

逆行射精精子冷冻保存在宫腔内人工授精技术中的应用

田晓华 陈冬丽 刘 华 王超云 赵邦霞[△]

(鄖阳医学院附属十堰市太和医院不孕不育专科 湖北 十堰 442000)

摘要 目的 探讨逆行射精患者尿液中回收精子的冷冻保存及其在宫腔内人工授精(IUI)周期中的应用效果。方法 2008年12月至2011年1月逆行射精患者共计7例,嘱其按要求留取射精后的尿液,充分洗涤后实施液氮蒸汽法超低温精子冷冻,共冻存精液标本14人份。IUI周期时将冻存精子解冻、优化后行宫腔内人工授精。结果 冷冻前、解冻后前向运动精子总数分别为 $(19.9 \pm 10.4) \times 10^6$ 和 $(6.9 \pm 4.2) \times 10^6$,存在显著性差异($P < 0.05$),解冻优化后前向运动精子总数为 $(2.6 \pm 1.7) \times 10^6$,实施IUI 8个周期,临床妊娠1例。结论 超低温冷冻会明显降低前向运动精子总数,但多次冷冻后一次复苏行IUI可能是治疗逆行射精所致不育的一种较为理想的方法。

关键词 逆行射精 精子冷冻 人工授精

中图分类号 R698 文献标识码 A 文章编号 1673-6273(2012)02-304-03

The Efficacy of Cryopreservation and Intrauterine Insemination of Retrograde Ejaculation Sperm

TIAN Xiao-hua, CHEN Dong-li, LIU Hua, WANG Chao-yun, ZHAO Bang-xia[△]

(Taihe Hospital of Shiyan City Affiliated to HuBei Medical College, Shiyan, Hubei Province, 442000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effectiveness of cryopreservation for spermatozoa from the urine of patients with retrograde ejaculation and application in intrauterine insemination (IUI) cycles. **Methods:** Seven patients with retrograde ejaculation were drinken sodium bicarbonate to alkaline urine before masturbating ejaculation. Collected the urine and fully washing, then cryopreserved the sperm by ultra-low temperature of liquid nitrogen vapor. 17 straws of frozen spermatozoa were prepared for later IUI cycle. The total number of forward movement sperm were calculated before and after cryopreservation. **Results:** There is significant difference in total number of forward movement spermatozoa between before and after cryopreservation [$(19.9 \pm 10.4) \times 10^6$ vs $(6.9 \pm 4.2) \times 10^6$, $P < 0.05$]. The total number of forward movement spermatozoa were $(2.6 \pm 1.7) \times 10^6$ after optimization. 17 straws of frozen-thawed sperm used in 8 IUI cycles, and one gained clinical pregnancy. **Conclusion:** Cryopreservation probably decline the the total number of forward movement spermatozoa, but cryopreserved sperm several times for one IUI cycle is the feasibility way in the treatment of retrograde ejaculated infertility.

Key Words: Retrograde ejaculation; Cryopreservation; Intrauterine insemination

Chinese Library Classification (CLC): R698 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2012)02-304-03

逆行射精是一种男性性功能障碍,是指患者性交时有性高潮,但尿道无精液射出,常引起男性不育。临床上治疗的方法颇多,如针对病因用药治疗和手术治疗等,但疗效不理想。因此,解决患者生育问题的最好途径就是回收尿液中的精子行人工授精^[1]。但人工授精时需要精子达到一定的活率和数量,若能多次回收患者精子加以冷冻,然后一次解冻可满足人工授精的需要。本文旨在研究逆行射精患者尿液中精子的回收、冷冻、解冻方法,解决逆行射精患者的生育问题。

1 材料与方法

1.1 临床资料

2008年12月至2011年1月逆行射精患者共计7例,平均年龄33岁,排除女方不孕因素。诊断依据:性生活能达到高

潮,并有射精动作和性快感,但没有精液从尿道口排出而全部自后尿道逆行流入膀胱。检查前患者排空膀胱尿液,性交或手淫射精后立即排尿或导尿,收集精液和尿液混合液进行离心处理后,检查精子和果糖定性。如射精后尿液中出现精子或果糖定性为阳性^[2,3]可诊断为逆行射精。

1.2 逆行射精精子的收集、冷冻

嘱患者于取精液前晚口服碳酸氢钠碱化尿液,取精日排空膀胱后手淫,射精后立即将精液和尿液的混合液收集于取精杯(美国BD,4013)内,迅速分装离心,弃上清液,用精子洗液(Quinn's 100Q)洗涤2次,最后配成1ml精子悬浮液,采用Quinn's冻试剂(8020)进行精子冷冻,按1:1比率缓慢加入冷冻剂后将冷冻瓶用液氮蒸汽平衡30分钟后投入液氮,一人可多次取精冷冻。冷冻前按照《WHO人类精液及精子-宫颈粘液相互作用实验室检验手册(第四版)》^[4]的要求进行精液常规检查,计算其前向运动精子总数(前向运动精子总数=精液量×密度×活力,前向运动精子包括a级和b级精子)。

