

• 短篇论著 •

# 精子 DFI、HDS 与精子形态和患者年龄的相关性分析\*

王甩艳<sup>1</sup>, 张秀明<sup>1</sup>, 林喜荣<sup>1</sup>, 罗燕萍<sup>1</sup>, 贺玉莹<sup>2</sup>, 莫红梅<sup>1△</sup>

1. 深圳市罗湖区人民医院医学检验科, 广东深圳 518001;

2. 深圳市罗湖医院集团医学检验中心, 广东深圳 518001

**摘要:**目的 对男性不育患者进行精子 DNA 检测, 探讨精子 DNA 碎片指数(DFI)、精子高 DNA 着色性(HDS)与受检者的精子形态及年龄的关系。方法 选取深圳市罗湖区人民医院生殖中心 601 例精液样本, 显微镜法计算正常形态精子百分比, 流式细胞仪检测精子 DFI 和 HDS, 并分析其与受检者的正常形态精子及年龄之间的关系。结果 正常形态精子百分比 $<4.00\%$ 组与 $\geq 4.00\%$ 组之间的 DFI 和 HDS 比较, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。各年龄组间 DFI 比较, 差异均有统计学意义( $P<0.05$ ), 而各年龄组间 HDS 比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。正常形态精子百分比与精子 DFI、HDS 呈负相关( $r=-0.162, P<0.05; r=-0.281, P<0.05$ ), 年龄与精子 DFI 呈正相关( $r=0.132, P<0.05$ ), 而年龄与精子 HDS 无相关性。结论 精子 DFI 和 HDS 可作为反映男性生育能力的指标。

**关键词:**精子 DNA 碎片指数; 精子高 DNA 着色性; 不育

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2021.05.024

**中图法分类号:**R698.2

**文章编号:**1673-4130(2021)05-0621-03

**文献标志码:**A

精液常规检测是对男性生育能力进行评估的基础检查项目, 但对精子功能的亚细胞结构不能做出评估<sup>[1-2]</sup>。精子 DNA 检测包括精子 DNA 碎片指数(DFI)和精子高 DNA 着色性(HDS)。精子 DFI 是一个被认为较各种常规精液参数更为有效的男性不育指标, 可以预测自然受孕和体外受精的结果<sup>[3-5]</sup>。精子 HDS 指高可染性的精子即核未完全缩合的不成熟精子占总精子的百分数, 反映的是精子的成熟度<sup>[6]</sup>。精子 DNA 损伤有关的因素包括年龄、环境污染物等<sup>[7]</sup>。本文对男性不育患者的精子 DFI、HDS 与其形态和患者年龄进行相关性分析, 旨在探讨其在男性生殖能力评估上的应用价值。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2018 年 5 月至 2020 年 1 月深圳市罗湖区人民医院生殖中心的 601 例患者精液样本。601 例患者婚后均正常性生活 1 年以上不育, 无外伤及遗传性疾病家族史, 体检未发现明显睾丸、附睾及输精管异常等, 且基本排除女方不孕因素。正常形态精子百分比为  $0.00\% \sim 9.00\%$ , 平均  $(3.45 \pm 1.91)\%$ ; 年龄  $21 \sim 72$  岁, 平均  $(35.76 \pm 7.43)$  岁。

**1.2 精子形态学分析** 采用改良巴氏染色, 按照世界卫生组织(WHO)《人类精液检查与处理实验室手册第 5 版》标准<sup>[8]</sup>, 进行精子形态评价, 正常形态精子百分比参考范围 $\geq 4.00\%$ 。

**1.3 精子 DFI 和 HDS 检测方法** 使用的仪器是流

式细胞仪(minrray, BriCyte E6), 采用 FCSAS 软件分析精子的 DFI 和 HDS。检验原理是正常精子 DNA 紧密结合而具有抗酸性, 维持双链的稳定性, 而受损的或不成熟的精子形成松散的染色质结构, 其 DNA 在酸作用下变成单链, 吖啶橙(AO)与双链 DNA 结合发出绿色荧光, 与单链 DNA 结合发出红色荧光, 然后通过配有专用软件的流式细胞仪得出相关参数。DFI $\leq 15\%$ : 精子 DNA 完整性好;  $15\% < \text{DFI} < 30\%$ : 精子 DNA 完整性一般; DFI $\geq 30\%$ : 精子 DNA 完整性差。HDS $\leq 15\%$ : 精子成熟染色质含量正常; HDS $> 15\%$ : 精子成熟染色质含量异常。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS17.0 统计软件进行数据分析, 计数资料以 $[n(\%)]$ 表示, 组间差异采用非参数检验分析, 受检者的正常形态精子及患者年龄与精子 DFI 和 HDS 的相关性均采用 Pearson 相关分析。

