

生殖医学

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.000412

不同灸法对部分雄激素缺乏综合征大鼠性激素/促性激素分泌调节及 SOD、MDA 影响的研究

任毅¹, 杨晓光¹, 李学智¹, 张愉², 汪莹¹

(1. 重庆医科大学中医药学院针灸推拿教研室, 重庆 400016;

2. 重庆医科大学生物医学工程学院、省部共建超声医学工程国家重点实验室, 重庆 400016)

【摘要】目的:观察不同灸法对部分雄激素缺乏综合征大鼠性激素/促性激素分泌调节以及超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malonic dialdehyde, MDA)的影响。**方法:**将 50 只雄性 SD 大鼠随机分成 2 组: 正常组($n=10$)和模型组($n=40$), 模型组腹腔注射环磷酰胺中老年男性部分雄激素缺乏综合征(partial androgen deficiency of aging male, PADAM)大鼠模型。从造模成功的大鼠中随机选取 32 只平均分为 4 组: 温和灸组、瘢痕灸组、药物组和对对照组。于造模前、造模后和治疗后测定大鼠血清总睾酮(total testosterone, TT)、游离睾酮(free testosterone, FT)值及悬尾和强迫游泳时间。于治疗后测定血清黄体生成素(luteinizing hormone, LH)、卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)水平及肾脏、睾丸匀浆 SOD、MDA 含量。**结果:**(1)运用环磷酰胺复制 PADAM 大鼠模型成功。(2)治疗结束后, 温和灸组、瘢痕灸组、药物组血清 TT、FT 含量较治疗前及对对照组明显提高(P 值均为 0.000); 血清 LH、FSH 含量较对照组明显下降(P 值均为 0.000); 悬尾和强迫游泳时间明显改善(P 值均为 0.000); 肾脏、睾丸 SOD 含量明显高于对照组(P 值均为 0.000)而 MDA 含量明显低于对照组(P 值均为 0.000); 温和灸组与瘢痕灸组、药物组相比较疗效更明显($P=0.004, P=0.009; P=0.000, P=0.000; P=0.000, P=0.003$), 瘢痕灸组、药物组比较无统计学差异($P=0.762, P=0.282, P=0.247$)。**结论:**(1)2 种灸法均可提高 PADAM 大鼠血清 TT、FT 水平及肌张力和抗疲劳能力, 其作用与丙酸睾酮素相当。(2)2 种灸法均可提高 PADAM 大鼠体内 SOD 而降低 MDA, 提示灸法治疗 PADAM 可能与其改善体内自由基系统有关联。(3)温和灸疗效更佳, 为临床灸法选择提供实验依据。

【关键字】温和灸; 瘢痕灸; 部分雄激素缺乏综合征; 总睾酮; 游离睾酮; 黄体生成素; 卵泡刺激素; 超氧化物歧化酶; 丙二醛

【中图分类号】R245.3; R245.8

【文献标志码】A

【收稿日期】2014-04-18

Effects of different moxibustion therapies on contents of SOD, MDA and reproductive endocrines in male rats with partial androgen deficiency

Ren Yi¹, Yang Xiaoguang¹, Li Xuezhi¹, Zhang Yu², Wang Ying¹

(1. Teaching and Research Section of Acupuncture and Moxibustion, College of Traditional Chinese Medicine, Chongqing Medical University; 2. State Key Laboratory of Ultrasound Engineering in Medicine Co-founded by Chongqing and the Ministry of Science and Technology, College of Biomedical Engineering, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To observe the effects of different moxibustion therapies on contents of superoxide dismutase (SOD), malonic dialdehyde (MDA) and reproductive endocrine in male rats with partial androgen deficiency of aging male (PADAM). **Methods:** Totally 50 male rats were randomly divided into normal control group ($n=10$) and model group ($n=40$). The rats in model group were injected with cyclophosphamide in abdominal cavities to make PADAM model. Thirty-two rats were randomly selected from model group and were randomized into mild-moxibustion group, scarring-moxibustion group, rolin group and control group. Before modeling, after modeling and at the end of experiments, all rats' serum total testosterone (TT) and free testosterone (FT) levels were detected and exhaustion swimming tests and tail suspension experiments were observed. The SOD and MDA levels in kidney and testis tissues as well as the serum luteinizing hormone (LH) and follicle-stimulating hormone (FSH) levels were determined at the end of the experiments. **Results:** (1) A successful modeling of PADAM was made by using cyclophosphamide. (2) After the treatments, the serum

作者介绍: 任毅, Email: renyionly@163.com,

研究方向: 针灸防治疾病的机理研究。

通信作者: 李学智, Email: lixz999@126.com。

基金项目: 重庆医科大学基金资助项目 (编号: XBYB2008090)。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13406/j.cnki.cyx.000412.html>

