

· 临床探讨 ·

VEGF 及其受体 KDR 在男性不育患者精液中的表达及意义

汪 锐, 田 静, 林 成, 汪 伟, 陈 莹, 侯永昊

(安徽省铜陵市中医医院检验科 244000)

摘要:目的 检测男性不育患者精液中血管内皮生长因子(VEGF)及其受体 2(KDR)表达情况,探讨其在男性不育症发病中的作用与意义。方法 将 71 例男性不育患者分为无精症组(精子浓度为 0),少精症组(精子浓度 $<15 \times 10^6$ /mL),正常浓度组(精子浓度在 $15 \times 10^6 \sim 213 \times 10^6$ /mL),浓度过高者(精子浓度 $>213 \times 10^6$ /mL),健康对照组。在完成男性不育患者精液计算机辅助分析后收集精液标本,置于 -80°C 冰箱低温保存,集中检测 VEGF 和 KDR。结果 男性不育患者精液中 VEGF 与受体 KDR 相关系数为 0.318,回归方程为 $Y=4.20+0.011X$,相关具有显著性($t=2.789, P<0.05$);少精子症组 VEGF 为 $(108.19 \pm 49.35)\text{ng/L}$ 低于其他 3 个病例组和对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$);精子浓度过高组 VEGF 为 $(194.20 \pm 43.52)\text{ng/L}$ 低于浓度正常组 $(244.16 \pm 31.44)\text{ng/L}$ 、对照组 $(255.37 \pm 49.30)\text{ng/L}$,差异有统计学意义($t=3.680, 3.019, P<0.05$);精子浓度过高组 KDR 为 $(4.94 \pm 1.95)\text{ng/mL}$ 低于无精子症组 $(7.71 \pm 1.95)\text{ng/mL}$,差异有统计学意义($P<0.05$);按照精子前向运动率(PR)分组,男性不育患者 4 组 VEGF、KDR 与对照组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 睾丸局部血管内皮生长因子及其受体表达与精子发生有关。

关键词:男性不育; 血管内皮生长因子; 血管内皮生长因子受体 2; 精子发生

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2017.18.056 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2017)18-2794-03

人类精子发生是一个复杂的过程,主要受下丘脑-垂体-睾丸性腺轴调控,另外也受到睾丸局部细胞因子和微小 RNA(MiRNAs)等因素影响^[1-2]。马莉等^[3]对精索静脉曲张大鼠研究证实:血管内皮生长因子(VEGF)可表达于大鼠睾丸生精细胞、精子细胞发育中的顶体、sertoli 细胞和 leydig 细胞胞质中,通过受体介导的方式发挥着作用,影响着精子发生、发育和成熟过程。但是关于 VEGF 在人类精子发生中研究较少,本文拟通过测定精液中 VEGF 及其受体 2——胎儿肝激酶插入区受体(KDR)水平,探讨两者在男性不育症发病中的作用和意义,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 来自本院泌尿外科门诊男性不育患者 71 例,年龄 22~43 岁,不育时间 1~14 年,就诊时间为 2016 年 2—10 月,排除精液部分丢失、白细胞精液症、尿路感染和生殖泌尿系统肿瘤患者。按照《全国临床检验操作规程(第 4 版)》^[4]和《世界卫生组织人类精液检查与处理实验室手册(第 5 版)》^[5]标准,将 71 例男性不育患者分为无精症 13 例(精子浓度为 0),少精症 16 例(精子浓度 $<15 \times 10^6$ /mL),正常浓度者 30 例(精子浓度在 $15 \times 10^6 \sim 213 \times 10^6$ /mL),浓度过高者 12 例(精子浓度 $>213 \times 10^6$ /mL)。设健康对照组 20 例(均来自医院产科门诊、自然受孕的孕妇丈夫)。

1.2 试剂与仪器 用于精液 VEGF 和 KDR 检测的试剂盒(双抗体夹心酶联免疫法)购自南京建成生物公司;精液白细胞过氧化酶正甲苯胺染色试剂盒购自深圳市华康试剂公司;洗板机、酶标仪均由深圳市汇松公司生产,精子质量分析系统由江苏省捷达公司生产。