1.3 逆行射精精子的解冻及人工授精

作者简介 田晓华(1970-),男,副主任技师,研究方向 辅助生殖实验室技术

[△]通讯作者 赵邦霞,电话 0719-8801226, E-mail: zzzh72@126.com

(收稿日期 2011-06-22 接受日期 2011-07-16)

人工授精日行精子解冻,根据解冻后精子密度及活率来决定精子优化方案,优化后按要求做精子常规分析,若一管解冻后前向运动精子总数达不到人工授精要求,可再解冻一管。然后将优化后的精子行宫腔内人工授精,14 日后查尿 HCG 了解生化妊娠,28 日后通过 B 超来确定临床妊娠。计算解冻后精子复苏率,复苏率=解冻后前向运动精子总数 / 冷冻前前向运动精子总数× 100%。

1.4 数据处理
利用 spss13.0 统计软件包进行数据处理,计量资料数据采用($\bar{x} \pm s$)表示。
2 结果
7 名患者共取精 14 次进行冷冻,冷冻前后前向运动精子总数对比,见表 1。

表 1 逆行射精患者精子冷冻前、解冻后、优化后前向运动精子总数比较
Tab.1 The total number of forward movement spermatozoa of before cryopreservation, after thawed,and after optimization

病例 Case	冷冻前	解冻后	优化后
	Before cryopreservation	After thawed	After optimization
	前向运动精子数(10 ⁶)	前向运动精子数(10 ⁶)	前向运动精子数(10 ⁶)
	Total number of forward movement spermatozoa	Total number of forward movement spermatozoa	Total number of forward movement spermatozoa
1	19.9	5.4	2.0
	23.4	7.4	3.1
2	46.4	17.8	6.8
	20.6	8.1	3.2
3	9.2	3.8	1.6
	8.1	2.2	0.6
4	16.8	5.6	1.9
	20.2	6.0	1.8
5	35.5	13.4	5.0
	21.7	9.0	3.7
6	10.4	5.4	2.8
	18.2	5.5	1.6
7	17.5	5.8	2.0
	10.3	3.0	0.9
均值	19.9± 10.4	6.9± 4.2	2.6± 1.7

3 讨论

逆行射精是指性交时出现情欲高潮,有射精快感,但不见有精液自尿道口射出,而是逆行射向膀胱内。它是男性不育症病因中较为少见的一种。在现代辅助生殖技术中,人工授精技术日渐成熟,其应用已非常广泛。术前对精液进行预处理是获得良好的临床效果的关键。而对于逆行射精患者来说,从尿中回收一定数量活动力强的精子是获得妊娠的重要环节。
宫腔内人工授精是将精液优化后直接注入宫腔的一种辅助生殖技术,取代了性交过程。经过逐渐改进,现已广泛运用于临床,治疗少、弱精子症,宫颈畸形及免疫性不育症等。在卫生部发布的 " 人类辅助生殖技术规范 - 人工授精技术规范 " 中质量控制时要求 IUI 时前向运动精子总数量不得低于 10× 10⁶。也有文献^[9]表明当前向运动精子总数>1× 10⁶ 时,其数量增加对临床妊娠率的增加并不显著。

逆行射精时因为人类尿液高渗,pH 值偏酸性,而精子适宜 pH 值偏碱性。为了避免精子逆流入膀胱而很快失去活力,取精前必须碱化尿液^[6,7],在精子回收前口服碳酸氢钠,改变尿的 pH 值和渗透压,减轻尿液酸碱度及渗透压对精子的影响。但也有文献^[8]认为口服碳酸氢钠不能调节尿的 pH 值和渗透压。笔者采用碱化尿液后收集精子,直接多次洗涤后进行精子冷冻,尽可能减少尿液的酸碱度及渗透压对精子的影响。若患者冷冻时前向运动精子的总数较低,建议患者改日再次取精冻存。人工授精日行精子解冻,根据解冻后精子密度及活率来决定精子优化方案。优化后若一管解冻后的前向运动精子总数达不到人工授精要求^[5],可再解冻一管,甚至多管。然后将优化后的精子行宫腔内人工授精。这样采用多次冷冻,一次复苏的方法,较好解决了取精日与排卵日不同步、一次取精前向运动精子数量较少等诸多问题。本研究冷冻前后前向运动精子总数存在显著性差异 (P<0.05),精子的平均复苏率为 34.6%,和文献^[9,10]报道接近,

远远低于本精子库精子直接冷冻后 70% 的复苏率,我们认为出现这一现象可能与尿液的高渗和偏酸性对精子的影响、洗涤时离心力对精子膜的损伤及冷冻对精子的损伤等诸多因素有关,但完全能满足临床 IUI 的需要。在 7 名患者中只进行了 8 个周期的人工授精,1 例临床妊娠,还缺少大样本及远期疗效的观察。逆行射精患者的精子在尿液中虽经过碱化孵育等处理,但精子的总数和活力会受到一定程度的影响,将体外处理后的精子直接注入宫腔内可减少精子的流失,并缩短运动距离,弥补其不足之处,提高临床妊娠率。

