

硫辛酸联合维生素 E 及左卡尼汀在改善精子 DNA 完整性中的应用

熊敏¹ 白剑¹ 靳镭¹ 谷龙杰²

[摘要] 目的:观察抗氧化剂硫辛酸联合维生素 E 及左卡尼汀在改善精子 DNA 完整性中的作用。方法:本研究共纳入 2020 年 7—12 月因精子 DNA 碎片化指数(DFI)过高在同济医院生殖男科门诊就诊的男性不育患者 84 例,分为硫辛酸组(43 例)和对照组(41 例)。硫辛酸组予以服用硫辛酸胶囊(0.2 g, tid),配合维生素 E 胶囊(100 mg, tid)及左卡尼汀口服液(1 g, tid);对照组仅予以维生素 E 及左卡尼汀口服液治疗,用药 3 个月后复查精液常规及 DFI,比较治疗前后以及组间的差异。结果:治疗后两组患者的精子浓度、精子总数、前向运动精子百分率及正常形态精子百分率较治疗前均有提高,精子 DFI 水平均低于治疗前;两组比较显示,硫辛酸组的 DFI 显著低于对照组(13.68% vs. 25.45%, $P < 0.05$)。结论:在使用维生素 E 和左卡尼汀改善精子 DNA 完整性时,联合使用硫辛酸可获得更好的疗效。

[关键词] 硫辛酸;精子;DNA 完整性;抗氧化剂;男性不育

DOI:10.13201/j.issn.1001-1420.2022.03.012

[中图分类号] R697 **[文献标志码]** A

Effect of lipoic acid combined with vitamin E and L-carnitine in improving sperm DNA integrity

XIONG Min¹ BAI Jian¹ JIN Lei¹ GU Longjie²

(¹Reproductive Medicine Center, Tongji Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, 430030, China; ²Department of Urology, Tongji Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology)

Corresponding author: GU Longjie, E-mail: gulongj@163.com

Abstract Objective: To investigate the effect of antioxidant lipoic acid (LA) combined with vitamin E and L-carnitine in improving sperm DNA integrity. **Methods:** Eighty-four men visiting andrology office in Reproductive Medicine Center of Tongji Hospital between July and December in 2020 because of infertility and an elevated sperm DNA fragmentation index (DFI) were divided into LA group ($n=43$) and the control group ($n=41$) according to whether or not LA (0.2 g, tid) were added to the conventional treatment using vitamin E (100 mg, tid) and L-carnitine (1 g, tid). The treatment lasted for 3 months and then semen were examined for conventional parameters and DFI. **Results:** Semen parameters such as concentration, total count, progressive motility, normal morphology were elevated and DFI were reduced in both groups. In LA group, the level of DFI after treatment was significantly lower than in control group. **Conclusion:** Better effect may be achieved by adding lipid acid when using vitamin E and L-carnitine to improve sperm DNA integrity.

Key words lipoic acid; sperm; DNA integrity; antioxidant; male infertility

良好的精液质量是男性生育能力的物质基础, DNA 是精子中遗传信息的载体,其完整性是精液质量的重要方面。研究显示,精子 DNA 完整性受损与男性不育、复发性流产以及辅助生殖治疗失败存在密切关联^[1]。一般认为氧化应激是精子 DNA 完整性降低的重要机制,故临床多采用维生素 E、左卡尼汀等抗氧化剂进行经验性治疗^[2],但有时效果并不满意。硫辛酸是具有强大的抗氧化活性的药物,临床用途广泛,近年来有研究提示硫辛酸可保护生殖系统、改善精子质量^[3],但目前临床研究

数据不多,为此我们尝试将硫辛酸用于改善精子 DNA 完整性,获得了一定的效果,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

本研究共纳入 2020 年 7—12 月在同济医院生殖男科门诊就诊的男性不育患者 84 例。纳入标准:①患者年龄 20~40 岁,计划自然受孕,用药依从性好;②精液常规分析提示,在正常参数精液或轻中度少弱畸形精子症,精子总数 $\geq 30 \times 10^6$ /次射精,前向运动精子百分率 $\geq 25\%$,正常形态精子百分率 $\geq 2\%$;③连续 2 次检测精子 DNA 显示 DNA 碎片化指数(DNA fragment index, DFI) $\geq 25\%$;④双侧睾丸体积及血清性激素水平在正常范围。排除标准:①存在精索静脉曲张并计划近期行手术

