

# 男性不育患者精子脱氧核糖核酸碎片指数 与精液各参数的相关性分析

肖素英<sup>1</sup>, 陈国伟<sup>1</sup>, 庄国宾<sup>2\*</sup>

(1. 珠海市中西医结合医院医学检验科; 2. 珠海市中西医结合医院男科, 广东 珠海 519020)

**摘要:** **目的** 探讨男性不育患者精子脱氧核糖核酸 (DNA) 碎片指数 (DFI) 与年龄及正常形态精子、前向运动精子总数、精子浓度的相关性。**方法** 回顾性分析珠海市中西医结合医院 2019 年 1 月至 2021 年 1 月收治的 110 例男性不育患者的临床资料, 根据患者年龄的不同将其分为 20~25 岁组 (31 例)、26~30 岁组 (49 例)、31~35 岁组 (19 例)、≥36 岁组 (11 例); 另根据患者精子浓度进行分组, 分为正常组 (56 例, 精子浓度  $\geq 20 \times 10^6/\text{mL}$ ) 和异常组 (54 例, 精子浓度  $< 20 \times 10^6/\text{mL}$ ); 根据患者精子活力进行分组, 分为正常组 (41 例, 前向运动精子率  $\geq 35\%$ ) 和异常组 (69 例, 前向运动精子率  $< 35\%$ ); 根据患者精子形态进行分组, 分为正常组 (63 例, 正常形态精子率  $\geq 4\%$ ) 和异常组 (47 例, 正常形态精子率  $< 4\%$ ); 根据患者的精子 DFI 进行分组, 分为 I 组 (37 例, DFI  $\leq 10\%$ )、II 组 (54 例, DFI  $> 10\%$  且  $\leq 20\%$ )、III 组 (19 例, DFI  $> 20\%$ )。比较不同年龄组患者精液参数和精子 DFI, 精子参数正常组与异常组患者精子 DFI, 不同精子 DFI 组精液各参数, 以及精子 DFI 与年龄、精液各参数的相关性。**结果** 31~35 岁组、≥36 岁组患者精子 DFI 均显著高于 20~25 岁组与 26~30 岁组 (均  $P < 0.05$ ); 而不同年龄组患者的前向运动精子率、精子浓度、正常形态精子率相比, 差异均无统计学意义 (均  $P > 0.05$ ); 精子形态异常组与精子活力异常组患者的精子 DFI 均分别显著高于精子形态正常组与精子活力正常组 (均  $P < 0.05$ ), 而精子浓度正常组与异常组精子 DFI 相比, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 与 I 组比, II、III 组患者正常形态精子率、前向运动精子率均显著降低, 且 III 组患者前向运动精子率显著低于 II 组 (均  $P < 0.05$ ), 而各组患者精子浓度相比, 差异均无统计学意义 (均  $P > 0.05$ ); *Pearson* 相关性分析结果显示, 精子 DFI 与年龄呈正相关 ( $r = 0.296$ ,  $P < 0.05$ ), 精子 DFI 与正常形态精子率和前向运动精子率呈负相关 ( $r = -0.287$ 、 $-0.316$ , 均  $P < 0.05$ )。**结论** 男性不育患者精子 DNA 碎片率与其年龄、精子活力、正常精子形态均具有一定相关性, 可作为常规精液检查的补充, 且其能够客观全面的评估男性的生育能力, 可作为评估男性生育能力的重要指标之一。

**关键词:** 男性不育; 精子脱氧核糖核酸碎片指数; 精液; 相关性

**中图分类号:** R698+.2

**文献标识码:** A

**文章编号:** 2096-3718.2021.21.0089.03

男性不育是指由男性因素引起的不育, 一般将婚后未采取任何避孕措施同居 2 年以上, 但女性未怀孕表现的称为不育症, 男性不育症呈现不断上升趋势, 分析可能与心理因素、生理疾病、环境因素等有关<sup>[1]</sup>。通常精液的常规分析是筛查男性不育原因的第一道程序, 其中主要包括精子形态学、前向运动精子总数、精子浓度等检查, 精子形态学是反映男性生育能力的一个重要指标; 前向运动精子总数是反映精子活力的重要指标; 精子浓度即精子密度, 是精液常规中的一项重要指标, 若浓度较低, 会导致男性生育能力下降<sup>[2]</sup>。由于精液常规分析只是从数量与形态方面进行分析, 对受精能力与精子功能方面提供的信息较少, 故无法对男性生育能力的诊断和预后评估提供准确信息。精子脱氧核糖核酸 (DNA) 碎片指数 (DFI) 是一种评估精子质量的指标, 能反映精子遗传物质是否完整, 可更客观、更全面地评估男性生育能力, 是判断男性生育能力的重要指标之一<sup>[3]</sup>。基于此, 本研究旨在探讨男性不育