在现代辅助生殖中人工授精技术日益成熟,其临床应用也非常广泛。因此,有效的收集逆行射精患者碱化尿液中精子,并进行冷冻,适时进行人工授精,是解决经药物及手术治疗无效的逆行射精患者生育问题的有效方法。且该方法操作简单,安全可靠,技术成熟,易被接受。

参考文献(References)

- [1] 周汝滨,李永全,潘超仁等.从逆行射精患者尿液中回收精子行人工授精的研究[J].中国优生与遗传杂志,2002,10(3):110
Zhou ru-bing, Li yong-quan, Pan chao-ren. The study of application of retragrade ejaculation spermatoa from urine in intrauterine insemination[J]. Chinese Journal of Birth Health & Heredity, 2002, 10(3): 110
- [2] 郑德全,陆原,何军民.逆行射精 2 例报告[J].中华男科学,2001,7(3):203-204
Zhengde-quan, Lu yuan, He jun-ming. Two cases of retragrade ejaculation[J]. Chinese Journal of Andrology, 2001, 7(3): 203-204
- [3] 郭应禄,李宏军主编.男性不育症[M].北京:人民军医出版社,2003:221-222
Guo ying-lu, Li hong-jun. Male infertility. People's military surgeon publishing company[M]. Bei jing, 2003: 221-222
- [4] Word Health Organization. WHO laboratory manual for the examina-

tion of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 4th ed. London: Cambridge University Press, 1999 6-12

- [5] 朱文兵,范立青,曾亚荣等.授精时机、活动精子总数对宫腔内人工授精临床妊娠率影响的研究[J].中国男科学杂志,2003,17(2):110-112
Zhu wen-bing, Fan li-qing, Zeng ya-rong. Effect of different time of insemination and number of motile sperm on IUI pregnancy rate[J]. Chinese Journal of Andrology, 2003, 17(2): 110-112
- [6] 曹金凤,赵志明.及时处理逆行射精患者尿液获临床妊娠 4 例[J].中国男科学杂志,2006,20(5):58-59
Cao jin-feng, zhao zhi-ming. Deal with urine of retrograde ejaculation in time and 4 gained clinical pregnancy[J]. Chinese Journal of Andrology, 2006, 20(5): 58-59
- [7] 高立亭,郑天生,陈桂英等.逆行射精 11 例临床分析[J].中华男科学杂志,2005,11(7):541-542
Gao li-ting, zheng tian-sheng. Clinical analysis of 11 retrograde ejaculation case[J]. National Journal of Andrology, 2005, 11(7): 541-542
- [8] Saito k, et al. Successful pregnancy with sperm received from the bladder after the introduction of a low-electrolyte solution [J]. Fertil Steril, 1998, 69: 1149-1151
- [9] 吴颖,张欣宗,姚康寿.两种精液处理方法对精液参数及冷冻效果的比较分析[J].中国男科学杂志,2010,24(9):40-42
Wu Ying, Zhang Xinzong, Yao Kangshou. Comparative analysis of semen parameters and freezing effect between two sperm freezing methods with different pre-centrifugal model [J]. Chinese Journal of Andrology, 2010, 24(9): 40-42
- [10] Esteves SC, Sharma RK, Thomas AJ, et al. Improvement in motion characteristics and acrosome status in cryopreserved human spermatozoa by swim-up processing before freezing [J]. Hum Reprod, 2000, 15(10): 2173-2179

(上接第 272 页)

- [6] Ewa LN, Alicja DK, Sebastian T, et al. Right ventricular apex versus right ventricular outflow tract pacing: prospective, randomised, long-term clinical and echocardiographic evaluation [J]. Cardiologia Polska, 2006, 64(10): 1082-1091
- [7] Parekh S, Stein KM. Selective site pacing: rationale and practical application[J]. Curr Cardiol Rep, 2008, 10(5): 351-354
- [8] Miyoshi F, Kobayashi Y, Hou H, et al. Prolonged paced QRS duration as a predictor for congestive heart failure in patients with right ventricular apical pacing[J]. PACE, 2005, 28(11): 179-182
- [9] Azzazy HM, Christenson RH, Duh SH. Stability of B-type natriuretic peptide (BNP) in whole blood and plasma stored under different con-

ditions when measured with the Biosite Triage or Beckman Coulter Access systems[J]. Clin Chim Acta, 2007, 384(2): 176-178

- [10] Victor F, Mabo P, Mansour H, et al. A randomized comparison of permanent septal versus apical right ventricular pacing: Short term results [J]. Cardiovascular Electrophysiology, 2006, 17(3): 238-240
- [11] Varma N. Left ventricular conduction delays induced by right ventricular apical pacing: effect of left ventricular dysfunction and bundle branch block [J]. Cardiovascular Electrophysiology, 2008, 19(2): 114-119
- [12] Albouaini K, Egred M, Rao A, et al. Cardiac resynchronisation therapy: Evidence based benefits and patient selection [J]. Eur J Intern Med, 2008, 19(3): 165-172