

不同禁欲时间对体外受精-胚胎移植结局的影响

翟丹梅, 李柳铭, 覃爱平, 江 莉, 袁 华, 靳玉甫, 黄世扬, 陆 丹, 曾义真, 李慕军(广西医科大学第一附属医院生殖医学研究中心, 南宁 530021)

【摘要】 目的 探讨不同禁欲时间对体外受精-胚胎移植(IVF-ET)结局的影响, 为辅助生殖技术提供基础数据。**方法** 535 例男性的精液根据取卵日的禁欲时间随机分成 A、B、C、D 4 组。记录和分析使用各组别的精子进行 IVF-ET 后的结局。**结果** 在女方年龄、不孕年限、超排卵方案使用促性腺激素(Gn)时间和总量以及获卵数没有统计学意义的情况下, 2 年收集到的 A、B、C、D 4 组的例数分别为 29、159、278、69 个。经统计学分析, 4 组的受精率和卵裂率两两比较差异无统计学意义; C 组优质胚胎率显著高于 A、B、D 组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。种植率各组间二者比较除 B 组显著高于 C 组外其余各组间差异无统计学意义; 临床妊娠率各组间两两比较, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。临床妊娠中流产率各组间两两比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 异位妊娠率各组间两两比较 C 组显著高于 A、B、D 组, 差异有统计学意义($P < 0.05$) 外其余各组间没有统计学意义。**结论** 禁欲时间长短不影响体外受精后的受精率和卵裂率, 禁欲 6~7 d 的男性精液经密度梯度离心处理用于 IVF-ET 后其种植率和临床妊娠率较其他禁欲时间低, 其原因有待进一步探讨。

【关键词】 禁欲时间; 体外受精-胚胎移植; 精液参数; 结局

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.13.023 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)13-1583-02

The influence of different abstinence time on the outcome of IVF-ET ZHAI Dan-mei, LI Liu-ming, QIN Ai-ping, JIANG Li, YUAN Hua, JIN Yu-fu, HUANG Shi-yang, LU Dan, ZENG Yi-zhen, LI Mu-jun (Guangxi Reproductive Medical Research Centre, First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi 530021, China)

【Abstract】 Objective To investigate the influence of different abstinence time on the outcome of in vitro fertilization-embryo transfer(IVF-ET), and provide basic data for assisted reproductive technology. **Methods** Semen of 535 cases were randomly divided into four groups according to abstinence days of the oocyte retrieval day. The outcome of IVF-ET used the sperm from the four different group was recorded and analyzed. **Results** The cases of Group A(≤ 3 d), B(4~5 d), C(6~7 d), D(> 7 d) were 29, 159, 278 and 69. The woman's age, infertility period, the Gn days and the total number of Gn of super-ovulation, the oocytes numbers in each group were not statistically significant in our research. Data statistical analysis showed that there was no significant difference of the fertilization rate, cleavage rate and the abortion rate among the four groups. The ectopic pregnancy rate and the high-quality embryo rate of group C was significantly higher than that of the group A, B and D ($P < 0.05$). There was no statistical significance of the implantation rate between other groups except group B, which was significantly higher than group C, and the results of the clinical pregnancy rate were statistically significant between any two in each group ($P < 0.05$). **Conclusion** The abstinence time (days) did not affect the fertilization rate and cleavage rate after IVF, and the implantation rate and clinical pregnancy rate used the sperm from the abstinence time of 6~7 d for IVF-ET are lower than those in other groups. The reason needs to be further explored.

