

· 综 述 ·

雷公藤多甙所致不育症动物模型 制备方法的研究进展

毛鹏鸣 李海松 王 彬 莫旭威

目前男性不育症发病率越来越高,其临床及实验研究也日益为人们所重视。作为实验研究的基础,一个可信的、能够被广大学者所广泛接受的实验动物模型显得尤为重要。迄今为止,众多学者通过不懈努力,成功制备出各种不育症的动物模型,其中包括采取化学方法,如腺嘌呤、氢化可的松、雷公藤多甙、奥硝唑、环磷酰胺等药物灌胃。也有通过物理途径,如睾丸切除、惊恐伤肾等,以及一些特殊的不育症模型,如免疫性不育症模型、精索静脉曲张型不育症模型及细菌性前列腺炎型不育症模型等^[1]。在众多模型中,雷公藤多甙所致的不育症动物模型日益受到认可。

20 世纪 80 年代林琳等^[2]介绍服用雷公藤多甙可出现死精子症及少精子症等不良反应,自此学者开始利用此不良反应制备不育症的动物模型。笔者查阅近年来相关文献,从实验动物、造模机制及模型评价等方面对雷公藤多甙所致的不育症动物模型制备方法进行综述如下。

1 实验动物

在雷公藤多甙所致的不育症动物模型中,最常采用的实验动物即大鼠或小鼠。如禹志领^[3]、李颀^[4]等采用雄性昆明种小鼠造模,张昕贤等^[5]则采用成年 Balb / C 雄性小鼠造模。更多学者选用雄性 SD 大鼠^[6-14]或 Wistar 大鼠^[15-18]造模,其中雄性 SD 大鼠较 Wistar 大鼠使用频率更高,究其原因可能与大鼠体型较大,更容易取材及检测各项指标有关。另外 SD 大鼠较 Wistar 大鼠的适应性及抗病能力更强,对性激素的敏感度更高。因此更适合用于制备不育症动物模型。

2 给药方法

许多学者采用灌胃这一途径给药^[3-18]。而雷公藤多甙为片类制剂,为方便灌胃及进行对照,学者采取

制备混悬液的方法,其中以 0.5% CMC-Na(CMC)混悬液^[3,4,6-10,14,16-18]为主。而除采用羧甲基纤维素钠制备混悬液外,亦有学者通过雷公藤多甙片研细后与生理盐水混合稀释制备混悬液灌胃^[5,13]。

3 剂量与时效

在众多雷公藤多甙所致不育症模型中,20 mg/(kg · d)^[3,6-11,13-15]与 30 mg/(kg · d)^[3-5,12,16]这两种剂量更多被学者们使用。而时效方面,以大鼠为例,在采用 20 mg/(kg · d)剂量雷公藤多甙所致的不育症模型中,很多学者给药时间均为 30 天^[8-11,14,15],或 4 周即 28 天^[13]。有学者利用更短的时间,即 3 周(21 天)^[6,7]即制备出所需模型。采用更大剂量的 30 mg/(kg · d)雷公藤多甙制备模型过程中,胡莹莹等^[12]造模时间为 40 天,姚青海等^[16]为 42 天。如此结果似乎并不符合大剂量、短时效的规律,而考虑雷公藤多甙所致的不育症的自愈性^[19,20],短时效的模型可能在后期药物干预的过程中由于自愈而影响实验结果,因此上述大剂量、长时效模型就显得更为可靠。然而小剂量、短时效的模型也并不意味着缺乏可信度,如杜位良等^[5,6]造模成功后在药物干预的同时,模型组与实验组均继续灌服雷公藤多甙,该法避免了模型的自愈,一定程度上保证了实验结果的可信度。

除上述剂量外,亦有一些学者尝试用其他剂量的雷公藤多甙灌胃来制备不育症模型。如张建国等^[17,18]采用雷公藤多甙 25 mg/(kg · d)共 30 天来制备大鼠不育症模型,李颀等^[4]为研究雷公藤多甙对小鼠生育的影响与剂量和时间的关系,分别采用 45、30、22.5、15、7.5 mg/(kg · d)雷公藤多甙给昆明种雄性小鼠灌胃 20、40 天,观察与雌鼠合笼 7 天后雌鼠的怀孕率,发现除 7.5 mg 组外,其余组在给药 20 天后雌鼠怀孕率均明显下降,而 40 天后怀孕率更呈下降趋势,除 7.5 mg/(kg · d)组外,其他剂量与时间组合均可用来制备不育症模型。

4 造模机制

为探讨雷公藤多甙导致不育的原因,一些学者进行了实验研究,以明确其机制。如张彬等^[21]通过对

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81273756)

