DOI:10.13602/j.cnki.jcls.2021.04.11

· 生殖检验 ·

精液高黏稠性的研究进展*

吴永明,王志强(广西医科大学第一附属医院人类精子库,南宁 530021)

摘要:精液高黏稠性(SHV)能损害精液物理和化学特性,引起亚临床不育。SHV 可由感染、炎症、附属性腺功能障碍和遗传等因素引起。尽管诸多因素已证实与 SHV 存在关联,但 SHV 发生的确切机制仍不清楚。SHV 不但使精液检测过程变得困难、结果出现偏差,还可通过束缚精子活动、损伤精子结构和功能、阻碍精子在女性生殖道正常运行等方式导致生育力降低。该文主要就 SHV 实验室诊断、诱因、危害及治疗进行综述,为开展 SHV 研究提供资料。

关键词:高黏稠性;精液质量;男性不育;精液处理

中图分类号:R446　　**文献标志码**:A

生理情况下,射出体外的精液液化后仍表现出一定抗张强度,称为黏度,这是精液作为非牛顿流体的一种固有属性。当精液黏度过高,呈现黏稠状态时,称为高黏稠性精液(seminal hyperviscosity, SHV)。文献报道 SHV 发生率在 12%~29%之间[1]。Elia 等[2]在一组 SHV 发生率约为 26%的不育人群中,根据拉丝长度将黏稠度分成 3 级(轻度:2~4 cm,中度:4~6 cm,重度:>6 cm),其中轻、中和重度比例分别为 13.1%、6.6%、6.4%。SHV 不但使实验室检测和处理过程变得困难,还可通过束缚精子活动、损伤精子结构和功能等方式导致生育力降低。本文主要就 SHV 的诱因、危害、实验室诊断及处理进行综述,为开展 SHV 研究提供资料。

1　SHV 的诱因

1.1　精浆生化因子　精浆主要由附属性腺(包括附睾、精囊、前列腺及尿道球腺)分泌的液体组成,占精液体积 90%以上。精浆成分对促进精子成熟、游动、核浓缩/解聚、防止活性氧(ROS)攻击以及改善宫颈粘液环境等非常重要。附属性腺器官功能减退/障碍所致的分泌功能异常,会引起精浆生化因子水平变化或组成比例失衡,引起 SHV。Mendeluk 等[3]在 SHV 精浆中检测到丰富的连接有二硫键和寡聚糖链的肽核(the peptide core),提示这些高度组织化蛋白质网络可能有助于精液高黏稠性形成。Emami 等[4]分析精浆组织激肽释放酶家族(KLKs)表达谱,发现液化异常组 KLK2、3、13 和 14 表达水平降低,SHV 组 KLK1、2、5~8、10、13 和 14 下降,提示部分 KLKs 可能同时参与 SHV 和液化异常;有趣的是,作为降解凝胶蛋白关键的酶,KLK3 浓度在 SHV 组正常,仅液化延迟组降低,与之前报道的精浆 KLK3 在 SHV 精液中降低的结果存在冲突[5]。其他精浆生化因子如锌、果糖、碱性磷酸酶(ALP)及叶酸(folic acid)等也被报道与 SHV 发生有关[6-8]。但是文献的研究结果并不完全一致,提示生化因子在 SHV 发生过程中角色的复杂性,甚至可能仍有未知的生化因子在该生理现象中发挥作用。

1.2　感染与炎症　泌尿生殖系统感染后,微生物侵袭引起的炎症和免疫反应、白细胞增多可对附属性腺功能和精液质量产生损伤,并且常伴随精液黏稠度增高或液化不良现象。有学者认为这种现象可能与溶菌酶缺乏、炎症因子和免疫抗体有关[9-11]。但 Munuce 等[12]研究未发现 SHV 和微生物种类或数量、白细胞和抗精子抗体之间存在关联。感染伴随 SHV 的另一机制可能基于中性粒细胞胞外诱捕网(neutrophil extracellular traps, NETs)效应[13]。NETs 是中性粒细胞坏死或凋亡后 DNA 组成的三维纤维网络,其既能捕获固定精液中微生物,又能够束缚精子游动,使精子在摆脱 NETs 纠缠时消耗过多能量。当精液 NETs 增多,DNA 酶被大量消耗,导致精浆酶类降解水平不足时,黏稠性容易增高[14]。

