

卵子第一极体形态与胚胎形态和临床妊娠关系分析

方丛, 庄广伦, 周灿权, 徐艳文, 钟依平

(中山大学附属第一医院生殖医学中心, 广东 广州 510080)

摘要:【目的】了解卵子第一极体形态与胚胎形态和临床妊娠的关系。【方法】对因男性因素不育的 91 例患者进行单精子卵胞浆内注射(ICSI)治疗 91 个周期, 进行 ICSI 操作时对卵子第一极体形态评定, 胚胎移植当天对胚胎形态进行评定, 胚胎移植后确定临床妊娠, 分析卵子极体形态与胚胎形态和临床妊娠之间的关系。【结果】随着极体形态不规则化, 取卵后第 3 天胚胎发育 ≥ 6 个细胞的胚胎比例和碎片(20%的胚胎比例呈下降趋势; 使用射出精进行单精子卵胞浆内注射的 74 例患者妊娠组中移植的 1 级和 2 级极体胚胎总比例显著高于非妊娠组($P < 0.05$), 且在 < 35 岁患者组中随移植胚胎中 1、2 级极体胚胎数目的增多, 临床妊娠率和多胎妊娠率增高。在使用附睾精和睾丸精患者中, 妊娠组移植的 1 级和 2 级极体胚胎比例高于非妊娠组, 但不具统计学差异。【结论】对卵子极体评定有助于选择好质量的胚胎进行移植。

关键词: 第一极体; 胚胎; 妊娠

中图分类号: R321-33

文献标识码: A

文章编号: 1000-257X(2002)04-0270-04

Relationships Between the Morphology of the First Polar Body and Embryos and Clinical Pregnancy FANG Cong, ZHUANG Guang-lun, ZHOU Can-quan, XU Yan-wen, ZHONG Yi-ping. (Assisted Reproductive Technique Center, First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract 【Objective】To analyze the relationships between the morphology of the first polar body and embryos and clinical pregnancy. 【Methods】The morphology of the first polar body was observed during intracytoplasmic sperm injection (ICSI) in 91 cases. Embryo morphology and clinical pregnancy and their relationships with the morphology of the first polar body were investigated. 【Results】The percentage of embryos with more than 6 blastomeres and less than 20% fragment on the 3rd day decreased with the irregularity of the first polar body. In 74 cases using ejaculated sperm, the percentage of transferred embryos with grade 1 and grade 2 polar body was higher in pregnancy group than in non-pregnancy group. In cases aged less than 35 years old, the more embryos with grade 1 and grade 2 polar body were transferred, the higher pregnancy rate and multiple pregnancies were obtained. For percutaneous epididymal sperm aspiration (PESA) and testicular sperm extraction (TESE) cases, although the percentage of transferred embryos with grade 1 and grade 2 polar body was higher in pregnancy group than in non-pregnancy group, no significant difference was found between the two groups. 【Conclusion】The morphology of the first polar body can be helpful for the selection of the good quality embryos for transfer.

Key words: first polar body; embryo; pregnancy

在体外受精-胚胎移植(IVF-ET)技术中, 如何提高临床妊娠率而又不增加多胎妊娠的危险是辅助生育领域内一直关注的问题, 其关键在于如何选择具有发育潜能的胚胎进行移植, 如何在胚胎发育早期确定其进一步发育的潜能。IVF-ET 一般在受精后第 2、3 天选择胚胎进行移植, 选择胚胎的标准多是根据胚胎的形态, 但胚胎的形态并不能完全预测其发育潜能。最近有学者提出卵子第一极体的形态可作为预测胚胎发育潜能的指标之一^[1]。由于第一极体在排卵后短时间内退化, 因而在常规 IVF 中难以及时对卵子极体形态进行观察。我们选择了进行单精子卵胞浆内注射(intracytoplasmic sperm injection, ICSI)的治疗周期进行观察, 对卵

子第一极体形态与胚胎形态和胚胎种植率关系进行了分析, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象

2000 年 5 月至 2001 年 4 月因男方少弱精或无精症而不育在本生殖中心行辅助生育技术 ICSI 治疗的 91 例患者, 女方月经周期正常, 无子宫内膜异位症及排卵障碍等, 取卵后卵子无卵胞浆形态异常及透明带异常。共进行 ICSI 治疗 91 个周期, 其中使用射出精的 74 例(女方年龄 < 35 岁的 50 例, 平均 29.6 岁 ± 3.3 岁; ≥ 35 岁的 24 例, 平均 37.2 岁 ± 4.8 岁), 因无精症进行经皮附睾穿刺抽取精

收稿日期: 2002-03-20

基金项目: 中山医科大学科研基金资助项目(200033)

