

畸形精子与精子 DNA 损伤对生育影响的研究进展

张 杰¹ 胡红林²

1.江西省九江市妇幼保健院辅助生殖科,江西九江 332000;2.南昌大学第二附属医院泌尿外科,江西南昌 330000

[摘要] 精子作为生殖过程中不可或缺的雄性配子,其正常的形态结构与核染色质决定了生殖能力及子代安全,因此畸形精子与精子脱氧核糖核酸(Deoxyribonucleic acid,DNA)损伤是引起不育的重要原因。一直以来,精子形态是影响男性生育力及生殖结局的重要指标,严格的精子形态在自然受孕及辅助生殖技术(Assisted reproductive technology,ART)治疗中有重要的预测价值,但孤立的使用精子形态来预测生殖结局有其局限性。近年来随着精子研究的深入,精子 DNA 在生殖中的作用引起了越来越多的重视,特别在胚胎发育及妊娠结局方面,相比精子形态有着更好的预测作用。本文主要就畸形精子与 DNA 损伤的机制以及它们对生殖的影响作一综述。

[关键词] 精子形态;精子 DNA;畸形精子;辅助生殖技术

[中图分类号] R698.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-9701(2021)19-0187-06

Research progress on the effects of abnormal sperm and sperm DNA damage on fertility

ZHANG Jie¹ HU Honglin²

1.Department of Assisted Reproduction,Jiujiang Maternal and Child Health Hospital in Jiangxi Province,Jiujiang 332000,China;2.Department of Urology,the Second Affiliated Hospital of Nanchang University,Nanchang 330000, China

[Abstract] Sperm is an indispensable male gamete in the reproductive process. Its normal morphology and nuclear chromatin determine the reproductive ability and the safety of offspring. Therefore, abnormal sperm and sperm deoxyribonucleic acid (DNA) damage is an important cause of infertility. Sperm morphology has always been an important indicator that affects male fertility and reproductive outcomes. Strict sperm morphology has significant predictive value in natural conception and assisted reproductive technology (ART) treatments. However, the isolated use of sperm morphology to predict reproductive outcome has its limitations. In recent years, with the deepening of sperm research, the role of sperm DNA in reproduction has attracted more and more attention, especially in embryonic development and pregnancy outcome. It has a better predictive effect than sperm morphology. This article mainly reviews the mechanisms of abnormal sperm and DNA damage and their effects on reproduction.

[Key words] Sperm morphology; Sperm DNA; Abnormal sperm; Assisted reproductive technology

近年来,随着工作与生活节奏的加快、环境污染等问题加剧,不孕不育的发生率正在逐年上升。据统计,大约有 15%~20% 的夫妇存在着不孕不育,其中男性因素高达 40%~50%^[1-2]。造成男性不育的主要原因是精子质量的下降,据统计过去几十年,男性的精子质量呈现出不断下降的趋势^[3-5]。在不育不孕高发的背景下,一些夫妇无法获得自然妊娠而选择辅助生殖技术(Assisted reproductive technology,ART)助孕治疗。精子质量不仅在自然生育中扮演了不可替代的角色,在 ART 治疗中也起着非常关键的作用。早在 17 世纪,Anton van Leeuwenhoek 第一次利用显微镜在人类和动物精液中发现了精子,人类从此开启了认识和研究精子的大门。1916 年,Cary 第一次提出精子形态可

能对男性生育能力造成影响。而到 1980 年,WHO 首次对精液体积、pH、液化时间、精子数量、活动力、形态等参数制定了统一的检测方法和标准阈值。近年来,随着人们对精子功能和机制的不断认识,精子质量评估已经向细胞、分子阶段发展,其中精子 DNA 完整性检测对生殖的影响受到了高度重视。本文主要就精子形态和精子 DNA 结构发生异常的机制及它们对生殖的影响作一综述。

1 畸形精子产生的机制

正常精子形似蝌蚪,长约 60 μm ,分为头部和尾部。头部长 4~4.5 μm ,宽 2.5~3.5 μm ,外观呈椭圆形,光滑、对称,由高度浓缩的细胞核和顶体组成,前者为遗传物质的携带者,后者是特殊的溶酶体。精子尾部是

