

· 论 著 ·

特发性少弱精患者精浆 α -葡萄糖苷酶、锌与精子形态学参数相关性分析*

刘 鹏¹, 孙建明¹, 迟令侃², 倪 晨¹

(1. 上海中医药大学附属第七人民医院男性病科, 上海 200137; 2. 上海中医药大学附属曙光医院生殖医学中心, 上海 201203)

摘 要:目的 分析特发性少弱精患者精浆 α -葡萄糖苷酶活性、锌含量与精子形态学相关参数的相关性。方法 152 例特发性少弱精患者根据形态学分析分成 5 组, 采用计算机辅助精子分析(CASA)、Diff-Quik 染色法分析精液质量、精子形态, 利用速率法、PAN 法及全自动生化分析仪检测精浆 α -葡萄糖苷酶活性和锌水平。结果 正常精子形态百分率在 3%~4%、2%~3%、1%~2%、0%~1% 4 组与正常精子形态百分率 $\geq 4\%$ 比较, 精浆 α -葡萄糖苷酶活性均有显著性差异(Z 分别为 -2.199、-2.685、-2.827、-3.358, $P < 0.05$), 其余各组之间比较差异均无统计学意义($P > 0.05$); 精浆锌水平各组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。精浆 α -葡萄糖苷酶活性与正常形态精子百分率呈正相关($P < 0.05$), 与精子畸形指数(SDI)呈负相关($P < 0.05$), 与精子头部、颈部和中段、尾部、过量残留胞浆、多重异常指数(MAI)、畸形精子指数(TZI)无明显相关性($P > 0.05$); 精浆锌水平与各项精子形态学参数均无相关性($P > 0.05$)。结论 正常精子形态百分率异常的特发性少弱精患者精浆 α -葡萄糖苷酶活性明显低于精子形态正常的患者; 精浆 α -葡萄糖苷酶活性与正常形态精子百分率呈正相关, 与 SDI 呈负相关, 可能有利于体外受精。

关键词:不育; 精子形态; α -葡萄糖苷酶; 锌; 精子畸形指数

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.16.004

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)16-2185-03

Correlation analysis of seminal plasma α -glucosidase, zinc and sperm morphological parameters in patients with idiopathic oligospermia*

LIU Peng¹, SUN Jianming¹, CHI Lingkan², NI Chen¹

(1. Department of Andriatry, Affiliated Seventh People's Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicinc, Shanghai 200137, China; 2. Reproductive Medicine Center, Affiliated Shuguang Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicinc, Shanghai 201203, China)

Abstract: **Objective** To analyze the correlation between seminal plasma α -glucosidase activity and zinc content with sperm morphology parameters in the patients with idiopathic oligozoospermia. **Methods** One hundred and fifty-two cases of idiopathic oligozoospermia were divided into five groups according to morphological analysis. The quality of semen and sperm morphology were analyzed by using computer assisted sperm analysis (CASA) and Diff-Quik staining. The rate method, PAN method and automatic biochemical analyzer were used to detect the seminal plasma α -glucosidase activity and zinc content. **Results** The seminal plasma α -glucosidase activity had statistically significant difference between 4 groups of normal sperm morphology 3%~4%, 2%~3%, 1%~2% and 0%~1% with normal sperm morphology $\geq 4\%$ ($Z = -2.199, -2.685, -2.827, -3.358, P < 0.05$). There was no statistically significant difference among the other groups ($P > 0.05$); the seminal plasma zinc content had no statistical difference among various groups ($P > 0.05$). The seminal plasma α -glucosidase activity had a extremely significant positive correlation with percentage of normal morphology sperms ($P < 0.05$), a significant negative correlation with sperm deformity index (SDI) ($P < 0.05$), and had no obvious correlation with sperm head, neck, middle piece, tail, excessive residual cytoplasm, multiple abnormal index (MAI) and teratozoospermia index (TZI) ($P > 0.05$); there was no significant correlation between the zinc content in seminal plasma with the sperm morphological parameters ($P > 0.05$). **Conclusion** The seminal plasma α -glucosidase activity in idiopathic oligozoospermia patients with abnormal percentage of normal sperm mophology is significantly lower than that in the patients with normal sperm morphology; seminal plasma α glucosidase activity has significantly positive correlation with the percentage of normal morphology sperms, has a negative correlation with SDI, which may be conducive to in vitro fertilization.

