

[文章编号] 1674-8115(2011)02-0173-04

· 论著 ·

睾丸扭转超声造影环状增强机制的实验研究

刘振华¹, 陈林², 詹维伟¹, 姚洁洁¹, 范文斌³, 陈曼¹, 周建桥¹, 朱樱¹, 吕琛¹

(1. 上海交通大学医学院附属瑞金医院超声科, 上海 200025; 2. 复旦大学华东医院超声科, 上海 200040; 3. 上海交通大学医学院附属瑞金医院泌尿外科, 上海 200025)

[摘要] 目的 探讨睾丸扭转超声造影环状增强的机制。方法 18只雄性新西兰家兔随机分为对照组、鞘膜外扭转组及鞘膜内扭转组($n=6$)，后两组分别于鞘膜层内及鞘膜层外注入适量耦合剂制作成不同的模型，均用超声造影进行观察。结果 鞘膜外扭转组和鞘膜内扭转组均显示环状增强，而对照组无环状增强；鞘膜内扭转组环状增强明显强于鞘膜外扭转组；鞘膜内扭转组的鞘膜层环状增强明显强于阴囊皮肤肌肉层；鞘膜外扭转组阴囊皮肤肌肉层显示较弱环状增强，而鞘膜层未见增强。结论 睾丸扭转超声造影环状增强主要来源于睾丸鞘膜层，少量来源于阴囊皮肤肌肉层；环状增强的强弱有助于鉴别鞘膜内或鞘膜外睾丸扭转。

[关键词] 睾丸扭转；超声检查；超声造影

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2011.02.012

[中图分类号] R816.7

[文献标志码] A

Mechanism of ring-enhancement by contrast-enhanced ultrasound in testicular torsion

LIU Zhen-hua¹, CHEN Lin², ZHAN Wei-wei¹, YAO Jie-jie¹, RUI Wen-bin³, CHEN Man¹, ZHOU Jian-qiao¹, ZHU Ying¹, LV Chen¹

(1. Department of Ultrasonography, Ruijin Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200025, China; 2. Department of Ultrasonography, Huadong Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China; 3. Department of Urology, Ruijin Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200025, China)

[Abstract] Objective To explore the mechanisms of ring-enhancement by contrast-enhanced ultrasound in testicular torsion. Methods Eighteen rabbits were randomly divided into control group, intravaginal testicular torsion group and extravaginal testicular torsion group ($n=6$). Appropriate amount of ultrasonic couplants were injected within or outside tunica vaginalis in intravaginal testicular torsion group and extravaginal testicular torsion group, and contrast-enhanced ultrasound was performed. Results Ring-enhancement was found in intravaginal testicular torsion group and extravaginal testicular torsion group, while no ring-enhancement was found in control group. Ring-enhancement in intravaginal testicular torsion group was significantly stronger than that in extravaginal testicular torsion group. In intravaginal testicular torsion group, tunica vaginalis was more strongly enhanced than scrotal sac and muscles. In extravaginal testicular torsion group, scrotal sac and muscles were slightly enhanced, while tunica vaginalis was not enhanced. Conclusion Ring-enhancement by contrast-enhanced ultrasound in testicular torsion mainly comes from tunica vaginalis and partly from scrotal sac and muscles, and the extent of ring-enhancement may help in the differential diagnosis of intravaginal testicular torsion and extravaginal testicular torsion.

[Key words] testicular torsion; ultrasonography; contrast-enhanced ultrasound

睾丸扭转是阴囊急症之一,因该病不但能引起扭转睾丸的永久性缺血坏死,并能导致患者生育能力下降或不育,因而多数学者认为早期诊断是其治疗的关键。研究^[1]表明,彩色多普勒超声是诊断睾

丸扭转的首选方法。目前超声造影因其对血流的敏感性明显提高,而显示出早期诊断睾丸扭转的优越价值。笔者在临床实践中发现超声造影检查睾丸扭转时,扭转睾丸周边显示出环状增强,本研究旨在对

[基金项目] 上海市科委基金(09411963400)(Shanghai Science and Technology Committee Foundation, 09411963400)。

