

DOI:10.16781/j.0258-879x.2017.11.1418

短时 IVF 联合早期补救 ICSI 与 half-ICSI 预防初次助孕周期受精低下下的比较

刘苡萱, 印惠荣, 颜宏利, 孙方臻, 施敏凤, 冯书改, 松迪, 许亚军, 洪毅, 蔡艳萍, 朱旻*, 张慧琴*
第二军医大学长海医院生殖医学中心, 上海 200433

[摘要] **目的** 对比分析短时体外受精(IVF)或短时 IVF 联合早期补救卵胞浆内单精子显微注射(ICSI)与部分卵胞浆内单精子显微注射(half-ICSI)两种授精方式在首次助孕周期对预防 IVF 受精率低下下的疗效。**方法** 回顾性分析 2015 年 5 月 1 日—2016 年 12 月 31 日初次助孕周期中因存在精卵结合障碍高危因素而接受短时 IVF(或短时 IVF 联合早期补救 ICSI)或 half-ICSI 预防 IVF 受精率低下患者的病例资料。根据授精方式分为短时 IVF 助孕组(A 组, $n=192$)和 half-ICSI 助孕组(B 组, $n=85$), 比较两组患者的一般情况、受精情况、胚胎发育以及接受新鲜胚胎移植后的妊娠结局。为进一步分析受精情况, 筛选 A、B 两组中 IVF 受精率低下周期(受精率 $\leq 30\%$)的患者, 分别设为 A1 组($n=20$)和 B1 组($n=9$), 比较 A1、B1 两组的卵子受精情况。**结果** 与 B 组相比, A 组不存在过度 ICSI(0.0% vs 89.8%, $\chi^2=479.888$, $P<0.01$)。A 组正常受精率低于 B 组(73.3% vs 79.6%, $\chi^2=14.780$, $P<0.01$), 但两组可用胚胎率、优质胚胎率、囊胚形成率以及接受新鲜胚胎移植后临床妊娠率、胚胎着床率、流产率差异均无统计学意义(P 均 >0.05)。IVF 受精率低下周期中, 短时 IVF 联合早期补救 ICSI 可提高正常受精率(A1 组 77.9%, B1 组 49.4%, $\chi^2=28.833$, $P<0.01$)。**结论** 相比 half-ICSI, 短时 IVF 联合早期补救 ICSI 可避免过度 ICSI、提高 IVF 受精率低下周期的正常受精率, 预防 IVF 受精率低下更加精确、有效。

[关键词] 受精率低下; 部分卵胞浆内单精子显微注射; 体外受精; 早期补救卵胞浆内单精子显微注射

[中图分类号] R 711.6

[文献标志码] A

[文章编号] 0258-879X(2017)11-1418-07

Comparative analysis of short-term *in vitro* fertilization (IVF) combined with early rescue ICSI and half-ICSI in prevention of low fertilization in initial IVF cycles

LIU Yi-xuan, YIN Hui-rong, YAN Hong-li, SUN Fang-zhen, SHI Min-feng, FENG Shu-gai, SONG Di, XU Ya-jun, HONG Yi, CAI Yan-ping, ZHU Min*, ZHANG Hui-qin*

Department of Reproductive Medicine Center, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

[Abstract] **Objective** To compare the efficacy of short-term *in vitro* fertilization (IVF) combined with early rescue intracytoplasmic sperm injection (ICSI) and half-ICSI in preventing low IVF fertilization in initial IVF cycles. **Methods** Data of patients with high-risk factors of sperm-egg binding disorders during initial IVF cycles, who received short-term IVF combined with early rescue ICSI (Group A, $n=192$) or half-ICSI (Group B, $n=85$) to prevent low IVF fertilization from May. 1, 2015, to Dec. 31, 2016, were retrospectively analyzed. The general characteristics, fertilization, embryo formation, and pregnancy outcome after receiving fresh embryo transfer of patients were compared between the two groups. Patients with low IVF fertilization (fertilization rate $\leq 30\%$) in the two groups were selected as Group A1 ($n=20$) and Group B1 ($n=9$), respectively, and then the fertilization outcomes in the two groups were compared. **Results** There were no significant differences in general characteristics between the two groups. Compared with Group B, there was no excessive ICSI in Group A (0.0% vs 89.8%, $\chi^2=479.888$, $P<0.01$). The normal fertilization rate in the Group A was significantly lower than that in the Group B (73.3% vs 79.6%, $\chi^2=14.780$, $P<0.01$), while there were no significant differences in available embryo rate, good-quality embryo rate, blastocyst formation rate, clinical pregnancy rate, embryo implantation rate or abortion rate between the two groups(all $P>0.05$). In the cycles with low IVF fertilization, the normal fertilization rate in the Group A1 was significantly increased versus the Group B1 (77.9% vs 49.4%, $\chi^2=28.823$, $P<0.01$). **Conclusion** Compared with half-ICSI, short-term IVF combined

