

精子 DNA 完整性对复发性流产的影响

崔蓉, 钟兴明, 苗竹林, 李月华, 朱胜辉, 姜彦嘉, 杨宁, 韦相才
(广东省计划生育科学技术研究所, 广东 广州 510600)

【摘要】 目的 探讨精子 DNA 完整性与复发性流产的相关性。方法 病例来自于 2015 年 1 月至 2016 年 6 月在我院流产门诊就诊的夫妇, 选取复发性流产患者丈夫作为研究组($n=37$)和正常生育男性作为对照组($n=30$)。取两组精液进行常规分析, 同时采用精子染色质结构分析法(SCSA)对研究对象精子 DNA 完整性进行检测。结果 复发性流产患者丈夫组与正常生育男性组精液的量 $[(3.61\pm 0.8) \text{ mL vs } (3.74\pm 0.7) \text{ mL}]$ 、精子浓度 $[(130.86\pm 69.47)\times 10^6/\text{mL vs } (141.97\pm 80.44)\times 10^6/\text{mL}]$ 、精子活力 $[(54.18\pm 11.75)\% \text{ vs } (56.33\pm 11.78)\%]$ 以及正常形态精子百分率 $[(13.19\pm 8.93)\% \text{ vs } (14.27\pm 8.78)\%]$ 比较差异均无统计学意义($P>0.05$); 复发性流产患者丈夫组精子 DNA 碎片指数为 $(28.33\pm 7.97)\%$, 低于正常生育男性组的 $(12.73\pm 5.07)\%$, 差异有显著统计学意义($P<0.01$)。结论 精子 DNA 完整性损伤可能是复发性流产的相关因素, SCSA 对评估生育力具有临床意义。

【关键词】 复发性流产; 精子 DNA; 完整性; 精子染色质结构

【中图分类号】 R714.21 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003—6350(2017)12—2034—03

Effects of sperm DNA integrity on recurrent spontaneous abortions. CUI Rong, ZHONG Xing-ming, MIAO Zhu-lin, LI Yue-hua, ZHU Sheng-hui, JIANG Yan-jia, YANG Ning, WEI Xiang-cai. Institute of Family Planning Science and Technology of Guangdong Province, Guangzhou 510600, Guangdong, CHINA

【Abstract】 Objective To investigate the correlation between sperm DNA integrity and recurrent spontaneous abortions (RSA). **Methods** A total of 67 pairs of couple, who admitted to our abortion clinic from January 2015 to June 2016, were selected as the research subjects. The husbands of RSA patients ($n=37$) were enrolled as the research group, and the husbands of healthy fertility women ($n=30$) were taken as the control group. The sperm of the two groups were analyzed by conventional method, and at the same time sperm DNA integrity was identified by sperm chromatin structure analysis (SCSA). **Results** The semen volume, sperm concentration, sperm vigor and normal sperm morphology percent of the research group were $(3.61\pm 0.8) \text{ mL}$, $(130.86\pm 69.47)\times 10^6/\text{mL}$, $(54.18\pm 11.75)\%$, $(13.19\pm 8.93)\%$, respectively, which showed no significant difference with $(3.74\pm 0.7) \text{ mL}$, $(141.97\pm 80.44)\times 10^6/\text{mL}$, $(56.33\pm 11.78)\%$, $(14.27\pm 8.78)\%$ of the control group ($P>0.05$). The DNA fractionation index (DFI) of the research group was $(28.33\pm 7.97)\%$, which was significantly lower than $(12.73\pm 5.07)\%$ of the control group ($P<0.01$). **Conclusion** The damage of sperm DNA integrity may be associated with RSA. SCSA has a certain clinical significance in assessing fertility.

