

· 实验研究 ·

# 赞育丹对帕罗西汀诱导大鼠性功能障碍的治疗作用及机制<sup>※</sup>

● 刘巧斌<sup>1</sup> 龚春水<sup>2</sup> 张 荣<sup>1</sup> 刘兰兰<sup>1</sup>

**摘 要** 目的:探讨赞育丹防治帕罗西汀诱导大鼠性功能障碍的效果和机制。方法:将 50 只性功能正常的雄性 Wistar 大鼠随机分为 5 组,每组 10 只。正常组、模型组分别给予等体积生理盐水、帕罗西汀灌胃,赞育丹低、中、高剂量组分别给予相应剂量(低、中、高剂量)的赞育丹联合帕罗西汀灌胃。连续灌胃 4 w 后观察各组大鼠性行为参数,并检测血清睾酮、阴茎鸟苷单磷酸(cGMP)、一氧化氮(NO)水平及 eNOS、PDE5 含量。结果:与模型组相比,赞育丹各给药组的骑跨潜伏期、插入潜伏期及射精潜伏期均剂量依赖性降低( $P<0.05$ ),骑跨次数、血清睾酮和阴茎 NO、cGMP 水平、eNOS 含量均随赞育丹剂量的升高而增加( $P<0.05$ );赞育丹中、高剂量组的插入次数增加,大鼠阴茎 PDE5 含量降低( $P<0.05$ )。结论:赞育丹可通过提高血清睾酮,提高阴茎 eNOS、NO、cGMP 水平,抑制 PDE5 来缓解帕罗西汀引起的性功能障碍。

**关键词** 赞育丹;帕罗西汀;性功能障碍

随着人们生活压力的增加,焦虑和抑郁的发病越发普遍。5-羟色胺再摄取抑制剂(SSRIs)可以抑制关键神经递质 5-羟色胺的摄取,是目前治疗焦虑、抑郁症的临床常用药<sup>[1]</sup>。然而临床使用 SSRIs 治疗男性患者时,常会导致性功能障碍等严重副作用的发生。研究发现,各种程度的性功能障碍在 SSRIs 使用者中的发生率可以达到 30%~80%<sup>[2]</sup>,其中,帕罗西汀引发性功能障碍的几率最高<sup>[3]</sup>。性功能障碍严重影响患者的身体健康和生活质量,然而目前现代医学对于 SSRIs 导致的性功能障碍并无有效的治疗方式<sup>[4]</sup>。赞育丹出自《景岳全书·痿证论》,有补肾壮阳的功效,主治阳痿精衰、虚寒无子症<sup>[5]</sup>。本次研究将明确赞育丹对帕罗西汀导致的性功能障碍大鼠的治疗作用和机制。

## 1 材料与方 法

**1.1 实验动物** 4 月龄 SPF 级 Wistar 大鼠,购自北京维通利华公司,许可证号:SCXK(京)2016-0011。雌性

65 只,体重(150.2±15.1)g;雌性 50 只,体重(142.3±16.2)g。环境温度控制在(21.1±1.4)℃,12 h 的光照周期循环,自由饮食、饮水及活动,适应性喂养 1 w。

**1.2 实验试剂** 黄体酮(国药准字:H33020828,浙江仙琚制药股份有限公司);苯甲酸雌二醇(国药准字:H31021297,上海通用药业股份有限公司);大鼠睾酮 ELISA 检测试剂盒(Mybiosource 公司,货号:MBS727352);NO 测定试剂盒(南京建成生物工程研究所,货号:A012-1);大鼠 cGMP ELISA 检测试剂盒(Mybiosource 公司,货号:MBS282179);抗 eNOS 抗体(CST 公司,货号:32027);抗 PDE5 抗体(Abcam 公司,货号:ab28761);抗 GAPDH 抗体(CST 公司,货号:5174);羊抗兔 IgG 抗体(CST 公司,货号:# 7074S);兔抗羊 IgG 抗体(Abcam 公司,货号:ab6741);RIPA 裂解液(碧云天公司,货号:P0013B);BCA 定量蛋白检测试剂盒(碧云天公司,货号:P0012S);PVDF 膜(millipore 公司,货号:IPVH00010)。

