

卵胞浆内单精子显微注射子代临床随访研究

余慕雪 徐艳文 周灿权 庄思齐 王子莲 陈玮琪 李晓瑜 邓明芬

【摘要】 目的 了解卵胞浆内单精子显微注射(ICSI)子代围产期并发症、出生缺陷和生长发育等状况。方法 对中山大学附属第一医院生殖医学中心经ICSI技术治疗妊娠成功的575例ICSI子代进行临床随访分析,内容包括孕母妊娠期并发症、子代新生儿期并发症、围产期出生缺陷和以后发现的出生缺陷以及体重、身长/高增长状况等。结果 多胎妊娠ICSI子代早产、低出生体重儿发生率较单胎妊娠子代高;孕母妊娠高血压综合征和ICSI子代新生儿窒息、呼吸窘迫综合征、感染性疾病的发生率在多胎妊娠子代中发生率也较高($P<0.05$)。11例死亡的ICSI子代中,10例在新生儿期死亡,均为早产儿;1例单胎足月儿2岁死于肝母细胞瘤。多胎妊娠ICSI子代围产期出生缺陷的发生率较一般人群调查的发生率高($P<0.05$)。大部分ICSI子代1~3岁的体重、身长/身高能达到同龄儿童标准范围。结论 ICSI子代围产期并发症较高发生率与多胎妊娠密切相关。

【关键词】 卵胞浆内单精子显微注射;围产期;多胎妊娠;出生缺陷

A follow-up study on children conceived through intracytoplasmic sperm injection YU Mu-xue¹, XU Yan-wen², ZHOU Can-quan², ZHUANG Si-qi¹, WANG Zi-lian³, CHEN Wei-qi¹, LI Xiao-yu¹, DENG Ming-fen². 1 Department of Pediatrics, 2 Reproductive Medical Center, 3 Department of Obstetrics, the First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China
Corresponding author: ZHOU Can-quan, Email: zhoucanquan@hotmail.com
This work was supported by grants from the National Basic Research Program of China (973 Program) (No. 2007CB948103) and the Specialized Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education (No. 20050558097).

【Abstract】 Objective To investigate the perinatal complications, birth defects and growth of children conceived through intracytoplasmic sperm injection (ICSI). **Methods** A total of 575 children conceived by ICSI in our reproductive medical center, were studied. The follow-up study would include items as pregnant complications, neonatal complications, birth defects in perinatal period, subsequently detected birth defects, body weight and body length/height growth. **Results** Prematurity and low birth weight of ICSI children were higher in the multiple births than in the singleton births. The rates of maternal gestational hypertension, neonatal asphyxia, respiratory distress syndrome, infection diseases were higher in the multiple pregnancies than in the singleton pregnancies ($P<0.05$). Eleven ICSI children had died. Ten of them died in the neonatal period and they were preterm infants. One fullterm singleton ICSI child died of hepatoblastoma at the age of 2. The rate of birth defects in perinatal period was higher in ICSI children of multiple pregnancies than in the general population ($P<0.05$). The body weight and body length/height of most ICSI children had obtained the standard range between 1 to 3 year-olds. **Conclusion** The higher rates of perinatal complications in ICSI children were closely related to multiple pregnancies.

【Key words】 Intracytoplasmic sperm injection; Perinatal period; Multiple pregnancies; Birth defect

卵胞浆内单精子显微注射 (intracytoplasmic sperm injection, ICSI) 是辅助生殖技术中治疗男性不孕的主要技术。在该项技术中,通过将单个精子直

接注射注入卵母细胞胞浆内可以克服受精过程中的所有障碍,因此被普遍应用于各种因素的男性不孕。1992年Palermo等^[1]报道了世界首例ICSI技术的成功应用,1996年中山大学附属第一医院生殖医学中心在我国首例成功应用ICSI技术治疗男性不孕。尽管目前ICSI技术已经非常普及,但国内外关于ICSI子代围产期并发症、先天畸形以及生长发育状况等尚有争议。本研究对ICSI治疗成功妊娠的575例子代进行临床随访研究,结果报告如下。

