

吸烟对男性精子形态 精子 DNA 完整率和精子顶体完整率的研究

何泳志, 李大文, 肖鑫, 龚国通

基金项目: 广西卫生厅科研课题(编号: Z2014191)

作者单位: 530021 南宁, 广西壮族自治区人民医院生殖医学与遗传中心

作者简介: 何泳志(1988-), 男, 在读硕士研究生, 研究方向: 男性生殖医学。E-mail: 308033462@qq.com

通讯作者: 李大文(1964-), 男, 研究生学历, 学士学位, 教授, 硕士研究生导师, 主任医师, 研究方向: 生殖男科。E-mail: lidawendavid@aliyun.com

【摘要】 目的 研究吸烟对男性精子形态、精子 DNA 完整率[用精子 DNA 断裂指数(DFI)表示]及顶体完整率的影响。方法 回顾性分析来该中心就诊的 1 500 例男性患者(1 300 例吸烟者及 200 例未吸烟者), 按每天吸烟量分为 A1 组 500 例, >20 支/d; A2 组 600 例, 10~20 支/d; A3 组 200 例, 1~9 支/d。B 组 200 例, 0 支/d, 作为对照组。结果 精子正常形态随着每天吸烟量的增加而下降, 各组间两两比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。精子 DNA 完整率随着吸烟量的上升而降低(DFI 升高), 各组间两两比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。精子顶体完整率随吸烟量上升而下降, 各组间两两比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 随着每天吸烟量增加精子正常形态、精子 DNA 完整率及精子顶体完整率均降低, 不利于男性生殖健康。

【关键词】 吸烟; 男性不育症; 精子形态; 精子顶体完整率; 精子 DNA 完整率

【中图分类号】 R 697 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1674-3806(2014)12-1107-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2014.12.04

Effect of smoking on the male sperm morphology, sperm DNA integrity rate and sperm acrosome integrity rate HE Yong-zhi, LI Da-wen, XIAO Xin, et al. Center for Reproductive Medicine and Genetics, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

【Abstract】 Objective To study the effect of smoking on male sperm morphology, sperm DNA integrity rate [DNA fragmentation index(DFI) was used for the evaluating] and acrosome integrity rate. **Methods** A retrospective analysis was performed on 1 500 male patients come to our center for treatment(1 300 smokers and 200 non-smokers). According to the daily smoking quantity the patients were divided into A1 group(500 cases): >20/day, A2 group(600 cases): 10~20/day, A3 group(200 cases): 1~9/day; and group B(200 cases): 0/day(as the control group). **Results** The normal morphology rate of sperm decreased with the increase of daily smoking quantity, the pair comparison showed a significant differences between groups($P < 0.05$); the rate of sperm DNA integrity decreased with the rise of smoking(DFI will be increase), the pair comparison showed a significant differences between groups($P < 0.05$); the sperm acrosome integrity rate decreased with the increase of smoking quantity, the pair comparison showed a significant differences between groups($P < 0.05$). **Conclusion** With the increase of daily smoking quantity the rate of normal sperm morphology, sperm DNA integrity rate and sperm acrosome integrity rate are reduced, and is not good for male reproductive health.

【Key words】 Smoking; Male infertility; Sperm morphology; Sperm acrosome integrity rate; Sperm DNA integrity rate

现代社会, 不育不孕症患者正逐年增加, 已婚夫妇不孕不育发生率为 15%, 其中男方原因占 30%~50%^[1]。精液异常的主要因素包括年龄、环境、个人行为 and 生殖系统疾病等^[2]。大量文献指出吸烟

是导致男性精液异常的一个重要原因。我国人群的总吸烟率为 27.3%, 现在吸烟率为 22.3%, 其中男性的总吸烟率为 59.7%^[3]。随着吸烟危害健康宣传的广泛深入, 人们对吸烟在呼吸系统和心脑血管

