

论著·临床研究

不同顶体精氨酸酰胺酶活性精子的其他精子参数分析^{*}沈丽燕,王家雄,宋丹,程洪波,杨慎敏,王改改,史轶超[△]

(南京医科大学附属苏州医院生殖遗传中心,江苏苏州 215002)

摘要:目的 通过研究精子顶体精氨酸酰胺酶活性与精子常规和形态之间的关系,评估其在男性不育诊疗中的价值。**方法** 用化学比色法检测精子顶体精氨酸酰胺酶活性,采用计算机辅助分析检测精液常规参数、精子形态精子。结果 顶体酶异常组与顶体酶正常组的精子浓度、活动率、前向运动率比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。顶体酶正常组与顶体酶异常组精子头部畸形百分率、颈和中段畸形百分率、主段和尾部畸形百分率比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。结论 精子顶体精氨酸酰胺酶对判断精子质量具有非常高的价值,可作为评价精子功能,辅助诊断男性不育的有效指标。

关键词:精子顶体精氨酸酰胺酶活性; 精液参数; 精子形态; 男性不育**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2018.04.012 **中图法分类号:**R446.9**文章编号:**1673-4130(2018)04-0426-03**文献标识码:**AAnalysis on other sperm parameters of sperm with different sperm acrosomal arginine enzyme activity^{*}

SHEN Liyan, WANG Jiaxiong, SONG Dan, CHENG Hongbo,

YANG Shenmin, WANG Gaigai, SHI Yichao[△]

(Center for Reproduction and Genetics, Suzhou Municipal Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Suzhou, Jiangsu 215002, China)

Abstract: Objective To evaluate the value of sperm acrosomal arginine enzyme activity in the diagnosis and treatment of male infertility by studying its relationship with sperm motility and morphology. **Methods** The sperm acrosomal arginine enzyme activity was detected by chemical colorimetric method, and the routine parameters of sperm and sperm morphology were detected by computer-aided analysis. **Results** There were significant differences on sperm concentration, motility and progressive motility between normal sperm acrosomal arginine enzyme activity group and abnormal sperm acrosomal arginine enzyme activity group($P<0.05$). The percentage of deformities in head, neck and middle segment were significant different between normal sperm acrosomal arginine enzyme activity group and abnormal sperm acrosomal arginine enzyme activity group($P<0.05$). **Conclusion** The activity of sperm acrosin is a very efficient marker in sperm quality, and an effective indicator of the evaluation of sperm fertilization potential and the diagnosis of male infertility.

Key words:sperm acrosomal arginine enzyme activity; semen parameters; sperm morphology; male infertility

全球 10%~15% 的夫妇患有不孕不育症,男性因素约占 50%,而男性不育患者常规检测中,约 30% 不育患者精液参数为正常^[1-2]。精液常规、精子形态和精子顶体酶活性都是男科门诊的常规检测项目。顶体酶是受精过程中的关键酶,在精子穿透卵细胞透明带时起到溶解透明带的作用,因此顶体酶活性高低与能否受孕直接相关^[3]。有研究表明,精子顶体酶是判断精子功能的重要指标^[4-5],SHARMA 等^[6]更是认为精子顶体酶测定,在判定受精能力方面比传统的精子

数量和运动能力更具客观性,并且认为顶体酶活性与受精率之间存在正相关。HENKEL 等^[7]通过分析 110 例接受体外受精治疗后的男性精子顶体酶活性与体外受精率的关系,发现顶体酶活性能反映受精潜力。因此,顶体酶检测作为预测男性精子功能的生化指标具有十分重要的意义。精子精氨酸酰胺酶存在于顶体中,其活性可反映顶体酶全部活性。本文探讨了精子顶体精氨酸酰胺酶活性与各精液常规参数及精子形态的关系,为治疗男性不育提供实验依据。

* 基金项目:江苏省遗传医学重点学科基金项目(FXK201305);苏州市临床重点病种诊疗技术专项项目(lczx201411);苏州市临床医学中心基金项目(szxz201505)。

