文章编号:1000-5404(2010)16-1801-02

短篇论著

早期胚胎原核形态与优胚的关系及原核评分对胚胎选择的临床意义

邓志华,王 钦,杨 华,丘 映,刘 锋,李春苑 (530031 南宁,南宁市第二人民医院生殖中心)

【摘要】 目的 分析早期胚胎不同原核形态与优胚的关系,评价原核评分对胚胎选择的临床意义。**方法** 对2009年10-12月在本中心接受体外受精(*in vitro* fertilization,IVF)和卵胞浆内单精子显微注射-胚胎移植(intracytoplasmic sperm injection and embryo transfer,ICSI-ET)治疗的263个周期所获的2 303枚胚胎进行回顾性分析,依据原核Z评分法把第1天胚胎分为4级(Z1、Z2、Z3、Z4),统计取卵后第3天各级的优胚数,分析各级之间优胚率的差异。**结果** Z1、Z2、Z3、Z4各级优胚率依次为78.27%(490/626)、75.95%(420/553)、22.61%(135/597)、17.84%(94/527),其中Z1、Z2级的优胚率显著高于Z3、Z4级($P<0.01$),但Z1、Z2级间以及Z3、Z4级间优胚率差异均无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 早期胚胎不同形态原核与优胚密切相关,原核评分是早期胚胎选择的重要参考指标。

【关键词】 胚胎移植;受精,体外;胚胎发育;回顾性研究
【中图法分类号】 R321-33;R321.4 **【文献标志码】** A

随着体外受精-胚胎移植(*in vitro* fertilization-embryo transfer, IVF-ET)技术的迅速发展,临床妊娠率已经达到了较高的水平,如何选择最具有发育潜能的胚胎进行移植是保证理想的临床妊娠率的关键所在。目前国内外用于评估早期卵裂期胚胎质量的方法主要有原核期胚胎的原核评分法[1,2]和卵裂期胚胎评分法。本研究主要分析不同原核形态的早期胚胎与优胚的关系,从而评价原核评分对早期卵裂胚胎选择的临床价值。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选择2009年10-12月在我中心接受IVF-ET、卵胞浆内单精子显微注射-胚胎移植(intracytoplasmic sperm injection and embryo transfer,ICSI-ET)治疗的263个周期所获的2 303枚胚胎进行回顾性分析,患者平均年龄31.78岁,其中IVF 193个周期,ICSI 70个周期。

1.2 促超排卵方案

采用长方案/短方案促超排卵:长方案于排卵后第7天使用促性腺激素释放激素激动剂(gonadotropin-releasing hormone agonist,GnRH-a)曲普瑞林(德国辉凌公司)0.1 mg皮下注射,隔日1次,直至人绒毛膜促性腺激素(hCG)日,下次月经第3~5天开始使用卵泡刺激素75~300 IU/d;短方案从周期第2天开始用GnRH-a,共使用5 d,周期第3天开始使用卵泡刺激素75~300 IU/d,阴道B超监测卵泡发育,当3个主导卵泡平均直径≥18 mm时,肌注hCG 5 000~10 000 IU,34~36 h后取卵。

1.3 体外受精与胚胎培养

卵子获取后4~6 h在Quinn's Advantige Fetilization Medium和Quinn's Advantige Cleavage Medium(美国SAGE *In-vitro* Fertilization公司)序列培养基中置37 ℃、5% CO_2及饱和湿度条件下进行体外受精和胚胎培养。受精18~20 h后观察受精情况,以出现2个原核(2PN)者判断为正常受精,取卵后第3天观察胚胎卵裂情况。

