

DOI: 10.13210/j.cnki.jhmu.20250610.001

网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/46.1049.R.20250610.1029.002>

## 自噬调控对缺血再灌注所致大鼠损伤睾丸功能恢复研究

胡志, 孙伟, 陈一衍, 张炜, 付桥✉, 徐律, 褚浩

(武汉市第三医院泌尿外科, 湖北 武汉 430000)

**[摘要]** **目的:**探讨自噬在睾丸扭转复位致大鼠睾丸缺血再灌注(ischemia-reperfusion, I/R)损伤中的调控作用。**方法:**将40只雄性SD大鼠随机分为4组:假手术组、模型组、雷帕霉素(rapamycin, RAPA)组、3-甲基腺嘌呤(3-methyladenine, 3-MA)组, 每组10只。除假手术组外, 其他各组大鼠构建睾丸I/R损伤模型。H&E染色观察睾丸组织病理学变化, 精子质量分析评估精子活力水平, ELISA检测大鼠血清中性激素睾酮(testosterone, T)、促黄体生成素(uteinizing hormone, LH)、促卵泡生成素(follicle-stimulating hormone, FSH)的水平, 并检测睾丸组织中炎症因子白细胞介素-1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)水平, Western blot检测睾丸组织中微管相关蛋白1轻链3-II/I(microtubule-associated protein 1 light chain 3-II/I, LC3-II/I)和自噬标志蛋白(Beclin-1)的表达水平。**结果:**与模型组相比, RAPA组大鼠睾丸中生精细胞增多, 细胞排列也趋于正常, 精子活动率升高( $P < 0.01$ ), 精子畸形率降低( $P < 0.01$ ), T、LH、FSH水平升高( $P < 0.01$ ), IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6水平降低( $P < 0.01$ ), LC3-II/I和Beclin-1水平进一步升高( $P < 0.01$ ); 而3-MA组大鼠睾丸损伤较模型组进一步加重, LC3-II/I和Beclin-1水平降低( $P < 0.01$ )。**结论:**睾丸扭转后自噬被激活, 激活自噬可提高精子活力, 促进性激素的释放, 抑制炎症因子的表达, 对睾丸扭转复位致大鼠睾丸I/R损伤具有修护作用。

**[关键词]** 睾丸扭转; 缺血再灌注; 自噬

**[中图分类号]** R697.22 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2097-5953(2026)16-1224-08

### Research on regulation of autophagy recovers testicular function after ischemia/reperfusion injury in rats

HU Zhi, SUN Wei, CHEN Yiyang, ZHANG Wei, FU Qiao✉, XU Lv, CHU Hao

(Department of Urology, Wuhan Third Hospital, Wuhan 430000, China)

**[Foundation Project]:** This study was supported by the Medical Research Project of Wuhan Health Commission (WX20A16)

**[Author]:** HU Zhi, E-mail: huzhi\_2022@163.com.

**[Correspondence to]:** FU Qiao, E-mail: frx20110526@163.com.

**Received:** 2025-02-19

**Revised:** 2025-05-22

*JHMu*, 2026;32(16):1224-1231

**View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.**

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the role of autophagy in testicular ischemia-reperfusion (I/R) injury induced by testicular torsion reduction in rats. **Methods:** A total of 40 male SD rats were randomly divided into 4 groups: sham group, model group, rapamycin (RAPA) group, and 3-methyladenine (3-MA) group, with 10 rats in each group. Except for the sham group, testicular I/R injury models were established in the other groups. H&E staining was used to observe the pathological changes of testicular tissue. Sperm quality analysis was used to evaluate the sperm motility level. ELISA was used to detect the levels of sex hormones testosterone (T), luteinizing hormone (LH), and follicle-stimulating hormone (FSH) in serum as well as inflammatory factors interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), and interleukin-6 (IL-6) in testicular tissue of the rats. Western blot was used to detect the expression levels of microtubule-associated protein 1 light chain 3-II/I (LC3-II/I) and autophagy marker protein (Beclin-1) in testicular tissue. **Results:** Compared to the model group, the spermatogenic cells in the testis of the RAPA group

**[基金项目]** 武汉市卫健委医学科研项目(WX20A16)

**[作者简介]** 胡志, E-mail: huzhi\_2022@163.com。

**[通讯作者]** 付桥, E-mail: frx20110526@163.com。

**[收稿日期]** 2025-02-19

**[修回日期]** 2025-05-22

**网络出版时间:** 2025-06-10 10:48:27

were increased, the cell arrangement tended to be normal, the sperm motility rate was increased ( $P<0.01$ ), the sperm malformation rate was decreased ( $P<0.01$ ), the levels of T, LH and FSH were increased ( $P<0.01$ ), the levels of IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  and IL-6 were decreased ( $P<0.01$ ), and the LC3-II/I and Beclin-1 level was further increased ( $P<0.01$ ). The testicular injury of the 3-MA group was further aggravated, and LC3-II/I and Beclin-1 level was decreased compared to the model group ( $P<0.01$ ). **Conclusion:** Autophagy is activated after testicular torsion. The activation of autophagy can improve sperm motility, promote the release of sex hormones, inhibit the expression of inflammatory factors, and has a repair effect on testicular I/R injury caused by testicular torsion reduction in rats.

