

# 体外受精-胚胎移植中精子形态与胚胎质量的相关研究

江 莉, 翟丹梅, 袁 华, 靳玉甫, 黄世扬(广西医科大学第一附属医院生殖中心, 南宁 530021)

**【摘要】 目的** 分析体外受精-胚胎移植(IVF-ET)中男性精液精子形态与胚胎质量的相关性。**方法** 选择行 IVF-ET 助孕治疗的 112 对不孕夫妇, 以密度梯度离心法处理男方精液后运用 Diff-Quick 方法染色并按世界卫生组织精子形态学标准进行严格精子形态学分析, 于体外受精后观察受精情况, 受精后第 3 天观察胚胎卵裂情况。**结果** 正常形态精子率、头部畸形精子率、中段畸形精子率及尾部畸形精子率与胚胎质量间均无显著相关性, 差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。**结论** 精子形态与胚胎质量无明显相关性。

**【关键词】** 精子形态; 辅助生殖技术; 胚胎质量

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.09.004 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)09-1032-02

**Research on Sperm Morphology and Embryo Quality Correlation Related Study in IVF-ET** JIANG Li, ZHAI Dan-mei, YUAN Hua, JIN Yu-fu, HUANG Shi-yang (Center of Reproductive Medicine, First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi 530021, China)

**【Abstract】 Objective** To analysis the correlation between the sperm morphology and embryo quality in the semen after the density gradient centrifugation method processing. **Methods** 112 infertility couples were taken the first IVF-ET treatment in the center. The semen of man was studied after density gradient centrifugation method. Diff-Quick analysis of strict sperm morphology was used for sperm morphology, and the fertilization was observed on the first day after in vitro fertilization and cleavage on the third day. **Results** There were no significant correlation between the normal form sperm rate, head deformity sperm rate, middle deformity sperm rate, tail deformity sperm rate and embryo quality,  $P>0.05$ . **Conclusion** There are no correlation between sperm morphology and embryo quality.

**【Key words】** sperm morphology; assisted reproductive technology; embryo quality

在不孕不育症的诊治中, 反映男性精液质量的主要指标包括精子密度、活力、形态以及精子功能试验等, 男性精液质量影响着辅助生殖技术助孕结局。精子形态被认为是反映精子质量的重要指标, 但精子形态对体外受精-胚胎移植(IVF-ET)妊娠结局的影响研究尚无定论。本实验旨在探讨 IVF-ET 中精子形态学表现与胚胎质量间是否存在相关性, 现将结果报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2010 年 5~12 月在本中心首次因女方输卵管因素不孕行常规 IVF-ET 助孕的不孕夫妇 112 对。原发不孕 29 对, 继发不孕 83 对, 女方年龄小于 35 周岁, 平均  $(30.78 \pm 3.4)$  岁, 术前常规检查无异常, 无子宫内膜疾病、子宫内膜异位症、多囊卵巢综合征及全身各系统疾病。男方年龄 25~44 岁, 平均  $(32.13 \pm 4.0)$  岁。术前按世界卫生组织(WHO)《人类精液及精子-宫颈黏液相互作用实验室检验手册》标准常规检查精液密度活力无异常; 精液量 1.5~7.0 mL, 平均  $(3.30 \pm 1.1)$  mL; 精液密度  $(24 \sim 255) \times 10^6/\text{mL}$ , 平均  $(115.0 \pm 61.0) \times 10^6/\text{mL}$ ; 精子活率 40%~85%, 平均  $(67.25 \pm 9.8)\%$ 。素体健康, 无家族性遗传病及性功能障碍病史、无不良生活习惯(嗜烟酒、吸毒等), 外生殖器及输精管无明显异常, 无其他全身各系统疾病。

**1.2 控制性超排卵** 采用标准长方案降调节, 黄体中期使用促性腺激素释放激素激动剂达菲林(法国博福)降调节。达降调节标准后常规促性腺激素(Gn)启动剂量, 用 Gn 4~5 d 后据阴道超声监测卵泡生长速度及卵泡数目调整 Gn 剂量, 当超声监测有 2 个以上优势卵泡直径大于或等于 18 mm 且卵泡发育

达标时, 肌肉注射人绒毛膜促性腺激素(HCG) 10 000 U, 36~38 h 后在阴道 B 超引导下穿刺取卵术, 常规培养 72 h 后进行胚胎移植, 移植后给予黄体支持治疗。移植后 14 d 尿 HCG 阳性为生化妊娠; 移植后 4~5 周 B 超检查见孕囊为临床妊娠。

