

2),此结果表明 VEGF 促进了溃疡的修复。溃疡愈合过程不同时期胃黏膜组织形态与正常胃黏膜有很大差异,随着溃疡的愈合,再生黏膜厚度逐渐增加(封三彩图 11);25 天组的再生黏膜厚度高于 8 天组的,8 天组又高于 3 天组的(图 3);而再生黏膜扩张腺体数 25 天组的少于 8 天组,8 天组的又少于 3 天组(封三彩图 11、图 4),表明随着溃疡的愈合,再生胃黏膜的组织形态也逐渐趋于正常。胃黏膜上皮的黏液腺细胞具有分泌黏液的功能,在胃黏膜表面形成黏液层(黏液屏障),约相当于胃腺深度的 1/4 ~ 1/2,具有润滑作用,可防止食物等机械的损伤,此外能够有效地抵抗胃酸、胃蛋白酶的消化作用和其他有害因子的侵袭。本实验 25 天组的胃黏液高于 8 天组,8 天组又高于 3 天组(图 5),此结果表明随着溃疡的愈合,再生黏膜细胞分泌胃黏液逐渐增多,“黏液屏障”的功能也逐渐向正常恢复。

由此我们可以推断:溃疡发生后,通过机体的调节,EGF 和 VEGF 逐渐增多,促进了溃疡部位胃黏膜细胞的再生,血管生成增加,继而胃黏膜血流增加,为胃黏膜的再生提供氧和营养物质,溃疡逐渐愈合。同时 EGF 和 VEGF 也促进扩张的腺体逐渐减少,黏膜厚度逐渐增加,缩小了与正常胃黏膜的差异;胃黏

液生成逐渐生成增多,“黏液屏障”的功能也逐渐恢复。

参考文献

- 1 Wallace JL. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and the gastrointestinal tract. Mechanisms of protection and healing: current knowledge and future research. *Am J Med*,2001,110: 19S-23S
- 2 Okabe S, Amagase K. An overview of acetic acid ulcer models - the history and state of the art of peptic ulcer research. *Biol Pharm Bull*, 2005,28(8): 1321-1341
- 3 Ma L, Wang WP, Chow JY, *et al*. Reduction of EGF is associated with the delay of ulcer healing by cigarette smoking. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*,2000,278: G10-G17
- 4 Piper DW, Whitecross D, Leonard P, *et al*. Alcian blue binding properties of gastric juice. *Gastroenterology*,1970,59: 534-538
- 5 Wang GZ, Huang GP, Yin GL, *et al*. Aspirin can elicit the recurrence of gastric ulcer induced with acetic acid in rats. *Cell Physiol Biochem*, 2007,20(1-4):205-212
- 6 Konturek PC, Konturek SJ, Brzozowski T, *et al*. Epidermal growth factor and transforming growth factor-alpha: role in protection and healing of gastric mucosal lesions. *Eur J Gastroenterol Hepatol*,1995,7: 933-937
- 7 Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev*,1997,18: 4-25

(收稿:2010-03-25)

精子透明质酸酶活性与精液动态参数的相关性

杨建辉 高晓勤 陈利红

摘要 目的 探讨不育男性精子顶体内透明质酸酶活性与精液有关参数的关系,以期为临床男性不孕不育的病因分析、诊断、治疗及精子的功能检查提供理论及实验依据。**方法** 收集 81 例精液标本,其中正常生育对照组为 20 例,不育男性 61 例,以精子质量分析仪对每份标本进行计算机辅助精液分析(CASA)。并利用改良明胶底物膜法检测精子顶体内透明质酸酶活性。**结果** ①不育组与对照组相关动态参数的分析结果:VCL、VSL、VAP、LIN、WOB 的数据不育组与对照组具有统计学意义,表明不育组精子综合质量与对照组间存在差异;②精子运动活力的参数即精子的 VCL、VSL、VAP 以及 ALH 等精子参数与精子顶体内透明质酸酶活性有显著相关性,与 LIN、STR、WOB、BCF 及 STR 无统计学意义。**结论** ①不育组与对照组相关动态参数 VCL、VSL、VAP、LIN、WOB 数据具有统计学意义,精子综合质量与对照组间存在差异;②精子参数 VCL、VSL、VAP 及 ALH 与精子顶体内透明质酸酶活性有显著相关性。