[作者简介] 刘振华(1984—),男,住院医师,硕士;电子信箱:zhenhua_liu@163.com。

[通信作者] 詹维伟,电子信箱:shanghairuijin@126.com。

这一环状增强现象的机制进行初步探讨。

1 材料与方法

1.1 动物

选用 18 只普通级新西兰雄性家兔, 体质量 $(2.95 \pm 0.21) \text{ kg}$, 由上海宝牧实验动物养饲场提供。动物生产许可证号: SCXK(沪)2004-0007, 使用许可证号: SYXK(沪)2003-0025。标准饮食, 自由饮水, 不锈钢笼饲养, 保持室温 $22^{\circ}\text{C} \sim 24^{\circ}\text{C}$ 。所有动物在实验前均让其适应实验室环境 2 周, 所有实验遵循上海交通大学医学院动物实验伦理委员会的许可及实验动物管理和使用指南。

1.2 仪器和造影剂

ESAOTE MyLab 30 彩色多普勒超声仪, 使用 LA 532E 线阵超声造影探头, 发射和接收中心频率 7.5 MHz。机械指数(machine index, MI) 0.09。造影剂使用 SonoVue(Bracco), 使用时加入 5 mL 生理盐水, 振摇后形成微泡悬液。每次剂量为 0.1 mL/kg, 通过兔耳缘静脉团注法快速注射, 随后注入 1 mL 生理盐水。

1.3 分组

按实验需要随机分为对照组、鞘膜内扭转组和鞘膜外扭转组($n=6$)。用“速眠新 II”(长春军事医学科学院军事兽医研究所研制, 批号为吉牧防便字[1990]47号)肌肉注射麻醉实验兔, 剂量为 0.2 mL/kg; 手术过程中可适量追加麻醉剂, 总剂量不超过 1.0 mL。

I 组(对照组): 动物麻醉后取仰卧位, 充分暴露会阴部, 于一侧腹股沟处切开皮肤及皮下组织, 游离暴露鞘膜层并切开, 游离暴露精索即还纳, 而不进行扭转, 逐层缝合。

II 组(鞘膜内扭转组): 与 I 组同样方法游离暴露鞘膜层并切开, 游离暴露精索并使睾丸绕精索向

内侧扭转睾丸一定程度($720^{\circ} \sim 1800^{\circ}$), 以彩色多普勒显示无血流信号为标准, 缝线固定肉膜、白膜, 防止扭转睾丸自发复位。其中 3 例直接行逐层缝合(IIa 组), 另 3 例(IIb 组)于鞘膜层与睾丸之间及鞘膜层与阴囊皮肤肌肉层之间用注射器注入适量耦合剂后逐层缝合。

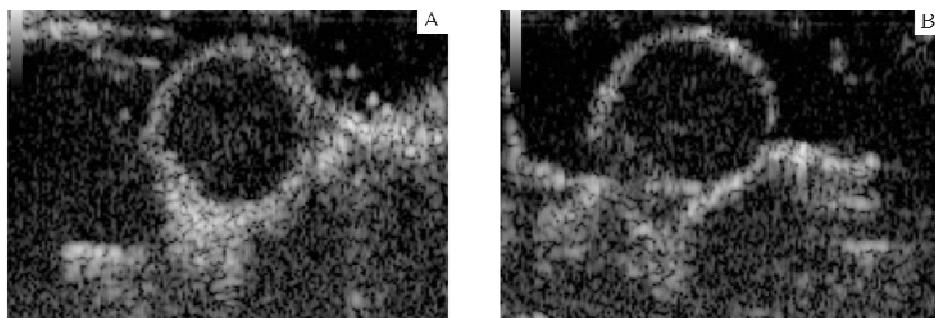
III 组(鞘膜外扭转组): 与 I 组同样方法游离暴露鞘膜层, 其中 3 例(IIIa 组)不切开鞘膜层而直接使睾丸连同鞘膜绕精索向内侧扭转一定程度($720^{\circ} \sim 1800^{\circ}$), 以彩色多普勒显示无血流信号为标准, 缝线固定肉膜、白膜, 防止扭转睾丸自发复位, 逐层缝合。另 3 例(IIIb 组)在 IIIa 组基础上, 于鞘膜层与睾丸之间及鞘膜层与阴囊皮肤肌肉层之间用注射器注入适量耦合剂后逐层缝合。

1.4 超声造影

兔耳缘静脉团注法快速注射 SonoVue 混悬液, 剂量均为 0.1 mL/kg , 继之 1.0 mL 生理盐水冲注。扭转组和对照组均于扭转前和扭转后即刻、2 h 及 24 h 对患侧睾丸各进行一次实时超声造影。每次超声造影均取阴囊横切面, 以患侧睾丸显示最大横断图像为准, 在注入 SonoVue 后连续观察 $2 \sim 3 \text{ min}$ 。观察睾丸内灌注特征及睾丸周边组织灌注情况。

