

# 精浆 8-OHdG 和 GSTs 水平与男性不育的相关性研究

安小红<sup>1</sup>, 樊萍<sup>2</sup>

(1. 渭南市蒲城县医院检验科, 陕西渭南 715500; 2. 咸阳市第一人民医院检验科, 陕西咸阳 712000)

**摘要:**目的 探讨精浆 8-羟基脱氧鸟苷(8-hydroxydeoxyguanosine, 8-OHdG)和谷胱甘肽硫转移酶(glutathione S-transferases, GSTs)水平与男性不育疾病的相关性。方法 收集2017年5月~2019年5月期间在陕西省咸阳市第一人民医院和渭南市蒲城县医院就诊的35例不育男性患者的精液标本进行分析。同时收集婚后已生育的26例健康男性的精液标本作为对照组。分析两组精液质量、精浆 8-OHdG 和 GSTs 水平、血清睾酮(testosterone, T)、卵泡刺激素(follicle stimulating hormone, FSH)及黄体生成素(luteinizing hormone, LH)水平的变化及其相关性。精浆 8-OHdG 和 GSTs 水平采用酶联免疫吸附法测定。精液质量采用伟力 CASA 900 系统进行分析。结果 对照组的精浆 8-OHdG (pg/ml)和 GSTs (U/ml)水平分别为  $87.13 \pm 26.30$  和  $25.34 \pm 3.09$ , 不育组的精浆 8-OHdG (pg/ml)和 GSTs (U/ml)水平分别为  $156.37 \pm 52.31$  和  $12.71 \pm 1.25$ 。与对照组比较,不育组精浆 8-OHdG 水平显著增高,而 GSTs 水平则显著降低,差异均有统计学意义( $t=26.43 \sim 45.21, P=0.000$ )。对照组的精液总量(ml)、精子密度( $\times 10^6/\text{ml}$ )、精子活力(%)和精子畸形率(%)分别为  $3.16 \pm 0.28$ ,  $83.23 \pm 22.28$ ,  $62.27 \pm 5.13$  和  $7.23 \pm 2.39$ 。不育组的精液总量(ml)、精子密度( $\times 10^6/\text{ml}$ )、精子活力(%)和精子畸形率(%)分别为  $3.02 \pm 0.25$ ,  $5.32 \pm 3.90$ ,  $10.23 \pm 2.18$  和  $49.56 \pm 7.29$ 。与对照组比较,不育组的精子密度及精子活力显著降低,而精子畸形率则显著增高,差异有统计学意义( $t=43.64 \sim 69.26, P=0.000$ )。不育组和对照组的精液总量比较,差异无统计学意义( $t=0.399, P=0.732$ )。对照组的血清 T (nmol/ml), FSH (mIU/ml) 及 LH (mIU/ml) 水平分别为  $19.23 \pm 5.38$ ,  $5.83 \pm 1.37$ ,  $5.19 \pm 2.24$ 。不育组的血清 T (nmol/ml), FSH (mIU/ml) 及 LH (mIU/ml) 水平分别为  $7.97 \pm 3.62$ ,  $19.90 \pm 3.36$  和  $15.53 \pm 5.13$ 。与对照组比较,不育组的 FSH 及 LH 水平显著增高, T 水平则显著降低,差异均有统计学意义( $t=17.92 \sim 31.23, P=0.000$ )。精浆 8-OHdG 水平与精子密度、精子活力和血清 T 水平有负相关性,而与精子畸形率、血清 FSH 及 LH 水平有正相关性( $r=-0.823, -0.819, -0.798, 0.767, 0.782, 0.807$ , 均  $P<0.01$ )。精浆 GSTs 水平与精子密度、精子活力和 T 水平有正相关性,而与精子畸形率、血清 FSH 及 LH 水平有负相关性( $r=0.857, 0.842, 0.819, -0.838, -0.802, -0.814$ , 均  $P<0.01$ )。结论 8-OHdG 和 GSTs 通过调节机体的氧化应激能力影响精子质量,检测精浆 8-OHdG 和 GSTs 水平可以为男性不育疾病的诊治提供依据。

**关键词:** 男性不育;精液质量;8-羟基脱氧鸟苷;谷胱甘肽硫转移酶;睾酮;卵泡刺激素;黄体生成素

中图分类号:R698.2;R392.11 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2020)01-079-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2020.01.021