关键词 精子 透明质酸酶 精液参数 关系

Relationship between Sperm Acrosin Hyaluronidase Activity and Conventional Semen Parameters. Yang Jianhui, Gao Xiaoqin, Chen Lihong. *Qiannan Medical College for Nationalities, Guizhou 558000, China*

基金项目:贵州省省长专项基金(黔省专合字 2007 46 号);贵州省科技厅攻关项目(黔科合 S 字 20071030);黔南州科技项目(黔南科合 2008 5)作者单位:558000 都匀,黔南民族医学高等专科学校(杨建辉、陈利红);550003 贵阳医学院(高晓勤)通讯作者:高晓勤,电子信箱:gyxkt@163.com

Abstract Objective To study the relationship between sperm acrosin hyaluronidase activity in infertile men and conventional semen parameters in order to provide theoretical and experimental basis for analysis of cause, diagnosis, treatment of clinical male infertile, and for sperm function tests. **Methods** Eighty – one semen samples were collected. Twenty cases were in normal control group, and other cases were infertile men (excluding the infertility caused by women). Conventional clinical examination of each semen specimen was made by using sperm quality analysis instrument and computer – assisted sperm analysis (CASA). Sperm hyaluronidase activity was detected by using the method of modified gelatin membrane. **Results** ①There was significant difference in the related dynamic parameters of VCL, VSL, LIN and WOB between the infertile men and control persons which indicated that sperm quality was unnormal. ②Sperm motility parameters (VCL、VSL、VAP 以及 ALH) were related significantly with sperm hyaluronidase activity. There was no statistical significance in LN, STR, WOB, BCF and STR between the two groups. **Conclusion** ①The infertile group and control group showed statistical significance in relevant dynamic parameters such as VCL, VSL, VAP, LN and WOB. The integrated quality of the sperm in infertile group is different from that of control group. ②There is a significant correlation between the sperm parameters (VCL, VSL, VAP, ALH) with sperm acrosin hyaluronidase activity.

Key words Sperm; Hyaluronidase; Semen; Parameters; Relation.

近几年来,随着计算机辅助的精液质量分析系统快速的普及,其逐渐成为一种新的精液质量的检查方法,特别是在对精子的动态参数评价方面,既可对精子的运动速度和轨迹特征进行图像显示,又可对精子动、静态参数给出客观定量的分析结果,尤其在精子的运动能力的评价方面较之过去的技术有了较大的提高,但对全面评价精子的生育能力仍显不足,精子内酶学研究是近年来对男性不育患者精子功能检查方面新的补充和进展,许多资料已表明透明质酸酶是受精过程中的关键酶,本研究拟采用改良底物膜法对精子顶体内透明质酸酶活性检测并与精液有关参数进行相关性的研究,进一步了解其与精液相关参数的关系及其与男性不育的关系,为临床男性不孕不育的病因分析、诊断、治疗、精子的功能检查手段的补充及辅助生殖方案的制订提供理论、实验依据^[1,2]。

材料与方法

1. 精液收集:81 例精液标本,其中正常生育对照组为 20 例,不育男性 61 例,年龄 23 ~ 46 岁。禁欲 3 天,于室温 25 ~ 30℃ 下按摩取精液,自行液化。

2. 仪器与设备:ZKPACS – E 中科恒业彩色精子质量检测系统;北京中科恒业有限公司。Leica DME 光学显微镜,上海奥然科贸有限公司。

3. 精液质量分析:以精子质量分析仪对每份标本进行临床精液常规检查及计算机辅助精液分析 (CASA),观察精子平均曲线速度 (VCL)、平均直线速度 (VSL)、平均路径速度 (VAP)、平均移动角度 (MAD)、侧摆幅值 (ALH)、鞭打频率 (BCF)、直线性 (LIN) 摆动性 (WOB)、前向性 (STR) 9 项动态特征指标。

4. 透明质酸酶活性检测:(1)用改良明胶底物膜法:采集的新鲜精液液化后,室温下以 2400r/min 离心 10min,共两次,以磷酸盐缓冲液 (PBS 液) 洗两次。沉淀物悬浮于 2 倍以上磷酸盐缓冲液 (PBS 液) 中,分作双份备用。将上述 PBS 精子悬