方面的危害有了普遍的认识,但对吸烟在生殖系统的危害了解较少。本文从精子形态学、精子 DNA 完整率和精子顶体完整率的角度,分析吸烟对男性生殖健康的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性分析 2012-01 ~ 2013-12 来我院生殖中心治疗的 1 500 例男性患者(1 300 例吸烟者且烟龄均为 2 年,200 例未吸烟者),按每人每天固定吸烟量分为 A1 组 500 例, > 20 支/d; A2 组 600 例, 10 ~ 20 支/d; A3 组 200 例, 1 ~ 9 支/d。B 组 200 例, 0 支/d, 作为对照组。吸烟男性患者纳入标准:(1) 诊断为不育症即婚后性生活正常, 不避孕 1 年以上不育。(2) 体检未见先天性或后天性睾丸、附睾异常, B 超检查示输精管正常。(3) 抽血查性激素示睾酮正常(睾酮正常值范围 241 ~ 827 ng/dL)。

1.2 方法

1.2.1 精子收集 男方禁欲 2 ~ 7 d, 在室温 25 ~ 35 °C 下, 手淫取精液于干燥消毒量杯内, 置于 37 °C 恒温箱内液化。

1.2.2 精子形态学分析 采用 Diff-Quick 染色法分析精子形态。参照《人类精液检查与处理实验室手册》第 5 版, 正常精子形态 ≥ 4% 为参考值。

1.2.3 精子 DNA 完整性检测 精子 DNA 的检测采用精子染色质扩散试验。染色试剂为瑞氏-姬姆萨(珠海贝索生物技术有限公司), 普通显微镜下观察 500 个精子, 观察精子光晕大小。根据光晕与精子头部横径的比例, 粗分为大、中、小和无光晕 4 个等级, 大和中光晕表示精子 DNA 完整无碎片, 小和无光晕和退化精子表示精子 DNA 断裂为碎片。小光晕以精子头直径 ≤ 1/4 为判断标准; 中光晕精子头直径 > 1/4, ≤ 2/3; 大光晕精子头直径 > 2/3。见图 1 ~ 2。精子 DNA 断裂指数 (DFI) = (小光晕精子 + 无光晕精子 + 退化精子) / 精子总数。

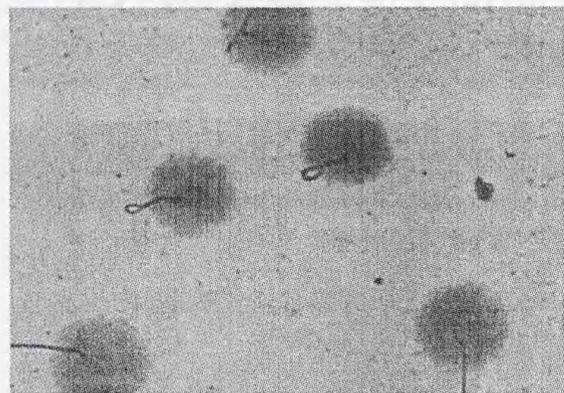


图 1 精子 DNA 完整(瑞氏-姬姆萨染色, ×400 普通显微镜)

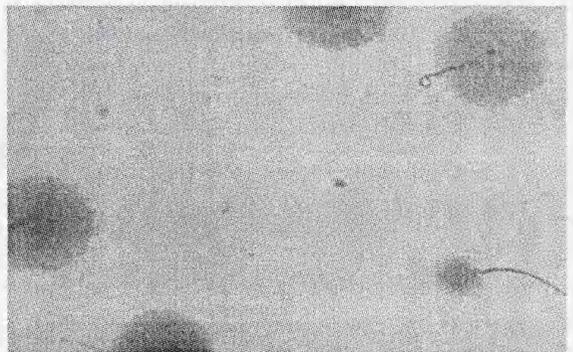


图 2 精子 DNA 裂解 3 级(瑞氏-姬姆萨染色, ×400 普通显微镜)