【Key words】 abstinence time; IVF-ET; semen parameters; outcome

禁欲时间的长短对精液检测和分析相关参数有影响^[1-5]。WHO 建议禁欲时间为 2~7 d^[6]。对于禁欲时间是否对宫腔内人工授精授精(IUI)的精液及其结局有影响, 杨帆等^[7]认为禁欲 2 d 做 IUI 精液质量不受影响。Jurema^[8]回顾性研究结果表明拟行 IUI 的不孕症夫妇禁欲时间小于或等于 3 d 时妊娠率最高。然而禁欲时间对体外受精-胚胎移植(IVF-ET)结局的影响未见报道。本文详细介绍相关研究结果如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择于本院生殖中心 2009 年 1 月至 2011 年 1 月就诊的 535 对不孕夫妇为研究对象, 入选研究对象的标准是(1)男方:继发性不育(或曾 IVF 受精卵 70% 以上);接受助孕之前 3 个月内精液常规检查正常;其配偶取卵日男方采用手淫法一次性获取完整的射精精液, 精液液化时间正常。男方平

均(35.1±5.3)岁。(2)女方:平均(31.9±4.3)岁, 不孕年限(1~17)年, 取卵日获卵数(2~24)个, 超排卵用药的长方案使用促性腺激素(Gn)时间和 Gn 总量分别为 7~23 d 和 15.3~70.0 支。其中各组间获卵数、年龄、Gn 时间和 Gn 总量差异无统计学意义。(3)所有纳入研究范围的夫妇的卵子和精子进行常规 IVF 后均有受精和卵裂。

1.2 分组方法 根据男性上一次射精的时间计算禁欲时间(以整天表示, 取卵当天计算为 1 d, 不足 24 h 取精者按 1 d 计算)。其精液及其配偶的实验室和临床的相关数据根据取卵日的禁欲时间随机分成 4 组: A 组(禁欲时间小于或等于 3 d)、B 组(禁欲时间 4~5 d)、C 组(禁欲时间 6~7 d)、D 组(禁欲时间大于 7 d)。

1.3 精液获取、精液分析以及精子处理和精子优选 男性患

者在其配偶取卵日早上手淫法取精,待精液液化后常规进行精液参数检测分析并记录包括:男方姓名,禁欲时间,取精时间,液化时间,精液量,精子密度,精子总数,a+b 级精子百分率,精液处理起止时间等。所有精液实验按照 2001 年 WHO《人类精液及精子-宫颈黏液相互作用实验室检验手册》^[9] 中的检验方法执行。所有获取的精液经密度梯度离心处理并洗涤后留取高活率的精子沉淀物及其约 0.2~0.3 mL 的上清液备用。用于精子优选,用于调节精液浓度做成体外受精微滴。

1.4 IVF-ET 胚胎移植实验室和临床结局分析 取卵当天卵子培养 3~6 h 后加入预先做好的受精微滴中进行体外受精,次日观察受精结果并记录正常受精个数等,第 3 天观察胚胎发育情况并记录正常受精的卵裂的胚胎数和优质胚胎数等,根据女方情况选择 1~3 个正常受精的优质胚胎移植入宫腔适宜位置,2 周后测血 β -HCG,发现妊娠的 2 周后 B 超监测观察妊娠情况并记录妊娠囊个数,有妊娠囊、宫外孕或流产后送检可见绒毛的计为临床妊娠。

1.5 统计学方法 采用 SPSS17.0 软件进行统计学分析,按照 t 检验和 χ^2 分析进行统计学分析,各组间差异 $P<0.05$ 有统计学意义。

2 结 果

2.1 精液分析总的结果 取卵日 535 例精液标本平均禁欲时间为 (6.1 ± 1.7) d,禁欲时间分别为 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、13、20 d 的人数分别为 1、9、19、42、117、110、168、42、12、10、3、1、1 例。平均精液量、密度、活率、a+b 级活率(前向运动精子)分别为 (3.4 ± 1.5) mL、 $(118.5 \pm 64.9) \times 10^6$ /mL、 $(64.1 \pm 14.1)\%$ 和 $(52.4 \pm 13.3)\%$ 。

