

隔药灸脐法联合益肾通络方治疗肾阳虚络阻型特发性弱精子症不育的临床观察

张芳¹, 赵沛沛¹, 孙自学^{2*}, 陈建设², 陈翔², 李鹏超²

(1. 河南中医药大学第二临床医学院, 郑州 450008;

2. 河南省中医院, 郑州 450002)

[摘要] 目的:观察隔药灸脐法联合益肾通络方治疗肾阳虚络阻型特发性弱精子症不育的临床有效性及对精子DNA损伤和精浆超氧化物歧化酶(SOD)的影响。方法:将112例符合纳入标准的患者随机分为观察组和对照组各56例,观察组给予隔药灸脐法联合益肾通络方,对照组给予左卡尼汀口服液,主要观察指标为配偶妊娠率,前向运动精子率、精子总活力,次要观察指标为精子DNA碎片指数(DFI)、精浆SOD及中医证候改善状况。治疗周期为12周,治疗前后检查记录患者前向运动精子活率、精子总活力、精子DFI、精浆SOD及中医证候评分,并随访12周,记录24周(半年)内配偶妊娠情况,评价两组临床疗效。结果:观察组配偶受孕率15.69%(8/51),对照组3.85%(2/52),观察组配偶受孕率高于对照组,差异有统计学意义($\chi^2=4.118, P<0.05$);观察组总有效率88.24%(45/51),优于对照组的69.23%(36/52)($Z=-3.402, P<0.01$);与本组治疗前比较,两组患者治疗后前向运动精子活率、精子总活力、精子DFI、精浆SOD及中医证候改善有显著性差异($P<0.05$),且与对照组治疗后比较,观察组优于对照组($P<0.05$)。结论:隔药灸脐法联合益肾通络方治疗肾阳虚络阻型特发性弱精子症不育患者,可提升前向运动精子百分率、精子总活力及精浆SOD水平,降低精子DFI,改善患者中医症状,提高配偶受孕率,这可能与该疗法通过升高患者精浆中的SOD水平,增强机体抗氧化功能,保护精子免受氧化应激损伤,进而降低精子DFI有关。

[关键词] 男性不育症; 肾阳虚络阻; 隔药灸脐法; 特发性弱精子症; 益肾通络方

[中图分类号] R242; R2-031; R287; R256.56; R698+.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2023)04-0097-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20230493

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20221027.0835.002.html>

[网络出版日期] 2022-10-27 10:59:54

Clinical Observation on Herb-partitioned Moxibustion on Navel Combined with Yishen Tongluo Prescription in Treatment of Infertility Induced by Idiopathic Asthenozoospermia with Kidney-Yang Deficiency and Collateral Obstruction Syndrome

ZHANG Fang¹, ZHAO Peipei¹, SUN Zixue^{2*}, CHEN Jianshe², CHEN Xiang², LI Pengchao²

(1. The Second Clinical Medical College, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China;

2. Henan Province Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450002, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the clinical efficacy of herb-partitioned moxibustion on the navel combined with Yishen Tongluo prescription in the treatment of infertility induced by idiopathic asthenozoospermia (iAZS) with kidney-Yang deficiency and collateral obstruction syndrome and its effect on sperm DNA damage and superoxide dismutase (SOD) in the seminal plasma. **Methods:** A total of 112 eligible

[收稿日期] 2022-07-16

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81974573);河南省“中原英才计划”项目(ZYMY201809);河南省中医药科学研究重大专项(2022ZYD09);河南省防治生殖障碍疾病中医药重点实验室项目(2021ZDSYS10);河南省重点科技攻关课题(222102310100)

[第一作者] 张芳,在读博士,医师,从事中西医结合男科与生殖医学研究, E-mail: 356568584@qq.com

[通信作者] *孙自学,教授,博士生导师,从事中西医结合男科与生殖医学研究, Tel: 0371-60908730, E-mail: sunhzhx@163.com

