

维药伊木萨克片对大鼠阴茎勃起功能的影响^{*}

阿地力江·伊明^{1,△} 茹仙古丽·莎吾尔² 张盼盼¹ 沙地克·沙吾提¹ 凯赛尔江·多来提¹ 甘子明¹
(1 新疆医科大学基础医学院解剖学教研室, 乌鲁木齐 830054; 2 新疆和田地区维吾尔医医院, 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:**性功能正常 SD 雄性大鼠用伊木萨克片连续干预 6 周后,进行阿普吗啡(APO)阴茎勃起实验和交配实验,并检测阴茎海绵体窦压(ICP);用放射免疫法检测外周血清中睾酮(T)、促黄体生成素(LH)和促卵泡刺激素(FSH)含量,镜检睾丸的组织形态学改变;用免疫组织化学技术检测两组大鼠阴茎组织中 eNOS、nNOS 表达。**结果:**(1)与正常对照组相比较,伊木萨克组 APO 勃起所需时间显著缩短,插入次数显著增加,且基础 ICP 值与电刺激诱导 ICP 值均显著升高;(2)T 水平在伊木萨克组显著高于正常对照组,而 LH 与 FSH 在两组间无显著性差异;(3)eNOS 表达在伊木萨克组显著高于正常对照组,nNOS 在两组间无显著性差异。**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,其机制可能和提高雄激素水平与 eNOS 表达有关。

关键词 伊木萨克片;勃起功能;性激素;神经元性一氧化氮合酶;内皮性一氧化氮合酶

Effect of Uygur medicine Yi-Mu-Sa-Ke on erectile function of male rats^{*}

YiMing · A di li jiang^{1,△}, Sha wu er · Ru xian gu li², Zhang Panpan¹, Sha wu ti · Sha di ke¹,
Duo lai ti · Kai sai er jiang¹, Gan Ziming¹

(1. Department of Human Anatomy, Xinjiang Medical University, Urumqi 830054;
2. Xinjiang Hotan Uyghur Medicine Hospital, Hotan 848000, China)

Abstract **Objective:** To study the effect of the Uygur medicine Yi-Mu-Sa-Ke on the erectile function in male rats. **Methods:** M Sprague-Dawley rats with normal erectile function were administered with Yi-Mu-Sa-Ke for six weeks, after which the erection, mating and intracavernous pressure (ICP) were tested, testosterone (T), luteinizing hormone (LH) and follicle-stimulating hormone (FSH) levels in their blood were determined, and the histo-morphological change in their testicles were examined and their eNOS and nNOS expressions were studied by means of SP immunohistochemistry. **Results:** (1) Compared with the control group, shorter APO-induced erectile response, more frequent mating activity and higher ICP and electrically induced ICP were recorded in Yi-Mu-Sa-Ke group. (2) The T level in the Yi-Mu-Sa-Ke rats was significantly higher, while LH and FSH levels showed no difference. (3) The eNOS expression in the Yi-Mu-Sa-Ke group was significantly higher than that in the control group, though there was no significant difference in the nNOS protein expression between the two groups. **Conclusion:** The fact that Yi-Mu-Sa-Ke can significantly improve the erectile function in rats may be due to the drug to raise the level of androgen and increase eNOS protein expression.

Key words Yi-Mu-Sa-Ke; erectile function; sex hormones; neuronal nitric oxide synthase; endothelial nitric oxide synthase

当今社会因心理健康、工作压力、社会环境等众多因素,导致阴茎勃起功能降低、减退现象,乃至阴茎勃起功能障碍(erectile dysfunction, ED)发生在逐渐上升。1995年全世界男性ED患者达1.52亿人,预计到2025年将会上升到3.22亿人^[1],2000年美国麻省男子增龄研究(MMAS)显示,40~69岁男性ED年发病率为2.6%,总发病率为44%^[2]。关注男性性健康,加强对ED的预防与早期治疗成为必要。故本研究以维药伊木萨克片干预正常大鼠后,通过性行为与阴茎海绵

