论 著 文章编号:0253-3626(2008)11-1341-04

避免常规体外受精失败-部分卵子单精子卵泡浆内显微注射364周期分析

曾品鸿,裴 莉,刘军霞,龙 江,叶 虹,黄国宁
(重庆市妇产科医院遗传与生殖研究所,重庆 400013)

【摘 要】目的:探讨部分卵子单精子卵泡浆内显微注射(Half intracy toplasmic sperm injection,half-ICSI)的适应征及half-ICSI对于挽救试管受精(In vitro fertilization,IVF)失败的意义。方法:对2002年~2005年7月364周期half-ICSI中IVF受精失败(受精率为0)和受精率低下(受精率<30%)的指征与half-ICSI中IVF受精率正常(受精率>65%)的指征进行比较。结果:half-ICSI组IVF受精率低于常规IVF受精率。受精率低下组和受精率失败组中男性边缘因素占51.2%和63.3%,与受精率正常组比较,其指征有显著性差异($P<0.05$)。30例IVF受精率为0的患者中11例由于采用了half-ICSI的方式,获得ICSI受精的胚胎,进行了移植,而获得妊娠,占30例患者中36.7%。结论:男性边缘因素是half-ICSI的适应征。half-ICSI可以做为疑IVF受精困难者的选择,很好地预防IVF受精失败,以及低受精率的出现。

【关键词】部分卵子-单精子卵泡浆内显微注射;受精率;指征;受精失败;受精率低下
【中国图书分类法分类号】R589.2 【文献标识码】A 【收稿日期】2007-10-12

A insemination method to prevent fertilization failure-intracytoplasmic sperm injection in half oocytes of retrieval: A study of 364 cycles

ZENG Pin-hong, et al
(*Chongqing Obstetrics and Gynecology Hospital, Reproductive and Genetic Institute*)

【Abstract】*Objective*:To investigate the indications of half-ICSI and the value of half-ICSI to prevent fertilization failure. *Methods*:The indications of the cases in the group of fertilization failure(fertilization rate was 0%)or lower fertilization rate(fertilization rate less than 30%) were compared with those in the group(fertilization rate more than 65%). *Results*:The fertilization rate of IVF(in vitro fertilization) in the half-ICSI was lower than that of conventional IVF. The indication of the borderline semen quality in the groups of fertilization failure and lower fertilization rate were 51.2% and 63.3%, respectively.Compared with the normal fertilization rate group, the indications in the groups of fertilization failure or lower fertilization rate were significantly different($P<0.05$). 11patients out of 30 cases with 0% fertilization rate became pregnant due to the insemination method of half-ICSI and acquired the embryos by this means, accounting for 36.7% in the 30 cases. *Conclusion*:The borderline semen quality is the indication of half-ICSI. Half-ICSI is a choice of the insemination method to prevent fertilization failure, especially uncertain fertilization.

【Key words】Half intracy toplasmic sperm injection(Half-ICSI);Fertilization rate;Indication;Fertilization failure

常规试管受精(In vitro fertilization,IVF)可能出现受精失败或受精率低的现象。由于检测手段有限等诸多的因素,很难预测IVF中的受精失败。常规IVF受精失败的发生率约5%~25%[1]。2003年Manhutte和Arici报道IVF受精失败的发生率为5%~10%[2]。解救常规IVF受精失败的办法有:对IVF受精失败的卵进行再次加精或进行补救卵子单精子卵泡浆内显微注射(Resuce intracy toplasmic sperm injection, rescue-ICSI)[3-6];1996年 Aboulghar MA等[7]开始进行部分卵子单精子卵泡浆内显微注射(Half intracy toplasmic sperm injection,half-ICSI),挽救了22.7%~45.8%的常规IVF受精失败者。

本文对重庆市生殖与遗传研究所2002年1月~2005年7月364例 half-ICSI进行分析,探讨half-ICSI的指征。

1 对象和方法

1.1 对象

2002年1月~2005年7月,我所共实施采卵周期1 903周期,

作者介绍:曾品鸿(1969-),女,副主任医师,
研究方向:生殖内分泌及辅助生殖技术。

其中IVF 1 151周期,ICSI 388周期,half-ICSI 364周期,占总周期19.1%。364例half-ICSI中患者年龄24~40岁，平均年龄(30.8±3.8)岁。不育年限1~18年,平均(6.33±3.29)年。其中原发不育230例,继发不育134例,平均病因确诊年限(3.92±2.94)年。