1.3　ROS 因素　氧离子、自由基和过氧化物等活性物质统称为 ROS。生理浓度的 ROS 在精子获能、顶体反应和受精过程中发挥重要作用。当 ROS 含量过高,超过精液抗氧化体系的还原能力时,引起的氧化应激(oxidative stress, OS)反应会导致精子膜脂质过氧化、DNA 及线粒体损伤[15]。研究显示 SHV 精浆中能够检测出较高的 ROS 水平[16-17];同样,作为 ROS 攻击细胞膜产生的脂质过氧化产物,丙二醛(MDA)在 SHV 精液中也相应升高[18],提示 ROS 可能是 SHV 的贡献因素。ROS 促使 SHV 形成可能基于以下机制:(1)有助于精液中粒细胞形成 NETs;(2)有助于精浆蛋白质氨基酸氧化修饰,形成二硫键,引起蛋白质-蛋白质交联聚合;(3)高水平的 MDA 导致蛋白质溶解度降低,部分醛基分子与膜蛋白反应并改变其结构,导致蛋白质之间相互作用改变[16]。

1.4　遗传因素　Rossi 等[19]报道 SHV 患者囊性纤维化跨膜电导调节基因(*CFTR*)中(TG)mTn 等位基因变异频率较高,*CFTR* 基因序列变异可能构成该病遗传基础,SHV 可被认为是囊性纤维化"最小临床表现"。Marques 等[20]运用高通量测序技术分析 KLKs 和 WFDCs 基因家族编码区和非编码

* **基金项目**:广西自然科学基金(2018GXNSFAA050115)。

作者简介:吴永明,1979 年生,男,副主任技师,硕士,从事男科实验室诊断工作,E-mail:wuyongming8088@163.com。

区,发现 2 个基因家族部分位点单核苷酸多态性(SNP)与 SHV 相关。另一篇报道中,他们运用 HLA * PRG:LA 软件分析人类白细胞抗原(HLA)变异与男性不育关系,发现 HLA Ⅰ和 HLA Ⅱ等位基因型均与 SHV 表型相关[21]。与其他致病因素不同,遗传因素导致的 SHV 可能表现为附属性腺功能正常,无感染或炎症症状,并且药物治疗效果不佳,因此临床治疗存在一定程度的挑战。

2　SHV 对精子质量的影响

精子运动能力是保证精子穿过宫颈黏液、精卵相互作用和受精的关键因素。研究显示 SHV 与精子运动参数,如运动性、速度和运动线性呈负相关,这可能由于 SHV 精液中的纤维和黏块状物质产生的捕获效应(trapping effect)对精子运动产生限制作用[14]。Mendeluk 等[22]发现,与正常黏稠度精液相比,高黏稠度精液中活动精子头部侧摆幅度(ALH)较小,对上游处理反应更好,并且精子 ATP 含量更高,提示 SHV 中的精子运动性受到限制,受限的精子 ATP 消耗相对较少。另外,SHV 精浆中锌、果糖等生化因子和 ROS 水平的变化也可能是少弱精子症的相关因素。除降低精子活力,SHV 对精子质量影响还体现在结构和功能方面,如 SHV 精浆中高水平 ROS 容易使精子处于氧化应激状态,导致精子膜脂质过氧化、精子 DNA 碎片率增高、染色质稳定性改变及线粒体等亚细胞结构损伤[23]。

