文章编号:1000-5404(2006)17-1759-02

论著

钙通道拮抗剂对大鼠睾丸缺血再灌注损伤保护作用的研究

苗文隆[1],张晓云[2] (河北北方学院:[1]附属第一医院泌尿外科,[2]生理学教研室,张家口 075000)

提 要:目的 探讨钙离子通道拮抗剂(维拉帕米)对扭转复位后睾丸的保护作用。**方法** SD雄性大鼠建立左侧睾丸扭转模型,其中一组应用维拉帕米,测定睾丸NO含量、NOS活性和总抗氧化能力(T-AOC)。**结果** 一侧睾丸扭转复位后(B_1组)扭转侧和对侧睾丸NO含量、NOS活性升高,T-AOC降低,扭转侧较对侧变化显著;维拉帕米可减轻上述变化。在A组对照睾丸和B_4组对侧睾丸间差别无显著性。**结论** 对侧睾丸损伤是由NO大量产生和T-AOC降低引起。维拉帕米减轻大鼠睾丸扭转复位后扭转侧和对侧损害。切除扭转睾丸,对健侧睾丸起保护作用。

关键词:一氧化氮;睾丸扭转;维拉帕米;总抗氧化能力
中图法分类号:R364.12;R697.22;R972 **文献标识码**:A

Protective effect of Ca^{2+} channal blocker on testis after testicular torsion in rats

MIAO Wen-long[1], ZHANG Xiao-yun[2] ([1]Department of Urology, The First Affiliated Hospital, [2]Department of Physiology, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, China)

Abstract: Objective To investigate the protective effect of Ca^{2+} channal blocker (Verapamil) on the testis following testicular torsion in rats. **Methods** Forty healthy male Sprague-Danley rats were randomly divided equally into five groups: group A (sham operation), group B_1 (the left testis underwent 720° positive torsion, 2 h later detorsion was performed), group B_2 (the process as group B_1 except at 30 min before detorsion, intraperitoneal injection of physiological saline was performed), group B_3 (the process as group B_1 except at 30 min before detorsion, intraperitoneal injection of 2 mg/kg Verapami was performed), group B_4 (the left testis underwent 720° positive torsion, and 2 h later the left testis was excised). Five days after operation, the bilateral testes (the right testis in group B_4) were extracted and nitric oxide (NO), nitric oxide synthase activity (NOS), total antioxygen capacity (T-AOC) were measured. **Results** After detorsion, NO and NOS activity increased greatly, T-AOC decreased significantly in bilateral testes, but more obvious in the torsive testis; Verapamil could inhibit the changes. **Conclusion** The excessive production of NO and the decreased T-AOC may be the main causes of the contralateral testicular injury after unilateral testicular torsion. Verapamil can reduce the testicular injury in bilateral testes after testicular torsion/detorsion in rats. The resection of the torsive testis has protective effect on the contralateral one.

Key words: NO; testicular torsion; Verapamil; T-AOC

睾丸扭转是一种泌尿外科的急症,好发于青少年。急性睾丸扭转,即使没有睾丸组织的梗死出现,缺血后的睾丸血供亦可恢复到正常水平,但仍可出现睾丸生精功能的损害,生育能力的减低[1]。本实验通过睾丸扭转动物模型的建立,测定NO含量、NOS活性和总抗氧化能力(T-AOC),以及钙离子通道拮抗剂(维拉帕米)对减轻睾丸细胞损伤的作用。

1 材料与方法

1.1 动物模型建立与分组

SD雄性健康大鼠(质量180~200 g)40只,分为实验组(32只)和对照组(8只),睾丸扭转模型采用Turner法[2]建立。2%戊巴比妥钠(50 mg/kg)腹腔注射麻醉。

A组(对照组):左侧阴囊切开,游离暴露睾丸,依扭转模型随意搬动,但不予扭转,阴囊缝合关闭。B组(实验组):又分为B_1、B_2、B_3和B_4 4组。

B_1组(扭转组):左侧阴囊切开,绕精索顺时针扭转睾丸720°,肉膜白膜缝合固定防止自发复位,阴囊缝合。2 h后,第2次切开左侧阴囊,将扭转的睾丸复位固定,缝合阴囊。

