大鼠严重烫伤后睾丸病理变化的实验研究

王 亮 陈意生 （第三军医大学病理学教研室）630038

提 要 对大鼠体表 30%、Ⅲ°烫伤后 30 d 内睾丸病理变化的动态观察表明：(1)生精细胞、支持细胞、曲细精管界膜及间质细胞均有不同程度的损伤，生精细胞的病变以精母细胞及精细胞为重，精原细胞无明显损伤；伤后 30 d 生精上皮形态基本恢复正常。(2)间质细胞内 3β－HSD 活性迅速降低，伤后 30 d 仍保持较低水平。(3)烫伤后血清中睾酮迅速下降，伤后 30 d 仍保持较低水平；而血清 LH 则无明显变化。作者认为曲细精管界膜及支持细胞的损伤，特别是后者，改变了生精细胞生长、发育的微环境而可能引起或加重生精细胞的损伤。血清睾酮下降的机理，可能与烫伤后糖皮质激素升高有关。

关键词 烫伤*；睾丸/病理学；睾丸/超微结构；睾酮；促黄体激素

分类号 R644；R322/64

睾丸是一个对多种致伤因素敏感的器官，局部温热作用[1]、微波[2]等物理因素及棉酚[3]等药物对其影响国内外有不少研究报道，但全身性疾病及严重创伤对睾丸影响的研究甚少。烧伤后睾丸病变的研究国内外仅见少数简单报道[4,5]，且对烧伤后生精过程抑制的机制未作探讨。本实验拟通过对大鼠严重烫伤后睾丸组织病理变化的动态观察，进一步了解烧(烫)伤后睾丸病变的特点及其发展规律，并探讨其发生机制。同时，通过对睾丸间质细胞(Leydig cell)形态、功能与代谢变化的观察，了解烧(烫)伤时间质细胞的影响。

1 材料与方法

选用健康雄性成年 wistar 大鼠 80 只，体重 200～250g，随机分为烫伤组（$n=64$）和非烫伤对照组（简称对照组，$n=16$）。烫伤组大鼠背部致伤区剃毛，浸于 98℃热水中 15s，造成体表 30%、Ⅲ°烫伤，并立即腹腔注射生理盐水 6ml 助其渡过休克期。烫伤组于伤后 2、6、12 h 及 1、3、7、14、30 d 取材，各时相点 8 只大鼠，取材时间均在下午 4～5 点。取静脉血 4ml，4℃冰箱过夜，次日离心取血清，选用睾酮及黄体生成素(LH)放免分析药盒，采用放射免疫法按药盒说明操作程序检测血清睾酮及 LH 浓度，药盒分别购自天津九鼎医学生物工程有限公司及上海内分泌研究所；取血后迅速取右侧睾丸组织进行常规光镜及透射电镜制样、观察、摄像和睾丸组织纤维连接蛋白(fibronectin，Fn)免疫组织化学染色(ABC法)；取左侧睾丸组织置于液氮保存，取出后用低温冰冻恒冷切片机切片，片厚 10μm，采用 Balogh 法[6]，以脱氢异雄酮作底物，于光镜下观察睾丸组织内 3β－羟甾脱氢酶(3β－HSD)活性之改变情况，脱氢异雄酮购自 Sigma 公司。烫伤组各时相点取 4 只，对照组取 5 只大鼠的标本用于定量分析，每张切片选 30 个间质细胞聚集区，于 MPV－Ⅱ型显微分光光度计下扫描，对 3β－HSD 组织化学染色的间质细胞进行 3β－HSD 相对活性的测定，扫描范围 729μm²，最大吸收波长 610nm，放大倍数×25，分割阈值 20。

用两样本均数的 t 检验，对所有数据进行烫伤组与对照组各时相点之间差异的显著性检验。

2 结果

2.1 睾丸组织的形态学改变

2.1.1 光镜观察：烫伤后生精上皮细胞出现不同程度的变性、坏死，部分曲细精管生精上皮细胞脱落，呈空虚状态。精母细胞及精细胞的病变较精原细胞为重，伤后 1～3 d 最为明显，30 d 时基本恢复正常形态。支持细胞及间质细胞无明显改变，间质充血、水肿。