[基金项目] 江西省卫生健康委科技计划(202140352)

头部的 7~15 倍,分为颈段、中段、主段和末段,由尾部中央的轴丝和中段周围的线粒体鞘组成,前者是精子运动的结构基础,后者是精子运动的供能装置。畸形精子根据部位不同分为头部缺陷、颈部和中段缺陷以及尾部缺陷,如大头、圆头、多尾、卷尾、胞质残留等形态异常。精子的发生是一个及其复杂的细胞分化过程,精原干细胞通过有丝分裂形成了大量的生精细胞,精母细胞进行减数分裂形成单倍体细胞,最终通过独特的形态学转化转变为形态特异的精子。而畸形精子产生的机制复杂多样。在睾丸曲细精管中,精母细胞经过减数分裂及形态逐渐转为形态、功能完备的精子,然而受体内外因素的影响,减数分裂过程紊乱,染色体的分离异常可能导致精子形态异常^[6]。核染色质浓缩与核蛋白转换异常也与畸形精子相关,核染色质的浓缩与稳定依赖于精核蛋白的正常转换,组蛋白-鱼精蛋白转换异常会出现细胞核过大,核内空泡数增多,染色质结构变得松散,导致精子头部形态异常^[7]。研究表明肿瘤患者在暴露于烷化剂和全身放射治疗时,精子细胞的减数分裂受到抑制,组蛋白-鱼精蛋白的转换程序受到干扰,从而诱发严重的生殖细胞损害,使精子生成逐渐减少,畸形精子比例升高^[8]。精子形态逐渐的过程中,高尔基复合体囊泡融合成一个大的顶体囊泡,覆盖于精子细胞核前形成顶体,中心粒迁移到细胞的尾部,远端中心粒分化形成鞭毛中轴,线粒体集中在鞭毛外周形成线粒体鞘,如果精子的轴丝缺少中部的线粒体合成或尾部的装配异常都会导致尾部形态异常和僵直。精子形成后也可能受到周围环境的氧化损伤,一些病原体可吸附在精子膜表面,分泌蓄积的毒性产物可以破坏精子的结构与功能,同时激发免疫反应与氧化应激,使精子形态结构与功能受到损伤^[9]。畸形精子作为男性不育的重要病因之一,其发病机制复杂,涉及的影响因素也非常广泛,与感染、损伤、理化因素、内分泌紊乱等多种因素相关,通过寻找病因及影响因素给予干预治疗往往能获得比较好的疗效。但有些畸形精子症患者病因不明,治疗效果较差,也许是忽视了遗传学因素的作用,畸形精子症可能还与某些特定基因的异常相关,而相关基因表达对精子的形态建成起着不可忽视的作用,寻找这些基因也变得尤为重要。

2 精子 DNA 损伤的机制

精子中的染色质包括精子头部的核 DNA 和精子尾部的线粒体 DNA。物理、生物、化学等因素可造成 DNA 单链或双链断裂,导致精子染色质完整性受损,影响精子的正常功能。产生机制主要包括:①精子凋