基金项目:河北省科学研究与发展计划资助项目(052761323)
Supported by the Science Research and Development Plan of Hebei Province (052761323)

作者简介:苗文隆(1966-),男,河北省张家口市人,硕士,副主任医师,副教授,主要从事泌尿系肿瘤和男性生殖方面的研究。电话:13703131655

收稿日期:2005-09-26;**修回日期**:2006-02-28

B_2 组(生理盐水组):方法同 B 组,复位前 30 min,腹腔注射相应量的生理盐水做对照。

B_3 组(维拉帕米组):方法同 B 组,复位前 30 min,腹腔注射维拉帕米注射液(2 mg/kg)。

B_4 组(扭转切除组):左侧阴囊切开,绕精索顺时针扭转睾丸 720°,肉膜白膜缝合固定防止自发复位,阴囊缝合。2 h 后切除左侧睾丸。

1.2 标本的收集和睾丸匀浆的制备

术后第 5 天用快速脱颈椎法处死大鼠。取出双侧睾丸(B_4 组为对侧),剔净睾丸附着筋膜,冷生理盐水洗净血污后滤纸拭干,称重。用电子天平称取左睾丸组织约 0.15 g,加入 9 倍冷生理盐水,用眼科剪剪碎后转入组织匀浆器中,睾丸匀浆 4 000 r/min 离心 15 min,取上清液进行下面各种测定。

1.3 NO 含量、NOS 活性和 T-AOC 的测定

严格按试剂盒说明书进行(试剂盒购自南京建成生物医学工程研究所)。

1.4 统计学处理

结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS 8.0 统计软件以单因素方差分析及 t 检验。

2 结果

NO 含量、NOS 活性和 T-AOC 在 B_1 组与 B_2 组间差别无显著性($P>0.05$),在 A 组对照睾丸和 B_4 组对侧睾丸间差别无显著性($P>0.05$)。B_1 组扭转侧和对侧分别与正常对照组比较,NO 含量、NOS 活性均显著升高,T-AOC 均明显降低($P<0.05$);扭转侧较对侧变化显著($P<0.05$)。B_3 组与 B_1 组扭转侧和对侧分别比较,NO 含量、NOS 活性均降低,T-AOC 明显升高($P<0.05$)。

表 1 各组 NO、NOS 和 T-AOC 比较

组别	NO 含量(μmol/mg)	NOS 活性(U/mg)	T-AOC(U/mg)
A 组对照睾丸	1.19 ± 0.23	1.40 ± 0.19	34.79 ± 3.19
B_1 组对侧睾丸	1.50 ± 0.36[a]	2.19 ± 0.25[a]	20.36 ± 3.23[a]
B_1 组扭转睾丸	2.58 ± 0.25[bc]	2.96 ± 0.30[bc]	15.4 ± 2.96[bc]
B_2 组对侧睾丸	1.54 ± 0.27	2.27 ± 0.24	19.27 ± 3.31
B_2 组扭转睾丸	2.16 ± 0.28	2.84 ± 0.27	16.73 ± 2.54
B_3 组对侧睾丸	1.20 ± 0.17[c]	1.58 ± 0.21[c]	29.16 ± 4.67[c]
B_3 组扭转睾丸	1.20 ± 0.25[d]	1.68 ± 0.27[d]	22.16 ± 3.15[d]
B_4 组对侧睾丸	1.02 ± 0.25	1.45 ± 0.23	32.05 ± 4.68

a:$P<0.05$,b:$P<0.01$,与 A 组比较;c:$P<0.05$,与 B_1 组对侧比较;d:$P<0.05$,与 B_1 组扭转比较

3 讨论

NO 过量产生及 T-AOC 的下降是 UTT 对侧睾丸损伤的重要原因[3]。本实验表明,一侧睾丸扭转复位后(B_1 组)扭转侧和对侧睾丸 NO 含量、NOS 活性升高,T-AOC 降低,扭转侧较对侧变化显著;切除扭转侧睾丸(B_4 组),对侧睾丸与正常对照 NO 含量、NOS 活性和 T-AOC 差别无显著性,说明对侧睾丸损伤是由于睾丸复位后再灌注损伤引起,扭转侧睾丸受到缺血和再灌注双重损伤,损伤程度更重。