3　SHV 对生育力的影响

精浆能改善精子穿过宫颈黏液的能力,并且在穿透宫颈黏液后维持精子运动中发挥积极作用。SHV 的捕获效应能使精子在女性生殖道中游动变得困难,消耗精子过多能量。另外,黏稠精液中精子表面含量丰富的糖蛋白(这些蛋白质多数由附属性腺合成分泌进入精液,随后整合入精子膜)在精卵结合过程中,能干扰精子与透明带的识别和顶体反应,导致受精率降低和胚胎发育失败。在实施 ART 技术过程中,研究已表明 SHV 精液可引起控制性卵巢过度刺激(COH)和宫内人工授精(IUI)的不良结局,降低 IVF/ICSI 的受精率、妊娠率、着床率,并损害胚胎发育[24]。这可能主要归结于以下几种原因:(1)SHV 精液处理困难,通过密度梯度离心无法获取足够数量的精子;(2)结构和功能受损伤的精子导致不能受精或胚胎发育失败;(3)高黏稠精液中负责高黏度流变行为的糖蛋白分子影响精子获能和顶体反应,导致 ART 不良结局。提示 SHV 可以作为 ART 不良结局、胚胎发育异常以及妊娠失败的预测指标。

4　精液黏稠度检验与处理

4.1　黏稠度实验室检验　WHO 手册第 5 版推荐 2 种简易半定量评估方法:(1)吸管法:用一次性广口径塑料吸管吸入精液,借助重力滴下,若形成超过 2 cm 的拉丝,为黏稠度过高;(2)玻璃棒法:将玻璃棒插入精液后提起,若拉丝长度超过 2 cm,为黏稠度过高。吸管法和玻璃棒法均为半定量的诊断方法,目前在男科实验室被广泛采用。但是这 2 种方法均不能准确测量精液黏稠度,如需精准测量,应建立一种可广泛使用并以黏度国际单位(毫帕斯卡·秒,mPa·S)表示结果的方法。旋转式黏度计和毛细管黏度计目前已被用于研究精液的流变学特征[16]。黏度计虽然具有快速、客观及定量的优点,但分析过程会消耗较多的精液(至少 0.5 ml),作为体积有限的标本,特别在应用于辅助生殖技术(ART)时,推广有所限制。为克服此缺点,Rijnders 等[25]报道一种简便的方法,通过计算精液填充到精子计数池所需时间,定量评估黏度,此法适用于约 89%的精液标本,但仍有 11%的黏稠标本存在填充时间过长或精液标本无法填充现象。总的来看,这些定量方法目前临床运用不多,可能与医学界对精液黏稠指标评估不够重视、定量评估黏稠度耗时费力有关。

4.2　精液黏稠度与不液化/液化延迟的鉴别　精液黏稠度与液化状态均属于精液外观特征,由于 WHO 手册将两者均归类为初步肉眼观察项目,同时对高黏稠精液和不液化/液化延迟标本在检测前的预处理方法相同,容易被初学者混淆。其实,两者内涵和实验室诊断方法差异很大。黏稠度用于描述精液的流变学特征,特点是精液表现为质地均匀的外观,黏稠度不随放置时间变化而变化。而液化是一种蛋白质水解过程,主要指精液凝固后在一系列水解酶等液化因子作用下将束缚精子运动的凝胶蛋白等物质降解。检验方法上,高黏稠度诊断主要依据为载有精液的塑料吸管或玻璃棒在提起时能形成大于 2 cm 的拉丝,评估时机在液化过程完成之后进行。而液化评估有时间限制,主要凭肉眼在一定时间段内观察精液呈团块的胶冻样物质是否变得均质和稀薄,有时需要在显微镜视野下观察精子运动是否受限,评估结果可分为液化、延迟液化和不液化 3 种状态。