患者精子 DFI 与精液各参数的相关性, 现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 回顾性分析珠海市中西医结合医院 2019 年 1 月至 2021 年 1 月收治的 110 例男性不育患者的临床资料, 根据患者年龄的不同将其分为 20~25 岁组 (31 例)、26~30 岁组 (49 例)、31~35 岁组 (19 例)、≥36 岁组 (11 例); 根据患者精子浓度进行分组, 分为正常组 (56 例, 精子浓度  $\geq 20 \times 10^6/\text{mL}$ ) 和异常组 (54 例, 精子浓度  $< 20 \times 10^6/\text{mL}$ ); 根据患者精子活力进行分组, 分为正常组 (41 例, 前向运动精子率  $\geq 35\%$ ) 和异常组 (69 例, 前向运动精子率  $< 35\%$ ); 根据患者精子形态进行分组, 分为正常组 (63 例, 正常形态精子率  $\geq 4\%$ ) 和异常组 (47 例, 正常形态精子率  $< 4\%$ ); 根据患者的精子 DFI 进行分组, 分为 I 组 (37 例, DFI  $\leq 10\%$ )、II 组 (54 例, DFI  $> 10\%$  且  $\leq 20\%$ )、III 组 (19 例, DFI  $> 20\%$ )。诊断标准: 参照《中西医结合泌尿男科病症诊疗手册》<sup>[4]</sup>中

**作者简介:** 肖素英, 大学本科, 主管技师, 研究方向: 临床检验。

**通信作者:** 庄国宾, 大学本科, 主治医师, 研究方向: 男性不育的诊治。E-mail: 332507932@qq.com

男性不育的诊断标准。纳入标准：符合上述诊断标准者；临床病例资料完整者；身体状况良好者；无家族遗传性疾病病史者；无功能障碍者等。排除标准：合并其他恶性肿瘤疾病者；经体格检查男性性征、附睾、睾丸、附属性腺及生殖器明显异常者等。本研究经珠海市中西医结合医院医学伦理委员会批准。

**1.2 研究方法** ①精液获取：指导患者在留取精液前禁欲 2~7 d，采用手淫法获取新鲜精液，将已获取的精液置于洁净容器中，于 37℃ 的水浴恒温箱内进行液化。②精液分析：将液化后的精液取 10  $\mu$ L 进行涂片，采用彩色精子质量检测系统检验分析精液质量，分别将前向运动精子、精子浓度进行记录，采用瑞-吉染色镜对精子形态进行观察。③DFI 检测：新鲜精液行常规检查后，使用生理盐水进行稀释，精子密度至  $(5\sim 10)\times 10^6/\text{mL}$ ，取待测标本 30  $\mu$ L 加入已融化的易溶凝胶管中，37℃ 孵育 5 min 待用，充分混匀，取预先处理的玻璃片一张，置于 4℃ 冰箱 5 min，待玻片冷却后将其取出，立即垂直浸入反应池内，池中盛有反应液 A，温度设置 20~28℃，反应时间为 7 min，然后将玻片垂直浸入盛有反应液 B 的反应池中，温度不变，反应时间为 25 min，再将玻片浸入纯化水中，时间为 5 min，期间可进行 1~2 次换水。之后将玻片依次放入 70%、90%、100% 的乙醇中进行脱水，时间均为 2 min，取出自然晾干。晾干后覆盖 15~20 滴瑞式染液，缓慢再次加入 30~40 滴瑞式染液，并轻轻吹打混合染液，15 min 后轻轻冲洗染片，使用光学显微镜于 400 倍镜下，对 400 条精子形态进行观察，分别统计大晕环精子、中晕环精子、小晕环精子及无晕环精子个数，同时统计退化精子的个数， $\text{DFI}=(\text{退化精子}+\text{无晕环精子}+\text{小晕环精子})/\text{总数}\times 100\%$ 。

**1.3 观察指标** ①比较不同年龄组患者精液参数和精子 DFI，精液参数包括正常形态精子率、前向运动精子率、精子浓度。②比较精子各参数正常组与异常组患者精子 DFI。③比较不同精子 DFI 组患者精液各参数。④采用 Pearson 相关性分析法分析男性不育患者精子 DFI 与年龄、

精液各参数的相关性。

**1.4 统计学方法** 采用 SPSS 22.0 统计软件分析数据，计量资料以  $(\bar{x}\pm s)$  表示，两组间比较行  $t$  检验，多组间比较，采用重复测量方差分析；精子 DFI 与年龄、精液各参数的相关性采用 Pearson 相关性分析法进行分析。以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 不同年龄组患者精液参数和精子 DFI 比较** 31~35 岁组、 $\geq 36$  岁组患者精子 DFI 均显著高于 20~25 岁组与 26~30 岁组患者，差异均有统计学意义（均  $P<0.05$ ）；而不同年龄组患者的前向运动精子率、精子浓度、正常形态精子率相比，差异均无统计学意义（均  $P>0.05$ ），见表 1。

