文章编号:1000-5404(2009)07-0629-03

论著

同源卵母细胞在输卵管性不孕患者行IVF和ICSI的结果比较

叶贵丹,谭晓珊,谭兵兵,胡雪梅,杨志敏,刁 英,张明哲 (遵义医学院附属医院生殖医学中心,贵州 遵义 563003)

摘 要:目的 比较分析同源卵母细胞分别实施常规体外受精(IVF)和卵胞浆内单精子显微注射(ICSI)的结果。**方法** 回顾性分析2006年8月至2008年8月因输卵管因素不孕的夫妇的48个治疗周期,将同胞卵和同一份精液行常规IVF和ICSI后的结果进行比较分析。**结果** 48例患者中常规IVF完全受精失败8例,ICSI均受精,完全受精失败率为16.7%;IVF、ICSI均受精组中ICSI受精率(78.6%)高于常规IVF(66.4%),差异有统计学意义($P<0.01$)。移植常规IVF受精胚胎17例,临床妊娠7例,临床妊娠率41.2%;移植ICSI受精胚胎15例,临床妊娠6例,临床妊娠率40.0%;混合移植IVF+ICSI受精胚胎16例,临床妊娠6例,临床妊娠率37.5%,差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 对于输卵管性不孕且可疑或高危IVF受精障碍人群在首次IVF助孕治疗时,可选择将部分卵行ICSI,减少取消移植的风险。

关键词: 常规体外受精-胚胎移植;卵泡浆内单精子显微注射;同胞卵;受精失败
中图法分类号: R321.1; R711.6; R714.13 **文献标识码:** A

Fertilization of IVF versus ICSI using sibling oocytes from patients with tubal infertility

YE Gui-dan, TAN Xiao-shan, TAN Bing-bing, HU Xue-mei, YANG Zhi-min, DIAO Ying, ZHANG Ming-zhe (Reproductive Medicine Center, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China)

Abstract: Objective To compare and analyze the fertilization result and the clinical outcome of sibling oocytes after conventional *in vitro* fertilization (IVF) or intracytoplasmic sperm injection (ICSI) in patients with tubal obstruction. **Methods** From August 2006 to August 2008, 48 sibling oocytes from 42 woman with primary infertility and 6 with secondary infertility were inseminated with the corresponding same semen sample by ICSI and conventional IVF respectively in our hospital. The result of fertilization and the clinical outcome were retrospectively studied. **Results** The rate of complete fertilization failure was 16.7% (8/48) in IVF group while 0 in ICSI group. For the 40 patients whose oocytes were inseminated by ICSI and IVF, there were 470 oocytes harvested, half used for ICSI and half for IVF. The fertilization rate in the ICSI group was 78.6% (173/220), significantly higher than that in IVF group (156/235, 66.4%). In IVF group, 17 best embryos were selected for embryo transfer and 7 patients had clinical pregnancy with a rate of 41.2%. In ICSI group, the clinical pregnancy rate was 40.0% (8/15), and for IVF + ICSI group. The rate was 37.5% (6/16). There was no significant difference in implantation rate and pregnancy rate of the embryos obtained with either technique. **Conclusion** ICSI should be carried out at the same time with IVF for those with suspect or high risk of IVF failure.

Key words: *in vitro* fertilization; intracytoplasmic sperm injection; sibling oocytes; complete fertilization failure

在常规体外受精(*in vitro* fertilization, IVF)中,出现完全不受精对于医患双方而言都是令人沮丧的,这部分患者往往要经受失败的精神痛苦和经济损失的双重打击,还得为再次周期做好准备[1,2]。目前在临床工作中经常有这样一类患者,我们无法排除其不育原因为受精障碍,在进行助孕时,采取何种授精方式更为适合?在尚未开展精子功能试验而卵泡浆内单精子显微注射(intracytoplasmic sperm injection, ICSI)技术稳定的生殖医学中心,可否采用IVF与ICSI联合治疗,以避免或减少受精失败?同时又使大部分患者获

