

## 增精颗粒对大鼠附睾精子质量的影响

杜位良<sup>1</sup>, 常德贵<sup>2</sup>, 张太君<sup>2</sup>, 王久源<sup>2</sup>, 张蜀武<sup>2</sup>, 唐 礴<sup>1</sup>

(1. 泸州医学院附属医院中医科, 四川 泸州 646000; 2. 成都中医药大学附属医院男科, 四川 成都 610075)

**摘要:** 目的: 观察中药增精颗粒(ZJG)对不育大鼠附睾精子质量的影响,探讨 ZJG 改善附睾精子质量的机制。  
 方法: 将 40 只雷公藤多甙(GTW)实验性 SD 雄性大鼠不育模型随机分成 4 组,每组 10 只,包括不育组 GTW 2 mg/(ml·100 g)和 ZJG 高、中、低剂量组[高:ZJG 0.67 g/(ml·100 g) + GTW 2 mg/(ml·100 g),中:ZJG 0.33 g/(ml·100 g) + GTW 2 mg/(ml·100 g),低:ZJG 0.17 g/(ml·100 g) + GTW 2 mg/(ml·100 g),另设正常组(对照)10 只(等量的 1%羧甲基纤维素钠溶液)。整个实验周期 6 周,由 3 周造模期和 3 周用药期组成。ZJG 各组按指定的剂量用药 3 周(实验第 43 d)观察大鼠附睾精子质量、附睾腺管壁厚度及主要性腺器官系数的变化。结果: ZJG 高、中、低剂量组附睾精子密度分别为(59.6 ± 3.72)、(63.3 ± 5.70)、(69.7 ± 6.91) × 10<sup>6</sup>/ml,精子活率分别为(65.4 ± 6.33)%、(69.3 ± 10.96)%和(72.6 ± 9.61)%,畸形率分别为(52.3 ± 7.47)%、(46.2 ± 7.73)%和(33.2 ± 7.97)%,与不育组[精子密度(13.1 ± 6.81) × 10<sup>6</sup>/ml,精子活率(7.6 ± 5.87)%,畸形率(77.2 ± 8.75)%]相比,ZJG 各组差异均有显著性(P < 0.05),与正常组[精子密度(75.6 ± 10.82) × 10<sup>6</sup>/ml,精子活率(83.00 ± 8.02)%,畸形率(8.80 ± 3.49)%]相比,ZJG 各组差异均无显著性(P > 0.05);附睾腺管壁厚度分别为(37.07 ± 3.38)、(37.16 ± 6.69)、(43.42 ± 10.23) nm,与不育组(28.65 ± 6.96) nm 相比,ZJG 各组差异均有显著性(P < 0.05),与正常组(45.79 ± 11.13) nm 相比,ZJG 各组差异均无显著性(P > 0.05);ZJG 高、中、低剂量组睾丸附睾器官系数提高与不育组相比,ZJG 各组差异均有显著性(P < 0.05),与正常组相比,ZJG 各组差异无统计学意义(P > 0.05);精囊和前列腺器官系数无变化与不育组和正常组相比,ZJG 各组差异均无显著性(P > 0.05)。结论: ZJG 能显著改善不育大鼠附睾精子质量。提高睾丸附睾器官系数,恢复损伤附睾管壁厚度,进而改善附睾精子成熟功能是其作用机制。

**关键词:** 中药; 增精颗粒; 附睾; 精子; 实验研究

中图分类号: R256.56; R282.7107; R332 文献标识码: A 文章编号: 1009-3591(2004)02-0155-05

### Effects of ZJG on the Quality of Sperm in Male Rat Epididymis

Du Weiliang, Chang Degui, Zhang Taijun, Wang Jiuyuan, Zhang Shuwu, Tang Bo

Department of Traditional Chinese Medicine, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou, Sichuan 646000, China(Du WL, Tang B); Department of Andrology, the Affiliated Hospital of Chengdu Traditional Chinese Medical University, Chengdu, Sichuan 610075, China(Chang DG, Zhang TJ, Wang JY, Zhang SW)

