

解脲脲原体感染对大鼠睾丸组织结构及睾酮水平的影响

杨文选¹, 余峰玲¹, 周 蕾², 甘怀勇², 刘从森¹, 张 涛¹

[摘要] **目的:**探讨解脲脲原体(*ureaplasma urealyticum*, UU)感染对大鼠睾丸组织结构及睾酮水平的影响。**方法:**清洁级 SD 大鼠 40 只随机分为实验组 A(术后 7 d 组, A 组)、实验组 B(术后 14 d 组, B 组)、对照组 C(术后 7 d 组, C 组)和对照组 D(术后 14 d 组, D 组), 每组 10 只。A、B 组膀胱注射 0.6 ml UU4 型菌株(1×10^7 CCU/ml), C、D 组膀胱注射等体积的 UU 液体培养基。术后第 7 天取 A 和 C 组、第 14 天取 B 和 D 组大鼠睾丸组织 HE 染色观察结构, 相应时间取 4 组大鼠睾丸间质液和血浆, 采用化学发光法检测睾酮水平。**结果:**HE 染色显示 A、B 组呈炎症性病理变化, 曲细精管生精细胞层次和数量减少, 基底膜破坏, 炎细胞浸润, 成熟精子减少, 但 B 组炎症病变较 A 组轻, C、D 组睾丸结构正常。A、B 组血浆睾酮水平均明显低于 C、D 组($P < 0.01$), 但 B 组与 A 组血浆睾酮水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。A 组睾丸间质液睾酮水平明显低于 B、C 和 D 组($P < 0.01$), 而 B、C 和 D 组睾丸间质液睾酮水平差异均无统计学意义($P > 0.05$)。**结论:**大鼠感染 UU 后睾丸组织可出现病理性改变, 睾酮分泌功能降低, 随着时间的延长, 睾丸组织结构及睾酮水平逐渐恢复。

[关键词] 解脲脲原体; 感染; 睾丸; 病理损伤; 睾酮; 大鼠

[中图分类号] R 375 **[文献标志码]** A **DOI:** 10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2015.01.001

Influence of *ureaplasma urealyticum* infection on the structure of testicular tissue and the level of testosterone in rats

YANG Wen-xuan¹, YU Feng-ling¹, ZHOU Lei², GAN Huai-yong², LIU Chong-sen¹, ZHANG Tao¹

(1. Department of Pathogen and Biology; 2. Department of Pathology, Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233030, China)

[Abstract] **Objective:** To study the influences of *ureaplasma urealyticum* (UU) infection on the structure of testicular tissue and level of testosterone in rats. **Methods:** Forty clean grade male Sprague dawley (SD) rats were randomly divided into the experiment group A (at 7 d after surgery), experiment group B (at 14 d after surgery, group B), control group C (at 7 d after surgery) and control group D (at 14 d after surgery) 10 rats each group. The group A and B were injected with 0.6 ml UU4 (1×10^7 CCU/ml) through punctio vesicae, and the group C and D were injected with the same volume of UU liquid medium. At day 7 and 14 after injection, the structures of testicular tissue of all rats were observed by HE staining, the levels of testosterone in the testis interstitial fluid and plasma of all rats were detected by chemiluminescence method. **Results:** The changes of inflammatory pathology (including the layer and amount of seminiferous tubule spermatogenic cell decreasing, basement membrane lesion, inflammatory cell infiltrating and mature sperms decreasing) in the testis of group A and B were found by HE staining, the inflammatory changes in group B were lighter than those in group A. The structures of testicular tissue in group C and D were normal. The levels of plasma testosterone in group A and B were significantly lower than that in group C and D ($P < 0.01$), the difference of plasma testosterone level between group A and B was not statistically significant ($P > 0.05$). The testosterone level in testis interstitial fluid in group A was significantly lower than that in group B, C and D ($P < 0.01$), the differences of the testosterone levels in testis interstitial fluid between group B, C and D were not statistical significant ($P > 0.05$). **Conclusions:** UU infection can lead to the pathologic change of testicular tissue and testosterone secretion decrease. With the extension of time, the testicular tissue structure and testosterone level can gradually recover.

