

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.20.007

处理后前向运动精子总数对夫精宫腔内人工授精结局的影响*

朱娟^{1,2}, 黄元华¹, 卢伟英¹, 张毅¹, 黄炜¹, 毛记龙¹, 马燕琳^{1,2}, 羊在家^{3Δ}

(1. 海南医学院第一附属医院生殖中心, 海口 570102; 2. 南方医科大学, 广州 510515; 3. 海南医学院管理学院, 海口 571199)

[摘要] **目的** 研究处理后前向运动精子总数(TPMSC)对促排卵周期夫精宫腔内人工授精(IUI)的临床结局的影响。**方法** 回顾性分析行促排卵周期 IUI 治疗的 4 179 例患者的临床资料, 分析临床妊娠率与处理后 TPMSC 的关系。**结果** 所有患者的临床资料中 TPMSC 偶见活精至 100×10^6 。TPMSC $< 0.15 \times 10^6$ 有 15 例, 有 1 例妊娠(IUI 日精液处理后偶见活精); TPMSC $> 60 \times 10^6$ 有 10 例, 均未妊娠。对 TPMSC $(0.15 \sim 60.00) \times 10^6$ 的共 4 154 例病例进行分析。各组女性年龄、不孕年限、卵泡数、子宫内膜厚度的比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。临床妊娠率为 13.5%(576/4 154), 最高的组为 $(5.00 \sim < 10.00) \times 10^6$ (16.0%), 各组的临床妊娠率比较差异无统计学意义($P = 0.133$)。**结论** 处理后 TPMSC 在 $(0.15 \sim 60.00) \times 10^6$ 行 IUI 均可达到较好的妊娠率。

[关键词] 宫腔内人工授精; 妊娠率; 前向运动精子总数**[中图分类号]** R714.8**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2017)20-2758-03**Influence of total progressively motile sperm count after treatment on outcomes of intrauterine insemination with husband's sperm***Zhu Juan^{1,2}, Huang Yuanhua¹, Lu Weiyi¹, Zhang Yi¹, Huang Wei¹, Mao Jilong¹, Ma Yanlin^{1,2}, Yang Zaijia^{3Δ}

(1. Reproductive Center, First Affiliated Hospital to Hainan Medical University, Haikou, Hainan 570102, China; 2. Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong 510515, China; 3. School of Management, Hainan Medical University, Haikou, Hainan 571199, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the influence of total progressively motile sperm count (TPMSC) after treatment on clinical outcomes of intrauterine insemination (IUI) with the husband's sperm in ovulation-promoting cycles. **Methods** The clinical data in 4179 cases undergoing IUI with the husband's sperm in ovulation-promoting cycles were retrospectively analyzed. The correlation between clinical pregnancy rate and TPMSC was analyzed. **Results** Among all the clinical data, TPMSC was to 100×10^6 in occasional live sperm. TPMSC $< 0.15 \times 10^6$ was in 15 cases, 1 case had pregnancy (live sperm was occasionally seen on IUI day after sperm processing). Ten cases of TPMSC $> 60 \times 10^6$ had no pregnancy. A total of 4 154 cases of TPMSC $(0.15 - 60.00) \times 10^6$ were analyzed. The female age, duration of infertility, number of follicles and endometrial thickness (EDM) had no statistical differences among various groups. The clinical pregnancy rate was 13.5% (576/4 154), the group with the highest clinical pregnancy rate was $(5.00 - < 10.00) \times 10^6$. But there was no statistically significant difference in clinical pregnancy rate among groups ($P = 0.133$). **Conclusion** Performing IUI in TPMSC $(0.15 - 60.00) \times 10^6$ after processing can get preferable pregnancy rates.

