· 临床检验研究论著 ·

精子 DNA 损伤与精子形态、顶体完整率的关系研究

黄　茜，丘　映△，史秋雯，黄承强
（广西医科大学第三附属医院生殖中心，广西南宁 530031）

摘　要：目的　探讨精子 DNA 损伤与精子形态和顶体完整率的关系。**方法**　对 280 例男性不育者进行精子 DNA 碎片指数（DFI）分析，并分析精子形态、顶体完整率。**结果**　严重畸形精子症组和顶体完整率异常组，精子 DFI 值显著增加；精子 DFI≥40％组，精子正常形态率、顶体完整率均显著降低；精子 DFI 与正常形态率、顶体完整率呈显著负相关。**结论**　精子 DNA 损伤与精子形态、顶体完整率有密切关系，临床应结合精子 DNA 损伤程度和其他参数评价男性生育能力。

关键词：顶体；　精子；　DNA 损伤；　不育，男（雄）性
DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2013.06.005　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1673-4130(2013)06-0649-02

The relationship between sperm DNA damage and sperm morphology, acrosome integrity rate

Huang Qian, Qiu Ying△, Shi Qiuwen, Huang Chengqiang
(*Reproductive Center, The Third Hospital of Guangxi Medical University, Nangning, Guangxi* 530031)

Abstract: Objective　To analyze the relationship between sperm DNA damage and sperm morphology, acrosome integrity. **Methods**　280 cases of male infertility were examined by sperm DFI, sperm morphology and rate of sperm acrosome integrity. **Results**　The sperm DFI obviously increase with abnormality of sperm morphology and acrosome integrity. In the group which DFI≥40％, the rate of normal morphology and acrosome integrity decreased significantly. the sperm DFI has obviously negative correlation with normal sperm normal morphology and acosome integrity. **Conclusion**　Sperm DNA damage has correlation with sperm morphology and acrosome integrity. Sperm DNA damage should be concerned in clinical diagnose.

Key words: acrosome;　spermatozoa;　DNA damage;　infertility, male

精子 DNA 损伤是评价精子质量的一项新的检测指标[1]，研究表明，男性不育可能与精子 DNA 的损伤紧密相关[2]。精子形态是评价男性生育力的重要参数，精子顶体缺陷也与男性不育有密切关系，顶体完整率是反映精子顶体缺陷与否的重要指标[3]。本文研究不育症患者精子 DNA 损伤与精子形态、顶体完整率的关系，旨在为男性不育机制提供实验依据，现将结果报道如下。

1　资料与方法

1.1　一般资料　280 例样本均来自 2011 年 1 月至 2012 年 4 月在本院就诊的男性不育症患者，年龄 25～47 岁，平均（34.2±5.4）岁，身体健康，无创伤及遗传性疾病家族史，无性功能障碍史，体检未发现睾丸、附睾及输精管等异常。根据正常形态精子百分率分为≥15％、10％～＜15％、5％～＜10％和＜5％ 4 组；根据顶体完整率分为＞75％和≤75％ 2 组。

1.2　方法

1.2.1　精液标本收集　患者禁欲 2～7 d，手淫法采集精液于洁净干燥容器内，置 37 ℃温箱待液化。

1.2.2　精子形态分析　采用 Diff-Qick 快速染色法，试剂由瑞典 DB 公司提供，依据世界卫生组织（WHO）2010 精液分析标准进行[4]。

1.2.3　精子顶体完整率检测　采用植物凝集素（PSA）荧光标识法，试剂由美国 Sigma 公司提供。依据世界卫生组织（WHO）2010 精液分析标准进行[4]。

1.2.4　精子 DNA 损伤的检测　采用精子染色质扩散实验（SCD），试剂为西班牙 Halosperm OR 试剂盒，操作步骤严格按照说明书进行。通过检测精子 DNA 对酸变性的易感性间接反映精子 DNA 的完整性。经过酸变性和除去核蛋白后，通过染色，有碎片的精子不能产生特征性的光晕，而没有碎片的精子则可以产生特征性的光晕[5]。DNA 完整的精子扩散出大于头部较大直径 1/3 的晕环，DNA 损伤精子晕环很小或没有。在高倍镜下计数大于 500 条精子，并计算 DNA 存在损伤精子所占比例，即精子 DNA 碎片指数（DFI）。

1.3　统计学处理　采用 SPSS13.0 统计软件进行分析，各组数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示，均值比较采用 t 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　　果