亡失衡:生精细胞凋亡是受高度调节的生理性死亡过程,通过凋亡可以清除体内多余衰老的生精细胞以保持精子在数量、形态和功能上的平衡状态。生精细胞的凋亡机制主要通过自杀相关因子(Factor associated suicide, Fas)与细胞表面的 Fas 受体结合来诱导细胞凋亡,人类通过克隆分化与凋亡的平衡将精子数量控制在一定范围内,而一些异常的生精细胞可能逃避了这些凋亡途径而转为了 DNA 损伤的精子^[10]。精子凋亡的平衡还与相关基因的表达有关,Bcl-XL 基因可抑制睾丸生精细胞的凋亡,而 S-myc 基因可以促进细胞的凋亡,TRPM-2、TNF 等基因也参了这一过程。②核蛋白组型转化异常:在精子形成的过程中,DNA 结合核蛋白会发生组型转化,95%的组蛋白首先被过渡蛋白所替代,然后被鱼精蛋白所取代并形成特定的比例;鱼精蛋白通过中和 DNA 磷酸二酯键上的负电荷,降低 DNA 分子间的静电排斥,使相邻的 DNA 分子聚集,将染色质浓缩形成一个几乎无水的晶体结构,从而保持染色体的稳定^[11]。如果核蛋白组型转换发生异常可能使染色体的结构变得松散,造成父源性 DNA 传递的延误或缺陷,最终发生精子 DNA 损伤。研究显示精蛋白与组蛋白、P1 与 P2 之间比例异常会导致精子 DNA 的损伤^[12-13]。精子核蛋白组型转换除与精子 DNA 损伤程度之间存在显著的相关性,与精子形态也显著相关^[14]。③氧化应激:活性氧(ROS)包含氧离子、自由基、过氧化物等活性物质,正常情况下通过精子膜和线粒体呼吸链的氧化反应所产生。生理量的 ROS 可以帮助精子获能和受精,增强顶体与透明带结合的能力;如果 ROS 产生过多,超过精子的抗氧化能力时会发生氧化应激反应,从而损伤精子膜使其失去流动性和完整性,并造成精子线粒体 DNA 和精子核 DNA 受损。精子线粒体的修复能力较低并缺乏组蛋白和鱼精蛋白的保护,因此线粒体 DNA 损伤更为常见^[15]。精子 DNA 损伤的机制与畸形精子相似,其中精子核浓缩、鱼精蛋白组型转换的异常、氧化应激反应是其共同的发病机制,而影响因素也均与感染、环境、生活习惯、遗传等密切相关,两者间存在着一定的关联,精子 DNA 损伤可能会加重精子形态的异常。原因可能是精子头部形态与精子核 DNA 相关,精子染色质通过减数分裂和高度浓缩后固定于头部,占据了头部 2/3 的空间,精子核 DNA 的分裂与浓缩异常会影响精子头部的形态建成,而精子中段与尾部形态的异常也可能与内部的线粒体 DNA 结构退化有关。

3 精子形态与 DNA 完整性对生殖中的影响

精子不仅在自然生育中扮演了不可替代的角色,

在辅助生殖技术的治疗中也起着非常关键的作用。精子在成熟与保存的过程中会受到各种致病因素的影响,造成形态异常与 DNA 损伤的因素复杂多样,与年龄、感染、环境等因素密切相关。一直以来,精子形态均是预测男性生育能力及生殖结局的重要指标。近年来,随着辅助生殖技术的发展,对精子的研究也进入到分子阶段,越来越多的学者开始重视精子 DNA 完整性在生育及 ART 中的作用。

3.1 对自然妊娠的影响

精子形态在自然受孕中起着关键作用,畸形精子会影响精子的活动力、获能与受精而致不育。在卵子受精前,精子获能并识别卵子的透明带,继而发生顶体反应释放顶体酶,通过溶蚀放射冠和透明带使精卵膜融合并激活卵子,最终完成受精。透明带区糖蛋白 3(Zona pellucida glycoprotein 3,ZP3)是卵母细胞透明带上的糖蛋白基质,精子膜表面存在着与 ZP3 相应的结合蛋白 mZP3,精子头部形态缺陷可能影响 mZP3 的功能结构,导致精子与卵子无法识别结合。顶体覆盖于精子细胞核前,拥有正常形态的顶体是发生顶体反应和受精的重要前提。上世纪 80 年代,Kruger 等^[16-17]首次提出精子形态对生育的预测价值,研究发现正常形态精子与卵子受精之间存在着显著正相关。近年来,Kohn 等^[18]通过研究表明当正常形态精子 $<4\%$,将无法获得自然妊娠。而 Kovac 等^[19]进行一项回顾性研究,发现严重畸形精子症的自然妊娠率显著低于正常组(25% vs. 51.8%, $P<0.05$),正常形态精子率为 0%时,仍有几率获得自然妊娠。这可能与精子形态异常的部位相关,不同部位的畸形精子所带来的影响程度不同,精卵的识别与卵子受精主要依赖于精子头部膜表面的 mZP3 受体与内部的顶体结构,而非头部形态异常的精子仍可能与卵子结合而受孕。另外,早期发现不育患者中约有 15%~30%属于不明原因,尽管精子活动力、浓度和形态等参数并无异常,但仍无法自然受孕,后经研究发现与精子 DNA 完整性相关。Zandieh 等^[20]研究表明即使精子活动力、数量及形态等参数正常,也可能因精子 DNA 损伤而造成生育障碍。近年来,关于“精子 DNA 完整性在生殖中的影响”成为了生殖医学中的热点议题。有研究^[21-22]通过 Meta 分析表明精子 DNA 损伤不仅与自然妊娠率之间有很强的关联(合并 $OR=7.15$;95% CI :3.07~16.68, $P<0.0001$),同时会显著增加流产的风险(合并 $OR=11.91$;95% CI :4.97~18.86, $P<0.0001$)。受孕过程中,精子作为载体将父系的遗传信息转入卵母细胞中,卵子能否受精、胚胎能否持续发育都依赖于遗传物质的完整性,受损的配子 DNA 在重组过程中可能发生误读错误导致染色体异常,出现妊娠丢失。