## Study on the Correlation between 8-OHdG and GSTs Levels in Seminal Plasma and Male Infertility

AN Xiao-hong<sup>1</sup>, FAN Ping<sup>2</sup>

(1. Department of Clinical Laboratory, Pucheng County Hospital of Weinan City, Shaanxi Weinan 715500, China;

2. Department of Clinical Laboratory, the First People's Hospital of Xianyang City, Shaanxi Xianyang 712000, China)

**Abstract: Objective** To investigate the correlation between the levels of 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) and glutathione S-transferases (GSTs) in seminal plasma and male infertility. **Methods** The semen samples of 35 infertile males were collected to analyze from May 2017 to May 2019 in the First People's Hospital of Xianyang and Pucheng County Hospital of Weinan City. At the same time, the semen samples of 26 healthy male were collected as control group. The changes and correlation of semen quality, levels of 8-OHdG and GSTs in seminal plasma, levels of testosterone (T), follicle stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH) in serum between the two groups were analyzed. The levels of 8-OHdG and GSTs in seminal plasma were determined by ELISA. Semen was analyzed by Weili CASA 900 system. **Results** The seminal plasma levels of 8-OHdG (pg/ml) and GSTs (U/ml) in the control group were  $87.13 \pm 26.30$  and  $25.34 \pm 3.09$ , while those of 8-

**作者简介:** 安小红(1981-),女,本科学历,主管检验师,研究方向:男性疾病的实验室诊断, E-mail:415879062@qq.com。

**通讯作者:** 樊萍(1985-),女,本科学历,主管检验师,研究方向:男性疾病的实验室诊断, E-mail:3499337430@qq.com。

OHdG (pg/ml) and GSTs (U/ml) in the infertile group were  $156.37 \pm 52.31$  and  $12.71 \pm 1.25$ , respectively. The seminal plasma levels of 8-OHdG were significantly higher whereas of GSTs were significantly lower in the infertile group compared with those in the control group the difference was statistically significant ( $t = 26.43 \sim 45.21, P = 0.000$ ). The total semen (ml), sperm density ( $\times 10^6/\text{ml}$ ), sperm motility (%) and sperm malformation rate (%) in the control group were  $3.16 \pm 0.28$ ,  $83.23 \pm 22.28$ ,  $62.27 \pm 5.13$  and  $7.23 \pm 2.39$ , respectively. The total semen (ml), sperm density ( $\times 10^6/\text{ml}$ ), sperm motility (%) and sperm malformation rate (%) in the infertile group were  $3.02 \pm 0.25$ ,  $5.32 \pm 3.90$ ,  $10.23 \pm 2.18$  and  $49.56 \pm 7.29$ , respectively. The sperm density and motility in infertile group were significantly lower than those in control group, while the rate of sperm malformation was significantly higher than that in control group, the difference was statistically significant ( $t = 43.64 \sim 69.26, P = 0.000$ ). There was no statistically significant difference in semen volume between the two groups ( $t = 0.399, P = 0.732$ ). The levels of serum T (nmol/ml), FSH (mIU/ml) and LH (mIU/ml) in the control group were  $19.23 \pm 5.38$ ,  $5.83 \pm 1.37$  and  $5.19 \pm 2.24$ , respectively. The levels of serum T (nmol/ml), FSH (mIU/ml) and LH (mIU/ml) in the infertile group were  $3.02 \pm 0.25$ ,  $5.32 \pm 3.90$ ,  $10.23 \pm 2.18$  and  $49.56 \pm 7.29$ , respectively. Compared with the control group, the levels of FSH and LH in the infertile group increased significantly, while the levels of T decreased significantly ( $t = 17.92 \sim 31.23, P = 0.000$ ). The levels of 8-OHdG in seminal plasma were negatively correlated with sperm density, sperm motility and serum T level, and positively correlated with sperm malformation rate, serum FSH and LH levels ( $r = -0.823, -0.819, -0.798, 0.767, 0.782, 0.807$ , all  $P < 0.01$ ). The level of GSTs in seminal plasma were positively correlated with sperm density, sperm motility and T level, but negatively correlated with sperm malformation rate, FSH levels and LH levels ( $r = 0.857, 0.842, 0.819, -0.838, -0.802, -0.814$ , all  $P < 0.01$ ). **Conclusion** 8-OHdG and GSTs could affect sperm quality by regulating oxidative stress, and detection of the levels of 8-OHdG and GSTs in seminal plasma can provide evidence for the diagnosis and treatment of male infertility.

