

复方玄驹胶囊对不育症大鼠精子质量及生殖激素的影响*

吴国琳¹ 李天一^{2△} 余国友¹ 卢雯雯¹

1 浙江大学医学院附属第一医院, 浙江 杭州 310003; 2 浙江中医药大学

[摘要] 目的: 研究中药复方玄驹胶囊对不育症大鼠精子质量、生殖激素和一氧化氮(NO)、一氧化氮合酶(NOS)的影响。方法: 将50只Wistar雄性大鼠随机分为正常组、模型组(雷公藤多甙造模)、复方玄驹胶囊高、低剂量组和阳性对照组5组, 每组10只。正常组、模型组每日予生理盐水灌胃, 阳性对照组用枸橼酸氯米芬胶囊, 复方玄驹胶囊高、低剂量组分别予相应剂量复方玄驹胶囊灌胃, 连续喂养30天后处死大鼠, 检测精子质量、血清生殖激素和NO、NOS含量。结果: 模型组大鼠精子密度、精子活率及活动度均低于其他各组($P < 0.05$), 而畸形率高于各组($P < 0.05$); 阳性对照组畸形率和正常组相比有统计学差异($P < 0.05$)。模型组血清NO、NOS含量均高于其他各组($P < 0.05$); 阳性对照组血清NO高于复方玄驹高剂量组($P < 0.05$); 阳性对照组血清NOS高于正常组($P < 0.05$)。模型组大鼠血清T、FSH低于其他各组($P < 0.05$)。模型组LH与正常组和高剂量组相比有统计学差异($P < 0.05$)。结论: 复方玄驹胶囊能够改善不育症大鼠精子质量, 调节生殖激素, 提高大鼠精子活动度, 减少精子畸形率, 从而提高生育能力。

[关键词] 不育症; 精子质量; 生殖激素; 一氧化氮; 复方玄驹胶囊

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1004-6852(2013)02-0012-03

Clinical Effects of *FuFang XuanJu* Capsule on Quality of Sperm and Reproductive Hormone in Rats with Infertility

WU Guolin¹, LI Tianyi^{2△}, YU Guoyou¹, LU Wenwen¹

1 The First Affiliated Hospital of Medical School of Zhejiang University, Hangzhou 310003, China;

2 Zhejiang Chinese Medical University

Abstract Objective: To study the effects of *FuFang XuanJu* capsule on sperm quality, reproductive hormone, nitric oxide (NO) and nitric oxide synthase (NOS) in rats with infertility. Method: Fifty rats were separated into normal group, model group (established with tripterygium wilfordii), high and low dose groups of *FuFang XuanJu* capsule and positive control group, ten rats each group. Normal group and model group received lavage of physiological saline, positive control group took clomiphene citrate capsules, high and low dose groups of *FuFang XuanJu* capsule received lavage with corresponding dosage. Rats were sacrificed after feeding 30 days continuously. Sperm quality, reproductive hormone in the serum, contents of NO and NOS were detected. Result: Model group were lower than other groups in sperm density, viability and motility ($P < 0.05$), while malformation rate higher than that of other groups ($P < 0.05$); comparison between positive control group and normal group showed significant difference in malformation rate ($P < 0.05$). Contents of NO and NOS in model group were higher than that of other groups ($P < 0.05$); NO in the serum of positive control group was higher than that of high dosage group of *FuFang XuanJu* capsule ($P < 0.05$); positive control group was higher than normal group in serum NOS ($P < 0.05$). Model group was lower than other groups in serum T, FSH ($P < 0.05$). The comparisons among model group, normal group and high dose group showed significant difference in LH ($P < 0.05$). Conclusion: *FuFang XuanJu* capsule could improve sperm quality, regulate reproductive hormone, increase sperm motility and reduce deformity rate of sperm in rats with infertility to raise reproductive ability.