3.2 对人工授精(IUI)的影响

自从严格的形态学标准提出以来,精子形态常被用来预测人工授精(Intrauterine insemination,IUI)的治疗结局。畸形精子对 IUI 的妊娠结局会产生不良影响,洗涤后正常形态精子 $>4.5\%$ 时,活产率会显著增加,对多次行 IUI 治疗的患者,畸形精子会显著降低其临床妊娠率^[23-24]。Kohn 等^[18]对 20 项涉及 41018 个 IUI 周期的研究进行了 Meta 分析,结果显示精子形态与临床妊娠率显著相关。不过,也有研究表达了不同的观点,Lockwood 等^[25]研究发现临床妊娠率在畸形精子与正常组间没有显著差异(13.9%,15.7%),即使正常精子形态为 0%时,仍有可能通过自然方式或 IUI 受孕^[19]。这可能与一些研究没有排除女性年龄的干扰有关,年轻女性拥有更好的卵子,而优质的卵子在一定程度上可以弥补畸形精子带来的不利影响,另外可能忽视了精子浓度、活动力、精子 DNA 完整性在 IUI 中的影响。IUI 治疗时会将洗涤后的精子注射入母体的子宫腔,精子需上游爬行至输卵管壶腹部与卵子受精,这一过程需要大量活跃的精子参与,因此精子浓度和活动力在 IUI 治疗中起着关键作用。此外,IUI 中对精子的优化处理无法去除 DNA 损伤的精子。近来,Chen 等^[26]发表的一篇 Meta 分析表明高水平的精子 DNA 碎片指数(DNA fragmentation index,DFI)与妊娠率降低相关($RR=0.34$;95% CI :0.22~0.52, $P<0.001$),活产率也显著降低($RR=0.14$;95% CI :0.04~0.56, $P<0.001$)。高水平的精子 DNA 损伤不仅降低其妊娠率,还会增加流产的风险^[21]。2019 年,Simon 等^[27]发表的一篇综述认为 DFI 是预测 IUI 治疗结局的良好指标,对 IUI 的临床妊娠率、流产率及活产率有良好的预测价值。

3.3 对体外受精(IVF)的影响

体外受精(In vitro fertilization,IVF)将精子洗涤培养后置于卵子周围让其自然受精,相比于自然受孕和 IUI 不再需求大量的活动精子,而精子形态和 DNA 完整性对 IVF 的影响变得举足轻重。早期研究^[16-28]认为严格的精子形态是预测 IVF 治疗结局的最佳因子。早在 1986 年,Kruger 等^[16]研究了精子形态对 IVF 治疗的影响,结果表明正常形态精子 $>14\%$ 时,IVF 成功几率很高, $<5\%$ 则很低。随后有研究^[29-30]证实了这种观点,基于此,认为畸形精子症患者选择卵泡浆内单精子显微注射(Intracytoplasmic sperm injection,ICSI)治疗可以改善其受精率和临床妊娠率。不过也有学者表明了不同观点,认为畸形精子会显著降低 IVF 的受精率,但与临床妊娠率无关^[31-32]。畸形精子虽然影响受精率及优胚数,但移植那些已成功受精且质量好的胚胎可以获得和正常形态组相似的临床妊娠率。近年来,