浮液 1 ~ 2 滴涂于药盒底膜片,置于 37℃ 恒温恒湿箱孵育。3h 后取出,室温下干燥,于普通光镜下观察孵育结果。(2)透明质酸酶 (HYD) 活性观察指标:观察精子顶体 HYD 阳性反应率:终止孵育后,每份孵育涂片在光镜下均匀选择 5 ~ 6 个视野随机观察 200 个精子头部,出现周围晕环者视为阳性反应。酶活性强度:测微尺测量视野下每个精子头部晕环直径的大小,取其平均值作为判断 HYD 活性强度的指标。

5. 数据处理:统计在微机上采用 SPSS 软件包进行分析,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,并采用 *t* 检验分析对照组与不育各组间显著性差异。对透明质酸酶活性与精液相关参数间采用相关性分析。

结 果

以精子质量分析仪对每份标本进行临床精液常规检查,并用透明质酸酶活性检测药盒检测标本透明质酸酶阳性反应率和活性强度。正常生育组标本精子密度、a + b 级精子活力、正常形态百分率、精子活率均在正常范围。正常生育组顶体内透明质酸酶阳性反应率为 68.98% ± 8.81%,活性强度为 28.59 ± 3.16μm,见封三彩图 14。不育组标本精液参数总体质量低于生育对照组,透明质酸酶阳性反应率为 27.2% ± 5.39%,活性强度为 15.1 ± 2.52μm,,见封三彩图 15。

1. 不育组与对照组精子相关动态参数的关系:将不育组与对照组相关动态参数与透明质酸酶活性间的关系进行统计学处理,结果显示,在对照组和不育组间,存在显著性差异,对照组的透明质酸酶阳性反应率与透明质酸酶活性强度值均优于不育组 (表 1)。

2. 透明质酸酶活性与精子相关动态参数间相关性分析:将所有标本的精子透明质酸酶阳性反应率与活性强度与相应标本的精子相关动态参数进行相关性分析,发现 VCL、VSL、VAP 及 ALH 间存在显著相

关性,与 LIN、STR、WOB、BCF 及 STR 无统计学意义(表 2)。

表 1 不育组与对照组精子相关动态参数的关系

精液分析数据	不育组	对照组	P
VCL	6.92 ± 3.1	8.25 ± 4.6	<0.01
VSH	2.5 ± 2.1	3.6 ± 2.6	<0.01
VAP	3.77 ± 1.8	5.02 ± 2.3	<0.01
ALH	0.51 ± 0.17	0.561 ± 0.25	>0.05
BCF	13.17 ± 4.2	13.52 ± 4.5	>0.05
LIN	34.93 ± 5.7	37.6 ± 5.9	<0.01
WOB	51.23 ± 8.1	56.5 ± 6.3	<0.01
STR	58.02 ± 8.3	67.2 ± 8.9	<0.01
MAD	88.3 ± 15.8	89.2 ± 16.1	>0.05
酶活性阳性率	31.5 ± 6.3	67.6 ± 13.7	<0.01
酶活性强度	15.1 ± 4.6	31.2 ± 6.8	<0.01

所有显著性比较均在不育组与对照组间进行

表 2 精子透明质酸酶活性与相关动态参数的相关性

精液分析数据	透明质酸酶阳性率		透明质酸酶阳性强度值	
	r	P	r	P
VAP	0.58	<0.01	0.31	<0.01
VSL	0.46	<0.01	0.25	<0.01
VCL	0.74	<0.01	0.42	<0.01
ALH	0.55	<0.01	0.30	<0.01
WOB	0.17	>0.05	0.10	>0.05
BCF	-0.17	>0.05	-0.05	>0.05
LIN	0.09	>0.05	0.07	>0.05
STR	0.13	>0.05	0.09	>0.05
MAD	-0.25	<0.05	0.1	>0.05

讨 论

受精是一个极其复杂的生理过程,它受多种因素的影响和调控,顶体内酶活性的高低,与精子的质量、运动和受精过程有着非常密切的关系^[3]。随着计算机辅助的自动精子质量分析系统的普遍运用,本实验利用其能自动对患者精子平均曲线速度、平均直线速度、平均路径速度、平均移动角度、侧摆幅值、鞭打频率、直线性、摆动性、前向性 9 项动态特征数据自动化跟踪检测的特点,本研究对 61 例不育患者的动态参数进行了分析,并与 20 名生育男性精液进行对比,结果显示,VCL、VSL、VAP、LIN、WOB 的数据不育组与对照组具有统计学意义,表明不育组精子综合质量与对照组间存在差异。而 ALH、BCF、MAD 等数据在健康与患者之间比较无统计学意义,表明该组数据对评价精子质量可能无积极意义。精子的运动情况是衡量精液质量的重要指标,精子进入雌性阴道并快速通过子宫颈进入子宫,最后到达输卵管。目前已比较

