

菟丝二仙汤对肾阳虚型弱精子症患者精子活力及精浆MDA和SOD的影响

邓龙生¹, 卢太坤¹, 高亚辉², 邹强¹, 金冠羽¹, 陈进春¹

(¹福建中医药大学附属厦门市中医院, 厦门 361009; ²厦门大学生命科学学院, 厦门 361102)

摘要: 目的: 探讨菟丝二仙汤治疗肾阳虚型弱精子症的疗效及相关机制。方法: 180例肾阳虚型弱精子症患者随机分为菟丝二仙汤组、右归丸组、西药组(辅酶Q10胶囊、维生素E、维生素C), 每组60例, 分别治疗3个月。比较各组治疗前后精液参数, 检测精浆丙二醛(MDA)和超氧化物歧化酶(SOD)变化, 比较临床疗效。结果: 菟丝二仙汤组在改善a级精子、精子活力、精子活率明显优于右归丸以及西药组($P<0.01$), 同时其能显著降低精浆MDA浓度, 提高精浆SOD水平($P<0.01$); 组间临床疗效比较, 菟丝二仙汤对肾阳虚型弱精子症疗效明显优于右归丸组与西药组($P<0.05$)。结论: 菟丝二仙汤可以明显提高肾阳虚型弱精子症患者的精液质量, 增强精子的抗氧化作用可能是其治疗弱精子症的机制之一。

关键词: 菟丝二仙汤; 抗氧化治疗; 弱精子症; 精子活动; 丙二醛; 超氧化物歧化酶

基金资助: 厦门市科技局科技计划项目(No.3502Z20154058), 厦门市卫计委第四批中医后备人才基金资助项目(No.201539)

Effects of Tusi Erxian Decoction on sperm motility, malondialdehyde and superoxide dismutase in seminal plasma of asthenospermia patients with syndrome of deficiency of kidney yang

DENG Long-sheng¹, LU Tai-kun¹, GAO Ya-hui², ZOU Qiang¹, JIN Guan-yu¹, CHEN Jin-chun¹

(¹Xiamen Hospital of TCM Affiliated to Fujian University of Chinese Medicine, Xiamen 361009, China; ²School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361102, China)

Abstract: Objective: To investigate the effects and mechanism of Tusi Erxian Decoction in treating asthenospermia with syndrome of deficiency of kidney yang. Methods: A total of 180 patients were included and randomly divided into 3 groups: Tusi Erxian Decoction group, Yougui Pills group, and the western medicine group (coenzyme Q10 capsule, vitamin E and vitamin C), 60 cases per group. Each group was treated by the corresponding drugs for 3 months. The sperm parameters, malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) were detected to compare the clinical efficacy. Results: The Tusi Erxian Decoction could significantly improve a-level sperm, sperm motility and sperm activity when compared with the Yougui Pills group and the western medicine group ($P<0.01$). Meanwhile, Tusi Erxian Decoction could decrease the concentration of MDA and increase SOD in the seminal plasma ($P<0.01$). Clinical efficacy in the Tusi Erxian Decoction group was significantly better than that in the Yougui Pills group and the western medicine group ($P<0.05$). Conclusion: Tusi Erxian Decoction can improve the quality of sperm of asthenospermia patients with syndrome of deficiency of kidney yang by enhancing the antioxidant activity of spermatozoa.

Key words: Tusi Erxian Decoction; Antioxidant therapy; Asthenospermia; Sperm motility; Malondialdehyde; Superoxide dismutase

Funding: Science and Technology Program of Xiamen Science and Technology Bureau (No.3502Z20154058), Fourth Batch TCM Reserve Talents Funding of Xiamen Health and Family Planning Commission (No.201539)

不孕不育的发病率为15%, 男方因素约占半数, 弱精子症占男性不育患者40%以上^[1], 氧化应激是引起弱精子症的一个重要原因, 氧化应激可导致精子膜脂质过氧化损伤、精子DNA损

伤、精子线粒体损伤及细胞凋亡, 从而破坏精子功能和存活^[2]。已有研究表明, 精浆丙二醛(malondialdehyde, MDA)间接反映活性氧(reactive oxygen species, ROS)对精子及生殖系统