Chen 等^[31]通过回顾性研究了 3155 例行 IVF 助孕的夫妇,发现在畸形精子组中,受精率和优胚率显著降低,而种植率和临床妊娠率与正常组相比无统计学差异。Coban 等^[33]将 1165 个胚胎依据精子形态进行划分,比较各组胚胎的非整倍体率差异,结果显示畸形精子组的非整倍体率明显增高,受精率、妊娠率显著降低。畸形精子虽然在受精方面有着比较好的预测价值,但在胚胎质量及妊娠结局方面经常看到不同学者的研究往往得出不同的结论。主要原因可能是胚胎的持续发育更依赖于染色质的完整性,与精子结构形态关联不大,而且在受精卵及胚胎形成的过程中,大量的畸形精子可能由于自身形态的缺陷无法与卵子进行受精而被淘汰,与卵细胞结合后的精子一般拥有正常的形态结构,但正常的形态精子不一定拥有完整的染色质结构;另外精子形态的染色检测方法较多,结果主要由实验操作人员在显微镜下进行主观判定,各实验室间存在着人员、试剂、设备、检测的差异性。目前,多数学者认为畸形精子会影响 IVF 的受精率,但对临床妊娠率及流产方面的预测有其局限性,而进行精子 DNA 检测可以弥补不足。早在 2009 年,Zini 等^[21]通过研究发现精子 DNA 损伤与 IVF 临床妊娠率降低有关(合并 $OR=1.57$;95% $CI:1.18\sim 2.07$, $P<0.05$)。随后,Tavares 等^[34]用改良 Diff-Quick 法对接受 IVF 治疗的患者行精子 DNA 检测,结果显示精子 DNA 完整性与优胚率、临床妊娠率呈强相关,与受精率、2PN 率无关。瑞典马尔默生殖中心的一项研究纳入了 1633 个 IVF/ICSI 治疗周期,结果显示在 IVF 中,当 $DFI>20\%$,优胚率和妊娠率显著降低,流产风险显著增加^[35]。Simon 等^[27]研究也认为精子 DNA 损伤会显著降低 IVF 的优胚率、临床妊娠率及种植率,并增加流产风险;但与 IVF 治疗组相比,精子 DNA 损伤对 ICSI 治疗结局的影响明显要小。可能因为在体外受精过程中,精子与卵母细胞的相互作用是随机选择的,而在 ICSI 操作中,会挑选出形态最好最活跃的精子注射入卵母细胞中,由于 DFI 与精子形态、活动力呈明显负相关^[36-38]。ICSI 挑选出的精子可能有更低的 DNA 损伤率。

3.4 对卵泡浆内单精子显微注射(ICSI)的影响

多数中心将严重畸形精子症作为 ICSI 的指征,其目的是为了提 高卵母细胞的受精率,避免受精失败。在 IUI 与 IVF 中,精子与卵母细胞的结合具有一定随机性,无法避开畸形精子,而 ICSI 能挑选出形态最好最活跃的精子,既避免了畸形精子带来的不利影响,也省去了自然受精的诸多步骤,从而获得更好的受精率及胚胎质量。研究发现畸形精子症患者通过 ICSI 治疗,其受精率显著高于 IVF,妊娠率、流产率无