Correspondence to: Du Weiliang, E-mail: duwliang@163.com

**Abstract:** Objective: To observe the effects of Chinese herbal composition Zengjing Granule (ZJG) on the quality of sperm in the epididymis of infertile rats, and to study its therapeutic mechanisms of improving sperm quality. Methods: A total of 40 GTW infertile rats were divided into 4 groups of 10 rats each, including an infertility group GTW 2 mg/(ml·100 g), a high dosage group ZJG 0.67 g/(ml·100 g) + GTW 2 mg/(ml·100 g), a medium-dosage group ZJG 0.33 g/(ml·100 g) + GTW 2 mg/(ml·100 g), a low-dosage group ZJG 0.17 g/(ml·100 g) + GTW 2 mg/(ml·100 g), and a normal control group (1%CMC). This study

收稿日期: 2003-06-20; 修回日期: 2003-10-09

作者简介: 杜位良(1962-),男,重庆江津市人,副教授,医学硕士,从事男科学专业。

通讯作者: 杜位良, E-mail: duwliang@163.com

consisted of a 3-week modeling period and a 3-week ZG period. The changes of sperm quality, the thickness of the epididymal gland canal wall and sexual organ coefficient were detected after 3-week ZG period. Results: Of the 3 ZG groups, the sperm density was  $(59.6 \pm 3.72)$ ,  $(63.3 \pm 5.70)$  and  $(69.7 \pm 6.91) \times 10^6/\text{ml}$ , the sperm motility rates were  $(65.4 \pm 6.33)\%$ ,  $(69.3 \pm 10.96)\%$  and  $(72.6 \pm 9.61)\%$ , the sperm deformity rates were  $(52.3 \pm 7.47)\%$ ,  $(46.2 \pm 7.73)\%$  and  $(33.2 \pm 7.97)\%$  respectively. The ZG groups showed significant difference from the infertility group ( $P < 0.05$ ), whose sperm density, motility and deformity were  $(13.1 \pm 6.81) \times 10^6/\text{ml}$ ,  $(7.6 \pm 5.87)\%$ , and  $(77.2 \pm 8.75)\%$  respectively. But there was no significant difference between ZG groups and the normal control group ( $P > 0.05$ ), whose sperm density, motility and deformity were  $(75.6 \pm 10.82) \times 10^6/\text{ml}$ ,  $(83.00 \pm 8.02)\%$ , and  $(8.80 \pm 3.49)\%$  respectively. The thickness of the epididymal gland canal wall was  $(37.07 \pm 3.38)$ ,  $(37.16 \pm 6.69)$  and  $(43.42 \pm 10.23)$  nm in the three ZG groups respectively, different from the infertility group  $(28.65 \pm 6.96)$  nm ( $P < 0.05$ ) significantly, but not from the normal control group  $(45.79 \pm 11.13)$  nm ( $P > 0.05$ ). The ZG groups showed an increase in the organ coefficient of the epididymal gland canal wall. And these was obvious statistical difference compared with the infertility group ( $P < 0.05$ ), but no statistical significance compared with the normal control group ( $P > 0.05$ ). Conclusions: ZG can obviously improve the sperm quality of infertile rats. Its therapeutic mechanisms can be summed up as follows: restoring the thickness of epididymal gland wall, increasing the organ coefficient of testes and epididymis, and hence improving the spermatozoa maturing function of epididymis of infertile rats. Natl J Androl, 2004, 9(2): 155-159

**Key words:** Traditional Chinese Medicine; Zengjing Granule; epididymis; spermatozoa; experimental research

业已证实雷公藤多甙抗生育作用的靶细胞和靶器官,一是睾丸及睾丸的精子及精子细胞,二是附睾上皮和附睾精子<sup>1</sup>。但目前中医药治疗男性不育多从改善睾丸生精功能入手,中医药对附睾腺管壁厚度和附睾精子成熟功能的影响方面罕有研究报告。本研究主要探讨增精颗粒(ZG)对附睾精子质量的影响。

## 1 材料与方法

### 1 实验材料

**1.1.1 动物** 70只SD雄性大鼠,2.5~3.0月龄,体重210~230g,由成都中医药大学动物实验中心提供(川实动管质第114号)。实验期间饲养于(20±3.0) °C、12h光、12h暗的条件下,自由摄食全价大颗粒饲料、饮水,驯养1周后使用。