作者简介:叶贵丹,女,贵州省遵义市人,硕士,副主任医师,主要从事辅助生殖技术方面的研究,发表论文10余篇。电话:(0852)8608510,E-mail:duoduogz@163.com

收稿日期:2008-09-21;修回日期:2008-10-30

得自然受精胚胎,从而减少取消周期。本中心结合自身的特点,本着用最简单、最经济的治疗方法得到最佳治疗效果的目的,对部分因输卵管性不育的患者行IVF助孕时,采用一半进行IVF授精,一半进行ICSI授精的方式,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象

2006年8月至2008年8月因输卵管梗阻在本生殖中心采用同一份精液标本行常规IVF和ICSI助孕的患者,共48个周期,原发性不育42例,继发性不育6例,女方年龄24~39(31.5±3.5)岁,不孕年限为4~20(7.6±3.2)年。其中合并有排卵障碍3例,子宫内膜异位症1例,男方精液检查按世界卫生组织的标准诊断轻度弱精7例,余均正常。所有患者签署知情同意书,并报伦理委员会批准备案。

1.2 方法

1.2.1 临床技术 采用本中心常规方案,前1个月经周期第21天开始降调解,达菲林(3.75 mg/支,法国 Signes)1~1.25 mg肌注,月经周期第3~5天查血性激素卵泡生成素(FSH)、黄体生成素(LH)、雌二醇(E_2)值达充分降调节标准后开始用果纳芬(Gonal-f,瑞士 Sereno 公司)促排卵,当超声检查发现1个直径≥18 mm或2个≥16 mm的卵泡的当天晚,予HCG 10 000 U肌注,34~36 h后经阴道超声下引导采卵。采卵后第3天胚胎移植,剩余优质胚胎冷冻。黄体支持为采卵日开始每日黄体酮60 mg肌注。

1.2.2 IVF/ICSI实验室技术 采卵后4~6 h使用同一份精子标本进行常规IVF和ICSI。精子采用上游离心法准备。16~18 h观察受精情况,24~48 h仍未受精则认为受精失败。

1.3 分组

诊断依据WHO不孕夫妇检查与诊断手册,严格按照卫生部2003年颁布的《人类辅助生殖技术和人类精子库技术规范、基本标准及伦理原则》中规定IVF/ICSI的适应证决定助孕方式。对于IVF治疗的病例中满足以下条件者则将获取的卵子一半进行IVF受精,一半进行ICSI受精:①男方精液检查正常,不孕时间达5年者;②男方精液检查示轻度弱精,不孕时间达4年者;③男方染色体检查正常。

1.4 妊娠诊断标准

在胚胎移植后2周检查尿HCG阳性为生化妊娠。移植后5周,B超检查见孕囊为临床妊娠。

1.5 统计学分析

采用SPSS 10.0统计软件,计量资料用$\bar{x}\pm s$表示,采用t检验;率的比较用χ^2检验。

2 结果

2.1 受精情况

48例患者中有8例IVF完全受精失败,ICSI均受精,IVF完全受精失败率16.7%。其中原发不孕7例,继发不孕1例(与前男友有妊娠史),不孕原因均为输卵管因素,男方精液质量分析均正常;1例不孕年限为12年,2例不孕年限为9年,3例不孕年限为4年,不孕年限6年及7年各1例。IVF和ICSI均受精的40例患者中共获卵子470个,平均获卵11.75个/例,其中235个卵行常规IVF,受精156个,受精率为66.4%,另外235个卵中有220个MⅡ期成熟卵实施ICSI,受精173个,受精率为78.6%,与IVF受精相比,差异有统计学意义($P<0.01$)。IVF完全受精失败,仅ICSI受精的8例患者共获卵83个,平均获卵10.38个/例,其中39个卵行常规IVF,39个卵行ICSI,余5个为退化卵,有30个正常受精,正常受精率为76.9%。

