

SperMagic 对极度严重少弱精症精子活动力及妊娠率的影响

王雪梅 孙丽君 郝大勇 郑州大学第三附属医院生殖医学中心 (河南 郑州) 450052

中国图书分类号 R394 文献标识码 A 文章编号 1001-4411(2014)01-0092-03; doi: 10.7620/zgfybj.j.issn.1001-4411.2014.01.38

【摘要】 目的: 评估精子激动剂 SperMagic 在极度严重少、弱精症患者实施卵胞浆内单精子注射 (ICSI) 中对精子活动和胚胎发育的影响。方法: 随机抽取 13 例极度严重少、弱精症患者在实施 ICSI 的精子中加入 SperMagic 作为实验组, 13 例未添加者作为对照组, 对两组精子活动力、受精率、卵裂率、优质胚胎率、妊娠率进行对比分析。结果: SperMagic 明显提高精子活动能力, 在受精率、卵裂率、优质胚胎率、妊娠率与对照组比无统计学差异 ($P > 0.05$)。结论: 极度严重少、弱精症患者实施 ICSI 操作中加入 SperMagic 能提高精子活动力, 对胚胎早期发育没有影响。

【关键词】 辅助生殖技术 精子激动剂 SperMagic 精子活动力 胚胎

Impact of SperMagic on motility of spermatozoon and pregnancy rate in human with severe oligoasthenospermia

WANG Xue - Mei , SUN Li - Jun , HAO Da - Yong. Reproductive Medicine Centre , the Third Affiliated Hospital of Zhengzhou University , Zhengzhou 450052 , Henan , China

【Abstract】 **Objective:** To evaluate SperMagic function on activities of sperm and embryonic development after ICSI in severe oligoasthenospermia patients. **Methods:** Twenty - six infertile males with oligoasthenozoospermia were randomly divided into the treated ($n = 13$) and non - treated (control, $n = 13$) groups. Added SperMagic in ICSI procedure was performed in experimental group. Sperm motility, fertilization rate, cleavage rate, high - quality embryo rate, pregnancy rate were analyzed. **Results:** SperMagic significantly improved sperm motility. But there were no significant difference in fertilization rate, cleavage rate, high - quality embryo rate, pregnancy rate between treated and control group ($P > 0.05$). **Conclusion:** Severe oligoasthenozoospermia patients with ICSI added SperMagic can significantly improve sperm motility, without effect on early embryo development and embryo's quality.

【Key words】 Assisted reproductive technology; Intracytoplasmic Sperm injection; SperMagic; Asthenospermia; Embryo

辅助生殖技术 (Assisted Reproductive Technology, ART) 的广泛开展使生育年龄妇女中 10% 的不孕症患者得到帮助。卵胞浆内单精子注射 (Intracytoplasmic Sperm Injection, ICSI) 对男性不育, 尤其是严重少、弱精症患者得到自己遗传学后代的重要辅助手段。但是, 有些患者精子量很少, 行 ICSI 很难寻找到活动的精子。我们在 ICSI 操作过程中应用精子激动剂 SperMagic (美国专利产品) 可以较容易找到活动的精子, 并将实验组与对照组的受精率、卵裂率、优质胚胎率和妊娠率进行了对比分析。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2011 年 3 ~ 11 月在郑州大学第三附属医院生殖医学中心行 ICSI 的极度严重少、弱精症患者 26 例, 其中使用 SperMagic 13 例作为实验组, 未使用的 13 例为对照组。比较两组的受精率、卵裂率、优质胚胎率和妊娠率。不育原因均为男方严重少、弱精症, 女方健康或有输卵管因素。女方年龄 21 ~ 47 岁, 平均年龄 32.54 岁, 不孕年限 1 ~ 19 年, 平均不孕年限 5.27 年, 所有患者均符合卫生部要求行 ICSI 指征。

1.2 实验方法 行 ICSI 日, 男方经手淫法取精, 60 min 液化后处理。精液完全液化后光学显微镜下观

察, 高倍视野下活动精子 < 5 条予以统计。精液直接离心, 300 g, 5 min, 弃上清, 取沉淀, Sperm Washing 2 ml 洗涤, 重复一遍, 用 Sperm Washing 配成 0.3 ml 备用。应用 1006 皿制作精子滴, 即取 100 μ l 混匀精液, 加入 3 μ l SperMagic, 混匀, 盖矿物油。放在 37℃ 恒温平台上 30 min, 倒置显微镜下观察, 见到活动精子游到液滴边缘, 即可实施常规 ICSI 操作。