**1.1.2 药物** ZG:成都中医药大学附属医院药剂科提供,由人参、当归、枸杞、菟丝子、鹿角胶、淫羊藿、益母草、车前子等组成,规格10g/包,含生药6.2g,批号000613。ZG混悬液:将ZG分别配制成浓度为0.67、0.33、0.17g/ml的黄褐色混悬液,4℃冰箱保存备用。雷公藤多甙(GTW):上海医科大学红旗制药厂生产,规格10mg/片,批号990219。

GTW混悬液:将GTW研末,溶于1%的羧甲基纤维素钠溶液中配制成浓度为2g/L的黄褐色混悬液,4℃冰箱保存备用。

**1.1.3 主要仪器** 显微镜(Olympus,日本),XDS-1型倒置显微镜(重庆光学仪器厂),FJ2008-P计数器(西安262厂生产),Mias-2000图像分析仪(四川大学图形图像研究所)。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 实验分组** 将70只SD大鼠抽取20只作为正常对照组,其余50只作为模型组。造模3周后(第22d)正常组和模型组各随机抽取10只作模型评价,同时,除正常组(10只)外,余下的40只模型组再按体重分层后随机分为不育组和ZG高、中、低剂量组4组,每组10只。

**1.2.2 模型制作** 大鼠驯化喂养1周,除正常对照组外,模型组均以GTW混悬液(20mg/kg)灌胃,1次/d,连续3周。大鼠每周称体重1次,以调整给药剂量,造成大鼠不育模型<sup>2</sup>。

**1.2.3 实验给药** 造模3周分组后(实验第22d),正常组(对照)灌胃等量的1%羧甲基纤维素钠溶液,中药各组在灌胃GTW混悬液前灌胃不同浓度的ZG混悬液,每周给药6d,1次/d,连续3周。大鼠每周称体重1次,以调整给药剂量。具体给药:正常组:1%羧甲基纤维素钠溶液1ml/100g;不育组:GTW2mg/(ml·100g);高剂量组:ZG0.67g/(ml·100g)+GTW2mg/(ml·100g);中剂量组:ZG0.33g/(ml·100g)+GTW2mg/(ml·100g);低剂量组:ZG0.17g/(ml·100g)+GTW2mg/(ml·100g)。

### 1.3 观察指标与检测方法

**1.3.1 附睾精子密度、精子活率、畸形率的检测** 在大鼠左侧附睾尾部取材,精子密度采用倪瑾等<sup>2</sup>报道方法,精子活率(%)、畸形率(%)采用文献<sup>3</sup>方法。

**1.3.2 主要性腺器官系数的检测** 脏器系数=脏器重量/体重。各组动物处死前称取体重,处死后摘

取睾丸、附睾、前列腺、精囊称取湿重。

1.3.3 附睾腺管壁厚度测定 将大鼠右侧附睾头部组织在10%甲醛中固定1周,石蜡包埋、切片及苏木精-伊红染色,显微镜下观察( $\times 200$ ),选择每张切片3个视野中腺体壁最厚部进行测量计数,求其均值,即为腺体管壁厚度。

1.4 统计学分析 采用SPSS 8.0统计软件进行方差分析,方差齐性采用LSD检验,不齐采用Dunnett's  $T_3$ 检验。

## 2 结果

### 2.1 对附睾精子质量的影响

2.1.1 GTW不育模型评价 GTW造成附睾精子密度、精子活率及畸形率各项指标显著下降,具体结果见表1。显微镜下模型组可见畸形精子较多,以头部异常及头尾分离为主。

表1 GTW造模3周后模型组与正常组大鼠附睾精子参数的比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1. Comparison of sperm parameters of the rat epididymis between the control group and the model group after 3-week GTW( $\bar{x} \pm s$ )

Group	n	Density ( $\times 10^6/ml$ )	Motility (%)	Deformity (%)
Control	10	81.38 $\pm$ 8.70	82.13 $\pm$ 6.96	9.50 $\pm$ 3.25
Model	10	29.57 $\pm$ 3.74 *	31.43 $\pm$ 7.53 *	58.14 $\pm$ 4.26 *