**1.3 药物配制** 赞育丹(白术、熟地各 24 g,枸杞、当归各 18 g,肉苁蓉、炒韭子、巴戟天、杜仲、山茱萸、仙茅、淫羊藿各 12 g,蛇床子、制附子、肉桂各 6 g)中各味药材均购于南方医科大学中药房。将附子置于

※基金项目 厦门市科技计划项目(No.3502Z20184065)  
• 作者单位 1. 中国人民解放军陆军第七十三集团军医院(福建 厦门 361003);2. 厦门弘爱医院(福建 厦门 361003)

3000 mL纯水中浸泡30 min后,先煎1 h,加入其余药物再煎1 h后,对药液进行浓缩,定容至浓度为生药3 g/mL,给药前用蒸馏水稀释为所需浓度。帕罗西汀片(国药准字:H10950043,中美天津史克制药公司)在研钵中磨为粉末,按10 mg/mL浓度混悬于蒸馏水中配置而成,药物均置于4 °C冰箱保存备用。

**1.4 动物筛选** 雌性SD大鼠在性交配测试前48 h内注射苯甲酸雌二醇(10 μg/100 g)促使发情,前1 h注射黄体酮(0.5 mg/100 g)催情,对雄性大鼠进行性行为交配试验测试<sup>[6]</sup>。选择30 min内完成射精性行为≥3次的雄性大鼠共50只进行后续实验。

**1.5 分组及给药** 50只雄性大鼠随机分为5组,每组10只,分别为正常组(予等体积生理盐水)、模型组(予帕罗西汀10 mg/kg)、赞育丹低剂量组(予帕罗西汀10 mg/kg及赞育丹10.7 g/kg)、赞育丹中剂量组(予帕罗西汀10 mg/kg及赞育丹21.4 g/kg)、赞育丹高剂量组(予帕罗西汀10 mg/kg及赞育丹42.8 g/kg),每天1次,连续灌胃4 w。

**1.6 性行为参数** 雄性大鼠的实验交配行为由经过统一培训的2名观察者记录,减少主观误差。雄性大鼠末次灌胃结束后1 h,单独被放置在一个50 cm × 30 cm × 20 cm的玻璃暗光观察室内,适应5 min后放入发情的雌性大鼠,统计各组雄性大鼠在30 min内的性行为相关参数。包括:①骑跨潜伏期(ML):与雌鼠同笼开始至第1次骑跨所需时间;②插入潜伏期(IL):与雌鼠同笼开始至第1次插入阴道所需时间;③骑跨次数(MF):从首次骑跨雌鼠到射精前进行的骑跨次数;④插入次数(IF):射精前插入阴道的次数;⑤射精潜伏期(EL):首次插入到射精所需时间<sup>[7]</sup>。

性行为参数检测结束后第二天,乙醚麻醉后,腹主动脉取血,离心分离血清;并在冰皿上快速分离阴茎,用生理盐水制成10%的组织匀浆液,离心取上清液,-20 °C保存待测。

**1.7 血清睾酮测试** 采用ELISA法进行检测。

**1.8 阴茎组织中cGMP、NO水平检测** 阴茎组织匀

浆上清液经适当稀释后采用ELISA法检测cGMP水平,按NO检测试剂盒说明书检测NO水平。

**1.9 阴茎组织中eNOS、PDE5水平检测** 取50 mg阴茎组织加入液氮研磨成粉末,加入适量的RIPA裂解液裂解细胞,离心,取上清,BCA法定量蛋白。取20 μg总蛋白加入5×上样缓冲液,100 °C、5 min变性,10%的SDS-PAGE电泳,半干电转法将蛋白质转移至PVDF膜,5%脱脂奶粉37 °C封闭1 h后,一抗(eNOS 1:1000、PDE5 1:1000、GAPDH 1:1000)孵育过夜,PBS洗三遍,二抗(1:1000)孵育1 h,ECL化学发光法检测蛋白条带,用GAPDH蛋白条带作为内参。

**1.10 统计学处理** 数据采用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用SPSS16.0软件进行分析。One Way ANOVA法检测组间差异,方差齐的采用LSD进行两两比较,方差不齐的采用Dunnetts T3进行两两比较。

