

• 综述 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.21.043

精子 DNA 碎片检测在辅助生殖中的研究进展^{*}武 健¹, 李立鹏²综述, 曹金凤^{2△} 审校1. 河北医科大学研究生学院, 河北石家庄 050000; 2. 河北医科大学第二医院
生殖医学科, 河北石家庄 050000

关键词: 精子 DNA 碎片; 男性不育; 辅助生殖

中图分类号: R714

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2020)21-3216-05

目前, 单独采用常规精液分析并不能全面评估精子质量和男性生育潜力, 因此, 研究者将注意力转移到精子的 DNA 结构上。近年来, 精子 DNA 碎片(SDF)检测作为常规精液分析的重要补充, 被认为是评价精子功能的一项重要指标。研究发现, SDF 与精子发生异常、氧化应激损伤、精子凋亡异常相关。精子 DNA 碎片指数(DFI)是指在各种不利因素的作用下, 发生 DNA 断裂的精子占全部精子的百分比, 可用于精子 DNA 完整性的评估。精子 DNA 完整性是正常受精、着床和胚胎发育的必要条件, 最近的研究多集中在评估 DFI 在辅助生殖中的临床价值, 但仍存在争议。本文将从产生机制、检测方法、临床意义和治疗方法 4 个方面综述 SDF 检测在临床的最新研究进展。

1 SDF 的产生机制

1.1 精子发生异常 精子形成阶段, 以赖氨酸为主的组蛋白逐渐被富含精氨酸的鱼精蛋白代替。在鱼精蛋白的作用下, 染色质高度折叠并存储于精子头部, 以确保遗传物质的稳定性。若二者转化受阻, 会导致染色质包装异常和修复缺陷, 引发 DNA 损伤。组蛋白-鱼精蛋白转换过程复杂, 受多种机制调控。GOU 等^[1]研究发现, PIWI 基因缺失或突变与人类组蛋白异常保留有关。组蛋白甲基化、磷酸化、乙酰化和泛素化通过表观遗传学修饰参与精子形成, 可对染色质浓缩、精蛋白替代组蛋白和 DNA 损伤修复等过程进行调控^[2]。

1.2 氧化应激损伤 目前, 氧化应激被认为是 SDF 产生最重要的发病机制。精液中的活性氧(ROS)主要来源于白细胞和未成熟精子。过量的 ROS 在精子细胞内积聚, 会造成精子膜脂质和 DNA 的氧化损伤, 引起 DNA 单链或双链的断裂。研究表明, ROS 可直接造成 DNA 损伤^[3], 而精子膜脂质过氧化可能是连接精子 DNA 损伤与精子形态、活力的桥梁^[4]。还有研究指出, 受损的精子 DNA 更容易受到 ROS 的攻

击, 使精子 DNA 损伤加重^[5]。

1.3 精子凋亡异常 在人类生殖系统中, 凋亡可去除异常生殖细胞, 这一过程受多种机制调控。精子细胞的正常凋亡有助于调控精子数量, 及时清除体内染色体异常的精子, 保证精子质量, 若精子凋亡异常, 可造成 DNA 损伤的精子增多。引发精子凋亡异常的机制如下: 一方面, 具有 DNA 损伤的精细胞可通过某种机制逃脱正常凋亡途径, 进一步分化为成熟精子^[6]; 另一方面, 内源性和外源性细胞凋亡信号通路激活异常可造成 SDF 的增加。WANG 等^[7]研究表明, 外源性 Fas/FasL 信号通路激活异常与睾丸生精细胞的凋亡异常有关。RAO 等^[8]研究发现, 内源性线粒体依赖通路可能在热诱导的生殖细胞凋亡中起关键作用。