patients who met the inclusion criteria were randomly divided into an observation group (56 cases) and a control group (56 cases). The patients in the observation group were treated with herb-partitioned moxibustion on the navel combined with Yishen Tongluo prescription, while those in the control group received levocarnitine oral liquid. The primary observation indicators included spouse pregnancy rate, progressive motility (PR), and total sperm motility, and the secondary observation indicators included sperm DNA fragmentation index (DFI), SOD in the seminal plasma, and improvement of TCM syndromes. The treatment cycle was 12 weeks. Before and after treatment, the PR, total sperm motility, sperm DFI, SOD in the seminal plasma, and TCM syndrome scores were recorded. The patients were followed up for 12 weeks and the pregnancy status of spouses within 24 weeks (half a year) was recorded. The clinical efficacy of the two groups was evaluated. **Result:** The pregnancy rate of spouses in the observation group was 15.69% (8/51), higher than 3.85% (2/52) in the control group ($\chi^2=4.118$, $P<0.05$). The total effective rate of the observation group was 88.24% (45/51), superior to 69.23% (36/52) in the control group ($Z=-3.402$, $P<0.01$). After treatment, PR, total sperm motility, sperm DFI, SOD in the seminal plasma, and TCM syndromes of the two groups were improved compared with those before treatment ($P<0.05$), and the observation group was superior to the control group ($P<0.05$). **Conclusion:** Herb-partitioned moxibustion on the navel combined with Yishen Tongluo prescription in the treatment of iAZS-induced infertility patients with kidney-Yang deficiency and collateral obstruction syndrome can increase PR, total sperm motility, and SOD level in the seminal plasma, reduce sperm DFI, improve the TCM symptoms of patients, and improve the pregnancy rate of spouses. The mechanism may be attributed to the fact that this treatment can increase the SOD level in the seminal plasma of patients, enhance the body's antioxidant function, protect sperm from oxidative stress damage, and reduce sperm DFI.

[Keywords] male infertility; kidney-Yang deficiency and collateral obstruction; herb-partitioned moxibustion method on the navel; idiopathic asthenozoospermia; Yishen Tongluo prescription

全世界近15%的育龄夫妇受不孕不育困扰^[1-2],其中男性原因约占50%^[3-4],且发病率逐年上升,影响家庭美满社会和睦,因此不孕不育不仅是一个医学问题,也是全人类共同面对的一个挑战。弱精子症作为导致男性不育症的常见原因之一,病因复杂,已知免疫、感染、内分泌等多种因素能使精子活力下降^[5-7],但临床上仍有一部分弱精子患者找不到明确的致病因素,当致病原因不明且精液参数中仅前向运动(PR)精子百分率 $<32\%$ 时被称为特发性弱精子症。特发性弱精子症作为男科常见疑难病,发病机制不明,现代医学尚无理想治疗方案^[8]。

中医学对男性不育症的认识源远流长,虽无“特发性弱精子症”的命名与记载,但依据其疾病特点及症状,可将其归纳为“精寒”“无子”“艰嗣”等范畴。《黄帝内经》指出肾精盛,天癸充,是男性生育能力的动力。中医学认为男性生育功能是脏腑、气血、经络各方面综合协调的结果,本病病位在肾,肾之精、气、阴、阳不足可影响其他脏腑经络功能,出现“久病多瘀,久病入络”的病理状态。治疗上除平衡肾之阴阳外,还应兼顾化瘀通络。益肾通络方是孙自学教授基于临床男性不育病机认识开发研制

而成,可益肾填精、活血通络,前期研究表明,治疗男性不育症疗效确切^[9-10]。目前肾虚络阻证型临床多见,运用中药联合外治疗法治疗本病本证型较少研究,近年来本团队采用隔药灸脐法联合益肾通络方治疗肾虚络阻型特发性弱精子症不育患者取得了较好效果。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究已经河南中医药大学第二临床医学院伦理委员批准(批号ZYKY202009-01)。研究对象为2020年10月至2021年8月于河南省中医院生殖医学科门诊就诊的符合标准的肾虚络阻型特发性弱精子症不育患者112例,采用随机数字表法分为观察组56例、对照组56例,观察组年龄26~38岁,平均 (32.33 ± 5.52) 岁;病程1~3年,平均 (1.69 ± 1.01) 年。对照组年龄27~37岁,平均 (32.46 ± 4.32) 岁;病程1~3年,平均 (1.79 ± 0.87) 年。经正态性检验和独立样本 t 检验,两组患者在年龄、病程方面差异无统计学意义,具有可比性;两组患者PR、精总活力、精子DNA碎片指数(DFI)、精浆超氧化物歧化酶(SOD)相关数据经正态性检验,均符合正态分布,且方差齐,经独立样本 t 检验,差异无统计学

意义,具有可比性。

1.2 诊断标准

1.2.1 西医诊断标准 参照《世界卫生组织人类精液检查与处理实验手册》^[11](第5版)制订。①育龄夫妇,性生活正常且未采取任何避孕措施,女方生殖能力正常,由于男方因素致女方在1年内不能自然受孕。②连续2次或2次以上精液常规检查,精子浓度 $\geq 15 \times 10^6$ 个/mL,前向运动精子百分率PR $< 32\%$,即为弱精子症。③原因不明^[12]。①②③同时具备,诊断为特发性弱精子症不育。