的损害程度,可作为氧化应激的标志物;精浆超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)可以清除ROS,是精子免受氧化应激损伤的最主要保护方式^[3]。因此,增强精子的抗氧化作用,减少氧化应激损伤是弱精子症治疗中不容忽视的问题。有研究表明,维生素E能显著降低精浆MDA浓度,保护精子膜免受脂质过氧化损伤^[4];维生素C可以减少ROS对精子DNA损伤,也可回收被氧化的维生素E^[5];辅酶Q10可通过保护精子氧化应激和精子DNA损伤来改善精子质量^[6];补肾法为主的中药可提高弱精子症大鼠附睾精子的抗氧化作用^[7],右归丸可提高肾阳虚型小鼠SOD含量^[8],可明显改善肾阳虚弱精子症患者的精子活率及活力^[9]。为此本研究以西药、右归丸为对照,拟进一步观察补肾壮阳法中药菟丝二仙汤对肾阳虚型弱精子症患者疗效及对精液参数、精浆MDA和SOD影响。

资料与方法

1. 一般资料 收集2014年1月-2015年12月在福建中医药大学附属厦门市中医院男科就诊的患者180例,均符合纳入标准,用随机数字表法分3组。其中菟丝二仙汤组60例,右归丸组60例,西药组60例。患者全部为男性,其中菟丝二仙汤组年龄在20-44岁,平均年龄(30.36±6.21)岁,病程1-6年,平均病程(2.76±2.51)年;右归丸组年龄在21-45岁,平均年龄(31.89±7.64)岁,病程1-5.5年,平均病程(2.65±2.51)年;西药组年龄在21-42岁,平均年龄(31.69±6.83)岁,病程1-6.5年,平均病程(2.87±2.69)年。3组年龄($F=1.88, P=0.16$)、病程($F=0.11, P=0.89$)比较,差异无统计学意义,具有可比性。

2. 诊断标准 西医诊断标准:参照WHO《人类精液及精子-宫颈黏液相互作用实验室检验手册》^[10](2001年)中弱精子症诊断标准:①育龄夫妇婚后同居1年以上,未避孕,有规律性生活,由于男方原因造成女方不孕者;②a级精子<25%或a+b级精子<50%,精子成活率<60%;③精子浓度>20×10⁶/mL。中医证候诊断标准:肾阳虚证的诊断参考《中药新药临床研究指导原则》^[11]。主症:①精液过冷,婚后不育;②性欲淡漠,或阳痿,早泄;③精子稀少,或死精子过多;④射精无力。次症:①腰膝酸软;②精神萎靡,面色苍白;③小便清长,夜尿量多;④畏寒喜温;⑤舌淡体胖,苔白;⑥脉沉细弱。具备主症至少1项加次症至少2项,即可诊断。

3. 纳入及排除标准 纳入标准:①符合西医诊断标准;②符合中医辨证标准;③女方生育能力正常;④治疗期间,夫妇同居未采取避孕措施,性生活正常;⑤自愿参与并签署知情同意书。排除标准:①勃起功能障碍或逆行射精或不射精者;②抗精子抗体阳性,Ⅱ度以上精索静脉曲张,泌尿生殖道感染者;③生殖器畸形,睾丸萎缩、隐睾及先天发育不良,染色体异常者;④合并有心脑血管、肝、肾和造血系统等严重疾病的患者,精神疾病的患者;⑤服用抗癫痫药、抗肿瘤等有碍生精功能及精子活力的药物者;⑥放射线接触者,高温作业者;⑦其他不合作者。

4. 治疗方法 菟丝二仙汤组:菟丝子15g,仙灵脾15g,枸杞子15g,山药15g,黄精15g,熟地黄15g,沙苑15g,续断10g,大枣6g。每日1剂,水煎2次,每次煎至200-300mL,分早晚2次服用,3个月为1个疗程。右归丸组:右归丸(河南宛西制药,生产批号:140125)9g/次,3次/d,3个月为1个疗程。西药组:维生素E(国药控股星鲨制药,生产批号:10841005)100mg/次,2次/d;辅酶Q10胶囊(广东华南药业集团有限公司,生产批号:027140108)10mg/次,3次/d;维生素C(北京京丰制药有限公司,生产批号:1403170)100mg/次,2次/d,3个月为1个疗程。

5. 主要仪器试剂及检测方法 主要仪器试剂:伟力牌彩色精子质量检测系统、伯乐Imark酶免分析仪,精密pH指标试纸;MDA试剂盒(批号:201507),SOD试剂盒(批号:201507),购于厦门中迅达科技有限公司。检测方法:禁欲3-7d,手淫或性交中断取精,静置37℃恒温箱30min后测精液各参数。余下的精液以3 000r/min离心20min左右,把精浆分离出来,仔细收集上清液,保存过程中如有沉淀形成,应该再次离心。精浆SOD和MDA检测均采用双抗体夹心法,按试剂盒说明书步骤进行测试。治疗3个月检查1次精液常规、精浆SOD和MDA。