TT and FT levels in three treatment groups increased significantly compared with those pre-therapy and control group ($P=0.000$). The serum LH and FSH levels decreased significantly ($P=0.000$). The duration of immobility and the duration of exhaustion swimming also improved significantly ($P=0.000$). SOD

activities in the kidney and testis increased obviously ($P=0.000$) and MDA contents decreased significantly ($P=0.000$). The curative effect of mild-moxibustion group was better compared with that of the other two groups ($P=0.004, P=0.009; P=0.000, P=0.000; P=0.000, P=0.003$) and no significant difference was found between scarring-moxibustion group and androlin group ($P=0.762, P=0.282, P=0.247$). **Conclusion:** (1) Two kinds of moxibustion therapies could improve the depression state, myodynamia and energy in the aging rats as well as increase TT and FT levels, with the similar effects of testosterone propionate. (2) Two kinds of moxibustion therapies could increase SOD activities and decrease MDA contents in the kidney, indicating a correlation between electro-acupuncture cured PADAM and improved free radical related systems in the body. (3) Mild-moxibustion had a better curative effect, providing experimental data and proof for clinical treatment.

[Key words] mild-moxibustion; scarring-moxibustion; partial androgen deficiency of aging male; total testosterone; free testosterone; luteinizing hormone; follicle-stimulating hormone; superoxide dismutase; malonic dialdehyde

中老年部分雄激素缺乏综合征 (partial androgen deficiency of aging male, PADAM) 是中老年男性随着年龄的增长而表现为体内雄激素水平不足的一种综合征, 在 1994 年欧洲男科学研讨会上由奥地利泌尿学会首次提出, 以雄激素水平低于 3 ng/ml 和个体症状为诊断标准^[1]。Morales 在国际老年男性学会 (international society for the study for the aging male, ISSAM) 上将这些个体症状归纳为植物神经症状、精神神经症状、心理障碍以及性功能减退 4 类^[2]。随着人口老龄化越来越严重, PADAM 的危害性日益受到人们的重视。目前, 国内外许多研究均证实睾酮补充疗法 (testosterone supplementation therapy, TST) 可以显著地改善上述症状^[3], 但对于其能引发良性前列腺异常增大等安全性问题仍没有明确共识。目前研究表明, 艾灸可以提高实验大鼠体内低水平的雄激素含量, 以及具有调整生殖内分泌紊乱的作用。因此, 本研究选择温和灸和瘢痕灸 2 种不同的灸法作为替代疗法, 观察其对实验大鼠性激素/促性激素分泌调节的影响。近年来对于针灸抗氧化的研究使衰老的自由基学说逐渐被学者所重视, 人们对超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、丙二醛 (malonic dialdehyde, MDA) 与衰老相关的研究也表明了其变化与衰老之间存在一定的相关性。PADAM 作为中老年过渡期疾病, 其发病机制可能与自由基学说存在一定的联系, 故本研究测定不同灸法对于肾脏中 SOD、MDA 含量的影响, 试求其与疾病的内在关系。

1 材料与方法

1.1 实验动物

2 月龄、同批次清洁级 SD 雄性大鼠 50 只, 体质量 (200 ± 20) g。购自重庆医科大学动物实验中心, 生产许可

证: SCXK 2012-0001。在相同条件 [湿度 (45 ± 5)%, 温度 (22 ± 2) °C, 12 h 光暗周期] 下正常饲养 1 周。

1.2 实验试剂及检测设备

总睾酮 (total testosterone, TT) 试剂盒, 批号: 23005318, 游离睾酮 (free testosterone, FT) 试剂盒, 批号: 23005320, 黄体生成素 (luteinizing hormone, LH) 试剂盒, 批号: 23005322, 卵泡刺激素 (follicle-stimulating hormone, FSH) 试剂盒, 批号: 23005325, 购自上海沪尚生物科技有限公司; 超氧化 SOD 试剂盒, 批号: 20130816, MDA 试剂盒, 批号: 20130813, 购自南京建成科技有限公司; 丙酸睾酮注射液, 25 mg/支, 批号 H31020524, 购自上海通用药业股份有限公司; 环磷酰胺注射粉针, 0.2 g/支, 批号 H14023686, 购自山西普德药业股份有限公司。艾条 (长 12 cm, 直径 0.6 cm, 南阳); 精制艾绒 (蕲艾, 南阳); 皮肤温度计 (MR-5, 北京); 离心机 (TOMY, 日本); 生物显微镜 (iMark-14047, 上海)。