明确,这种精子在女性生殖管道内运行,除了受女性生殖管道蠕动或收缩所给予的推动力之外,主要是依靠精子自身的主动运动。这种运动已被证实是在附睾成熟过程中获得和发展的^[4]。与附睾精子运动能力获得和发育的相关因素很多,也很复杂,目前概括起来可以归结以下几个方面:①精子附睾成熟过程中的结构上调控,如精子鞭毛的结构包括疏基的变化;②附睾精子的能量系统发育;③精子细胞信使系统的发育;④附睾液中某些离子成分的影响;⑤精子前向运动蛋白的调节^[5]。受精过程是精卵相互作用最终形成受精卵的复杂过程,包括对透明带的黏附、识别和穿透,精卵识别,精子的穿入和精卵融合等。研究表明,精子的受精能力是在附睾运行和贮存过程中获得和发育的。

近年来研究还表明,具有透明质酸酶活性的 PH-20 蛋白可使卵丘细胞散开,虽然 PH-20 蛋白是在精子发生过程中形成,但在附睾精子成熟过程中 PH-20 的定位发生了变化,主要定位于精子头后部质膜和顶体内膜,其在精子膜上的重新分布和浓度变化在受精过程中有着十分重要的作用^[6]。Claudine, Yeung 以及吴立君等均对人附睾不同部位的精子运动进行过定量分析,从几位研究者的结果看,虽然测量结果有差异,但有一点是明显一致的,即在附睾头部的精子表现出了很弱的运动,速度很慢,而且直线性很差,到了附睾体部和尾部精子获得或明显增强了运动,表现为速度和直线性都有非常明显的增强^[7,8]。其中衡量运动能力的两个方面参数,活力(运动速度)和运动方式的发展是不平行的。

精子运动活力主要反映在精子头部的运动速度,而精子鞭毛的摆动方式决定了精子的运动方式,实验结果显示:精子顶体内透明质酸酶活性与反映精子运动活力的参数分别呈不同程度的相关性,但与反映运动方式的参数无明显相关性。说明精子运动活力参数即精子的 VCL、VSL、VAP 等精子参数与精子顶体内透明质酸酶活性有直接关联,精子顶体内透明质酸酶活性与 LIN、STR、WOB、BCF 及 STR 无统计学意义,这与国内的部分研究有相似之处^[9]。我们可以推测精子运动能力和运动方式与透明质酸酶活性间的不平行性可能与其在附睾发育过程中的不平行性有关,也提示我们在判读精子分析报告时应更多关注精子的 VCL、VSL、VAP 值。本实验显示的运动方式参数 ALH 与透明质酸酶活性也呈一定程度相关性,是否受精液其他因素影响,尚需进一步的研究。

参考文献

- 1 Singer R, Sagiv M, Allalouf D, *et al.* Estimation of hyaluronidase activity of human semen and its relationship with sperm density by means of a simplified method. [J]. Int J Fertil, 1982, 27(3): 176-180
- 2 王珂, 高晓勤. 改良底物膜法对透明质酸酶检测的研究. 中华检验医学杂志, 2007, 30(8): 882-885
- 3 Cui YH, Zhao RL, Wang Q, *et al.* Determination of sperm acrosin activity for evaluation of male fertility. Asia J Androl, 2000, 2(3): 229-232
- 4 周宗瑶. 附睾精子成熟功能研究进展. 生殖与避孕, 2003, 23(4): 238-243
- 5 熊成良, 黄宇烽, 等. 人类精子学. 武汉: 湖北科学技术出版社出版, 2002: 1, 49
- 6 Cherr GN, Yudin AI, Overstreet JW. The dual functions of GPI-anchored PH-20: hyaluronidase and intracellular signaling. Matrix Biol, 2001, 20(8): 515-525
- 7 Yeung CH, Cooper TG, Oberpenning F, *et al.* Changes in movement characteristics of human spermatozoa along the length of the epididymis. Biol Reprod, 1993, 49: 274
- 8 吴立君, 张君慧, 吴明章, 等. 大鼠附睾精子运动调节的有关因子研究. 生殖医学杂志, 1994, 3(1): 36-39
- 9 张宁, 张黎, 丁晓萍, 等. 精子染色体结构分析与精液参数的相关性研究[J]. 中华男科学, 2003, 9(3): 166-169