体窦压(intra cavernous pressures, ICP)观测及外周血性激素水平与阴茎组织中eNOS、nNOS蛋白表达的检测,来初步探讨了该药对大鼠阴茎勃起功能的影响及其机制,以便为进一步开展相关靶点研究与临床应用研究提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物与试剂

随机选取具有正常性功能雄性SD大鼠20只,雌性大鼠4只,体质量(260±20)g,由新疆医科大学实验动物中心提供;伊木萨克片由和田维吾尔药业有限责任公司提供(批号:Z65020144);阿朴吗啡(apo morphine, APO, Sigma);睾酮(testosterone, T)、促卵泡刺激素(follicle-stimulating factor, FSH)与促黄体生

* 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项目(XJEDU2006I38)

△通讯作者, E-mail: Adljym@yahoo.com.cn; Adljym@hotmail.com

收稿日期:2008-04-30; 修回日期:2008-05-25

成素(luteinizing hormone, LH)、放免检测试剂盒(北京北方生物技术研究所);免疫组织化学试剂盒(晶美生物工程公司);兔抗鼠 eNOS 抗体(Santa Cruz);兔抗鼠 nNOS 抗体(Cell Signalling);BL-410 四通道生理记录仪、压力转换器(成都泰盟电子)。

1.2 动物分组与药物干预

将 20 只 SD 雄性大鼠随机分为正常对照组($n=10$)和伊木萨克组($n=10$),伊木萨克组以 250 mg/kg 伊木萨克片灌胃,正常对照组给予等量溶剂,每天 1 次,连续 6 周。

1.3 APO 阴茎勃起实验与性行为学检测

参照 Heaton^[3]方法,选择一安静的房间,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 与生理盐水中,在大鼠颈项松弛皮肤处注射 100 μ g/kg,观察 30 min,并记录阴茎勃起所需时间、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 取材与指标检测

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 250 U/ml 肝素液的穿刺针刺入大鼠阴茎海绵体并固定,并通过压力转换器连至 BL-410 四通道生理记录仪,测量基础 ICP 后,分离、电刺激阴茎背神经,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。取阴茎与睾丸组织,4%多聚甲醛固定,石蜡包埋,4 μ m 连续切片,H-E 常规染色,SP 法免疫组织化学显色检测内皮性一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS);神经源性一氧化氮合酶(neuronal nitric oxide synthase, nNOS),光镜下观察并摄片。取外周血,离心血清,用放射免疫法检测血清中 T、LH 和 FSH 含量。操作过程按试剂盒说明书进行。

1.5 统计学处理

采用 SPSS 13.0 软件处理,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用单因素方差分析,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 性行为学检测结果

APO 阴茎勃起实验与交配试验结果显示(表 1),用药后阴茎勃起时间显著缩短($P<0.01$),插入次数在两组间亦具有显著性差异($P<0.01$)。

表 1 大鼠交配插入次数、APO 阴茎勃起所需时间比较($n=10, \bar{x} \pm s$)

Tab 1 The comparison of mating number and erectile incubation period between two groups ($n=10, \bar{x} \pm s$)

Group	Erectile time (t/min)	Number of mating
Normal control	8.80 \pm 3.58	7.70 \pm 2.65
Yimusake	4.80 \pm 1.32**	10.10 \pm 2.60**

** $P<0.01$ vs normal control

2.2 ICP 检测结果

正常对照组与伊木萨克组基础 ICP 值为(8.46 \pm 2.25)cmH₂O 和(10.86 \pm 2.25)cmH₂O,组间差异具有统计学意义($P<0.01$);电刺激诱导 ICP 值为(49.30 \pm 3.67)cmH₂O 和(58.91 \pm 7.48)cmH₂O,两组间亦具有显著性差异($P<0.01$)

