

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.24.008
文章编号: 1005-8982 (2019) 24-0044-05

体外受精周期低受精与精子相关参数的多因素分析*

邢鹏¹, 陈英¹, 于晓光¹, 殷晨星¹, 李克用¹, 袁博²

(1. 保定市妇幼保健院 生殖医学科, 河北 保定 071000; 2. 河北大学附属医院儿科, 河北 保定 071000)

摘要: 目的 探讨体外受精 (IVF) 周期低受精的发生与精子参数的相关性。**方法** 选取 2017 年 6 月—2018 年 10 月于保定市妇幼保健院生殖医学科行 IVF 助孕的患者 264 例。根据受精 5 ~ 6 h 拆卵后第二极体的出现与否, 分为低受精组 (受精率 < 30%) 和正常受精组 (受精率 ≥ 30%), 比较两组患者的基本资料 and 精子参数。采用二分类 Logistic 回归分析相关性。采用受试者工作特征曲线 (ROC) 的曲线下面积 (AUC) 分析预测价值。**结果** 低受精组头部缺陷精子率、精子畸形指数和自发顶体反应 (AR) 高于正常受精组 ($P < 0.05$)。经二分类 Logistic 回归分析, 头部缺陷精子率 [$OR = 1.132$ (95% CI: 1.058, 1.211)]、精子畸形指数 [$OR = 24.826$ (95% CI: 3.186, 193.439)] 和自发 AR [$OR = 1.268$ (95% CI: 1.174, 1.369)] 均为 IVF 周期低受精的影响因素 ($P < 0.05$)。各因素的 AUC 比较, 回归方程的预测价值最大 [$AUC = 0.854$ (95% CI: 0.805, 0.894)]。**结论** 头部缺陷精子率、精子畸形指数及自发 AR 与 IVF 低受精的发生相关, 当回归方程预测值 (P) > -1.461 时, 建议患者选择卵质内单精子注射助孕。

关键词: 受精, 体外; 顶体反应; 预测

中图分类号: R698.2; R711.6

文献标识码: A

Multivariate analysis of IVF low fertilization and sperm parameters*

Peng Xing¹, Ying Chen¹, Xiao-guang Yu¹, Chen-xing Yin¹, Ke-yong Li¹, Bo Yuan²

(1. Department of Reproductive Medicine, Baoding Maternal and Child Health Hospital, Baoding, Hebei 071000, China; 2. Department of Pediatrics, Affiliated Hospital of Hebei University, Baoding, Hebei 071000, China)

Abstract: Objective To investigate the correlation between the occurrence of low fertilization in in vitro fertilization (IVF) cycles and sperm parameters. **Methods** This retrospective analysis was conducted among 264 infertile cases receiving of in vitro fertilization procedures in our Reproductive Medicine Center from June 2017 to October 2018. According to the presence or absence of two polar bodies after 5 to 6 hours of fertilization, they were divided into low fertilization group (fertilization rate < 30%) ($n = 63$) and normal fertilization group (fertilization rate ≥ 30%) ($n = 201$). The basic data and sperm parameters of the two groups were compared. The correlation was analyzed by binary logistic regression. The area under the curve (AUC) of Receiver Operating Characteristic Curves (ROC) was used to analyze the predictive value. **Results** Compared with the normal fertilization group, the head defected sperm rate (%H), sperm deformity index (SDI) and acrosome reaction rate (AR) in the low fertilization rate group were higher ($P < 0.05$). By binary logistic regression analysis, the correlation between three indicators

收稿日期: 2019-06-21

* 基金项目: 保定市科技计划项目 (No: 18ZF054)

[通信作者] 袁博, E-mail: 13111686801@163.com; Tel: 13111686801

and low fertility rate of IVF was determined: $\%H(\hat{OR}=1.132)$, $SDI(\hat{OR}=24.826)$, $AR(\hat{OR}=1.268)$ and established a regression equation that predicts the occurrence of low fertilization rate: $\text{Logit}P = -19.234 + 0.124\%H + 3.212SDI + 0.237AR$ ($P < 0.05$). Through ROC analysis, the regression equation with three parameters is compared with a single parameter, which has the greatest predictive value [$AUC = 0.854$, (95% CI: 0.805, 0.894)], the cut-off value is -1.461, the sensitivity was 85.71% and the specificity was 71.14%. **Conclusion** $H\%$, SDI and AR were associated with the low fertilization rate of IVF. The predicted value of low fertilization rate (P) was calculated according to the logistic regression equation. When the predicted value of regression equation is >-1.461 , patients were advised to choose ICSI to help pregnancy.