统计学差异^[31];而在 ICSI 治疗中,不同形态组间的受精率、优胚率、临床妊娠率及流产率无显著差异^[39]。最近,Danis 等^[40]发表的综述讨论了精子形态对辅助生殖技术的影响,认为 ICSI 可以改善畸形精子受精率低或不受精的风险,但对胚胎质量及妊娠结局方面的预测存在争议,无论是 IVF 还是 ICSI,单独使用精子形态来预测其妊娠结局并未达成共识。精子 DNA 损伤患者通过 ICSI 治疗可以获得更好的治疗结局^[21-35],这是因为 ICSI 可以挑选出最活跃、形态最好的精子,而它们的 DNA 损伤率更低^[37-41],对于 DNA 损伤患者,应首选 ICSI 治疗。Simon 等^[27]在最新的研究中也表达了类似观点,相比 IVF,高 DFI 患者通过 ICSI 治疗可以获得更高的妊娠率,但胚胎质量、流产率无显著改善。虽然 ICSI 可以在一定程度上改善精子 DNA 损伤带来的不利影响,但仍有可能将 DNA 损伤的精子注入卵母细胞中。巴西圣保罗大学附属医院的一项前瞻性研究选取了接受 ICSI 治疗的 475 例患者,结果显示 DNA 损伤组的优胚率、囊胚率、种植率显著低于正常组($P=0.021,0.016,0.001$),流产率显著高于正常组($P=0.018$),受精率与妊娠率无显著差异^[42]。总的来说,ICSI 是畸形精子症和精子 DNA 损伤患者的治疗方式之一,实验操作者在显微镜下可以挑选出相对活跃、形态良好、DNA 损伤更低的精子,从而改善畸形精子症患者带来的低受精率,在一定程度上也减少了精子 DNA 损伤带来的负面影响。但这种治疗方式跨越了精卵识别、结合、受精这一自然界优胜劣汰的过程,精子的染色质结构无法被直接观测,操作中仍有可能将“看上去正常”的缺陷精子注入卵母细胞中而造成不良影响,而且在实施 ICSI 的过程中,如何挑选出“正常精子”也是目前胚胎工作者需要面对的一道难题。

4 总结

综上所述,精子形态与精子 DNA 损伤产生的机制与减数分裂异常、核染色质浓缩缺陷、氧化应激等有关。自然受孕中,严格的精子形态仍然是发挥影响的关键指标之一。但随着辅助生殖技术的普及,传统的精液检测已不能满足男性生殖能力的精确评估。在 ART 的治疗中,精子形态尽管对受精有着很好的预测价值,但对胚胎质量及妊娠结局的影响有限,孤立使用精子形态来预测 ART 治疗结局有其局限性。精子 DNA 的出现为精子质量评估提供了一个新的指标,在胚胎发育及妊娠结局方面有着显著影响,同时弥补了精子形态在 ART 治疗中的预测不足。因此,在传统精液检测的基础上联合精子 DNA 检测,可以完善精子的质量评价体系,从而提高对辅助生殖技术的预测

价值,从而建立一个更为高效而准确的男性预测体系,对男性生殖能力的评估、ART 治疗结局的预测以及临床治疗方式的选择都具有重要的指导意义。另外,在辅助生殖技术当中,ICSI 虽然可用于治疗畸形精子症与精子 DNA 损伤,但这种方式不能完全消除其带来的影响。ICSI 在甄别精子的过程中主要利用 400 倍的显微镜来观察,但精子的形态结构比较复杂尤其是精子内部的超微结构很难被准确评估,而精子核内部染色质的完整性同样难以被观察。因此,ICSI 对精子形态及 DNA 完整性的选择具有局限性,而在试管治疗操作中如何观察和挑选出 DNA 损伤小、形态正常的优质精子也是将来的研究趋势。目前对畸形精子症与精子 DNA 损伤患者我们不能完全依赖于 ICSI 助孕治疗,否则可能会增加试管治疗失败的风险,而多次助孕治疗必然对女性身体带来一定的损耗和加重患者的经济负担。因此,对准备行试管助孕的精子 DNA 损伤患者仍应积极寻找病因,进行相应的综合治疗和预处理,待精子质量改善后再进入周期治疗。目前随着不育不孕的发生率逐年上升,试管治疗人群的日益增多,精子相关功能对生殖的作用机制及影响,以及相关治疗对策仍需迫切研究与探索。

[参考文献]