4.3　SHV 实验室处理　SHV 对检测结果和临床使用均有影响,因此,需要采用合适的处理技术(包括物理和化学方法)降低黏稠性。WHO 第 5 版推荐的方法有 3 种:(1)加入等体积生理培养液后用加样器反复吹打;(2)精液反复缓慢地通过接在注射器上的 18/19 号钝性针头(6~10 次);(3)应用菠萝蛋白酶消化处理。其他已被报道的方法还包括使用 α-糜蛋白酶和胰蛋白酶等水解酶缓解精液黏稠性[26];最近,有报道对合并感染的高黏稠精液,使用外源性 DNase Ⅰ处理后可显著提高精子质量[27]。以上处理方法一方面有助于在精液分析过程中获得准确的检验结果,指导临床治疗策略;另一方面,在实施 ART 技术中,对回收精子、提高体外受精率也起到至关重要的作用。需要注意的是,这些处理方法对精子结构和功能可能产生影响,其潜在的风险仍需要进一步评估。

5　SHV 的临床治疗

临床治疗中,基于病因以及 SHV 类型不同,SHV 治疗可分为抗炎、抗氧化、补充微量元素等治疗方案。缓解黏稠性药物包括服用如维生素、阿司匹林、胰蛋白酶等;合并生殖道/附属性腺感染患者可联合左氧氟沙星等抗生素治疗。研究表明抗生素治疗轻度 SHV 程度患者效果较为明显,但对中、重度 SHV 的治疗仅能显示出一定的改善,治疗效果不理想[2,17]。另外,随着中医学的发展、中西医结合研究快速

推进,一些中药、中成药或中医技术在治疗精液高黏稠性方面也取得一定效果。

6 总结

SHV 可由感染、炎症、附属性腺功能障碍、OS 和遗传等多种因素引起,并通过束缚精子游动、损伤精子结构和功能等方式降低受精率、妊娠率,引起胚胎发育不良。前期研究虽然取得一定成果,但 SHV 发生和导致不育的机制仍未完全阐明,部分研究结果还存在争议。因此,未来有必要从新的视角开展更深入的研究,包括发生分子机制、实验室对黏稠度分级的精准诊断、临床精准治疗等,以更清楚地阐明 SHV 形成过程以及损害生育力的生理机制。

7 参考文献

[1] Lampiao F, Chisaka J. Incidence and impact of hyperviscosity on sperm parameters of Malawian men seeking assisted reproduction[J]. Afr Health Sci, 2020, 20(1): 1-3.

[2] Elia J, Delfino M, Imbrogno N, *et al*. Human semen hyperviscosity: prevalence, pathogenesis and therapeutic aspects[J]. Asian J Androl, 2009, 11(5): 609-615.

[3] Mendeluk G, González Flecha FL, Castello PR, *et al*. Factors involved in the biochemical etiology of human seminal plasma hyperviscosity[J]. J Androl, 2000, 21(2): 262-267.

[4] Emami N, Scorilas A, Soosaipillai A, *et al*. Association between kallikrein-related peptidases (KLKs) and macroscopic indicators of semen analysis: their relation to sperm motility[J]. Biol Chem, 2009, 390(9): 921-929.

[5] ELzanaty S, Malm J, Giwercman A. Visco-elasticity of seminal fluid in relation to the epididymal and accessory sex gland function and its impact on sperm motility[J]. Int J Androl, 2004, 27(2): 94-100.

[6] 陆金春, 卢坤刚, 张红烨, 等. 精浆果糖速率检测法的初步评价[J]. 临床检验杂志, 2015, 33(1): 6-8.

[7] Mankad M, Sathawara NG, Doshi H, *et al*. Seminal plasma zinc concentration and α-glucosidase activity with respect to semen quality[J]. Biol Trace Elem Res, 2006, 110(2): 97-106.

[8] Collodel G, Nerucci F, Signorini C, *et al*. Associations between biochemical components of human semen with seminal conditions[J]. Syst Biol Reprod Med, 2019, 65(2): 155-163.

[9] Monteiro C, Marques PI, Cavadas B, *et al*. Characterization of microbiota in male infertility cases uncovers differences in seminal hyperviscosity and oligoasthenoteratozoospermia possibly correlated with increased prevalence of infectious bacteria[J]. Am J Reprod Immunol, 2018, 79(6): e12838.

[10] Castiglione R, Salemi M, Vicari LO, *et al*. Relationship of semen hyperviscosity with IL-6, TNF-α, IL-10 and ROS production in seminal plasma of infertile patients with prostatitis and prostato-vesiculitis[J]. Andrologia, 2014, 46(10): 1148-1155.

