

男性不育症的检测及意义

彭 兰 综述, 万 芳, 邹志宝, 王 琳, 李晓波 审校(湖北省宜昌市兴山县人民医院检验科 443711)

【关键词】 不育; 实验检测; 男性

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2012. 04. 037 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)04-0452-02

男性不育症是人类生殖研究中心的重要课题, 据 WHO 资料显示, 不育症占育龄夫妇的 15%, 为探讨其病因, 本文就近年来在临检、生化、微生物、免疫学、内分泌学、细胞遗传学和分子生物学检验方面对男性不育症的研究结果以予介绍。

1 临床检测

1.1 选择精液涂片 Serebrovska 等^[1]选择精液涂片对生育组 37 例与不育组 67 例进行精子形态及生精细胞分析, 结果形态, 小头及锥形头子的百分率两组间差异均有统计学意义($P < 0.01$), 不育组生精细胞与精子比例, 精原细胞百分率及次级精母细胞百分率明显高于生育组, 证实可作为男性不育症疗效观察和判断预后的指标之一^[1]。

1.2 Sakamoto 等^[2]用精子尾部卷曲试验与低渗肿胀试验评估精子的活动功能, 结果生育组和不育组对照差异有统计学意义($P < 0.01$), 精子卷尾率与精子尾总肿胀率高度正相关($r = 0.912$), 精液中白细胞数大于 1.0×10^6 个/mL 可能引起不育, 不育组的白细胞精子症的精子总数、直线前向运动精子的百分率及总数、精子-宫颈黏液的体外穿透试验优良率、精子顶体酶活性均明显低于正常组, 精子畸形率高于正常组, 而精液量、精子密度、精子活率两组差异无统计学意义。

2 生化检测

某学者检测不育患者磷脂酶 A2(PLA2), 正常精浆 0~2.9 U/L, 不育组(51 例) 49% 精浆 PLA2 高于 2.9 U/L. Agarwal 等^[3]因精索静脉曲张(VC)所致不育症患者测氧自由基, 结果精索静脉血浆丙二醛(MDA)和红细胞 MDA 的含量明显高于对照组($P < 0.01$), VC 静脉血谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)和红细胞超氧化物歧化酶(SOD)活力低于对照组($P < 0.01$)。某研究对 365 例不育者精子顶体酶活性测定显示, 顶体酶与镜下精液白细胞数, 精子畸形率显著负相关, 而与精子活率、活力明显呈正相关。由精子精氨酸酶活性反映顶体酶的总活性显示: 顶体酶活性呈正偏态分布。实验组与对照组差异有统计学意义, 表明影响不育的指标均与顶体酶活性相关^[4]。有文献报道精子膜脂类过氧化反应与精子存活率有关, 在健康者和不育者差异有统计学意义($P < 0.01$)。测精浆蛋白水解酶活力: 生育组 1 420~2 870 U/L, 不育组 1 326~3 628 U/L, 液化异常或黏稠度增高的不育组 540~852 U/L。用 Singer 法测精子透明质酸酶(HYO)是判断精子生育力的重要指标。用动力学酶法测精浆酸性磷酸酶(ACP)、碱性磷酸酶(ALP), 男子生育力指数大于 1 的精液, 其 ACP、ALP 活性明显高于生育力指数小于 1 者, 提示在男性不育者作精液常规时, 应加测 ACP 和 ALP。用毛细管电泳仪可分离人精浆蛋白组份 20 余种, 对无精子精液精浆蛋白分析提供了新的诊断技术^[5]。

3 微生物检测

男性不育与生殖道解脲支原体(Uu)、沙眼衣原体(CT)和阴道滴虫感染有关, 而与需氧菌(葡萄球菌、大肠埃希菌)无关。某研究用免疫荧光法和分离培养对不育组 768 例和对照组

266 例检测 Uu 和 CT, 不育组和对照组 Uu 阳性率分别为 36.5% 和 14.28%, CT 阳性率分别为 28.64% 和 5.2% ($P < 0.01$)。用电镜观察 Uu 感染的患者精子, 可见部分精子的头、尾部有明显颗粒状物质吸附, 将抗 Uu 血清做免疫酶(PAP)染色, 81.81% 精子有 PAP 阳性的棕黄色 Uu 颗粒状吸附, 说明 Uu 可吸附于精子表面, 使精子的运动负荷增加, 导致部分男性不育。用 PCR 法测精液中巨细胞病毒, 不育组阳性率 30%。