2 SDF 的检测方法

2.1 精子染色质结构分析法(SCSA) SCSA 作为一种间接测定精子 DNA 损伤的检测方法, 可以对新鲜和冷冻的精液标本进行检测。DNA 经酸处理变性后, 用吖啶橙进行染色, 与吖啶橙结合的双链 DNA 发出绿色荧光, 而与吖啶橙结合的单链 DNA 发出红色荧光。利用流式细胞仪进一步评价染色细胞, 被染成绿色的精子有完整的 DNA, 而被染成红色的精子 DNA 发生了变性。根据红色精子数量所占比例, 可计算 DFI, 目前设立的参考阈值为 30%。该方法的优点是不仅检测速度快, 变异系数低, 易于室内室间标准化, 而且还能同时检测高可染性精子的百分比, 评估核未完全缩合的不成熟精子情况^[9]。虽然只能检测单链 DNA 断裂, 但 GAWECKA 等^[10]研究发现, 由于相对分子质量小的吖啶橙更易与染色质结合, SCSA 测试较其他方法检测 DNA 链断裂的灵敏度更高。

2.2 末端脱氧核苷酸转移酶 dUTP 缺口末端标记法(TUNEL) TUNEL 是一种以异硫氰荧光素(FITC)为标志物, 利用末端脱氧核苷酸转移酶(TdT)将带有荧光标记的 dUTP 转移至 DNA 损伤分子的 3'-OH

* 基金项目: 河北省卫生与计划生育委员会科学基金项目(20170084)。

△ 通信作者, E-mail: jfcaoc@126.com。

末端,然后通过显微镜或流式细胞仪定量分析 DNA 双链和单链损伤的方法。TUNEL 的缺点是操作复杂,耗时长且易受未洗净非结合标志物干扰,FITC 和 TdT 的大分子量也会降低与高度浓缩核染色质的结合效率^[10]。但是 RIBEIRO 等^[11]研究指出,若使用标准化染色方案并优化操作步骤,TUNEL 具有室间可比性。PANNER 等^[12]研究也显示,TUNEL 是一种直接测量真正 DNA 损伤的方法,如果能确定可靠的参考值,可作为不育男性个性化治疗的预后测试方法。为确定 TUNEL 法的参考值,已经进行了多项研究,但不同类型的 TUNEL 试验确定的参考值有所差异。SHARMA 等^[13]对 95 例健康男性和 261 例不育男性精液进行 TUNEL 分析发现,SDF 参考值为 16.8%时,特异度为 91.6%,灵敏度为 32.6%,阳性预测值为 91.4%。但是,也有其他研究报道区分不育男性的参考值为 20.3%^[14]和 24.3%^[15]。RIBEIRO 等^[11]对 2 个实验中心的 TUNEL 法进行标准化后发现,SDF 的平均比率有很强的正相关关系($r=0.719$)。他们进一步研究发现,若采用标准 TUNEL 法并对 2 种型号流式细胞仪进行性能校正,C6 流式细胞仪检测的 SDF 值为 0~51.4%,平均值为 15.1% (95%CI:10.1%~15.7%),C6+流式细胞仪检测的 SDF 值为 0~47.5%,平均值为 14.8% (95%CI:9.9%~15.2%),二者总体 $r=0.984$,提示性能校正对结果一致性有重要影响^[16]。

2.3 彗星实验 彗星实验也称单细胞凝胶电泳,可有效检测并定量分析细胞中 DNA 单双链缺口损伤的程度。精子 DNA 受损伤后,超螺旋结构被破坏,断裂的 DNA 片段在电场的作用下移动到阳极形成“彗星”尾,而完整的精子 DNA 形成“彗星”头。在电泳过程中,由于相对分子质量小,小片段 DNA 比大片段 DNA 移动得更远。因此,通过检测荧光染料染色后“彗星”头尾的荧光强度和尾部长度,可定量分析精子不同种类的 DNA 损伤。该方法精子用量少,可根据电泳液 pH 值的不同区分 DNA 单链损伤和双链损伤,有助于研究不同损伤类型与不同疾病的关系。缺点是检测耗时长,操作复杂,易受电压、电流等因素的影响,临床应用较困难。

2.4 精子染色质扩散实验(SCD) SCD 是一种简便快速、价格低廉的间接检测 SDF 的方法,可以对新鲜和洗涤后精液标本进行检测。正常精子的 DNA 经酸变性后,可去除大部分核蛋白,使 DNA 环黏附在残余的核结构上形成特征光晕,而 DNA 完整性受损的精子不产生这种特征光晕或光晕很小。光晕的存在及大小可用来判断精子 DNA 的完整性。SCD 的缺点是不能区分 DNA 单双链损伤,且光晕大小评估和背景染色难以标准化,易受主观因素影响。