6. 疗效评定标准 根据世界卫生组织《男性不育标准化检查与诊疗手册》^[12],并参照《中药新药临床研究指导原则》^[12]标准对精液质量进行实验室评价,疗效根据精子活力评定。治愈:配偶受孕;显效:精子活力a+b级>50%或a级>25%;有效:精子活力a+b级或a级提升>30%;无效:精子活力a+b级或a级的提升<30%或治疗后无变化。

7. 统计学方法 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,运用SPSS 17.0统计软件对数据进行统计分析,治疗前后比较采用配对t检验,组间比较采用t检验。计数资料用卡方检验分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

1. 各组病例脱落情况 治疗结束后,共脱落8例,脱落率为5%,菟丝二仙汤组2例,1例失访,1例患者因工作调动外地,不便就诊退出;右归丸组3例,2例失访,1例因疗效欠佳退出;西药组3例,1例失访,2例自觉无效要求退出。

2. 各组精液参数及精浆MDA、精浆SOD变化情况 见表1-表2。对治疗前3组的精子密度、a级精子、a+b级精子、精子活率、精浆MDA及精浆SOD进行比较,经统计学检验无显著差异,具有可比性。对每组治疗前后精液指标进行配对t检验,结果显示3组治疗前后的a级精子、a+b级精子、精子活率、精浆MDA和精浆SOD差异均有统计学意义($P<0.01$)。经两两比较显示菟丝二仙汤组在改善a级精子、a+b级精子、精子活率、精浆MDA和精浆SOD方面明显优于其它两组($P<0.01$)。

3. 各组临床疗效比较情况 见表3。菟丝二仙汤组的有效率为84.5%;右归丸组的有效率为61.4%;西药组的有效率为56.1%。菟丝二仙汤组疗效明显优于其它两组($P<0.01$)。

表1 各组患者治疗前后精液的参数比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	时间	精子密度($\times 10^6/\text{mL}$)	a级精子比例(%)	a+b级精子比例(%)	精子活率 _{a+b+c} (%)
菟丝二仙汤组	58	治疗前	31.06 \pm 12.65	11.85 \pm 4.12	26.55 \pm 7.69	36.72 \pm 7.42
		治疗后	36.31 \pm 17.69	27.51 \pm 12.39**	47.37 \pm 15.61**	66.63 \pm 16.74**
右归丸组	57	治疗前	30.37 \pm 11.65	10.97 \pm 3.84	27.38 \pm 7.99	37.02 \pm 6.96
		治疗后	34.55 \pm 14.95	18.23 \pm 9.42** $\Delta\Delta$	37.91 \pm 14.61** $\Delta\Delta$	50.73 \pm 20.89** $\Delta\Delta$
西药组	57	治疗前	28.95 \pm 9.65	11.75 \pm 3.93	24.07 \pm 7.72	36.65 \pm 6.99
		治疗后	29.97 \pm 9.85	16.18 \pm 7.72** $\Delta\Delta$	37.78 \pm 15.82** $\Delta\Delta$	44.55 \pm 22.16** $\Delta\Delta$

注:与本组治疗前比较,** $P < 0.01$;与菟丝二仙汤组治疗后比较, $\Delta\Delta P < 0.01$ 。表2同。

表2 各组患者治疗前后精浆MDA和SOD的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	时间	MDA(nmol/mL)	SOD(U/mL)
菟丝二仙汤组	58	治疗前	13.58 \pm 2.13	102.51 \pm 4.94
		治疗后	9.30 \pm 2.02**	166.68 \pm 6.68**
右归丸组	57	治疗前	13.69 \pm 2.02	105.54 \pm 5.14
		治疗后	10.79 \pm 2.12** $\Delta\Delta$	143.81 \pm 2.59** $\Delta\Delta$
西药组	57	治疗前	13.81 \pm 2.13	103.59 \pm 5.15
		治疗后	11.75 \pm 2.16** $\Delta\Delta$	123.48 \pm 3.92** $\Delta\Delta$

表3 各组患者临床疗效比较(例)

组别	例数	痊愈	显效	有效	无效	总有效率(%)
菟丝二仙汤组	58	10	27	12	9	84.5
右归丸组	57	6	16	13	22	61.4**
西药组	57	4	14	14	25	56.1**