1.3 方法

1.3.1 精液采集 要求禁欲 3 d,嘱患者以手淫法采集精液,将全部精液采集于专用容器内,采集后 1 h 内保温送检。

1.3.2 精液分析 实验室收到标本后,立即置于 37°C 恒温水浴箱中,定时观察精液液化状态,记录液化时间、精液量、pH

值;混匀全份精液后,取 $10\ \mu\text{L}$ 精液置于计算机辅助精子质量分析系统计数盘中进行精子质量分析,检测参数包括精液量、精子浓度、总活动率、前向运动率。采用白细胞过氧化酶正甲苯胺染色排除白细胞精液症患者,完成精液分析后收集 $1\ \text{mL}$ 精液置于 -80°C 低温冰箱保存,以便集中检测 KDR 和 VEGF。

1.3.3 KDR 和 VEGF 测定 KDR 测定使用混匀后精液 $40\ \mu\text{L}$,而 VEGF 测定使用离心后精浆 $40\ \mu\text{L}$,操作参照试剂盒说明书进行。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 19.0 统计软件进行分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间多重比较采用单因素 ANOVA 方差分析,两组资料的相关性分析采用 Pearson 分析,用相关系数(r)表示,检验水准为 $\alpha=0.05$,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 男性不育患者精液中 VEGF 与受体 KDR 的相关回归分析 男性不育患者精液中 VEGF 与受体 KDR 含量的相关分析,相关系数 $r=0.318$,回归方程为 $Y=4.20+0.011X$,差异有统计学意义($t=2.789, P=0.007$)。

2.2 男性不育患者精子浓度与精液中 VEGF、KDR 水平的关系分析 少精子症组 VEGF 浓度为 $(108.19 \pm 49.35)\text{ng/L}$ 低于其他 3 个病例组和对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$);精子浓度过高组 VEGF 浓度为 $(194.20 \pm 43.52)\text{ng/L}$ 低于浓度正常组 $[(244.16 \pm 31.44)\text{ng/L}]$ 、对照组 $[(255.37 \pm 49.30)\text{ng/L}]$,差异有统计学意义($t=3.680, 3.01, P<0.05$);精子浓度过高组 KDR 为 $(4.94 \pm 1.95)\text{ng/mL}$ 低于无精子症组 $[(7.71 \pm 1.95)\text{ng/mL}]$,差异有统计学意义($P<0.05$),其他两组间比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

2.3 不育患者精子前向运动率(PR)与精液中 VEGF、KDR 浓度的关系分析 按照男性不育患者精子前向运动率 PR 分为 4 组,比较 4 组间 VEGF 和 KDR 浓度。其中男性不育患者 4 组 VEGF 与对照组比较,差异无统计学意义($F=0.980, P>$

0.05); 男性不育患者 4 组 KDR 与对照组比较, 差异无统计学意义 ($F=1.237, P>0.05$), 见表 2。

表 1 男性不育患者精子浓度与精液中 VEGF、KDR 浓度的关系分析 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	VEGF (ng/L)	KDR(ng/mL)
无精子症组	13	215.58±57.48	7.71±1.95
少精子症组	16	108.19±49.35	6.07±1.75
浓度正常组	30	244.16±31.44	6.74±2.10
精子浓度过高组	12	194.20±43.52	4.94±1.95
对照组	20	255.37±49.30	6.65±1.54
F		17.924	2.369
P		0.000	0.061

表 2 不同精子前向运动率 (PR) 组的精液中 VEGF、KDR 浓度比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	VEGF(ng/L)	KDR(ng/mL)
PR<25%	10	241.87±45.80	7.91±3.26
25%≤PR<32%	12	227.62±42.47	5.91±2.07
32%≤PR<40%	18	241.02±35.03	5.98±2.15
PR≥40%	15	228.26±41.16	6.14±1.63
对照组	20	255.37±49.30	6.65±1.54
F		0.980	1.237
P		0.427	0.307