1.3 PADAM 模型大鼠的建立

50 只雄性 SD 大鼠随机分为正常组 ($n=10$) 和模型组 ($n=40$), 参考相关造模方法^[4], 模型组腹腔注射环磷酰胺 $20 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$, 连续 5 d, 正常组注射等体积生理盐水。造模后, 模型组大鼠与正常组比较, 体质量减轻、饮食饮水量减少。参考章振宝等^[5]的方法, 得出血清 TT、FT 水平较造模前明显下降 ($t=51.465, P=0.000; t=64.453, P=0.000$), 行为学改变明显 (悬尾时间延长 $t=-15.457, P=0.000$, 强迫游泳时间缩短 $t=35.330, P=0.000$)。遵循孙祥宙等^[6]的方法, 统计出正常组大鼠血清 TT、FT 水平的 99% 可信区间下限分别为 5.56 ng/ml 和 4.68 nmol/L , 以此为标准, 凡模型组大鼠血清 TT、FT 值低于该标准, 则表明造模成功。

1.4 穴位的选择与定位

肾俞穴 (BL23) 位于大鼠第二腰椎下两旁。该穴为肾脏的背俞穴, 肾气输注于此, 且其位于膀胱经, 膀胱与肾互为表里, 刺激此穴可以起到调肾补肾的作用。

关元穴 (CV4) 位于大鼠脐下约 25 mm 处。该穴为小肠的募穴, 小肠之气结聚于此, 且其为先天之海, 刺激此穴具有固本培元、补益下焦之功。

1.5 实验分组及治疗方法

从造模成功的大鼠中随机选取 32 只平均分为 4 组: 温和灸组、瘢痕灸组、药物组 and 对照组。因性激素的分泌具有节

律性,故治疗时间定为上午 08:00~11:30 之间,实验室湿度控制为 45%~46%,温度控制为 20℃~22℃之间。温和灸组:大鼠四肢捆绑固定。穴位取“关元”和双侧“肾俞”三穴。灸法采用温和灸。将艾条距离穴位 0.5℃ 1.0 cm 处施灸,皮肤温度计测量穴位表面皮温达 45℃时维持 15 min。每日 1 次,连续治疗 8 周。瘢痕灸组:大鼠四肢捆绑固定。穴位取“关元”和双侧“肾俞”三穴。灸法采用瘢痕灸。采用腹腔注射 10%水合氯醛 0.3 ml/100 g 麻醉大鼠。将精致艾绒制作成长约 8 mm,直径 2 mm 的小艾炷,蘸少许大蒜汁后置于穴位上,一次性灸 10 壮/穴,然后单笼饲养,直至灸疤全部脱落。药物组:于大鼠腹部皮下注射丙酸睾酮,7 mg/(kg·3 d),注射部位左右交替。对照组:与药物组同期腹部皮下注射生理盐水,用量标准同药物组。药物组和对照组注射后四肢捆绑固定,正反各 15 min,连续 8 周。

1.6 指标的采集与检测

1.6.1 一般情况 实验进展过程中观察大鼠体质量变化、活动以及饮食饮水等情况。

1.6.2 行为学检测 于造模前、造模后、治疗结束当天进行。大鼠悬尾实验:参考 Steru 等^[7]的方法。将大鼠尾端 2 cm 的部位固定在水平木板上(木板离地 1 m 左右),使大鼠呈倒挂状。悬挂两侧用木板隔开大鼠视线。大鼠为克服不正常体位而挣扎活动,但活动一定时间后,出现间断性“不动”,显示“失望”状态。计算 6 min 内不动时间,并同时观察大鼠挣扎幅度以及抑郁状态。本实验可一定程度上反映大鼠的肌力以及抑郁状态。大鼠强迫游泳实验:参考 Mcardle 和 Montoye^[8]的方法。游泳池规格为 100 cm×60 cm×85 cm,游泳时水深保持 60 cm,大鼠不能以尾撑池底休息为准,水温控制 24℃~26℃。将大鼠置于游泳池,记录大鼠游泳力竭时间,力竭判断标准即游泳最后下沉,经 10 s 后仍不能返回水面为准。本实验是反映大鼠体力及衡量是否疲劳的经典指标。

1.6.3 指标的采集 于造模前后全部大鼠采用目内眦取血法取血 1.5 ml;在治疗结束后次日上午,4 组大鼠采用摘除眼球取血法取血 3 ml,断颈法处死全部大鼠。血液采集后立即离心(3 000 r/min,15 min),分离血清,分装试管,-20℃低温冰箱保存。解剖睾丸和肾脏,一侧睾丸用 4%多聚甲醛固定,2℃~4℃常温冰箱保存;另一侧睾丸和肾脏置于冻存管中,-80℃超低温冰箱保存。

1.6.4 指标的检测 采用 ELISA 法测定大鼠血清 TT、FT、LH、FSH 的含量。将大鼠肾组织在冰水浴中分别制作成 0.5%、10%的组织匀浆,采用羟胺法测定 0.5%肾组织匀浆的 SOD 含量;采用硫代巴比妥酸法测定 10%肾组织匀浆的 MDA 含量。