- [1] Pan MM, Hockenberry MS, Kirby EW, et al. Male infertility diagnosis and treatment in the era of in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection[J]. *Med Clin North Am*, 2018, 102(2): 337-347.
- [2] Wiweko B, Utami P. Predictive value of sperm deoxyribonucleic acid (DNA) fragmentation index in male infertility[J]. *Basic Clin Androl*, 2017, 27: 1.
- [3] Mishra P, Negi M, Srivastava M, et al. Decline in seminal quality in Indian men over the last 37 years[J]. *Reprod Biol Endocrinol*. 2018, 16(1): 103.
- [4] 包华琼, 孙岚, 杨学姝, 等. 重庆市孕前男性精液质量的现状及影响因素初步调查[J]. *中国男科学杂志*, 2018, 32(3): 41-46.
- [5] 于月新, 崔鑫. 辽宁地区正常成年男性精液质量调查[J]. *中国医科大学学报*, 2017, 46(4): 349-352.
- [6] Morel F, Mercier S, Roux C, et al. Interindividual variations in the disomy frequencies of human spermatozoa and their correlation with nuclear maturity as evaluated by aniline blue staining[J]. *Fertil Steril*, 1998, 69(6): 1122-1127.
- [7] Utsuno H, Miyamoto T, Oka K, et al. Morphological alterations in protamine-deficient spermatozoa[J]. *Hum Reprod*. 2014, 29(11): 2374-2381.
- [8] Okada K, Fujisawa M. Recovery of spermatogenesis following cancer treatment with cytotoxic chemotherapy and radiotherapy[J]. *World J Mens Health*, 2019, 37(2): 166-174.
- [9] Huang C, Long X, Jing S, et al. Ureaplasma urealyticum and mycoplasma hominis infections and semen quality in 19,098 infertile men in China[J]. *World J Urol*, 2016, 34(7): 1039-1044.
- [10] 阳方, 李俊君, 董良, 等. 精子 DNA 完整性损伤的发生机制及诊断治疗[J]. *中国男科学杂志*, 2016, 30(9): 70-72.
- [11] Steger K, Balhorn R. Sperm nuclear protamines: A checkpoint to control sperm chromatin quality[J]. *Anat Histol Embryol*, 2018, 47(4): 273-279.
- [12] Ni K, Spiess AN, Schuppe HC, et al. The impact of sperm protamine deficiency and sperm DNA damage on human male fertility: A systematic review and meta-analysis[J]. *Andrology*, 2016, 4(5): 789-799.
- [13] Amor H, Shelko N, Hamad MF, et al. An additional marker for sperm DNA quality evaluation in spermatozoa of male partners of couples undergoing assisted reproduction technique (IVF/ICSI): Protamine ratio[J]. *Andrologia*, 2019, 51(10): e13 400.
- [14] Ye F, Li Y, Hou M, et al. Influence of sperm nucleoprotein transition on in vitro embryo development[J]. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi*, 2016, 33(2): 177-180.
- [15] 李刚琴. 精子线粒体 DNA 与男性不育研究进展[J]. *中华男科学杂志*, 2017, 23(9): 848-851.
- [16] Kruger TF, Menkveld R, Stander FS, et al. Sperm morphologic features as a prognostic factor in in vitro fertilization[J]. *Fertil Steril*, 1986, 46(6): 1118-1123.
- [17] Kruger TF, Acosta AA, Simmons KF, et al. Predictive value of abnormal sperm morphology in in vitro fertilization[J]. *Fertil Steril*, 1988, 49(1): 112-117.
- [18] Kohn TP, Kohn JR, Ramasamy R. Effect of Sperm Morphology on Pregnancy Success via Intrauterine Insemination: A Systematic Review and Meta-Analysis[J]. *J Urol*, 2018, 199(3): 812-822.
- [19] Kovac JR, Smith RP, Cajipe M, et al. Men with a complete absence of normal sperm morphology exhibit high rates of success without assisted reproduction[J]. *Asian J Androl*, 2017, 19(1): 39-42.
- [20] Zandieh Z, Vatannejad A, Doosti M, et al. Comparing reactive oxygen species and DNA fragmentation in semen samples of unexplained infertile and healthy fertile men[J]. *Ir J Med Sci*, 2018, 187(3): 657-662.
- [21] Zini A, Sigman M. Are tests of sperm DNA damage clinically useful Pros and cons[J]. *J Androl*, 2009, 30(3): 219-229.