1.2.2 中医辨证标准 参照《中药新药临床研究指导原则》^[13]并结合本次研究拟定肾虚络阻证的辨证标准。主证为婚久不育。次证为①精液清稀;②腰膝酸软;③形寒肢冷、畏寒喜暖;④小便清长,夜尿频多;⑤会阴部或盆腔区域疼痛不适。舌脉为舌质暗有瘀点或瘀斑或舌下脉络增粗,脉沉或涩。凡具备主证,并兼具次证①⑤或②⑤或③⑤或④⑤,并结合舌脉情况即可辨证为肾虚络阻证。

1.3 纳入标准 ①符合上述诊断及辨证标准;②年龄22~48岁(含22、48岁);③入组前3个月,未服用对本研究有影响的药物;④性功能正常,经全身相关基础指标检查及泌尿生殖系统专科检查无明确病因;⑤自愿签署知情同意书者接受本研究。同时具备以上5个条件,纳入本次临床研究。

1.4 排除标准 ①染色体检查、内分泌等检查异常者;②死精子症、少精子症、无精子症等及生殖器官有器质性病变者;③心脑血管、肝肾系统、造血功能等异常疾病;④合并急性前列腺炎、附睾结核、隐睾、精索静脉曲张等可影响精液质量的疾病者;⑤过敏体质或对本药过敏及肝、肾功能不全者;⑦有严重影响精液质量的不良习惯及精神病患者(如长期嗜酒、吸烟、熬夜、蒸桑拿等)。

1.5 病例脱落、剔除及中止标准 脱落标准:受试者中途自行退出者,失访者。

剔除标准:未按医嘱治疗者,受试者在观察期间出现其他病情及情况,对精子质量造成影响者;误诊,入组后发现受试者不符合方案规定的纳入标准;纳入后不配合,无任何数据者。

退出标准:出现并发症及不良反应,不适合继续参与者,或治疗期间配偶怀孕者。

1.6 治疗方法 观察组给予隔药灸脐法联合益肾通络方,益肾通络方组成为菟丝子20g、熟地黄10g、淫羊藿20g、丹参30g、黄芪20g、川牛膝10g、烫水蛭6g,以上中药均为河南省中医院同一批次

药物,并由河南省中医院汪坤主管中药师鉴定合格,采用YJD20D-GL型煎药机(北京东华原医疗设备有限公司)经常规水煎煮2次,合并药液至400mL,每次200mL,分早、晚2次饭后1h温服。隔药灸脐法:①协助患者取仰卧位,松解衣着,注意保暖,保护隐私;②放置一次性洞巾、防火布,再将药饼置于脐部;药饼上方放置木板,孔心正对脐心,将艾柱盒置于药饼之上,正对脐中心;③点燃艾柱,自艾柱顶端自然燃尽,用镊子及时夹取灰烬,燃尽后更换第2根,以患者感觉温热为宜并告知患者注意事项,连续施灸5柱,1.5~2h;④待艾柱燃尽,撤去木板、洞巾及防火布,嘱患者勿受凉,平躺10min后离去。每周1次。

对照组给予左卡尼汀口服液(东北制药集团沈阳第一制药厂生产,国药准字H1990372,10mL \times 6支)每次10mL,每日3次,餐时口服治疗。两组疗程均为12周(或至配偶受孕),并进行12周随访。

注意事项:①用药过程中所有纳入对象不得接受本治疗方案以外的其他治疗;禁止纳入者吸烟、酗酒;避免高温、辐射等影响精液质量的不良环境因素。②嘱患者规律作息,清淡饮食,适度劳作。

1.7 观察指标

1.7.1 疗效性指标 主要观察指标:①配偶怀孕率;②精液检查,治疗前后禁欲3~5d,采用塞司SAS-II型精子质量分析仪[赛司医疗科技(北京)有限公司],检测PR、精子总活力[PR+非前向运动(NP)]等参数。

次要观察指标:①精子DFI,采用BD Accuri™ C5型流式细胞仪(美国BD Pharmingen公司)上样检测,试剂盒购自浙江星博生物科技股份有限公司(批号200901),医疗器械注册证书编号为浙甬械备20160053号。正常参考值为DFI $< 30\%$ 。②SOD,具体操作严格按照仪器及试剂说明书操作,试剂盒购自南京欣迪生物药业工程有限责任公司(批号04092101),医疗器械注册证书编号为苏械注准20172400749。③中医证候改善情况。

1.7.2 安全性指标 观察试验前后心电图,血、尿常规,肝、肾功能及不良反应的症状、体征。

1.8 疗效评定标准 参照《世界卫生组织人类精液检查与处理实验手册》^[11](第5版)有关内容拟订。痊愈为配偶怀孕(治疗期间或随访期内);显效为治疗后PR达正常值,即PR $\geq 32\%$,但配偶未怀孕;有效为治疗后PR值虽不正常,即PR $< 32\%$,但较治疗前有所提升;无效为治疗前后无变化,甚至较治疗前

