

· 临床检验研究论著 ·

精液参数对宫腔内人工授精妊娠率的影响

苏 宁, 王 维, 何 燕, 曾艳华, 黄婷婷, 彭娅娅, 夏 薇

(广州市第一人民医院生殖健康与不孕症专科, 广东广州 510180)

摘要:目的 探讨处理后前向运动精子总数(PTMS)及精子正常形态对宫腔内人工授精(IUI)妊娠率的影响。方法 收集接受了共 417 周期 IUI 治疗的 216 对不孕夫妇。按处理前精子形态, 将其分为形态正常组(正常形态精子百分比: $>15\%$, $n=45$)、轻度畸形组(正常形态精子百分比: $>10\% \sim 15\%$, $n=103$)、中度畸形组(正常形态精子百分比: $>5\% \sim 10\%$, $n=186$)和重度畸形组(正常形态精子百分比: $\leq 5\%$, $n=83$)。根据 PTMS 将其分为 5 组, 第 I 组: $PTMS < 2 \times 10^6$, 第 II 组: $2 \times 10^6 \leq PTMS < 5 \times 10^6$, 第 III 组: $5 \times 10^6 \leq PTMS < 10 \times 10^6$, 第 IV 组: $10 \times 10^6 \leq PTMS < 20 \times 10^6$, 第 V 组: $PTMS \geq 20 \times 10^6$ 。比较各组妊娠率。结果 216 对不孕夫妇临床妊娠 73 例, 周期临床妊娠率 17.50%。第 I、II、III、IV、V 组患者的临床妊娠率分别为 3.3%、15.8%、24.1%、15.0% 和 21.4%。形态正常组、轻度畸形组、中度畸形组和重度畸形组患者的临床妊娠率分别为 20.0%、20.4%、19.4% 和 8.4%。结论 当 $PTMS < 5 \times 10^6$ 或正常形态精子百分比低于 5% 时, IUI 妊娠率显著下降。

关键词:前向运动精子总数; 精子形态; 宫腔内人工授精; 妊娠率

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.23.022

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)23-3154-02

Effects of semen parameters on pregnancy rate of intrauterine insemination

Su Ning, Wang Wei, He Yan, Zeng Yanhua, Huang Tingting, Peng Yaya, Xia Wei

(Department of Reproductive Health and Infertility, the First People's

Hospital of Guangzhou, Guangzhou, Guangdong 510180, China)

Abstract: Objective To explore the effects of processed total motile sperm count(PTMS) and normal sperm morphology on pregnancy rate of intrauterine insemination(IUI). **Methods** 216 infertile couples who had accepted total of 417 cycles of IUI treatment were enrolled. According to sperm morphology before processing, they were divided into normal morphology group(percentage of normal sperm morphology: $>15\%$, $n=45$), mild deformity group(percentage of normal sperm morphology: $>10\% - 15\%$, $n=103$), moderate deformity group(percentage of normal sperm morphology: $>5\% - 10\%$, $n=186$) and severe deformity group(percentage of normal sperm morphology: $\leq 5\%$, $n=83$). According to PTMS, they were divided into 5 groups: group I: $PTMS < 2 \times 10^6$, group II: $2 \times 10^6 \leq PTMS < 5 \times 10^6$, group III: $5 \times 10^6 \leq PTMS < 10 \times 10^6$, group IV: $10 \times 10^6 \leq PTMS < 20 \times 10^6$ and group V: $PTMS \geq 20 \times 10^6$. Pregnant rates in each group were compared. **Results** A total of 73 cases were found to be clinically pregnant among 216 infertile couples, with 17.50% of clinical pregnant rate per cycle. The clinical pregnant rates of patients in group I, II, III, IV, V were 3.3%, 15.8%, 24.1%, 15.0% and 21.4%, respectively, and those of patients in normal morphology group, mild deformity group, moderate deformity group and severe deformity group were 20.0%, 20.4%, 19.4% and 8.4%, respectively. **Conclusion** Pregnant rates of IUI decreases significantly when PTMS is less than 5×10^6 or percentage of normal sperm morphology is less than 5%.