Key words: infertility; sperm morphoiogy; α -glucosidase; Zn; SDI

精子形态学分析在男科实验室、生殖医学中心、精子库及检验科中开展非常必要, 有重要的临床应用价值^[1], 可以评估自发性受孕情况^[2]及精子受精能力^[3]。精浆 α -葡萄糖苷酶活性和锌水平分别是附睾和前列腺的重要功能指标。附睾及其他附属性腺的分泌功能对精子质量有一定影响, 对精子生育功能有重要作用^[4]。本文分析特发性少弱精患者精浆 α -葡萄糖苷酶

活性、锌水平与精子形态学相关参数的关系, 为男性不育症的诊疗提供一些参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2015 年 10 月至 2016 年 9 月本院生殖门诊就诊的特发性少弱精不育患者 152 例, 年龄 21~45 岁, 平均 (30.9 $\pm$ 5.9) 岁, 夫妻同居 1 年以上且未采取避孕措施, 性功能

* 基金项目: 上海市科委项目(14401972300); 上海市浦东新区卫生和计划生育委员会科技发展专项基金资助(PW2015B-10)。

作者简介: 刘鹏, 男, 技师, 主要从事男科实验诊断方面的研究。

正常,其配偶经查排除女方不孕因素。患者无泌尿生殖系统感染,如附睾及睾丸炎、结核等,无外伤及手术史,无病毒性腮腺炎及家族遗传病史,未服用抗肿瘤、癫痫等药物,未接受放疗、化疗等,精液细菌及淋球菌培养阴性,血清衣原体抗体阴性,血清和精浆抗精子抗体阴性,血清生殖激素水平正常。依据 WHO《人类精液检查与处理实验室手册》(第五版)(下文简称 WHO5)^[5]:少精子不育症指精子浓度 $<15\times 10^6/\text{mL}$;弱精子不育症指前向运动(PR)精子百分率 $<32\%$;精子形态正常参考值为 $\geq 4.0\%$ 。将 152 例少弱精患者分为 5 组:A 组(正常精子形态百分率 $\geq 4\%$)39 例;B 组(正常精子形态百分率 $3\%\sim 4\%$)28 例;C 组(正常精子形态百分率 $2\%\sim 3\%$)29 例;D 组(正常精子形态百分率 $1\%\sim 2\%$)29 例;E 组(正常精子形态百分率 $0\%\sim 1\%$)27 例。

1.2 方法

1.2.1 精液分析 禁欲 4~7 d,手淫法取精液于清洁无菌试管内,置 37℃ 恒温金属浴液化。采用清华同方计算机辅助精子分析系统(CASA)及形态学分析软件,按 WHO5 检测精液质量及精子形态,精子形态采用 Diff-Quik 染色法。

1.2.2 精浆指标分析 精浆 α -葡萄糖苷酶和精浆锌检测试剂盒由南京欣迪提供,利用速率法和 PAN 法及科华卓越 310 型全自动生化分析仪分别进行检测,严格按照 SOP 文件进行操作,每批实验均有相关质控品监测确保结果的可靠性。根据正常生育男性精浆 α -葡萄糖苷酶和锌检测结果,以 95% 可信区间确定正常参考值范围,精浆 α -葡萄糖苷酶的正常参考值范围 109.63~570.76 U/L,精浆锌的正常参考值范围 1.09~4.86 mmol/L。

1.3 统计学处理 采用 SPSS18.0 软件分析,数据资料描述符合正态分布以 $\bar{x}\pm s$ 表示,偏态分布用 $M(P_{25},P_{75})$ 表示。计量资料比较符合正态分布采用配对 t 检验,不符合正态性采用

