

前列安通片对精索静脉曲张大鼠附睾 α 糖苷酶、L肉毒碱的影响

尹 静 曲晓伟 成都中医药大学 2006级研究生 成都 610075

郭 凯 张培海 张蜀武 成都中医药大学附属医院男科

摘要 目的:观察前列安通片对精索静脉曲张大鼠附睾 α 糖苷酶、L肉毒碱的影响,探讨前列安通片提高生育力的可能作用机制。**方法:**通过缩窄左肾静脉制备精索静脉曲张大鼠模型,将 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组、前列安通片组、桃红四物汤组,连续药物干预 4 周。观察大鼠附睾精子密度、活力,检测附睾 α 糖苷酶、L肉毒碱的含量。**结果:**模型组大鼠精子活力、密度低下,附睾 α 糖苷酶、L肉毒碱呈弱表达;前列安通片组、桃红四物汤组较模型组明显增高 ($P < 0.01$);前列安通片组较桃红四物汤组增高 ($P < 0.05$)。**结论:**前列安通片明显提高精索静脉曲张大鼠精子密度和活力,增加附睾 α 糖苷酶、L肉毒碱含量,可能是其改善生育力的途径之一。

关键词 大鼠 精索静脉曲张 前列安通片 α 糖苷酶 L肉毒碱

精索静脉曲张 (varicocele VC) 是引起男性不育的最常见的原因之一,成年男性患病率 2%~22%,在精液异常的患者中,VC 患病率 25%~40%^[1]。VC 的治疗还存在争议,手术治疗的远期疗效不太确切,术后不少患者精液质量虽然有不同程度的改善但仍不能生育^[2]。附睾是精子成熟的重要器官,VC 时附睾结构和功能受到损害,影响精子的发育成熟^[3],而精浆中的 α 糖苷酶和 L肉毒碱是反映附睾功能的标志物^[4]。通过检测附睾 α 糖苷酶和 L肉毒碱水平,探讨前列安通片改善男性生育力的可能作用机制。

1 实验材料

1.1 动物 2月龄 SD 雄性大鼠 60 只(成都中医药大学动物实验中心提供),体重 200±20g 常规饲养。整个实验过程中动物自由摄食饮水,室温控制在 20~25℃,相对湿度 40%~60%。

1.2 主要试剂及仪器 精浆 α 糖苷酶检测试剂盒(南京欣迪生物药业工程有限公司)、氯仿、异丁醇、Tris-HCl 缓冲液、DTNB 溶液、乙酰辅酶 A、肉毒碱酰基转移酶 (Sigma 公司);北京伟力彩色精子质量检测系统、MA110 电子天平、DY89-I 型电动玻璃匀浆机、KUBOTA 高速离心机、美国伯乐 BIO-RAD550 型酶标仪、中兴 202 型电热恒温干燥箱、DK-600A 型电热恒温水箱等。

1.3 药物 前列安通片(甘肃独一生物制药有限责任公司,批号:国药准字 Z20025109),按照人与大鼠体表面积比换算等效剂量,临用前用蒸馏水配

制成浓度为 0.04g/ml 的混悬液。桃红四物汤,按原方剂量、人与大鼠体表面积比换算等效剂量,临用前用蒸馏水配制成浓度为 0.36g/ml 的混悬液。

2 实验方法

2.1 模型制备 实验大鼠驯化饲养 1 周,观察无异常常后进行造模。其中假手术组大鼠 15 只,其余 45 只为造模大鼠。模型制备参照刘建军等^[5]的方法,用 5%水合氯醛 (6ml/kg) 腹腔注射麻醉,将大鼠仰卧固定于夹板上,常规消毒,腹部正中切口,暴露出左肾、左肾上腺静脉、下腔静脉、左肾静脉及左精索静脉入左肾静脉处,分离左肾静脉,在左肾上腺静脉和精索静脉内侧、下腔静脉外侧的左肾静脉下分离出一通道,在通道内穿出一根 3/0 丝线,置一根直径约为 0.55mm 的金属杆,与左肾静脉一起结扎,抽出金属杆,使左肾静脉复通,造成左肾静脉的部分狭窄,借此使左肾静脉直径缩小约一半,3/0 可吸收线逐层缝合切口。假手术组大鼠显露左肾静脉过程相同,但不结扎。术毕在腹腔内注射适量左氧氟沙星注射液预防感染。术后 4 周,以左精索静脉最大直径 >1mm,左右肾重量无明显差别为模型建立成功。由于麻醉过量、手术失败等原因,大鼠共死亡 11 只,剩余假手术组大鼠 13 只,模型大鼠 36 只。

