

• 论 著 •

男性不育患者精浆中性粒细胞弹性蛋白酶浓度对精子质量的影响

何碧英, 彭 明

(广东省中山市中医院检验科 528400)

摘 要:目的 探讨男性不育患者精子的质量与精浆中性粒细胞弹性蛋白酶的相关性。方法 检测 130 例不育男性的中性粒细胞弹性蛋白酶浓度,根据精液中中性粒细胞弹性蛋白酶浓度将研究对象分为三组,大于 1 000 ng/mL 为 A 组,250~1 000 ng/mL 为 B 组,小于 250 ng/mL 为 C 组,对各组精浆中的精液基本参数和生化指标(酸性磷酸酶、枸橼酸、锌和果糖)进行测定。结果 (1)A、B、C 三组间,精液密度和精子活动率差异有统计学意义($P<0.05$),且中性粒细胞弹性蛋白酶浓度与精液密度($r=-0.43$)和精子活动率($r=-0.37$),精液体积及正常精子形态差异无统计学意义($P>0.05$);(2)A、B、C 三组间,酸性磷酸酶、枸橼酸和锌浓度差异有统计学意义($P<0.05$),且中性粒细胞弹性蛋白酶的浓度与磷酸酶($r=-0.19$)、枸橼酸($r=-0.17$)和锌($r=-0.23$)的浓度呈显著负相关,三组间果糖浓度差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 精液中中性粒细胞弹性蛋白酶的水平与精液密度、精子活动率及生化指标参数(酸性磷酸酶、枸橼酸和锌)呈显著负相关,提示精液中中性粒细胞弹性蛋白酶对精子的质量有负面的影响,进而影响男性的生育能力。

关键词:男性不育; 中性粒细胞; 弹性蛋白酶; 精液质量

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.13.022

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)13-1804-03

Influence of neutrophil elastase on sperm quality in male infertile patients

HE Biying, PENG Ming

(Department of Clinical Laboratory, Zhongshan Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhongshan, Guangdong 528400, China)

Abstract: **Objective** To explore the relationship between sperm quality and neutrophil elastase (NE) in male infertile patients. **Methods** the NE concentration was detected in 130 male infertile patients, the research subjects were classified into 3 groups based on the neutrophil elastase concentration: neutrophil elastase concentration more than 1 000 ng/mL (group A), 250–1 000 ng/mL (group B) less than 250 ng/mL (group C). Then sperm basic parameters and biochemical markers (phosphatase, citrate, zinc and fructose) were detected. **Results** (1) The sperm density and motility showed statistically significant differences among the group A, B and C ($P<0.05$) moreover neutrophil elastase concentration was negatively correlated with sperm density ($r=-0.43$) and sperm motility ($r=-0.37$). Sperm volume and morphology showed no statistically significant differences among three groups ($P>0.05$). (2) There were statistically significant differences in the levels of phosphatase, citrate and zinc among three groups ($P<0.05$), moreover the neutrophil elastase concentration had significantly negative correlation with the concentrations of phosphatase, citrate and zinc ($r=-0.19$, $r=-0.17$, $r=-0.23$), while the fructose concentration had no statistical difference among three groups ($P>0.05$). **Conclusion** The NE level in semen has significant reverse correlation with sperm density, sperm motility and biochemical markers (phosphatase, citrate and zinc), implying that semen NE has significantly negative effect on the sperm quality, thus affecting male fertility ability.

Key words: male infertility; neutrophil; elastase; sperm quality

中性粒细胞弹性蛋白酶属于锌离子和钙离子依赖性基质降解酶,其可降解细胞外基质中的所有蛋白,在中性粒细胞内,弹性蛋白酶的浓度很高,每 10 个细胞中含有中性粒细胞弹性蛋白酶的总量约为 $3\text{ }\mu\text{g}^{[1]}$ 。正常生理条件下,中性粒细胞弹性蛋白酶有益于有害病菌的清除及受损组织的再生愈合,然而其高度活化则会对组织器官造成损伤。现今发现,这类降解酶的活化与男性前列腺炎、生殖道的感染息息相关,精液中的中性粒细胞弹性蛋白酶可破坏精液中的有益成分,如免疫球蛋白结合因子、内酰胺氨基酸酶和膜联蛋白 I 等^[2-3]。本文旨在探讨男性不育患者精子的质量(常规参数及酸性磷酸酶、枸橼酸、果糖和锌等生化指标)与中性粒细胞弹性蛋白酶之间的关系,进而为中性粒细胞弹性蛋白酶如何影响男性不育提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 130 例男性不育患者均来自 2013 年 10 月至

