

• 临床研究 •

精浆 EO 水平对精子 PR 百分率的影响及其与精子 DFI、精浆 MDA 的关系

王 鑫¹,冯 星¹,李 涛²,孙玉华²,王志凯²
(上海计生所医院;1. 检验科;2. 男科 200032)

摘 要:目的 探讨精浆中内源性哇巴因(EO)对弱精症患者精子 DNA 碎片指数(DFI)、精浆丙二醛(MDA)、精子前向运动指数(PR)百分率的影响。方法 选取 2015 年 1 月至 2016 年 3 月该院不孕不育男科收治的 110 例弱精症患者(弱精组)、50 例健康成年男性(对照组),检测两组精浆及精液相关参数并进行比较分析。结果 弱精组患者的 DFI、精浆 MDA、精浆 EO 均高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$);弱精组患者的精子浓度、精浆 Fru、精浆 ACP、PR 均低于对照组,差异均具有统计学意义($P<0.05$),弱精组和对照组的精液量差异无统计学意义($P>0.05$);弱精组患者的精浆中 EO 与患者 DFI、精浆 MDA 呈正相关关系($r=0.396,0.427,P<0.05$),弱精组患者的精浆中 EO 水平与患者 PR 呈负相关关系($r=-0.471,P<0.05$)。结论 精浆中 EO 水平对弱精症患者精子 DFI、精浆 MDA、PR 百分率有明显的影响。

关键词:内源性哇巴因; 弱精症; DNA 碎片指数; 丙二醛; 前向运动指数
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.07.051 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2017)07-0993-02

不孕不育症是临床生殖科的常见疾病,其发病机制与遗传、内分泌、生存环境等因素相关,男性因素约占不孕不育的 40%,主要为少精、精子畸形、弱精等精子质量异常所导致^[1]。精液参数是评估男性生育能力的重要指标,精子 DNA 碎片指数(DNA fragmentation index,DFI)、精浆丙二醛(malondialdehyde,MDA)、精浆果糖(semen fructose,Fru)、精浆酸性磷酸酶(acid phosphatase,ACP)、精浆中内源性哇巴因(endogenous ouabain,EO)、精子前向运动指数(progressive,PR)百分率是其主要指标。EO 是具有排尿、利钠、强心作用的甾体化合物,在精子生成、成熟过程中是否发挥了作用,对男性生育能力造成影响,较少明确报道^[2]。本研究对本院不孕不育男科收治的 110 例弱精症患者与 50 例健康成年男性均检测精浆与精液相关参数,分析精浆 EO 对弱精症患者 DFI、MDA、PR 百分率的影响,为临床治疗提供可靠依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 1 月至 2016 年 3 月本院不孕不育男科收治的 110 例弱精症患者(弱精组)、50 例健康成年男性(对照组)。弱精症组 110 例患者,年龄 23~42 岁,平均(28.3±5.7)岁;病程 2~6 年,平均(3.3±1.4)年。对照组 50 例患者,年龄 23~45 岁,平均(29.8±6.2)岁。两组对象的年龄差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 纳入与排除标准

1.2.1 纳入标准 (1)弱精子症患者的诊断标准参考《世界卫生组织男性不育标准化检查与诊疗指南》中的标准^[3];(2)夫妻至少有 1 年以上的正常性生活,未采取任何避孕措施、性伴侣健康的情况下未能成功妊娠;(3)精液参数检查发现快速前向运动 A 级精子+慢速前向运动的 B 级精子(A+B)<50%且 A 级精子<20%;(4)本研究获得研究对象的知情同意。

1.2.2 排除标准 (1)合并心、肝、肾严重疾病及骨髓造血功能障碍的患者;(2)合并甲状腺疾病、前列腺疾病、尿道结石及炎症、泌尿生殖系统肿瘤的患者;(3)伴有精神疾病、认知功能障碍的患者;(4)近期服用抗癫痫药物、降压药、抗感染等药物的患者;(5)长期使用激素药物、成瘾性药物的患者。

1.3 观察指标及检测方法 对比各组研究对象精液量、精子浓度、DFI、MDA、Fru、ACP、EO、PR 百分率。所有研究对象禁欲 3~7 d 后手淫取精液置入干燥消毒量杯内,保存至 37℃水