【Key words】 Recurrent spontaneous abortions (RSA); Sperm DNA; Integrity; Sperm chromatin structure

复发性流产(recurrent spontaneous abortion, RSA)是临床常见病, 大多数发生在早孕期间, 给患者及其家庭带来极大的不良影响。迄今为止, 其病因尚未完全阐明, 半数以上与胚胎染色体异常有关。目前研究侧重于母体方面, 即便如此, 仍有很大一部分 RSA 是找不到原因的。近年来, 国内外对复发性流产的病因学研究已经开始关注到男性精子方面, 对于提供一半遗传物质的精子作用, 其与 RSA 的关系成为热点, 但结论尚不明确。本研究拟通过对精液的常规参数、精子的染色质结构的分析来探讨男性因素与 RSA 发生的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2015 年 1 月至 2016 年 6 月在广东省计划生育专科医院流产门诊就诊的 37 例复

发性流产患者的配偶作为研究对象(复发性流产患者丈夫组), 丈夫年龄为 23~38 岁, 平均 (29.1 ± 3.7) 岁, 要求夫妻双方染色体正常, 女方年龄 21~34 岁, 并且是与同一配偶发生连续 2 次或 2 次以上流产; 排除内分泌代谢异常、生殖系统解剖异常、免疫、感染及环境因素引起的流产。另收集 30 例正常生育男性自愿者作为对照组(正常对照组), 年龄 24~41 岁, 平均 (31.7 ± 4.4) 岁, 其配偶近一年内有正常生育史。两组年龄差异无统计学意义, 具有可比性。

1.2 主要试剂与仪器 CASA 精子自动分析仪, 荧光倒置显微镜(日本 Olympus 公司), 吖啶橙(美国 Sigma 公司)。流式细胞仪(BD 公司, 具有 488 nm 激发波长的 FACSCalibur)。

1.3 样本获取 要求两组人员禁欲 3~7 d 方可

基金项目: 广东省医学科学技术研究基金(编号: A2014202)

通讯作者: 韦相才。E-mail: Dxcwei@163.com

采集精液标本,获取标本后于37℃水浴箱内液化,参照《世界卫生组织人类精液检查及处理实验室手册》第五版^[1]对精子密度、活力和精子形态进行分析。另外同时留取100 μL新鲜精液存放于-20℃环境中用作精子染色质结构分析(sperm chromatin structure analysis,SCSA)。

1.4 精子DNA完整性检测 SCSA是采用流式细胞分析仪对精子的DNA完整性进行检测,可进行精子的定量检测,敏感、客观、准确、快速。所使用的试剂盒为浙江星博生物科技有限公司所提供,具体操作参照《精子核完整性染色试剂盒》产品说明书进行。精液标本制备完毕后,经流式细胞仪检测和专用软件

计算得出相关参数——精子DNA碎片化指数(DNA Fractionation Index, DFI%)=有DNA碎片的精子数/被观察精子总数×100%。若比值增高,就说明DNA碎片化增加。

1.5 统计学方法 采用SPSS17.0统计软件进行数据处理,计数资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用 t 检验,以 $P<0.01$ 为差异有统计学意义。

2 结果

复发性流产患者丈夫组和正常生育男性组精液常规参数和精子DNA完整性检测参数DFI结果比较见表1。

表1 复发性流产患者丈夫组和正常生育男性组精液常规参数以及DFI值比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	精液体积(mL)	精液浓度($\times 10^6$ /mL)	精液活力(%)	正常形态率(%)	DFI (%)
复发性流产患者丈夫组	37	3.61±0.8	130.86±69.47	54.18±11.75	13.19±8.93	28.33±7.97
正常生育男性组	30	3.74±0.7	141.97±80.44	56.33±11.78	14.27±8.78	12.73±5.07
t 值		-0.71	-0.59	-0.74	-0.49	9.72
P 值		0.48	0.55	0.46	0.62	<0.01

3 讨论

精液常规分析是目前临床上评估男性生育力的一项基本检测手段,它能够从精液的量、精子的浓度与活力以及精子的形态学等方面反映精液质量,对男性“少精弱精症”引起的不育具有诊断价值。而在流产事件中,文献报道精液的常规参数与胚胎丢失的相关性不尽相同^[2-4]。本研究通过对复发性流产患者丈夫组和正常生育男性组之间的精液常规参数如精液体积、精子活力、畸形率进行比较,结果发现,复发性流产患者丈夫组与正常生育男性组精液的量、精子浓度、精子活力以及正常形态精子百分率比较差异没有统计学意义(P 值均>0.05),提示精液的常规检查参数与复发性流产没有相关性,参数值的大小并不提示流产的风险。而精子DNA完整性的检测则被认为是一项能帮助评估复发性流产的检测指标。