2 结果

I 组超声造影检查假手术前后睾丸均表现为完全灌注, 无睾丸周边环状增强超声造影表现; IIa 组与 IIIa 组中超声造影检查扭转前睾丸表现为完全灌注, 无睾丸周边环状增强超声造影表现, 而扭转后超声造影显示 IIa 组中 1 例表现为睾丸内部呈部分灌注而周边呈环状增强, 其余 2 例均表现为睾丸内部呈无灌注而周边呈明显环状增强(图 1A); 扭转后超声造影显示 IIIa 组表现为睾丸内部呈无灌注而周边呈环状增强但其强度明显弱于 IIa 组(图 1B)。



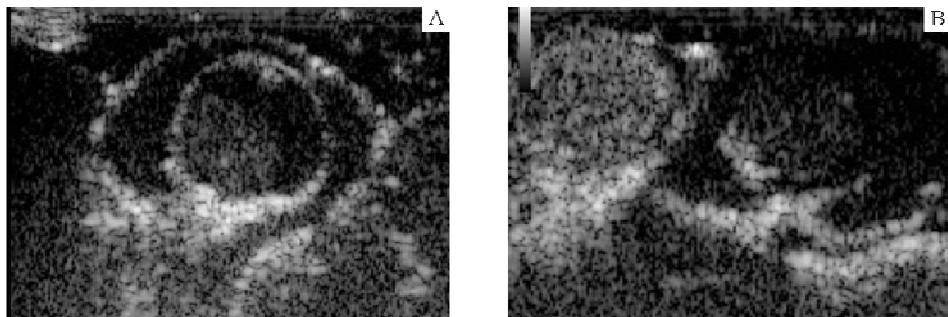
A. 鞘膜内睾丸扭转超声造影; B. 鞘膜外睾丸扭转超声造影。

图 1 鞘膜内、外睾丸扭转超声造影

Fig 1 Contrast-enhanced ultrasound of intravaginal and extravaginal testicular torsion

Ⅱb 组中, 鞘膜层与睾丸实质被耦合剂所分隔, 同时鞘膜层与阴囊皮肤肌肉层也被耦合剂所分隔, 超声造影显示睾丸内部呈无灌注, 睾丸包膜无造影剂显影, 鞘膜层呈环状增强, 同时阴囊皮肤层也略呈环状增强, 其强度弱于鞘膜层(图 2A)。Ⅲb 组中, 鞘

膜层与睾丸实质被耦合剂所分隔, 同时鞘膜层与阴囊皮肤肌肉层也被耦合剂所分隔, 超声造影显示睾丸内部呈无灌注, 睾丸包膜无造影剂显影, 鞘膜层亦无造影剂显影, 但阴囊皮肤层呈较弱环状增强(图 2B)。



A. 鞘膜内睾丸扭转耦合剂填充后超声造影; B. 鞘膜外睾丸扭转耦合剂填充后超声造影。

图 2 鞘膜内、外睾丸扭转耦合剂填充后超声造影

Fig 2 Contrast-enhanced ultrasound of intravaginal and extravaginal testicular torsion with ultrasonic couplants

3 讨 论

睾丸扭转是最为危急的阴囊急症, 辅助检查在睾丸扭转的诊断中具有重要价值^[2]。在彩色多普勒超声广泛应用于阴囊之前, 核素显像是诊断睾丸扭转最常用的手段, 扭转睾丸周围放射性分布增高形成的晕圈征(ring sign)是睾丸扭转核素显像的重要表现之一^[3-4]。在彩色多普勒超声成像研究中, 也可在睾丸的周围发现高血供区^[5-6]。超声造影对血流显像具有高度敏感性, 在临床工作中, 我们对睾丸扭转变形进行超声造影检查时发现扭转睾丸内部呈无灌注或灌注缺损而周边呈环状增强。本实验旨在对这一环状增强现象的机制进行初步探讨。

国内洪志华等^[7]将睾丸扭转的彩色多普勒表现分为缺血型、少血供型和血供环绕型。研究者认为血供环绕型见于一些亚急性扭转病例, 表现为睾丸周边可见血流信号, 呈“彩色晕环”状。其实这一分类方法并不准确, 本研究发现 12 例扭转的睾丸在行超声造影检查时均出现周边环状增强。这可能是因为彩色多普勒对血流的敏感性有限, 而超声造影更能反应微循环血流的改变, 对睾丸血流的检测更敏感。本实验对照组超声造影未见环状增强表现, 也说明单纯手术而不进行睾丸扭转不会导致睾丸周边血流增加。超声造影环状增强现象与 Yamaguchi 等^[8]的发现相符, 他们运用第一代超声造影剂 Levovist 对 1 例睾丸扭转患者行超声造影检查发现扭转睾丸内部为微量灌注而睾丸周边呈环状灌注增强。