Keywords infertility; sperm quality; reproductive hormone; nitric oxide (NO); *FuFang XuanJu* capsule

不育症是当今人类生殖健康关注和研究的难题和热点之一, 而男性不育患者中有多数患者因少、弱精子症所致, 由于环境和社会心理等因素的影响, 其发病率呈不断上升趋势, 在临床上引起越来越多的关注, 但仍缺乏有效治疗药物¹。中药复方玄驹胶囊在治疗不育症及改善精子质量方面有较好疗效²。本研究用复方玄驹胶囊对不育症模

型大鼠进行干预, 研究其对大鼠精子质量、血清性激素及一氧化氮(NO)、一氧化氮合酶(NOS)含量的影响, 并探讨其可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物 Wistar 雄性大鼠 50 只, 5 月龄, 清洁级, 体质量(300±20)g, 由浙江中医药大学实验动物中心提供, 动物合格证号: 20101026。

1.2 动物造模 随机选40只大鼠采用雷公藤多甙(TWP,黄石飞云制药有限公司生产,批号:111001,规格:10mg/片)灌胃造模,每只每天灌胃25mg/(kg·d)。另外10只做为正常组。

1.3 分组与给药 将40只已造模大鼠随机分为模型组,复方玄驹胶囊(杭州施强药业集团有限公司生产,批号20101110,规格:0.42g/粒)高、低剂量组和枸橼酸氯米芬胶囊(上海衡山药业有限公司生产,批号20110049,规格:50mg/粒)阳性对照组4组,每组10只。正常组、模型组灌胃等量的生理盐水,阳性对照组用枸橼酸氯米芬胶囊2.6mg/(kg·d),复方玄驹胶囊高、低剂量组分别按0.8g/(kg·d)、0.4g/(kg·d)灌胃,1次/d,连续30天。

1.4 检测指标及方法

1.4.1 实验大鼠精子质量检测 实验大鼠处死后,抽取静脉血液,并立即剖腹取出睾丸、附睾,剔除脂肪和结缔组织,睾丸固定于固定液中,取附睾

头部组织适量,每次尽可能使其大小一致,置3mL 37℃生理盐水中,剪碎,温浴15分钟,得精子悬液,采用自动精子分析仪检测精子质量,包括精子密度、精子活率、畸形率、精子活动度(即活动度A、B级,A级为快速前向运动精子率,B级为慢速前向运动精子率)。

1.4.2 血清NO和NOS检测 采用硝酸还原法测定NO含量和NOS活性。NO、NOS测定试剂盒为南京建成生物工程研究所产品。

1.4.3 血清生殖激素检测 用放射免疫法分别检测各组大鼠血清睾酮(T)、促卵泡刺激素(FSH)、黄体生成素(LH)。

1.5 统计学方法 应用SPSS 13.0统计软件进行统计分析,计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,组间均数比较采用方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠精子质量比较 各组大鼠精子质量比较,见表1。

表1 各组大鼠附睾精子密度、活率、畸形率及活动度比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	精子密度 $\times 10^6/\text{mL}$	精子活率/%	畸形率/%	活动度A级/%	活动度B级/%
正常组	10	57.84 \pm 13.42 [*]	71.36 \pm 10.48 [*]	6.73 \pm 2.28 [*]	27.36 \pm 10.21 [*]	35.25 \pm 11.68 [*]
模型组	10	33.60 \pm 9.69	39.65 \pm 11.17	25.63 \pm 7.35	3.67 \pm 1.06	19.45 \pm 7.43
低剂量组	10	49.26 \pm 9.74	50.38 \pm 11.63 [*]	11.36 \pm 5.27 [*]	19.78 \pm 6.23 [*]	26.81 \pm 8.35 [△]
高剂量组	10	51.19 \pm 10.19 [*]	63.49 \pm 10.21 [*]	8.93 \pm 2.15 [*]	22.39 \pm 6.58 [*]	30.37 \pm 7.19 [*]
阳性对照组	10	50.72 \pm 10.36 [*]	58.84 \pm 10.68 [*]	12.12 \pm 7.58 [△]	18.74 \pm 5.37 [*]	25.97 \pm 8.28 [△]

注: *表示与模型组相比 $P < 0.05$; △表示与正常组相比 $P < 0.05$ 。

由表1看出,模型组大鼠精子密度、精子活率及活动度均低于其他各组,有统计学差异($P < 0.05$),而畸形率高于各组($P < 0.05$);高剂量组各项指标优于阳性对照组,但无统计学意义($P > 0.05$);阳性对照组畸形率和正常组相比有显著性差异。复方玄驹低剂量组、阳性对照组B级活动度低于正常组,2组相比有统计学差异($P < 0.05$)。

