

[6] 尚禹东, 张郑瑶, 丁云录, 等. 银杏叶提取物对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制作用及其降血糖作用机制 [J]. 吉林大学学报(医学版), 2011, 37 (4): 427-432.

## LBP 对糖尿病性勃起功能障碍兔阴茎海绵体形态结构的影响

向春燕 罗琼 赵颀涵 李菁菁 耿天琪 阎俊

(武汉大学公共卫生学院营养与食品卫生学系, 武汉 430071)

**摘要 目的:** 研究 LBP 对糖尿病所导致的勃起功能障碍兔阴茎形态结构的影响, 为枸杞多糖预防 DIED 提供理论依据。**方法:** 四氧嘧啶造 DM 模型, 饲喂高脂饲料 3w, 普通饲料 5w, 8w 后电刺激海绵体根部筛选 DIED 模型。后持续喂养 4w, 测阴茎组织的脏器系数、ICP 值、显微结构和超微结构。**结果:** LBP 能显著提高糖尿病兔阴茎的脏器系数和  $\Delta$ ICP 值, 改善阴茎形态结构, 缓解 DM 导致的阴茎平滑肌细胞损伤。**结论:** LBP 能明显改善糖尿病导致的阴茎勃起功能障碍和组织形态结构的损伤。

**关键词** 枸杞多糖; 糖尿病性 ED; 海绵体内压; 形态结构

## Effects of Lycium Barbarum Polysaccharides on Porphological Pstructure of Penis of Diabetes-Induced Erectile Dysfunction Rabbit

Xiang Chunyan Luo Qiong Zhao Qi-han Li Jingjing Geng Tianqi Yan Jun

(School of Public Health, Wuhan University, Wuhan, 430071, China)

**Abstract: Objective:** To investigate the influence of Lycium barbarum polysaccharides (LBP) on penis of morphological structure of erectile dysfunction induced by diabetic, provide the theory basis for the LBP prevention DIED. **Method:** Make DM model by alloxan, high fat diet for 3 weeks and standard diet for 5 weeks, at the end of the eight week, use the electrical stimulation of sponge root to screening DIED, 4 weeks later, testorgan coefficient, ICP, microstructure and ultrastructure of penis. **Result:** LBP can significantly improve organ coefficient and  $\Delta$ ICP value and the morphological structure of penis, and reduce the smooth muscle cell damage caused by DM. **Conclusion:** LBP can obviously improve erectile dysfunction and morphological structure damage caused by diabetes of penile.

**Keywords:** Lycium barbarum polysaccharide; Diabetes - Induced Erectile Dysfunction; ICP; morphological structure

在 WHO 提出的概念中, 生殖健康被认为是人类得以繁衍生息的基础, 而男性的生殖健康又是重要环节。但随着生活方式、环境

污染等因素的改变, 男性生殖健康面临十分严峻的形势, 其中以勃起功能障碍 (erectile dysfunction, ED) 影响最大。据文献统计,

成年男性 ED 患病率达 25%，40 岁以上达到 50%，而引发 ED 的原因是多方面的，包括生理疾病、心理障碍、服药等因素等<sup>[1]</sup>。在生理疾病中糖尿病（diabetes mellitus, DM）所占比例最大为 30%~70%。DM 引起的勃起功能障碍叫做糖尿病性勃起功能障碍（diabetes-induced erectile dysfunction, DIED），是 DM 常见并发症。

近年来，DM 患者数量增长很快，成为严重威胁人类身体健康的第三大慢性病，遗传、代谢异常、饮食结构不合理、不良生活方式等诸多因素都能引发 DM。国际糖尿病联盟（IDF）预测，到 21 世纪三十年代末，全球将有 4.38 亿 DM 患者，人数将增长 50%。我国 DM 病人现已经超过 7 千万人次，居世界第一位。Rendell 等<sup>[2]</sup>研究认为 DM 患者 ED 的发生率高达 50%~70%；Aversa 等<sup>[3]</sup>发现 DM 患者确诊后超过 50% 的人 5-10 年内会发生 ED；其他研究也表明 DM 的 ED 发生率比非 DM 人群高 3 倍<sup>[4]</sup>。