[11] Cuppett VA, Sikka SC, Naz RK. Presence of PSA antibodies in seminal plasma of infertile men[J]. Front Biosci (Elite Ed), 2017, 9: 258-265.

[12] Munuce MJ, Bregni C, Carizza C, *et al*. Semen culture, leukocytospermia, and the presence of sperm antibodies in seminal hyperviscosity[J]. Arch Androl, 1999, 42(1): 21-28.

[13] Papayannopoulos V. Neutrophil extracellular traps in immunity and disease[J]. Nat Rev Immunol, 2018, 18(2): 134-147.

[14] Zambrano F, Carrau T, Gärtner U, *et al*. Leukocytes coincubated with human sperm trigger classic neutrophil extracellular traps formation, reducing sperm motility[J]. Fertil Steril, 2016, 106(5): 1053-1060.e1.

[15] Aitken RJ. Reactive oxygen species as mediators of sperm capacitation and pathological damage[J]. Mol Reprod Dev, 2017, 84(10): 1039-1052.

[16] Aydemir B, Onaran I, Kiziler AR, *et al*. The influence of oxidative damage on viscosity of seminal fluid in infertile men[J]. J Androl, 2008, 29(1): 41-46.

[17] Vicari LO, Castiglione R, Salemi M, *et al*. Effect of levofloxacin treatment on semen hyperviscosity in chronic bacterial prostatitis patients[J]. Andrologia, 2016, 48(4): 380-388.

[18] Layali I, Tahmasbpour E, Joulaei M, *et al*. Total antioxidant capacity and lipid peroxidation in semen of patient with hyperviscosity[J]. Cell J, 2015, 16(4): 554-559.

[19] Rossi T, Grandoni F, Mazzilli F, *et al*. High frequency of (TG)mTn variant tracts in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene in men with high semen viscosity[J]. Fertil Steril, 2004, 82(5): 1316-1322.

[20] Marques PI, Fonseca F, Carvalho AS, *et al*. Sequence variation at KLK and WFDC clusters and its association to semen hyperviscosity and other male infertility phenotypes[J]. Hum Reprod, 2016, 31(12): 2881-2891.

[21] Marques PI, Gonçalves JC, Monteiro C, *et al*. Semen quality is affected by HLA class I alleles together with sexually transmitted diseases[J]. Andrology, 2019, 7(6): 867-877.

[22] Mendeluk GR, Munuce MJ, Carizza C, *et al*. Sperm motility and ATP content in seminal hyperviscosity[J]. Arch Androl, 1997, 39(3): 223-227.

[23] Lozano-Hernández R, Gualdrón J, Nava D, *et al*. Effect of seminal hyperviscosity on acrosomal integrity and sperm motility before and after cryopreservation[J]. Invest Clin, 2016, 57(3): 267-279.

[24] Esfandiari N, Gotlieb L, Casper RF. Seminal hyperviscosity is associated with poor outcome of controlled ovarian stimulation and intrauterine insemination: a prospective study[J]. Int J Fertil Womens Med, 2006, 51(1): 21-27.

[25] Rijnders S, Bolscher JG, McDonnell J, *et al*. Filling time of a lamellar capillary-filling semen analysis chamber is a rapid, precise, and accurate method to assess viscosity of seminal plasma[J]. J Androl, 2007, 28(4): 461-465.

[26] Panner Selvam MK, Agarwal A, Sharma R, *et al*. Treatment of semen samples with α-chymotrypsin alters the expression pattern of sperm functional proteins-a pilot study[J]. Andrology, 2018, 6(2): 345-350.

[27] Nosi E, Gritzapis AD, Makarounis K, *et al*. Improvement of sperm quality in hyperviscous semen following DNase I treatment[J]. Int J Endocrinol, 2019, 2019: 6325169.

(收稿日期:2021-01-17)
(本文编辑:王海燕)