[Key words] Testicular torsion; Ischemia/reperfusion; Autophagy

睾丸扭转是男性青年和儿童中最常见的泌尿系统急症之一,其病理生理过程是睾丸扭转使精索血流不畅通,导致睾丸缺血或坏死<sup>[1]</sup>。一旦发生睾丸扭转需立即对睾丸进行复位,恢复血流及血液供应,减少对睾丸及睾丸中生精细胞的损伤<sup>[2]</sup>。然而复位后睾丸损伤虽减轻,但仍有部分患者出现精液质量下降等现象<sup>[3]</sup>。研究表明,这与睾丸组织的缺血再灌注(ischemia/reperfusion, I/R)损伤密切相关,再灌注损伤会促进炎性细胞因子的释放、凋亡通路的激活和活性氧(reactive oxygen species, ROS)的过量产生等,进一步损伤睾丸的生精功能,甚至引起不育<sup>[4]</sup>。目前,临床上缺乏有效治疗睾丸扭转引起的生精功能障碍的措施。

自噬是一种受多分子途径调控的过程,对维持内环境的稳态具有重要作用,近年来的研究发现,自噬在组织 I/R 过程中发挥重要的保护作用。例如大鼠肾 I/R 损伤后肾组织的自噬活性明显升高<sup>[5]</sup>;激活自噬可对脑 I/R 损伤小鼠起到良好的神经保护作用<sup>[6]</sup>。然而关于自噬对睾丸 I/R 损伤的作用及调控机制尚不明确。本课题组前期研究结果显示,激活自噬可改善 I/R 大鼠睾丸组织病理损伤,缓解氧化应激<sup>[7]</sup>。在以往睾丸 I/R 损伤的研究中观察到明显的中性粒细胞浸润、过量的氧自由基的产生及明显的炎症反应,这些因素被认为是造成睾丸 I/R 损伤的主要原因<sup>[8]</sup>。另外,已有研究证实生殖激素对雄性生殖功能具有重要作用<sup>[9]</sup>。睾酮(testosterone, T)、促黄体生成素(luteinizing hormone, LH)和促卵泡生成素(follicle-stimulating hormone, FSH)对睾丸生精细胞的分裂及精子的产生、分化和成熟具有重要作用<sup>[10,11]</sup>。在正常状态下各种激素分泌量是相对恒定的,若其中一种激素分泌量升高或降低,或某一种激素的相应受体会有所改变,都可导致精子异常。另外,附睾腔稳定内环境的维持受雄激素调控,雄激素降低可影响附睾上皮吸收和分泌能力,阻碍精子的成熟<sup>[12]</sup>。

因此,为了明确自噬对睾丸 I/R 损伤的作用,本课题组通过构建大鼠睾丸 I/R 模型,并结合自噬激动剂雷帕霉素(rapamycin, RAPA)和自噬抑制剂

3-甲基腺嘌呤(3-methyladenine, 3-MA),明确自噬对大鼠睾丸 I/R、精子活力、性激素及炎症反应的作用,为临床睾丸扭转后生精功能损害的进一步治疗提供理论基础及科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验对象

1.1.1 实验动物 40 只 6 周龄雄性 SD 大鼠, SPF 级,体重(200 $\pm$ 10)g,来源于湖南斯莱克景达实验动物有限公司[SCXK(湘)2019-0004],饲养于武汉市第三医院动物实验室[SYXK(鄂)2018-0018],于 SPF 条件下饲养,饲养条件:温度 22~26℃,相对湿度 50%~60%,人工光照明暗各 12 h。动物实验经武汉市第三医院实验动物伦理委员会批准(武三医实伦 SY2019-027),并遵循实验动物 3R 原则。

1.1.2 实验试剂 RAPA、3-MA 购于美国 MCE 公司(HY-10219、HY-19312);戊巴比妥钠购于美国 Sigma Merck 公司(P3761);伊红、中性树脂、RIPA 裂解液、BCA 蛋白浓度测定试剂盒购于北京索莱宝科技有限公司(E8090、G8590、R0010、PC0020);苏木素购于武汉赛维尔生物科技有限公司(G1004);大鼠 T、LH、FSH、白细胞介素-1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6) ELISA 试剂盒、微管相关蛋白 1 轻链 3-I (microtubule associated protein 1 light chain 3-I, LC3-I)、LC3-II、自噬标志蛋白(autophagy marker protein, Beclin-1)抗体、p62 蛋白、山羊抗兔 IgG 购于武汉贝茵莱生物科技有限公司(RA20653、RA20133、RA20044、RA20020、RA20035、RA20607、PAB30697、PAB-34117、PAB35215、PAB30647、SAB43714)。

### 1.2 方法

1.2.1 动物分组及处理 将 40 只大鼠随机分为 4 组:假手术(Sham)组、模型(Model)组、RAPA 组和 3-MA 组,每组 10 只。Sham 组大鼠用 2% 戊巴比妥钠(50 mg/kg)注入腹腔内麻醉,在大鼠左侧髂腹股沟做一切口,通过此切口取出左侧睾丸,用 6/0 无创伤缝线穿过睾丸白膜,通过原切口放睾丸入阴囊内,缝合切口;Model 组大鼠用 2% 戊巴比妥钠(50 mg/kg)