1.2 ICSI 操作 调试好倒置显微镜配以 Hoffman 对比系统, 安装注射针和持卵针于同一平面对齐。将注射针放入 HEPES 培养液中平衡 10 min。在加入 SperMagic 的精子滴中找到活动的精子移入 PVP 中制动, 从尾部吸入制动的精子, 推至注射器尖端。将做好的操作皿中移入卵子, 降下持卵针, 使极体位于 6 点或 12 点处。固定卵子, 将精子从卵子 3 点或 9 点处穿入透明带, 负压吸入胞浆进入注射针, 当胞浆出现快速流动时, 停止吸入, 缓慢推注吸入的胞浆返回卵胞浆内, 拔针。移卵子到卵裂液培养皿中, 至 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养。

1.3 受精率、卵裂率、优质胚胎率、妊娠率的观察

精子注入卵母细胞后 18 ~ 20 h 观察受精情况, 出现双原核为正常受精, 未见原核以及原核 ≥ 3 为异常受精; 受精后 48 h、96 h 观察卵裂情况, 并给予胚胎评级, 第 3 天胚胎细胞数 ≥ 6 个, 按以下特征评级:

I：细胞大小均匀，形态规则，透明带完整，胞质均清晰，无颗粒及多核现象，碎片 < 5%； II：细胞大小略不均匀，形态略不规则，胞质可有颗粒现象，碎片 6% ~ 20%； III：细胞大小明显均匀，可有明显的形态不规则，胞质可有颗粒现象，碎片 21% ~ 50%； IV：细胞大小严重不均匀，胞质可有严重的颗粒现象，碎片 > 50%。 I、 II 级胚胎为优质胚胎。培养第 3 天移植可利用胚胎 2 ~ 3 枚，移植后 14 天化验血 HCG，阳性为生化妊娠，移植后 30 天 B 超检查有胚芽确定临床妊娠。

1.4 统计分析 应用 SPSS 10.00 统计软件进行统计学处理，采用 *t* 检验进行分析，*P* < 0.05 有统计学意义。

2 结果

精子在加入 SperMagic 后 30 min 均能提高精子活动力，液滴边缘找到活动的精子。两组在年龄、不孕年限等一般资料比较没有统计学差异，见表 1。两组在受精率、卵裂率、优质胚胎率、妊娠率对比分析没有统计学差异，见表 2。

表 1 两组年龄、不孕年限

组别	年龄(岁)	不孕年限(年)
实验组	30.54 ± 7.8	3.92 ± 3.013
对照组	32.07 ± 4.16	6.14 ± 5.275
<i>t</i> 值	0.629	1.355
<i>P</i> 值	0.537	0.190

表 2 两组受精、卵裂、优质胚胎和妊娠比较 (% (例))

组别	受精率	2PN 卵裂率	优质胚胎率	妊娠率
实验组	64.33(101/157)	87.13(88/101)	61.36(54/88)	53.85(7/13)
对照组	67.88(112/165)	90.18(101/112)	54.46(55/101)	46.15(6/13)
χ^2 值	0.452	0.494	0.919	
<i>P</i> 值	0.501	0.482	0.338	0.500

3 讨论

辅助生殖技术在治疗男女不育症中发挥着越来越大的作用。男性因素引起的不育症占 70% 左右，其中约 60% 以上原因为少、弱精子症⁽¹⁾。卵胞浆内单精子显微注射是目前解决男性严重少、弱精症不育的主要手段。严重少、弱精症患者的精子畸形率高，DNA 异常多见⁽²⁾。尤其是极度严重少、弱精症患者的精子形态异常，活动精子极少，给 ICSI 的操作带来不便。