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2010.08.022

基金项目:国家重点基础研究发展计划(973计划)(2007CB948103);
高等学校博士学科点专项科研基金(20050558097)

作者单位:510080 广州,中山大学附属第一医院儿科(余慕雪、庄思齐、陈玮琪、李晓瑜),生殖医学中心(徐艳文、周灿权、邓明芬),产科(王子莲)

通信作者:周灿权, Email: zhoucanquan@hotmail.com

对象与方法

1. 对象: 1996 年 1 月至 2005 年 1 月接受中山大学附属第一医院生殖医学中心 ICSI 技术治疗成功妊娠 548 例。其中 413 例妊娠阳性从妊娠期至分娩, 其娩出 ICSI 子代 577 例接受随访登记。有 2 例单胎妊娠因孕中期发现脑积水, 孕 32 周引产, 其性别、引产时体重不详, 未纳入本研究。故本研究含 ICSI 妊娠 411 例及其分娩子代 575 例。411 例 ICSI 技术治疗男性不育中, 少、弱精子症 327 例, 均采用射出精子方式取精; 无精子症 84 例, 采用附睾取精 77 例、睾丸取精 7 例。

2. 资料收集: 接受 ICSI 技术治疗的不孕夫妇, 妊娠后定期随访, 记录孕妇妊娠期并发症。其子代出生后电话随访, 在婴儿满 1 月龄后, 定期到生殖医学中心体检, 携带新生儿出院病历和围产保健手册进行围产期资料复核登记, 包括 ICSI 子代出生时间、胎龄、出生体重、性别、分娩方式、母婴围产期并发症、出生缺陷记录等。按照全国妇幼卫生监测办公室/中国出生缺陷监测中心《中国妇幼卫生监测手册》等文件中出生缺陷的定义^[2]、临床特征及诊断标准, 并结合 ICSI 子代围产期病历资料确定围产期出生缺陷。随访过程中, 记录以后新发现 ICSI 子代的出生缺陷及其体格发育、各种患病情况等。

3. 统计学分析: ICSI 子代之间分组分析包括单胎与多胎妊娠组不同出生胎龄、体重构成比的比较, 采用 χ^2 检验; 单胎与多胎妊娠组之间母亲妊娠期与 ICSI 子代新生儿期并发症、出生缺陷发生率的比较, 采用 χ^2 检验/精确概率法; ICSI 子代与一般人群围产期出生缺陷发生率的比较, 采用二项分布进行统计分析。P < 0.05 表示差异有统计学意义。

结 果

1. 一般资料: 575 例子代中男性 305 例、女性 270 例, 出生胎龄和体重分布见表 1。多胎妊娠中有 1 例是二胎妊娠(2003 年 1 例孕 37 周剖宫产分娩 3 例男性活婴, 出生体重 2 例 2400 g、1 例 2200 g); 其余均双胎妊娠; 有 2 例双胎妊娠分别娩出 1 例死胎、1 例活婴。多胎妊娠子代的早产儿(胎龄 < 37 周)的构成比较单胎妊娠子代高, 多胎妊娠子代低出生体重儿(< 2500 g)、极低出生体重儿(< 1500 g)的构成比较单胎妊娠子代高。单胎妊娠和多胎妊娠 ICSI 子代间的胎龄和出生体重有差异(P < 0.05)。

2. 孕母妊娠期和 ICSI 子代新生儿期主要并发

症: 见表 2。多胎妊娠组孕母妊娠期并发妊娠高血压综合征的发生率较单胎妊娠组高(P < 0.05), 多胎妊娠组新生儿并发新生儿窒息、呼吸窘迫综合征和感染性疾病的发生率比单胎妊娠组新生儿高(P < 0.05)。随访有脑性瘫痪 5 例, 均为双胎妊娠分娩的早产儿低出生体重儿。

