临床研究 文章编号:0253-3626(2010)09-1427-03

原发不育精子形态对常规体外受精(IVF)结局的影响

高 洋,刘东云,张孝东,黄国宁
(重庆市妇幼保健院遗传与生殖研究所,重庆 400013)

【摘 要】目的:探讨原发不育和精子形态分析对常规体外受精(In vitro fertilization,IVF)中受精率、妊娠率及流产率的预测价值。方法:对 634 例接受 IVF 的男方精液进行分析,观察精子形态与 IVF 受精率间的相关性;建立精子正常形态预测受精率的截点值(cut-off 值),以正常形态 cut-off 值分组,比较其 IVF 受精率、妊娠率和流产率的差异;比较原发不育和继发不育组精子参数及 IVF 妊娠结局的差异。结果:①精子形态与 IVF 受精率呈显著正相关性。②精子形态分析预测受精率的 cut-off 值为 12%;正常形态≥12%和正常形态<12%组间 IVF 受精率差异有统计学意义,妊娠率和流产率差异无显著性意义。③原发不育和继发不育组间精子密度、前向运动率、存活率、正常形态率及 IVF 受精率、妊娠率、流产率差异均无统计学意义;原发不育组正常形态≥12%和正常形态<12%组间 IVF 受精率差异有统计学意义。结论:通过建立自己中心的正常形态 cut-off 值可以对 IVF 受精率进行预测,对原发不育患者应结合精子形态综合判断来选择合适的助孕方式。

【关键词】原发不育;精子形态;体外受精;辅助生殖
【中国图书分类法分类号】R711.6 【文献标识码】A 【收稿日期】2009-12-02

The effects of primary infertility and sperm morphology on in vitro fertilization outcome

GAO Yang, et al
(*Reproductive and Genetic Institute, Chongqing Health Center for Women and Children*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the predictive value of primary male infertility and sperm morphology on the fertilization, pregnancy and abortion rate in IVF. *Methods*: Sperm parameters of 634 infertile husband's semen were analyzed to study the correlation between the sperm morphology and the fertilization rate. The cut-off value for normal morphology was determined and the hereby established borderline was then used for the rest of the study. The fertilization, pregnancy and abortion rates for each group were calculated. Sperm parameters and IVF outcomes were compared between the primary infertility group and the secondary infertility group. *Results*: (1)There was a significant positive correlation between the sperm morphology and the fertilization rate in IVF. (2)Morphology cut-off point was found to be 12% normal forms. A significant lower fertilization rate was seen when normal morphology forms were <12%, but there were no statistically differences between the two groups in the pregnancy and abortion rates. (3)There were no statistically differences between the primary infertility group and the secondary infertility group in the concentration, progression motility and vitality of sperm, The rates of normal morphology sperm; the rates of IVF fertilization, pregnancy and abortion. IVF fertilization rates in the primary infertility group with ≥12% normal morphology forms were significant higher than those in the group with <12% normal forms. *Conclusions*: Establishing a cut-off value for normal morphology is useful to forecast the fertilization rate in IVF. In primary infertility patients, sperm morphology could be considered as an important parameter to help doctor to choose a suitable scheme of Assisted Reproductive Technology.

【Key words】Primary infertility; Sperm morphology; IVF; ART

随着辅助生殖技术在不育症中的广泛应用,对常规体外受精(In vitro fertilization,IVF)受精率高低的预测成为了关注焦点。研究表明精液常规参数特别是精子形态分析对受精结局具有显著影响[1,2]。然而精子形态染色方法多样,结果判别主观性大,使各实验室难以采用同一临界值范围为临床提供有意义的参考信息。另外,精卵结合作用环节复杂,影响因素繁多,单纯依靠精子形态分析对 IVF 结局的预测能力是有限的。有研究报道原发不育和畸形精子症是 IVF 受精失败的主要原因[3,4]。为了进一步了解精子形态在生殖医学临床应用中的价值,更好地帮助临床医生选择合适的体外授精方法,我们对 634 例不育夫妇进行了精子形态与 IVF 受精结局的关系研究,初步建立了我中心精子正常形态率预测受精率的截点值(cut-off 值),并以其作为临界值划分标准分析原发不育