1.6.5 形态学检测 睾丸切片,HE 染色,光镜下观察病理学形态。

1.7 统计学方法

所有数据采用 SPSS 19.0 统计软件进行分析。检测数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。多组间差异的比较采用单因素方差分析,其组间两两比较采用 LSD-*t* 法;各组治疗前后比较采用配对 *t* 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 建立 PADAM 大鼠模型的标准

造模之后,由表 1 可知:模型组大鼠与造模前比较,血清 TT、FT 水平明显降低($t=51.465, P=0.000; t=64.453, P=0.000$);悬尾时间明显延长($t=-15.457, P=0.000$)而强迫游泳时间明显缩短($t=35.330, P=0.000$)。实验结果显示正常大鼠血清 TT、FT 的 99%可信区间下限分别为 5.56 ng/ml 和 4.68 nmol/L;模型组大鼠血清值均低于此下限,故全部大鼠造模成功。

2.2 不同灸法对实验大鼠行为学的影响

由表 2 可知:治疗之前,4 组大鼠的悬尾时间($F=1.861, P=0.159$)和强迫游泳时间($F=0.508, P=0.680$)无明显差异,故具有可比较性。与治疗前及对照组相比,治疗后温和灸、瘢痕灸和药物组大鼠的悬尾时间明显降低(P 值均为 0.000)而强迫游泳时间明显升高(P 值均为 0.000);温和灸与瘢痕灸、药物组大鼠相比较,有更明显的变化(P 值均为 0.000),瘢痕灸与药物组比较差异无统计学意义($P_{14}=0.667; P_{20}=0.595$)。提示温和灸与瘢痕灸均能提高 PADAM 模型大鼠的肌张力和抗疲劳能力,并能改善其抑郁状态,其作用效果与丙酸睾酮一致;与瘢痕灸相比,温和灸具有更加显著的疗效。

2.3 不同灸法对实验大鼠性激素/促性激素分泌调节的影响

由表 3 可知:治疗之前,4 组大鼠的血清 TT($F=0.647, P=0.591$)、FT($F=1.432, P=0.255$)含量无明显差异,故具有可比性。治疗之后,温和灸、瘢痕灸与药物组大鼠血清 TT(P 值均为 0.000)、FT(P 值均为 0.000)与治疗前及对照组相比显著增高;温和灸与瘢痕灸、药物组大鼠相比较,变化更明显($P_{12}=0.004, P_{13}=0.009; P_{18}=0.001, P_{19}=0.000$),瘢痕灸与药物组比较差异无统计学意义($P_{14}=0.762; P_{20}=0.282$)。由表 4 可知:治疗后,温和灸、瘢痕灸与药物组大鼠血清 LH、FSH 含量与对照组相比明显降低(P 值均为 0.000);温和灸与瘢痕灸、药物组大鼠相比,变化更明显($P_{24}=0.000, P_{25}=0.003; P_{31}=0.000, P_{32}=0.002$);瘢痕灸与药物组比较无统计学差异($P_{26}=0.247, P_{33}=0.566$)。提示温和灸与瘢痕灸对大鼠的激素分泌均具有良性调节作用;与瘢痕灸相比,温和灸疗效更明显。

表 1 大鼠造模前后一般情况比较($\bar{x} \pm s$)

Tab.1 Comparison on general condition before and after making PADAM model($\bar{x} \pm s$)

组别	数量	时间	TT (ng/ml)	FT (nmol/L)	悬尾时间(s)	强迫游泳时间(min)
模型组	40	造模前	5.59 ± 0.27	4.75 ± 0.25	172.59 ± 4.26	29.25 ± 1.16
		造模后	3.06 ± 0.51	3.49 ± 0.21	190.33 ± 7.07	20.90 ± 1.14
	<i>t</i> 值		51.465	64.453	-15.457	35.330
	<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000	0.000

表 2 4 组大鼠治疗前后行为学变化 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.2 Comparison of ethology among 4 groups before and after the therapy ($\bar{x} \pm s$)

