

论著 · 临床研究

精液参数对体外受精助孕术后孕早期自发性流产的相关性分析

黎智彪, 黄莉, 黄晓卉, 刘艳香, 彭爱琴, 陈亮
(南方医科大学广济医院生殖中心, 广东东莞 523690)

摘要:目的 探讨精液参数对体外受精助孕术后孕早期自发性流产的相关性。方法 选择该院生殖中心行体外受精(IVF)助孕术后成功获得妊娠的 220 例患者作为研究对象,发生早期自发性流产 40 例患者作为观察组,未发生早期流产 180 例作为对照组。采用计算机辅助精子分析(CASA)对男方精液精子透明质酸未结合率、精子核蛋白不成熟率、精子形态正常率等相关参数指标进行测定分析。结果 观察组精子-透明质酸未结合率、精子核蛋白不成熟率均显著高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);观察组精子形态正常率显著低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);两组患者精液其他参数指标水平比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。经统计学分析,结果显示精子-透明质酸未结合率、精子 DNA 碎片率、精子核蛋白不成熟率这 3 项指标之间两两均呈正相关,与其他指标呈负相关。经二分类 Logistic 回归模型逐步分析,结果表明引起 IVF 术后孕早期自发性流产的高危因素包括精子核蛋白不成熟率及精子-透明质酸未结合率。结论 精子核蛋白不成熟率及精子-透明质酸未结合率是诱发 IVF 术后孕早期自发性流产的两大高危因素。

关键词:精液参数; 体外受精助孕术; 早期自发性流产; 相关性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.01.013 **中图法分类号:**R714.21

文章编号:1673-4130(2018)01-0049-04 **文献标识码:**A

Analysis on correlation between semen parameters with spontaneous abortion in early pregnancy after in vitro fertilization assisted pregnancy operation

LI Zhibiao, HUANG Li, HUANG Xiaohui, LIU Yanxiang, PENG Aiqin, CHEN Liang
(Reproduction Center, Guangji Hospital, Southern Medical University, Dongguan, Guangdong 523690, China)

Abstract: **Objective** To investigate the correlation between semen parameters with spontaneous abortion in early pregnancy after in vitro fertilization(IVF) assisted pregnancy operation. **Methods** 220 patients with successful pregnancy after IVF assisted pregnancy operation in the reproductive center of this hospital were selected as the research subjects. Among them, 40 cases of early spontaneous abortion served as the observation group and 180 cases without early spontaneous abortion occurrence as the control group. The related parameters of sperm hyaluronic acid unbinding rate, sperm nucleoprotein immaturity rate and sperm morphology normal rate were measured and analyzed by adopting the computer assisted sperm analysis(CASA). **Results** The sperm hyaluronic acid unbinding rate and sperm nucleoprotein immaturity rate in the observation group were significantly higher than those in the control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$); the sperm morphology normal rate in the observation group was significantly lower than that in the control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$); the other semen parameters had no statistical differences between the two groups ($P>0.05$). The statistical analysis result showed that the sperm hyaluronic acid unbinding rate, sperm DNA fragmentation rate and sperm nucleoprotein immaturity had the positive correlation between each other, which had the negative correlation with the other indicators. After the stepwise analysis by the binary Logistic regression model, the results showed that the high risk factors affecting spontaneous abortion in early pregnancy after IVF included sperm nucleoprotein immaturity rate and sperm hyaluronic acid unbinding rate. **Conclusion** The sperm nucleoprotein immaturity rate and sperm hyaluronic acid unbinding rate are two high-risk factors inducing early spontaneous abortion after IVF.