**1.3 精液处理与精子形态检测** 术前男方禁欲 3~7 d, 取卵当日手淫法取精, 装入无菌的 Falcon 取精杯中, 室温充分液化。采用 Pure Cception 梯度液(美国 SAGE 公司)对液化后的精液进行密度梯度离心法处理, 调节精子浓度为  $(1.8 \sim 2.2) \times 10^6/\text{mL}$ 。取 100  $\mu\text{L}$  微滴, 覆盖矿物油(M-8410), 置 37  $^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  培养箱备用体外受精。吸取调精后的精液标本 10  $\mu\text{L}$  置于玻片上涂片, 每份精液涂 2 张片, 保证每张玻片在 400 倍镜下观察每视野至少有 40 条精子。将涂片后风干的玻片依次置于 Diff-Quick 染液(瑞典 DB 公司), 在显微镜油镜下观察每张玻片至少计数 200 个精子。用 Krüger's 严格标准法进行判别, 计数正常形态及畸形精子, 对畸形精子根据畸形部位分为头部畸形、中段畸形、尾部畸形和混合畸形。

**1.4 胚胎质量相关分析参数** 受精后 16~18 h 观察受精情况, 卵细胞内原核(PN)  $\geq 1$  个为受精, 分别记录为 1PN、2PN 和多 PN。正常受精应有 2 个原核(2PN)。受精率=受精数/获卵数。取卵后 72 h 再次进行胚胎观察, 记录胚胎细胞数目及碎片情况。胚胎按等级法<sup>[1]</sup>划分为 4 个等级: I 级为卵裂球大小均匀, 形态规则, 透明带完整; 细胞质均匀清晰, 没有颗粒现象; 碎片在 0%~5% 之间。II 级为卵裂球大小略不均匀, 形态略不规则, 细胞质可有颗粒现象; 碎片在 6%~20% 之间。III 级为卵裂球大小明显不均匀, 可有明显的形态不规则, 细胞质可有颗粒现象, 碎片在 21%~50% 之间。IV 级为卵裂球大

小严重不均匀,细胞质可有严重颗粒现象,碎片在 50%以上。本中心以Ⅰ级和Ⅱ级胚胎 6 细胞以上者为优质胚胎,优胚率=优胚数/卵裂数(来自于 2PN 的胚胎)。

**1.5 统计学方法** 所有数据均采用 SPSS16.0 统计学软件包进行分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,分析精子形态与胚胎质量的关系运用 Spearman 相关性分析,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

表 1 不同形态精子率与体外受精结局的相关分析

| 项目      | 正常形态精子率  |          | 头部畸形精子率  |          | 中段畸形精子率  |          | 尾部畸形精子率  |          | 混合畸形精子率  |          |
|---------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
|         | <i>r</i> | <i>P</i> | <i>r</i> | <i>P</i> | <i>r</i> | <i>P</i> | <i>r</i> | <i>P</i> | <i>r</i> | <i>P</i> |
| 受精率     | 0.160    | 0.288    | -0.176   | 0.243    | 0.026    | 0.864    | 0.098    | 0.516    | -0.002   | 0.988    |
| 2PN 受精率 | 0.033    | 0.827    | -0.027   | 0.860    | -0.036   | 0.812    | 0.035    | 0.817    | -0.016   | 0.914    |
| 卵裂率     | 0.160    | 0.287    | -0.107   | 0.478    | 0.061    | 0.686    | -0.067   | 0.658    | -0.074   | 0.627    |
| 2PN 卵裂率 | 0.076    | 0.617    | -0.033   | 0.826    | 0.039    | 0.794    | -0.083   | 0.582    | -0.046   | 0.763    |
| 优胚率     | -0.041   | 0.785    | -0.036   | 0.813    | 0.034    | 0.822    | -0.044   | 0.771    | 0.217    | 0.147    |