浴箱内液化,使用改良巴氏染色法对其染色,采用国产 WLJY-9000 型彩色精子形态检测系统的人工修整方法分析精子形态。按照 CASA 系统(北京伟力公司 WLJY9000)检测精液量、精子浓度、PR。使用分光光度法检测 Fru、ACP 水平,采用硫代巴比妥酸(TBA)比色法检测 MDA 水平,使用高效液相色谱分析法(HPLC)检测 EO 水平,试剂盒均由南京建成生物技术工程有限公司提供,且由同一检测员按照说明书进行操作。

1.4 统计学处理 数据分析及统计在专业软件 SAS9.0 软件包中处理,计量指标采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间计量资料比较采用 t 检验;相关性分析采用 Pearson 线性相关分析法; $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组研究对象的精液相关参数比较 弱精组患者的 DFI、精浆 MDA、精浆 EO 均高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$);弱精组患者的精子浓度、精浆 Fru、精浆 ACP、PR 均低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$),弱精组和对照组的精液量差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

表 1 两组研究对象的精液相关参数比较($\bar{x}\pm s$)

项目	弱精组($n=110$)	对照组($n=50$)	t	P
EO($\mu\text{g/L}$)	46.81±6.20	37.54±5.50	9.686	<0.01
精液量(mL)	3.02±0.84	3.11±0.76	0.690	0.472
精子浓度($10^6/\text{mL}$)	54.40±9.42	93.31±4.80	29.919	<0.01
DFI(%)	45.27±9.41	22.14±5.35	17.541	<0.01
MDA(nmol/mL)	16.49±3.15	7.20±1.84	20.960	<0.01
Fru(U/mL)	2214.70±331.50	3481.50±310.40	24.343	<0.01
ACP(mg/L)	104.50±28.10	178.20±31.80	15.592	<0.01
PR(%)	21.17±7.24	46.86±9.33	18.497	<0.01

2.2 弱精症患者的精浆中 EO 水平与 DFI、MDA、PR 的相关性分析 弱精组患者的精浆中 EO 水平与患者 DFI、精浆 MDA 呈正相关关系($r=0.396,0.427,P<0.05$),弱精组患者的精浆中 EO 水平与患者 PR 呈负相关关系($r=-0.471,P<0.05$),见表 2。

表 2 弱精症患者的精浆中 EO 与 DFI、MDA、PR 的相关性分析

EO	DFI	MDA	PR
<i>r</i>	0.396	0.427	-0.471
<i>P</i>	0.014	0.005	<0.01

3 讨 论

弱精子症是临床不孕不育的重要病因,主要是指 PR 百分率小于 25% 的病症,也被称为精子活力低下,严重影响睾丸的生精功能^[4]。弱精症在男性不育因素中约占 30%,无法保障精子抵达输卵管壶腹部与卵子结合形成受精卵,对男性生育造成严重影响^[5]。精液参数是衡量男性生育功能的重要方式,精浆中 EO、DFI、MDA、PR 百分率是反映精子遗传物质完整性的重要指标,成为生殖医学领域研究热点^[6]。

EO 是人体下丘脑与肾上腺皮质分泌的哇巴因样甾体激素,是 Na⁺/K⁺-ATP 酶的 α4 亚型(Na⁺/K⁺-ATPaseα4 Isoform, NKA4)特异性抑制剂,对弱精症患者精子 DFI、MDA、PR 百分率的影响,已成为男科及生殖医学界的广泛关注^[7-8]。本研究中弱精组和对照组的精液量差异无统计学意义(*P*>0.05),这提示弱精症患者的精液量与健康者无变化,其不育因素可能与精液质量相关。

MDA 是不饱和脂肪酸代谢终产物之一,对有关活性氧(ROS)具有敏感性,能够间接性反映 ROS 对精子、生殖系统的损伤程度^[9]。正常情况下男性生殖系统中的精子、精浆中含有清除 ROS 的抗氧化物,保护精子免受 ROS 损伤,当其因各种因素导致 ROS 分泌过多时,会损伤精子与生殖系统,危害生育功能,但 ROS 半衰期较短,无法直接检测^[10]。

Fru 是精子能量来源之一,是血液中葡萄糖在精囊腺中经过酶促转化形成,是衡量精囊分泌的重要标志物^[11]。DFI 是近年来提出评估精子 DNA 完整性的重要指标,其水平与精子生精过程中细胞凋亡、染色体组装异常、氧化应激(OS)相关^[12]。本研究中弱精组患者的 DFI、精浆 MDA、精浆 EO 均高于对照组,弱精组患者的精子浓度、精浆 Fru、精浆 ACP、PR 均低于对照组,差异均有统计学意义(*P*<0.05),这表明与健康者相比,弱精症患者的精子 MDA、PR、DFI 水平存在异常,严重影响精子质量。