[收稿日期] 2017-04-19 **[接受日期]** 2017-09-06

[作者简介] 刘苡萱, 硕士, 住院医师. E-mail: 857272278@qq.com

* 通信作者 (Corresponding authors). Tel: 021-31162048, E-mail: zhuminyc@126.com; Tel: 021-31162048, E-mail: 13764015980@139.com

with early rescue ICSI can avoid excessive ICSI and increase the normal fertilization rate in low IVF fertilization cycles, indicating that it is more accurate and effective in prevention of low IVF fertilization.

[Key words] low fertilization rate; half-intracytoplasmic sperm injection; short-term *in vitro* fertilization; early rescue intracytoplasmic sperm injection

体外受精-胚胎移植 (*in vitro* fertilization-embryo transfer, IVF-ET) 是治疗不孕不育的主要方法,但在临床应用中,5%~10% 患者存在受精失败风险^[1],其高危因素主要包括不孕 5 年以上、男方精液临界水平、男方正常精子形态少于 4%、3 次以上宫腔内人工授精 (intra-uterine insemination, IUI) 未孕。卵子受精失败不仅给患者带来经济损失,也带来心理负担。传统补救方法是取卵第 2 天针对未受精的卵子行卵胞浆内单精子显微注射 (intracytoplasmic sperm injection, ICSI),但因错过卵子受精时间窗,其卵子受精率、胚胎质量以及移植后妊娠率较低^[2-4]。目前临床上预防体外受精 (*in vitro* fertilization, IVF) 失败的常规方法主要是 Aboulghar 等^[5]提出的部分卵胞浆内单精子显微注射 (half-intracytoplasmic sperm injection, half-ICSI) 以及 Chen 和 Kattera^[6]提出的短时 IVF 联合早期补救 ICSI。

为预防存在精卵结合障碍高危因素的患者在初次助孕周期发生 IVF 受精率低下,第二军医大学长海医院生殖医学中心通常采用 half-ICSI 或短时 IVF 联合早期补救 ICSI。本研究旨在通过回顾性分析以上两种授精方式的受精情况、胚胎发育以及接受新鲜胚胎移植后妊娠结局,探讨两种授精方式的利弊以指导临床。

1 材料和方法

1.1 研究对象 收集 2015 年 5 月 1 日至 2016 年 12 月 31 日在第二军医大学长海医院初次行 IVF 助孕、存在精卵结合障碍高危因素的患者,所有患者为预防受精率低下自主选择短时 IVF 或 half-ICSI 助孕,短时 IVF 助孕 IVF 受精率 $\leq 30\%$ 时接受早期补救 ICSI 助孕。纳入标准:(1) 患者存在至少一项精卵结合障碍高危因素(不孕 5 年以上、男方精液临界水平、男方正常精子形态少于 4%、3 次以上 IUI 未

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2017, 38(11): 1418-1424]

孕);(2) 此次周期为初次 IVF 助孕周期;(3) 授精方式是 half-ICSI 或短时 IVF (或短时 IVF 联合早期补救 ICSI)。排除标准:(1) 未获卵或获卵数 < 4 枚;(2) 取卵第 2 天补救 ICSI 授精;(3) 卵子成熟障碍。所有患者在医师充分告知后签署知情同意书。本研究通过第二军医大学长海医院生殖医学中心医学伦理委员会审批通过。

1.2 分组 根据授精方式分为 2 组:短时 IVF 助孕组(A 组,患者接受短时 IVF 或短时 IVF 联合早期补救 ICSI, $n=192$)、half-ICSI 助孕组(B 组,患者接受 half-ICSI, $n=85$)。筛选 A、B 两组中 IVF 受精率低下周期 (IVF 受精率 $\leq 30\%$) 的患者并分别设为 A1 组 ($n=20$)、B1 组 ($n=9$)。