3 讨 论

近年来,随着对男性不育症的深入研究,越来越多的结果显示精子形态是反映精子质量的重要指标,按 WHO 标准头、颈、中段和尾部都正常的精子为正常形态的精子<sup>[2]</sup>。精子头椭圆形,长为 4.0~5.0  $\mu\text{m}$ ,宽为 2.0~3.5  $\mu\text{m}$ ,长宽之比 1.50~1.75;顶体的界限应是清晰的,占头部的 40%~70%;中段细,宽度小于 1  $\mu\text{m}$ ,大约为头部长度的 1.5 倍,并且在轴线应紧贴头部,胞浆小滴应小于正常头部大小的一半;尾部直、均一,长约 45  $\mu\text{m}$ 。本实验对女方输卵管因素不孕病例选择纳入,可除外卵子质量对胚胎后续发育的影响。本文将经过密度梯度离心法处理后精子用于体外受精,实验结果表明,正常形态、头部畸形、中段畸形、尾部畸形及混合畸形精子率与 IVF-ET 受精率间均无显著相关性,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );这与多数学者的结论相同,吴颖等<sup>[3]</sup>对 99 对接受体外受精治疗的不育夫妇进行了精子形态分析和受精率之间关系的研究认为,无论 IVF 组或卵胞浆内单精子显微注射技术(ICSI)组,精子形态中的正常形态率、头部畸形率和精子畸形指数都与受精率没有相关性。然而也有作者认为,精子形态可以作为预测 IVF 和 ICSI 时体外受精率高低的一项重要参考指标<sup>[4]</sup>,正常精子形态的百分率与 IVF 受精率显著相关。方丛等<sup>[5]</sup>认为,IVF 时适当提高受精密度可缓冲精子形态对受精的影响,当正常形态精子率小于 30%且精子受精密度小于  $1.2 \times 10^6/\text{mL}$  时,精子形态对受精率的影响增大;受精密度为  $(1.4 \sim 1.6) \times 10^6/\text{mL}$  时精子形态对受精率的影响减小,较高的受精密度可能弥补了精子形态方面的不足。本研究中精子经处理后用于体外受精时的调精浓度为  $(1.8 \sim 2.2) \times 10^6/\text{mL}$ ,因此可认为实验结果中精子形态与 ART 受精率没有相关性可能是由于调精浓度较高的原因。由于精子在胚胎早期发育中有重要作用,受精卵的第一次有丝分裂由精子源性中心体控制,但目前有关精子形态对受精卵卵裂及胚胎质量的影响尚无统一论。本研究表明,精子形态与 IVF 后受精卵卵裂及优胚率之间无相关性,与

2 结 果

运用相关分析对不同精子形态与 ART 结局进行统计学分析,结果显示,正常形态精子率、头部畸形精子率、中段畸形精子率及尾部畸形精子率,混合畸形精子率与 ART 结局(受精率、2PN 受精率、卵裂率、2PN 卵裂率、优胚率)间均无相关性,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 1。

李晓晔等<sup>[6]</sup>结论相同。

人正常精子形态率下降是睾丸生理机能不良的一种反应,精子形态与其功能密切相关,任何精子形态上的缺陷都将导致其功能下降,影响男性生育力<sup>[7]</sup>。本实验结果虽表明精子形态与胚胎质量间无相关性,但是作者仍然建议对正常形态精子也应该进一步研究其功能,因为精子形态正常并不一定意味着其功能正常,当发现精子形态异常时应进一步行精子功能方面的检测,从而选择恰当的助孕方式。

参考文献

[1] 庄广伦. 现代辅助生殖技术[M]. 北京:人民卫生出版社, 2005:240-241.

[2] Word Health Orgartizatian. WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction[M]. 4th ed. London:Cambridge University Press,1999:71-74.

[3] 吴颖,徐惠明,张松英,等. 精子形态变化对体外受精率的影响[J]. 中华男科学杂志,2008,14(7):610-613.

[4] Liu DY, Baker HW. Frequency of defective sperm-zona pellucida interaction in severely teratozoospermic infertile men[J]. Hum Reprod,2003,18(4):802-807.

[5] 方丛,庄广伦,张敏芳,等. 精子形态对体外受精的影响作用[J]. 中华泌尿外科杂志,2001,22(6):367-369.

[6] 李晓晔,白晓红,宋学茹,等. 精子形态对体外受精-胚胎移植妊娠结局的影响[J]. 国际妇产科学杂志,2011,38(1):72-75.

[7] Meseguer M, Santiso R, Garrido N, et al. Effect of sperm DNA fragmentation on pregnancy outcome depends on oocyte quality[J]. Fertil Steril,2011,95(1):124-128.