

益肾活血方对弱精子症模型大鼠精子质量的影响

袁卓珺¹, 袁 安², 刘 冰¹, 马 栋¹, 毛鹏飞¹, 秦国政^{*}

(1. 云南省中医医院/云南中医学院第一附属医院, 云南省昆明市光华街 120 号, 650021; 2. 云南省曲靖市第一人民医院)

摘要 目的 观察益肾活血方对弱精症模型大鼠精子质量的影响。方法 50 只大鼠随机分为正常组、模型组和中药高、中、低剂量组, 每组 10 只。除正常组外其余各组大鼠灌服雷公藤多苷片 20 mg/(kg·d) 连续 5 周建立弱精子症模型。造模成功后中药高、中、低剂量组分别给予益肾活血方 15、10、5 g/(kg·d) 灌胃, 共 5 周, 正常组和模型组普通饲养。末次给药后取大鼠双侧睾丸称重、测量体积, 双侧附睾称重, 检测精子密度、精子活率及精子活力。结果 各组大鼠精子密度差异无统计学意义 ($P>0.05$)。与正常组比较, 模型组大鼠精子活率和 A 级、B 级、A 级+B 级精子均明显降低 ($P<0.05$)。中药低、中、高剂量组大鼠精子活率、B 级、A 级+B 级精子较模型组明显升高 ($P<0.05$)。中药低、中、高剂量组大鼠两侧睾丸重量、体积及附睾重量与模型组比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。结论 益肾活血方可提高弱精子症大鼠精子活力及精子活率, 但不能改善精子密度, 并对睾丸重量、体积及附睾组织的重量无影响。

关键词 弱精子症; 益肾活血方; 精子密度; 精子活力

精子活力低下是男性不育的主要因素, 严重危害人类的生殖健康。世界卫生组织的统计资料表明, 世界范围内不育症发生率约占育龄夫妇的 15%, 其中男性不育约占 50%, 因精子活力低下而导致的男性不育约占 30%^[1]。弱精子症的诊断主要依靠精液分析指标, 而大都无明确临床症状体征表现。文献报道, 对弱精子症的中医治疗大都采用温补肾阳、滋补肾阴、清热利湿等方法^[2]。我们通过前期研究及临床实践积累, 发现通过益肾活血法能够改善精子活动力^[3-4]。本实验观察益肾活血方对弱精子症模型大鼠精子质量及睾丸、附睾组织的影响, 以探讨其疗效。

1 材料和方法

1.1 实验动物

50 只雄性 Wistar 大鼠, SPF 级, 体重 100 ~ 200 g, 购自昆明医科大学实验中心, 实验动物合格证号: SCXK (滇) 2011-0004。实验动物适应性饲养 1 周, 温度 (22 ± 1) °C, 湿度 (55 ± 5) %, 12 h 光暗循环。

基金项目: 国家自然科学基金(81360548, 81260540); 云南省科技计划项目(2012FB208, 2014FB198); 云南省卫生厅科技计划项目(2012WS0060)

* 通讯作者: qin60@tom.com, (0871) 63632023

1.2 实验药物

益肾活血方: 黄芪 30 g, 炙黄芪 30 g, 生地黄 15 g, 熟地黄 15 g, 枸杞子 20 g, 太子参 30 g, 制何首乌 20 g, 炙黄精 15 g, 菟丝子 20 g, 沙苑子 15 g, 续断 15 g, 益母草 15 g, 鸡血藤 20 g, 丹参 20 g。采用水煎浓缩, 配制成浓度为 1 g/ml 的混悬液。雷公藤多苷片, 10 mg/片, 湖北省黄石飞云制药有限公司生产, 批号: 20110801c、20110501c。戊巴比妥钠, 上海新亚药业有限公司, 批号: H31020501。

1.3 主要仪器

SC150 恒温水浴锅, 美国 Thermo-fisher 公司; MX7 精液分析系统, 清华同方精子微生物动(静态)图像分析系统。

1.4 动物分组及处理方法

50 只 Wistar 大鼠采用随机数字表法分为正常组、模型组和中药高、中、低剂量组, 每组 10 只。除正常组外其余各组大鼠参考文献[5]方法灌服雷公藤多苷片 20 mg/(kg·d), 连续 5 周, 建立弱精子症模型。造模成功后中药高、中、低剂量组分别给予益肾活血方 15、10、5 g/(kg·d) 灌胃, 每日 2 次, 共 5 周。正常组和模型组普通饲养。

