

# 精子DNA碎片率联合顶体酶活性预测IVF-ET的结局

胡 强 黄晓玲 黄丽萍

钦州市妇幼保健院 广西钦州 535000

**摘要:** **目的:** 了解精子DNA碎片率(DFI)联合顶体酶活性对预测体外受精-胚胎移植(IVF-ET)结局的临床价值。**方法:** 2020年1月到2021年10月在钦州市妇幼保健院接受IVF-ET的650对夫妻为研究对象,根据男方DFI和顶体酶活性分为6组。对比6组受精率、优胚率、囊胚形成率、种植率、临床妊娠率、生化妊娠率。**结果:** A、B两组在前向运动精子方面、精子尾部低渗肿胀率与其余四组有显著差异(均 $P < 0.05$ );6组在精子顶体完整率方面与精子密度方面差异无统计学意义(均 $P > 0.05$ );E、F两组在受精率、优胚率、囊胚形成率、种植率方面普遍优于较其余4组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );C、D两组在受精率、优胚率、囊胚形成率、种植率方面优于A、B两组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论:** 精子DNA碎片率越小、顶体酶活性好的IVF-ET夫妻受精率、优胚率、囊胚形成率、种植率、临床妊娠率上升,胚胎质量更好;两者联合有助于基层医生预测辅助生殖技术的临床结局。

**关键词:** 精子; DNA碎片率; 顶体酶活性; 体外受精-胚胎移植; 胚胎质量

## Sperm DNA fragment rate combined with acrosin activity to predict the outcome of IVF-ET

Qiang Hu, Xiaoling Huang, Liping Huang

Qinzhou maternal and child health care hospital (Qinzhou, Guangxi) 535000

**Abstract:** **Objective:** To investigate the clinical value of sperm DNA fragmentation rate (DFI) combined with acrosin activity in predicting the outcome of in vitro fertilization embryo transfer (IVF-ET). **Methods:** 650 couples who received IVF-ET in Qinzhou maternal and child health hospital from January 2020 to October 2021 were divided into 6 groups according to men's DFI and acrosin activity. The fertilization rate, excellent embryo rate, blastocyst formation rate, implantation rate, clinical pregnancy rate and biochemical pregnancy rate of the six groups were compared. **Results:** there were significant differences between group A and group B in forward motile sperm and sperm tail hypotonic swelling rate compared with the other four groups (all  $P < 0.05$ ); There was no significant difference in acrosome integrity rate and sperm density between the six groups (all  $P > 0.05$ ); E. The fertilization rate, excellent embryo rate, blastocyst formation rate and planting rate of group F were generally better than those of the other four groups ( $P < 0.05$ ); C. The fertilization rate, excellent embryo rate, blastocyst formation rate and planting rate of group D were better than those of group A and B, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** The fertilization rate, excellent embryo rate, blastocyst formation rate, implantation rate and clinical pregnancy rate of IVF-ET couples with smaller sperm DNA fragment rate and better acrosin activity increase, and the embryo quality is better; The combination of the two can help grass-roots doctors predict the clinical outcome of assisted reproductive technology.

**Keywords:** sperm; DNA fragment rate; Acrosin activity; In vitro fertilization embryo transfer; Embryo quality

随着我国不孕不育患者逐渐增多,其中男性因素占有50%<sup>[6]</sup>。IVF-ET受精过程主要是指携带男性DNA的精子体外进入女性卵子中,形成受精卵<sup>[1]</sup>。精子DNA完整性是亲代将遗传物质正确传递给子代的前提,在受精和

胚胎发育过程中发挥重要作用。精子DNA完整性检测反映了精子DNA的损伤程度,研究表明精子DNA的损伤与男性不育、自然妊娠率的降低和反复流产可能有关。本研究旨在了解精子DFI与顶体酶活性对IVF-ET胚胎质

量、妊娠结局的相关影响, 并分析其预测IVF-ET结局的价值。

## 1 临床资料

### 1.1 研究对象

2020年1月到2021年10月在钦州市妇幼保健院接受IVF-ET的650对夫妻为研究对象。

根据男方DFI水平及顶体酶活性将650对夫妻分为6组: A组(132对, DFI>30%且顶体酶活性正常)、B组(63对, DFI>30%且顶体酶活性低)、C组(186对, DFI为15%~30%且顶体酶活性正常)、D组(107对, DFI为15%~30%且顶体酶活性低)、E组(121对, DFI<15%且顶体酶活性正常)、F组(41对, DFI<15%且顶体酶活性低)。

