

精液乳酸脱氢酶同工酶 X 在精索静脉曲张男性不育患者中的意义

李颖嫦, 罗小娟(广东省佛山市第一人民医院检验科 528000)

【摘要】 目的 测定精索静脉曲张患者精子乳酸脱氢酶同工酶 X(LDH-X)的含量,探讨其在男性不育的应用价值。方法 采用速率法检测男性不育组和生育组精浆、精子中的 LDH-X 活性并计算其比值;按照《WHO 人类精液实验室手册》要求对精液进行常规分析。结果 95 例精索静脉曲张不育组精浆 LDH-X 活性(926.3 ± 58.3)U/L 与 60 例生育组 LDH-X 活性(682.0 ± 43.5)U/L 比较差异有统计学意义($P < 0.01$),不育组精子 LDH-X 的活性(6.90 ± 3.82)mU/ 10^6 则小于生育组(21.1 ± 9.2)mU/ 10^6 ($P < 0.01$),差异具有统计学意义。不育组、生育组精浆/全精子中 LDH-X 的比值比较差异具有统计学意义($P < 0.05$)。而两组的精液密度、活动率及精子活力差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 精浆及精子 LDH-X 活性、比值能够反映精子的质量、生育功能以及对选择治疗方案和诊断不明原因的不育有一定指导意义。

【关键词】 精液乳酸脱氢酶同工酶 X; 精索静脉曲张; 不育; 精子

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.05.006 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2013)05-0524-02

Significance of lactate dehydrogenase isoenzyme activity of seminal plasma and spermatozoa in varicocele-associated male infertility LI Ying-chang, LUO Xiao-juan (Department of Medical Laboratory, Foshan First People's Hospital, Foshan, Guangdong 528000, China)

【Abstract】 Objective To detect the lactate dehydrogenase isoenzyme(LDH-X) content of seminal plasma and spermatozoa in the varicocele patients and to investigate its clinical application value in varicocele-associated male infertility. **Methods** The LDH-X activity of seminal plasma and spermatozoa obtained from 95 varicocele-associated infertile men and 60 fertile men was tested by utilizing velocimetry. Semen major parameters were measured and analyzed according to WHO laboratory handbook. **Results** The activity of seminal plasma LDH-X(926.3 ± 58.3)U/L in the infertile group(95 cases) was higher than(682.0 ± 43.5)U/L of the fertile group(60 cases) ($P < 0.01$). The activity of spermatozoon LDH-X(6.90 ± 3.82)mU/ 10^6 in the infertile group was lower than(21.1 ± 9.2)mU/ 10^6 of the fertile group with statistical difference ($P < 0.01$). The ratios of seminal plasma LDH-X and total spermatozoon LDH-X in two groups were significantly different ($P < 0.05$). There was no statistical difference in sperm density, motility and livability between two groups ($P > 0.05$). **Conclusion** The LDH-X activity might be used as a reliable marker to determine the sperm quality and reproductive function. It would be helpful for selecting ideal treatment and diagnosing the unexplained infertility in male sterility patients.

【Key words】 dehydrogenase isoenzyme; varicocele; infertility; spermatozoon

精索静脉曲张被认为是男性不育最常见的原因,综合国内外研究来看,对于精索静脉曲张引起不育的机制尚不完全清楚,对男性不育的影响程度也存在着一定的争议^[1],因此探讨精索静脉曲张致男性不育的机制具有重要意义。由于乳酸脱氢酶同工酶 X(LDH-X)对睾丸组织及精子细胞具有特异性,测定精子 LDH-X 活性,把 LDH-X 活性作为评价人精子正常与否以及受精能力好坏的客观指标^[2]。本文通过测定精液 LDH-X 含量和比值,并与生育组进行比较,探讨其在精索静脉曲张中的发病机制及与不育的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2010 年 4 月至 2011 年 10 月在本院泌尿外科确诊的精索静脉曲张的男性不育症患者 95 例,年龄 23~40 岁,平均 28.2 岁,不育 2 年以上,性生活正常,排除女方因素导致的不育症。精液常规分析提示在参考值范围内,无免疫性不育,精子畸形率和顶体酶反应均无异常,排除影响精液质量的其他因素。男科体检均未发现睾丸、附睾及输精管异常。健康男性(生育组)60 例,均有生育史,且不超过 2 年,平均年龄 27.1 岁。