人类阴囊壁的层次从外向内依次包括皮肤、肉

膜、精索外筋膜、提睾肌、精索内筋膜和睾丸鞘膜。对于出现晕圈征的解释, 目前普遍认为由于睾丸扭转引起炎性充血反应所致^[3,9-10]; 充血的具体位置有学者^[11]认为是在阴囊壁的肉膜层。但这一解释是建立在核素显像的基础上的, 由于核素显像的空间分辨率非常有限, 所以认为充血反应发生在肉膜层缺乏充分的依据。有学者^[12-13]用彩色多普勒检查也发现了相似的环状血流, 并认为这些血流信号来自于阴囊壁和睾丸表面间侧支循环。也有学者^[14-15]提出此是提睾肌动脉的侧支循环形成, 并得到了手术证实。

阴囊壁的血供来源比较复杂, 分别来自髂内动脉的阴部内动脉分支、股动脉的阴部外动脉分支及腹壁下动脉的提睾肌分支^[16]。来自阴部动脉的分支其行走在精索内筋膜内, 深入至提睾肌, 发出分支供应阴囊浅部皮肤^[17]。提睾肌动脉源于腹壁下动脉, 供应提睾肌和睾丸鞘膜层, 和睾丸动脉、输精管动脉的毛细血管网吻合^[18-20]。根据这些解剖基础, 可知阴囊壁的鞘膜层血供主要来源于提睾肌动脉, 精索内筋膜、提睾肌的血供来源主要是提睾肌动脉和阴部动脉的分支, 精索外筋膜、肉膜和皮肤的血供来源主要是阴部动脉的分支。

提睾肌动脉走行于精索的精索外筋膜层内, 故又名精索外动脉, 这与睾丸动脉及输精管动脉走行于精索内筋膜内不同。鞘膜内睾丸扭转时, 扭转的结构不包括鞘膜^[21], 提睾肌动脉的主干及其供应阴囊壁的分支也因此不会发生闭塞, 供应阴囊壁的阴部内动脉和阴部外动脉的分支也不会发生闭塞。这

就可以解释,扭转侧阴囊壁的鞘膜层及其以外的各层不出现灌注消失情况。

本实验通过外科手术只能做到分离鞘膜层与睾丸实质以及鞘膜层与其余阴囊皮肤肌肉层,并分别注入适量耦合剂,观察证实了鞘膜内扭转时晕圈征发生的主要部位是鞘膜层,同时邻近鞘膜壁层外的其他解剖层次也参与晕圈的构成。本实验表明,在睾丸鞘膜内扭转的早期鞘膜层及鞘膜壁层外其余各层就出现血流增加,从解剖上来说其血供主要来自于提睾肌动脉^[22],说明提睾肌动脉分支的反应性充血是鞘膜内睾丸扭转出现晕圈征的主要原因,推测在长时间睾丸鞘膜内扭转时出现的提睾肌动脉侧支循环形成也与此有关。其次阴部内动脉和阴部外动脉的分支反应性充血可能也参与晕圈的构成。同时,本实验还发现在鞘膜外扭转时鞘膜层无造影剂显影,而鞘膜壁层外各层仍有少量灌注增强,说明鞘膜外扭转时,鞘膜壁层血供同时受阻导致缺血,鞘膜壁层外各层仍有灌注但其环状增强的程度明显减弱。

因此,晕圈征出现的主要解剖位置应是鞘膜壁层,其次是鞘膜壁层外的其他解剖层次。由于动物实验无法将鞘膜壁层外其余各层做进一步分离,无法进一步判断其余各层更精细的灌注情况;其机制主要与提睾肌动脉反应性充血及侧支循环形成有关。

此外,我们发现1例睾丸扭转后表现为部分灌注,考虑为不完全扭转所致,但扭转睾丸周边也出现环状增强超声造影表现。推测环状增强超声造影表现也适用于不完全睾丸扭转的诊断,可以弥补目前彩色多普勒的不足,因不完全扭转时彩色多普勒检查睾丸内部仍可见血流信号而容易引起误诊。可见超声造影时睾丸周边环状增强灌注模式这一特征性表现为睾丸扭转的诊断尤其是不完全睾丸扭转的诊断提供了新的依据。