表 1 575 例 ICSI 子代的出生胎龄和体重分布

项目	单胎妊娠子代 (n=246)		多胎妊娠子代 (n=329)		χ^2 值	P 值
	例数	构成比 (%)	例数	构成比 (%)		
出生胎龄(周)					61.436	0.000
≥37	227	92.28	211	64.13		
<37 ~ 32	16	6.504	101	30.70		
<32	3	1.219	17	5.167		
出生体重(g)					82.569	0.000
≥2500	233	94.72	204	62.01		
<2500 ~ 1500	12	4.878	114	34.65		
<1500	1	0.407	11	3.343		

表 2 孕母妊娠期和 ICSI 子代新生儿期主要并发症

并发症	单胎妊娠组	多胎妊娠组	χ^2 值	P 值
妊娠例数	246	165		
母亲妊娠期并发症				
胎膜早破	9(365.9)	13(787.9)	3.472	0.062
前置胎盘	9(365.9)	2(112.1)	-	0.212*
糖耐量异常	14(569.1)	12(727.3)	0.417	0.518
妊娠高血压综合征	3(121.9)	9(545.4)	-	0.016*
新生儿例数	246	329		
新生儿并发症				
窒息	3(121.9)	13(395.1)	3.883	0.049
呼吸窘迫综合征	4(162.6)	21(638.3)	7.659	0.006
感染性疾病	3(121.9)	15(455.9)	5.177	0.023
病理性黄疸	21(853.7)	31(942.2)	0.134	0.714

注: 括号内数据为发生率(万); *精确概率法

3. 死亡情况: 有 11 例 ICSI 子代死亡, 其中新生儿期死亡 10 例均为早产儿, 其中 7 例早产儿来自 4 例双胎妊娠, 3 例早产儿来自单胎妊娠; 1 例 2 岁死亡(肝母细胞瘤), 为单胎妊娠足月儿。

4. 出生缺陷发生率: 随访 411 例妊娠的 575 例子代中, 有 12 例妊娠分娩的 15 例 ICSI 子代(表 3 子代例 1 ~ 15)有围产期出生缺陷; 围产期后随访, 又发现 2 例出生缺陷(表 3 子代例 16、17)。出生缺陷的 ICSI 子代共有 17 例(男性 11 例, 女性 6 例)。其中尿道下裂构成比最高(3 例)。17 例出生缺陷中, 3 例来自单胎妊娠(表 3 子代例 14 ~ 16), 其余 14 例来自双胎妊娠, 多胎妊娠子代的出生缺陷发生率高于单胎妊娠子代($\chi^2=4.521, P=0.033$)。

411 例妊娠孕母年龄 21 ~ 44(M=32) 岁。其中发生出生缺陷 ICSI 子代 14 例孕母年龄 26 ~ 40(M=

32.5)岁;无发生出生缺陷子代 397 例孕母年龄 21 ~ 44($M=32$)岁。14 例发生出生缺陷的妊娠中(表 3), 只有妊娠例 12(子代例 15)为睾丸取精做 ICSI 技术治疗,其他均为射精取精方式做 ICSI 技术治疗。

表 3 ICSI 子代的出生缺陷分布

妊娠例数	子代例数	性别	出生缺陷
1	1	女	脊柱裂
	2	男	唇裂
2	3	男	双侧多囊肾,肛门闭锁,尿道口闭锁
	4	女	左侧重复肾
3	5	女	副耳
	6	女	副耳
4	7	男	小肠闭锁,巨结肠
5	8	男	多指畸形
6	9	男	脐膨出
7	10	男	房间隔缺损
8	11	男	动脉导管未闭
9	12	女	动脉导管未闭
10	13	男	尿道下裂
11	14	男	尿道下裂
12	15	男	尿道下裂
13	16	男	房间隔缺损
14	17	女	胆道闭锁