1.2 精液常规分析及处理 精液标本在禁欲 3~6 d 后通过手淫收取,并完整收集于干燥的广口器皿内,置于 37 ℃ 恒温箱,记录液化时间。液化后按照《WHO 人类精液实验室手册》^[3]要求检测精子密度、精子活动率、活动力(a+b 级)、活率等。取 1 mL 液化的精液充分混匀放入试管中,在 3 000×g 离心 15~20 min,留取精浆约 0.5 mL;另一份不作处理,留取全精液,并计数此份标本精子浓度($\times 10^6$ /mL)。将此两份标本置于 -20 ℃ 冰冻保存至少 3 h。临检测前取出,待其自然溶化后,将溶解后的全精液标本 3 000×g 离心 15~20 min,取上清液用于全精液 LDH-X 活性检测。溶解后的精浆标本可直接用于精浆 LDH-X 检测;通过精浆的 LDH 和全精液的 LDH 的测定值,计算比值。

1.3 精浆及精子 LDH-X 活性检测 采用半自动生化仪,试剂盒由深圳华康生物医学工程有限公司提供,测定方法按说明书操作。正常参考值为精浆 LDH-X 248~1376 U/L,精子 LDH-X 10.96~32.36 mU/ 10^6 精子,精浆/全精液 LDH-X 比值 0.21~0.56,超过范围视为异常。

1.4 统计学方法 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组均数的差异比较采

用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

不育组精浆 LDH-X 活性检测结果大于生育组,同时其精子 LDH-X 的活性明显小于生育组,两种 LDH-X 活性比较差

异均具有统计学意义($P < 0.01$)。不育组、生育组精浆/全精子中 LDH-X 的比值比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。而两组的精子密度、活动率及精子活动力差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 精浆、精子 LDH-X 活性及精浆/全精子 LDH-X 比值比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	精浆 LDH-X(U/L)	精子 LDH-X(mU/10 ⁶)	比值	精液密度($\times 10^6$ /mL)	a+b(%)	活动率(%)
生育组	60	682.0 \pm 43.5	21.1 \pm 9.2	0.41 \pm 0.17	36.6 \pm 21.7	46.1 \pm 6.9	54.1 \pm 9.4
不育组	95	926.3 \pm 58.3	6.90 \pm 3.8	1.69 \pm 0.26	33.8 \pm 18.1	44.5 \pm 6.4	50.8 \pm 11.2
<i>P</i>	—	<0.01	<0.01	<0.05	>0.05	>0.05	>0.05

注:—表示无数据。

3 讨 论

精索静脉曲张是临床上常见的男科疾病,近年来其对男性生育的影响越来越受到重视,精索静脉曲张患者附睾的局部血液循环、静脉的回流受阻,附睾上皮出现退化现象。附睾是精子贮存及成熟获能的重要场所,精索静脉曲张所致附睾功能的病理改变,使精子成熟障碍及精子运动、代谢能量供给不足;精子的成熟过程受到影响,使精子的 LDH-X 含量降低。LDH-X 是精子位于哺乳动物和鸟类成熟睾丸及精子中,是一种精子特异的 LDH,其合成调节与雄性激素分泌相关。它作为精原细胞和精子内 LDH 的特异分子形式,对精子的发生和成熟具有重要意义,在精子的能量代谢中起重要作用,是生精过程中的标志酶,可作为评价男性生育能力的特异指标。它能广泛利用精浆和精子胞质的糖分,使得精子能适应各种变动的生理环境,对精子生成、代谢、获能、活动能力和受精过程均有重要作用^[4-5]。LDH-X 是在第一次减数分裂粗线期至圆形精子开始大量合成,而后合成减少,至精子变形期则明显减少。贮存在精子内的 LDH-X 会以某种方式向精浆中释放,以维持细胞内外正常的生理生化过程,LDH-X 参与还原当量的运输和利用,可以把还原当量从细胞质穿梭到线粒体呼吸链,从而利于精子的氧化磷酸化,为精子提供运动所需能量^[6-7]。同时由于 LDH-X 具有抗原性,当细胞外的酶活性过高,会刺激机体发生免疫反应,使精子的活动力和活动率降低,从而影响生育^[8]。

