

·临床观察与报道·

精液过氧化物酶阳性白细胞浓度与精液及精子质量的关系

李晓明¹, 黎伟豪¹, 张 滨², 欧建平¹

(中山大学附属第三医院 1 生殖医学中心, 2 不育与性医学科, 广东 广州 510630)

摘 要:【目的】研究男性不育症患者精液过氧化物酶阳性白细胞浓度与精液及精子质量的关系。【方法】回顾性分析近 2 年来在我院生殖医学中心就诊的男性不育症患者共计 164 例, 根据精液过氧化物酶阳性白细胞浓度的不同将纳入研究的患者分为两组, 其中非炎症组(白细胞浓度 $< 1 \times 10^6/\text{mL}$)110 例, 炎症组(白细胞浓度 $\geq 1 \times 10^6/\text{mL}$)54 例, 两组患者中分别有 54 例及 19 例患者因配偶有不明原因的胚胎停育或自然流产史进行了精子 DNA 碎片率的检测。通过分析和比较两组患者精液及精子主要参数有无差异可以得出相应的结论。【结果】与非炎症组患者相比, 炎症组患者精液体积($2.96 \pm 1.07, 4.16 \pm 1.36$)、液化时间($22.96 \pm 12.55, 32.59 \pm 16.96$)min、精液抗精子抗体($1.82 \pm 1.24, 4.61 \pm 2.53$)%、精子 DNA 碎片异常率($14.81\%, 47.37\%$), 4 项参数均增加, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 精子浓度($82.62 \pm 47.39, 44 \pm 33$) $\times 10^6/\text{mL}$ 、精子活动率($69.96 \pm 20.62, 46.59 \pm 28.58$)%、前向运动精子百分率($46.85 \pm 19.75, 29.58 \pm 24.39$)%、正常形态精子百分率($2.41 \pm 1.33, 1.51 \pm 1.03$)%、精子存活率($74.88 \pm 20.79, 48.4 \pm 27.7$)%、精子顶体酶($143.17 \pm 51.84, 47.49 \pm 31.42$)Uiu/ 10^6 、精浆锌含量($12.20 \pm 6.52, 6.89 \pm 4.79$)mol/次, 7 项参数均降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 两组患者的精子总数($235.30 \pm 151.65, 175.35 \pm 143.13$) $\times 10^6$ 、精液 PH($7.43 \pm 0.15, 7.44 \pm 0.12$)均无明显变化, 差异没有统计学意义($P > 0.05$)。【结论】男性不育症患者精液过氧化物酶阳性白细胞浓度升高将导致精液及精子质量下降。

关键词: 男性不育症; 白细胞; 过氧化物酶; 精液质量; 精子质量; 精子 DNA 碎片

中图分类号: R698

文献标志码: A

文章编号: 1672-3554(2016)05-0791-05

Relationship between Semen Peroxidase Positive Leukocyte Concentrations and Semen and Sperm Qualities

LI Xiao-ming¹, LI Wei-hao¹, ZHANG Bin², OU Jian-ping¹

(1.Center for Reproductive Medicine, The Third Affiliated Hospital of Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510630, China;

2.Department of Infertility and Sexual Medicine, The Third Affiliated Hospital of SUN YAT-SEN University, Guangzhou 510630, China)

Corresponding to: OU Jian-ping, E-mail: oujianping@hotmail.com

Abstract: 【Objective】 To analyze the relationships between the semen peroxidase positive leukocyte concentrations and the semen and sperm qualities of male infertility patients. 【Methods】 164 male infertility patients treated in the Center for Reproductive Medicine of our hospital were included in this retrospective clinical study. 110 patients were distributed to the non-inflammatory group, and the left 54 patients assigned to the inflammatory group according to the semen peroxidase positive leukocyte concentrations, and there were respectively 54 and 19 patients with a history of unexplained embryonic damage or spontaneous abortion conducted the sperm DNA fragmentation rates in each group. 【Results】 Compared to the patients of non-inflammatory group, the semen volumes ($2.96 \pm 1.07, 4.16 \pm 1.36$)mL, liquefaction time ($22.96 \pm 12.55, 32.59 \pm 16.96$) min, positive rates of anti-sperm antibody (1.82

收稿日期: 2016-04-08

基金项目: 广东省科技计划项目(2007B030502007)