作者简介:沈丽燕,女,主管技师,主要从事男性生殖的临床研究。 △ 通信作者,E-mail:sina365@163.com。

本文引用格式:沈丽燕,王家雄,宋丹,等.不同顶体精氨酸酰胺酶活性精子的其他精子参数分析[J].国际检验医学杂志,2018,39(4):426-

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2016 年 1—12 月至本院男科门诊就诊的不育症患者 431 例为研究对象, 平均年龄 (32.48 ± 8.90) 岁。纳入标准: 均为健康男性, 婚后正常性生活 1 年以上不育, 性功能正常, 无生殖道感染, 精液白细胞数小于 $1 \times 10^6/\text{mL}$, 无遗传性疾病家族史, 无全身和内分泌疾病, 体检未见明显生殖系统异常, 抗精子抗体阴性。

1.2 仪器与试剂 精液常规分析采用以色列 SQA-V 精液分析系统进行分析; 精子顶体精氨酸酰胺酶检测采用精子顶体精氨酸酰胺酶试剂盒(化学比色法, 南京欣迪公司, 生产批号 02051504)。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 精液检查前, 要求禁欲 2~7 d, 手淫法取精液, 精液标本置于 37 °C 恒温箱直至液化, 1 h 后仍不完全液化的标本, 反复缓慢地通过接有 18 号钝性针头吹打以降低精液的非均匀状态后进行精液参数分析。

1.3.2 精液常规分析 进行精液常规分析项目包括精液量、精子活动率、前向运动精子率。正常参考值: 精液量大于或等于 1.5 mL; 精子浓度大于或等于 15×10^6 ; 精子活动率大于或等于 39%; 前向运动精子率大于或等于 32%。

1.3.3 精子形态分析 取液化后的精液于载玻片上, 精子形态分析改良巴氏染色方法染色, 由两名实验室专业人员用 $\times 1000$ 油镜观察精子形态, 按《世界卫生组织人类精液检查与处理实验室手册(第 5 版)》要求, 重复观察至少 200 个精子。分别计算头部畸

形、颈和中段畸形、主段和尾部畸形及正常形态精子的百分率, 正常参考值: 正常形态精子百分率 $\geq 4\%$ 。

1.3.4 精子顶体精氨酸酰胺酶检测 取新鲜液化后的标本, 充分混匀后计数精子浓度 ($\times 10^6/\text{mL}$)。按每管 7.5×10^6 精子数, 计算出所需精液量 V mL(计算方法: $V = 7.5/M$)。每个实验均设一个对照管。取 1.5 mL Eppendorf 管, 测定管 T, 对照管 C, 根据试剂盒说明书操作, 使用 TECAN, 型号 F50 的酶标仪在波长 410 nm 处, 分别检测 T 管和 C 管的吸光度, 计算精子顶体精氨酸酰胺酶: $(T \text{ 管 } A \text{ 值} - C \text{ 管 } A \text{ 值}) \times 329 \text{ IU}/10^6$ 精子。正常参考值为正常生育男性精子顶体精氨酸酰胺酶活性 $> 36 \text{ IU}/10^6$ 精子。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行数据处理及统计分析, 检测数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 均值比较采用 U 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 顶体酶异常组与顶体酶正常组精液常规参数比较 431 例患者中顶体酶正常为 161 例, 异常为 270 例。顶体酶异常组与顶体酶正常组的精子浓度、活动率、前向运动率比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 1。