### 1.2 方法

1.2.1 所有病例均签署IVF-ET知情同意书及治疗同意书。

1.2.2 精液采集 要求患者检查前禁欲2~7天, 采用手淫法, 于取精室采集精液标本, 置于一次性无菌无毒取精杯内, 37℃恒温孵育至完全液化, 记录精液量、粘稠度、液化时间、pH等理化参数, 然后下一步检测。严格按照《WHO人类精液检验与处理实验室手册(第5版)》操作。用配制人输卵管液(HTF)调精子浓度至 $5 \sim 10 \times 10^6/\text{mL}$ 用于精子DNA碎片检测。精子DNA碎片检测仪器为美国BD公司的BD FACSCanto II流式细胞仪; 检测试剂为泰州国为生物公司生产的试剂盒(吖啶橙染色剂); 有DNA碎片的精子诊断标准<sup>[4]</sup>: 精子核经过酸处理液处理后, 再经吖啶橙染色, 异常精子核染色质成单链与染料吖啶橙结合发橙黄色或者红色荧光; 正常精子核染色质为双链与吖啶橙结合发绿色荧光, 若红光(值)比例增高, 说明精子核完整性程度降低; 精子DFI=红/红+绿 $\times 100\%$ 。精子顶体酶活性测定仪器采用计算机辅助精子分析仪为美国伯腾仪器有限公司(ELx800)产品; 检测试剂为深圳博瑞德生物科技有限公司生产的精子顶体酶活性测定试剂盒(固相BAPNA法), 计算顶体酶活性( $\mu\text{IU}/10^6$ )=(标本吸光度-试剂空白吸光度) $\times 1 \times 10^6$ /转换液吸光度 $\times 594 \times 7.0$ <sup>[5]</sup>。

1.2.3 促排卵方案 女方促排卵方案均为黄体期促性腺激素释放激素激动剂(GnRH-a)长方案进行, 即从前一月经周期第21日起皮下注射短效GnRH-a行降调节, 达降调节标准后, 同时加用促性腺激素(Gn)诱导卵泡发育, 当3个主导卵泡直径 $\geq 18\text{mm}$ 时, 停用GnRH-a和Gn, 根据患者具体情况当晚肌注血清 $\beta$ -HCG 4000-10000IU不等, 36h后在阴道B超引导下穿刺取卵术。取卵当日采用常规IVF方法受精, 受精后16-18h观察受精情况。受精42h和72h观察卵裂情况。

### 1.3 胚胎移植方法

患者适度充盈膀胱, 取截石位。常规消毒外阴, 窥器暴露宫颈, 生理盐水和培养液清洗宫颈, 蘸去宫颈黏液。B超腹部探头在患者下腹部探测子宫, 显示宫颈和宫体的方向, 在B超指示下将胚胎移植管(K-JETS-1079澳大利亚COOK公司)外套管沿宫颈放入, 通过宫颈内口后, 测量外套管顶端距宫底内膜距离计算内管放入深度, 使得在超声显示下A组: 内管顶端距宫底内膜5~10mm; B组: 内管顶端距宫底内膜11~15mm注入胚胎后, 连同套管一同取出体视显微镜下观察无胚胎残留嘱患者排尿休息4h。移植后用HCG和(或)黄体酮黄体支持2周。移植后2周如尿妊娠试验阳性, 于移植后4周B超确认临床妊娠。

### 1.4 观察指标

IVF-ET受精率=受精胚胎数/获卵数 $\times 100\%$ ; 囊胚形成率=出现囊胚数目/总胚胎数量 $\times 100\%$ ; ET后14天测定血清 $\beta$ -HCG $\geq 25\text{mIU/mL}$ 确定为生化妊娠; 28天后B超检查宫腔内见妊娠囊确定为临床妊娠。

### 1.5 统计方法

采用SPSS 25.0统计软件进行数据分析, 计量数据符合近似正态分布者以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间均数比较采用单因素方差分析,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 精液参数比较情况

A、B两组在前向运动精子方面、精子尾部低渗肿胀率与其余四组有显著差异(均 $P < 0.05$ ); 6组在精子顶体完整率方面与精子密度方面差异无统计学意义(均 $P > 0.05$ )。见表1。

### 2.2 妊娠结局

E、F两组的临床妊娠率较其他4组高, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 且E组生化妊娠率远低于其余5组低, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); C、D两组临床妊娠率亦较A、B组高, 生化妊娠低于A、B组, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表2。

## 3 讨论

当前随着人们生活方式和饮食习惯的改变, 不孕不育的发病率逐渐升高, 其中男性患者约占50%<sup>[6]</sup>。IVF-ET也被越来越多夫妻选择。受精卵质量是决定妊娠结局的关键因素。目前临床评判男性精子的好坏主要基于精子数量、密度、活动率和抗精子抗体等。这些检验项目的结果判断主观性较强, 各参数波动范围大, 进而不能对精子质量和妊娠结局做出准确有效的预测。经国内外的学者研究发现, 男性不育患者的精子DNA碎片会明显增多, 精子DNA的完整性是判断精子质量的有效依据。精子DNA完整性是亲代将遗传物质正确传递给子代的前提, 在受精和胚胎发育过程中发挥重要作用。精子DNA

