

# 血清同型半胱氨酸与叶酸、精子DNA碎片指数的相关性分析

乐赞, 朱玉蓉, 朱梦怡, 王腾飞, 邵生声, 陈骁俊, 杨胜

湖州市妇幼保健院, 浙江 湖州 313000

**摘要:** **目的** 分析血清同型半胱氨酸(Hcy)与叶酸(FA)、精子DNA碎片指数(DFI)的相关性,为男性生育力评估提供参考。**方法** 选择2022年9月—2023年9月在湖州市妇幼保健院生殖中心门诊就诊并检测血清Hcy的男性为研究对象,采集精液测定精子质量参数和精子DFI,采集静脉血测定血清Hcy和FA;以血清Hcy $\geq 15.0$   $\mu\text{mol/L}$ 为高Hcy组, $< 15.0$   $\mu\text{mol/L}$ 为正常组。采用线性回归模型分析血清Hcy与FA、精子DFI的相关性。**结果** 纳入173人,其中高Hcy组39人,正常组134人。高Hcy组精子浓度为 $(91.77\pm 61.11)\times 10^6$ 个/mL,低于正常组的 $(144.21\pm 106.82)\times 10^6$ 个/mL( $P<0.05$ );两组精液体积、精子活动率、曲线速度、直线速度、平均路径速度和精子正常形态率差异无统计学意义(均 $P>0.05$ )。高Hcy组的FA水平为 $(4.44\pm 1.79)$  nmol/L,低于正常组的 $(7.64\pm 3.68)$  nmol/L;高Hcy组精子DFI为 $(19.21\pm 8.85)\%$ ,高于正常组的 $(13.07\pm 6.43)\%$ ;差异有统计学意义(均 $P<0.05$ )。血清Hcy水平与FA水平呈负相关( $r=-0.369$ ,  $P<0.05$ ),与精子DFI呈正相关( $r=0.351$ ,  $P<0.05$ )。**结论** 血清Hcy水平与精子浓度、FA和精子DFI有关,提示血清Hcy水平可影响精子质量。

**关键词:** 同型半胱氨酸; 叶酸; 精子DNA碎片指数

中图分类号: R698

文献标识码: A

文章编号: 2096-5087(2025)04-0400-04

## Correlation between serum homocysteine, folic acid and sperm DNA fragmentation index

LE Yun, ZHU Yurong, ZHU Mengyi, WANG Tengfei, SHAO Shengsheng, CHEN Xiaojun, YANG Sheng  
Huzhou Maternal and Child Health Care Hospital, Huzhou, Zhejiang 313000, China

**Abstract: Objective** To analyze the correlation between serum homocysteine (Hcy) and both folic acid (FA) and sperm DNA fragmentation index (DFI), so as to provide the evidence for male fertility assessment. **Methods** Males who visited and measured the serum Hcy in the Reproductive Medicine Center of Huzhou Maternal and Child Health Care Hospital from September 2022 to September 2023 were selected as the study subjects. Sperm quality parameters and sperm DFI were analyzed by collecting sperm. Hcy and FA were measured by collecting venous blood. Participants were stratified into a high Hcy group ( $\text{Hcy} \geq 15.0 \mu\text{mol/L}$ ) and a normal group ( $\text{Hcy} < 15.0 \mu\text{mol/L}$ ). The correlations between serum Hcy and FA and sperm DFI were evaluated using linear regression models. **Results** A total of 173 participants were enrolled, including 39 in the high Hcy group and 134 in the normal group. The sperm concentration in the high Hcy group was significantly lower than that in the normal group [ $(91.77\pm 61.11)\times 10^6/\text{mL}$  vs.  $(144.21\pm 106.82)\times 10^6/\text{mL}$ ,  $P<0.05$ ]. No statistically significant differences were observed in semen volume, sperm motility, curvilinear velocity, straight-line velocity, average path velocity, or sperm morphology normal rate (all  $P>0.05$ ). The FA level in the high Hcy group was lower than that in the normal group [ $(4.44\pm 1.79)$  nmol/L vs.  $(7.64\pm 3.68)$  nmol/L,  $P<0.05$ ]. The sperm DFI in the high Hcy group was higher than that in the normal group [ $(19.21\pm 8.85)\%$  vs.  $(13.07\pm 6.43)\%$ ,  $P<0.05$ ]. Serum Hcy level