2.1　精子形态与精子 DFI 的关系　见表 1。

表 1　不同正常形态精子的 DFI 比较

正常形态率（％）	n	DFI（$\bar{x}\pm s$，％）
≥15	38	20.08±10.94
10～＜15	96	21.44±11.37
5～＜10	116	22.81±10.69
＜5	30	36.81±14.12*

*：分别与其他三组比较，$P<0.01$。

2.2　精子顶体完整率与 DFI　精子顶体完整率大于 75％有 196 例，DFI 为（23.90±10.07）％，小于或等于 75％有 84 例，DFI 为（28.11±12.46）％，两者比较差异有统计学意义（$P<0.05$）。

2.3　精子 DFI 与形态、顶体完整率的关系。根据精子的 DFI 值分为 3 组，分别比较精子正常形态率、顶体完整率，见表 2。

表 2　DFI 与正常形态率、顶体完整率的关系

DFI（％）	n	正常形态率（$\bar{x}\pm s$，％）	顶体完整率（$\bar{x}\pm s$，％）
＜30	213	10.57±3.44	82.36±6.90
30～＜40	36	9.63±4.90	79.78±7.53
≥40	31	6.45±3.19*	68.54±9.97*

*：$P<0.01$，分别与其他两组比较。

3　讨　　论

有研究表明，男性不育可能与精子 DNA 损伤紧密相关，

作者简介：黄茜，女，主管技师，主要从事临床检验基础研究。　△　通讯作者，E-mail：nnqying@sina.com

不育男性的精子 DNA 断裂水平高于生育男性[6]，精液指标正常的特发性不育患者，其精子 DFI 也增高[7]。对精子 DNA 完整性进行检测被认为优于传统精液常规检测指标[6,8]。

造成精子 DNA 损伤的病因有：(1)环境毒物。多种化学品可能损伤精子 DNA 并由此造成生殖毒性。(2)病理因素。经流行病学调查，发现精子 DNA 的损伤程度与精索静脉曲张、生殖道感染和特发性不育等病因有关[9]。(3)医源性因素如精子冷冻、化疗、放疗等和个人不良生活习惯如吸烟、饮酒等均会造成精子 DNA 损伤。这些导致精子 DNA 损伤的因素同样也是造成包括形态指标异常的原因。Cohen-Bacrie 等[10]研究发现，精子 DNA 损伤与形态异常精子、颈部异常和卷尾存在相关性，Moskovtsev 等[11]分析表明，精子 DNA 损伤与精子密度、活动率和形态存在负相关。

本研究显示，正常形态小于 5%的严重畸形精子症组，精子 DFI 值显著增加，顶体完整率异常组与正常组比较，精子 DFI 值有显著差异($P<0.01$)；精子 DFI≥40%组，精子正常形态率、顶体完整率均显著降低；精子 DFI 值与正常形态率存在负相关($r=-0.288$，$P=0.01$)，这与相关的研究结果[10-11]相符；精子 DFI 值亦与顶体完整率存在负相关($r=-0.164$，$P=0.025$)。这说明致病因素在影响精子形态及顶体的同时，也对精子 DNA 造成损伤。本研究中，2.6%的精子形态参数正常和 6.1%的精子顶体完整率参数正常病例的精子 DNA 损伤大于 30%，这说明尽管精子 DNA 损伤和精子正常形态率、顶体完整率均有关系，但这种关系是有一定相对性的。既往也有研究显示，精子 DNA 损伤是一些男性不育患者精液分析各指标中唯一的异常指标[12]。

总之，精子 DNA 损伤与正常形态率、顶体完整率密切相关，精子 DNA 损伤反映精液质量具有相对特异性，临床上应结合精子 DNA 损伤和其他精液参数以正确评估男性生育力。

参考文献

[1] Evenson DP, Larson KL, Jost LK. Sperm chromatin structure assay: its clinical use for detecting sperm DNA fragmentation in male infertility and comparisons with other techniques[J]. J Androl, 2002, 23(1): 25-43.

[2] Virro MR, Larson-Cook KL, Evenson DP. Sperm chromatin structure assay (SCSA) parameters are related to fertilization, blastocyst development, and ongoing pregnancy in in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection cycles. [J]. Fertil Steril, 2004, 81(5): 1289-1295.

[3] 汤洁，张宁，丁小平，等. 精液分析中各参数与顶体完整率、畸形率和存活率间相关性研究[J]. 中国优生与遗传杂志，2002，10(5)：112-112，116..

[4] 世界卫生组织. 人类精精液检查与处理实验室手册[M]. 5 版. 北京：人民卫生出版社，2011：124-126.