睾丸扭转的发生与解剖异常有关,可以分为睾丸鞘膜内扭转及鞘膜外扭转。其中鞘膜内扭转常见于青少年,这一型中最常见的解剖异常是从精索至睾丸鞘膜附着较少,这是由于鞘膜壁层在精索上止点过高引起的,将导致睾丸活动度增加,形如“钟铃”样畸形(bell clapper anomaly);而鞘膜外扭转常见于产前或新生儿期,因为整个睾丸附睾鞘膜沿精索纵轴扭转故称鞘膜外扭转,由鞘膜与阴囊附着较松弛引起;目前仍无法在术前将两者鉴别出来。本实验分别通过在鞘膜内及鞘膜外注入适量耦合剂发现鞘

膜内扭转组中,鞘膜壁层超声造影环状增强明显强于阴囊皮肤肌肉层,说明环状增强主要来源于鞘膜壁层,而少量来源于阴囊皮肤肌肉层。鞘膜外扭转组中,鞘膜层无造影剂进入而无环状增强表现,仅表现为阴囊皮肤肌肉层少量环状增强从而导致晕环强度减弱,使得鞘膜内扭转组的晕环要强于鞘膜外扭转组;这一表现有助于鞘膜内或鞘膜外扭转的鉴别。

睾丸扭转超声造影环状增强晕圈征是完全性及不完全性睾丸扭转超声造影特征之一。晕圈征主要来源于睾丸鞘膜层,少量来源于阴囊皮肤肌肉层,其机制可能为提睾肌动脉反应性充血及侧支循环形成;晕圈的强弱有助于鉴别鞘膜内或鞘膜外睾丸扭转。

[参考文献]

- [1] Heyns CF, Visser AJ. Testicular Torsion [M]//Schill WB, Comhaire F, Hargreave TB. Andrology for the Clinician. New York: Springer, 2006; 134–161.
- [2] Konez O. The ring sign[J]. Radiology, 1998, 207(2): 439–441.
- [3] Datta NS, Mishkin FS. Radionuclide imaging in intrascrotal lesions [J]. JAMA, 1975, 231(10): 1060–1062.
- [4] Lerner RM, Mevorach RA, Hulbert WC, et al. Color Doppler US in the evaluation of acute scrotal disease[J]. Radiology, 1990, 176(2): 355–8.
- [5] Waldert M, Klatte T, Schmidbauer J, et al. Color Doppler sonography reliably identifies testicular torsion in boys[J]. Urology, 2009, 75(5): 1170–1174.
- [6] Burks DD, Markey BJ, Burkhard TK, et al. Suspected testicular torsion and ischemia: evaluation with color Doppler sonography[J]. Radiology, 1990, 175: 815–821.
- [7] 洪志华,周云. 睾丸扭转的诊治进展[J]. 实用全科医学,2006,4(1): 86–87.
- [8] Yamaguchi A, Hayashi Y, Kojima Y, et al. Testicular torsion: usefulness of contrast-enhanced power Doppler sonography[J]. Int J Urol, 2005, 12(9): 849–851.
- [9] Dunn EK, Macchia RJ, Solomon NA. Scintigraphic pattern in missed testicular torsion[J]. Radiology, 1981, 139(1): 175–180.
- [10] Vieras F, Kuhn CR. Nonspecificity of the “rim sign” in the scintigraphic diagnosis of missed testicular torsion[J]. Radiology, 1983, 146(2): 519–522.
- [11] Chen DG, Holder LE, Melloul M. Radionuclide scrotal imaging: further experience with 210 new patients[J]. J Nucl Med, 1983, 24(9): 841–853.
- [12] 海姣,顾勇主,张立,等. 彩色多普勒超声对睾丸扭转的诊断价值[J]. 复旦学报: 医学版, 2002, 29(3): 223–224.
- [13] 蒋天安,赵君康. 彩色多普勒超声在睾丸扭转外科诊治中的应用[J]. 中国医学影像学杂志, 2000, 8(4): 277–278.