1.3 促排卵和取卵 根据患者年龄、卵巢储备功能以及患者意愿采用个体化促排卵方案,包括长方案、短方案、微刺激方案、拮抗剂方案、改良超长方案、超长方案。促排卵药物有注射用重组人促卵泡激素(果纳芬,批号 S20130055, Merck Serono SA Aubonne Branch, 75 IU/支)和(或)注射用尿促性素(乐宝得,批号 170604, 丽珠制药厂, 75 IU/支)和(或)注射用尿促卵泡素(丽申宝, 国药准字 H20052130, 丽珠制药厂, 75 IU/支)。促排卵同时监测卵泡直径,至主卵泡直径 1 个 ≥ 18 mm 或 2 个 ≥ 17 mm 或 3 个 ≥ 16 mm 时,结合卵泡发育数目以及血清激素水平适时皮下注射重组人绒毛膜促性素(艾泽,批号 S20100016, Merck Serono S. P. A., 250 μg /支) 250 μg 或 200 μg , 35~37 h 内经阴道 B 超引导下取卵。

1.4 收集精液 取卵当天男方取精,取精前禁欲 3~7 d,手淫法获取精液。经密度梯度离心法处理精液,联合上游法优选精子,然后调整精子密度至 $1 \times 10^6/\text{mL}$ 。

1.5 授精及培养

1.5.1 短时 IVF 联合早期补救 ICSI 授精 取卵后 4~6 h 将卵-冠-丘复合体与精子混合,授精后 5 h 去除颗粒细胞,并置于新培养液微滴中观察第二极体的

出现情况。若出现第二极体的卵母细胞占比(2Pb率) $\leq 30\%$,记为受精率低下周期,并对该患者同一批卵子中明确一个极体的MⅡ卵母细胞于受精后6~8h行早期补救ICSI。2Pb率 $> 30\%$ 者不行ICSI授精。

1.5.2 half-ICSI授精 将每例患者的卵母细胞随机分为2份,分别采用常规IVF和ICSI方法授精。IVF授精:取卵后4~6h将卵-冠-丘复合体与精子混合,培养过夜后去除颗粒细胞,观察卵子受精情况。ICSI授精:取卵后4~6h直接行ICSI授精。IVF受精率 $\leq 30\%$ 计为受精率低下周期。

1.5.3 体外培养以及胚胎发育评级 授精后18~20h观察原核,出现双原核(2PN)记为正常受精卵,继续体外培养胚胎至取卵后第3天对胚胎进行质量评估:根据胚胎卵裂球数目、形态、大小是否均匀及有无碎片将胚胎分为Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ级,其中6细胞及以上的Ⅰ、Ⅱ级胚胎为优质胚胎。根据患者意愿决定是否行囊胚培养,若行囊胚培养则继续体外培养至第5~6天,观察形成囊胚者并保留可用的囊胚冷冻或移植。

1.5.4 胚胎移植 取卵后第3天或第5天行胚胎移植。若存在移植日内膜偏薄、重度卵巢过度刺激倾向、输卵管严重积水、宫腔积液、无可移植胚胎等情况,知情告知后放弃新鲜胚胎移植,可用胚胎玻璃化冷冻。若无以上情况且要求新鲜胚胎移植者,选择1~2个相对优质胚胎(优先选择IVF受精胚胎)进行移植。可用胚胎较多时,经患者知情同意后取部分胚胎行囊胚培养。

1.6 胚胎移植后黄体支持及妊娠结局判断 胚胎移植后予肌内注射黄体酮60mg/d或阴道内塞黄体酮阴道缓释凝胶(雪诺同,批号C16143-C, Fleet Laboratories Limited, 90mg/支)90mg/d,同时联合口服黄体酮软胶囊100mg/次、2次/d支持黄体功能。移植后14d检测血清人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin, hCG)水平,阳性为妊娠;移植后35d超声观察到宫内妊娠囊为临床妊娠。

1.7 观察指标计算方法 ICSI率=ICSI助孕卵子总数/成熟卵子总数;正常受精率=正常受精卵数(2PN)/成熟卵子数;可用胚胎率=可用胚胎数/正常受精卵数;优质胚胎率=优质胚胎数/正常受精卵数;

囊胚形成率=囊胚数/养囊胚胎数;临床妊娠率=临床妊娠周期数/移植周期数;流产率=流产周期数/临床妊娠周期数;胚胎着床率=着床胚胎数/移植胚胎数。

1.8 统计学处理 采用SPSS 18.0软件进行统计学分析。计数资料采用百分数表示,组间比较采用 χ^2 检验或Fisher确切概率法;符合正态分布的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验比较组间差异。检验水准(α)为0.05。

