

人类体外受精助孕治疗中多原核受精的相关因素分析

Analysis of Related Factors in Polypronuclear Fertilization during Human in vitro Fertilization Treatment

邓翎洁,李柳铭,翟丹梅

DENG Ling-jie, LI Liu-ming, ZHAI Dan-mei

(广西生殖医学研究中心,广西南宁 530021)

(Guangxi Reproductive Medical Center, Nanning, Guangxi, 530021, China)

摘要:收集 2011 年 7 月至 2012 年 11 月在广西生殖医学研究中心行体外受精助孕治疗的 456 例患者资料,将观察到多原核受精的 235 例作为多原核受精组,未观察到多原核受精的 221 例作为无多原核受精组,比较两组间基础卵泡刺激素(基础 FSH)、黄体生成素(LH)水平、窦卵泡数(AFC),促性腺激素(Gn)总剂量及天数, HCG(人绒毛膜促性腺激素)日血清雌二醇(E_2)水平、HCG 日血清孕酮(P)水平、HCG 日血清黄体生成素(LH)水平, HCG 日大卵泡($\geq 14\text{mm}$)数,获卵数,受精密度等助孕治疗相关指标的差异,分析人类体外受精中多原核受精的影响因素。结果提示, Gn 用量小, HCG 日血清 E_2 水平较高, 卵泡数及获卵数较多, 受精率较高的周期中出现至少 1 个多原核受精合子的可能性比较大。

关键词:体外受精 多原核受精 促性腺激素 人绒毛膜促性腺激素 卵泡数 受精率

中图分类号:R321-33 文献标识码:A 文章编号:1002-7378(2013)02-0114-03

Abstract: The 456 IVF treated patients in Guangxi Reproductive Medical Center from July 2011 to November 2012 had been collected. The 235 patients observed polynucleus zygotes as polypronuclear group and the 221 patients didn't observe polynucleus zygotes as non-polypronuclear group. The differences between the two groups in basal FSH, LH level, AFC, length and dose of Gn, serum E_2 , P, LH in HCG day, the follicles counts (mean diameters $\geq 14\text{mm}$), the numbers of obtained oocytes, sperm concentration, sperm motility, motile sperm/oocyte ratio, fertilization rate, cleaving rate, and embryos of high quality rate were analyzed. The results indicated that a higher possibility of polypronuclear observing at least one polypronuclear zygote in the cycles, higher serum E_2 level, more big follicles and obtained oocytes could be achieved by the lower dose of Gn.

Key words: in-vitro fertilization, polypronuclear, gonadotropin, human chorionic gonadotropin, follicles counts, fertilization rate

多原核受精是哺乳动物中异常受精的一种,是指出现 3 个或以上原核受精的情况。在体外受精中有 2%~30% 的发生率^[1]。在体外受精中,多原核受精的形成机制主要是多精受精^[2]。多原核受精的合子虽然可以发育成胚胎,但是常会导致不良妊娠结局,如流产、早产、胎儿畸形及妊娠滋养细胞疾病

等^[1]。因此,体外受精中多原核受精形成的合子没有移植价值。多原核受精的相关因素研究,目前已经有文献报道与 HCG(人绒毛膜促性腺激素)日血清雌二醇(E_2)水平、卵子透明带结构、卵子成熟度、卵子皮质颗粒分布、受精密度、精卵比例、受精时间、培养液 pH 值等因素与多原核受精率有关^[3~12],但是一些因素的相关性仍然存在争议。我们收集 2011 年 7 月至 2012 年 11 月在广西生殖医学研究中心行体外受精助孕治疗的 456 例患者,进行助孕治疗相关指标分析,探讨体外受精中多原核受精的

收稿日期:2013-02-16

修回日期:2013-03-22

作者简介:邓翎洁(1987-),女,硕士研究生,主要从事生殖医学研究。

影响因素,为减少多原核受精发生,提高卵子利用率,增加可移植胚胎数目及妊娠机会提供参考。

1 临床资料和研究方法

收集 2011 年 7 月至 2012 年 11 月在广西生殖医学研究中心行体外受精助孕治疗的患者资料。按 22~35 岁,单纯输卵管因素不孕症,采用长方案促排卵,第 1 次行体外受精治疗,无合并男性因素,无子宫内异位症和多囊卵巢综合征的标准纳入,符合条件的共 456 例。其中,235 例观察到多原核受精,为多原核受精组,221 例未观察到多原核受精,为无多原核受精组。分别两组记录年龄、不孕因素、不孕类型、不孕年限、手术史(有无腹腔镜或开腹盆腔手术史)、不孕类型、不良孕产史(是否有早产、流产、胎儿畸形及葡萄胎)、体重指数(BMI)、基础卵泡刺激素(基础 FSH)、黄体生成素(LH)水平、窦卵泡数(AFC)、促性腺激素(Gn)总剂量及天数、HCG 日血清 E₂水平、HCG 日血清孕酮(P)水平、HCG 日血清黄体生成素(LH)水平、HCG 日大卵泡(≥14mm)数、获卵数、受精密度、处理后精子活力、受精量、受精结局(未受精、1PN(单原核受精)、2PN(正常受精)、多 PN(多原核受精)数)、卵裂及优胚情况,分别计算精卵比例(活动精子数/卵子数)、受精率、多原核受精率、卵裂率、2PN 卵裂率及优胚率,比较两组间上述指标的差异。