注:与菟丝二仙汤组比较,** $P < 0.01$ 。

4. 安全性评价 3组患者治疗后血常规、肝肾功正常,说明菟丝二仙汤治疗肾阳虚型弱精子症安全,无不良反应。

讨论

中医学未见有弱精子症的相关记载,本病按临床表现归属中医“精冷”“无子”“精寒”等范畴。历代医家对本病均有所论述,《金匱要略·血痹虚劳病脉证并治第六》曰:“男子脉浮弱而涩,为无子,精气清冷”。《诸病源候论·虚劳无子候》云:“丈夫无子者,其精清如水,冷如冰铁,皆为无子之候”。可见古代医家对精子质量病变已有相当的认识。弱精子症因肾阳亏虚引起的最为常见^[13],短程补肾法治疗肾虚型弱精子症患者研究表明,滋阴补肾法、健脾补肾法、益肾温阳法3种方法中,益肾温阳法治疗肾阳不足型弱精子症疗效最好^[14]。中医学认为肾主生殖,若肾阳亏虚,温煦功能失职,无法蒸化肾阴化生精气,精子动力乏源则可出现精子存活率低,活力弱。胡翔等^[15]通过实验研究证实温肾阳法可以唤醒肾阴化精气。因此肾阳虚型弱精子症治宜温肾壮阳,益精助育。

菟丝二仙汤方中用菟丝子味甘,性温,具有补肾添精之功,《药性论》记载:“治男女虚冷,添精益髓”;淫羊藿味辛、甘,性温,有温肾壮阳生精之效,共为君药。枸杞子、黄精、山药、熟

地黄滋阴益肾填精,取“阴中求阳”之义,为臣药。其中枸杞,别名仙人杖,味甘性平,具有补肝肾的功效,《本草经集注》曰其:“补益精气”^[16];黄精味甘性平,具有滋肾填精之功;山药味甘性平,具有益气养阴,补脾肺肾的功效;熟地黄味甘性微温,具有补血滋阴,益精填髓之效。再佐以沙苑、续断补肝肾,壮阳益精。其中沙苑味甘性温,具有补肾固精的功效;续断味苦、甘、辛,性微温,具有补肝肾,强筋骨的功效。大枣味甘性温,和中调药,功兼佐使。诸药合用,共奏温肾壮阳,益精助育的功效。

现代药理研究表明,菟丝子能明显改善热应激小鼠的精子动力,促进热应激小鼠睾丸、附睾的生长发育^[17];淫羊藿可提高链脲佐菌素诱导生精功能障碍大鼠的精浆SOD水平^[18];枸杞多糖可以保护小鼠精子DNA的氧化损伤^[19]。实验研究表明健脾益肾中药强精煎能提高弱精子症大鼠附睾精子活动力,增强抗氧化酶活性SOD水平,降低附睾精子精浆MDA水平^[7]。

本研究表明,菟丝二仙汤在改善肾阳虚型弱精子症患者的a级精子、精子活力、精子活率疗效明显优于右归丸组、西药组,可以明显提高患者的精液质量。菟丝二仙汤组能显著提高患者精浆SOD水平,增强精子的抗氧化作用,降低精浆MDA浓度,保护精子氧化应激损伤,是治疗肾阳虚型弱精子症的有效方法之一。

参考文献

- [1] Thassadite D, Baptiste R, Mathilde J, et al. Missense mutations in SLC26A8, encoding a sperm-specific activator of CFTR, are associated with human asthenozoospermia. *The American Journal of Human Genetics*, 2013, 92(5): 760-766
- [2] Renata W J, Jan K W, Jolanta S H. The role of oxidative stress and antioxidants in male fertility. *Central European Journal of Urology*, 2013, 66(1): 60-67
- [3] Damayanthi D, Ashok A, Chloe O, et al. Lycopene and male infertility. *Asian Journal of Andrology*, 2014, 16(3): 420-425
- [4] Leila Z, Rajabali S, Rasoul S, et al. Protective effects of vitamin E and cornus mas fruit extract on methotrexate-induced cytotoxicity in sperms of adult mice. *Veterinary Research Forum*, 2014, 5(1): 21-27
- [5] Jae H J, Ju T S. Empirical medical therapy in idiopathic male

infertility: promise or panacea. *Clinical and Experimental Reproductive Medicine*, 2014, 41(3): 108-114

[6] Anna G, Jarmila K, Jozef D, et al. Coenzyme Q10, α -tocopherol, and oxidative stress could be important metabolic biomarkers of male infertility. *Disease Markers*, 2015: 827941-827947