Key words: processed total motile sperm count; sperm morphology; intrauterine insemination; pregnancy rate

宫腔内人工授精(IUI)是将丈夫的精液经洗涤处理后去除精浆, 将浓集且活力强的精子注入女子宫腔内以达到受孕目的的技术。现代辅助生育技术中, IUI 因其最接近自然妊娠过程, 操作简便、费用低廉而应用广泛。由于受到患者夫妇双方各种因素的影响, IUI 成功率波动于 8%~22%。在各种因素中, 男方精子数目和正常形态率对妊娠率的影响一致备受争议。本文回顾性分析了 2012 年 1 月至 2013 年 2 月在本院生殖健康与不孕症专科 417 周期夫精人工授精的实验室资料, 总结了精液处理前精子正常形态率及处理后前向运动精子总数(PTMS)等数据, 研究这些参数对 IUI 妊娠率的影响, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2012 年 1 月至 2013 年 2 月于本院生殖健康与不孕症专科接受 IUI 的 216 对不孕夫妇, 共行 417 周期 IUI, 其中, 原发不孕 221 周期, 继发不孕 196 周期, 女方平均年龄(29.94 ± 4.14)岁。纳入标准: 女方选用自然周期或促排卵周期, 患者进入周期前经腹腔镜、宫腔镜或子宫输卵管造影术,

证实至少一侧输卵管通畅。

1.2 方法

1.2.1 周期选择 (1)自然周期: 用于月经规律、有排卵的患者, 自月经周期第 10~12 天开始, 采用阴道 B 超监测卵泡发育; (2)药物诱发排卵周期: 用于自然周期失败者, 尤其是月经不规则或自然周期不排卵的患者, 采用克罗米芬和(或)促性腺激素诱导排卵, 月经周期第 3~5 天开始口服克罗米芬 50~100 mg/d, 连用 5 d; 或注射促性腺激素 37.5~75.0 U, 用药期间使用阴道 B 超监测卵泡发育以及子宫内膜厚度, 对单纯使用克罗米芬, 但卵泡发育欠佳者适时加用促性腺激素。

1.2.2 精液采集 男方禁欲 3~7 d, 通过手淫方法采集精液, 置于干净的一次性取精杯中, 立即静置于 37℃ 恒温箱, 待其完全液化后进行检测。使用西班牙 SCA 全自动精子质量分析系统检测精子密度、活动率等各项参数。

1.2.3 精子形态分析 精液涂片固定后, 用改良巴氏染色进行形态评价。100× 倍油镜视野下计数 200 条精子, 仔细观察

每条精子头部、颈中部、尾部和胞浆小体,得出正常精子形态的百分比。检测 2 次以上正常形态精子百分比低于 15% 为畸形精子症。按处理前精子形态,将其分为形态正常组(正常形态精子百分比: $>15\%$, $n=45$)、轻度畸形组(正常形态精子百分比: $>10\% \sim 15\%$, $n=103$)、中度畸形组(正常形态精子百分比: $>5\% \sim 10\%$, $n=186$)和重度畸形组(正常形态精子百分比: $\leq 5\%$, $n=83$)。

1.2.4 精液处理 根据男方精液情况选择密度梯度离心法或上游法分选精子,根据处理后 PTMS 将其分为 5 组,第 I 组:PTMS $<2 \times 10^6$,第 II 组: $2 \times 10^6 \leq$ PTMS $<5 \times 10^6$,第 III 组: $5 \times 10^6 \leq$ PTMS $<10 \times 10^6$,第 IV 组: $10 \times 10^6 \leq$ PTMS $<20 \times 10^6$,第 V 组:PTMS $\geq 20 \times 10^6$ 。

1.2.5 人工授精及黄体支持 当患者最大卵泡直径为 18~20 mm,子宫内膜不低于 8 mm,尿促黄体生成激素(LH)试纸阳性,当日行 IUI;若尿 LH 阴性,注射人绒毛膜促性腺激素(hCG)5 000~10 000 IU 后 24~36 h 行 IUI。女方患者取膀胱截石位,常规消毒外阴,铺无菌孔巾,放置阴道窥器,暴露子宫颈,消毒阴道,用含生理盐水的棉球擦净子宫颈及子宫颈外口,用一次性注射器连接人工授精管将处理好的 0.5~1.0 mL 精子混悬液缓慢注入子宫腔,授精管在子宫腔内停留 2~3 s 后退出,患者抬高臀部仰卧休息 30 min。术后每 3 天内注射 hCG 2 000 IU,共 3 次或每天肌肉注射黄体酮注射液 20 mg,共 14 d,术后 14~16 d 检查尿妊娠试验或测血 β -hCG。