## 2 结果

**2.1 精液样本检测结果** 受检的 601 例精液样本中, 精子 DNA 完整性好的有 243 例(40.43%); 精子 DNA 完整性一般的有 241 例(40.10%); 精子 DNA 完整性差的有 117 例(19.47%)。精子成熟染色质含量正常的有 494 例(82.20%), 精子成熟染色质含量异常有 107 例(17.80%)。

**2.2 正常形态精子百分比与精子 DFI 和 HDS 的相关性** 依据正常形态精子百分比将患者分为 $< 4.00\%$ 组和 $\geq 4.00\%$ 组, 分析两组精子不同程度

\* 基金项目: 广东省深圳市医疗卫生三名工程项目(SZSM201601062)。

△ 通信作者, E-mail: 437897734@qq.com。

本文引用格式: 王甩艳, 张秀明, 林喜荣, 等. 精子 DFI、HDS 与精子形态和患者年龄的相关性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(5):

DNA 完整性和成熟染色质含量的分布情况,见表 1、2。随着正常形态精子百分比的增大,精子 DFI $\leq 15\%$ 的个体所占的比率逐渐上升,而精子 DFI $\geq 30\%$ 和  $15\% < \text{DFI} < 30\%$ 的个体所占的比率逐渐下降,且精子 HDS 的比率趋势与 DFI 一致。非参数检验显示正常形态精子百分比 $< 4.00\%$ 组与 $\geq 4.00\%$ 组之间的 DFI 和 HDS 比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。Pearson 相关分析表明正常形态精子百分比与精子 DFI 呈负相关( $r = -0.162, P < 0.05$ ),正常形态精子百分比与精子 HDS 呈负相关( $r = -0.281, P < 0.05$ )。

表 1 两组 DFI 比较					
组别	<i>n</i>	DFI≤15%	15%<DFI<30%	DFI≥30%	<i>P</i>
<4.00%组	345	114(33.04)	145(42.03)	86(24.93)	<0.05
≥4.00%组	256	129(50.39)	96(37.50)	31(12.11)	

表 2 两组 HDS 比较				
组别	<i>n</i>	HDS $\leq 15\%$	HDS $> 15\%$	<i>P</i>
$< 4.00\%$ 组	345	257(74.49)	88(25.51)	$< 0.05$
$\geq 4.00\%$ 组	256	237(92.58)	19(7.42)	

**2.3 年龄与精子 DFI 和 HDS 的相关性** 依据年龄将患者分为 $< 35$ 岁、 $35 \sim < 40$ 岁和 $\geq 40$ 岁 3 组,分析 3 组之间的精子不同程度 DNA 完整性和成熟染色质含量的分布情况,见表 3、4。随着年龄的增大,精子 DFI $\leq 15\%$ 的个体所占的比率逐渐下降,而精子 DFI $\geq 30\%$ 和  $15\% < \text{DFI} < 30\%$ 的个体所占的比率不断上升。各年龄组间 DFI 比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),而各年龄组间 HDS 比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。Pearson 相关分析表明患者年龄与精子 DFI 呈正相关( $r = 0.132, P < 0.05$ ),患者年龄与精子 HDS 无相关( $r = 0.020, P > 0.05$ )。

表 3 各组 DFI 比较				
组别	<i>n</i>	DFI $\leq 15\%$	$15\% < \text{DFI} < 30\%$	DFI $\geq 30\%$
$< 35$ 岁组	305	149(48.85)	119(39.02)	37(12.13)
$35 \sim < 40$ 岁组	159	64(40.25)	63(39.62)	32(20.13)
$\geq 40$ 岁组	137	30(21.90)	59(43.07)	48(35.03)

表 4 各组 HDS 比较				
组别	<i>n</i>	HDS $\leq 15\%$	HDS $> 15\%$	
$< 35$ 岁组	305	249(81.64)	56(18.36)	
$35 \sim < 40$ 岁组	159	128(80.50)	31(19.50)	
$\geq 40$ 岁组	137	117(85.40)	20(14.60)	