2.3 性激素水平检测与睾丸镜检结果

伊木萨克组睾酮水平显著高于正常对照组($P<0.01$),LH 与 FSH 在两组间无显著性差异($P>0.05$)(表 2)。睾丸组织经 H-E 染色后,光镜观察可见,正常对照组生精小管丰富,管壁薄、管径大,基膜明显、完整。生精上皮排列整齐,5~8 层,可见各级生精细胞及支持细胞,管腔内可见精子。生精小管之间可见疏松的间质组织,富含血管及淋巴管,间质细胞成群分布,体积大,圆形或多边形,细胞核不规则,染色质较淡,胞质丰富。伊木萨克组与正常对照组相似,且可见间质细胞明显增多(图 1)。

表 2 三种激素均数间比较($n=10, \bar{x} \pm s$)

Tab 2 Comparison of three hormones levels between two groups ($n=10, \bar{x} \pm s$)

Group	T(ng/ml)	LH(mIU/ml)	FSH(mIU/ml)
Normal control	2.94 \pm 1.49	4.62 \pm 1.1	2.04 \pm 0.73
Yimusake	14.66 \pm 8.07**	6.07 \pm 2.61	2.31 \pm 0.65

** $P<0.01$ vs normal control

2.4 免疫组织化学结果

eNOS、nNOS 主要表达在海绵体血管、血窦内皮细胞胞质中,细胞核中亦有表达。阳性表达呈散在分布的棕黄色颗粒(图 3)。eNOS 的表达在正常对照组与伊木萨克组分别为 73.70 \pm 15.46 和 87.9 \pm 8.54,组间差异显著($P<0.05$);nNOS 的表达分别为 75.65 \pm 8.73 与 74.70 \pm 10.43,两组间差异无统计学意义($P>0.05$)。

3 讨论

伊木萨克片属近年来挖掘维吾尔医药千年传统药方面研发的国药准字药品,在临床使用过程中对阴茎勃起功能障碍表现出较好的治疗效果,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”。本实验结果表明,100 μ g/kg 阿朴吗啡诱发大鼠阴茎勃起,正常对照组大鼠阴茎勃起率为 100%,和报道一致^[3],伊木萨克组勃起率亦为 100%,但同时显示,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缩短,且插入次数显著增加,提示该药可缩短勃起潜伏期,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更广泛应用于阴茎勃起研究,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