[Key words] *ureaplasma urealyticum*; infection; testis; pathological lesion; testosterone; rat

解脲脲原体 (*ureaplasma urealyticum*, UU) 为男性泌尿道感染的常见病原菌之一, 可导致非淋菌性

尿道炎、急性附睾炎、前列腺炎、不育等。近年研究^[1-4]发现 UU 与男性不育的关系十分密切, UU 感染后可导致男性不育患者精液质量、精子数量及活力等多方面出现异常。睾丸组织结构的正常是维持精子数量及质量的基础, 睾酮浓度在生精过程的维持和精子发育成熟的过程中起着决定性的作用^[5]。但目前有关 UU 感染后是否导致男性不育者睾丸组织结构异常及是否对患者睾酮分泌功能产生影响的报道较少。本研究通过对大鼠膀胱穿刺注射 UU 逆

[收稿日期] 2014-04-23

[基金项目] 1. 国家自然科学基金资助项目(81070506); 2. 安徽省高校省级优秀青年人才基金资助项目(2012SQRL09)

[作者单位] 蚌埠医学院 1. 病原生物学教研室, 2. 病理学教研室, 安徽蚌埠 233030

[作者简介] 杨文选(1981-), 男, 硕士研究生。

[通信作者] 张 涛, 硕士, 副教授。E-mail: zst1215@126.com

行感染睾丸,探讨 UU 感染对大鼠睾丸病理损伤及睾酮水平的影响,为分析 UU 感染与男性不育的关系提供实验参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料及仪器 清洁级 SD 雄性大鼠,体质量(216 ± 15)g(苏州大学动物实验中心);UU4 型菌株(南华大学微生物学教研室);UU 液体培养基(南京黎明生物公司);水合氯醛(上海化学试剂采购供应五联化工厂);Bouln's 固定液(北京斯百汇生物科技有限责任公司);睾酮化学发光法测定盒(siemens 公司);全自动化学发光分析仪(siemens immulite 2000)。

1.2 方法

1.2.1 UU 菌株培养 UU4 标准菌株冻干粉沫先溶于 UU 液体培养基,12~24 h 培养基颜色从桔黄色变成桃红色,收集 UU 菌株连续传代 2~3 次,待菌株性能稳定时,采用颜色改变单位测定法进行菌株计数,调整菌株浓度为 1×10^7 CCU/ml。

1.2.2 实验动物造模及分组 参照文献[6]将 40 只清洁级 SD 大鼠随机分为实验组 A(术后 7 d 组, A 组)、实验组 B(术后 14 d 组, B 组)、对照组 C(术后 7d 组, C 组)和对照组 D(术后 14 d 组, D 组),每组 10 只。10% 水合氯醛大鼠腹腔注射麻醉,无菌条件下打开腹腔, A、B 组膀胱注射 0.6 ml UU4 型菌株(1×10^7 CCU/ml), C、D 组膀胱注射等体积的 UU 液

体培养基,注射完毕后分层缝合腹腔,大鼠苏醒后正常饲养。

1.2.3 睾丸组织结构观察 分别于术后第 7 d 取 A 和 C 组、第 14 d 取 B 组和 D 组大鼠左侧睾丸组织, Bouln's 固定液固定,石蜡包埋、切片,常规 HE 染色,光学显微镜观察睾丸组织结构,并提取 4 组大鼠睾丸组织 DNA, PCR 检测 UU 特异性核酸,确认造模成功。

1.2.4 睾酮测定 对应时间留取 4 组大鼠血浆和右侧睾丸制备间质液,采用化学发光法检测睾酮水平,所有操作严格按试剂盒说明书进行。

1.3 统计学方法 采用方差分析和 q 检验。

2 结果

2.1 大鼠睾丸组织结构变化 A 组低倍镜下见曲细精管外形不规则,肿胀明显,部分扭曲,部分基底膜破坏,有大量炎性渗出物;高倍镜下部分生精上皮坏死消失,部分生精上皮肿胀,细胞水肿,腔内可见少量成熟精子生成,大量炎细胞浸润。B 组低倍镜下见曲细精管肿胀、间质水肿较 A 组轻,炎性渗出物较 A 组少,可见少量炎细胞浸润;高倍镜下病变生精细胞坏死、肿胀较 A 组减轻,成熟精子数量增多。C、D 组低倍镜下见大鼠睾丸曲细精管规则,基底膜完整,间质血管分布正常;高倍镜下各级生精上皮形态良好,腔内有大量成熟精子生成,未见炎细胞浸润(见图 1、2)。