Keywords: fertilization in vitro; acrosome reaction; predictive value of tests

在体外受精 (in vitro fertilization, IVF) 过程中完全不受精或低受精 ($<30\%$) 的发生率为 $4\% \sim 16\%$ ^[1]。受精过程包括:精卵识别、精子发生顶体反应(acrosome reacted, AR)、精卵质膜融合、卵子皮质反应阻止多精受精及雌雄原核形成与融合,任何环节的异常都可能导致受精失败^[2]。常见影响因素包括:不孕类型、不孕年限及女方卵巢功能和促排卵方案等^[3-4]。而精液参数的影响一直存在争议,不同的研究往往得出有差异的结论,这种差异性可能是由于女方因素的偏倚导致^[5-7]。本研究通过匹配女方因素控制偏倚,以分析低受精的发生与精子因素的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2017 年 6 月—2018 年 10 月于保定市妇幼保健院生殖医学科进行 IVF 助孕的患者 264 例。纳入标准:①原发不孕;②女方年龄 <40 岁, BMI $18 \sim 25$, 基础促卵泡激素 (follicle-stimulating hormone, FSH) ≤ 12 IU/L, 基础窦卵泡素 ≥ 7 枚, 获卵数 ≥ 5 枚^[8];③月经期或黄体期长方案促排卵。排除标准:①女方患有多囊卵巢综合征和子宫内膜异位症;②女方既往有卵巢肿瘤病史;③男方前向运动精子总数 $<5 \times 10^6$ 个, 正常形态精子率 $<4\%$, 特别是圆头精子症等;④双方任何一方染色体异常。根据受精 5 ~ 6 h 拆卵后第二极体的出现与否, 将患者分为低受精组 (受精率 $<30\%$) 和正常受精组 (受精率 $\geq 30\%$), 分别有 63 和 201 例。

1.2 方法

1.2.1 IVF 治疗 患者均采用月经期或黄体期 GnRHa 法长方案。取卵日男方精液经 Sperm Grad 密度梯度离心法优选, 与卵子在二氧化碳 CO_2 培养箱中受精。

1.2.2 受精判断 受精 5 ~ 6 h 后早剥卵, 通过观察

第二极体的排出情况确定受精与否。对于未排出第二极体的卵细胞, 最迟观察到受精 7 h 后, 对未受精的卵细胞行早补救卵质内单精子注射。

1.2.3 精子分析 根据《世界卫生组织人类精液检查与处理实验室手册 (第 5 版)》^[9] 进行各项精子参数的检测。分别记录正常形态精子率、头部缺陷精子率、中段缺陷精子率、尾部缺陷精子率、过量胞浆残留率, 并计算精子畸形指数, 精子畸形指数 = 计数精子缺陷总数 / 计数精子总数。记录混合抗球蛋白反应 (mixed antiglobulin reaction, MAR)、自发 AR、精子 DNA 碎片指数、精子前向运动比率、前向运动精子总数、洗涤后精子前向运动比率及洗涤后前向运动精子总数。

1.3 主要试剂

Diff-Quik 快速染色试剂盒、抗精子抗体检测试剂盒 (混合抗球蛋白凝集法)、精子顶体染色试剂盒 (PSA-FITC 染色法) 及精子 DNA 碎片染色试剂盒 (瑞-吉染色法) 均购自安徽安科生物工程 (集团) 股份有限公司。

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 21.0 和 Medelac 17.2 统计软件。计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较用 t 检验; 影响因素分析采用二分类 Logistic 回归模型, 绘制受试者工作特征 (receiver operating characteristic curve, ROC), 并计算曲线下面积 (area under curve, AUC), $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者基本资料比较

两组患者男女性年龄、不孕年限、女性 BMI、基础 FSH 和获卵数比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。说明两组患者的基线数据整齐, 较好地平衡了女方因素对受精率影响的偏倚。见表 1。