**2.2 精子各参数正常组与异常组患者精子 DFI 比较** 精子形态异常组与精子活力异常组患者的精子 DFI 分别显著高于精子形态正常组与精子活力正常组，差异均有统计学意义（均  $P<0.05$ ），而精子浓度正常组与异常组精子 DFI 相比，差异无统计学意义（ $P>0.05$ ），见表 2。

表 2 精子分析下各参数正常组与异常组患者

精子 DFI 比较 ( $\bar{x}\pm s, \%$ )

组别	精子浓度		精子活力		精子形态	
	例数	精子 DFI	例数	精子 DFI	例数	精子 DFI
正常组	56	14.08 $\pm$ 6.44	41	12.05 $\pm$ 5.03	63	14.91 $\pm$ 5.62
异常组	54	13.59 $\pm$ 5.11	69	18.15 $\pm$ 7.16	47	17.04 $\pm$ 5.31
$t$ 值		0.441		4.793		2.013
$P$ 值		>0.05		<0.05		<0.05

**2.3 不同精子 DFI 组患者精液各参数比较** 与 I 组比，II、III 组患者正常形态精子率、前向运动精子率均显著降低，且 III 组患者前向运动精子率显著低于 II 组，差异均有统计学意义（均  $P<0.05$ ），而各组患者精子浓度相比，差异均无统计学意义（均  $P>0.05$ ），见表 3。

**2.4 相关性分析** Pearson 相关性分析结果显示，精子 DFI 与年龄呈正相关，差异有统计学意义（ $r=0.296$ ， $P<0.05$ ），精子 DFI 与正常形态精子率和前向运动精子率

表 1 不同年龄组患者精液参数和精子 DFI 比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	例数	正常形态精子率 (%)	前向运动精子率 (%)	精子浓度 ( $\times 10^6/\text{mL}$ )	精子 DFI (%)
20~25 岁组	31	3.98 $\pm$ 1.79	29.18 $\pm$ 11.03	23.31 $\pm$ 10.36	12.35 $\pm$ 5.03
26~30 岁组	49	3.62 $\pm$ 1.13	29.35 $\pm$ 11.42	26.54 $\pm$ 11.32	12.67 $\pm$ 6.21
31~35 岁组	19	3.88 $\pm$ 1.03	28.31 $\pm$ 10.73	30.13 $\pm$ 14.26	16.56 $\pm$ 7.45**
$\geq 36$ 岁组	11	3.82 $\pm$ 1.82	26.79 $\pm$ 11.41	24.15 $\pm$ 11.36	16.98 $\pm$ 7.31**
$F$ 值		0.455	0.180	1.481	3.259
$P$ 值		>0.05	>0.05	>0.05	<0.05

注：与 20~25 岁组比，\* $P<0.05$ ；与 26~30 岁组比，\*\* $P<0.05$ 。DNA：脱氧核糖核酸。DFI：DNA 碎片指数。

表 3 不同精子 DFI 组患者精液各参数比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	正常形态精子率 (%)	前向运动精子率 (%)	精子浓度 ( $\times 10^6/\text{mL}$ )
I 组	37	4.44 $\pm$ 1.68	35.21 $\pm$ 8.59	27.76 $\pm$ 12.24
II 组	54	3.68 $\pm$ 1.46 <sup>△</sup>	27.24 $\pm$ 10.56 <sup>△</sup>	25.34 $\pm$ 11.26
III 组	19	3.55 $\pm$ 1.33 <sup>△</sup>	19.87 $\pm$ 10.03 <sup>△▲</sup>	26.32 $\pm$ 12.31
F 值		3.411	16.313	0.464
P 值		<0.05	<0.05	>0.05

注: 与 I 组比, <sup>△</sup> $P < 0.05$ ; 与 II 组比, <sup>▲</sup> $P < 0.05$ 。

呈负相关, 差异均有统计学意义 ( $r = -0.287, -0.316$ , 均  $P < 0.05$ ), 见表 4。

表 4 精子 DFI 与年龄及精液各参数的相关性分析

变量	精子 DFI	
	r 值	P 值
年龄	0.296	<0.05
正常形态精子率	-0.287	<0.05
前向运动精子率	-0.316	<0.05
精子浓度	-0.021	>0.05