2.2 分组及给药 造模完成后再将模型大鼠随机均分为模型组、前列安通片组、桃红四物汤组,各 12 只。假手术组与模型组给予蒸馏水 10ml/kg 前列安通片组、桃红四物汤组分别给予前列安通片、桃红四物汤混悬液 10ml/kg。实验药物用法各组大鼠灌

胃均 1天 1次,连续给药 4周。

2.3 标本采集与检测方法

2.3.1 精液分析 末次给药后 24小时,称体重,断颈处死大鼠,无菌条件取摘取左侧附睾,用眼科剪在附睾尾部剪一个小口,收集精液,检查精液常规。

2.3.2 附睾 α 糖苷酶、L肉毒碱含量测定 加附睾重量 9倍的冷生理盐水,用眼科剪将附睾剪碎后盛于组织匀浆器中,冰上匀浆 15min后,以 3500 r/min离心 15min 取上清制成 10%的组织匀浆。用葡萄糖氧化酶法测定 α 糖苷酶的含量,用 DTNB (5,5-二巯基-2,2-二硝基苯甲酸)方法检测 L肉毒碱含量。

2.4 统计学方法 数据以 ($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS13.0统计软件处理,各组间比较采用单因素方差分析,其中方差齐者用 LSD法,方差不齐者用 Dunnett's T3法检验。

3 实验结果

3.1 一般情况 造模后各组大鼠均有不同程度摄食减少,精神萎靡,毛发枯黄、缺乏光泽,但 1周后逐渐恢复正常;实验过程中因灌胃、动物撕咬等原因,导致模型组、前列安通片组、桃红四物汤组大鼠各死亡 2只,假手术组死亡 1只,共死亡 7只。

3.2 四组附睾精子活力、密度比较 与假手术组比较,模型组大鼠精子活力与密度明显低下 ($P < 0.05$);前列安通片组、桃红四物汤组较模型组明显增高 ($P < 0.01$);前列安通片组较桃红四物汤组增高 ($P < 0.05$),见表 1。

表 1 四组精子密度、活力比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n/只	活力 (a+b) %	密度 / ($\times 10^6$ /ml)
假手术组	12	53.18 \pm 3.35	30.50 \pm 3.76
模型组	10	26.37 \pm 4.12*	11.28 \pm 1.43*
前列安通片组	10	40.61 \pm 3.35* $\Delta\Delta\Delta$	18.39 \pm 2.45* $\Delta\Delta\Delta$
桃红四物汤组	10	37.68 \pm 3.15* $\Delta\Delta$	15.74 \pm 1.06* $\Delta\Delta$

与假手术组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta\Delta$ $P < 0.01$;与桃红四物汤组比较, Δ $P < 0.05$

表 2 四组附睾 α 糖苷酶、L肉毒碱含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n/只	α 糖苷酶 / (mU/g组织)	L肉毒碱 / (μ mol/g组织)
假手术组	12	81.22 \pm 3.75	33.44 \pm 1.54
模型组	10	59.50 \pm 2.49**	22.49 \pm 1.42**
前列安通片组	10	69.54 \pm 1.77* $\Delta\Delta\Delta$	29.16 \pm 1.60* $\Delta\Delta\Delta$
桃红四物汤组	10	65.89 \pm 3.46* $\Delta\Delta$	26.62 \pm 2.46* $\Delta\Delta$

与假手术组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta\Delta$ $P < 0.01$;与桃红四物汤组比较, Δ $P < 0.05$

3.3 四组附睾 α 糖苷酶、L肉毒碱含量比较 模型组附睾 α 糖苷酶、L肉毒碱呈弱表达 ($P < 0.01$);前列安通片组、桃红四物汤组较模型组明显增高 ($P < 0.01$);前列安通片组较桃红四物汤组增高 ($P < 0.05$),见表 2。

