

加味五子衍宗丸对实验性精索静脉曲张大鼠睾丸组织 SOD, MDA 的影响

王祖龙^{1*}, 蒋平², 孙自学¹, 余欣慧³

(1. 河南省中医院生殖中心, 郑州 450002; 2. 中国人民解放军第 91 医院泌尿外科, 河南 焦作 454003; 3. 湖北中医学院, 武汉 430000)

[摘要] 目的: 探讨加味五子衍宗丸对实验性精索静脉曲张大鼠睾丸组织超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)的影响。方法: 3月龄雄性SD大鼠, 采用肾静脉缩窄法建立精索静脉曲张的病理模型, 造模后随机分为模型对照组、加味五子衍宗丸低、高剂量组各15只。48d后开始给药, 连续60d, 取出左侧睾丸, 匀浆, 分别检测其SOD, MDA水平。结果: 模型组大鼠睾丸组织液中SOD活性显著降低, MDA含量显著升高($P < 0.01$); 加味五子衍宗丸低、高剂量组大鼠睾丸组织中SOD活性较模型对照组升高, MDA含量较模型对照组降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。结论: 加味五子衍宗丸能显著提高模型大鼠睾丸组织SOD水平, 降低MDA水平。

[关键词] 精索静脉曲张; 男性不育症; 加味五子衍宗丸; 自由基; 超氧化物歧化酶; 丙二醛

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)10-0173-02

精索静脉曲张(VC)是导致男性不育的重要原因, 据有关资料统计约占男性不育的20%~42%, 临床缺乏有效治疗方法, 成为男科棘手疾病之一^[1]。加味五子衍宗丸是我们在古方的基础上, 结合临床经验, 开发研究而成, 具有益肾活血、化瘀通络之功能。前期临床观察表明, 该方对精索静脉曲张所致的精子数减少、精子活力低下、存活率降低具有较好的改善作用, 可以明显提高配偶的怀孕率。本研究拟从自由基角度, 探讨该方对精索静脉曲张性不育的作用机制, 为中医药诊治精索静脉曲张性不育提供理论依据。

1 材料

1.1 动物 雄性SD大鼠60只, 清洁级, 3月龄, 体重(180~220)g, 河南省实验动物中心提供。

1.2 药品和试剂 加味五子衍宗丸由菟丝子、枸杞子、覆盆子、五味子、车前子、穿山甲、水蛭等免煎药物组成, 由河南省中医院三九免煎制剂室提供。临用时用双蒸水配成含生药0.6, 1.2 g·mL⁻¹的混悬液。SOD(批号20060531), MDA(批号20060601)试剂盒由南京建成生物工程研究所提供。

1.3 仪器 721-100可见光分光光度计(南京凌科分析仪器应用研究所); 低速台式离心机(LD4-2A型, 北京雷勃尔有限公司); 电热恒温水浴箱(ZD-420型, 杭州蓝天仪器有限公司); 组织匀浆器(容积15 mL, 上海博通经贸有限公司)。

2 方法

2.1 造模 参照Sa Pol法^[2], 大鼠用3%戊巴比妥钠40 mg·kg⁻¹ ip麻醉后, 仰位固定, 常规消毒, 腹部切口, 暴露左侧肾静脉、肾上腺静脉、睾丸静脉和下腔静脉, 于肾上腺静脉和睾丸静脉内侧、下腔静脉外侧用微血管钳小心分离肾静脉深面, 穿一根3/0丝线, 置一自制金属探针(直径1.03 mm)于肾静脉前壁, 将静脉与金属探针一同结扎, 小心拔出探针, 使肾静脉部分复通, 然后寻找左精索内静脉与左髂总静脉之间的交通支, 确定后仔细分离, 用丝线结扎, 逐层缝合腹壁; 假手术组只行肾静脉分离, 不缩窄左肾静脉。术后im青霉素钠(20万U/只), 1次/d, 连续3d以预防感染, 喂食标准饲料, 继续饲养48d。

2.2 分组及给药 将造模成功的大鼠随机分为3组: 模型对照组, 加味五子衍宗丸低剂量组和高剂量组, 每组15只; 剩余的15只假手术组大鼠作为空白对照组。

空白组与模型组生理盐水10 mL·kg⁻¹ ig, 加味五子衍宗丸低、高剂量组以6, 12 g·kg⁻¹ ig, 1次/d, 连续60d。

[收稿日期] 2010-03-08

[通讯作者] * 王祖龙, 硕士, 副教授, 从事男科医疗、教学、科研工作, Tel: 13303856925, E-mail: wangzulong123@126.com