腹腔内注射麻醉后,通过左侧髂腹股沟切口暴露左侧睾丸将睾丸绕精索逆时针旋转 720 度,在睾丸白膜与阴囊肉膜之间用 6/0 缝线缝合固定,保持睾丸缺血状态,1 h 后拆除缝线,将睾丸绕精索顺时针旋转 720 度,恢复血供,关闭切口<sup>[13]</sup>;RAPA 组和 3-MA 组分别在大鼠造模前 5 min 尾静脉注射剂量为 1 mg/kg 的 RAPA 和 5 mg/kg 的 3-MA<sup>[14,15]</sup>,再进行造模。睾丸复位 12 h 后,使用 3% 戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔注射各组大鼠,打开腹腔,腹主动脉采血,分离血清,备用;取出大鼠左侧睾丸,备用;大鼠左侧附睾做精子动力分析。

**1.2.2 精子质量分析评估各组大鼠精子活力水平** 先收集精子,纵行切开附睾尾部,切 3 个裂口,放入含有 2 mL PBS 的离心管中,再将离心管放入 37 ℃ 水浴箱中让精子自由游出,水浴 20 min 将离心管取出。取 1 滴精子滤液滴于载玻片上,分别统计每毫升精子数、精子活动率和精子畸形率。计算公式如下:

精子活动率(%) = 活动精子数 / (活动精子数 + 无活动精子数) × 100%<sup>[16]</sup>。

精子畸形率(%) = 畸形精子数 / (正常精子数 + 畸形精子数) × 100%<sup>[16]</sup>。

**1.2.3 H&E 染色观察睾丸组织病理学变化** 将固定好的大鼠睾丸组织放入包埋盒,按照常规步骤脱水浸蜡包埋。切取 3 μm 厚的切片,水浴展片,烤片后按照常规步骤进行 H&E 染色观察睾丸组织病理学变化。

**1.2.4 ELISA 检测血清中性激素和睾丸组织中炎症因子水平** 收集各组大鼠的血清和睾丸组织,严

格按照 ELISA 试剂盒说明书检测性激素和炎症因子的水平。

**1.2.5 Western blot 检测大鼠睾丸组织中 p62、LC3-I、LC3-II 和 Beclin-1 表达水平** 睾丸组织剪碎后加入裂解液,充分裂解后取上清,BCA 法进行蛋白质定量。制备 SDS-PAGE 胶,下层分离胶选用 12% 的胶,上层浓缩胶为 5% 的胶,插好梳子,按照每孔 20 μg 蛋白上样,电泳。电泳完成后湿转至 PVDF 膜,5% 脱脂奶粉室温封闭,4 ℃ 过夜。次日加入一抗稀释液,室温孵育 1 h,洗膜 3 次后加入二抗稀释液,洗膜 3 次后 ECL 显色,TANON GIS 软件读取条带灰度值。

### 1.3 统计学处理

使用 SPSS 19.0 进行数据分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示。所有数据经 Shapiro-Wilk 检验证实符合正态分布( $P > 0.05$ ),Levene 检验显示方差齐性( $P > 0.05$ ),事后检验使用 Bonferroni 法。两组比较使用  $t$  检验,多组间比较采用单因素方差分析(ANOVA), $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 自噬对 I/R 所致大鼠损伤睾丸组织病理学变化的影响**

Sham 组大鼠睾丸中有大量生精细胞,且排列有序,生精上皮结构完整,曲细精管排列紧密;Model 组大鼠睾丸生精细胞发生脱落,细胞减少,生精上皮结构遭到破坏,曲细精管排列疏松紊乱;RAPA 组大鼠睾丸中生精细胞较 Model 组增多,细胞排列也趋于正常;3-MA 组大鼠睾丸损伤较 Model 组进一步加重,见图 1。

