

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.06.012

## 不同来源精子行 ICSI 治疗不射精症患者的临床疗效\*

高戈<sup>1</sup>, 丁攀<sup>1</sup>, 王荣<sup>2</sup>, 崔险峰<sup>1△</sup>

(1. 天津市中心妇产科医院生殖医学中心, 天津 300100; 2. 天津市永久医院手术室, 天津 300450)

**[摘要]** **目的** 探讨不同来源精子行卵胞浆内单精子注射(ICSI)治疗不射精症患者的临床疗效。**方法** 回顾性分析 2012 年 1 月至 2017 年 6 月在天津市中心妇产科医院生殖医学中心行 ICSI 治疗的 93 例不射精症患者的临床资料, 其中 56 例采用阴茎震动刺激法获得射出精液中的精子, 37 例采用睾丸精子抽吸术(TESA)获得的睾丸精子。比较两组间受精率, 新鲜胚胎移植周期的着床率、临床妊娠率及活产率等情况。**结果** 采用阴茎震动刺激法获得射出精子组和外科取精术获得的睾丸精子组的 ICSI 受精率分别为 59.7% 和 60.2%, 差异无统计学意义( $P=0.89$ ); 优质胚胎形成率分别为 35.9% 和 45.5%, 新鲜胚胎移植周期的着床率分别为 28.2% 和 48.6%, 临床妊娠率分别为 28.6% 和 51.4%, 活产率分别为 25.0% 和 45.9%, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。**结论** 不射精症患者采用外科取精术获得的睾丸精子较阴茎震动刺激法获得射出精子行 ICSI 可获得更高的着床率、临床妊娠率及活产率。

**[关键词]** 不射精症; 震动刺激射精; 卵胞浆内单精子注射; 睾丸; 精子; 分娩**[中图分类号]** R711.6**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2019)06-0945-04

**Clinical effects of different sources of spermatozoa conducting intracytoplasmic sperm injection for treating patients with anejaculation\***

GAO Ge<sup>1</sup>, DING Pan<sup>1</sup>, WANG Rong<sup>2</sup>, CUI Xianfeng<sup>1△</sup>

(1. Center for Reproductive Medicine, Tianjin Central Hospital of Obstetrics and Gynecology, Tianjin 300100, China; 2. Operation Room, Tianjin Yongjiu Hospital, Tianjin 300450, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the clinical effect of different sources of spermatozoa conducting intracytoplasmic sperm injection (ICSI) for treating the patients with anejaculation. **Methods** The clinical data of 93 patients with anejaculation treated by ICSI in the Center for Reproductive Medicine of Tianjin Central Hospital of Obstetrics and Gynecology from January 2012 to June 2017 were retrospectively analyzed. Among them, 56 cases obtained the ejaculated sperms by adopting the penis vibration stimulating (PVS) method and 37 cases obtained the testicular sperms by adopting the testicular sperm aspiration (TESA). The fertility rate, implantation rate of fresh embryo transfer cycle, clinical pregnancy rate and live birth rates were compared between the two groups. **Results** The fertilization rates of ICSI in the obtaining ejaculated sperms by PVS group and obtaining sperms by TESA group were 59.7% and 60.2% respectively, and the difference was not statistically significant ( $P=0.89$ ); the good-quality embryo formation rates were 35.9% and 45.5% respectively, the implantation rates of fresh embryo transfer cycle were 28.2% and 48.6%, the clinical pregnancy rates were 28.6% and 51.4%, and the live birth rates were 25.0% and 45.9% respectively, and the differences were statistically significant ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Conducting ICSI with the testicular sperm by adopting the surgical sperm extraction in the patients with anejaculation can obtain higher implantation rates, clinical pregnancy rate and live birth rate compared with obtaining the ejaculated sperms by PVS.