1.2 half-ICSI指征

1.2.1 男性因素 轻度少弱精(多次精液检查精子密度介于5×10^6 个/ml~20×10^6 个/ml,活动率a+b在30%~50%或a级精子在10%~25%)[8];精液分析严格 Kruger 评分,正常精子形态在 5%~14%之间。

1.2.2 疑受精障碍 至少一侧输卵管通畅,但合并子宫内膜异位症、排卵障碍、盆腔粘连等原因;不明原因不孕;原发不孕时间长(>5 年),确诊输卵管阻塞时间短;盆腔粘连,但双侧输卵管通畅;免疫性不育;排卵障碍(双输卵管通畅)。

1.3 方法

采用我所常规超排卵方案[9],诱导卵泡生长、采卵。将卵子平均分为两组,IVF 受精按照我所常规 IVF 加精时间和方法进行,D1 拆除颗粒细胞观察卵子成熟度和受精情况;ICSI 卵子于采卵当日拆除颗粒细胞观察卵子成熟度,按本所常规 ICSI 方法授精[10]。ICSI 后 16 h,检查有无雌雄原核及第二极体。受精率计算,以 MII 卵为分母,对 half-ICSI 者分别计算 IVF 部分和 ICSI 部分受精率,与常规 IVF 受精率进行比较,比较 half-ICSI 中 IVF 受精正常与低受精率和受精失败者指征构成比。受精卵体外培养 72 h 后选择 2、3 个胚胎移植回子宫腔。胚胎移植后 4 周,B 超检查见胎心搏动为临床妊娠。

1.4 统计学方法

指征构成比和受精率比较均采用 χ^2 检验。

2 结 果

2.1 2002 年 1 月~2005 年 7 月实施助孕技术情况

共实施 OPU 周期 1 903 周期,其中 IVF 1 151 周期,ICSI 388 周期,half-ICSI 364 周期，占总周期 19.1%。常规 IVF 临床妊娠率:36.4%,ICSI 临床妊娠率:35.1%,half-ICSI 临床妊娠率:36.5%,无统计学差异。常规 IVF 获卵 13 522 个,获得 MII 卵 11 169个;half-ICSI 用于 IVF 卵子数为 4 691 个,其中 IVF 授精的 MII 卵 1 940 个,ICSI 授精的 MII 卵 1 939 个。

2.2 受精率计算(见表 1)

2.3 2002 年 1 月~2005 年 7 月常规 IVF 和 half-ICSI 中受精率低下及受精失败情况(见表 2)

half-ICSI 中受精率低下及受精失败的发生率与常规 IVF 中受精率低下及受精失败的发生率比

表 1 受精率计算(以 MII 卵为分母)

	MII 卵	受精数	受精率
常规 IVF 受精率	11 169	10 467	93.7%
Half-ICSI 中 IVF 受精率	1 940	1 546	79.7%*

注:* 两组相比,差异有统计学意义($P<0.05$)

表 2 常规 IVF 和 half-ICSI 中 IVF 受精率低下及受精失败情况比较

受精率	常规 IVF(1 151 周期)	half-ICS(364 周期)中 IVF	P 值
30%<受精率<65%	72(6.3%)	44(12.1%)	NS
受精率<30%	12(1.0%)	8(22.0%)	NS
受精率为 0%	8(0.7%)	31(8.5%)	NS