有研究发现精子DNA完整性对胚胎的发育起到了至关重要的作用^[5-7],精子DNA损伤还可能影响受精卵的形成、分裂以及胚胎的发育,引起不育或习惯性流产。在Zhao等^[8]的一份研究资料中提示,随着DFI值的明显升高,IVF早期妊娠的胚胎丢失率也发生了明显的上升。Robinson等^[9]所做的meta分析中发现,流产率与精子DNA损伤程度呈正相关。Bhattacharya等^[10]对74位复发性流产女性配偶以及65位已生育的男性精液进行了回顾性分析,发现在年龄、精子浓度、精液总量、活动率方面两组之间差异无统计学意义,而精子DNA完整性才是流产夫妇最需要评估的项目。本研究中,笔者通过SCSA法对复发性流产患者丈夫的精子DNA完整性进行了检测,结果显示该组与正常生育男性组间DFI值分别为(28.33±7.97)%、

(12.73±5.07)%,差异具有显著统计学意义($P<0.01$),这与上述文献报道一致^[10]。推测精子所携带父系的遗传物质在精卵结合后开始表达,当精子所提供的DNA完整性有异常,则可能在胚胎的发育过程中表达异常,致使发育停止,胚胎丢失,从而发生流产。

当然,尽管多数研究倾向于认同二者的相关性的^[9-11],也有文献得出了不同的实验结果,认为精子DNA完整性与复发性流产之间没有相关性。Villa等^[12]应用SCSA法测量精子DNA碎片率,在复发性流产组和正常生育组之间却没有发现差异,认为二者间没有相关性,精子染色体完整性发生改变并非复发性流产的原因之一。可能是由于研究对象纳入标准不同、技术方法等原因,故有不同结论。

精子DNA的完整性可能是复发性流产的促成因素,DFI可以作为检测精子DNA完整性的代表指数。临床上复发性流产的发生常常是一个多种因素引发的综合结果。在查找流产原因时,检测精子DNA的完整性指数DFI或许可以帮助临床医生更好的诊断与处理。

参考文献

- [1] 世界卫生组织. 人类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: 5-86.
- [2] Khadem N, Poorhoseyni A, Jalali M, et al. Sperm DNA fragmentation in couples with unexplained recurrent spontaneous abortions [J]. Andrologia, 2014, 46(2): 126-130.
- [3] 张洲, 师娟子, 邢俊平, 等. 复发性流产与精液常规参数、精子畸形率和DNA完整性的相关性 [J]. 第三军医大学学报, 2010, 32(16): 1788-1792.
- [4] 岳焕勋, 李福平, 蒋敏, 等. 复发性流产及胎儿发育异常与男性畸形精子的相关性探讨 [J]. 实用妇产科杂志, 2008, 24(10): 624-626.

肾复康治疗小儿频发型难治性肾病综合征疗效观察

章文平¹, 兰小平², 张海丹¹

(1. 广州中医药大学第一附属医院儿科, 广东 广州 510000;

2. 云浮市新兴县中医院, 广东 云浮 527400)