## 2 结果

**2.1 对帕罗西汀诱导性功能障碍的影响** 与正常组相比,模型组的ML、IL以及EL显著增加,MF和IF显著降低,差异均有统计学意义( $P < 0.01$ )。与模型组相比,赞育丹低、中、高剂量组的ML、IL以及EL随着赞育丹剂量的升高而显著降低,MF随着赞育丹剂量的升高而显著增加,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ )。IF随赞育丹剂量的升高而有增加的趋势,其中赞育丹中、高剂量组与模型组相比有统计学差异( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ )。见表1。

**2.2 对血清睾酮的影响** 与正常组相比,模型组大鼠血清的睾酮含量显著降低,差异有统计学意义( $P < 0.01$ );经过不同剂量的赞育丹给药治疗后,睾酮含量随着赞育丹给药剂量的增加而增加,与模型组比较差异均有统计学意义( $P < 0.01$ )。见表2。

**2.3 对大鼠阴茎NO、cGMP含量的影响** 与正常组相比,模型组大鼠阴茎NO、cGMP含量显著降低,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。经过赞育丹给药治疗后,NO、cGMP含量均显著增加,且呈剂量依赖性,与模型组比较均具有统计学差异( $P < 0.01$ )。见表3。

表1 赞育丹对帕罗西汀诱导性功能障碍的影响( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	骑跨潜伏期(s)	骑跨次数(次)	插入潜伏期(s)	插入次数(次)	射精潜伏期(s)
正常组	71.7±10.8	14.3±1.7	122.9±6.6	11.7±1.1	485.2±72.2
模型组	119.3±7.2 <sup>##</sup>	5.2±1.8 <sup>###</sup>	185.5±9.4 <sup>##</sup>	9.1±0.7 <sup>##</sup>	786.8±57.0 <sup>##</sup>
赞育丹低剂量组	97.4±8.3 <sup>###</sup>	6.8±0.9 <sup>###</sup>	155.2±6.1 <sup>###</sup>	9.7±1.2 <sup>##</sup>	710.9±81.9 <sup>##</sup>
赞育丹中剂量组	85.4±6.3 <sup>###</sup>	10.1±1.5 <sup>###</sup>	131.0±9.9 <sup>**</sup>	10.0±0.8 <sup>##</sup>	660.8±60.8 <sup>###</sup>
赞育丹高剂量组	72.0±10.8 <sup>**</sup>	13.3±1.3 <sup>**</sup>	123.6±6.9 <sup>**</sup>	11.0±0.8 <sup>**</sup>	577.3±88.0 <sup>**</sup>

注:与空白组比较,<sup>#</sup> $P < 0.05$ ,<sup>##</sup> $P < 0.01$ ;与模型组比较,<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ,<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$

表 2 赞育丹对血清睾酮的影响( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	睾酮(ng/mL)
正常组	5.9±0.5
模型组	1.7±0.3 <sup>#</sup>
赞育丹低剂量组	3.5±0.7 <sup>###</sup>
赞育丹中剂量组	4.5±0.6 <sup>###</sup>
赞育丹高剂量组	4.7±0.5 <sup>###</sup>

注:与正常组比较,<sup>#</sup> $P<0.05$ ,<sup>##</sup> $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>\*</sup> $P<0.05$ ,<sup>\*\*</sup> $P<0.01$

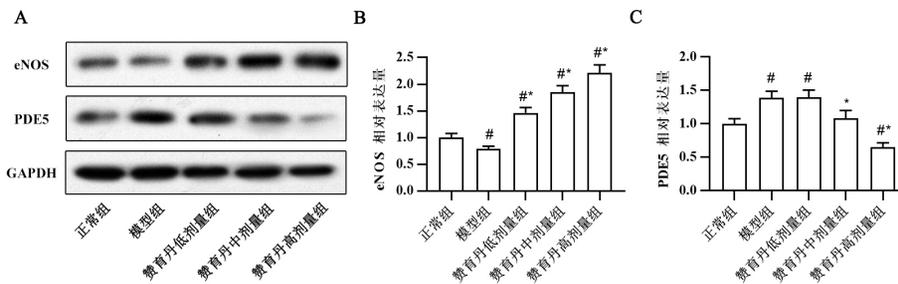
表 3 赞育丹对大鼠阴茎 cGMP、NO 含量的影响( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	cGMP (pmol/mg)	NO (pmol/mg)
正常组	12.8±1.6	0.6±0.1
模型组	4.4±0.9 <sup>#</sup>	0.2±0.0 <sup>#</sup>
赞育丹低剂量组	6.6±1.2 <sup>###</sup>	0.4±0.1 <sup>###</sup>
赞育丹中剂量组	9.0±1.0 <sup>###</sup>	0.5±0.1 <sup>###</sup>
赞育丹高剂量组	11.5±1.3 <sup>###</sup>	0.6±0.1 <sup>**</sup>