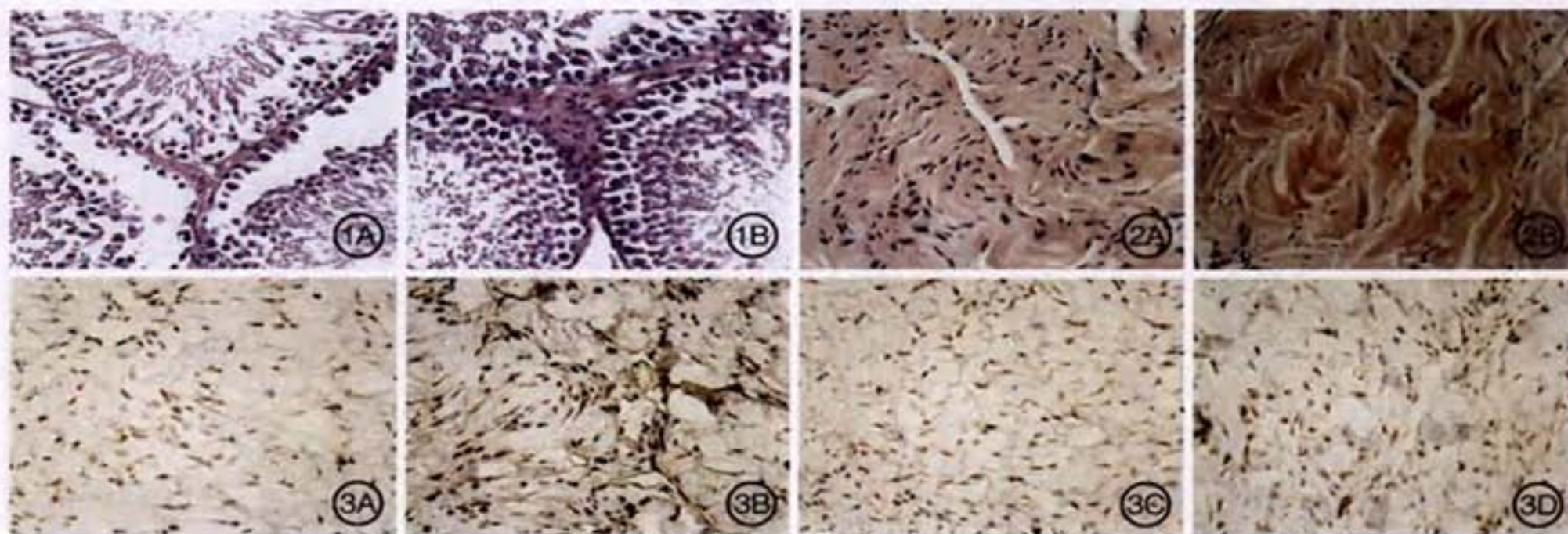


图1 大鼠睾丸组织的 H-E 染色, $\times 400$ 。A: 正常对照组; B: 伊木萨克组。

图2 大鼠阴茎组织的 H-E 染色, $\times 400$ 。A: 正常对照组; B: 伊木萨克组。

图3 大鼠阴茎组织中 eNOS 与 nNOS 的表达, SP $\times 400$ 。A: 正常对照组 (eNOS); B: 伊木萨克组 (eNOS); C: 正常对照组 (nNOS); D: 伊木萨克组 (nNOS)。

Fig 1 The testicular tissue of rats by H-E staining, $\times 400$. A: Normal control group; B: Yi-Mu-Sa-Ke group.

Fig 2 The penile tissue of rats by H-E staining, $\times 400$. A: Normal control group; B: Yi-Mu-Sa-Ke group.

Fig 3 The expression of eNOS and nNOS in penile tissue of rats, SP $\times 400$. A: Normal control group (eNOS); B: Yi-Mu-Sa-Ke group (eNOS); C: Control group (nNOS); D: Yi-Mu-Sa-Ke group (nNOS).

之一^[4]。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海绵体窦压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^[5]。故本实验在药物干预6周后,在检测基础 ICP 后采用电刺激阴茎背神经诱导阴茎勃起的方法就该药对海绵体窦压的影响进行了评估,结果显示,伊木萨克片可显著提高大鼠阴茎海绵体窦压,表明该药可显著增强大鼠阴茎勃起功能。

性冲动、性唤醒及性活动是由神经内分泌系统共同协调管理,就阴茎勃起的本质上来说是一系列的神经血管活动集中于阴茎这种特殊的平滑肌器官的结果。阴茎勃起首先是在激素的作用下,既有性欲存在的基础上,对内外刺激做出的反应,其中雄激素尤其是睾酮现与性欲、性的激发和发展、性功能密切相关^[6]。NO 为最主要的神经递质之一,在介导阴茎勃起的过程中起关键的作用。NOS 是 NO 生成的关键酶,能专一催化 L-arg 转化为 L-瓜氨酸和 NO, NO 通过弥散方式激活鸟苷酸环化酶,生成 cGMP, cGMP 通过刺激血管平滑肌上的 cGMP 依赖性蛋白激酶,调节钙离子通道,使细胞内钙离子浓度增高,影响 $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ 交换,从而使血管松弛扩张,血流灌入阴茎海绵体致使阴茎勃起而发挥各种生物学效应^[7-8]。先前的研究表明雄激素在阴茎勃起中的作用主要表现为^[9-11]:诱发性欲及阴茎自发勃起;调节阴茎海绵体血液灌入回流平衡,维持勃起状态;调节球海绵体肌及坐骨耻骨肌的生长及发育;调节 NOS 的活性,诱导 NO 合成,通过 L-Arg-NO-cGMP 通路参与阴茎勃起过程。同时睾酮对勃起中枢