2.2 移植胚胎及妊娠结局

48例患者均进行了胚胎移植。在ICSI和常规IVF均获得良好胚胎的情况下,优先选择常规IVF形成的良好胚胎进行移植。本组中移植IVF胚胎17例,临床妊娠7例,妊娠率41.2%;移植ICSI胚胎15例,临床妊娠6例,临床妊娠率为40.0%;混合移植IVF和ICSI受精胚胎16例,临床妊娠6例,临床妊娠率为37.5%。移植胚胎数(按卫生部文件执行)、子宫内膜的厚度、胚胎着床率等差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

表1 48例患者胚胎移植及妊娠结局

项目	移植周期	移植胚胎数	移植日内膜厚度(mm)	妊娠率(%)	着床率(%)
IVF	17	32	10.1±1.3	41.2(7/17)	21.9(7/32)
ICSI	15	31	10.3±1.0	40.0(6/15)	19.4(6/31)
IVF+ICSI	16	36	10.2±1.2	37.5(6/16)	19.4(7/36)[a]
P值	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

a:有双胎1例

2.3 不同受精方法实验室指标比较

IVF组受精率为56.9%(156/274)、优胚率69.9%(109/156),完全受精失败8例(8/48),完全受精失败率为16.7%;ICSI组受精率为78.4%(203/259)、优胚率78.8%(160/203),无完全受精失败者,2组差异有统计学意义($P<0.01$),但其妊娠率及着床率(以移植单一受精方式胚胎计算),差异无统计学意义($P>0.05$)。

3 讨论

近20年来,辅助生殖技术得到长足进步,目前大多数生殖中心常规IVF受精率为60%~70%,但有一些周期完全不受精或受精率低于25%,文献[1-3]报道在常规IVF中其发生率为12.2%~20.51%。常规IVF-ET受精失败可能归结于精子原因、卵母细胞原因。卵母细胞因素大多存在多囊卵巢综合征(PCOS)患者中,认为与此类患者存在卵母细胞透明带异常有

关[2];精子原因主要为精子的获能、皮质反应、精子与透明带结合、精子穿透并与卵泡浆融合等功能障碍[4]。通常生殖中心的精液质量分析用的是 WHO 标准,主要包括精子计数、活动力、形态。有条件的中心可做一系列精子功能试验,如精子的透明带结合和穿透试验,透明带诱发顶体反应等以提供更科学的建议。大多数生殖医学中心对于常规 IVF 不受精周期常采取的治疗方案有:①补救 ICSI 后可以受精,降低周期取消率,但由于其受精率、妊娠率和出生率均很低,认为其临床应用价值还有待于进一步探讨[5];②再次助孕治疗时,采用 ICSI 治疗[6]。

试管婴儿受精方式的选择主要依赖于男方精液检查结果和患者既往 IVF 的经验。对于非男性因素不孕夫妇如何选择受精方式无统一标准,目前尚少见完全排除受精失败的试验报道。魏玉兰等[3]报道 17 例常规 IVF 受精失败的病例,不孕年限 3 ~ 11 年,不孕年限大于 5 年的占总人数的 76.5%。本组资料中 8 例常规 IVF 失败中,不孕年限在 5 年以上者有 5 例,占 62.5%。故即使对于输卵管性不孕的患者,有高危 IVF 受精障碍人群(多年原发不孕),在首次行 IVF 时,可选择部分卵行 ICSI,以减少取消移植的风险。