2 结果

2.1 一般情况比较 纳入A组和B组患者分别为192和85例。由表1可见,A、B两组不孕年限、原发不孕率、女方年龄、女方体质量指数(body mass index, BMI)以及基础卵泡刺激素(basic follicle stimulating hormone, bFSH)、染色体多态率、男方精子存活率、A+B级精子百分比、正常形态精子百分比、不孕因素构成比和促排卵方案构成比差异均无统计学意义。

2.2 两组获卵后受精、胚胎发育情况的比较 如表2所示,A、B两组IVF受精率低下周期率、所获卵子成熟度差异无统计学意义(P 均 > 0.05),但A组卵子ICSI率、过度ICSI率低于B组(P 均 < 0.01)。虽然A组正常受精率低于B组($P < 0.01$),但A、B两组可用胚胎率、优质胚胎率、囊胚形成率差异均无统计学意义(P 均 > 0.05)。

2.3 两组接受新鲜胚胎移植和妊娠结局情况 两组中接受新鲜胚胎移植助孕患者共196例,其中A组145例,B组51例。A、B两组新鲜移植周期的平均移植胚胎数目、移植日内膜厚度、囊胚移植率、临床妊娠率、胚胎着床率、流产率差异均无统计学意义(P 均 > 0.05)。见表3。

2.4 两组患者中IVF受精率低下周期受精情况的比较 192例短时IVF受精周期中因IVF受精率低下($\leq 30\%$)行早期补救ICSI者20例(A1组),85例half-ICSI受精周期中IVF受精率低下者9例(B1组)。分析A1、B1两组的卵子受精情况,结果见表4,A1、B1组所获卵子成熟度差异无统计学意义($P > 0.05$),但A1组ICSI率和正常受精率均高于B1组(P 均 < 0.01)。

表 1 两组一般情况比较

Tab 1 Comparison of general characteristics between two groups

Characteristic	Group A N=192	Group B N=85	Statistic	P value
Duration of infertility t/year , $\bar{x}\pm s$	4.09±2.45	4.67±2.30	$t=-1.844$	0.066
Primary infertility rate $n(\%)$	170(88.5)	73(85.9)	$\chi^2=0.387$	0.534
Female age (year), $\bar{x}\pm s$	30.27±3.41	30.85±3.58	$t=-1.289$	0.199
Female BMI ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$), $\bar{x}\pm s$	22.53±3.39	22.05±3.54	$t=1.055$	0.292
Female bFSH $z_B/(U\cdot L^{-1})$, $\bar{x}\pm s$	6.16±2.36	6.07±2.00	$t=0.286$	0.775
Chromosome polymorphism rate $n(\%)$	6(3.1)	6(7.1)	Fisher	0.197
Sperm motility rate $(\%)$, $\bar{x}\pm s$	49.24±14.28	50.59±14.66	$t=-0.672$	0.502
Forward motile sperm rate $(\%)$, $\bar{x}\pm s$	37.36±13.17	39.07±13.69	$t=-0.909$	0.364
Normal sperm form rate $(\%)$, $\bar{x}\pm s$	16.72±7.86	16.81±5.81	$t=-0.075$	0.942
Infertility factor $n(\%)$			$\chi^2=2.268$	0.687
Ovulation disorder	25(13.0)	10(11.8)	$\chi^2=0.084$	0.772
Tubal factor	68(35.4)	38(44.7)	$\chi^2=2.152$	0.142
Endometriosis	13(6.8)	5(5.9)	$\chi^2=0.077$	0.782
Male infertility factor	59(30.7)	21(24.7)	$\chi^2=1.041$	0.802
Unexplained infertility	27(14.1)	11(12.9)	$\chi^2=0.063$	0.802
Ovarian stimulation protocol $n(\%)$			$\chi^2=3.624$	0.605
Long protocol	117(60.9)	58(68.2)	$\chi^2=1.349$	0.245
Short protocol	26(13.5)	8(9.4)	$\chi^2=0.933$	0.334
Super-long protocol	3(1.6)	0(0.0)	Fisher	0.555
Micro-stimulation protocol	17(8.8)	9(10.6)	$\chi^2=0.208$	0.648
GnRHant protocol	23(12.0)	7(8.2)	$\chi^2=0.855$	0.355
Modified super-long protocol	6(3.1)	3(3.5)	Fisher	1.000

