

## 处理后精液参数对夫精人工授精结局的影响

陈志恒, 孙 玲, 全吴敏, 王 慧

(广州市妇女儿童医疗中心 生殖医学中心, 广东 广州 510623)

**【摘要】** 目的 探讨精子形态学变化及处理后前向运动精子总数(PTMS)对以男性因素为主的宫腔内人工授精(IUI)妊娠结局的影响。方法 回顾性分析163例共266个男性因素为适应证的IUI周期,依照注入活动精子数分比较各组妊娠率,同时按Krüger's精子形态学严格标准法比较精子正常形态率对IUI妊娠率的影响。结果 266个周期中,临床妊娠39周期,周期妊娠率为14.66%,PTMS $<10\times 10^6$ (A组)、 $10\times 10^6\leq$ PTMS $<20\times 10^6$ (B组)、PTMS $\geq 20\times 10^6$ (C组)这三组发热妊娠率分别为8.57%、12.87%和21.05%,其中A组和C组比较差异具有统计学意义( $P<0.05$ ),而精子正常形态 $<2\%$ (I组)、 $2\%\sim 4.5\%$ (II组)、 $5\%\sim 14.5\%$ (III组)、 $\geq 15\%$ (IV组)这四组的妊娠率分别为3.03%、15.23%、15.11%和20.83%,第I组和第IV组比较具有统计学意义( $P<0.05$ )。结论 在男性因素为主的IUI周期中,精子正常形态率 $<2\%$ 及精液处理后PTMS $<10\times 10^6$ 时周期临床妊娠率明显下降。

**【关键词】** 宫腔内人工授精;精子形态;前向运动精子总数

**【中图分类号】** R713.7 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2012)08-001-03

**Effect of processed spermatozoa parameter on the outcome of intrauterine insemination.** CHEN Zhi-heng, SUN Ling, QUAN Wu-min, WANG Hui. Reproductive Medical Center, Women's and Children's Medical Center of Guangzhou City, Guangzhou 510623, Guangzhou, CHINA

**【Abstract】 Objective** To assess the effect of morphological changes of sperm and processed total motile sperm (PTMS) count on the outcome of intrauterine insemination (IUI). **Methods** A retrospective study was performed on 163 couples who underwent 266 IUI cycles. The pregnancy rates were compared according to the number of PTMS and the percentage of morphologically normal spermatozoa. **Results** A total of 39 clinical pregnancies were obtained in 266 treated cycles, with a pregnancy rate of 14.66%. The pregnancy rates were 8.57%, 12.87% and 21.05% for groups with PTMS $<10\times 10^6$  (group A),  $10\times 10^6\leq$ PTMS $<20\times 10^6$  (group B) and PTMS $\geq 20\times 10^6$  (group C), respectively, with statistically significant difference between group A and group C ( $P<0.05$ ). The pregnancy rates were 3.03%, 15.23%, 15.11% and 20.83% for groups with the percentage of normal sperm  $<2\%$  (group I),  $2\%\sim 4.5\%$  (group II),  $5\%\sim 14.5\%$  (group III) and  $\geq 15\%$  (group IV), with statistically significant difference between group I and group IV ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The clinical pregnancy rate declined distinctively when PTMS $<10\times 10^6$ , and sperm morphology was a significant factor that affects the success of IUI with male factor infertility.

**【Key words】** Intrauterine insemination; Sperm morphology; Processed total motile sperm count

宫腔内人工授精(Intrauterine insemination, IUI)是最早也是最简单的治疗不孕症的辅助生育技术,但由于受到夫妇双方各种不孕因素影响其妊娠率一直偏低,在各种影响因素中,男方精子数目和正常形态率对妊娠率的影响历来均有争论。本文回顾性分析了2005年2月至2009年9月我院生殖中心163对夫妇266个以男性因素为适应证的夫精人工授精周期的实验室资料,总结了精液处理前精子正常形态率和处理后前向运动精子总数(Processed total motile sperm count, PTMS)等各项数据,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 在2005年2月至2009年9月间

