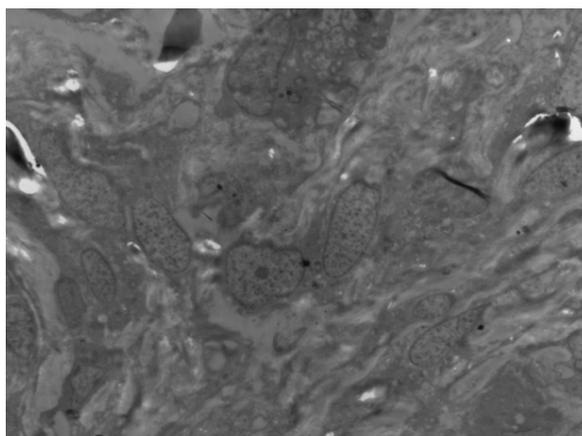
图 4. 异常子宫组织间隙



HV = 100.0 KV, 3500×

Figure 5. Normal endometrial cell surface

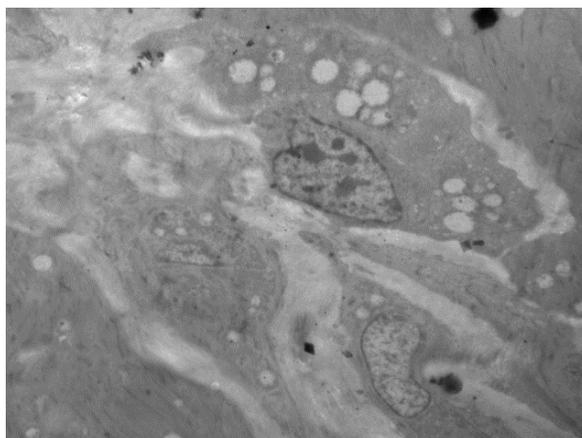
图 5. 正常子宫内膜表面细胞



HV = 100.0 KV, 3500×

Figure 6. Normal uterine organelles

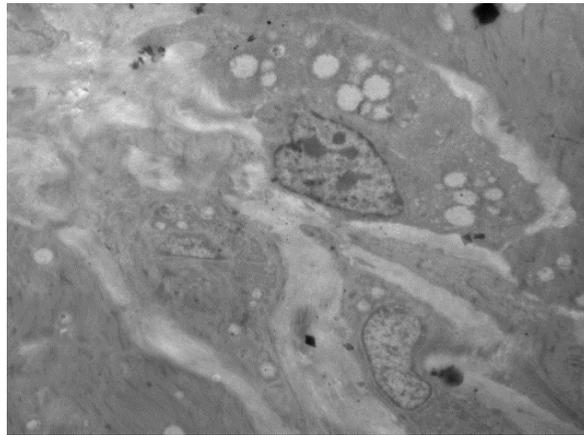
图 6. 正常子宫细胞器



HV = 100.0 KV, 5000×

Figure 7. Abnormal uterine organelles

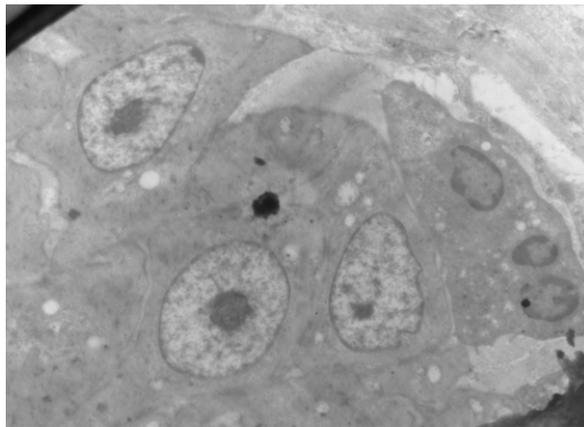
图 7. 异常子宫胞质内细胞器



HV = 100.0 KV, 5000×

Figure 8. Abnormal uterine mitochondria

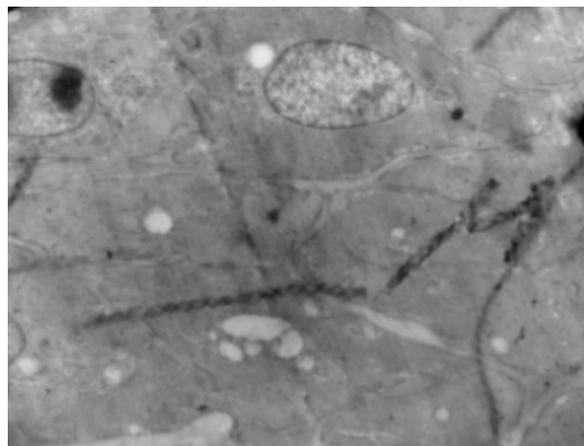
图 8. 异常子宫线粒体



HV = 100.0 KV, 6000×

Figure 9. Abnormal uterine stromal cells

图 9. 异常子宫细胞间质



HV = 100.0 KV, 6000×

Figure 10. Abnormal uterine bacterial infection

图 10. 异常子宫细菌感染

4. 讨论

在扫描电镜下张志强认为发生子宫积脓后整个内膜表面凹凸不平, 内膜细胞大小形状不均匀, 囊性变化明显, 有的顶端出现破损, 内部形成囊肿[5]奶牛产后子宫内膜只在某些区域脱落, 并非整个内膜都脱落。在那些上皮细胞相对完整的部位, 上皮细胞表面看不见纤毛, 微绒毛很稀少并且不整齐。在那些内膜破损的区域, 破损部分表面凸凹不平, 有纤维状结构, 有的地方还可见到内膜破损的断面。在产后 13 d, 破损区域缩小, 因为在产后的这个时期, 破损部位有新生细胞出现, 说明子宫内膜开始了修复的过程[7]。透射电镜下部分病例的炎症与细菌感染有关。子宫内膜增生, 上皮细胞的分泌增强, 大量分泌物在子宫腔内集聚, 炎性细胞浸润加之细菌的感染导致该病的发生与发展, 几乎所有的子宫蓄脓病例均出现炎症[4]。

在扫描电镜下我们可以观察其正常生理结构表面是光滑, 并且能看到排列整齐的分泌腺口发现发生子宫积脓的犬的子宫内膜表面黏膜脱落, 零散排列, 呈现蜂窝组织, 组织间隙增宽呈现水肿状态。因此在治疗该病我们首先应该治疗其表面黏膜, 制止黏膜的脱落, 及修复黏膜, 下层组织在发生水肿的状态, 会影响其渗透压的变化,