3 讨论

精子发生是指从精原细胞开始经历了一系列分化发育阶段发展成为精子的过程, 包括 4 个连续阶段: (1) 精原干细胞的再生与增殖; (2) 精原细胞的分化; (3) 精母细胞的发育; (4) 精子生成。性成熟期睾丸的曲细精管内有多种形态的生精细胞, 如精原细胞、初级和次级精母细胞、精子细胞和精子, 以及支持细胞 sertoli, sertoli 细胞对各级生精细胞起着支持和营养作用, 为生精细胞的分化发育提供适宜的微环境, 并且贯穿整个生精上皮层; 生精小管之间睾丸间质细胞又称 leydig 细胞, leydig 细胞主要合成雄激素有睾酮、脱氢异雄酮和双氢睾酮等, 它们在促进精子发生、促进第二性征等方面具有重要作用^[6]。

影响精子发生的因素除了有 Y 染色体核基因控制、下丘脑-垂体-睾丸性腺轴调控外, 近年来国内外有研究发现: 睾丸局部细胞因子也起着重要作用^[7]。其中 VEGF 及其 VEGFR2 受到较多的关注, VEGF 又名血管通透因子, 能够高度特异性作用于血管内皮细胞, 是强效的血管发生诱导物, 以受体介导的方式发挥其生物学作用^[8]; 血管内皮生长因子受体 2 (VEGFR2) 又称为 KDR, VEGF 及 KDR 不仅在内皮细胞上有表达, 在非内皮细胞上也有表达^[8]。本研究显示: VEGF 与 KDR 相关系数 $r=0.318$, 回归方程为 $Y=4.20+0.011X$, 差异有统计学意义 ($P>0.05$)。

马莉等^[3]研究发现, VEGF 在大鼠生精上皮中精原细胞胞质、精子细胞发育中的顶体、残余体和 sertoli 细胞胞质有较强表达, 提示 VEGF 参与精子发生、发育和成熟过程; 尤其

VEGF 与 KDR 在 sertoli 细胞和 leydig 细胞上的同时表达说明, 他们可能直接与自身受体结合促进 leydig 间质细胞合成和分泌睾酮, 维持并促进精子的发生^[9]。本研究结果显示, 少精子症组和精子浓度过高组的 VEGF 浓度均低于浓度正常组和对照组, 且少精子症组 VEGF 低于浓度过高组, 这表明 VEGF 与精子发生存在相关性, 且 VEGF 在调节精子发生中起着重要作用, 与 Lu 等^[10] 研究结果相同。

马莉等^[3] 研究还发现, VEGF 在附睾尾部表达最强, KDR 在附睾尾部表达最强, 认为附睾上皮主细胞分泌大量 VEGF 蛋白可通过与自身胞质中的 KDR 作用, 调节自身吸收和分泌功能, 参与精子睾丸后成熟, 影响着精子运动能力和受精能力^[11]。本文采用按照精子前向运动率对不育患者进行分组, 各组间 VEGF 和 KDR 比较, 差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。但 Lyibozkurt 等^[12] 通过体外试验发现: 当 VEGF 浓度为 15 ng/mL 时, 精子前向运动率和运动速度等均有明显增加, 这说明 VEGF 浓度与精子运动能力间存在相关性。与本研究结果不同, 可能是由于本研究病例数较少或其他原因导致结果不同。

综上所述, 睾丸、附睾局部 VEGF 及其受体 KDR 在生精上皮细胞、sertoli 细胞和 leydig 细胞等细胞上的表达影响着精子发生, 与男性不育症存在相关性。