1.4 正常受精原核形态评分标准

评分标准采用Z评分法[3],根据受精原核的大小、核仁数目以及核仁的分布、排列情况分为Z1~Z4 4级:Z1:两原核大小相同,紧靠排列在受精卵中央,在原核相交处有数目相同的核仁排列成线,核仁数目3~7个;Z2:原核大小相同,紧靠排列在受精卵中央,原核中核仁的大小、数目相等,均匀分散于核质;Z3:原核核仁的大小、数目不同,或核仁数目小于3个,而只在一个原核中的核仁排列成行,而另一原核中核仁分散排列;Z4:两原核大小不等或相互分离,未排列在受精卵中央,核仁呈散在排列。

1.5 取卵后第3天胚胎质量评分

评分标准:根据卵裂球数目、形态和胞浆碎片等参数将胚胎分为4级。Ⅰ级胚胎为卵裂球大小均匀,无胞浆碎片;Ⅱ级胚胎为卵裂球大小均匀,胞浆碎片<10%;Ⅲ级胚胎为卵裂球大小不均匀,胞浆碎片<20%;Ⅳ级胚胎为卵裂球大小均匀或不均匀,胞浆碎片为20%~50%。

1.6 优质胚胎评价标准

我中心的优质胚胎评分标准为受精第1天出2个原核,受精第3天细胞数≥6个,卵裂球大小均一、胞质透亮、碎片少于10%,根据1.5评分标准,评分为Ⅰ级或Ⅱ级的胚胎。

1.7 统计学方法

应用SPSS 13.0统计软件进行分析,对组间优胚率的比较进行χ^2检验。

2 结果

原核评分为Z1的胚胎共626枚,其中优胚490枚,占78.27%;原核评分为Z2的胚胎共553枚,其中优胚420枚,占75.95%;原核评分为Z3的胚胎共597枚,其中优胚135枚,占22.61%;原核评分为Z4的胚胎共527枚,其中优胚94枚,占

【通信作者】 丘 映,电话:(0771)4824350,E-mail:nnqying@sina.com

17.84%。对数据进行统计学分析,结果显示原核评分为Z1、Z2的胚胎其优胚率显著高于原核评分为Z3、Z4的胚胎($P<0.01$),说明Z1、Z2型原核与优胚密切相关;原核评分为Z1、Z2的胚胎间及原核评分为Z3、Z4的胚胎间优胚率差异均无统计学意义($P>0.05$)。

3 讨论

如何稳定临床妊娠率,降低多胎妊娠,提高活产率,是辅助生殖技术备受关注的问题。子宫内膜的容受性、移植胚胎的质量以及胚胎发育和子宫内膜发育的同步性是影响IVF/ICSI临床妊娠率的3个重要因素,如何选择具有优秀发育潜能的胚胎用于移植尤为重要。胚胎移植选择的依据主要是对受精和卵裂的观察所得的信息。

在受精过程中,精子和卵母细胞以一种非常特殊、高度极化的方式相互作用。卵子被激活,排出第二级体形成雌原核,精子头部解浓缩后形成雄原核,当雌、雄原核形成时,新的rRNA开始合成,原核中出现核仁,数目3~7个;雌原核逐步向雄原核迁移直至2个原核紧靠,定位于受精卵的中央;随后,原核的核仁前体相互融合,并向2个原核接连部位线性排列。同时,胞质内的微细胞器也由皮质区向中央迁移形成透亮的胞质晕圈。

由于卵子质量、精子质量以及不良的培育环境都会影响受精过程中原核的生成,造成同一批早期受精卵原核的形态多样化,表现为两个原核的发育速度和对称性、原核大小、原核在胚胎中的定位、核仁的数量以及核仁的排练方式差异等,而这些差异均与胚胎的发育潜能有一定的相关性,原核期对胚胎质量的评估有一定的参考价值。依据这些差异,Scott和Tesarik分别制定了P0~P5原核等级评分法及Z1~Z4原核评分法[1,2],但P0~P5原核等级评分法相对较复杂,临床应用性不强,因此本研究采用Z1~Z4原核评分法。Jaroudi等[4]2004年比较采用Day1原核评分的原核期胚胎移植和Day3胚胎形态评分结合原核评分的分裂期胚胎移植的妊娠结局,发现后者的胚胎种植率和妊娠率均高于前者,提示移植胚胎的选择应根据原核形态评分和分裂期胚胎评分综合考虑;同样Arroyo等[5]在2007年的报道中显示Z1、Z2型原核的优质胚胎率显著高于Z3、Z4型,并且Z4型原核合子有14.3%发育为多核胚胎,建议原核形态评分结合分裂期胚胎评分综合考虑来预测胚胎发育潜能;而Depa-Martynow等[6]在2007年的报道中表明,原核形态结合合子胞质中有无晕环对胚胎发育潜能也具有一定的预测意义。