2.2 血清NO和NOS比较 各组大鼠血清NO和NOS比较,见表2。

表2 各组大鼠血清NO和NOS含量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	NO/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	NOS/ ($\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$)
正常组	10	42.13 \pm 9.32 [*]	16.39 \pm 6.56 [*]
模型组	10	75.38 \pm 11.24	34.54 \pm 7.27
低剂量组	10	48.26 \pm 9.74 [*]	22.83 \pm 8.45 [*]
高剂量组	10	40.16 \pm 8.78 [*]	19.12 \pm 7.34 [*]
阳性对照组	10	50.72 \pm 8.36 [*]	25.34 \pm 9.38 [△]

注: *表示与模型组相比 $P < 0.05$; △表示与空白组相比 $P < 0.05$; *表示与高剂量组相比 $P < 0.05$ 。

从表2看出,模型组血清NO、NOS含量均高于

其他各组,有统计学差异($P < 0.05$);阳性对照组血清NO高于复方玄驹高剂量组,有统计学差异($P < 0.05$);阳性对照组血清NOS高于正常组,有统计学差异($P < 0.05$)。

2.3 大鼠血清生殖激素含量比较 各组大鼠血清生殖激素含量比较,见表3。

表3 各组大鼠血清T、FSH、LH含量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	T/ ($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)	FSH/ ($\text{mIU} \cdot \text{mL}^{-1}$)	LH/ ($\text{mIU} \cdot \text{mL}^{-1}$)
正常组	10	2.85 \pm 1.14 [*]	20.62 \pm 6.15 [*]	6.67 \pm 0.84 [*]
模型组	10	0.85 \pm 0.36	4.84 \pm 1.05	21.76 \pm 2.37
低剂量组	10	2.06 \pm 0.74 [*]	15.36 \pm 5.27 [*]	13.47 \pm 3.15
高剂量组	10	2.57 \pm 0.59 [*]	18.33 \pm 4.35 [*]	8.74 \pm 1.07 [*]
阳性对照组	10	2.12 \pm 0.66 [*]	13.42 \pm 5.68 [*]	12.38 \pm 2.18

注: *表示与模型组相比 $P < 0.05$ 。

从表3看出,模型组大鼠血清T、FSH低于其他各组,差异有统计学意义($P < 0.05$);模型组LH高于其他组,与正常组和高剂量组相比有统计学差异($P < 0.05$)。

3 讨论

在与男性生育能力相关的精液指标中,精子密度和活动力极为重要,是决定男性生育力的主要因素。而评价精子功能的指标主要有精子密度、精子运动能力、精子形态等,这些指标与精子的受精能力密切相关。精子的功能状况和结构变化,可通过精子运动的改变来加以体现,因此,精子的运动特性是反映精子质量的综合、直观指标^[3]。实验发现,模型组大鼠精子密度、精子活率及活动度均低于其他各组,畸形率高于各组,表明雷公藤总甙造模成功。

众所周知,血清生殖激素水平与精子的发生密切相关。研究表明,FSH、LH不仅对女性的性腺功能有促进作用,也是雄性性腺(睾丸)生精过程中所需的雄激素产生的必不可少的调节因素^[4]。FSH具有促进精子成熟的作用,睾酮是由睾丸间质细胞产生的雄激素,它和FSH一起促进睾丸曲精管的生长发育,促进精子的发生和成熟。研究发现^[5]NO在男性生殖系统功能的调节方面具有重要作用,NO在低浓度时显著促进精子运动,中等浓度时影响甚微,而高浓度时则明显抑制精子的运动。目前研究^[6]显示NO对精子凋亡率的影响有双重效应,既有提高精子活动度的正面生理效应,又有抑制精子活动度的不良作用,这种双重作用的表现程度主要由精液中NO的浓度所决定^[7]。NO的产生离不开NOS,NOS的活性直接影响NO的生成,由于NO半衰期极短,因此主要通过测定NOS活性来认识它。本研究发现,模型组大鼠血清T、FSH低于其他各组,而LH高于其他各组,表明不育症大鼠可能存在生殖激素的异常,从而影响精子的生成和质量。而模型组血清NO、NOS含量明显高于正常组,同时说明NO高浓度时抑制精子的生成,这与文献报道一致,经治疗后NO、NOS浓度有所下降。

