

维药伊木萨克片对大鼠性功能与阴茎组织中一氧化氮合酶活性的影响^{*}

阿地力江·伊明^{1**}, 沙地克·沙吾提¹, 茹仙古丽·莎吾尔², 张盼盼¹, 凯赛尔江·多来提¹
(¹新疆医科大学基础医学院解剖学教研室, 新疆 乌鲁木齐 830011; ²新疆和田地区维吾尔医医院, 新疆 和田 848000)

摘要: **目的:** 探讨维药伊木萨克片对雄性大鼠阴茎勃起功能的影响及其机制。 **方法:** 取具有正常性功能 SD 雄性大鼠 20 只, 随机分为正常对照组 ($n=10$) 和伊木萨克组 ($n=10$), 用等量溶剂与伊木萨克片 ($250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) 分别对 2 组大鼠连续干预 6 周后, 进行阿朴吗啡 (APO) 阴茎勃起实验和交配实验, 并检测阴茎海绵体窦压 (ICP); 用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 法检测阴茎组织中的一氧化氮合酶 (NOS) 活性。 **结果:** (1) 与正常对照组比较, 伊木萨克组阴茎勃起所需时间显著缩短 ($P < 0.01$), 插入次数明显增加 ($P < 0.01$), 且基础 ICP 值与电刺激诱导 ICP 值均显著升高 ($P < 0.05$); (2) NOS 活性在伊木萨克组显著高于正常对照组 ($P < 0.01$)。 **结论:** 维药伊木萨克片能够显著提高正常大鼠的阴茎勃起功能, 其机制与提高 NOS 活性有关。

关键词: 伊木萨克片; 勃起功能; 一氧化氮合酶

中图分类号: R977.12; R-332 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-5551(2008)08-0934-03

The effect of Uygur medicine Yi-Mu-Sa-Ke on the sexual ability and the NOS activity of male rats

Adilijiang · Yiming, Shadike · Shawuti, Ruxianguli · Shawuer, et al

(Department of Human Anatomy, Basic Medical College, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China)

Abstract: Objective: To study the effect of Uygur medicine Yi-Mu-Sa-Ke on the penis erectile function of male rats. **Methods:** Twenty male Sprague-Dwaley rats were randomly divided into two groups: the experimental control group and the Yi-Mu-Sa-Ke drug group. Uygur medicine Yi-Mu-Sa-Ke were given 250 mg/kg gavages, for six weeks. In the sixth week of the two groups were conducted APO penis erectile experiments and mating test. Then detected the two groups' intra cavernous pressures (ICP). **Results:** (1) The need time of penis erectile in the Yi-Mu-Sa-Ke drug group shortened than the control group ($P < 0.01$) and the number of mating insert increased ($P < 0.01$). Besides, the basic ICP value and the induced ICP (electrical stimulation) were higher than the normal group ($P < 0.05$). (2) The activity of NOS in the Yi-Mu-Sa-Ke drug group was higher than the control group. **Conclusion:** The study confirmed that Uygur medicine Yi-Mu-Sa-Ke can significantly improve the erectile capacity of normal rats and the mechanism of it may be the raise of NOS.

Key words: Yi-Mu-Sa-Ke; erectile function; nitric oxide synthase

当今社会男性因心理健康、工作压力、社会环境等众多因素, 导致性功能降低、减退现象, 乃至阴茎勃起功能障碍 (erectile dysfunction, ED) 的发生率

逐渐上升。ED 是指阴茎经常性的不能达到和保持足以进行满意性交要求的勃起。粗略估计, 全世界 1995 年男性 ED 患者达 1.52 亿人, 在 40~70 岁的

* 基金项目: 新疆科技厅重点实验室开放项目 (XJDX0208-2006-04); 新疆高校科研计划科学研究重点资助项目 (XJEDU2006I38)