表 3 half-ICSI 中 IVF 受精率>65%与<65%的一般情况比较

	受精率>65%(280 例)	受精率<65%(84 例)	P 值
一般情况原发不孕	180(64.3%)	51/84(60.7%)	NS
不孕年限	6.36±3.30	6.17±3.33	NS
病因确诊年限	4.03±2.97	3.51±2.76	NS
指征分析			NS
男性因素	94 (33.6%)	43 (51.2%)	<0.05
双侧输卵管阻塞	52(18.6%)	13(15.5%)	NS
不明原因	38(13.6%)	7(8.3%)	NS
子宫内膜异位症	30(10.75)	3(3.6%)	NS
单侧输卵管阻塞	22(7.9%)	4(4.8%)	NS
盆腔粘连(双侧输卵管通畅)	16(5.7%)	5(6.0%)	NS
排卵障碍	12(4.3%)	5(6.0%)	NS
不孕时间长	13(4.6%)	2(2.4%)	NS
免疫因素	4(1.4%)	1(3.6%)	NS

表 4 hhalf-ICSI 中 IVF 受精率为 0 与受精率>65%的不孕原因及指征分析

		受精率为 0(30 例)	受精率>65%(280 例)	P 值
指征分析	一般情况原发不孕	18(60%)	180(64.3%)	NS
	继发不孕	12(40%)	100(35.7%)	NS
	男性因素	19(63.3%)	94(33.6%)	<0.05
	双侧输卵管阻塞	4(13.3%)	52(18.6%)	NS
	不明原因	3(10%)	38(13.6%)	NS
	子宫内膜异位症	1(3.3%)	30(10.7%)	NS
	盆腔粘连(双侧输卵管通畅)	1(3.3%)	16(5.7%)	NS
	不孕时间长	2(6.7%)	13(4.6%)	NS

较有显著性差异。

2.4 half-ICSI 中 IVF 受精率>65%与<65%的一般情况比较及指征分析(见表 3)

NShalf-ICSI 中受精率<65%的 84 例患者中原发不孕的发生率、不孕年限、病因确诊年限与 half-ICSI 中受精率>65%比较没有显著性差异。84 例受精率<65%中男性因素占 51.2%,与 280 例受精率>65%的男性因素(33.6%)比较,有显著性差异。

2.5 30 例 half-ICSI 中 IVF 受精率为 0 与 280 例受精率>65%的不孕原因及指征分析(见表 4)

half-ICSI 中 IVF 受精失败有 30 例,其中男性因素占 63.3%,与 280 例受精率>65%(其中男性因素占 33.6%)比较,有统计学差异。其中 11 例由于采用了 half-ICSI 的方式,获得 ICSI 受精的胚胎,进行了移植,而获得妊娠,占 30 例患者中 36.7%。

3 讨 论

3.1 受精率计算

常规 IVF 受精率计算,以获卵数为分母进行计算。而这种计算方法可能造成选择上的误差:即可能将好的成熟的 MII 卵用于 ICSI,而造成表象上的常规 IVF 受精率和 half-ICSI 中 IVF 受精率的差异,表面上 half-ICSI 中 IVF 受精率非常低,有显著性差异(77.41%与 56.18%)。但是造成这种差异的可能误差原因是常规 IVF 和 half-ICSI 中 IVF 的 MII 卵率并不一致(82.6%与 70.5%,$P<0.05$)。为了使二组数据具有可比性,故以 MII 卵为分母计算受精率。

3.2 受精失败的补救

常规 IVF 受精失败的发生率为 5%~10%。2002 年月 1 月~2005 年 7 月重庆生殖与研究所共实施常规 IVF1151 周期,受精率低下和受精失败共 20 例,占IVF 治疗周期的 1.7%。对第一次常规 IVF 受精完全失败或受精率差的患者再次助孕时通常采用 ICSI 受精,但无论是经济上还是身体上,对患者造成了负担。

解救常规 IVF 受精失败的办法:在 ICSI 技术出现之前,Boldt 等 1 day old 的卵子再次加精,但结局很差[11];Park KS[12]提出采用冷冻部分卵子和 ICSI 技术挽救传统 IVF 受精率低下的问题[12]。在 ICSI 技术出现之后,Sjogren、Tsirigotis、Morton、Yuzpe 等报道[3-6],对 1 day old 的卵子进行 Rescue-ICSI(补救 ICSI),受精率和随后的妊娠率分别在 24~48%和 6%~20%。但补救 ICSI 存在的问题:能否获得满意的妊娠率;补救 ICSI 的安全性问题;ICSI 补救的时机。