有所下降。

1.9 统计学方法 所有统计学分析采用SPSS 25.0软件进行数据处理。痊愈率采用卡方检验;临床疗效采用秩和检验;计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,符合正态分布时,组间比较采用独立样本 t 检验,组内比较则采用成对样本 t 检验;若不符合正态分布,组间比较用独立样本秩和检验,组内比较用配对样本秩和检验;所有统计结果均以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者病例脱落及剔除情况 最终获得有效病例103例,观察组51例,对照组52例(观察组2例因疫情中途断药脱落,2例选择辅助生殖自愿退

出而脱落,1例失联脱落;对照组2例因疫情中途断药脱落,2例未规律服药剔除)。

2.2 两组患者配偶受孕情况比较 观察组配偶受孕8例(治疗期间怀孕3例,随访期间怀孕5例),受孕率15.69%(8/51),对照组配偶受孕2例(治疗期间怀孕1例,随访期间怀孕1例),受孕率3.85%(2/52),观察组配偶受孕率高于对照组,差异有统计学意义($\chi^2=4.118, P<0.05$)。

2.3 两组患者临床疗效比较 观察组痊愈8例,显效24例,有效13例,无效6例;对照组痊愈2例,显效9例,有效25例,无效16例,经秩和检验分析,观察组患者临床有效率为88.24%高于对照组的69.23%,差异有统计学意义($Z=-3.402, P<0.01$)。见表1。

表1 两组患者临床疗效比较

Table 1 Comparison of clinical efficacy between two groups

组别	例数	痊愈/例	显效/例	有效/例	无效	总有效率/%
观察组	51	8	24	13	6	88.24 ¹⁾
对照组	52	2	9	25	16	69.23

注:与对照组比较¹⁾ $P<0.01$

2.4 两组患者治疗前后精液参数变化比较 与本组治疗前比较,两组患者PR、PR+NP均较前增加,差异有统计学意义($P<0.05$);与对照组治疗后比较,观察组PR、PR+NP均增加明显($P<0.05$)。见表2。

表2 两组患者治疗前后精子活力比较($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of sperm motility before and after treatment between two groups ($\bar{x}\pm s$) %

组别	例数	时间	PR	PR+NP
观察组	48	治疗前	20.16±6.05	28.66±7.66
		治疗后	34.59±14.82 ^{1,2)}	47.18±18.52 ^{1,2)}
对照组	51	治疗前	21.46±6.22	29.94±8.44
		治疗后	25.37±12.60 ¹⁾	35.70±15.80 ¹⁾

注:与本组治疗前比较¹⁾ $P<0.05$;与对照组治疗后比较²⁾ $P<0.05$ (表3和表4同)

2.5 两组患者治疗前后精子DFI变化比较 与本组治疗前相比较,两组患者治疗后精子DFI均较前降低,差异有统计学意义($P<0.05$);与对照组治疗后比较,观察组精子DFI改善优于对照组($P<0.05$)。见表3。

2.6 两组患者治疗前后精浆SOD水平比较 与本组治疗前相比较,两组患者精浆SOD水平均较前提高,差异有统计学意义($P<0.05$);与对照组治疗后比较,观察组精浆SOD水平明显升高($P<0.05$)。见表4。

表3 两组患者治疗前后DFI比较($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of DFI before and after treatment between two groups ($\bar{x}\pm s$) %

组别	例数	治疗前	治疗后
观察组	48	18.21±6.91	13.18±3.63 ^{1,2)}
对照组	51	19.02±6.05	15.15±4.73 ¹⁾

表4 两组患者治疗前后SOD水平比较($\bar{x}\pm s$)

Table 4 Comparison of SOD levels before and after treatment between two groups ($\bar{x}\pm s$) U·mL⁻¹

组别	例数	治疗前	治疗后
观察组	48	110.58±22.63	158.85±31.46 ^{1,2)}
对照组	51	112.00±21.28	145.96±20.58 ¹⁾

2.7 两组患者治疗前后中医证候积分及单一症状改善情况比较 治疗前两组患者中医的证候积分分别为(26.15±5.22)分、(26.83±5.25)分,差异无统计学意义,具有可比性。与本组治疗前比较,同组中医证候积分均降低,观察组与对照组分别为(14.69±3.538)分、(18.78±4.187)分,差异具有统计学意义($P<0.05$);两组组间比较,观察组中医证候积分降低更加明显,差异有统计学意义($P<0.05$),且观察组在腰膝酸软,形寒肢冷、畏寒喜暖,小便清长、夜尿频多,会阴部或盆腔区域疼痛不适症状方面疗效更好,单一症状病例改善率均>70%。见表5。