SperMagic 是美国专利产品，其机理是作用于精子头部受体，增加信号传导，同时增加钙离子的内流；增加精子尾部线粒体的能量产生，进而增加精子

的活力和受精能力。受精是精子进入卵子后，雌雄原核相融合形成合子的过程。这一过程需要精子尾部的摆动使精子向前运动来实现。研究表明，精子鞭毛摆动是依靠线粒体的能量产生⁽³⁾。弱精子症的产生，部分原因是由于精子鞭毛线粒体功能和钙传导异常⁽³⁻⁴⁾。一系列的研究表明，精子细胞的不同区域有钙通道（电压依从式，环核苷酸门控，瞬时受体电位）的存在⁽⁵⁻⁸⁾。我们的研究表明，严重的少、弱精症患者的精子在加入 SperMagic 后 30 min，精子的运动能力增加，液滴边缘游动的精子增多，容易收集并挑选出可以利用的精子。

ICSI 后观察受精、卵裂以及优质胚胎情况与对照组比较，均没有发现统计学差异。受精率与其他中心严重少、弱精症相似⁽⁹⁾。提示严重少、弱精症的精子存在非整倍体异常⁽¹⁰⁾。受精后的卵裂和优质胚胎率、妊娠率与文献报道的相似⁽¹¹⁾，即严重少、弱精症患者行 ICSI 后的受精和胚胎发育不受影响。虽然严重少、弱精症的异常精子增多，但女方为输卵管因素或是正常健康妇女，胚胎的发育和种植并不受影响。

总之，SperMagic 是一种很好的精子能量促进剂，在短时间内可以显著提高精子的活力，并使其运动能力增强，应用在 ICSI 中具有很好的效果。同时应用 SperMagic 对妊娠率没有影响，短期观察没有对胚胎造成伤害。但是，由于本研究样本数目较少，其在大样本研究中对受精、卵裂、优质胚胎率和对子代的远期影响不清楚，需要今后进一步的研究。

4 参考文献

1 Li L, Liu JH. Changes in the expression of voltage - dependent Ca^{2+} channels in asthenospermia (J). Zhonghua Nan Ke Xue, 2007, 13 (8): 706.

2 Cavallini G, Crippa A, Magli MC, et al. A study to sustain the hypothesis of the multiple genesis of oligoasthenoteratospermia in human idiopathic infertile males (J). Biol Reprod, 2008, 79 (4): 667.

3 Venkatesh S, Deccaraman M, Kumar R, et al. Role of reactive oxygen species in the pathogenesis of mitochondrial DNA (mtDNA) mutations in male infertility (J). Indian J Med Res, 2009, 129 (2): 127.

4 Suarez SS, Varosi SM, Dai X. Intracellular calcium increases with hyperactivation in intact, moving hamster sperm and oscillates with the flagellar beat cycle (J). Proc Natl Acad Sci U S A, 1993, 90 (10): 4660.

5 Wennemuth G, Westenbroek RE, Xu T, et al. CaV2.2 and CaV2.3 (N- and R-type) Ca^{2+} channels in depolarization-evoked entry of Ca^{2+} into mouse sperm (J). J Biol Chem. 2000, 275 (28): 21210.

6 Wiesner B, Weiner J, Middendorff R et al. Cyclic nucleotide -

- gated channels on the flagellum control Ca^{2+} entry into sperm (J). *J Cell Biol*, 1998, 142 (2): 473.
- 7 Castellano LE, Treviño CL, Rodríguez D, *et al.* Transient receptor potential (TRPC) channels in human sperm: expression, cellular localization and involvement in the regulation of flagellar motility (J). *FEBS Lett*, 2003, 541 (1-3): 69.
 - 8 Jungnickel MK, Marrero H, Birnbaumer L, *et al.* Trp2 regulates entry of Ca^{2+} into mouse sperm triggered by egg ZP3 (J). *Nat Cell Biol*, 2001, 3 (5): 499.
 - 9 Li M, Zhuang G, Li R, *et al.* Intracytoplasmic injection with sperm from ejaculation, epididymis and testis in treating different male infertility with oligo - asthenozoospermia or azoospermia (J). *Zhonghua Wai Ke Za Zhi*, 2000, 38 (4): 280.
 - 10 Vicari E, de Palma A, Burrello N, *et al.* Absolute polymorphic teratozoospermia in patients with oligo - asthenozoospermia is associated with an elevated sperm aneuploidy rate (J). *J Androl*, 2003, 24 (4): 598.
 - 11 Nagy ZP, Liu J, Joris H, *et al.* The result of intracytoplasmic sperm injection is not related to any of the three basic sperm parameters (J). *Hum Reprod*, 1995, 10 (5): 1123.
- (2013-10-09 修回)
(编校 李秀娟)

