

# 复合辅酶对大鼠单侧睾丸扭转复位后健侧睾丸生精功能的影响

夏 康<sup>1</sup>, 吴丽琴<sup>1</sup>, 何林政<sup>2\*</sup>

(1. 广州中医药大学附属重庆北碚中医院 泌尿外科, 重庆 400700; 2. 广州中医药大学附属重庆北碚中医院 麻醉科, 重庆 400700)

**[摘 要]** 目的: 探讨复合辅酶对大鼠单侧睾丸扭转复位后健侧睾丸的组织学以及附睾精子生成的影响。方法: 将 30 只健康雄性 Wistar 大鼠, 随机分为假手术组 (A 组)、睾丸扭转复位组 (B 组)、复合辅酶处理组 (C 组), B、C 组大鼠按 Turner 法制作睾丸扭转模型, A 组将睾丸游离后不扭转睾丸; C 组于睾丸扭转复位前 60 min 腹腔注射复合辅酶 (10 u/kg), 同时在术后注射复合辅酶 10 u/(kg · d) 3 d; 各组喂养至术后 4 周时处死, 取健侧睾丸标本行组织病理学观察, 同时取健侧附睾尾部行精子计数及活动率检测, 检测睾丸组织超氧化物歧化酶 (SOD)、一氧化氮合酶 (NOS)、丙二醛 (MDA) 水平。结果: B 组、C 组与 A 组相比生精细胞结构有破坏, 精子计数以及精子活率降低, SOD、NOS、MDA 水平升高; C 组与 B 组相比, 生精上皮层数增多, 平均曲细精管直径 (MSTD) 增大, 同时附睾精子计数与活动率明显升高, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 且 C 组大鼠睾丸组织 SOD 水平升高, NOS、MDA 水平降低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。结论: 复合辅酶能够减轻大鼠单侧睾丸扭转复位后健侧睾丸组织损害, 使附睾精子生成显著增多, 其机制可能与减少大鼠睾丸组织内自由基生成, 提高其抗自由基能力有关。

**[关键词]** 睾丸扭转; 复合辅酶; 精子计数; 超氧化物歧化酶; 一氧化氮合酶; 丙二醛

**[中图分类号]** R697.22 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2014)03-0386-03

## Effect of Coenzyme Complex on Rats Testicular Spermatogenetic Function of Contralateral Testicular after Unilateral Testicular Torsion Restoration

XIA Kang<sup>1</sup>, WU Liqin<sup>1</sup>, HE Linzheng<sup>2</sup>

(1. Department of Urology, Affiliated Chongqing Beibei Traditional Chinese Medicine Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Chongqing 400700, China; 2. Department of Anesthesia, Affiliated Chongqing Beibei Traditional Chinese Medicine Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Chongqing 400700, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of coenzyme complex on the histological changes and spermatogenesis of contralateral testicular after rats' unilateral testicular torsion restoration. **Methods:** Thirty male Wistar rats were randomly divided into group A (sham-operation), group B (testicular torsion group), group C (coenzyme complex treatment group), with 10 rats each. The testicular torsion model was established by the Turner method for subjects in group B and C, testicles were dissociated without torsion for subjects in group A, then group C rats took the coenzyme complex treatment (10 u/kg) 60 min before testicular torsion restoration, and after surgery 10 u/(kg · d) 3 d treatment. All the rats were fed under the same condition for 4 weeks and then executed. Histopathological observation was performed on the right testis. Sperm counting and activity analysis were performed in epididymis. And the level of SOD, NOS and MDA in testis were detected. **Results:** Comparing group B and C with group A, structure of spermatogenic cells were damaged, sperm counting and sperm viability were decreased, level of SOD, NOS and MDA were increased; comparing with group B, seminiferous epithelial

\* 通信作者 E-mail: helingzheng@sina.com

网络出版时间: 2014-06-23 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20140623.0003.004.html>

layers of group C were increased, MSTD were enlarged, sperm concentration of epididymis and sperm viability were also increased significantly, differences had statistical significance ( $P < 0.05$ ). Coenzyme complex could significantly increase the level of SOD and decrease the levels of NOS and MDA, differences had statistical significance ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Coenzyme complex can reduce the damages of contralateral testis after unilateral testicular torsion restoration in rats. It is potent to increase the spermatogenesis remarkably. The mechanism is possible to be associated with reduction of free radicals and increase of anti-free radicals' ability caused by coenzyme complex.