**[Key words]** ejaculation disorders; penile vibratory stimulation; intracytoplasmic sperm injection; testis; spermatozoa; parturition

不射精症是指既没有顺行射精也没有逆行射精, 是由于精液不能从精囊、前列腺和射精管排入尿道引

起。在男性不育中, 不射精症比较常见。因射精功能障碍引起的不育, 通过药物或心理干预治疗效果较

\* 基金项目: 国家自然科学基金(81601350)。 作者简介: 高戈(1983—), 助理研究员, 博士, 主要从事生殖医学研究。 △ 通信作者, E-mail: cuixianfengmail@163.com。

差,更多的是通过阴茎震动刺激或直肠电刺激收集精液行辅助生殖技术治疗<sup>[1-2]</sup>。阴茎震动刺激是临床治疗不射精症的首选,但仍然有一些患者无法通过阴茎震动刺激诱导射精。对刺激诱导射精失败的患者,可采用外科取精术提取睾丸精子结合 ICSI 治疗<sup>[3]</sup>。本研究回顾性分析不同来源精子行 ICSI 治疗不射精症患者的临床疗效。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2012 年 1 月至 2017 年 6 月在天津市中心妇产科医院生殖医学中心诊断为不射精症行卵泡浆内单精子注射(ICSI)的患者 93 例,所有患者染色体核型分析结果均为正常;其中糖尿病 29 例,脊髓损伤 20 例,骨盆及腹膜后手术 6 例,先天性脊柱畸形 4 例,特发性 34 例。在妻子取卵日,56 例采用阴茎震动刺激法获得射出精液中的精子行 ICSI 治疗(A 组),37 例阴茎震动刺激法获精失败采用睾丸精子抽吸术(TESA)提取的睾丸精子行 ICSI 治疗(B 组)。本研究经医院伦理委员会批准。两组一般资料比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 1。

表 1 两组一般资料比较

项目	PVS 组 (n=56)	TESA 组 (n=37)	P
男方			
年龄( $\bar{x}\pm s$ ,岁)	32.97±5.42	34.24±7.13	0.35
睾丸体积(左+右,mL)	24±6	25±4	0.38
FSH 值( $\bar{x}\pm s$ ,IU/L)	10.48±10.22	12.03±11.38	0.48
女方			
年龄( $\bar{x}\pm s$ ,岁)	28.24±6.24	29.13±7.21	0.55
基础 FSH 值( $\bar{x}\pm s$ ,IU/L)	6.14±1.70	6.36±2.00	0.54
基础 E <sub>2</sub> 值( $\bar{x}\pm s$ ,pg/mL)	40.63±21.25	41.42±22.21	0.83
基础窦状卵泡数( $\bar{x}\pm s$ ,个)	15.14±7.13	14.51±6.02	0.68

FSH:卵泡刺激素;E<sub>2</sub>:雌二醇

## 1.2 方法

**1.2.1 阴茎震动刺激法** 患者取仰卧位或坐位,将振动器置于阴茎系带处(振幅 2.5 mm,频率 100 Hz)直至射精,每次震动时间不超过 3 min,如未射精,休息 2 min 后继续刺激,如连续 3 次刺激均未射精,则采用睾丸精子。将刺激获得的精液离心(1 500 g, 5 min),弃上清,留沉淀及约 200  $\mu$ L 培养液,吹打混均后置培养箱培养 3 min 后用于 ICSI 治疗。

**1.2.2 睾丸精子抽吸术(TESA)** 局部麻醉后以 22G 针头连接 20 mL 注射器经皮穿刺睾丸,负压吸引获得少量睾丸组织,将抽吸的睾丸组织放入盛有 G1.3 培养液的培养皿中,25G 的注射针将睾丸组织机械割成较小的碎块,在 200 倍显微镜下寻找精子。TESA

所得睾丸组织处理镜检发现精子后,将含有睾丸组织的培养液离心(300 g, 5 min),弃上清,留沉淀及约 20  $\mu$ L 培养液,吹打混均后置培养箱培养 3 h 后用于 ICSI 治疗。