2.8 安全性指标的评价 在治疗观察期间,两组

表5 两组患者治疗前后中医单一症状病例改善情况比较
Table 5 Comparison of improvement of single symptom cases in TCM before and after treatment in two groups of patients

组别	症状	治疗前 /例	治疗后 /例	改善 率/%
观察组	精液清稀	31	13	58.1
	腰膝酸软	43	11	74.4
	形寒肢冷、畏寒喜暖	44	11	75.0
	小便清长、夜尿频多	40	11	72.5
	会阴部或盆腔区域疼痛不适	42	12	71.4
	舌质暗有瘀点、瘀斑或舌下脉络增粗	40	20	55.0
	脉沉或涩	34	19	44.1
对照组	精液清稀	29	10	65.5
	腰膝酸软	41	13	68.3
	形寒肢冷、畏寒喜暖	44	18	59.0
	小便清长、夜尿频多	38	19	50.0
	会阴部或盆腔区域疼痛不适	46	28	37.5
	舌质暗有瘀点、瘀斑或舌下脉络增粗	48	29	39.5
	脉沉或涩	41	24	41.4

患者均未出现不良反应,两组患者的血压、脉搏、呼吸、心率等生命体征及血常规、肝肾功能等辅助检查均未出现具有临床意义的异常情况。

3 讨论

男性不育症发病率日益增高,严格来说,男性不育症不是一个独立性疾病,而是其他诸多疾病或多种因素共同作用的结果,弱精子症是导致其发病的重要原因之一,特发性弱精子症约占弱精子患者的75%^[14]。现代医学在特发性弱精子症在治疗方面尚无理想治疗方案,如何改善患者的精子活力,提高特发性弱精子症不育患者的配偶妊娠率,是当前研究的热点问题。中医学并无“特发性弱精子症不育”这一病名,一般将其归属于“无子”“艰嗣”等范畴,《黄帝内经》奠定肾为中心的中医生殖学说基础,认识到肾在男性不育症发病中的主导作用。传统观点认为,男性不育症的基本病机为“肾虚”。本课题组基于大量临床与文献研究,提出“肾虚络阻”为男性不育的核心病机,肾乃先天之本,元阴元阳所居之所,藏精气而不泻,若肾阳亏虚,温煦功能失职,无法蒸化肾阴化生精气,易导致“精冷”“精寒”,命门火衰,化生无能则可出现精子存活率低,活力弱的现象,所以,精子活动力高低由肾阳的盛衰所决定,精子活动力差者,多属肾阳不足;且子系位于下焦,为经络气血密集交织之所,容易受到其他病邪侵袭,易出现易虚易瘀的病理改变。若肾中之阳亏虚,推动、温煦不足,脉中精血不能正常循行,易

使脏腑经络功能失调,出现“久病入络”的病理状态。因此络脉瘀阻不仅是致病因素,也是病理产物。而且现代研究表明温肾助阳类中药可提高睾丸组织的抗氧化水平,促进睾酮分泌、抑制睾丸组织细胞凋亡,起到保护雄性生殖系统,提高精子活力的作用^[15-17];通络之品具有抗炎消减纤维结构增生作用,可通过改善局部微循环,加快病理产物代谢速度,调节睾丸、附睾生精内环境,从而提高不育症的治疗效果^[18-19]。

基于本病肾虚且络阻的证型特点,在补肾温阳,活血通络治法的指导下,课题组采用隔药灸脐法联合益肾通络方治疗。益肾通络方临床应用近二十年,在治疗男性不育方面,取得了较好的临床疗效^[20-22],实验研究证实本方能够提高大鼠睾丸组织SOD水平,降低MDA含量,修复腺嘌呤造成的大鼠氧化应激损伤^[23],还可防护由环境污染物引起的精子DNA损伤,维持精子DNA甲基化稳定性^[24]。方中菟丝子、熟地黄益肾滋阴、填精生髓;淫羊藿温阳补肾,三药配伍滋而不腻,温而不燥,阴阳相助,生化无穷,且有“阴中求阳”之义,为生精提供物质基础;气为血之帅,气行则血行,黄芪乃益气要药,为历代所推崇,丹参、川牛膝、烫水蛭活血化瘀通络,且川牛膝性善下行,引领诸药直达病所,益气药与活血通络药相配伍,则益气而不呆滞,通络而不伤气,诸药配伍,共补肾温阳,活血通络之功。

