

# 羊藿巴戟口服液对肾阳虚大鼠性激素和精子的影响

符卓韬<sup>1</sup>, 孟聪<sup>2</sup>, 符林春<sup>3</sup>

1. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405
2. 广州市中医医院, 广东 广州 510130
3. 广州中医药大学, 广东 广州 510405

**[摘要]** 目的: 探讨羊藿巴戟口服液对肾阳虚不育大鼠模型性激素和精子密度、精子活动率的影响。方法: 将大鼠随机分为空白组、模型组、中药低剂量组、中药高剂量组。模型组、中药低剂量组、中药高剂量组予腺嘌呤灌胃30天, 进行肾阳虚不育造模, 空白组予生理盐水灌胃。造模成功后, 中药高、低剂量组予羊藿巴戟口服液灌胃, 模型组、空白组予生理盐水灌胃, 30天后处死各组大鼠, 并检测卵泡刺激素(FSH)、睾酮(T)、精子密度、精子活动率等指标。结果: 各组大鼠第6天体质量变化无显著差异( $P > 0.05$ )。自第12天开始, 与空白组比较, 模型组大鼠体质量显著下降, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 中药高、低剂量组大鼠体质量上升, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。与空白组比较, 模型组大鼠精子密度、精子活动率、FSH、T含量显著降低, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。与模型组比较, 中药高、低剂量组大鼠精子密度、精子活动率、FSH、T含量显著升高, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。中药高剂量组大鼠精子密度、精子活动率、FSH、T含量均高于中药低剂量组, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论: 羊藿巴戟口服液对肾阳虚不育大鼠模型生精功能和性激素调节有改善作用, 且与剂量的递增呈相关性。

**[关键词]** 羊藿巴戟口服液; 肾阳虚; 不育; 性激素; 精子; 动物实验; 大鼠

**[中图分类号]** R711.6 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2018) 05-0011-04

**DOI:** 10.13457/j.cnki.jncm.2018.05.003

## Yanghuo Baji Oral Liquid Has Effect on Sex Hormone and Sperm of Rats with Kidney-yang Deficiency

FU Zhuotao, MENG Cong, FU Linchun

**Abstract:** Objective: To discuss the effect of Yanghuo Baji oral liquid on sex hormone, sperm density and sperm activate rate of the model of infertile rats with kidney-yang deficiency. **Methods:** Divided rats into the blank group, the model group, the low-dose Chinese medicine group and the high-dose Chinese medicine group. The model group, low-dose Chinese medicine group and high-dose Chinese medicine group were administered with adenine by gavage for 30 days to establish a model of infertile rats with kidney-yang deficiency, while the blank group was administered with normal saline by gavage. Thirty days later, each group of rats were sacrificed, and detected such indexes as follicle-stimulating hormone (FSH), testosterone (T), sperm density and sperm activate rate. **Results:** There was no significant difference in the body mass of rats in each group on the sixth day ( $P > 0.05$ ). Since the day 12, comparing with the blank group, the body mass of rats in the model group was significantly decreased, difference being significant ( $P < 0.05$ ); comparing with the blank group, the body mass of rats in the low-dose Chinese medicine group and the high-dose Chinese medicine group was increased, differences being significant ( $P < 0.05$ ). Comparing with the blank group, sperm density, sperm activate rate and the concentration of FSH and T of rats in the model group were significantly decreased, differences being significant ( $P < 0.05$ ). Comparing with the model group, sperm density, sperm activate rate and the concentration of FSH and T of rats in the low-dose Chinese medicine group and the high-dose Chinese medicine group were significantly increased, differences being significant ( $P < 0.05$ ). Sperm density, sperm activate rate and the concentration of FSH and T of rats in the high-dose Chinese medicine

**[收稿日期]** 2017-10-17

**[基金项目]** 广东省高水平大学建设项目

**[作者简介]** 符卓韬 (1986-), 男, 住院医师, 研究方向: 中西医结合治疗泌尿外科及男科疾病。

group were higher than those in the low-dose Chinese medicine group, differences being significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Yanghuo Baji oral liquid can improve the spermatogenic function and the adjustment of sex hormone in the model of infertile rats with kidney-yang deficiency, and its effect is associated with the progressive increase of dosage.

