

腹腔镜技术在山羊胚胎移植中的应用

王光亚 马保华

(西北农业大学兽医系)

摘 要

本文详细介绍了山羊在站立保定下进行腹腔镜检查的方法,对检查中所观察到的生殖器官的生理及病理现象进行了较系统的描述。研究表明,超排处理山羊卵巢反应异常者占53.2%;自然发情及诱导发情羊异常发情者占32.4%。作者认为,在奶山羊胚胎移植工作中应用腹腔镜技术,可减少盲目性手术及无效工作量,并提高手术成功率。

关键词: 腹腔镜技术; 奶山羊; 胚胎移植; 卵巢反应

腹腔镜技术早在50年代就比较完善。Megal (1956) 将腹腔镜应用于牛、绵羊和山羊的生殖器官检查。到60年代初,光导纤维在腹腔镜上的应用,使腹腔镜技术进一步得到发展。

在国外,腹腔镜技术除应用于人医外,已开始应用于兽医和家畜繁殖方面。Moore et al (1962, 1968) 将腹腔镜技术应用于绵羊的非手术采卵和移植。70年代,国外已将腹腔镜技术广泛应用于妇科检查、生殖医学及腹腔病理研究,在兽医产科及繁殖科学方面也有应用。Dukelow et al^[1]报道了腹腔镜检查的一般技术和特殊技术,如卵泡吸取和注射、子宫液回收、输卵管注入等。80年代,西澳大利亚将腹腔镜技术广泛应用于绵羊人工授精。但迄今为止,国内还未见到腹腔镜技术在家畜方面应用的报道。

我们于1985~1986年在山羊胚胎移植研究工作中,应用腹腔镜技术观察供体卵巢反应,以确定超排处理效果,决定是否进行胚胎回收手术;检查受体羊卵巢和子宫机能状态,以挑选合适的受体。

1 材料和方法

西德产 Karl Storz 小儿腹腔镜及其附件。自配腹腔送气设备、底面与地平面呈15~30°的保定架一台,剪毛、消毒等药械。供试羊为胚胎移植研究的试验奶山羊25只,黑山羊34只。

被检羊预先饥饿4~8小时。以免检查时损伤内脏和妨碍观察。对插入腹腔的附件,用酒精浸泡消毒。

被检羊右侧臍凹中部剪毛消毒,并站立保定在保定架上,呈前低后高姿势。术者站立于被检羊右侧,左手提起局部皮肤稍向后拉,然后用腹腔镜专用套管针从右侧臍凹中部向对侧耻骨方向猛力刺破腹壁。一般情况下,刺入速度愈快,羊的痛苦愈小,在不作任何麻醉的情况下,可以耐受检查。由于刺入时将皮肤向后拉,所以抽出套管针后,皮肤创口与腹壁创

本文于1987年2月24日收到。

口错开,术后也无需缝合。

抽出套管针的套针,将送气胶管与套管针套上的送气接口连接,并向腹腔内送气。待两侧膈凹膨起时,将连接在光源上的光导纤维接在腹腔镜镜头上,打开电源开关,将镜头通过套管插入腹腔,观察骨盆腔内外的生殖器官。如果送气量充足,瘤胃及肠管前移,腹腔后部及骨盆腔将有足够的观察空间,否则应增加送气量。

观察时要随时改变被观察器官与镜头前端的距离和镜头的方向,以获得良好的观察角度和视线。首先观察右侧,可见在骨盆腔中上方由前向后的直肠,直肠外常附着有大量白色闪光的脂肪。其下有呈弯曲状的左右两侧子宫角,子宫角位于骨盆腔内或悬垂于骨盆腔前下沿。子宫角后下方可见膀胱。同时在骨盆腔前右侧见到依靠系膜悬垂于腹壁内侧的右卵巢,卵巢系膜上可清楚地看到呈蟠状的鲜红色卵巢动脉。依靠改变羊体的重心位置,可使卵巢完全悬空而不贴在腹壁上,便于观察卵巢两侧的情况。右侧生殖器官检查完毕后,将镜头由直肠下部伸向左侧,观察左侧卵巢。