**1.2.3 控制性卵巢刺激(COS)方案** 常规采用黄体中期 GnRH-a 长方案进行 COS 周期,降调小于或等于 14 d 时测定激素水平、子宫内膜厚度和窦状卵泡直径,确定达到降调标准后(内膜厚度小于或等于 5 mm、E<sub>2</sub>≤50 pg/mL、促黄体生成素(LH)≤5 IU/L、FSH<5 IU/L、窦状卵泡直径均小于 8 mm),应用 150~300 IU 促性腺激素(Gn)启动 COS 周期,并根据 B 超监测的卵泡情况和血清 LH、E<sub>2</sub> 水平调整 Gn 用量,当大于或等于 3 个主导卵泡直径达到 18 mm 时,肌肉注射绒毛膜促性腺激素(hCG) 4000~10 000 IU,36 h 后 B 超引导下取卵。

**1.2.4 受精和胚胎移植** 受精和胚胎移植按常规方法进行,行 ICSI 后 16~18 h 观察有无原核形成,以双原核(2PN)为正常受精。分别于受精后 41~43 h、61~69 h 察看胚胎卵裂情况,并记录卵裂球数目。根据卵裂球大小均匀与否及核碎片量的多少进行胚胎质量评级<sup>[4]</sup>。新鲜周期胚胎移植均为第 3 天胚胎,移植后 12 d 检测血 hCG 水平,确定是否怀孕,移植后 30 d 超声检查,见宫腔内有孕囊和心管搏动诊断为临床妊娠。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS19.0 统计软件进行分析。计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示,采用两独立样本 *t* 检验;计数资料以率表示,采用  $\chi^2$  检验,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 COS 周期中一般资料比较** 两组 COS 周期中 Gn 剂量、hCG 日 E<sub>2</sub> 水平、成熟卵子数、ICSI 受精率比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),优质胚胎形成率差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 2。

表 2 两组 COS 周期中一般资料比较

项目	A 组(n=56)	B 组(n=37)	P
Gn 剂量( $\bar{x}\pm s$ ,IU)	2 234.36±737.13	2 314.72±751.25	0.63
hCG 日 E <sub>2</sub> 值( $\bar{x}\pm s$ ,pg/mL)	2 946.24±1 832.27	3 241.12±1 821.26	0.42
成熟卵子数( $\bar{x}\pm s$ ,个)	10.46±4.35	10.39±4.88	0.92
ICSI 受精率[% (n/n)]	59.7(302/506)	60.2(201/334)	0.89
优质胚胎形成率[% (n/n)]	35.9(102/284)	45.5(87/191)	<0.05

**2.2 新鲜胚胎移植周期情况比较** 两组间新鲜胚胎移植周期移植胚胎数、移植优质胚胎数及移植日内膜厚度差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),而胚胎着床率、临床妊娠率和活产率差异均有统计学意义( $P<0.05$ ),新生儿的出生体质量、出生存在畸形等异常情

况的发生率差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 3。

表 3 两组新鲜周期胚胎移植情况比较

项目	A 组( $n=56$ )	B 组( $n=37$ )	$P$
移植胚胎数( $\bar{x}\pm s$ ,个)	1.96 $\pm$ 0.27	2.00 $\pm$ 0.24	0.51
移植优质胚胎数( $\bar{x}\pm s$ ,个)	1.18 $\pm$ 0.72	1.32 $\pm$ 0.67	0.33
内膜厚度( $\bar{x}\pm s$ ,mm)	11.16 $\pm$ 1.76	11.21 $\pm$ 2.07	0.88
胚胎着床率[%( $n/n$ )]	28.2(31/110)	48.6(36/74)	<0.01
临床妊娠率[%( $n/n$ )]	28.6(16/56)	51.4(19/37)	<0.05
流产率[%( $n/n$ )]	12.5(2/16)	10.5(2/19)	0.73
活产率[%( $n/n$ )]	25.0(14/56)	45.9(17/37)	<0.05
出生体质量( $\bar{x}\pm s$ ,kg)	3.2 $\pm$ 0.33	3.13 $\pm$ 0.38	0.56
出生存在畸形等异常情况[%( $n/n$ )]	0(0/14)	0(0/17)	>0.05

