

抗氧化性维生素与男性生殖

顾万建, 商学军 综述; 黄宇烽 审校
(南京军区南京总医院生殖遗传研究室, 江苏 南京 210002)

摘要: 生殖系统内过多的活性氧(ROS)产生可导致精子膜脂质过氧化损伤,而抗氧化性维生素对于清除 ROS、避免精子脂质过氧化损伤具有一定保护作用。本文就抗氧化性维生素在男性生殖中的作用及其在男性不育治疗等方面进行了综述。

关键词: 抗氧化性; 维生素; 男性生殖; 活性氧

中图分类号: R977.2*9; R697 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-3591(2004)08-0627-04

Antioxidant Vitamin and Male Reproduction

Gu Wanjian, Shang Xuejun, Huang Yufeng

Laboratory of Reproduction & Genetics, Nanjing General Hospital of Nanjing Command, PLA, Nanjing, Jiangsu 210002 (Gu WJ, Shang XJ, Huang YF)

Correspondence to: Huang Yufeng, E-mail: yfhuang@ntl-j-androl.com

Abstract: Increased generation of ROS causes the lipid oxidation of the membrane of spermatozoa, but antioxidant vitamins play an important role in reproduction and help clear away ROS and protect the sperm membrane from lipid oxidation. This review focused on the effect of antioxidant vitamins on male reproduction and in the treatment of male infertility. *Natl J Androl*, 2004, 10(8):627-629, 631

Key words: antioxidant; vitamin; male reproduction; reactive oxygen species

目前,在全球范围内存在 15% 的夫妇有不育问题,然而导致不育的原因很多。近年来,对于活性氧(ROS)引起的氧化应激广为关注。由于 ROS 能导致脂质过氧化损伤,而人类精子质膜上含有丰富的不饱和脂肪酸,极易被氧化,进而影响精子功能,导致男性不育。进一步的研究表明,一些小分子抗氧化剂,如抗氧化性维生素具有一定的清除 ROS 的作用。本文就抗氧化性维生素在男性生殖中的研究概况作简要概述。

1 抗氧化性维生素的基本特性

维生素是维持机体正常生命活动所必需的一类小分子有机化合物,常见的共有 13 种维生素,其中具有抗氧化活性的主要有 3 种,分别为维生素 A、C 和 E。

1.1 维生素 A 维生素 A 是一种具有 β -白芷酮环的不饱和一元醇。天然维生素 A 包括 A_1 及 A_2 2 种, A_1 即视黄醇(retinol), A_2 即 3-脱氢视黄醇,其前身物质为胡萝卜素,通常以 β -胡萝卜素为代表,但它只有视黄醇 1/6 的生物学活性。维生素 A 是脂溶性物质,在小肠粘膜细胞内与脂肪酸结合成酯后即掺入乳糜微粒,随淋巴入血,转入肝脏储存。维生素 A 的基本作用包括:促进发育及维持健康;视黄醇构成感光弱的视紫红质部分;参与糖蛋白合成,作为单糖转运载体;抗癌和抗氧化作用;以及对于调节细胞的生长、分化与分裂等都具有重要作用。

1.2 维生素 C 维生素 C 又名抗坏血酸(ascorbic),是一种含有 6 个碳原子的酸性不饱和多羟化合物,以内酯形式存在,具有酸性,能防治坏血病。维生素 C 还具有还原剂的性质,易溶于水。维生素

收稿日期: 2004-02-15; 修回日期: 2004-08-05

作者简介: 顾万建(1982-),男,江苏淮安市人,本科,从事实验诊断工作。E-mail: guwanjian@tom.com

通讯作者: 黄宇烽, E-mail: yfhuang@ntl-j-androl.com

C的生化作用为:参与体内的氧化还原反应;参与体内多种羟化反应,如前胶原蛋白中脯氨酸和赖氨酸残基的羟化,某些神经递质及激素的羟化以及类固醇化合物的羟化;具有重要的抗氧化作用。

1.3 维生素E 维生素E又名生育酚(tocopherol),具有 α 、 β 、 γ 、 δ 四种异构体,其中以 α 生育酚的生理活性最高。其C₆上的-OH极易被氧化,是其具备抗氧化作用的关键结构。维生素E在自然界分布广泛,主要存在于植物油中。维生素E的生理作用包括:提高生育力;抗氧化作用,维生素E与其他抗氧化剂如维生素C、谷胱甘肽及微量元素硒(Se)等协同作用,可使其清除和防御ROS的过氧化损伤更加有效;以及抗衰老、增强机体免疫力等作用。

