

• 实验研究 •

补肾生精汤对肾阳虚睾丸功能损害
大鼠模型作用的实验研究*

岳广平 陈 琼 戴 宁

内容提要 目的:探讨补肾生精汤治疗男性不育症的作用机理。方法:选用250g左右的Wistar系雄性大鼠,每日灌喂腺嘌呤30mg/100g体重,连续30天,大鼠出现与人类肾阳虚相似的症状,生育力低下,睾丸生精功能障碍,血中促黄体生成激素(LH)、睾酮(T)和皮质醇(F)含量均比正常组大鼠显著降低($P<0.01$)。造模后,中药治疗组大鼠每日饮服补肾生精汤药液3ml/100g体重(每毫升药液含生药2g),连续服药10天,间歇3天再服,共服药30天。结果:中药治疗组大鼠肾阳虚症状明显改善,生育力、精子质量和睾丸生精功能均显著提高,血中LH、T、F水平显著升高,与非治疗模型组相比,差别均有显著性意义($P<0.05$)。结论:补肾生精汤具有壮阳生精和调节内分泌功能的作用。

关键词 补肾生精汤 肾阳虚 睾丸功能损害 动物模型

Experimental Study on Effect of Bushen Shengjing Decoction on Kidney Yang and Testicular Dysfunction in Rats YUE Guang-ping, CHEN Qiong, DAI Ning *Institute of Acupuncture and Meridians, Anhui College of TCM, Hefei (230038)*

Objective: To explore the therapeutical mechanism of Bushen Shengjing Decoction (BSSJD) in treating infertility. **Methods:** Fed Wistar male rats with adenine 30mg/100g·d continuously for 30 days. The rats manifested the symptom which was similar to the human Kidney Yang Deficiency, the genitality dropped, the function of sperm-producing in the testis was disturbed, the contents of luteinizing hormone (LH), testosterone (T) and compound F (F) in blood were all lower than rats of normal group, $P<0.01$. The model rats took the BSSJD 3 ml/100g·d (each ml contains crude drugs 2g) continuously for 10 days, interval for three days, then medicated again and total medication of BSSJD was 30 days. **Results:** The symptom of Kidney Yang Deficiency in rats was improved obviously, the genitality, sperm quality and function of sperm producing in testis were all enhanced obviously, so did the hormone level of LH, T, F in blood. Comparing to untreated control group, the difference was significant ($P<0.05$). **Conclusion:** BSSJD has the function of reinforcing Yang and replenishing essence and regulate the endocrinological function.

Key words Bushen Shengjing Decoction, Kidney Yang Deficiency, testicular dysfunction, animal model

为探讨中医药治疗男性不育症的作用机理和环节,我们采用腺嘌呤诱发的肾阳虚睾丸功能损害大鼠模型^{〔1〕},从生理生化和组织形态学等方面观察了补肾

生精汤对模型大鼠机体功能活动、生育力、睾丸生精功能和内分泌激素等的影响。

材料与方法

* 国家中医药管理局科研基金资助课题(No. 89C008)
安徽中医学院针灸经络研究所(合肥 230038)

1 动物造模及分组 用本单位动物室提供的Wistar系雄性大鼠60只,日龄176~203天,平均188.5

天, 体重 $255 \pm 9.04\text{g}$ 。将大鼠按体重分层随机均分为4组, (1) 正常组: 每日灌喂1次蒸馏水1.5ml, 连续30天; (2) 模型 I 组: 按下述方法造模作治疗前观察; (3) 模型 II 组: 造模后不加治疗而与中药治疗组进行同步观察; (4) 中药治疗组 (简称中药组): 造模后服中药治疗。造模方法: (2) ~ (4) 组大鼠均每日灌喂1次腺嘌呤 $30\text{mg}/100\text{g}$ 体重, 各大鼠用药均分别与1.5ml 蒸馏水混悬后以灌胃法给药, 连续30天。