**Keywords:** male infertility; semen quality; 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG); glutathione S-transferases (GSTs); testosterone; follicle stimulating hormone; luteinizing hormone;

男性不育被定义为一对夫妇在无保护、有规律的性生活一年后无法怀孕。据统计全球大约有10%~15%的夫妇患有不孕不育,而男性不育的发生率约占50%<sup>[1]</sup>。研究表明,机体氧化应激作用的增强是导致男性不育的重要原因之一<sup>[2]</sup>。目前的证据表明谷胱甘肽硫转移酶(glutathione S-transferases, GSTs)和8-羟基脱氧鸟苷(8-hydroxydeoxyguanosine, 8-OHdG)通过调节机体的氧化应激能力参与男性不育的病理过程<sup>[1,3]</sup>。本研究通过分析35例不育男性患者精浆8-OHdG和GSTs水平的变化,旨在揭示两指标在男性不育发病机制中的作用,进而为该疾病的诊治提供参考依据。

## 1 材料和方法

**1.1 研究对象** 收集2017年5月~2019年5月期间在陕西咸阳市第一人民医院和渭南市蒲城县医院就诊的35例不育男性患者(不育组)的精液标本进行分析。年龄为26~45岁,平均年龄 $32.15 \pm 5.07$ 岁;婚龄1~10年,平均婚龄 $4.39 \pm 3.28$ 年。其中少精症患者11例,弱精症患者21例,无精症患者3例。所有患者夫妻性生活正常、未采取避孕措施、身体健康、排除女方因素(经妇科检查、输卵管通畅试验、B超及内分泌检查等)。收集同期婚后已生育的26例健康男性精液标本作为对照组,年龄 $30.87 \pm 6.19$ 岁,平均 $31.37 \pm 5.19$ 岁;婚龄1~9年,平均婚龄 $4.12 \pm 3.39$ 年。对照组精液质量分析正常。所有受试

者均排除泌尿、生殖、造血系统及内分泌疾病,以及其他慢性疾病、隐睾症、性功能低下、放疗和化疗等。不育组和对照组的年龄和婚龄比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。样本的采集过程及信息使用均经过陕西咸阳市第一人民医院和蒲城县医院医学伦理委员会批准。本研究已得到所有研究对象的知情同意。

**1.2 试剂和仪器** 采用计算机辅助精液分析系统(伟力CASA 900)分析精子密度和精子活动力,采用巴氏染色法分析精子形态,参照WHO标准评判结果,计算精子畸形率。精浆8-OHdG和GSTs水平采用酶联免疫吸附法测定,分别采用武汉艾美捷科技有限公司和上海将来实业股份有限公司的试剂盒,仪器采用雷杜RT-2100C酶标自动分析仪。参考范围(男性):血清睾酮(testosterone, T): $13.90 \sim 29.23$  nmol/ml,卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH): $1.50 \sim 12.40$  mIU/ml,黄体生成素(luteinizing hormone, LH): $1.70 \sim 8.60$  mIU/ml。

## 1.3 方法

**1.3.1 精液质量分析:**患者禁欲3~7天,手淫方法收集精液标本,记录精液总量。在37℃待精液液化后,分析精子密度、精子活动力及精子畸形率。所有精液实验按照2001年WHO《人类精液及精子-宫颈黏液相互作用实验室检验手册》中的检验方法执行。精子活动力分4级:a级:精子快速前向运动;b级:精子慢速或呆滞的前向运动;c级:精子非前向运动;

D级:精子不动。精子密度 $<20 \times 10^6/\text{ml}$ ,或精子密度 $>20 \times 10^6/\text{ml}$ ,而a级精子 $<25\%$ ,且a+b级精子 $<50\%$ 为少弱精症。

1.3.2 血样采集:所有研究对象在安静状态下空腹被抽取静脉血3 ml,分离血清, $-20^\circ\text{C}$ 保存,用于检测血清T,FSH及LH水平。

1.4 统计学分析 实验数据采用SPSS 21.0统计软件进行分析,以均值 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。8-OHdG, GSTs, T, FSH, LH水平及精液总量、精子密度、精子活力和精子畸形率的组间比较采用 $t$ 检验,采用Pearson法进行相关分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 男性不育患者精液质量分析 见表1。与对照

表1 男性不育患者精液质量分析( $\bar{x} \pm s$ )

