

• 论 著 •

男性精液参数与体外受精-胚胎移植妊娠结局的相关性研究

徐艳霞

(广东省东莞康华医院生殖中心 523080)

摘 要:目的 探讨男性精液参数与体外受精(IVF)-胚胎移植妊娠结局的相关性。方法 收集 2013 年 1 月至 2014 年 12 月东莞康华医院生殖中心第 1 周期长方案 IVF-胚胎移植的 371 个周期,分析不同妊娠结局中男性精液参数的差异。结果 临床妊娠组和未妊娠组精子密度、活率、活力和精子正常形态百分比差异均无统计学意义($P>0.05$)。结论 精液参数对 IVF 临床妊娠结局的预测价值比较有限。

关键词:精子; 体外受精-胚胎移植; 妊娠结局

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.11.022

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)11-1505-03

The correlation between male semen factors and IVF-ET outcomes

XU Yanxia

(Reproductive Center, Kanghua Hospital, Dongguan, Guangdong 523080, China)

Abstract:Objective To investigate the correlation between male semen parameters and in vitro fertilization-embryo transfer (IVF-ET) outcomes. **Methods** A total of 371 IVF-ET cycles with first cycle of long-time protocol were collected from Reproductive Center of Kanghua Hospital from January 2013 to December 2014. The semen parameters were analyzed in different pregnancy outcomes. **Results** There was no significant differences in sperm density, survival rate, activity and percentage of normal sperm morphology between clinical pregnancy group and non-pregnancy group ($P>0.05$). **Conclusion** Male semen parameters are limited in predicting the outcome of IVF-ET.

Key words: spermatozoa; IVF-ET; pregnancy outcome

近年来,不孕症已成为一个困扰社会、家庭的实际问题,其发病率呈上升趋势。据预测,在 21 世纪不孕不育将成为仅次于肿瘤和心脑血管疾病的第 3 大疾病。目前,我国不孕不育发病率为 12.5%~15.0%。不孕不育夫妇中约 30%是由男性因素引起的,另有 20%~30%是夫妇双方因素共同导致。精液分析参数是临床上常检测的项目,对预测体外受精(IVF)结局具有一定的参考价值^[1]。《WHO 人类精液检查与处理实验室手册》(第 5 版)指出,一次射精的精子总数和精子浓度与妊娠时间和妊娠率存在相关性,并且精子密度、精子形态、精子活力和精子活率是评价精液质量的主要参数^[2]。本研究旨在分析进行辅助生殖技术(ART)治疗的夫妇精子密度、精子活率、精子活力和精子形态对 ART 患者体外受精(IVF)妊娠结局的影响,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2013 年 1 月至 2014 年 12 月在东莞康华医院生殖中心行第 1 周期长方案 IVF-胚胎移植的 371 个周期作为研究对象,男方平均年龄(33.69 ± 4.86)岁,女方平均年龄(30.44 ± 3.05)岁,不孕年限(4.25 ± 2.89)年。纳入标准:(1)选择不孕原因单纯为女方输卵管因素或男方少、弱、畸精子症,第 1 周期,排除女方年龄大于 35 岁者。(2)排除女方因素的排卵障碍、子宫内膜异位症等影响卵子发育的情况及宫腔因素。(3)男方无遗传病家族史及性功能障碍病史,无不良生活习惯(嗜酒、抽烟、吸毒等),体检未发现明显外生殖器及输精管异常。

1.2 研究方法

1.2.1 主要试剂 (1)精子形态学检测:精子形态染色检测试剂盒(Diff-Quik 法)购自深圳华康生物医学工程有限公司。(2)IVF 及胚胎培养:G-MOPS PLUS、G-IVF PLUS、G1-PLUS、G2-PLUS、SPERMRISE 及 SPERMGRAD 等试剂均