2.1.2 电镜观察：烫伤后生精上皮、支持细胞、界膜及间质细胞均有不同程度的损伤性改变。

2.1.2.1 生精上皮：伤后 12 h 出现病变，1～3 d 最为明显，表现为精母细胞及精细胞胞浆内线粒体轻

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

度肿胀、内质网扩张，并有髓鞘样结构出现(图 1)，核膜溶解、破裂，染色质块集(图 2)，精原细胞仅见轻度变性。伤后 30 d 出现病变，显畸形、退变(图 3)，并可见精子出现于近基底侧，伤后 30 d 仍可见少数退变精子。

2.1.2.2 支持细胞：伤后 6 h 出现病变，表现为线粒体肿胀、空化或畸形，内质网扩张，局灶性胞浆内变性及坏死(focal intracytoplasmic degeneration and necrosis，FCD、FCN)(图 4)，支持细胞间紧密连接减少。伤后 7 d 开始恢复。

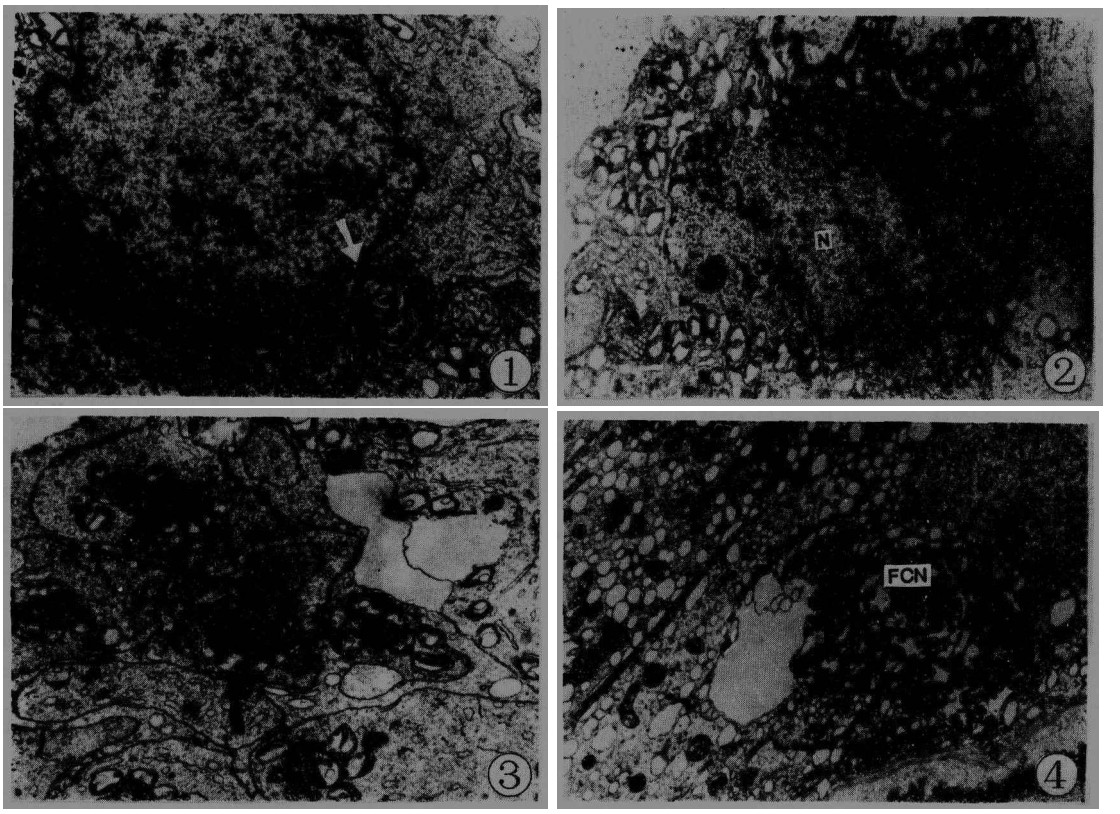


图 1 精细胞胞浆内髓鞘样结构(→)。 烫伤后 12 h，×5 000

Fig 1 Myelin figure (→) within cytoplasma of spermatoblast. 12 h postscald，×5 000

