短篇论著

文章编号:1000-5404(2011)21-2302-02

兔附件扭转复位后对卵巢缺血再灌注损伤的影响

于月新,李 巨,陈 佳,樊宝剑,颜宇博 (110001 沈阳,解放军第202医院妇产科)

[摘要] **目的** 观察兔附件扭转复位后卵巢缺血再灌注损伤生化指标的变化。**方法** 将雌性成年日本大耳白兔40只分为实验组($n=32$)和对照组($n=8$),实验组先建立兔附件扭转模型,附件扭转24 h后解除扭转并将之分成4组,每组8只,分别于24、48、72、96 h后取双侧卵巢组织,检测卵巢丙二醛(MDA)、诱导型氧化亚氮合成酶(iNOS)和超氧化物歧化酶(SOD)的变化。**结果** 与对照组比较,实验组再灌注24、48、72 h卵巢组织中MDA升高($P<0.01$),48 h达高峰($P<0.05$),72 h开始下降,96 h接近正常;SOD生化检测值24 h最低,72 h达到高峰($P<0.05$),96 h接近正常;实验组卵巢iNOS均有不同程度升高,随时间进展,48 h达到高峰($P<0.05$),72 h下降。**结论** 附件扭转后解除扭转对卵巢产生了明显的再灌注损伤,48 h损伤最明显,损伤的逐渐恢复可能与局部产生的代谢毒物逐渐清除等因素有关。

[关键词] 缺血再灌注损伤;附件扭转;氧自由基;兔
[中图法分类号] R339.2+2;R818.023 [文献标志码] A

附件扭转(adnexal torsion,AT)是妇科常见的急腹症之一。蒂扭转发生后,卵巢静脉和动脉血流依次受阻[1],如不及时诊治可造成卵巢不可逆转的坏死等严重并发症。本课题组曾采用先高位结扎卵巢动、静脉再将扭转的附件复位、切除卵巢肿瘤并修补卵巢的方法成功地保留了患侧卵巢,完全避免了由卵巢静脉血栓脱落而造成的肺动脉栓塞的发生[2]。但卵巢再灌注损伤的情况还不清楚,为此,我们先建立兔附件扭转的动物模型,并对该侧附件行松解复位术,观察卵巢扭转后的再灌注损伤情况,为临床上附件扭转后保留卵巢提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物分组及方法

雌性成年日本大耳白兔40只,8~12月龄,体质量2.5~3.0 kg,由沈阳军区总医院实验动物中心提供[合格证号:SCXK(军)2007-001],分为实验组($n=32$)和对照组($n=8$)。兔称量后以氯胺酮40 mg/kg肌肉注射,待四肢松软、睫毛反射消失后将其仰卧固定于手术台。取下腹部正中切口入腹腔,暴露双侧子宫和输卵管、卵巢,将实验组兔的左侧附件按顺时针方向旋转3周,观察卵巢由灰白在1 min后变成深红色后以4号丝线将之固定于左侧腹壁。24 h后解除扭转,再将之分成4个时相点,每个时相点8只,分别于24、48、72、96 h后取双侧卵巢组织。对照组仅开腹后提拉出左侧附件至切口,再放回原处关腹,96 h后取双侧卵巢组织。所有兔以右侧卵巢为内对照。

1.2 实验耗材及试剂

显微镜(型号 OLYMPUS BX51TF)、离心机(HERAEUS Pico17,Thermo公司)紫外分光光度计(UV-1700 Pharmaspec,Shimadzu公司)、恒温水浴(HH-2型,江苏金松科技仪器厂)。丙二醛(MDA)、诱导型氧化亚氮合成酶(iNOS)和超氧化物歧化酶(SOD)生化检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

