

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2024.22.052

# 自然周期 IVF/M 结合卵母细胞胞浆内单精子注射 在男性不育症中的临床应用\*

赵梦思 肖育红 徐晓杭 张凌雪 于月新<sup>△</sup>

(北部战区总医院生殖医学科 辽宁 沈阳 110000)

**摘要 目的:**探讨自然周期 IVF/M 结合卵母细胞 ICSI 在男性不育症中的临床应用。**方法:**2018.1-2023.8 行辅助生殖助孕治疗的男性不孕症患者 200 例,按照男性少精子、弱精子、无精子原因分为 3 组。患者行 PESA 或 TESA,接受 72 个自然周期 IVF/M。比较 3 组卵母细胞胚胎发育情况、妊娠和分娩情况。**结果:**3 组促排卵方案、Gn 使用时间、Gn 总用量、雌二醇、黄体生成素、移植日子宫内膜厚度、卵母细胞数、未成熟卵母细胞数、成熟卵母细胞数、受精卵母细胞数、卵裂率、可移植胚胎率、优质胚胎率比较无差异 ( $P>0.05$ )。无精子组临床妊娠率高于弱精子组、少精子组 ( $P<0.05$ )。**结论:**自然周期 IVF/M 结合 ICSI 对于治疗少弱精子症及无精子症等男性不育症是一种简便有效的方法。

**关键词:**男性不育症;体外受精;未成熟卵母细胞;精子注射

**中图分类号:**R698+2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2024)22-4373-03

## Clinical Application of Natural Cycle IVF/M Combined with Oocyte Intracytoplasmic Sperm Injection in Male Infertility\*

ZHAO Meng-si, XIAO Yu-hong, XU Xiao-hang, ZHANG Ling-xue, YU Yue-xin<sup>△</sup>

(Department of Reproductive Medicine, Northern Theater General Hospital, Shenyang, Liaoning, 110000, China)

**ABSTRACT Objective:** To explore the clinical application of natural cycle IV F/M combined with oocyte ICSI in male infertility.

**Methods:** 2018.1-2023.8 200 male infertility patients treated with assisted reproduction were divided into three groups according to the causes of less sperm, weak sperm and no sperm. Patients underwent either PESA or TESA and received 72 natural cycles of IV F/M. Comparing oocyte embryo development, pregnancy and delivery in the 3 groups. **Results:** There was no difference in the three groups of ovulation induction regimen, Gn use time, total Gn dosage, estradiol, LH, endometrial thickness, oocytes, immature oocytes, mature oocytes, cleavage rate, transplantable rate, and rate of high-quality embryos ( $P>0.05$ ). The clinical pregnancy rate in anispermatozoa group was higher than that in weak sperm group and oligosperm group ( $P<0.05$ ). **Conclusion:** Natural cycle IV F/M combined with ICSI is a simple and effective method to treat male infertility such as oligoasthenospermia and azoospermia.

**Key words:** Male infertility; In vitro fertilization; Immature oocyte; Sperm injection

**Chinese Library Classification(CLC):** R698+2 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2024)22-4373-03

### 前言

男性不育症是指有正常性生活的育龄夫妇,未采取任何避孕措施情况下,一年之后由于男性因素未能正常怀孕的情况<sup>[1]</sup>。ICSI 技术通过选择一个形态正常、活力良好的精子,直接将其注射到卵子细胞质内,帮助卵子受精<sup>[2]</sup>。在此周期中,卵冠丘复合物剥除卵丘细胞后多将未成熟卵母细胞丢弃,若能够将其继续培养成熟加以利用,可能会提高卵子利用率。IVF/M 是一种较为特殊的辅助生殖技术,对于自然发育成熟的卵子,进行常规的体外受精操作,对于尚未完全成熟但具有发育潜力的卵子,在体外特定的培养条件下使其进一步成熟,再进行受精<sup>[3]</sup>。目前临床关于上述技术在男性不孕症患者中的研究报道较少。