M40403(非肽类的 SOD)[4]、咖啡酸苯乙酯(CAPE,一种抗氧化和抗感染药)[5]均可使中性粒细胞黏附减少,地塞米松[6]有抗炎、抗休克及保护各脏器细胞稳定性的作用,均使缺血再灌注损伤减轻。组织再灌注损伤过程中的机制相当复杂,寻求更为有效的药物成为新的研究思路。理论认为钙通道拮抗剂能阻止钙离子进入细胞内,引起睾丸血管平滑肌松弛,提高睾丸组织抗氧自由基的能力,减轻高浓度的 NO 对细胞的损害作用。本实验表明,应用维拉帕米后,NO 含量、NOS 活性降低,T-AOC 升高,而 T-AOC 是综合反应组织抗氧自由基对脂质膜损害,清除活性氧,防止 O_2^-、OH^- 对组织损伤能力的指标,说明维拉帕米对扭转侧和对侧睾丸均有保护作用,在一定程度上减轻睾丸扭转损伤,提高扭转睾丸的生精能力有着非常重要的意义;提示我们在临床工作中,遇到睾丸扭转的患儿,应用此类药物,可以减轻再灌注损伤的程度。

实验结果表明,切除扭转侧睾丸,对侧睾丸与正常对照 NO 含量、NOS 活性和 T-AOC 差别无显著性,说明患侧扭转在没有复位情况下对健侧影响不大,提示临床工作中遇到扭转后受损严重但仍可勉强生存的睾丸,是否需要切除,防止对侧睾丸再灌注损伤,值得进一步探讨。临床上常根据 Arda 等[7]的"三级评分系统"决定睾丸取舍,即切取一深达髓质的楔形患睾组织送检,温盐水纱布包裹促进血流,观察活检创面出现动脉血渗出时间,如为Ⅲ级需观察 10 min 决定是否保留,在此期间对侧睾丸原理上可受到损伤,应尽量缩小观察时间。

参考文献:

[1] 陈俊汇,杨为民,李家贵. 睾丸扭转与睾丸干细胞凋亡[J]. 国外医学:泌尿系统分册, 1998, 18(6): 243 - 245.

[2] TURNER T T, BROWN K J. Spermatic cord torsion: loss of spermatogenesis despite return of blood flow[J]. Biol Report, 1993, 49(2): 401 - 407.

[3] 姚启盛, 叶章群, 王晓康, 等. 一氧化氮在一侧睾丸扭转对侧睾丸损伤中的作用[J]. 中国男科学杂志, 2004, 18(2): 26 - 28.

[4] LYSIAK J J, NGUYEN Q A, TURNER T T. Peptide and nonpeptide reactive oxygen scavengers provide partial rescue of the testis after torsion[J]. J Androl, 2002, 23(3): 400 - 409.

[5] UZ E, SOGUT S, SAHIN S, *et al*. The protective role of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on testicular tissue after testicular torsion and detorsion[J]. World J Urol, 2002, 20(4): 264 - 270.

[6] 李 超, 郑新民, 杨志伟, 等. 地塞米松对大鼠睾丸扭转复位后生殖细胞凋亡和相关因素的影响[J]. 医学新知杂志, 2004, 14(1): 33 - 34, 43.

[7] ARDA I S, OZYAYLALI I. Testicular tissue bleeding as an indicator of gonadal salvageability in testicular torsion surgery[J]. BJU int, 2001, 87(1): 89 - 92.

(编辑 陈聪连)