2 抗氧化性维生素在男性生殖方面的研究

在生理情况下,生物体内产生的少量ROS在细胞生长调节、信号传递以及抗微生物防御和免疫监视方面具有重要作用^[1]。但当ROS产生过多时,则会对机体多种细胞与组织产生毒害作用,其中男性生殖细胞—精子就对ROS极为敏感,过多ROS可引起精子结构与功能改变,影响精子活力,是造成男性弱精子症的重要病因之一^[2]。抗氧化剂治疗不仅在体外是有效的,在体内也是有效的,事实上在实验室和动物体内进行的大量研究已经证实摄入维生素A(视黄醇和胡萝卜素)、维生素E(α -生育酚)或/和维生素C(抗坏血酸)可以作为一种提高男性生育功能的有效途径^[3]。

2.1 维生素A抗氧化特性与男性生殖 近30年来有较多报告指出,维生素A具有抗氧化作用。维生素A抑制脂质过氧化的作用不是清除引发脂质过氧化剂的自由基,而是作为脂质过氧化反应链阻断的抗氧化剂,与有机氧自由基结合,他们的抗氧化活性是有一定区别的,分别为视黄醇 \geq 视黄醛 \geq 视黄酯 $>$ 视黄酸。

维生素A对血睾屏障和精子发生具有一定作用,Morales等^[4]通过对大鼠精子发生和血睾屏障的研究发现,在缺乏维生素A大约10周后,大鼠发生了唯支持细胞综合征,而在补充维生素A以后,精子发生又可重新恢复,尽管它是以一种非典型的方式发生。可见维生素A在不育男性中对于恢复精子发生起着重要的作用。目前已有将维生素A与其他抗热门货物联合应用,明显提高了精子功能的报告^[5]。Rolf等^[6]人的研究结果提示抗氧化剂的使用还有其剂量依赖性,Lowe等^[7]研究证明用低浓度(1~3 μ mol/L)的番茄红素(lycopene)和 β -胡萝卜素可防

御由黄嘌呤/黄嘌呤氧化酶引起的DNA损伤,而高浓度则使细胞的抗氧化能力丧失。总之,在安全剂量下使用维生素A对于治疗男性不育是有一定作用的。

2.2 维生素C抗氧化特性与男性生殖 维生素C是人类和其他一小部分动物饮食中所必需的成分。它是一种水溶性的ROS高效清除剂,在精浆中的浓度比血液中高10倍^[8]。Luck等^[3]报道抗坏血酸是生育过程中一种必要的生物物质,与人类生育之间存在显著的相关性。一般口服抗坏血酸很快分布在全身组织中,在精囊中浓度最高,除了饮食摄取抗坏血酸外,精浆抗坏血酸水平主要取决于精囊功能,依次取决于精囊的大小、性状和外部环境。抗坏血酸自由基在体液中的含量可反映机体内氧化应激程度,因此测定体液或组织中抗坏血酸自由基水平可得到氧化应激程度的信息。

在精液中除精子主要产生ROS外,白细胞也是ROS的主要来源之一,特别是多型核白细胞受激发后发生“呼吸爆发”,释放出大量ROS^[9]。因此当生殖道感染,使精液中白细胞增多时,其ROS的水平也相应增高。在体外试验中发现^[10],在白细胞为 0.2×10^6 /ml时抗坏血酸没有改变,而更高量的活化多型核白细胞启动抗坏血酸盐氧化,氧化程度与白细胞污染程度有关,在 0.4×10^6 、 1.0×10^6 和 1.5×10^6 /ml白细胞存在下孵育(37 $^{\circ}$ C,30min)后,抗坏血酸水平分别下降24%、43%和49%。Lewis等^[11]也发现如果精浆中ROS水平升高,则精浆中抗坏血酸浓度会明显降低。抗坏血酸可清除多种活性氧,包括 1O_2 、 $O_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 、 $^{\cdot}OH$ 。抗坏血酸可直接与 $O_2^{\cdot-}$ 反应,可迅速淬灭 1O_2 ,并可以很高的反应速率与 $^{\cdot}OH$ 发生反应,还可通过抗坏血酸-谷胱甘肽循环清除 H_2O_2 。测定了正常男性精浆中抗坏血酸的浓度范围是106~566 μ mol/L,然而弱精子症组(ROS升高)抗坏血酸的浓度则为35~249 μ mol/L;弱精子症组的抗坏血酸浓度偏低是由于它作为抗氧化剂对抗ROS而消耗的,并不是由于弱精子症患者精囊的抗坏血酸机制的缺陷所致。