### 3 讨 论

不射精症是指既没有逆行射精也没有逆行射精,是由于精液不能从精囊、前列腺和射精管排入尿道引起。不射精症在普通人群中并不常见,但它是引起男性不育的重要原因之一。不射精症根据病因分为器质性和非器质性两大类,器质性原因多为中枢或外周神经系统功能障碍、交感神经切除术后、膀胱颈或前列腺部手术、雄激素缺乏、镇静类药物作用、慢性酒精中毒等;而非器质性的原因主要是精神心理障碍。临床诊断非器质性或功能性不射精症主要依靠询问病史,应当向患者仔细询问性交时有无射精感觉或性高潮。实验室检查包括高潮后尿液有无精子等,需与逆行射精、无精液症、输精管道梗阻等相鉴别。还应了解患者不射精症是原发性还是继发性,前者是指患者在清醒状态下从未有过射精;而后者是指患者曾经有过射精,后因其他因素导致不能射精。对于不射精症的治疗首先要进行心理疏导、性教育、性行为指导;其次可以应用麻黄素及左旋多巴等药物治疗<sup>[5-6]</sup>。药物治疗无效且有生育要求者则以阴茎震动刺激或直肠电刺激诱发射精,收集精液,根据收集到的精液质量选择人工授精或体外受精胚胎移植等辅助生殖技术;对于刺激诱发射精失败者可通过外科取精术获得精子行体外受精<sup>[7]</sup>。

不同来源精子对 ICSI 临床结局的影响已有不少研究,有学者认为射出精子组受精率和卵裂率均高于睾丸精子组<sup>[8]</sup>,但大多数研究认为射出精子和睾丸精子的受精率、卵裂率无差异<sup>[9-13]</sup>,这与笔者的研究结果一致。以往的研究中,关于在行 ICSI 治疗时,采用射出精子还是睾丸精子更有利于获得更高的胚胎着床率、临床妊娠率和活产率存在较大争议,一部分学者认为两组妊娠结局差异无统计学意义<sup>[8,10,12,14]</sup>,而另一部分学者的研究则证实睾丸精子较射出精子可获得更高的胚胎着床率、临床妊娠率和活产率<sup>[9,11,15]</sup>。

本研究结果显示,采用外科取精术获得的睾丸精

子较采用阴茎震动刺激法获得射出精子行 ICSI 可在新鲜胚胎移植周期中获得更高的胚胎着床率、临床妊娠率及活产率,而两组间在流产率、新生儿出生体质量及出生出现畸形等异常情况的发生率差异无统计学意义( $P>0.05$ )。出现这种现象的可能原因:睾丸精子虽然成熟度偏低、活力较弱,但其躲避了输精管道不良微环境的影响,所以形态较好、DNA 损伤小、DNA 碎片率低,故而胚胎发育潜能较好,而因为患者不射精症的原因,震动诱导射精射出的精子往往在附睾、输精管中停留时间过长,精子微环境较差、DNA 碎片多、氧自由基损伤程度较高,进而导致胚胎发育潜能较差和植入率偏低<sup>[16-19]</sup>。

值得注意的是,在本研究中,尽管阴茎震动刺激法较外科取精术的优质胚胎形成率明显偏低,但移植优质胚胎数两组间差异无统计学意义( $P>0.05$ ),但外科取精仍较阴茎震动刺激法获得了更高的胚胎着床率、临床妊娠率及活产率,说明 TESA 实际的胚胎发育潜能方面也较好。那么对于不射精症患者行 ICSI 治疗时,是否应该放弃震动刺激射出的精子,而直接采用外科提取的睾丸精子,考虑到外科取精是有创操作,可能带来一些如出血、感染及睾丸萎缩等并发症,同时,本研究中外科取精的患者全部为阴茎震动刺激法取精失败者,并非随机对照试验,因此需综合考虑多方面因素,同时参考更多的随机对照试验的临床研究数据。