透射电镜下正常的子宫细胞排列较为整齐, 发生子宫积脓后细胞内膜破裂细胞基质及细胞器外渗, 并且可以看到部分的细胞器, 例如线粒体和内质网都会增大, 线粒体空泡化, 细胞器分泌的分泌物会增多。我们在图 10 中可以看到链球菌, 并且在链球菌周围看到大量的分泌颗粒, 说明在细菌感染下, 会引起分泌细胞进行分泌。由此可以看出炎症反应后细胞内分泌会增加, 治疗该病我们应阻止其分泌细胞的继续分泌, 线粒体快速增大, 会发生空泡化, 治疗时应从防止空泡化的继续发生的角度来进行。此实验对我们保守治疗开放型子宫蓄脓, 提供治疗方向, 从微观的方向来继续我们的治疗, 以达到更好的治疗效果。

5. 结论

犬子宫积脓的发生由多种因素引起, 正常子宫内膜光滑, 腺体开口明显, 排列整齐; 发生子宫积脓后子宫内膜脱落, 子宫下层组织发生水肿, 呈现蜂窝组织结构, 组织间隙增宽, 管腔腺体结构萎缩。细胞结构发生的变化: 正常细胞器, 细胞核周围细胞器分布均匀, 细胞外膜完整; 病变后细胞器增大, 出现空泡化, 部分细胞发生破裂, 细胞器外渗, 内分泌物增多。

基金项目

大学生创新项目, 犬子宫积脓的影像学, 项目编号: 201610758014。

参考文献 (References)

- [1] 侯加法. 小动物疾病学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005: 410.
- [2] 高仙. 犬子宫蓄脓的 B 超诊断及病原学鉴定[J]. 特种经济动植物, 2013(4): 19-21.
- [3] 修晓茜. 犬子宫积脓病理切片及孕酮受体比较分析[C]. 太原: 中国畜牧兽医学会兽医外科学分会, 2013: 239-244.
- [4] 钱存忠, 侯加法. 子宫蓄脓犬的子宫和卵巢组织的显微及超微结构观察[J]. 南京农业大学学报, 2005, 28(4): 113-116.
- [5] 张志强. 犬子宫积脓的组织病理学观察和微生物学研究[D]: [硕士学位论文]. 北京: 中国农业大学, 2014.
- [6] 翟少华, 包晓玮, 雒秋江, 等. 甜菜红素恢复 HeLa、HepG2 和 A549 细胞线粒体形态完整和促进细胞核坏死的作用[J]. 肿瘤防治研究, 2016, 43(10): 835-841.
- [7] 田文儒, 何剑斌, 丛霞, 等. 产后奶牛子宫内膜的扫描电镜观察[J]. 中国兽医学报, 2004, 24(2): 183-186.

知网检索的两种方式：

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择：[ISSN]，输入期刊 ISSN：2169-8880，即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入，输入文章标题，即可查询

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：acrpvm@hanspub.org