



石菖汤联合育之缘口嚼片对肾虚夹湿型弱精子症患者精子线粒体酶及精浆锌的影响

程宛钧 张敏建* 史亚磊 危桢罡 潘旭东 林 勇 潘日润 邓日森 曾智承 (福建中医药大学附属人民医院 福建福州 350004)

摘要: **目的** 探讨对肾虚夹湿型弱精子症患者精子活力、精子线粒体酶活性及精浆锌含量的影响。**方法** 选取符合纳入标准的病例72例,随机分为石菖汤+育之缘口嚼片治疗组(A组)36例;天然维生素E软胶囊+葡萄糖酸锌片对照组(B组)36例,检测2组治疗前后精液常规参数;精子线粒体呼吸链相关酶活性:琥珀酸脱氢酶(SDH)和细胞色素C氧化酶(COX)的水平;全自动精浆生化仪测定精浆锌含量的变化;评估治疗前后中医证候评分。**结果** 2组治疗后各项精液参数比较,A组优于B组($P<0.05$);2组治疗后精子线粒体呼吸链相关酶活性值均有升高,A组优于B组($P<0.05$);2组治疗后精浆锌含量升高,A组升高幅度高于B组($P<0.05$);2组治疗后中医证候评分,A组改善程度明显优于B组($P<0.01$)。治疗16周后再随访8周,A组9例夫妇受孕成功,总有效率为86.11%;对照组仅4例夫妇受孕成功,总有效率为72.22%,2组比较有统计学差异($P<0.05$)。**结论** 石菖汤联合育之缘口嚼片对改善肾虚夹湿证弱精子症患者的精液常规中的活力参数有明显作用,应与其激发精子线粒体酶活性和提高精浆锌含量以及治疗肾虚夹湿证临床症状有关,进而提升患者夫妇受孕能力,值得进一步深入研究。

关键词: 石菖汤 育之缘口嚼片 肾虚夹湿 弱精子症 线粒体酶活性 精浆锌

中图分类号: R277.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-5187(2017)08-001-02

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金资助项目(81403246);福建省卫生厅中医药科研课题资助(wzsy201307);福建省卫生厅青年科研课题资助(2013-2-60)。

男性不育症是目前成年男性的常见病、多发病,占不孕不育因素的50%左右^[1],弱精子症是导致男性不育症的主要原因,约占19%^[2],弱精子症原因主要有与感染、精浆异常、内分泌异常、男性附属性腺炎症或功能下降、精索静脉曲张等因素有关^[3],随着研究发现精子线粒体活性和精浆锌与弱精子症关系密切^[4]。我院协定处方石菖汤是治疗肾虚夹湿型弱精子症名老中医经验方,临床应用近三十年,疗效良好^[5];育之缘咀嚼片(锌硒蛋白复合制剂),可穿过血睾屏障被人体吸收,无毒副作用,补充人体必需的微量元素锌硒有助于改善精液质量有较好的作用^[6]。因此,我们进一步在临床中用石菖汤联合育之缘口嚼片治疗肾虚夹湿型弱精子症,观察对改善患者精子活力,提高受孕率方面,取得了较好的临床疗效。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选自2015年8月-2017年3月在福建中医药大学附属人民医院男科门诊就诊的男性不育症中弱精子症患者77例,按照随机数字表法分为治疗组(A组):石菖汤+育之缘口嚼片;对照组(B组):天然维生素E软胶囊+葡萄糖酸锌片。其中A组脱落2例,B组脱落3例,2组各有36例完成研究。年龄:A组,23-46(30.85±9.67)岁;B组,23-48(29.63±8.97)岁。病程:A组,最长7年,最短15个月,平均2.8年;B组,最长9年,最短13个月,平均3.1年。经SPSS19.0统计学分析,两组间年龄、病程均无显著性差异($P>0.05$),具有可比性。