### 参考文献

- [1] LEDUC B E, FOURNIER C, JACQUEMIN G A, et al. Midodrine in patients with spinal cord injury and anejaculation: A double-blind randomized placebo-controlled pilot study[J]. J Spinal Cord Med, 2015, 38(1): 57-62.
- [2] SOETERIK T F, VEENBOER P W, LOCK T M. Electroejaculation in psychogenic anejaculation[J]. Fertil Steril, 2014, 101(6): 1604-1608.
- [3] IWAHATA T, SHIN T, SHIMOMURA Y, et al. Testicular sperm extraction for patients with spinal cord injury-related anejaculation: A single-center experience[J]. Int J Urol, 2016, 23(12): 1024-1027.
- [4] Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting[J]. Hum Reprod, 2011, 26(6): 1270-1283.
- [5] ABDEL-HAMID I A, ALI O I. Delayed ejaculation: pathophysiology, diagnosis, and treatment [J]. World J Mens Health, 2018, 36(1): 22-40.
- [6] WINCZE J P. Psychosocial aspects of ejaculatory dysfunction and male reproduction[J]. Fertil Steril, 2015, 104(5): 1089-1094.
- [7] MEHTA A, SIGMAN M. Management of the dry ejacu-

- late; a systematic review of aspermia and retrograde ejaculation[J]. *Fertil Steril*, 2015, 104(5):1074-1081.
- [8] 宋成, 曾勇, 胡晓东, 等. ICSI 中不同来源精子对临床结局的影响[J]. *中华男科学杂志*, 2009, 15(9):822-824.
- [9] CUI X F, DING P, GAO G, et al. Comparison of the clinical outcomes of intracytoplasmic sperm injection between spermatozoa retrieved from testicular biopsy and from ejaculate in cryptozoospermia patients[J]. *Urology*, 2017, 102(1):106-109.
- [10] TSAI C C, HUANG F J, WANG L J, et al. Clinical outcomes and development of children born after intracytoplasmic sperm injection (ICSI) using extracted testicular sperm or ejaculated extreme severe oligo-astheno-teratozoospermia sperm; a comparative study[J]. *Fertil Steril*, 2011, 96(3):567-571.
- [11] BEN-AMI I, RAZIEL A, STRASSBURGER D, et al. Intracytoplasmic sperm injection outcome of ejaculated versus extracted testicular spermatozoa in cryptozoospermic men[J]. *Fertil Steril*, 2013, 99(7):1867-1871.
- [12] INAL H A, KAHYAOGU I, TURKKANI A, et al. Retrospective comparison of intracytoplasmic sperm injection outcomes of sperm retrieved from a testicular biopsy and freshly ejaculated semen in oligozoospermia[J]. *Rev Int Androl*, 2018, 16(4):131-136.
- [13] AMIRJANNATI N, HEIDARI-VALA H, AKHONDI M A, et al. Comparison of intracytoplasmic sperm injection outcomes between spermatozoa retrieved from testicular biopsy and from ejaculation in cryptozoospermic men[J]. *Andrologia*, 2012, 44(Suppl 1):704-709.
- [14] NARU T, SULAIMAN M N, KIDWAI A, et al. Intracytoplasmic sperm injection outcome using ejaculated sperm and retrieved sperm in azoospermic men[J]. *Urol J*, 2008, 5(2):106-110.
- [15] ESTEVES S C, SÁNCHEZ-MARTÍN F, SÁNCHEZ-MARTÍN P, et al. Comparison of reproductive outcome in oligozoospermic men with high sperm DNA fragmentation undergoing intracytoplasmic sperm injection with ejaculated and testicular sperm[J]. *Fertil Steril*, 2015, 104(6):1398-1405.
- [16] MOSKOVITSEV S I, JARVI K, MULLEN J, et al. Testicular spermatozoa have statistically significantly lower DNA damage compared with ejaculated spermatozoa in patients with unsuccessful oral antioxidant treatment[J]. *Fertil Steril*, 2010, 93(4):1142-1146.
- [17] HENKEL R, BASTIAAN H S, SCHUELLER S, et al. Leucocytes and intrinsic ROS production May be factors compromising sperm chromatin condensation status[J]. *Andrologia*, 2010, 42(2):69-75.
- [18] GRECO E, SCARSELLI F, IACOBELLI M, et al. Efficient treatment of infertility due to sperm DNA damage by ICSI with testicular spermatozoa[J]. *Hum Reprod*, 2005, 20(1):226-230.
- [19] SHIVA M, GAUTAM A K, VERMA Y, et al. Association between sperm quality, oxidative stress, and seminal antioxidant activity[J]. *Clin Biochem*, 2011, 44(4):319-324.