Key words: semen parameters; in vitro fertilization and assisted pregnancy; early spontaneous

作者简介:黎智彪,男,副主任技师,主要从事生殖医学与胚胎学研究。

本文引用格式:黎智彪,黄莉,黄晓卉,等.精液参数对体外受精助孕术后孕早期自发性流产的相关性分析[J].国际检验医学杂志,2018,39(1):

abortion; correlation

体外受精(IVF)是近年来生殖医学的一种全新技术,是临床治疗不孕不育症较为有效的一种方法。此项技术能够使诸多不孕不育症患者成功妊娠,然而早期自发性流产又给这些患者造成巨大的心理重创。相关文献资料报道,IVF 助孕术后发生早期自发性流产的概率约为 14%,目前尚未完全对其诱发因素加以明确^[1]。目前,临床上尚未对 IVF 术后孕早期自发性流产方面的临床发病机制完全明晰,尤其是关于男性精液方面的各种参数指标对 IVF 术后孕早期自发性流产的影响方面的研究鲜有报道。有研究报道精子蛋白不成熟率升高是引起流产或者停育的一个重要致病因素,但是仍然存在未被揭示的影响因素^[2]。本研究主要探讨了精液参数对 IVF 术后早期自发性流产的相关性,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2012 年 6 月至 2016 年 6 月于本院生殖中心行 IVF 助孕术后成功获得妊娠的 220 例患者(共计 220 对夫妻),均属于宫内妊娠。其中,发生早期自发性流产患者数 40 例(观察组),年龄 22~44 岁,平均(30.21±3.77)岁;不孕年限 2~15 年,平均(6.59±1.32)年;流产次数 2~5 次,平均(3.43±0.54)次。另外 180 例未发生早期流产者作为对照组,年龄 23~42 岁,平均(29.89±3.65)岁;不孕年限为 2~14 年,平均(6.45±1.30)年。两组患者在一般资料方面比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法 根据世界卫生组织制定的规范化技术,以标准化的方法采集、处理及检测精液标本,对其相关参数进行检测分析。主要包括以下几个指标:(1)精子-透明质酸未结合率。根据试剂盒上的说明操作规范,首先移液枪吸取在 0.5 h 内已经发生液化的精液 10 μL 于载玻片包被区域,然后将其上面加一层盖玻片,于室温条件下放置充分反应,时间为 10 min,后于 400 倍放大倍数的显微镜下对精液加以观察,最后将头部与载玻片直接相结合,且不能自由运动的精子数加以观察。精子-透明质酸结合率(%)的计算方法

为:与载玻片相结合且无法运动的精子数与 500 之间的比值。(2)精子核蛋白不成熟率。采用经改良的苯胺蓝染色法进行测定分析,首先将洗净过的精子在载玻片上进行固定,按照苯胺蓝染色、洗涤液洗脱及染液复染的顺序进行干燥,每个步骤的时间均为 5 min,对 500 个观察的精子中,头部出现蓝色的精子数进行计数^[3]。(3)精子 DNA 碎片率。采用精子畸形指数(SCD)法进行测定分析,首先将含有(5~10)×10⁶/mL 精子的易熔凝胶覆盖于包被有固态凝胶的载玻片上面,经变性、脱核、脱水及染色处理等环节后,于显微镜下观察 500 个精子,计数存在 DNA 碎片的精子数量^[4]。(4)精子形态学分析。采用 Diff-Quik 法进行测定分析,并对精子形态正常率(%)、畸形精子指数(TZI)及精子畸形指数(SDI)进行检测,其中 TZI=精子头部、中部及尾部缺陷数之和/缺陷精子总数,SDI=精子头部、中部及尾部缺陷数之和/计数精子总数。以上各指标检测均严格按照试剂盒上的标准实施^[5]。(5)精子总数、精子密度。采用计算机辅助精子分析(CASA)法进行测定分析。

1.3 统计学处理 采用 SPSS18.0 软件对数据进行统计分析,呈正态分布的计量资料均以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 t 检验进行比较。通过二分类 Logistic 回归模型分析相关影响因素。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组患者精液各项参数对比 观察组精子-透明质酸未结合率、精子核蛋白不成熟率均显著高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);观察组精子形态正常率显著低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);两组患者精液其他参数指标水平比较差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

2.2 精子不成熟度评价指标与各项指标相关性分析 精子-透明质酸未结合率、精子 DNA 碎片率、精子核蛋白不成熟率这 3 种指标之间两两均呈正相关,与 TZI、SDI 均呈正相关,与其他指标呈负相关,见表 2。