作者介绍:高 洋(1981-),女,检验技师,
研究方向:男性不育与辅助生殖技术。
通讯作者:黄国宁,男,教授,E-mail:gnhuang217@sina.com。

患者精子形态对 IVF 结局的影响。

1 材料与方法

1.1 对象及分组

选择 2008 年 1 月至 2008 年 12 月在我中心接受 IVF 治疗的不育症患者 634 例。女方年龄<35 岁，获卵数≥4 枚，不育原因为女方单纯输卵管因素或男方少、弱、畸精子症。女方平均年龄(29.83 ± 3.02)岁，男方平均年龄(31.63 ± 3.84)岁。根据不育病史分为原发不育组和继发不育组。

1.2 方法

1.2.1 精液分析 男方禁欲 2~7 d，手淫法采取精液，37℃恒温台上静置 30 min，待其液化后按照《WHO 人类精液及精子—宫颈粘液相互作用实验室检验手册》第四版标准进行精液常规分析[5]。精子形态学分析采用 Diff-Quick 试剂染色，按照 Kruger 严格标准法进行形态分类计数[6]。所有标本的精液分析包括精子形态学分析均由 1 名技术人员操作完成。

1.2.2 控制性促排卵 按常规体重降调节方案进行，黄体中期开始皮下注射促性腺激素释放激素激动剂(GnRHa)0.1 mg/d，至月经来潮第 3 d 达到降调标准后注射促性腺激素(Gn)，根据检测 B 超和血清激素结果调整 Gn 用量，当 2 个主导卵泡直径≥18 mm 时，肌注 hCG 10 000 IU，36 h 后经阴道 B 超引导下取卵。

1.2.3 体外受精与胚胎移植 采用密度梯度离心法处理后的精液对卵子行微滴法授精，置 37℃6%CO_2 培养箱中进行培养。受精后 16~20 h 去颗粒，观察受精情况并对原核评分[7]。取卵后 20~48 h 观察卵裂及胚胎形态，根据 Dale 方法进行卵裂期胚胎评级[8]。选择原核和胚胎评分较高的胚胎 1~3 枚在 B 超引导下移植。4 周后 B 超见妊娠囊和胎心为临床妊娠。

1.3 统计学处理

采用 SPSS17.0 统计软件进行分析，计量资料用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示，相关性分析采用 Spearman 等级相关分析，正常形态预测受精率的评价以 65%受精率为标准采用受试者工作特征(Receiver operator charicteristic，ROC)曲线，组间比较采用 Mann-Whitney U 检验和 χ^2 检验，$P \leq 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结 果

634 个 IVF 周期中，共获卵 7 758 枚，受精 6 124 枚，受精率 78.94%。受精率与前向运动精子率(a+b)%和正常形态率呈显著正相关，见表 1，图 1。

如图 2 所示，以 IVF 受精率≥65%作为正常受精率标准，绘制精子正常形态 ROC 曲线，曲线下面积为 0.588，表明精子正常形态率对 IVF 受精率有预测价值。根据 ROC 曲线 youden 指数最大值确定本诊断试验的分界值(Cut-off Value)，其 youden 指数为 0.228，该值处的正常形态率为 12%，其预测受精率的特异性为 51.40%，敏感性为 71.40%。精子正常形态≥12%组 309 例，精子正常形态<12%组 325 例，两组女方、男方年龄、不育年限差异均无统计学意义，IVF 受精结局中，受精率差异有统计学意义，妊娠率和流产率差异均无统计学意义，见表 2。

表 1 精液常规参数与 IVF 受精率相关性

精液常规参数	与 IVF 受精率相关系数	P
密度	0.04	0.918
(a+b)%	0.097	0.015
存活率	0.048	0.23
正常形态率	0.114	0.004