** 作者简介: 阿地力江·伊明 (1968-), 男 (维吾尔族), 副教授, 博士, 研究方向: 维药与生殖生物学, E-mail: Adljym@yahoo.com.cn.

男性中,约有 52% 的男性有不同程度的 ED,预计到 2025 年将会上升到 3.22 亿人^[1],关注男性性健康,加强对 ED 的预防与早期治疗成为社会热点。维药伊木萨克片属近年来挖掘维吾尔医药千年传统药方而研发的国药准字药品,其在临床使用过程中表现出对阴茎勃起功能障碍较好的治疗效果,且具有补肾壮阳、填精固真之功效,被称为维吾尔医药中的“伟哥”,但就其现代医学的作用机制尚不清楚,国内外文献均未见任何报道。本研究以维药伊木萨克片干预正常大鼠后,通过性行为学与阴茎海绵体窦压(intra cavernous pressures, ICP)的检测,就该药对阴茎勃起功能的影响进行了实验室评估,并通过检测一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)活性来初步探讨了该药对大鼠性功能影响的机制,为进一步开展相关基础与临床应用研究提供实验依据。

1 材料与方 法

1.1 实验动物与试剂 雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 20 只,雌性大鼠 4 只,体重(220±20)g,由新疆医科大学实验动物中心提供。伊木萨克片(批号:Z65020144,和田维吾尔药业有限责任公司);阿朴吗啡(apomorphine, APO,美国 Sigma 公司),BCA 蛋白定量试剂盒(美国 Novagen 公司),大鼠一氧化氮合酶 ELISA 试剂盒(美国 Usenlife 公司),BL-410 四通道生理记录仪、压力转换器(成都泰盟电子)。

1.2 实验动物分组 SD 雄性大鼠 20 只,经性行为学实验证实其具备正常性功能后,随机分为正常对照组($n=10$)和伊木萨克组($n=10$)。伊木萨克组将伊木萨克片溶于双蒸水中配制成混悬液,现配现用,并以 250 mg/kg 剂量灌胃,正常对照组给予等量的双蒸水,每天给药 1 次,连续 6 周。

1.3 APO 阴茎勃起实验与性行为学实验 参照 Heaton 等^[2]方法,选择一安静的房间,室内保持安静,灯光调暗,将大鼠放在玻璃箱中,适应环境 10 min,将 APO 溶解于 0.5 mg/kg 的维生素 C(VitC)与生理盐水中,调整体积为 5 ml/kg,在大鼠颈项松弛皮肤处注射 APO 100 μ g/kg,观察 30 min,并记录阴茎有无勃起、勃起所需时间、勃起次数(龟头充血及末端阴茎体出现为阴茎勃起 1 次)。同样条件下投入雌鼠,观察性行为学变化,记录插入次数。

1.4 ICP 测定 采用戊巴比妥钠(1%, 50 mg/kg)腹腔注射麻醉大鼠,仰卧位固定,切开阴茎表面皮肤,暴露大鼠阴茎组织,以充满 250U/ml 肝素液一细穿刺针刺入大鼠阴茎海绵体并固定,另一端连接压力转换器后连至 BL-410 四通道生理记录仪,测量基础 ICP 后,再分离阴茎背神经,测定电刺激诱

导 ICP 值(刺激参数:频率 16 Hz、强度 10 V、波宽 0.5 ms),并在阴茎勃起状态下取阴茎组织,速入液氮备用。

1.5 NOS 活性检测 分离阴茎组织,剪碎,匀浆。匀浆时按每 100 mg 组织加 0.5 ml 细胞裂解液,用玻璃匀浆器在冰浴中匀浆完全后,12 000 r/min 离心 10 min(4℃),取上清液行蛋白定量后用 ELISA 试剂盒进行 NOS 活性测定,操作过程按试剂盒说明书进行。

1.6 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件对数据进行处理,所有数据采用均数±标准差表示,统计方法应用 t 检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 性行为学检测结果 药物干预 6 周后 2 组大鼠进行的 APO 阴茎勃起实验与交配实验结果显示:伊木萨克组较正常对照组阴茎勃起时间显著缩短($P<0.01$),插入次数明显增多($P<0.01$)(表 1)。

表 1 2 组大鼠 APO 阴茎勃起所需时间、交配插入次数的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	勃起所需时间(min)	插入次数(次)
正常对照组	10	8.80±3.58	7.70±2.65
伊木萨克组	10	4.80±1.32*	10.10±2.60*