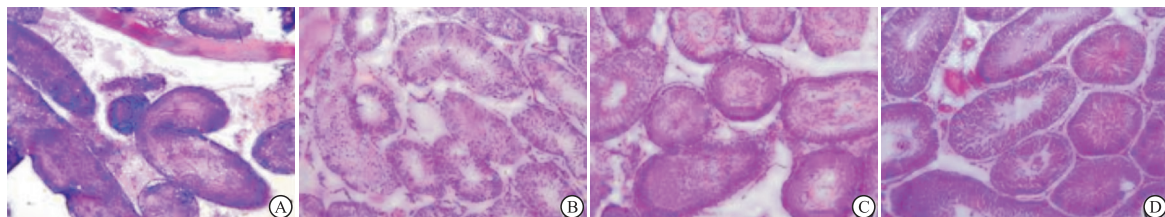


图1 4组大鼠HE染色低倍镜镜下结果

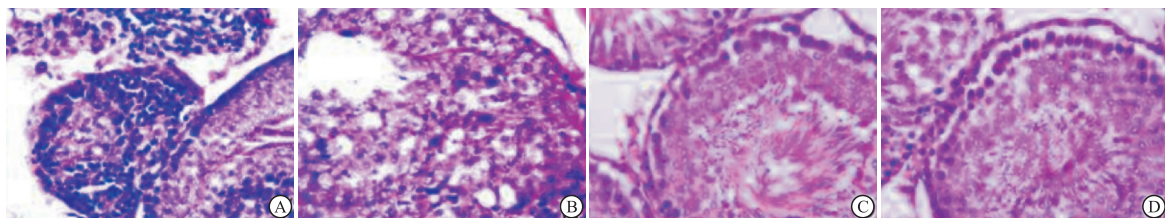


图2 4组大鼠HE染色高倍镜镜下结果

2.2 4 组大鼠血浆及睾丸间质液睾酮水平比较

A、B 组大鼠血浆睾酮水平均明显低于 C、D 组($P < 0.01$),但 A 组与 B 组血浆睾酮水平差异无统计学

意义($P > 0.05$)。A 组睾丸间质液睾酮水平均明显低于 B、C 和 D 组($P < 0.01$),而 B、C 和 D 组睾丸间质液睾酮水平差异均无统计学意义($P > 0.05$)(见表 1)。

表 1 4 组大鼠血浆及睾丸间质液睾酮水平变化 ($\bar{x} \pm s$)

分组	n	血浆睾酮 水平/(pg/ml)	睾丸间质液 睾酮水平/($\mu\text{g/ml}$)
A 组	10	45.75 \pm 16.47	56.31 \pm 23.36
B 组	10	69.78 \pm 20.06	150.27 \pm 46.78**
C 组	10	473.36 \pm 216.15 $\Delta\Delta$ **	185.41 \pm 33.92**
D 组	10	466.82 \pm 209.34 $\Delta\Delta$ **	173.77 \pm 29.75**
F	—	24.90	28.80
P	—	<0.01	<0.01
MS _{组内}	—	2 2804.431	1 192.422

q 检验:与 A 组比较 ** $P < 0.01$; 与 B 组比较 $\Delta\Delta P < 0.01$

3 讨论

不育症是当前生殖医学研究的热点之一,其中由男性因素而导致不育者约占 1/2。男性不育由多种疾病或因素所造成,其中 UU 感染是导致男性不育的重要因素之一。有文献报道 UU 在男性不育者精液中的检出率高达 50%^[7-8],UU 是一种介于细菌和病毒之间的微小生物,常寄居于男性泌尿生殖道,引起男性的非淋菌性尿道炎,若患者临床治疗不彻底,UU 可逆行感染性腺(睾丸)及附属性腺(附睾、前列腺、精囊腺等),影响精液的质量,使精子功能障碍,导致精子密度下降、畸形率增加、精子活力低下以及生精细胞凋亡率增加等,进而导致男性不育^[9-12]。睾丸组织结构的正常是维持精子数量及质量的基础,睾丸组织结构的异常将直接影响精子数量及质量。但 UU 感染是否导致患者睾丸组织出现病理性改变及影响雄激素(睾酮)水平的报道目前尚不多见。本研究通过构建 UU 逆行感染大鼠睾丸的实验模型,观察不同时期时大鼠睾丸的病理性变化及睾酮水平的变化。

