

菟丝子、仙茅、巴戟天对人精子体外运动和膜功能影响的研究

彭守静¹ 陆仁康¹ 俞丽华¹ 王福楠²

内容提要 目的:观察菟丝子、仙茅、巴戟天对人精子体外运动和膜功能的影响。方法:取不同浓度的菟丝子、仙茅、巴戟天水煎剂与人体精子混匀,37℃孵育 30min,通过精子毛细管穿透试验,精子运动速度和活力指数计算评估精子活动功能,采用精子低渗肿胀试验评价其膜功能。结果:精子的运动功能、膜功能均显著改善,其中以菟丝子最佳,仙茅次之,巴戟天则较差。结论:菟丝子对精子的运动能力和膜功能有促进作用。故有益于治疗男性不育并可能有助于提高人工授精的成功率。

关键词 菟丝子 仙茅 巴戟天 精子活动力 精子膜功能

Effects of Semen Cuscutae, Rhizoma Curculiginis, Radix Morindae Officinalis on Human Spermatozoan's Motility and Membrane Function in Vitro PENG Shou-jing, LU Ren-kang, YU Li-hua, et al
Institute of Reproductive Medicine, Wannan Medical College, Anhui Wuhu (241001)

Objective: To observe the effects of Semen Cuscutae(SC), Rhizoma Curculiginis(RC) and Radix Morindae Officinalis(RMO) on human sperm motility in vitro and cytomembrane function. **Methods:** Compare the sperm motility of the above-mentioned medicinal plants with modified Tyrode's solution(MTS) and MTS added caffeine in vitro. Human spermatozoa were incubated with decoctions of medicinal plant at various concentrations in 37℃ for 30 minutes. The motility of sperm was evaluated by the sperm capillary penetrating test, sperm speed test and sperm activity index calculations. The spermatozoa membrane function was evaluated by spermatozoal hypo-osmotic swelling test together with eosin staining methods. **Results:** The sperm motility improved markedly and sperm membrane function became more stabilized after incubation, the SC had best effect, RC took second place, RMO was relatively poor. **Conclusions:** SC decoction is an effective promoting preparation for sperm motility and the membrane function stabilized. Therefore, SC may be beneficial in treating male sterility and may raise success rate in artificial insemination.

Key words Semen Cuscutae, Rhizoma Curculiginis, Radix Morindae Officinalis, sperm motility, spermatozoa membrane function

菟丝子、仙茅及巴戟天均有补肾、益精的功能,为探讨其在体外对人精子的直接影响,本研究采用精子运动速度、毛细管穿透试验、活力指数以及低渗肿胀试验,观察了该 3 种中药在体外对健康人精子的影响,并与精子营养液、咖啡因、D-心得安进行了比较,结果发现其对人精子活动的促进作用和膜功能的稳定作用以菟丝子为优,其次为仙茅,巴戟天最差,现报告如下。

材料和方法

1 材料

1.1 精子 精液标本来源本院性医学门诊的健康志愿供精者,液化后按 WHO 标准进行常规分析^[1]。密度调至 $50 \times 10^6/L$ 左右,活力良好,活动率 $>60\%$,正常形态精子 $>60\%$ 。

1.2 药物 巴戟天(Radix Morindae Officinalis)产于广东,菟丝子(Semen Cuscutae)产于东北,仙茅(Rhizoma Curculiginis)产于贵州,由皖南医学院弋矶山医院

1. 皖南医学院生殖医学研究所(安徽芜湖 241001); 2. 台湾 Microbofre 科学研究所

中药房提供。精子营养液、咖啡因(上海试剂二厂生产)、D-心得安(Sigma 公司生产)、低渗透肿胀试剂均由本研究所自行配制。

1.3 仪器 电视显微镜(GALEN™ III 型,美国产);MACRO 精子计数盘(南京源程科技公司产品);毛细玻管(直径 1.0 ± 0.1 mm,长 100 mm,华西医科大学产品)。

2 方法

2.1 中药处理方法 巴戟天、菟丝子、仙茅均按传统方法称取 10 g,置烧杯中,加水 100 ml,浸泡 30 min,武火煮沸,文火再煎 30 min,并使体积保持在 80 ml,冷却后,定性滤纸过滤,收集滤液,再分别以磷酸盐缓冲液(PBS)作倍量稀释,浓度标记分别为 50%、25%、12.5%、6.25%备用。

2.2 测定方法 取小试管 15 支,加待测精液 0.4 ml,再分别加入 0.1 ml 的精子营养液、咖啡因、D-心得安及 50%、25%、12.5%、6.25% 4 种浓度的巴戟天、菟丝子及仙茅混匀,置 37℃ 水浴中孵育 30 min,测精子运动速度,毛细管穿透高度,前向运动精子(a+b 级)和低渗肿胀率。精子营养液作为正常对照组,咖啡因对精子因有促进作用,作为阳性对照,D-心得安对精子有强烈的抑制作用,作为阴性对照。