江莉等[7]认为原核评分值与优质胚胎形成率显著相关,因而可以从原核评分大致评估胚胎发育潜能,增加第3天选择胚胎移植的参数。同样Liu等[8]采用Z原核评分法分析原核评分与胚胎质量及临床妊娠率的关系发现,发育阻滞的胚胎多由Z3、Z4型原核发育而来,移植由单一Z1、Z2、Z3型原核相应发育而来的胚胎,发现妊娠率三者之间没有显著差异,而移植Z1型原核发育而来的胚胎其种植率显著高于Z3型原核发育而来的胚胎。本研究结果显示,原核评分为Z1的胚胎有78.27%发育为优胚、原核评分为Z2的胚胎为75.95%、原核评分为Z3的胚胎为22.61%、原核评分为Z4的胚胎为17.84%,原核评分为Z1、Z2的胚胎优胚率明显高于原核评分为Z3、Z4的胚胎($P<0.01$),Z1、Z2型原核与Z3、Z4型原核两者之间的优胚率无明显差异($P>0.05$),说明Z1、Z2型原核与优胚显著相关,此结果与Arroyo等[5]的报道结果相似,为第3天移植胚胎的选择提供了简便、重要、直接的非创伤性依据,故胚胎移植日在分裂期评分相同前提下应首选原核评分为Z1、Z2的优质胚胎进行移植。

总之,如何选择具有较高发育潜能的胚胎进行移植是保证人类辅助生殖技术较高临床妊娠率必不可少的环节,而对受精原核进行形态学评分则为胚胎的选择提供了重要的参考指标,具有极大的临床价值。

参考文献:

[1] Scott L A, Smith S. The successful use of pronuclear embryo transfers the day following oocyte retrieval[J]. Hum Reprod, 1998, 13(4): 1003-1013.

[2] Tesarik J, Greco E. The probability of abnormal preimplantation development can be predicted by a single static observation on pronuclear stage morphology[J]. Hum Reprod, 1999, 14(5): 1318-1323.

[3] 李媛. 人类辅助生殖实验技术[M]. 北京:科学出版社, 2008: 122.

[4] Jaroudi K, Al-Hassan S, Sieck U, *et al*. Zygote transfer on day 1 versus cleavage stage embryo transfer on day 3: a prospective randomized trial[J]. Hum Reprod, 2004, 19(3): 645-658.

[5] Arroyo G, Veiga A, Santalo J, *et al*. Developmental prognosis for zygotes based on pronuclear pattern: usefulness of pronuclear scoring [J]. J Assist Reprod Genet, 2007, 24(5): 173-181.

[6] Depa-Martynow M, Jedrzejczak P, Pawelczyk L. Pronuclear scoring as a predictor of embryo quality in *in vitro* fertilization program[J]. Folia Histochem Cytobiol, 2007, 45 Suppl 1: S85-S89.

[7] 江莉, 李慕军, 李柳铭, 等. 体外受精-胚胎移植中原核评分预测胚胎质量[J]. 广西医科大学学报, 2006, 23(2): 328.

[8] Liu Q, Zhu G, Hu J, *et al*. Relationship between pronuclear scoring and embryo quality and implantation potential in IVF-ET[J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2008, 28(2): 204-206.

(收稿:2010-03-05 修回:2010-04-19)

(编辑 吴培红)