¹华中科技大学同济医学院附属同济医院生殖医学中心(武汉,430030)

²华中科技大学同济医学院附属同济医院泌尿外科
通信作者:谷龙杰, E-mail: gulongj@163.com

治疗;②存在生殖道炎症,正在用药物或计划用药物治疗;③存在染色体核型异常、Y 染色体微缺失遗传学因素;④存在吸烟≥10 支/d,或长期在高温、辐射环境中工作等不良因素;⑤就诊前 3 个月内在服用其他可能影响精子 DNA 完整性的药物。

1.2 治疗方法

在患者充分知情的基础上,根据患者个人意愿分为硫辛酸组和对照组,其中对照组予以维生素 E 软胶囊(100 mg, tid)及左卡尼汀口服液(1 g, tid)口服治疗,硫辛酸组患者除同样予以同样剂量的维生素 E 软胶囊及左卡尼汀口服液之外,另加用硫辛酸胶囊(0.2 g, tid)口服。两组患者均连续用药 90 d,复查精液常规及精子 DNA 完整性,将检测结果与治疗前进行比较,并比较组间差异。

1.3 精液的检测

治疗前后的精液检测均在我院男科实验室完成,精液的采集及常规分析参照《WHO 人类精液分析与处理手册(第五版)》进行。患者禁欲 2~7 d 后,手淫法完整采集精液于洁净的一次性专用容器中,置 37℃ 温箱待其完全液化,射精后 60 min 内完成精液常规分析;剩余的精液标本用于精子 DNA 完整性的检测,采用深圳博锐德公司的精子 DNA 碎片检测试剂盒(SCD 法)于射精后 6 h 以内完成检测,操作方法严格按照试剂盒说明书进行。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 20.0 统计软件对数据进行分析,符

合正态分布的计量资料以 $\bar{X} \pm S$ 表示,采用独立样本 *t* 检验,不符合正态分布的计量资料以中位数(四分位间距)表示,采用秩和检验分析;计数资料以例表示,比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

本研究共纳入男性不育患者 84 例作为研究对象,其中硫辛酸组 43 例,对照组 41 例。两组患者的年龄分别为(28.3±2.5)岁和(29.2±2.0)岁,体重指数(BMI)分别为(24.82±1.85) kg/m² 和(25.03±1.98) kg/m²,两组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。药物治疗前,两组患者的精液体积、精子浓度、精子总数、前向运动精子百分率、正常形态精子百分率及精子 DFI 比较差异无统计学意义。药物治疗 3 个月后复查结果显示,除了精液体积较治疗前未见显著差异外,精子浓度、精子总数、前向运动精子百分率、正常形态精子百分率等各项参数有显著提高,而精子 DFI 均有降低,两组患者治疗前后比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。两组患者治疗后的精液参数相比,硫辛酸组患者的正常形态精子百分率更高、精子 DFI 更低,差异有统计学意义($P < 0.05$),而精液体积、精子浓度、精子总数、前向运动精子百分率则未见显著差异。两组患者均能够坚持按时按量用药,均未发现与药物相关的不良反应。见表 1。

表 1 两组患者治疗前后精液参数的比较

指标	硫辛酸组(n=43)		对照组(n=41)		P ₁	P ₂	P ₃	P ₄
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后				
精液体积/mL	2.86±1.38	3.01±2.00	2.83±1.76	3.15±1.69	0.532	0.136	0.094	0.361
精子浓度/(×10 ⁶ ·mL ⁻¹)	16.96(5.85)	24.52(6.72)	18.03(5.94)	23.90(7.23)	0.197	0.028	0.032	0.427
精子总数/(×10 ⁶ /次射精)	38.65(13.62)	71.99(21.38)	36.76(14.08)	68.74(20.56)	0.329	0.031	0.036	0.156
前向运动精子百分率/%	31.85(6.58)	58.93(11.66)	29.86(5.32)	53.62(10.89)	0.281	0.010	0.017	0.086
正常形态精子百分率/%	4.38±0.67	7.68±1.12	3.92±0.81	5.84±0.98	0.094	0.015	0.021	0.048
精子 DFI/%	35.62±10.55	13.68±7.4	36.11±11.86	25.45±8.85	0.121	0.008	0.013	0.024

