

雄性小鼠肾虚对其雄性仔鼠血清生殖激素含量的影响

孙 洁¹, 周安方², 周艳艳², 方 婷²

(浙江省中医院泌尿外科, 浙江 杭州 310006; 2 湖北中医学院, 湖北 武汉 430061)

摘 要:目的: 观察雄性小鼠肾虚对其雄性仔鼠血清生殖激素含量的影响。方法: 将 30 只雄性昆明小鼠用计算机取随机数法随机分为正常对照组、模型组和补肾组 3 组。其中模型组和补肾组采用房劳加惊恐的复合伤肾法制造肾精亏虚模型。补肾组每天给予 0.16mL/10g 体重的补肾填精方浓缩液灌胃。正常对照组及模型组予等量生理盐水灌胃, 造模并给药 21 天。从造模结束次日起, 所有小鼠与正常发情雌鼠配对饲养 5 天后, 取出雌鼠待其分娩。仔鼠饲养至 6 周龄时每组随机取出 10 只雄性仔鼠, 摘眼球取血 1mL 检测其血清睾酮 (testosterone, T)、卵泡刺激素 (follicle stimulating hormone, FSH) 含量。结果: 模型组仔鼠血清 FSH 水平明显低于正常组 ($P < 0.05$), 但与补肾组相比没有明显降低 ($P > 0.05$); 模型组小鼠血清 T 水平与正常组相比明显降低 ($P < 0.01$), 但与补肾组之间无明显差异 ($P > 0.05$)。补肾组与正常组相比, 其血清 FSH 水平和 T 水平均无显著性差异 ($P > 0.05$)。结论: “惊恐、房劳”可以明显降低肾虚仔鼠血清 FSH、T 含量, 提示内分泌的变化可能是模型仔鼠生育力下降的原因之一。实验结果显示血清 FSH 和 T 浓度均处于较低水平, 说明 FSH、T 含量的下降可能是中枢神经系统受到损伤的结果。

关键词: 肾精亏虚; 子代; 卵泡刺激素; 睾酮; 补肾填精方

中图分类号: R - 33

文献标识码: A

文章编号: 1673 - 7717(2008)10 - 2229 - 02

Effect of Kidney - jing Deficiency on the Serum Reproductive Hormone of Male Offspring

SUN Jie¹, ZHOU An-fang², ZHOU Yan-yan², FANG Ting²

(1. Department of Urology, Zhejiang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310006, Zhejiang, China;

2. Hubei College of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430061, Hubei, China)

Abstract: *Objective:* To investigate the effects of kidney - jing deficiency of male mice on the serum reproductive hormone of their male offspring. *Methods:* Thirty 6 - weeks - old Kunming male mice and 300 female ones were randomly allocated to a blank control group, a model group and a kidney - tonifying group. The model and the kidney - tonifying groups were stressed by fear plus excessive sex to establish a kidney - jing deficiency model, and meanwhile the later were given concentrated solution of Kidney - tonifying Recipe intragastrically at the dose of 0.16mL/10g. The control and the model groups were treated with physiological Saline at the same dose for 21 days. Then all the male mice were mated with the healthy estrous females for 5 days. The serum testosterone (T) and folliclestimulating (FSH) of male offsprings were detected at 6 weeks. *Result:* The level of serum T and FSH were lower in model groups compares with blank control group significantly (0.052 ± 0.034 vs 0.101 ± 0.015 , 0.66 ± 0.35 vs 4.70 ± 2.80 , $P < 0.05$). There were no statistical difference between kidney - tonifying and other two groups. *Conclusion:* The fear plus excessive sex could reduce serum T and FSH level of male offspring, which means the variation of endocrine system was one of reasons of fertility damage on these male offsprings. Both T and FSH were decreased, indicated that the central nervous system of offspring mice maybe damage.