**Keywords:** Yanghuo Baji oral liquid; Deficiency of kidney yang; Infertility; Sex hormone; Sperm; Animal experiment; Rats

由于工作压力、环境污染的影响,适龄而受生育问题困扰的人数呈逐年上升的趋势。许多不育患者经检查发现了性激素的异常,同时伴随精子密度及活动率的下降。虽然十一酸睾酮等药物已广泛应用于低睾酮血症等性激素原因导致的不育,但是长期用药可能出现肝肾功能损害、前列腺增生、高血压、头痛等不良反应,同时停药后常出现病情反复,依从性较难保证,且对部分患者治疗无明显临床疗效。羊藿巴戟口服液为国药准字产品,由《辨证录》(卷十)的补天育麟丹加减而来,主治男子心肾两虚,阳痿早泄,精液甚薄,不能生育。羊藿巴戟口服液主要由淫羊藿、巴戟天等中药组成,有温补肾阳的作用。本实验旨在探讨羊藿巴戟口服液对肾阳虚不育大鼠模型性激素的改变和精子密度及活动率的影响。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物** 选用健康雄性3月龄SD大鼠52只,体质量200~220g,SPF级,购于广州中医药大学实验动物中心,许可证号:SYXK(粤)2013-0001,生产批号:16053101。购买后适应性饲养1周,大鼠均自由饮水、采食。每天更换笼中的垫料并换水以保持干燥清洁。环境温度控制在20~25℃;光照:白天及夜晚各12h。

**1.2 药物及试剂** 羊藿巴戟口服液,主要由淫羊藿、熟地黄、巴戟天、山茱萸、石燕(火煅)、海马、狗鞭、蛤蚧、蛇床子、大海米、砂仁、锁阳、九香虫、雄蚕蛾组成,购自广州万正药业有限公司,批号为B20020759。腺嘌呤Ad粉剂,上海伯奥生物科技有限公司生产,批号:B0010。卵泡刺激素(FSH)、睾酮(T)ELISA检测试剂盒,试剂盒由ROCHE免疫试剂公司提供,批文号分别为:18198300、15778500。

**1.3 实验仪器** 清华同方精子、微生物动(静)态图像分析系统,由广州中医药大学第一附属医院男科实验室提供。电子秤、恒温水浴箱、移液枪、灌胃针、-20℃冰箱。

**1.4 动物分组** 将52只雄性SD大鼠随机分为4

组:模型组、中药低剂量组、中药高剂量组及空白组。其中模型组、中药低剂量组及中药高剂量组各15只,空白组7只。

**1.5 建模及药物干预** 参照文献[1]建模,腺嘌呤加入2mL蒸馏水制成混悬液,按每天150mg/(kg·d)灌胃。模型组及中药高、低剂量组大鼠连续灌胃30天,制备大鼠肾阳虚不育模型。目前肾阳虚证动物模型的症状诊断标准主要依据的是《中医虚证辨证参考标准》中肾阳虚诊断标准,通过观察动物的外观表现来判断其与肾阳虚证的符合程度,确定模型是否成功。一般肾阳虚模型会出现体质量下降、体温下降、活动减少、反应迟钝、弓背蜷缩、畏寒、体毛稀疏、失去光泽、采食量、饮水量减少等症状。模型成功后,中药高、低剂量组大鼠分别按6、1.0g/(kg·d)的剂量灌胃羊藿巴戟口服液30天<sup>[2]</sup>,模型组和空白组大鼠每天灌胃2mL生理盐水,连续30天后均处死取材。

**1.6 体质量变化** 在肾阳虚模型造模成功后,记录各组大鼠第6、12、18、24、30天体质量,并进行比较。

**1.7 精子活动率及精子密度测定** 分别取各组大鼠右侧附睾尾,称重后将其剪碎、过滤,稀释成悬液。在高倍镜下计数200个精子中活动精子数。通过清华精子、微生物动(静)态图像分析系统计数5个中方格内精子数。从而计算出精子活动率、精子密度(每克附睾尾所含的精子数)。a级代表一直向前游动的精子,b级代表勉强能向前游动精子,c级代表在原地盘旋的精子,d级代表精子有明显残缺或者死亡。

**1.8 血清激素测定** 大鼠处死后从心脏取血,静置、分层后离心,分离血清,ELISA法检测T和FSH含量。

**1.9 统计学方法** 实验数据采用SPSS16.0软件进行统计学分析,计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,多样本之间的组间比较采用单因素方差分析,两两比较用SNK-q检验。

2 结果

2.1 各组大鼠一般情况 灌胃腺嘌呤1周后,模型组及治疗组(未灌药前)大鼠出现饮水量减少、活动减少、多尿、泄泻等肾阳虚症状,随着灌胃时间延长,逐渐出现体质量下降、对外界刺激反应迟钝、竖毛拱背、喜暖畏寒、体毛稀疏、毛发失去光泽等表现。空白组大鼠体质量、进食及反应等方面未出现异常。

2.2 各组大鼠各时间点体质量比较 见表1。各组大鼠第6天体质量变化无显著差异( $P > 0.05$ )。自第12天开始,与空白组比较,模型组大鼠体质量显著下降,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );与模型组比较,中药高、低剂量组大鼠体质量上升,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。