及外周起着重要的调节作用^[12],并可通过维持阴茎的组织学结构、调节与勃起有关的神经递质的活性、影响阴茎海绵体血流动力学等途径对勃起功能发挥作用^[13]。所以本研究就该药对大鼠外周血雄激素水平与阴茎海绵体组织中神经源性一氧化氮合酶(nNOS)及内皮性一氧化氮合酶(eNOS)蛋白表达进行了检测,结果显示,正常大鼠经用伊木萨克片干预6周后,其外周血睾酮水平显著高于正常对照组,但 FSH 和 LH 水平在两组间无显著性差异,结合睾丸 H-E 染色结果,笔者认为对于正常大鼠而言,伊木萨克片可作用于睾丸间质细胞,促使胆固醇合成睾酮,提高外周血中睾酮水平,但对外周血中 FSH 和 LH 水平无显著影响。而免疫组织化学结果则显示该药能显著提高 eNOS 在阴茎组织中的表达。

综上所述,伊木萨克片能有效促进阴茎血管及海绵体平滑肌舒张,使阴茎勃起功能与性能力得到显著提高,效果明显,其作用机制与提高外周血中睾酮水平与阴茎组织中 eNOS 的表达有关,但就伊木萨克片的内在复杂机制尚有待于进一步研究。

参考文献

- [1] Aytta I A, Mckinlay J B, Krane R J. 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] 许小林,徐月敏.男性勃起功能障碍的治疗进展[J].中国男科学杂志, 2007, 21(2): 66-68.
- [3] Heaton J P, Varrin S J, Morales A. The characterization of a bioassay of erectile function in a rat model [J]. Urology, 1991, 145(5): 1099-1102.

- [4] 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.
- [5] 刑俊平, 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.
- [6] 伍学炎, 张达清. 雄激素与人类性行为[J]. *国外医学: 内分泌学分册*, 1994, 4(3): 131-133.
- [7] 刘新福, 李欢成. 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): 983-985.
- [8] 黄淑妍. 糖尿病性勃起功能障碍研究进展[J]. *中华男科学杂志*, 2006, 12(2): 178-180.
- [9] 刘继红, 熊乘良. 性功能障碍学[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2004: 27-195.
- [10] Boulton A J, Selam J L, Sweeney M, et al. Sildenafil citrate for the treatment of erectile dysfunction in men with Type II diabetes mellitus [J]. *Diabetologia*, 2001, 44(10): 1296-1301.
- [11] 杨扶波. 糖尿病与ED[J]. *中国临床医生*, 2001, 29(8): 20-21.
- [12] 信中, 袁申元, 王召平, 等. 男性糖尿病患者勃起功能与睾酮、泌乳素水平关系的初步探讨[J]. *首都医科大学学报*, 2007, 28(6): 766-769.
- [13] Dinulovic D, Radonjic G. Diabetes mellitus/male in fertility [J]. *Arch Androl*, 1990, 25(3): 277-293.

(编辑: 王 栋)

(上接 548 页)

1 留学生的特点

医学留学生的特点是英语听说、读、写、能力强; 高中阶段的生物学知识比较扎实; 学生的竞争意识强; 重视学习结果和学习过程。目前, 教学中出现的比较普遍的问题是学生的口语带有浓重的本土发音特点, 中国教师很难在短时间内与他们沟通而如, 造成教与学的严重分离现象。其次, “国际英语班”学生思维很活跃, 他们常常凭借兴趣听课, 而当讲授他们不感兴趣的知识时, 他们学习的积极性将受到影响。再有, 教学中的许多辅助资料(习题册、图谱等)及动画课件还没有达到 100% 的英文。对这样一个新生的教学群体的医学教育, 对我国医学院校的专业教师的英语授课水平而言, 无论是专业英语词汇量的储备, 还是英语口语的交流能力都带来了极大的挑战。