注:与正常组比较,<sup>#</sup> $P<0.05$ ,<sup>##</sup> $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>\*</sup> $P<0.05$ ,<sup>\*\*</sup> $P<0.01$

**2.4 对大鼠阴茎 eNOS、PDE5 含量的影响** 模型组大鼠 eNOS 含量较正常组降低,差异有统计学意义( $P<0.01$ );经过赞育丹给药治疗后,eNOS 含量均显著增加,且呈剂量依赖性,与模型组比较差异均有统计学意义( $P<0.01$ )。见图 1A、B。

模型组大鼠 PDE5 较正常组升高,差异有统计学意义( $P<0.01$ );与模型组比较,赞育丹中、高剂量组 PDE5 含量均显著降低,且呈剂量依赖性,差异均有统计学意义( $P<0.01$ ),低剂量组的 PDE5 含量与模型组比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见图 1A、C。



注:A:Western blot 检测条带;B:eNOS 相对表达量;C:PDE5 相对表达量;与正常组比较,<sup>#</sup> $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>\*</sup> $P<0.01$

图 1 赞育丹对大鼠阴茎 eNOS、PDE5 含量的影响

### 3 讨论

5-羟色胺(5-HT)是人体重要的神经递质,影响大脑活动各个方面,参与调节睡眠、痛觉及快感等生理过程。SSRIs 作为常用的抗抑郁药物,可以抑制 5-HT 的释放、合成,具有疗效可靠、不良反应少等优点,却容易导致男性患者发生性功能障碍,其可能的机制包括:SSRIs 可以通过激活 5-HT<sub>2</sub> 受体来抑制多巴胺的释放,导致催乳素的脱抑制性升高,从而导致性欲降低,使性唤醒的阈值增加;SSRIs 也可以抑制副交感神经乙酰胆碱的释放,引起阴茎勃起功能障碍;SSRIs 抑制 NO 的合成,NO 是阴茎勃起的重要信号传导物质,抑制 NO 的合成会导致性功能障碍的发生<sup>[8]</sup>。

目前,对于由 SSRIs 引起的性功能障碍,缺少有效的解决办法,临床处理措施为停用该药物。近年来发现坦度螺酮对于 SSRIs 引起的性功能障碍具有一定的治疗作用<sup>[9]</sup>,但却会导致头晕、嗜睡、失眠、头痛等严重副作用<sup>[3]</sup>。中医药具有疗效显著、副作用小等特点,为药物治疗由 SSRIs 引起的性功能障碍提供新的研究思

路和方向。性功能障碍的中医治疗以补肾、疏肝为主<sup>[10]</sup>。赞育丹具有补肾壮阳之效,为临床常用方。临床研究表明,赞育丹可以有效治疗弱精患者<sup>[11]</sup>;动物实验也发现赞育丹可以通过增加精子数量、修复受损组织来改善性功能障碍大鼠的症状<sup>[12]</sup>。本次研究采用帕罗西汀诱导大鼠性功能障碍,结果发现,赞育丹可以显著降低模型大鼠的 ML、IL 以及 EL,增加 MF,表明赞育丹具有治疗帕罗西汀诱导性功能障碍的作用。