男性不育症由于病因不明,所以缺乏根本有效的治疗手段,目前的治疗只是经验性的,抗雌激素药物是最常用的治疗方法,但效果不确切,并有一定程度的副作用。中医药在此方面有一定治疗优势,近年来中医药治疗不育常用的方法有滋肝肾、补脾肾、化湿浊、逐痰瘀、通经络等方法,都取得了一定疗效^[8]。祖国医学认为肾藏精而主生殖,肾所藏的先天之精是生殖、发育的根本,肾阳虚衰是男性不育症的主要病因病理。肾精的盛衰决定男子的生育能力。在生理上,男性生育是以肾精为本,在病理上,肾精亏虚是男性不育的主要病因。

复方玄驹胶囊是由玄驹、淫羊藿、枸杞子、蛇床子等中药组成的复方胶囊,以玄驹为君药,以淫羊藿、蛇床子、枸杞子为佐药,诸药配伍具有良好的温肾、壮阳、益精作用,对腰膝酸软、性欲低下、功能性阳痿有较好的疗效^[9]。临床研究表明^[10],患者服用复方玄驹胶囊后腰膝酸软等症状明显好转,甚至消失,性欲明显升高,勃起功能有不同程度的改善。复方玄驹胶囊可用于少、弱精子症患者,在提高精子密度的基础上提高精子的活动力。经复方玄驹胶囊干预后,高剂量组大鼠精子密度、精子活率及活动度、畸形率均优于低剂量组及阳性对照组;同时复方玄驹胶囊还可以调节大鼠血清生殖激素含量,降低血清中NO、NOS浓度,表明复方玄驹胶囊能够改善大鼠精子质量,调节生殖激素,提高大鼠精子活动度,减少精子畸形率,从而提高生育能力。至于其具体机理,将在以后的实验中从改善生精细胞凋亡等方面进一步深入研究。

参考文献

- [1] 王毓斌. 特发性男性不育症的药物治疗进展[J]. 中国男科学杂志, 2008, 22(1): 63-66.
- [2] 姜辉, 商学军, 邵永平. 复方玄驹胶囊治疗少弱精子症患者的多中心临床研究[J]. 中华男科学杂志, 2008, 14(8): 755.
- [3] Sigman M, Baazeem A, Zini A. Semen analysis and sperm function assays: what do they mean? [J]. Semin Reprod Med, 2009, 27(2): 115-123.
- [4] Pannekoek Y, Trum JW, Bleker OP, et al. Cytokine concentrations in seminal plasma from subfertile men are not indicative of the presence of ureaplasma urealyticum or mycoplasma hominis in the lower genital tract [J]. J Med Microbiol, 2000, 49(8): 697-700.
- [5] Valenti S, Cuttica CM, Fazzuoli L, et al. Biphasic effect of nitric oxide on testosterone and cyclic GMP production by purified rat Leydig cells cultured in vitro [J]. Int J Androl, 1999, 22(5): 336-341.
- [6] 杨麦贵, 张竹映, 郑善奎, 等. 外源性一氧化氮对精子运动能力的影响[J]. 第四军医大学学报, 2003, 24(15): 1397-1399.
- [7] 王淑秋, 秦文波, 王淑湘, 等. 精索静脉曲张与氧化应激的研究[J]. 中华男科学杂志, 2004, 10(4): 260-262.
- [8] 李欣, 陈龙. 男性不育症的机理和治疗研究进展[J]. 承德医学院学报, 2003, 20(2): 147-149.
- [9] 蔡健, 邓哲献, 蒋海波. 复方玄驹胶囊治疗勃起功能障碍的疗效观察[J]. 中华男科学杂志, 2006, 12(6): 568-569.
- [10] 刘永杰, 黄宇烽, 邵永, 等. 复方玄驹胶囊改善精液质量的临床观察[J]. 中华男科学杂志, 2007, 13(4): 364-366.

收稿日期: 2012-10-27

* 基金项目: 浙江省计划生育委员会资助课题(编号 201005)

作者简介: 吴国琳(1972—), 男, 博士学位, 副主任医师。研究方向: 免疫系统疾病的中西医结合诊治。

△ 通讯作者: 李天一(1972—), 女, 博士学位, 副教授。研究方向: 免疫性疾病的中医药防治。