枸杞多糖（Lycium Barbarum Polysaccharides, LBP）是从枸杞子中提取出来具有降血糖、降血脂、抗氧化等生物活性的物质，本实验室前期研究也表明，LBP 在抵抗辐射所造成的生殖系统损伤具有显著效果<sup>[5]</sup>。本实验主要探讨 LBP 对 DM 导致的 ED 兔阴茎海绵体形态结构的影响，为 LBP 预防 DIED 提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试品及试剂

LBP 由本实验室制备，纯度为 83.99%；日本大耳白兔购自湖北省疾病预防控制中心动物实验中心，清洁级；四氧嘧啶购自 sigma 公司，西地那非（伟哥）购自辉瑞公司，BL-420F 生物机能试验系统购自成都泰盟科技有限公司。

### 1.2 方法

1.2.1 动物模型：动物模型参照文献<sup>[6,7]</sup>，同时结合本实验室经验和研究实际

情况。

DM 模型：日本大耳白兔， $2.4 \pm 0.2$  kg，空腹，四氧嘧啶 100mg/kg 耳缘静脉注射，连续 24h 监控血糖值，预防低血糖的发生。72h 后测空腹血糖值和糖耐量曲线，筛选 DM 模型。

DIED 模型：DM 模型成功后，先饲喂高脂饲料（1%胆固醇+4%猪油）3w，再饲喂普通饲料 5w，第 8w 时用电刺激阴茎根部观察有无勃起筛选 DIED 模型。

1.2.2 分组及处理：实验动物随机分为 5 组，每组 3 只。具体分组如下：①正常对照组：0.9%生理盐水 1ml/kg·d 灌胃，连续 12w；②阴性对照组：0.9%生理盐水 1ml/kg·d 灌胃，DM 模型成功后持续 12w；③阳性对照组：西地那非 1 mg/kg·d 灌胃，DIED 模型成功后持续 4w；④预防组：LBP 10mg/kg·d 灌胃，DM 模型成功后持续 12w；⑤治疗组：LBP 10mg/kg·d 灌胃，DIED 模型成功后持续 4w。灌胃量按 1ml/kg·d 计算。本课题组前期研究已证明 LBP 10mg/kg·d 为最佳剂量，生理盐水稀释为 10mg/ml；西地那非用量按实验动物剂量换算得 1mg/kg·d，稀释为 1mg/ml。

### 1.3 测定指标

通过测阴茎组织脏器系数、阴茎海绵体内压（ICP）、HE 染色和电镜下超微结构的改变评价 LBP 对阴茎海绵体形态结构的影响。

### 1.4 统计学方法

用 SPSS 17.0 统计软件进行分析，多组间均数的比较用方差分析。

## 2 结果

### 2.1 LBP 对 DIED 兔阴茎脏器系数的影响

表 1 显示的各组阴茎脏器系数的变化，可见阴性对照组降低，阳性对照组、预防组和治疗组增加。与正常对照组相比，阴性对照组下降明显，差异存在极显著性（ $P <$

0.001), 治疗组也出现下降, 差异有显著性 ( $P < 0.05$ ), 预防组与正常对照组比差异不明显; 与阴性对照组相比, 预防组和治疗组脏器系数有明显的增加, 差异有极显著性 ( $P < 0.001$ )。

表 1 LBP 对 DIED 兔阴茎脏器系数的影响  
( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	脏器系数	可信区间 (95%CI)
正常对照组	0.63±0.01	0.62-0.64
阴性对照组	0.40±0.06**	0.27-0.53
阳性对照组	0.58±0.01#	0.57-0.60
预防组	0.60±0.02#	0.56-0.63
治疗组	0.56±0.03**	0.50-0.63

注: 与正常对照组比较: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.001$ ; 与阴性对照组比较: #  $P < 0.001$ ;