患者采用长方案促排卵。注射 HCG 后 36h 行 B 超引导下经阴道穿刺取卵术。取卵后 2h 内男方以手淫方式取精(禁欲 3~7 天)。用密度梯度离心

法加上游法处理精液,并调整至密度为(1.6~2.3)×10⁶/ml,活力 90%~99%。取得配子后行常规隔夜受精。受精次日(16~18h)拆除卵子外围颗粒细胞,将拆好的卵移至含卵裂培养液的生长皿中,于倒置显微镜下观察受精情况:分为未受精卵 GV(germinal vesicle,生发泡)、M I (metaphase I,第 1 次减数分裂中期)、M II (metaphase II,第 2 次减数分裂中期)卵子及受精卵(1PN、2PN、多 PN),并详细记录。受精后 72h 观察胚胎发育情况并记录。胚胎发育分级采用 Edwards 标准,以胚胎分级和卵裂球数目评判胚胎发育潜能,以 2PN 受精卵发育成的 II 级 6 细胞(II/6)以上为优质胚胎。

使用 SPSS17.0 统计软件进行数据分析。采用秩和检验比较两组数据分布差异。采用卡方检验比较两组数据构成比的差异,检验水准为 α=0.05。采用中位数及四分位数间距进行数据统计描述。

2 结果与分析

两组患者助孕治疗相关指标统计结果如表 1 所示。从表 1 可以看出,多原核受精组 Gn 总剂量较小,HCG 日血清 E₂水平较高,HCG 日大卵泡数,获卵数及受精率较高,两组间有显著性差异(P < 0.05)。其余助孕治疗指标两组间无显著性差异。这说明在体外受精中,Gn 用量小,HCG 日血清 E₂水平高,卵泡数及获卵数多时,出现多原核受精合子的可能性比较大。本次观察研究未发现多原核受精对卵裂率及优胚率有影响,也未发现 HCG 日血清 P 水平与多原核受精相关。

表 1 两组患者一般情况及助孕治疗相关指标统计结果

指标	年龄	不孕年限	BMI	基础 FSH (mIU/ml)	基础 LH (mIU/ml)	AFC	手术史 (有/无)	不孕类型 (继发/原发)	不良孕产史 (有/无)	Gn 天数	Gn 剂量 (支)	E ₂ (pg/ml)
多原核受精组	30.00 (5.00)	3.00 (3.00)	20.51 (3.20)	6.97 (2.85)	4.75 (2.65)	16.00 (3.00)	137/ 98	182/ 53	24/ 211	12.00 (2.00)	24.00 (12.50)	3303.00 (3127.00)
无多原核受精组	30.00 (5.00)	3.00 (4.00)	20.44 (3.09)	7.22 (2.24)	4.67 (1.37)	15.00 (4.00)	135/ 85	55/ 166	16/ 205	12.00 (2.00)	26.00 (14.00)	2358.00 (1754.00)
U/χ ²	26414.50	27650.00	26609.50	27876.00	25118.50	24190.50	0.386	0.343	1.258	24393.00	30773.50	18168.00
P	0.750	0.228	0.648	0.175	0.546	0.203	0.535	0.558	0.170	0.255	0.001	0.000

指标	LH (mIU/ml)	P (ng/ml)	大卵泡数	获卵数	受精密度 (10 ⁶ /ml)	精子活力 (%)	精卵比例	受精率	卵裂率	2PN 卵裂率	优胚率
多原核受精组	1.39 (1.19)	0.86 (0.48)	10.00 (5.00)	12.00 (9.00)	2.00 (0.20)	99.00 (1.00)	50646.00 (6875.00)	0.88 (0.22)	1.00 (0.00)	1.00 (0.00)	0.71 (0.39)
无多原核受精组	1.40 (2.16)	0.81 (0.40)	8.00 (6.00)	9.00 (7.00)	2.00 (0.20)	98.00 (1.00)	51450.00 (7410.85)	0.78 (0.33)	1.00 (0.00)	1.00 (0.00)	0.67 (0.40)
U/χ ²	26711.05	23988.50	19557.50	17553.50	24210.00	24587.00	28290.00	19261.50	27381.00	26276.50	23771.50
P 值	0.597	0.159	0.000	0.000	0.201	0.288	0.098	0.000	0.131	0.721	0.107