图 2 精母细胞核膜部分溶解(→)，染色质结结块。 烫伤后 1 d，×6 000

Fig 2 Partial nuclear envelope lysis and chromatin clumping of spermatocyte. 1 d postscald，×6 000

图 3 精子尾部中段线粒体(→)肿胀。 烫伤后 12 h，×10 000

Fig 3 Mitochondrial swelling of middle segment of tail part of sperm. 3 d postscald，×10 000

图 4 支持细胞局灶性胞浆坏死(FCN)。 烫伤后 3 d，×7 000

Fig 4 Focal cytoplasmic necrosis (FCN) of sertoli cell. 3 d postscald，×7 000

2.1.2.3 界膜：伤后 12 h 出现病变，可见类肌细胞核膜皱折、核周间隙增宽，内质网扩张，外无细胞层及类肌细胞层断裂(图 5)。14d后界膜损伤基本恢复。

2.1.2.4 间质细胞：伤后 6 h 出现病变，可见内质网轻度扩张、线粒体固缩，有的间质细胞质膜破裂、核膜溶解(图 6)。伤后 30 d，内质网仍显轻度扩张。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net



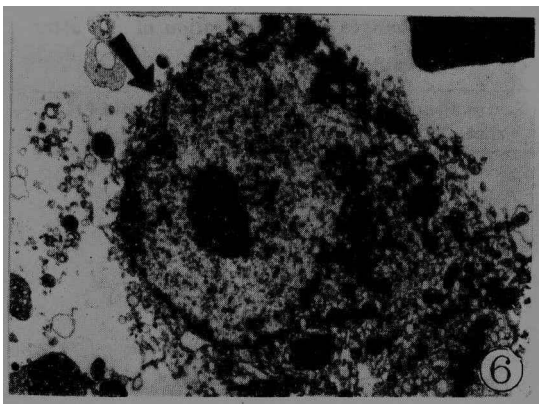


图 5　曲细精管界膜类肌细胞层和外无细胞层断裂(→)。　　烫伤后 12 h，×7 000

Fig 5　Break (→) on myoid cell and external none cellular layer of lamina propria of seminiferous tubules.　　12 h postscald，×7 000

图 6　间质细胞质膜和核膜破裂(→)。　　烫伤后 3 d，×7 000

Fig 6　Rupture (→) of plasma membrane and nuclear envelope of Leydig cell.　3 d postscald，×7 000

2.2　睾丸组织内 3β－HSD 组织化学染色观察及其相对活性的测定

对照组间质细胞胞浆呈强阳性反性，睾丸组织内其它部位呈阴性反应。如表 1 表示，与对照组相比，伤后 6 h 间质细胞内 3β－HSD 活性即有较明显的减弱($P<0.05$)，且呈进行性下降，7 d 后保持较低水平，伤后 30 d 仍未见明显回升。

表 1　大鼠烫伤后间质细胞内 3β－HSD 相对活性的测定值($\bar{x}\pm s$)

Tab 1　values ($\bar{x}\pm s$) of determination of activity of 3β－HSD within Leydig cell after scald in rats

Posttraumatic time (h)	No. of cases	Values of determination ($\bar{x}\pm s$)
2	4	81.3±11.6
6	4	70.8± 4.3△
12	4	69.0± 5.8△
24	4	58.0± 3.6△△
72	4	36.5± 4.7△△
168	4	17.3± 3.6△△
336	4	13.5± 1.9△△
720	4	14.0± 1.6△△
Control group	5	85.4± 5.5

△: compared with control group，$P<0.05$

△△: compared with control group，$P<0.01$

2.3　睾丸组织内Fn免疫组织化学染色观察

2.3.1　对照组：曲细精管界膜及间质中出现连续性的棕黄色阳性反应产物，生精上皮部分细胞胞浆呈弱阳性反应。

2.3.2　烫伤组：伤后早期(1 d)，可见界膜及生精细胞内阳性反应明显减弱，后期(7 d)开始恢复。

2.4　血清睾酮及 LH 浓度的测定

如表 2 所示，大鼠烫伤后 6 h 血清睾酮水平明显下降($P<0.05$)，且呈进行性下降，7 d 后保持较低水平，伤后 30 d 仍不见明显回升。伤后血清 LH 浓度早期略升高，后期略下降，但与对照组相比无显著性差异($P>0.05$)(表 3)。

