

精液乙二醛酶 I 分型与男性不育症关系的探讨*

伍新尧¹ 魏民新² 杨洁² 罗超权³ 杨英浩³ 蔡珊元⁴ 吴国华⁴

(1. 法医学系 2. 学生科研组 3. 生物化学教研室 4. 附属第一医院妇产科)

摘要 本文介绍用琼脂糖淀粉混合凝胶电泳法检测156例精液的乙二醛酶 I (glyoxalase I, GLO I) 表型的结果。其中93例为异常精液, 有GLO I 1-1型 27例(29.03%), 2-1型 33例(35.48%), 2-2型 30例(32.26%), 另3例(3.23%)未表现 GLO I 活性。与广州地区正常人群 GLO I 表型分布比较后发现, 异常精液的 GLO I 基因频率明显升高 ($\chi^2=121.54$, $df=2$, $P<0.005$), 经疾病关联分析证明, 带 GLO I¹ 基因者出现异常精液的相对风险为 3.91 ($\chi^2=10.77$, $df=1$, $P<0.05$)。精浆和无精子的精液也能测出 GLO I 表型。室温下保存1周的精斑能正确测出其 GLO I 表型。

关键词 乙二醛酶 I 表型 精液/精斑 男性不育症 琼脂糖淀粉混合凝胶电泳

乙二醛酶 I (glyoxalase I, 简称 GLO I) 能催化甲基乙二醛和还原型谷胱甘肽形成乳酰谷胱甘肽。它广泛存在于人体各种组织中^[1]。

1975年, Kömpf 等首先用淀粉凝胶电泳发现人群可被分为 GLO I 1-1, 2-1, 2-2 三型, 证明 GLO I 同工酶具有遗传多态性^[2]。迄今已有许多红细胞 GLO I 表型在人群中分布的调查资料。GLO I 表型测定已应用于亲权鉴定和法医检案之中^[3]。

本文报道精液和精斑 GLO I 表型检测的结果和探讨 GLO I 表型与男性不育症的关系的初步结果。

材料与方 法

标本来源及制作 156 例精液来自附属第一医院计划生育咨询门诊部检查的标本。取回后置 -70℃ 冰箱内冷冻, 用前融冻摇匀。

随机取其中55例精液, 分别摇匀后将一半滴在滤纸上制成精斑, 室内晾干, 信封内室温下保存。

方 法 GLO I 表型测定按 Scott 等介绍

的方法^[4]准备电极缓冲液和琼脂糖淀粉混合凝胶。

在离负极 1cm 的凝胶处打槽加样, 每份标本加样 0.6μl (精斑则剪取 0.6×0.3cm 大小, 直接插入加样槽内, 15分钟后, 去滤纸)。双层新华滤纸搭桥。电压梯度为 25V/cm, 4℃ 下电泳30分钟。

酶谱的显示: 将湿透酶反应底物 (5mg 还原型谷胱甘肽, 25% 甲基乙二醛 0.2ml, 加入 0.2M 磷酸盐缓冲液 4ml, pH 6.8) 的滤纸复盖在电泳后的凝胶面上。37℃ 保温30分钟, 取出滤纸, 铺上一层含碘琼脂胶 (1% 琼脂 10m 煮融后, 冷至 60℃ 时加入 1% 碘液 0.5ml 混匀)。数分钟后即可见呈现蓝色的 GLO I 酶活性带 (见图)。

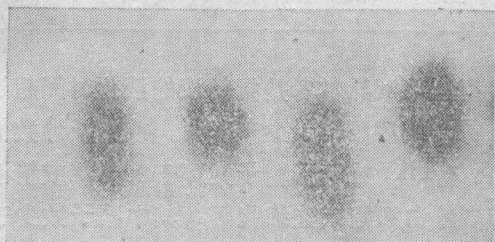


图 精液 GLO I 分型图谱

从左至右: GLO I 2-1型, -2型, 1-1型, 2-2型

* 国家自然科学基金资助课题

结果与讨论

156例精液 GLO I 表型测定 结果见表 1。

表1 156例精液GLO I 分型结果

GLO I 表型	观察值	理论值	基因频率
1-1	31(19.87%)	21.9	GLO I ¹ = 0.3808 GLO I ² = 0.6192
2-1	53(33.97%)	71.2	
2-2	67(42.95%)	57.9	
无活性	5(3.21%)		
合 计	156		

经统计学处理,证明本组人群GLO I 各型的分布尚未达到 Hardy-Weinberg 平衡($\chi^2 = 9.86$, $df = 2$, $P < 0.01$)

93例异常精液者GLO I 表型测定及与精子数的关系 结果见表 2。

表2 93例精液异常者的精子数
与GLO I 型的关系

精子数 (亿/ml)	观察数	GLO I 表型			
		1-1	2-1	2-2	无活性
≥0.6亿	45	10	14	19	2
<0.6	9	3	4	2	0
<0.5	10	4	3	3	0
<0.4	11	5	3	3	0
<0.3	7	3	3	0	1
<0.2	3	0	0	3	0
<0.1	2	1	1	0	0
无精子	6	1	5	0	0
合 计	93	27	33	30	3

