

# 不育症病人的精子核 DNA 完整性检测分析

刘秉鑫\*, 殷溪菊, 卢宝珍, 胡永婷

(景德镇市妇幼保健院, 景德镇 333000)

**摘要:**为探讨不育症病人的精子核 DNA 完整性检测分析, 选取本院收治的 66 例男性不育症病人作为研究对象, 根据病人精液样本常规参数的参考值分为正常组 ( $n=30$ )、少精组 ( $n=8$ )、弱精组 ( $n=15$ )、畸形精组 ( $n=14$ ), 根据精子核 DNA 碎片指数 (DFI) 值分为精子核 DNA 完整性正常组、异常组, 检测分析精子核 DNA, 比较不同质量精液组精子 DFI, 比较精子核 DNA 完整性正常与异常组的精液常规检测结果, 分析精子 DFI 与精液常规参数的相关性。结果显示, 不同质量的精液组的 DFI 存在显著差异 ( $P < 0.05$ ), 其中弱精组显示最高, 其次为畸形精组、少精组和正常组。相比于异常组, 完整组的精子浓度、活动率、前向运动精子率和正常形态精子率均显著增高 ( $P < 0.05$ ), 表现出较为优越的生殖特征。患者的精子 DFI 与精子浓度、活动率、前向运动精子率和正常形态精子率呈显著的负相关关系 ( $P < 0.05$ )。说明精子核 DNA 完整性检测结果与精液的质量有一定关系。

**关键词:**不育症病人; 精子核 DNA; 完整性; 检测分析

## 0 引言

世界卫生组织 (WHO) 将不育症定义为育龄夫妻双方有正常性生活 1 年以上, 且未采取任何避孕措施而引起的不孕不育<sup>[1]</sup>。排除女方不孕后, 因男性原因引起的不孕不育症被称为男性不育症。有调查研究表明, 我国当前的不孕不育症发病率约 15%, 其中男性不育症占 50%<sup>[2]</sup>。男性不育症受多种因素影响, 病机复杂。临床多通过对精子浓度、活力、形态等常规参数的检查来评估男性生育力及预测妊娠情况。但这些参数无法对精子质量进行全面评估, 无法为妊娠风险、子代发育提供依据。所以, 应探寻更全面、更高质量、更稳定的指标以评价精液质量。DFI 是指被检测精子数中 DNA 断裂精子数的百分占比, 可以反映精子核 DNA 的完整性和损伤情况。高精子 DFI 不仅会使受精受阻、胚胎发育异常、降低妊娠成功率, 还会增加子代染色体疾病、神经系统疾病等发生风险<sup>[3]</sup>。本文探讨了不育症病人的精子核 DNA 完整性检测, 旨在明确不育症病人精子核 DNA 完整性, 对比其在不同精液异常中的差异, 从而评估精子核 DNA 完整性检测对男性生育力的应用价值及为治疗提供可靠依据。现将具体情况报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取本院在 2022 年 8 月至 2023 年 7 月收治的 66 例

男性不育症病人作为研究对象。本次研究经医院伦理委员会批准。纳入标准: 均为性生活正常的育龄男性; 性生活 1 年以上、未采取避孕措施; 作息规律、无不良嗜好; 均自愿参加此次研究。排除标准: 遗传性疾病; 性功能障碍; 睾丸、附睾、输精管异常; 吸烟酗酒、生活不规律。病人年龄 22~39(29.67±3.12) 岁。根据病人精液样本常规参数的参考值分为正常组、少精组 (精子浓度低于  $15 \times 10^6/\text{mL}$ )、弱精组 (精子前向运动低于 32%)、畸形精组 (精子正常形态低于 4%)。根据 DFI 值 15% 的界限分为精子核 DNA 完整性正常组 (DFI 低于 15%)、异常组 (DFI 超过 15%)。