注:与正常对照组相比, * $P<0.01$

2.2 大鼠阴茎 ICP 检测结果 正常对照组基础 ICP 值明显低于伊木萨克组($P<0.05$),电刺激诱导 ICP 值在 2 组间的差异亦具有统计学意义($P<0.01$)(表 2、图 1)。

表 2 2 组大鼠阴茎 ICP 比较 (cmH₂O, $\bar{x}\pm s$)

组别	n	基础 ICP	电刺激诱导 ICP
正常对照组	10	8.46±2.25	49.30±3.67
伊木萨克组	10	10.86±2.25*	58.91±7.48**

注:与正常对照组相比, * $P<0.05$, ** $P<0.01$

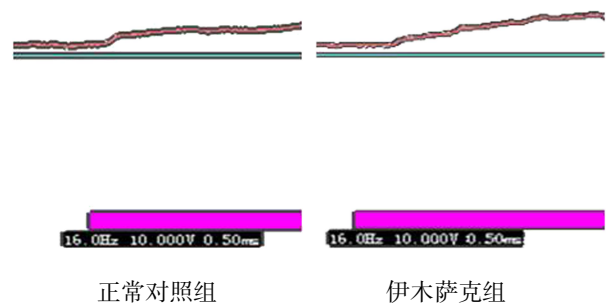


图 1 阴茎 ICP 检测结果

2.3 大鼠阴茎 NOS 活性检测 正常对照组与伊木萨克组 NOS 活性分别为(60.08±7.68)、(87.16±12.50) μ g/ml,表明用药后伊木萨克组 NOS 活性较正常对照组显著升高($P<0.01$)。

3 讨论

阿朴吗啡是一种多巴胺能受体激动剂,低剂量阿朴吗啡可通过下丘脑室旁核处的多巴胺受体引起阴茎勃起。Heaton 等^[2]报道注射阿朴吗啡可引起正常大鼠 100% 的阴茎勃起,此现象可作为评价勃起功能的理想生物指标。为能更加真实、客观的反映该药对勃起功能与性行为学的影响我们观测了阴茎勃起所需时间与插入次数。实验结果显示,用 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 阿朴吗啡诱发大鼠阴茎勃起,结果发现正常对照组大鼠阴茎勃起率为 100%,和 Heaton 等^[2]报道一致,伊木萨克组阴茎勃起率亦为 100%,但同时发现,大鼠经药物干预后,其阴茎勃起所需时间较正常对照组显著减少,且插入次数明显增多,提示该药可缩短阴茎勃起所需时间,并增强性行为能力。

电刺激大鼠海绵体神经诱发 ICP 变化的检测方法多年来被广泛应用于阴茎勃起研究^[3],同时亦成为活体水平评估药物对勃起功能的客观、有效的实验方法之一^[4,5]。近年来因阴茎背神经解剖位置表浅,肉眼容易辨认,解剖时不需剖腹,对周围组织损伤小,并容易放置刺激电极等原因,而采取电刺激阴茎背神经诱发阴茎勃起检测 ICP 的方法使用更加广泛,与刺激海绵体神经具有相同的作用和效果^[6]。本实验在药物干预 6 周后,在检测基础 ICP 的基础上采用电刺激阴茎背神经诱导阴茎勃起的方法评估该药对 ICP 的影响,结果显示,该药可显著提高大鼠阴茎 ICP,表明伊木萨克片可显著增强大鼠阴茎勃起功能。

阴茎勃起是神经-内分泌调控下阴茎海绵体血流动力学变化过程,其中阴茎海绵体动脉和海绵体窦的平滑肌松弛起着关键作用。一氧化氮-环磷酸鸟苷(NO-cGMP)信号通路在阴茎勃起过程中起着重要的调控作用,在性刺激时,分布在阴茎的副交感和非肾上腺素非乙酰胆碱能神经末梢、血管和阴茎海绵体窦内皮细胞在 NOS 催化下释放一氧化氮(nitric oxide, NO),NO 为可溶性气体分子,可通过细胞膜快速扩散入平滑肌细胞内,激活鸟苷酸环化酶(GC),使环磷酸鸟苷(cGMP)合成增加;cGMP 作为第二信使,可激活 cGMP 依赖蛋白激酶(PKG),PKG 进一步激活一系列级联反应使胞质内钙离子浓度降低,切断平滑肌兴奋-收缩耦联,松弛阴茎海绵体动脉和海绵体窦平滑肌,使血液灌流量增加诱发阴茎勃起^[7]。可见 NOS 在介导阴茎血管和海绵体窦平滑肌松弛过程中起关键作用。故本研究检测 2 组大鼠 NOS 活性,结果显示,经伊木萨克片干预后,大鼠阴茎组织中 NOS 活性显著提高,提示该点可能是该药提高阴茎勃起功能的重要机制之一。