1.2.4 精子顶体完整率检测 试剂: PSA-FITC 豌豆凝集素(SIGMA 公司)用异硫氰酸荧光素 FITC 标记。结果评估: 用 450 ~ 490 nm 激发光, 于 1 000 倍油镜下观察涂片。精子分类如下: 顶体完整(AI)。精子头部一半以上荧光染色明亮且均匀。已发生顶体反应(AR)。精子仅在赤道带出现荧光带, 或者在顶体区根本没有荧光染色。顶体异常。除上述两类精子外的其他精子。见图 3。

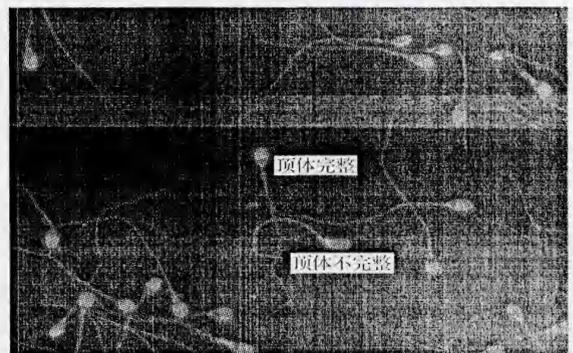


图 3 精子顶体完整与不完整对照(荧光染色, ×1 000 倍油镜)

1.3 统计学方法 应用 SPSS17.0 统计软件进行数据处理, 计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 多样本均数比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD 检验方法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组患者一般情况比较 各组间年龄、不育年限及睾丸体积两两比较差异均无统计学意义($P > 0.05$), 各组间具有可比性。见表 1。

表 1 各组患者一般情况比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	年龄(岁)	不育年限(年)	睾丸体积(ml)
A1 组	500	29.12 ± 4.34	6.15 ± 4.24	29.13 ± 3.22
A2 组	600	28.95 ± 4.27	5.99 ± 3.97	28.93 ± 3.31
A3 组	200	29.04 ± 3.99	6.20 ± 4.06	29.07 ± 2.98
B 组	200	29.17 ± 4.06	6.05 ± 3.89	29.21 ± 3.15
F	-	0.523	0.448	0.576
P	-	0.361	0.534	0.486

2.2 各组患者精子正常形态、DFI 及顶体完整率比较 各组间精子正常形态随着每天吸烟量的增加而下降,各组间两两比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。DFI 随着吸烟量上升而升高,且各组间两两比较差异有统计学意义($P < 0.05$),即精子 DNA 完整率随着吸烟量的上升而降低。精子顶体完整率随吸烟量上升而下降,且各组间两两比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 各组患者精子正常形态、DFI 及顶体完整率比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	正常形态(%)	DFI(%)	顶体完整率(%)
A1 组	500	1.32 ± 0.77 [△]	36.53 ± 16.67 [▲]	57.68 ± 11.29 [*]
A2 组	600	2.37 ± 0.84 [△]	14.74 ± 5.28 [*]	67.07 ± 6.39 [*]
A3 组	200	3.16 ± 0.95 [△]	8.81 ± 2.33 [*]	80.13 ± 5.88 [*]
B 组	200	4.63 ± 2.30 [△]	5.68 ± 2.74 [▲]	86.58 ± 4.78 [*]
F	-	430.98	692.75	763.01
P	-	0.000	0.000	0.000

注:△之间相互比较 P 均为 0.000;▲之间比较 P 为 0.002,其余两两比较 P 均为 0.000; * 之间两两比较 P 均为 0.000

3 讨论

3.1 吸烟对精子正常形态的影响 吸烟由于损伤精子包括降低精子浓度和形态异常而导致生育能力低下^[4]。吸烟会引起精浆及血液镉的水平升高以及精子的抗氧化防御系统损害,从而导致精子活力及形态正常率下降^[5]。Sepaniak 等报道吸烟可以显著降低精子正常形态^[6,7]。本研究与上述结果一致,随着每日吸烟量增加,精子正常形态下降。