1.2.6 随访 术后 5 周行阴道 B 超检查,见妊娠囊,或原始心管搏动,或流产、异位妊娠经病理学检查证实妊娠者,确定为临床妊娠。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行统计学分析,计数资料用率表示,率的比较采用 χ^2 检验,以 $\alpha=0.05$ 为检验水准,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

216 对不孕夫妇共行 IUI 417 周期,临床妊娠 73 例,周期临床妊娠率 17.50%,累积临床妊娠率 33.8%。

2.1 PTMS 对 IUI 临床妊娠率的影响 第 I、II、III、IV、V 组患者的临床妊娠率分别为 3.3%、15.8%、24.1%、15.0% 和 21.4%,与第 I 组比较,第 III 组和第 V 组的临床妊娠率显著提高,差异具有统计学意义($P<0.05$);其余各组之间两两比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.2 精子正常形态对 IUI 临床妊娠率的影响 形态正常组与畸形精子组患者的临床妊娠率分别为 20.0% 和 17.2%,差异无统计学意义($P>0.05$)。形态正常组、轻度畸形组、中度畸形组和重度畸形组患者的临床妊娠率分别为 20.0%、20.4%、19.4% 和 8.4%,与其他 3 组比较,重度畸形组患者临床妊娠率显著降低,差异有统计学意义($P<0.05$),而其余 3 组之间比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

3 讨 论

IUI 是在女方排卵期将经体外处理后获得的一定数目的高活力精子经导管注入女方子宫腔内,让精子和卵子自然结合以获得妊娠的一种辅助生殖技术。该技术通过上游法或密度梯度法等方式处理精液,有利于精子获能,避免宫颈因素的影响,去除精浆中具有抑制精子活动作用的成分,缩短精子游动的距离,增加了到达受精部位的精子数量,与其他辅助生殖技术相比更符合正常的生殖生理过程,具有经济、创伤小、操作简单的优点,是不孕症常用的治疗方法之一。

IUI 妊娠率受多种因素影响,一项回顾性分析认为,精液处理前正常形态率、PTMS 和处理后精子曲线率是预测男性因

素 IUI 成功率最有意义的指标^[1]。由于 IUI 只是人为帮助精子通过了宫颈屏障,从宫腔至输卵管的旅程仍需依靠精子自身运动完成,因此,反映精子前向运动能力的 PTMS 具有重要的预测价值,但 PTMS 阈值为多少才会影响 IUI 成功率,国内、外报道并不一致。孙源等^[2]认为 PTMS 是男性生育评估及助孕方式选择的重要参考依据,当 PTMS 超过 5×10^6 时,可首选 IUI 治疗。但也有学者认为,只有当 PTMS $\geq 10 \times 10^6$ 时,患者才有可能通过 IUI 获得较为理想的妊娠率^[3-5]。而 Yousefi 等^[6]的研究结果则提示当 PTMS $\geq 20 \times 10^6$ 时,患者才获得较高的临床妊娠率。本研究处理后 PTMS 数量分为 5 个组,可以看出 PTMS $<2 \times 10^6$ 时,妊娠率显著下降,仅为 3.3%,而当 PTMS $\geq 2 \times 10^6$ 时,各组间比较,妊娠率差异无统计学意义($P>0.05$)。笔者认为虽然《人类辅助生殖技术规范》规定人工授精注入精子数应大于 1 000 万,但每个生殖中心应根据自身情况建立 PTMS 界限值,作为男性不孕症患者生育力评估及助孕方式选择的重要参考依据。

精子形态作为精液参数的重要组成部分,在受精过程中起着重要的作用,是近年来逐渐被重视的衡量男性生育能力的指标之一。精液常规和精子形态联合分析有利于提高男性不孕的诊断,而精子 DNA 完整性下降与畸形率高有一定的相关性。目前国内、外学者就精子形态对辅助生殖技术助孕结局影响的研究越来越多。有报道认为,以往临床诊断的不明原因不育,部分是由于畸形精子率高使受精率低或受精失败所致,认为精子形态与精卵结合力有直接关系,比精子密度、存活率、活力等更能在助孕中发挥预测作用^[7]。精子形态与受精率的关系更为直接,对受精能力的预测价值更高。有学者认为按严格形态学标准,正常形态精子大于 4% 时,行 IUI 治疗才能获得较高的妊娠率^[8-9]。Badawy 等^[7]的研究发现,当女方年龄超过 35 岁时,注入的前向运动精子总数低于 5×10^6 ,或正常形态精子小于 30% 时,患者将很难通过 IUI 获得妊娠。同时也有学者认为极重度畸形精子症患者的自然受精率低,需卵细胞胞质内单精子注射(ICSI)助孕^[10]。本资料结果显示,虽然畸形精子组总的临床妊娠率与正常形态组相比,差异无统计学意义,但是仍低于正常形态组,因正常形态组仅 45 个周期,故有待于进一步大样本的临床观察。重度畸形组临床妊娠率仅 8.4%,显著低于正常形态组、轻度畸形组和中度畸形组,提示正常形态精子所占的比率低于 5% 时,IUI 临床妊娠率显著下降,与前述结论一致。本结果表明,重度畸形精子症患者行 IUI 助孕的临床妊娠率明显下降,对此类患者可以建议行体外受精(IVF)或 ICSI 助孕以改善助孕结局。而轻度畸形精子症、中度畸形精子症患者取得了与正常形态组相似的临床妊娠率,说明对于轻、中度畸形精子症患者来说,IUI 仍然是非常有效的一种助孕方式。