[7] 宾彬, 陆海旺, 王德胜, 等. 强精煎对实验大鼠附睾精子抗氧化作用的研究. *时珍国医国药*, 2013, 24(5): 1056-1058

[8] 管华全, 樊巧玲. 肾气丸与右归丸对肾虚小鼠SOD活性影响的比较研究. *中医药通报*, 2009, 8(5): 56-57

[9] 何学西, 吴意光, 王春杨, 等. 右归胶囊治疗弱精子症的临床疗效观察研究. *中华男科学杂志*, 2012, 18(3): 281-283

[10] WHO. 人类精液及精子-宫颈黏液相互作用实验室检验手册. 4版. 北京: 科学技术出版社, 2001: 51

[11] 李铮, 张忠平, 黄冀然, 等译. 世界卫生组织男性不育标准化检查与诊疗手册. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 3-22

[12] 国家卫生部. 中药新药临床研究指导原则(第一辑). 1993: 192

[13] 王琦. 男科疾病中西医结合. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 2003: 100-120

[14] 廖芝健, 周建甫, 殷振超, 等. 短程补肾疗法对肾虚型弱精子症患者近期精液质量的影响研究. *中华男科学杂志*, 2013, 19(2): 159-162

[15] 胡翔, 陆华. 含右归丸鼠血清对人FTM-PVCs体外分化为类卵细胞的影响. *中华中医药杂志*, 2014, 29(5): 1640-1644

[16] 钱丹, 黄璐琦, 邱功, 等. 枸杞子性味变迁的本草考辨. *中华中医药杂志*, 2016, 31(5): 1539-1542

[17] 韩洪军, 金玉姬, 王光慧, 等. 菟丝子对热应激小鼠精子生成数量及活力的影响. *中华临床医师杂志*, 2012, 16(6): 4909-4911

[18] Yongde X, Hongen L, Rui L G, et al. Prophylactic protective effects and its potential mechanisms of icariside II on streptozotocin induced spermatogenic dysfunction. *International Journal of Molecular Sciences*, 2014, 15(9): 16100-16113

[19] Caili Z, Anzhong W, Xiaona S, et al. Protective effects of lycium barbarum polysaccharides on testis spermatogenic injury induced by bisphenol A in mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013: 690808-690817

(收稿日期: 2016年5月23日)

• 临床报道 •

温胆颗粒对替诺福韦药代动力学影响的初步研究

张晓伟^{1,2}, 孟祥乐¹, 郭会军^{1,2}, 冀爱英¹

(¹河南中医药大学第一附属医院, 郑州 450000; ²国家中医药管理局中医传染病学重点学科, 郑州 450000)

摘要: 目的: 初步评价温胆颗粒对替诺福韦(TDF)药代动力学影响作用。方法: 温胆颗粒治疗2周, 留取治疗前后患者血浆标本, 进行TDF药物药代动力学检测并分析。结果: 温胆颗粒治疗前后TDF血浆药代动力学参数: $AUC_{(0-1)}$ 疗前: $(4\ 855.2 \pm 1\ 371.5) \mu\text{g/L} \cdot \text{h}$, 疗后 $(4\ 761.1 \pm 1\ 889.6) \mu\text{g/L} \cdot \text{h}$; $t_{1/2\alpha}$ 疗前: $(18.00 \pm 12.07) \text{h}$, 疗后 $(33.55 \pm 49.34) \text{h}$; T_{max} 疗前: $(3.45 \pm 3.12) \text{h}$, 疗后 $(1.75 \pm 1.03) \text{h}$; C_{max} 疗前: $(428.0 \pm 156.0) \mu\text{g/L}$, 疗后 $(516.7 \pm 206.8) \mu\text{g/L}$, 且上述药代动力学参数治疗前后均未见显著性差异。结论: 温胆颗粒对血浆TDF药代动力学无显著影响作用。

关键词: 温胆颗粒; 艾滋病; 替诺福韦; 药代动力学

基金资助: 国家“十二五”科技重大专项(No.2012ZX10004905-003-003), 河南省重点科技攻关项目(No.142102310511), 河南省自然科学基金项目(No.162300410186)

Preliminary study on the effects of Wendan Granule on the pharmacokinetics of tenofovir

ZHANG Xiao-wei^{1,2}, MENG Xiang-le¹, GUO Hui-jun^{1,2}, JI Ai-ying¹

(¹The First Affiliated Hospital of Henan University of TCM, Zhengzhou 450000, China; ²The Key Discipline of TCM Infectious Diseases of the State Administration of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China)

通讯作者: 冀爱英, 郑州市人民路19号河南中医药大学第一附属医院消化科, 邮编: 450000, 电话: 0371-66213917

E-mail: waterblue133@163.com