到我院生殖医学中心以男方因素行夫精人工授精的不孕夫妇163对,其中原发不孕112周期占42.11%,继发不孕154例占57.89%,女方平均(32.38 $\pm$ 4.07)岁,平均不孕年限(4.5 $\pm$ 3.1)年。治疗前男女双方均按卫生部相关要求完善各项检查,均无人工授精禁忌证。

### 1.2 方法

1.2.1 人工授精流程 (1)自然周期:用于月经规律、有排卵的患者,在月经第8~12天超声下测排卵,直径 $\geq 14$  mm的卵泡为优势卵泡,定期监测主导卵泡直径至18~20 mm,尿黄体激素(LH)测定阳性;(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。①克罗米酚(CC)+人绒毛膜促性腺激素(HCG)方案:月经周期第

5天起CC 50~100 mg/d,连服5 d停药后开始监测优势卵泡,CC的用量可酌情增加至200 mg/d,对内膜过薄者可于停CC后接用戊酸雌二醇(补佳乐) 1~2 mg/d。②克罗米酚+人绝经期促性腺激素(HMG)+HCG方案:月经周期第3~7天服用CC 50~100 mg,月经周期第5天HMG 75~150 IU隔天一次或每天一次,于卵泡成熟时停用HMG。③HMG+HCG方案:月经周期第5天HMG 75~150 IU隔天一次或每天一次,5 d后开始B超监测卵泡,于卵泡成熟时停用HMG。卵泡成熟标准:(a)超声的卵泡直径 $\geq 18$  mm;(b)宫颈黏液评分 $> 8$ 分;(c)尿LH峰出现,如持续2 d宫颈评分8分但尿LH峰未能测到,则加用HCG 10 000 IU促排卵。(3)人工授精时间选择:于给予HCG 10 000 IU或5 000 IU肌注后36 h进行,如果自然周期自发排卵,尿LH升高24 h后行人工授精。

1.2.2 精液收集和处理 男方禁欲3~7 d,手淫取精后,使用西班牙SCA全自动精液质量分析系统检测精子密度、活动率、活力等各项参数。采用非连续密度梯度离心法分离精子,使用瑞典Vitrolife公司SpermGrad为分离试剂,上下两层密度分别为45%和90%,将液化后精液加于加在梯度液上层,300 g离心20 min,移去所有的分层溶液,然后将沉降在离心管底部的精子团重新悬浮于5 ml GIVF培养液中200 g离心5 min,再重新悬浮于0.5 ml GIVF培养液中,测定处理后精液精子密度和活力,精子活力分级标准参照WHO实验室标准<sup>[1]</sup>。

1.2.3 Diff-Quick精子形态学染色 采用瑞士Medion Diagnostics公司Diff-Quik快速染色试剂进行精子染色,取IUI当日标本,将液化精液混匀,取5  $\mu$ l精液直接涂片,每份标本涂片2张,空气中自然干燥,染色过程严格按试剂盒说明书操作。按WHO第五

版的精子形态学标准计数正常精子形态百分率<sup>[1]</sup>。

1.2.4 授精方法 患者排空膀胱后取截石位,常规消毒铺巾,用温无菌生理盐水冲洗阴道,窥器暴露宫颈,直视下将0.5 ml处理后精液用1 ml注射器连接的无损伤性人工授精管通过宫颈管缓缓注入宫腔,患者术后休息30 min。

1.2.5 术后黄体支持和追踪 术后黄体支持:HCG 2 000 U im qod $\times 5$ 或黄体酮20 mg im qd $\times 6$ ,术后14~16 d检查尿妊娠试验或血 $\beta$ -hCG如果阳性则5周后B超确认临床妊娠。

1.3 统计学方法 采用SPSS17.0软件进行统计分析,率的比较采用 $\chi^2$ 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