本研究旨在探讨自然周期 IVF/M 结合 ICSI 在男性不育症中的应用效果。

### 1 资料与方法

#### 1.1 一般资料

回顾性分析我院 2018 年 1 月-2023 年 8 月行辅助生殖助孕治疗的男性不孕症患者 200 例临床资料,按照男性少精子、弱精子、无精子原因分为 3 组,分别为 96 例、74 例、30 例,少精子组年龄 25~37(30.32±2.24)岁;不孕年限 1~6(3.18±1.12)年。弱精子组年龄 26~36(30.12±2.20)岁;不孕年限 1~5(3.12±1.05)年。无精子组年龄 26~36(30.28±2.20)岁;不孕年限 1~6(3.10±1.10)年。三组基本资料无差异 ( $P>0.05$ )。

\* 基金项目:军队计生项目(21JSZ11)

作者简介:赵梦思(1987-),女,本科,主治医师,研究方向:生殖医学相关专业,E-mail: Z504175836@163.com

△ 通讯作者:于月新(1973-),女,博士研究生,主任医师,研究方向:各种不孕症诊治及试管婴儿技术,E-mail: Yuyuexinpingan@163.com

(收稿日期:2024-05-13 接受日期:2024-06-06)

诊断标准<sup>①</sup>:夫妻有正常且规律的性生活;未采取避孕措施超过1年;由男方因素导致。少精子症是指精子浓度低于 $15 \times 10^6/\text{mL}$ 或精子总数低于 $39 \times 10^6/$ 每次射精。弱精子症是指精子前向运动比例低于32%,或者PR与非前向运动精子总和低于40%。无精子症是指经过至少2-3次严格的精液离心沉淀检查,均未发现精子。纳入标准:符合男性不孕症标准;有IVF/M、ICSI指征;超声监测患者配偶有发育的优势卵泡及正常排卵。排除标准:男方有烟酒不良嗜好,辐射、高温环境接触史者;男方合并急慢性前列腺炎、急慢性附睾炎、睾丸肿瘤等疾病;男方服用抗癫痫药物、抗肿瘤药物者。

### 1.2 方法

(1)患者配偶月经周期第7~9d监测卵泡,优势卵泡直径达12~14mm,子宫内膜厚度达6mm时开始采集卵子。阴道超声引导下阴道卵巢卵泡穿刺取卵,通过超声图像确定卵巢中卵泡的位置、大小和数量,根据超声显示,将穿刺针经阴道壁刺入卵泡,连接负压吸引装置,将卵泡液吸出并收集到试管中。含有卵泡液的试管立即被送到实验室,实验室技术人员在显微镜下寻找并识别卵母细胞,进行后续处理和培养。第一极体排出判定为卵母细胞成熟。(2)少精子组、弱精子组于女方取卵当日患者手淫取精,少精子组精液处理方法为密度梯度离心法,弱精子组精液处理方法为离心洗涤处理。无精子组采用PESA或TESA。PESA:术前患者进行局部皮肤清洁和消毒,采取仰卧位,在附睾部位采用山东华鲁制药生产的2%利多卡因局部浸润麻醉,以减轻手术过程中的疼痛。超声探头确定附睾的位置