表 1 两组患者精液各项参数指标水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	精子-透明质酸 未结合率(%)	精子 DNA 碎片率(%)	精子核蛋白 不成熟率(%)	精子形态 正常率(%)	TZI
对照组	180	23.02±4.52	16.50±4.21	22.38±5.45	7.66±1.37	1.39±0.56
观察组	40	38.27±6.56	17.38±5.55	32.20±5.77	6.18±0.78	1.32±0.33
<i>t</i>		4.530	0.782	3.367	4.011	0.078
<i>P</i>		0.028	0.139	0.043	0.034	0.679

续表 1 两组患者精液各项参数指标水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	SDI	精子密度 ($\times 10^6$ /mL)	精子总数 ($\times 10^6$)	前向精子 百分率(%)	前向精子密度 ($\times 10^6$ /mL)	前向精子数量 ($\times 10^6$)
对照组	180	1.32 $\pm$ 0.43	58.02 $\pm$ 11.28	192.29 $\pm$ 22.32	53.35 $\pm$ 6.77	31.89 $\pm$ 4.52	107.37 $\pm$ 10.11
观察组	40	1.29 $\pm$ 0.27	65.45 $\pm$ 13.38	208.37 $\pm$ 26.56	52.29 $\pm$ 6.05	37.98 $\pm$ 5.55	115.56 $\pm$ 12.32
<i>t</i>		0.056	1.377	1.559	0.778	1.762	0.887
<i>P</i>		0.871	0.078	0.067	0.189	0.058	0.072

表 2 精子不成熟度评价指标与各项指标相关性分析

精液参数指标	精子-透明质酸 未结合率	精子 DNA 碎片率	精子核蛋白 不成熟率
精子-透明质酸未结合率	—	0.218	0.260
精子 DNA 碎片率	0.218	—	0.119
精子核蛋白不成熟率	0.260	0.119	—
精子形态正常率	−0.239	−0.180	−0.244
TZI	0.109	0.338	0.062
SDI	0.143	0.390	0.009
精子密度	−0.189	−0.079	−0.220
精子总数	−0.210	−0.081	−0.249
前向精子百分率	−0.288	−0.450	−0.090
前向精子密度	−0.233	−0.209	−0.198
前向精子数量	−0.245	−0.232	−0.242

注：—表示无数据

2.3 两组精液各项参数指标多元分析 经二分类 Logistic 回归模型逐步分析,结果表明引起 IVF 术后孕早期自发性流产的高危因素包括精子核蛋白不成熟率及精子-透明质酸未结合率,见表 3。

表 3 IVF 术后孕早期自发性流产高危因素的多元 Logistic 回归模型分析结果

变量	β	<i>SE</i>	χ^2	<i>P</i>	<i>OR</i>	95% <i>CI</i>
精子-透明质酸未结合率	−0.050	0.502	0.712	0.041	1.542	0.92~2.77
精子核蛋白不成熟率	0.511	1.303	0.190	0.047	1.595	0.75~2.82
常数项	−0.342	0.250	1.802	0.034	1.112	—

注：—表示无数据

3 讨 论

医学上将“不孕”定义为在 1 年内未采取任何避孕措施,夫妻双方性生活正常,但是未妊娠成功。不孕主要包括原发性与继发性不孕两种类型^[6]。随着社会的快速发展及外界环境因素的影响,不孕症的临床患病率逐年升高,传统药物及手术治疗疗效已无法满足不孕人群的基本需求,随着辅助生殖技术的产生及发展,很大程度上提高了妊娠率,然而孕早期出现自发性流产,也会对手术的成功率造成较大的影响。精液相关参数指标的检查,大多数用于男性不育及胚胎质量的评价方面,而关于男性精液相关情况是否同孕早期自发性流产相关的研究较少,也存在较大的争

议性^[7]。也有学者采取多元 Logistic 回归模型对影响 IVF 术后孕早期自发性流产的高危因素进行分析,结果显示精子 DNA 受损是导致孕早期自发性流产的高危因素^[8]。对于临床可识别的流产中,孕早期自发性流产的发病率约为 12%,其中有 60%的患者发病原因可以查明,主要包括遗传学、内分泌、免疫学及解剖学等方面的影响因素。但是仍然有 40%的患者发病原因临床不可查明。目前,临床研究主要将焦点集中于女性,而忽略了对男性因素的影响。对此,本研究主要探讨男性精液相关参数指标与 IVF 术后孕早期自发性流产之间的相关性。