2 给药方法 中药组大鼠在造模后服补肾生精汤进行治疗。方药组成: 菟丝子15g 枸杞子12g 覆盆子12g 五味子6g 桑椹12g 肉苁蓉12g 巴戟天12g 仙茅12g 淫羊藿12g 川续断9g 白术9g 山萸肉6g 熟地黄15g 肉桂3g 紫河车10g (焙干研末)。煎服法: 按上药用量比例配制, 用传统方法先煎前13味药, 煎取药液, 复煎去渣, 将两次药液和匀, 加入紫河车搅拌再煎, 使药液浓缩至每毫升含生药约2g, 然后去火趁热将肉桂加入药液中焯30min, 用纱布过滤药液备用。每日用药量为3ml/100g 体重, 将药液加入饮水瓶中, 酌量稀释后让大鼠自由饮服, 药液服完后再供水饮。疗程: 造模完成后之翌日起服药, 连续服药10天, 间歇3天再服, 共服药治疗30天。

3 观察指标 (1) 症状体征, 各组均于造模过程观察, 此外, 模型 II 组与中药组尚在造模后的治疗过程进行观察。(2) 生育力、内分泌激素、附睾精子和睾丸组织学, 正常组与模型 I 组于造模完成后进行观测, 模型 II 组与中药组于治疗疗程结束后观测。

3.1 症状体征 观察大鼠的精神、体态、活动、反应、体毛荣枯和体重变化等, 体重于上午喂食前称量。

3.2 生育力 分别在造模完成后 (正常组、模型 I 组) 和疗程结束后 (模型 II 组、中药组) 将各大鼠与同种系5月龄性成熟雌鼠配对合笼7天, 然后观察雌鼠的受孕、生产情况。

3.3 内分泌激素 各组大鼠在配对合笼结束后之翌日, 于上午7~9时摘眼球采血, 离心取血浆, 用放射免疫法测定促卵泡生长激素 (FSH)、促黄体生成激素 (LH)、睾酮 (T) 和皮质醇 (F), 操作按试剂盒说明书进行 (上海内分泌研究所提供试剂盒)。

3.4 附睾精子数量、活率与活力 解剖剥取附睾, 吸取附睾尾浆液, 分别加入精子稀释液和 BWW 营养液试管中, 参照人类精液常规分析方法^[2], 作精子计数和精子活率检测, 并采用毛细玻管穿透试验方法^[3],

以白蛋白精子营养液为穿透介质, 对精子活力 (前向运动速度) 进行客观测定。

3.5 睾丸组织学 将睾丸用 Bouin's 液 (冰醋酸: 甲醛: 苦味酸饱和水溶液按1:5:15比例配制, 现配现用) 固定, 石蜡包埋, 切片 $6\mu\text{m}$, 苏木素-伊红 (HE) 染色, 光镜观察睾丸曲细精管形态和精子发生状态, 并按 Johnson's 睾丸精子发生功能定量评分法^[4], 对睾丸生精功能作综合定量评价。

结 果

1 症状体征 各组造模大鼠自灌喂腺嘌呤第5~7天起, 出现恶寒蜷卧, 精神萎靡, 反应迟钝, 少动, 体毛干枯脱落, 消瘦等类似肾阳虚的症状表现, 诸症随给药日数的增加而加剧; 正常组大鼠精神体态、活动反应如常。中药组大鼠经治疗, 精神体态日渐好转, 疗程结束后肾阳虚诸症明显改善, 平均体重比治疗前增加 25.27g ($P < 0.001$); 模型 II 组大鼠神态与体重的恢复程度远不如中药组。模型 II 组体重 ($\bar{x} \pm s$) 为 $234.80 \pm 9.47\text{g}$, 中药组 $249.00 \pm 11.10\text{g}$, 两组间体重的差异有非常显著意义 ($P < 0.001$)。结果表明, 补肾生精汤有促使肾阳虚大鼠机体功能恢复的作用。