DOI: 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2025.04.017

基金项目: 湖州市公益性应用研究项目(2022GY45); 湖州市公益性应用研究项目(2022GYB28)

作者简介: 乐赞, 本科, 主管技师, 主要从事辅助生殖工作

通信作者: 杨胜, E-mail: ysh20121221@163.com

showed a negative correlation with FA level ( $r=-0.369$ ,  $P<0.05$ ) and a positive correlation with sperm DFI ( $r=0.351$ ,  $P<0.05$ ). **Conclusion** Serum Hcy level is associated with sperm concentration, FA and sperm DFI, suggesting that serum Hcy may affect sperm quality.

**Keywords:** homocysteine; folic acid; sperm DNA fragmentation index

全国生殖健康流行病学调查结果显示,我国不孕不育患者已超过 5 000 万例<sup>[1]</sup>, 20%~30% 由男方因素导致<sup>[2]</sup>。男性生育力评估涉及多个方面,精子质量是核心内容之一。精子质量不仅与精液质量参数有关,还与精子核完整性密切相关,而精子 DNA 碎片指数 (DNA fragmentation index, DFI) 是评估精子核完整性、精子 DNA 受损的直接指标<sup>[3]</sup>。血清同型半胱氨酸 (homocysteine, Hcy) 代谢途径在男性生育力方面有重要地位<sup>[4]</sup>, Hcy 作为一种生物标志物,其水平变化与精子质量参数、精子 DFI 密切相关。研究表明,少弱精子症患者的血清 Hcy 水平高于正常男性, Hcy 水平升高会损害精子质量,影响精子正常功能<sup>[5-6]</sup>。叶酸 (folic acid, FA) 作为一种调节 Hcy 水平的营养素,具有抗氧化性,能减弱高 Hcy 水平引起的氧化应激,减轻精子 DNA 损伤,保护男性生育力<sup>[7]</sup>。本研究分析血清 Hcy 与 FA、精子 DFI 的相关性,为评估男性生育力、指导临床实践提供参考。

## 1 对象与方法

### 1.1 对象

选择 2022 年 9 月—2023 年 9 月在湖州市妇幼保健院生殖中心门诊就诊的男性为研究对象。纳入标准: (1) 禁欲 2~7 d; (2) 检测血清 Hcy。排除标准: (1) 生殖器发育异常; (2) 染色体异常; (3) 严重精索静脉曲张; (4) 泌尿生殖系统感染; (5) 精子浓度 $\leq 2.0 \times 10^6$  个/mL; (6) 服用可能影响精液质量参数的药物; (7) 有心血管病家族史。本研究通过湖州市妇幼保健院医学伦理委员会审查 (2024-J-042)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 精液样本采集和保存

依据《世界卫生组织人类精液检查与处理实验室手册》第 5 版要求,研究对象取精前需禁欲 2~7 d,采用手淫法收集精液于清洁无菌杯中,记录精液体积;将精液置于 37 ℃水浴箱孵育 30 min 至完全液化,吸管吹吸混匀后取适量精液于 EP 管中,置于 -20 ℃冰箱待测。

#### 1.2.2 精液质量参数检测

使用北京穗加 SSA-II 精子自动检测分析系统, Makler 计数板检测精液质量参数。取 5  $\mu$ L 完全液

化精液于计数板,盖盖玻片,静置 15 s,分析精子浓度、精子活动率、曲线速度、直线速度和平均路径速度等指标,每份样本至少追踪 200 个活动精子。使用贝索巴氏染色液对涂片染色,计数正常形态精子。