Key words: Kidney - jing deficiency; offspring; testosterone; folliclestimulating; Kidney - jing - tonifying Recipe

肾藏精, 为先天之本, 主生长、发育、生殖。肾精是子嗣禀赋之源, 如果男子肾中精气不足, 则不仅自身生殖功能会受到影响, 其子代亦可能因为禀受的先天之精不足而发生多种病症。正如万全所言: “子之羸弱。皆父母精血之弱也。” (《幼科发挥·卷之一·胎疾》)。前期研究发现, 用“惊恐复合房劳”的方法复制小鼠肾精亏虚模型, 不但可以明

显降低雄性小鼠生育力, 其雄性仔鼠精子质量亦明显下降^[1]。卵泡刺激素 (FSH) 和睾酮 (T) 是启动和维持精子发生的重要激素, 本文观察肾精亏虚雄性小鼠之仔鼠血清 FSH 及 T 水平变化, 以初步探讨性激素与肾精亏虚所致仔鼠精子质量下降的关系。

1 材料与方法

1.1 实验动物

6 周龄雄性昆明小鼠 30 只, 雌性昆明小鼠 330 只, 体重 (32 ± 5) g, 均购自湖北省医学科学院。

1.2 药物及制备

1.2.1 补肾填精方 由熟地黄、制首乌、枸杞子、淫羊藿等组成。由湖北中医学院实验中心煎制成浓缩液, 含生药量

收稿日期: 2008 - 05 - 05

基金项目: 湖北省自然科学基金资助项目 (2004ABA184)

作者简介: 孙洁 (1975 -), 男, 湖北孝感人, 医师, 博士, 主要从事中医男科研究。

通讯作者: 周安方, E-mail: zhouanfang@21cn.com。

0.8g/mL。

1.2.2 左炔诺孕酮炔雌醚片 北京紫竹药业有限公司生产(国药准字 H11021378,产品批号 20040111)。每次取 18mg 溶于 150mL 蒸馏水中,配成 0.12mg/mL 的长效避孕药混悬液,4℃冰箱保存。

1.3 造模与分组

1.3.1 动情雌鼠制作 将 300 只雌鼠用计算机取随机数方法随机分为 5 组,每组 60 只,分别记为 A、B、C、D、E 组。按文献方法^[2],从 A 组开始,每天依次取 1 组雌鼠灌服长效避孕药左炔诺孕酮炔雌醚混悬液,灌胃剂量为 2.34mg/(kg·天),5 天 1 个循环。每组雌鼠在灌胃后的第 3 天正好处于动情期,可用于复制雄鼠肾精亏虚模型。

1.3.2 造模与分组 将 30 只雄性昆明小鼠用计算机取随机数法随机等分为正常对照组、模型组和补肾组 3 组。其中模型组和补肾组采用房劳加惊恐的复合伤肾法制造肾精亏虚模型。每天每只雄鼠按照 1:2 的比例与动情期雌鼠合笼,每天 20:00 投入动情期雌鼠,至次日 8:00 取出,20:00 再投入另 1 批动情期雌鼠,至次日 8:00 取出,如此反复,让其房劳伤肾;每日 8:00~20:00,将雄鼠放入特制的小铁丝笼内,再将其小笼固定在装有 1 只大家猫的大笼中,让猫与小鼠仅一网之隔,使猫爪能碰到但无法抓到小鼠,并每天 10:00、15:00 各另取 2 只活的小鼠喂猫示众,使其惊恐伤肾。连续 21 天,制造肾精亏虚模型。3 组实验小鼠均自由饮食。

1.4 给药剂量与方法

补肾组每天给予 0.16mL/10g 体重的补肾填精方浓缩液灌胃。正常对照组及模型组予等量生理盐水灌胃。自造模第 1 天起开始给药,共 21 天。

1.5 取材时间

子代小鼠出生后,选出雄性仔鼠,饲养至 6 周龄时分别随机取出 10 只取材。

1.6 检测方法

1.6.1 试剂 FSH、T 放免检测试剂盒均购自北方生物技术研究所。

1.6.2 检测方法 用放射免疫法检测血清 FSH、T 水平。严格按试剂盒提供方法操作,检测工作由武汉市第一人民医院同位素室协助完成。

1.6.3 统计学分析 计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。实验数据应用 SPSS 13.0 统计包进行分析,计量资料比较采用方差分析, F 值检验,进一步多重比较采用 Turkey 分析,计数资料用卡方检验,以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结 果

雄性小鼠肾虚对其雄性仔鼠血清 FSH、T 含量的影响:血清 FSH 含量:模型组仔鼠较正常组仔鼠降低,有显著性差异 ($P < 0.05$),补肾组仔鼠与正常组和模型组仔鼠相比均没有统计学差异 ($P > 0.05$)。血清 T 含量:模型组小鼠较正常组明显降低,有非常显著的差异 ($P < 0.01$);补肾组仔鼠与正常组与模型组仔鼠相比均无明显差异 ($P > 0.05$)。