2 生育力 模型 I 组15只配对雌鼠均未受孕, 而正常组15只配对雌鼠全部受孕, 表明造模后, 模型大鼠生育力极其低下。中药组配对雌鼠受孕率为73.33% (11/15只), 模型 II 组配对雌鼠受孕率为13.33% (2/15只), 两组间受孕率的差别有非常显著意义 ($P < 0.01$), 结果显示, 补肾生精汤能促使肾阳虚大鼠生育力显著提高。

3 内分泌激素水平 各组血浆 FSH、LH、T、F 值比较见附表。从表中可以看出, 模型 I 组 LH、T、F 值均比正常组显著下降 ($P < 0.01$); 中药组 LH、T、F 值均比模型 II 组显著升高 ($P < 0.05$); 各组间 FSH 值无显著性差异 ($P > 0.05$)。说明模型大鼠血浆 LH、T、F 水平低下, 而中药治疗能促使降低的 LH、T、F 水平显著升高, 对处于正常水平的 FSH 则无明显影响。

4 附睾精子质量 各组精子数量 (N), 精子活率 (M) 与精子运动速度 (V) 的检测结果比较见附表。由表可见, 模型 I 组 N、M、V 均比正常组显著降低 ($P < 0.001$); 中药组 N、M、V 均比模型 II 组显著提高 ($P < 0.01$)。结果表明, 补肾生精汤能促使模型大鼠附睾精子质量显著提高。

5 睾丸组织学 模型 I 组睾丸呈萎缩状态, 大部

附表 各组血浆 FSH、LH、T、F 值及附睾 N、M、V 的检测比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	FSH(mIU/ml)	LH(mIU/ml)	T(ng/dl)	F(μ g/100ml)	N($\times 10^7$ /ml)	M(%)	V(mm/60min)
正常	7.32 $\pm$ 2.21	7.88 $\pm$ 2.02	173.87 $\pm$ 32.28	9.01 $\pm$ 2.85	21.93 $\pm$ 4.83	87.20 $\pm$ 6.53	35.80 $\pm$ 9.45
模型 I	7.04 $\pm$ 2.02	5.64 $\pm$ 1.80*	60.73 $\pm$ 22.04**	6.17 $\pm$ 2.05*	7.69 $\pm$ 4.20**	65.60 $\pm$ 8.22**	16.67 $\pm$ 5.81**
模型 II	7.24 $\pm$ 2.06	6.05 $\pm$ 1.97	86.87 $\pm$ 27.85	6.55 $\pm$ 2.15	12.20 $\pm$ 6.13	71.07 $\pm$ 9.92	22.13 $\pm$ 7.46
中药	7.29 $\pm$ 2.13	7.79 $\pm$ 2.05 Δ	156.73 $\pm$ 30.55 $\Delta\Delta\Delta$	8.54 $\pm$ 2.65 Δ	19.51 $\pm$ 4.70 $\Delta\Delta$	83.13 $\pm$ 7.25 $\Delta\Delta\Delta$	33.13 $\pm$ 7.93 $\Delta\Delta\Delta$

注:与正常组比较,* $P < 0.01$,** $P < 0.001$;与模型 II 组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$, $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$;各组样本数均为 15

分曲细精管退化变性,管腔内生殖上皮变薄,精子数目明显减少;正常组睾丸组织学未见异常改变,曲细精管内精子发生完全,各级生精细胞排列规整。中药组睾丸组织学近似正常,大部分曲细精管内精子发生良好,生殖上皮较模型 II 组丰厚,各级生精细胞排列规则;模型 II 组睾丸萎缩及曲细精管退化的程度较模型 I 组为轻,但其恢复程度不如中药组。