组别	数量	悬尾时间 (s)			强迫游泳时间 (min)		
		治疗前	治疗后	配对 <i>t</i> 检验	治疗前	治疗后	配对 <i>t</i> 检验
温和灸组	8	194.75 ± 9.41	172.03 ± 2.13	<i>t</i> 1=7.888, <i>P</i> 1=0.000	21.58 ± 1.56	29.16 ± 1.07	<i>t</i> 5=-12.096, <i>P</i> 5=0.000
瘢痕灸组	8	188.31 ± 6.75	179.24 ± 1.27	<i>t</i> 2=3.727, <i>P</i> 2=0.007	20.81 ± 1.25	26.95 ± 1.28	<i>t</i> 6=8.400, <i>P</i> 6=0.000
药物组	8	192.33 ± 6.04	179.60 ± 1.27	<i>t</i> 3=6.990, <i>P</i> 3=0.000	21.19 ± 1.43	26.64 ± 1.08	<i>t</i> 7=-9.195, <i>P</i> 7=0.000
对照组	8	187.24 ± 6.33	189.34 ± 1.77	<i>t</i> 4=-1.006, <i>P</i> 4=0.348	20.38 ± 1.28	20.89 ± 1.24	<i>t</i> 8=-0.012, <i>P</i> 8=0.991
LSD- <i>t</i> 检验		<i>F</i> =148.364, <i>P</i> =0.000			<i>F</i> =72.747, <i>P</i> =0.000		
		温和灸组 vs. 对照组 <i>P</i> 9=0.000			温和灸组 vs. 对照组 <i>P</i> 15=0.000		
		瘢痕灸组 vs. 对照组 <i>P</i> 10=0.000			瘢痕灸组 vs. 对照组 <i>P</i> 16=0.000		
		药物组 vs. 对照组 <i>P</i> 11=0.000			药物组 vs. 对照组 <i>P</i> 17=0.000		
		温和灸组 vs. 瘢痕灸组 <i>P</i> 12=0.000			温和灸组 vs. 瘢痕灸组 <i>P</i> 18=0.001		
		温和灸组 vs. 药物组 <i>P</i> 13=0.000			温和灸组 vs. 药物组 <i>P</i> 19=0.000		
		瘢痕灸组 vs. 药物组 <i>P</i> 14=0.667			瘢痕灸组 vs. 药物组 <i>P</i> 20=0.595		

表 3 4 组大鼠治疗前后性激素变化 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.3 Changes in testosterone among 4 groups before and after the therapy ($\bar{x} \pm s$)

组别	数量	TT (ng/ml)			FT (nmol/L)		
		治疗前	治疗后	配对 <i>t</i> 检验	治疗前	治疗后	配对 <i>t</i> 检验
温和灸组	8	3.07 ± 0.43	6.07 ± 0.25	<i>t</i> 1=-29.829, <i>P</i> 1=0.000	3.47 ± 0.21	6.10 ± 0.22	<i>t</i> 5=-24.382, <i>P</i> 5=0.000
瘢痕灸组	8	2.82 ± 0.33	5.56 ± 0.19	<i>t</i> 2=-24.824, <i>P</i> 2=0.000	3.53 ± 0.17	4.71 ± 0.16	<i>t</i> 6=-31.377, <i>P</i> 6=0.000
药物组	8	2.86 ± 0.46	5.61 ± 0.32	<i>t</i> 3=-41.536, <i>P</i> 3=0.000	3.45 ± 0.19	4.83 ± 0.28	<i>t</i> 7=-18.798, <i>P</i> 7=0.000
对照组	8	3.06 ± 0.59	2.84 ± 0.47	<i>t</i> 4=0.658, <i>P</i> 4=0.532	3.63 ± 0.21	3.51 ± 0.27	<i>t</i> 8=0.984, <i>P</i> 8=0.358
LSD- <i>t</i> 检验		<i>F</i> =162.371, <i>P</i> =0.000			<i>F</i> =168.984, <i>P</i> =0.000		
		温和灸组 vs. 对照组 <i>P</i> 9=0.000			温和灸组 vs. 对照组 <i>P</i> 15=0.000		
		瘢痕灸组 vs. 对照组 <i>P</i> 10=0.000			瘢痕灸组 vs. 对照组 <i>P</i> 16=0.000		
		药物组 vs. 对照组 <i>P</i> 11=0.000			药物组 vs. 对照组 <i>P</i> 17=0.000		
		温和灸组 vs. 瘢痕灸组 <i>P</i> 12=0.004			温和灸组 vs. 瘢痕灸组 <i>P</i> 18=0.000		
		温和灸组 vs. 药物组 <i>P</i> 13=0.009			温和灸组 vs. 药物组 <i>P</i> 19=0.000		
		瘢痕灸组 vs. 药物组 <i>P</i> 14=0.762			瘢痕灸组 vs. 药物组 <i>P</i> 20=0.282		

表 4 4 组大鼠治疗后促性激素变化 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.4 Changes in gonadotropin among 4 groups after the therapy ($\bar{x} \pm s$)