Amarin ZO 等[13]总结了 1995 年~2001 年英国 78 对夫妇,616 个未受精 MII 卵 Rescue ICSI 获得 174 个可移植胚胎,仅 4 例妊娠。Kably 等[14]对 26 例 Rescue ICSI 与二次助孕 ICSI 比较,Rescue ICSI 的受精率仅为 46.27%。妊娠率为 0,认为 Rescue ICSI 可能实现较好的受精率,但产生的胚胎可能存在发育潜能差。Pehlivan T 等[15]对 14 个未受精的 MII 卵进行 Rescue ICSI 后获得 4 个胚胎,对 4 个胚胎进行 FISH, 其中 3 例异常:2 个胚胎为 4 倍体胚胎;1个胚胎为嵌合体胚胎,其中 1 个细胞 18 三体、21 三体、性染色体三体。其它细胞是 22 三体。作者不主张采用 Rescue ICSI,认为这样会导致染色体异常增加。我所 2002 年 1 月~2005 年我所进行了 8 例 Rescue-ICSI,受精率为 84.1%,异常受精率为 27%,无 1 例妊娠,妊娠率低,与文献报道一致。

3.3 half-ICSI 的指征

Aboulghar MA 等于 1996 年开始进行 half-ICSI 作为预防 IVF 受精失败的手段的尝试。Aboulghar MA 对不明原因和精液处于边缘(精液密度 5×10^6~10×10^6 个/ml,a+b 20%~30%; 正常形态精子 5%~10%;IBT 实验结合率 20%~50%;上游法处理后精子前向运动力差;锥形精子比率 20%~50%)的患者在第一次IVF 助孕时即进行部分卵子 ICSI(half-ICSI),挽救 22.7%不明原因不育者的受精失败和 45.8%

IVF 未受精的精液处于边缘的不育者。half-ICSI 的指征选择非常重要，否则容易造成 ICSI 指征扩大化。Jaroudi K 等[16]认为对不明原因不育的患者采用 half-ICSI 可以使第一周期受精失败的风险降为最小。Kihaile PE 等[17]对严重畸精症患者第一次助孕周期采用 half-ICSI，结果提示总共避免了 24 个周期完全受精失败，提示单纯严重畸精症的患者，第一个周期采用 half-ICSI 是有益的。Khasmsi F 等[18]的一项前瞻性的随机研究:IVF 中无男性因素指征的病人行 ICSI 可增加受精和优质胚胎形成，认为在无男性因素指征的病人部分卵子行 ICSI，增加每次取卵的受精率和优质胚胎形成率，还可以在几乎所有的病例中避免完全的受精失败问题。Bungum L、Jaroudi K、Hershlag A 等[8,16,19]研究提示 half-ICSI 对于不明原因不育和轻微男性因素不育者，可以避免 IVF 受精失败，认为 half-ICSI 的适应征是不明原因不育和轻微男性因素不育。我所资料显示，男性边缘因素 IVF 受精失败率为 20.2%，不明原因不育者受精失败率为 16.6%，half-ICSI 避免了 19 例男性边缘因素不育者和 3 例不明原因不育者。同文献报道一致[20]。同时在 half-ICSI 指征分析中显示，男性边缘因素不育者中，发生 IVF 受精率低下和受精失败的几率增加，有统计学差异，与文献报道一致。不明原因不育者没有显示统计学差异，可能与病例数较少有关，另外随着诊断技术的提高和一些新的检查(如精子透明质酸实验、透明带结合实验和透明带诱发的顶体反应)的开展，少部分以前为不明原因不育者检查发现为男性边缘因素不育者。

总之，只要掌握好适应征，half-ICSI 可以作为疑 IVF 受精困难者的选择，很好地预防 IVF 受精失败，以及低受精率的出现。男性边缘因素很可能是half-ICSI 的指征，不明原因是否是 half-ICSI 的指征，仍需进一步探讨。

参 考 文 献

[1] Roest J,Van Heusden A M,Zeilmaker G H. Treatment policy after poor fertilization in the first IVFcycle[J]. J Asssisted Reprod Genet,1998,15(1):18-21.

