

吸烟对男性精子核 DNA 完整性的影响

孙启玉¹, 李 剑¹, 韩迎春², 邢恩鸿¹, 武英伟¹, 薛承岩¹ (1. 承德医学院附属医院 067000; 2. 河北省隆化县医院放射科 068150)

【摘要】 目的 探讨吸烟对男性精液质量及精子核 DNA 完整性的影响。**方法** 120 例男性不育患者根据吸烟习惯和烟龄分为 3 组: A 组日吸烟量小于 10 支, 且烟龄不超过 1 年; B 组日吸烟量 10~20 支, 且烟龄 5~10 年; C 组日吸烟量大于或等于 20 支, 且烟龄大于或等于 10 年。选用 35 例已生育健康男性作为对照。对其精液常规参数及 DNA 片段化指数 (DFI) 值进行检测。**结果** 不育吸烟组精子活力显著低于不育非吸烟组, DFI 值显著增高; A、B、C 3 组比较, C 组精子活力显著低于 B 组和 A 组, DFI 值显著增高。**结论** 吸烟可以破坏精子核 DNA 完整性, 严重影响精液质量。

【关键词】 吸烟; 男性不育; 精子 DNA 完整性

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2010.19.015

中图分类号: 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2010)19-2075-02

Influence of cigarette smoking on sperm DNA integrity SUN Qi-yu¹, LI Jian², HAN Ying-chun³, XING En-hong⁴, WU Ying-wei¹, XUE Cheng-yan¹. 1. Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chengde 067000, China; 2. Department of Radiology, Longhua County Hospital, Longhua, Hebei 068150, China

【Abstract】 Objective To explore the impact of smoking on sperm DNA integrity. **Methods** 120 infertile men were divided into 3 groups according to smoking quantity and duration. The group A: daily smoking <10 cigarettes and smoking age ≤1 year; the group B: daily smoking 10—20 cigarettes and smoking age 5—10 years; the group C: daily smoking ≥20 cigarettes and smoking age ≥10 years. 35 cases of healthy men having child were recruited as control in the study. The parameters of their semen and sperm DFI were detected. **Results** The sperm motility in the infertile smoker group was significantly lower than that in the infertile non-smoker group and sperm DFI was significantly increased; in the group C, sperm motility was significantly lower than that in the group B and group A, while the DFI was significantly increased. **Conclusion** Smoking can influence the sperm DNA integrity and seriously affect the quality of semen.

【Key words】 smoking; male infertility; sperm DNA integrity

吸烟对男性生殖能力的影响, 特别是对精液质量的影响, 近年来已引起社会的广泛关注。作者选择在本院就诊不孕患者及健康成年男性作为研究对象, 对其精液参数及精子核 DNA 完整性进行检测, 以探索吸烟影响精液质量的机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料 120 例男性不育患者为 2006 年 9 月至 2009 年 7 月来本院就诊病例, 均为婚后 2 年以上, 未采取任何避孕措施, 性生活正常, 排除女方不孕原因的不育男性, 身体健康, 无大量饮酒和长期接触有害物质史, 无生殖道感染和精索静脉曲张史等。不育非吸烟组研究对象的纳入标准: 不吸烟且无被动吸烟史。不育吸烟组研究对象根据吸烟习惯和烟龄分为 3 组: A 组日吸烟量小于 10 支, 且烟龄不超过 1 年; B 组日吸烟量 10~20 支, 且烟龄 5~10 年; C 组日吸烟量大于或等于 20 支, 且烟龄大于或等于 10 年。根据纳入标准, 不育吸烟组有 63 例, 其中 A 组 19 例, B 组 22 例, C 组 22 例。健康对照组选用 35 例已生育健康男性, 无吸烟史, 无泌尿、生殖、造血及内分泌系统等疾病。

1.2 标本采集 禁欲 2~7 d 后通过手淫法采集精子于无菌广口瓶中, 置 37℃ 恒温箱中液化。

1.3 精液常规参数测定 按 WHO 手册推荐的标准方法检测

精液量、黏稠度、液化时间、pH 值等指标。采用 CASA 系统 (北京伟力公司 WLJY9000) 检测精子总数、精子密度、精子活率和活力。

1.4 精子核 DNA 完整性的检测 应用吖啶橙染色法进行检测^[1]。吖啶橙为 Sigma 公司产品, 其余试剂为国产分析纯。精液标本液化后, 用 pH 7.4、0.01 mmol/L PBS 液洗 3 次。离心后, 沉淀物再次混悬调整精子数为 5×10^7 /mL, 取 15 μL 涂片, 晾干, 甲醇固定。滴加数滴新鲜配制的吖啶橙工作液染色 5 min, 流水冲洗, 晾干, 荧光显微镜下观察。荧光显微镜激发光为 450~490 nm。观察 200 条精子。具有正常双链 DNA 的精子荧光呈绿色, 变性和单链 DNA 呈红色、橙色、黄色。DFI 表示呈红色、橙色、黄色精子所占观察精子总数的百分比。

2 结 果

2.1 健康对照组、不育非吸烟组及不育吸烟组精液常规参数、DFI 值见表 1: 三组年龄比较无明显差异。不育非吸烟组及不育吸烟组精子密度、精子活率和 a+b 级精子百分率低于健康对照组 ($P < 0.05$), DFI 值显著高于健康对照组 ($P < 0.05$)。不育吸烟组和不育非吸烟组比较精子密度、精子活率和 a+b 级精子百分率显著下降 ($P < 0.05$), 而 DFI 值显著增高 ($P < 0.05$)。