与正常组相比, \* :  $P < 0.01$

Compared with the control group, \* :  $P < 0.01$

表2 用药3周后各组大鼠附睾精子参数的比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2. Comparison of sperm parameters of the rat epididymis between the experimental groups and the control group after 3-week ZJG( $\bar{x} \pm s$ )

Group	n	Density( $\times 10^6/ml$ )	Motility (%)	Deformity (%)
Control	10	75.6 $\pm$ 10.82	83.0 $\pm$ 8.02	8.8 $\pm$ 3.49
Infertility	10	13.1 $\pm$ 6.81	7.6 $\pm$ 5.87	77.2 $\pm$ 8.75
High dosage	10	59.6 $\pm$ 3.72 **	65.4 $\pm$ 6.33 **	52.3 $\pm$ 7.47 **
Medium dosage	10	63.3 $\pm$ 5.70 **	69.3 $\pm$ 10.96 **	46.2 $\pm$ 7.73 **
Low dosage	10	69.7 $\pm$ 6.91 **	72.6 $\pm$ 9.61 **	33.2 $\pm$ 7.97 **

与不育组相比, \* :  $P < 0.05$ , \*\* :  $P < 0.01$ ;与正常组相比, :  $P < 0.01$

Compared with the infertility group, \* :  $P < 0.05$ , \*\* :  $P < 0.01$ ; compared with the control group, :  $P < 0.01$

肾益精而无助热之虞。鹿角胶能补肝肾,益精养血,与菟丝子、淫羊藿相伍,能温补肾阳,鼓舞肾中阳气,促进精子、精液的生成,提高精子活动力。益母草不仅活血化瘀,与车前子配伍更具利水渗湿、泄肾中虚火之功,且可制约方中温热之品。故全方具有“阴阳

2.1.2 ZJG对附睾精子质量的影响 用药3周后ZJG各组附睾精子密度、活率和畸形率明显改善,具体结果见表2。镜下不育组附睾精子头部异常非常多见,有铁锤形、香蕉形、短钩形、双头、双尾、尾部附着错位等。

2.2 ZJG对大鼠主要性腺器官系数的影响 ZJG各组睾丸、附睾系数较不育组显著提高( $P < 0.05$ ),与正常组接近( $P > 0.05$ ),而精囊、前列腺脏器系数各组用药前后差异无显著性( $P > 0.05$ )。见表3。

2.3 ZJG对附睾腺管壁厚度的影响 附睾组织切片光镜观察显示,GTW各组附睾上皮有损伤致附睾管壁变薄,ZJG各组损伤附睾上皮有恢复而腺管壁增厚,具体统计结果及切片见表4和图1。

## 3 讨论

男性不育在已婚男子中约占5%~8%,其中90%以上为生精障碍,且特发性生精障碍约占60%<sup>4</sup>,主要临床表现为少精子症、弱精子症、畸形精子症、无精子症及无精液,属中医“精冷、精空、精少、无子”范畴。我们临床研究发现,本病与肝肾精血不足、脾虚湿胜、湿瘀阻络有关,肾虚、血瘀、湿热为其主要病机,确立了补肾填精、益气养血、化瘀利湿为治疗原则,用ZJG作为治疗用药<sup>5</sup>。

ZJG方中人参,能大补元气,与方中当归配伍更具补血活血之功,参、归气血双补,“精血同源”,气血旺盛则肾精得充。枸杞、菟丝子补肝肾,滋阴助阳益精,乃平补之品,与甘温补阳之淫羊藿配伍,有补

气血并调、肝脾肾兼顾;补中有通、补中有清”的特点。活血化瘀药益母草、当归等可扩张血管,改善微循环,而有改善睾丸附睾血供与代谢的作用<sup>6</sup>。补肾壮阳药如淫羊藿等含有丰富的微量元素锌,锌不仅能提高精子密度,而且也能提高精子活力,具有性

表3 用药3周后各组大鼠主要性腺脏器系数比较( $\bar{x} \pm s, g/100g$ )