非参数检验,计数资料比较采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 特发性少弱精患者精子形态与精浆 α -葡萄糖苷酶活性和锌含量比较 各组精浆 α -葡萄糖苷酶两两比较,B、C、D、E 4 组与 A 组经非参数检验差异有统计学意义(Z 分别为-2.199、-2.685、-2.827、-3.358, $P<0.05$),其余各组比较差异无统计学意义(Z 分别为-1.222、-1.684、-0.428、-0.750、-0.479, $P>0.05$)。精浆锌各组之间经 t 检验分析差异有统计学意义(t 分别为 2.132、0.008、0.855、0.220、1.365、0.014、3.380、0.429、1.365, $P>0.05$),见表 1。

表 1 各组精浆 α -葡萄糖苷酶活性与锌水平比较				
组别	<i>n</i>	α -葡萄糖苷酶 [$M(P_{25},P_{75})$, U/L]	锌 ($\bar{x}\pm s$, mmol/L)	
A 组	39	292.10(147.00,420.00)	2.43 $\pm$ 1.14	
B 组	28	200.80(80.00,286.78) *	2.33 $\pm$ 0.91	
C 组	29	184.90(91.45,271.80) *	2.45 $\pm$ 1.23	
D 组	29	160.50(89.85,267.00) *	2.00 $\pm$ 1.20	
E 组	27	149.40(58.90,213.40) *	1.82 $\pm$ 1.04	

注:与 A 组比较,* $P<0.05$ 。

2.2 精浆 α -葡萄糖苷酶活性和锌水平与精子形态学参数相关性分析 152 例患者均检测多重异常指数 MAI(1.64 $\pm$ 0.23)、畸形精子指数 TZI(1.65 $\pm$ 0.24)和精子畸形指数 SDI(1.59 $\pm$ 0.27)。精浆 α -葡萄糖苷酶活性与正常形态精子百分数呈正相关($P<0.05$),与 SDI 呈负相关($P<0.05$),而与精子头部、颈部和中段、尾部、过量残留胞浆(ERC)、MAI、TZI 无明显相关性($P>0.05$);精浆锌水平与正常形态精子百分数、精子头部、颈部和中段、尾部、过量残留胞浆、MAI、TZI、SDI 均无显著相关性($P>0.05$),见表 2。

表 2 精浆 α -葡萄糖苷酶活性、锌含量与精子形态学参数相关分析($r,n=152$)

项目	正常形态精子(%)	异常形态精子(%)				MAI	TZI	SDI
		头部	颈部和中段	尾部	ERC			
α -葡萄糖苷酶	0.347 *	-0.126	-0.031	-0.079	-0.112	-0.054	-0.065	-0.170 *
锌	0.158	0.106	-0.092	-0.115	0.025	-0.059	-0.053	-0.025

注:与锌比较,* $P<0.05$ 。

3 讨论

WHO5 显示人类精液是指在射精时储存在双侧附睾内高度浓缩的精子悬液与附性腺的分泌液混合和稀释而成。精浆中各种成分在精子的成熟、储存及运输过程中起着关键作用,精浆成分的改变也将会影响精子的功能^[6]。附睾对精子的成熟和储存具有重要作用。精浆 α -葡萄糖苷酶存在两种异构体,约 80% 来源于附睾(中性 α -葡萄糖苷酶),约 20% 来源于前列腺(酸性 α -葡萄糖苷酶)^[7]。精浆总 α -葡萄糖苷酶的检测,是目前我国男科实验室常用方法,且精浆总 α -葡萄糖苷酶活性高低可反映附睾分泌功能^[7]。故本研究中检测精浆总 α -葡萄糖苷酶的水平来研究其与精子形态相关参数的相关性。特发性少弱精子症及特发性少弱畸形精子症,这种原因不明的少、弱、畸形精子症约占不育男性的 30%^[8],也是目前男科领域十分关注的热点之一^[9]。

本研究结果显示:正常精子形态百分率异常的特发性少弱精患者精浆 α -葡萄糖苷酶活性明显低于精子形态正常的患者,即特发性少弱精子症精浆 α -葡萄糖苷酶活性明显高于特发性少弱