4 讨论

精索静脉曲张性不育属中医“筋瘤”、“筋疝”、“无子”等范畴,其病因病机复杂,概括起来不外虚实二端,实者为湿热、瘀血,虚者以肾虚为主。根据中医理论及临床实践,笔者认为其发病以标实为多。饮食不节以伤脾,脾虚生化之源不足,气虚行血无力,血运不畅,停而为瘀;或过食肥甘,湿热内生,流注下焦,壅滞脉络,血瘀下焦脉络,随生本病。治疗宜清热除湿、祛瘀通络,以平和为要,调理气血而治病本。前列安通片选用具有活血祛瘀、清利湿热、理气止痛之功效的黄柏、赤芍、白芷、桃仁、丹参、泽兰、乌药、王不留行等组方,用以治疗精索静脉曲张切合病机。

精索静脉曲张时,附睾静脉血液瘀积,造成回流障碍,动脉灌注阻力增加使动静脉灌注失衡,血液局部缺血、代谢产物堆积,附睾间质水肿、上皮细胞变性、管腔上皮细胞表面刷状缘排列紊乱,细胞凋亡过度^[4],导致其分泌功能异常,从而改变管腔内液体的成分而使微环境发生改变,影响精子在附睾内的成熟。附睾分泌的 α 糖苷酶可催化精子的糖元降解,供给精子代谢与运动的能源,参与精子成熟过程中质膜表面糖基的修饰变化^[6],精子成熟、获能及受精过程伴有的比较活跃的糖基反应都与此酶活力有关^[7]。有报道 α 糖苷酶活性与精子密度、精子活率、a/b级精子活力和精子顶体酶活性均呈正相关^[8]。L肉毒碱主要功能是携带、转运活化的脂肪酸穿越线粒体膜,进入线粒体内进行 β 氧化和三羧酸循环,为体内各种代谢过程提供能量^[9]。在男性和雄性动物的生殖道中,L肉毒碱高浓度地集中于附睾中,直接影响着精子的成熟和代谢过程^[10]。L肉毒碱通过对附睾微环境的动态平衡和质量方面的改善,减少了吞噬精子作用,而增加了射出精液中的精子数量^[11]。此外,L肉毒碱还能间接通过刺激支持细胞对葡萄糖的吸收来影响精子的成熟^[12]。

本实验结果表明,前列安通片能提高精索静脉曲张模型大鼠精子密度、活力,可能通过提高 α 糖苷酶、L肉毒碱在附睾的表达,从而改善附睾精子成熟功能。

(下转第 551 页)

宜大黄、芒硝、枳实、厚朴之类，若药轻不及，则贻误病机。

应用中药升降浮沉之趋势，升提下陷，沉降上逆亦为常法，临床常以柴胡、升麻、黄芪、党参等升阳益气，治疗阳气不升反下陷者，如泄泻不止、脱肛、阴挺（子宫脱垂）等。沉降药物多有降逆之性，如选用生龙骨、生牡蛎、石决明、夏枯草平肝潜阳、清热泻火以治疗阳气升而太过致头痛、眩晕、目赤等。

《金匱要略·呕吐下利病脉证并治》曰：“呕而肠鸣，心下痞者，半夏泻心汤主之。”本条寒热错杂呕吐证，乃由寒热互结，脾胃升降失常所致，如胃热不降则上逆作呕，脾不健运，水湿内停故肠鸣。前人对上下皆病证候，常主张单治其中，且此证是以中焦寒热互结为主，故治用半夏泻心汤，以干姜、半夏辛开散寒，黄芩、黄连苦降清热，人参、大枣、甘草培补中气，恢复阴阳升降，调理脾胃功能。

《脾胃论》曰：“夫诸四时用药之法，不问所病，或温或凉，或热或寒，如春时有疾，于所用药中纳清凉风药；夏月有疾，加大寒之药；秋月有疾，加温气药；冬月有疾，加大热之药，是不绝生化之源也”。又曰：“无伐生生之气，皆此常道也。”总之，天地之气以升降浮沉乃生四时；人身之气以升降浮沉而生不息。治病必本于四时升降浮沉之理，顺从四时节气之性。

