

· 临床研究 ·

3 种取精方式获得的精子进行 ICSI 治疗效果的比较

蒲 军¹, 丘 彦²

(重庆医科大学:1. 公共卫生学院;2. 附属第一医院辅助生殖中心 400016)

摘要:目的 探讨 3 种取精方式获得的精子进行卵胞浆内单精子注射(ICSI)治疗的临床效果。方法 比较精液精子、附睾精子、睾丸精子进行 ICSI 治疗后的受精率、优质胚胎率、种植率及妊娠率等。结果 3 种取精方式获得的精子进行 ICSI 治疗的受精率、优质胚胎率、种植率及妊娠率差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 3 种取精方式获得的精子进行 ICSI 治疗的临床效果相似,精子的成熟度可能不会影响 ICSI 的临床效果。

关键词:精子;经皮附睾穿刺取精;睾丸穿刺取精;卵胞浆内单精子注射

中图分类号:R698.2

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2010)03-0302-02

Comparison of treatment outcomes of ICSI with sperm retrieved by three ways

PU Jun¹, QIU Yan²

(1. College of Public Health;2. Assist Reproduction Center of First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract: Objective To compare the treatment outcomes of ICSI with sperm retrieved by three different ways. **Methods** The ICSI was performed respectively with the sperm by ejaculation, percutaneous epididymal sperm aspiration and testicular sperm aspiration, and then the rate of fertilization, the rate of high quality embryo, the rate of embryo implantation and pregnancy rate were compared among 3 groups. **Results** No significant difference was observed in the rate of fertilization, the rate of high quality embryo, the rate of embryo implantation and pregnancy rate, when the ICSI was performed respectively with sperm retrieved by three different ways. **Conclusion** The treatment outcomes of ICSI with sperm retrieved by three different ways are similar. The treatment outcomes of ICSI may not be affected by the maturity of sperm.

Key words: sperm; percutaneous epididymal sperm aspiration; testicular sperm aspiration; ICSI

近 20 年随着现代辅助生殖技术的发展,特别是自 1992 年卵胞浆内单精子注射(intracytoplasmic sperm injection, ICSI)技术的应用,使得男性不育的治疗效果发生了显著变化。众多的不育男性通过 ICSI 技术获得了自己的后代。但精液精子、附睾精子及经睾丸取得的精子进行 ICSI 治疗的临床效果有无区别,是临床普遍关注的问题。为此,本文总结了自 2006 年 1 月至 2008 年 12 月到重庆医科大学附属第一医院辅助生殖中心就诊的 89 例严重少弱畸形精子症及无精子症患者的临床资料,比较了精液精子、附睾精子和睾丸精子进行 ICSI 治疗的临床效果,现报道如下。

1 临床资料

1.1 一般资料 所有患者夫妇二人均在该生殖中心就诊,经检查确认符合卫生部规定的进行 ICSI 的条件。男方年龄 27~41 岁(平均 36.5 岁),原发不育 55 例,继发不育 34 例。排除女方不孕因素、吸烟、助孕前为提高精子活力接受药物治疗的患者。严重少弱畸形精子症的诊断标准:男方 3 次精液常规检查至少有 2 次以上符合以下任一标准者,即一次射精的精子密度小于 1×10^6 /mL; a+b 级运动精子活力小于 1%;按严格标准进行精子形态检查,正常形态精子率小于 1%。或男方 3 次精液常规检查至少有 2 次以上同时满足精子密度小于 5×10^6 /mL, a+b 级运动精子活力小于 10%,按严格标准进行精子形态检查,精子正常形态率小于 5%。无精子症的诊断标准为 3 次射出的精液经离心沉淀后镜检均未见精子。无精子症患者在行 ICSI 前均进行诊断性经皮附睾穿刺取精或经皮睾丸穿刺取证实为梗阻性无精症,尝试各种外科治疗方法均失败。所