[Key words] intrauterine insemination; pregnancy rate; total progressively motile sperm count

人工授精是指将精子通过非性交方式注入女性生殖道内, 使不育夫妇受孕的一种技术。在不孕症的治疗方法中, 是一种简单、经济而非手术性的治疗方式。夫精人工授精 (artificial Insemination by husband, AIH) 是一种接近自然受孕过程的辅助生殖技术, 是病因为男性精液异常、性功能障碍及女性宫颈因素等不孕症的首选治疗方式, 临床中又以宫腔内人工授精 (intrauterine insemination, IUI) 为首选。但多年来 AIH 妊娠率一直较低, 报道为 8%~22%^[1-2]。影响 IUI 妊娠率的影响因素众多^[3-5], 不仅包括女性年龄、不孕因素、促排卵方案等, 还与洗涤后精液质量密切相关, 尤其是精液处理后的前向运动精子总数 (total progressively motile sperm count, TPMSC)。人类辅助生殖技术规范 (2003) 规定人工授精周期注入宫腔的 TPMSC 应大于 10.0×10^6 , 但是临床 IUI 周期中出现处理后

活动精子总数较少的情况并不少见, 尤其是对于少、弱精的患者。根据 WHO 标准^[6-7] 获得妊娠处理后活动精子数至少大于或等于 1.0×10^6 。另外一些文献报道获得妊娠的 TPMSC 的阈值从 $0.3 \times 10^6 \sim 20.0 \times 10^6$ ^[8-9]。本研究旨在对本中心 IUI 资料进行统计, 分析 TPMSC 与妊娠率的关系, 为今后临床工作提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2008 年 1 月至 2014 年 12 月因不孕症在海南医学院第一附属医院生殖中心进行 IUI 治疗患者 4 179 例的临床资料。所有患者均符合卫生部《人类辅助生殖技术规范》规定的 AIH 适应证, 并排除禁忌证。本研究经医院伦理委员会批准, 所有患者均签署知情同意书。入组条件: 不孕年限大于或等于 1 年; 通过子宫输卵管造影或腹腔镜检查证实至少

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81460034); 海南省重大科技项目 (ZDXZ2013003); 海南省哲学社会科学规划课题 (HNSK[QN] 15-23)。作者简介: 朱娟 (1983-), 主治医师, 讲师, 在读博士, 主要从事生殖医学研究。Δ 通信作者, E-mail: yang_zaijia@163.com。

表 1 各组妊娠相关因素的比较($\bar{x} \pm s$)

| 组别($\times 10^6$) | 女性年龄(岁) | 不孕时间(年) | IUI 次数 | 卵泡数(≥ 14 mm) | 内膜厚度(mm) |
|---------------------|----------|---------|---------|--------------------|----------|
| 0.15~<0.50 | 31.4±4.6 | 5.2±3.0 | 1.5±0.7 | 2.5±2.1 | 9.9±2.2 |
| 0.50~<1.00 | 31.3±4.6 | 5.0±2.8 | 1.6±0.9 | 2.6±2.1 | 10.1±2.2 |
| 1.00~<5.00 | 32.1±4.6 | 5.2±3.0 | 1.6±0.8 | 2.5±1.9 | 9.7±3.2 |
| 5.00~<10.00 | 31.9±4.7 | 5.0±3.1 | 1.6±0.9 | 2.4±1.9 | 9.6±3.2 |
| 10.00~<20.00 | 31.9±4.2 | 4.7±2.7 | 1.6±0.8 | 2.5±1.9 | 9.5±2.2 |
| 20.00~<30.00 | 31.8±4.6 | 5.0±2.9 | 1.6±0.9 | 2.4±1.9 | 9.5±2.1 |
| 30.00~60.00 | 31.6±4.6 | 4.8±3.0 | 1.6±0.8 | 2.2±1.5 | 9.5±2.4 |
| P | 0.273 | 0.060 | 0.130 | 0.195 | 0.556 |

一侧输卵管通畅;男方精液纳入标准,IUI 前至少 1 次精液检查精子畸形率小于或等于 96%;均采用促排卵方案治疗;授精时机,注射绒毛膜促性腺激素(HCG)或曲普瑞林后 39~43 h。