作者简介: 李晓明, 硕士, 研究方向: 生殖医学, E-mail: lxm3233@163.com; 欧建平, 通信作者, 副教授, 硕士生导师, 研究方向: 生殖医学, E-mail: oujianping@hotmail.com

± 1.24 , 4.61 ± 2.53)% and the abnormal sperm DNA fragmentation rates (14.81% , 47.37%) of inflammatory group were all increased, the differences were statistically significant ($P < 0.05$); The sperm concentrations (82.62 ± 47.39 , 44 ± 33) $\times 10^6/\text{mL}$, sperm activate rates (69.96 ± 20.62 , 46.59 ± 28.58)%, progressive sperm percentages (46.85 ± 19.75 , 29.58 ± 24.39)%, normal sperm morphology percentages (2.41 ± 1.33 , 1.51 ± 1.03)%, sperm survival rates (74.88 ± 20.79 , 48.4 ± 27.7)%, sperm acrosome enzyme contents (143.17 ± 51.84 , 47.49 ± 31.42) Uiu/ 10^6 and seminal plasma zinc contents (12.20 ± 6.52 , 6.89 ± 4.79) mol/sample of inflammatory group were all reduced, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$); There were no statistically significant difference between the total number of sperm (235.30 ± 151.65 , 175.35 ± 143.13) $\times 10^6$ and the semen PH (7.43 ± 0.15 , 7.44 ± 0.12) of the two groups ($P > 0.05$). 【Conclusions】 The increasing of semen peroxidase positive leukocyte concentrations of male infertility patients would result in semen and sperm qualities declined.

Key words: male infertility; leukocyte; peroxidase; semen quality; sperm quality; sperm DNA fragmentation

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2016, 37(5): 791-795]

男性不育症是指男女双方同居 1 年以上, 期间性生活正常, 未采取任何避孕措施, 由于男方因素而造成女方不孕。世界卫生组织(world health organization, WHO)的资料表明, 不孕不育夫妇中, 有 50% 以上存在男方生殖功能的缺陷, 而生殖道感染是导致男性生殖功能缺陷的重要因素之一, 有研究显示, 男性不育人群中生殖道感染患者的比例可达到 4% ~ 10%^[1-3]。精液过氧化物酶阳性白细胞浓度的检测对于男性生殖道感染的诊断具有重要的临床意义, 但关于过氧化物酶阳性白细胞浓度与精液及精子质量关系的研究却相对有限。我们设计了本次的临床研究, 回顾性分析了近 2 年来在中山大学附属第三医院生殖医学中心就诊的男性不育症患者共计 164 例, 其中配偶有胚胎停育或自然流产史的患者 73 例, 分析精液过氧化物酶阳性白细胞浓度与精液及精子质量关系。

1 材料与方法

1.1 临床资料

选取 2014 年 1 月至 2016 年 1 月期间因男性不育症在我院生殖医学中心就诊的患者共计 164 例进行研究。研究对象的纳入标准: 男性不育症患者, 即男方在精液检查过程中发现了至少一项指标未能达到 WHO 规定的参考标准。排除标准: 女方因素导致的不孕; 无精子症患者; 近期有其它可能影响精液质量的疾病或治疗, 如高热、接触放射线、肿瘤放化疗等; 配偶一年内有妊娠史。

1.2 研究对象的分组

根据研究目的将纳入研究的患者分为两组, 其中精液过氧化物酶阳性白细胞浓度 $< 1 \times 10^6/\text{mL}$ 的为非炎症组, 共计 110 例; 精液过氧化物酶阳性白细胞浓度 $\geq 1 \times 10^6/\text{mL}$ 者为炎症组, 共计 54 例。对于既往配偶有不明原因的胚胎停育或自然流产史的患者完善精子 DNA 碎片率的检测, 其中非炎症组及炎症组患者分别有 54 例及 19 例进行了精子 DNA 碎片率的检测。

1.3 精液的获取

根据《世界卫生组织人类精液检查与处理实验室手册》(第 5 版)的要求收集精液标本^[4]。所有患者取精前均禁欲 2~7d, 通过手淫的方法在专用取精室内采集精液, 并将射出精液标本完整收集至专用的取精杯中, 并通过标本传递窗口交予实验室。