各组睾丸精子发生功能综合定量评分值(分, $\bar{x} \pm s$)分别为:正常组:9.77 $\pm$ 0.15,模型 I 组:8.77 $\pm$ 0.22,模型 II 组:8.95 $\pm$ 0.17,中药组:9.51 $\pm$ 0.17。睾丸精子发生功能越好,其得分值越高,统计表明,模型 I 组分值显著低于正常组($P < 0.001$),中药组分值显著高于模型 II 组($P < 0.001$)。结果显示,补肾生精汤能促使模型大鼠睾丸组织学和精子发生功能显著地改善与提高。

讨 论

中医学认为,肾藏精,主生长发育与生殖,肾阳为一身阳气之根本,对各脏腑组织起着温煦生化的作用,若肾阳虚损,温煦功能失职,不能蒸化肾阴化生精气,则可导致虚寒衰弱诸症的产生以及生殖机能减退,精少精冷而不育等。本实验动物模型与人类肾阳虚、“精冷无子”的实际情况相似,模型大鼠出现一系列机体功能活动减退的表现,生育力低下,睾丸生精功能障碍,血浆 LH、T、F 含量降低,从现代医学的角度来看,其主要病理环节与丘脑垂体-性腺及肾上腺皮质功能减退有关。垂体前叶合成与释放的 LH 能促使睾丸间质细胞合成与分泌 T, T 能促使生精细胞连续分化、刺激精子生成和促进精子在附睾中的功能成熟,并能促进附性腺器官的发育以及蛋白质的合成和骨骼生长等;F 由肾上腺皮质束状带合成与分泌,对维持体

内糖、蛋白质和脂肪的正常代谢,增强机体对有害刺激的耐受力等具有重要的生理作用^[3,5]。当机体受到不良因素的刺激,引起丘脑垂体-性腺及肾上腺皮质功能减退,LH、T、F 的合成与分泌减少时,可影响到体内物质的正常合成代谢和生殖机能,导致机体功能活动减退和睾丸生精功能障碍、生育力低下等。

补肾生精汤是由五子衍宗丸合赞育丹加减化裁而成,具有补肾壮阳,生精赞育之功效。方中紫河车含有促性腺激素、促肾上腺皮质激素,淫羊藿、巴戟天、仙茅等具有类激素样作用,能增强性腺和肾上腺皮质功能^[6]。实验结果表明,本方能促使肾阳虚机体功能恢复正常,促使睾丸精子发生过程的病理状态转变为常态,使精子质量(数量、活率与活力)和生育力显著提高,并促使降低的 LH、T、F 水平明显升高。其作用主要是通过中药对机体功能的整体调节以及对下丘脑-垂体-性腺和肾上腺皮质系统功能的调整而实现的,确切机制有待进一步研究探讨。

参 考 文 献

1. 郑平东,朱燕俐,丁名城,等. 腺嘌呤诱发睾丸功能损害肾阳虚模型的研究. 中国医药学报 1989; 4 (3): 67-69.
2. 世界卫生组织. 人类精液及精液-宫颈粘液相互作用检验手册. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 1989: 7-8.
3. 谢文英,王飞,江 鱼,等. 男性学. 第1版. 上海: 上海科学技术出版社, 1991: 85-120, 220-223.
4. 吕德滨,黄平治. 实用简明男性学. 第1版. 哈尔滨: 哈尔滨出版社, 1988: 175-176.
5. 辽宁中医学院主编. 生理学. 第1版. 上海: 上海科学技术出版社, 1979: 187-216.
6. 成都中医学院主编. 中药学. 第1版. 上海: 上海人民出版社, 1977: 247-254.

(收稿: 1995-11-28 修回: 1996-09-26)

提供空心胶囊

产品型号(胃溶) 0# 装量 0.3g~0.5g; 1# 装量 0.1g~0.3g; 2# 装量 0.1g 以下。价格: 135元/万粒(含邮资)。需要者请汇款至浙江新昌越州制药有限公司潘炎锋收, 邮编: 312560, 电话: (0575) 6060338, 9086676。款到三日内发货, 如有质量问题及数量不足厂方负责。请写清收货地址。