DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.20.036

内科患贫血的病人分别为28.2%和17.8%。血清蛋白特别是白蛋白是衡量蛋白质营养状况的指标，是营养不良时低蛋白最明显的生化特征，只有在严重蛋白质不足时，白蛋白水平才下降，而对潜在的营养不足的检出价值有限[1]。本组60例(18.8%)病人血清总蛋白低于正常，71例(22.2%)血清白蛋白低于正常。消化内科患者血清总蛋白、白蛋白测量值低于其他科室，这与消化内科患者所患疾病影响营养物质消化吸收及肝脏功能受损有关[2]。总淋巴细胞计数是反应机体免疫功能的一个常用指标，本组病人中，有63例(19.7%)总淋巴细胞计数低于正常值，其中有26例是体质量低于正常者，说明营养不良者常伴有免疫功能低下。以上各项指标改变与所患病种、病情轻重程度有关，与平均住院日无明显关系。尽管以上常规检验指标对判断病人营养状况有较大的局限性，但因操作简单、易行，仍不失为简易而能相对客观地协助判断病人营养状态和随访营养状态变化的有参考价值的指标[3]。

本次住院病人基本营养状况调查显示，住院病人中存在不同程度的营养问题。与前几年国内报道，住院病人中有40%～50%存在营养不良的结果有差异[4]。和以往的调查资料相比，不是单纯的营养不良，而是营养不良和营养过剩同时存在，其原因可能是多方面的，如调查地区、疾病种类、病情严重程度、病程、住院时间长短等可能是影响因素。在积极进行临床营养支持纠正营养不良的同时，也要注意积极宣传普及营养知识，提高群众的营养意识，做到科学、合理的营养，预防与营养过剩有关的常见病、多发病的发生。

关键词：营养；调查；住院病人
中图法分类号：R459.3 文献标识码：B

参考文献：

[1] 蔡东联，陈小莉，胡同杰，等. 脑昏迷患者肠内营养治疗效果观察[J]. 中国临床营养杂志，1999，7(2)：63－65.
[2] 赵昌峻. 临床营养诊断与治疗[M]. 杭州：浙江科学技术出版社，2000. 171－179.
[3] 顾景范，邵继智. 临床营养学[M]. 上海：上海科学技术出版社，1990. 683－684.
[4] 孟铭伦，王化忠，王玉萍. 500例住院患者的营养调查分析[J]. 中国临床营养杂志，1999，7(1)：15－17.

（编辑 陈聪连）

文章编号：1000-5404(2004)20-1885-02

经验交流

Y染色体微缺失与男性不育的关系

Relationship between Y-chromosome microdeletions and male infertility

刘 锋[1]，邓志华[1]，邹 彦[1]，罗开玲[1]，丘 映[1]，兰 玲[2]，陈 芳[2]，谢小薰[2]，罗国容[2]（广西医科大学：[1]第三附属医院生殖医疗中心，[2]基础学院组织胚胎学教研室，南宁 530031）

据WHO调查，在育龄夫妇当中约有10%～15%患者不育，其中因男性少精、弱精、无精子症造成的不育因素约占40%～50%，而精子生成障碍的约占30%。精子生成障碍的原因是多因素的，例如疾病、营养不良、内分泌紊乱、遗传缺陷和环境因素，尤其是遗传缺陷和染色体异常都会引起精子的生成障碍。目前已公认Y染色体的长臂上携带有精子发生所必须的遗传信息，Y染体基因的微缺失，大部分不会造成其它身体上的异常，只会造成男性不育[1]。因此，本研究依靠PCR扩增法进一步探讨Y染色体微缺失与男性不育的关系。

1 资料和方法

1.1 研究对象

本组50例，均为2002年4月至2003年12月在本中心门诊就医的患者。另随机抽取5例有正常生育能力的男性志愿者作对照组。

1.2 研究方法

1.2.1 标本采集 不育症患者每例对象留取精液和血标本。正常对照组仅留取外周静脉血标本。

1.2.2 精液分析 根据WHO精液评估标准(1999年)，将患者分为3组。①无精子症(1组)：所射精液中无精子。精液离心沉淀后计数精子数，若连续2次精子计数均为0，即确定为无精子症。本组12例，占24%。②少、弱精子症(2组)：精子计数≤2×10^6/ml或活动力a+b<25%可确诊为严重少、弱精子症。本组25例，占50%。③不明原因不育症(3组)：反复多次精液检查结果以及女方各方面检查是正常、夫妇婚后两年未避孕不怀孕的。本组13例，占26%。

上述分组病例，每份重复2次以上检测，2次检测间隔时间至少为2周。留取标本前禁欲3～5 d。

1.2.3 外周血染色体核型分析 外周血淋巴细胞培养，常规染色体G显带，镜下分析核型。

1.2.4 DNA的提取 抽取研究对象2 ml外周血加入含肝素抗凝管，按常规(酚-氯仿法)提纯基因组DNA。

引物 引物序列[2,3]由上海生工生物有限公司合成；

作者简介：刘 锋(1956－)，女，山东省邹平县人，副主任技师，主要从事生殖医学以及男性精子的受精功能方面的研究，发表论文15篇。电话：(0771)4824344

收稿日期：2004-05-11；修回日期：2004-09-01

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

sY134 上游引物: ACCACTGCCAAAACTTTCAA, 下游引物: GTCTGCCTCACCATAAAACG, PCR 产物 303 bp;

sY254 上游引物: GGGTGTTACCAGAAGGCAAA, 下游引物: GAACCGTATCTACCAAAGCAGC, PCR 产物 380 bp。

PCR 反应: 取 1 μlDNA 于 30 μl 反应体系, 采用 MBI 公司的 *Taq* DNA 聚合酶进行 PCR。PCR 反应条件为 94 ℃预变性 5 min, 随后均为 94 ℃变性 1 min, 58 ℃退火 1 min, 72 ℃延伸 2 min, 共 35 个循环, 最后于 72 ℃延伸 8 min。每轮 PCR 反应中, 均采用生育男性 DNA 为阳性参照, 同时设正常女性 DNA 为阴性参照, 以排除假阳性的可能性。PCR 反应完毕行 1.5% 琼脂糖凝胶电泳分析。