表 1 雄性小鼠肾虚对其雄性仔鼠血清 FSH、T 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	FSH (U/L)	T (ng/mL)
正常组仔鼠	10	0.101 $\pm$ 0.015	4.70 $\pm$ 0.80
模型组仔鼠	10	0.052 $\pm$ 0.034*	0.66 $\pm$ 0.35**
补肾组仔鼠	10	0.077 $\pm$ 0.019	2.13 $\pm$ 0.54

注:与正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

3 小结与讨论

精子发生是个复杂的过程,在这个过程中激素调节十分重要。FSH 是促进支持细胞分化和增殖的启动因子^[3],能提高性腺功能低下小鼠的精原细胞数以改善生精功能^[4],雄性 FSH-受体 (FSH-R) 敲除小鼠可以因为阻断了 FSH 的活性而出现支持细胞数量减少、结构异常,生精细胞减少以及血清睾酮和雄激素结合蛋白减少等表现,引起生育力下降^[5]。可见 FSH 是启动精子生成,维持精子发生在数量与质量上完全正常所必需的调节因子。

睾酮对精子发生的影响早已获得公认。其主要证据是临床上睾酮缺乏的患者或雄激素受体突变的患者表现为原发性无精子或精子发生完全停止;在垂体切除的大鼠,其睾丸体积小于正常,精子生成减少,而给予睾酮替代后精子发生将继续进行^[6]。近年来还发现睾酮可能也是支持细胞分化和增殖的启动因子^[7],对婴儿期支持细胞分化、增殖可能有比 FSH 更重要的意义。睾酮对精子的调节可能存在种族差异,一项对比中、外使用雄激素男性避孕药效果的研究显示,在单用雄激素时 90% 的中国人出现无精子,而非中国人则只有 59%,说明中国人的精子生成对雄激素调节更为敏感^[8]。

实验显示模型组仔鼠血清 FSH、T 含量均明显低于正常组,提示内分泌的变化可能是模型仔鼠生育力下降的原因之一。正常情况下,血清 T 含量下降会负反馈于下丘脑和垂体,使促性腺激素释放激素和促性腺激素分泌增加,表现为 FSH 含量上升。但笔者实验结果显示血清 FSH 和 T 浓度均处于较低水平,这说明生殖激素含量下降可能不是由于性腺直接受损引起的,而是中枢神经系统先受到损伤,然后通过神经内分泌调节使生殖激素水平下降。肾藏精,精生髓,通于脑,子代小鼠没有受到“恐伤肾”的情志刺激,却出现神经内分泌的异常表现,可能是父代肾虚使子代禀受先天不足,肾精亏虚而髓海不充的缘故。而神经内分泌异常所引起的生殖激素水平下降则最终损伤了仔鼠的生殖功能,出现睾丸支持细胞变性,生精上皮萎缩以及精子数量、质量下降等。

参考文献

- [1] 孙洁,周安方,周艳艳,等.肾精亏虚对雄性小鼠及其仔鼠生育力的影响[J].中华男科学杂志,2007,13(8):754-757.
- [2] 陈英华,谢玲玲,杨华伟,等.左炔诺孕酮炔雌醚片所致动情期同步的雌性小鼠的研制[J].中国实验动物学报,2003,11(1):46-51.
- [3] Plant TM, Marshall GR. The functional significance of FSH in spermatogenesis and the control of its secretion in male primates[J]. Endocrine Reviews, 2001, 22: 764-786.
- [4] Haywood M, Spaliviero J, Jimenez M, et al. Sertoli and germ cell development in hypogonadal (hpg) mice expressing transgenic follicle-stimulating hormone alone or in combination with testosterone[J]. Endocrinology, 2003, 144: 509-517.
- [5] Grover A, Smith CE, Gregory M. Effects of FSH receptor deletion on epididymal tubules and sperm morphology, numbers, and motility[J]. Mol Reprod Dev, 2005, 72(2):135-144.
- [6] 郭应禄,胡礼泉.男科学[M].北京:人民卫生出版社,2004:124-127.
- [7] Johnston H, Baker PJ, Abel M, et al. Regulation of Sertoli cell number and activity by follicle-stimulating hormone and androgen during postnatal development in the mouse[J]. Endocrinology, 2004, 145: 318-329.
- [8] Wang C, Wang XH, Nelson AL, et al. Levonorgestrel implants enhanced the suppression of spermatogenesis by testosterone in plants: comparison between Chinese and non-Chinese men[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2006, 91(2):Eouh