

精子DNA碎片率与男性年龄、精子活动力和体外受精结局关系分析

贾 志

西安交通大学第一附属医院 生殖医学科 陕西 西安 710061

摘 要：目的：研究精子DNA碎片率与男性年龄、精子活动力和体外受精结局关系。方法：选择2024.1-2024.12月阶段内医院生殖中心100例体外受精的患者，利用流式细胞仪测定精子DNA碎片率，基于不相同的界值对精子DNA碎片率分组，对比数据的基本情况，开展针对性精子DNA碎片率与男性年龄、精子活动力和体外受精结局关系研究。结果：在入选的100例体外受精治疗夫妇中，女方的年龄在24-36岁之间，均值（ 28.92 ± 1.03 ）岁。男方的年龄在25-38岁之间，均值（ 29.41 ± 0.67 ）岁。夫妇双方不孕年在2-5年之间，均值（ 2.86 ± 0.31 ）年。对患者基于年龄划分两组，其中不超过35岁的男性有60例、大于35岁的男性有40岁，结果表明大于35岁的男性精子DNA碎片率大于不超过35岁的男性，精子活动力小于不超过35岁的男性。且大于35岁的男性受精率、高质量胚胎率与临床妊娠率均小于不超过35岁的男性， $p < 0.05$ ；精子DNA碎片率为10作为理想阈值，在精子DNA碎片率小于10%的正常受精率较精子DNA碎片率大于等于10%的正常受精率， $p < 0.05$ 。若围绕其他阈值分组，组间观察不存在统计学意义。结论：精子DNA碎片率上升，可能受到男性年龄因素的影响，也会影响到机体的精子活动力，在精子DNA碎片率属于10%临界值时能够更为全面地评估男性体外受精的受精率。

关键词：精子DNA碎片率；男性年龄；精子活动力；体外受精；结局

随着辅助生殖技术的广泛应用，男性因素在不孕不育病因中所占比例逐渐上升，约占40%-50%。传统精液分析指标如精子浓度、活动力等虽能反映精子的基本质量，但难以全面评估精子的遗传物质完整性。精子DNA碎片率作为衡量精子DNA损伤程度的关键指标，近年来受到广泛关注^[1]。研究表明，精子DNA损伤可能影响受精过程、胚胎发育及妊娠结局。且男性生育力随年龄增长而下降，高龄男性精子DNA损伤风险增加^[2]。然而，精子DNA碎片率与男性年龄、精子活动力及体外受精结局之间的关系仍需进一步明确。本研究通过分析性分析接受IVF治疗的男性患者临床资料，探讨精子DNA碎片率与男性年龄、精子活动力和体外受精结局关系，以期临床优化体外受精的治疗方案提供理论依据。

1 资料和方法

1.1 一般资料

在2024.1-2024.12月阶段内医院生殖中心拟进行体外受精治疗的夫妇中选择100例患者开展医学观察，纳入标准：首次接受体外受精治疗、夫妇双方均无染色体异常及遗传性疾病、男性精液常规检查符合达到临床治疗标准；排除标准：近3个月内接受过生殖相关药物治疗；存在影响精子质量的疾病，比如生殖系统感染、精索静脉曲张等；中途退出医学观察。医学调查的过程与研究内容均和《赫尔辛基宣言》的标准相符。

1.2 方法

其一采集标本，对男方的精液进行室温处理，通过冷冻管保存0.5ml的标本，投入液氮有效保存。并且结合世界卫生组织要求，对采集的精液标本实施常规研究^[3]。

其二体外受精，按照严谨的操作流程处理夫妇两者的精卵细胞，随后开展体外受精的过程。结束体外受精的18h后，以机械法的方式去除卵子、放射冠颗粒细胞，判断受精卵的正常情况，计算正常受精率（双原核卵数/获卵数 $\times 100\%$ ）接下来继续培养，次日实施胚胎形态研究工作，若卵裂球数大于等于3、且碎片不超过20%或受精后第三日卵裂球数大于等于6、且碎片不超过20%，此时对胚胎记作高质量胚胎，基于如下方法统计高质量胚胎率（高质量胚胎数/双原核卵数 $\times 100\%$ ）。随后选择两个或三个高质量胚胎，对女方进行胚胎移植，实施对应的黄体支持^[4]。移植结束后半个月检测女方身体的血清人绒毛膜促性腺激素、50日后组织女方进行B超检查，分析是否出现胚芽与胎心，最终判断为临床妊娠。最后通过妊娠周期数与胚胎移植周期数的比值记录为周期妊娠率、对着床胚胎数与移植胚胎数的比值记录为胚胎周期着床率。

