

DOI:10.3724/SP.J.1008.2010.00767

男性不育患者精浆中游离睾酮、游离左旋肉碱水平与精液参数的相关性分析

柳建明¹, 姜辉^{1*}, 洪镒¹, 赵连明¹, 唐凌峰¹, 刘德凤¹, 马路林¹, 赵一鸣²

1. 北京大学第三医院泌尿外科, 北京 100191

2. 北京大学第三医院临床流行病学研究中心, 北京 100191

[摘要] **目的** 分析男性不育患者精浆中游离睾酮和游离左旋肉碱水平与精子密度、活动率和活力参数间的相关性, 探讨二者对男性生育力的影响及在不育症检查和治疗中的作用。**方法** 分别采用化学发光免疫分析法、液相色谱-质谱/质谱联用技术和计算机辅助精液分析系统, 测定 192 例不育男性(正常精液组 36 例, 少精组 48 例, 弱精组 60 例, 少弱精组 48 例)精浆中游离睾酮、游离左旋肉碱水平及精子密度、活动率、活力等参数。采用 SPSS 13.0 软件包进行统计处理, 分析各组游离睾酮和游离左旋肉碱水平的差异以及游离睾酮和游离左旋肉碱水平与精子密度、活动率、活力间的相关性。**结果** 正常精液组游离睾酮和游离左旋肉碱水平高于其他 3 组($P < 0.05$)。相关性分析结果显示: 精浆中游离睾酮水平与精子密度存在正相关关系($r = 0.427, P < 0.05$), 精浆游离左旋肉碱水平与精子密度存在正相关关系($r = 0.318, P < 0.01$), 精浆中游离左旋肉碱水平与精子活动率及活力间呈现正相关关系($r = 0.641, P < 0.01; r = 0.568, P < 0.01$)。**结论** 精浆中游离睾酮水平与精子密度正相关, 游离左旋肉碱水平与精子密度、活动率、活力正相关, 二者可作为一项有效的生化指标, 为男性不育症临床诊治提供参考。

[关键词] 男性不育; 睾酮; 左旋肉碱; 精子

[中图分类号] R 698.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2010)07-0767-03

Correlation analysis of seminal plasma free testosterone and L-carnitine with semen parameters

LIU Jian-ming¹, JIANG Hui^{1*}, HONG Kai¹, ZHAO Lian-ming¹, TANG Ling-feng¹, LIU De-feng¹, MA Lu-lin¹, ZHAO Yi-ming²

1. Department of Urology and Andrology, Third Hospital of Peking University, Beijing 100191, China

2. Center of Clinical Epidemiology, Third Hospital of Peking University, Beijing 100191, China

[Abstract] **Objective** To analyze the correlation of seminal plasma free testosterone and free L-carnitine with semen density, vitality, and motility, so as to investigate their effects on male fertility and their roles in the examination and treatment of male infertility. **Methods** Using chemiluminescence immunoassay method, LC-MS-MS and computer-assisted semen analysis system, we examined the seminal levels of free testosterone, free L-carnitine and sperm density, vitality, and motility in 192 infertile males (normozoospermia, $n = 36$; oligozoospermia, $n = 48$; asthenozoospermia, $n = 60$; and oligoasthenozoospermia, $n = 48$). The difference of free testosterone and free L-carnitine levels between different groups was analyzed, and the correlation of their levels with semen density, vitality, and motility was also analyzed using the SPSS 13.0 statistical software. **Results** The levels of free testosterone and free L-carnitine in the seminal plasma of the normozoospermia men were significantly higher than those of others ($P < 0.05$). Correlation analysis showed that there was positive correlation between seminal free testosterone with the sperm density ($r = 0.427, P < 0.05$), seminal free L-carnitine with the sperm density ($r = 0.318, P < 0.01$), and seminal free L-carnitine with sperm vitality, motility ($r = 0.641, P < 0.01; r = 0.568, P < 0.01$). **Conclusion** Seminal free testosterone level is correlated with the sperm density, and seminal free L-carnitine level is correlated with sperm density, motility and vitality; both levels can be taken as a biochemical index for the clinical diagnosis and treatment of male infertility.