Dawson等^[8]认为25岁以上的男性,通过增加饮食摄入的抗坏血酸可以增加精子活率,减低精子凝集和不正常精子的百分率,同时有活力及总的成熟精子数也明显增加。ROS对精子的损伤还表现在对核DNA的损伤,在男性不育患者中DNA的损伤数量比对照组明显要高,进一步的研究发现补充抗坏血酸可以保护人类精子免遭内源性DNA过氧化损伤^[12]。Breque等^[13]通过对鸟类精液的初步观察

发现维生素 C 在一个特定的抗氧化系统中发挥着重要的作用。

2.3 维生素 E 抗氧化特性与男性生殖 维生素 E 被认为是精子抗氧化系统中最基本的组成成分,同时也是针对 ROS 和脂质过氧化的一种主要的膜保护物质,它是通过终止生物膜和膜蛋白的脂质过氧化反应链起作用^[14]。现已证实维生素 E 是生育的一个必需营养成分,其中最主要的作用是对抗体内产生的 ROS。体外实验证明,维生素 E 可非常有效的清除 O_2^- 和 $\cdot OH$,在人体的每一个细胞和组织中通过抗氧化防御机制在 ROS 的产生与灭活之间存在一个灵敏的平衡状态。维生素 E 通过口服进入体内后,通常过量的 α -生育酚被转化为 α -CEHC 并通过尿液分泌排泄,其他的生育酚如 γ 和 δ -生育酚则几乎全部降解,并以相应的 CEHC 分泌到尿液中排出^[15]。生育酚和抗坏血酸具有协同作用保护脂质结构免遭过氧化损伤,抗坏血酸可通过修复生育酚的 Tocopheroxyl 基使其得以循环利用^[11],因此,尽管生育酚是以少量存在的,但抗坏血酸的修复能力却使得它得到最佳的循环。

在多种动物模型研究中发现补充维生素 E 可以提高精液质量,不仅可以提高动物精子的活力,还可以提高精子对卵子的穿透能力。Brzezinska-Slebodzinska 等^[16]发现补充维生素 E 可以增加公猪总的精子数量和精子浓度。Younsef 等^[17]也发现补充维生素 E 治疗后,可以显著改善兔子精子质量,兔子在通过维生素治疗后明显降低了异常的死精子数 ($P < 0.05$),尤其在补充维生素 E 一组表现出最低水平。

然而,维生素 E 作为一种口服药物治疗男性不育或者在精液体外处理时作为一种添加剂时,Bolle 等^[18]从一些获得到的数据中发现结果有时是相互矛盾的。这可能是由于:①抗氧化剂治疗在一些研究中可能是无效的,是因为这些研究对象的不育因素并非由氧化应激所致;②抗氧化剂维生素 E 治疗是一把双刃剑,严格地取决于其剂量或体内维生素的浓度。Tarin 等^[19]也认为联合运用抗氧化剂治疗具有最佳的浓度,如果超越该浓度则会产生负作用。

通常在治疗过程中,会联合多种维生素和硒 (Se) 等抗氧化剂共同治疗。维生素 E 和硒在保护生物膜免遭氧化攻击方面具有协同作用,Keskes-Ammar 等^[20]对 54 个志愿者和不育男性的研究中,其中 28 人每天给予维生素 E 400 mg 和硒 225 μg ,共 3 个月时间,结果发现给予维生素 E 和硒使丙二醛 (MDA) 浓度有明显减少,精子活力有明显提高,该结果证实了维生素 E 和硒对精液质量的保护性与

有益作用,因此提倡应用他们来治疗男性不育症。Hsu 等^[21]研究也发现将大鼠暴露于铅可以降低精子对氧化应激的防御能力,提高 ROS 产量,降低精子活力和卵母细胞穿透能力,补充维生素 E 和/或 C 可以抑制铅相关的 ROS 毒性,保护精子防止活力和卵母细胞穿透能力的丧失。Kessopoulou 等^[22]设计了一个双盲\随机安慰剂\对照\交叉试验,利用抗氧化性维生素 E 治疗 ROS 导致的男性不育,30 个患者完成了长达 2 年的试验,结果在 120 份精液标本中有 108 份精子恢复了活力,并且还有 3 例成功妊娠。Suleiman^[23]给予维生素 E 治疗可以提高弱精子病患者的精子活力,在 6 个月治疗过程中 52 对夫妻中有 11 对发生了妊娠,而在安慰剂组却没有发生。

3 结语

精子功能异常是引起不育的一个最普遍的原因,近年来的研究认为 ROS 是精子功能异常的一个主要原因。从目前的研究状况来看,抗氧化性维生素在体内外对抗 ROS 所导致的膜脂质过氧化起着一定作用,因此需要进一步来研究抗氧化性维生素在治疗男性不育的具体机制。