Group A: Short-term *in vitro* fertilization cycles; Group B: Half-intracytoplasmic sperm injection cycles. BMI: Body mass index; bFSH: Basic follicle stimulating hormone; GnRHant: Gonadotropin-releasing hormone antagonist

表 2 两组获卵后受精、胚胎发育情况的比较

Tab 2 Comparison of fertilization and embryo development outcomes between two groups

Outcome	Group A	Group B	χ^2 value	P value
Low fertilization cycle rate ^a	10.4(20/192)	10.6(9/85)	0.002	0.966
Mature oocyte rate ^b	88.9(1 915/2 155)	88.6(1 063/1 200)	0.060	0.806
ICSI rate ^c	10.0(192/1 915)	45.1(479/1 063)	480.686	0.000
Excessive ICSI rate ^d	0.0(0/192)	89.8(430/479)	479.888	0.000
Normal fertilization rate ^e	73.3(1 403/1 915)	79.6(846/1 063)	14.780	0.000
Available embryo rate ^e	71.6(1 005/1 403)	70.3(595/846)	0.435	0.509
High-quality embryo rate ^e	64.9(910/1 403)	64.3(544/846)	0.072	0.788
Blastocyst formation rate ^f	53.7(87/162)	57.7(79/137)	0.471	0.492

Group A: Short-term *in vitro* fertilization cycles; Group B: Half-ICSI cycles. ^a: N is the number of cycles; ^b: N is the number of retrieved oocytes; ^c: N is the number of mature oocytes; ^d: N is the number of mature oocytes for ICSI; ^e: N is the number of normal fertilized embryos; ^f: N is the number of embryos for blastocyst culture. ICSI: Intracytoplasmic sperm injection

表 3 两组接受新鲜胚胎移植和妊娠结局情况

Tab 3 Comparison of fresh-embryo-transfer and pregnancy outcomes between two groups

Outcome	Group A	Group B	Statistic	P value
Average number of transferred embryo $\bar{x}\pm s$	1.91±0.29($n=145$)	1.92±0.27($n=51$)	$t=-0.244$	0.808
Endometrium thickness on transfer day d/mm , $\bar{x}\pm s$	10.96±1.84($n=145$)	11.05±1.62($n=51$)	$t=1.780$	0.077
Blastocyst transfer rate ^a $\%(n/N)$	3.2(9/277)	4.1(4/98)	Fisher	0.749
Clinical pregnancy rate ^b $\%(n/N)$	52.4(76/145)	51.0(26/51)	$\chi^2=0.031$	0.860
Abortion rate ^c $\%(n/N)$	13.2(10/76)	19.2(5/26)	Fisher	0.523
Embryo implanted rate ^a $\%(n/N)$	37.2(103/277)	33.7(33/98)	$\chi^2=0.386$	0.534

Group A: Short-term *in vitro* fertilization cycles; Group B: Half-intracytoplasmic sperm injection cycles. ^a: N is the number of transferred embryos; ^b: N is the number of transfer cycles; ^c: N is the number of pregnancy cycles

表 4 两组中 IVF 受精率低下周期受精情况的比较

Tab 4 Comparison of fertilization outcomes in low fertilization cycles between two groups

Outcome	Group A1	Group B1	χ^2 value	P value
Mature oocyte rate ^a	89.2(231/259)	82.2(83/101)	3.205	0.073
ICSI rate ^b	83.1(192/231)	59.0(49/83)	19.844	0.000
Normal fertilization rate ^b	77.9(180/231)	49.4(41/83)	23.833	0.000

%(n/N)

Group A1: Short-term IVF cycles combination to early rescue ICSI with a low IVF fertilization rate ($\leq 30\%$); Group B1: Half-ICSI cycles with a low IVF fertilization rate ($\leq 30\%$). ^a: N is the number of retrieved oocytes; ^b: N is the number of mature oocytes. ICSI: Intracytoplasmic sperm injection; IVF: *In vitro* fertilization