1.2 方法

1.2.1 促排卵治疗 女方在月经周期第 3~5 天行阴道超声后开始促排卵,采用克罗米芬(CC)50~100 mg/d \times 5 d、来曲唑(LE)2.5~5.0 mg/d \times 5 d、绝经期促性腺激素(hMG)75 U/d \times (5~6)d 或者数药联合使用进行促排卵治疗,药物剂量根据患者的个体差异确定。通过阴道超声动态监测卵泡的发育情况、子宫内膜厚度与类型,根据监测结果及时调整促排卵药物的用量,当至少有一个卵泡直径达到 18~20 mm 时,下午 5 点给予肌内注射给予 hCG 8 000~10 000 IU 或皮下注射达菲林(注射用醋酸曲普瑞林)0.1 mg。

1.2.2 精液的采集和处理 精液标本为授精当天按 WHO 规定的标准程序采集,男方禁欲 3~7 d,用手淫法采集精液至无菌的采精杯中,室温下液化后洗涤,不液化的采用反复吹打洗涤的方法帮助其液化。精液处理采用梯度离心法,在 5 mL 试管管中底部加入 0.6 mL 体积分数 45% 梯度液 Sperm-grad(瑞士 Vitrolife),巴氏滴管深入底层缓缓加入体积分数 90% 的梯度洗涤液(瑞士 Vitrolife),再将 3 mL 左右液化的精液缓缓加在最上层,离心机中以 250 \times g 梯度离心 16 min,弃去上层液体,仅收集底层精子沉淀,将沉淀物加入 2 mL 精子洗涤液(SR,瑞士 Vitrolife)中混匀,再次 200 \times g 离心洗涤 5 min,弃去上清液,仅留精子沉淀,加 2 mL SR,再次洗涤,弃上清,精子沉淀加 0.3~0.5 mL SR,将沉淀的精子混匀后制成精子悬液,用于人工授精。

1.2.3 人工授精的时机、方法及黄体支持 注射 hCG 或达菲林后次日 8:00(15 h)行阴道超声监测,已排卵的患者当日行 IUI,未排卵的患者于注射 HCG 或达菲林后第 2 天(39~43 h)行 IUI(本研究中均选取注射 HCG 或达菲林后 39~43 h 行 IUI 病例)。女方取膀胱截石位,用灭菌注射用水常规进行会阴、阴道清洗,擦拭宫颈黏液,用一次性人工授精管将制备好的精液约 0.5 mL 缓慢由子宫颈及子宫颈内口注入宫腔,停留 3~5 s 后取出授精管,嘱患者头低臀高位在床上静卧 30 min 后起床离院。人工授精后次日行阴道超声监测,确认排卵后当日即开始肌内注射黄体酮(20 mg/d \times 15 d)或者口服黄体酮胶囊(300 mg/d \times 15 d)。

1.2.4 妊娠诊断 IUI 后第 16 天行晨尿妊娠试验或测血 hCG,IUI 后 30 d 行 B 超检查,发现有孕囊者,确诊为临床妊

娠,其中包括宫外孕。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 22.0 统计学软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析、Kruskal-Wallis 检验;计数资料以率(%)表示,采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况 收集 4 179 例患者的临床资料,TPMSC 偶见活精至 100 $\times 10^6$ 。TPMSC $< 0.15 \times 10^6$ 有 15 例,有 1 例妊娠(IUI 日男性精液处理后偶见活精),TPMSC $> 60 \times 10^6$ 10 例,均未妊娠。对 TPMSC 在(0.15~60.00) $\times 10^6$ 共 4 154 例病例进行分析。按照处理后的 TPMSC 分为以下 7 组:(0.15~<0.50)、(0.50~<1.00)、(1.00~<5.00)、(5.00~<10.00)、(10.00~<20.00)、(20.00~<30.00)、(30.00~60.00) $\times 10^6$ 。女性年龄 21~49 岁,平均(31.8 \pm 4.6)岁,平均不孕时间(5.0 \pm 3.0)年,平均 IUI 次数(1.6 \pm 0.8)次,直径大于或等于 14 mm 卵泡数平均(2.4 \pm 1.9)个,HCG 日子宫内膜厚度(9.6 \pm 2.8)mm。临床妊娠率为 13.5%(576/4 154)。