1.4 精液标本的处理及数据的收集

按照 WHO 手册的要求对精液标本进行处理和检测^[4]。称重并计算精液标本的体积; 将取精杯置于 37 °C 恒温台上, 每隔 5 min 观察一次精液液化情况并记录完全液化时间; PH 试纸测精液 PH; 采用美国 IVOS 精液分析仪检测精子浓度、活动率、前向运动率等常规参数; 白细胞用正甲苯胺过氧化物酶染色法染色, 显微镜下计数并计算其浓度; 改良巴氏染色法对精子染色, 显微镜下计数至少 200 个精子, 计算正常形态精子百分率; 精子尾部低渗肿胀实验(HOS)测定精子存活率; 混合抗球蛋白反应实验(MAR)检测精液抗精子抗体; 分光光度法检测顶体酶及精浆锌; 染色质扩散法检

测精子 DNA 碎片。

1.5 统计学分析

采用 SPSS 22.0 统计软件对所获取的数据进行统计学分析,通过独立样本 *t* 检验的方法对定量资料进行分析和比较,通过卡方检验 (Chi-square)的方法对定性资料进行分析和比较,定量资料采用均数 ± 标准差的形式表示。

2 结 果

2.1 患者一般临床资料的比较

纳入研究的 164 例男性不育症患者平均年龄 (31.45 ± 4.91) 岁,其中年龄最大的患者 50 岁,最小的 22 岁;平均不育年限 3.48 ± 2.09 年,其中不育年限最长的 10 年,最短的 1 年;两组患者的年龄和不育年限的差异均无统计学意义 (*P* > 0.05)。纳入研究的患者中共有 74 例患者进行了精子

DNA 碎片的检查,其平均年龄为 (30.43 ± 3.85) 岁,其中年龄最大的患者 42 岁,最小的 23 岁;平均不育年限 (3.45 ± 1.79) 年,其中不育年限最长的 9 年,最短的 1 年;完善了精子 DNA 碎片检查的两组患者之间年龄及不育年限的差异均无统计学意义 (*P* > 0.05)。

2.2 两组患者精液质量的比较

纳入研究的两组患者精液及精子质量的比较详见表 1。与非炎症组患者相比,炎症组患者精液体积 (2.96 ± 1.07, 4.16 ± 1.36) mL、液化时间 (22.96 ± 12.55, 32.59 ± 16.96) min、抗精子抗体阳性率 (1.82 ± 1.24, 4.61 ± 2.53) %, 3 项参数均有所增加,且差异均具有统计学意义 (*P* < 0.05);炎症组患者精子浓度 (82.62 ± 47.39, 44 ± 33) × 10⁶/mL、精子活动率 (69.96 ± 20.62, 46.59 ± 28.58) %、前向运动精子百分率 (46.85 ± 19.75, 29.58 ± 24.39) %、正常形态精子百分率 (2.41 ± 1.33, 1.51 ± 1.03) %、

表 1 两组患者精液及精子主要参数的比较
Table 1 Comparison of the main parameters of semen and sperm of the two groups (x̄ ± s)

semen/sperm parameters	non-inflammatory group (n = 110)	inflammatory group (n = 54)	<i>t</i>	<i>P</i>
Volume (mL)	2.96 ± 1.07	4.16 ± 1.36	-6.175	0.044
Semen PH	7.43 ± 0.15	7.44 ± 0.12	-0.563	0.243
Liquefying time (min)	22.96 ± 12.55	32.59 ± 16.96	-4.101	0.000
MAR test (%)	1.82 ± 1.24	4.61 ± 2.53	-9.499	0.000
Sperm concentration (10 ⁶ /mL)	82.62 ± 47.39	44 ± 33	5.393	0.039
Total sperm count (10 ⁶)	235.30 ± 151.65	175.35 ± 143.13	2.423	0.507
Activate rate (%)	69.96 ± 20.62	46.59 ± 28.58	5.979	0.000
Progressive sperm rate (%)	46.85 ± 19.75	29.58 ± 24.39	4.864	0.024
Sperm survival rate (%)	74.88 ± 20.79	48.4 ± 27.7	6.860	0.000
Normal morphology rate (%)	2.41 ± 1.33	1.51 ± 1.03	4.337	0.046
Seminal plasma zinc (mol/time)	12.20 ± 6.52	6.89 ± 4.79	5.323	0.011
Acrosin activity (Uiu/10 ⁶)	143.17 ± 51.84	47.49 ± 31.42	12.472	0.001

表 2 配偶有不明原因胚胎停育或自然流产史的患者精子 DNA 碎片率的比较
Table 2 Comparison of sperm DNA fragments of part of patients with a history of unexplained embryonic damage or spontaneous abortion [n (%)]

Groups	DNA fragments normal	DNA fragments abnormal	abnormal rate (%)
Non-inflammatory group (n = 54)	46 (85.19)	8 (14.81)	14.81
Inflammatory group (n = 19)	10 (52.63)	9 (47.37)	47.37 ¹⁾
Total (n = 73)	56 (76.71)	17 (23.29)	23.29

1); Compared to the non-inflammatory group, *P* = 0.004, the differences were statistically significant.