### 3 讨 论

精子 DNA 损伤是男性不育的主要分子原因,这对生育有负面影响。依据 WHO 指南,精液分析检测常规参数是评估男性生育能力的主要方法。然而,常

规的精液分析对男性生育能力的预测是很有限的,很多时候并不能够解释男性不育的原因。在全球范围内进行精子 DNA 片段分析,可作为男性不育症的预后和诊断及其管理的工具<sup>[9]</sup>。近年来的研究发现,精子在受孕和胚胎发育过程中也扮演了重要角色,包括遗传物质表达异常、表观遗传规律紊乱、DNA 完整性降低等。因此在评估男性生育力时,精子 DNA 完整性受到越来越多的关注。

精子 DNA 是父源遗传物质,其完整性对子代健康的重要性不言而喻。精子 DNA 损伤影响 DNA 碱基对的复制与转录,直接导致了遗传信息的缺失并影响生物转化功能,从而阻碍胚胎形成<sup>[10]</sup>。李清琴等<sup>[11]</sup>研究表明精子 DFI 与精子活力呈负相关,且升高水平与精子活力的下降程度有关,提示精子 DNA 损伤可能存在与精子活力下降相同的影响机制。前者研究的是 DFI 与精液常规参数相关分析,而本文在其基础上,旨在研究的是 DFI 和 HDS 与受检者的正常形态精子百分比及年龄的关系,DFI 反映的是精子 DNA 完整性好或差,是作为检测精子 DNA 损伤的一个重要指标,而 HDS 反映精子成熟染色质含量正常与否,是对精子 DNA 损伤的重要补充依据。本研究结果显示,正常形态精子百分比 $\geq 4.00\%$ 与 $< 4.00\%$ 这两组间的 DFI 和 HDS 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。精子 DFI 和 HDS 与正常形态精子百分比呈负相关,表明精子碎片率高且其成熟染色质含量异常可能会导致精子形态的异常,或者精子形态缺陷可伴有 DNA 碎片的增加和成熟染色质含量异常。而精子畸形会导致受精能力降低。

本研究各年龄组之间的 DFI 比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),并且年龄与精子 DFI 呈正相关,即年龄越大,DFI 越高,精子 DNA 的完整性越差。但是患者年龄与精子 HDS 无相关,说明年龄可能对于精子染色质的成熟影响不大。CROSNOEL 等<sup>[12]</sup>研究表明随着父方年龄的增大,单基因突变会每年增加两个,这对精子与受精卵的成功结合及胚胎的正常发育有着重要的作用。同时也有相关研究表明年龄增长,男性生育力下降,精液参数变差包括精子活动力、精子活率等降低<sup>[13]</sup>。因此,年龄增长导致精子 DNA 损伤概率增大和精子形态异常率升高。

精子 DNA 的损伤水平能显著性的预测宫颈内授精、宫腔内授精和体外授精等助孕手段的成功率,而且精子 DNA 损伤与卵细胞胞质内单精子注射及体外授精助孕治疗后的妊娠风险增加显著相关<sup>[14-15]</sup>。

精子 DFI、HDS 与精子形态均呈负相关,精子 DFI 与患者年龄呈正相关,故年龄是影响精子 DNA 完整性的因素之一,并且精子 DNA 损伤会导致精子形态的异常,因此精子 DFI 和 HDS 应与常规精液参数等综合分析,这在男性的不育原因诊断、精子生殖能力评估和人工辅助生殖结局的预测上有着非常重要的作用,同时需清楚精子 DNA 损伤的内在机制,有