3 讨论

3.1 受精低下的预测及补救方案 精卵结合是一个复杂过程,包括卵母细胞成熟、精子成熟、精子获能、精子透明带结合、配子融合等环节,任何一个环节发生障碍均会导致受精失败。据报道,10%~25%的常规 IVF 病例会发生卵子完全不受精或受精率低^[7];接受 IVF 治疗的不明原因不孕患者中约 17.6%发生全部卵母细胞受精失败^[8]。不孕 5 年以上、男方精液临界水平、男方正常精子形态少于 4%及 3 次以上 IUI 未孕均是精卵结合障碍的高危因素^[9-10]。针对存在至少 1 项上述高危因素的夫妇,在其首次接受 IVF-ET 助孕时,本中心采用短时 IVF 联合早期补救 ICSI 或 half-ICSI 授精预防受精率低。临床观察两种授精方式均能一定程度上避免受精率低,但也存在对受精正常的卵子过度 ICSI 的风险。为探讨两种授精方式的利弊、指导临床,本研究回顾性分析比较两者的受精情况、胚胎发育以及移植后妊娠结局。

3.2 两种方案对卵子受精、发育潜能的影响 排除卵子成熟障碍、获卵数偏少这 2 个偏倚因素后,A、B 两组卵子成熟度、IVF 受精率低周期率差异均无统计学意义(卵子成熟度 88.9% vs 88.6%, $\chi^2 = 0.060, P=0.806$;IVF 受精率低周期率 10.4% vs 10.6%, $\chi^2 = 0.002, P=0.966$),说明该研究数据避免了授精方式以外因素对受精结果的干扰,结果较可靠。

研究结果显示,虽然 A 组的正常受精率低于 B 组,但两组可用胚胎率、优质胚胎率以及囊胚形成率差异均无统计学意义。由此看出,短时 IVF 在正常受精率偏低的情况下能达到与 half-ICSI 类似的胚胎发育结局。因此我们认为短时 IVF 有改善受精后胚胎发育结局的潜在优势。其主要原因可能是

由于短时 IVF 缩短了精卵共孵育时间并及早更换了体外培养基,从而减少了精子等细胞代谢产物及过氧化物对胚胎后续发育的影响^[11-12]。

Half-ICSI 助孕的 ICSI 率远远高于短时 IVF (45.1% vs 10.0%, $\chi^2 = 480.686, P < 0.01$),且其中 89.8%的卵子是常规 IVF 受精率正常的卵子,属于过度 ICSI。短时 IVF 则仅在受精率低时对未受精卵子行早期补救 ICSI 授精,不存在过度 ICSI。由此可见,虽然 half-ICSI 可因较高的 ICSI 率提高卵子的正常受精率,但存在过度 ICSI 风险。目前 ICSI 对于后代的远期影响仍有争议,因此应尽量避免过度 ICSI。

进一步分析 IVF 受精率低周期,短时 IVF 联合早期补救 ICSI 的正常受精率高于 half-ICSI (77.9% vs 49.4%, $\chi^2 = 23.833, P < 0.01$)。主要原因是短时 IVF 利用早期补救 ICSI 及时补救未受精卵子,而 half-ICSI 助孕时近一半卵子因未发现受精失败而未行 ICSI 造成了卵子的浪费(ICSI 率 83.1% vs 59.0%, $\chi^2 = 19.844, P < 0.01$)。蒋彦等^[13]回顾性分析常规 IVF 完全受精失败周期中 half-ICSI 与短时 IVF 联合早期补救 ICSI 两种授精方式的助孕结局,发现两组受精率、优质胚胎率及妊娠率差异无统计学意义。但蒋彦等^[13]在分析受精完全失败周期时仅统计了 half-ICSI 组以及短时受精联合早期补救 ICSI(Re-ICSI)组中行 ICSI 授精的卵子,因纳入对象常规 IVF 授精完全失败,half-ICSI 组存在近一半卵子未受精且未行 ICSI,而在 Re-ICSI 组所有卵子均接受了早期补救 ICSI,由此可见,两组之间存在卵子利用度的偏差,可能影响获得卵子的总体受精情况。本研究将两组的总获卵数作为一个整体来分析受精结局,因此结果更加合理,对临床的指导作用更加全面、直观。正是由于我们考虑了 half-ICSI 助孕时行 IVF 的卵子受精情况,从而