表1 各组大鼠各时间点体质量比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	D6	D12	D18	D24	D30
空白组	7	260.428 6 ± 9.980 9	308.285 7 ± 12.932 1	342.000 0 ± 13.540 1	385.714 3 ± 29.050 0	405.857 1 ± 39.159 6
模型组	15	247.600 0 ± 11.419 3	267.266 7 ± 16.033 3 <sup>①</sup>	308.333 3 ± 38.596 2 <sup>①</sup>	320.800 0 ± 34.490 6 <sup>①</sup>	314.933 3 ± 35.939 4 <sup>①</sup>
中药低剂量组	15	258.400 0 ± 9.883 6	308.066 7 ± 18.386 6 <sup>②</sup>	331.866 7 ± 12.993 8 <sup>②</sup>	369.600 0 ± 23.766 1 <sup>②</sup>	384.800 0 ± 30.390 8 <sup>②</sup>
中药高剂量组	15	248.933 3 ± 9.300 3	304.600 0 ± 29.247 2 <sup>②</sup>	334.466 7 ± 18.757 3 <sup>②</sup>	374.600 0 ± 35.379 2 <sup>②</sup>	388.600 0 ± 36.411 9 <sup>②</sup>

与空白组比较,① $P < 0.05$ ;与模型组比较,② $P < 0.05$

2.3 各组大鼠精子密度比较 见表2。与空白组比较,模型组大鼠精子密度显著降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。与模型组比较,中药高、低剂量组大鼠精子密度显著升高,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。中药高剂量组大鼠精子密度高于中药低剂量组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

2.5 各组大鼠性激素含量比较 见表4。与空白组比较,模型组大鼠FSH、T含量降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。与模型组比较,中药高、低剂量组大鼠FSH、T含量升高,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。中药高剂量组大鼠FSH、T含量高于中药低剂量组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

表2 各组大鼠精子密度比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	精子密度( $\times 10^6$ 个/g附睾尾)
空白组	7	42.43 ± 1.89
模型组	15	23.12 ± 1.43 <sup>①</sup>
中药低剂量组	15	36.45 ± 1.86 <sup>②</sup>
中药高剂量组	15	41.91 ± 1.79 <sup>②③</sup>

与空白组比较,① $P < 0.05$ ;与模型组比较,② $P < 0.05$ ;与中药低剂量组比较,③ $P < 0.05$

2.4 各组大鼠精子活动率比较 见表3。与空白组比较,模型组大鼠精子活动率降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。与模型组比较,中药高、低剂量组大鼠精子活动率升高,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。中药高剂量组大鼠精子活动率高于中药低剂量组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

表4 各组大鼠性激素含量比较( $\bar{x} \pm s$ ) nmoI/L

组别	n	FSH	T
空白组	7	6.17 ± 2.97	6.24 ± 1.24
模型组	15	2.73 ± 0.94 <sup>①</sup>	0.99 ± 1.35 <sup>①</sup>
中药低剂量组	15	3.88 ± 1.07 <sup>②</sup>	2.89 ± 0.85 <sup>②</sup>
中药高剂量组	15	5.87 ± 1.62 <sup>②③</sup>	7.65 ± 1.61 <sup>②③</sup>

与空白组比较,① $P < 0.05$ ;与模型组比较,② $P < 0.05$ ;与中药低剂量组比较,③ $P < 0.05$

表3 各组大鼠精子活动率比较( $\bar{x} \pm s$ ) %

组别	n	a级	b级
空白组	7	15.20 ± 1.24	20.63 ± 2.46
模型组	15	6.97 ± 1.20 <sup>①</sup>	12.52 ± 2.38 <sup>①</sup>
中药低剂量组	15	11.22 ± 1.18 <sup>②</sup>	18.26 ± 2.40 <sup>②</sup>
中药高剂量组	15	16.22 ± 1.22 <sup>②③</sup>	22.72 ± 2.47 <sup>②③</sup>

与空白组比较,① $P < 0.05$ ;与模型组比较,② $P < 0.05$ ;与中药低剂量组比较,③ $P < 0.05$

3 讨论

由于生育年龄增大和环境变化等因素的影响,其中许多精弱患者出现性激素的改变,同时伴有不同程度的精子数量和活动率的下降,目前在西药治疗上多给予克罗米芬、十一酸睾酮、维生素E等药物治疗,但部分患者效果不明显。

性激素的调控是一个复杂的过程,涉及到生殖轴线上多个位点的正负反馈调节机制,对精子生成起到关键的作用,其中T、FSH的作用尤为突出。FSH通过激活cAMP/PKA信号转导途径,调节性激素的合成;通过刺激Sertoli细胞中雄激素受体,提高雄激素受体mRNA和蛋白的水平,而Sertoli细胞分别将营养成分运输给生精细胞,这对生精细胞的生存和代谢