[**Key words**] testicular torsion; coenzyme complex; sperm count; superoxide dismutase; nitric-oxide synthase; malondialdehyde

睾丸扭转是泌尿外科常见病,以青少年发病率最高,可导致睾丸坏死<sup>[1]</sup>。常发生于先天性睾丸系膜过长、睾丸引带发育不良、隐睾、睾丸下降不全、附睾与睾丸连接不完全、精索过长等情况,早期手术复位后仍有 36% ~ 39% 患者出现精液异常<sup>[2-3]</sup>。因此如何减少睾丸扭转复位手术后对睾丸生精功能影响,是目前研究热点之一。本实验通过建立大鼠单侧睾丸扭转模型,探讨复合辅酶对大鼠单侧睾丸扭转复位后健侧睾丸的组织学以及附睾精子生成的影响及相关机制。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 实验动物:雄性 Wistar 大鼠,SPF 级,6 ~ 7 周龄,体重 120 ~ 150 g,购于重庆医科大学动物实验中心。复合辅酶注射液(购自北京双鹭药业公司,生产批号:20070504),SOD、NOS、MDA 试剂盒购于南京建成生物有限公司。

**1.2 分组、模型建立及给药** 30 只雄性 Wistar 大鼠随机分为假手术组( $n = 10$ , A 组),睾丸扭转复位组(B 组, $n = 10$ )及复合辅酶治疗组(C 组, $n = 10$ ),模型建立参考 Turner 法<sup>[4]</sup>。以 3% 戊巴比妥钠 40 mg/kg 对大鼠实施腹腔麻醉,取左下腹部小切口,显露左侧睾丸。A 组大鼠切开左侧阴囊,使左侧睾丸充分游离暴露,不予以扭转,模拟 Turner 法手术过程随意搬动睾丸,随后将睾丸游离后缝合固定于阴囊壁;其余二组将睾丸顺时针扭转 720° 维持 6 h 后复位。C 组于睾丸扭转复位前 60 min 腹腔注射复合辅酶(10 u/kg),同时在术后每天分别注射复合辅酶(10 u/kg)3 d。

**1.3 观察指标** 各组大鼠喂养至术后 4 周时处死,取右侧睾丸标本行组织病理学观察,同时取右侧附睾尾部行精子计数及活动率检测,并检测睾丸组织 SOD、NOS、MDA 含量。(1)睾丸组织病理学

检查:睾丸组织 10% 甲醛固定后,常规石蜡包埋切片,行 HE 染色,对睾丸组织进行形态学观察;(2)精子计数及活动率测定:取附睾尾部制成精子悬液,37° 温水孵育 15 min 用精子计数板检测精子密度。高倍镜下随机记录 100 个精子中活动精子百分率;(3)SOD 活性采用黄嘌呤氧化酶法测定,MDA 含量采用硫代巴比妥酸法测定,NOS 活性采用化学比色法测定,严格按照说明书操作。

**1.3 统计学方法** 数据统计采用 SPSS 13.0 软件,计量资料用均数 ± 标准差表示,多组比较用单因素方差分析, $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 睾丸组织病理学** A 组生精细胞层次有序,精细小管结构完整;B 组生殖细胞结构松散,有散在坏死细胞,精细小管结构连续性中断;C 组生殖细胞结构松散,精细小管结构较完整。