4 免疫学检测

有文献报道用 ELISA 法检测不育组 72 例和对照组 20 例的精浆白介素 8(IL-8), 结果 18 例不育组中白细胞精子症组明显高于对照组($P < 0.01$), 非白细胞精子组中白细胞数与精浆 IL-8 呈正相关($r = 0.883$, $P < 0.01$)且治疗前后精浆 IL-8 浓度有明显差别, 并与白细胞数同步下降。IL-8 是反映生殖系统感染, 诊断及疗效判定的良好指标^[6]。用 ELISA 法对 72 例不育者精浆中尿激酶, 精浆参数生育组 30 例, 尿激酶值 $(4\ 600 \pm 1\ 900)$ U/mL, 精液液化不良组 20 例, 值 $(2\ 720 \pm 1\ 331)$ U/mL, 精子活率低下组 22 例, 值 $(2\ 447 \pm 933)$ U/mL ($P < 0.01$), 精浆中尿激酶含量变化可影响精子的活力和精液的液化。ELIAS 法测血清抗精子抗体(AsAb)阳性率 12.90% ($n = 31$) 并与人类白细胞抗原(HLA)相关^[7]。精液中存在抗精子抗体影响精子活力与精子畸形率。AsAb 阳性精浆 C3d 及 C3d/C 的结果均较生育组显著增高, AsAb 与精子膜固有成分结合能导致补体的活化, 使 C3 裂解加速, 进而导致精子结合功能受损。有文献报道对 576 例不育者测精浆免疫抑制物质(SPLM) < 360 U/mL 达 40%, AsAb 阳性率 18%, SPIM 与 AsAb 间无明显关系, 但 SPLM 活性降低和 AsAb 存在是免疫性不育的主要因素。ELISA 法测抗心磷脂抗体(ACA)的 IgG、IgM 33 例, 不育组 IgG-ACA 和 IgM-ACA 显著高于对照组, ACA 与不育症有关^[8]。

5 内分泌学检测

刘睿智等^[9]测定不育男性血清与精浆 5 种生殖激素, 结果显示这 5 种激素在血清与精浆中含量变化不一致, 精浆间质细胞(ICSH), 泌乳素分别与精子活力、密度呈正相关, 血清 IC-SH、滤泡刺激素分别与精子活力、密度及血清睾酮负相关。采用比色法和原子吸收光谱法测定甲亢者精浆内中性 α -葡萄糖苷酶值 (18.88 ± 17.31) U/mL, 果糖 (10.52 ± 5.33) μ mol/mL, 锌 (155.80 ± 88.71) μ g/mL, 均低于正常值, 甲亢会影响附睾、精囊腺及微量元素的代谢。

6 细胞遗传学检测

岳林^[10]采用酶细胞化学技术观察精子尾部 4 种酶(SDH、LDH、ATP、ACP)活性, 自发性精子活力低下者前 3 种酶活性下降且与生育组差异有统计学意义, ACP 虽有下降但差异无统计学意义, 此方法可作原因不明显男性不育诊断的补充。有研究报道, 制备外周血染色体标本, 对 1 074 例男性不育者 G

显带分析中期分裂相 25 个,嵌合型加倍分析,染色体异常者 113 例(10.52%),其中性染色体异常 98 例(9.12%),以克氏征(Klinefelter's 综合征)最多(82 例),常染色体异常 16 例(1.49%),单纯 47,XY74 例,嵌合型 46,XY/47,XY5 例,47,XY/48,XY1 例,47,XY/46,XY15P2 例,46,X 男性综合征 4 例。在 536 例原发不育男性中查出染色体异常 102 例(19.03%),其中 47XXY 有 92 例,46,XX 男性 5 例,无精症染色体异常率为 18.68%。在 73 例中发现 23 例染色体核型异常(31.50%),其中性染色体异常 19 例(82.66%),无精子、少精子者染色体异常 20 例(87%)。男性不育染色体异常,涉及性染色体和常染色体,在无(少)精子者中应进行染色体检查。YRRM 基因的表达在男性不育者精子生成中起重要作用。

7 分子生物学检测

细胞内 DNA 结构和功能的改变如雄性激素受体基因、CyclinA 基因的变化等都会对配子的形成、精子的活力产生影响。夏薇等[11]用 PCR 法对 340 例男性不育者进行 YRRM 缺损情况筛查,有 7 例该基因缺损(2%),均表现出无精或少精。孙圆景等[12]对 30 例少精不育者精液的雄性激素受体(AR)基因 8 个外显子(A、B、C、D、E、F、G、H)分别进行扩增分析,外显子 A 即基因转录激活区发生点突变 3 例,插入突变 4 例,突变率为 23.3%,外显子 H 发生缺失突变 1 例(3.3%)。外显子 G 发生点突变 1 例(3.3%),总突变率为 30.3%,说明雄性激素受体基因外显子 A 即基因转录激活区的突变是造成少精不育的重要原因。对 45 例少精不育症用印迹分析(RFLP)筛选与少精不育相关的新分子标记,用 PAPD(DNA)技术收集其 DNA 指纹片段,发现其含“AAT”和“GCG”密码子重复的中度重复顺序,说明具有 RFLP 现象的中度重复顺序是与精子发生相关的某一基因的表达调控部分,因其易在基因组中发生变异从而影响到精子的发生。