注:子代例 1~15 为围产期出生缺陷,例 16、17 为围产期以后发现的出生缺陷

本研究围产期出生缺陷发生率与一般人群资料进行比较,246 例单胎妊娠 ICSI 子代围产期出生缺陷发生率不高于一般人群[资料分别来自广东省(134.4/万)^[3]、广州市(109.4/万)^[4]、广州市越秀区(157.0/万^[5]), $P>0.05$]。329 例多胎妊娠 ICSI 子代围产期出生缺陷发生率(13/329, 395.1/万)高于上述一般人群($P<0.05$)。单胎妊娠子代围产期出生缺陷发生率(2/246, 81.3/万)低于多胎妊娠子代($\chi^2=5.457, P=0.019$)。

鉴于动脉导管未闭(PDA)的发生与早产密切相关^[6],去除 2 例 PDA(均为双胎早产儿),329 例多胎妊娠 ICSI 子代围产期出生缺陷发生率(11/329, 334.3/万)仍高于上述一般人群(P 值均 <0.05);除外 2 例 PDA 后多胎妊娠子代围产期出生缺陷的发生率仍较单胎妊娠子代高($\chi^2=4.079, P=0.043$)。

5. 体格生长发育与一般人群比较:体重、身长/身高生长发育指标随访资料参照 2006 年 WHO 标准^[7],分别以男女标准体格发育指标计算 ICSI 子代 1~3 岁体重、身长/身高 Z 评分,发育指标分布见表 4。随着生长发育过程,大部分 ICSI 子代体重、身长/身高追赶至同年龄 -2 标准差(s)以上。

讨 论

1. ICSI 多胎妊娠与围产期并发症:体外受精

表 4 ICSI 子代的体格发育分布

年龄组 (岁)	随访例数	体格指标	$<-2s$		$-2\sim 2s$		$>2s$	
			例数	率(%)	例数	率(%)	例数	率(%)
1~	565	体重	1	0.177	557	98.584	7	1.240
		身高	3	0.531	517	91.504	45	7.965
2~	564	体重	1	0.177	558	98.936	5	0.887
		身高	3	0.532	556	98.582	5	0.887
3~	564	体重	0	0.000	559	99.114	5	0.887
		身高	2	0.355	551	97.695	11	1.950

(IVF)单个胚胎的种植率低,为了达到一定的妊娠率往往增加移植胚胎的数目,造成 IVF 妊娠的多胎妊娠率高达 25%~50%^[8]。本研究中多胎妊娠 ICSI 子代早产儿、低出生体重儿的构成比较单胎妊娠 ICSI 子代高,其围产期主要并发症的发生率也较高。胎龄越小、出生体重越低,各器官系统发育越不成熟,新生儿并发症发生率越高^[9]。本研究围产期死亡 10 例 ICSI 子代中,有 7 例来自为双胎妊娠的早产低出生体重儿。早产儿器官系统发育不成熟,除新生儿期各种并发症发生率较高,远期可导致严重后遗症如脑性瘫痪的发生。本研究随访有 5 例脑性瘫痪,均为双胎早产低出生体重儿。大规模人群对照研究提示,IVF 子代中多胎妊娠、早产、低出生体重是脑瘫发生的重要原因^[10,11]。

本研究多胎妊娠组孕母妊娠高血压综合征的发生率较单胎妊娠组高。Hernandez-Diaz 等^[12]的研究也认为不育治疗后妊娠孕期高血压的发生率较自然妊娠者高,多胎妊娠是造成这种情况的主要因素。Day 等^[13]的研究表明,在单胎、双胎和三胎妊娠中,随着胚胎数目的增加,妊娠期高血压的严重程度渐增。因此为了减少多胎妊娠母亲妊娠并发症的发生、减少早产和低出生体重儿的发生率,目前北欧国家已常规进行单个胚胎移植^[8]。