本研究发现 UU 感染后大鼠睾丸组织结构出现明显的病理性变化,大鼠睾丸组织萎缩甚至坏死、曲细精管萎缩、生精细胞层次及数量减少、炎细胞浸润、间质水肿、间质细胞数量减少、管腔中成熟精子细胞少见,与相关研究^[13]报道一致。我们的研究发现,UU 感染后大鼠睾丸组织结构病理性变化可随病程延长而呈现减轻趋势,如 UU 感染 14 d 大鼠曲细精管肿胀、间质水肿、炎性渗出物较感染后 7 d 减轻,而间质细胞及成熟精子增多,此研究结果未见国内相关文献报道,其原因可能与自身免疫调节有关,需进一步研究。

睾酮是由睾丸间质细胞直接合成和分泌的,具有维持睾丸组织的正常生精过程、促进生精细胞的分化和精子成熟的功能,且游离睾酮浓度与男性不

育患者精液参数具有显著相关性^[14],睾酮浓度的检测将有助于分析判断男性不育症病情。本研究显示 UU 感染后实验组睾酮分泌功能出现异常,A、B 组大鼠血浆睾酮水平均较 C、D 组降低 ($P < 0.01$),B 组大鼠的血浆中睾酮水平虽高于 A 组,但 2 组差异无统计学意义 ($P > 0.05$);睾丸间质液睾酮水平测定显示 A 组明显低于其他各组 ($P < 0.01$),B、C 和 D 组间差异均无统计学意义 ($P > 0.05$);睾丸间质细胞炎症和数量减少可能会导致大鼠睾酮分泌功能下降,因为睾酮由睾丸间质细胞合成和分泌,间质细胞的炎症和数量减少将直接影响到睾酮合成与分泌,从而表现出 A、B 组睾酮水平下降。本研究发现 UU 感染后 14 d 较感染后 7 d 睾丸间质液睾酮水平显著升高,其原因可能与炎症减轻、间质细胞代偿性增多、性腺激素与促性腺激素间存在负反馈调节的共同作用有关。睾酮的分泌受到下丘脑-垂体-性腺轴的调节,睾酮水平下降对促性腺激素分泌负反馈作用减弱,促性腺激素分泌增加,进而刺激间质细胞上调睾酮分泌水平。另外,本研究发现大鼠感染 14 d 后睾丸间质液睾酮水平恢复正常,而血浆睾酮水平仍然处于较低水平,揭示睾丸间质液中睾酮水平较血浆中恢复得快,其原因可能在于负反馈调节最先影响间质液中睾酮分泌功能,使睾酮水平能较快得以恢复,而血液中睾酮水平恢复相对滞后。

总之,大鼠感染 UU 后睾丸组织可出现生精细胞及成熟精子减少等病理性改变,导致睾酮分泌功能降低,随时间的延长,睾丸组织病理性改变逐渐减轻而睾酮分泌水平逐渐恢复。

[参 考 文 献]

- [1] Salmeri M, Valenti D, Vignera SL, et al. Prevalence of ureaplasma urealyticum and Mycoplasma hominis infection in unselected infertile men[J]. J Chemother, 2012, 24(2): 81-86.
- [2] Zeighami H, Peerayeh SN, Yazdi RS, et al. Prevalence of ureaplasma urealyticum and Ureaplasma parvum in semen of infertile and healthy men[J]. Int J STD AIDS, 2009, 20(6): 387-390.
- [3] Wang Y, Wu ZW, Zhang LF, et al. Effects of ureaplasma urealyticum infection on the male reproductive system in experimental rats[J]. Andrologia, 2010, 42(5): 297-301.
- [4] Lee JS, Kim KT, Lee HS, et al. Concordance of ureaplasma urealyticum and Mycoplasma hominis in Infertile Couples: impact on semen parameters[J]. Infertility, 2013, 81(6): 1219-1224.
- [5] Kliesch S. Testosterone and infertility[J]. Urologe A, 2010, 49(1): 32-36.
- [6] 徐晨,孙广芳,王一飞. 溶脲脲原体动物模型的建立[J]. 生殖医学杂志, 1994, 3(4): 228-231.