有患者血清中性激素水平及染色体核型检查及 Y 染色体微缺失的检查均未见异常。按下列条件进行分组,精液精子组:严重少弱畸形精子症患者 38 例经手淫法或性交法取精;附睾精子组:共 21 例,包括 15 例严重少弱畸形精子症患者在取卵日经各种方法尝试不能取精后采用经皮附睾穿刺获得精子及 6 例梗阻性无精子症患者采用经皮附睾穿刺获得精子;睾丸精子组:共 30 例,包括 20 例梗阻性无精子症患者经皮附睾穿刺取精失败及 10 例严重少弱畸形精子症患者采用常规方法及经皮附睾穿刺取精失败后经皮睾丸穿刺获得精子。3 组在女方年龄、不孕年限、身体状况等方面差异无统计学意义。精液精子、经皮附睾及睾丸穿刺获取精子与采卵同日上午进行,下午行 ICSI。

1.2 治疗方法

1.2.1 精液精子获取方法 禁欲 3~7d,采用手淫法或性交中断法取出精液,离心沉淀。

1.2.2 经皮附睾穿刺取精方法 患者取仰卧位,常规消毒、铺巾,1%利多卡因行穿刺点局麻及精索神经阻滞麻醉。用 7 号针头、5mL 注射器吸取精子培养液约 0.3mL,左手固定一侧睾丸和附睾,右手将注射器经皮肤穿刺进入附睾头部,将注射器拉至 5mL 以上位置形成负压,同时退出针头直至针头离开附睾。若未见附睾液抽出可重复多次穿刺。将抽吸的附睾液连同精子培养液注入小培养皿,在倒置显微镜下寻找活动的成熟精子。如有精子,将抽出液离心沉淀备用。如两侧附睾多次穿刺均未发现精子,可考虑行睾丸穿刺取精术。

1.2.3 经皮睾丸穿刺取精方法 体位及麻醉方法同附睾穿刺

取精。术者用左手牢固固定一侧睾丸于皮下,用 12 号针头、10mL 注射器进行穿刺,右手握注射器经皮肤穿刺进入睾丸白膜内,将注射器拉至 6mL 以上位置形成负压,持续保持注射器负压的同时慢慢退出针头直至针头离开阴囊皮肤,由助手持小镊夹取被吸出阴囊皮肤的曲细精管并注入盛有精子培养液的培养皿中,在显微镜下寻找形态良好的精子。如找不到精子,可改变进针方向进行多点穿刺。必要时可进行睾丸活检术获取精子。

1.2.4 促超排卵 用果纳芬或 HMG 促超排卵,B 超监测卵泡发育,当有 2~3 个卵泡发育到直径超过 18mm 以上时,肌注绒毛膜促性腺激素 10 000u 促进卵子成熟,36h 后采用 B 超引导下经阴道取卵。去除卵母细胞周围的颗粒细胞,加入准备好的培养皿中准备进行 ICSI。

1.2.5 其他 ICSI、原核及胚胎评分、胚胎培养、胚胎移植、黄体支持、妊娠诊断、监测及随访方法均按参考文献[1]进行。

1.3 统计学方法 采用 SPSS11.0 软件包进行处理,受精率和优质胚胎率均数结果采用 *t* 检验,种植率、妊娠率采用 χ^2 检验。

2 结 果

精液精子、附睾精子及睾丸精子进行 ICSI 治疗的临床效果见表 1。

表 1 3 种取精方式的精子进行 ICSI 治疗的临床效果比较(%, $\bar{x}\pm s$)

组别	n	受精率	优胚率	种植率	妊娠率
精液精子组	38	74.78±0.19	44.72±0.25	23.56	35.21
附睾精子组	21	71.38±0.21	51.52±0.27	25.93	38.13
睾丸精子组	30	78.66±0.18	48.17±0.28	22.54	34.21
P		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

3 讨 论

1992 年世界首例 ICSI“试管婴儿”的诞生,标志着男性不育症的治疗达到了一个新的里程碑。ICSI 技术改变了自然的受精过程,使精卵细胞无需经历复杂的生理受精过程,通过直接将精子注入卵细胞内,从而形成受精胚胎。该技术对精子数量、活力、受精能力的要求极低,使得在以前被认为毫无办法的大部分男性不育患者有了生育的希望。