综上所述,IUI 临床妊娠率与处理后 PTMS 及精子正常形态密切相关,当处理后 PTMS $<5 \times 10^6$ 或精子正常形态百分比低于 5% 时,IUI 临床妊娠率显著下降,对于这部分患者建议其行 IVF-胚胎移植(IVF-ET)/ICSI-ET 治疗以改善妊娠结局。

参考文献

- [1] Shibahara H, Obara H, Hirano Y, et al. Prediction of pregnancy by intrauterine insemination using CASA estimates and strict criteria in patients with male factor infertility[J]. Int J Androl, 2004, 27 (2): 63-68.
- [2] 孙源,李冰,冯健怀,等.精液处理后活动精子总(下转第 3157 页)

表 2 不同 HBV-DNA 浓度血清的 HBeAg 定量检测结果

HBV-DNA 浓度	n	HBeAg 阳性[n(%)]	HBeAg S/CO 值
阴性	161	56(34.78)	5.79±18.18
10 ³ IU/mL	22	12(54.55)	39.70±113.92*
10 ⁴ IU/mL	33	20(60.61)	149.02±267.74
10 ⁵ IU/mL	28	27(96.43)	447.02±425.31
10 ⁶ IU/mL	52	52(100.00)	816.16±485.68
10 ⁷ IU/mL	10	10(100.00)	867.16±435.40 [△]

*: P>0.05, 与 HBV-DNA 阴性比较; [△]: P>0.05, 与 HBV-DNA 10⁶ IU/mL 比较。

表 3 HBeAg 定量与 HBV-DNA 相关关系

HBV-DNA 浓度	HBeAg	
	r	P
阴性	—	—
10 ³ IU/mL	-0.017	0.941
10 ⁴ IU/mL	0.422	0.014
10 ⁵ IU/mL	0.393	0.039
10 ⁶ IU/mL	0.347	0.012
10 ⁷ IU/mL	0.662	0.037

—: 此项目无数据。

3 讨 论

乙型肝炎是由 HBV 引起的一种严重危害人类健康和生命的全球性传染性疾病, 发展中国家发病率高^[5]。HBeAg 是反映 HBV 存在及复制程度的直接指标^[6]。化学发光法定量检测 HBeAg 比金标法和酶联免疫吸附测定(ELISA)法定性检测结果更能直接反映 HBeAg 的水平。

HBV-DNA 检测是目前临床检测 HBV 最灵敏、最特异的方法, 血清 HBV-DNA 水平是病毒复制活动最直接和最可靠的标志, 也是目前评价 HBV 复制情况的“金标准”, 它可以真实地反映 HBV 的感染及复制^[1,7]。

本研究分析 306 例 HBsAg 阳性的血清标本, 发现 HBV-DNA 阳性 145 例, 这些患者中 HBeAg 阳性 121 例, 占 81.45%; 306 份血清标本中 HBeAg 阳性共 177 例, 其中 HBV-DNA 阳性 121 例, 占 68.36%, 这提示血清 HBV-DNA 水平是目前评价 HBV 复制情况的“金标准”。同时, HBeAg 阴性而

HBV-DNA 阳性 24 例, 占 7.84%; HBV-DNA 阴性而 HBeAg 阳性 56 例, 占 18.30%。由此可见, 虽然 HBV-DNA 是评价病毒复制水平的“金标准”, 但当 HBV-DNA 阴性时, HBeAg 仍有一定的阳性率(18.30%)。这提示 HBV-DNA 的检测并不能完全取代 HBeAg 的定量检测。