两种内膜准备方案在多囊卵巢综合征患者冻融胚胎移植中的应用^①

王玮 曹金凤 滑天^② 崔娜 杨爱敏 姜蕾 郝桂敏

河北医科大学第二医院生殖科 (河北 石家庄) 050000

中国图书分类号 R711.75 文献标识码 B 文章编号 1001-4411(2014)01-0094-03; doi: 10.7620/zgfybj.j.issn.1001-4411.2014.01.39

【摘要】 目的: 探讨两种内膜准备方案在多囊卵巢综合征 (PCOS) 患者冻融胚胎移植中的应用价值。方法: 回顾性分析了 2011 年 10 月 ~ 2012 年 10 月在河北医科大学第二医院 PCOS 患者行冻融胚胎移植的 95 个周期, 根据内膜准备方案分为: 人工内膜组 (56 例), 促排卵组 (39 例)。比较两组患者年龄、不孕年限、冷冻胚胎复苏率、优质胚胎率、平均移植胚胎个数、子宫内膜增殖时间、子宫内膜转化日血清雌二醇 (E_2) 浓度、子宫内膜转化日子宫内膜厚度、胚胎种植率和临床妊娠率。结果: 两组患者, 人工内膜组子宫内膜转化日内膜较厚 (11.61 ± 1.59) mm, 促排卵组内膜较薄 (9.96 ± 0.91) mm, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 两组间其他各项指标比较均无统计学差异。结论: PCOS 患者冻融胚胎移植中使用来曲唑促排卵准备内膜可获得与人工内膜相似的结果, 可根据患者的具体情况选择不同的内膜准备方案。

【关键词】 多囊卵巢综合征 冻融胚胎移植 人工内膜 来曲唑

Application of two endometrial preparation protocols in polycystic ovary syndrome patients for frozen - thawed embryo transfer

WANG Wei, CAO Jin - Feng, HUA Tian, *et al.* Department of Reproduction, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei, China

(Abstract) **Objective:** To investigate the application value of two endometrial preparation protocols in polycystic ovary syndrome (PCOS) patients in frozen - thawed embryo transfer (FET) cycles. **Methods:** PCOS patients of 95 FET cycles were analyzed. According to the endometrial preparation protocol, the patients were divided into two groups: artificial endometrium group (56 cases), ovulation induction group (39 cases). Age, duration of infertility, recovery rate, high - quality embryo rate, the average number of embryos transferred, duration of the proliferation phase, the serum estradiol (E_2) concentrations and endometrial thickness on the endometrial transformation day, embryo implantation and clinical pregnancy rates were compared between the patients of two groups. **Results:** In the artificial endometrium group, the endometrium was thicker than that of ovulation induction group, but there was no significant difference ($P > 0.05$); there was no statistical difference in the other indicators between the two groups. **Conclusion:** PCOS patients for frozen - thawed embryo transfer in letrozole ovulation induction and artificial endometrium cycles obtain similar results. The different endometrial preparation protocols can be chosen according to the specific circumstances of the patients.

(Key words) Polycystic ovary syndrome; Frozen - thawed embryo transfer; Artificial endometrium; Letrozole

多囊卵巢综合征 (polycystic ovary syndrome, PCOS) 患者因其卵巢高反应性, 在接受体外受精 - 胚

胎移植技术 (fertilization invitro - embryo transfer, IVF - ET) 助孕过程中极易发生卵巢过度刺激综合征 (ovarian hyperstimulation syndrome, OHSS)。随着玻璃化冷冻技术 (vitrification technology) 的迅速发展, 冻融胚胎移植 (frozen - thawed embryo transfer, FET) 作为 IVF - ET 技术的补充, 在预防 PCOS 患者卵巢过

①河北省科学技术厅基金资助项目 (11276103D - 29), 河北省人口和计划生育委员会科技研究计划项目

②邢台市人民医院妇产科