检查完毕后,抽出镜头,关掉电源,除去送气胶管。将套针插入套管,待约剩5 mm处时,转动套针,使其排气孔与套管上的排气孔相对应,慢慢放出腹腔内的空气。然后缓慢拔出套管针,局部涂碘酊消毒。

2 结 果

2.1 卵巢和子宫各种生理及病理现象

2.1.1 不活动的卵巢:处于发情季节以前或卵巢静止时,可见卵巢体积较小,微带白黄色。卵巢上既无发育的卵泡,也无黄体。卵巢系膜内的血管较细。

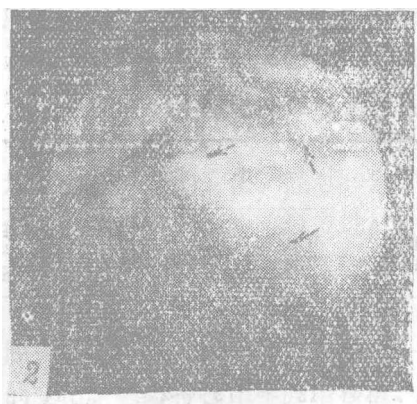
2.1.2 有周期活动的卵巢:①发情前期卵巢系膜内的血管变粗,卵巢上常可见到大小不等的卵泡,卵巢体积增大。卵泡直径在0.2~0.5cm左右,卵泡呈暗红色,半透亮。有时还可见到退化中的黄体。退化黄体在卵巢表面呈淡白黄色的斑状。②排卵前卵巢体积较大,系膜内的血管很粗。卵泡直径可达0.5~1.0cm。卵泡呈圆球状突出于卵巢表面。卵泡壁很薄,卵泡内充满半透亮的卵泡液呈淡暗红色。自然发情羊的每个卵巢上可见0~3个卵泡。而在超排处理的羊,有时卵泡数量可多达10个以上(照片1)。临近排卵时,有时可观察到在卵泡壁上有一较粗的树枝状血管。有时也可观察到输卵管伞包于卵巢之外。③刚排卵后不久,卵巢体积稍减小。排卵的卵泡处由于卵泡液流失、血管破裂,形成凹陷并有少量深红色的凝血。以后凝血被吸收,黄体细胞发育,形成功能黄体,此时卵巢体积又稍增大。发育良好的黄体呈肉红色,如火山口或钮扣状突出于卵巢表面,外周隆起而中心凹陷。突出部分的直径约0.3~0.6cm。自然发情后的羊,每侧卵巢上可形成0~2个功能黄体。而超排处理的羊,有时黄体数可达10个以上



照片 1

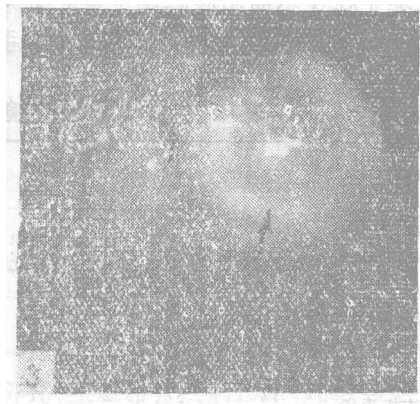
镜头所示为四个排卵前的卵泡

(照片2)。当黄体数量较多时,由于一些黄体重叠在一起,很难精确计数。在山羊胚胎移植工作中,可根据卵巢上是否存在发育良好的黄体来确定受体羊。根据黄体发育情况,黄体



照片2

箭头所示为三个发育良好的黄体，A处上方为卵巢系膜。



照片3

箭头所示为大的卵巢囊肿

和未排卵泡或退化黄体比例，来预测胚胎回收效果，确定是否进行回收手术。

2.1.3 病理状态的卵巢：①黄体早期退化：由于气候因素的影响或激素分泌紊乱，可导致黄体过早退化。发情后3~5天，如观察到黄体变小，由肉红色变为淡黄白色，即为黄体早期退化。受体黄体早期退化则不能移植。供体黄体早期退化则胚胎可能也发生退化，胚胎回收率大大降低。②卵巢囊肿：自然发情或超排处理的山羊，卵巢囊肿多为卵泡囊肿。卵泡囊肿时，可见囊肿的卵泡增大，壁厚透明度较差，呈淡白色（照片3）。囊肿的大小和数量不等，数量少时较大，而数量多时相对较小。