有报道指出 HBeAg 是反映 HBV 存在及复制程度的直接指标^[6]。本研究发现 HBV-DNA 浓度为 10⁴~10⁷ IU/mL 时, HBeAg 与 HBV-DNA 浓度存在正相关, 提示当病毒复制达较高水平时, 存在 HBV-DNA 浓度越高, HBeAg 越高的情况。也有报道认为 HBeAg 的浓度不随 HBV-DNA 拷贝数升高而升高^[8], 这可能与研究样本数、对象及地域的不同有关。因此, 还需要通过更多、更广泛的实验数据来进一步探讨二者之间的关系。

综上所述, 临床上为了解患者体内病毒复制情况, 可以在检测 HBV-DNA 的同时进行 HBeAg 定量检测。这样, 不仅可以更准确了解病毒复制情况, 进行疗效监测, 优化治疗方案; 还可以弥补当 HBV-DNA 出现阴性时, 无法准确了解情况的不足。

参考文献

- [1] 黄振勇, 罗永钊. 电化学发光法定量检测乙型肝炎表面抗原与荧光定量 PCR 检测乙肝病毒 DNA 载量的关系[J]. 中外健康文摘, 2012, 9(17): 28-30.
- [2] 杨广辉, 谭明德, 谢玉桃, 等. 干扰素及拉米夫定抗乙型肝炎病毒的体外实验研究[J]. 疾病控制杂志, 2004, 8(3): 135-137.
- [3] 罗向波. 检测乙肝患者血清 HBV-DNA 与血清 HBVM 的临床意义[J]. 实用预防医学, 2007, 14(6): 1886-1887.
- [4] 张晟春. 荧光定量 PCR 检测 HBV DNA 与乙型肝炎病毒标志物的关系探讨[J]. 遵义医学院学报, 2007, 30(2): 196-197.
- [5] 严莉, 乔翠玲. 酶联免疫法检测 HBsAg 和荧光定量 PCR 检测 HBV-DNA 的对比研究[J]. 中国现代医生, 2009, 47(13): 26-27.
- [6] 王厚照, 田丰丰, 陆金霞, 等. ELISA 检测乙肝病毒核心抗原的方法建立及应用[J]. 现代检验医学杂志, 2006, 21(4): 34-35.
- [7] 王平中, 周永兴, 白雪帆, 等. 乙肝病毒定量检测及意义[J]. 第四军医大学学报, 2000, 21(7): 811-813.
- [8] 陈然峰, 陈国军, 董长林, 等. 乙型肝炎四项指标消长分析及其相互关系研究[J]. 江西医学检验, 2002, 20(3): 135-136.

(收稿日期: 2013-06-11)

(上接第 3155 页)

数对宫腔内人工授精妊娠率的影响[J]. 生殖与避孕, 2011, 31(4): 246-249.

- [3] 陈志恒, 孙玲, 全吴敏, 等. 处理后精液参数对夫精人工授精结局的影响[J]. 海南医学, 2012, 23(8): 1-3.
- [4] 张科, 范立青, 刘薇, 等. 活动精子总数、精子形态与宫腔内人工授精妊娠率的关系[J]. 中国现代医学杂志, 2011, 21(19): 2254-2257.
- [5] Dorjpurev U, Kuwahara A, Yano Y, et al. Effect of semen characteristics on pregnancy rate following intrauterine insemination[J]. J Med Invest, 2011, 58(1/2): 127-133.
- [6] Yousefi B, Azargon A. Predictive factors of intrauterine insemination success of women with infertility over 10 years[J]. J Pak Med Assoc, 2011, 61(2): 165-168.

- [7] Badawy A, Elnashar A, Eltotongy M. Effect of sperm morphology and number on success of intrauterine insemination [J]. Fertil Steril, 2009, 91(3): 777-781.
- [8] Demir B, Dilbaz B, Cinar O, et al. Factors affecting pregnancy outcome of intrauterine insemination cycles in couples with favourable female characteristics[J]. J Obstet Gynaecol, 2011, 31(5): 420-423.
- [9] Guven S, Gunalp GS, Tekin Y. Factors influencing pregnancy rates in intrauterine insemination cycles[J]. J Reprod Med, 2008, 53(4): 257-265.
- [10] 崔险峰. 应用严格精子形态学测定法评估精子形态对体外受精率的影响[J]. 中华男科学杂志, 2006, 12(9): 842-843.

(收稿日期: 2013-06-04)