在本次实验中,不育组与生育组精浆、精子 LDH-X 活性和比值的结果显示,生育组的各项指标明显高于不育组(均 $P < 0.05$)。其中从测定结果可以看出,精子 LDH-X 比精浆 LDH-X 和精浆/全精子 LDH-X 比值两个指标更有价值。资料显示,精子或精浆中的 LDH-X 含量与男性不育有着密切的关系;在本试验过程中发现有些精索静脉曲张患者精液分析计数和精浆 LDH-X 含量是正常的,但精子 LDH-X 活性缺如,这可能是附睾功能的病理改变,使 LDH-X 基因缺失,以致精子能量代谢障碍,活力下降。有些严重少精子症的患者,LDH-X 活性很高,这就提示患者的生精上皮细胞膜功能发生是正常的,精索静脉曲张程度并没有影响精子功能。而有些精索静脉曲张不育患者精子数量和精浆 LDH-X 含量是正常的,而精子 LDH-X 活性却低下,提示其精子分化过程中受到了损伤或抑制,从而引起精子活动率和活力降低。所以精索静脉曲张不育患者精子 LDH-X 含量的降低,引起精子的代谢和细胞膜更易

受到损伤,使精子的总数、密度、活动率、活动力下降,从而导致不育。因此在考虑精索静脉曲张引起男性不育原因时,除生精上皮的功能完整性及其他因素外,精子膜的完整程度及其损坏原因也需引起重视。由此可见,精液 LDH-X 存在与否及其活性的强弱可反映男性的精子质量和生育功能;测定精液 LDH-X 活性可作为评价精液质量的一种指标,在精子 LDH-X 活性缺乏及精子本身质量下降影响受精的情况下,对选择治疗方案和辅助生育的方法有一定指导意义。

参考文献

- [1] Eisenberg ML, Lipshultz LI. Varicocele-induced infertility: Newer insights into its pathophysiology[J]. Indian J Urol, 2011, 27(1): 58-64.
- [2] Coonrod S, Vitale A, Duan C. Testis-specific lactate dehydrogenase(LDH-C4; Ldh3) in murine oocytes and preimplantation embryos[J]. J Androl, 2006, 27(4): 502-509.
- [3] WHO. WHO 人类精液及精子-宫颈黏液相互作用实验室检验手册[M]. 谷翔群, 陈振文, 译. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2001.
- [4] Sawane MV, Kaore SB, Gaikwad RD, et al. Seminal LDH-C4 isoenzyme and sperm mitochondrial activity: a study in male partners of infertile couples[J]. Indian J Med Sci, 2002, 56(11): 560-566.
- [5] Duan C, Goldberg E. Inhibition of lactate dehydrogenase C4 (LDH-C4) blocks capacitation of mouse sperm in vitro[J]. Cytogenet Genome Res, 2003, 103(3-4): 352-359.
- [6] Kaur P, Bansal MP. Influence of selenium induced oxidative stress on spermatogenesis and lactate dehydrogenase-X in mice testis[J]. Asian J Androl, 2004, 6(3): 227-232.
- [7] Gallina FG, Gerez de Burgos NM, Burgos C, et al. The lactate/pyruvate shuttle in spermatozoa: operation in vitro[J]. Arch Biochem Biophys, 1994, 308(2): 515-519.
- [8] Tsujii T, Kamai T, Moriguchi H, et al. Seminal lactate dehydrogenase C4 (LDH-C4) isozyme activity in infertile men[J]. Hinyokika Kyo, 2002, 48(4): 193-197.

(收稿日期: 2012-08-12 修回日期: 2012-12-09)