相关临床研究表明,IVF 术后早期自发性流产妇女的配偶,其精子总量、精子密度、精子头部透明质酸结合位点会出现缺失。有研究者通过观察发现,可与透明质酸相结合的精子其 X、Y 及 17 号染色体的二倍体率均显著性下降,差异有统计学意义($P<0.05$),而且精子形态正常率显著升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。本研究结果表明,精子-透明质酸未结合率、精子 DNA 碎片率、精子核蛋白不成熟率这 3 种指标之间两两均呈正相关,且上述 3 种精子不成熟度评价指标与 TZI、SDI 均呈正相关,与其他指标呈负相关。此结果提示,精子-透明质酸未结合率可作为反映男性精子多重质量特征的一个独特指标。

精子-透明质酸未结合率水平上升,提示精子成熟遇阻,成熟过程遇阻的精子热休克蛋白 2 表达水平较低,可引起减数分裂缺陷及染色体的非整倍性显著降低^[9]。此外,成熟过程遇阻的精子含有较高水平的肌酸激酶及其他胞质酶,导致精子脂质过氧化水平增高,致使精子 DNA 断裂和形态异常。这可能是男性精子-透明质酸未结合率增高,导致女性自发性流产/胚胎停育病的原因所在^[10-11]。本研究显示,经二元 Logistic 回归分析,精子核蛋白不成熟率也是 IVF 术后孕早期流产的一个高危因素。临床上一般认为存在 DNA 碎片的精子会对 IVF 术后孕早期胚胎的发育产生一定的影响,但是本研究结果显示,对照组与观察组在精子 DNA 碎片率方面比较,差异无统计学意义($P>0.05$),该结果与其他文献研究结果不一致^[11]。笔者认为原因可能与病例个体差异、女性的因素未剔除及临床检测检验方法存在差(下转第 55 页)

管活性药物应用时间较短,且可缩短机械通气时间和住院时间。

参考文献

[1] FERRER R, MARTIN-LOECHES I, PHILLIPS G, et al. Empiric antibiotic treatment reduces mortality in severe sepsis and septic shock from the first hour: results from a guideline-based performance improvement program [J]. Crit Care Med, 2014, 42(8): 1749-1755.

[2] WASHYNA T J, ODDEN A, ROHDE J, et al. Identifying patients with severe sepsis using administrative claims Patient-Level validation of the angus implementation of the international consensus conference definition of severe sepsis [J]. Med Care, 2014, 52(6): 39-43.

[3] 万林骏, 廖庚进, 万晓红, 等. 严重脓毒症和感染性休克患者早期复苏时器官功能障碍的回顾性分析 [J]. 中华危重病急救医学, 2016, 28(5): 418-422.

[4] 王助衡, 张静, 李玉伟, 等. 严重脓毒症液体复苏中全心舒张期末容积指数与中心静脉压的相关性研究 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2013, 18(4): 248-249.

[5] MOKART D, SLEHOFER G, LAMBERT J, et al. De-escalation of antimicrobial treatment in neutropenic patients with severe sepsis: results from an observational study [J]. Intensive Care Med, 2014, 40(1): 41-49.

[6] 付圆. 脓毒症发病机制的研究进展 [J]. 中国现代医生, 2014, 52(11): 155-157.

[7] ACEVEDO J, FERNANDEZ J, PRADO V, et al. Relative adrenal insufficiency in decompensated cirrhosis: relation-

ship to Short-Term risk of severe sepsis, hepatorenal syndrome, and death [J]. Hepatology, 2013, 58(5): 1757-1765.

[8] 易梦秋, 余旻. 脓毒症导致多器官功能障碍的发病机制 [J]. 实用医学杂志, 2016, 32(20): 3451-3454.

[9] 郑玉玲, 黄庆萍, 杨凤玲, 等. PICCO 技术在严重脓毒症输液管理中的应用与护理 [J]. 当代医学, 2011, 17(7): 12-14.