2.2 不同禁欲时间对体外受精胚胎移植实验室和临床结局的影响 IVF 后 535 例患者总的正常受精率、正常受精的卵裂率、优质胚胎率、新鲜移植周期的种植率、新鲜移植周期的临床妊娠、流产率和异位妊娠率分别为 64.9%(3 911/6 025)、98.4%(3 848/3 911)、64.4%(2 477/3 848)、26.0%(261/1 003)、39.8%(196/492)、4.1%(8/196)、7.7%(15/196)。取卵日根据禁欲时间分成的 A、B、C、D 4 组的例数分别为 29 个、159 个、278 个和 69 个。其中 A、B、C、D 4 组实验室和临床结局数据详见表 1。经统计学分析,4 组的受精率和卵裂率两两比较差异无统计学意义;C 组优质胚胎率显著高于 A、B、D 组的 ($P<0.05$)。种植率各组间两两比较除 B 显著高于 C 组的 ($P<0.05$) 外,其余各组间差异无统计学意义;临床妊娠率各组间两两比较,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。临床妊娠中流产率各组间两两比较,差异无统计学意义 ($P>0.05$)。异位妊娠率各组间两两比较除 C 组显著高于 A、B、D 组,差异有统计学意义 ($P<0.05$) 外,其余各组间无统计学意义。

表 1 535 例男性不同禁欲时间的精子行体外受精胚胎移植后各组实验室和临床结局比较 (%)

项目	A(n=29)	B(n=159)	C(n=278)	D(n=69)
正常受精率	62.6	65.2	65.8	62
正常受精卵裂率	98.9	98.2	98.4	98.7
优质胚胎率	65.4	63.2	66.3	59.5
新鲜移植周期的种植率	30.8	30.9	22.6	25.4
临床妊娠率	54.2	47.7	34	38.6
异位妊娠率	0	5.6	12.5	0
流产率	15.4	2.8	3.4	4.5

3 讨 论

禁欲时间长短对精液检测分析参数及其精液质量有影响,基本共识是随着禁欲时间的延长精液量、精子密度和一次射精精子的总数增加,而精子的活率下降^[1-5]。但是还没有明显规定最佳的禁欲时间。李文英等^[10] 分析发现禁欲 3~6 d 的精液质量随禁欲时间的延长,精子数量指标(精液量、精子密度及总精子数)均有增加,其中禁欲 5 d 和 6 d 时精子数量指标较高,精子前向运动百分率随禁欲时间的增加而呈现出不同的变化,在禁欲第 3 天时达到最高,而在禁欲 4~6 d 时略微有所降低。

本研究通过分析不同禁欲时间获取的精液对于 IVF-ET 实验室和临床结局的影响,结果提示禁欲不同时间的精液用于常规 IVF 后其卵子的正常受精率和卵裂率差异无统计学意义。禁欲 6~7 d 的精液组其优质胚胎率(66.3%)显著高于其他组别,但是新鲜周期移植胚胎后该组的种植率和临床妊娠率(22.6%和 34.0%)却比其他禁欲时间组低,同时该组的异位妊娠率显著高于其余各组的,这是否能说明睾丸精子的生成和附睾池的精子在形成并保存一定时间后其受精能力下降、精子的功能受损或精子的形态机构发生变化等有关,即精子在附睾池里保存的时间超过 6 d 会对精子本身的质量产生影响,进而影响到胚胎的正常发育甚至不能种植于子宫内或产生流产、异位妊娠等。而禁欲超过 7 d 以后附睾池中的精子某部分已经失去受精能力,而具有受精能力的精子是后来睾丸形成并及时补给附睾池,这就是为什么很多研究结果^[1-10] 表明的随着禁欲时间延长一次射精的精液量、精子密度和精子总数会增加而精子活力却下降的体现。本研究的 A 组和 D 组病例数较少,禁欲时间为 6~7 d 时是否对所有接受 IVF-ET 的种植率和临床妊娠率有重大影响,有待更大量的周期数和对睾丸附睾精子形成及其保存在附睾内的精子具有受精能力的时间段等基础数据充实。林海萍和唐锋^[11] 研究结果提示精子密度、精子毛细血管穿透试验、精子活动百分比及精液液化时间与禁欲时间差异无统计学意义,精子总数与禁欲时间呈正相关,睾丸容积与精子密度、精子总精呈正相关。他们认为在常规精液分析时禁欲时间并不重要,对于身体健康、性功能正常的中青年,即使在 24 h 前有过性行为,只要本人没有疲倦或不快感,仍然可以留取精液进行分析。刘睿智等^[12] 研究结果提示禁欲 1~5 d 时,顶体酶活性是稳定的,而禁欲 10 d 时顶体酶活性明显下降,与禁欲 1 d 时顶体酶活性比较差异有统计学意义。翟丹梅等^[13] 的研究结果表明取卵日连续 2 次取精以可以获得 30% 以上的临床妊娠率,也可以避免微创取精术和其他不必要的显微受精方式。

参考文献

[1] 朱旭东. 163 例不同禁欲时间的精液分析[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(7): 612-613.