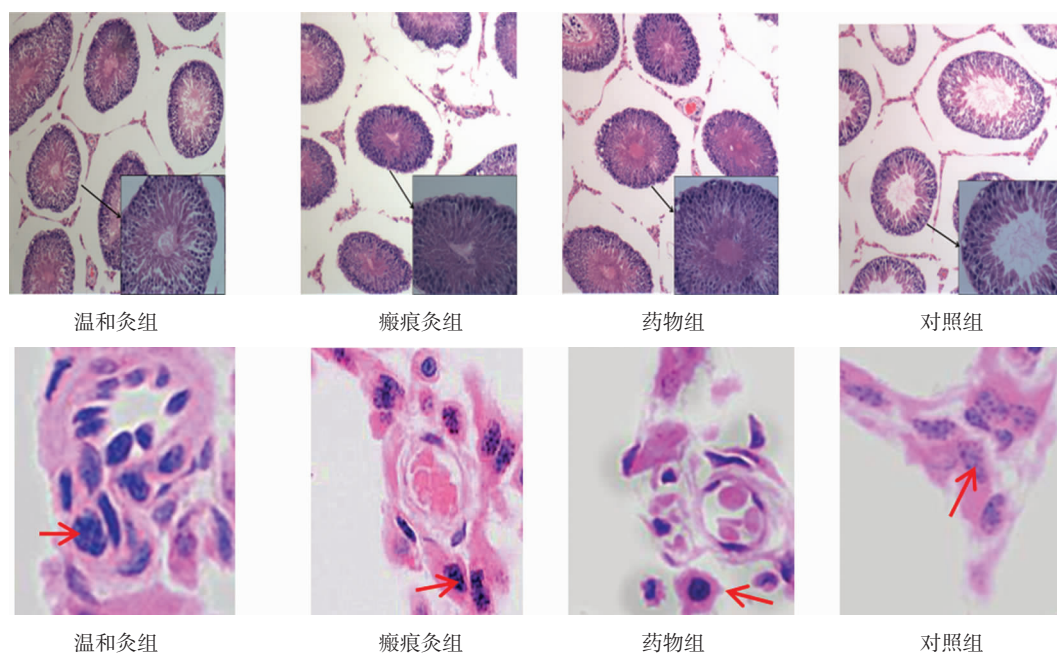
组别	数量	LH (ng/L)	FSH ((pg/ml)
温和灸组	8	1 452.15 ± 6.05	23.22 ± 4.48
瘢痕灸组	8	1 496.36 ± 15.83	33.34 ± 7.31
药物组	8	1 483.87 ± 18.81	31.86 ± 2.97
对照组	8	1 708.91 ± 29.52	56.28 ± 4.69
LSD- <i>t</i> 检验		<i>F</i> =291.255, <i>P</i> =0.000	<i>F</i> =61.354, <i>P</i> =0.000
		温和灸组 vs. 对照组 <i>P</i> 21=0.000	温和灸组 vs. 对照组 <i>P</i> 28=0.000
		瘢痕灸组 vs. 对照组 <i>P</i> 22=0.000	瘢痕灸组 vs. 对照组 <i>P</i> 29=0.000
		药物组 vs. 对照组 <i>P</i> 23=0.000	药物组 vs. 对照组 <i>P</i> 30=0.000
		温和灸组 vs. 瘢痕灸组 <i>P</i> 24=0.000	温和灸组 vs. 瘢痕灸组 <i>P</i> 31=0.000
		温和灸组 vs. 药物组 <i>P</i> 25=0.003	温和灸组 vs. 药物组 <i>P</i> 32=0.002
		瘢痕灸组 vs. 药物组 <i>P</i> 26=0.247	瘢痕灸组 vs. 药物组 <i>P</i> 33=0.566

2.4 不同灸法对实验大鼠 SOD、MDA 的影响

由表 5 可知:治疗后,温和灸、瘢痕灸和药物组大鼠肾脏和睾丸 SOD 含量和对照组相比明显升高(*P* 值均为 0.000)而 MDA 含量明显降低(*P* 值均为 0.000)。温和灸与瘢痕灸、药物组相比较,变化更明显(*P*4=0.000, *P*5=0.003; *P*10=0.000, *P*11=0.003; *P*16=0.000, *P*17=0.000; *P*22=0.000, *P*23=0.000),瘢痕灸与药物组比较差异无统计学意义(*P*6=0.121; *P*12=0.545; *P*23=0.789);但在睾丸组织中,瘢痕灸 SOD 值明显高于药物组

表 5 4 组大鼠治疗后肾脏 SOD、MDA 含量比较 ($\bar{x} \pm s$)Tab.5 Comparison on contents of SOD and MDA among 4 groups after the therapy ($\bar{x} \pm s$)