来自瑞典 Vitrolife 公司。

1.2.2 控制性促排卵 女方均使用长方案促排卵,在前次月经周期的第 21~23 天开始注射促性腺激素释放激素激动剂(GnRHa),使用 14~16 d 后再用促排卵药物,定期监测卵泡及雌激素水平,当超声监测到直径大于或等于 18 mm 的优势卵泡有 2 个以上时肌肉注射人绒毛膜促性腺激素(HCG)10 000 U,36~38 h 经阴道 B 超引导下取卵。

1.2.3 精液采集 按照《WHO 人类精液检查与处理实验室手册》(第 5 版)规定,标本采集时间应为禁欲至少 2 d,最长不超过 7 d,在靠近实验室取精室取精,采用手淫法,将射出的全部精液采集在一个洁净的塑料容器内,待液化后处理。

1.2.4 精液分析 严格按照《WHO 人类精液检查与处理实验室手册》(第 5 版)规定进行精液常规分析及精子形态学分析。精子形态学分析采用精子形态染色检测试剂盒(Diff-Quik 法)染色,100 倍油镜下计数不少于 200 个精子,计算正常形态精子百分率。

1.2.5 精液处理 所有精液均采用密度梯度离心法+上游法处理,处理后置于培养箱中待用。

1.2.6 IVF-胚胎移植 取卵后 4~6 h 在含有卵子的培养皿 3037 中加入精子,使精子最终浓度为 1 万条 a+b 级精子/卵子,置 37℃、6%CO₂ 培养箱中进行培养。授精 4~6 h 后剔除颗粒细胞并观察卵子受精情况(观察第 2 极体),若出现完全受精失败(受精率为 0)或受精低下(受精率小于 30%),则告知患者,签署卵胞浆内单精子显微注射技术(ICSI)知情同意书,行完全或部分补救。受精 16~18 h 观察原核。取卵后分别于 48、72 h 观察胚胎发育情况,并对第 3 天胚胎进行评级,选择优质胚胎(I 级或 II 级胚胎)在 B 超引导下进行胚胎移植,移植后常规黄体支持。移植 14 d 血和尿 HCG 为阳性,则为生化妊娠;4 周后 B 超可见妊娠囊则为临床妊娠。

1.3 统计学处理 数据采用 SPSS21.0 统计软件进行处理, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 t 检验; 计数资料以率表示, 采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 临床妊娠组和未妊娠组临床基本资料比较 见表 1。临床

妊娠组和未妊娠组女方年龄、男方年龄、体质量指数、不孕年限、女方基础促卵泡刺激素(FSH)值、促卵泡生成素(Gn)天数、Gn 总量、HCG 日雌二醇(E2)值、HCG 日促黄体生成素(LH)值、HCG 日孕酮(P)值、内膜厚度、获卵总数、第 2 次减数分裂中期(MII)卵数等临床基本资料比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

表 1 临床妊娠组和未妊娠组基本资料比较($\bar{x} \pm s$)

组别	周期数	女方年龄 (岁)	男方年龄 (岁)	体质量指数 (kg/m ²)	不孕年限 (年)	女方基础 FSH 值(mU/mL)	Gn 天数 (d)	Gn 总量 (U)
临床妊娠组	198	30.44±3.06	33.96±5.38	21.56±3.42	4.19±2.89	6.38±1.93	10.93±2.12	2 201±684.1
未妊娠组	173	30.46±3.04	33.34±4.16	21.72±3.27	4.32±2.92	6.06±1.71	11.02±1.94	2 338±768.4
t		-0.38	1.248	-0.15	-0.46	1.720	-0.421	-1.803
P		0.969	0.213	0.881	0.645	0.086	0.674	0.072

续表 1 临床妊娠组和未妊娠组基本资料比较($\bar{x} \pm s$)

组别	周期数	HCG 日 E2 值 (pmol/L)	HCG 日 LH 值 (mU/mL)	HCG 日 P 值 (nmol/L)	内膜厚度 (mm)	获卵总数 (个)	MIⅡ 卵数 (个)
临床妊娠组	198	10 443.0±5 612.7	1.28±0.77	2.85±1.41	11.45±1.99	10.61±4.54	9.33±4.28
未妊娠组	173	10 459.6±4 793.1	1.12±0.74	3.05±1.27	11.20±1.93	10.53±4.74	9.08±4.69
t		0.29	1.940	-1.456	0.285	0.144	-0.039
P		0.977	0.053	0.146	0.779	0.886	0.969