用药物的升降之性为舟揖，载药直达病所，具有事半功倍之效，如桔梗之载药上行，有诸药之舟揖之称。血府逐瘀汤用桔梗载活血药上行胸中，以祛血

府之瘀，清瘟败毒饮清热解毒凉血，其性沉降，用桔梗载甘寒之品上行以清咽润喉。牛膝为引药下行之药，独活寄生汤用牛膝，运药直达下焦肝肾，强筋骨壮腰膝。如此，使药物直达病所，充分发挥药效。同时亦表明，一味药之所以改变其他药物的作用趋向，左右全方升降浮沉，关键在于适当配伍。

笔者临床常遇到一些素体虚弱而偶感风寒，证见微热恶风寒，纳呆困倦，舌淡苔白，脉细数，每用西药发汗退烧抗病毒抗菌药无效，给予中药治疗效果较好。中药当用辛甘微苦温除热法，方选东垣升阳益胃汤化裁（黄芪、半夏、党参、甘草、独活、防风、白芍、羌活、陈皮、茯苓、泽泻、柴胡、白术、黄连、枳壳、生姜、大枣），生姜可改用干姜，黄连宜量少，1~2g即可，方中羌活、独活味辛浓烈而效雄，升发能力强，黄连苦降，枳壳下行，全方辛开苦降，升清降浊，补虚驱邪，呈现极强的调和能力，每能化解许多虚实并存、寒热错杂等复杂的矛盾。临床中如遇胃肠道诸多疾病，或其他系统疾病而兼见脾胃功能紊乱者，用升阳益胃汤加减治之，治尿路结石之肾绞痛，肺心病心衰而消化功能差者，结肠癌术后化疗后胃肠功能受损等，均可投乌梅丸（乌梅、细辛、干姜、黄连、当归、附子、蜀椒、桂枝、党参、黄柏）辛甘苦酸并用，寒温并用，可补虚泻实，升清降浊，能和解各种疾病后期及急重阶段出现的虚实并存、寒热错杂等复杂矛盾。方中辛味可升、可散、可行，苦可降、可清，甘可补益，可提高抵抗力。

收稿日期：2009-05-04

(上接第 547 页)

参考文献

- Dohle GR, Colpi GM, Har greave TB. EAU guidelines on male infertility. *Eur Urol* 2005, 48(7): 703-711
- 张永康. 精索静脉曲张的几个相关问题. *中国男科学杂志*, 2004, 18(3): 3-4
- Zhang QY, Qiu SD, Ma XN, et al Effect of experimental varicocele on structure and function of epididymis in adolescent rats. *Asian J Androl* 2003, 5(2): 108-112
- 郭应禄, 胡礼泉. *男科学*. 北京: 人民卫生出版社, 2004. 983-1627
- 刘建军, 杨宇如, 董强. 实验性精索静脉曲张模型的建立及其对睾丸的影响. *华西医学*, 2006, 21(3): 538-539
- Tulsiani DR. Glycan modifying enzymes in luminal fluid of rat Epididymis are they involved in altering sperm surface glycoproteins during maturation. *Microsc Res Tech* 2003, 61(1): 18-27
- Yassa DA, Idriss WK, A tassi ME, et al The diagnostic value of seminal α -glucosidase enzyme index for sperm motility and fertilizing capacity. *Saudi Med J* 2001, 22(11): 987-991
- 刘睿智, 王忠山, 韩淑梅, 等. 不育患者精浆 α -1, 4糖苷酶活性与精液参数的关系. *生殖医学杂志*, 2003, 12(4): 226-229
- 李克, 李伟, 时永辉, 等. L肉毒碱的生物学功能及其对男性生育的影响. *生命的化学*, 2005, 25(5): 380-383
- Agarwal A, Said TM. Camitine and male infertility. *Reprod Biomed Online* 2004, 8(4): 376-384
- Lenzi A, Lombardo F, Sgro P, et al Use of camitine therapy in selected cases of male factor infertility: a double-blind crossover trial. *Fertil Steril* 2003, 79(2): 292-300
- Mazzilli F, Rossi T, Ronconi C, et al Intra-spermatic L-camitine and survival of sperm motility. *Minerva Ginecol* 1999, 51(4): 129-134

收稿日期：2009-02-23