和形态,选择合适的穿刺部位,医生使用细针经皮穿刺附睾,连接注射器,轻轻抽吸,获取附睾液。附睾液置于玻片在显微镜下观察,见足量活动精子即为穿刺成功,若发现附睾液中精子数量较少或质量不佳,可能需要再次进行穿刺或考虑TESA。TESA:睾丸穿刺点采用2%利多卡因局部浸润麻醉,借助超声设备,确定睾丸中精子产生相对活跃的区域。使用细针穿刺进入睾丸组织,连接注射器,轻轻抽吸,获取睾丸组织和液体,根据患者睾丸的具体情况,调整穿刺的深度和角度。显微镜下查找精子,并评估精子的情况。(3)成熟卵母细胞于2~3h后进行ICSI受精。未成熟的卵母细胞移入含有1mL成熟培养液培养皿中, $37^\circ\text{C}$ ,5% $\text{CO}_2$ 和 $\text{O}_2$ 培养。培养成熟的卵母细胞通过ICSI受精。受精卵在20 $\mu\text{L}$ 胚胎培养液中进一步发育培养。(4)患者配偶从取卵当日开始,每日注射40mg孕酮,每日口服6mg戊酸雌二醇。选择由成熟卵母细胞得到的优质胚胎于3d后进行移植。14d后根据血清HCG水平评估生化妊娠( $\text{HCG} > 10\text{U/L}$ ),6周后通过超声检测胎囊确定是否妊娠。

### 1.3 统计学方法

SPSS 26.0。计数资料用Z检验;计量资料用F、t检验, $P < 0.05$ 表示比较存在差异。

## 2 结果

### 2.1 3组促排卵资料比较

3组促排卵方案、Gn使用时间、Gn总用量、雌二醇、黄体生成素、移植日子宫内膜厚度差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表1。

表1 3组促排卵资料比较

Table 1 Comparison of ovulation induction data in 3 groups

Groups	n	Ovulation stimulating therapy		Duration of Gn used(d)	Total dosage of Gn used(U)	$\text{E}_2(\text{pmol/L})$	LH(U/mL)	Endometrial thickness on implantation day (mm)
		n(%)	GnRH antagonist					
Oligospermatome group	96	15(15.63)	81(84.37)	10.53 $\pm$ 1.49	2554.26 $\pm$ 280.31	2552.24 $\pm$ 586.15	1.39 $\pm$ 0.34	10.12 $\pm$ 1.27
Oligospermia group	74	10(13.51)	64(86.49)	10.55 $\pm$ 1.45	2550.62 $\pm$ 287.15	2560.53 $\pm$ 580.24	1.35 $\pm$ 0.33	10.25 $\pm$ 1.20
Azoospermia group	30	5(16.67)	25(83.33)	10.40 $\pm$ 1.42	2512.26 $\pm$ 275.31	2550.78 $\pm$ 577.46	1.30 $\pm$ 0.28	10.20 $\pm$ 1.25

### 2.2 3组卵母细胞和胚胎发育情况比较

3组采集卵母细胞数[899 vs 710 vs 332]、未成熟卵母细胞数[682(75.86) vs 522(73.52) vs 248(74.70)]、成熟卵母细胞数[217(24.14) vs 188(26.48) vs 84(25.30)]、受精卵母细胞数[585/680(87.50) vs 468/522(89.67) vs 250/295(84.75)]、卵裂率[501/585(85.64) vs 410/468(87.61) vs 210/250(84.00)]、可移植胚胎率[489/590(82.88) vs 410/478(85.77) vs 212/261(81.23)]、优质胚胎率[285/501(56.89) vs 210/410(58.54) vs 105/210(50.00)]无差异( $P > 0.05$ )。

### 2.3 3组妊娠和分娩情况比较

无精子组临床妊娠率高于弱精子组、少精子组[18(60.00) vs 23(31.08) vs 39(40.63)]( $P < 0.05$ )。

## 3 讨论

自然周期IVF/M在不孕不育治疗过程中可获得较多卵

子,从优势卵泡中获得成熟卵母细胞,克服自然周期IVF卵母细胞采集失败的不足<sup>②</sup>。ICSI操作过程包括精子和胚胎的体外培养过程,以及借助显微注射器操作系统选择高质量个体精子并将其精子机械注射到卵母细胞中以完成受精过程的技术<sup>③</sup>。对于精子数量过少或形态和功能缺陷导致无法正常穿透卵母细胞透明带的患者,可采用ICSI技术获取精子,提高受精率<sup>④</sup>。ICSI技术可以克服传统辅助生殖技术中精子数量和质量的限制,提高受孕成功的机会<sup>⑤</sup>。本研究中3组患者正常受精率为89.74%(1303/1452),且组间受精率差异无统计学意义,表明自然周期IVF/M结合ICSI治疗男性不孕症的受精率较高。无精子症患者精子无法排出,导致伴侣无法正常受孕,应用PESA、TESA结合ICSI技术,可使此类患者的有效治疗成为可能<sup>⑥</sup>。