注:P₁:硫辛酸组治疗前与对照组治疗前比较;P₂:硫辛酸组治疗前与治疗后比较;P₃:对照组治疗前与治疗后比较;P₄:硫辛酸组治疗后与对照组治疗后比较。

3 讨论

精液质量在男性生殖中的重要性不言而喻,临床通常采用精液常规分析测定男性的精液体积、精子浓度、精子总数、前向运动精子百分率及正常形态精子百分率等指标,借以评估男性生育能力^[4]。近年来多项研究提示,精子染色质,特别是 DNA 的状态,对生育结局也具有显著的影响,可能与男性不育、配偶复发性流产及辅助生殖治疗失败存在密切关联^[1,5]。医生和患者都更加关注精子 DNA 完整性的检测。

作为人体内体积最小的细胞,成熟精子的主要生理作用是把男性遗传信息完整准确地运送到配偶体内,因此,精子形成了与一般体细胞显著不同的、具有独特的高度压缩结构的染色质,这种结构的形成可以保护精子 DNA 免受外界危害因素的影响,但同时也导致精子失去了修复已有的 DNA 损伤的能力^[6]。在精子发育过程中,因各种内外因素所导致的 DNA 链的损伤,只有当精子与配偶的卵细胞结合后,才有机会由卵细胞内的修复系统予以修复,当精子 DNA 损伤过于严重时,就可能导

致不良的妊娠结局。目前常用的精子 DNA 检测技术有流式细胞术、SCD 试验、TUNEL、彗星试验等,其中流式细胞术和 SCD 试验因相对方便廉价而常用于临床诊疗,这 2 种技术均采用 DFI 作为衡量 DNA 损伤程度的指标,DFI 是精液中存在 DNA 链断裂的精子在全部精子中所占的比例,DFI 越高,代表精子 DNA 损伤越严重,精子 DNA 完整性越差,反之,DFI 降低则代表精子 DNA 完整性获得改善^[7-8]。精子 DNA 损伤的危险因素很多,如精索静脉曲张^[9]、感染^[10]、高温^[11]、吸烟^[12]等,精浆 microRNA 的改变^[13]、细胞凋亡异常以及氧化应激等可能参与精子 DNA 损伤的发生,其中氧化应激被认为是各种危险因素作用的共同通路^[14]。基于这一原理,临床上通常采用抗氧化剂类药物治疗精子 DNA 完整性异常^[2,15]。

硫辛酸是目前已知的活性最强的天然抗氧化剂之一,兼具脂溶性和水溶性,能够自由透过细胞膜,在多个器官发挥作用,临床上常用于肝病、心血管疾病、糖尿病及其并发症等系统疾病的治疗,泌尿外科则常将该药物用于治疗糖尿病引起的勃起功能障碍^[16-17]。近年来也有研究尝试用硫辛酸改善精子质量,Abbasi 等^[18]报道补充硫辛酸有利于精索静脉曲张术后患者精液质量的提高,国内张国巍等^[19]则报道硫辛酸可保护实验大鼠的生殖系统、提高精子质量。

本研究纳入了一组因精子 DFI 过高而就诊的男性,为避免因药物以外的因素改变而影响对疗效的判断,我们将近期可能进行精索静脉曲张手术、治疗生殖道炎症或改变不良工作环境和生活习惯的患者排除在外;两组患者均予以维生素 E 胶囊和左卡尼汀口服液治疗,这 2 种药物都具有一定的抗氧化活性,是临床治疗精子 DFI 过高的常用药物,在患者充分知情的基础上由患者自行决定是否加用硫辛酸,从而避免了患者在治疗中途任意改变治疗方案,维护了研究结果的可靠性。结果显示,与治疗前相比,两组患者精子常规参数及精子 DFI 均获得一定程度的改善,对照组中精子浓度、总数、前向运动精子百分率、正常形态精子百分率及精子 DFI 均有明显改善,显示维生素 E 和左卡尼汀在规范用药的情况下可获得不错的疗效,而在硫辛酸组,治疗后精子 DFI 下降更为明显,其他指标则差异不大,提示在常规使用维生素 E 及左卡尼汀的基础上,加用硫辛酸对于保护精子 DNA 完整性,具有更强的作用。