#### 1.2.3 精子 DFI 测定

采用精子染色质扩散法测定精子 DFI,检测试剂盒购自安科生物股份有限公司。(1) 凝胶准备,将易熔凝胶管置于 80 ℃水浴融化后,转移至 37 ℃恒温水浴箱平衡至少 5 min; (2) 精液处理,取 100  $\mu$ L 完全液化精液与 200  $\mu$ L 稀释液混匀,取 50  $\mu$ L 于凝胶管中再次混匀,37 ℃孵育备用; (3) 制片,取 30  $\mu$ L 混合液滴于预冷的包被载玻片上,盖盖玻片,4 ℃凝固 5 min; (4) 变性,移除盖玻片,滴加变性液变性 7 min,弃变性液,再用裂解液反应 20 min; (5) 洗涤与脱水,将载玻片水平置入纯化水中洗涤 1~2 次后,依次置于 70%、90% 和 100% 乙醇中脱水 2 min; (6) 染色,加入染色液 A 10 滴,放置 1~2 min,再加染色液 B 20 滴,混匀后染色 15 min,流水冲洗后自然干燥。

在光学显微镜下 (400 倍) 观察精子头部光晕情况, DNA 完整无碎片的精子形成大光晕或中光晕; DNA 断裂为碎片的精子形成小光晕或无光晕; DNA 不完整的精子不会产生光晕。记录精子 DNA 碎片情况,计算精子 DFI。精子 DFI (%) = (精子 DNA 碎片数量/被观察的精子数量)  $\times 100\%$ 。精子 DFI > 25% 为精子 DFI 阳性。

#### 1.2.4 血清 Hcy 和 FA 测定

抽取外周静脉血 3 mL,离心后取上清液检测血清 Hcy 和 FA。使用 HITACHI LABOSPECT 008AS 全自动生化分析仪 (日立),采用双试剂循环酶法检测血清 Hcy,检测试剂购自上海科华生物股份有限公司。血清 Hcy  $\geq 15.0$   $\mu$ mol/L 为高 Hcy 组, <15.0  $\mu$ mol/L 为正常组。使用雅培 I2000 化学发光仪 (雅培),采用化学发光免疫分析法检测血清 FA,检测试剂为原装配套试剂。FA  $\leq 6.28$  nmol/L 为 FA 缺乏。

### 1.3 统计分析

采用 SPSS 25.0 软件统计分析。定量资料服从正态分布的采用均数 $\pm$ 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 描述,组间比较

采用 *t* 检验。定性资料采用相对数描述，组间比较采用  $\chi^2$  检验。采用线性回归模型分析血清 Hcy 与 FA、精子 DFI 的相关性。以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 高 Hcy 组与正常组一般资料比较

纳入 173 人，年龄为  $(30.42 \pm 4.04)$  岁；其中高 Hcy 组 39 人，年龄为  $(30.82 \pm 4.63)$  岁，禁欲时间为  $(3.87 \pm 1.28)$  d；正常组 134 人，年龄为  $(30.31 \pm 3.86)$  岁，禁欲时间为  $(3.53 \pm 1.12)$  d；两组年龄和禁欲时间差异无统计学意义（均  $P>0.05$ ）。高 Hcy 组血清 Hcy 水平为  $(31.66 \pm 19.53)$   $\mu\text{mol/L}$ ，高于正常组的  $(10.70 \pm 2.12)$   $\mu\text{mol/L}$ ，差异有统计学意义（ $P<0.05$ ）。见表 1。

2.2 高 Hcy 组与正常组精液质量参数比较

高 Hcy 组精子浓度为  $(91.77 \pm 61.11) \times 10^6$  个/mL，低于正常组的  $(144.21 \pm 106.82) \times 10^6$  个/mL（ $P<0.05$ ）；两组精液体积、精子活动率、曲线速度、直线速度、平均路径速度和精子正常形态率比较，差异无统计学意义（均  $P>0.05$ ）。见表 1。