1.3 主要观察指标

1.3.1 一般状态 术前及术后观察研究对象饮食、睡眠、大小便、精神状态及体质量。于手术开腹时观察子宫、输卵管及卵巢的大小、颜色及盆腔情况。

1.3.2 生化指标检测 取摘除之左侧1/2卵巢,置于-80 ℃保存。收集标本按南京建成生物工程研究所提供检测试剂盒说明书操作测定。

1.4 统计学分析

采用SPSS 13.0统计软件,正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多个独立样本间的多重比较行扩展的 t 检验。

2 结果

2.1 再灌注后各组兔卵巢及输卵管肉眼所见

实验组左侧附件再灌注24 h后,2只兔卵巢及输卵管呈浅红色,5只呈深红色,1只呈蓝黑色;48 h后有3只卵巢及输卵管呈浅红色,2只呈深红色,1只呈蓝黑色;72 h后6只呈浅红色。而对照组及实验组右侧卵巢未见明显异常。

2.2 SOD、MDA、iNOS的变化

与对照组比较,实验组再灌注时相点24、48、72 h卵巢组织匀浆中MDA升高($P<0.01$),48 h时达高峰($P<0.05$),72 h后下降,与48 h相比,差异有统计学意义($P<0.05$)。卵巢组织匀浆中iNOS 24、48 h升高($P<0.05$),48 h达到高峰($P<0.05$),96 h接近正常($P>0.05$)。与对照组相比,24、48 h卵巢SOD下降($P<0.01$),72 h时达高峰,与48 h相比,差异有统计学意义($P<0.05$),96 h后接近正常($P>0.05$)。见表1。

[基金项目] 辽宁省自然科学基金(20112240)
[通信作者] 李 巨,电话:(024)28853558,E-mail:yuyuexinpingan@163.com

表1 附件扭转对兔缺血再灌注损伤卵巢组织中SOD、MDA、iNOS含量的影响（$\bar{x} \pm s$）

组别	n	SOD（U/mg）	MDA（nmol/mg）	iNOS(U/mg)
对照组	8	3.312±0.951	0.328±0.156	1.415±0.416
内对照	40	5.731±0.879	0.562±0.471	1.532±0.512
实验再灌注24 h组	8	1.562±0.482[a]	2.441±0.887[a]	3.222±0.984[a]
实验再灌注48 h组	8	2.926±1.325[ab]	3.783±1.391[ab]	4.881±1.220[ab]
实验再灌注72 h组	8	7.091±1.832[ac]	2.021±0.532[ac]	4.493±1.133[a]
实验再灌注96 h组	8	4.961±1.221	0.601±0.227[d]	1.911±0.273

a：$P<0.01$，与对照组比较；b：$P<0.05$，与实验再灌注24 h组比较；c：$P<0.05$，与实验再灌注48 h组比较；d：$P<0.05$，与实验再灌注72 h组比较

3 讨论

AT是妇科急诊手术的第五大常见病因。因扭转涉及卵巢损伤和因卵巢的去留而导致的内分泌及生殖功能等问题，因此对扭转的卵巢进行保守性处理是非常棘手的[3-4]，附件扭转后如何判断卵巢是否能够有效保留一直是人们研究的焦点。本研究组曾报道采用先高位结扎卵巢动、静脉再将扭转的附件复位、切除卵巢肿瘤并修补卵巢的方法成功地保留了患侧卵巢，完全避免了由卵巢静脉血栓脱落而造成的肺动脉栓塞的发生，但卵巢再灌注损伤的情况还不清楚[2]。