2. ICSI 子代与出生缺陷:Hansen 等^[14]报道 ICSI 子代在 1 岁以内发现的出生缺陷率(8.6%),较自然妊娠分娩子代 1 岁以内的出生缺陷率(4.2%)高;但 Rimm 等^[15]对 19 篇文献 Meta 分析表明,辅助生殖技术(包括 ICSI 和常规 IVF)妊娠分娩子代出生缺陷发生率高于自然妊娠分娩子代约 29%,出生缺陷发生率自然妊娠为 0~6.9%、ICSI 子代为 1.1%~9.7%、常规 IVF 子代为 0~9.5%,ICSI 与常规 IVF 子代出生缺陷的发生率无差异。同样也有报道 ICSI 与常规 IVF 子代出生缺陷发生率无差异^[16-18]。

本研究单胎妊娠分娩子代围产期发生出生缺陷与一般人群的统计资料相比并无差异。Sutcliffe 等^[19]研究提示单胎 ICSI 和自然妊娠的子代出生缺陷发

生率(分别是4.8%和4.5%)无差异。尿道下裂是ICSI子代的特异性畸形,其发生跟父源性不育有关^[20]。本资料中出生缺陷以尿道下裂的构成比最高。

对多胎妊娠ICSI子代是否会增加出生缺陷的发生率仍有争议。有研究认为多胎妊娠并不增加出生缺陷的发生,如Hansen等^[14]研究认为1岁以内单胎足月ICSI子代的出生缺陷发生率(8.8%)仍高于自然妊娠单胎足月子代(4.0%)。但也有研究认为多胎妊娠(包括单绒毛膜、双绒毛膜双胎妊娠)可以增加出生缺陷的发生^[21,22],其机制可能与多胎妊娠导致宫内拥挤,造成机械性损害、胎儿营养不良等有关^[23]。Pinborg等^[24]研究表明,ICSI双胎子代的出生缺陷发生率较单胎妊娠高,但去除PDA以后统计,ICSI子代中双胎和单胎妊娠出生缺陷发生率无差异。本研究中出生缺陷17例,有14例来自双胎妊娠。除2例因双胎妊娠导致早产而发生出生缺陷PDA外,多胎ICSI子代围产期出生缺陷的发生率仍然高于一般人群。

3. ICSI子代的生长发育:本研究ICSI子代由于多胎妊娠导致的早产极低出生体重儿较多,但1~3岁时体格生长发育指标大部分在一般人群的-2s以上。虽然ICSI多胎妊娠导致的极低出生体重儿可以在体格上追赶生长,但由此可能导致的胰岛素抵抗水平仍需长期追踪研究^[25]。

参 考 文 献

[1] Palermo G, Joris H, Devroey P, et al. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet*, 1992, 340(8810): 17-18.

[2] Maternal and Child Health Surveillance. <http://www.mchscn.org>. 2010. (in Chinese)
中国妇幼卫生监测. <http://www.mchscn.org>. 2010.

[3] Li B, Xia JH, Tian FL, et al. Analysis of birth defects surveillance from 1996 to 2004 in Guangdong province. *Chin J Perinat Med*, 2006, 9(6): 396-399. (in Chinese)
李兵, 夏建红, 田丰莲, 等. 广东省1996年至2004年监测出生缺陷发生情况分析. *中华围产医学杂志*, 2006, 9(6): 396-399.

[4] Su HM, Lu P. Analysis of birth defects surveillance from 1996 to 1999 in Guangzhou city. *Maternal & Child Health Care of China*, 2000, 15(10): 641-643. (in Chinese)
苏红梅, 卢萍. 1996-1999年广州市出生缺陷监测资料分析. *中国妇幼保健*, 2000, 15(10): 641-643.

[5] Chen M. Birth defects surveillance analysis of 9615 perinatal infants. *Guangzhou Med J*, 2002, 33(6): 43-45. (in Chinese)
陈妙. 9615例围产儿出生缺陷监测资料分析. *广州医药*, 2002, 33(6): 43-45.

[6] Chiruvolu A, Jaleel MA. Pathophysiology of patent ductus arteriosus in premature neonates. *Early Hum Dev*, 2009, 85(3): 143-146.