表1 精液参数情况对比

组别	n	精子尾部低渗肿胀率 (%)	精子顶体完整率 (%)	精子密度 (10 <sup>6</sup> /mL)	前向运动精子 (%)
A组	132	57.23 ± 8.75	74.23 ± 8.75	120.23 ± 8.75	31.28 ± 8.04
B组	63	55.94 ± 7.89	75.94 ± 7.89	119.94 ± 7.89	33.94 ± 7.89
C组	186	73.16 ± 9.34	76.07 ± 9.459	119.07 ± 9.45	42.15 ± 9.07
D组	107	74.48 ± 6.93	75.48 ± 6.93	120.45 ± 6.90	41.48 ± 6.93
E组	121	75.17 ± 7.39	77.17 ± 7.39	118.75 ± 8.34	50.17 ± 7.39
F组	41	74.12 ± 7.72	76.00 ± 8.89	120.00 ± 8.89	47.05 ± 8.77
F值		120.209	1.649	0.772	83.853
P值		0.000	0.145	0.570	0.000

表2 6组胚胎质量与妊娠结局情况对比

组别	n	受精率	优胚率	囊胚形成率	种植率	临床妊娠率	生化妊娠率
A组	132	63 (47.7%)	34 (25.8%)	54 (40.9%)	40 (30.3%)	39 (29.5%)	37 (28.0%)
B组	63	23 (36.5%)	9 (14.3%)	20 (31.7%)	18 (28.6%)	17 (27.0%)	21 (33.3%)
C组	186	126 (67.7%)	74 (39.8%)	92 (49.5%)	81 (43.5%)	76 (40.9%)	45 (24.2%)
D组	107	44 (41.1%)	34 (31.8%)	48 (44.9%)	41 (38.3%)	39 (36.4%)	23 (21.5%)
E组	121	98 (81.0%)	66 (54.5%)	67 (55.4%)	62 (51.2%)	60 (49.6%)	15 (12.4%)
F组	41	26 (63.4%)	20 (48.8%)	22 (53.7%)	20 (48.8%)	18 (43.9%)	9 (22.0%)
z值		64.319 <sup>a</sup>	41.568 <sup>a</sup>	12.604 <sup>a</sup>	17.319 <sup>a</sup>	15.432 <sup>a</sup>	13.644 <sup>a</sup>
P值		0.000	0.000	0.027	0.004	0.009	0.018

完整性检测反映了精子DNA的损伤程度,研究表明精子DNA的损伤与男性不育、自然妊娠率的降低和反复流产可能有关<sup>[7]</sup>。男性基因在转录和实施辅助生殖技术时均可能出现精子DNA损伤,产生DNA碎片,从而影响受精卵质量。在评估精子受精能力时具有重要意义,因而日益受到临床重视。但顶体酶活性与精子DNA碎片率并无明显相关性<sup>[8]</sup>。

本研究发现,DFI越大,其精子前向运动率与精子尾部低渗肿胀率越小。碎片率小的E、F组无论在受精率、优胚率、囊胚形成率、种植率,还是在临床妊娠率、生化妊娠率均优于其余4组。顶体酶活性好的E、C、A三组较DFI相近的F、D、B三组胚胎质量与妊娠结局好。目前临床学者对DFI对IVF-ET妊娠结局的影响研究较多。柳胜贤观察到DFI大的精液在精子尾部低渗肿胀率及前向运动精子方面显著少于DFI小的病例,且精子DNA碎片越多,其受精率、优胚率以及囊胚形成率明显下降的结论相符<sup>[9]</sup>。本研究分析认为精子DNA碎片率高与精子顶体酶活性低下时均可使精子受精潜能受损、精卵结合障碍,从而导致受精率下降、影响胚胎质量,最终降低着床率与临床妊娠率<sup>[10]</sup>。

综上所述,精子DNA碎片率越小、顶体酶活性好的IVF-ET夫妻受精率、优胚率、囊胚形成率、种植率、临床妊娠率上升,胚胎质量与妊娠结局更好;两者联合有助于基层医生预测辅助生殖技术结局。

#### 参考文献:

- [1]李志斌,米阳,沈云峰,等.4165例体外受精-胚胎移植孕妇妊娠中晚期并发症的回顾性研究[J].中国妇幼保健,2019,34(22):5266-5270.
- [2]管荷琴,周洁,徐丹萍.血清抗缪勒管激素水平与免疫性不孕症及体外受精-胚胎移植妊娠结局的相关性[J].中国妇幼保健,2019,34(22):5255-5258.
- [3]张慧,张先平,龙婷,等.精子顶体酶活性对体外受精-胚胎移植妊娠结局的影响[J].江西医药,2021,56(4):428-431.
- [4]刘树沅,韦剑洪,霍骏业,等.精子DNA碎片率与精子核蛋白不成熟度检测在体外受精治疗中的应用研究[J].国际检验医学杂志,2017,38(11):1452-1453,1456.
- [5]周欢群,蒋满波,周文,等.不育男性精子自发顶体反应率、顶体酶活性与精液常规参数及精子功能指标的相关性分析[J].中国性科学,2020,30(4):10-13.
- [6]莫金桦,赵瑰丽,李思慧,等.2005—2014年不孕不育门诊男性人群精液质量的单中心研究[J].生殖医学杂志,2018,27(4):368-371.
- [7]王娟,吕玉珍,田可可,等.精子DNA碎片指数与体外受精-胚胎移植临床结局的相关研究[J].中国妇产科临床杂志,2020,21(4):406-408.