[10] 华玉琦. PICCO 监测技术应用在严重脓毒症治疗上的临床指导作用分析 [J]. 中国实用医药, 2014, 23(11): 124-124.

[11] 秦学东, 杜爱书, 周立平, 等. PICCO 监测指导严重脓毒症合并肺损伤患者液体管理的临床价值 [J]. 临床合理用药杂志, 2015, 6(31): 111-112.

[12] 董绉绉, 方强. 被动直腿抬高试验在严重脓毒症患者容量判断中的作用 [J]. 中华急诊医学杂志, 2012, 21(4): 361-365.

[13] 童洪杰, 胡才宝, 郝雪景, 等. 无创心排监测技术引导被动抬腿试验对老年脓毒症患者液体反应性的预测价值 [J]. 中华内科杂志, 2015, 54(2): 130-133.

[14] 俞斌, 陶丽敏, 高永芬, 等. 早期血乳酸测定在严重脓毒症和脓毒症休克中的意义 [J]. 医学信息, 2014, 14(38): 456-456.

[15] 林瑾, 段美丽, 李昂. 严重脓毒症患者血浆 B 型脑钠肽水平与 PICCO 监测指标的相关性分析 [J]. 中国临床医学, 2011, 18(2): 253-254.

(收稿日期: 2017-06-20 修回日期: 2017-09-28)

(上接第 51 页)
别等方面的原因相关。

综上所述, 精子核蛋白不成熟率及精子-透明质酸未结合率是诱发 IVF 术后孕早期自发性流产的两大高危因素, 应该注意对上述两种指标进行详细观察, 为临床诊断提供科学依据。

参考文献

[1] 檀大羨, 牛向丽, 吕福通, 等. 精子形态学、精子-透明质酸结合试验与体外受精率的相关性研究 [J]. 中国计划生育和妇产科, 2010, 20(2): 3-6.

[2] TAMBURRINO L, MARCHIANI S, MONTROYA H, et al. Mechanisms and clinical correlates of sperm DNA damage [J]. Asian J Androl, 2012, 14(1): 24-31.

[3] 陈彩蓉, 全松, 王秋香, 等. 胚胎移植术后 9 和 11 d 血清 β -HCG 值对妊娠结局的预测价值 [J]. 南方医科大学学报, 2015, 35(7): 1050-1054.

[4] 马芳芳, 王厚照, 刘芳, 等. 体外受精胚胎移植术后稽留流产 56 例胎儿绒毛染色体分析 [J]. 临床军医杂志, 2014, 42(10): 1048-1049.

[5] 岳丽芳, 孙丽君, 宋东建, 等. IVF-ET 中移植管距宫底距

离与临床妊娠的关系 [J]. 中国妇幼保健, 2013, 28(3): 487-489.

[6] 王多静, 龙梅, 腊晓琳, 等. 体外受精胚胎移植累积妊娠率的临床评估 [J]. 新疆医科大学学报, 2015, 38(4): 482-485.

[7] 熊佳易, 张兰梅. 体外受精-胚胎移植术后发生异位妊娠高危因素分析 [J]. 中国医刊, 2014, 49(12): 90-92.

[8] 鲜红, 滕文顶, 何生燕. 精液质量参数与反复自然流产及胎儿发育停滞的相关性探讨 [J]. 四川医学, 2011, 32(2): 183-185.

[9] 文陶非, 郑肾红, 刘祥印, 等. 流产患者丈夫精子因素初步分析 [J]. 中国妇幼保健, 2009, 24(36): 5172-5174.

[10] 刘瑜, 陈晓兰, 叶丹捷, 等. 精子成熟障碍对孕早期自发性流产与胚胎停育的影响 [J]. 生殖与避孕, 2011, 31(8): 532-537.

[11] 杨译, 姜辉, 张海娇. 男性不育患者年龄与精子 DNA 碎片和精液常规参数的相关性分析 [J]. 中国性科学, 2012, 21(2): 17-19.

(收稿日期: 2017-06-24 修回日期: 2017-09-26)