括号内数字为四分位数间距。

3 结束语

本次观察研究结果提示,多原核受精多出现在卵巢反应较好,Gn用量偏小,HCG日血清E₂水平较高,卵泡数及获卵数较多,受精率较高的周期中。此类周期卵泡较多,卵子发育难以同步,容易出现一些不成熟或过熟的卵子,这类卵子发生多原核受精的可能性较大。

文献[7]提示血清P水平与多原核受精相关。但是本研究未能得出类似结果,可能因为入组条件限制较严格,纳入病例中并未出现孕酮值特别高(>5mIU/ml)的病例的缘故。本研究未发现多原核受精对卵裂率及优胚率有影响,提示多原核受精率较低时,可能不会影响IVF周期的卵裂率及优胚率。尚不能确定高比例的多原核受精对IVF周期卵裂率及优胚率是否有影响。文献还报道了多原核受精与患者年龄^[5]、受精参数^[9]、受精时间^[10]等因素相关,但是本研究着重于分析生殖激素水平及受精率与多原核受精的关系,故对纳入病例的年龄、不孕因素、促排卵方案等条件进行了限制,而且广西生殖医学研究中心实验室对于受精参数、受精时间、体外培养条件等因素也进行了一定的控制,故本研究未发现其他因素与多原核受精相关。对于这些因素,仍需进一步研究。

参考文献:

- [1] Uchida I A, Freeman V C. Triploidy and chromosomes [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 1985, 151(1): 65-69.
- [2] 颜军昊, 陈子江, 李媛, 等. 体外受精后多原核受精卵的移植价值[J]. *生殖与避孕*, 2005, 25(9): 537-541.
- [3] 张轶乐, 孙莹璞, 苏迎春, 等. 体外受精中皮质颗粒与多精受精的相关性[J]. *中国现代医学杂志*, 2011, 21(22): 2689-2691.
- [4] Zhang N, Wakai T, Fissore R A. Caffeine alleviates the

deterioration of Ca²⁺ release mechanisms and fragmentation of in vitro-aged mouse eggs[J]. *Mol Reprod Dev*, 2011, 78(9): 684-701.

- [5] Pan H, Ma P, Zhu W, et al. Age-associated increase in aneuploidy and changes in gene expression in mouse eggs[J]. *Dev Biol*, 2008, 316(2): 397-407.
- [6] Andrea R Sachs B A, Joseph A Politch Ph D, Katharine V Jackson B S, et al. Factors associated with the formation of triploid zygotes after intracytoplasmic sperm injection[J]. *Fertility and Sterility*, 2000, 73(6): 1109-1114.
- [7] 赵静, 李艳萍, 刘冬娥, 等. 多原核受精与HCG日雌孕激素、获卵数、授精密度、受精率、妊娠率的关系[J]. *生命科学研究*, 2010, 14(1): 54-56.
- [8] Funahashi H, Cantley T, Day B N. Different hormonal requirements of pig oocyte-cumulus complexes during maturation in vitro[J]. *J Reprod Fertil*, 1994, 101(1): 159-165.
- [9] Palomo M J, Mogas T, Izquierdo D, et al. The influence of sperm concentration, length of the gamete co-culture and the evolution of different sperm parameters on the in vitro fertilization of prepubertal goat oocytes [J]. *Zygote*, 2010, 18(4): 345-355.
- [10] 李海仙, 马文敏, 黄建洲, 等. 短时受精对体外受精中多精受精率的影响[J]. *生殖医学杂志*, 2011, 20(2): 85-87.
- [11] Swain J E. Is there an optimal pH for culture media used in clinical IVF[J]. *Hum Reprod Update*, 2012, 18(3): 333-339.
- [12] Snook R R, Hosken D J, Karr T L. The biology and evolution of polyspermy: insights from cellular and functional studies of sperm and centrosomal behavior in the fertilized egg[J]. *Reproduction*, 2011, 142(6): 779-792.

(责任编辑:邓大玉)

胚胎筛选新技术可提高试管婴儿成功率

胚胎出现非整倍性变异(即染色体数目错误)等,是体外受精和胚胎移植后最终流产或产下不健康婴儿的重要原因。这种问题胚胎在早期发育时有两个节点会表现出异常,即从密集束细胞变成微小的囊,以及囊开始充满液体两个阶段。英国研究人员根据这一特性,开发出一套为胚胎健康程度评级的计算机程序,将早期胚胎染色体异常的风险分为三等,并在实验中评估88个胚胎的健康风险。结果在被评为“健康风险低”的一组中,有61%的胚胎最终产下健康婴儿,而被评为高风险一组的胚胎则全部失败。

此前只能在体外受精开始后通过细胞数量和形状来判断胚胎的健康程度,而新技术通过对胚胎质量的早期筛查,有望将体外受精并成功生育的概率提高至约78%,成功率比当前同类辅助生育技术高约3倍。

(据科学网)