[7] World Health Organization. WHO child growth standards length/height-for-age, weight-for-age, weight-for-length, weight-for-height and body mass index-for-age. *Methods and Development*. 2006.

[8] Sutcliffe AG, Ludwig M. Outcome of assisted reproduction. *Lancet*, 2007, 370(9584): 351-359.

[9] Yu MX, Chen DP. The etiological factor, prevention and cure of the very low birth weight premature infants. *Chin J Birth Health & Heredity*, 2006, 14(2): 57-58, 61. (in Chinese)
余慕雪, 陈东平. 早产极低出生体重儿的病因和防治探讨. *中国优生与遗传杂志*, 2006, 14(2): 57-58, 61.

[10] Stromberg B, Dahlquist G, Ericson A, et al. Neurological sequelae in children born after in-vitro fertilisation: a population-based study. *Lancet*, 2002, 359(9305): 461-465.

[11] Hvidtjorn D, Grove J, Schendel DE, et al. Cerebral palsy among children born after in vitro fertilization: the role of preterm delivery—a population-based, cohort study. *Pediatrics*, 2006, 118(2): 475-482.

[12] Hernandez-Diaz S, Werler MM, Mitchell AA. Gestational hypertension in pregnancies supported by infertility treatments: role of infertility, treatments, and multiple gestations. *Fertil Steril*, 2007, 88(2): 438-445.

[13] Day MC, Barton JR, O'Brien JM, et al. The effect of fetal number on the development of hypertensive conditions of pregnancy. *Obstet Gynecol*, 2005, 106(5 Pt 1): 927-931.

[14] Hansen M, Kurinczuk JJ, Bower C, et al. The risk of major birth defects after intracytoplasmic sperm injection and in vitro fertilization. *N Engl J Med*, 2002, 346(10): 725-730.

[15] Rimm AA, Katayama AC, Diaz M, et al. A meta-analysis of controlled studies comparing major malformation rates in IVF and ICSI infants with naturally conceived children. *J Assist Reprod Genet*, 2004, 21(12): 437-443.

[16] Lie RT, Lyngstadaas A, Orstavik KH, et al. Birth defects in children conceived by ICSI compared with children conceived by other IVF-methods; a meta-analysis. *Int J Epidemiol*, 2005, 34(3): 696-701.

[17] Bertelsmann H, de Carvalho GH, Mund M, et al. The risk of malformation following assisted reproduction. *Dtsch Arztebl Int*, 2008, 105(1-2): 11-17.

[18] Bonduelle M, Liebaers I, Deketelaere V, et al. Neonatal data on a cohort of 2889 infants born after ICSI (1991-1999) and of 2995 infants born after IVF (1983-1999). *Hum Reprod*, 2002, 17(3): 671-694.

[19] Sutcliffe AG, Taylor B, Saunders K, et al. Outcome in the second year of life after in-vitro fertilisation by intracytoplasmic sperm injection: a UK case-control study. *Lancet*, 2001, 357(9274): 2080-2084.

[20] Wennerholm UB, Bergh C, Hamberger L, et al. Incidence of congenital malformations in children born after ICSI. *Hum Reprod*, 2000, 15(4): 944-948.

[21] Pinborg A. IVF/ICSI twin pregnancies: risks and prevention. *Hum Reprod Update*, 2005, 11(6): 575-593.

[22] Glinianaia SV, Rankin J, Wright C. Congenital anomalies in twins: a register-based study. *Hum Reprod*, 2008, 23(6): 1306-1311.

[23] Tang Y, Ma CX, Cui W, et al. The risk of birth defects in multiple births: a population-based study. *Matern Child Health J*, 2006, 10(1): 75-81.

[24] Pinborg A, Loft A, Nyboe AA. Neonatal outcome in a Danish national cohort of 8602 children born after in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection: the role of twin pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 2004, 83(11): 1071-1078.

[25] Casey PH. Growth of low birth weight preterm children. *Semin Perinatol*, 2008, 32(1): 20-27.

(收稿日期:2010-03-11)
(本文编辑:张林东)