2.2 A、B、C 三组精液常规参数、DFI 值测定结果见表 2:三组年龄比较无明显差异。B 组精子密度、精子活率和 a+b 级精子百分率低于 A 组,但统计学上无明显差异。B 组 DFI 值和 A 组相比也无统计学差异。C 组精子密度、精子活率和 a+b 级精子百分率显著低于 A 组和 B 组($P<0.05$)。C 组 DFI 值显著高于 A 组和 B 组($P<0.05$)。

表 1 各组精液常规参数和精子凋亡率的比较

检测项目	健康对照组	不育非吸烟组	不育吸烟组
n	35	57	63
年龄	32.17±4.81	33.56±4.01	33.96±3.99
精子密度	52.80±20.65	43.42±27.68*	38.21±18.77*
精子活率(%)	71.56±7.58	54.65±8.04*	39.14±13.99*△
a 级精子百分率(%)	43.58±10.65	24.97±7.05*	15.64±7.85*△
a+b 级精子百分率(%)	59.74±9.9	42.47±10.57*	28.76±8.85*△
DFI(%)	5.42±3.28	19.01±6.11*	30.98±10.11*△

注:不育非吸烟组,不育吸烟组与健康对照组比较,* $P<0.05$;不育吸烟组与不育非吸烟组比较,△ $P<0.05$ 。

表 2 不育吸烟组精液常规参数和精子凋亡率的比较

项目	A 组	B 组	C 组
n	19	22	22
年龄	32.65±3.96	33.58±4.02	33.90±3.01
精子密度	43.54±21.69	42.23±17.54	29.59±10.30△
精子活率(%)	44.98±16.52	42.69±15.74	30.54±10.47△
a 级精子百分率(%)	19.47±8.77	17.87±7.98	10.11±7.11△
a+b 级精子百分率(%)	33.55±12.77	31.85±10.01	21.54±10.54△
DFI(%)	27.00±10.33	27.51±9.56	40.70±13.69△

注:C 组与不育非吸烟组比较,△ $P<0.05$ 。

3 讨 论

随着世界上不孕不育人数的增多,有害环境对生育的不良影响越来越受到关注。尤其是近年来,吸烟对身体的危害,已成为国内外学者共同研究课题之一。香烟中含有尼古丁、可尼丁、苯并 α-芘、一氧化碳、镉等大量的有害物质。这些有害物质可影响男性睾丸生殖细胞,具有抑制性激素分泌和杀伤精子的作用^[2]。本文对健康男性、不育吸烟患者及不育非吸烟患者的精液常规参数进行检测。检测结果显示不育吸烟患者的各精液参数值明显下降,且大烟量组下降最为明显。提示吸烟严重影响男性精液质量,吸烟量越大,时间越长精液质量下降越为

明显。

人精子 DNA 完整性对于父方基因传给正常子代是非常重要的。DNA 受损的精子进入卵细胞会影响到胚胎的发育潜能、胎儿的发育等。Evenson 和 Jost^[3]对男性生育能力进行评估:认为 DFI 在 0%~15% 具有高生育能力;16%~29% 为中度生育能力;≥30% 为低度生育能力;≥80% 为无生育能力。Virro 等^[4]研究表明 DFI≥30% 的患者囊胚形成率小 30%,且无妊娠发生。精子 DNA 完整性能客观评估男性生育能力,同时精子 DNA 完整性和精液参数密切相关。Zini 等^[5]发现精子密度、活动力和精子 DNA 损伤之间呈显著负相关。本研究结果显示不育吸烟患者 DFI 值显著高于不育非吸烟患者。C 组 DFI 值显著高于 B 组和 A 组。表明吸烟可以加重损害 DNA 完整性,并存在一定的量-效关系。香烟中的有害物质,以及吸烟产生的各种活性氧是其导致精子 DNA 完整性破坏的原因。精子由精原细胞经有丝分裂,减数分裂,以及精子细胞变态成精子需要 74 d,在附睾成熟约需 12~25 d。吸烟影响精子核 DNA 完整性的机制可能在附睾后,也可能在附睾内。

本研究结果显示吸烟可以破坏精子核 DNA 完整性,严重影响精液质量,加重不育患者的病情。因此,应积极提倡戒烟以消除吸烟对人类健康的危害。

参考文献

- [1] 黄宇烽,许瑞吉.男科诊断学[M].上海:第二军医大学出版社,1999;208-220.
- [2] 武俊青,高尔生.吸烟对男性生殖功能的影响[J].生殖与避孕,2006,26(12):745-749
- [3] Evenson D, Jost L. Sperm chromatin structure assay is useful for fertility assessment [J]. Methods Cell Sci, 2000,22(2-3):169-189.
- [4] Virro MR, Larson-Cook KL, Evenson DP. Sperm chromatin structure assay (SCSA) parameters are related to fertilization, blastocyst development, and ongoing pregnancy in in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection cycles[J]. Fertil Steril, 2004,81(5):1289-1295.
- [5] Zini A, Bielecki R, Phang D, et al. Correlations between two markers of sperm DNA integrity, DNA denaturation and DNA fragmentation, in fertile and infertile men[J]. Fertil Steril, 2001,75(4):674-677.

(收稿日期:2010-04-05)

(上接第 2074 页)

- [2] Kuwana M, Okazaki Y, Satoh T, et al. Initial laboratory findings useful for predicting the diagnosis of idiopathic thrombocytopenic purpura[J]. AM J Med, 2005,118(9):1026-1033.
- [3] 刘竞.血液病血小板 MPV、PCT、PDW 的检测意义[J].

中国现代医学杂志,2001,11(11):48-49.

- [4] Paulus JM, Deschamps JF, Prenant M, et al. Kinetics of platelets, megakaryocytes and their precursors; what to measure[J]. Blood cells, 1980,6(2):215-228.

(收稿日期:2010-04-07)