由此可见,由于原理不同,4 种方法在检测 DNA 损伤类型和相对灵敏度方面有明显差异^[17]。尽管 SCSA 检测的室内和室间差异最小,但这项检测仍未普及^[18]。对于彗星实验和 SCD 2 种检测方法,观察者间的变异性是主要障碍。在 TUNEL 分析中,检测步骤的标准化可使变异最小化,且 TUNEL 检测的实验室内间可变性低于 SCSA 技术^[19]。

3 SDF 检测在辅助生殖中的临床意义

3.1 SDF 检测与男性不育 WHO 推荐 SDF 检测作为评估男性生育力的常规检测项目^[20]。WIWEKO 等^[21]采用 SCD 法检测发现,在男性不育诊断中,DFI 的诊断价值高于精液分析,DFI(26.1%)是鉴别不育男性和生育男性的最佳临界值,灵敏度为 80.8%,特异度为 86.1%。最近,有学者对 SDF 与常规精液参数之间的相关性进行了研究。麦选诚等^[22]研究发现,在不育男性中 DFI 与精子的浓度、活力和形态呈负相关,且与前向运动精子百分比的负相关关系最明显,既反映出精液常规参数能为评估精子 DNA 完整性提供参考,又反映出 DFI 对于男性生育能力预测具有科学性。EVGENI 等^[23]通过亚组分析发现,在健康生育人群中,常规精液参数与 DFI 之间的相关性差异无统计学意义,表明 DFI 可能是精液质量的独立指标,有必要对二者进行综合评价。

3.2 SDF 检测与常规体外受精(IVF) DFI 与 IVF 结局的关系已得到广泛的研究,但结论存在争议。有研究发现,DFI 增高可降低 IVF 受精率、妊娠率,影响胚胎质量^[24]。也有研究表明,DFI 与 IVF 受精率、优胚率、妊娠率均无关^[25]。影响结果的因素有多种,如测定方法、女性生育状况、DNA 损伤类型和精液处理方式等。JIN 等^[26]对 2 085 例接受 IVF 治疗的患者进行回顾性分析发现,DFI 与妊娠率呈负相关。亚组分析发现,SDF 仅在卵巢储备减少的患者中显著影响 IVF 结局,由此推测卵母细胞质量可能是降低 SDF 负面效应的重要因素。CASANOVAS 等^[27]对同一精液标本进行双链和单链 DNA 断裂分析发现,单链 DNA 断裂仅在原核阶段表现出主要作用,而双链 DNA 断裂会导致胚胎发育缓慢,并可能影响着床。可见双链 DNA 断裂比单链 DNA 断裂影响更严重,但是大多数 SDF 测试只鉴定单链 DNA 断裂,这可能是造成研究结果不一致的原因。此外,精液来源也是影响结局的混杂因素之一,多数研究只针对原始精液进行 SDF 检测,并不能反映优化后精子 SDF 的真实状态。

3.3 SDF 检测与卵胞浆内单精子注射(ICSI) 目前大多数证据表明,SDF 对 ICSI 结局几乎无影响。SIMON 等^[28]未能发现 SDF 与 ICSI 妊娠率之间存在显著相关性,于鲁华等^[29]对冻融胚胎移植周期的研究也

表明, SDF 引起的妊娠率下降可通过 ICSI 得到纠正。但是, BORGES 等^[30]以 DFI 为 30% 分 2 组探讨 SDF 对非男性因素不孕 ICSI 周期的影响, 发现 SDF 与受精率无关, 与胚胎发育不良、着床率低、流产率高有关。可能是由于 ICSI 过程逃避了自然选择, 人为挑选了有 DNA 损伤的精子。因为父系基因组于 4~8 细胞期被激活, 所以 DNA 损伤对受精没有影响, 但会影响后期胚胎发育。目前的研究仍存在一定的局限性, 比如如何界定 DFI 参考值、主观因素是否会干扰胚胎质量的评价、不同胚胎培养室行 ICSI 前卵母细胞孵育时间长短可能会影响其修复 SDF 的能力等, 这些因素在很大程度上限制了结果的可重复性。此外, 由于 DNA 损伤精子受精可能会增加子代患遗传病的风险, 应该对 ICSI 周期的患者进行密切随访, 注意其遗传或出生缺陷。