综上所述,本研究获得了采用硫辛酸胶囊治疗精子 DFI 过高的初步数据,提示硫辛酸在改善精子 DNA 完整性方面可能具有一定的应用价值,在临床诊治与精子 DFI 过高相关的男性不育患者时,尝试使用硫辛酸有望获得更好的效果;但由于本研究

存在一定的局限性,病例数量较少,观察时间不长,而且由于客观条件的限制而未采取随机、双盲的设计,所以对研究结果的解读应慎重,临时应用硫辛酸治疗时需要向患者详细讲解药物的机理、可能的疗效及潜在的不良后果,在争取患者知情同意的前提下使用。在将来的工作中,有必要开展更加严谨的大样本的前瞻性对照研究来进一步探讨硫辛酸在改善精液质量中的应用价值。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Agarwal A, Majzoub A, Baskaran S, et al. Sperm DNA Fragmentation: A New Guideline for Clinicians [J]. *World J Mens Health*, 2020, 38(4): 412-471.
- [2] Esteves SC, Santi D, Simoni M. An update on clinical and surgical interventions to reduce sperm DNA fragmentation in infertile men [J]. *Andrology*, 2020, 8(1): 53-81.
- [3] Di Tucci C, Galati G, Mattei G, et al. The role of alpha lipoic acid in female and male infertility: a systematic review [J]. *Gynecol Endocrinol*, 2021, 37(6): 497-505.
- [4] Carson SA, Kallen AN. Diagnosis and Management of Infertility: A Review [J]. *JAMA*, 2021, 326(1): 65-76.
- [5] Vončina SM, Stenqvist A, Bungum M, et al. Sperm DNA fragmentation index and cumulative live birth rate in a cohort of 2,713 couples undergoing assisted reproduction treatment [J]. *Fertil Steril*, 2021, 116(6): 1483-1490.
- [6] Hao SL, Ni FD, Yang WX. The dynamics and regulation of chromatin remodeling during spermiogenesis [J]. *Gene*, 2019, 706: 201-210.
- [7] Dutta S, Henkel R, Agarwal A. Comparative analysis of tests used to assess sperm chromatin integrity and DNA fragmentation [J]. *Andrologia*, 2021, 53(2): e13718.
- [8] Martinez M, Majzoub A. Best laboratory practices and therapeutic interventions to reduce sperm DNA damage [J]. *Andrologia*, 2021, 53(2): e13736.
- [9] Qiu D, Shi Q, Pan L. Efficacy of varicocelelectomy for sperm DNA integrity improvement: A meta-analysis [J]. *Andrologia*, 2021, 53(1): e13885.
- [10] Eini F, Kutenaie MA, Zareei F, et al. Effect of bacterial infection on sperm quality and DNA fragmentation in subfertile men with Leukocytospermia [J]. *BMC Mol Cell Biol*, 2021, 22(1): 42.
- [11] Houston BJ, Nixon B, Martin JH, et al. Heat exposure induces oxidative stress and DNA damage in the male germ line [J]. *Biol Reprod*, 2018, 98(4): 593-606.
- [12] Mostafa RM, Nasrallah YS, Hassan MM, et al. The effect of cigarette smoking on human seminal parameters, sperm chromatin structure and condensation [J]. *Andrologia*, 2018, 50(3): 8.