其三精子DNA碎片率分析，借助专业的流式细胞仪测定，操作方法如下：选取冷冻的精液标本，将其置于37℃的水浴中解冻，借助三氟甲基氨基甲烷氯化钠和缓冲液进

行稀释（稀释的标本为 $4\times 10^6/\text{mL}$ ），接下来得到0.1ml的标本制作为精子悬液，将其和酸溶液0.2ml充分混合孵育半分钟，使用吖啶橙溶液进行染色（ $6\mu\text{g}$ ），这一阶段通过流式细胞仪分析。制定三分钟内检测两次的方案，每次检测精子的数量为3000，对流速调整为300微粒/s^[5]。完成上述操作，采用流式图像分析技术，确定精子细胞中DNA碎片的占比百分比。在检测过程中，每完成15个样本的分析，需进行一次阴性、临界值和阳性对照实验，以确保质量控制。质控标准要求两次对照实验之间的DNA碎片指数评分差异小于3%。从精子解冻开始，所有样本、试剂及相关操作均需在4℃的低温条件下进行。

其四精子活动力检测，使用计算机辅助精液分析系统检测精子活动力指标，包括前向运动精子百分率（PR）、非前向运动精子百分率（NP）及活力（PR+NP）。

1.3 统计学分析

选取SPSS20.0统计学软件，全面统计与计算数据信息。基于EXCEL健全信息库，对于计量资料 t 的检验，引进均数±标准差($\bar{x}\pm s$)的形式。对于 X^2 的检验，通过 $[n(\%)]$

形式表示选取精子DNA碎片率5%、10%、20%、30%为阈值,进行不同阈值组间男方年龄、精子常规检查的各项精子指标和体外受精各项指标的比较。 $P < 0.05$ 代表两者之间有显著差异，满足统计学差异的评价标准。

2 结果

2.1 调查研究的基本情况

在入选的100例体外受精治疗夫妇中，女方的年龄在24-36岁之间，均值（ 28.92 ± 1.03 ）岁。男方的年龄在25-38岁之间，均值（ 29.41 ± 0.67 ）岁。夫妇双方不孕在2-5年之间，均值（ 2.86 ± 0.31 ）年。

2.2 评估不同年龄组精子DNA碎片率、精子活动力和体外受精结局关系

对患者基于年龄划分两组，其中不超过35岁的男性有60例、大于35岁的男性有40岁，结果表明大于35岁的男性精子DNA碎片率大于不超过35岁的男性，精子活动力小于不超过35岁的男性。且大于35岁的男性受精率、高质量胚胎率与临床妊娠率均小于不超过35岁的男性， $p < 0.05$ ，详情如表1。

表1 统计不同年龄组精子DNA碎片率、精子活动力和体外受精结局关系 $[n(\%)]$

指标	不超过35岁的男性（ $n = 60$ ）	大于35岁的男性（ $n = 40$ ）	X^2/t	p
精子DNA碎片率	12.46±2.03	18.52±1.20	6.412	$p < 0.05$
精子活动力	34.62±4.16	24.85±3.56	8.523	$p < 0.05$
受精率	34（56.7）	18（45.0）	9.714	$p < 0.05$
高质量胚胎率	30（50.0）	16（40.0）	10.326	$p < 0.05$
临床妊娠率	40（66.7）	20（50.0）	6.598	$p < 0.05$

2.3 评估精子DNA碎片率的分组情况

精子DNA碎片率为10作为理想阈值，在精子DNA碎片率小于10%的正常受精率较精子DNA碎片率大于等于

10%的正常受精率， $p < 0.05$ 。若围绕其他阈值分组，组间观察不存在统计学意义，详情如表2。

表2 统计精子DNA碎片率的分组情况 $[n(\%)]$

指标	精子DNA碎片率小于10%	精子DNA碎片率大于等于10%	X^2/t	p
正常受精率(%)	71（71.0）	62（62.0）	12.403	$p < 0.05$
高质量胚胎率(%)	69（69.0）	60（60.0）	16.524	$p < 0.05$
胚胎卵裂率(%)	99（99.0）	92（92.0）	10.274	$p < 0.05$
周期妊娠率(%)	38（38.0）	40（41.0）	9.856	$p < 0.05$
胚胎周期着床率(%)	36（36.0）	30（30.0）	11.634	$p < 0.05$

3 讨论

正常精子染色质结构致密，在酸性环境中DNA双链稳定性强，经吖啶橙染色后呈现绿色荧光。而不成熟或受损精子的染色质疏松，DNA在酸性条件下易变性为单链结构，吖啶橙染色后显示红色荧光。基于此，可通过吖啶橙染色后红绿荧光强度的比值评估精子染色质完整