发现了短时 IVF 具有充分利用卵子提高正常受精率的优势。

3.3 两种方案对移植后临床妊娠结局的影响 避免 IVF 失败、保证卵子受精率可使患者有更多的胚胎移植和冷冻, 增加妊娠率。朱琴等^[14]发现 half-ICSI 助孕时, IVF 受精低下周期的妊娠结局与 IVF 受精正常周期的差异无统计学意义, 由此认为 half-ICSI 不仅能有效防止受精失败, 还能获得较理想的妊娠结局。刘琨等^[15]也认为在短时受精基础上实施早期补救 ICSI 有助于增加胚胎利用率, 降低无胚胎移植风险, 改善临床妊娠结局。

胚胎着床需要具有发育潜能的胚胎及良好容受性的子宫内膜。近年来, 玻璃化冷冻技术的成熟保证了稳定的胚胎冷冻复苏率^[16]。Achache 和 Revel^[17]认为胚胎种植失败, 胚胎因素仅占三分之一, 子宫内膜容受性是剩余三分之二的因素。因此, 患者存在卵巢过度刺激综合征、子宫内膜过薄或过厚或回声不均、输卵管积水、合并内科急症等不利因素时, 为避免浪费胚胎均在患者知情同意下选择放弃新鲜胚胎移植、冻存胚胎, 择期接受冻融胚胎移植助孕。接受新鲜胚胎移植助孕患者的基本情况较为平衡, 利于观察胚胎因素对妊娠结局的影响。吴丽敏等^[18]在常规 IVF 完全受精失败周期中比较了早期补救 ICSI 与 half-ICSI 两种授精方式的妊娠结局, 发现两者可获得相似的新鲜胚胎妊娠结局。

本研究中, A、B 两组平均移植胚胎数 (1.91 ± 0.29 vs 1.92 ± 0.27 , $t = -0.244$, $P = 0.808$)、移植日子宫内膜厚度 (10.96 ± 1.84 vs 11.05 ± 1.62 , $t = 1.780$, $P = 0.077$)、移植囊胚率 (3.2% vs 4.1% , Fisher 确切概率法, $P = 0.749$) 差异均无统计学意义。比较 A、B 两组中接受新鲜胚胎移植助孕患者的妊娠结局发现, 与 half-ICSI 相比, 短时 IVF 的临床妊娠率、流产率、胚胎着床率差异均无统计学意义, 与既往研究结果^[18]一致。本研究中, 短时 IVF 助孕组总体正常受精率偏低, 胚胎发育结局与 half-ICSI 助孕组类似, 提示短时 IVF 有改善受精后胚胎发育结局的潜在优势。尽管如此, A、B 两组新鲜胚胎移植后的妊娠结局差异无统计学意义, 可能与样本量偏少有关。

3.4 小结 相比既往研究^[13, 18-19], 本研究认为短时 IVF 和 half-ICSI 是预防受精率低下下的两种授精方

式, 分析两者利弊时应采用历史队列研究的方法。从确定存在受精障碍高危因素拟行短时 IVF 或 half-ICSI 时为起始时间点, 追踪分析患者最终总体结局, 研究结果更加贴近临床, 指导意义更加直接。此外, 本研究在总体分析后结合了亚组分析, 即以 IVF 受精率低下下的 half-ICSI 助孕与实施了早期补救 ICSI 的短时 IVF 助孕患者为研究对象进行了人群亚组分析, 排除 half-ICSI 助孕过度 ICSI 影响总体正常受精率的干扰。本研究方法合理, 结果具有一定说服力, 可指导临床。

综上所述, 与 half-ICSI 相比, 短时 IVF 助孕能避免过度 ICSI 风险, 且联合早期补救 ICSI 后因能及时对未受精卵子进行早期补救 ICSI, 可提高卵子利用率以及受精能力低下卵子的正常受精率。本研究为回顾性研究, 存在偏倚, 且纳入短时 IVF 联合早期补救 ICSI 助孕的病例较少, 具有一定的局限性, 因此需要大样本、设计良好的前瞻性随机对照临床试验研究进一步探索。

[参考文献]