- completely mobilize the kidney in retroperitoneoscopic renal pedicle lymphatic disconnection for intractable chyluria [J]. *Int Urol Nephrol*, 2016, 48 (10): 1565-1569.
- [3] 张旭,叶章群,陈志强,等.经后腹腔镜肾蒂淋巴管结扎术治疗乳糜尿[J].*中华泌尿外科杂志*,2003,24(2):90-92.
- [4] Tomisaki I, Hamasuna R, Fujimoto N. An Effective Case for Chyluria by Retroperitoneoscopic Lymphatic Disconnection[J]. *J Endourol Case Rep*, 2016, 2(1): 78-80.
- [5] 李仁举.乳糜尿手术治疗的现状[J].*微创泌尿外科杂志*,2018,7(2):131-134.
- [6] Tang L, Yu DX, Fang WH, et al. Modified technique of renal pedicle lymphatic disconnection for chyluria through the laparoscopic surgery[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2014, 7(9): 2916-2920.
- [7] You W, Luan B, Cheng T, et al. The efficacy and safety of retroperitoneoscopic renal pedicle ligation of lymphatic disconnection versus open surgery in the treatment of chyluria: A systematic review and meta-analysis[J]. *Clin Nephrol*, 2019, 91(4): 211-221.
- [8] 程天飞,饶浩富,游万祥,等.后腹腔镜与开放式肾蒂淋巴管结扎术治疗乳糜尿的临床效果比较[J].*中国内镜杂志*,2019,25(3):1-5.
- [9] Liu B, Zhang J, Li J, et al. Modified retroperitoneoscopic renal pedicle lymphatic disconnection for intractable chyluria [J]. *Urology*, 2014, 83 (5): 1195-1198.
- [10] 叶雄俊,钟文龙,熊六林,等.后腹腔镜肾脂肪囊外肾蒂淋巴管结扎术治疗乳糜尿的疗效分析[J].*北京大学学报(医学版)*,2016,48(4):618-621.
- [11] Zhang YD, Cao RF, Jiang ZJ. The approach of retroperitoneal laparoscopic partial dissection of adipose renal capsule plus ligation of renal pedicle lymphatic vessels to the treatment of chyluria[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2016, 20(24): 5033-5036.
- [12] Tung J, Chen K, Sim A. Indocyanine green-guided laparoscopic renal pedicle lymphatic disconnection: A novel, targeted treatment for chyluria [J]. *Int Braz J Urol*, 2019, 45(5): 1075.
- [13] Zhang CJ, Chen RF, Sun XQ, et al. Comparison of two approaches to retroperitoneoscopic renal pedicle lymphatic disconnection for chyluria [J]. *J Endourol*, 2011, 25(7): 1161-1165.
- [14] Assouad J, Riquet M, Foucault C, et al. Renal lymphatic drainage and thoracic duct connections: implications for cancer spread[J]. *Lymphology*, 2006, 39(1): 26-32.
- [15] 张银高,王行环,曾俊,等.乳糜尿肾周淋巴管分布规律及临床意义[J].*中华实验外科杂志*,2014,31(7): 1597-1600.

(收稿日期:2021-06-19)

(上接第217页)

- [13] 纪汉斌,何秋霞,陈双凤,等. microRNAs 对精子发生及不育的影响[J].*临床泌尿外科杂志*,2021,36(11): 915-918.
- [14] Bisht S, Faiq M, Tolahunase M, et al. Oxidative stress and male infertility[J]. *Nat Rev Urol*, 2017, 14(8): 470-485.
- [15] Salehi P, Zahra Shahrokhi S, Kamran T, et al. Effect of antioxidant therapy on the sperm DNA integrity improvement; a longitudinal cohort study[J]. *Int J Reprod Biomed*, 2019, 17(2): 99-106.
- [16] 张国巍,刘玮. 硫辛酸在男性生殖中的研究进展[J].*中华男科学杂志*,2017,23(1):82-86.
- [17] Jeffrey S, Samraj PI, Raj BS. The Role of Alpha-lipoic Acid Supplementation in the Prevention of Diabetes Complications: A Comprehensive Review of Clinical Trials [J]. *Curr Diabetes Rev*, 2021, 17(9): e011821190404.
- [18] Abbasi B, Molavi N, Tavalae M, et al. Alpha-lipoic acid improves sperm motility in infertile men after varicocelelectomy: a triple-blind randomized controlled trial[J]. *Reprod Biomed Online*, 2020, 41(6): 1084-1091.
- [19] 张国巍,万秀霞,万长春,等. 硫辛酸对奥硝唑所致少弱精子症大鼠精子发生的保护作用研究[J].*中华男科学杂志*,2018,24(4):297-303.

(收稿日期:2021-08-20)