性。利用流式细胞术检测能高效准确地获得DNA碎片指数，从而客观量化精子染色质损伤程度^[6]。

精子DNA受损的因素多样化，比如男性接触辐射与高温的环境、服用抗肿瘤药物以及吸烟等，均会增加精子DNA碎片率。从某种层面上分析，此言论可能与年龄大男性附睾抗氧自由基修复DNA的能力存在关联，还

能够反映出一些不良因素也会使得精子DNA碎片率累积,影响着妊娠结局。本次研究中,将100例体外受精治疗夫妇纳入分析对象,女方的年龄在24-36岁之间,均值(28.92 ± 1.03)岁。男方的年龄在25-38岁之间,均值(29.41 ± 0.67)岁。夫妇双方不孕年在2-5年之间,均值(2.86 ± 0.31)年。分析了精子DNA碎片率与男性年龄、精子活动力和体外受精结局之间的关系。结果表明:对患者基于年龄划分两组,其中不超过35岁的男性有60例、大于35岁的男性有40例,结果表明大于35岁的男性精子DNA碎片率大于不超过35岁的男性,精子活动力小于不超过35岁的男性。且大于35岁的男性受精率、高质量胚胎率与临床妊娠率均小于不超过35岁的男性, $p < 0.05$ 。这一结果明确了活性氧产生过多可导致精子DNA链断裂,而随着年龄增加,精子内抗氧化酶活性降低,无法有效清除活性氧,进而加剧DNA损伤^[7]。同时精子DNA受损,会阻碍精子与卵子之间的正常结合,降低受精成功率。即便实现了受精,精子DNA碎片的存在也会影响到女性体内胚胎的发育,不利于保障胚胎质量。卢丹莹,陆子焕等人的报道中,也进一步表明精子DNA碎片不能全方位被卵子的修复机制所优化,降低了胚胎基因组的完整性。

另外本次研究对精子DNA碎片率进行阈值预测,结果表明:精子DNA碎片率为10作为理想阈值,在精子DNA碎片率小于10%的正常受精率较精子DNA碎片率大于等于10%的正常受精率, $p < 0.05$ 。若围绕其他阈值分组,组间观察不存在统计学意义。可以了解到,精子DNA受损会降低精卵细胞的结合效果,且在使用流式细胞仪的过程中,不可忽视精子DNA碎片率为10%这一影响体内受精成功率的临界值,因为其对体内受精成功率具有重要影响。这一发现为临床评估男性生育能力和辅助生殖技术的应用提供了重要的参考依据。

需要注意的是,本次医学调查体现出一定局限性,

样本量比较小,且尚未深入研究精子DNA损伤的运行机制。所以要增加样本量,深层次探索精子DNA碎片率和男性生育力、精子活动力和体外受精结局关系,使得临床研究更有权威性^[8]。

基于此,精子DNA碎片率上升,可能受到男性年龄因素的影响,也会影响到机体的精子活动力,在精子DNA碎片率属于10%临界值时能够更为全面地评估男性体外受精的受精率。临床上也需要优化对高龄男性的精子DNA碎片率检测与干预,不断保障体外受精的效率。

参考文献

- [1]谭艳,贡雪凤,龙文香.获卵数结合精子DNA碎片指数及精液参数对R-ICSI的预判价值[J].中国医学工程,2024,32(12):59-62.
- [2]唐雪琼,苏果.不同精子DNA碎片率对不孕患者IVF-ET结局的影响[J].转化医学杂志,2024,13(11):1940-1943.
- [3]王楠,张宏威.血清炎症因子与特发性少弱精子症患者精子DNA碎片指数的相关性研究[J].长治医学院学报,2024,38(06):430-433.
- [4]杨青云,朱闽,胡芳,由佩然,张泽朝.壮药固本培元汤对弱精症患者精子DNA碎片率的影响及临床疗效观察[J].中国性科学,2023,32(11):120-123.
- [5]黄燕兰,郭腾捷.精液不液化患者精子浓度、前向活动精子、正常形态率与精子DNA碎片的相关性分析[J].中国校医,2023,37(12):925-927.
- [6]赵莹,谢芳梅,何琨仪,梁紫甄,何金花.精浆中IL-6、IL-17水平与精子形态及精子DNA碎片指数的关系[J].检验医学与临床,2023,20(22):3379-3382.
- [7]卢丹莹,陆子焕.不育症男性精子DNA碎片与精液常规参数的相关性研究进展[J].大医生,2024,9(20):111-114.
- [8]周广义,吕慧杰,张花锦,王鸿周,韩玉芬.精浆弹性蛋白酶、精液白细胞浓度、精子活性氧和精子DNA碎片指数间的相关性分析[J].中国校医,2023,37(10):786-789.