畸形精子症,从精浆 α -葡萄糖苷酶活性数值可看出,随着畸形精子百分数增多,该酶活性有逐渐减低的趋势。这与既往某些研究报道一致^[10-12]。精浆 α -葡萄糖苷酶活性偏低提示可能是附睾上皮分泌功能存在异常,可能是通过活性氧损伤及凋亡等机制影响精子形态,导致未成熟精子比例增多;也有研究表明, α -葡萄糖苷酶在精子成熟过程中起重要作用,可能与附睾液和/或精子膜表面糖结合物的降解或修饰有关^[13-14]。本研究中精浆 α -葡萄糖苷酶活性与正常形态精子百分率呈正相关,与精子头部、颈部、中段、尾部及过量残留胞浆没有相关性,尚不能确定该酶影响精子形态的某一类型,可能与样本数或选择对象有关。另外,本研究还显示精浆 α -葡萄糖苷酶活性与 SDI 呈负相关,间接说明该酶活性高,精子形态正常率高,SDI 指数低,这与既往研究结果一致^[15]。WHO5 显示,MAI 与 TZI 相似,与体内生育力相关,而 SDI 与体外受精相关,3 项指数大于 1.6 提示低生育率或体外受精失败阈值。本文可见,MAI(1.64 $\pm$ 0.23)和 TZI(1.65 $\pm$ 0.24)均大于 1.6,说明患者生育力相对较低,而 SDI(1.59 $\pm$ 0.27)小于 1.6,可考虑体外受精,对于特发性少弱

畸形精子症的治疗一般先药物治疗,多次无效可考虑辅助生殖技术(ART)治疗^[9]。可见,精子体内体外完成受精功能的前提是有较好的正常精子形态和结构。本研究显示精浆锌水平与各项精子形态学参数均无相关性($P>0.05$),与有关报道一致^[16]。精浆锌主要来源于精液中的前列腺液,反映的是前列腺功能,其检测主要用于前列腺炎和男性不育的体外诊断^[7]。而前列腺炎中的白细胞可能对精子具有一定的损伤作用,对于精浆锌是否影响精子质量,目前结论不一,由于精子是睾丸中产生并在附睾储存,与前列腺并无直接关系,射精后,前列腺液与精子及其他附属性腺分泌液一同排出体外,故前列腺液中的锌对精子的成熟和形态结构是否有影响尚未可知。总之,精子发生是一个复杂过程,其形态缺陷机制还有待进一步明确。

参考文献

[1] 陆金春. 精子形态学分析的是与非[J]. 中华男科学杂志, 2013, 19(4): 291-295.

[2] Jedrzejczak P, Taszarek-Hauke G, Hauke JA, et al. Prediction of spontaneous conception based on semen parameters[J]. Int J Androl, 2008, 31(5): 499-507.

[3] Franken DR, Oehninger S. Semen analysis and sperm function testing[J]. Asian J Androl, 2012, 14(1, SI): 6-13.

[4] 尹彪, 刘红杰, 赵明, 等. 精浆中锌、果糖和肉碱含量与精液参数的关系[J]. 中华男科学杂志, 2013, 19(11): 1051-1053.

[5] 谷翊群, 陈振文, 卢文红, 等. 世界卫生组织人类精液检查与处理实验室手册[M]. 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 192-193.

[6] Juyena NS, Stelletta C. Seminal plasma; an essential attribute to spermatozoa[J]. J Androl, 2012, 33(4): 536-551.

[7] 陆金春, 黄宇烽, 张红烨. 临床检验报告速查手册[M]. 上

海: 第二军医大学出版社, 2009: 57-58.

[8] Cavallini G. Male idiopathic oligoasthenoteratozoospermia[J]. Asian J Androl, 2006, 8(2): 143-157.

[9] 陆金春, 黄宇烽. 特发性精液质量异常的诊断与治疗[J]. 中华男科学杂志, 2012, 18(1): 3-10.

[10] Moustafa MH, Sharma RK, Thornton J, et al. Relationship between ROS production, apoptosis and DNA denaturation in spermatozoa from patients examined infertility[J]. Hum Reprod, 2004, 19(1): 129-138.

[11] Cayli S, Sakkas D, Vigue L, et al. Cellular maturity and apoptosis in human sperm; creatine kinase, capase-3 and Bcl-XL levels in mature and diminished maturity sperm[J]. Mol Hum Reprod, 2004, 10(5): 365-372.