(下转第181页)

为基因调控的研究和基因治疗的发展带来了新的视角^[2]。

本实验成功构建了 NELL2 基因的 miRNA 表达质粒, 体外实验结果证明 NELL2 基因的 miRNA 表达质粒对靶基因具有特异性的抑制作用, 且 p-NELL2-miRNA1 的干扰作用最强; 为大鼠体内应用 miRNA 靶向抑制 NELL2 基因, 研究其对性发育启动的影响机制以及应用 miRNA 靶向 NELL2 的性早熟基因治疗的可行性等奠定了实验基础。

致谢: 衷心感谢上海交通大学医学遗传研究所对本研究给予的支持以及徐森和蔡勤老师对本实验的悉心指导。

[参考文献]

- [1] Kimura H, Kawasaki H, Taira K. Mouse microRNA-23b regulates expression of Hes1 gene in P19 cells[J]. Nucleic Acids Symp Ser (Oxf), 2004, 48 (1): 213–214.
- [2] Watanabe TK, Katagiri T, Suzuki M, et al. Cloning and characterization of two novel human cDNAs (NELL1 and NELL2) encoding proteins with six EGF-like repeats[J]. Genomics, 1996, 38 (3): 273–276.
- [3] Aihara K, Kuroda S, Kanayama N, et al. Neuron-specific EGF family protein, NELL2, promotes survival of neurons through mitogen-activated protein kinases[J]. Brain Res Mol Brain Res, 2003, 116 (1–2): 86–89.
- [4] Ha CM, Choi J, Choi EJ, et al. NELL2, a neuron-specific EGF-like protein, is selectively expressed in glutamatergic neurons and contributes to the glutamatergic control of GnRH neurons at puberty [J]. Neuroendocrinology, 2008, 88 (3): 199–211.
- [5] Nelson BR, Matsuhashi S, Lefort F. Restricted neural epidermal growth factor-like like 2 (NELL2) expression during muscle and neuronal differentiation[J]. Mech Dev, 2002, 119 (Suppl 1): S11–S19.
- [6] Nelson BR, Claes K, Todd V, et al. NELL2 promotes motor and sensory neuron differentiation and stimulates mitogenesis in DRG *in vivo*[J]. Dev Biol, 2004, 270 (2): 322–335.
- [7] Kuroda S, Tanizawa K. Involvement of epidermal growth factor-like domain of NELL proteins in the novel protein-protein interaction with protein kinase C[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1999, 265 (3): 752–757.
- [8] Kim H, Ha CM, Choi J, et al. Ontogeny and the possible function of a novel epidermal growth factor-like repeat domain-containing protein, NELL2, in the rat brain[J]. Neurochem, 2002, 83 (6): 1389–1400.
- [9] Ojeda SR, Terasawa E. Neuroendocrine regulation of puberty[M]. New York: Elsevier, 2002: 589–659.
- [10] Ross JS, Carlson JA, Brock G. miRNA: the new gene silencer[J]. Am J Clin Pathol, 2007, 128 (5): 830–836.

[收稿日期] 2010-09-07

[本文编辑] 王淑平

(上接第 176 页)

- [14] Gunther P, Schenk JP, Wunsch R, et al. Acute testicular torsion in children: the role of sonography in the diagnostic workup[J]. Eur Radiol, 2006, 16: 2527–2532.
- [15] 黄道中, 张青萍, 乐桂蓉, 等. 高频及彩色多普勒血流显像对睾丸及附睾疾病鉴别诊断的价值[J]. 华中科技大学学报: 医学版, 2002, 31 (1): 86–88.
- [16] Tortora GJ. Principles of human anatomy[M]. 8th ed. California: Benjamin/Cummings, 1999: 770–805.
- [17] Angspatt A, Pungrasmee P, Jindarak S, et al. Bilateral scrotal flap: pedicle and dimension of flap in cadaveric dissections[J]. J Med Assoc Thai, 2009, 92 (10): 1313–1317.
- [18] Kim ED, Lipshultz LI, Howards SS. Male infertility [M]//

Gillenwater JY, Grayhack JT, Howards SS, et al. Adult and pediatric urology. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002: 1683–1757.

- [19] Mostafa T, Labib I, El-Khayat Y, et al. Human testicular arterial supply: gross anatomy, corrosion cast, and radiologic study[J]. Fertil Steril, 2008, 90 (6): 2226–2230.
- [20] 朱发亮, 杨少华. 睾丸鞘膜血管的显微外科解剖学[J]. 临床应用解剖学杂志, 1983, 1 (2): 95–96.
- [21] Callewaert PR, Van Kerrebroeck P. New insights into perinatal testicular torsion[J]. Eur J Pediatr, 2010, 169 (6): 705–712.
- [22] Sidhu PS. Clinical and imaging features of testicular torsion: role of ultrasound[J]. Clin Radiol, 1999, 54 (6): 343–352.

[收稿日期] 2010-07-06

[本文编辑] 张哲康