作者单位:北京中医药大学东直门医院男科(北京 100700)

通讯作者:李海松, Tel: 010 - 84015611, E-mail: 1028bj@sina.com

sina.com

DOI: 10. 7661/CJIM. 2015. 02. 0254

Wistar 雄性大鼠灌服雷公藤多甙 8 周后,观察其睾丸、附睾形态及一氧化氮合成酶活性的变化,结果发现,睾丸内的精子细胞及精子减少,曲细精管腔出现病理形态的细胞及多核巨细胞,附管内可见精子断头及脱落细胞,睾丸间质细胞一氧化氮合成酶平均密度下降。由此得出结论:雷公藤多甙的雄性抗生育作用对精子细胞及睾丸间质细胞等有影响。黄迪等^[22]从影响生精功能相关基因的角度探讨雷公藤多甙抑制小鼠生殖功能的机理,发现有 1 932 条基因表达出现异常,与生殖相关基因 354 条,上调 112 条,下调 242 条,其中有已经公认的与生殖密切相关的基因 *Herc4*、*Ipo11* 及 *Mrto4* 等的表达异常,从而提示雷公藤多甙引起的小鼠生殖功能障碍与其致生精相关基因的表达异常有关。雷公藤多甙对生精过程及精子的成熟过程均有影响,甚至影响生精相关基因的表达,从而导致不育的发生。了解机制,才能更好地利用雷公藤多甙来制备不育症的动物模型。

5 模型评价

完成造模过程后,则需要检验该模型是否符合试验标准。在此环节,作为不育症的动物模型,精子质量无疑是较直观的指标之一,而众多学者^[3,6-17]也将该指标作为模型评价的标准。除精子质量外,与雌鼠合笼后雌鼠的怀孕率同样能直观地反映模型的质量,如禹志领^[3]、李颀^[4]、张昕贤^[5]等即通过检测怀孕率来评价模型制备是否成功。另外有学者对模型组动物的主要性腺器官(如睾丸、附睾等)脏器系数^[7,12,14-17]或脏器及腺体的组织学变化^[6,15,18],以及血清中性激素水平^[14-17]进行检测以评价模型制备是否成功。

6 结语

在众多制备动物模型的方法中,药物灌胃由于易于操作而被学者采用。而同样是药物灌胃,腺嘌呤与氢化可的松已被学者归类于属中医肾阳虚证候的动物模型,在中药以及中成药被广泛用于治疗男性不育症的今天,单一的肾虚模型显然无法满足广大学者的要求,不育症的中医病机也并不单肾阳虚一条。有学者认为雷公藤多甙所制备的不育症动物模型属于肾精亏虚证^[10],与肾阳虚证比较,适用范围更广,更具有代表意义。因此,雷公藤多甙才从众多不育症模型的制备方法中脱颖而出。

此外,雷公藤多甙所制备的不育症模型同样有其缺点,如所造成的生殖损伤的可逆性。Qian SZ 等^[19]曾在动物实验中证实了这一点,采用 10 mg/kg 雷公藤多甙给予雄性大鼠灌胃,大鼠生育力于用药 4 周后开始下降,8 周后完全不育,停药 5 周后,生育力恢复

正常。张建伟等^[20]研究同样证实,雄性大鼠喂服 10 mg/kg 雷公藤多甙片,每周 6 次,6 周后雄鼠生育力丧失,附睾精子活力显著降低,精子密度明显减少,停药 4~5 周后,生育力及精子活力与计数均恢复正常。如何解决这个问题将直接影响模型的评价及实验结果的可信度。对此,有些学者^[6-8]造模成功后,采用其他药物或方法干预模型的同时继续灌胃雷公藤多甙的方法来避免雷公藤多甙所致生殖损伤可逆性对实验本身造成影响。亦有学者^[16]采用大剂量、长时效的方法造模,使模型所致损伤无法再短时间内自愈,确保模型的稳定性。值得注意的是,过长的时效可能导致精原细胞的脱落^[23]而增加后续干预的难度,因此给药时间亦不宜过长,适度即可。而雷公藤多甙造模最佳剂量与时效,目前尚未见文献,有待进一步研究。

综上所述,在合适的剂量与给药时间情况下,雷公藤多甙是一个较好的制作不育症动物模型的药物,但如何利用雷公藤多甙建立统一、规范且重复性好又可靠的不育症动物模型仍需广大学者的进一步努力。