3.4 SDF 与反复流产 我国将 3 次或 3 次以上在妊娠 28 周之前的胎儿丢失定义为复发性流产^[31]。反复流产最常见的原因是胚胎非整倍体, 但对女性进行检查和核型分析发现, 仍然有 50% 的病例反复流产无法解释。目前, 关于反复流产与男性因素的研究较少。BAREH 等^[32]选取 26 例不明原因反复流产男性和 31 例正常生育男性, 用 TUNEL 法检测精子 SDF, 结果显示反复流产组 DFI (36.8%) 明显高于对照组 DFI (9.4%)。KHADEM 等^[33]在一项涉及 30 对特发性复发性自然流产 (RSA) 夫妇和 30 对生育夫妇 (对照) 的队列研究中发现, SCD 法检测的 RSA 组 DFI (43.3%) 显著高于对照组 DFI (16.7%), 这与 LEACH 等^[34]研究结论一致。因此, 对反复流产夫妇进行 SDF 检测可能为原因不明早期反复流产发病机制的研究打开突破口。

4 SDF 检测用于评估各种治疗方式对 DNA 完整性的改善效果

4.1 改变生活方式 研究发现, 不良生活方式因素与氧化应激引起的 SDF 有关, 如辐射、香烟烟雾、空气污染物、性传播感染、体质量指数等^[35]。建议对有污染物暴露史或存在不良生活方式的不育男性进行 SDF 测试, 以便通过改变生活方式降低 DFI, 提高生育能力。

4.2 精索静脉曲张手术 ROQUE 等^[36]研究发现, 精索静脉曲张术可减少氧化应激引起的精子 DNA 损伤, 提高生育能力, 可作为减轻 SDF 和提高妊娠率的一种手段。AFSIN 等^[37]研究指出, 术后 3 个月即可观察到 SDF 情况有所改善, 但是对于亚临床型的精索静脉曲张, 手术似乎并不能提高生育能力^[38]。

4.3 药物治疗 氧化应激是破坏精子 DNA 完整性的重要因素, 口服抗氧化剂可以减少活性氧的形成, 是治疗男性不育的有效方法。ALAHMAR 等^[39]研

究表明, 维生素 E、维生素 C、硒、辅酶 Q10、N-乙酰半胱氨酸、锌和 L-肉碱可有效减少 DNA 断裂, 但是 MÉNEZO 等^[40]研究指出, 抗氧化处理后精子成熟染色质含量 (HDS) 显著增加, 可能会干扰植入前发育过程中的父系基因活性, 且研究提出对于精子 HDS > 20% 的男性, 不应使用抗氧化剂。

4.4 精子获得方法 在高 SDF 男性中, 使用睾丸精子代替射精精子行 ICSI 更好。ESTEVEZ 等^[41]研究指出, 睾丸精子的 SDF 水平低于射精精子, ICSI 周期中采用睾丸精子比射精精子有更高的活产率和更低的流产率。如果男性射精精子中 SDF 较高, 可采用睾丸内精子抽吸术获取精子, 然后行 ICSI 受精可能获得较好的妊娠结局。

4.5 增加性生活频率 BORGES 等^[42]研究表明, 与禁欲时间 2、3、4 d 相比, 禁欲时间 1 d 能显著减少精子射精过程中 DNA 的断裂, 提高 ICSI 周期着床率、妊娠率, 这可能与缩短在附睾内的储存时间和减少自由基损伤有关。SHEN 等^[43]利用 1~3 h 禁欲精子行 IVF 治疗并观察临床结局, 证实短时间禁欲可降低 SDF 并改善临床结局。