### 1.2 检测方法

(1) 采集精液: 叮嘱病人于采集前禁欲 3~7 d, 精液样本通过手淫法采集, 置于无菌无毒容器中, 于 37°C 温箱内进行 30 min 的液化。

(2) 执行精液检查的常规参数测试时, 按照世界卫生组织 (WHO) 第 5 版的精液检查与处理实验室手册的要求, 采用德加精子自动分析仪 (型号为 SSA- II, 生产厂家为北京德加软件有限公司), 进行严格操作, 对精子的浓度、活动率、前向运动以及正常形态精子率等常规指标进行检测和分析。

(3) 检测精子 DFI: 对样本通过 TUNEL (脱氧核苷酸末端转移酶下 dUTP 末端标记法) 测定精子 DFI, 精子 DFI 检测试剂盒选择上海杰美基因, 计数超过 10000 个细胞,

\* 通信作者: 刘秉鑫, 主管护师, 研究方向为人类辅助生殖技术。E-mail: 296676697@qq.com

软件自动分析荧光比例和数据处理。

### 1.3 观察指标

①比较不同质量精液组精子 DFI。②比较精子核 DNA 完整性正常与异常组的精液常规检测结果。③分析精子 DFI 与精液常规参数的相关性。

### 1.4 统计学方法

研究数据运用 SPSS 20.0 软件进行处理, 计数资料以  $n$  表示, 进行  $\chi^2$  检验, 计量资料  $y$  以  $(\bar{x} \pm s)$  表示, 两组做  $t$  检验, 两组以上做  $F$  检验。  $P < 0.05$  表明其差异明显有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同质量精液组精子 DFI

不同质量精液组间精子 DFI 有显著差异 ( $P < 0.05$ ), 最高为弱精组, 其次依次为畸形精组、少精组、正常组, 提示参数异常不育症病人的精子核 DNA 损伤程度较正常组更高。如表 1 所示。

表 1 不同质量精液组精子 DFI 比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别( $n$ )	DFI/%
少精组( $n=8$ )	18.63±4.98
弱精组( $n=15$ )	27.09±7.63
畸形精组( $n=14$ )	20.44±5.99
正常组( $n=30$ )	13.89±4.90
$F$	13.156
$P$	0.001

### 2.2 精子核 DNA 完整性正常与异常组的精液常规检测结果

完整组的精子浓度、活动率、前向运动精子率、正常形态精子率均显著高于异常组 ( $P < 0.05$ ), 提示 DNA 损伤可能是导致不育的重要原因。如表 2 所示。

### 2.3 精子 DFI 与精液常规参数的相关性

患者的精子 DNA 碎裂指数 (DFI) 与精子浓度、活动率、前向运动精子率和正常形态精子率呈现显著的负相关关系 ( $P < 0.05$ )。如表 3 所示。

表 2 精子核 DNA 完整性正常与异常组的精液常规检测结果比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别( $n$ )	浓度 / ( $10^6$ /mL)	活动率 / %	前向运动精子率 / %	正常形态精子率 / %
完整组( $n=36$ )	37.61±12.72	51.56±13.02	43.69±10.53	6.06±1.75
异常组( $n=30$ )	25.98±9.86	38.41±11.51	27.41±8.16	3.11±1.02
$t$	4.087	4.294	6.911	8.146
$P$	0.001	0.001	0.000	0.000

表 3 精子 DFI 与精液常规参数的相关性

精液常规参数	$r$	$P$
浓度	-0.329	0.002
活动率	-0.649	0.000
前向运动精子率	-0.610	0.000
正常形态精子率	-0.282	0.001