随着 ICSI 技术的不断应用和发展,大大降低了辅助生殖技术对精子的质量及数量的要求。因而相继出现了多种从附睾及睾丸获取精子的方法,并成功获得妊娠。现在临床上广泛采用的经皮附睾或睾丸穿刺获取精子的方法简单易行,创伤小,并发症少。本研究中的 51 例患者均成功的由附睾或睾丸获取足够数量的精子行 ICSI,且无 1 例发生感染、血肿等并发症。

精子在睾丸的曲细精管管壁产生。精子的形成要先后经历精原细胞、初级精母细胞、次级精母细胞、精子细胞和精子等 5 个阶段。精子形成后进入曲细精管管腔,被动运输至附睾,附睾内的精子进一步成熟并获得运动和受精能力。性高潮时精子随精浆被排出体外。由于精液精子、附睾精子及睾丸精子的生理功能存在区别,因而会担心 3 种不同方法获取的精子进

行 ICSI 治疗后其临床助孕效果可能会有差异。本研究结果显示 3 组精子进行 ICSI 治疗后其受精率、优质胚胎率、种植率、妊娠率差异无统计学意义($P>0.05$),与文献报道相似^[2-4]。这说明附睾的精子,特别是睾丸的精子尽管成熟度低,但借助 ICSI 仍然可以获得较高的受精率、优质胚胎率、种植率及妊娠率,其 ICSI 的临床治疗效果与精液精子相当。由于精液精子、附睾精子、睾丸精子的生理功能存在区别,因此 3 种取精方法获取的精子在正常生理状态下的受精效果必然存在差别。但 ICSI 技术改变了受精过程,克服了在正常情况下能导致受精失败的精子形态、活动力和其他方面的缺陷,使自然情况下不能穿过透明带的、活动力差的精子获得受精、卵裂及妊娠^[5]。这可能是精液精子、附睾精子、睾丸精子进行 ICSI 治疗的临床助孕效果差异无统计学意义的原因。

同时应该注意到由于 ICSI 是将单个的精子直接注射到卵细胞内,受精的精子没有经过自然选择的过程,可能使 AZF 基因缺陷人为地遗传给下一代^[6]。因此,对严重少精及无精子症患者行 ICSI 治疗前进行 AZF 基因位点缺失的筛查、进行胚胎种植前遗传学诊断及选择性移植女性胚胎进而阻断遗传途径是必要的。本组患者进行 ICSI 治疗前进行染色体核型分析及 Y 染色体微缺失的检查未发现异常。

总之,本研究结果表明,精液精子、附睾精子、睾丸精子进行 ICSI 治疗的妊娠结局相似,精子的成熟度可能不影响 ICSI 治疗的临床效果。但精液精子、附睾精子、睾丸精子进行 ICSI 治疗的远期临床效果及对个体出生后的影响,有待进一步研究。

参考文献:

[1] 罗亚宁,张顺,李丽,等.经皮附睾穿刺取精术结合单精子卵细胞质内显微注射技术治疗梗阻性无精子症[J].第四军医大学学报,2008,29(11):1031.
 [2] 罗开玲,邓志华,丘映,等.精液精子、附睾精子和睾丸精子卵胞浆内单精子注射助孕结局的比较[J].广西医科大学学报,2008,25(2):275.
 [3] Buffat C, Patrat C, Merlet F, et al. ICSI outcomes in obstructive azoospermia: influence of the origin of surgically retrieved spermatozoa and the cause of obstruction[J]. Hum Reprod, 2006, 21(4):1018.
 [4] Moghadam KK, Nett R, Robins JC, et al. The motility of epididymal or testicular spermatozoa does not directly affect IVF/ICSI pregnancy outcomes[J]. J Androl, 2005, 26(5):619.
 [5] Alukal JP, Lamb DJ. Intracytoplasmic sperm injection(ICSI)-what are the risks[J]. Urol Clin North Am, 2008, 35(2):277.
 [6] Feng C, Wang LQ, Dong MY, et al. Assisted reproductive technology may increase clinical mutation detection in male offspring[J]. Fertil Steril, 2008, 90(1):92.