传统医学在治疗勃起功能障碍方面,多从补肾壮阳方面进行,对中枢神经系统亦有双向调节作用。目前补肾壮阳药的开发,多从内分泌激素的调节以及对下丘脑-垂体-性腺轴的形态和功能的影响等方面进行研究。伊木萨克片由麝香、龙涎香、牛鞭、罂粟壳、西红花、乳香、丁香等组方而成,关于上述单味药的药理研究报告证实^[8~10]麝香、淫羊藿具有雄激素样作用,可增加去势大鼠前列腺、精囊腺重量;龙涎香可消除肾上腺素和去甲肾上腺素对离体豚鼠输精管的收缩反应;牛鞭则能使去势雄性大鼠附性器官(包皮腺、精液囊、前列腺)重量明显增加,同时,能明显提高大鼠的交配能力,雄鼠扑捉雌鼠的潜伏期明显缩短;罂粟碱是一种非特异性磷酸二酯酶抑制剂,它增加环磷酸腺苷(cAMP)和或 cGMP 水平,抑制钙离子通道和血管紧张素 II。

本研究表明,伊木萨克片的药理作用最终效应是促进阴茎血管舒张,平滑肌松弛,促使阴茎勃起,使阴茎勃起功能与性能力得到显著提高,效果明显,其机制可能和该药提高 NOS 活性,增加 NO 形成,从而提高 NO-cGMP 通路活性有关,但有关伊木萨克片的内在复杂机理有待于进行进一步实验研究。

参考文献:

- [1] Aytay IA, Mckinlay JB, Krane RJ. The likely worldwide increase in erectile dysfunction between 1995 and 2025 and some possible policy consequence[J]. BJU Int, 1999, 84(1):50-56.
- [2] Heaton JP, Varrin SJ, Morales A. The characterization of a bio-assay of erectile function in a rat model[J]. J Urol, 1991, 145(5):1099-1102.
- [3] Rehman J, Christ G, Melman A, et al. Intracavernous pressure responses to physical and electrical stimulation of the cavernous nerve in rats[J]. Urology, 1998, 51(4):640-644.
- [4] Chen KK, Chan JY, Chang LS, et al. Intracavernous pressure as an experimental index in a rat model for the evaluation of penile erection[J]. J Urol, 1992, 147(4):1124-1128.
- [5] Bischoff E, Schramm M, Straub A, et al. BAY 41-2272: a stimulator of soluble guanylyl cyclase induces nitric oxide-dependent penile erection in vivo[J]. Urology, 2003, 61(2):464-467.
- [6] 邢俊平,崔险峰,孙建华,等.电刺激阴茎背神经和海绵体内注射药物诱导大鼠阴茎海绵体内压反应[J].中华男科学杂志, 2005, 4(4):281-283.
- [7] 刘新福,李欢诚.阴茎勃起功能障碍中药治疗的分子生物学研究进展[J].医学综述, 2005, 11(11):283-285.
- [8] 刘勇民.维吾尔药志[M].乌鲁木齐:新疆科技卫生出版社, 1999. 121-603.
- [9] Savoca G, Silvestre G, Belgrano E. Intracavernosal injection therapy and surgical therapy in diabetic patients with erectile dysfunction[J]. Diabetes Nutr Metab, 2002, 15(1):53-57.
- [10] 谭兴贵,曾嵘,贺福元.鹿鞭、狗鞭、牛鞭的壮阳作用实验研究[J].中医药学报, 2001, 9(6):33-35.