2.2 顶体酶正常组与顶体酶异常组精子形态的比较 顶体酶正常组与顶体酶异常组精子头部畸形百分率、颈和中段畸形百分率、主段和尾部畸形百分率比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 两组正常形态之间百分率比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 1 顶体酶异常组与顶体酶正常组精液常规参数比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	年龄(岁)	精液量(mL)	精子浓度($\times 10^6/\text{mL}$)	精子活动率(%)	前向运动精子百分率(%)
顶体酶正常组	161	32.21 ± 5.38	2.82 ± 1.07	79.04 ± 42.97	59.29 ± 11.92	48.38 ± 10.99
顶体酶异常组	270	32.75 ± 4.32	2.85 ± 1.22	61.73 ± 36.41	51.94 ± 15.71	40.76 ± 14.52
U		0.78	0.27	4.27	4.09	6.16
P		> 0.05	> 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05

表 2 顶体酶正常组与异常组精子形态的比较($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	n	头部畸形	颈和中段畸形	主段和尾部畸形	正常形态精子
顶体酶正常组	161	62.97 ± 12.25	37.08 ± 7.82	15.81 ± 8.49	5.18 ± 3.09
顶体酶异常组	270	68.35 ± 10.71	33.39 ± 6.78	15.19 ± 7.05	4.53 ± 3.06
U		4.62	4.97	0.78	2.14
P		< 0.05	< 0.05	< 0.05	> 0.05

3 讨 论

精子顶体是由精子细胞核附近的高尔基复合体所形成, 顶体内富含多糖及各种水解酶, 其中顶体酶最为重要, 它能增强精子的活动性, 促进精子的移动。哺乳动物精子在受精过程中, 除了头部发生形态学的

变化之外, 还包含着顶体酶的激活与释放^[8]。在受精的过程中, 发生顶体反应时, 顶体酶原释放, 不仅能水解蛋白, 还能与透明带结合, 并调节顶体内容物的释放, 为精卵结合提供条件^[9]。有研究表明顶体酶活性与精子浓度、精子活动率、a 级及 b 级活动力精子率之

间呈显著正相关,少弱精子症、死精子症患者的顶体酶活性明显降低^[10-11]。本文研究发现在精子顶体酶活性异常组的精子活动率和前向运动精子较顶体酶正常组明显减少。说明精子顶体酶活性与精子质量有关,这与其他研究报道一致^[12-13]。另有报道认为精子顶体酶活性比精子常规分析中浓度、活动力等指标更能反映精子能力^[14],本研究的数据支持这些观点。HAIDL等^[15]研究检测平均年龄32.2岁和50.3岁的两组男性,发现虽然两组之间的精子浓度和促卵泡激素水平有明显差异,但是反映精子质量的前向运动精子率、顶体酶活性、顶体功能及染色质完整性没有明显区别,因此推断中老年人的生育力下降主要因素为女方。本研究也发现顶体酶活性与年龄、精液量无关。但也有学者认为男性高龄和少精均对精子顶体酶活性的产生负面影响^[16-17]。

关于精子顶体酶活性与精子各参数之间的关系各研究报道结论不尽相同。本研究发现精子头部、颈部和中段畸形百分率升高的标本中其顶体酶活性降低。这可能与精子的畸形当中主要是头部畸形为主,而头部畸形中又存在顶体缺失,顶体过大或者过小,以及顶体中有空泡等现象。本研究认为这可能是畸形精子症不育的原因之一。黄永汉等^[18]通过分析268例不育症男性的精液参数发现形态正常的患者中其正常形态百分率及头部畸形百分率与顶体酶活性不存在相关性,而形态异常患者其顶体酶活性与正常形态精子率呈正相关,与头部畸形率呈负相关。说明顶体酶活性与精子畸形率有关。还有学者认为精子顶体酶活性与精子顶体部分是否完整有明显的关系,精子顶体形态异常往往合并如小头、纤细、不规则等其他精子头部形态的异常^[19]。刘锦宏等^[20]也认为精子畸形往往伴随顶体形态的不完整,而此类畸形可导致顶体酶活性降低,甚至缺失,并认为这是男性不育的原因之一。这些研究结论与本文的研究结果类似。