[Key words] male infertility; testosterone; L-carnitine; spermatozoa

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2010, 31(7):767-769]

睾酮是人类男子最丰富和重要的雄激素, 人睾丸内的雄激素浓度比血浓度高 50~100 倍, 睾酮分为游离睾酮和结合睾酮, 有生物活性的是游离睾酮。

在睾丸生精过程中, 需要游离睾酮启动和维持生精^[1]。游离左旋肉碱是参与脂肪酸 β -氧化的重要成分, 对于男性生殖有着重要作用, 精液中游离左旋肉

[收稿日期] 2010-01-25 **[接受日期]** 2010-04-01

[作者简介] 柳建明, 硕士生. E-mail: liujianming1226@163.com

* 通讯作者(Corresponding author). Tel: 010-82329673, E-mail: jianghui55@163.com

碱主要在附睾中高度富集,直接影响着精子的成熟和代谢过程^[2]。有研究表明,少精子症患者精浆游离睾酮水平低于正常生育男性^[3],精浆游离左旋肉碱与精子活力相关^[4]。近年来,应用睾酮及左旋肉碱对于改善和治疗部分男性不育症的临床应用已引起很多专家的重视^[5]。本研究测定了192例男性不育症患者精浆中游离睾酮和游离左旋肉碱水平及精子密度、活动率和活力参数,分析游离睾酮、游离左旋肉碱水平与精子密度、活动率和活力参数间的相关性,探讨二者对男性生育力的影响及在不育症检查和治疗中的可能作用。

1 材料和方法

1.1 主要仪器及试剂 精浆游离睾酮测定采用 Immulite1000 分析仪(天津德普诊断产品有限公司),化学发光免疫试剂盒代码为 LKTW,质量控制为批内差异 $<10\%$,批间差异 $<15\%$ 。精浆游离左旋肉碱测定采用 Agilent6400 系列三重四极串联液/质联用仪(美国 Agilent 公司),Masshunter 色谱数据工作站进行数据采集及计算。精液常规分析采用 WLJY-9000 型计算机辅助精液分析系统(北京伟力新世纪科技发展有限公司)。左旋肉碱(纯度:98%)标准品购自 Sigma 公司。衍生试剂购自日本东京化成株式会社。试验中所用乙腈、甲醇为色谱纯级试剂,其余试剂为分析纯级试剂。试验用水为超纯水。

1.2 实验对象及分组 本院男科门诊不育症男性患者 192 例,年龄 21~40 岁,平均(31.4±4.7)岁,不育的诊断标准为:婚后同居 1 年及以上、夫妻性生活正常,未采取避孕措施而未育者。同时排除流行性腮腺炎病史、隐睾症及睾丸炎、内分泌疾病及其他慢性疾病、接受过放疗或化疗、无精子症及精子形态异常的患者。少弱精症的诊断以世界卫生组织(WHO)编写的《人类精液实验室检验手册》第 5 版为标准,即精子密度 $\geq 20 \times 10^6/\text{ml}$ 为密度正常,a 级精子百分率 $\geq 25\%$ 或 a+b 级精子百分率 $\geq 50\%$ 为活力正常^[6]。根据精液常规检查结果将患者分为 A 组(正常精液组)36 例,B 组(少精组)48 例,C 组(弱精组)60 例和 D 组(少弱精组)48 例。

1.3 精液采集及常规检查 所有研究对象均禁欲 2~7 d 以上,手淫法留取标本于洁净的玻璃容器中,液化后取 5 μl 进行精液常规分析。其余精液离心 10 min,吸取上层精浆存于 -20°C 冰箱中待测。精液常规检查:采用瑞-吉染色镜检观察精液样本精子形态。以 CASA 系统分析各组精液的精子密度、活动率(a+b+c 级精子百分率)、活力(a+b 级精子百分率)等参数,每份标本均观测 6 个视野。