1.2 纳入标准

(1)23~50岁育龄男性;(2)符合夫妻婚后共同生活1年以上,未采取任何避孕措施女方未曾怀孕者^[1];(3)符合西医弱精子症诊断标准^[7]:进行精液分析,精液量 $>2\text{mL}$,精子计数 $>20\times 10^9/\text{L}$,精子总数 $>40\times 10^9/\text{L}$,其中活力有1项或1项以上指标异常者即可纳入,60min内快速前向运动精子(a级)+慢速前向运动精子数(b级) $<50\%$,或a级 $<25\%$,或a级+b级+非前向运动精子(c级) $<60\%$ 者。(4)中医诊断标准参照卫生部颁布的《中药新药临床研究指导原则》^[8]并加以修改。肾虚夹湿型弱精子症,辨证标准:主症:①舌淡红苔厚腻,脉滑或沉细;②腰膝酸软;③形寒肢冷。次症:①精液黏稠;②失眠健忘;③口干口苦;④嗜睡。符合主症1项,同时兼具主症其

余各项中的任1项和次症中任2项即可诊断。(5)自愿参加本研究,并签署知情同意书。

1.3 排除标准

(1)近3个月有应用影响睾丸生精功能或附属性腺功能药物者;(2)生殖道感染;(3)全身检查有其它内分泌疾病、代谢性疾病和肝病;(4)具有明确遗传性免疫缺陷性疾病,及具有药物、食物过敏者;(5)先天性生殖系统发育不良或畸形;(6)精浆生化分析提示伴有其它附属性腺功能不良者;(7)女方检查有妇科不孕症者;(8)拒绝参与研究者。

1.4 实验药物

A组:石菖汤,福建中医药大学附属人民医院协定处方,功效:化湿祛浊、益肾填精;组成:石菖蒲20g、草薢20g、连翘15g、黄芪30g、枸杞子20g、菟丝子30g、黄精15g、五味子10g、覆盆子10g、墨旱莲15g、女贞子15g、怀牛膝10g。由我院全成分®中药配方颗粒剂智能中药房全封闭配制,每剂分2包,早晚饭后各1包,开水溶解冲服,连续服用16周。育之缘口嚼片(体恒健牌,济南高新开发区活力元素开发中心生产,国食健字G20070010),饭前空腹嚼服,3次/d,2片/次,连续服用16周。

B组:天然维生素E软胶囊(珠海市汤臣倍健股份有限公司出产,国食健字G20110005)每日1粒,饭后服;葡萄糖酸锌咀嚼片(浙江杭康药业有限公司生产,国药准字H20083979),每次4片,每天2次,饭后服。B组方案药物,连续服用16周。

1.5 疗效指标

(1)2组患者治疗前后精液参数的变化:按WHO第4版实验室操作手册的标准方法^[9]用徐州北斗科贸公司生产的BD-8000G型彩色精液分析仪(CASA)进行精液密度和活力等参数的检测。

(2)精子线粒体呼吸链相关酶活性测定:采用王美娇方法^[10]改进,制备精子悬液-80℃保存备用。采用Clark^[11]和王新^[12]等方法将前述制备好的精子悬液,分离提取精子线粒体悬液,置于冰槽备用。严格按照线粒体呼吸链复合物试剂盒说明书设定好分光光度计(上海尤尼柯UV-2000型),对精子线粒体琥珀酸脱氢酶(SDH)和细胞色素C氧化酶(COX)的活性进行检测。精子线粒体呼吸链相关酶活性测定试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

(3)精浆锌测定将患者精液离心沉淀分离精子后得到精浆,按照南京欣迪生物公司出品的精浆锌定量检测试剂盒(PAN法),用迈瑞公司全自动精浆生化仪(BS-400型)检测。