2.2 两组患者精子参数比较

两组患者头部缺陷精子率、精子畸形指数和自发 AR 比较,经 t 检验,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),低受精组高于正常受精组。调整了入组标准后,前向运动精子总数、MAR 及精子 DNA 碎片指数等指标,对 IVF 周期低受精未表现出预测价值。见表 2。

2.3 IVF 低受精的 Logistic 回归分析

将差异有统计学意义的指标自发 AR、头部缺陷精子率和精子畸形指数作为自变量,将 IVF 周期低受精是否发生作为因变量,采用二分类 Logistic 回归

分析,建立预测低受精发生的回归方程: $\text{Logit}(P) = -19.234 + 0.124 \text{ 头部缺陷精子率} + 3.212 \text{ 精子畸形指数} + 0.237 \text{ 自发 AR}$ 。结果显示,头部缺陷精子率、精子畸形指数和自发 AR 均为 IVF 周期低受精的影响因素 ($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 不同精子参数及回归方程预测 IVF 周期低受精的 ROC 曲线分析

根据 AUC 比较 3 项精子参数及回归方程的预测价值,根据约登指数确定截断值及敏感性和特异性。通过各因素 AUC 比较可知,回归方程的预测价值最大。见表 4 和图 1。

表 1 两组患者基本资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	女性年龄 / 岁	男性年龄 / 岁	不孕年限	女性 BMI / (kg/m^2)	基础 FSH / (IU/L)	获卵数 / 枚
低受精组	63	29.09 ± 4.74	29.71 ± 4.25	3.53 ± 1.69	21.93 ± 1.92	7.69 ± 2.58	8.62 ± 3.93
正常受精组	201	28.84 ± 4.51	29.45 ± 5.27	3.16 ± 1.44	22.32 ± 2.07	7.27 ± 2.62	9.28 ± 3.46
t 值		0.379	0.409	1.722	1.355	1.099	1.204
P 值		0.705	0.683	0.086	0.177	0.273	0.232

表 2 两组患者精子参数比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	正常形态精子率 / %	头部缺陷精子率 / %	中段缺陷精子率 / %	尾部缺陷精子率 / %	过量胞浆残留率 / %	精子畸形指数	MAR / %
低受精组	63	4.60 ± 1.85	88.37 ± 5.22	25.18 ± 5.26	10.68 ± 3.10	5.08 ± 2.40	1.43 ± 0.17	10.73 ± 5.13
正常受精组	201	4.90 ± 1.75	83.45 ± 7.16	24.57 ± 6.88	10.42 ± 3.34	5.70 ± 2.62	1.34 ± 0.15	9.74 ± 4.84
t 值		1.173	5.928	0.746	0.551	1.673	3.905	1.397
P 值		0.242	0.000	0.457	0.582	0.095	0.000	0.164

组别	n	精子 DNA 碎片指数 / %	自发 AR / %	精子前向运动比率 / %	前向运动精子总数 / ($\times 10^6$ 个 / L)	洗涤后精子前向运动比率 / %	洗涤后前向运动精子总数 / ($\times 10^6$ 个 / L)
低受精组	63	13.05 ± 8.62	15.17 ± 5.35	24.97 ± 9.45	23.00 ± 8.10	84.86 ± 7.22	17.56 ± 6.14
正常受精组	201	11.06 ± 7.69	10.22 ± 3.85	22.94 ± 7.88	21.21 ± 7.15	85.83 ± 6.34	19.02 ± 7.39
t 值		1.743	6.812	1.701	1.680	1.031	1.573
P 值		0.082	0.000	0.090	0.094	0.303	0.118

表 3 IVF 周期低受精的 Logistic 回归分析参数

自变量	b	S_b	$\hat{OR}$	95% CI		P 值
				下限	上限	
头部缺陷精子率	0.124	0.034	1.132	1.058	1.211	0.000
精子畸形指数	3.212	1.48	24.826	3.186	193.439	0.002
自发 AR	0.237	0.039	1.268	1.174	1.369	0.000