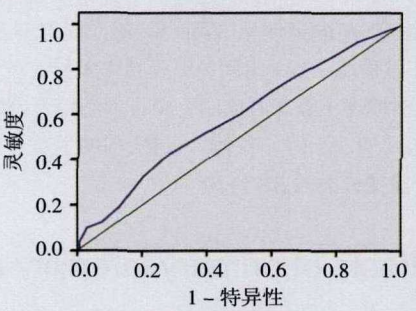


图 2 精子正常形态预测受精率的 ROC 曲线

表 2 精子正常形态≥12%组与精子正常形态<12%组一般情况资料及 IVF 受精结局比较

	正常形态≥12%	正常形态 <12%
例数	309	325
女方年龄	29.76 ± 3.09	29.99 ± 2.95
男方年龄	31.37 ± 4.34	31.87 ± 3.30
不育年限	5.27 ± 3.07	5.31 ± 3.26
正常形态率%	15.06 ± 2.86	8.49 ± 1.99*
受精率%	80.36	77.60*
受精率<30%比例%	0.97	4.92*
受精率>65%比例%	83.50	75.08*
妊娠率%	68.44	64.04
流产率%	4.44	7.60

注：*P<0.05 与正常形态≥12%组比较

表 3 原发不育组与继发不育组精液常规参数及 IVF 受精结局比较

	原发不育	继发不育
例数	191	443
密度(106/ml)	65.49 ± 52.99	65.27 ± 51.49
(a+b)%	45.09 ± 8.96	45.38 ± 0.09
存活率%	77.61 ± 7.36	77.28 ± 8.19
正常形态率%	11.32 ± 4.16	11.85 ± 4.07
受精率%	79.09	78.87
妊娠率%	60.63	68.65
流产率%	9.30	4.72

原发不育组 191 例，继发不育组 443 例，2 组精子密度、(a+b)%、存活率、正常形态率、受精率、妊娠率及流产率差异均无统计学意义，见表 3。原发不育组中精子正常形态≥12%组 90 例，正常形态<12%组 101 例，2 组 IVF 受精率差异有统计学意义，而妊娠率和流产率差异均无统计学意义，见表 4。

表 4　原发不育患者精子正常形态≥12%组与精子正常形态<12%组 IVF 受精结局比较

	正常形态≥12%	正常形态 <12%
例数	90	101
正常形态率%	14.86 ± 2.94	8.18 ± 2.00*
受精率%	80.51	77.85*
受精率<30%比例%	2.22	6.93
受精率>65%比例%	82.22	74.26
妊娠率%	59.49	61.73
流产率%	8.51	10.00

注：*P<0.05 与正常形态≥12%组比较

3　讨　论

在常规体外受精与胚胎移植(In vitro fertilization and embryo transfer, IVF-ET)中，至今尚无一种方法能在 IVF 助孕之前准确预知受精障碍。从临床不育病因及检测精子参数来尽可能准确预测受精方式是极其重要的。

IVF 成功率的高低与精子质量直接相关，精子形态是反映精子质量优劣的重要参数之一。精子的正常形态与其功能密切相关，精子头部顶体异常的畸形精子表面可能缺乏一种表达细胞黏附分子的细胞表面蛋白，丧失与卵子透明带结合的能力，从而导致卵子受精失败[9]。本次对 IVF 周期中不育夫妇的研究结果提示精子形态与 IVF 受精率具有显著相关性，这也与 Sallam 等的结论一致[10]。

许多研究表明精子形态是预测体外受精结局的一个重要指标[11]，然而一些研究认为精子形态对 IVF 受精率的预测价值有限[12]。这些结论差异的出现可能是由于染色方法、形态评判标准及研究对象的选取等不同造成的。由于各实验室存在不同的实验室条件，技术人员对形态评判标准的执行存在差异，采用同一 cut-off 值作为常规 IVF 的选择标准是不可取的，故我们对制片、染色及形态评分进行了统一规范化操作，并将实验室结果中正常形态率和 IVF 受精率的数据绘制成 ROC 曲线，找出了我中心自己的正常形态 cut-off 值为 12%，其对 IVF 受精率预测的特异性为 51.40%，敏感性为 71.40%。正常形态≥12%组 IVF 受精率平均值为 80.36%，正常形态<12%组 IVF 受精率均值为 77.60%，两组差异有显著性意义。