[5] Nández JL, Muriel L, Rivero MT, et al. The sperm chromatin dispersion test: a simple method for the determination of sperm DNA fragmentation[J]. J Androl, 2003, 24(1): 59-66.

[6] Agarwal A, Said TM. Role of sperm chromatin abnormalities and DNA damage in male infertility[J]. Hum Reprod Update, 2003, 9(4): 331-345.

[7] Saleh RA, Agarwal A, Nada EA, et al. Negative effects of increased sperm DNA damage in relation to seminal oxidative stress in men with idiopathic and male factor infertility[J]. Fertil Steril, 2003, 79(Suppl 3): S1597-1605.

[8] Sakkas D, Manicardi GC, Bizzaro D. Sperm nuclear DNA damage in the human[J]. Adv Exp Med Biol, 2003, 518(1): 73-84.

[9] Moskovtsev SI, Mullen JB, Lecker I, et al. Frequency and severity of sperm DNA damage in patients with confirmed cases of male infertility of different aetiologies[J]. Reprod Biomed Online, 2010, 20(6): 759-763.

[10] Cohen-Bacrie P, Belloc S, Ménézo YJ, et al. Correlation between DNA damage and sperm parameters: a prospective study of 1,633 patients[J]. Fertil Steril, 2009, 91(5): 1801-1805.

[11] Moskovtsev SI, Willis J, White J, et al. Sperm DNA damage: correlation to severity of semen abnormalities[J]. Urology, 2009, 74(4): 789-793.

[12] Saleh RA, Agarwal A, Nelson DR, et al. Increased sperm nuclear DNA damage in normozoospermic infertile men: a prospective study[J]. Fertil Steril, 2002, 78(2): 313-318.

(收稿日期：2012-12-03)

(上接第 648 页)

3 讨　　论

本文首次采用化学发光免疫分析法对荨麻疹患者血清中的特异性 IgG、IgG4、IgE 进行了测定，鸡蛋、牛奶、猪牛羊肉、虾蟹、鱼类、大豆是荨麻疹患者的主要食物过敏原，且不同年龄段的主要过敏原存在统计学差异，而不同性别无统计学差异；另外，不同食物过敏原在特异性 IgG、IgG4、IgE 检测中有统计学差异，仅依据单一测定结果，不能判断某种食物是否为过敏原，例如大豆，在 IgE 的检测中阳性率较低，而在 IgG 和 IgG4 的检测中较高，这主要是由于不同食物可能会引起不同的速发型或迟发型过敏反应，也可会同时引发两种反应，所以在食物过敏原诊断中，应该联合检测特异性 IgG、IgG4、IgE。本研究由于实验条件有限，选择的研究群体和食物过敏原较少，不能明确对 IgG、IgG4、IgE 的食物过敏原下结论，在今后的研究中，应该加大研究对象和食物过敏原的种类，为临床食物过敏原的诊断提供依据。

参考文献

[1] 裘新民. 慢性湿疹、荨麻疹患者血清过敏原特异性 IgE 的检测[J]. 中国麻风皮肤病杂志，2007，23(2)：178.

[2] Halpern GM, Scott JR. Non-IgE antibody mediated mechanisms in food allergy[J]. Ann Allergy, 1987, 58(1): 14-27.

[3] Eysink PE, De Jong MH, Bindels PJ, et al. Relation between IgG antibodies to foods and IgE antibodies to milk, egg, cat, dog and/or mite in a cross-sectional study[J]. Clin Exp Allergy, 1999, 29(5): 604-610.

[4] Zar S, Benson MJ, Kumar D. Food-specific serum IgG4 and IgE titers to common food antigens in irritable bowel syndrome[J]. Am J Gastroenterol, 2005, 100(7): 1550-1557.

[5] 陈载融，曲永红，孙春洪. 特异性 IgG_4 用于荨麻疹患者食物过敏原筛查临床意义[J]. 医学临床研究，2007，24(6)：982-983.

[6] Hendra T. Passing the food allergen test[J]. Cereal Foods World, 2003, 48(1): 20-23.

[7] 中华医学会皮肤性病学分会. 荨麻疹诊疗指南(2007 版)[J]. 中华皮肤科杂志，2007，40(10)：591-593.

[8] 唐绍生，郑学毅，孙广政. 慢性荨麻疹患者过敏原特异性 IgE 与特异性 IgG 分析[J]. 实验与检验医学，2009，27(2)：121-122.

[9] 朱薇，付香莲，李加飞. 165 例慢性荨麻疹患者食物过敏原检测结果分析[J]. 皮肤病与性病，2010，32(4)：4-5.

(收稿日期：2012-11-09)