2014 年 12 月本院泌尿男科,入选标准:(1)患者年龄在 23~50 岁,以降低年龄因素对研究因素的影响;(2)婚后性生活正常,但 1 年以上不育,性功能无障碍,附睾、睾丸、输精管等无异常,无家族性遗传病;(3)患者未接受过正规的相关治疗,以排除治疗因素对研究因素的影响。排除标准:(1)无精子症;(2)精液的体积小于 1.8 mL,无法进行相关精液的分析。

1.2 方法

1.2.1 精液标本的收集 禁欲 3~5 d 后手淫,在取精室收集精液于消毒杯内,标本置于 37℃ 恒温金属浴中完全液化后,操作严格按照世界卫生组织的标准。

1.2.2 精浆中性粒细胞弹性蛋白酶浓度检测 液化的精浆使用超滤柱(Ultrafree-0.5)除去蛋白质,采用精浆弹性蛋白酶定量检测试剂盒(上海胜隆实业有限公司)酶联免疫吸附试验(ELISA)测定中性粒细胞弹性蛋白酶的浓度,于 450 nm 波长下检测吸光度值^[4],具体操作按照试剂盒操作说明书。

1.2.3 分组 参照已有文献[1-5]及根据 130 例精浆标本中性粒细胞弹性蛋白酶浓度检测结果,将检测标本分成 3 组:>1 000 ng/mL 为 A 组,250~1 000 ng/mL 为 B 组,<250 ng/mL 为 C 组。各组之间具有可比性。

1.2.4 各组精浆基本参数及生化指标的测定 在 SFA-500 精液分析系统上进行精子密度、精子活动率和形态等参数的分析,根据世界卫生组织分析标准,精子密度大于或等于 $20\times 10^6/\text{mL}$,a、b 级精子活动率大于或等于 50%,正常形态精子大于或等于 15%为正常。采用精浆柠檬酸测定试剂盒、精浆果糖测定试剂盒和精浆锌定量检测试剂盒(深圳华康生物医学工程有限公司)测定精液中柠檬酸、果糖和锌的浓度,精浆酸性磷酸酶的测定采用精浆酸性磷酸酶检测试剂盒(南京欣迪生物医药工程有限责任公司),具体操作按照试剂盒操作说明书。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件进行处理,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,各组数据间的比较采用 Kruskal-Wallis 非参数检验,采用 Spearman 进行相关性分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 中性粒细胞弹性蛋白酶的浓度 A 组不育患者 49 例,弹性蛋白酶浓度($1\,900\pm 985$)ng/mL;B 组不育患者 40 例,弹性蛋白酶浓度(498 ± 146)ng/mL;C 组不育患者 41 例,弹性蛋白酶浓度(140 ± 95)ng/mL。

2.2 精液参数分析 3 组的精液体积进行比较,差异无统计学意义($P=0.308\,7$),即不育患者精液体积与弹性蛋白的浓度无相关。3 组的正常精子形态进行比较,差异无统计学意义($P=0.706\,3$)。3 组的精子密度进行比较,结果显示,精子密度与弹性蛋白浓度呈显著负相关($r=-0.43,P=0.003$)。3 组的精子活动率进行比较,结果表明,精子活动率与弹性蛋白浓度呈显著负相关($r=-0.37,P=0.02$),见表 1。

表 1 精液参数分析($\bar{x}\pm s$)

组别	精液体积 (mL)	精子密度 ($\times 10^6/\text{mL}$)	精子活动率 a+b(%)	正常精子形态 (%)
A 组	4.5 $\pm$ 0.4	23.0 $\pm$ 1.8	30 $\pm$ 5	28 $\pm$ 13
B 组	4.4 $\pm$ 0.5	31.0 $\pm$ 2.3	36 $\pm$ 11	26 $\pm$ 12
C 组	4.4 $\pm$ 0.3	40.6 $\pm$ 5.4	49 $\pm$ 12	29 $\pm$ 13

2.3 各组生化指标的测量结果 3 组的酸性磷酸酶的浓度比较,差异有统计学意义($P=0.005$),相关性的分析结果显示,中性粒细胞弹性蛋白酶的浓度与酸性磷酸酶的浓度呈负相关($r=-0.19$)。3 组的柠檬酸浓度比较,差异有统计学意义($P=0.023$),相关性的分析结果表明,中性粒细胞弹性蛋白酶的浓度与柠檬酸浓度呈负相关($r=-0.17$)。3 组锌浓度进行比较,差异有统计学意义($P=0.015$),相关性的分析结果显示,中性粒细胞弹性蛋白酶的浓度与锌浓度呈负相关($r=-0.23$)。3 组果糖浓度进行比较,差异无统计学意义($P=0.15$)。见表 2。

表 2 各组精液生化指标的浓度($\bar{x}\pm s$)