本研究将同胞卵和同一份精液行常规 IVF 和 ICSI,对 2 种受精方法进行了自身对照比较,结果临床妊娠率、着床率 2 组差异无统计学意义,但常规受精组受精率为 56.9%,明显低于 ICSI 组(78.4%,$P < 0.01$),完全受精失败率分别为 16.7%(常规受精组)和 0(ICSI 组),与文献[1,7,8]报道的结果基本一致。提示虽然患者的精液标本符合 WHO 标准,但可能存在着某些难以发现的功能障碍,如透明带-顶体反应缺陷、精子核染色质不成熟等,这可能是导致常规受精完全失败的主要原因。由于 IVF 治疗周期长,费用昂贵,对这类患者如果首选 IVF 治疗,虽然本组资料显示每周期和每移植临床妊娠率与 ICSI 无明显差别($P < 0.05$),但总的受精率明显低于 ICSI 治疗($P < 0.01$),不受精风险较大($P < 0.01$),可供移植或冷冻的胚胎相对较少,从而影响每例总的怀孕率。而两者的经济花费相差不多,故我们建议在患者充分知情的情况下,在 ICSI 技术稳定的医学中心对这类患者首次行 IVF 治疗时,将超促排卵取出的卵母细胞一部份行常规受精,一部分行 ICSI 受精,可避免因完全受精失败导致无胚胎移植而终止治疗,同时又可使大部分患者获得自然受精胚胎,亦符合优生优育的观点。并且 IVF 和 ICSI 联合治疗还有诊断意义,能够筛查受精障碍的不孕患者,如果 IVF 受精障碍或受精率低下,再次治疗时,应全部采用 ICSI 治疗。

ICSI 技术是有效治疗男性不育症的方法。Retzloff 等[9]收集 44 篇文献(1992 - 2003 年)得到的结论是对于那些未使用 ICSI 技术不能获得妊娠的夫妇,ICSI 技术是一种安全的替代受精方式。ICSI 之后出生的新生儿与正常新生儿人群比较,先天畸形率无差异[10-12]。

总之,同源卵母细胞分别实施 IVF 和 ICSI 可以增加受精率,避免完全受精失败,提高受孕机会。在 ICSI 技术稳定的医学中心不失为一种较好的辅助生殖技术治疗方案。

参考文献:

[1] Staessen C, Camus M, Clasen K, *et al*. Conventional *in-vitro* fertilization versus intracytoplasmic sperm injection in sibling oocytes from couples with tubal infertility and normozoospermic semen[J]. Hum Reprod,1999,14(10):2474 - 2479.

[2] Hwang J L, Seow K M, Lin Y H, *et al*. IVF versus ICSI in sibling oocytes from patients with polycystic ovarian syndrome: a randomized controlled trial[J]. Hum Reprod,2005,20(5):1261 - 1265.

[3] 魏玉兰,胡　娟,朱桂金. 原发不孕行体外受精-胚胎移植术授精方式的探讨[J]. 华中科技大学学报:医学版,2004,33(5):628 - 629,635.

[4] 庄广伦. 现代辅助生殖技术[M]. 北京:人民卫生出版社,2005:223,238 - 241.

[5] 李晓虹,于丛一,麦美琪,等. 常规 IVF 不受精周期行补救卵母细胞单精子注射[J]. 中山大学学报:医学科学版,2007,28(2):188 - 191.

[6] 罗丽兰. 不孕与不育[M]. 北京:人民卫生出版社,1998:431.

[7] 郑晓英,刘　平,廉　颖,等. 体外受精治疗不明原因不孕受精方法的探讨[J]. 生殖与避孕,2008,28(5):264 - 267.

[8] Bungum L, Bungum M, Humaidan P, *et al*. A strategy for treatment of couples with unexplained infertility who failed to conceive after intrauterine insemination[J]. Reprod Biomed Online, 2004, 8(5): 584 - 589.

[9] Retzloff M G, Hornstein M D. Is intracytoplasmic sperm injection safe?[J]. Fertil Steril,2003,80(4):851 - 859.

[10] 唐文豪,陈咏健,马潞林,等. ICSI 治疗男性不育的有效性和安全性[J]. 国外医学:计划生育分册,2004,23(1):11 - 14.

[11] 汤丽莎,冯玉华,李廷林,等. 79 例卵母细胞浆内单精子注射术(ICSI)治疗男性不育临床及安全性研究[J]. 中国优生与遗传杂志,2006,14(7):108 - 109.

[12] 许张晔,叶碧绿,周　凯,等. 体外受精-胚胎移植出生 2 岁幼儿生长发育的研究[J]. 生殖医学杂志, 2008,17(4):258 - 261.

(编辑　汪勤俭)