参考文献

- [1] Demple B, Amabile-Cuevas CF. Redox redux; the control of oxidative stress responses [J]. *Cell*, 1991, 67(5): 837-839.
- [2] 商学军, 黄宇烽, 熊承良, 等. 正常精子体外与活性氧作用后超微结构观察 [J]. *中华男科学*, 2002, 8(2): 106-108.
- [3] Luck MR, Jeyaseelan I, Scholes RA. Ascorbic acid and fertility [J]. *Biol Reprod*, 1995, 52(2): 262-266.
- [4] Morales A, Caviechia JC. Spermatogenesis and blood-testis barrier in rats after long-term Vitamin A deprivation [J]. *Tissue Cell*, 2002, 34(5): 349-355.
- [5] Comvaire FH, Christophe AB, Zalato AA, et al. The effects of combined conventional treatment, oral antioxidants and essential fatty acids on sperm biology in subfertile men [J]. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 2000, 63(3): 159-165.
- [6] Rolf C, Cooper TG, Yeung CH, et al. Antioxidant treatment of patients with asthenozoospermia or moderate oligoasthenozoospermia with high-dose vitamin C and vitamin E: a randomized, placebo-controlled, double-blind study [J]. *Hum Reprod*, 1999, 14(4): 1028-1033.
- [7] Lowe GM, Booth LA, Young AJ, et al. Lycopene and beta-carotene protect against oxidative damage in HT29 cells at low concentrations but rapidly lose this capacity at higher doses [J]. *Free Radic Res*, 1999, 30(2): 141-151.
- [8] Dawson EB, Harris WA, Rankin WE, et al. Effect of ascorbic acid on male fertility [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 1987, 498: 312-323.
- [9] Kleinberg ME, Malech HL, Rotrosen D. The Phagocyte 47-kilodalton cytosolic oxidase protein is an early reactant in activation of the respiratory burst [J]. *J Biol Chem*, 1990, 265(26): 15577-15583.
- [10] Gavella M, Lipovac V, Vucic M, et al. Evaluation of ascorbate and urate antioxidant capacity in human semen [J]. *Andrologia*, 1997, 29(1): 29-35.

升高,使微循环发生障碍和缺氧,导致前列腺上皮分泌功能损害,枸橼酸分泌减少,pH 值增加。也有学者提出前列腺炎引起组织内酸中毒,使细胞膜的枸橼酸转运蛋白 mRNA 表达增加^[4],引起前列腺按摩液中的枸橼酸转运到组织和腺泡内,使前列腺按摩液中枸橼酸减少,pH 值升高。

ⅢB 组患者的前列腺按摩液中无炎症的表现,其 pH 值降低可能与尿液返流有关。尿液返流与慢性前列腺炎的相关性已被一些实验所证实^[5,6]。尿液返流引起前列腺按摩液 pH 值降低是因为尿液返流不仅能将尿液中的酸性物质带入前列腺,且能刺激前列腺分泌尿酸等酸性物质。Persson 等^[7]分析了 56 例慢性前列腺炎患者的血液、尿液和前列腺按摩液中肌酐和尿酸盐的量,结果证实前列腺按摩液中尿酸盐浓度明显升高。

文献报道证实,随着慢性前列腺炎的改善及治愈,前列腺按摩液 pH 值也随之降低,因此治疗期间,前列腺按摩液 pH 值下降可作为判断临床疗效的一项参考指标^[8]。

另外,治疗前列腺炎的药物聚积于前列腺按摩液中的条件是以非离子形式通过前列腺上皮形成的前列腺屏障进入前列腺腔,且解离常数适于前列腺按摩液的 pH,使前列腺按摩液中药物的离子浓度大于非离子浓度。此外,每种药物均有适宜发挥药效的 pH 范围。因此前列腺按摩液 pH 稍有改变即会影响药物在前列腺按摩液内的聚集能力和作用效果,测定前列腺按摩液 pH 值对治疗用药的选择有

参考意义^[9]。

综上所述,检测前列腺按摩液 pH 值不仅能用于鉴别ⅢA 和ⅢB 型前列腺炎,而且能用于预示治疗反应和指导临床用药。但是由于前列腺按摩液 pH 值的正常值范围尚存在很大争论,限制了前列腺按摩液 pH 值的临床应用。为使前列腺按摩液 pH 值检测更好地应用于临床,尚需要进一步进行多中心、大样本临床试验。