【摘要】 目的 观察肾复康治疗频发型难治性小儿肾病综合征(FRNS)的临床疗效。方法 选取2015年1月至2016年1月广州中医药大学第一附属医院儿科收治的频发型难治性肾病综合征患儿62例,按照随机数字表法将患儿分为对照组和观察组,每组31例。对照组给予西医常规治疗,观察组在对照组的基础上给予中药复方肾复康治疗,连续治疗35 d。观察患儿临床症状与体征,采用中医证候评分评价总体疗效。检测患儿尿蛋白(UP)、血清白蛋白(ALB)与血浆胆固醇(CHO)的含量水平。观察患儿加量使用糖皮质激素情况和不良反应发生率。随访3个月,观察患儿再发病率和再入院率。**结果** 观察组患儿的治疗总有效率为93.55%,对照组为80.65%,两组比较差异无统计学意义($P>0.05$),但观察组患儿的治疗总显效率为54.84%,明显高于对照组的25.81%,差异有统计学意义($P<0.05$)。观察组患儿水肿消退时间明显少于对照组[(3.94±2.09) d vs (5.32±3.17) d],差异有统计学意义($P<0.05$)。观察组患儿尿浊消失时间明显少于对照组[(7.28±2.67) d vs (10.56±3.98) d],差异有统计学意义($P<0.05$)。观察组患儿感染时糖皮质激素加量使用率为22.58%,明显低于对照组的51.61%,不良反应发生率比为12.90%,明显低于对照组的41.94%,差异均有统计学意义($P<0.05$);随访3个月,观察组患儿的复发率和再住院率分别为9.68%和6.45%,明显低于对照组的32.36%和29.03%,差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 肾复康治疗频发型难治性肾病综合征疗效较好,其不仅能显著改善水肿、尿浊等主要症状,还可以减少糖皮质激素的用量与不良反应的发生,在控制再发及再入院方面亦有显著作用。

【关键词】 肾复康;难治性肾病综合征;尿浊;疗效

【中图分类号】 R725.7 **【文献标识码】** B **【文章编号】** 1003—6350(2017)12—2036—03

肾病综合征(nephrotic syndrome, NS)是一种以严重蛋白尿、低白蛋白血症和水肿为主要表现的儿科常见肾小球基底膜疾病^[1]。流行病学研究表明,在欧美国家,NS的发病率为2/10万,而在亚洲发达国家,大约每年有1 300例新发NS患儿出现,发病率约为5/10万^[2]。西医一线治疗以口服糖皮质激素为主,然而其会导致

激素敏感型肾病的发生,发生率高达80%,且约有50%的病例存在频繁复发的情况。频繁复发会严重制约糖皮质激素药物管理,一系列的不良反应,如肥胖、糖尿病、生长损害、高血压、骨质疏松、肾上腺功能不全,最后导致肾脏功能不全^[3]。中医学将NS归于“水肿”、“尿浊”、“虚劳”等范畴,认为邪实为标,脏虚为本,病

通讯作者:章文平。E-mail:zwpgd@163.com

- [5] Puscheck EE, Jeyendran RS. The impact of male factor on recurrent pregnancy loss [J]. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2007, 19(3): 222-228.
- [6] Gil Villa AM, Cardona-Maya WD, Cadavid Jaramillo AP. Early embryo death: does the male factor play a role? [J]. *Arch Esp Urol*, 2007, 60(9): 1057-1068.
- [7] Lin MH, Kuo-Kuang Lee R, Li SH, et al. Sperm chromatin structure assay parameters are not related to fertilization rates, embryo quality, and pregnancy rates in in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection, but might be related to spontaneous abortion rates [J]. *Fertil Steril*, 2008, 90(2): 352-359.
- [8] Zhao J, Zhang Q, Wang Y, et al. Whether sperm deoxyribonucleic acid fragmentation has an effect on pregnancy and miscarriage after in vitro fertilization / intracytoplasmic sperm injection: a systematic review and meta-analysis [J]. *Fertil Steril*, 2014, 102(4): 998-1005.
- [9] Robinson L, Gallos ID, Conner SJ, et al. The effect of sperm DNA fragmentation on miscarriage rates: a systematic review and meta-analysis [J]. *Hum Reprod*, 2012, 27(10): 2908-2917.
- [10] Bhattacharya SM. Association of various sperm parameters with unexplained repeated early pregnancy loss—which is most important? [J]. *Int Urol Nephrol*, 2008, 40(2): 391-395.
- [11] Zini A, Boman JM, 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.
- [12] Gil-Villa AM, Cardona-Maya W, Agarwal A, et al. Assessment of sperm factors possibly involved in early recurrent pregnancy loss [J]. *Fertil Steril*, 2010, 94(4): 1465-1472.

(收稿日期:2017-02-27)