表 4 预测 IVF 周期低受精的相关参数

因素	AUC	约登指数	截断值	敏感性 /%	特异性 /%	95% CI		P 值
						下限	上限	
头部缺陷精子率	0.711	0.32	87.00	0.651	0.667	0.652	0.765	0.000
精子畸形指数	0.666	0.30	1.29	0.810	0.488	0.606	0.723	0.000
自发 AR	0.776	0.43	12.25	0.607	0.767	0.721	0.825	0.000
回归方程	0.854	0.57	-1.461	0.857	0.711	0.805	0.894	0.000

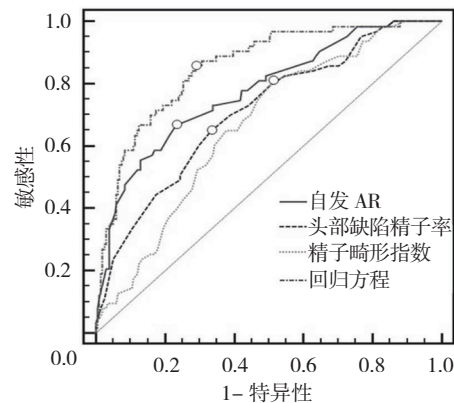


图 1 不同参数及回归方程预测 IVF 周期低受精的 ROC 曲线

3 讨论

短时受精结合早补救卵质内单精子注射增加了胚胎利用率, 改善了低受精或完全不受精患者的临床结局^[1, 10-11]。但是, 并不是所有卵子均在受精后 6 h 左右排出第二极体, 10% 左右的卵子会在更晚的时间排出, 过早的补救可能导致人类常规体外受精中 3 原核受精卵的发生^[12]。早期剥除卵丘颗粒细胞, 阻断了颗粒细胞与卵细胞之间的相互作用^[13]。此外, 如果对患者均行早期剥卵观察, 不仅增加胚胎暴露时间, 而且增加了胚胎实验室人员的工作量。因此, 研究低受精发生的相关因素, 进行科学的预测具有重要意义。

有研究指出正常形态精子率 $\geq 4\%$ 为选择 IVF 助孕的指征, 而其 $<4\%$ 则应选择卵质内单精子注射助孕^[14-15]。与其他精子形态学异常相比, 头部缺陷精子率与低受精的发生显示出更强的相关性。GATIMEL 等^[16]将不同的精子形态与病理生理学联系起来, 发现头部缺陷, 特别是全部球形精子症、巨头畸形及斩首精子综合征等存在严重的生理和遗传学缺陷。AUGER 等^[17]同样发现在不育人群中上述头部缺陷的精子比例较可育组明显升高。

1996 年 AZIZ 等^[18]首次报道 SDI 可作为 IVF 结

果的预测指标。精子畸形指数纳入了多重精子缺陷指数, 较之单一的缺陷率, 具有更佳的统计学意义, 世界卫生组织第 5 版手册也将其纳入为可供选择的评估指标^[9]。江伟杰等^[19]关于受精失败的预测模型中, 将 SDI 纳入了 Logistic 变量, 与本研究的结论类似。

精子-卵子相互识别、结合并最终相互融合是有性生殖的显著特点, 而透明带诱导的 AR 缺陷是 IVF 中受精失败的重要原因^[20]。AR 缺陷主要表现为大量自发 AR, 其原因为顶体的过早成熟, 并与受精失败显著相关^[21]。XU 等^[22]通过前瞻性队列研究, 最终发现自发 AR 是受精结果的唯一重要预测因子。

综上所述, 头部缺陷精子率、精子畸形指数及自发 AR 与 IVF 低受精的发生相关, 预测低受精发生的 Logistic 回归方程具有较好的预测价值。当回归方程预测值 (P) >-1.461 时, 建议患者选择卵质内单精子注射助孕。

参 考 文 献:

[1] BECK-FRUCHTER R, LAVEE M, WEISS A, et al. Rescue intracytoplasmic sperm injection: a systematic review[J]. Fertil Steril, 2014, 101(3): 690-698.

[2] 赵芳, 吕玉珍, 王娟, 等. 常规 IVF 完全 / 部分受精失败后行早期补救 ICSI 的应用价值 [J]. 生殖医学杂志, 2015, 24(2): 87-92.