2.3 处理及指标观察 用药 60 d 后, 每组随机取 10 只大鼠, 脱臼处死, 取出左侧睾丸, 用 4℃ 预冷的生理盐水洗净血液, 滤纸吸干水分, 用剪取一部分睾丸组织, 称重, 用生理盐水制备成 10% 的睾丸组织匀浆, 4 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取上清液置 0℃ 保存待测。SOD 采用黄嘌呤氧化酶法; MDA 采用 TBA 法。

2.4 统计学处理 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较用方差分析及 *q* 检验。

3 结果

由表 1 可知, 模型组大鼠睾丸组织 SOD 活性显著降低、MDA 含量显著升高 ($P < 0.01$); 加味五子衍宗丸低剂量组大鼠睾丸组织中 SOD 活性较模型组升高, MDA 含量较模型组降低 ($P < 0.05$); 高剂量组大鼠睾丸组织 SOD 活性较模型组明显升高, MDA 含量较模型组明显降低 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。

表 1 加味五子衍宗丸对模型大鼠睾丸组织 SOD, MDA 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 / g·kg ⁻¹	SOD / u·mg ⁻¹	MDA / mol·mg ⁻¹
空白	-	209.1 ± 11.5 ²⁾	54.0 ± 1.5 ²⁾
模型	-	159.7 ± 12.5	90.1 ± 1.4
加味五子衍宗丸	6	175.8 ± 10.5 ¹⁾	79.3 ± 1.2 ¹⁾
	12	193.0 ± 14.5 ²⁾	66.5 ± 0.9 ²⁾

注: 与模型组比较 ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。

4 讨论

自由基损害是精索静脉曲张导致不育的病理因素之一^[3]。正常情况下, 精子可生成一定程度的受控的活性氧, 它与精子的生理功能有关, 如精子获能及顶体反应等。由于人精子膜上富含不饱和脂肪酸, 易受活性氧的过氧化伤害, 当活性氧的产生超出了抗氧化系统的清除能力时, 则会对精子产生毒性作用, 引起精子膜脂质过氧化, 使其形态、功能及代谢异常, 从而导致男性不育^[4-6]。采用 TUNEL 技术检测人的精子在过量活性氧条件下 DNA 的完整性, 发现活性氧可损害精子 DNA, 产生异常增多的 DNA 片段, 影响精子的发育、成熟, 而抗氧化剂如 SOD 可抑制这种 DNA 损伤^[7]。

本研究发现模型组大鼠睾丸组织液中 SOD 活

性显著降低, MDA 含量显著升高, 说明模型组睾丸组织内自由基生成增多, 抗自由基能力下降, 精子功能受到损害。与模型组相比, 加味五子衍宗丸大鼠睾丸组织液中 SOD 活性明显升高, MDA 含量明显降低, 说明加味五子衍宗丸具有抗自由基损害及清除自由基、保护精子生理功能的作用。

加味五子衍宗丸由菟丝子、枸杞子、覆盆子、五味子、车前子、穿山甲、水蛭等药组成, 有益肾生精、活血通络之功。前期临床观察亦发现其疗效肯定, 不仅能够消除症状, 提高生育率, 使部分轻度患者免除手术之苦, 而且对必须手术的患者, 手术治疗之后用之治疗, 亦可以加快修复已经受损的生精组织功能, 更好地促进睾丸血液循环, 改善精液质量, 进一步提高生育率。

[参考文献]

- [1] 邓春华, 辛钟成, 李宏军. 男科病诊治学 [M]. 广州: 羊城晚报出版社, 2004, 1: 277.
- [2] 俞建军, 徐月敏. 精索静脉曲张大鼠模型复制的改进 [J]. 中华泌尿外科杂志, 2005, 26(2): 120.
- [3] 秦文波, 王淑秋, 王跃生. 氧自由基与精索静脉曲张不育关系的研究 [J]. 中华泌尿外科杂志, 1996, 17(11): 689.
- [4] Gzbek E, Turkoz Y, Gokdeniz R, et al. Increased nitric oxide production in the spermatic vein of patients with varicocele [J]. Eur Urol, 2000, 37(2): 172.
- [5] Yildiz O, Gul H, Ozgok Y, et al. Increased vasoconstrictor reactivity and decreased endothelial function in high grade varicocele; functional and morphological study [J]. Urol Res, 2003, 31(5): 323.
- [6] Romeo C, Ientile R, Impellizzeri P, et al. Preliminary report on nitric oxide media tedoxidative damage in adolescent varicocele [J]. Hum Reprod, 2003, 18(1): 26.
- [7] 曹国华, 陈吉棣, 刘小鹏, 等. 缺锌及补锌对鼠脂质过氧化与超氧化物歧化酶的影响 [J]. 中华医学杂志, 1991, 71(11): 623.

[责任编辑 何伟]