163对夫妇共进行人工授精周期266个,其中临床妊娠周期39个,周期妊娠率为14.66%。

2.1 处理后前向运动精子总数对宫腔内人工授精临床妊娠率的影响 根据处理后前向运动精子总数(PTMS)分成三组,各组间女方平均年龄、促排卵周期比例差异无统计学意义。各组妊娠率为8.57%、12.87%和21.05%。A组和C组妊娠率比较差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ),而B组介于两组之间,具体见表1。

2.2 精子形态对宫腔内人工授精临床妊娠率的影响 根据IUI当日对精子正常形态率分为正常形态率 $< 2\%$  (I组)、 $2\% \sim 4.5\%$  (II组)、 $5\% \sim 14.5\%$  (III组)和 $\geq 15\%$  (IV组)四组,各组间女方平均年龄,促排卵周期比例均差异无统计学意义。其妊娠率分别为3.03%、15.23%、15.11%和20.83%, I组和IV组妊娠率比较差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ),而II组、III组介于两组之间,具体见表2。

表1 处理后前向运动精子总数对IUI妊娠结局的影响

组别	PTMS ( $\times 10^6$ )	女方平均年龄(岁)	自然周期(个)	促排卵周期(个)	妊娠周期数(个)	周期妊娠率(%)
A组	$n < 10$	33.0 $\pm$ 4.0	27	43	6	8.57*
B组	$10 \leq n < 20$	32.2 $\pm$ 3.9	45	56	13	12.87
C组	$n \geq 20$	32.1 $\pm$ 4.3	40	55	20	21.05*
总计		32.4 $\pm$ 4.1	112	154	39	14.66

注:A组和C组比较, $\chi^2=4.73, *P < 0.05$ 。

表2 精子形态学对IUI妊娠结局的影响

组别	精子正常形态(%)	治疗周期(个)	女方平均年龄(岁)	自然周期(个)	促排卵周期(个)	妊娠数(个)	周期妊娠率(%)
I组	$< 2\%$	33	32.8 $\pm$ 3.4	14	19	1	3.03*
II组	$2\% \sim 4.5\%$	46	33.2 $\pm$ 3.8	22	24	7	15.23
III组	$5\% \sim 14.5\%$	139	32.4 $\pm$ 4.3	56	83	21	15.11
IV组	$\geq 15\%$	48	31.3 $\pm$ 4.1	20	28	10	20.83*
总计		266	32.4 $\pm$ 4.1	112	154	39	14.66

注:I组和IV组比较, $\chi^2=5.28, *P < 0.05$ 。

### 3 讨论

宫腔内人工授精(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的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,因此要求女方子宫和输卵管通道起码有一侧通畅。其适应证主要为男性中轻度少精、弱精、精液液化异常、性功能障碍。女方宫颈因素不孕、生殖道畸形及心理因素导致性交不能等不孕以及免疫和一些原因不明不孕。

IUI的妊娠率受多种因素影响波动于8%~22%之间<sup>[2]</sup>,孙婧等<sup>[3]</sup>认为IUI妊娠率与女性配偶的年龄、不孕年限、不孕类型、不孕原因和促排卵药物的使用等因素有关。一项回顾性分析认为,精液处理前正常形态率、处理后前向活动精子数(PTMS)和处理后精子曲线速率(VSL)是预测男性因素IUI成功率的最有意义指标<sup>[4]</sup>。为了排除女方及双方因素的影响,本研究只选取男性因素为病因IUI周期,重点分析处理后精液样本的质量、数量和正常形态率对人工授精妊娠率的影响。由于IUI只是人为的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处理后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。Blauer等<sup>[5]</sup>以平均PTMS为 $1.93 \times 10^5$ 的活动精子数目行IUI,获得了15%的临床妊娠率。而Wainer等<sup>[6]</sup>认为,处理后PTMS计数 $< 1 \times 10^6$ 组妊娠率显著低于PTMS $\geq 2 \times 10^6$ 。Miller等<sup>[7]</sup>利用多元回归分析得出结论,认为PTMS与妊娠独立相关,在妊娠组PTMS要明显高于非妊娠组。而国内学者郭江华等<sup>[8]</sup>得出相似结论,即当PTMS $> 10 \times 10^6$ 时妊娠率明显升高。本研究根据处理后PTMS数量分为三个组,可以发现PTMS $< 10 \times 10^6$ 时与PTMS $\geq 20 \times 10^6$ 比较,临床妊娠率显著下降,而当PTMS在 $10 \sim 20 \times 10^6$ 时妊娠率处于两者之间,虽然与前后两组比较差异无统计学意义,但仍能看出PTMS与妊娠率之间有一定联系。

