待孕妇女年龄和获卵数对卵胞浆内单精子注射治疗结局的影响*

徐文杰，黄官友，周从容**
（贵州医科大学附院 生殖中心，贵州 贵阳 550004）

［摘 要］**目的：**探讨卵胞浆内单精子注射（ICSI）治疗中待孕妇女年龄和获卵数对胚胎质量及临床结局的影响。**方法：**接受 ICSI 助孕治疗的 520 名待孕妇女，（**1**）根据年龄分为≤25 岁组（A 组）、26～30 岁组（B 组）、31～34 岁组（C 组）和≥35 岁组（D 组），（**2**）根据获卵数分为≤4 枚组（Ⅰ组）、5～10 枚组（Ⅱ组）、11～15 枚组（Ⅲ组）、16～20 枚组（Ⅳ组）和≥21 枚组（Ⅴ组）；采用 ICSI 技术受精，比较 ICSI 治疗周期后不同年龄组间异常受精率、胚胎停育率、优质胚胎率、胚胎冷冻率、种植率及临床妊娠率的变化，比较不同获卵数组间雌雄原核（2PN）卵裂率、优质胚胎率、胚胎种植率、胚胎冷冻率、胚胎停育率及临床妊娠率的改变。**结果：**（**1**）A 组和 B 组的异常受精率及胚胎停育率显著低于 C 组和 D 组（$P<0.05$），优质胚胎率和胚胎冷冻率按照 A、B、C 及 D 组依次降低（$P<0.05$），A 组和 B 组种植率和临床妊娠率高于 C 组和 D 组（$P<0.05$）；（**2**）Ⅰ组的 2PN 卵裂率、优质胚胎率和胚胎种植率明显低于Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ及Ⅴ组（$P<0.05$）；胚胎冷冻率按照Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ组及Ⅴ组依次降低（$P<0.05$）；Ⅰ组的胚胎停育率显著高于Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ及Ⅴ组（$P<0.05$），而临床妊娠率则明显低于Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ及Ⅴ组（$P<0.05$）。**结论：**随着待孕妇女年龄的增长，胚胎质量下降，临床结局较差；获卵数在 11～15 枚之间的胚胎质量较高、临床结局较好。

［关键词］卵胞浆内单精子注射；卵子；胚胎；年龄；临床结局
［中图分类号］R714.8 ［文献标识码］A ［文章编号］1000-2707（2015）11-1210-04

Effects of Women's Age and Oocyte Number on the Ttreatment Outcome of Intracytoplasmic Sperm Injection

XU Wenjie，HUANG Guanyou，ZHOU Congrong
（*Reproductive Center，Affiliated Hospital of Guizhou Medical University，Guiyang 550004，Guizhou，China*）

［**Abstract**］**Objective**：To investigate the effect of women's age and the number of retrieved oocytes on embryo quality and clinical outcome after intracytoplasmic sperm injection（ICSI）. **Methods**：A retrospective study was carried out to analyze the clinical data of 520 women receiving ICSI.（**1**）According to age，they were divided into less than or equal to 25 years old group（group A），26 to 30 years old group（group B），31 to 34 years old group（group C）and more than or equal to 35 years old group（group D）.（**2**）According to the oocyte number，they were divided into less than or equal to 4（group Ⅰ），5 to 10（group Ⅱ），11 to 15（group Ⅲ），16 to 20（group Ⅳ）and more than or equal to 21（group Ⅴ）. After the period ICSI treatment，abnormal fertilization rate，embryo diapause rate，good quality embryo rate，embryo freezing rate，embryo implantation rate and clinical pregnancy rate between different age group were compared while 2PN cleavage rate，good quality embryo rate，embryo implantation rate，embryo freezing rate，embryo diapause rate and clinical pregnancy rate between different oocyte number group were compared. **Results**：（**1**）Abnormal fertilization rate and embryo diapause rate of group A and group B were lower than those of group C and group D（$P<0.05$）. Among

*［基金项目］贵州省卫计委科学技术基金项目［黔卫发 G 字（2013）71 号］
**通信作者 E-mail：337191373@qq.com
网络出版时间：2015－10－13 网络出版地址：http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20151013.1301.046.html

the four groups, good quality embryo rate and embryo freezing rate showed a decreasing trend from group A to group D ($P<0.05$). Embryo implantation rate and clinical pregnancy rate of group A and group B were higher than those of group C and group D ($P<0.05$). (**2**)2PN cleavage rate and good quality embryo rate and embryo implantation rate of group Ⅰ were lower than those of the other groups ($P<0.05$). Between the five groups, embryo freezing rate showed a decreasing trend from group Ⅰ to Ⅴ ($P<0.05$). Embryo diapause rate of group Ⅰ was higher than that of the other groups ($P<0.05$), while clinical pregnancy rate of group Ⅰ was significantly lower than that of the other groups ($P<0.05$). **Conclusion**: With the increase of pregnant women's age, embryo quality is decreased and clinical outcome is poor. When the embryo number is between 11 and 15, embryo quality was high and clinical outcome is good.