1.4 精浆游离睾酮、游离左旋肉碱的检测 采用竞争法化学发光免疫分析(CLIA)检测精浆中游离睾酮,操作方法按照 Immulite 1000 操作手册进行实验的准备、设置、稀释、校正、检测以及质控程序。游离左旋肉碱采用液相色谱-质谱/质谱联用技术(LC-MS/MS)检测。LC-MS/MS 是液相色谱技术与质谱技术的有效结合,以 HPLC 为分离手段,MS 为检测器,集 LC 的高分离能力与 MS 的高灵敏度、高特异性于一体。取已经离心好 -20°C 保存的精浆融化去除蛋白质杂质,取 0.4 ml 精浆置于进样小瓶,放入 LC-MS/MS 仪器中进行高通量的定量分析,再对仪器报告结果进行自动化数据处理获得结果。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 13.0 软件包,计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。正常精液组及其他组分析采用独立样本 *t* 检验,组间分析采用单因素方差分析。精浆中游离睾酮和游离左旋肉碱水平与精子密度、活动率、活力间相关性分析采用 Pearson 相关系数法并进行显著性检验。检验水平(α)为 0.05。

2 结果

2.1 各组精浆游离睾酮、游离肉碱水平的比较 结果(表 1)表明:与 A 组或 C 组相比,B、D 组患者精浆中游离睾酮水平均降低,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。与 A 组相比,B~D 组患者精浆中游离左旋肉碱水平均明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);B 组与 C 组差异亦有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1 各组患者精浆游离睾酮和游离左旋肉碱水平的比较

Tab 1 Comparison of free testosterone and free L-carnitine concentrations among different groups

Group	Free testosterone $c_B/(\text{pmol} \cdot \text{L}^{-1})$	Free L-carnitine $\rho_B/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$
A($n=36$)	2.26±0.31	60.87±31.33
B($n=48$)	0.58±0.11*	43.98±21.74*
C($n=60$)	2.19±0.27 Δ	28.80±12.65** Δ
D($n=48$)	0.56±0.14*	34.14±14.80** Δ

Group A: Normozoospermia; Group B: Oligozoospermia; Group C: Asthenozoospermia; Group D: Oligoasthenozoospermia. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs group A; $\Delta P < 0.05$ vs group B

2.2 精浆游离睾酮和游离左旋肉碱与精液参数相关性分析 结果(表 2)表明:精浆游离睾酮水平与精子密度存在正相关关系($r=0.427, P < 0.05$),精浆游离左旋肉碱水平与精子密度也存在正相关关系($P < 0.01$)。精浆游离睾酮水平与精子活动率及活力

间无相关性;精浆游离左旋肉碱水平与精子活动率及活力间呈现正相关关系($P < 0.01$)。

表2 精浆游离睾酮和游离左旋肉碱与精液参数相关性分析

Tab 2 Correlation analysis of free testosterone and L-carnitine concentrations with seminal parameters

Index	Free testosterone	Free L-carnitine
Sperm density		
<i>r</i>	0.427	0.318
<i>P</i>	0.026	0.000
Sperm vitality		
<i>r</i>	0.358	0.641
<i>P</i>	0.093	0.000
Sperm motility		
<i>r</i>	0.404	0.568
<i>P</i>	0.119	0.000

3 讨论

睾酮在启动和维持生精过程中发挥着重要作用。睾酮对生精过程的调控主要是通过支持细胞来完成的。睾酮自间质细胞分泌后,可经支持细胞进入曲细精管,睾酮直接或先转变为活性更强的双氢睾酮,与生精细胞的雄激素受体结合,促进精子生成。支持细胞在FSH的作用下,可产生对睾酮和双氢睾酮亲和性很强的雄激素结合蛋白(ABP),ABP与睾酮或双氢睾酮结合后,转运至曲细精管,提高雄激素在曲细精管的局部浓度,有利于生精过程^[1]。本研究结果显示,与正常精液组、弱精子组相比,少精子组、少弱精子组精浆游离睾酮水平均明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。相关性分析结果显示,精浆中游离睾酮水平与精子密度间存在正相关关系。侯开波等^[7]研究表明,联合应用他莫西芬和十一酸睾酮可以明显提高精子密度,改善精液质量。