组别	数量	肾脏		睾丸	
		SOD	MDA	SOD	MDA
温和灸组	8	112.92 $\pm$ 9.28	13.47 $\pm$ 2.02	111.25 $\pm$ 8.64	13.74 $\pm$ 2.33
瘢痕灸组	8	85.41 $\pm$ 3.58	22.13 $\pm$ 1.45	93.22 $\pm$ 4.19	20.50 $\pm$ 1.64
药物组	8	79.40 $\pm$ 4.27	21.41 $\pm$ 1.75	77.41 $\pm$ 4.53	20.93 $\pm$ 1.37
对照组	8	48.92 $\pm$ 10.42	37.19 $\pm$ 3.67	47.39 $\pm$ 6.38	37.50 $\pm$ 5.53
		$F=97.709, P=0.000$	$F=138.161, P=0.000$	$F=69.0221, P=0.000$	$F=80.597, P=0.000$
LSD- <i>t</i> 检验	温和灸组 vs. 对照组	$P1=0.000$	$P7=0.000$	$P13=0.000$	$P19=0.000$
	瘢痕灸组 vs. 对照组	$P2=0.000$	$P8=0.000$	$P14=0.000$	$P20=0.000$
	药物组 vs. 对照组	$P3=0.000$	$P9=0.000$	$P15=0.000$	$P21=0.000$
	温和灸组 vs. 瘢痕灸组	$P4=0.000$	$P10=0.000$	$P16=0.000$	$P22=0.000$
	温和灸组 vs. 药物组	$P5=0.003$	$P11=0.003$	$P17=0.000$	$P23=0.000$
	瘢痕灸组 vs. 药物组	$P6=0.121$	$P12=0.545$	$P18=0.000$	$P23=0.789$

图 1 大鼠睾丸病理学变化 (100 $\times$)Fig.1 Phathological changes of testicles (100 $\times$)

($P18=0.000$)。

2.5 不同灸法对实验大鼠睾丸组织学形态的影响

实验大鼠睾丸组织 HE 染色,分别在 100 $\times$ 和 400 $\times$ 光镜下观察组织学形态。由图 1 可知:100 $\times$ 光镜下观察,温和灸、瘢痕灸及药物组同对照组相比,大鼠睾丸曲细精管管腔规则,管径大,基膜完整,而对照组大鼠曲细精管排列紊乱,生殖细胞脱落缺失;400 $\times$ 光镜下观察,温和灸、瘢痕灸及药物组同对照组相比较,大鼠曲细精管之间间质组织增生,间质细胞数量增多,细胞核深染。

3 讨论

3.1 PADAM 环磷酰胺造模的可行性及治疗现状

PADAM 是中老年男性体内雄激素水平不足而

出现的一系列症状,随着年龄的增大,体内具有生物活性的雄激素不断下降是引发 PADAM 的主要原因。目前研究表明,环磷酰胺具有很强的细胞毒性,能够损伤睾丸,造成生精功能和睾酮合成障碍,诱导染色体畸变^[4]。本实验结果显示,环磷酰胺造模之后,与正常组比较,模型组血清 TT、FT 水平下降且低于正常组血清值 99% 可信区间,行为学部分改变,与 PADAM 病理变化类似,表明运用环磷酰胺复制 PADAM 大鼠模型是可行的。目前,TST 是国内外治疗 PADAM 的最佳方法,它能够有效改善病人的性功能障碍症状,提高骨骼肌的运动能力;但是在治疗疾病的同时,TST 存在着诸如增加血红蛋白及不受控制的充血性心力衰竭等心血管事件的风险等

诸多安全性问题。因此,寻找高效的替代疗法已刻不容缓。

3.2 艾灸治疗 PADAM 的可能性机制探讨

3.2.1 艾灸对生殖内分泌系统的调控 雄激素的合成和分泌受到下丘脑-垂体-睾丸轴(the hypothalamus-pituitary-testicular axis,HPTA)的严格调控,HPTA 的结构和功能异常均能引起睾酮的合成或分泌障碍。在对针灸调节下丘脑-垂体-性腺轴功能研究中发现^[9],艾灸可不同程度地提高实验小鼠降低的血清雄激素水平,其作用机制可能是通过调节肾上腺皮质细胞的功能活动来影响性激素的含量;同时,艾灸还可以降低实验小鼠过高的 LH 水平,其机制可能是通过调节阿片肽水平来影响 LH 的分泌。本实验结果也显示:不同灸法均能显著提高实验大鼠血清雄激素水平,且能降低过高的 LH 与 FSH 水平;结果表明艾灸对 PADAM 大鼠模型的生殖内分泌系统具有肯定的良性调节作用。

3.2.2 艾灸对睾丸间质细胞的调控 哺乳动物体内的雄激素有 95%是由睾丸间质细胞(Leydig 细胞)所分泌,随着年龄的增加,Leydig 细胞形态的改变以及数量的减少,导致其合成雄激素的能力逐渐下降。现有研究表明^[10],艾灸可以显著增大曲细精管直径,曲细精管生发上皮含有的原始生殖细胞和支持细胞功能保持较好,维持了生精能力。本实验结果也显示:不同灸法后,大鼠睾丸曲细精管管腔规则,直径明显增大,基膜完整,间质细胞数量增多且细胞核深染,体内雄激素水平明显增高;结果表明艾灸后间质细胞数目减少得到控制,维持了一定的分泌雄激素的能力。