2.2 各组妊娠相关因素的比较 各组的女性年龄、不孕年限、IUI 次数、子宫内膜厚度等比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

2.3 不同 TPMSC 与妊娠结局的关系 妊娠率最高为(5.00~<10.00) $\times 10^6$ (16.0%),各组的临床妊娠率比较差异无统计学意义($P = 0.133$)。见表 2。

表 2 精液处理后的 TPMSC 分组及各组妊娠

| 组别($\times 10^6$) | n | 临床妊娠[n(%)] |
|---------------------|-------|------------|
| 0.15~<0.50 | 111 | 9(8.1) |
| 0.50~<1.00 | 240 | 28(11.7) |
| 1.00~<5.00 | 1 288 | 176(13.7) |
| 5.00~<10.00 | 1 131 | 181(16.0) |
| 10.00~<20.00 | 862 | 114(13.2) |
| 20.00~<30.00 | 318 | 38(11.9) |
| 30.00~60.00 | 204 | 30(14.7) |
| P | | 0.133 |

3 讨论

影响 IUI 妊娠率的影响因素不仅包括女性年龄、不孕因

素、促排卵方案等,还与处理后精液质量密切相关,尤其是精液处理后的 TPMSC。精液处理后 TPMSC 需要达到一定数量,才能获得较理想的 IUI 妊娠率。IUI 所要求的 TPMSC 数量在不同文献中报道不一,人类辅助生殖技术规范(2003)规定人工授精周期注入宫腔的 TPMSC $>10.0 \times 10^6$, Miller 等^[10]亦认为 TPMSC $>10 \times 10^6$ 时行 IUI 可获得较高的临床妊娠率,另外一项研究则认为处理后的 TPMSC 达 $0.3 \times 10^6 \sim 20 \times 10^6$ 都可获得较好的妊娠率^[9]。在宏莘莘等^[11]的研究中认为精液离心洗涤后 TPMSC $>0.1 \times 10^6$ 通过 IUI 治疗可以获得较满意的妊娠率。

本研究中各组的女性年龄、不孕年限、IUI 次数、子宫内膜厚度比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。研究发现当注入宫腔内的 TPMSC $>60 \times 10^6$ 时,10 例患者无 1 例妊娠。但此类病例样本数较少,需进一步扩大样本量来继续观察。有文献报道,TPMSC $>30 \times 10^6$ 时妊娠率下降^[12]。国际上对于精子过多症尚无明确的标准,且研究较少。前向运动精子过多使 IUI 妊娠率下降的原因可能如下:(1)大量精子进入女性生殖道,在与卵子结合时导致多精子受精;(2)大量精子死亡后产生毒素,对胚胎的运行和植入产生不良影响;(3)多精子症患者同时存在顶体酶的缺乏^[13],合并免疫性不孕等因素。对于处理后精子密度过高者能否进行适当稀释,使注入宫腔的精子总数在合适范围以内,以提高 IUI 的治疗效果,这有待进一步研究。有研究认为多精子症的患者其精子活力、形态、体外受精潜能均不受影响,其妊娠率低的原因可能与精子染色体异常或其他未知功能缺陷有关^[14]。Tournaye 等^[15]的研究亦认为多精子症不影响其体外受精的潜能。以上均提示对于多精子症的患者 IUI 失败亦可尝试体外受精胚胎移植的助孕方式。