表 1 两组一般资料、精液质量参数比较

Table 1 Comparison of general information and semen quality parameters between the two groups

| 项目                           | 高 Hcy 组     | 正常组           | <i>t</i> 值 | <i>P</i> 值 |
|------------------------------|-------------|---------------|------------|------------|
| 年龄/岁                         | 30.82±4.63  | 30.31±3.86    | 0.699      | 0.205      |
| 禁欲时间/d                       | 3.87±1.28   | 3.53±1.12     | 1.629      | 0.424      |
| 血清 Hcy/（ $\mu\text{mol/L}$ ） | 31.66±19.53 | 10.70±2.12    | 12.262     | <0.001     |
| 精液体积/mL                      | 3.35±1.27   | 3.08±1.57     | 1.121      | 0.321      |
| 精子浓度/（ $\times 10^6$ 个/mL）   | 91.77±61.11 | 144.21±106.82 | 2.926      | 0.003      |
| 精子活动率/%                      | 56.47±19.24 | 58.43±17.18   | 0.610      | 0.356      |
| 曲线速度/（mm/s）                  | 41.09±16.81 | 42.63±16.09   | 0.519      | 0.898      |
| 直线速度/（mm/s）                  | 18.97±8.33  | 20.09±7.78    | 0.778      | 0.516      |
| 平均路径速度/（mm/s）                | 26.91±11.16 | 28.23±10.62   | 0.672      | 0.827      |
| 精子正常形态率/%                    | 5.08±2.73   | 6.00±2.82     | 1.804      | 0.751      |

2.3 高 Hcy 组与正常组 FA、精子 DFI 比较

高 Hcy 组检测 FA 31 人，FA 水平为  $(4.44 \pm 1.79)$  nmol/L；FA 缺乏 26 例，缺乏率为 83.87%。正常组检测 FA 106 人，FA 水平为  $(7.64 \pm 3.68)$  nmol/L；FA 缺乏 55 例，缺乏率为 51.89%。两组 FA 水平（ $t=4.666$ ， $P=0.001$ ）和 FA 缺乏率（ $\chi^2=10.153$ ， $P=0.001$ ）差异有统计学意义。

高 Hcy 组检测精子 DFI 20 人，DFI 为  $(19.21 \pm$

$8.85)$  %；精子 DFI 阳性 8 例，阳性率为 40.00%。正常组检测精子 DFI 86 人，DFI 为  $(13.07 \pm 6.43)$  %；精子 DFI 阳性 6 例，阳性率为 6.98%。两组精子 DFI（ $t=3.561$ ， $P=0.031$ ）和精子 DFI 阳性率（ $\chi^2=15.437$ ， $P<0.001$ ）差异有统计学意义。

2.4 血清 Hcy 与 FA、精子 DFI 的相关性

血清 Hcy 水平与 FA 水平呈负相关（ $r=-0.369$ ， $P<0.001$ ），与精子 DFI 呈正相关（ $r=0.351$ ， $P<0.001$ ），表明随着血清 Hcy 水平的升高，FA 水平呈下降趋势，精子 DFI 呈上升趋势。

3 讨论

本研究探讨了高 Hcy 水平与男性精子质量的相关性，通过分析高 Hcy 组和正常组的精液质量参数、FA 水平和精子 DFI，发现高 Hcy 组精子浓度和 FA 水平低于正常组，精子 DFI 高于正常组；血清 Hcy 水平与 FA 水平呈负相关，与精子 DFI 呈正相关。研究表明，高 Hcy 水平可能通过氧化应激途径损伤精子 DNA 完整性，并与 FA 代谢紊乱相关<sup>[8-9]</sup>，提示高 Hcy 水平和 FA 缺乏可能是影响男性精子质量和生育力的重要因素。