精子生成后并不具备运动及受精能力,需在附睾中成熟及获得运动能力。精子获得能量的主要来源是脂肪酸氧化,而精浆中左旋肉碱在脂类氧化代谢过程中起着重要作用。左旋肉碱存在于线粒体内膜中,是线粒体膜上唯一的活化脂肪酸载体,其主要功能是携带、转运活化的脂肪酸,特别是长链脂肪酸穿越线粒体膜,进入线粒体内进行 β -氧化和三羧酸循环反应,为体内各种代谢过程,包括精子的成熟和代谢过程提供能量^[8]。在男性生殖道中,左旋肉碱高浓度集中于附睾,并主要以游离态形式存在。附睾本身不具有合成肉碱的功能,绝大部分由附睾上皮的肉碱转运蛋白从血液中将肉碱主动转运至附

睾,但左旋肉碱在附睾中的浓度远高于血浆水平,以保证精子代谢和成熟过程中对能量的需求^[9]。本研究结果显示,与正常精液组相比,少精子组、弱精子组及少弱精子组精浆游离左旋肉碱水平均明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。相关性分析结果也显示,精浆中游离左旋肉碱水平与精子密度、精子活动率和活力间存在正相关关系。有研究发现,不育患者精浆中肉碱浓度和总量低于正常人,肉碱与精子密度、活动率、正常形态精子百分率等精液参数之间存在相关性^[10]。

本研究提示,精浆中游离睾酮及游离左旋肉碱水平与精子的发生、成熟和代谢过程密切相关,通过提高精浆中游离睾酮水平有助于提高精子密度,提高精浆中左旋肉碱水平有助于提高精子密度,增加精子活动率和活力。这为临床采用外源性补充睾酮和(或)左旋肉碱治疗和改善某些由于雄激素水平低下、肉碱摄入机制紊乱或外源性肉碱补充不足造成的男性不育提供了指导。在男性不育检查中,精浆中游离睾酮和游离左旋肉碱水平测定可作为一项有效的生化指标,为男性不育症检查、临床诊治及有关男性生殖功能机制研究提供参考。

[参考文献]

- [1] Kliesch S. Testosterone and infertility[J]. Urologe A, 2010, 49: 32-36.
- [2] 商学军,王修来,黄宇烽. 肉碱与男性生殖[J]. 中华男科学杂志, 2006, 12: 726-729.
- [3] 王国洪,许瑞吉,张中书,王筱劫. 少精子症患者血清、精浆中游离睾酮水平的测定及意义[J]. 中华男科学杂志, 2004, 10: 684-685.
- [4] 龚东明,白双勇,李 铮. 左旋肉碱治疗男子不育症研究进展[J]. 生殖与避孕杂志, 2007, 27: B141-B144.
- [5] Zhou X, Liu F, Zhai S. Effect of L-carnitine and/or L-acetylcarnitine in nutrition treatment for male infertility: a systematic review[J]. Asia Pac J Clin Nutr, 2007, 16(Suppl 1): 383-390.
- [6] Ford W C. Comments on the release of the 5th edition of the WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen[J]. Asian J Androl, 2010, 12: 59-63.
- [7] 侯开波,闫素文,周 敏,肖玉红,白雪. 安特尔联合他莫昔芬治疗特发性少精子症的疗效观察[J]. 中国优生与遗传杂志, 2008, 16: 96-98.
- [8] Ng C M, Blackman M R, Wang C, Swerdloff R S. The role of carnitine in the male reproductive system[J]. Ann N Y Acad Sci, 2004, 1033: 177-188.
- [9] Dokmeci D. Oxidative stress, male infertility and the role of carnitines[J]. Folia Med (Plovdiv), 2005, 47: 26-30.
- [10] 唐凌峰,姜 辉,商学军,赵连明,白 泉,洪 锴,等. 精浆左旋肉碱与精子密度、活力和活动率关系的研究[J]. 中华男科学杂志, 2008, 14: 704-708.