表 2　大鼠烫伤后血清睾酮浓度变化($\bar{x}\pm s$)

Tab 2　Changes of concentration of serum testosterone after scald

Posttraumatic time (h)	No. of cases	Values of testosterone (mg/dl)
2	8	108.2±17.5
6	8	88.3±16.5△
12	8	69.3±14.9△△
24	8	57.6±17.0△△
72	8	49.3±17.4△△
168	8	29.2±10.2△△
336	8	32.3± 8.0△△
720	8	30.0± 7.6△△
Control group	16	115.5±25.8

△: compared with control group，$P<0.05$

△△: compared with control group，$P<0.01$

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

表 3 大鼠烫伤后血清 LH 浓度变化($\bar{x} \pm s$)

Tab 3 Changes of concentration of LH after scald

Posttraumatic time (h)	No. of cases	Values of LH (mIV/L)
2	8	4.6±1.0
6	8	4.8±0.9
12	8	4.8±1.2
24	8	4.4±1.3
72	8	4.1±0.8
168	8	3.9±0.8
336	8	4.1±1.4
720	8	3.8±o.7
Control group	16	4.3±1.1

Note: no significant difference between various time points of scald group and control group ($P < 0.05$)

3 讨论

本实验结果表明,大鼠严重烫伤后生精上皮细胞出现不同程度的变性、坏死性改变,以伤后 1～3 d 最重,伤后 30 d 基本恢复。各种生精细胞对烫伤的敏感性与局部热作用[1]、微波[2]及棉酚[3]所致的损伤类似,均以精母细胞及精细胞病变为重,精原细胞较为稳定。

烫伤后早期可见支持细胞有明显的损伤,并可见 FCD,FCD 可能有不同来源[7],其发生原因和演变过程尚需进一步探讨。本实验中支持细胞内 FCD 的出现并未导致细胞的坏死,说明 FCD 仍是一种可复性病变,它的出现可能意味着细胞功能严重受损。支持细胞受损及支持细胞间紧密接连减少,导致近管腔部的精母细胞及精细胞生长、发育的微环境破坏而出现明显的病变,近基底部的精原细胞则相对稳定。本实验中,我们也观察到支持细胞与精母细胞及精细胞的损伤与恢复基本同步,从侧面也说明了支持细胞的损伤与生精细胞损伤的关系。

烫伤后早期,曲细精管界膜亦可见明显的损伤。既往研究对生精细胞损伤时界膜的改变重视不够,有关烧伤后睾丸病变的报道[4,5]中未提及界膜受损的问题。曲细精管内没有毛细血管,物质交换要通过界膜进行,因而界膜起到支持与选择性通透作用,故界膜的损伤会影响生精细胞生长、发育的微环境,在生精细胞损伤的机制中起到一定作用。

通过本实验结果的观察,我们认为,烧(烫)伤后生精细胞的损伤除伤后有害因子如烧伤毒素、内毒素、炎性介质、细胞因子及氧自由基等的作用外,可能还与支持细胞及界膜的损伤有密切关系,特别是前者,它们的损伤导致了生精细胞生长、发育的微环境紊乱。一定的睾酮浓度是维持正常生精过程的重要因素,烫伤后血清睾酮持续性降低,伤后 30 d 仍保持较低水平,而生精细胞的恢复于伤后 30 d 已很明显。一般认为血中睾酮量只要达到正常值的 10%～15%即可维持正常生精过程[8]。本实验结果表明,烫伤后睾酮水平的下降不是生精细胞损伤的主要原因。