2 师资力量的调配与安排

首先, 为了让学生在一开始感觉不到语言交流障碍, 逐步掌握组织学学习方法, 营造良好的组织学学习氛围, 挑选具有高级职称、英语口语流利的教师, 尤其是有过几年留学经历的教师讲四大基本组织及各论的开头。在教学中结合教学内容增添一些科研前沿的相关进展, 并且将学习中反馈的问题及时加以分析解决。然后, 选用英语基础好、专业知识传授也有较好口碑的年轻教师讲授组织学各论。讲授时注重与生理、病理及临床的结合。胚胎学内容的讲授选用有多年胚胎学讲授经验、英语口语过关的教师担当。这种有目的的教师安排, 对学生来说既满足了对不同中国教师授课的好奇心, 又提高了学生学习兴趣, 同时也培养了英语教学的后备师资力量。在 44 学时的理论课教学中, 3 个教师平均每人讲授 14 个学时。

3 课上互动, 课下交流

课上互动包括课上发言、提问题、由学生讲解课件上图片中的器官结构等。每次课上互动时气氛很热烈, 有时, 下课了他们还沉浸在互动的氛围中, 并表示下一次的表演会更出色。课后, 学生把本次课学懂的和不懂的地方及时反馈给我们, 也提出了很多富有成效的建议, 如分组布置作业(去图书馆查资料), 然后在课堂上小组之间进行交流。教师采纳了他们的建议, 学生们感觉得到了尊重, 很多学生成为教师的知心朋友。

4 多媒体动画和英语板书有机结合

由于“国际英语班”学生学习的动力来自于兴趣, 我们在课

件制作上精心准备, 如增添一些动画, 使颜色鲜明, 力求文字少、图片多等。除了多媒体课件以外, 对各论的学习, 我们也适时采用传统的板书。一次偶然的故事中, 我们的多媒体暂时不能用, 讲课教师当即拿起了粉笔。课后, 学生们说他们喜欢这样的教学模式。于是, 我们把循环系统、消化管、呼吸道结构的讲授都变成了英文板书和多媒体结合的形式了, 收效显著。

5 补充传授前沿知识

我们教研室近几年在科研工作方面进行了广泛的国际合作。4 名教授中的 3 人分别得到日本、瑞典和丹麦医学博士学位, 同时都有国家自然科学基金在研项目。科教不分离是高等院校办学的基本水准, 在“国际英语班”的教学中我们更格外注重给学生增加科研前沿知识。很多学生对基础研究也因此产生了浓厚的兴趣。我们还把图像处理的高科技带来的视觉效果展示给学生们, 如肾微细结构的三维重建、共聚焦激光扫描的精美神经元图片等。

6 自编英语系列辅导资料

因为不是母语教学, 英语教学辅助资料对学生和教师就显得格外重要。我们用英语自编了各个章节的教学内容提要、实习指导、习题、复习图片等课件, 对学生的课后及期末的复习大有裨益。同时我们也在“Google”网上查找相关内容的动画课件。在播放中文课件时, 进行自配英语解说, 很受学生的欢迎。

7 进行阶段考试

为了及时检验学生的学习效果, 我们每学期至少安排 3 次考试, 即 2 次理论测试, 1 次实习测试。最后的成绩由这 3 次累计所得, 这样在某种程度上平衡了非母语教学的双方压力。每次考试后, 我们还向学生们公布标准答案。当然, 我们也发现了这种考试模式的弊端, 学生在第二部分的理论考试时, 忽视了与第一次考试的理论内容的联系。这种矛盾有待于进一步解决。

尽管在全英语组织学与胚胎学教学中我们做了一些探索, 仍然有一些新的方法需要进一步尝试, 例如, 如何根据学生的兴趣增加胚胎学方面的讲座、开展组织胚胎学知识竞赛等。总之, 教学理论与实践的探索与改革永无止境, 优化全英语教学, 扩大国家精品课程在国际上的影响、促进国际交流是我们义不容辞的责任。

(编辑: 黄会龙)