## 2.2 LBP 对兔阴茎海绵体内压 ( $\Delta$ ICP) 的影响

正常对照组  $\Delta$ ICP 最大, 阴性对照组最小, 预防组和阳性对照组比阴性对照组增加明显。与正常对照组相比, 其他四组的  $\Delta$ ICP 值明显下降,  $P < 0.001$ , 差异有统计学意义; 与阴性对照组相比, 阳性对照组、预防组和治疗组的  $\Delta$ ICP 值明显增加,  $P < 0.001$ , 差异有统计学意义; 治疗组比预防组的  $\Delta$ ICP 值下降,  $P < 0.05$ , 差异有统计学意义, 如表 2 所示。

表 2 LBP 对 DIED 兔阴茎海绵体压力的影响  
( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	$\Delta$ ICP	可信区间 (95%CI)
正常对照组	24.13 ± 1.49	22.67-25.66
阴性对照组	3.75 ± 1.23*	2.63- 4.88
阳性对照组	11.60 ± 1.68*#	9.87-13.24
预防组	11.15 ± 0.88*#	10.32-12.90
治疗组	8.77 ± 0.90**#□	7.96-9.73

注: 与正常对照组比较: \*  $P < 0.05$ ; 与阴性对照组比较: #  $P < 0.05$ ; 与阳性对照组相比较: \*  $P < 0.05$ ; 与预防组比较: □  $P < 0.05$

## 2.3 LBP 对兔阴茎海绵体形态结构损伤的影响

阴茎组织 HE 染色, 光镜下观察, 正常对照组兔阴茎组织平滑肌细胞含量丰富, 排列有序, 血窦间隙明显, 平滑肌、血窦及间质组织均匀分布; 阴性对照组海绵体结构严重破坏, 平滑肌细胞减少、排列紊乱, 组织纤维化严重, 血窦数量减少、间隙增大; 阳性对照组、预防组和治疗组经干预后, 海绵体组织损伤有所改善, 与阴性对照组比较, 可见平滑肌细胞数量增加明显, 纤维化程度降低, 血窦数量增加、间隙变窄。其中, 预防组的改善最明显。(图 1)。

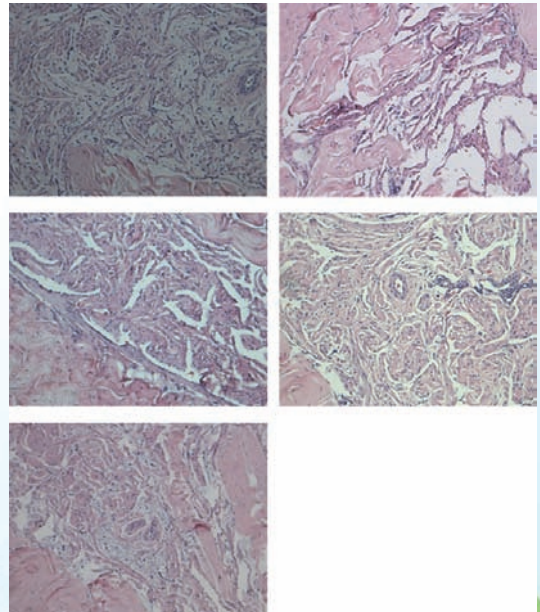


图 1 LBP 对 DIED 兔阴茎组织形态结构的影响 ( $\times 400$ )

A 正常对照组 B 阴性对照组 C 阳性对照组  
D 预防组 E 治疗组

## 2.4 LBP 对 DIED 兔阴茎组织超微结构的影响

透射电镜下可见正常对照组阴茎海绵体中的平滑肌细胞和内皮细胞, 它们的细胞膜完整, 细胞内微丝含量丰富, 线粒体结构正常, 胞核形态正常, 间质组织散在分布胞间。DIED 兔可见, 细胞间基底膜不完整,