综上所述,精液检验项目是检查男性不育症原因及疗效观察的主要手段,也用于辅助诊断男性一些生殖系统疾病。

参考文献

[1] Serebrovska ZA, Serebrovska TV, Pyle RL, et al. Transmission of male infertility and intracytoplasmic sperm in-

jection [J]. Fiziol Zh, 2006, 52(3): 110-118.

[2] Sakamoto H, Saito K, Schichizyo T. Color doppler ultrasonography as a routine clinical examination in male infertility [J]. Int J Urol, 2006, 13(8): 1073-1078.

[3] Agarwal A, Prabakaran S, Allamaneni SS. Relationship between oxidative stress, varicocele and infertility: a meta-analysis [J]. Reprod Biomed Online, 2006, 12(5): 630-633.

[4] Mostafa T, Anis TH, Ghazi S, et al. Reactive oxygen species and antioxidant relationship in the internal spermatic vein blood of infertile men with varicocele [J]. Asian J Androl, 2006, 8(4): 451-454.

[5] Ku JH, Shim HB, Kim SW, et al. The role of apoptosis in the pathogenesis of varicocele [J]. BJU Int, 2005, 96(7): 1092-1096.

[6] 张洁, 谢群, 邱曙东. 男性不育相关基因的研究进展 [J]. 国外医学: 计划生育/生殖健康分册, 2006, 25(4): 221-224.

[7] 霍山, 谢群, 方小武, 等. 男性不育患者精液中白细胞与精子形态学参数变化 [J]. 中国综合临床, 2008, 20(6): 538-539.

[8] 宋影, 刘雨生, 周桂香, 等. 精液常规联合改良巴氏染色检查在辅助生殖技术中的应用 [J]. 临床输血与检验, 2006, 8(3): 181-187.

[9] 刘睿智, 辛暨丽, 沙艳伟, 等. 解脲支原体感染对精液黏度和液化时间的影响 [J]. 中国实验诊断学, 2003, 7(6): 499-500.

[10] 岳林. 精液中白细胞含量与男性不育的相关性研究 [J]. 中国现代医学杂志, 2006, 16(1): 102-103.

[11] 夏薇, 苏宁, 王维. 精液黏度与精液分析参数及男性不育的关系 [J]. 中国当代医药, 2009, 16(15): 46-47.

[12] 孙圆景, 孟昭和. 116 例男性不育患者精液一般检验结果分析 [J]. 上海医学检验杂志, 2002, 17(1): 51-52.

(收稿日期: 2011-08-23)

化学发光免疫分析技术及在临床检验中的应用

施丽娟 综述, 张建明 审校(云南省昆明市金域医学检验所 650214)

【关键词】 化学发光免疫分析技术; 临床检验; 应用

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.04.038 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)04-0454-03

化学发光免疫分析技术(CLIA)是 20 世纪 80 年代发展起来的,是继发射免疫、酶免疫、荧光免疫测定以后的新一代标记免疫技术。因其具有简便易行、标记物制备非常容易、稳定性高、标本用量少、便于实现完全自动化和不污染环境等优点,特别是能在较短的时间内得到实验结果,因此深受检验医学工作者和临床医师的好评。

1 CLIA 的原理

1.1 化学发光免疫分析的原理 CLIA 是用化学发光剂直接标记的抗原或抗体与待测标本中相应抗体或抗原、磁颗粒性的抗原或抗体反应,通过磁场把结合状态(B)和游离状态(F)的

化学发光剂标记物分离开来,然后在结合状态(B)部分中加入发光促进剂进行发光反应,通过对结合状态(B)发光强度的检测进行定量或定性检测。

采用化学发光技术和磁性微粒子分离技术相结合,用最新的免疫发光技术可使检测灵敏度达到 10~15 g/mL 的全自动化学发光免疫分析仪,应用最流行的微软视窗编写使用界面,将操作手册浓缩于电脑盘内。分析速率可达每小时 180 个测试,并可同时完成不同的 13 个项目。利用两点定标校对出厂曲线,不需全线定标,可减少试剂消耗,利用条码标签直接读取载物盘内分析内容。该分析系统具有操作简单、快速、结果准