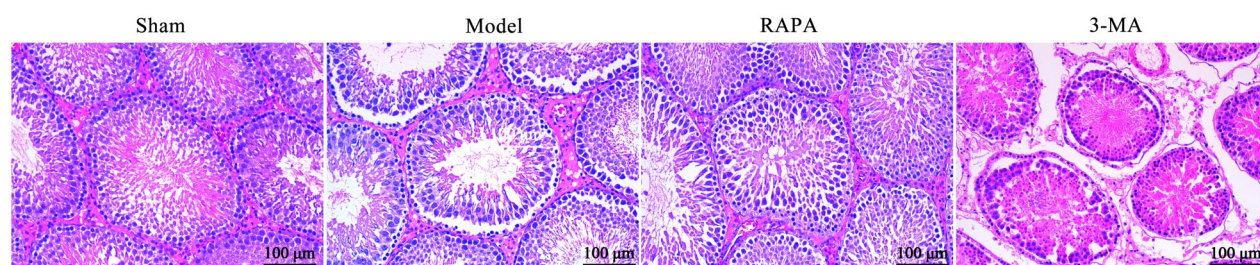


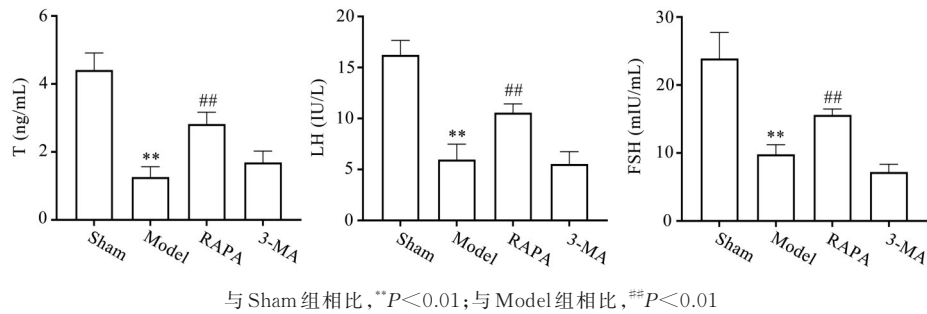
图 1 各组大鼠睾丸组织 H&E 染色结果(×200)

Fig 1 H&E staining results of testicular tissue of rats in each group (×200)

**2.2 自噬对睾丸 I/R 损伤模型大鼠性激素水平的影响**

各组大鼠血清中性激素 T、LH、FSH 水平差异具有统计学意义( $F_T = 124.35$ ,  $F_{LH} = 137.14$ ,  $F_{FSH} = 105.90$ , 均  $P < 0.05$ )。两两比较结果显示,与 Sham

组相比,Model 组血清中性激素 T、LH、FSH 水平明显降低( $P < 0.01$ );与 Model 组相比,RAPA 组大鼠血清中性激素 T、LH、FSH 水平明显升高( $P < 0.01$ ),3-MA 组大鼠血清中性激素 T、LH、FSH 水平与 Model 组相比差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见图 2。



与 Sham 组相比, \*\* $P < 0.01$ ; 与 Model 组相比, ## $P < 0.01$

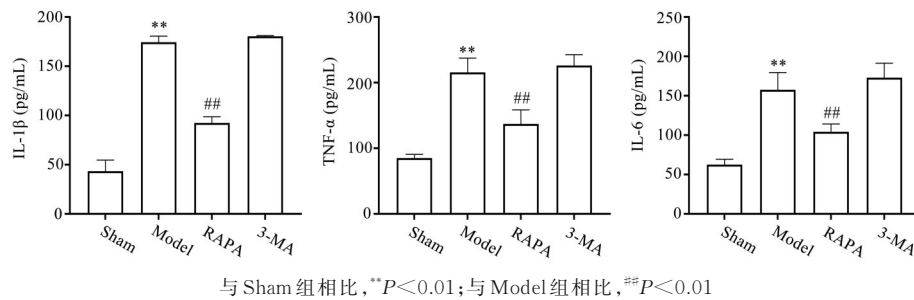
图2 各组大鼠血清中性激素水平的比较

Fig 2 Comparison of serum sex hormone levels of rats in each group

### 2.3 自噬对睾丸 I/R 损伤模型大鼠睾丸组织中炎症因子水平的影响

各组大鼠睾丸组织中炎症因子 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平差异具有统计学意义 ( $F_{IL-1\beta} = 764.88$ ,  $F_{TNF-\alpha} = 129.15$ ,  $F_{IL-6} = 96.10$ , 均  $P < 0.05$ )。两两比较结果显示, 与 Sham 组相比, Model 组大鼠睾丸组

织中 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平明显升高 ( $P < 0.01$ ); 与 Model 组相比, RAPA 组大鼠睾丸组织中炎症因子 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平明显降低 ( $P < 0.01$ ), 3-MA 组大鼠睾丸组织中 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平与 Model 组相比差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见图 3。



与 Sham 组相比, \*\* $P < 0.01$ ; 与 Model 组相比, ## $P < 0.01$

图3 各组大鼠睾丸组织中炎症因子水平的比较

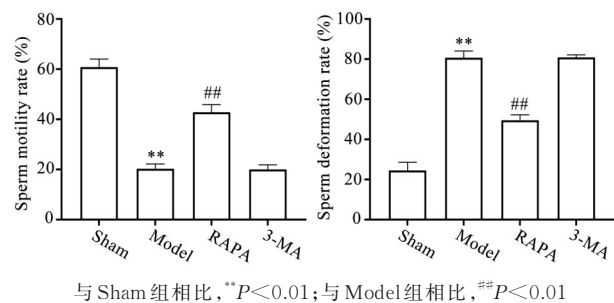
Fig 3 Comparison of inflammatory factor levels in testicular tissue of rats in each group

### 2.4 自噬对睾丸 I/R 损伤模型大鼠精子活力水平的影响

各组大鼠的精子活动率和畸形率差异具有统计学意义 ( $F_{精子活动率} = 169.93$ ,  $F_{精子畸形率} = 242.11$ , 均  $P < 0.05$ )。两两比较结果显示, 与 Sham 组相比, Model 组大鼠精子活动率明显降低 ( $P < 0.01$ ), 精子畸形率明显升高 ( $P < 0.01$ ); 与 Model 组相比, RAPA 组精子活动率明显升高 ( $P < 0.01$ ), 精子畸形率明显降低 ( $P < 0.01$ ), 3-MA 组精子活动率和畸形率与 Model 组相比差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见图 4。