- [1] MAHUTTE N G, ARICI A. Failed fertilization; is it predictable? [J]. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2003, 15: 211-218.
- [2] KABLY AMBE A, RUIZ ANGUAS J, CARBALLO MONDRAGÓN E, CORONA DE LAU C, KARCHMER KRIVITSKY S. [Correlation between follicle levels of superoxide dismutase and oocyte quality, fertilization rates and embryo development] [J]. *Ginecol Obstet Mex*, 2004, 72: 335-344.
- [3] PEHLIVAN T, RUBIO C, RUIZ A, NAVARRO J, REMOHÍ J, PELLICER A, et al. Embryonic chromosomal abnormalities obtained after rescue intracytoplasmic sperm injection of 1-day-old unfertilized oocytes [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2004, 21: 55-57.
- [4] CHEN H L, COPPERMAN A B, GRUNFELD L, SANDLER B, BUSTILLO M, GORDON J W. Failed fertilization *in vitro*: second day micromanipulation of oocytes versus reinsemination [J]. *Fertil Steril*, 1995, 63: 1337-1340.
- [5] ABOULGHAR M A, MANSOUR R T, SEROUR G I, SATTAR M A, AMIN Y M. Intracytoplasmic sperm injection and conventional *in vitro* fertilization

- for sibling oocytes in cases of unexplained infertility and borderline semen [J]. *J Assist Reprod Genet*, 1996, 13: 38-42.
- [6] CHEN C, KATTERA S. Rescue ICSI of oocytes that failed to extrude the second polar body 6 h post-insemination in conventional IVF [J]. *Hum Reprod*, 2003, 18: 2118-2121.
- [7] VAN DER WESTERLAKEN L, HELMERHORST F, DIEBEN S, NAAKTGEBOREN N. Intracytoplasmic sperm injection as a treatment for unexplained total fertilization failure or low fertilization after conventional *in vitro* fertilization [J]. *Fertil Steril*, 2005, 83: 612-617.
- [8] ABOULGHAR M A, MANSOUR R T, SEROUR G I, AMIN Y, RAMZY A M, SATTAR M A, et al. Management of long-standing unexplained infertility: a prospective study [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 1999, 181: 371-375.
- [9] 王晶, 丛林, 曹云霞, 魏兆莲, 周平, 章志国, 等. 原发不孕患者 IVF/ICSI 方案的选择 [J]. *现代妇产科进展*, 2008, 17: 579-581.
- [10] PLACHOT M, BELAISCH-ALLART J, MAYENGA J M, CHOURAQUI A, TESQUIER L, SERKINE A M. Outcome of conventional IVF and ICSI on sibling oocytes in mild male factor infertility [J]. *Hum Reprod*, 2002, 17: 362-369.
- [11] ENKHMAA D, KASAI T, HOSHI K. Long-time exposure of mouse embryos to the sperm produces high levels of reactive oxygen species in culture medium and relates to poor embryo development [J]. *Reprod Domest Anim*, 2009, 44: 634-637.
- [12] MÉNÉZO Y, BARAK Y. Comparison between day-2 embryos obtained either from ICSI or resulting from short insemination IVF: influence of maternal age [J]. *Hum Reprod*, 2000, 15: 1776-1780.
- [13] 蒋彦, 曹琴英, 李淑贤, 葛军, 孟繁玉, 耿彩平, 等. IVF 完全受精失败周期分半 IVF/ICSI 和 Re-ICSI 结果比较 [J]. *中国计划生育学杂志*, 2013, 21: 266-268.
- [14] 朱琴, 付伟平, 王丽萍, 刘霞, 江楠. 部分 ICSI 在体外受精胚胎移植中预防受精失败临床效果 [J]. *生殖医学杂志*, 2014, 23: 872-875.
- [15] 刘琨, 胡俊平, 马晓玲, 石馨, 贾学玲, 赵丽辉, 等. 体外授精中卵母细胞受精失败因素分析及早期补救 ICSI 的应用探讨 [J]. *生殖医学杂志*, 2016, 25: 619-622.
- [16] DESAI N, BLACKMON H, SZEPTYCKI J, GOLDFARB J. Cryoloop vitrification of human day 3 cleavage-stage embryos: post-vitrification development, pregnancy outcomes and live births [J]. *Reprod Biomed Online*, 2007, 14: 208-213.
- [17] ACHACHE H, REVEL A. Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo in plantation [J]. *Hum Reprod Update*, 2006, 12: 731-746.
- [18] 吴丽敏, 金仁桃, 刘雨生, 童先宏, 周桂香, 付应云. 常规体外受精失败周期早补救卵胞浆内单精子注射与部分-卵胞浆内单精子注射受精方式的回顾性分析 [J]. *生殖医学杂志*, 2011, 20: 377-381.
- [19] 杨伟娜, 孔风云, 孙伟. 原发不孕患者行短时受精、half-ICSI 与常规长时受精结果的比较 [J]. *中国优生与遗传杂志*, 2014: 127-129.

[本文编辑] 杨亚红