(4)中医证候评分的变化观察2组患者治疗前后的临床症状变

第一作者:程宛钧(1979-),男,主治医师、硕士,主要从事中西医结合男科临床与基础研究。

*通讯作者:张敏建。



化,并参考《中医临床病症诊断疗效标准》并修订后对患者的临床症状进行评分,主证根据严重程度评 0-6 分,次证评 0-3 分^[13]。

(5) 疗效判定标准及总有效率的比较参照《中药新药临床研究指导原则》^[8] 男性不育症的疗效判定标准。痊愈:配偶受孕(包括服药期间以及治疗后 3-6 个月);显效:虽没有受孕,治疗 3 个月后精液质量转为正常;有效:精液分析显示精子密度、成活率、活动力好转,至少有 1 项提高 > 30%;无效:治疗前后无变化。总有效率(%) = (治愈例数 + 显效例数 + 有效例数) / 总例数 × 100%。

表 1: 2 组精液参数治疗前后比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	量 (ml)	精子密度 ($10^6/\text{ml}$)	精子活动率 (%)	a 级 (%)	a+b (%)
A 组 (n=36)	治疗前	1.81±0.67	25.83±4.67	36.14±13.18	13.18±7.57
	治疗后	3.78±1.03 ¹⁾²⁾	31.43±7.56 ¹⁾²⁾	66.84±18.61 ¹⁾²⁾	29.49±5.38 ¹⁾²⁾
B 组 (n=36)	治疗前	1.86±0.79	23.21±3.15	38.20±12.45	14.21±5.13
	治疗后	2.74±1.57	28.52±5.31	51.29±10.64	24.12±4.26

注: 治疗前后组内比较, 1)P<0.05; 治疗后组间比较, 2) P<0.05; 治疗前组间比较, 无统计学差异。

2.2 2 组治疗前后精子线粒体呼吸链相关酶活性和精浆锌含量比较, 见表 2。

表 2: 2 组精子线粒体呼吸链相关酶活性治疗前后比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n (例)	SDH (U/mg)	COX (U/mg)	精浆锌 ($\mu\text{mol}/\text{次射精}$)
A 组	治疗前	36	2.38±0.45	1.68±0.43
	治疗后	36	3.98±0.56 ¹⁾²⁾	2.93±0.31 ¹⁾²⁾
B 组	治疗前	36	2.59±0.56	1.91±0.61
	治疗后	36	3.15±0.59	2.36±0.57

注: 治疗前后组内比较, 1)P<0.05; 治疗后组间比较, 2) P<0.05; 治疗前组间比较, 无统计学差异。

2.3 2 组治疗前后肾虚夹湿证中医证候评分比较, 见表 3

表 3: 2 组治疗前后肾虚夹湿证中医证候评分比较 (分, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	治疗前	治疗后
A 组	36	18.8±4.6	5.3±3.9 ¹⁾²⁾
B 组	36	17.3±5.6	10.3±4.6

注: 组内与治疗前比较, 1)P<0.01; 组间与治疗前后比较, 2) P<0.01; 治疗前组间比较, 无统计学差异。

2.4 2 组总体疗效评价

服药 16 周后再随访 8 周, A 组有 9 例夫妇受孕成功, 总有效率为 86.11%。B 组仅 4 例夫妇受孕成功, 其中 1 例在怀孕 46d 左右检查发现先兆流产, 总有效率为 72.22%。两组对比, 具有统计学差异 (P<0.05), 说明 A 组疗效明显优于 B 组。见表 4。

表 4: 2 组治疗前后总体疗效的比较 (例, %),

组别	例数	痊愈	显效	有效	无效	总有效率
A 组	36	9	14	8	5	86.11 ¹⁾
B 组	36	4	11	11	9	72.22

注: 与 B 组比较, 1)P<0.05。

3 讨论

随着精子超微结构和分子研究的深入, 发现精子运动所需能量主要来自线粒体呼吸链的氧化磷酸化, 如果氧化磷酸化功能异常, 酶活性或表达量改变及 mtDNA 的变异等均可能导致线粒体能量合成障碍, 降低精子活力^[4]。线粒体几乎存在于人体全身的组织细胞之中, 是细胞对食物进行生物氧化产能的细胞器, 有“细胞的动力站”之称, 精子的运动亦不例外。所以线粒体呼吸链酶活性是评价精子质量的重要指标之一。近年来线粒体结构和功能异常与精子活力低下的相关性已引起关注。