项目	对照组( $n=26$ )	不育组( $n=35$ )	$t$	$P$
精液总量(ml)	$3.16 \pm 0.28$	$3.02 \pm 0.25$	0.399	0.732
精子密度( $\times 10^6/\text{ml}$ )	$83.23 \pm 22.28$	$5.32 \pm 3.90$	69.26	0.000
精子活力(%)	$62.27 \pm 5.13$	$10.23 \pm 2.18$	52.37	0.000
精子畸形率(%)	$7.23 \pm 2.39$	$49.56 \pm 7.29$	43.64	0.000

表2 男性不育患者血清生殖激素及精浆8-OHdG和GSTs水平分析( $\bar{x} \pm s$ )

项目	对照组( $n=26$ )	不育组( $n=35$ )	$t$	$P$
T(nmol/ml)	$19.23 \pm 5.38$	$7.97 \pm 3.62$	31.23	0.000
FSH(mIU/ml)	$5.83 \pm 1.37$	$19.90 \pm 3.36$	19.37	0.000
LH(mIU/ml)	$5.19 \pm 2.24$	$15.53 \pm 5.13$	17.92	0.000
8-OHdG(pg/ml)	$87.13 \pm 26.30$	$156.37 \pm 52.31$	45.21	0.000
GSTs(U/ml)	$25.34 \pm 3.09$	$12.71 \pm 1.25$	26.43	0.000

2.4 相关性分析 精浆8-OHdG水平与精子密度、精子活力和血清T水平呈负相关性,而与精子畸形率、血清FSH及LH水平呈正相关性( $r = -0.823, -0.819, -0.798, 0.767, 0.782, 0.807$ ,均 $P < 0.01$ )。精浆GSTs水平与精子密度、精子活力和T水平有正相关性,而与精子畸形率、血清FSH及LH水平呈负相关性( $r = 0.857, 0.842, 0.819, -0.838, -0.802, -0.814$ ,均 $P < 0.01$ )。

## 3 讨论

研究表明少弱精子症是男性不育的常见原因,其特点是精子数量少或精子运动能力差。现在的证据表明,氧化应激在精子正常的生理活动中起着重要作用<sup>[2]</sup>。氧化应激作用增强会导致DNA损伤、精子运动能力减弱及精子畸形等<sup>[3,4]</sup>。研究认为8-OHdG水平的变化能够反映机体的氧化应激反应及氧自由基的生成程度<sup>[5]</sup>。8-OHdG被认为是DNA氧化损伤的标志物。精浆中8-OHdG水平增高可以影响精子的运动,并可能导致畸形精子数量的增加<sup>[3]</sup>。研究显示8-OHdG可破坏精子质膜的完整性,影响精子的生成。8-OHdG水平增高的患者少弱精子症的发病率明显增高。8-OHdG水平与精子畸形率呈正

组比较,不育组的精子密度和精子活力显著降低,而精子畸形率则显著增高,差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$ )。不育组和对照组的精液总量比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

2.2 男性不育患者血清生殖激素水平分析 见表2。与对照组比较,不育组的血清T水平显著降低,而FSH及LH水平则显著增高,差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$ )。

2.3 男性不育患者精浆8-OHdG及GSTs水平分析 见表2。与对照组比较,不育组精浆8-OHdG水平显著增高,而GSTs水平则显著降低,差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$ )。

相关性,而与精子活动力有负相关性<sup>[5]</sup>。本研究的结果也印证了上述文献关于8-OHdG的报道。说明8-OHdG在评估男性精子质量方面有较高的价值。刘旭晨等<sup>[6]</sup>分析111例不育男性精液标本的结果显示,高水平的8-OHdG与精子碎片率的增高及精子浓度的下降相关。本研究的结果与刘旭晨等<sup>[6]</sup>的观点相符。提示8-OHdG可能与男性不孕的病理过程密切相关。目前国内关于8-OHdG与男性不育相关性的报道较少,其在男性不育发病机制中的作用还需要进一步地探索。

GSTs是一种重要的抗氧化酶。低水平的GSTs可能促进氧化应激对机体的伤害作用。然而,关于GSTs在男性精子防御机制中的生物学作用的数据还有限<sup>[7,8]</sup>。研究表明,人类睾丸和精浆中存在高水平的GSTs,这有助于保护精子免受氧化应激的损伤。HU等<sup>[1]</sup>的分析显示在非阻塞性无精子症和少弱精子症的中国人人群中,GSTs基因多态性与男性不育显著相关,其中GSTM1/GSTT1的无效基因型可能增加中国男性不育个体的敏感性。金鑫等<sup>[7]</sup>研究认为精

(下转93页)