足突有融合，内皮细胞凋亡，平滑肌细胞质膜时有破损，其下吞饮小泡明显减少，胞质浓集，其内糖原颗粒、线粒体及微丝明显减少，线粒体呈空泡状；细胞基膜损伤，纤维结缔组织大量增生，细胞连接消失。经 LBP 干预后，可见基底膜完整度增加，足突融合情况变少，平滑肌细胞线粒体空泡程度降低，微丝增加。

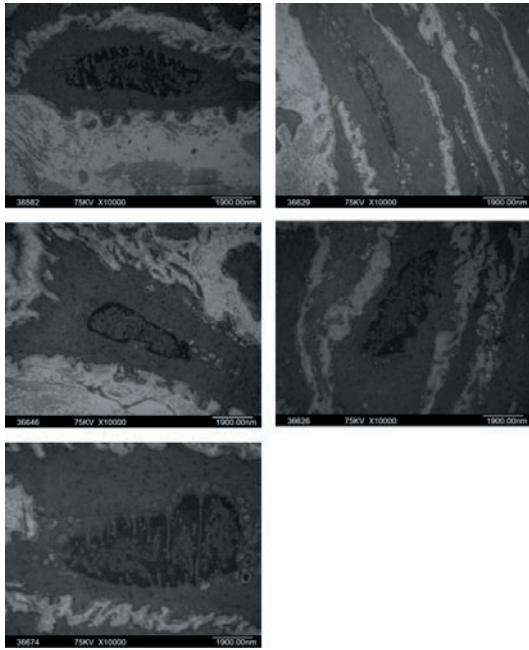


图2 LBP 对 DIED 兔阴茎超微结构的影响  
( $\times 10000$ ) (所示为线粒体)

A 正常对照组 B 阴性对照组 C 阳性对照组  
D 预防组 E 治疗组

### 3 讨论

阴茎勃起是由神经-内分泌-血液系统协调作用的结果。阴茎勃起的机理<sup>[8]</sup>目前认为是阴茎海绵体平滑肌及阴茎血管舒张，使阴茎海绵体血管窦变大，窦内血液增多，使得海绵体压力升高，阴茎白膜下静脉被压迫，血液回流受阻，使阴茎勃起。该过程是既包括了神经-内分泌系统的调节作用，也包括海绵体平滑肌和阴茎动脉舒张，表现为相应的血流动力学的改变<sup>[9-10]</sup>。

阴茎组织结构和功能的损伤是勃起功能

障碍最直接的因素。阴茎海绵体中，典型的结构是血窦，通过控制血液量的变化，实现阴茎勃起。动物的脏器系数是实验动物学中遗传学特点重要的鉴别依据，同时也是能反应实验动物的生物学特征，能反应组织增生肥大或者萎缩退行性改变等。在健康的机体中，海绵体的平滑肌和纤维组织的含量比应该一定，在镜下表现为均匀一致的血窦在血窦中。在血窦中，它们所扮演的角色不一样，其中起支撑作用的是纤维结缔组织，而控制阴茎海绵体血管窦扩张的是平滑肌。勃起功能正常进行依赖于细胞结构、细胞之间的连接以及细胞间信息传递的正常。国外研究动物勃起功能的标准方法是通过电刺激盆神经节后 CN 诱发勃起，然后测定 ICP，此方法稳定易重复，能够客观准确地评估阴茎的勃起程度，是实验中研究阴茎勃起功能的重要技术。电刺激 CN 时，激活 NANC 末梢的 NOS 活性，促进 NO 的生成和释放，提高 cGMP 浓度，从而诱发阴茎海绵体平滑肌松弛，阴茎勃起<sup>[11]</sup>。本实验结果发现 LBP 能显著提高糖尿病兔阴茎的阴茎脏器系数和  $\Delta$ ICP 值，改善阴茎形态结构。说明 LBP 能拮抗糖尿病所造成的阴茎海绵体的病理损伤，改善由于糖尿病引起的阴茎勃起功能障碍。