精子存活率($74.88 \pm 20.79, 48.4 \pm 27.7$)%、精子顶体酶含量($143.17 \pm 51.84, 47.49 \pm 31.42$)Uiu/ 10^6 及精浆锌含量($12.20 \pm 6.52, 6.89 \pm 4.79$)mol/次, 7项参数均有所降低, 且差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。此外, 两组患者的精子总数($235.30 \pm 151.65, 175.35 \pm 143.13$) $\times 10^6$ 、精液 PH ($7.43 \pm 0.15, 7.44 \pm 0.12$)均无明显变化, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

2.3 精子 DNA 碎片率的比较

精子 DNA 碎片率的比较详见表 2。纳入研究的 164 例患者中共有 74 例患者因配偶既往有不明原因的胚胎停育或自然流产史进行了精子 DNA 碎片率的检查, 其中炎症组患者 19 例, 非炎症组患者 54 例。炎症组患者精子 DNA 碎片率异常的比例为 47.37%, 非炎症组患者精子 DNA 碎片率异常的比例为 14.81%。炎症组患者精子 DNA 碎片率异常的比例高于非炎症组患者, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

3 讨 论

近年来, 随着性传播疾病等的不断蔓延, 男性生殖道感染的病例逐年增多, 已成为生殖医学中心男科最常见的疾病之一。与一般的感染不同, 男性生殖道感染的患者通常不适感相对比较轻微甚至没有任何不适的症状, 属于亚临床型感染或隐性感染, 因此往往得不到患者的重视, 临床诊治方面上也容易遗漏。

精液中白细胞浓度增加是反映男性生殖道感染最直接和典型的指标之一。精液中的白细胞对于吞噬和杀灭细菌等病原微生物至关重要, 研究表明, 过氧化物酶阳性的粒细胞是精液中白细胞的主要类型, 男科实验室为了避免白细胞检测过程中脱落的生精细胞、上皮细胞等杂细胞对准确性的影响, 通常可利用这一特征对白细胞进行染色和鉴别^[5]。

本研究中, 炎症组患者受精液中过氧化物酶阳性白细胞浓度增加等因素的影响, 精液主要参数及精子质量等有不同程度的下降。活性氧是氧的代谢产物, 包括过氧化氢、超氧阴离子、羟自由基等, 精液中的活性氧主要由白细胞产生, 此外, 精子

本身也可产生少量的活性氧^[6-7]。

活性氧可作用于精子质膜, 引起精子细胞膜脂质过氧化和蛋白功能受损, 导致精子细胞膜结构的损害和功能障碍, 并影响精子运动能力; 炎症时附睾及前列腺中过量的白细胞可以引起精子的运输和成熟障碍, 导致患者精子密度减少、活动率降低和精子功能异常; 白细胞可以产生 IL-8、TNF- α 、干扰素等细胞因子, 使精子运动能力降低, 此外, TNF- α 还可以促进精液中抗精子抗体的产生, 而后者一方面可以显著加强白细胞对精子的杀伤能力, 另一方面引起精子凝集, 影响精子活力; 作为一类免疫细胞, 白细胞内含有大量的弹性蛋白酶、胶原酶等活性酶, 这些活性酶在杀灭细菌的同时也可以损伤精子, 影响精液质量^[1,4]。

有研究表明, 前列腺炎等附属性腺炎症可引起精子 DNA 碎片率升高, 并由此导致不育和胚胎发育的异常^[8-9]。白细胞产生的活性氧是导致精子核及线粒体 DNA 的损伤的重要原因之一, 临床上表现为患者精子 DNA 碎片率升高等异常, 这一方面可引起配偶妊娠率的下降, 导致不育的发生, 另一方面也影响胚胎质量, 导致配偶妊娠早期胚胎停育或自然流产率的增加^[10-13]。