[2] Manhutte N G,Arici A. failed fertilization: is it predicatable [J]? Curropin Obstet Gynecol,2003,15(13):211-218.

[3] Sjogren A,Lundin K,Hamberger L.Intracytoplasmic sperm-injection of 1-day-old oocytes after fertilization failure[J]. Hum Reprod,1995,10((4):974-975.

[4] Tsirigotis M,Nicholson N,Taranissi M. Late Intracytoplasmic sperm injection in unexpected failed fertilization in vitro:diagnostic or therapeutic[J] Fertil Steril,1995,63(5):1038-1042.

[5] Morton P C,Yoder C S,Tucker MJ.Reinsemination by intracytoplasmic sperm injection of 1-day-old oocytes after complete conventional fertilization failure[J]. Fertil Steril,1997,68(3):488-491.

[6] Yuzpe AA,Liu Z,Fluker MR. Rescue intracytoplasmic sperm injection(ICSI)-salvagine in vitro fertilization(IVF)cycles after total or near-total fertilization failure[J]. Fertil Steril,2000,73(6):1115-1119.

[7] Aboulghar M A,Mansour R T,Serour G I. Intracytoplasmic sperm injection and conventional in vitro fertilization for sibling oocytes in cases of unexplained infertility and borderline semen[J]. J Assist Reprod Genet,1996,13(1):38-42.

[8] Hershlag A,Paine T,Kvapil G. In vitro fertilization-intracytoplasmic sperm injection split: an insemination method to prevent fertilization failure[J]. Fertil Steril,2002,77(2):229-232.

[9] 叶 虹,黄国宁,裴 莉,等.促性腺激素释放激素激动剂长、短方案在体外受精-胚胎移植中的比较性研究[J]. 中华妇产科杂志,2001,36(4):222-225.

[10] 黄国宁,叶 虹,刘 红,等.卵细胞浆单精子显微注射(ICSI)治疗不育 67 个周期分析[J]. 实用妇产科杂志,2000,16(4):252-253

[11] Bolde J,Howe A M,Bulter W J. The value of oocytes reinsemination in human in vitro fertilization[J]. Fertil Steril,1987,48(4):617-623.

[12] Park K S,Song H B,Chun S S. Late fertilization of unfertilized human oocytes in in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection cycles: conventional insemination versus ICSI [J]. J Assist Reprod Genet,2000,17(8):419-424.

[13] Amarin Z O,Obeidat B R,Rouzi A A. Intracytoplasmic sperm injection after total conventional in vitro fertilization failure[J]. Saudi Med J,2005,26(3):411-415.

[14] Kably Ambe A,Ruiz Anguas J,Carballo Mondragon E.Correlation between follicle levels of superoxide dismutase and oocyte quality, fertilization rates and embryo development[J]. Ginecol Obstet Mex,2004,2:335-344.

[15] Pehlivan T,Ruiz A. Embryonic chromosomal abnormalities obtained after rescue intracytoplasmic sperm injection of 1-day-old unfertilized oocytes[J]. J Assist Reprod Gene,2004,21(2):55-57.

[16] Jaroudi K,Al-Hassan S,Al-Sufayan H.Intracytoplasmic sperm injection and conventional in vitro fertilization are complementary techniques in management of unexplained infertility[J]. J Assist Reprod Genet,2003,20(9):377-381.

[17] Kihaile P E,Misumi J,Hirotsuru K.Comparison of sibling oocyte outcomes after intracytoplasmic sperm injection and in vitro fertilization in severe teratozoospermic patients in the first cycle[J]. Int J Androl,2003,26(1):57-62.

[18] Khamsi F,Yavas Y,Roberge S. Intracytoplasmic sperm injection increased fertilization and good-quality embryo formation in patients with non-male factor indications for in vitro fertilization: a prospective randomized study[J].Fertil Steril,2001,75(2):342-347.

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

[20] Plachot M,Belaisch-Allart J,Mayenga J M. Outcome of conventional IVF and ICSI on sibling oocytes in mild male factor infertility[J]. Hum Reprod,2002,17(2):362-369.

(责任编辑:冉明会)