2 结果

电泳结果见图 1, 在 12 例无精症患者中发现 2 例有 Y 染色体 AZFb 的缺失, 4 例有 Y 染色体 AZFc 的缺失, 4 例有 Y 染色体 AZFb/AZFc 的缺失; 在 25 例少、弱精症患者中发现 9 例有 Y 染色体 AZFb 的缺失, 5 例有 Y 染色体 AZFc 的缺失, 6 例有 Y 染色体 AZFb/AZFc 的缺失; 13 例不明原因不育症患者中发现 3 例有 Y 染色体 AZFb 的缺失, 1 例有 Y 染色体 AZFc 的缺失, 4 例有 Y 染色体 AZFb/AZFc 的缺失。阴性对照未见电泳条带。



M: Marker; 1: 阳性对照; 2: 阴性对照; 3~8: 不育病人

图 1 PCR 产物 1.5% 琼脂糖凝胶电泳

3 讨论

近年来的研究表明, 控制精子生成或称为无精子症因子(azoospermia factor, AZF)的基因位于 Y 染色体长臂。这一区域的异常和大多数原发无精子症的发生有密切相关[4]。有人发现 XO/XY 嵌合体核型的男性不育患者 Y 染色体长臂上荧光着色丢失, 成为"非荧光"染色体, 同时伴有精子发生障碍。因此认为精子发生受到基因的控制。随着分子生物学的发展和进步更多的研究表明: 人类 Y 染色体靠近异常染色质区域的部分缺失, 将导致男性少精和无精的发生。1996 年 Vogt 等[6]将 Y 染色体长臂上主导精子形成的区域分为 AZFa, AZFb AZFc 三区, 这三区染色体上的基因分别主导精子形成过程中的不同阶段, AZFa 的基因主导精母细胞的增生, 故 AZF 基因缺失者在病理诊断现为唯支持细胞综合症(Sertoli cell onloy)。AZFb 基因(DAZ sY134)缺失, 病理诊断为生殖细胞停止成熟; AZFc 区(DAZ sY254)基因缺陷可造成"无精子症", 也可造成精虫极度稀少症。有文献报道, 男性不育症 5.1% 和染色体异常有关, 无精子症病人 15% 和染色体异常有关。对于无精子症病人及精子极度稀少症的病人检查 Y 染色体是否有显微缺失是很有必要。如果发现患者缺少的部位是在 AZFa 和 AZFb 区, 由于没有可能精子的形成, 就没有必要进行睾丸穿刺取精[6], 以避免对患者器官不必要的损伤。如果 Y 染色体基因分析检查发现是 AZFc 缺失症, 则可尝试患者作睾丸穿刺取精行单一精子卵细胞质显微注射技术。

本研究从 Y 染色体 q11 上的 AZF 基因取 sY254, sY134 两个位点来检测基因的微缺失, 在 12 例无精症患者中有 4 例有 sY254 微缺失率(33.33%), 2 例有 sY134 微缺失率(16.67%)。在 25 例少弱精症患者当中 5 例 sY254 微缺失率(20.0%), 9 例 sY134 微缺失率(36.0%)。13 例不明原因不育症中 1 例 sY254 微缺失率(7.6%), 3 例 sY134 微缺失率(23.0%)。其检出的阳性率与男性无精症、严重少弱精子症及不明原因不育密切相关。上述所有病例均来自在本中心接受生殖辅助治疗以及 ICSI 的患者, 故 3/4 患者是少、弱精症或无精子症。

本研究采用是 1 套 2 个 PCR 反应组成的 Y 染色体微缺失的检测方法, 可在相同的反应条件下同时进行。并且具有严格的质控标准, 因而其结果是可靠的。开展该研究的是目的不仅可以为进行辅助生殖技术治疗的不孕夫妇提供遗传咨询, 并为部分男性不育的患者提供了导致其不育的病因的诊断。故检测 SY254, SY134 两个位点对于筛选男性不育和接受人类辅助技术 ICSI 治疗有一定的临床价值。

关键词: Y 染色体; Y 染色体微缺失; 多重聚合酶链反应(PCR)男性不育症; 无精子因子

中图法分类号: R698.202 文献标识码: B

参考文献:

[1] Kent Frist M. The Y chromosome and its role in testis differentiation and spermatogenesis[J]. Semin Reprod Med, 2000, 18(1): 67—80.

[2] Dada R, Gupta NP, Kucheria K. AZF microdeletions associated with idiopathic and non-idiopathic cases with cryptorchidism and varicocele[J]. Asian J Androl, 2002, 4(4): 259—263.

[3] Reijo R, Lee TY, Salo P, *et al*. Diverse spermatogenic defects in humans caused by Y chromosome deletions encompassing a novel RNA-binding protein gene[J]. Nat Genet, 1995, 10(4): 383—393.

[4] 于丛一, 庄广伦, 周灿权. 男性不育患者 Y 染色体微缺失的多重 PCR 筛查[J]. 中山医科大学学报, 2002, 23(4): 265—267.

[5] 熊承良, 吴明章, 刘继红, 等. 人类精子学[M]. 武汉: 湖北科学技术出版社, 2002. 24.

[6] Vogt P H, Edelmann A, Kirsch S, *et al*. Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11[J]. Hum Mol Genet, 1996, 5(7): 933—943.

(编辑 张大春)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net