灸脐法作为中医常用外治法之一,施术部位为肚脐,即神阙穴所在^[25]。《医学源始》云:“脐者,肾间动气也……上至泥丸,下至涌泉”,该穴在脐中,为先天之命蒂,又为后天之气舍,介于中、下焦之间,通五脏六腑,联全身血脉,是真气的存贮之处;《黄帝内经·素问》曰:“任脉者,起于少腹,直上贯脐中央。”又曰:“冲脉者……挟脐上行,至胸中而散”,神阙穴为冲任循行之所,故与生殖系统关系密切^[26];另有研究表明艾灸活血通络的作用机制可能是通过改善人体微循环,调节血液流变学指标来完成^[27]。循“外治之法即内治之法”的原则,课题组以“沉香、丁香、肉桂”等药物为主按一定比例配制药饼,于此穴隔药灸脐,通过药熨、艾灸刺激神阙穴,用艾的纯阳性质加上火本属阳,两阳相得,刺激穴位,发挥药与灸的双重作用,达到振奋阳气、温通经络之效。

精子DNA碎片指数反应DNA链的完整程度,在胚胎发育前景和精子活率调节中起到关键作用,是精子质量优劣程度的重要评价指标,可与精液分析协同评估精子质量,与男性生育能力的高低密

切相关^[28]。氧化应激损伤是导致精子DNA碎片(SDF)产生的机制之一,对精子功能产生严重影响^[29]。研究表明体内过量活性氧分子可以诱导DNA损伤,然而精液中富含一系列抗氧化剂成分,可形成抗氧化防御系统,SOD被认为是抗氧化防御的第一道酶防线,如果精浆SOD缺乏会对精子数量、活力产生负面反应,同时可将未成熟精子产生的超氧阴离子分解为过氧化氢来防止质膜脂质过氧化,作为自由基清除剂防止精子DNA损伤^[30-31]。研究还发现,活性氧分子对精子DNA链的损伤,不仅发生在睾丸内,也同时发生在男性生殖道运输过程中^[32]。本研究结果显示,治疗后观察组精浆SOD水平上升,精子DFI下降,两组治疗后PR、精子总活力比较,差异有统计学意义,这可能与该疗法通过升高患者精浆中的SOD水平,增强机体抗氧化功能,保护精子免受氧化应激损伤,进而降低精子DFI,提高了精子活力。

综上所述,隔药灸脐法联合益肾通络方治疗肾阳亏虚型特发性弱精子症患者,可以增强精子质量,提高配偶妊娠率,同时研究发现,治疗后观察组在腰膝酸软、形寒肢冷、畏寒喜暖,小便清长,夜尿频多,会阴部或盆腔区域疼痛不适症状等改善方面,明显优于对照组;治疗后两组精浆SOD、DFI、PR、精子总活力比较,差异有统计学意义,治疗和随访期间观察组配偶妊娠率也优于对照组,其作用机制可能与精浆SOD升高清除体内过剩氧自由基,维持体内正常氧化还原平衡状态,降低氧化应激对精子细胞产生的损伤,减少精子DNA碎片有关,但其具体机制有待继续研究探讨,且本临床研究为单中心、小样本的探索性研究,相关结论有一定局限性,仍需要后续多中心、大样本的临床研究予以支持和验证。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

[1] KUMAR N, SINGH A K. Trends of male factor infertility, an important cause of infertility: A review of literature[J]. *J Hum Reprod Sci*, 2015, 8(4):191-196.
[2] 路兴军,李晓东,孙立宁,等. 男性不育症病因研究进展[J]. *中国生育健康杂志*, 2018, 29(4):399-401.
[3] JUNGWIRTH A, GIWERCMAN A, TOURNAYE H, et al. European Association of Urology guidelines on male infertility: The 2012 update[J]. *Eur Urol*, 2012, 62(2):324-332.
[4] BARRATT C, BJÖRNDAHI L, DE JONGE C J, et al. The diagnosis of male infertility: An analysis of the evidence to support the development of global WHO