参考文献

- [1] 朱倩, 崔毓桂. 精子发生的调节机制及其进展[J]. 生殖医学杂志, 2016, 25(4): 378-383.
- [2] 顾磊, 金保方, 张新东. 睾丸微循环结构及功能调控的研究进展[J]. 微循环学杂志, 2014, 24(8): 65-67.
- [3] 马莉, 艾庆燕. VEGF、KDR 在精索静脉曲张大鼠睾丸中的表达意义[J]. 生命科学仪器, 2016, 14(6): 50-52.
- [4] 尚红, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 191.
- [5] 世界卫生组织. 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: 193.
- [6] 黄宇烽, 许瑞吉. 男科诊断学[M]. 上海: 第二军医大学出版社, 1999: 10.
- [7] 孙大林, 金保方. 从血管内皮生长因子在生精中的作用浅析中医“精血同源”理论[J]. 中国中西医结合杂志, 2016, 36(10): 1261-1264.
- [8] 任卫华, 全甲钊. 血管内皮生长因子及其受体系统与肿瘤生长相关性的研究进展[J]. 肿瘤学杂志, 2015, 21(7): 611-614.
- [9] 钱英超, 隋洪. 吸烟对男性精液质量的影响分析[J]. 检验医学与临床, 2015, 12(20): 3095-3097.
- [10] Lu NX, Kevin MS, Debra TC, et al. Loss of vascular endothelial growth factor A(VEGFA) is forms in the testes of male mice causes subfertility, reduces sperm numbers, and alters expression of genes that regulate undifferentiated spermatogonia[J]. Endocrinology, 2013, 154(12): 4790-4802.
- [11] 曹珂, 刘会彩. 精子形态与男性不育关系的研究[J]. 检验医学与临床, 2015, 12(11): 1570-1574.
- [12] Lyibozkurt AC, Balcik P, Bulguruoglu S, et al. Effect of

vascular endothelial growth factor on sperm motility and survival[J]. *Reprod Biomed Online*, 2009, 19 (6): 784-788.

(收稿日期:2017-05-25 修回日期:2017-07-05)

• 临床探讨 •

青中年与老年急性眩晕发作病因分布与治疗分析

毕闻远¹, 王寒松¹, 程玉婷¹, 姜斌贤¹, 赵星海¹, 任冬梅²

(1. 江苏省昆山市中医医院急诊科 215300; 2. 复旦大学附属眼耳鼻喉科医院, 上海 200000)

摘要:目的 分析青中年和老年急性眩晕发作的病因分布及治疗转归。方法 收集急性眩晕发作患者 208 例, 包括青中年组 98 例和老年组 110 例。采集病史并完成体查后, 患者行急诊头颅 CT 检查。排除出血且未进行溶栓治疗者, 均予血小板、调脂、扩血管、改善循环、解除血管痉挛、抗眩晕等治疗, 并在 7 d 内完成相应检查以明确诊断。结果 两组眩晕患者病因构成差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。青中年组以周围性眩晕最常见 (48.0%), 老年组以中枢性眩晕最常见 (59.1%)。但青中年组中, 中枢性眩晕亦仍占较大比例 (27.6%)。排除出血且未进行溶栓治疗者 (青中年组 95 例, 老年组 105 例) 中, 治疗 7 d 内多数患者症状均获得完全缓解, 两组间缓解率差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 两组均无患者出现出血并发症。结论 青中年与老年急性眩晕病因分布虽存在一定差异, 但青中年中枢性眩晕, 尤其血管源性眩晕患者亦较多。考虑抗血小板等治疗方案较为安全, 为避免延误治疗时机, 对无法完全排除缺血性脑血管病的患者建议早期按照缺血性脑卒中治疗。

关键词:急性眩晕; 青中年; 中枢性眩晕; 周围性眩晕; 缺血性脑血管病

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2017.18.057 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2017)18-2796-03