所谓精液异常者是指精液的液化时间超过30分钟,或活泼精子少于60%,或精子计数低于0.6亿/ml,或畸形精子数高于20%,或精液内有多量白细胞或红细胞等。其中精子数少于0.6亿/ml的共有48例,GLO I 1-1型17例(35.42%),2-1型19例(39.58%),2-2型

11例(22.92%),无活性的1例(2.08%)。其基因频率为GLO I¹ = 0.5638, GLO I² = 0.4362。经 χ^2 测验证明此组人群GLO I 各型分布已达到Hardy-Weinberg平衡($\chi^2 = 1.49$, $df = 2$, $P > 0.25$)。

精液异常组GLO I 表型分布情况与广州地区正常人群比较 表 3。

表3 精液异常者与广州地区正常人群
GLO I 表型分布情况比较

GLO I 表型	精液异常组	广州正常人群 ^[5]
1-1	27(29.03%)	14(2.57%)
2-1	33(35.48%)	159(29.17%)
2-2	30(32.26%)	372(68.26%)
无活性	3(3.23%)	0
合 计	93	545

经 χ^2 检验证明两组间GLO I 表型分布具有显著性差异($\chi^2 = 121.54$, $df = 3$, $P < 0.005$)。精液异常组具有GLO I¹基因者的频率显著高于正常人群。

经疾病关联分析,证明具有GLO I¹基因者出现精液异常的相对风险为3.91(显著性测验 $\chi^2 = 10.77$, $df = 1$, $P < 0.005$),说明它们之间存在密切相关性,值得进一步探讨。

精液不同部分GLO I 表型可测性探讨 随机取5份精液,于4 000rpm离心10分钟,将精液的沉淀部分冻融,然后分别测定精浆和精液沉淀部分的GLO I 表型,两部分都显示相同活性的GLO I 表型。

本组有6例为无精子的精液,同样可以测出其GLO I 表型(4例为2-1型,2例为1-1型)。这些结果说明精液中GLO I 酶活性不仅限于精子,男性生殖系统分泌精浆的其他部分也分泌GLO I 酶。

精斑GLO I 表型检测 55例精斑(其中GLO I 1-1型9例,2-1型20例,2-2型26例)在室温下保存1周(27℃~32℃)者,GLO I 表型检测结果与新鲜精液的相同。但1周以后的精斑,逐渐出现GLO I 酶谱位置的改变,且无

一定规律,因而易致错误定型。

另将4例室温下保存5天的精斑,取部分于自来水中浸泡1小时再行检验,均未见GLO I 酶谱出现。这说明水浸洗会严重影响精斑GLO I 酶型的检出。故精斑GLO I 的检测应尽可能在1周内进行,并应避免水洗检材。

(注:GLO I¹, GLO I²分别代表控制GLO I 遗传型的两个基因)

参 考 文 献

- [1] Stohlmacher P and Haferland W. Glyoxalase I (GLOI) in human tissues, *Z Rechtsmed* 1980;85(2):165.
[2] Kompf J. et al. Polymorphism of red

cell glyoxalase I (EC 4.4.1.5). A new genetic marker in man. *Humangenetik* 1975;27(2):141.

- [3] Emes EG and Parkin BH. The determination of glyoxalase I phenotypes in human bloodstains. *Forensic Sci Int* 1980; 15(3): 265.
[4] Scott AC and Fowler JCS. Electrophoretic typing of glyoxalase I (GLO I) isoenzymes using a mixed starch/agarose gel. *Forensic Sci Int* 1982;20(3):287.
[5] 李健金,等. 广州人群红细胞 GLO I 表型的分布调查及血痕 GLO I 的检测. *中国法医学杂志* 1987; 2(1):27.

THE GLO I PHENOTYPING OF SEMEN/SEMINALSTAINS AND THE CORRELATION BETWEEN MALE INFERTILITY AND GLO I PHENOTYPES

Wu Xinyao¹

Wei Mingxin² Yong Jie² Luo Chaoquen³ Yong Yinhao³

Cai Shanyuan⁴ Wu Kuohua³

(1. Department of Forensic Biology 2. The undergraduate student of Grade 86 3. Department of Biochemistry 4. Department of Gynecology, The First Affiliated Hospital)

The phenotyping results of 156 semen specimens by using starch/agarose gel electrophoresis were presented. Among them, the GLO I phenotypes of 93 cases with abnormal semen were as follows: GLO I 1-1 27(29.03%), 2-1 33(35.48%), 2-2 30(32.26%), and 3 (3.23%) without GLO I activity. Compared with the phenotyping results of healthy-person group living in Guangzhou, it was shown that the allele frequency of GLO I¹ of the abnormal-semen group was higher statistically than that of the healthy-person group ($\chi^2 = 121.54$ $df = 3$, $P < 0.005$). It indicated that there was a close correlation between male infertility and GLO I¹ gene (Relative risk = 3.91, $\chi^2 = 10.88$, $df = 1$, $P < 0.005$). The semen plasma and semen of cases of azoospermia could show the GLO I activity. the GLO I phenotypis of seminalstains stored at room temperature for one week could be typed correctly.

Key words GLO I phenotype Semen/seminalstains Male infertility
Starch/agarose gel electrophoresis