[**Key words**] intracytoplasmic sperm injection; oocyte; embryo; age; clinical outcome

1992 年 Palermo 等[1]首次采用卵胞浆内单精子注射(intracytoplasmic sperm injection,ICSI) 技术获得妊娠成功,该项技术迅速在世界范围内推广,成为男性不育治疗史上的一座里程碑。ICSI 技术是将精子直接注入卵胞浆内完成受精,降低了对精子数量、活动率及受精能力的要求[2]。有研究证实,随着待孕妇女年龄的增长,会出现卵巢储备能力下降、激素水平紊乱、超排卵过程中卵泡发育不同步等状况[3]。本文通过回顾性分析接受 ICSI 助孕治疗的 520 例待孕妇女的临床资料,探讨待孕妇女的年龄和获卵数对 ICSI 治疗结局的影响。

1　资料与方法

1.1　一般资料

将 2013 年 1 月～2014 年 6 月接受 ICSI 助孕治疗的 520 例待孕妇女进行分组:(**1**)根据年龄分为≤25 岁组(A 组)、26～30 岁组(B 组)、31～34 岁组(C 组)及≥35 岁组(D 组),(**2**)根据获卵数分为≤4 枚组(Ⅰ组)、5～10 枚组(Ⅱ组)、11～15 枚组(Ⅲ组)、16～20 枚组(Ⅳ组)及≥21 枚组(Ⅴ组)。ICSI 治疗周期纳入标准:代孕妇女丈夫符合以下条件之一者:(**1**)需行睾丸或附睾穿刺术;(**2**)所获精子、精子密度≤1×10^9/L,或前向运动精子百分比≤1%,或正常形态精子≤1%;(**3**)精子密度为($1\sim5$)$\times10^9$/L 及前向运动精子百分比≤20%,或精子密度为($1\sim5$)$\times10^9$/L 及正常形态精子≤3%;(**4**)精子密度为($6\sim15$)$\times10^9$/L 及前向运动精子百分比≤10%,或精子密度为($6\sim15$)$\times10^9$/L 及正常形态精子≤2%;(5)精子密度为≥16×10^9/L 及前向运动精子百分比≤5%,或精子密度为≥16×10^9/L 及正常形态精子≤1%。

1.2　方法

采用黄体期降调节长方案进行超排卵,B 超下监测有 2 个主导卵泡直径≥18 mm 时停用促性腺激素(Gn),注射 6 000～10 000 IU 人绒毛促性腺激素(HCG),36 h 后取卵;丈夫于取卵日同时手淫法取精或经睾丸/附睾(TASA/PESA)穿刺取精,通过密度梯度离心法处理精液,采用 ICSI 技术受精。

1.3　观察指标

观察 ICSI 治疗周期后不同年龄组孕妇卵泡的异常受精率、胚胎停育率、优质胚胎率、胚胎冷冻率、种植率及临床妊娠率的变化,比较不同获卵数组间雌雄原核(2PN)卵裂率、优质胚胎率、胚胎种植率、胚胎冷冻率、胚胎停育率及临床妊娠率的改变。优质胚胎评判标准:将第 2 天≥3 细胞、评分评级[4]为Ⅰ～Ⅱ级或第 3 天≥6 细胞评分评级为Ⅰ～Ⅱ级的胚胎定为优质胚胎。

1.4　统计学方法

所有数据均采用 SPSS 16.0 进行统计分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用单因素方差分析,两两比较采用 t 检验,计数资料用率(%)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　待孕妇女年龄对胚胎质量和临床结局的影响

A 组的获卵枚数明显高于 B 组、C 组和 D 组,B 组和 C 组明显高于 D 组,差异有统计学意义($P<0.05$);A 组和 B 组的异常受精率及胚胎停育率显著低于 C 组和 D 组,差异有统计学意义($P<0.05$),A 组和 B 组、C 组和 D 组比较,差异无统计学意义($P>0.05$);优质胚胎率和胚胎冷冻率按照

A、B、C 及 D 组依次降低,差异有统计学意义($P<0.05$);在种植率和临床妊娠率方面,A 组、B 组种植率和临床妊娠率高于 C 组和 D 组,C 组高于 D 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 孕妇年龄对胚胎质量和临床结局的影响