[2] 张玮玮. 关于精液质量的影响因素分析[J]. 当代医学, 2009, 15(27): 13.

[3] 义建伟, 王泽波. 禁欲时间对精液常规的影响[J]. 中国优生优育, 2009, 15(5): 279-280.

[4] 吴贤玲, 曹敏, 郭玉佳, 等. 不同禁欲时间对少精弱精精液质量的影响[J]. 现代生物医学进展, 2008, 8(9): 1704-1705.

[5] 房磊臣, 苟欣, 丘彦, 等. 禁欲时间对精液质量的影响[J]. 重庆医学, 2006, 35(22): 2076-2078.

[6] 谷翊群, 陈振文, 卢文红, 等. 世界卫生组织人类精液检查与处理实验室手册/世界卫生组织著(下转第 1586 页)

检验分析 $\chi^2 = 7.48$ (对照组-试验组 A), $P = 0.024$ ($P < 0.05$), 差异有统计学意义; $\chi^2 = 8.12$ (试验组 A-试验组 B), $P = 0.017$ ($P < 0.05$), 差异有统计学意义; $\chi^2 = 22.3$ (对照组-试验组 B), $P < 0.001$, 差异有统计学意义。

表 1 3 组冠状动脉造影冠状动脉狭窄程度[n(%)]				
组别	n	50%≤狭窄≤75%	75%<狭窄≤90%	狭窄大于 90%
对照组	34	22(64.7)	11(32.3)	1(2.9)
试验组 A	78	36(46.1)	26(33.3)	16(20.5)
试验组 B	94	12(12.8)	39(41.4)	43(45.7)

表 2 3 组冠状动脉造影冠状动脉病变累及支数[n(%)]				
组别	n	病变累及 1 支	病变累及 2 支	病变累及多支
对照组	34	21(61.8)	9(26.4)	4(11.8)
试验组 A	78	27(34.6)	30(38.5)	21(26.9)
试验组 B	94	19(20.2)	31(33.0)	44(46.8)

3 讨 论

UA 常作为嘌呤代谢紊乱所致的疾病如痛风等检测应用, UA 与心血管疾病之间关联在近年随着生活条件的改善, 高尿酸血症、心血管疾病的增多逐渐引起人们的重视, 高尿酸血症与心血管疾病的关联是多方面的, 最主要的是与动脉粥样硬化有密切的关系, 动脉硬化斑块中有较高的尿酸^[2]。致粥样硬化作用具体包括增强氧化应激反应^[3], 能增强低密度脂蛋白胆固醇氧化修饰作用; 其次尿酸盐结晶在血管壁的沉积对血管内皮细胞有很强的损伤作用, 并且能刺激单核细胞、血小板产生炎症因子、趋化因子, 生长因子等。增强血小板的黏附、聚集, 促进血栓的形成, 生长因子也能促进血管平滑肌的增生, 高尿酸另一方面产生大量氧自由基加重了炎症反应。各种原因共同作用最终促进了动脉粥样硬化的发生、发展。目前有研究显示高血压病及冠心病患者的血尿酸水平明显升高^[4]。

CRP 是与炎症有关患者一种急性实相反应蛋白, 与心血管疾病也存在密切的关系, CRP 作用的靶点为补体系统 Cq^[5], 在 Ca 离子的存在形成复合物有沉积作用, 促进了冠状动脉粥样硬化。动脉粥样斑块内的炎症反应是斑块破裂的原因之一, 在此基础上发生细胞成分的活化并介导血栓形成, 是大多数急性冠状动脉综合征发生的主要原因, CRP 不仅是炎症的指标, 其本身也参与炎症的进程^[6], 有致动脉粥样硬化的作用。

(上接第 1584 页)

[M]. 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 7-8.