SDH 是线粒体呼吸酶系的关键酶, 它位于线粒体的内膜上, 在三羧酸循环中, SDH 催化琥珀酸转化为延胡索酸, 脱去的 H⁺ 最后生成三磷酸腺苷, 为细胞提供能量^[15]。因此, SDH 活性能直接反映线粒体的功能和细胞能量代谢的状态。COX 亦是呼吸酶系中的关键酶, 其酶活性变化直接影响整个呼吸链的功能变化。COX 是线粒体氧化能力、能量代谢的关键调节部位, 在能量产生中起主要作用, 因此被称为需氧生命的能量发生器。

1.6 统计学方法

采用 SPSS19.0 软件进行统计学分析, 对于满足方差齐性的计量资料如患者治疗前后精液参数、SDH、COX、精浆锌含量以及中医证候评分采用 t 检验, 不满足则采用秩和检验; 等级资料如疗效评价采用秩和检验。计数资料组间比较采用卡方检验, 用 P<0.05 表示有统计学差异。

2 结果

2.1 2 组精液参数治疗前后比较, 见表 1。

另外, 国内外很多研究证实, 锌参与精子生成、成熟、激活、获能和凋亡过程, 适量的锌可延缓精子细胞膜脂质氧化, 维持细胞结构稳定性和生理通透性, 从而使精子有良好活力。

石草汤是我院男科名老中医经验方, 作为协定处方临床用于治疗肾虚夹湿型弱精子症 30 余年取得了良好的疗效。主要针对其肾精亏虚为本, 湿阻精窍为标的病机, 发挥益肾除湿强精的功效。方中石菖蒲、萆薢除湿开窍利浊; 黄芪、枸杞子、菟丝子补气健脾益肾; 黄精、五味子、覆盆子、墨旱莲、女贞子益肾养精; 连翘解毒利尿, 取下病上治之意; 怀牛膝补肝肾并引药下行; 全方共奏益肾强精化浊之功。

本研究结果显示, 石草汤联合育之缘口嚼片能有效的改善各项精液参数比较, 尤其在提升精子活力方面作用显著; 同时研究表明联合治疗能够较快的改善精子线粒体呼吸链相关酶活性, 使 SDH 和 COX 的水平均有升高, 有效的改善精子线粒体功能状态; 治疗后发现精浆锌含量较治疗前明显升高, 说明联合治疗方案能够有效的改善附属性腺的功能, 提高精浆质量; 更重要的是, 通过石草汤联合育之缘口嚼片的治疗, 能明显改善患者的中医肾虚夹湿证的临床症状, 体现了中西医结合的优势和特色。

综上, 通过研究期间观察和随访, 发现石草汤联合育之缘口嚼片在总有效率和受孕率均优于对照组, 说明该方案对肾虚夹湿证弱精子症患者的精液常规中的活力参数有明显得改善作用, 应与其激发精子线粒体酶活性和提高精浆锌含量以及治疗肾虚夹湿证临床症状有关, 进而提升患者夫妇受孕能力, 值得进一步深入研究。

参考文献

- [1] 中国中西医结合学会男科专业委员会. 男性不育症中西医结合诊疗指南 (试行版). 中国中医结合杂志, 2015, 35(9):1034-1038.
- [2] Curi SM, Ariagno JI, Chenlo PH, et al. Asthenozoospermia: Analysis of a large population[J]. Arch Androl 2003, 49(5):343-349.
- [3] 张卫星, 王瑞. 导致少、弱精子症的因素和治疗[J]. 医学新知, 2008, 18(1):18-21.
- [4] 郑九嘉, 楼哲丰, 郑蔚虹, 等. 线粒体呼吸功能与精子活力、核 DNA 损伤的相关性分析[J]. 中国细胞生物学报 2012, 34(1):34-40.