2.2 临床妊娠组和未妊娠组实验室数据比较 见表 2。受精率、卵裂率、可利用胚胎率及优质胚胎率两组差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

2.3 临床妊娠组和未妊娠组处理前精液参数比较 见表 3。临床妊娠组和未妊娠组处理前精子密度、精子活率、精子活力和精子正常形态百分比差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

表 2 临床妊娠组和未妊娠组实验室数据比较(%)

组别	周期数	受精率	卵裂率	可利用胚胎率	优质胚胎率
临床妊娠组	198	84.80	97.53	63.77	54.09
未妊娠组	173	85.35	97.36	63.01	52.38
χ^2		0.227	0.091	0.199	0.952
P		0.653	0.826	0.661	0.341

表 3 临床妊娠组和未妊娠组处理前精液参数比较($\bar{x} \pm s$)

组别	周期数	精子密度(mol/mL)	精子活率(%)	精子活力(%)	精子正常形态百分比(%)
临床妊娠组	198	91.03±41.14	62.20±12.22	39.79±11.47	6.18±4.01
未妊娠组	173	83.22±41.87	61.56±13.24	38.33±10.49	6.28±3.46
t		1.793	0.486	1.267	-0.238
P		0.074	0.627	0.206	0.812

3 讨 论

目前精液参数是临床上最常用的评价男性生育功能的主要指标, 为辅助生殖技术助孕方案的选择提供重要依据。依据 WHO 第 5 版《人类精液检查与处理实验室手册》, 其中精子密度、精子形态、精子活力和精子活率是判断精液质量的主要参考指标。本研究主要探讨精液参数与 ART 结局的相关性, 为了排除女方因素的干扰, 故本研究选择不育原因单纯为女方输卵管因素或男方弱、畸精子症的患者作为研究对象。本研究 371 个新鲜移植周期, 临床妊娠组和未妊娠组女方年龄、男方年龄、体质量指数、不孕年限、女方基础 FSH 值、Gn 天数、Gn 总量、HCG 日 E2 值、HCG 日 LH 值、HCG 日 P 值、内膜厚度、获卵总数、MIⅡ 卵数等临床基本资料比较差异均无统计学意义($P > 0.05$), 由此表明两组数据具有可比性。

精子质量是 IVF 治疗成功的关键因素之一, 在 IVF 治疗过程中发现, 受精率低下(受精率低于 30%)和受精失败的患者占 20%~30%。尽管目前尚不完全清楚受精失败的原因, 但是相当部分与精液质量差有关, 常有少精子症、弱精子症、畸精子症, 以及与卵子结合能力低下等^[3]。对于精液参数对胚胎质量的影响, 不同研究结果存在一定的争议。有研究认为, 精液参数可在胚胎发育的早期影响胚胎质量, 甚至影响移植胚胎的质量, 并可能影响 IVF 临床结局^[4]。也有研究认为, 精子参

数和胚胎质量无相关性, 对 IVF 临床结局的预测价值有限^[5-6]。本研究实验室数据显示, 临床妊娠组和未妊娠组的受精率、卵裂率、可利用胚胎率及优质胚胎率差异均无统计学意义($P > 0.05$), 由此提示不同妊娠结局胚胎质量无显著差异。有研究报道, 处理后精子密度过低($\leq 2 \times 10^6$ /mL)有可能会降低宫腔内人工授精的成功率^[7]。IVF 精液处理均使用双层密度梯度离心法加上游法进行处理, 加精浓度均控制在 a+b 级 1×10^4 /卵, 控制了 IVF 处理前精子密度对受精率的影响, 对于处理后精液达不到 a+b 级 1×10^4 /卵, 那么助孕方式也改为 ICSI, 处理前精液密度对 IVF 的影响是有限的。本研究中虽然临床妊娠组处理前精子密度高于未妊娠组, 但差异无统计学意义($P > 0.05$), 由此提示处理前精子浓度对 IVF 结局的预测价值是有限的。