### 2.5 各组大鼠睾丸组织中自噬标志蛋白 LC3-II/I 和 Beclin-1 的表达

各组大鼠睾丸组织中自噬标志蛋白 LC3-II/I 和 Beclin-1 的表达差异具有统计学意义 ( $F_{LC3-II/I} = 91.35$ ,  $F_{Beclin-1} = 457.15$ , 均  $P < 0.05$ )。两两比较结果显示, 与 Sham 组相比, Model 组大鼠 LC3-II/I 和 Beclin-1 蛋白水平明显升高 ( $P < 0.01$ ); 与 Model 组



与 Sham 组相比, \*\* $P < 0.01$ ; 与 Model 组相比, ## $P < 0.01$

图4 各组大鼠精子活力水平的比较

Fig 4 Comparison of sperm motility of rats in each group

大鼠相比, RAPA 组大鼠睾丸组织中 LC3-II/I 和 Beclin-1 蛋白水平明显升高 ( $P < 0.01$ ), 3-MA 组大鼠睾丸组织中 LC3-II/I 和 Beclin-1 蛋白水平明显降低 ( $P < 0.01$ )。Model 组 p62 与 Sham 组相比明显降低 ( $P < 0.01$ ), RAPA 组与 Model 组相比进一步降低 ( $P < 0.01$ ), 3-MA 组升高 ( $P < 0.01$ ), 与 LC3-II/I 趋势互补, 表明自噬流完整, 见图 5。

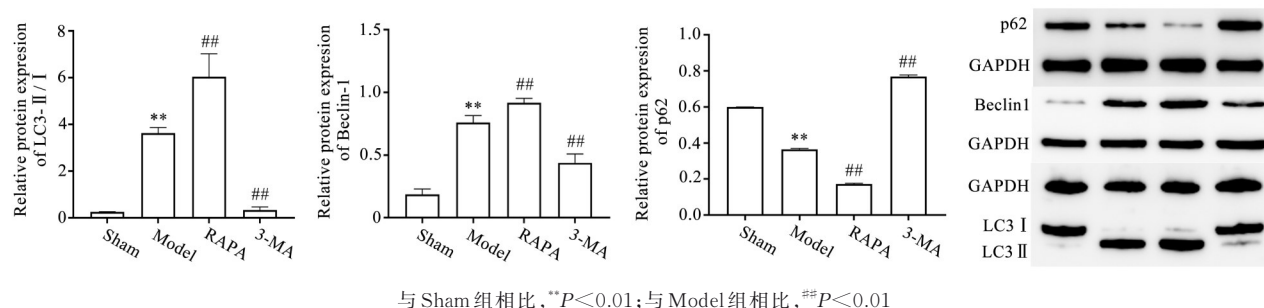


图5 各组大鼠自噬标志蛋白 LC3-II/I、Beclin-1、p62 表达水平的比较

Fig 5 Comparison of expression levels of autophagy marker proteins LC3-II/I, Beclin-1, and p62 of rats in each group

### 3 讨论

一旦发生睾丸扭转应立即进行手术将睾丸复位,减少因睾丸缺血或坏死引起的生殖能力损伤或缺失<sup>[17]</sup>。研究表明,睾丸扭转复位的过程也是一种 I/R 过程,睾丸组织 I/R 损伤能促进促炎细胞因子、细胞黏附分子的释放,以及凋亡和坏死通路的激活等,导致睾丸内生殖细胞凋亡增加,加剧睾丸损伤<sup>[18]</sup>。自噬在维持缺血、缺氧等应激状态下细胞的存活、清除细胞内衰老的细胞器及错误折叠的蛋白质中起到重要作用<sup>[19]</sup>。早在 2007 年就已经有研究证实在大鼠肾 I/R 过程中存在自噬,调节自噬可改善 I/R 所致的肾功能障碍<sup>[20]</sup>。此外,在关于小鼠脑组织 I/R 中的研究发现,自噬的激活可对脑 I/R 损伤小鼠起到良好的神经保护作用<sup>[6]</sup>。但关于自噬在大鼠睾丸 I/R 过程中的作用尚不明确。

本研究显示自噬激活(RAPA 组)明显降低 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  和 IL-6 水平,可能与自噬清除受损线粒体(减少 ROS 生成)及抑制 NLRP3 炎症小体激活有关。已有研究证实,自噬通过降解 NLRP3 炎症小体成分或阻断其组装抑制 IL-1 $\beta$  释放<sup>[21]</sup>,这一机制可能同样适用于睾丸 I/R 损伤。性激素(T、LH、FSH)水平的恢复可能与自噬保护 Leydig 细胞功能相关。自噬通过清除 Leydig 细胞中错误折叠的类固醇合成酶(如 P450scc)或维持线粒体稳态,促进 T 合成<sup>[22]</sup>,但需进一步研究自噬是否直接调控激素合成通路。