(收稿: 2010-03-27)

炎症和氧化应激标志物在犬心房颤动模型中的变化及意义

官媛 郑强荪 单兆亮 李运明 郭红阳 张晔

摘要 **目的** 分析犬心房颤动(房颤)模型炎症和氧化应激标志物的动态变化,探讨房颤的发病机制。**方法** 24只杂种犬随机分为快速心房刺激组(RAP)和对照组,每组12只。RAP组给予右心房快速刺激(800次/分),诱发并维持房颤2h。对照组不接受刺激。分别在基础状态、刺激后1h、2h测定右心房ERP和房颤诱发指数(AFII)、血清炎症(TNF- α 、IL-6)和氧化应激标志物(XO、GSH-Px)的水平。**结果** 与对照组相比,①房颤后RAP组右房ERP显著缩短($P < 0.01$);②在刺激1h时,RAP组XO水平即开始显著增高($P < 0.01$),GSH-Px含量显著减少($P < 0.05$),2h时两者分别达到最大和最小值。TNF- α 、IL-6在刺激2h时方出现显著增高($P < 0.05$);③刺激1h和2h的AFII均与XO呈正相关,而与GSH-Px呈显著负相关。刺激1h时,AFII与炎症指标无显著相关,刺激2h时,AFII与IL-6、TNF- α 呈正相关。刺激1h和2h的AERP_{200ms}与AFII呈显著负相关。**结论** 炎症与氧化应激参与了房颤发生和电重构过程,血清氧化应激标志物(XO和GSH-Px)可作为房颤早期预测指标。

关键词 心房颤动 犬 电重构 炎症 氧化应激

The Changes and Significance of Inflammatory and Oxidative Stress Markers in Dog Model of Atrial Fibrillation. Guan Yuan, Zheng Qiangsun, Shan Zhaoliang, Li Yunming, Guo Hongyang, Zhang Ye. Department of Cardiology, Tangdu Hospital, Shanxi 710038, China

Abstract **Objective** To investigate the mechanisms of pathogenesis of AF by analyzing dynamic changes of inflammatory and oxidative stress markers in dog model of AF induced by rapid atrial pacing. **Methods** Twenty-four dogs were randomly divided into rapid atrial pacing (RAP) group and normal control group. In the RAP group the right atrium was paced at 800 bpm to induce and maintain AF for 2 hours. The atrial electrophysiological indexes (AERP, AF induced rate), inflammatory markers (TNF- α , IL-6) and oxidative stress markers (XO, GSH-Px) in serum were measured at different time point (baseline, 1 h and 2 h after pacing). **Results** ①The AERP shortened dramatically and AF induced rate increased significantly after 1 hour pacing in RAP group ($P < 0.01$); ②After 1 hour pacing, in RAP group, the level of oxidative index (XO) increased ($P < 0.01$), while the level of anti-oxidation index (GSH-Px) dropped ($P < 0.05$), and the two indexes reached maximum and minimum respectively at 2h. The levels of TNF- α and IL-6 had no significant changes at 1h, but increased markedly after 2 hours pacing in RAP group. ③At 1h and 2h, the level of both XO and GSH significantly correlated with AF induced rate (XO: $r_{1h} = 0.74$, $P < 0.01$; $r_{2h} = 0.68$, $P < 0.05$; GSH: $r = -0.78$, $P < 0.01$; $r_{2h} = 0.83$, $P < 0.01$). But a significant positive correlation could be found only after 2h pacing between inflammatory markers (TNF- α , IL-6)

作者单位: 710038 西安, 第四军医大学唐都医院心内科(官媛、郑强荪); 100853 北京, 解放军总医院心内科(单兆亮、郭红阳、张晔); 610083 成都军区总医院质量管理科(李运明)

通讯作者: 郑强荪, 电子信箱: zhengfmmu@sina.com