1.5 观察指标及方法

末次给药后 24 ~ 48 h 内, 用戊巴比妥钠 0.1 g 溶于 2 ml 0.9% 生理盐水中, 抽取 1 ml 腹腔注射麻醉大鼠, 取双侧睾丸称重、测量体积, 双侧附睾称重。摘取附睾剔除脂肪后, 用生理盐水冲洗几遍, 称重, 将一侧附睾尾摘取出来, 置于 5 ml EP 管中, 在 EP 管中加入 2 ml 细胞培养液后将附睾尾剪碎, 放入恒温水浴箱 37℃ 水浴 30 min, 并轻轻振荡, 制备精子悬液。待附睾精子充分游离后, 用精液分析系统进行精子质量的检测。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 20.0 统计软件, 计量数据用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 方差齐采用 LSD 检验, 方差不齐则采用 Dunnett T3 进行检验。

2 结果

因饲养、灌胃等因素共死亡大鼠 14 只, 剩余 36 只, 其中正常组 6 只, 模型组和中药中、低剂量组均 7 只, 中药高剂量组 9 只。

2.1 各组大鼠精子质量比较

表 1 示, 各组大鼠精子密度差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与正常组比较, 模型组大鼠精子活率和 A 级、B 级、A 级 + B 级精子均明显降低 ($P < 0.05$)。中药低、中、高剂量组大鼠精子活率均较模型组明显升高, 但中药低剂量组仍然低于正常组, 而中药中、高剂量组精子活率明显高于正常组 ($P < 0.05$)。中药高剂量组 A 级精子明显高于模型组, 中药低、中、高剂量组 B 级、A 级 + B 级精子明显高于模型组 ($P < 0.05$), 并且中药中、高剂

量组 B 级精子明显高于正常组 ($P < 0.05$)。

2.2 各组大鼠双侧睾丸重量、体积和附睾重量比较

表 2 示, 与正常组比较, 模型组大鼠双侧睾丸重量、体积及附睾重量差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 而中药低、中剂量组左侧睾丸体积明显大于正常组 ($P < 0.05$)。中药低、中、高剂量组大鼠双侧睾丸重量、体积及附睾重量与模型组比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3 讨论

弱精子症归属于中医学“精寒”“精冷”范畴。中医学认为, 肾藏精, 主生殖发育, 因此肾与生育能力密切相关。《素问·上古天真论》云: “男子二八, 肾气盛, 天癸至, 精气溢泻, 阴阳和, 故能有子。”弱精子症病机为肾阳虚衰, 生精功能不足; 肾阴虚损, 阴精不足, 相火妄动; 脾肾阳虚, 肾失温煦, 精液不化, 脾失健运, 水湿内停; 气血亏损, 精化失源; 肝郁气滞, 血脉瘀阻, 疏泄失司; 肝经湿热, 扰动精室; 脾失健运, 痰湿内蕴; 外伤损络, 瘀血阻窍^[8]。近年来, 我们从不同的角度研究不育症, 提出精子活力低下症“肾虚血瘀”的病机要素。益肾活血方中生地黄、熟地黄甘、微温, 枸杞子味甘平, 补肾阴而生肾精; 黄芪甘、微温, 健脾益气; 丹参苦、微寒, 活血养血, 共为方中君药。何首乌甘、微温, 平补肾阳, 滋阴益肾, 填精益髓; 太子参味甘平, 黄精味甘、平, 健脾益气, 养血生精; 菟丝子辛甘、微温, 健脾补肾益精, 共为方中臣药。沙苑子甘、温, 温补肝肾, 固精; 续断辛、微温, 补益肝肾,

表 1 各组大鼠精子质量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	密度 ($\times 10^6$ /ml)	精子活率 (%)	A 级 (%)	B 级 (%)	A 级 + B 级 (%)
正常组	6	53.16 ± 10.70	44.22 ± 3.36	10.60 ± 1.00	7.04 ± 2.31	17.64 ± 2.40
模型组	7	66.32 ± 4.28	12.15 ± 2.55*	4.76 ± 1.05*	2.87 ± 0.79*	7.64 ± 1.17*
中药低剂量组	7	71.54 ± 19.14	29.56 ± 5.05* [△]	8.23 ± 3.95	9.60 ± 2.09 [△]	17.83 ± 4.97 [△]
中药中剂量组	7	88.39 ± 27.13	62.30 ± 4.20* [△]	10.77 ± 1.72	20.80 ± 2.56* [△]	31.56 ± 3.55 [△]
中药高剂量组	9	88.51 ± 18.00	58.37 ± 5.57* [△]	12.20 ± 1.32 [△]	15.96 ± 2.48* [△]	28.15 ± 3.23 [△]