[3] 刘芳, 赵杰, 陈秀娟. 不孕类型和不孕年限与常规体外受精结局的相关性分析 [J]. 中国现代医学杂志, 2018, 28 (22): 91-94.

[4] 赵杰, 刘芳, 陈秀娟, 等. 既往不孕类型及早期补救 ICSI 对 IVF 临床结局的影响 [J]. 中国妇产科临床杂志, 2017, 18(1): 43-45.

[5] 徐艳霞. 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 [J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(11): 1505-1507.

[6] 刘艳丽, 路芳鸣, 孙丽君, 等. 精液参数和来源对 ICSI 助孕患者胚胎质量及临床结局的影响 [J]. 重庆医科大学学报, 2017, 42(08): 994-998.

[7] 孙青, 李观贵, 熊风, 等. 常规精液检查及优化处理后的精液参数对常规 IVF 受精结局的预测价值 [J]. 生殖医学杂志, 2016, 25(09): 787-793.

[8] 武学清, 孔蕊, 田莉, 等. 卵巢低反应专家共识 [J]. 生殖与避孕, 2015(2): 71-79.

[9] 谷翊群. 世界卫生组织人类精液检查与处理实验室手册 [M]. 北

- 京：人民卫生出版社，2011：17，58，68，126.
- [10] LIU W, LIU J, ZHANG X, et al. Short co-incubation of gametes combined with early rescue ICSI: an optimal strategy for complete fertilization failure after IVF[J]. *Hum Fertil (Camb)*, 2014, 17(1): 50-55.
- [11] CAO S, WU X, ZHAO C, et al. Determining the need for rescue intracytoplasmic sperm injection in partial fertilisation failure during a conventional IVF cycle[J]. *Andrologia*, 2016, 48(10): 1138-1144.
- [12] PAPALE L, FIORENTINO A, MONTAG M, et al. The zygote[J]. *Hum Reprod*, 2012, 27 (Suppl 1): 22-49.
- [13] WEI D, ZHANG C, YIN B, et al. Early cumulus cell removal could reduce the available embryo rate in human IVF[J]. *J Assist Reprod Genet*, 2011, 28(12): 1213-1216.
- [14] LI B, MA Y, HUANG J, et al. Probing the effect of human normal sperm morphology rate on cycle outcomes and assisted reproductive methods selection[J]. *PLoS One*, 2014, 9(11): DOI: 10.1371/journal.pone.0113392.
- [15] LI M, WANG H, LI W, et al. Effect of normal sperm morphology rate (NSMR) on clinical outcomes for rescue-ICSI(R-ICSI) patients[J]. *Gynecol Endocrinol*, 2017, 33(6): 458-461.
- [16] GATIMEL N, MOREAU J, PARINAUD J, et al. Sperm morphology: assessment, pathophysiology, clinical relevance, and state of the art in 2017[J]. *Andrology*, 2017, 5(5): 845-862.
- [17] AUGER J, JOUANNET P, EUSTACHE F. Another look at human sperm morphology[J]. *Hum Reprod*, 2016, 31(1): 10-23.
- [18] AZIZ N, BUCHAN I, TAYLOR C, et al. The sperm deformity index: a reliable predictor of the outcome of oocyte fertilization in vitro[J]. *Fertil Steril*, 1996, 66(6): 1000-1008.
- [19] 江伟杰, 金帆, 周黎明. 优选后精子畸形指数、顶体异常率、DNA 碎片指数预测 IVF 受精失败的价值 [J]. *中华男科学杂志*, 2016, 22(2): 147-152.
- [20] SABETIAN S, SHAMSIR M S. Deficiency in sperm-egg protein interaction as a major cause of fertilization failure[J]. *J Membr Biol*, 2017, 250(2): 133-144.
- [21] 刘树沅, 韦剑洪, 陈伟辉, 等. 精子自发顶体反应率与体外受精胚胎质量的相关性研究 [J]. *检验医学与临床*, 2018, 15(1): 16-18.
- [22] XU F, ZHU H, ZHU W, et al. Human sperm acrosomal status, acrosomal responsiveness, and acrosin are predictive of the outcomes of in vitro fertilization: a prospective cohort study[J]. *Reprod Biol*, 2018, 18(4): 344-354.

(李科 编辑)