(收稿日期:2018-10-16 修回日期:2018-12-08)

(上接第 944 页)

- of the osteopontin induced by estrogen correlates with migration of endometrial epithelial cells in endometriosis[J]. *Chin General Prac*, 2016, 19(5):554-559.
- [5] 蔡柏岑, 周应芳. 子宫内膜异位症临床特点及相关因素分析[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2014, 28(5):483-484.
- [6] MELIN A, SPARÉN P, PERSSON I, et al. Endometriosis and the risk of Cancer with special emphasis on ovarian Cancer[J]. *Hum Reprod*, 2006, 21(5):1237-1242.
- [7] 李荣. 子宫内膜异位症的诊治进展[J]. *医学综述*, 2013, 19(13):2409-2411, 2417.
- [8] 李梅. 腹腔镜与米非司酮联合治疗子宫内膜异位症的疗效观察[J]. *中国妇幼保健*, 2015, 30(25):4394.
- [9] LI X, BAO Y, FANG P, et al. Effect of mifepristone on COX-2 both in eutopic and ectopic endometrium in mouse endometriotic model[J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2012, 286(4):939-946.
- [10] BOUCHARD P, CHABBERT-BUFFET N, FAUSER B C. Selective progesterone receptor modulators in reproductive medicine: pharmacology, clinical efficacy and safety[J]. *Fertil Steril*, 2011, 96(5):1175-1189.
- [11] GUO Y, CHEN Y, LIU L B, et al. IL-22 in the endometriotic milieu promotes the proliferation of endometrial stromal cells via stimulating the secretion of CCL2 and IL-8[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2013, 6(10):2011-2020.
- [12] 尉伟东, 阮菲, 余飞霞, 等. 细胞因子信号传导抑制物-3 和 caspase-3 在子宫内膜异位症中的表达及其相关性[J]. *中华病理学杂志*, 2013, 42(8):515-518.
- [13] 黎俊伶. 子宫内膜异位症发病机制及药物治疗研究进展[J]. *右江医学*, 2013, 41(3):431-433.
- [14] 秦江霞, 岳玉焕, 杨爱银, 等. COX-2、VEGF 以及 MVD 在子宫内膜异位症中表达及意义[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2014, 22(6):69.
- [15] JANA S, CHATTERJEE K, RAY A K, et al. Regulation of Matrix Metalloproteinase-2 Activity COX-2-PGE2-pA-KT Axis Promotes Angiogenesis in Endometriosis[J]. *PLoS One*, 2016, 11(10):e0163540.
- [16] SUTRISNO S, MASTRYAGUNG D, KHAIRIAH R, et al. The effects of genistein on estrogen receptor expression, cell proliferation, and apoptosis in endometriosis cell culture[J]. *Iet Control Theory Applications*, 2014, 4(3):205.

(收稿日期:2018-10-28 修回日期:2018-12-16)