LC3 参与自噬体的形成,在细胞自噬过程中发挥关键作用<sup>[23]</sup>。当发生自噬时,LC3-I 经过泛素化与自噬膜表面的磷脂酰乙醇胺结合形成 LC3-II,LC3-II 接着与自噬泡结合,定位于自噬体膜和自噬泡上,与自噬泡的数量成正比<sup>[24]</sup>。因此,LC3-II 可作为检测细胞自噬活性的特异性标志,当细胞发生自噬时 LC3-II 上调<sup>[25]</sup>。Soltani 等<sup>[26]</sup>研究发现睾丸扭转复位后 LC3-II 的表达上调,精子发生和甾体生

成的功能降低,而经过治疗后 LC3-II 的表达进一步增加,睾丸功能得到改善。本研究构建大鼠睾丸扭转复位模型,模型大鼠 LC3-II/I 水平明显升高,即自噬在睾丸扭转的病理条件下被激活。自噬激动剂 RAPA 组较 Model 组 LC3-II/I 水平进一步升高,而 3-MA 组较 Model 组 LC3-II/I 水平降低。此外,本研究又检测了自噬标志蛋白 Beclin-1 的表达,结果显示,模型大鼠睾丸组织中 Beclin-1 的表达上调,RAPA 处理能进一步上调 Beclin-1 的表达,而 3-MA 能抑制 Beclin-1 的表达。p62 作为自噬底物受体,其降解反映自噬溶酶体活性。本研究 Model 组 p62 降低提示自噬降解增强,RAPA 进一步加速自噬流,而 3-MA 抑制自噬导致 p62 堆积,证明了自噬在大鼠睾丸 I/R 过程中的存在。LC3-II/I 和 Beclin-1 的升高提示自噬可能通过清除受损线粒体减轻氧化应激。既往研究表明,睾丸 I/R 损伤中线粒体功能障碍是 ROS 的主要来源<sup>[27]</sup>,而自噬激活可靶向清除损伤线粒体<sup>[28]</sup>,间接抑制凋亡和炎症<sup>[29]</sup>。自噬与凋亡在 I/R 损伤中常存在动态平衡。尽管本研究未检测凋亡标志物(如 Cleaved Caspase-3),但 Model 组生精细胞脱落和 RAPA 组的保护作用提示,自噬可能通过抑制凋亡通路减轻损伤。未来需通过共调控实验(如自噬+凋亡双抑制剂)验证二者关系。

本研究对加入自噬抑制剂和激动剂的大鼠进一步实验观察,结果发现睾丸扭转复位模型大鼠睾丸组织发生损伤,生精细胞发生脱落、减少,而自噬激动剂 RAPA 干预后,大鼠睾丸组织损伤减轻,而自噬抑制剂 3-MA 干预后,大鼠睾丸组织损伤进一步加重,表明激活自噬可以减轻大鼠睾丸扭转复位过程的 I/R 损伤。

在生理上,男性生殖系统利用自噬来维持生殖细胞稳态,促进正常发育,并有助于精子发生<sup>[30]</sup>。因此,基础自噬被认为是精子发生的细胞保护机

制。这归因于自噬的动态性质,它使细胞能适应压力环境,同时保留生殖功能。多项研究已证实自噬参与精子发生的每个生理阶段和病理生理条件,对几种男性生殖疾病有影响,如少精子症、无精子症、弱精子症、畸形精子症和球形精子症<sup>[31]</sup>。由于自噬是人类精子中的一个活跃过程,因此它可能对精子质量和活力产生影响,从而可能影响其受精能力<sup>[32]</sup>。长期睾丸扭转和扭转的大鼠模型显示体细胞和生殖细胞的自噬指数明显增加<sup>[33]</sup>。自噬在精子发生过程中能调节雄性单倍体的圆度和精子细胞的伸长。自噬受损会导致各种精子缺陷,例如异常精子头、卷曲精子尾和精子聚集的形成<sup>[30]</sup>。本研究进一步检测了大鼠精子活力水平的变化,发现RAPA可以提高精子活动率,降低精子畸形率,而3-MA无明显变化,说明激活自噬可以减轻睾丸扭转复位引起的精子缺陷。

男性生殖系统的功能是产生雄激素,例如T、LH和FSH,以及增强精子发生并运输到女性生殖道进行受精。睾丸中发现的特殊功能细胞主要由支持细胞、间质细胞和不同发育阶段的生殖细胞组成。两种类型的睾丸体细胞以及生殖细胞都采用自噬作为维持细胞稳态的调节机制<sup>[34]</sup>。在睾丸组织的生理条件下,自噬的发生导致精子发生和类固醇生成过程的维持<sup>[35]</sup>。在睾丸扭转复位后,检测大鼠血清中T、LH、FSH的水平,发现相较于Model组,RAPA可以明显升高性激素的水平,而3-MA组性激素水平变化不明显,说明自噬激动剂RAPA可以提高睾丸扭转大鼠睾丸的内分泌功能。同时检测睾丸组织中炎性细胞因子IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6的水平,发现与Model组相比,RAPA可以明显降低睾丸组织中炎性细胞因子IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6的水平,而3-MA组IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6的水平无明显变化,提示激活自噬可以抑制睾丸扭转大鼠睾丸的炎症反应,对睾丸组织具有保护作用,可减少睾丸I/R损伤。