ICSI的引入是辅助生殖技术的一个重要里程碑,类似于IVF的开创性引入,彻底改变了最具挑战性的男性不孕症的方法。最近的科学贡献进一步阐明了ICSI的范围和功效,揭示了

其对辅助生殖技术的深远影响。例如, Lara-Cerrillo 等人<sup>[10]</sup>的研究表明, 当微流体精子分选与 ICSI 结合使用时, 微流体精子分选通过促进 DNA 片段化率较低的精子选择来显著改善临床结果, 提高成功受精和妊娠结果的潜力。此外, Sallam 等人<sup>[11]</sup>的研究重新评估 ICSI 在非男性因素不孕症中的使用, 拓宽了其在辅助生殖技术中的适用范围。这些研究强调 ICSI 在生殖医学中的持续发展和关键影响, 证实了其作为辅助生殖技术变革性技术的地位。在 Fancsovits 等人<sup>[12]</sup>研究中, 回顾了 ICSI 技术的持续创新及其与辅助生殖技术的整合, 批判性地评估 ICSI 在不同不孕症情况下的结果, 包括高龄产妇或卵母细胞数量低的情况。此类研究有助于全面了解 ICSI 优化生殖成功的参数, 并描述与传统 IVF 方法相比的影响。然而, 临床上对涉及配子和后代健康状况损害的技术存在担忧, 一些研究表明, 这一过程会干扰配子发生、胚胎发育和怀孕过程的环境, 并且在手术过程中将外源性物质注射到卵母细胞质中, 容易破坏卵子和纺锤体等组织结构, 对配子的受精和随后的胚胎分化和发育产生不利影响<sup>[13,14]</sup>。因此, 有必要对 ICSI 技术对后代的影响进行深入研究。本研究表明, 3 组早期流产率、活产率、早产率差异无统计学意义, 表明自然周期 IVF/M 结合 ICSI 技术具有较好治疗效果, 对不良妊娠结局无显著影响。分析其原因, ICSI 技术通过观察精子的形态和活力, 挑选相对正常和健康的精子进行注射, 减少因精子质量差导致的受精和胚胎发育问题。对于存在抗精子抗体等免疫因素干扰自然受精的情况, ICSI 直接将精子注入卵子内, 避免免疫反应, 有助于提高受精成功率和妊娠机会。另外在 ICSI 过程中, 配合先进的胚胎培养技术和环境控制, 为胚胎提供更适宜的生长条件, 有助于提高胚胎质量, 降低妊娠不良结局的风险<sup>[15]</sup>。

综上, 自然周期 IVF/M 结合 ICSI 对于治疗男性不育症有效, 可提高卵母细胞的正常受精率和周期的临床妊娠率, 对不良妊娠结局影响不大, 安全性高。

#### 参考文献(References)

- [1] 万娟, 朱亚捷, 胡萍, 等. 我国男性不育症健康管理的研究进展[J]. 中国性科学, 2022, 31(8): 9-13.
- [2] Cutting E, Horta F, Dang V, et al. Intracytoplasmic sperm injection versus conventional in vitro fertilisation in couples with males presenting with normal total sperm count and motility [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2023, 8(8): CD001301.
- [3] Shani AK, Haham LM, Balakier H, et al. The developmental potential of mature oocytes derived from rescue in vitro maturation [J]. *Fertil Steril*, 2023, 120(4): 860-869.
- [4] 中国中医药信息学会男科分会, 郭军, 张继伟, 等. 男性不育症中西医结合多学科诊疗指南 (2023 版)[J]. *中国男科学杂志*, 2023, 37(2):

13-19.