作者简介: 方丛(1970-), 女, 河南郑州人, 博士, 主治医师, 专长生殖医学。

(percutaneous epididymal sperm aspiration, PESA) 的9例(女方年龄均 < 35 岁,平均 27.3 ± 5.5 岁),从睾丸取出的曲细精管中分离精子(testicular sperm extraction, TESE)的8例(女方年龄均 < 35 岁,平均 28.9 ± 4.2 岁)。男方平均 34.4 ± 5.8 岁。

1.2 控制性超排卵

采用本中心常规 IVF-ET 超排卵方案^[2],注射绒毛膜促性腺激素(hCG)后36h经阴道B超介导取卵。

1.3 卵母细胞处理及精子准备

取卵后3~4h将卵母细胞置于含透明质酸酶的溶液中去掉卵周的颗粒细胞。射出精用Percoll密度梯度离心处理,PESA精子及TESE精子孵育后离心处理^[3,4]。

1.4 ICSI操作

应用日本Nikon显微操作仪。注射前评定卵母细胞成熟度,排出第一极体的为成熟的第二次减数分裂中期卵子,仅对成熟卵子进行ICSI操作^[3],操作前评定卵子的第一极体形态。显微注射时,第一极体位于11~12点位置,将制动的精子注入卵子胞浆内。为减少人为因素造成的差异,本文中所有ICSI均由本文第1作者1人操作。

1.5 卵子第一极体评定标准

1级:第一极体呈圆或卵圆形,形态完整且光滑;2级:第一极体呈圆或卵圆形,形态完整;3级:第一极体有碎片;4级:第一极体碎裂;5级:第一极体巨大,卵周隙增大^[1]。

1.6 胚胎移植

显微注射后15~18h观察受精情况,出现原核 ≥ 2 个为受精。胚胎用IVF-50培养液培养3d,第3天观察胚胎分裂细胞数及碎片情况。选取细胞数多且碎片少于20%的胚胎进行移植。女方 \geq

35岁的或有过2次以上IVF-ET失败的患者移植4个胚胎,其余移植3个胚胎。胚胎移植后14d进行妊娠检测,7周行B超检查胎囊数和胎心搏动,以有胎心搏动为临床妊娠的标准。

1.7 统计学分析

用SPSS软件进行 χ^2 检验。

2 结果

2.1 卵子第一极体形态与ICSI受精率关系

91个周期中共取卵1300个,其中MII卵子1065个均进行了ICSI,ICSI后受精845个,受精率79.3%。其中1级极体卵子182个,受精153个(84.1%),2原核受精卵分裂141个;2级极体卵子407个,受精321个(78.9%),2原核受精卵分裂305个;3级极体卵子312个,受精247个(79.2%),2原核受精卵分裂232个;4级极体卵子132个,受精100个(75.8%),2原核受精卵分裂98个;5级极体卵子32个,受精24个(75.0%),2原核受精卵分裂23个。不同形态极体的卵子受精率间无显著性差别(χ^2 检验 $P=0.414$)。

2.2 卵子第一极体形态与胚胎形态关系

2.2.1 使用射出精子者卵子极体形态与胚胎形态

女方 < 35 岁患者,随着极体形态从1级升到5级,第3天胚胎发育至6细胞以上的比例逐渐下降,但差异不具显著性($P=0.209$);胚胎碎片也呈上升趋势,1级和2级极体的胚胎碎片(20%的比例显著大于3~5级极体的胚胎($P<0.01$))。女方 ≥ 35 岁患者1级和2级极体的胚胎发育至6细胞以上的比例高于3~5级的极体的胚胎,但不具显著性($P=0.201$);胚胎碎片随卵子极体的形态从1级至5级呈上升趋势,1级和2级极体的胚胎碎片(20%的比例显著大于3~5级极体的胚胎($P=0.005$))。各级极体发育情况见表1。

表1 使用射出精子周期的卵子极体形态与第3天胚胎形态
Table 1 Morphology of the 3rd day embryos and polar body in cycles with ejaculated sperm n(%)

Polar body	Female age < 35 years			Female age ≥ 35 years		
	Embryo	Embryo ≥ 6 cells	Fragment $< 20\%$	Embryo	Embryo ≥ 6 cells	Fragment $< 20\%$
1	71	47(66.2)	63(88.7)	35	22(62.9)	31(88.6)
2	181	114(63.0)	160(88.4)	67	44(65.7)	60(89.6)
3	115	68(59.1)	92(80.0)	77	46(59.7)	60(77.9)
4	62	35(56.5)	45(72.6)	12	5(41.7)	7(58.3)
5	16	9(56.2)	7(43.8)	6	2(33.0)	3(50.0)