在超排处理的羊，由于在配种时常注射LH或HCG，也可见到黄体囊肿。黄体囊肿是由未排卵的卵泡壁黄体化形成的。黄体囊肿微突出于卵巢表面呈暗红色，中心不形成凹陷。

2.1.4 病理状态的子宫：通过腹腔镜检查常可发现子宫的某些病理现象，如疑似子宫结核和子宫粘连。疑似子宫结核在奶山羊较常见，可见子宫浆膜上有数量不等的珍珠状结节。结节大小如火柴头，表面反光性很强，白色半透明。子宫粘连主要见于多次进行过胚胎回收手术的羊。粘连多发生于子宫角尖端及输卵管伞。子宫角尖端发生粘连时，可见子宫角尖端弯曲融合在一起。如输卵管伞部发生粘连，常见卵巢被结缔组织包埋，看不到卵巢。

2.2 腹腔镜技术在山羊胚胎移植过程中的应用

2.2.1 检查超排反应，决定手术回收，预测回收效果：对30只供体羊的34次超排处理进行了腹腔镜检查，结果发现，有15次超排反应不良，未做回收手术。其中FSH处理的10只，FSH+LH处理的1只，PMSG处理的4只。有60%形成卵巢囊肿或未排卵；20%黄体早期退化；另有20%未排卵泡数大于黄体数也未做回收手术。对超排效果较好的19只羊进行了回收手术，另有13只供体羊未做腹腔镜检查直接手术，其结果见表1。从表中可看出，腹腔镜检查确定形成正常黄体的羊，回收成功率为63.2%，每次手术平均获卵数为3.5枚，可减少无效手术15次。有7例未回收到胚胎，其中3例为未排卵卵泡比例较大，2例为第二次回收手术，2例可能为手术失败。而直接进行手术回收的13只羊，仅3例回收到14枚胚胎，成功率为23%，每次手术平均获卵1.08枚。如进行腹腔镜检查，则可减少10次无效手术。从而可见，对

超排处理羊在手术前用腹腔镜检查卵巢反应,以确定是否进行回收手术,可大大提高回收成功率,减少不必要的手术及对供体羊的手术损伤。

表1 供体羊腹腔镜检查后手术与直接手术结果比较

项 别	超排 处理 次数	超 排 反 应					手 术 结 果				
		形成正 常黄体	卵巢 囊肿	黄体早 期退化	未排卵 泡较多	生殖器 官粘连	手术 次数	回收胎 次数	手术成 率	回收胎 总数	每次手术 平均回收 胎数
腹腔镜检查 和手术结果	34	19	9	3	3		19	12	63.2	66	3.5
未做腹腔镜 检查直接手术	13	3	2	7		1	13	3	23	14	1.08

2.2.2 选择最佳受体:在移植手术前,对于准备的自然发情或诱导发情的受体羊进行腹腔镜检查,可以选择出供移植的最佳受体。对19只受体的22个发情周期腹腔镜检查结果见表2,有13只正常排卵并形成黄体,因胚胎限制只有6只进行了移植。13只占发情周期数的59%;有13.6%的周期无排卵及黄体形成;18.2%的周期形成囊肿;4.5%黄体过早退化;另有4.5%属子宫问题。而15只根据外部发情表现选择的手术受体,手术中检查只有12只有功能黄体并进行了移植。有3只(占20%)因无黄体或子宫有问题未进行移植。

表2 受体羊腹腔镜检查及移植手术结果

项 别	发 情 周 期 数	正 常 发 情	异常发情			子宫疾病		手术结果		
			无排卵 无黄体	卵巢 囊肿	黄体早 期退化	粘 连	疑似 结核	手术 次数	移 植 受体数	有效 手术
腹腔镜检查及 移植手术结果	22	13	3	4	1		1	6	6	100%
直接移植手术	15	12	1			1	1	15	12	80%