急性眩晕发作是急诊科常见病症之一, 眩晕的病因多样, 相关疾病涉及神经内科、耳鼻喉科、骨科、精神科、眼科及其他科室等, 十分复杂。相关研究结果提示, 青中年眩晕多为周围性或精神性疾病, 而老年患者则以中枢性疾病多见^[1]。但随着生活水平的不断提高, 脑卒中在青中年中发病率逐渐升高, 且以缺血性卒中多见, 部分患者亦表现以急性眩晕发作起病, 早期治疗对患者预后意义重大^[2-3]。本研究通过收集急性眩晕发作患者, 按年龄进行分组, 分析青中年与老年患者病因的分布, 以及按照缺血性脑卒中方案治疗的治疗转归。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集于 2013 年 10 月至 2016 年 10 月收治的急性眩晕发作 (起病 ≤ 3 d) 来本院急诊的患者共 208 例。纳入标准: (1) 年龄 ≥ 18 岁; (2) 外界环境或自身的旋转感, 静止或运动时的自身不稳感; 空间定位异常, 如视物倾斜感或运动时的视物模糊感; 运动诱发的头昏胀或头脑不清晰或头部不适感^[4]。排除标准: (1) 非平衡障碍或非运动诱发的头昏胀及头部不适; (2) 不能配合完成研究者。根据年龄分为青中年组 (< 60 岁) 和老年组 (≥ 60 岁)。青中年组共 98 例, 男 44 例, 女 54 例, 平均年龄 (52.41 \pm 13.65) 岁; 老年组共 110 例, 男 55 例, 女 55 例, 平均年龄 (71.43 \pm 10.90) 岁。两组性别分布差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

1.2 方法 采集患者详细病史 (眩晕发作的特点、伴随症状、诊疗经过等), 并完成体查后, 予行急诊头颅 CT 检查, 明确是否存在颅内出血后拟定初步治疗方案。可排除颅内出血者则予抗血小板、调脂、扩血管、改善颅内和前庭血循环、解除血管痉挛、抗眩晕及其他对症治疗, 部分已明确脑梗死诊断者予溶栓治疗; 无法排除出血者则暂不予抗血小板药物。同时记录患者 7 d 内眩晕再发情况, 出血并发症的出现。根据患者病情, 选择性行头颅 MRI+MRA、头颈部 CTA、颈椎影像学、前庭功能检查、纯音听阈检查、听觉干诱发电位、耳 CT、心/脑电图、心脏彩超等检查以明确诊断。

1.3 诊断及归类 疾病诊断均由相关专科医师会诊, 并参照相关标准予明确诊断。所有患者经诊断后, 予归类为中枢性眩

晕、周围性眩晕、颈性眩晕、精神性眩晕、其他原因。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行分析, 计数资料均用率表示, 组间比较采用 χ^2 检验, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用独立 t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 病因分布 将患者病因归类为中枢性、周围性、颈性、精神性和其他原因眩晕, 经对比, 两组患者的急性眩晕发作病因差异有统计学意义 ($\chi^2 = 21.678, P < 0.05$)。其中, 青中年组以周围性眩晕最常见 (48.0%), 老年组以中枢性眩晕最常见 (59.1%)。青中年组中, 中枢性眩晕亦仍占较大比例 (27.6%), 而在中枢性眩晕中, 两组均以血管源性眩晕最为常见。青中年组和老年组血管源性眩晕患者分别为 18 例 (18.4%) 和 57 例 (51.8%), 其中出血性血管病患者分别为 1 例 (5.6%) 和 2 例 (4.4%), 缺血性患者分别为 17 例 (17.3%) 和 55 例 (50.0%)。见表 1。

表 1 青中年与老年急性眩晕发作病因分布 [n(%)]

病因	青中年组	老年组
中枢性眩晕	27(27.6)	65(59.1)
血管源性	18(18.4)	57(51.8)
肿瘤或占位	3(3.1)	6(5.5)
炎症性	3(3.1)	2(1.8)
偏头痛性	2(2.0)	0(0.0)
多发性硬化	1(1.0)	0(0.0)
周围性眩晕	47(48.0)	28(25.5)
良性发作性位置性眩晕	28(28.6)	20(18.2)
梅尼埃病	4(4.1)	4(3.6)
前庭神经炎	10(10.2)	1(0.9)
突发性耳聋	3(3.1)	3(2.7)
迷路炎	2(2.0)	0(0.0)