精液质量参数是评估男性生育力的基础指标。本研究发现，高 Hcy 组和正常组的精子浓度差异有统计学意义，可能与 Hcy 通过促进氧化应激、损伤血管内皮细胞等机制间接影响睾丸血供和生精功能，进而导致精液质量下降有关<sup>[6, 10-11]</sup>。虽然精子活动率和精子正常形态率等其他精液质量参数在两组间差异无统计学意义，但并不排除这些指标在高 Hcy 水平下也受到影响的的可能性。此外，生殖中心门诊患者多因生育问题或生殖系统疾病就诊，Hcy 正常组也可能存在其他精液指标异常，增加了研究的复杂性。研究发现，传统精液质量参数虽仍用于评估男性生育力，但其敏感性有限，已不能满足临床需求，仍有 25% 的人群不育原因不明<sup>[12]</sup>。

高 Hcy 组和正常组 FA 水平存在差异，且高 Hcy 组 FA 缺乏率较高，提示 FA 缺乏可能加剧了 Hcy 的堆积<sup>[13]</sup>，及时补充足量的 FA 已被证实能有效降低血清 Hcy 水平<sup>[14]</sup>。两组精子 DFI 的差异进一步证实了 Hcy 对精子 DNA 完整性的损害，血清 Hcy 的累积可能是精子 DFI 过高的潜在风险<sup>[15]</sup>。精子 DNA 完整性是确保遗传信息准确传递给子代的关键因素之一，其损伤可能导致不育、流产或胎儿畸形等不良结局<sup>[16]</sup>。但 Hcy 正常组中仍有部分男性出现精子 DFI 升高，表明除 Hcy 外，其他因素（如感染、

内分泌和遗传等)也可能参与精子DNA损伤过程<sup>[17]</sup>,需多维度排查病因。备孕期男性应积极检测Hcy和FA,及时补充FA以降低Hcy水平,这对提升男性生育力有重要的临床意义。

本研究还初步探讨了血清Hcy与FA、精子DFI之间的相关性,结果显示,血清Hcy水平与FA水平呈负相关,与精子DFI呈正相关,但相关系数较低( $r<0.5$ ),可能与生殖中心门诊男性Hcy检测开展不足、样本量过少有关。后续研究需进一步扩大样本量、优化检测方法和考虑更多混杂因素,以更准确地探究三者的内在关系。同时深入探索Hcy代谢通路中关键酶基因多态性与精子功能损伤的分子机制<sup>[18]</sup>,以优化临床干预策略。