组别	酸性磷酸酶 (U/mL)	柠檬酸 ($\mu\text{mol/L}$)	锌 ($\mu\text{mol/L}$)	果糖 ($\mu\text{mol/L}$)
A 组	58.0 $\pm$ 18.5	57 $\pm$ 38	6.4 $\pm$ 3.0	64 $\pm$ 20
B 组	70.0 $\pm$ 32.0	69 $\pm$ 43	7.5 $\pm$ 5.8	63 $\pm$ 21
C 组	85.0 $\pm$ 36.0	79 $\pm$ 47	8.3 $\pm$ 3.9	57 $\pm$ 28

3 讨 论

在传统的男性不育诊断中,精液中精子的密度、能动性及其形态都作为预测男性生育能力的基本参数,但是其他症状或者隐形的因素也会对精浆中的成分造成影响,进而影响精子功能的发挥。中性粒细胞弹性蛋白酶来源于中性粒细胞,在正常生理条件下,中性粒细胞弹性蛋白酶对宿主起保护的作用,它与其蛋白酶抑制剂保持平衡的状态,在疾病状态下,蛋白酶抑制剂对中性粒细胞弹性蛋白酶的调节失控,使其高度活化,进而侵入其他组织和器官,造成损失或者引起功能的发挥障碍。关于中性粒细胞弹性蛋白酶对泌尿生殖系统的影响一直以来备受关注,尤其是在不育症的诊断方面[6-9]。酸性磷酸酶、柠檬酸、果糖和锌是精浆中的重要成分,酸性磷酸酶、柠檬酸和锌的水平能反映前列腺的分泌功能状态[10-12]。本研究结果表明,弹性蛋白酶显著影响精子的密度及精子的能动性,但对精液的体积及其形态无明显影响。中性粒细胞弹性蛋白酶与酸性磷酸酶、柠檬酸和锌的浓度呈显著的负相关,说明中性粒细胞弹性蛋白酶会引起前列腺部分分泌成分的变化,精浆作为一种介质把精子输送到女性生殖道内,为精子提供营养及能量,约有 30%的精浆为前列腺液,即前列腺分泌成分与精子的质量息息相关。现有的报道认为,精液中中性粒细胞弹性蛋白酶浓度的增加会引起不稳定的分子活性氧的产生,造成组织的氧化损伤[13-16]。本研究结果提示,中性粒细胞弹性蛋白酶浓度的增加会对前列腺组织器官造成不利影响,影响其分泌功能,进而影响精子质量。果糖由精囊分泌,是精子能量代谢的重要来源[17],约有 60%的精浆由精囊分泌。本研究结果显示,中性粒细胞弹性蛋白酶的浓度对果糖的浓度无明显影响,提示中性粒细胞弹性蛋白酶的浓度($140\sim 1\,900\text{ ng/mL}$)对精囊分泌的果糖无影响,但对精囊分泌的其他成分还有待进一步研究,即中性粒细胞弹性蛋白酶是否有可能通过影响精囊进而影响精子的质量仍需探讨。本研究结果显示,精液中中性粒细胞弹性蛋白酶的浓度与生化指标参数(酸性磷酸酶、柠檬酸和锌)、精子密度及精子能动性呈显著负相关,即中性弹性蛋白酶与精子的质量密切相关,对男性生育能力存在潜在的负面影响。

参考文献

[1] 冯瑞祥,卢坤刚,张红烨,等. 精液中中性粒细胞弹性蛋白酶的研究进展[J]. 中华男科学杂志,2011,17(11):1023-1028.

[2] 王宝龙,董治春,杨长海. III 型前列腺炎患者前列腺液中中性粒细胞弹性蛋白酶、枸橼酸和 pH 值水平分析[J]. 中华全科医师杂志,2013,12(12):970-973.

[3] 王宝龙,杨长海,李黎明. 前列腺液中中性粒细胞弹性蛋白酶测定在慢性前列腺炎诊断中的意义[J]. 中国男科学杂志,2008,22(8):28-30.

[4] 崔丹,杨春雨. 中性粒细胞弹性蛋白酶在子宫脱垂患者血清和阴道前壁中的表达[J]. 广东医学,2012,33(3):356-358.

[5] Henkel R, Maass G, Jung A, et al. Age-related changes in seminal polymorphonuclear elastase in men with asymptomatic inflammation of the genital tract[J]. Asian J Androl, 2007, 9(3):299-304.

[6] Lackner JE, Herwig R, Schmidbauer J, et al. Correlation of leukocytospermia with clinical infection and the positive effect of antiin ammatory treatment on semen quality[J]. Fertil Steril, 2006, 86(11):601-605.

(下转第 1808 页)