综上所述,睾丸扭转后自噬被激活,进一步激活自噬可改善睾丸I/R病理损伤,促进性激素的释放,抑制炎性细胞因子的表达,自噬具有保护睾丸扭转复位致大鼠睾丸I/R损伤的作用。

作者贡献度说明:

胡志:实验设计与操作、论文撰写;孙伟、陈一衍:数据整理、统计分析;张炜、徐律、褚浩:实验操作;付桥:研究指导、论文修改、经费支持。

所有作者声明不存在利益冲突关系。

## 参考文献

- Shunmugam M, Goldman RD. Testicular torsion in children[J]. Can Fam Physician, 2021, 67(9): 669-671.
- Almesned RK, Alseini DA, Bedaiwi KK. Testicular torsion as the initial presentation of testicular tuberculosis [J]. Urol Ann, 2022, 14(4): 392-394.
- 中华医学会男科学分会, 睾丸扭转诊断与治疗指南编写组. 睾丸扭转诊断与治疗指南[J]. 中华男科学杂志, 2022, 28(3): 252-261.  
Chinese Medical Association Andrology Branch, Guidelines for Diagnosis and Treatment of Testicular Torsion Writing Group. Guidelines for the diagnosis and treatment of testicular torsion[J]. Nat J Androl, 2022, 28(3): 252-261.
- Jacobsen FM, Rudlang TM, Fode M, et al. The impact of testicular torsion on testicular function[J]. World J Men Health, 2020, 38(3): 298-307.
- Gong Y, Zhu W, Li Y, et al. Dynamic regulation of proximal tubular autophagy from injury to repair after ischemic kidney damage[J]. Cell Mol Biol Lett, 2024, 29(1): 151.
- 饶江燕, 王倩, 王钰淳, 等.  $\beta$ -石竹烯通过激活自噬减轻小鼠脑缺血/再灌注损伤的研究[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(4): 932-936.  
Rao JY, Wang Q, Wang YC, et al.  $\beta$ -caryophyllene alleviates cerebral ischemia/ reperfusion injury in mice by activating autophagy[J]. Chin J Chin Mater Med, 2020, 45(4): 932-936.
- 胡志, 徐律, 孙伟, 等. 自噬在大鼠睾丸扭转致缺血再灌注损伤中的作用机制[J]. 海军军医大学学报, 2024, 45(1): 57-63.  
Hu Z, Xu L, Sun W, et al. Role of autophagy in ischemia/reperfusion injury caused by testicular torsion in rats [J]. Acad J Naval Med Univ, 2024, 45(1): 57-63.
- Sagir S, Seker U, Pekince Ozoner M, et al. Oxidative stress, apoptosis, inflammation, and proliferation modulator function of visnagin provide gonadoprotective activity in testicular ischemia-reperfusion injury [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2023, 27(20): 9968-9977.
- 李刚龙, 马洪, 林金凤, 等. 幼鼠睾丸扭转对成年期健侧睾丸及性激素影响[J]. 贵州医药, 2023, 47(1): 9-12.  
Li GL, Ma H, Lin JF, et al. Influences of unilateral spermatic cord torsion in sex immature on histological changes of contralateral testis in sex mature rats and the detection of sex hormones levels in serum [J]. Guizhou Med J, 2023, 47(1): 9-12.