**2.2 附睾精子计数** B 组、C 组与 A 组比较精子计数及活动率降低( $P < 0.05$ ),C 组精子计数与活动率较 B 组明显升高( $P < 0.05$ ),见表 1。

**2.3 SOD、NOS、MDA 含量** B 组、C 组与 A 组相比,SOD、NOS、MDA 水平升高( $P < 0.05$ );C 组与 B 组相比,NOS、MDA 水平显著降低( $P < 0.05$ ),SOD 水平显著增高( $P < 0.05$ ),见表 1。

## 3 讨论

研究认为睾丸扭转再复位是缺血再灌注损伤的过程,扭转时组织缺血,再灌注时损伤加剧,血流再次恢复后大量氧分子充满再灌注组织,产生大量氧自由基,通过氧化反应以及应激炎症反应导致睾丸组织细胞损伤<sup>[5-6]</sup>。单侧睾丸扭转后可引起对侧睾丸的损害,并导致生精功能低下和生育机能障

表 1 3 组大鼠精子计数及活动率、睾丸组织 SOD、NOS、MDA 含量

Tab. 1 Sperm count, sperm activity rate and level of SOD, NOS, MDA of rats in the three groups

组别	n	精子计数( $\times 10^6$ /mL)	精子活动率( % )	SOD( $\times 10^3$ U/g)	NOS( $\times 10^3$ U/g)	MDA( $\mu$ mol/g)
A 组	10	53.5 $\pm$ 9.2 <sup>(2)</sup>	53.6 $\pm$ 3.5 <sup>(2)</sup>	59.3 $\pm$ 8.6 <sup>(2)</sup>	9.62 $\pm$ 1.3 <sup>(2)</sup>	20.24 $\pm$ 3.5 <sup>(2)</sup>
B 组	10	38.8 $\pm$ 7.3 <sup>(1)</sup>	41.6 $\pm$ 4.3 <sup>(1)</sup>	71.6 $\pm$ 6.7 <sup>(1)</sup>	18.7 $\pm$ 2.3 <sup>(1)</sup>	40.5 $\pm$ 2.7 <sup>(1)</sup>
C 组	10	46.3 $\pm$ 10.1 <sup>(1)(2)</sup>	48.9 $\pm$ 5.2 <sup>(1)(2)</sup>	88.4 $\pm$ 7.9 <sup>(1)(2)</sup>	12.78 $\pm$ 3.1 <sup>(1)(2)</sup>	31.4 $\pm$ 3.6 <sup>(1)(2)</sup>

<sup>(1)</sup> 与 A 组比较,  $P < 0.05$ ; <sup>(2)</sup> 与 B 组比较,  $P < 0.05$

碍,其机制可能与自身免疫性的交感性睾丸炎症有关,研究发现一侧睾丸扭转后复位可导致免疫激活,引起肿瘤坏死因子、炎症因子释放导致对侧睾丸生殖细胞损伤<sup>[7]</sup>。因此,保护复位手术后健侧睾丸生精功能有重要意义。本实验通过建立大鼠单侧睾丸扭转模型,探讨复合辅酶对大鼠单侧睾丸扭转复位后健侧睾丸的组织学以及附睾精子生成的影响及相关作用机制。