再灌注损伤是指机体的组织或器官在经历缺血、缺氧后，循环重新建立，血供恢复后给机体带来的损伤，而氧自由基是缺血再灌注损伤的重要发病环节。研究[5-6]表明，肿瘤蒂扭转复位后保留卵巢手术后多普勒证实多数卵巢血流恢复。缺血再灌注时氧自由基产生增加，组织内自由基清除剂SOD减少，可导致细胞损伤，直至细胞死亡[7]。MDA为脂质过氧化产物的一种，其含量可反映机体内脂质过氧化的程度，SOD的活性可反应组织内清除自由基的能力[8]，因此MDA与SOD的联合检测可反映体内自由基代谢的情况。本研究发现，实验组附件扭转24 h后，卵巢充血、水肿、局部变成紫色或黑色。再灌注24 h后卵巢及输卵管颜色5只呈紫色，2只呈浅红色，96 h后颜色逐渐恢复正常。再灌注24 h后MDA开始升高，48 h达高峰，72 h开始下降，96 h近达正常。而SOD生化检测结果与之相反，24 h最低，72 h达到高峰，96 h接近正常，表明卵巢组织经历了缺血再灌注后卵巢组织内产生了大量的氧自由基，对细胞产生了破坏作用，但组织产生SOD对卵巢产生保护和修复作用，72 h左右卵巢内SOD最高，修复作用最强。

内源性氧化亚氮是由iNOS催化L-精氨酸胍基末端上的氮氧化而成。在创伤、休克等病理状态下，表达明显增高，加剧组织灌注障碍和损伤。在本实验中我们发现卵巢扭转发生时，iNOS生化水平显著性升高，实验组卵巢iNOS均有不同程度升高，随时间进展，48 h达高峰，72 h下降。这表明模型附件扭转造成卵巢缺血，卵巢组织产生了脂质过氧化反应，因此导致了氧化性损伤。其结果与MDA在组织中生化检测结果一致。Turkoz等[9]以鼠卵巢再灌注损伤为模型研究发现褪黑素可清除氧自由基并能保护卵巢局部坏死和再灌注受损，但在本研究中我们发现附件扭转后对卵巢产生的再灌注损伤，48 h损伤最明显，随着时间延长，损伤逐渐减轻，分析与扭转解除后血供逐渐恢复，由局部产生的代谢毒物逐渐清除等因素有关。因此在临床上当女性附件蒂扭转发生后如能及时手术，卵巢缺血再灌注损伤是暂时的，保留卵巢的手术是可行的。但其对卵巢的内分泌功能及受精能力的影响尚需进一步研究。

参考文献：

[1] Oelsner G, Shashar D. Adnexal torsion[J]. Clin Obstet Gynecol, 2006, 49(3): 459-463.
[2] 李巨，于月新，孙静莉，等. 保留卵巢的附件扭转手术及相关问题探讨[J]. 中国实用妇科与产科杂志，2006，22(6)：474-475.
[3] Chen M, Chen C D, Yang Y S. Torsion of the previously normal uterine adnexa. Evaluation of the correlation between the pathological changes and the clinical characteristics[J]. Acta Obstet Gynecol Scand, 2001, 80(1): 58-61.
[4] Kaakaji Y, Nghiem H V, Nodell C, *et al*. Sonography of obstetric and gynecologic emergencies: part II, Gynecologic emergencies[J]. AJR Am J Roentgenol, 2000, 174(3): 651-656.
[5] Breech L L, Hillard P J. Adnexal torsion in pediatric and adolescent girls[J]. Curr Opin Obstet Gynecol, 2005, 17(5): 483-489.
[6] Abad P, Rigol S, Ezzedine H, *et al*. Conservative surgery of ovarian torsion in pediatrics[J]. Cir Pediatr, 2003, 16(4): 200-202.
[7] 赵克然，杨毅军，曹道俊. 氧自由基与临床[M]. 北京：中国医药科技出版社，2000：3-20.
[8] Janero D R. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury[J]. Free Radic Biol Med, 1990, 9(6): 515-540.
[9] Turkoz Y, Celik O, Hascalik S, *et al*. Melatonin reduces torsion-detorsion injury in rat ovary: biochemical and histopathologic evaluation[J]. J Pineal Res, 2004, 37(2): 137-141.

（**收稿**：2011-07-13；**修回**：2011-08-29）
（编辑 吴培红）