[7] 杨帆, 施祖美, 王晓敏, 等. 禁欲 2 天对于精子质量的影响[J]. 中国男科学杂志, 2004, 18(3): 29-31.

[8] Jurema MW. Influence of a shortorlong abseience period on intrauterine insemination pregnancy[J]. FertilSteril, 2005, 84(3): 678-681.

[9] 谷翊群, 陈振文, 于和鸣, 等. WHO 人类精液及精子-宫颈黏液相互作用实验室检验手册/世界卫生组织著[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 3-101.

[10] 李文英, 王俊青, 高尔生, 等. 禁欲时间对男性精液质量的

在本次的研究中 3 组冠状动脉狭窄程度及病变累及血管支数差异均有统计学意义, 说明 UA、hs-CRP 与冠心病存在相关性。对照组中 UA、hs-CRP 正常的冠心病患者冠状动脉狭窄程度介于 50%~70% 偏多, 达 64.7%, 狭窄程度大于 90% 少见, 仅 1 例, 病变累及血管支数也以 1 支多见, 据作者临床观察, 此类患者表现临床症状较轻, 预后良好。临床症状表现比较重, 预后差患者以试验组 B 多见, 冠状动脉造影也支持其临床症状表现, 试验组 B 患者狭窄程度严重, 病变往往累及多支, 且以累及左主干多见, 潘静等^[7]的研究显示在病变累及不同支数的冠心病患者中, 尿酸血清表达水平是升高的存在相关性。与本次的研究一致。目前降尿酸疗法在心血管疾病中应用于高血压的治疗, 患者预后情况比较好。

综上所述, UA 与 hs-CRP 与冠状动脉病变尤其冠状动脉粥样硬化的发生、发展存在密切的关系, UA 与 hs-CRP 的血清水平可作为冠心病严重程度的一个评估指标。UA 与 hs-CRP 的联合检测对冠心病的防治及预后有重要的临床应用价值。

参考文献

[1] Corry DB, Eslami P, Yamamoto K, et al. Uric acid stimulates vascular smooth muscle cell proliferation and oxidative stress via the vascular renin-angiotensin system[J]. J Hypertension, 2008, 26(2): 269-275.

[2] 薛丽, 张爱伦. 高尿酸血症与心血管疾病研究进展[J]. 医学综述, 2006, 12(2): 90-91.

[3] 方银霞, 白宝宝. 高尿酸血症对心血管疾病的影响[J]. 医学综述, 2011, 17(15): 2319-2321.

[4] 翟凤燕, 董华. 高血压及冠心病患者的尿酸水平观察[J]. 福建医药杂志, 2003, 25(1): 2319-2321.

[5] Gotto AM Jr. Role of C-reactive protein in coronary risk reduction; focus on primary prevention[J]. Am J Cardiol, 2007, 99(5): 718-725.

[6] 何平, 谢贤和, 丁毅鹏. hs-CRP、脂蛋白 a、尿酸与冠状动脉粥样硬化性心脏病的研究进展[J]. 医学综述, 2010, 16(16): 2414-2415.

[7] 潘静, 王卫群, 田刚, 等. 高尿酸血症与冠心病关系探讨[J]. 广东医学, 2009, 30(6): 1016.

(收稿日期: 2012-02-08)

影响[J]. 复旦学报, 2003, 30(4): 391-393.

[11] 林海萍, 唐锋. 睾丸容积、禁欲时间与精液质量的比较研究[J]. 中国计划生育学杂志, 2000, 64(8): 358-359.

[12] 刘睿智, 董乃屹, 高元奇, 等. 禁欲时间对人精子顶体酶活性精子密度和精子数的影响[J]. 中国妇幼保健, 2005, 20(24): 3306-3307.

[13] 翟丹梅, 李慕军, 江莉, 等. 取卵日连续 2 次取精在辅助生殖技术中的应用效果[J]. 中华男科学杂志, 2011, 17(5): 418-421.

(收稿日期: 2012-03-05)