### 参考文献

- [1] QIAO J, WANG Y Y, LI X H, et al. A Lancet Commission on 70 years of women's reproductive, maternal, newborn, child, and adolescent health in China [J]. *Lancet*, 2021, 397 (10293): 2497-2536.
- [2] SHARMA A, MINHAS S, DHILLO W S, et al. Male infertility due to testicular disorders [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2021, 106 (2): 442-459.
- [3] World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen, 6th ed [M]. Geneva: WHO, 2021.
- [4] FORGES T, MONNIER-BARBARINO P, ALBERTO J M, et al. Impact of folate and homocysteine metabolism on human reproductive health [J]. *Hum Reprod Update*, 2007, 13 (3): 225-238.
- [5] RAIGANI M, LAKPOUR N, SOLEIMANI M, et al. Association of *MTHFR* C677T and *MTRR* A66G gene polymorphisms with Iranian male infertility and its effect on seminal folate and vitamin B<sub>12</sub> [J]. *Int J Fertil Steril*, 2021, 15 (1): 20-25.
- [6] 刘春辉, 王志强, 王养民, 等. 少弱精子症患者同型半胱氨酸水平与精子DNA碎片指数相关性研究 [J]. *中华男科学杂志*, 2018, 24 (7): 662-665.  
LIU C H, WANG Z Q, WANG Y M, et al. Correlation between homocysteine levels and sperm DNA fragmentation index in patients with oligoasthenospermia [J]. *Natl J Androl*, 2018, 24 (7): 662-665. (in Chinese)
- [7] SHIRALIZADEH J, BARMANI H, HAIATY S, et al. The effects of high and low doses of folic acid on oxidation of protein levels during pregnancy: a randomized double-blind clinical trial [J]. *Horm Mol Biol Clin Invest*, 2017, 33 (3): 1868-1891.
- [8] DUTTA S, HENKEL R, AGARWAL A. Comparative analysis of tests used to assess sperm chromatin integrity and DNA fragmentation [J]. *Andrologia*, 2021, 53 (2): 1-18.
- [9] JEREMIAS J T, BELARDIN L B, OKADA F K, et al. Oxidative origin of sperm DNA fragmentation in the adult varicocele [J]. *Int Braz J Urol*, 2021, 47 (2): 275-283.
- [10] LIONAKI E, PLOUMI C, TAVERNARAKIS N. One-carbon metabolism: pulling the strings behind aging and neurodegeneration [J]. *Cells*, 2022, 11 (2): 214-239.
- [11] AKAMINE K, MEKARU K, GIBO K, et al. Impact of the one-carbon metabolism on oocyte maturation, fertilization, embryo quality, and subsequent pregnancy [J]. *Reprod Med Biol*, 2021, 20 (1): 76-82.
- [12] 周莲, 符明昌, 蔡添娥, 等. 精浆同型半胱氨酸与精子形态、DNA碎片指数在男性不育患者中的相关性研究 [J]. *中国性科学*, 2023, 32 (1): 23-26.  
ZHOU L, FU M C, CAI T E, et al. Correlation of seminal plasma homocysteine with sperm morphology and DNA fragmentation index in male infertility patients [J]. *Chin J Hum Sex*, 2023, 32 (1): 23-26. (in Chinese)
- [13] DAI C C, FEI Y M, LI J M, et al. A novel review of homocysteine and pregnancy complications [J/OL]. *Biomed Res Int*, 2021 [2025-02-28]. <https://doi.org/10.1155/2021/6652231>.
- [14] KAYE A D, JEHA G M, PHAM A D, et al. Folic acid supplementation in patients with elevated homocysteine levels [J]. *Adv Ther*, 2020, 37 (10): 4149-4164.
- [15] 何海洪, 郭伟权, 柯娟玉, 等. 严重生精障碍男性精子DNA碎片指数及Hcy水平的研究分析 [J]. *中国医药科学*, 2017, 7 (11): 14-17.  
HE H H, GUO W Q, KE J Y, et al. Research and analysis of sperm DNA fragmentation index and Hcy level of males with severe spermatogenesis dysfunction [J]. *China Med Pharm*, 2017, 7 (11): 14-17. (in Chinese)
- [16] PANNER SELVAM M K, AMBAR R F, AGARWAL A, et al. Etiologies of sperm DNA damage and its impact on male infertility [J]. *Andrologia*, 2021, 53 (1): 1-15.
- [17] 《男性生殖遗传学检查专家共识》编写组. 男性生殖遗传学检查专家共识 [J]. *中华男科学杂志*, 2015, 21 (12): 1138-1142.  
Editorial Team for the Expert Consensus Panel on Male Reproductive Genetic Testing. Expert consensus on male reproductive genetic testing [J]. *Natl J Androl*, 2015, 21 (12): 1138-1142. (in Chinese)
- [18] 刘春辉, 陕文生, 王志强, 等. *MTHFR*、*MTRR*基因多态性与精子DNA完整性的相关性分析 [J]. *中国男科学杂志*, 2023, 37 (2): 62-69.  
LIU C H, SHAN W S, WANG Z Q, et al. Correlation analysis of *MTHFR* and *MTRR* gene polymorphisms with sperm DNA integrity [J]. *Chin J Androl*, 2023, 37 (2): 62-69. (in Chinese)

收稿日期: 2024-12-03 修回日期: 2025-02-28 本文编辑: 徐亚慧