- 10 Shahedi A, Talebi AR, Mirjalili A, et al. Protective effects of curcumin on chromatin quality, sperm parameters, and apoptosis following testicular torsion-detorsion in mice[J]. *Clin Exp Reprod Med*, 2021, 48(1): 27-33.
- 11 Santi D, Crépieux P, Reiter E, et al. Follicle-stimulating hormone (FSH) action on spermatogenesis: A focus on physiological and therapeutic roles[J]. *J Clin Med*, 2020, 9(4): 1014.
- 12 刘金尧, 何明, 王权胜, 等. 续断种子方对少精子症模型小鼠附睾结构改变的干预[J]. *海南医学院学报*, 2023, 29(14): 1069-1074.  
Liu JR, He M, Wang QS, et al. Intervention of Xuduan Zhongzi Formula on spermatogenesis epididymal morphological changes in a mice model of oligospermia [J]. *J Hainan Med Univ*, 2023, 29(14): 1069-1074.
- 13 刘子明, 黄定平, 朱文平, 等. 环孢素对大鼠睾丸缺血-再灌注损伤后生精细胞凋亡的影响[J]. *中国男科学杂志*, 2020, 34(1): 20-23, 58.  
Liu ZM, Huang DP, Zhu WP, et al. Effect of cyclosporine on spermatogenic cells apoptosis following testicular ischemia-reperfusion in rats[J]. *Chin J Androl*, 2020, 34(1): 20-23, 58.
- 14 Ghasemnejad-Berenji M, Ghazi-Khansari M, Pashapour S, et al. Synergistic effect of rapamycin and metformin against germ cell apoptosis and oxidative stress after testicular torsion/detorsion-induced ischemia/reperfusion in rats[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 105: 645-651.
- 15 Xu C, Yi X, Tang L, et al. Differential regulation of autophagy on urine-concentrating capability through modulating the renal AQP2 expression and renin-angiotensin system in mice[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2023, 325(4): F503-F518.
- 16 杨阳, 黄辉, 崔留欣, 等.  $\alpha$ -硫辛酸经氧化-内质网应激信号通路对氟中毒大鼠生殖损伤的保护作用[J]. *中华医学杂志*, 2020, 100(46): 3706-3711.  
Yang Y, Huang H, Cui LX, et al. The protective effects of  $\alpha$ -lipoic acid on fluoride-induced reproductive lesion in rats *via* oxidative stress-mediated endoplasmic reticulum stress[J]. *Nat Med J Chin*, 2020, 100(46): 3706-3711.
- 17 Kumar M, Gautam V. Testicular torsion[J]. *N Engl J Med*, 2021, 385(17): 1603.
- 18 Mordeniz C, Demirkapu MJ, Akgul HM, et al. The effects of fentanyl on testicular ischemia-peperfusion injury [J]. *Turk J Anaesthesiol Reanim*, 2021, 49(5): 373-378.
- 19 Alotaibi SR, Renno WM, Al-Maghrebi M. c-Jun N-terminal kinase supports autophagy in testicular ischemia but triggers apoptosis in ischemia-reperfusion injury [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(19): 10446.
- 20 Chien CT, Shyue SK, Lai MK. Bcl-xL augmentation potentially reduces ischemia/reperfusion induced proximal and distal tubular apoptosis and autophagy [J]. *Transplantation*, 2007, 84(9): 1183-1190.
- 21 Saitoh T, Fujita N, Jang MH, et al. Loss of the autophagy protein Atg16L1 enhances endotoxin-induced IL-1 $\beta$  production [J]. *Nature*, 2008, 456 (7219): 264-268.
- 22 Gao F, Li G, Liu C, et al. Autophagy regulates testosterone synthesis by facilitating cholesterol uptake in Leydig cells[J]. *J Cell Biol*, 2018, 217(6): 2103-2119.
- 23 孟鑫, 李颖, 张宇, 等. 补肾温阳化瘀方对肾阳虚血瘀型子宫内膜异位症 FoxO1 介导的细胞自噬水平的影响 [J]. *中国实验动物学报*, 2021, 29(4): 417-427.  
Meng X, Li Y, Zhang Y, et al. Effect of Bushen Wenyang Huayu Recipe on FoxO1-mediated autophagy in endometriosis associated with "kidney yang deficiency" and "blood stasis"[J]. *Acta Lab Ani Sci Sin*, 2021, 29(4): 417-427.
- 24 Dou C, Zhang Y, Zhang L, et al. Autophagy and autophagy-related molecules in neurodegenerative diseases[J]. *Animal Model Exp Med*, 2023, 6(1): 10-17.
- 25 Li Z, Wei Q, Li Y, et al. Dexmedetomidine regulates the anti-oxidation and autophagy of adipose-derived stromal cells under H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative stress through Nrf2/p62 pathway and improves the retention rate of autologous fat transplantation[J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1453938.
- 26 Soltani M, Rahmati M, Nikraves MR, et al. Autophagy comparative after decompression of tunica albuginea in testicular torsion in mature and immature rat[J]. *Surgery*, 2022, 172(1): 427-435.
- 27 Fadel F, Al-Kandari N, Khashab F, et al. JNK inhibition alleviates oxidative DNA damage, germ cell apoptosis, and mitochondrial dysfunction in testicular ischemia reperfusion injury[J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2020, 52(8): 891-900.
- 28 Narendra D, Tanaka A, Suen DF, et al. Parkin is recruited selectively to impaired mitochondria and promotes their autophagy [J]. *J Cell Biol*, 2008, 183(5): 795-803.
- 29 Nakahira K, Haspel JA, Rathinam VA, et al. Autophagy proteins regulate innate immune responses by inhibiting the release of mitochondrial DNA mediated by the NALP3 inflammasome[J]. *Nat Immunol*, 2011, 12(3): 222-230.
- 30 Kirat D, Alahwany AM, Arisha AH, et al. Role of macroautophagy in mammalian male reproductive physiology [J]. *Cells*, 2023, 12(9): 1322.

- 31 Samare-Najaf M, Neisy A, Samareh A, et al. The constructive and destructive impact of autophagy on both genders' reproducibility, a comprehensive review[J]. Autophagy, 2023, 19(12): 3033-3061.
- 32 Sadeghi N, Erfani-Majd N, Tavalae M, et al. Signs of ROS-associated autophagy in testis and sperm in a rat model of varicocele[J]. Oxid Med Cell Longev, 2020, 2020: 5140383.
- 33 Soltani M, Rahmati M, Nikravesht MR, et al. Evaluation of Sertoli cell autophagy associated with laminin, fibronectin, and caspase-3 proteins' alteration, following testicular torsion rat [J]. Andrologia, 2022, 54 (1) : e14272.
- 34 Huang Q, Liu Y, Zhang S, et al. Autophagy core protein ATG5 is required for elongating spermatid development, sperm individualization and normal fertility in male mice[J]. Autophagy, 2021, 17(7): 1753-1767.
- 35 Peters AE, Mihalas BP, Bromfield EG, et al. Autophagy in female fertility: A role in oxidative stress and aging [L]. Antioxid Redox Signal, 2020, 32(8): 550-568.

[本文编辑] 陈思润