精子形态学分析近年来在男性不育症诊断中越来越受到重视,根据Krüger's精子形态学严格标准进行精子形态学评估被认为是评价男性生育力的重要指标之一,部分学者认为精子形态对预测IUI的妊娠率有意义<sup>[9-10]</sup>。Lee等<sup>[11]</sup>研究认为当处理前精子正常形态 $< 4\%$ 时IUI成功率会明显下降,建议行试管婴儿治疗,本研究结果表明,按WHO精子形态学严格诊

断标准<sup>[1]</sup>划分正常形态率 $< 2\%$ 、 $2\% \sim 4.5\%$ 、 $5\% \sim 15\%$ 和 $\geq 15\%$ 四组,其结果显示当正常形态率在 $< 2\%$ 时,IUI的周期妊娠率显著下降,与正常形态率 $\geq 15\%$ 组比较有统计学意义,而中间两组成功率处在两者之间,但仍能获得约15%的周期妊娠率。

综上所述,笔者认为IUI临床妊娠率和注入宫腔内前向运动精子总数有密切相关,当处理后前向运动精子总数小于 $10 \times 10^6$ 时临床妊娠率会受到影响,就精液精子正常形态率而言,正常形态率 $< 2\%$ 组妊娠率显著降低,对于这部分患者建议行试管婴儿治疗。

#### 参考文献

- [1] 世界卫生组织. 谷翊群, 陈振文, 于和鸣, 等. WHO人类精液及精子-宫颈粘液相互作用实验室检验手册[M]. 4版, 北京: 人民卫生出版社, 2001: 5-14.
- [2] Nuojua-Huttunen S, Tomas C, Bloigu R, et al. Intrauterine insemination treatment in subfertility: an analysis of factors affecting outcome [J]. Hum Reprod, 1999, 14(3): 698-703.
- [3] 孙婧, 权孝珍, 谢明霞, 等. 1382周期宫腔内夫精人工授精临床因素分析[J]. 中国妇幼保健杂志, 2011, 26(11): 1658-1676.
- [4] Shibahara H, Obara H, Ayustawati, 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.
- [5] Blauer KL, Keyvanfar K, Matken R, et al. IUI pregnancy rates using  $< 400\ 000$  total motile sperm in presumed fertile couples participating in the MicroSort<sup>®</sup> sperm separation clinical trial for preconception gender selection [J]. Fertil Steril, 2001, 76(3): 76.
- [6] Wainer R, Albert M, Dorion A, et al. Influence of the number of motile spermatozoa inseminated and of their morphology on the success of intrauterine insemination [J]. Hum Reprod, 2004, 19(9): 2060-2065.
- [7] 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.
- [8] 郭江华, 黎平, 邓爱民, 等. 处理后活动精子总数及授精次数对宫腔人工授精妊娠结局的影响[J]. 华北煤炭医学院学报, 2007, 9(4): 465-476.
- [9] Zhao Y, Vlahos N, Wyncott D, et al. Impact of semen characteristics on the success of intrauterine insemination [J]. J Assist Reprod Genet, 2004, 21(5): 143-148.
- [10] Badawy A, Elnashar A, Eltotongym, et al. Effect of sperm morphology and number on success of intrauterine insemination [J]. Fertil Steril, 2009, 91(3): 777-781.
- [11] Lee RK, Hou JW, Ho HY, et al. Sperm morphology analysis using strict criteria as a prognostic factor in intrauterine insemination. [J]. Int J Androl, 2002, 25(5): 277-280.

(收稿日期:2011-12-04)