精浆是精液的重要成分之一, 主要由前列腺、精囊腺及尿道球腺等附属腺体分泌, 既往有关附属性腺炎症对于精液体积影响的研究虽多, 但尚未形成比较公认的结论, 本研究中, 炎症组患者精液量较非炎症组有所增加, 这与附属性腺受到炎症刺激后分泌量的增加有关^[14-16]。前列腺分泌的蛋白酶是精液液化的重要催化酶, 当前列腺受到炎症影响时, 其蛋白酶的合成和分泌功能将出现障碍, 最终影响到精液液化的过程^[17]。

参考文献

- [1] 乔杰. 生殖医学临床指南与专家解读[M]. 北京: 人民军医电子出版社, 2014: 61-73.
QIAO J. Clinical guidelines and expert interpretation of reproductive medicine [M]. People's Military Medical Electronic Publishing House, 2014: 61-73.
- [2] SHARMA RK, PASQUALOTTO AE, NELSON DR, et al. Relationship between seminal white blood cell counts and oxidative stress in men treated at an infertility clinic [J]. J Androl, 2001, 22(4): 575-583.

- [3] KO EY, SABANEH ES J, AGARWAL A. Male infertility testing: reactive oxygen species and antioxidant capacity[J]. *Fertil Steril*, 2014, 102(6): 1518–1527.
- [4] 谷翊群, 陈振文, 卢文红, 等. 世界卫生组织人类精液检查与处理实验室手册 [M]. 人民卫生出版社, 2011: 5–96.
- GU YQ, CHEN ZW, LU WH, et al. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen[M]. People's Medical Publishing House, 2011: 5–96.
- [5] PALERMO GD, NERI QV, COZZUBBO T, et al. Shedding light on the nature of seminal round cells [J]. *PLoS One*, 2016, 11(3): e0151640.
- [6] HOMA ST, VESSEY W, PEREZ-MIRANDA A, et al. Reactive oxygen species (ROS) in human semen: determination of a reference range [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2015, 32(5): 757–764.
- [7] MUFFIGA C, FISHER D, KRUGER T, et al. The relationship between seminal leukocytes, oxidative status in the ejaculate, and apoptotic markers in human spermatozoa[J]. *Syst Biol Reprod Med*, 2013, 59(6): 304–311.
- [8] OSADCHUK LV, ERKOVICH AA, TATARU DA, et al. Level of DNA fragmentation in human sperm cells in varicocele and prostatitis[J]. *Urologiia*, 2014, (3): 37–43.
- [9] HU YY, CAO SS, L? JQ. Impact of chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome on sperm DNA fragmentation and nucleoprotein transition[J]. *Zhonghua Nan Ke Xue*, 2013, 19(10): 907–911.
- [10] SAMPLASKI MK, DIMITROMANOLAKIS A, LO KC, et al. The relationship between sperm viability and DNA fragmentation rates[J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2015, 13: 42.
- [11] GAVRILIOUK D, AITKEN RJ. Damage to sperm DNA mediated by reactive oxygen species: Its impact on human reproduction and the health trajectory of offspring [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2015, 868: 23–47.
- [12] OPUWARI CS, HENKEL RR. An update on oxidative damage to spermatozoa and oocytes[J]. *Biomed Res Int*, 2016: 9540142.doi:10.1155/2016/9540142
- [13] ZHAO J, ZHANG Q, WANG Y, et al. Whether sperm deoxyribonucleic acid fragmentation has an effect on pregnancy and miscarriage after in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection: a systematic review and meta-analysis [J]. *Fertil Steril*, 2014, 102(4): 998–1005.
- [14] AUSMEES K, KORROVITS P, TIMBERG G. Semen quality and associated reproductive indicators in middle-aged males: the role of non-malignant prostate conditions and genital tract inflammation [J]. *World J Urol*, 2013, 31(6): 1411–1425.
- [15] FU W, ZHOU Z, LIU S, et al. The effect of chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome (CP/CPPS) on semen parameters in human males: a systematic review and meta-analysis [J]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e94991.
- [16] SHANG Y, LIU C, CUI D, et al. The effect of chronic bacterial prostatitis on semen quality in adult men: a meta-analysis of case-control studies [J]. *Sci Rep*, 2014, 4: 7233.
- [17] 郭应禄, 胡礼泉. 男科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 333–356.
- GUO YL, HU LQ. Andrology [M]. People's Medical Publishing House, 2004: 333–356.

(编辑 王晓鹰)