阴茎海绵体的电镜下结构的改变是 ED 的病理学基础。Jiang R 等<sup>[12]</sup>对自发性高血压大鼠的研究发现，海绵体组织电镜下显示线粒体肿胀、内质网扩张，糖原颗粒、微丝减少；刘德云<sup>[13]</sup>、李煜罡<sup>[14]</sup>等对 DIED 大鼠电镜下观察，海绵体平滑肌和内皮细胞数量明显减少，质膜破损，胞质浓密，其内糖原颗粒、微丝、及线粒体明显减少，线粒体出现肿胀、嵴消失、空泡化。一项对不同年龄段的男性的阴茎海绵体超微结构进行的研究也表现出老年人的弹力纤维及平滑肌比青壮年明显减少<sup>[15]</sup>。线粒体是产能器官，其形态结构的改变能严重影响器官的功能，肿胀甚至空泡化是线粒体受损伤时最普遍的改变，镜下观察可见受损的线粒体的体积变

化、失去正常的形态，线粒体基质变淡，甚至空泡化。本研究结果显示，给与LBP干预后，兔阴茎海绵体的超微结构明显改善，提示LBP能改善糖尿病所导致的兔阴茎组织超微结构的病理改变结构。

## 参考文献

[1] 陕文生. 男性生殖健康的现状的研究 [J]. 甘肃科技纵横, 2011, 40 (2): 193-194.

[2] Rendell MS, Rajfer J, et al. Sildenafil for treatment of erectile dysfunction in men with diabetes: a randomized controlled trial [J]. The Journal of the American Medical Association, 1999, 281 (5): 421-426.

[3] Aversa A, Bruzziches R, et al. Chronic sildenafil in men with diabetes and erectile dysfunction [J]. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2007, 3 (3): 451-464.

[4] 刘涛, 李维仁, 辛钟成. 糖尿病性勃起功能障碍的发病机制及其治疗 [J]. 中国糖尿病杂志. 2011, 19 (4): 311-314.

[5] Luo Q, Cai Y, Yan J, Sun M, Corke H. Hypoglycemic and hypolipidemic effects and antioxidant activity of fruit extracts from *Lycium barbarum* [J]. Life Sci, 2004, 76 (2): 137-149.

[6] 陈国强, 白文俊, 等. 糖尿病性勃起功能障碍兔模型的建立 [J]. 中国男科学杂志, 2005, 19 (1): 11-14.

[7] 陈小明, 黄丹丹, 等. 新西兰兔糖尿病肾病模型的建立方法 [J]. 中国病理生理杂志, 2012, 28 (4): 765-768.

[8] M. Shirai, N. Ishii, et al. Hemodynamic Mechanism of Erection in the Human Penis [J]. Systems Biology in Reproductive Medicine, 1978, 1 (4): 345-349.

[9] Banya Y. Mechanism of human penile erection based on microvascular organization of corpus cavernosum penis in humans [J]. Japanese Journal of Clinical Medicine, 2002, 60 (6): 71-75.

[10] Krupin V N, Vlasov V V. Role of a Venous Hemodynamics in a Mechanism of Penis Erection [J]. Sovremennye Tehnologii v Medicine, 2010, 4, 107-110.

[11] Nishimatsu H, Hirata Y, et al. Effects of intracavernous administration of adrenomedullin on erectile function in rats [J]. Peptides, 2001, 22 (11): 1913-1918.

[12] Jiang R, Chen JH, et al. Ultrastructural comparison of penile cavernous tissue between hypertensive and normotensive rats [J]. Int J Impot Res, 2005, 17 (5): 417-423.

[13] 刘德云, 苟欣, 等. 糖尿病大鼠氧自由基损伤和对超微结构影响致勃起功能障碍的研究 [J]. 重庆医科大学学报, 2008, 33 (9): 1042-1046.

[14] 李煜罡, 潘恩山, 等. 糖尿病性ED大鼠模型建立及阴茎海绵体超微结构变化 [J]. 山东医药, 2010, 50 (48): 36-37.

[15] 于明波, 李维年, 等. 阳萎患者阴茎海绵体平滑肌细胞超微结构的研究 [J]. 中华泌尿外科杂志, 1994, 15 (2): 133-135.