- [22] McQueen DB, Zhang J, Robins JC. Sperm DNA fragmentation and recurrent pregnancy loss: A systematic review and meta-analysis[J]. *Fertil Steril*, 2019, 112(1): 54–60. e3.
- [23] Erdem M, Erdem A, Mutlu MF, et al. The impact of sperm morphology on the outcome of intrauterine insemination cycles with gonadotropins in unexplained and male subfertility[J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2016, 197: 120–124.
- [24] Lemmens L, Kos S, Beijer C, et al. Predictive value of sperm morphology and progressively motile sperm count for pregnancy outcomes in intrauterine insemination[J]. *Fertil Steril*, 2016, 105(6): 1462–1468.
- [25] Lockwood GM, Deveneau NE, Shridharani AN, et al. Isolated abnormal strict morphology is not a contraindication for intrauterine insemination[J]. *Andrology*, 2015, 3(6): 1088–1093.
- [26] Chen Q, Zhao JY, Xue X, et al. The association between sperm DNA fragmentation and reproductive outcomes following intrauterine insemination, a meta analysis[J]. *Reprod Toxicol*. 2019, 86: 50–55.
- [27] Simon L, Emery B, Carrell DT. Sperm DNA Fragmentation: Consequences for Reproduction[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1166: 87–105.
- [28] Coetzee K, Kruger TF, Lombard CJ. Predictive value of normal sperm morphology: A structured literature review[J]. *Hum Reprod Update*. 1998, 4(1): 73–82.
- [29] McKenzie LJ, Kovanci E, Amato P, et al. Pregnancy outcome of in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection with profound teratospermia[J]. *Fertil Steril*, 2004, 82(4): 847–849.
- [30] Dubey A, Dayal MB, Frankfurter D, et al. The influence of sperm morphology on preimplantation genetic diagnosis cycles outcome[J]. *Fertil Steril*, 2008, 89(6): 1665–1669.
- [31] Chen L, Li D, Ni X, et al. Effects of the normal sperm morphology rate on the clinical and neonatal outcomes of conventional IVF cycles[J]. *Andrologia*, 2020, 52(5): e13 568.
- [32] Van den Hoven L, Hendriks JC, Verbeet JG, et al. Status of sperm morphology assessment: an evaluation of methodology and clinical value[J]. *Fertil Steril*, 2015, 103(1): 53–58.
- [33] Coban O, Serdarogullari M, Onar Sekerci Z, et al. Evaluation of the impact of sperm morphology on embryo aneuploidy rates in a donor oocyte program[J]. *Syst Biol Reprod Med*, 2018, 64(3): 169–173.
- [34] Tavares RS, Silva AF, Loureno B, et al. Evaluation of human sperm chromatin status after selection using a modified Diff-Quik stain indicates embryo quality and pregnancy outcomes following in vitro fertilization[J]. *Andrology*, 2013, 1(6): 830–837.
- [35] Oleszczuk K, Giwercman A, Bungum M. Sperm chromatin structure assay in prediction of in vitro fertilization outcome[J]. *Andrology*, 2016, 4(2): 290–296.
- [36] Le MT, Nguyen T, Nguyen H, et al. Does sperm DNA fragmentation correlate with semen parameters[J]. *Reprod Med Biol*, 2019, 18(4): 390–396.
- [37] 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.
- [38] 李非凡, 杨昊, 肖佳云, 等. 精子 DNA 碎片指数与精液参数相关性的初步研究[J]. *中国男科学杂志*, 2018, 32(1): 33–36.
- [39] 魏思达, 欧建平, 骆春启, 等. 卵胞浆内单精子注射治疗畸形精子症的妊娠结局[J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2013, 34(3): 451–455.
- [40] Danis RB, Samplaski MK. Sperm morphology: History, challenges, and impact on natural and assisted fertility[J]. *Curr Urol Rep*, 2019, 20(8): 43.
- [41] Zini A, Phillips S, Courchesne A, et al. Sperm head morphology is related to high deoxyribonucleic acid stainability assessed by sperm chromatin structure assay[J]. *Fertil Steril*, 2009, 91(6): 2495–2500.
- [42] Borges E Jr, Zanetti BF, Setti AS, et al. Sperm DNA fragmentation is correlated with poor embryo development, lower implantation rate, and higher miscarriage rate in reproductive cycles of non-male factor infertility[J]. *Fertil Steril*, 2019, 112(3): 483–490.

(收稿日期: 2020-09-02)