Tab. 1 Effect of pregnant woman's age on embryos quality and clinical outcomes

指标	A 组	B 组	C 组	D 组
胚胎质量				
周期数(n)	58	159	139	164
不孕时间(年)	2.90 ± 1.41	4.13 ± 0.76	5.44 ± 2.83	7.65 ± 3.02
获卵数(枚)	13.86 ± 4.58	11.03 ± 3.22(1)	10.89 ± 3.95(1)	8.01 ± 4.62(1)(2)
成熟卵母细胞率(%)	78.36	78.21	76.02	76.88
2PN 率(%)	84.76	82.71	83.15	83.09
2PN 卵裂率(%)	96.25	96.91	97.39	96.67
异常受精率(%)	2.38	2.92	5.39(1)(2)	5.44(1)(2)
优质胚胎率(%)	50.39	48.17(1)	44.23(1)(2)	40.99(1)(2)(3)
胚胎冷冻率(%)	59.10	53.07(1)	50.10(1)(2)	37.84(1)(2)(3)
临床结局				
移植胚胎数(枚)	1.79 ± 0.00	2.18 ± 0.48	2.20 ± 0.71	2.45 ± 0.96
胚胎种植率(%)	22.00	21.63	16.01(1)(2)	11.80(1)(2)(3)
胚胎停育率(%)	13.64	14.49	26.67(1)(2)	28.57(1)(2)
临床妊娠率(%)	40.43	40.41	25.78(1)(2)	20.55(1)(2)(3)
男/女出生比	1.00	0.85	0.62	0.57

(1) 与 A 组同指标比较,$P<0.05$;(2) 与 B 组同指标比较,$P<0.05$;(3) 与 C 组同指标比较,$P<0.05$

2.2 获卵数对胚胎质量和临床结局的影响

Ⅰ组的年龄明显大于Ⅱ组、Ⅲ组、Ⅳ组和Ⅴ组($P<0.05$),2PN 卵裂率、优质胚胎率和胚胎种植率则明显低于Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ及Ⅴ组($P<0.05$);胚胎冷冻率按照Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ及Ⅴ组依次降低,差异有统计学意义($P<0.05$);Ⅰ组的胚胎停育率显著高于Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ及Ⅴ组,而临床妊娠率则明显低于Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ及Ⅴ组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 2 获卵数对胚胎质量和临床结局的影响

Tab. 2 Effect of egg numbers on embryos quality and clinical outcomes

指标	Ⅰ组	Ⅱ组	Ⅲ组	Ⅳ组	Ⅴ组
胚胎质量					
周期数(n)	113	201	137	58	11
年龄(岁)	35.91 ± 6.83	31.65 ± 3.54(1)	30.78 ± 2.98(1)	29.63 ± 5.66(1)	31.60 ± 6.36(1)
不孕年限(年)	6.45 ± 2.36	5.48 ± 3.16	5.01 ± 3.79	4.84 ± 2.12	6.10 ± 5.66
获卵数(枚)	2.41 ± 1.18	7.60 ± 3.62	12.91 ± 3.35	17.71 ± 5.65	27.73 ± 4.80
成熟卵母细胞率(%)	76.47	78.45	77.26	77.61	79.67
2PN 率(%)	85.10	82.14	83.09	85.07	82.72
2PN 卵裂率(%)	88.14	96.54(1)	99.12(1)	95.58(1)	99.50(1)
异常受精率(%)	2.88	3.84	3.95	3.01	3.29
优质胚胎率(%)	43.67	48.60(1)	50.57(1)	49.01(1)	48.80(1)
胚胎冷冻率(%)	9.49	34.33(1)	43.95(1)(2)	61.80(1)(2)(3)	76.56(1)(2)(3)(4)
临床结局					
移植胚胎数(枚)	1.81 ± 0.65	2.39 ± 0.81	2.33 ± 0.36	2.28 ± 0.64	2.67 ± 0.26
胚胎种植率(%)	11.76(1)	20.35(1)	21.64(1)	23.68(1)	25.00(1)
胚胎停育率(%)	31.25	19.75(1)	20.75(1)	22.73(1)	0.00(1)
临床妊娠率(%)	14.47	33.68(1)	34.09(1)	34.00(1)	50.00(1)
男/女出生比	0.38	0.70	1.12	0.36	0.50

(1) 与Ⅰ组同指标比较,$P<0.05$;(2) 与Ⅱ组同指标比较,$P<0.05$;(3) 与Ⅲ组同指标比较,$P<0.05$;(4) 与Ⅳ组同指标比较,$P<0.05$

3　讨论

虽然 ICSI 技术在治疗男性不育方面获得了良好的临床结局,但其安全性仍存在争议。本文从待孕妇女年龄和获卵数两个影响因素入手,通过对比分析相关临床资料,探讨它们对 ICSI 治疗效果的影响。