自然状态下精子活力对妊娠影响十分重要, 活力不足导致运动速度减慢, 不能及时到达输卵管, 无法与卵子正常结合^[8]。由精子活力不足导致的弱精症成为不孕症最显著的影响因素^[9]。有研究认为, IVF 活力差的胚胎碎片较多, 并且胚胎的卵裂率和优胚率显著降低, 但受精率、妊娠率、着床率、早期流产率等与活力正常组无显著差异^[6]。还有研究表明, 周期前精子活力(a%+b%)对不同 IVF 结局的差异无统计学意义^[10]。本研究临床妊娠组和未妊娠组处理前精子活力差异无统计学

意义($P>0.05$),和上述研究相符。但有研究表明,处理后前向运动精子总数小于 1.0×10^6 是影响受精率的高危因素^[11]。IVF 精子优化的过程可以去除死精子、活动力差的精子、凝集精子及红、白细胞,还可去除可能存在的炎性细胞和抗精子抗体等杂质及对受精有害的成分,降低精液黏稠度,优选出活力好、形态正常的精子。此外在培养液的孵育过程中能够促进精子获能,引起精子各项参数指标恢复,从而提高受精能力。优化后的精子活率对预测 IVF 受精率的价值更大,而优化前精子活力对于妊娠结局的预测是有限的^[12]。

精子正常形态与其功能密切相关是反映精子质量的重要参数之一。精子形态在 IVF 中对胚胎质量及妊娠结局的预测价值目前尚存在争议。正常形态精子率、头部畸形精子率、中段畸形精子率及尾部畸形精子率与胚胎质量间均无显著相关性差异,精子形态与胚胎质量无相关性^[5]。回顾性分析提示,正常精子形态率与常规 IVF 的受精率有关,与卵裂率、临床妊娠率、种植率、流产率等无相关性^[6]。也有相似研究发现,精子形态主要影响 IVF 的受精率,而对妊娠率和流产率均无显著性影响,对 IVF 妊娠结局无预测作用^[13]。本研究中临床妊娠组和未妊娠组处理前精子正常形态百分比差异无统计学意义($P>0.05$),也提示了精子形态可能对 IVF 妊娠结局的预测价值不大。有研究按照 WHO《人类精液及精子-宫颈黏液相互作用实验室检验手册》正常精子形态百分比按小于 15% 和大于或等于 15% 进行分组,精子形态对 IVF 的受精率、卵裂率、优质胚胎率和妊娠率差异均有统计学意义^[14]。胚胎植入率和临床妊娠率在上游后正常形态小于 10% 和大于或等于 10% 组相比差异有统计学意义^[15]。IVF 精子经过上游处理后,可以优选出活力好、形态正常的精子。同样,优化后的正常精子形态率对妊娠结局的预测价值更大,而优化前正常精子形态率的预测价值是有限的。这些结论差异可能是由于研究对象的选取、形态评判标准及染色方法不同等原因造成的。因此,单纯以精子形态对临床结局的预测价值是有限的。

综上所述,本研究从精液常规方面分析了精子质量参数与 IVF 临床结局的关系。不同妊娠结局处理前精液参数差异无统计学意义,胚胎质量差异也无统计学意义。可能的原因是精液优化后显著改善了处理前精液质量,同时对于优化后精液达不到加精要求($a+b$ 级 1×10^4 /卵),那么助孕方式也改为 IC-SI。精液优化及助孕方式的改变,限制了处理前精液参数对 IVF 的影响,因此仅凭精液参数对 IVF 的临床妊娠结局的预测价值比较有限。此外,在精液常规完全正常的情况下,仍然有部分患者受精低下甚至完全不受精。受精失败与卵母细胞质量也紧密相关,仅凭精子参数还不能完全预测受精结局、胚胎质量及临床妊娠结局。因此,今后需要进一步研究针对精子功能检测的方法,能够提前预测可能出现的受精障碍,从而选择更合适的助孕方法。