性功能障碍的临床表现主要有早射、无法勃起、射精乏力、勃起不坚等,其中以阴茎勃起功能障碍为最常见的症状<sup>[13]</sup>。海绵体内神经末梢及海绵窦内皮细胞在 eNOS 酶的作用下合成并释放 NO,增高海绵体平滑肌中 cGMP 的水平,下调细胞钙离子浓度,导致阴茎海绵体血管平滑肌舒张,大量血流进入海绵体组织,从而导致海绵体内压升高完成勃起过程<sup>[14]</sup>。PDE5 是磷酸二酯酶家族的一员,在阴茎中主要的磷酸二酯酶亚型,能特异性抑制 cGMP 的活性。因此,抑制 PDE5、提高 cGMP 是勃起功能障碍的主要治疗策略之

—<sup>[15]</sup>。本研究发现赞育丹可以提高阴茎组织中 NO、cGMP、eNOS 的含量,降低阴茎组织中 PDE5 的含量,表明赞育丹可以通过调控 NO/cGMP 途径改善勃起功能障碍。调控 NO/cGMP 途径是中药防治勃起功能障碍的研究热点<sup>[16]</sup>。淫羊藿是赞育丹的有效组成之一,有研究发现淫羊藿能抑制 PDE5 的活性改善勃起功能障碍<sup>[17]</sup>。因此,笔者推测淫羊藿是赞育丹中抑制 PDE5,防治勃起功能障碍的主要药物。

睾酮作为一种雄激素,对于男性性特征发育、精子发育、性器官发育、性冲动的产生等方面起着重要作用,维持高水平的血清睾酮含量是提高性欲的基础<sup>[18]</sup>。研究发现,30%~35% 对 PDE5 抑制剂无效的勃起功能障碍患者与低水平血清睾酮相关,联合使用睾酮与 PDE5 抑制剂有更好的治疗效果<sup>[19]</sup>。本研究发现赞育丹可以显著增加帕罗西汀诱导性功能障碍模型大鼠血清中睾酮的含量,提示赞育丹改善帕罗西汀诱导性功能障碍的机制可能与提高睾酮相关。赞育丹中多种中药成分,如仙茅<sup>[20]</sup>、淫羊藿<sup>[21]</sup>、巴戟天<sup>[22]</sup>,都具有提高睾酮的作用。本研究提示,赞育丹可能通过提高睾酮及抑制 PDE5 双重作用改善勃起功能障碍。

本研究表明,赞育丹可能通过调控 NO/cGMP 途径、提高睾酮及抑制 PDE5,从而改善 SSRIs 引起的性功能障碍。本研究也提示赞育丹具有治疗其它原因导致的性功能障碍的可能,可在后续研究中进一步探讨。此外,大量研究证实 PDE5 介导的 NO/cGMP 途径还在心血管疾病中起重要作用<sup>[23-24]</sup>,提示赞育丹可能可以在心血管疾病中有一定的应用前景,值得探索。

### 参考文献

[1] CARTWRIGHT C, GIBSON K, READ J, et al. Long-term antidepressant use: patient perspectives of benefits and adverse effects [J]. Patient Prefer Adherence. 2016,10:1401-1407.  
 [2] GROVER S, SHAH R, DUTT A, et al. Prevalence and pattern of sexual dysfunction in married females receiving antidepressants: An exploratory study [J]. J Pharmacol Pharmacother, 2012, 3 (3):259-265.  
 [3] HUANG X, YANG J, YANG S, et al. Role of tandospirone, a 5-HT1A receptor partial agonist, in the treatment of central nervous system disorders and the underlying mechanisms [J]. Oncotarget, 2017, 8 (60):102705-102720.  
 [4] SIMONSEN AL, DANBORG PB, GØTZSCHE PC. Persistent sexual dysfunction after early exposure to SSRIs: Systematic review of animal studies [J]. Int J Risk Saf Med, 2016,28 (1):1-12.  
 [5] 陈冠儒,张怡,郑育卿,等. 芪附理中灌肠方对溃疡性结肠炎大鼠血清 IL-8、IL-10 及肠黏膜 ICAM-1 表达的影响[J]. 中药药理与临床, 2017, 33(4): 122-125.  
 [6] YAKUBU MT, AKANJI MA. Effect of Aqueous Extract of Massularia acuminata Stem on Sexual Behaviour of Male Wistar Rats [J]. Evid Based