尽管辅助生殖技术(ART)降低了年龄对妊娠的影响,但错过最佳孕育年龄的高龄不孕妇女,由于多数存在卵巢功能异常、储备能力下降、激素水平紊乱、超排卵过程中卵泡发育不同步等因素,可能直接导致获卵数较低。本研究发现,年龄≤25 岁的妇女获卵数枚明显高于其它年龄组($P<0.05$),当年龄≥35 岁时获卵数最低。Dain L 等[5]认为,卵龄增加可能导致卵母细胞中的蛋白质和 mRNA 减少,从而增加异常受精率,同时还会影响优质胚胎的形成。本研究数据表明,30 岁以下患者的异常受精率显著低于 31 岁以上患者($P<0.05$),优质胚胎率和胚胎冷冻率 A、B、C 及 D 组依次降低($P<0.05$),提示随着年龄的增加,可能因为卵母细胞的染色体异常率及非整倍体率升高,加大了异常受精的几率,卵龄的增加也使卵母细胞质量下降,导致优质胚胎率及胚胎冷冻率减低。现有研究证实,年龄可影响胚胎质量,而胚胎质量及种植潜能是影响妊娠成功的关键因素。Mateo S 等[6]认为,妊娠率与胚胎质量和发育速度关系密切。Yan J 等[7]研究发现,移植了 8 细胞且融合度好的优质胚胎,其临床妊娠率最高。罗燕群等[8]则报道,当有优质胚胎可移植时,高龄患者中较年轻者(35 ~38 周岁)移植胚胎数由 3 枚降至 2 枚可能不会降低临床妊娠率,但可以明显降低多胎发生率。本文数据显示,30 岁以下患者的胚胎停育率显著低于 31 岁以上患者($P<0.05$),而在胚胎种植率和临床妊娠率方面,恰好与胚胎停育率结果相反($P<0.05$),与上述学者的研究观点基本一致。

获卵数过少是否同时伴有卵子质量下降问题目前仍存有争议。本研究的 520 例 ICSI 治疗周期中,获卵数≤4 枚组的年龄岁明显大于其余 4 组($P<0.05$),而 2PN 卵裂率、优质胚胎率和胚胎种植率则显著低于其余 4 组($P<0.05$),并且 5 组之间的胚胎冷冻率递增($P<0.05$),同时,获卵数≤4 枚患者的胚胎停育率显著高于获卵数≥5 枚的患者($P<0.05$),而临床妊娠率则明显低于获卵数≥5 枚的患者($P<0.05$),提示随着孕龄增加、卵巢储备能力下降,获卵数的降低和卵母细胞质量变差,影响了胚胎结局和临床结局。

综上所述,胚胎发育是一个多步骤和多因素影响的动态过程。胚胎质量的优劣关系着 ICSI 助孕治疗的临床结局。待孕妇女年龄和获卵数则是影响 ICSI 治疗效果的关键因素,与胚胎质量和临床结局息息相关。

4　参考文献

[1] Palermo G, Joris H, Devroey P, et al. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte[J]. Lancet, 1992 (8810): 17 - 18.

[2] Alukal J, Lamb D. Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) what are the risks? [J]. Urol Clin North Am, 2008 (2): 277 - 288.

[3] 梁琳,陈秀娟. 高龄不孕患者不同辅助生育技术的胚胎发育情况及妊娠结局分析[J]. 中华妇幼临床医学杂志, 2014(6): 770 - 773.

[4] 黄国宁,孙海翔,何方方,等. 体外受精 - 胚胎移植实验室技术[M]. 北京:人民卫生出版社, 2012: 240 - 243.

[5] Dain L, Auslander R, Dirnfeld M. The effect of paternal age on assisted reproduction outcome[J]. Fetil Steril, 2011(3): 1 - 8.

[6] Mateo S, Parriego M, Boada M, et al. In vitro development and chromosome constitution of embryos derived from monopronucleated zygotes after intracytoplasmic spem injection[J]. Fetil Steril, 2013(3): 897 - 902.

[7] Yan J, Li Y, Shi Y, et al. Assessment sex chromosome of human embryos arising from monopronucleated zygotes in In vitro fertilization and intracytoplasmic spem injection cycles of Chinese women[J]. Gynecol obstel, 2010 (1): 20 - 23.

[8] 罗燕群,刘风华,易艳红,等. 年龄、移植胚胎数量、质量与临床妊娠率的关系[J]. 生殖医学杂志, 2014 (5): 361 - 366.

(2015-08-02 收稿,2015-09-22 修回)
中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: 刘　华