Table 3. Comparison of the organ coefficient of the rat sexual gland between the experimental groups and the control group after 3-week ZJG( $\bar{x} \pm s, g/100g$ )

Group	n	Testis	Epididymis	Spermatocyst	Prostate
Control	10	1.097 ±0.120	0.423 ±0.045	0.369 ±0.062	0.177 ±0.030
Infertility	10	0.910 ±0.085	0.336 ±0.030	0.360 ±0.053	0.169 ±0.033
High-dosage	10	0.940 ±0.098	0.388 ±0.036 **	0.362 ±0.060	0.161 ±0.029
Medium-dosage	10	1.010 ±0.094 *	0.390 ±0.048 **	0.362 ±0.061	0.173 ±0.024
Low-dosage	10	1.010 ±0.093 *	0.406 ±0.037 **	0.363 ±0.078	0.164 ±0.028

与不育组相比, \* :  $P < 0.05$ , \*\* :  $P < 0.01$ ;与正常组相比, :  $P < 0.01$

Compared with the infertility group, \* :  $P < 0.05$ , \*\* :  $P < 0.01$ ; compared with the control group, :  $P < 0.01$

表4 用药3周后各组大鼠附睾腺管壁厚度的比较( $\bar{x} \pm s, nm$ )

Table 4. Comparison of thickness of the epididymal gland wall between the experimental groups and the control group after 3-week ZJG( $\bar{x} \pm s, nm$ )

Group	n	Thickness
Control	10	45.79 ±11.13
Infertility	10	28.65 ±6.96
High-dosage	10	37.07 ±3.38 *
Medium-dosage	10	37.16 ±6.79 *
Low-dosage	10	43.42 ±10.23 **

与不育组相比, \* :  $P < 0.05$ , \*\* :  $P < 0.01$ ;与正常组相比, :  $P < 0.05$ , :  $P < 0.01$

Compared with the infertility group, \* :  $P < 0.05$ , \*\* :  $P < 0.01$ ; compared with the control group, :  $P < 0.05$ , :  $P < 0.01$



图1 正常组大鼠附睾组织(苏木精-伊红染色, ×200) 箭头所指为大鼠附睾腺管壁  
Figure 1. Rat epididymis tissue of the control group(HE, ×200) The arrow indicates the epididymal gland canal wall



图2 模型组大鼠附睾组织(苏木精-伊红染色, ×200) 箭头所指为大鼠附睾腺管壁  
Figure 2. Rat epididymis tissue of the model group(HE, ×200) The arrow indicates the epididymal gland canal wall

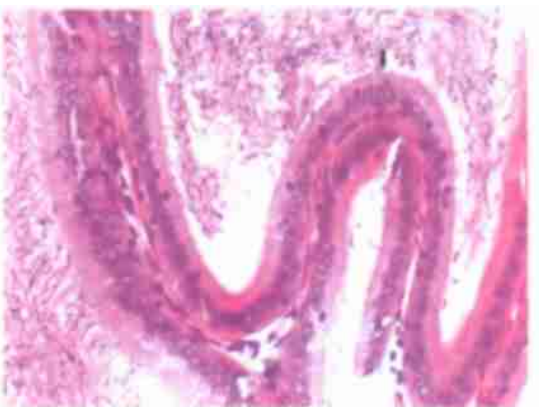


图3 高剂量组大鼠附睾组织(苏木精-伊红染色, ×200) 箭头所指为大鼠附睾腺管壁  
Figure 3. Rat epididymis tissue of the high-dosage group(HE, ×200) The arrow indicates the epididymal gland canal wall

激素样作用,可调节内分泌失调治疗不育<sup>7</sup>。菟丝子、当归、枸杞、淫羊藿等均为治疗男性不育、精子缺乏症的有效药物<sup>8</sup>。

附睾为精子成熟提供了合适的腔内环境<sup>9</sup>。正常附睾管的管腔整齐,从头到尾管腔逐渐增大,上皮逐渐变薄。附睾上皮为假复层柱状,主要由主细胞和基细胞组成,分泌的-葡萄糖苷酶、唾液酸等是



图 4 中剂量组大鼠附睾组织(苏木精-伊红染色,  $\times 200$ )  
箭头所指为大鼠附睾腺管壁

Figure 4. Rat epididymis tissue of the medium dosage group (HE,  $\times 200$ )