注: 与正常组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

表 2 各组大鼠左、右侧睾丸重量、体积和附睾重量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	左侧			右侧		
		睾丸重量 (g)	睾丸体积 (ml)	附睾重量 (g)	睾丸重量 (g)	睾丸体积 (ml)	附睾重量 (g)
正常组	6	1.63 ± 0.16	2.56 ± 0.27	0.37 ± 0.04	1.63 ± 0.16	2.60 ± 0.24	0.38 ± 0.02
模型组	7	1.71 ± 0.07	3.20 ± 0.25	0.41 ± 0.03	1.60 ± 0.08	3.12 ± 0.34	0.40 ± 0.04
中药低剂量组	7	1.76 ± 0.07	3.55 ± 0.18*	0.46 ± 0.02	1.76 ± 0.06	3.30 ± 0.09	0.40 ± 0.02
中药中剂量组	7	1.75 ± 0.12	3.28 ± 0.26*	0.39 ± 0.03	1.76 ± 0.11	3.18 ± 0.22	0.08 ± 0.32
中药高剂量组	9	1.71 ± 0.08	3.01 ± 0.20	0.36 ± 0.03	1.66 ± 0.07	2.95 ± 0.20	0.38 ± 0.01

注: 与正常组比较, * $P < 0.05$

共为佐药。益母草苦辛、微寒，活血通精；鸡血藤苦甘、温，补血活血通络，共为使药。纵观全方，寒温并用，补涩兼施，从而达到健脾益肾、活血养精的功效。

本研究结果显示，雷公藤多苷片连续给药 5 周后，大鼠精子活率及运动能力明显下降，尤其体现在 A 级或 B 级上，而大鼠精子密度与正常组无明显差异，说明雷公藤多苷片在不改变精子密度的条件下对精子活力有明确影响，采用雷公藤多苷片制备弱精子症病理模型的方法可靠。益肾活血方能明显提高弱精子症大鼠精子活力，但不能改善精子密度，同时并不能对睾丸重量、体积及附睾重量产生影响，仅仅中药低、中剂量组与正常组比较左侧睾丸体积组间有一定的差异，但还需更多样本加以佐证。总之，本研究基于精子活力低下症“肾虚血瘀”病机要素立论，用益肾活血方来论治，显示其对改善精子活力低下有一定的作用，但其科学内

涵研究及相关分子机制研究有待进一步探讨。

参考文献

- [1] Rowe PJ, Comhaire FH, Hargreave TB, et al. 世界卫生组织男性不育标准化检查与诊疗手册 [M]. 李铮, 张忠平, 黄翼然, 等, 译. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 1.
- [2] 王旭昀, 张宏, 孙占学, 等. 中医药治疗男子不育症研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2015, 33(4): 975-977.
- [3] 谭迎春, 陈子江. 补肾活血中药对弱精子症大鼠抗氧化作用的研究 [J]. 南京中医药大学学报, 2006, 22(4): 231-233.
- [4] 黄晨昕, 夏于芳. 益肾活血方治疗弱精子症 41 例临床观察 [J]. 江苏中医药, 2007, 39(2): 37-38.
- [5] 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.
- [6] 王琦, 秦国政. 王琦男科学 [M]. 河南: 河南科学技术出版社, 2007: 321.

Impact of *Yishen Huoxue Fang* (益肾活血方) on Sperm Quality of Asthenospermia Model Rats

YUAN Zhuojun¹, YUAN An², LIU Bing¹, MA Dong¹, MAO Pengfei¹, QIN Guozheng¹

(1. Yunnan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine/First Affiliated Hospital of Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming, Yunnan Province 650021; 2. Qujing First People's Hospital of Yunnan Province)

ABSTRACT Objective To observe the impact of *Yishen Huoxue Fang* on sperm quality of model rats with asthenospermia. **Methods** Fifty rats were randomized into normal group, model group and Chinese medicine high, middle and low dose groups, with 10 rats in each group. Rats were given 20 mg/ (kg · d) of tripterygium wilfordii hook tablets by gavage for 5 weeks to establish asthenospermia models except rats in normal group. After modeling successfully, Chinese medicine high, middle and low dose groups were given 15, 10, or 5 g/ (kg · d) of *Yishen Huoxue Fang* by gavage for 5 weeks, respectively. Normal and model groups were fed normally. After the last administration, bilateral testis of rats were taken, weight and volume of bilateral testis, as well as weight of bilateral epididymides were measured, and density, viability and motility of sperm were detected. **Results** There is no significant difference in sperm density between all groups ($P > 0.05$). Compared with in normal group, sperm viability and sperm of A grade, B grade and (A + B) grade decreased markedly in model group ($P < 0.05$). Compared with in model group, sperm viability and sperm of B grade and (A + B) grade increased significantly in Chinese medicine low, middle and high dose groups ($P < 0.05$). There were no significant differences in weight and volume of bilateral testis, as well as epididymides weight between model group and Chinese medicine low, middle and high dose groups ($P > 0.05$). **Conclusion** *Yishen Huoxue Fang* could improve sperm viability and motility, but could not improve sperm density of rats with asthenospermia, and it has little effect on testicular weight, testicular volume and epididymides weight.

Keywords asthenospermia; *Yishen Huoxue Fang*; sperm density; sperm motility

(收稿日期: 2015-02-26; 修回日期: 2015-05-28)

编辑: 邓 媛