有着非常重要的影响<sup>[3]</sup>。T对精子的发生也起着重要的作用，它不仅通过其受体间接调节精子发生，还通过负反馈调节参与了下丘脑 GnRH 信号调控<sup>[3]</sup>。

中医药治疗男性不育具有悠久的历史，大量文献研究发现其可显著提高精子活力<sup>[3]</sup>。中医学认为，肾主生殖，男性生殖之精蛰藏于肾中，并依赖肾的作用与女性生殖之精搏而成形。若肾阳不足，生殖之精缺乏温煦气化的作用而致不育，若肾气盛，则能有子。羊藿巴戟口服液以淫羊藿、巴戟天共为君药，起补肾阳、壮筋骨的作用。同时予海马、大海米、狗鞭、蛤蚧、九香虫、雄蚕蛾等血肉有情之品，补肾壮阳，共为臣药，协同并增强君药补肾填精、益精生髓、健固腰肾的功效。方中又加入熟地黄、山茱萸等以滋阴养血，一方面避免过于温补而燥血动血，使温补而无化邪之弊；另一方面寓意阴中求阳，张景岳《新方八略引》曰：“善补阳者，必于阴中求阳，阳得阴助则生化无穷”。全方配伍严谨，疗效确切，共奏温补肾阳的作用。

现代药理研究表明，羊藿巴戟口服液中的主要成分巴戟天、淫羊藿都有改善生殖的功能。巴戟天中所含的巴戟甲素可提高小鼠的交配能力，提高机体免疫力<sup>[4]</sup>；巴戟天根的水提取物和醇提取物可促进微波辐射损伤的生殖器官的修复以及精子的生成<sup>[5]</sup>；同时巴戟天寡糖可能是巴戟天促进雄性小鼠生精作用的主要物质<sup>[6]</sup>。淫羊藿可增加精子数量，对精子膜的过氧化损伤起到保护作用，同时还富含 Fe、Zn 等精子生成的必要微量元素<sup>[7-9]</sup>。此外，狗鞭之类的鞭类药物，其含的甾体类成分以雄激素睾酮的含量最高，有促进性腺轴的作用<sup>[10]</sup>。

本实验通过羊藿巴戟口服液应用于肾阳虚型不育大鼠模型，从中医肾主生殖的原理出发，通过羊藿巴戟口服液充实肾中精气，补肾壮阳，鼓动肾中阳气，

从而补其不足，不仅能改善肾虚的症状，同时，还可以提高大鼠精子密度、活动度，增强性激素的调控，从而增强其生殖能力。

#### [参考文献]

- [1] Ogirima T, Tano K, Kanehara M, et al. Sex difference of Adeine effects in rats: renal fuction, bone mineral density and sex steroidogenesis[J]. *Endocr J*, 2006, 53(3): 407-413.
- [2] 徐铮弟, 潘雪刁, 蔡帆, 等. 羊藿巴戟口服液对去势雄性大鼠血清睾酮和皮质醇水平的影响[J]. *中药药理与临床*, 2013, 29(4): 139-140.
- [3] 郭应禄, 胡礼泉. 男科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 245.
- [4] 林芳花, 林励, 肖凤霞, 等. 巴戟甲素对正常雄性小鼠交配能力和免疫器官系数的影响[J]. *中国新药杂志*, 2008, 17(22): 1924-1926.
- [5] 王凤娟, 王玮, 李容, 等. 巴戟天根两种提取物对微波损伤大鼠生精功能的影响[J]. *中华男科学杂志*, 2013, 19(4): 340-345.
- [6] 丁平, 梁英娇, 刘瑾, 等. 巴戟天寡糖对小鼠精子生成作用的研究[J]. *中国药学杂志*, 2008, 43(19): 1467-1470.
- [7] 袁航, 曹树萍, 陈抒云, 等. 淫羊藿的化学成分及质量控制研究进展[J]. *中草药*, 2014, 45(24): 3630-3638.
- [8] 刘忠平, 李质馨, 李守远, 等. 淫羊藿对生殖系统影响的研究进展[J]. *中国妇幼保健*, 2013, 28(5): 884-886.
- [9] 杨欣, 张永华, 丁彩飞, 等. 应用体外培养法研究淫羊藿水提物对人精子膜功能损伤的保护作用[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2007, 12(6): 663-667.
- [10] 代婷婷, 高晓晨, 吴海燕, 等. 鞭类药材的化学成分和生物活性研究进展[J]. *中国现代中药*, 2014, 16(12): 1039-1042.

(责任编辑: 冯天保, 郑锋玲)