2.2.1 精子运动速度 取上述精液各 10 μ l 置于 MACRO 精子计数盘的检查平台上,盖上盖板,用 40 倍物镜(10 $\times$ 40)观察,在电视屏幕上,按 MACRO 计数盘规定的程序和公式进行精子速度的测定和计算⁽²⁾。

2.2.2 精子毛细管穿透试验 穿透介质采用含人血清白蛋白的精子营养液,将注有穿透介质的毛细玻管下端插入含有各种药液的精液池中,顶端用胶泥封闭,37℃ 孵育 30 min,在电视显微镜下观察精子的穿透高度。

2.2.3 精子低渗尾膜肿胀试验(HOS) 参照吉野和男法⁽³⁾,取低渗肿胀试剂 A 0.85 ml,37℃ 预温 5 min,分别加入不同药液处理过的精液 0.1 ml 混匀,37℃ 水浴孵育 30 min,再加低渗肿胀试剂 B 0.5 ml,混匀,置室温 2 min,注入 MACRO 精子计数盘中,计算 200 条精子中 b~g 型肿胀精子的百分率。

2.2.4 精子活力指数 活力指数(AI)=活力 $\times$ 速度(V)⁽⁴⁾。AI 分为优秀(a $\times$ V)、良好[(a+b) $\times$ V]和总活力[(a+b+c) $\times$ V]。本研究选用良好级作为标准来进行比较。

3 统计方法 计数资料采用 Student 统计,组间 t 检验。

结 果

不同浓度的巴戟天、菟丝子、仙茅煎剂对精子运动速度和毛细管穿透试验的影响 见表 1。与精子营养液比较,菟丝子可明显提高精子的运动参数(P 均 < 0.01),如运动速度提高 21.1%~34.8%,活力指数提高 33.9%~44.2%,毛细管穿透值提高 22.9%~30.0%,对精子运动有明显的促进作用。不同浓度的药液对精子活动影响呈钟罩形,即 25.0%~12.5% 稀释

表 1 不同药液浓度对精子体外运动速度、AI、毛细管穿透值的影响 ($\bar{x} \pm s$)

药 物	浓 度	运动速度 (μ m/s)	提高值 (%)	AI	提高值 (%)	毛细管穿透值 (mm)	提高值 (%)
精子营养液	—	36.5 $\pm$ 4.4	—	21.5 $\pm$ 5.2	—	21.0 $\pm$ 2.2	—
咖啡因	6nmol/L	44.4 $\pm$ 7.3	21.6**	28.8 $\pm$ 8.6	33.9**	24.6 $\pm$ 3.8	17.1**
D-心得安	2.0g/L	0	—	0	—	0	—
巴戟天	50%	34.5 $\pm$ 4.5	—	16.0 $\pm$ 3.2	—	17.3 $\pm$ 1.9	—
	25%	37.4 $\pm$ 7.2	2.5	18.0 $\pm$ 5.9	—	18.3 $\pm$ 2.9	—
	12.5%	38.2 $\pm$ 8.0	4.7	18.0 $\pm$ 6.1	—	17.4 $\pm$ 3.6	—
	6.25%	36.9 $\pm$ 6.6	1.1	18.1 $\pm$ 4.5	—	18.1 $\pm$ 3.3	—
菟丝子	50%	46.8 $\pm$ 11.1	28.2**	28.8 $\pm$ 9.9	33.9**	25.8 $\pm$ 3.9	22.9**
	25%	46.4 $\pm$ 9.2	21.1**	30.6 $\pm$ 8.8	42.3**	27.3 $\pm$ 3.8	30.0**
	12.5%	49.2 $\pm$ 9.8	34.8**	31.0 $\pm$ 9.0	44.2**	27.1 $\pm$ 3.4	29.0**
	6.25%	48.6 $\pm$ 8.5	33.2**	29.6 $\pm$ 6.9	37.7**	26.1 $\pm$ 3.2	24.8**
仙茅	50%	38.8 $\pm$ 6.1	4.9	18.7 $\pm$ 4.0	—	20.7 $\pm$ 4.9	—
	25%	38.6 $\pm$ 5.1	5.7	19.9 $\pm$ 5.8	—	21.0 $\pm$ 3.6	—
	12.5%	42.7 $\pm$ 6.7	17.0*	21.8 $\pm$ 5.9	—	21.8 $\pm$ 4.0	—
	6.25%	41.0 $\pm$ 6.0	12.3*	20.2 $\pm$ 5.0	—	22.1 $\pm$ 4.2	—

注:与精子营养液比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;各种药物每一浓度样本数均为 16,下表同

度的作用最强,而高于或低于该浓度时,其影响均相应减弱,提示只有适当浓度的菟丝子水煎剂对精子的运动有增强作用。巴戟天和仙茅对精子的运动能力亦有影响,但与精子营养液相比较,差异不显著($P>0.05$)。另外,菟丝子提高精子活动能力的作用和咖啡因相仿,并显著优于精子营养液。

2 3 种中药不同浓度水煎剂对人精子体外 HOS 的影响结果 见表 2。

表 2 不同浓度的药液对精子体外 HOS 的影响 ($\bar{x} \pm s$)