3.2 吸烟对精子 DNA 完整率的影响 研究表明吸烟对 DNA 碎片率有影响,且吸烟量越大、时间越长、精子 DNA 碎片率越高^[8]。通过检测不同烟龄的男性精液,证实长期吸烟会损伤男性精子 DNA^[9]。不育男性精子 DFI 与吸烟显著相关,可能是由于增加氧化应激和清除抗氧化酶不足,过高活性氧及抗氧化能力衰竭常常会导致精子异常^[10,11]。吸烟与精子能动性无显著相关,但是可以降低不育患者精子核蛋白的转换能力^[12]。目前研究认为吸烟导致精子 DNA 损伤的机制可能是:(1)吸烟诱导生殖系统产生活性氧,激活半胱氨酸蛋白酶核酸内切酶^[13]; (2)香烟烟雾中的尼古丁和自由基可诱导 DNA 链断裂作用;(3)香烟燃烧后可产生苯并 α -芘,是高度致突变和致癌化合物,它主要与 DNA 的鸟苷氨基结合形成加合物,从而引起 DNA 损伤;(4)鱼精蛋白的固定作用是正常的精子 DNA 稳定的重要原因,吸烟阻碍了组蛋白转化成鱼精蛋白,从而导致 DNA 碎

片化^[7]。本研究发现随着吸烟量上升,精子 DNA 完整率下降,与上述研究一致。

3.3 吸烟对精子顶体完整率的影响 顶体的完整性是精子发生顶体反应的前提和保持高受精能力的必备条件。研究表明吸烟能导致顶体完整率降低,且与精液形态、pH 值等具有一致性。吸烟者精浆丙二醛水平较非吸烟者升高,且可以降低非吸烟者精子的膜完整性。目前研究认为吸烟对精子顶体完整率产生影响的因素是:(1)烟中尼古丁等物质可直接影响精子发生和成熟^[14],导致高尔基体转化成顶体的过程中断;(2)吸烟可促使体内产生大量自由基,促发氧化应激和白细胞增多,破坏顶体膜完整性。本研究结果显示,随着吸烟量增加,男性患者精子顶体完整率随之下降。

为了男性生殖健康,笔者建议广大男性同胞远离吸烟。

参考文献

- 1 陈冠如. 中国育龄夫妇不孕不育发病率接近两成[N]. 中国医药报,2010-11-09(4).
- 2 赵世荣. 影响精液质量的因素[J]. 职业与健康,2012,(14): 1780-1782.
- 3 徐涛,李卫,胡泊,等. 中国 11 省市成年人吸烟和被动吸烟情况调查[J]. 中国慢性病预防与控制,2010,18(3):229-230.
- 4 Aydin MS, Senturk GE, Ercan F. Cryopreservation increases DNA fragmentation in spermatozoa of smokers [J]. Acta Histochem,2013, 115(4):394-400.
- 5 Kiziler AR, Aydemir B, Onaran I, et al. High levels of cadmium and lead in seminal fluid and blood of smoking men are associated with high oxidative stress and damage in infertile subjects[J]. Biol Trace Elem Res,2007,120(1-3):82-91.
- 6 Sepaniak S, Forges T, Gerard H, et al. The influence of cigarette smoking on human sperm quality and DNA [J]. Toxicology,2006, 223(1-2):54-60.
- 7 Yu B, Qi Y, Liu D, et al. Cigarette smoking is associated with abnormal histone-to-protamine transition in human sperm [J]. Fertil Steril,2014,101(1):51-57.
- 8 李芃,李丹,赵丽芬,等. 吸烟对精子 DNA 碎片的影响[J]. 中国优生与遗传杂志,2011,19(4):100-158.
- 9 刘安娜,王厚照. 吸烟对男性不育患者精子 DNA 完整性及精子形态的影响分析[J]. 中国优生与遗传杂志,2012,20(10):118-167.
- 10 Elshal MF, El-Sayed IH, Elsaied MA, et al. Sperm head defects and disturbances in spermatozoal chromatin and DNA integrities in idiopathic infertile subjects; association with cigarette smoking [J]. Clin Biochem,2009,42(7-8):589-594.
- 11 Guz J, Gackowski D, Foksinski M. Comparison of oxidative stress/DNA damage in semen and blood of fertile and infertile men [J]. PLoS One,2013,8(7):e68490.