guidance-challenges and future research opportunities [J]. *Hum Reprod Update*, 2017, 23(6):660-680.
[5] VOISIN A, SAEZ F, DREVET J R, et al. The epididymal immune balance: A key to preserving male fertility[J]. *Asian J Androl*, 2019, 21(6):531-539.
[6] MCGRIFF S C, LO E M, HOTALING J M, et al. Optimal endocrine evaluation and treatment of male infertility [J]. *Urol Clin North Am*, 2020, 47(2):139-146.
[7] 王素梅,艾斯卡尔·阿曼,任黎刚. 男性不育患者生殖道感染与精液参数的临床研究[J]. *临床泌尿外科杂志*, 2020, 35(12):996-999.
[8] GARG H, KUMAR R. Empirical drug therapy for idiopathic male infertility: What is the new evidence? [J]. *Urology*, 2015, 86(6):1065-1075.
[9] 张芳,孙自学,邱荃,等. 益肾通络方治疗少弱精子型男性不育症肾虚瘀阻证的临床疗效[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(11):112-116.
[10] 郝高利. 益肾通络方对特发性弱精子症不育患者精子DNA完整性的影响[D]. 郑州:河南中医学院, 2015.
[11] 谷翊群,陈振文,卢文红,等,译. 世界卫生组织. 世界卫生组织人类精液检查与处理实验室手册(第5版)[M]. 北京:人民卫生出版社, 2011:16-20.
[12] 陆金春,黄宇烽. 特发性精液质量异常的诊断与治疗[J]. *中华男科学杂志*, 2012, 18(1):3-10.
[13] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2002:383-387.
[14] GUNES S, ARSLAN M A, HEKIM G N T, et al. The role of epigenetics in idiopathic male infertility [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2016, 33(5):553-569.
[15] 刘桂敏,白雪,汤轶波,等. 菟丝子防治男性不育研究进展[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2021, 23(4):162-166.
[16] OPFERMAN J T, KOTHARI A. Anti-apoptotic Bcl-2 family members in development[J]. *Cell Death Differ*, 2018, 25(1):37-45.
[17] DAI Z, LAI J R. Isolation of synthetic antibodies against Bcl-2-associated X protein (BAX) [J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 1877:351-357.
[18] 胡哲,张静,郭鹏年. 局部应用水蛭素对大鼠血管吻合模型术后血栓形成的观测[J]. *卫生职业教育*, 2014, 32(24):84-86.
[19] 刘秀. 川牛膝化学成分研究[D]. 哈尔滨:黑龙江中医药大学, 2015.
[20] 孙自学,陈翔,祝莉,等. 益肾通络方治疗肾虚络阻型特发性死精子不育症疗效观察[J]. *中华中医药杂志*, 2021, 36(2):1185-1188.
[21] 张华,孙自学. 益肾通络方治疗慢性前列腺炎肾虚血瘀证的临床观察[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(21):182-187.
[22] 张一征,孙自学. 孙自学以肾虚络阻为基本病机治疗

- 弱精子症经验[J]. 中国性科学, 2021, 30(12): 98-100.
- [23] 薛铮. 益肾通络方对腺嘌呤法不育模型大鼠睾丸SOD、MDA和血清FSH、LH、T的影响[D]. 郑州: 河南中医药大学, 2017.
- [24] 孙自学, 张宸铭, 李鹏超, 等. 益肾通络方对苯并(a)芘染毒雄性大鼠精子DNA甲基化改变的防护作用[J]. 中华男科学杂志, 2019, 25(2): 154-159.
- [25] 刘畅, 王琛琛, 王泉, 等. 消胀贴神阙穴贴敷治疗脓毒症胃肠功能障碍的理论阐释[J]. 中国中医急症, 2014, 23(12): 2230-2232.
- [26] 郑寅, 邢翹楚, 黄少毅, 等. 《太极六合针法》中蕴含的针灸治病原理[J]. 中医药导报, 2020, 26(6): 51-53.
- [27] 谭琳莹, 刘慧荣, 吴焕淦, 等. 艾灸疗法活血化瘀作用研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2009, 27(2): 272-274.
- [28] 张耀东, 颜宏利. 精子DNA碎片与男性不育症相关性研究进展[J]. 发育医学电子杂志, 2022, 10(2): 146-151.
- [29] ALAHMAR A T, CALOGERO A E, SINGH R, et al. Coenzyme Q10, oxidative stress, and male infertility: A review [J]. Clin Exp Reprod Med, 2021, 48(2): 97-104.
- [30] HO C, VAUGHAN-CONSTABLE D R, RAMSAY J, et al. The relationship between genitourinary microorganisms and oxidative stress, sperm DNA fragmentation and semen parameters in infertile men [J]. Andrologia, 2022, 54(2): e14322.
- [31] 李洋, 金磊, 周云. 氧化应激对男性不育症影响的研究进展[J]. 中华全科医学, 2020, 18(10): 1729-1734.
- [32] 赵盼盼, 王祖龙, 陈如兵. 五味扶正益精汤对男性不育患者精子DNA完整性的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, doi: 10.13422/j.cnki.syfjx.20230397.