4.6 精液优选方法 在辅助生殖技术中, 精子优选是一个常规操作, 采用合适的优选技术, 可降低 SDF。SDF 检测可用于检测这些处理技术对 DNA 完整性的影响。最近一些研究提出精液处理的新方法, QUINN 等^[44]研究指出, 原始精液经微流控芯片优选后, SCD 检测的精子 DFI 可降至 0; BERTELI 等^[45]研究发现, 磁性活细胞分选法与密度梯度离心法联合使用比单独使用 2 种方法更能减少 SDF; 陈娟等^[46]研究还发现, 磁性活细胞分选法在降低冷冻精液 DFI 方面具有优势。

5 小 结

尽管检测 SDF 的方法有很多, 但仍然缺乏统一明确的参考值, 这使得 SDF 检测在临床的预测价值和评估价值存在争议。TUNEL 技术作为检测 SDF 最直接的方法, 评估 SDF 的准确性更高, 在未来有更大的发展前景。如何通过优化操作步骤和规范操作流程, 降低实验室室内和室间变异, 仍然是 SDF 检测面临的巨大挑战。目前, SDF 检测尚处于临床应用的起步阶段, 若能够找到检测 SDF 的无损害方法, 直接挑选 DNA 完整的精子用于受精, 将为辅助生殖技术的选择提供安全和有效的保障。

参考文献

- [1] GOU L T, KANG J Y, DAI P, et al. Ubiquitination-deficient mutations in human piwi cause male infertility by impairing histone-to-protamine exchange during spermiogenesis[J]. Cell, 2017, 169(6): 1090.
- [2] 葛少钦, 赵峥辉, 殷会莹, 等. 精子发生过程中组蛋白翻译后