虽然顶体酶的作用受到越来越多专家学者的认可,并且从本文的研究中也可看出顶体酶活性是检测男性精液质量、评估男性不育的一项十分重要的生化指标,然而在临床应用中,并不能以顶体酶单一的生化指标来做出诊断,仍需与精液常规分析,精子形态等其他精液参数结合,以便更好地反映精子的功能,来诊断疾病,观察疗效。

参考文献

- [1] 郭继梅,吕玲,宫玉环.男性不育的病因及治疗新进展[J].医学综述,2013,19(22):4138-4141.
- [2] 袁平庆,张哲欢,罗琛,等.计算机辅助精液分析精子运动参数在体外受精中的应用[J].南方医科大学学报,2013,33(3):448-450.
- [3] 张丹,庞敏,肖雪晴,等.精液预洗后顶体酶活性测定的动态观察[J].新疆医学,2013,43(8):20-22.
- [4] 李扬海,任欣,孙园园,等.135例不育男性体内精液指标与顶体酶表达水平的研究[J].中国民族民间医药,2015,24(9):137.
- [5] 庄锡伟,黎志全,刘冰.精子顶体酶研究概况[J].广西中医药大学学报,2016,19(1):107-109.
- [6] SHARMA R, HOGG J, BROMHAM D R. Is spermatozoan acrosin a predictor of fertilization and embryo quality in the human? [J]. Fertil Steril, 1993, 60(5): 881-887.
- [7] HENKEL R, MULLER C, MISKA W, et al. Acrosin activity of human spermatozoa by means of a simple gelatinolytic technique: a method useful for IVF[J]. J Androl, 1995, 16(3): 272-277.
- [8] 倪佳,高晓勤.蛋白激酶A对精子顶体酶活性的影响[J].中国民康医学(上半月),2009,21(1):55-56.
- [9] 郭小桥,余波澜,周华,等.钙离子载体A23187诱发的精子顶体反应率、顶体酶总活性与精液参数及体外受精结局的关系研究[J/CD].中华临床医师杂志(电子版),2013,7(18):8226-8232.
- [10] 叶峻杰,马丽,杨丽娟.少弱精症患者精子顶体酶活性分析[J].中国计划生育学杂志,2012,20(9):623-625.
- [11] 李雪瑶,杨菁,李洁,等.男性年龄与精子顶体酶活性及精子DNA碎片指数的相关性分析[J].生殖医学杂志,2017,26(9):869-873.
- [12] 何静,吴鹰军,曹晓君.不育男性精液中的顶体酶活性分析[J].吉林医学,2013,34(12):2206-2207.
- [13] 毕少权,肖伟明,梁丽霞,等.精子顶体酶活性对男性不育的影响[J].中国药物经济学,2012,7(2):108-109.
- [14] 丁锦丽,杨菁,张怡,等.男性精子顶体酶活性与精液常规参数的相关性分析[J].中国性科学,2015,24(8):95-97.
- [15] HAIDL G, JUNG A, SCHILL W B. Ageing and sperm function[J]. Hum Reprod, 1996, 11(3): 558-560.
- [16] 邵晏如,莫和国,黄健云,等.男性不育患者精子形态与精浆锌和精子顶体酶活性关系的研究[J].国际检验医学杂志,2014,35(13):1708-1709.
- [17] 樊兴文,秦祖兴,黎靖宇,等.男性年龄少精与精子顶体酶活性的相关性分析[J].心理医生,2016,22(29):280-281.
- [18] 黄永汉,邓天勤,李颖端,等.精子形态与顶体酶活性关系分析[J].检验医学与临床,2009,6(9):677-678.
- [19] KRUGER T F, HAQUE D, ACOSTA A A, et al. Correlation between sperm morphology, acrosin, and fertilization in an IVF program[J]. Arch Androl, 1988, 20(3): 237-241.
- [20] 刘锦宏,李小珍.男性不育症患者精液质量与精子顶体酶活性关系分析[J].长治医学院学报,2013,27(2):125-127.

(收稿日期:2017-08-12 修回日期:2017-10-18)