[责任编辑 王鑫]

·书讯·

循环肿瘤DNA甲基化在卵巢癌中的诊断研究

——评《肿瘤的细胞和分子生物学》

卵巢癌是女性生殖器官常见的恶性肿瘤,其死亡率占各类妇科肿瘤的首位。根据癌细胞的组织来源,多见于上皮性癌,包括浆液性癌、黏液性癌、子宫内膜样癌、透明细胞癌。目前卵巢癌诊疗研究的突破点是多指标筛查谱和基因检测,随着技术的发展和研究的深入,大量临床研究通过分析卵巢癌循环肿瘤DNA中的甲基化与肿瘤诊断治疗的相关性,探索其可能的临床应用价值。循环肿瘤DNA是血液中由肿瘤细胞释放的DNA片段,含有癌症相关基因突变和表观遗传学变异。DNA甲基化变异是发生于癌变早期,随肿瘤进展动态变化的一类表观遗传学改变。液体活检循环肿瘤DNA甲基化具有无创、靶分子稳定、成本效益良好、诊断性能高、应用范围广等优势,监测其水平有助于肿瘤的早期诊断、预后评估。循环肿瘤DNA甲基化在肿瘤筛查、早诊诊断、微小残留病灶和复发监测、疗效评价、指导靶向药物使用及生存评估等各方面均具有一定的临床应用前景。

《肿瘤的细胞和分子生物学》郑杰主编,由北京:军事医学科学出版社2014年4月出版。系统的介绍了人类肿瘤的一般生物学特点,从DNA,NA操作以及蛋白质处理等基本的分子生物学技术开始,着重介绍了基因表达、基因敲除、蛋白质与DNA,蛋白与蛋白质相互作用等基因功能研究方法,并结合当今肿瘤表观遗传学研究的进展,重点介绍了甲基化,miRNA研究的主要策略。卵巢癌甲基化检测主要用于卵巢癌的早期诊断和预后分析治疗等,在不改变基因序列的情况下,对个体的生长、发育、基因表达模式以及基因组的稳定性起到重要的调控作用。DNA甲基化标志物对卵巢癌的早期检测具有重要的临床意义,其表现在原癌基因甲基化水平降低,抑癌基因和DNA修复基因由于超甲基化而沉默,使得癌细胞增值的指令加强,从而导致卵巢癌细胞的增值不受控制。循环肿瘤DNA甲基化与卵巢癌研究,可以得出卵巢癌的特异性信息,通过这些信息可以得知卵巢癌的发展程度及卵巢癌的位置和恶化的风险。在卵巢癌早期,DNA序列已经出现了整体低甲基化的趋势和高甲基化的改变。但由于卵巢癌早期血浆中的循环肿瘤DNA水平很低,低甲基化检测在早期癌变中不敏感,不同阶段癌症的血浆循环肿瘤DNA水平也有差异,因此可以通过体液检测循环肿瘤DNA的水平和甲基化特征来实现肿瘤的早期诊断及分期。异常的DNA甲基化可以提示肿瘤的侵袭性和手术切除后复发的风险,卵巢癌细胞中不同的基因发生了甲基化,说明肿瘤发生过程中有不同途径参与。循环肿瘤DNA经过循环系统进入血液,通过采集血液检测相应循环肿瘤DNA甲基化水平,来判断肿瘤的发生情况,其具有较高的一致性,使得DNA甲基化检测在卵巢癌诊断、监测、治疗效果和预后判断等方面比检测肿瘤特异突变更为广泛。循环肿瘤DNA甲基化检测的临床应用是进一步向治疗随访、分层管理及早癌筛查方向迈进,是用于诊断、预后、治疗反应还是其他目的,都将释放出在预测研究中利用循环肿瘤甲基化特性的巨大潜力。DNA甲基化标记因其敏感性、特异性和易于分析而具有成为常规临床癌症生物标志物的潜力。DNA甲基化能够持续监控表观基因组,并有机会适应适当的生活方式或实施早期的临床干预措施,从而避免癌症等重大健康问题,将会大大减少卵巢癌发病率,根据患者具体情况,进行更个性化的精准治疗,减少过度治疗和治理不足的情况,能够尽早发现卵巢癌增加了有效治疗和适当监测疾病的机会,提高患者的生存率。循环肿瘤DNA甲基化可反映卵巢癌基因组信息,其甲基化作为一种重要的表观遗传修饰,可能成为卵巢癌早期诊断、治疗方案选择、疗效评估及预后判断时的重要手段,从而推进精准医疗的实施。

《肿瘤的细胞和分子生物学》为满足广大医务人员、科研工作者不断学习的需要,全书内容涉及生命科学的不同领域,较好地反映了该领域的前沿水平,因此,对从事生物学、医学研究的人员和临床医护工作者来讲,也是一本有用的参考书。

(作者张亚明,河北北方学院附属第一医院,河北张家口 075000)