[文章编号] 1000-2200(2015)01-0004-03

· 基础医学 ·

大脑扣带沟分支的影像解剖学研究及意义

隋东莉¹, 李成¹, 陈刘成², 曹承亮¹, 王震寰¹

[摘要] **目的:** 观察扣带沟竖直分支的数目及出现概率, 为研究扣带区域的发生发育规律以及功能结构关系提供解剖学依据。**方法:** 30名正常成年志愿者行头颅连续MRI矢状断层扫描, 层厚7mm。在eFilm 1.5工作站导入头颅旁正中矢状层MRI图像, 观察扣带沟竖直分支的数目及各分支测别的出现率。**结果:** 按副扣带沟的出现与否分别统计扣带沟的分支数目, 一般分为无分支、一支、二支和三支4种类型, 每种类型具有侧别和个体差异。**结论:** 扣带沟分支的出现率存在明显的侧别差异, 左侧比右侧较少出现分支, 表明右侧扣带区皮质的折叠程度高于左侧。

[关键词] 扣带沟; 脑皮质; 磁共振; 对称性**[中图分类号]** R 322.81 **[文献标志码]** A **DOI:** 10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2015.01.002

Imaging anatomy of the branch of brain cingulate culcus and its significance

SUI Dong-li¹, LI Cheng¹, CHEN Liu-cheng², CAO Cheng-liang¹, WANG Zhen-huan¹

(1. Department of Anatomy, Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233030;

2. Department of Radiology, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233004, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the vertical branches and probability of occurrence in cingulate sulcus for providing the anatomical basis in studying the development pattern and relationship between function and structure of cingulate sulcus. **Methods:** The brain sagittal MRI (7 mm each layer) of 30 volunteers were obtained. The median sagittal MRI imaging of brain were transported into eFilm 1.5, the vertical branches and appearance frequency of cingulate sulcus were observed. **Results:** The four types (including zero, one, two and three vertical branches) in cingulate sulcus were found according to the paracingulate sulcus appearance. There were side and individual differences in each type. **Conclusions:** There is obviously side difference in the branch occurrence of cingulate sulcus. Compared with right side, less branch in left side is found, which indicates that the folding degree in right cingulate sulcus cortex is high than that in left side.

[Key words] cingulate sulcus; cerebral cortex; magnetic resonance imaging; symmetry**[收稿日期]** 2013-11-05

[基金项目] 安徽省高等学校省级优秀青年人才基金资助项目 (2012SQRL097); 安徽省高校省级科学研究资助项目 (KJ2012Z253)

[作者单位] 1. 蚌埠医学院 人体解剖学教研室, 安徽 蚌埠 233030;
2. 蚌埠医学院第一附属医院 放射科, 安徽 蚌埠 233004

[作者简介] 隋东莉 (1981 -), 女, 硕士, 讲师。

[通信作者] 王震寰, 硕士研究生导师, 教授。E-mail: bbmcpwzh@sina.com

扣带沟为大脑半球内侧面一条主要的脑沟。脑沟是脑在生长发育过程中由皮质折叠形成, 而皮质的折叠反映了大脑灰质的膨胀和延伸, 一些学者^[1]曾强调这些折叠发生在2种细胞构筑有差异的皮质区域的边界, 于是我们可以将脑沟作为脑功能分区的天然标志。最近有研究^[2]表明, 扣带皮质的结构

[7] 洪艳华, 云国家. 鄂州地区445例男性解脲支原体感染与精液质量检测分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2010, 18(1): 115-119.

[8] 颜成裕, 李田妹. 在312例男性不育中解脲支原体感染的影响[J]. 中国民康医学, 2010, 22(13): 1978-1679.

[9] 张忠林, 李火金, 镇万华. 解脲支原体感染不育患者精液质量和精子形态学观察[J]. 中国现代医学杂志, 2009, 19(8): 1239-1241.

[10] 张水林, 王崖娟, 朱云霞. 男性不育就诊者解脲支原体检测结果与精子质量关系分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2009, 17(11): 103-104.

[11] Gunyeli I, Abike F, Dunder I, et al. Chlamydia, Mycoplasma and ureaplasma infections in infertile couples and effects of these infections on fertility[J]. Arch Gynecol Obstet, 2011, 283(2):

379-385.

[12] Hala I, Daghistani A, Dayem MA. Clinical significance of asymptomatic urogenital Mycoplasma hominis and ureaplasma urealyticum in relation to seminal fluid parameters among infertile Jordanian males[J]. Middle East Fertil Soc J, 2010, 15(1): 29-34.

[13] 刘安齐, 傅琳玲, 朱相贡, 等. 雄性SD大鼠各泌尿生殖器官感染解脲支原体阳性率及病理改变的比较研究[J]. 苏州大学学报: 医学版, 2011, 31(4): 596-599.

[14] 柳建明, 姜辉, 洪锴, 等. 男性不育患者精浆中游离睾酮、游离左旋肉碱水平与精液参数的相关性分析[J]. 第二军医大学学报, 2010, 31(7): 767-769.

(本文编辑 马启)