有研究表明性激素治疗、抗氧化剂治疗、辣椒碱交感神经阻滞等能够有效减轻复位后健侧睾丸组织损伤<sup>[8-9]</sup>。注射用复合辅酶是细胞保护剂,含有辅酶 I、还原型谷胱甘肽、腺苷蛋氨酸、黄素核苷酸、三磷酸腺苷、二磷酸腺苷、单磷酸腺苷、辅酶 A、核苷酸、1,6-一二磷酸果糖等,可调控细胞代谢,促进机体代谢恢复至正常稳态;复合辅酶还含有大量的还原型物质,可中和机体病理状态下产生的游离自由基,对抗自由基对机体组织产生的继发性病理损害<sup>[10]</sup>。本实验发现,大鼠睾丸扭转再复位模型健侧睾丸生殖细胞结构松散,可见散在坏死细胞,精细小管结构连续性中断,表明大鼠睾丸扭转再复位后健侧睾丸组织受到损害,同既往研究一致<sup>[11]</sup>。复合辅酶治疗组未见坏死细胞,精细小管结构较完整,说明复合辅酶治疗组生殖细胞损害程度较轻。扭转复位组同复合辅酶组精子计数及精子活动率较假手术组减少( $P < 0.05$ ),表明大鼠睾丸扭转后精子质量明显降低。复合辅酶组同扭转复位组比较精子计数以及精子活动率更高。MDA 是过氧化脂质的分解产物,通过测定 MDA 可反映体内自由基产生的程度;SOD 是细胞中主要的抗氧化酶之一,它在机体清除氧自由基的过程中起着关键作用;NOS 不仅是生物体内重要递质,而且能对细胞产生毒性作用。精子质膜上含有丰富的不饱和脂肪酸,极易被氧化,可引起精子结构的改变,进而影响精子功能<sup>[12]</sup>。本实验表明复合辅酶组同扭转复位组比较 SOD 升高,MDA、NOS 水平降低,说明复合辅酶能提高大鼠睾丸组织内 SOD 水平、降低 MDA、NOS 水平,减少 NO 合成,改善精子质量。

## 4 参考文献

- [1] Quddus MB, Mahmud SM. Testicular torsion: a diagnosis not to be missed [J]. Pak Med Assoc, 2011(4): 391-392.
- [2] 辛锋,申吉泓,赵晖. 睾丸扭转的研究进展[J]. 国际泌尿系统, 2009(4): 548-550.
- [3] Nandi B, Murphy FL. Neonatal, testicular torsion: a systematic, literature review [J]. Pediatr Surg Int, 2011(10): 1037-1040.
- [4] Lin XK, Qin L, Xie TC, et al. Effect of drug on testicular spermatogenic function of the contralateral testicular after unilateral testicular torsion in prepubertal rats[J]. Med Res, 2013(1): 104-106.
- [5] 陈林,陈悦,詹维伟. 单侧睾丸扭转致对侧睾丸损伤的研究进展[J]. 中国男科学杂志, 2010(4): 66-68.
- [6] Namazi H. Novel molecular mechanism to account for action of taurine against testicular ischemia-reperfusion injury[J]. Urology, 2011(2): 465-166.
- [7] Romeo C, Antonuccio P, Esposito M, et al. Raxofelast, a hydrophilic vitamin E-like antioxidant, reduces testicular ischemia-reperfusion injury [J]. Urol Res, 2004(5): 367-371.
- [8] Savas C, Ozguner M, Ozguner F, et al. The effects of human chorionic gonadotropin on the contralateral side in unilateral testicular torsion [J]. Int Urol, 2003(3): 237-245.
- [9] Sarioglu-Buke A, Erdem S, Gedikoglu G, et al. Capsaicin effectively prevents apoptosis in the contralateral testis after ipsilateral testicular torsion [J]. Br J Urol, 2011(7): 787-789.
- [10] 王鸿祥,陈斌. 特发性男性不育症的药物治疗进展[J]. 医药导报, 2011(12): 1625-1628.
- [11] Kamisawa H, Kojima Y, Mizuno K, et al. Spermatogenesis after 1-stage fowler-stephens orchiopexy in experimental cryptorchid rat model [J]. J Urol, 2010(6): 2380-2384.
- [12] 葛平玉,常青,许灌成. 归芪五子方对睾丸损伤模型大鼠精子凋亡以及 SOD 和 MDA 与 NOS 水平的影响[J]. 医药导报, 2013(8): 993-995.

(2014-02-03 收稿, 2014-03-05 修回)  
中文编辑: 周 凌; 英文编辑: 赵 毅