### 3 讨论

男性精子中的 DNA 是承载人类遗传信息的载体, 其中 DNA 的完整性是将遗传物质正确传给子代的先决条件, 若精子染色质结构受到损伤, 可导致精子的受精能力、受精卵的分裂与胚胎发育受到影响; 同时基因突变、染色体异常与环境因素均可导致精子 DNA 损伤, 从而导致精子核的异常<sup>[5]</sup>。在多因素的联合作用下, 可造成精子 DNA 损伤, 其中导致精子损伤的机制主要包括产生精子过程中的细胞凋亡、氧自由基在精子运输过程中的影响等, 同时有学者指出, 精子 DFI 与复发性流产密切相关<sup>[6]</sup>。

本研究结果中, 年龄越大精子 DFI 水平越高, 精子形态和活力异常组患者的精子 DFI 均显著高于正常组, 随着病情的发展, 前向运动精子率逐渐升高, 而精子浓度在各组内、组间比较, 差异均无统计学意义。分析其原因可能在于, 伴随年龄的增长, 精子的凋亡机制减退, 再加上氧化应激反应无法有效清除 DNA 受损精子, 导致 DNA 受损精子也随之增加, 并随着精子的损伤程度增加, 精子活力与形态均可受到影响, 如精子活力降低与形态异常等, 导致正常形态精子率、前向运动精子率降低<sup>[7-8]</sup>。

本研究结果还显示, 精子 DFI 与年龄呈正相关, 精子 DFI 与正常形态精子率、前向运动精子率呈负相关, 而精子 DFI 与精子浓度无相关性。分析其原因可能为, 对于男性来说, 其生育能力可随年龄的增加而减退, 比如性激素水平、精液质量等均可随年龄的增加而下降; 并且,

随着其年龄的增长, 睾丸等器官会逐步发生老化, 以致于精子活力与精子正常形态均随之下降<sup>[9]</sup>。男性不育患者的精子 DFI 随着年龄的增大而升高, 但年龄的增长并不影响精子形态、前向运动精子率与精子浓度, 同时 DFI 可影响患者的正常形态精子率与前向运动精子率, 但精子的浓度与精子 DFI 并无明显相关性, 提示男性不育患者年龄与精子 DFI 具有一定相关性, 同时精子的正常形态率与前向运动精子率可随着精子 DNA 的损伤程度而降低, 与郑慧澜等<sup>[10]</sup> 研究结果基本相符。

综上, 男性不育患者精子 DFI 与其年龄、精子活力、正常精子形态具有一定相关性, 可作为常规精液检查的补充, 精子 DFI 能够客观全面评估男性的生育能力, 可作为评估男性生育功能的重要指标之一。但本研究存在一定的不足之处, 如选取病例数较少, 未来可收集多病例数进行深入研究。

### 参考文献

- [1] 倪梦霞, 鄧慧杰, 刘帅妹, 等. TP53 基因 rs1042522 单核苷酸多态性与男性不育相关性研究 [J]. 中华男科学杂志, 2017, 23(2): 142-146.
- [2] 袁启龙, 陆杉, 卢兴宏, 等. 男性血清 FSH/LH 及 T/LH 比值与精子主要参数相关性分析 [J]. 临床检验杂志, 2015, 33(3): 197-199.
- [3] 辜秀丽, 李红钢, 熊承良. 不育男性精子 DNA 碎片指数与年龄和精液参数相关性分析 [J]. 中华男科学杂志, 2018, 24(7): 608-612.
- [4] 王伊光. 中西医结合泌尿男科病症诊疗手册 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 156.
- [5] 孙海龙, 陈秀娟, 张艳兵. 男性不育症患者精子 DNA 损伤与精子形态学主要参数的比较研究 [J]. 国际泌尿系统杂志, 2016, 36(4): 575-580.
- [6] 濮义福, 卢少明. 精子 DNA 碎片与复发性流产相关性的系统评价 [J]. 中国男科学杂志, 2020, 34(1): 40-46.
- [7] 何帆, 王美姣, 李桑琳, 等. 形态选择性卵细胞胞质内单精子注射对比卵细胞胞质内单精子注射治疗男性因素不育症的 Meta 分析 [J]. 中华男科学杂志, 2018, 24(3): 254-262.
- [8] 刘旭晨, 陈广社, 贺晓龙. 无症状生殖道感染不育男性精液白细胞亚群与精子 DNA 损伤的关系 [J]. 中华男科学杂志, 2018, 24(1): 45-49.
- [9] 帅俊, 吴亮, 高一博, 等. 精子 DNA 碎片指数与精液参数的相关性分析 [J]. 中华男科学杂志, 2019, 25(2): 129-134.
- [10] 郑慧澜, 袁启龙, 何君伟, 等. 不育男性精浆弹性蛋白酶水平与精液主要参数及精子 DNA 完整性的关系分析 [J]. 热带医学杂志, 2019, 19(2): 145-147, 169.