Fn 广泛存在于血液和组织中,分别称为血浆 Fn 和组织 Fn。组织 Fn 为一种细胞表面和细胞外基质中的糖蛋白,参与维持细胞形态,在细胞与基质、细胞与细胞之间起粘附作用。严重烧伤后机体血浆中 Fn 明显降低,若给病人输以富含 Fn 的冷沉淀或提纯物后,可使病人心、肺、肾功能改善,临床症状好转。烧伤后睾丸内 Fn 分布的改变情况尚未见有文献报道,本实验观察到 Fn 染色阳性物出现于界膜及间质中,与有关文献报道的部位一致[9]。烫伤后早期 Fn 阳性反应明显减弱,说明类肌细胞合成 Fn 下降,界膜的支持

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

及屏障功能受影响。同时生精细胞与支持细胞间可能有少量的 Fn 起粘附作用，烫伤后生精细胞与支持细胞间隙增大，一方面可能是由于支持细胞收缩所致，另一方面也可能与睾丸组织中 Fn 的减少有关。它与界膜损伤均可能影响生精细胞生长、发育的微环境而导致其损伤。

体内 95%的睾酮由睾丸间质细胞产生，间质细胞具有重要的内分泌功能。烫伤后间质细胞形态受损、功能下降、代谢障碍，与局部温热[1]、微波[2]等物理因素及棉酚[3]对睾丸的影响相反，烫伤后间质细胞的损伤和抑制比生精细胞的损伤出现早，且持续时间长。

烧伤对垂体——睾丸轴的影响，临床上有过一些报道[5,10,11]，均发现成年男性烧伤病人伤后血中睾酮持续性下降，且烧伤程度越重，睾酮值下降越明显，血浆睾酮值与烧伤面积呈显著的负相关。对 LH 的观察结果不尽一致，有的偏高[5]，有的偏低[10]，有的改变不明显[11]，总的来说，变化幅度很小，且在不同病人常有不同改变。本实验结果表明，大鼠烫伤后血清睾酮浓度与临床报道一致，呈持续性下降，而血清 LH 浓度变化不明显。关于烧(烫)伤后血中睾酮浓度持续性下降的机理，目前尚不清楚，可能与伤后肾上腺糖皮质激素增高有关[11]。

如上所述，本实验结果表明，生精上皮及精子分别于伤后 12 h、3 d 出现不同程度的损伤，前者以伤后 1～3 d 改变为显著，但至伤后 30 d 时生精上皮及精子均已基本恢复正常形态。结合磷烧伤附睾病变恢复的类同情况[12]，作者推测，随着烧伤动物的康复及损伤组织的修复，烧伤对雄性动物远期生育能力的影响可能较小或无影响。

参考文献

1. 朱继业 王一飞 吴明章，等。二氧化碳激光对家兔及大鼠精子发生影响的研究。生殖与避孕，1981；1(4)：19
2. 梁 洁。微波照射对动物睾丸的影响。生殖与避孕，1989；9(4)：3
3. 骆 毅 董泽泉 冯毓正。醋酸棉酚对正常人体睾丸组织结构的影响。中华泌尿外科杂志，1980；1(4)：198
4. 王德文 关明臣 郭振荣，等。烧伤机体睾丸的病变。中华实验外科杂志，1984；1(4)：157
5. Balogh, K Jr. Histochemical demonstration of 3-alpha-hydroxysteroid denydiogenase activity. J Histochem Cytochem, 1966; 14: 77
6. Doleck R, Dvoracek C, Jezek M, et al. Very low serum testosterone levels and severe impairments of spermatogenesis in burned male patients. Endocrinol Exp, 1983; 17(1): 33
7. 刘友生 陈意生 史景泉，等。家兔烧伤时肝脏的病理变化及其发生机制的探讨。中华整形烧伤外科杂志，1991；7(4)：285
8. Huang HF, Ivieschlag E. Suppression of the intratesticular testosterone is associated with quantitative changes in spermatogonial populations in intact adult rats. Endocrinology, 1986; 118: 619
9. Santamaria L, Martinez-Onsurbe P, Paniagua R, et al. Laminin, type Ⅳ collagen, and fibronectin in normal and crytorchid human testes, An immunohistochemical study. Int J Androl, 1990; 13(2): 135
10. Vogel AV, Peake GT, Roda RT. Pituitar-testicular axis dysfunction in burned men. J Clin Endocrinol Metb, 1985; 60: 658
11. Lephart ED, Baxter CR, Parker CR Jr. Effect of burn trauma on adrenal and testicular steroid hormone production. J Clin Endocrinol Metb, 1987; 64: 842
12. 叶明福 黎 鳌 陈意生，等。大鼠磷烧伤后附睾的病理变化及其发生机制的实验研究。中华整形烧伤外科杂志，1991；7(3)：197