Fru 含量、ACP 活性、DFI、MDA、PR 是精囊腺、前列腺功能的标志,在男性不孕症的诊断与治疗中发挥了重要作用^[13]。EO 为精子代谢与运动供能,其水平高低对精液质量造成直接性影响;MDA 水平能够反映患者精子膜的脂类过氧化程度、精子膜结构与功能损伤^[14];精子 DNA 断裂会降低受精率,影响胚胎质量,降低新生儿的出生质量,与人类生育力呈负相关^[15]。本研究弱精组患者的精浆中 EO 水平与患者 DFI、精浆 MDA 呈正相关关系,弱精组患者的精浆中 EO 水平与患者 PR 呈负相关关系,这佐证了上述分析,临床应重视患者 EO 水平,根据检测指标水平采取针对性治疗措施。

本研究创新性在于回顾性分析弱精子症患者与成年男性资料,试验设计良好,对比 EO、DFI、MDA、PR 水平,分析其变化因素,增加实验结果的可信度。但本研究不足之处在于未分析以上指标对生育能力的影响,有待于采用前瞻性研究加以确认。

综上所述,精浆中 EO 对弱精症患者精子 DFI、精浆 MDA、PR 百分率有明显的影响,为研究弱精子症的发生、发展机制提供了突破依据,为临床治疗提供可靠依据。

参考文献

[1] 秦文松,刘英,段金良. 精子 DN A 碎片指数与精液参数的相关性研究[J]. 中国性科学,2014,14(1):55-57.

[2] 潘通,黄永汉,徐杰伟,等. 精浆内源性哇巴因水平与精子活动力和 DNA 碎片指数的关系[J]. 广东医学,2016,37(5):714-716.

[3] 江洪涛,刘增钦,郭吉楠,等. 医源性输精管损伤致梗阻性无精子症的诊断和外科治疗[J]. 中华泌尿外科杂志,2016,37(1):52-56.

[4] 吴骏,崔云,陈建伟,等. “通精灵”方对精索静脉曲张致男性不育患者精子 DNA 碎片率的影响[J]. 浙江中医药大学学报,2016,40(5):356-360.

[5] Baecher S, Kroiss M, Fassnacht M, et al. No endogenous ouabain is detectable in human plasma by ultra-sensitive UPLC-MS/MS[J]. Int J Clin Chem, 2014, 431(1):87-92.

[6] Simonini M, Lanzani C, Bignami E, et al. A new clinical multivariable model that predicts postoperative acute kidney injury: impact of endogenous ouabain. [J]. Nephrology Dialysis Transplantation, 2014, 29(1):1696-701.

[7] 徐杰伟,黄永汉,刘雄春,等. 不良生活习惯对精子 DNA 碎片的影响[J]. 中国男科学杂志,2015,29(2):39-42.

[8] 石亮,张春华,戴玉田. 1 197 例男性不育症患者精子 DNA 结构完整性的研究[J]. 江苏医药,2015,19(23):2805-2808.

[9] 麦选诚,董云华,陈斌,等. 不育患者精子 DNA 损伤和精液常规参数关系分析[J]. 中国男科学杂志,2016,30(1):19-22.

[10] 曾兰,叶飞,李运星,等. 精子 DNA 完整性与精液常规参数相关性分析[J]. 中国计划生育和妇产科,2014,28(1):47-50.

[11] 段婷,丁晓萌,邵永,等. 男性不育患者精液 pH 值与精液参数相关性分析[J]. 临床检验杂志,2015,18(2):147-149.

[12] 梁嘉颖,李子涛,黄志承,等. 以精子 DNA 碎片化指数辅助精液参数评估男性生育力[J]. 广东医学,2015,15(1):91-93.

[13] 潘通. 哇巴因与弱精子症关系的研究进展[J]. 中华男科学杂志,2015,21(12):1129-1133.

[14] 李健玲,伍伟锋. 内源性哇巴因的特性及其在高血压与钠处理中作用的研究进展[J]. 广西医学,2016,38(4):529-532.

[15] 刘莉,叶鹏. 羊毛甾醇合酶基因多态性和内源性哇巴因变化对低钠盐摄入的反应[J]. 中华高血压杂志,2016,16(1):25-25.