药物	浓度	总肿胀率	g 型精子肿胀率
精子营养液	—	66.3±6.0	24.0±6.2
咖啡因	6nmol/L	62.6±10.7	23.8±5.7
D-心得安	2.0g/L	32.7±5.1	13.0±8.1
巴戟天	50%	60.0±11.4	21.5±4.8*
	25%	59.7±11.7	23.4±8.9*
	12.5%	58.3±12.3	22.9±7.4*
	6.25%	55.9±11.2	20.3±8.6*
菟丝子	50%	67.3±6.7	25.0±9.0*
	25%	67.1±6.6	24.6±5.6*
	12.5%	68.5±8.4	25.1±7.7*
	6.25%	67.7±7.3	21.4±6.9*
仙茅	50%	59.9±9.7	20.1±5.6*
	25%	60.9±10.3	22.2±3.3*
	12.5%	62.0±9.8	21.9±6.2*
	6.25%	60.8±10.8	18.7±7.9*

注:与 D-心得安比较,* $P<0.01$

3 种中药水煎剂对精子尾膜的渗透性均无明显的不良影响,各组的 g 型精子肿胀率及总肿胀率与精子营养液一样,均无显著差异。但和 D-心得安比较,都有显著差异($P<0.01$)。

讨 论

菟丝子、巴戟天及仙茅在传统中医学中归于滋阴壮阳类药,临床多用于治疗男子遗精、滑精、阳萎、不育和少腹冷痛、腰膝酸软等“肾虚”病症。已知受孕是一个十分复杂的过程,就男方而言,与精子的数量和质量关系尤为密切。实验已发现^[5],当活动精子数降至 21% 时,其配偶的受孕率即可降至零。而精子本来是不活动的,其活动仍是随着性交活动、射精过程及精子精浆的不断混匀而逐渐形成的。存在于精子尾部轴鞘中的酶和精浆中的糖、蛋白质、有机酸和乙醇等物质乃是精子运动所必须的启动剂和能量来源。所以改变精浆中的许多微量元素、介质、酶以及酸碱度、渗透压等,均可影

响精子的活动,获能过程和穿卵功能。对菟丝子的有关研究亦已表明,菟丝子含有树脂甙、糖类、蛋白质、维生素、 β -胡萝卜素等多种营养物质,因此,有人认为其“滋阴壮阳”作用可能与此有关。也有人认为与其含锌量较高有关^[6]。本研究表明,经菟丝子作用过的精子,运动速度、穿透高度、前向运动率均有明显提高,且不影响尾膜的渗透功能。仙茅内含淀粉、甘露糖、树脂、葡萄糖醛酸、内脂和豆香素等物质。巴戟天则主要含有大量维生素 C,根皮中含植物甾醇,微量的蒽醌类物质和一些糖类。实验表明其可增加小鼠前列腺和精囊的重量。但在本研究中发现对人精子体外运动能力并无明显的增强作用,故对促进生育而言,可能并不是通过改善精子活动力这条途径来实现的。

对精子尾膜功能的影响,已知精子膜由糖脂蛋白构成,其生理功能有明显的区域性,而精子尾膜较柔韧和疏松,在低渗状况下,进入尾膜的液体较多,可呈现各种类型的肿胀现象。发生肿胀是精子膜功能正常的表现。故临床上多用此实验以评价精子的膜功能。反之,则可认为不正常。本研究中用作阴性对照的 D-心得安溶液,就因其可能具有对精子膜的固定作用,损害其膜的通透性而正在被开发为一种新型的杀精子避孕药^[7]。本研究表明,该 3 种中药对精子膜无不良影响,而与 D-心得安比较有显著差异($P<0.01$)。

综上所述,我们可以认为菟丝子、巴戟天、仙茅的促生育的部分作用可能是促进精子运动和改善膜功能有关。其中以菟丝子为优。正由于菟丝子有促进体外精子运动的作用,因此,有可能发展成为一种体外精子纯化优选的辅助剂,以提高人工授精的成功率。

参 考 文 献

1. 人类精液及精液-宫颈粘液相互作用检验手册,第 3 版. 北京:科学出版社,1994:3—13.
2. 谢文英. 男性学. 上海:上海科学技术出版社,1991:226.
3. 吉野和男. 精子功能测定的低渗试验与一般精液检查的相关性. 日本不妊学会杂志 1989;34:101—103.
4. Keel BA, Webster BW. Correlation of human sperm motility characteristics with an in vitro cervical mucus penetration test. Fertil Steril 1988;49:138.
5. 刘 坚. 棉酚、醋酸棉酚对人精子的直接作用. 见:计划生育科研论文汇编. 北京:国家计划生育科学研究所编,1984:144—158.
6. 郭建树,袁曙光,蔡文娟,等. 补肾壮阳法治疗男性不育症的机理探讨. 中医杂志 1989;30(10):26—27.
7. Lu Ren-kang, Yuan De-xiang. Spermicidal effect of propranolol and its isomers on human sperm in vitro. Reproduction & contraception 1995;6(1):19—25.

(收稿:1996-03-15 修回:1996-08-02)