最新版 WHO 修订了健康人精子的密度,从 20.0×10^6 /mL 改为 15.0×10^6 /mL,因此临床中对于精液处于临界范围的患者选择进行 IUI 治疗数量可能增加,IUI 精液处理后出现活动精子总数少的情况亦可能增加。本研究各组临床妊娠率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。Lemmens 等^[16]也认为 TPMSC 对妊娠结局的预测价值不大。笔者认为处理后 TPMSC 在 $(0.15 \sim 60.0) \times 10^6$ 行 IUI 均可达到较好的妊娠率,对于处理后 TPMSC $<0.15 \times 10^6$ 的病例放弃本周期的 IUI 治疗。

参考文献

[1] Azantee YW, Murad ZA, Roszaman R, et al. Associated factors affecting the successful pregnancy rate of intrauterine insemination at International Islamic University Malaysia (IIUM) Fertility Centre[J]. Med J Malaysia, 2011, 66(3):195-198.

[2] Kably Ambe A, Carrera Lomas E, Carballo E, et al. Intrauterine insemination results in the Specialized Center for Women's Care[J]. Ginecol Obstet Mex, 2011, 79(5):280-284.

[3] Dong F, Sun Y, Su Y, et al. Relationship between processed total motile sperm count of husband or donor semen and pregnancy outcome following intrauterine insemination [J]. A Syst Biol Reprod Med, 2011, 57(5):251-255.

[4] 徐仰英,王海燕,乔杰,等.影响宫腔内人工授精妊娠率的临床因素分析[J].北京大学学报(医学版),2013,45(6):887-891.

[5] Patricia F, Philippe L, Marjorie L, et al. Clinical success of intrauterine insemination cycles is affected by the sperm preparation time [J]. Fertility Sterility, 2014, 101(6):1618-1623.

[6] World Health Organization. Laboratory manual for the examination of human semen and semen-cervical mucus interaction[M]. 4th ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1999.

[7] World Health Organization. Laboratory manual for the examination and processing of human semen[M]. 5th ed. Geneva: WHO, 2010.

[8] Kilicdag EB, Bagis T, Haydardedeoglu B, et al. The prognostic factors that could be effect pregnancy rates in intrauterine insemination(IUI) cycles[J]. TJOD, 2005, 2:223-228.

[9] Van Weert JM, Repping S, Von Voorhis BJ, et al. Performance of the post-wash total motile sperm count as a predictor of pregnancy at the time of intrauterine insemination a meta-analysis [J]. Fertil Steril, 2004, 82(3):612-620.

[10] Miller DC, Hollenbeck BK, Smith GD, et al. Processed total motile sperm count correlates with pregnancy outcome after intrauterine insemination [J]. Urology, 2002, 60(3):497-501.

[11] 宏莘莘,徐艳文,谈际范,等.洗涤后前向运动精子总数少的宫腔内人工授精周期病例的妊娠结局分析[J].中山大学学报(医学科学版),2015,36(4):574-578.

[12] 郭丰,孙华,郁敏燕,等.精液质量对宫腔内人工授精妊娠结局的影响[J].交通医学,2014,28(6):713-714.

[13] Schill WB, Feifel M. Low acrosin activity in polyzoospermia[J]. Andrologia, 1984, 16(6):589-591.

[14] Chan SYW, Tang LCH, Tang GWK, et al. Spermatozoal fertilizing capacity in polyzoospermia: a preliminary study [J]. Andrologia, 1986, 18:208-213.

[15] Tournaye H, Staessen C, Camus M, et al. No evidence for a decreased fertilizing potential after in-vitro fertilization using spermatozoa from polyzoospermic men[J]. Human Reproduction, 1997, 12(10):2183-2185.

[16] Lemmens L, Sc M, Kos S, et al. Predictive value of sperm morphology and progressively motile sperm count for pregnancy outcomes in intrauterine insemination[J]. Fertil Steril, 2016, 105(6):1462-1468.