2.2.2 使用 PESA 与 TESE 者卵子第一极体形态与胚胎形态 PESA 及 TESE 随着极体形态变差, ≥ 6 细胞胚胎比例呈下降趋势, 但 1~2 级极体和 3~5 级极体胚胎间的差异不具显著性($P = 0.239$

和 0.361); 碎片 $< 20\%$ 胚胎比例也呈下降趋势, PESA 组不具显著性差异($P = 0.172$), TESE 组 1~2 级和 3~5 级极体胚胎间的差异具显著性($P = 0.023$)。各级极体发育情况见表 2。

表 2 使用非射出精子周期的卵子极体形态与第 3 天胚胎形态

Table 2 Morphology of the 3rd day embryos and polar body in cycles with non-ejaculated sperm n (%)

Polar body	PESA			TESE		
	Embryo	Embryo ≥ 6 cells	Fragment $< 20\%$	Embryo	Embryo ≥ 6 cells	Fragment $< 20\%$
1	21	13(61.9)	18(85.7)	14	10(71.4)	14(100.0)
2	32	18(56.3)	25(78.1)	25	18(72.0)	24(96.0)
3	23	10(43.5)	18(78.3)	17	10(58.8)	16(94.1)
4	10	5(50.0)	6(60.0)	14	7(50.0)	9(64.3)
5	0			1	1(100.0)	1(100.0)

2.3 卵子第一极体形态与临床妊娠

使用射出精子患者的卵子极体形态与临床妊娠: 50 例女方 < 35 岁患者组中, 临床妊娠 29 例(58%), 未妊娠 21 例(见表 3)。临床妊娠组中 1 级和 2 级胚胎总比例(65%)显著高于非妊娠组(49%), $P = 0.039$ 。移植胚胎中 1、2 级极体胚胎数与临床妊娠关系见表 4。随移植胚胎中 1、2 级极体胚胎的数目增多, 临床妊娠率及多胎妊娠率随之增高。在 35 岁以下妊娠组中, 当移植胚胎中 1、2 级极体胚胎数目为 1 个时双胎妊娠 2 例, 而极体形态为 1、2 级的胚胎移植胚胎为 2 个时双胎妊娠 5 例, 移植 3 个 1、2 级极体胚胎时有 2 例双胎妊娠和 3 例 3 胎妊娠。24 例女方 ≥ 35 岁患者组中, 临床妊娠 8 例(30%), 未妊娠组 16 例(见表 3)。临床妊娠组中 1 级和 2 级胚胎总比例(74.0%)显著高于非妊娠组(51%), $P = 0.035$ 。移植胚胎中 1、2 级极体胚胎数与临床妊娠关系见表 4。

PESA 与 TESE 中卵子极体形态与临床妊娠: PESA 共 9 例, 3 例获临床妊娠(33.3%), 共移植胚胎 10 个, 1、2 级极体胚胎 7 个(70%); 未妊娠 6 例, 移植胚胎总数 20 个, 1、2 级极体胚胎 11 个(55%), 两组不具统计学上差异($P = 0.429$)。TESE 共 8 例, 6 例获临床妊娠(75%), 共移植胚胎数 19 个, 1、2 级极体胚胎数 13 个(68%); 未妊娠 2 例, 共移植胚胎 6 个, 1、2 级极体胚胎 4 个(67%), 二者差异不具显著性($P = 0.936$)。移植胚胎中 1~2 级极体胚胎数目与临床妊娠关系见表 5。

表 3 使用射出精子妊娠组与未妊娠组移植胚胎极体分级情况比较的情况

Table 3 Polar body morphology distribution of transferred embryos in pregnancy and non-pregnancy group with ejaculated sperm n (%)

	Polar body morphology of transferred embryos				
	1	2	3	4	5
Age < 35 years					
Pregnancy	18(20)	41(45)	23(25)	8(9)	1(1)
Non-pregnancy	11(16)	22(32)	21(31)	12(18)	2(3)
Age ≥ 35 years					
Pregnancy	8(26)	15(48)	8(26)	0	0
Non-pregnancy	6(11)	22(40)	21(38)	5(9)	1(2)

表 4 使用射出精子组移植胚胎中 1、2 级极体胚胎数与临床妊娠情况

Table 4 Number of transferred embryos with grade 1, 2 polar body and clinical pregnancy in group with ejaculated sperm n (%)

	Total	Transferred embryos with grade 1, 2 polar body				
		0	1	2	3	4
Age < 35 years						
Pregnancy	29(58)	0(0)	8(44)	13(65)	7(70)	1(100)
Non-pregnancy	21	1	10	7	3	0
Age ≥ 35 years						
Pregnancy	8(30)	0(0)	1(14)	0(0)	6(75)	1(50)
Non-pregnancy	16	1	6	6	2	1