参 考 文 献

- [1] 范红艳,王艳春,顾晓胜,等.生精障碍动物模型的研究进展[J].吉林医药学院学报,2013,34(2):120-123.
- [2] 林琳,姜济民,戴惠珍.介绍我国独创的新抗炎药物——雷公藤多甙片[J].江苏医药,1985,11(3):39-40.
- [3] 禹志领,严永清,吕建峰,等.六味地黄汤对雷公藤多甙损伤小鼠精子的影响[J].时珍国医国药,1999,10(2):81.
- [4] 李颀,黄迪,何立群,等.雷公藤多甙对小鼠生育的影响及肉苁蓉干预作用的研究[J].中华男科学杂志,2009,15(6):569-572.
- [5] 张昕贤,黄迪,刘楠楠,等.雷公藤多甙诱导小鼠睾丸生殖相关基因异常表达及补肾中药的干预作用[J].中华男科学杂志,2012,18(5):466-471.
- [6] 杜位良,常德贵,张太君,等.增精颗粒对大鼠附睾功能性指标 GPC 及 SA 的影响[J].中国男科学杂志,2004,18(1):22-25,28.
- [7] 杜位良,常德贵,张太君,等.增精颗粒对大鼠附睾精子质量的影响[J].中华男科学杂志,2004,10(2):155-159.
- [8] 刘保兴,王琦,赵厚薇,等.黄精赞育胶囊优选方对弱精子症大鼠精子运动能力的影响[J].中医药学刊,2005,23(2):368-369,383.
- [9] 刘保兴,王琦,赵厚薇,等.黄精赞育胶囊对弱精子症大鼠精子鞭毛超微结构的影响[J].北京中医药大学学报,2006,29(11):765-767.
- [10] 杨阿民,刘保兴,张圣强,等.五子衍宗丸改善肾精亏虚大鼠支持细胞功能的机理研究[J].北京中医药大学学

报, 2010, 33(6): 378-380, 384.

[11] 张水文, 廖秀梅, 张勇, 等. 泽仁口服液对弱精症大鼠精子质量影响实验研究[J]. 实用中医药杂志, 2010, 26(10): 674-675.

[12] 胡莹莹, 张琪, 马博, 等. 果糖二磷酸锶盐对雷公藤多甙所致的大鼠少精子症的治疗作用[J]. 中华男科学杂志, 2011, 17(5): 396-400.

[13] 韩彩艳, 孙伟, 王波, 等. 生精散治疗大鼠弱精子症的实验研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2011, 18(4): 31-33.

[14] 俞晶华, 卞慧敏, 张启春, 等. 补天育麟颗粒对雷公藤多甙致大鼠不育症模型的影响[J]. 南京中医药大学学报(自然科学版), 2007, 23(5): 313-315.

[15] 侯南英, 王守才, 钟百灵, 等. 愈精颗粒抗大鼠雄性不育的药效学研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2003, 9(5): 52-54, 57.

[16] 姚青海, 王知侠, 刘润霞, 等. 育生液治疗大鼠少精症、弱精症的实验研究[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2004, 25(2): 165-167.

[17] 张建国, 冷会勇, 石炳娟, 等. 十八味中药组方对恢复生殖系统损害雄性大鼠模型的作用研究[J]. 中国男科学杂志, 2007, 21(11): 6-10.

[18] 冷会勇, 石炳娟, 张言敏, 等. 十八味中药组方对雄性大鼠不育模型生殖系统的影响[J]. 生殖医学杂志, 2008, 17(2): 114-117.

[19] Qian SZ, Zhong CQ, Xu Y. Effect of *Tripterygium wilfordii* Hook. F. on the fertility of rats[J]. Contraception, 1986, 33(2): 105-110.

[20] 张建伟, Stephen AM, Ana B, 等. 雷公藤抗雄性生育成分的研究[J]. 实用男科杂志, 1995, 12(4): 75-77.

[21] 张彬. 雷公藤多甙(GTW)抗雄性生育活性的研究[J]. 中国现代医学杂志, 2002, 12(4): 16-17, 20.

[22] 黄迪, 李颀, 何立群, 等. 雷公藤多甙对小鼠生精功能相关基因 *Herc4*, *Ipo11* 和 *Mrto4* 表达的影响[J]. 遗传, 2009, 31(9): 941-946.

[23] 钱绍治. 雷公藤的化学及生育调节研究进展[J]. 药学通报, 1988, 23(1): 3-6.

(收稿:2013-08-05 修回:2014-10-29)

中国中西医结合杂志社微信公共账号已开通

近日,中国中西医结合杂志社已经开通微信公共账号,可通过扫描右方二维码或者搜索微信订阅号“中国中西医结合杂志社”加关注。本杂志社将通过微信不定期发送《中国中西医结合杂志》、《Chinese Journal of Integrative Medicine》的热点文章信息,同时可查看两本期刊的全文信息,欢迎广大读者订阅。