## 3 讨论与结论

不育症病的影响因素多、发生机制复杂, 全面了解不育症的发生机制和症状对制定个体化治疗方案至关重要<sup>[4]</sup>。临床将男性不育症的病因大致概括为遗传基因缺陷、精索静脉曲张、生殖系统感染、性腺功能弱、内分泌异常、环境因素等, 导致精液质量不佳, 严重影响男性生育能力及妊娠成功率。临床上对精液质量的常规评估是针对精子浓度、活动率、前向运动力、形态等参数的检测分析, 未对精子核 DNA 完整性进行检测和评价。近年来有研究发现, 炎症、生殖及异常精子细胞在生长代谢中会产生浓度较高的活性氧, 进而损伤细胞 DNA、脂质、蛋白质, 降低精子浓度及活力, 与不育症的发生有较大关系<sup>[5]</sup>。精子核 DNA 是遗传信息载体, 是受精过程的重要

保证, 对妊娠成功率及子代的健康发育有极大的作用。通过检测精子核 DNA 的完整性, 可以在分子层面揭示精子的功能和评估患者的生育能力。所以, 临床上应深入研究精子核 DNA 完整性的检测评估。

当前, 我国临床对精子核 DNA 损伤机制的了解仍不够清晰, 但大多数学者认为与生精中细胞异常凋亡、精子运输中氧自由基的影响以及精子染色质组装异常有关<sup>[6]</sup>。可采用多种方法检测精子核 DNA 的完整性, 包括精子染色体结构分析试验、精子染色体扩散试验、聚合酶链反应以及 TUNEL 等。其中, TUNEL 原理是利用标记的 dUTP 通过脱氧核糖核酸末端转移酶连接至断裂 DNA 片段的 3-羟基末端, 然后通过荧光激发或化学显色进行检测。正常细胞因无 DNA 断裂而不形成 3-羟基, 因此检测过程中很少被染色。因此可较准确地检测凋亡精子 dsDNA 损伤。本次研究通过 TUNEL 检测结果显示, 不同质量精液组间精子 DFI 有显著差异, 最高为弱精组, 其次依次为畸形精组、少精组、正常组。提示参数异常的不育症患者, 其精子核 DNA 的损伤程度比正常组要严重。分析其原因: 精子核受损后, DNA 双链上缺失或改变了与精子发生基因的表达, 使精子出现障碍或凋亡。且持续高水平的高

浓度活性氧会对细胞产生氧化应激, 减少三磷酸腺苷酶(ATP), 加重线粒体功能紊乱及损伤, 进而促使不育症的发生。有学者的研究<sup>[7]</sup>也证实, 精子形态缺陷的病人有更严重的 DNA 碎片。所以, 检测精子核 DNA 完整性能有利于发现病人潜在的致病因素, 可为病人的生育能力及妊娠风险提供参考。

本次研究还发现, 精子核 DNA 完整性良好的组别在精子浓度、活动率、前向运动精子率和正常形态精子率上均表现出显著优势, 相较之下, 异常组的表现较差。此外, 患者的精子 DNA DFI 与精子浓度、活动率、前向运动精子率以及正常形态精子率呈明显的负相关关系。提示 DNA 损伤是导致不育的重要原因, 精子凋亡异常、氧化应激、染色质组装缺陷均会促进精子 DNA 损伤, 进而对精子的浓度和形态产生影响。说明有必要对不育症病人进行精子核 DFI 的检测, 通过观察精子遗传物质的完整性情况可评估精子核 DNA 损伤情况。基于以上研究, 本文建议在辅助生殖前的筛查流程中优化精子核 DFI 的检测。通过全面评估精子核 DNA 的完整性, 为不育症病人提供更加精准的生育能力评估。同时, 对于精子核 DNA 完整性异常的病人, 可以考虑给予抗氧化剂等干预措施, 以改善精子质量, 降低 DNA 碎片化程度。通过分析精子核 DNA 完整性异常机制, 氧化应激是各危险因素的共同通路。一项研究发现, 精子细胞在受到活性氧的激发时, 可能经历 DNA、脂质和蛋白质的受损, 进而影响精子细胞质膜的完整性和整体活力, 引发线性体功能紊乱和细胞凋亡<sup>[8]</sup>。正常情况下, 适度的活性氧水平有助于促进精子的能量获取、引发顶体反应以及促进精卵结合等生理过程。然而, 当活性氧水平超出正常范围表现为升高时, 氧化还原平衡状态可能被破坏, 导致细胞组织受到氧化应激损伤。活性氧包括氧化氢、羟自由基和超氧阴离子等。精子细胞膜内大量存在不饱和脂肪酸, 而这些成分容易在受到活性氧作用时发生脂质过氧化。由于精子胞质中抗氧化酶相对较少, 因此难以有效对抗活性氧的作用, 从而导致细胞膜脂质双分子结构的受损。精子膜通透性经过脂质氧化过程而增加, 抗氧化酶失去活性, 损伤 DNA 结构, 最终使精子细胞出现凋亡。正常情况下, 机体内的活性氧中和系统能抵消活性氧对精子细胞的损伤, 如过氧化氢酶、谷胱甘肽、超氧化物歧化酶及维生素 E 和维生素 C<sup>[9]</sup>。所以, 可考虑对精子核 DNA 完整性异常组病人给予抗氧化