The arrow indicates the epididymal gland canal wall

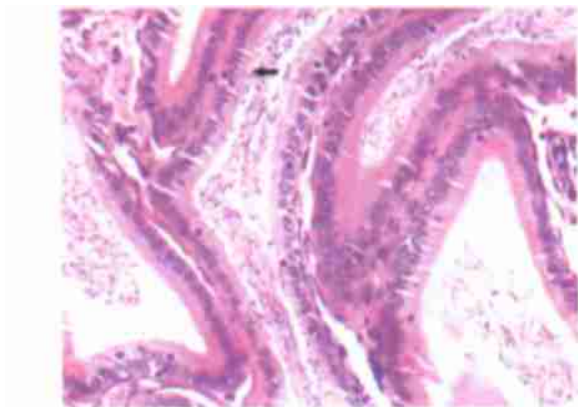


图 5 低剂量组大鼠附睾组织(苏木精-伊红染色,  $\times 200$ )  
箭头所指为大鼠附睾腺管壁

Figure 5. Rat epididymis tissue of the low-dosage group (HE,  $\times 200$ )

The arrow indicates the epididymal gland canal wall

附睾功能性指标。据报道,光镜下观察 GTW 不育大鼠附睾上皮轻微损伤,管内精子分布不均,精子多破碎,主要表现为头尾分离,顶体弯曲;电镜下观察附睾上皮主细胞可见成串大空泡<sup>1</sup>。附睾管壁的厚与薄,提示

了附睾上皮及管壁上皮细胞的损伤与恢复情况。

本实验表明,GTW 造模 3 周后模型组大鼠附睾精子质量(精子密度、精子活率和畸形率)显著下降(表 1)。不育组续用 GTW 3 周后精子质量继续下降,与正常对照组比较差异有显著性( $P < 0.01$ );而 ZG 各组用药(GTW + ZG 高中低剂量)3 周精子质量则有显著改善,与不育组比较差异有极显著性( $P < 0.01$ ),量效关系低剂量组较好,且与正常对照组接近( $P > 0.05$ )(表 2)。实验还表明,ZG 具有增加附睾重量,提高附睾系数(表 3),各组与不育组比较差异有显著性( $P < 0.05$ ),与正常组接近( $P > 0.05$ );增加附睾腺管壁厚度(表 4,图 1~5),各组与不育组相比差异有显著性( $P < 0.05$ ),其中低剂量组与正常组接近( $P > 0.05$ )。可见,ZG 有增加附睾重量和管壁厚度,促进损伤附睾上皮恢复和上皮细胞的分泌,从而改善附睾精子成熟功能,改善精子质量的作用,为中医药治疗附睾功能性不育提供了解释依据。

#### 参考文献

- 1 王作鹏,曹霖,游根娣,等. 雷藤氯内酯醇对大鼠抗生育作用机制探讨 J. 中国男科学杂志,1999,13(4):200-202.
- 2 倪瑾,倪平,徐曼,等. 优生宝补益肝肾治疗男性不育机理的实验研究 J. 中国中医基础医学杂志,1996,2(5):33-34.
- 3 张均田主编. 现代药理实验方法 M. 北京:北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社,1998. 1715.
- 4 王益鑫编著. 男性不育症诊断与治疗 M. 上海:上海科学技术文献出版社,1998. 4-6.
- 5 徐福松,曹开镛主编. 男科基础与临床 M. 北京:北京科学技术出版社,1996. 240-243.
- 6 徐理纳,曹立德,尹钟诛,等. 22 种活血化瘀药对狗外周血流量的作用 J. 新医药学杂志,1976,(5):38-40.
- 7 蔡新,王礼文,何映. 男性不育症中医证型与精液参数及血清性激素关系的初步探讨 J. 中华男科学,2003,9(5):396-397.
- 8 王琦主编. 王琦男科学 M. 郑州:河南科学技术出版社,1997. 378-394.
- 9 库卓华. 人精子在附睾中的成熟 J. 中华男科学,2001,7(1):1-9.

(朱培元 编发)