表5 PESA及TESE移植胚胎中1、2级极体胚胎数与临床妊娠情况

Table 5	Number of transferred embryos with grade 1, 2 polar body and clinical pregnancy in PESA and TESE groups		n (%)				
	Total	Number of transferred embryos with grade 1, 2 polar body					
		0	1	2	3	4	
PESA							
Pregnancy	3(30)	0(0)	2(50)	1(50)	0(0)		
Non-pregnancy	6	2	2	1	1		
TESE							
Pregnancy	6(75)	1(100)	0(0)	2(100)	3(75)		
Non-pregnancy	2	0	1	0	1		

3 讨论

在辅助生育技术发展过程中,为了达到令人满意的妊娠率,往往要选择多个胚胎进行移植,而其伴随的多胎妊娠较自然妊娠发生率显著增高,这对母婴的健康带来一定的危害。降低多胎风险的唯一途径就是提高胚胎的种植率。但目前胚胎种植率一直偏低,原因是没有可靠的指标预测其种植潜能,因而如何选择适当数量的好质量胚胎进行移植一直是一个值得探讨的问题。

现在用得最多的指标是根据移植当天胚胎的形态,但单纯胚胎的形态还不能完全预测其发育潜能。目前被广泛接受的解决这个问题的办法之一就是延长胚胎体外培养时间至囊胚期,从而选择能进一步发育的胚胎移植提高种植率^[3]。延长培养时间不但增加了经济负担,也增加了工作量,而且目前囊胚的形成率只有50%左右^[9],因而如何预测哪些胚胎能够越过4~8细胞期而进一步发育是有极大意义的。在常规IVF中,有学者认为卵子形态学与IVF结局有相关性^[7],但在ICSI中存在争议。鉴于卵子极体的形态是排卵后卵子老化程度的一项指标,因而有学者提出在ICSI中卵子极体形态可以作为选择胚胎的指标之一,并根据卵子极体形态选择胚胎移植提高了妊娠率^[1]。

本研究的数据分析表明卵子极体形态与受精率之间无显著性差异,但好的极体形态的卵子发育的胚胎碎片发生率较形态较差的极体的卵子发育的胚胎提高。在使用射出精ICSI患者中,妊娠组移植胚胎中1~2级极体胚胎比例显著高于非妊娠组。移植胚胎中随1~2级极体胚胎的数目增多,临床妊娠率及多胎妊娠率随之增高,表明极体形态与胚胎的发育可能有一定相关性。本研究中移植的胚胎均为碎片<20%的胚胎,妊娠组和非妊娠组移植的胚胎在胚胎碎片率方面不具差异。在PESA和TESE中,妊娠组移植胚胎1~2级极体胚胎的比例高于非妊娠组,但不具显著性,可能由于受病例数较少所限。由于ET中存在着混合移植的情况,因而不能准确计算各种形态极体卵子发育的胚胎的种植率。本研究ICSI在注射hCG后39~40h进行,这一时间可以使卵浆进一步成熟又可避免卵子极体退化,所以此时观察卵子极体形态能提供较客观的资料。

参考文献:

- [1] Ebner T, Moser M, Yaman C, *et al.* Elective transfer of embryos selected on the basis of first polar body morphology is associated with increased rates of implantation and pregnancy [J]. *Fertil Steril*, 1999, 72(4):599.
- [2] 庄广伦,周灿权,张秀俊,等. 体外受精-胚胎移植34例报告 [J]. *生殖医学杂志*, 1992, 1(1): 24.
- [3] 李蓉,庄广伦,张敏芳. 卵母细胞单精子显微注射治疗男性不育及不明原因不育 [J]. *中华妇产科杂志*, 1997, 32(4): 211.
- [4] 李满,庄广伦,邓春华,等. 卵浆内单精子注射术治疗阻塞性无精症的不育症 [J]. *中山医科大学学报*, 1998, 19(2): 131.
- [5] Bolton V N, Wren M E, Parsons J H. Pregnancies after *in vitro* fertilization and transfer of human blastocysts [J]. *Fertil Steril*, 1991, 55(4): 830.
- [6] Jones G M, Trounson A O, Lolatgis N, *et al.* Factors affecting the success of human blastocyst development and pregnancy following *in vitro* fertilization and embryo transfer [J]. *Fertil Steril*, 1998, 70(6): 1022.
- [7] Bedford J M, Kim H H. Sperm/egg binding patterns and oocyte cytology in retrospective analysis of fertilization failure *in vitro* [J]. *Hum Reprod*, 1993, 8(3): 453.

(编辑 黄小延)