- 修饰及其作用[J]. 中国男科学杂志, 2014, 28(10): 54-59.
- [3] 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.
- [4] AKTAN G, DOGRU-ABBASOGLU S, KUCUKGERGIN C A, et al. Mystery of idiopathic male infertility: is oxidative stress an actual risk? [J]. *Fertil Steril*, 2013, 99(5): 1211-1215.
- [5] MOUSTAFA M H, SHARMA R K, THORNTON J, et al. Relationship between ROS production, apoptosis and DNA denaturation in spermatozoa from patients examined for infertility[J]. *Hum Reprod*, 2004, 19(1): 129-138.
- [6] SAKKAS D, SELI E, BIZZARO D, et al. Abnormal spermatozoa in the ejaculate: abortive apoptosis and faulty nuclear remodelling during spermatogenesis[J]. *Reprod Biomed Online*, 2003, 7(4): 428-432.
- [7] WANG M, SU P. The role of the Fas/FasL signaling pathway in environmental toxicant-induced testicular cell apoptosis: an update[J]. *Syst Biol Reprod Med*, 2018, 64(2): 93-102.
- [8] RAO M, XIA W, YANG J, et al. Transient scrotal hyperthermia affects human sperm DNA integrity, sperm apoptosis, and sperm protein expression[J]. *Andrology*, 2016, 4(6): 1054-1063.
- [9] EVENSON D P. The sperm chromatin structure assay (SCSA[®]) and other sperm DNA fragmentation tests for evaluation of sperm nuclear DNA integrity as related to fertility[J]. *Anim Reprod Sci*, 2016, 169(1): 56-75.
- [10] GAWECKA J E, BOAZ S, KASPERSON K, et al. Lumenal fluid of epididymis and vas deferens contributes to sperm chromatin fragmentation[J]. *Hum Reprod*, 2015, 30(12): 2725-2736.
- [11] RIBEIRO S, SHARMA R, GUPTA S, et al. Inter- and intra-laboratory standardization of TUNEL assay for assessment of sperm DNA fragmentation[J]. *Andrology*, 2017, 5(3): 477-485.
- [12] PANNER SELVAM M K, AGARWAL A. A systematic review on sperm DNA fragmentation in male factor infertility: Laboratory assessment[J]. *Arab J Urol*, 2018, 16(1): 65-76.
- [13] SHARMA R, AHMAD G, ESTEVES S C, et al. Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling (TUNEL) assay using bench top flow cytometer for evaluation of sperm DNA fragmentation in fertility laboratories: protocol, reference values, and quality control[J]. *J Assist Reprod Genet*, 2016, 33(2): 291-300.
- [14] HASSANEN E, ELQUSI K, ZAKI H, et al. TUNEL assay: establishing a sperm DNA fragmentation cut-off value for Egyptian infertile men[J]. *Andrologia*, 2019, 51(10): e13375.
- [15] HENKEL R, KIERSPEL E, HAJIMOHAMMAD M, et al. DNA fragmentation of spermatozoa and assisted reproduction technology[J]. *Reprod Biomed Online*, 2003, 7(4): 477-484.
- [16] SHARMA R, GUPTA S, HENKEL R, et al. Critical evaluation of two models of flow cytometers for the assessment of sperm DNA fragmentation: an appeal for performance verification [J]. *Asian J Androl*, 2019, 21(5): 438-444.
- [17] HARPER J, JACKSON E, SERMON K, et al. Adjuncts in the IVF laboratory: where is the evidence for add-on interventions? [J]. *Hum Reprod*, 2017, 32(3): 485-491.
- [18] SHAMSI M B, IMAM S N, DADA R. Sperm DNA integrity assays: diagnostic and prognostic challenges and implications in management of infertility[J]. *J Assist Reprod Genet*, 2011, 28(11): 1073-1085.
- [19] LESAINT C, VINGATARAMIN L, ALIX S, et al. Correlation between two sperm dna fragmentation tests (tunel and scsa) and evaluation of tunel assay inter-lab variability[J]. *Fertil Steril*, 2016, 106(3): E297.
- [20] SIKKA S C, HELLSTROM W J. Current updates on laboratory techniques for the diagnosis of male reproductive failure[J]. *Asian J Androl*, 2016, 18(3): 392-401.
- [21] WIWEKO B, UTAMI P. Predictive value of sperm deoxyribonucleic acid (DNA) fragmentation index in male infertility[J]. *Basic Clin Androl*, 2017, 27(1): 1-5.
- [22] 麦选诚, 董云华, 陈斌, 等. 不育患者精子 DNA 损伤和精液常规参数关系分析[J]. 中国男科学杂志, 2016, 30(4): 19-22.
- [23] EVGENI E, LYMBEROPOULOS G, GAZOULI M, et al. Conventional semen parameters and DNA fragmentation in relation to fertility status in a Greek population [J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2015, 188(2): 17-23.
- [24] 谭艳, 范立青. Meta 分析精子 DNA 完整性对辅助生殖结局的预测价值[J]. 生殖医学杂志, 2017, 26(1): 39-47.
- [25] SUN T C, ZHANG Y, LI H T, et al. Sperm DNA fragmentation index, as measured by sperm chromatin dispersion, might not predict assisted reproductive outcome[J]. *Taiwan J Obstet Gynecol*, 2018, 57(4): 493-498.
- [26] JIN J, PAN C, FEI Q, et al. Effect of sperm DNA fragmentation on the clinical outcomes for in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection in women with different ovarian reserves[J]. *Fertil Steril*, 2015, 103(4): 910-916.
- [27] CASANOVAS A, RIBAS-MAYNOU J, LARA-CERRILLO S A, et al. Double-stranded sperm DNA damage is a cause of delay in embryo development and can impair implantation rates[J]. *Fertil Steril*, 2019, 111(4): 699.
- [28] SIMON L, ZINI A, DYACHENKO A, et al. A systematic review and meta-analysis to determine the effect of sperm DNA damage on in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection outcome [J]. *Asian J Androl*, 2017, 19