Complement Alternat Med, 2011, 2011:738103.  
 [7] NURUDEEN QO, AJIBOYE TO2, YAKUBU MT, et al. Aqueous root extract of Lecaniodiscus cupanioides restores nitric oxide/cyclic guanosine monophosphate pathway in sexually impaired male rats [J]. J Ethnopharmacol, 2015, 175:181-184.  
 [8] HIGGINS A, NASH M, LYNCH AM. Antidepressant-associated sexual dysfunction: impact, effects, and treatment [J]. Drug, Healthcare and Patient Safety, 2010,2010:141-150.  
 [9] TAYLOR MJ, RUDKIN L, BULLEMOR-DAY P, et al. Strategies for managing sexual dysfunction induced by antidepressant medication [J]. Cochrane Database Syst Rev, 2013(5):CD003382.  
 [10] LI H, JIANG H1, LIU J. Traditional Chinese medical therapy for erectile dysfunction [J]. Transl Androl Urol, 2017,6(2):192-198.  
 [11] 杨玉恺,李飞. 中西医结合治疗少精弱精患者伴解脲支原体及慢性前列腺炎 71 例[J]. 河南中医, 2015,35(3):597-599.  
 [12] 刘天成,崔撼难,郑微. 赞育丹对不育大鼠性腺功能调节作用的实验研究 [J]. 医学综述, 2007,13(23):1904-1905.  
 [13] SEID A, GERENSEA H, TARKO S, et al. Prevalence and determinants of erectile dysfunction among diabetic patients attending in hospitals of central and northwestern zone of Tigray, northern Ethiopia: a cross-sectional study [J]. BMC Endocr Disord, 2017, 17(1): 16.  
 [14] MOEMEN MN, HAMED HA, KAMEL II, et al. Clinical and sonographic assessment of the side effects of intracavernous injection of vasoactive substances[J]. Int J Impot Res, 2004,16(2): 143-145  
 [15] ANDERSSON KE. PDE5 inhibitors - pharmacology and clinical applications 20 years after sildenafil discovery[J]. Br J Pharmacol, 2018, 175 (13):2554-2565.  
 [16] 徐福松,章茂森,赵伟. 中医药防治勃起功能障碍研究进展述评 [J]. 江苏中医药, 2019,51(5):1-5.  
 [17] 陈学勤. 淫羊藿在勃起功能障碍治疗中的研究进展[J]. 中国男科学杂志, 2015,29(4):70-72.  
 [18] CORONA G, CIPRIANI S, RASTRELLI G, et al. High triglycerides predicts arteriogenic erectile dysfunction and major adverse cardiovascular events in subjects with sexual dysfunction [J]. J Sex Med, 2016, 13 (9): 1358-1367  
 [19] JACQUESBUVAT, FRANCESCO MONTORSI, MARIOMAGGI, et al. Hypogonadal men nonresponders to the PDE5 inhibitor tadalafil benefit from normalization of testosterone levels with a 1% hydroalcoholic testosterone gel in the treatment of erectile dysfunction (TADTEST study)[J]. J Sex Med, 2011,81(1): 284-293.  
 [20] 周远征,鞠成国,徐钢,等. 生、制仙茅不同提取部位补肾壮阳作用研究[J]. 中成药, 2013,35(11):2517-2519.  
 [21] 高学勇,林珊,韩咪莎. 淫羊藿苷对环磷酸腺苷诱导生精障碍大鼠下丘脑-垂体-睾丸轴的影响[J]. 解剖学杂志, 2018,41(2):147-151.  
 [22] 王佳,史辑,魏晓峰,等. 巴戟天不同炮制品对肾虚不育大鼠改善作用研究[J]. 中药材, 2017,40(8):1826-1832.  
 [23] 孙欢,于明,赵绮旋,等. 磷酸二酯酶在心力衰竭治疗中的研究进展[J]. 中国比较医学杂志, 2020,30(3):115-120.  
 [24] 石涵,公威,聂绍平. 5 型磷酸二酯酶参与急性心肌梗死发生的机制及研究进展[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2019, 21(8):878-880.

(收稿日期:2020-10-25)

(本文编辑:蒋艺芬)