剂干预。国外有研究显示, 对男性不育患者应用抗氧化剂口服后, 有效改善了患者的退化精子质量, 降低了精子核 DNA 碎片化<sup>[10]</sup>。这一显著的改善可能归因于常规氧化剂的积极作用。

精子核 DNA 完整性异常与男性精液质量有一定关系, 经常规参数与精子 DFI 检测能更加全面评估精液质量, 为男性生育能力及妊娠提供准确参考。但因本次研究例数较少、观察时间有限、评估指标不全面等因素, 还需要进行大量、深入的数据研究, 以进一步完善研究结论。

## 参考文献

- [1] 张志忠. 显微镜经腹股沟下MSV治疗VC性不育症的效果及对患者精子质量、性激素水平的影响[J]. 黑龙江医学, 2023, 47(22): 2703-2705.
- [2] 张永涛, 琚保军, 李霄, 等. 精子DNA碎片率与男性不育症患者的年龄、精液分析参数相关性研究[J]. 生殖医学杂志, 2023, 32(10): 1578-1582.
- [3] 石洁, 黄杰. 男性不育症患者精子核DNA完整性的临床研究[J]. 医学理论与实践, 2023, 36(19): 3267-3269+3273.
- [4] 梁世佳, 毛剑敏, 韩文均, 等. 生精3号方治疗肾虚血瘀型少弱畸精子不育症临床研究[J]. 山东中医杂志, 2023, 42(10): 1062-1066.
- [5] 王定国, 邢益涛, 王立春, 等. 名医验方聚精助育颗粒对无症状性弱精子不育症指纹图谱及功效关联物质的预测分析[J]. 中国性科学, 2023, 32(8): 109-113.
- [6] 郑小挺, 马玲, 周玉良, 等. 男性不育症精子DNA完整结构损伤的中医药治疗研究进展[J]. 中国当代医药, 2023, 30(21): 34-37+47.
- [7] 谭姿辉, 翟志瑾, 张硕, 等. 精浆弹性蛋白酶与男性不育症精子DNA完整性和精子质量的相关性分析[J]. 中国性科学, 2023, 32(6): 24-28.
- [8] 卢奋坚, 温子娜, 董梅, 等. 不育男性生殖道沙眼衣原体感染对精子核DNA碎片化指数的影响[J]. 实验与检验医学, 2020, 38(1): 26-27+42.
- [9] 高庆和, 晏斌, 刘煜, 等. 转化医学学会《男性不育症精子DNA碎片检测临床实践指南》解读[J]. 生殖医学杂志, 2020, 29(3): 416-421.
- [10] 吴堪助, 肖珍荣, 庄庆煊, 等. 左归丸加味治疗男性不育症精子DNA损伤的临床观察[J]. 现代诊断与治疗, 2020, 31(23): 710-712.