参考文献

[1] Joshi N, Kodwany G, Balaiah D, et al. The importance of
(上接第 1504 页)
al. Anemia and deficiencies of folate and vitamin B6 are common and vary with season in Chinese women of child-bearing age[J]. J Nutr, 2000, 130(11): 2703-2710.
[7] 张元贤, 唐兰, 王小林, 等. 重庆成人居民贫血现状调查[J]. 重庆医科大学学报, 2011, 36(3): 381-383.
[8] 孟月生. 我国两成居民存在贫血症状[J]. 养生大世界,

computer-assisted semen analysis and sperm function testing in an IVF program[J]. Int J Fertil Menopausal Stud, 1996, 41(1): 46-52.
[2] Guzick DS, Overstreet JW, Factor-Litvak P, et al. Sperm morphology, motility, and concentration in fertile and infertile men[J]. N Engl J Med, 2001, 345(19): 1388-1393.
[3] 刘德一, 朱伟杰, Baker HG. 精子功能检测对选择 IVF 或 ICSI 治疗不育症的临床意义[J]. 生殖与避孕, 2004, 24(4): 193-199.
[4] 高颖, 程汉琴, 耿育红, 等. 精液质量对移植胚胎发育质量的影响[J]. 中华医学杂志, 2006, 30(6): 481-482.
[5] 江莉, 翟丹梅, 袁华, 等. 体外受精-胚胎移植中精子形态与胚胎质量的相关研究[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(9): 1032-1033.
[6] 刘利敏, 陈志云, 余相, 等. 精子活力和形态对常规 IVF-ET 胚胎质量的影响[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2014, 35(12): 11-12.
[7] Dong FL, Sun YP, Su YC, et al. Relationship between processed total motile sperm count of husband or donor semen and pregnancy outcome following intrauterine insemination[J]. Syst Biol Reprod Med, 2011, 57(5): 251-255.
[8] 朱元, 顾亦凡, 卢光琇. 常规 IVF-ET 中完全体外受精失败发生的相关因素的探讨[J]. 生殖与避孕, 2013, 33(1): 21-25.
[9] 马淑敏, 郑连文, 李付彪, 等. 男性不育症患者精液常规检查(附 737 例报告)[J]. 吉林大学学报(医学版), 2003, 29(3): 354-356.
[10] 张政翔, 鲍晓, 熊玉晶, 等. 男性精液因素对体外受精妊娠结局的影响[J]. 国际生殖健康/计划生育杂志, 2014, 33(5): 342-344.
[11] 聂玉林, 廖宏庆, 周静, 等. 体外受精受精率与男方精子参数的关系[J]. 中国男科学杂志, 2014, 28(3): 28-32.
[12] 王凤英, 屈宗银, 李玉艳, 等. 常规体外授精中正常受精率患者的精液参数分析[J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(23): 2378-2380.
[13] 高洋, 刘东云, 张孝东, 等. 原发不育精子形态对常规体外受精(IVF)结局的影响[J]. 重庆医科大学学报, 2010, 35(9): 1427-1429.
[14] 王贺, 周亮, 石敏, 等. 不育男性精子形态与体外受精妊娠结局的相关性研究[J]. 中国男科学杂志, 2012, 26(1): 23-26.
[15] 周莹莹, 潘伯臣, 何丽霞, 等. 上游处理前后正常形态精子百分率与体外受精-胚胎移植结局的关系[J]. 中华男科学杂志, 2012, 18(6): 527-530.

(收稿日期: 2016-01-28 修回日期: 2016-03-23)

2007, 10(8): 42-43.
[9] Wirths W. School catering tests in light of nutritional physiology[J]. Nutr Abstr Rv, 1976, 46(1): 554-561.
[10] 刘俊利. 预防贫血的关键[J]. 山东食品科技, 2003, 5(12): 18.
(收稿日期: 2015-12-24 修回日期: 2016-02-13)