- [5] Gilchrist RB, Ho TM, DeVos M, et al. A fresh start for IVM: capacitating the oocyte for development using pre-IVM [J]. *Hum Reprod Update*, 2024, 30(1): 3-25.
- [6] Ribeiro S, Sousa M. In Vitro Fertilisation and Intracytoplasmic Sperm Injection predictive factors: A review of the effect of female age, ovarian reserve, male age, and male factor on IVF/ICSI treatment outcomes[J]. *JBRA Assist Reprod*, 2023, 27(1): 97-111.
- [7] Jijo A, Cheredath A, Uppangala S, et al. ICSI in non-male factor infertility patients does not alter metabolomic signature in sibling embryos as evidenced by sensitivity enhanced nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy[J]. *PLoS One*, 2022, 17(9): e0273321.
- [8] Scaruffi P, Bovis F, Casciano I, et al. Hyaluronic acid-sperm selection significantly improves the clinical outcome of couples with previous ICSI cycles failure[J]. *Andrology*, 2022, 10(4): 677-685.
- [9] Guo Y, Zong X, Li H, et al. Analysis of IVF/ICSI outcomes in infertile women with early-stage endometrial cancer and atypical endometrial hyperplasia after conservative treatment [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2022, 39(7): 1643-1651.
- [10] Lara-Cerrillo S, Muñoz CU, Casa HM, et al. Microfluidic sperm sorting improves ICSI outcomes in patients with increased values of double-strand breaks in sperm DNA [J]. *Rev Int Androl*, 2023, 21(1): 100338.
- [11] Sallam H, Boitrelle F, Palini S, et al. ICSI for non-male factor infertility: time to reappraise IVF? [J]. *Panminerva Med*, 2023, 65: 159-165.
- [12] Fancsovits P, Lehner A, Kaszas Z, et al. Intracytoplasmic sperm injection does not improve the outcome of IVF treatments in patients with advanced maternal age or low oocyte number: a randomized controlled trial [J]. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*, 2023, 52 (8): 102625.
- [13] Nariyoshi S, Nakano K, Sukegawa G, et al. Ultrasonographically determined size of seminiferous tubules predicts sperm retrieval by microdissection testicular sperm extraction in men with nonobstructive azoospermia [J]. *Fertility and Sterility*, 2020, 113(1): 97-104.
- [14] Berntsen S, Nøhr B, Grøndahl M. L, et al. In vitro fertilisation (IVF) versus intracytoplasmic sperm injection (ICSI) in patients without severe male factor infertility: study protocol for the randomised, controlled, multicentre trial INVICSI [J]. *Bmj Open*, 2021, 11 (6): e051058.
- [15] Cai J, Liu L, Chen J, et al. The effect of epididymal sperm cryopreservation on neonatal birthweight following PESA-ICSI [J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2022, 305(5): 1233-1239.

(上接第 4344 页)

- [9] 程海玲, 吕精川. 神经节苷脂联合高压氧对重型颅脑损伤患者术后脑血流及脑代谢的影响 [J]. *神经损伤与功能重建*, 2022, 17(12): 809-812.
- [10] 李华, 邢佳丽, 蒙法科, 等. 高压氧联合单唾液酸四己糖神经节苷脂治疗脊髓损伤的疗效及对 galectin-3, TGF- $\beta$ 1 的影响[J]. *中华航海医学与高气压医学杂志*, 2021, 28(3): 341-344.

- [11] 韦小玉, 梁朝莹, 韦建华. 神经节苷脂联合甲基强的松龙治疗急性脊髓炎临床疗效观察[J]. *实用医院临床杂志*, 2023, 20(3): 75-78.
- [12] Zhang YL, Wei LY, Yao HW, et al. Effects of compound porcine cerebroside and ganglioside on neurotoxicity caused by oxaliplatin chemotherapy: preliminary results [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(12): 5441-5448.