3 讨论

由于山羊无法进行直肠检查,过去在胚胎移植工作中只能在手术过程中观察卵巢反应情况,确定是否回收或移植胚胎。这就使手术量增大,同时造成不适于回收或移植的供体羊和受体羊的手术损伤,增加了生殖器官粘连的发生率。手术前应用腹腔镜技术检查供体和受体的卵巢和子宫,可减少那些不必要的手术,不但减轻了工作量,而且增加了成功的机会。据我们对供体羊的47次超排处理的腹腔镜检查和手术探测结果,卵巢反应异常者占53.2%,受体羊的37个发情周期中,卵巢上有正常黄体者占67.6%,而异常发情者占32.4%。对受体羊手术前进行腹腔镜检查,卵巢上有正常黄体者,手术时直接将胚胎移植于子宫角,不需要再检查卵巢,这样不仅可缩短手术过程,减少手术创污染机会,更重要的是可避免牵拉及检查卵巢时可能造成的卵巢及黄体损伤,提高成功率。作者认为腹腔镜检查的时间以术前1~2天为宜。因为黄体早期退化在超排处理的山羊相当普遍,如检查时间距手术过长,仍可能发生变化影响诊断的准确性,降低手术成功率。

在国外, Phillippo (1971) 用腹腔镜作羊早期妊娠诊断, Dukelow 等 (1971) 用腹腔镜对山羊及非人灵长类的卵巢变化进行了观察。他们都采用仰卧术式, 并给予安定剂及局部麻醉, 腹中线插入镜头, 且采用一特殊探针辅助操作, 我们采用站立保定, 不给任何安定剂及麻醉剂, 腰旁插入镜头, 依靠改变羊体重心使卵巢悬垂位置变化, 不需要探针辅助操作, 即可清晰地观察到卵巢的变化。经对49只羊的56次检查证明, 除插入套管针时有骚动外, 一般情况下均能耐受检查。有的羊最多进行过4次检查, 尚未发现有任何后遗症。采用站立保定术式对羊只采食影响较小, 空腹或饥饿4~8小时即可进行。而仰卧术式常需更长的饥饿时间。

腹腔镜技术比较安全易行, 每检查一次仅需5~10分钟。其最大特点是能直接看到生殖器官的变化。它必将在山羊胚胎移植、生殖生理研究、生殖器官疾病诊断、妊娠诊断及家畜繁殖技术等方面发挥更大的作用。

4 结 论

4.1 采用站立保定术式对山羊进行腹腔镜检查, 方便易行, 无副作用及后遗症。

4.2 腹腔镜检查可直观地看到卵巢及子宫的机能状态, 可确诊卵巢的生理及病理变化, 对某些子宫疾病也可做出诊断。

4.3 在山羊胚胎移植工作中, 可根据腹腔镜检查结果, 确定对供体是否进行回收手术, 受体是否适于移植。提高手术成功率, 减少无效手术及工作量。

本文经王建辰教授审阅并提出重要修改意见, 特表感谢。

参 考 文 献

- 1 Dukelow W R, Ariga Satoshi. Laparoscopic techniques for biomedical research. *J Med Primatol* 1979; 5: 82-89
- 2 Tervit H R et al. Techniques and success of embryo transfers in angora goats. *N Vet J* 1983; 31: 67-70
- 3 甘肃农业大学主编. 家畜产科学, 农业出版社, 1980

THE APPLICATION OF LAPAROSCOPY TO THE EMBRYO TRANSFER IN MILK GOATS

Wang Guangya Ma Baohua

(*Department of Veterinary, Northwestern Agricultural University*)

Abstract

This paper introduces the method of laparoscopy examination in embryo transfers in milk goats restrained in the standing position. Also, the phenomena of the physiological and pathological ovaries and uterus observed in the course of examinations are described systematically. The results indicate that 53.2% of milk goats treated by superovulation are found with unusual responses in their ovaries, while those with abnormal estrus out of natural and induced estrus consist of 32.4%. The authors hold that the blind surgical operations and ineffective work can be reduced, and the rate of surgical operation can also be improved if laparoscopy is applied to embryo transfers in milk goats.

key words: laparoscopy technique; milk goat; embryo transfer; ovarian response