本研究还发现，精子形态对辅助生殖中的其他参数，如：妊娠率和流产率均无显著性影响($P>0.05$)。说明精子形态检测在 IVF 中的作用主要是影响其受精率，而对 IVF 妊娠结局无预测作用。K·Lundin 等[13]的研究也得出相似结论，他推论精子表面形态并不能反映其内在质量，一旦受精完成，并不会影响到胚胎的后期发育及着床。另外，我们在胚胎移植时人为选择了评分较高的胚胎进行移植，可能也是妊娠结局未受到显著影响的原因之一。

除此之外，原发不育患者在 IVF 程序中可能存在精卵结合障碍，目前仍有争议。有研究报道原发不育也是受精失败的主要原因之一[14]。本研究中比较得出原发不育组与继发不育组间受精率、妊娠率和流产率差异均无统计学意义，而将原发不育组按精子正常形态 cut-off 值分组发现，两组受精率差异有统计学意义。表明单独应用不育病因对 IVF 受精率没有预测价值，必须结合精子正常形态率这一指标，才能尽可能为临床医生选择合适的体外授精方式提供有意义的参考信息。

总之，精子形态与 IVF 受精率呈显著相关性，可以作为 IVF 受精结局的一个预测指标，但各生殖中心实验室应统一规范化操作并建立自己中心的正常形态 cut-off 值。对原发不育患者应结合精子形态指标综合判断，为辅助生殖助孕患者选择合适的体外受精方式。

参　考　文　献

[1] 崔险峰. 应用严格精子形态学测定法评估精子形态对体外受精率的影响[J]. 中华男科学杂志，2006，12(9)：842-843.

[2] Jedrzejczak P, Pawelczyk L, Taszarek-Hauke G, et al. Predictive value of selected sperm parameters for classical in vitro fertilization procedure of oocyte fertilization[J]. Andrologia, 2005 ,37(2-3):72-82.

[3] 黄晓卉，江胜芳，胡玥玥，等. 常规体外受精后完全不受精患者的病因及精子参数分析[J]. 中国男科学杂志，2008，22(12)：44-46.

[4] 师娟子，薛　侠，张　洲，等. 畸形精子症与常规体外受精失败[J]. 中华男科学杂志，2009，15(2)：106-109.

[5] World Health Organisation. WHO laboratory manual for examination of human semen and semen-cervical mucus interaction[M]. Cambridge: Cambridge University Press, 1999.71-74.

[6] Kruger T F, Franken D R. Atlas of human sperm morphology evaluation[M]. Taylor & Francis: Taylor & Francis Group Press, 2004.49-74.

[7] Scott L, Alvero R, Leondires M, et a1.The morphology of human pronuclear embryos is positively related to blasto—cysts development and implantation[J]. Hum Reprod, 2000, 15(11): 2394-403.

[8] Dale B, Elder K. In vitro Fertilization[M]. United Kingdom: Cambrige University Press, 1997.115-116.

[9] Szczygiel M, Kurpisz M. Teratozoospermia and its effect on male fertility potential[J]. Andrologia, 1999, 31(2):63-75.

[10] Sallam H N, Ezzeldin F, Sallam A, et al. Sperm velocity and morphology, female characteristics, and the hypo-osmotic swelling test as predictors of fertilization potential: experience from the IVF model[J]. Int J FertilWomensMed, 2003, 48(2):88-95.

[11] 陈欣洁，孙筱放，张伟良，等. 精子形态与体外授精妊娠结局的关系[J]. 中国男科学杂志，2008，22(10)：29-32.

[12] 吴　颖，徐惠明，张松英，等. 精子形态变化对体外受精率的影响[J]. 中华男科学杂志，2008，14(7)：610-613.

[13] Lundin1 K, Soderlund B, Hamberger L, et al. The relationship between sperm morphology and rates of fertilization, pregnancy and spontaneous abortion in an in-vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection programme[J]. Hum Reprod, 1997, 12(12): 2676-2681.

[14] 魏玉兰，胡　娟，朱桂金. 原发不孕行体外受精 2 胚胎移植术授精方式的探讨[J]. 华中科技大学学报(医学版)，2004，33(5)：628-629.

(责任编辑：冉明会)