- (1):80-90.
- [29] 于鲁华,刘琳,吕芳,等. 精子 DNA 完整性对冻融胚胎移植周期妊娠结局的影响[J]. 生殖医学杂志,2019,28(9):1006-1011.
- [30] BORGES E, ZANETTI B F, SETTI A S, 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.
- [31] 中华医学会妇产科学分会产科学组. 复发性流产诊治的专家共识[J]. 中华妇产科杂志,2016,51(1):3-9.
- [32] BAREH G M, JACOBY E, BINKLEY P, et al. Sperm deoxyribonucleic acid fragmentation assessment in normozoospermic male partners of couples with unexplained recurrent pregnancy loss: a prospective study [J]. Fertil Steril,2016,105(2):329-336.
- [33] 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.
- [34] LEACH M, AITKEN R J, SACKS G. Sperm DNA fragmentation abnormalities in men from couples with a history of recurrent miscarriage[J]. Aust N Z J Obstet Gynaecol,2015,55(4):379-383.
- [35] PACEY A A. Environmental and lifestyle factors associated with sperm DNA damage[J]. Hum Fertil (Camb), 2010,13(4):189-193.
- [36] ROQUE M, ESTEVES S C. Effect of varicocele repair on sperm DNA fragmentation: a review[J]. Int Urol Nephrol,2018,50(4):583-603.
- [37] AFSIN M, OTLUDIL B, DEDE O, et al. An examination on composition of spermatozoa obtained from pre-operative and post-operative varicocele patients[J]. Reprod Biol,2018,18(4):361-367.
- [38] TISEO B C, ESTEVES S C, COCUZZA M S. Summary evidence on the effects of varicocele treatment to improve natural fertility in subfertile men[J]. Asian J Androl, 2016,18(2):239-245.
- [39] ALAHMAR A T. The effects of oral antioxidants on the semen of men with idiopathic oligoasthenoteratozoospermia[J]. Clin Exp Reprod Med,2018,45(2):57-66.
- [40] MÉNÉZO Y J, HAZOUT A, PANTEIX G, et al. Antioxidants to reduce sperm DNA fragmentation: an unexpected adverse effect [J]. Reprod Biomed Online, 2007, 14(4):418-421.
- [41] ESTEVES S C, ROQUE M, BRADLEY C K, et al. Reproductive outcomes of testicular versus ejaculated sperm for intracytoplasmic sperm injection among men with high levels of DNA fragmentation in semen: systematic review and meta-analysis[J]. Fertil Steril,2017,108(3):456-467.
- [42] BORGES E, BRAGAD P A F, ZANETTI B F, et al. Revisiting the impact of ejaculatory abstinence on semen quality and intracytoplasmic sperm injection outcomes [J]. Andrology,2019,7(2):213-219.
- [43] SHEN Z Q, SHI B, WANG T R, et al. Characterization of the sperm proteome and reproductive outcomes with in vitro, fertilization after a reduction in male ejaculatory abstinence period[J]. Mol Cell Proteomics, 2019, 18(Suppl 1):S109-S117.
- [44] QUINN M M, JALALIAN L, RIBEIRO S, et al. Microfluidic sorting selects sperm for clinical use with reduced DNA damage compared to density gradient centrifugation with swim-up in split semen samples[J]. Hum Reprod, 2018, 33(8):1388-1393.
- [45] BERTELI T S, DA BROI M G, MARTINS W P, et al. Magnetic-activated cell sorting before density gradient centrifugation improves recovery of high-quality spermatozoa[J]. Andrology,2017,5(4):776-782.
- [46] 陈娟,耿琳琳,卢文红,等. 四种精液处理方法优选冷冻精子的比较[J]. 生殖医学杂志,2019,28(6):667-672.

(收稿日期:2020-03-10 修回日期:2020-07-21)

• 综 述 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.21.044

经鼻内镜术后颅底重建材料与方法研究进展

夏海龙¹,郭贵军¹综述,杨刚^{2△}审校

1. 重庆市红十字会医院(江北区人民医院)神经外科,重庆 400020;

2. 重庆医科大学附属第一医院神经外科,重庆 400016

关键词:脑脊液漏; 颅底重建; 带血管蒂黏膜瓣; 阶梯式重建; 神经内镜经鼻入路

中图法分类号:R651.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2020)21-3220-05

随着人们对颅底解剖了解的逐步深入,内镜技术的不断发展,无框架导航系统的引入及内镜设备的不断改

良,神经内镜手术的适应证已变得越来越广泛,其中最显著的进步为神经内镜在颅底中线区域复杂肿瘤中的

△ 通信作者,E-mail:404195851@qq.com.