- 12 Zhou YL, Chen K, Yu BL, et al. Cigarette smoking decreases sperm nucleoprotein transition in infertile males [J]. Zhonghua Nan Ke Xue, 2013, 19(9):794-797.
- 13 Pacey AA. Environmental and lifestyle factors associated with sperm DNA damage[J]. Hum Fertil (Camb), 2010, 13(4):189-193.
- 14 徐庆阳, 祝茹, 彭弋峰, 等. 被动吸烟对大鼠睾丸和附睾抗氧化能力及生精功能的影响[J]. 环境与健康杂志, 2008, 25(12):1059-1062, 封3.

[收稿日期 2014-08-26][本文编辑 吕文娟]

课题研究·论著

南宁市城区 3~6 岁儿童忽视状况及其影响因素调查

粟发沃, 甘宇, 肖信, 陶陵, 张平英, 钟荣秋

基金项目: 广西卫生厅科研课题(编号:桂卫 Z2008061)

作者单位: 530021 南宁, 广西壮族自治区人民医院预防保健科

作者简介: 粟发沃(1964-), 男, 大学本科, 学士学位, 副主任医师, 研究方向: 儿童青少年发育保健。E-mail: sufawo@sina.com

[摘要] **目的** 了解南宁市 3~6 岁儿童忽视状况, 探讨影响儿童忽视的相关因素, 为制定相应的干预措施和政策提供依据。**方法** 采用分层整群随机抽样方法选取南宁市城区 10 所幼儿园的 1 042 名 3~6 岁儿童父母进行问卷调查。**结果** 南宁市城区儿童总忽视率为 6.3%, 总忽视度为 (41.4 ± 6.9)。总忽视率和忽视度存在年龄差异 ($P < 0.05$), 但不存在性别差异 ($P > 0.05$)。影响儿童忽视发生率的主要因素有年龄、母亲文化程度、家庭类型、小孩排位、是否有遗传病和父母收入是否减少; 影响儿童忽视严重程度的主要因素有母亲文化程度、年龄、是否有遗传病、家庭类型、住房面积、父母收入是否减少。**结论** 南宁市城区儿童被忽视的频率较低, 但忽视强度较高。母亲文化程度、年龄、家庭类型、是否有遗传病和父母收入是否减少与儿童忽视密切相关。

[关键词] 儿童忽视; 调查; 影响因素; 南宁

[中图分类号] R 17 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2014)12-1110-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2014.12.05

Survey on the child neglect among children aged 3~6 in Nanning City SU Fa-wo, GANG Yu, XIAO Xin, et al. Department of Preventive Care, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

[Abstract] **Objective** To investigate the status and the influential factors of child neglect among children aged 3~6 years in Nanning, and to provide evidence for the intervention strategy. **Methods** Survey was performed in the 1 042 children's parents, who were recruited from 10 kindergartens using stratified cluster sampling technology, by questionnaires. **Results** The prevalence rate of children's neglect was 6.3% and the children's neglect score was (41.4 ± 6.9) in urban children in Nanning. The prevalence rate and score of children's neglect were varied with age ($P < 0.05$), rather than gender ($P > 0.05$). The main influencing factors of prevalence rate of children's neglect were children's age, mother's education level, type of family, rank of child in family, with or without genetic disease and parental income reduced or not. The influencing factors of neglect score were mother's education, children's age, with or without genetic disease, type of family, housing area and parental income reduced or not. **Conclusion** Prevalence rate of child neglect is low, but the strength of child neglect is relative high among urban children in Nanning. Mother's education, children's age, type of family, with or without genetic disease and parental income reduced or not are closely related to child neglect.

[Key words] Child neglect; Survey; Influential factor; Nanning