(收稿：1993-07-26；修回：1993-09-15)

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

Pathological changes of the testes after scalding in rats

Wang Liang, Chen Yisheng (Department of Pathology, Third Military Medical College, Chongqing, 630038)

Abstract In the 30-day period after the rats were inflicted with 30% TBSA full thickness scalding, the main pathological changes of the testes were various degrees of degeneration and necrosis of the spermatogenic cells, Sertoli's cells, lamina propria of the seminiferous tubules and Leydig's cells. The damages on spermatogenic cells, spermatocytes and spermatids were quite severe while spermatogonial cells exhibited little damages. On the 30th day after scalding, the spermatogenic cells restored their normal morphology. The activity of 3β-hydroxy steroid dehydrogenase was rapidly reduced and remained at a relatively low level on the 30th day after scalding. The serum level of testosterone was decreased and remained at a comparatively low level on the 30th day after scalding. No significant changes of serum luteinizing hormone was observed.

It is believed that the damages on the lamina propria of the seminiferous tubules and Sertoli's cells espercially the latter could change the microenvironment of the development and differentiation of the spermatogenic cells and the decrease of serum testosterone might result from the increase of glucocorticoids after scalding.

Key words scalding*; testis/PA; testis/UL; testosterone; luteinizing hormone

颅面血管瘤病一例

袁东升 王文献 (第三军医大学新桥医院放射科) 630037

颅面血管瘤病(Sturge-weber 综合征)是一种少见的先天性神经皮肤发育异常，我们近遇一例，报告如下：

男，20岁，右半身发麻、无力多年，有多次头颅跌伤及伤后恶心、呕吐史。查体见左额面部及颈部范围较大的葡萄酒色血管瘤。

X线检查：头颅平片示左枕部近颅骨处带状及卷发状钙化影。CT表现：平扫见左枕部及邻近脑皮质呈斑片样钙化，相邻颅骨局限性增厚，双侧脑室三角区脉络膜丛呈结节状增大，双侧额叶脑沟局限性增宽。增强后病灶周围呈条状、斑片状明显强化，右顶部脑皮质区亦有条状强化影，双侧脉络膜丛明显强化。CT诊断：脑颜面血管瘤综合征，病变分布区为左枕、右顶及双侧脑室三角区。

讨论

本病不具性别特征，多为青少年，多数人认为系常染色体显性遗传性疾病[1]，与中胚层和外胚层的发育障碍有关。主要病理改变为面部沿三叉神经分布区域的血管瘤，脑内的基本病变是软脑膜毛细血管，静脉血管有畸形，可导致脑组织缺血萎缩、神经节细胞减少、变性、神经胶质增生、局部钙质沉着等[2]。表现为出生后即有的面部血管瘤或血管痣，部分患者亦可见于颈胸部或四肢。临床症状可有癫痫、偏瘫、眼部疾患及精神障碍等。

本病的神经放射学检查有如下特征：①头颅平片50%以上可见颅内钙化影[3]，呈卷发状或条状，与脑回的起伏大致吻合，为此病的典型征象。②脑血管造影可有病变区毛细血管染色，浅静脉数量增多，部分血管瘤样扩张等表现。③CT常呈现沿脑表面分布的脑回样钙化，最早于出生3个月后发现[4]，以颞枕部较常见，并有同侧脑萎缩(本例不限于同侧)及颅骨增厚现象，增强扫描可见沿软脑膜的强化影，少数可见脉络膜丛的异常强化，本例还见到右顶叶的异常血管强化影。CT表现无占位征象。

颅面血管瘤表现特殊，头颅平片可提示本病，而CT或脑血管造影可明确诊断。

关键词 血管瘤/放射造影术

分类号 R732.2

(下转516页)

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net