3.3 温和灸与瘢痕灸的比较

灸法是一种以温热作为主要刺激形式的独特治疗方法,其良好的临床疗效已被数千年的临床实践所证实。温和灸与瘢痕灸作为灸法的不同操作方法,自古即有记载。瘢痕灸最早见于《针灸甲乙经》“欲令灸发者,灸履鞅熨之,三日即发”。而温和灸最早记载于朱权《寿域神方》“用纸实卷艾,以纸隔之点穴,于隔纸上用力实按之,待腹内觉热,汗出即差”。古代医家多认为只有灸出灸疤方可治愈疾病,《小品方》“灸得脓坏,风寒乃出,不坏则病不除也”。但此法会在病患身上造成伤痕,引起痛苦;而温和灸则避免了烧灼之苦,其操作简单,疗效颇佳,一直沿用至今。研究表明,温和灸能提高更年期大鼠体内雄激素水平^[11];瘢痕灸能使免疫缺陷小鼠血清 MDA 含量下降,SOD 活性上升^[12]。目前对于温和灸与瘢痕灸相比较的研究甚少,导致临床灸法的选择

仍没有一个明确的认识,极大地阻碍了其发展。本实验结果显示:与瘢痕灸相比,温和灸能更显著提高大鼠血清 TT、FT 水平以及降低高浓度的血清 LH、FSH 水平;温和灸能更显著缩短悬尾时间和延长强迫游泳时间;温和灸能更显著提高 SOD 活性和降低 MDA 含量。本实验结果提示,温和灸相较于瘢痕灸,能更好地调节 PADAM 大鼠体内的生殖内分泌系统,提高其肌张力和抗疲劳能力,改善其抑郁状态以及更强的抗氧化作用。分析其原因可能是因为瘢痕灸作为一种至炎性治疗,它在治疗疾病的同时可能导致炎性因子在一定程度上升高,而诸如白细胞介素 1、肿瘤坏死因子等炎性因子均能在一定程度上抑制 HPTA 的功能而降低雄激素的分泌,从而导致其疗效不如温和灸明显。笔者以本实验为依据,以期能为临床治疗 PADAM 的灸法选择提供实验数据支撑以及指导性依据。

参 考 文 献

- [1] Ludwig G.PADAM from the urologic viewpoint[J].Urologe A,2000,39(5):407-410.
- [2] Tsujimura A,Matsumiya K,Miyagawa Y,et al.Comparative study on evaluation methods for serum testosterone level for PADAM diagnosis [J].Int J Impot Res,2005,17(3):259-263.
- [3] Denti L.The PADAM syndrome and its clinical manifestations:the muscle mass[J].J Endocrinal Invest,2005,28(11 suppl Proceedings):43-45.
- [4] 何清湖,周 兴.环磷酸胺复制中老年男性雄激素部分缺乏综合征大鼠模型的研究[J].湖南中医药大学学报,2011,31(1):15-17.
- [5] 章振宝,杨庆涛,杨秋镜,等.淫羊藿苷、菟丝子提取物对雄激素部分缺乏大鼠生殖保护作用的比较研究[J].中国老年学杂志,2006,26(10):1389-1391.
- [6] 孙祥宙,邓春华,郭海彬,等.睾丸间质细胞移植治疗中老年男性雄激素部分缺乏症动物模型的实验研究[J].实用医学杂志,2004,20(9):1008-1009.
- [7] Steru L,Chermet R,Thierry B,et al.The suspension test:a new method for screening antidepressants in mice[J].Psychopharmacology,1985,85(3):367-370.
- [8] Mcardle WD,Montoye HJ.Reliability of exhaustive swimming in the laboratory rat[J].J Appl Physiol,1966,21(4):1431-1434.
- [9] 曾金雄,许家杰.针灸调节下丘脑-垂体-性腺轴功能的研究[J].中国性科学,2001,10(4):22-24.
- [10] 吴中朝,王玲玲,徐兰凤,等.保健灸对老年小鼠曲细精管直径的影响[J].上海针灸杂志,1996,10(4):22-24.
- [11] 白如鑫,李 沛.温和灸对中老年部分雄激素缺乏综合征大鼠模型影响的实验研究 [J].针刺研究,2007,32(4):229-233,236.
- [12] 吴 娟,胥志斌,陈 丽.化脓灸对免疫性慢性肝损伤小鼠的抗自由基损伤作用[J].河南中医,2008,28(2):26-27.

(责任编辑:冉明会)