参考文献

- [1] Schaeffer AJ, Knauss JS, Landis JR, et al. Leukocyte and bacterial counts do not correlate with severity of symptoms in men with chronic prostatitis: The National Institutes of Health Chronic Prostatitis Cohort Study[J]. J Urol, 2002, 168(3):1048-1053.
- [2] Nickel JC. Prostatitis: myths and realities[J]. Urology, 1998, 51(3):362-366.
- [3] 罗丽兰主编. 不育与不孕[M]. 北京:人民卫生出版社,1998. 564-566.
- [4] Simpson DP. Citrate excretion: a window on renal metabolism[J]. Am J Physiol, 1983, 244(3):223-234.
- [5] Torres Ramirez C, Aguilar Ruiz J, Zuluaga Gomez A, et al. A crystallographic study of prostatic calculi[J]. J Urol, 1980, 124(6):840-843.
- [6] Kirby RS, Lowe D, Bultitude MI, et al. Intra-prostatic urinary reflux: an aetiological factor in abacterial prostatitis[J]. Br J Urol, 1982, 54(6):729-731.
- [7] Persson BE, Ronquist G, Ekblom M. Ameliorative effect of allopurinol on nonbacterial prostatitis: a parallel double-blind controlled study[J]. J Urol, 1996, 155(3):961-964.
- [8] Pfau A, Perlberg S, Shapira A. The pH of the prostatic fluid in health and disease: implications of treatment in chronic bacterial prostatitis[J]. J Urol, 1978, 119(3):384-387.
- [9] Nickel JC, Downey J, Clark J, et al. Antibiotic pharmacokinetics in the inflamed prostate[J]. J Urol, 1995, 153(2):527-529.

(商学军 编发)

(上接 629 页)

- [11] Lewis SE, Sterling ES, Young IS, et al. Comparison of individual antioxidants of sperm and seminal plasma in fertile and infertile men. [J] Fertil Steril, 1997, 67(1): 142-147.
- [12] Fraga CG, Motchuik PA, Shigenaga MK, et al. Ascorbic acid protects against endogenous oxidative DNA damage in human sperm[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1991, 88(24): 11003-11006.
- [13] Breque C, Surai P, Brillard JP. Roles of antioxidants on prolonged storage of avian spermatozoa *in vivo* and *in vitro*[J]. Mol Reprod Dev, 2003, 66(3):314-323.
- [14] Dieber-Rotheneder M, Puhl H, Waeg G, et al. Effect of oral supplementation with D- α -tocopherol on the vitamin E content of human low density lipoproteins and resistance to oxidation[J]. J Lipid Res, 1991, 32(8): 1325-1332.
- [15] Brigelius-Flohe R, Traber MG. Vitamin E: function and metabolism[J]. FASEB J, 1999, 13(10): 1145-1155.
- [16] Brzezinska-Slebodzinska E, Slebozinski AB, Pietras B, et al. Antioxidant effect of vitamin E and glutathione on lipid peroxidation in boar semen plasma[J]. Biol Trace Elem Res, 1995, 47(1-3): 69-74.
- [17] Yousef MI, Abdallah GA, Kamel KI. Effect of ascorbic acid and vitamin E supplementation on semen quality and biochemical parameters of male rabbits[J]. Anim Reprod Sci, 2003, 76(1-2): 99-111.
- [18] Bolle P, Evandri MG, Saso L. The controversial efficacy of vitamin E for human male infertility [J]. Contraception, 2002, 65(4): 313-315.
- [19] Tarin JJ, Brines J, Cano A. Antioxidants may protect against infertility[J]. Hum Reprod, 1998, 13(6): 1415-1416.
- [20] Keskes-Ammar L, Feki-Chakroun N, Rebai T, et al. Sperm oxidative stress and the effect of an oral vitamin E and selenium supplement on semen quality in infertile men[J]. Arch Androl, 2003, 49(2): 83-94.
- [21] Hsu PC, Liu MY, Hsu CC, et al. Effect of vitamin E and/or C on the reactive oxygen species-related lead toxicity in the rat sperm[J]. Toxicology, 1998, 128(3):169-179.
- [22] Kessopoulou E, Powers HJ, Sharma KK, et al. A double-blind randomized placebo cross-over controlled trial using the antioxidant vitamin E to treat reactive oxygen species associated male infertility[J]. Fertil Steril, 1995, 64(4): 825-831.
- [23] Suleiman SA, Ali ME, Zaki ZM, et al. Lipid peroxidation and human sperm motility: protective role of vitamin E[J]. J Androl, 1996, 17(5): 530-537.

(商学军 编发)