[12] 马晓萍, 高晓勤, 杨燕平, 等. 不育患者精浆中性 α -1, 4-糖苷酶活性与精液参数及精子透明质酸酶活性的关系[J]. 检验医学, 2014, 29(1): 53-56.

[13] Dias AJ, Maia MS, Retamal CA, et al. Identification and partial characterization of alpha-1, 4-glucosidase activity in equine epididymal fluid[J]. Theriogenology, 2004, 61(7/8): 1545-1558.

[14] 张红烨, 陆金春, 卢坤刚, 等. 精浆 α 葡糖苷酶全自动检测方法的建立及评价[J]. 中华男科学杂志, 2014, 20(10): 886-889.

[15] Garrett C, Liu DY, Baker H. Selectivity of the human sperm-zona pellucida binding process to sperm head morphology[J]. Fertil Steril, 1997, 67(2): 362-371.

[16] 李劲, 舒金辉, 李佳祥, 等. 男性不育患者精浆锌含量与精液主要参数相关性研究[J]. 中国妇幼保健, 2013, 28(15): 2408-2412.

(收稿日期: 2017-02-16 修回日期: 2017-04-16)

(上接第 2184 页)

产生的机制及逆转耐药的最新策略[J]. 中国细胞生物学学报, 2012, 8(11): 1175-1181.

[3] 王婵, 章乐. Mcl-1 基因与巨噬细胞凋亡相关疾病的研究进展[J]. 中国人兽共患病学报, 2013, 11(11): 1105-1108.

[4] Kong R, Jia G, Cheng ZX, et al. Dihydroartemisinin enhances Apo2L/TRAIL-Mediated apoptosis in pancreatic cancer cells via ROS-mediated up-regulation of death receptor 5[J]. PLoS ONE, 2012, 7(5): e37222.

[5] Liao K, Li J, Wang Z. Dihydroartemisinin inhibits cell proliferation via AKT/GSK 3β /cyclinD1 pathway and induces apoptosis in A549 lung cancer cells [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2014, 7(12): 8684-8691.

[6] Tilaoui M, Mouse HA, Jaafari A, et al. Differential effect of artemisinin against cancer cell lines[J]. Nat Prod Bio-prospect, 2014, 4(2): 189.

[7] Xie H, Chen LJ, Yao L, et al. Human Tumor Cells Apoptosis Induced by Dihydroartemisinin and Its Molecular Mechanism[J]. China Pharmacy, 2007, 18(24): 1850-1852.

[8] Ba Q, Zhou NY, Duan J, et al. Dihydroartemisinin exerts its anticancer activity through depleting cellular iron via

transferrin receptor-1[J]. PLoS ONE, 7(8): e42703.

[9] Kerenyi MA, Grebien F, Gehart H, et al. Stat5 regulates cellular iron uptake of erythroid cells via IRP-2 and TfR-1[J]. Blood, 2008, 112(29): 3878-3888.

[10] Mott JL, Kobayashi S, Bronk SF. miR-29 regulates Mcl-1 protein expression and apoptosis[J]. Oncogene, 2007, 26(42): 6133-6140.

[11] 王国丽, 宿文辉, 孙卢浩然, 等. 二氢青蒿素对结肠癌细胞 HCT116 凋亡基因表达图谱的影响[J]. 中国医科大学学报, 2011, 10(3): 213-216.

[12] 张莉莉, 张淑兰. 天然萜类化合物在宫颈癌抗癌机制中的研究[J]. 国际生殖健康/计划生育杂志, 2011, 12(2): 146-149.

[13] 靳秋月, 呼文亮, 陈立军, 等. 基因芯片技术分析二氢青蒿素抑制 K562 细胞增殖的作用机制[J]. 武警医学院学报, 2009, 12(1): 20-23, 27, 85.

[14] 陈先国, 宋兴福, 崔向军, 等. 青蒿素及其衍生物诱导细胞凋亡研究进展[J]. 中国医院药学杂志, 2008, 12(10): 1278-1280.

(收稿日期: 2017-02-04 修回日期: 2017-04-04)