待后续进一步研究。

## 参考文献

- [1] BARRATT C L. Semen analysis is the cornerstone of investigation for male infertility[J]. Practitioner, 2007, 251 (1690): 8-10.
- [2] EVGENI E, CHARALABOPOULOS K, ASIMAKOPOULOS B, et al. Human sperm DNA fragmentation and its correlation with conventional semen parameters[J]. J Reprod Infertil, 2014, 15(1): 2-14.
- [3] SMIT M, DOHLE G R, HOP W C, et al. Clinical correlates of the biological variation of sperm DNA fragmentation in infertile men attending an andrology outpatient clinic[J]. Int J Androl, 2007, 30(1): 48-55.
- [4] LU J C. Clinical application values and existed issues in the determination of sperm DNA damage[J]. Chin Med J, 2015, 95(1): 2989-2993.
- [5] AGARWAL A, SAID T M. Role of sperm chromatin abnormalities and DNA damage in male infertility[J]. Hum Reprod Update, 2003, 9(4): 331-345.
- [6] EVENSON D, DARZYNKIEWICZ Z, JOST L, et al. Changes in accessibility of DNA to various fluorochromes during spermatogenesis[J]. Cytometry, 1986, 7(1): 45-53.
- [7] MANESH K, PANNER S, ASHOK A. A systemic review on sperm DNA fragmentation in male factor infertility: laboratory assessment[J]. Arab J Urol, 2018, 16 (1): 65-76.
- [8] 谷翊群, 陈振文, 卢文红, 等. 世界卫生组织人类精液检查 • 短篇论著 •
- 与处理实验室手册第 5 版[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 49-54.
- [9] AGARWAL A, PANNER SELVAM M K, BASKARAN S, et al. Sperm DNA damage and its impact on male reproductive health: a critical review for clinicians, reproductive professionals and researchers[J]. Expert Rev Mol Diagn, 2019, 19(6): 443-457.
- [10] 熊承良, 商学军, 刘继红. 人类精子学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 986.
- [11] 李清琴, 董荔红, 吴丹梅, 等. 1 203 例不育患者的精子 DFI 与精液质量参数的相关性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(21): 2673-2676.
- [12] CROSNOEL L E, KIM E D. Impact of age on male fertility[J]. Curr Opin Obstet Gynecol, 2013, 25(1): 181-185.
- [13] PETERSEN C G, MAURI A L, VAGNINI L D, et al. The effects of male age on sperm DNA damage: an evaluation of 2178 semen samples[J]. JBRA Assist Reprod, 2018, 22(4): 323-330.
- [14] EVENSON D, WIXON R. Meta-analysis of sperm DNA fragmentation using the sperm chromatin structure assay [J]. Reprod Biomed Online, 2006, 12(4): 466-472.
- [15] ZINI A, BOMAN J M, BELZILE E, et al. Sperm DNA damage is associated with an increased risk of pregnancy loss after IVF and ICSI: Systematic review and meta-analysis[J]. Hum Reprod, 2008, 23(12): 2663-2668.

(收稿日期: 2020-04-10 修回日期: 2021-01-12)

# 脑脊液寡克隆区带分析中镜像对称条带的临床意义\*

王金玲, 王培昌<sup>△</sup>

首都医科大学宣武医院检验科, 北京 100053

**摘要:**目的 探讨寡克隆区带(OCB)电泳分析中镜像对称条带类型的临床意义。方法 选取 2015 年 1 月至 2018 年 12 月以各类神经系统疾病入住该院神经内科并且腰椎穿刺送检的脑脊液与血液样本 OCB 分析呈现镜像对称模式的 12 例患者作为研究对象, 每例患者均行血清免疫固定电泳分析 M 蛋白情况。结果 12 例覆盖 3 种不同类型的镜像对称条带。所有类型的镜像对称模式均与 M 蛋白密切相关。12 例最初以神经系统疾病收入院的患者中有 7 例被确诊为血液系统相关疾病, 且 12 例患者中无一人被诊断为多发性硬化。结论 无论何种类型的镜像对称条带的出现均提示患者血清中存在 M 蛋白的可能, 且基本可排除多发性硬化的诊断。

**关键词:**寡克隆区带电泳; 免疫固定电泳; M 蛋白; 镜像对称条带

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2021.05.025

**中图法分类号:**R744.52

**文章编号:**1673-4130(2021)05-0623-05

**文献标志码:**A

脑脊液寡克隆区带(OCB)是神经系统脱髓鞘性疾病, 是多发性硬化最具特征的诊断指标之一, 90%

的多发性硬化患者脑脊液可检测到 OCB 的合成<sup>[1-2]</sup>。OCB 在神经系统脱髓鞘性疾病的诊断、鉴别诊断及其

\* 基金项目:北京市医管局人才培养计划“登峰”项目(DFL20180803)。

<sup>△</sup> 通信作者, E-mail: pcw1905@126.com。

本文引用格式:王金玲, 王培昌. 脑脊液寡克隆区带分析中镜像对称条带的临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(5): 623-627.