

MI 期末成熟卵胞浆内单精子注射后可获得胚胎分析

周 桦¹, 何 峻², 周从容¹

(1. 贵阳医学院附院 生殖中心, 贵州 贵阳 550004; 2. 贵州省人民医院 生殖中心, 贵州 贵阳 550003)

[摘 要] 目的: 探讨来源于超排卵刺激周期的 MI 期末成熟卵胞浆内单精子注射(ICSI)后受精和发育能力。方法: 选择 ICSI 治疗中无第一极体也无生发泡的 MI 期卵母细胞共 37 枚, 行常规 ICSI 授精, 16~18 h 后观察受精情况, 以后每 24 h 观察胚胎生长情况并评级, 直至采卵后 72 h, 按 ICSI 时 MII 卵子受精数计算受精率。结果: ICSI 37 枚卵子, 观察到原核的受精卵 7 枚, 共获得 11 枚胚胎(4 细胞 I 级, 5~8 细胞 I 级或 II 级胚胎 9 枚), 受精率为 29.73% (11/37)。结论: MI 期卵子 ICSI 后仍有受精和胚胎出现, 该部分胚胎是患者能多获得的可移植胚胎。

[关键词] 卵母细胞; 卵胞浆内单精子注射; 受精; 体外; 胚; 移植

[中图分类号] R713.7 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1000-2707(2012)06-0658-02

常规卵胞浆内单精子注射-胚胎移植(intracytoplasmic sperm injection-embryo transfer, ICSI-ET)治疗过程中减数分裂 I(Meiosis I, MI)期的卵母细胞通常不被利用而被丢弃, 这对于获卵少, 不成熟卵比例较高, 精子存活情况差或量极少, 不能等待卵子体外成熟后再行 ICSI 时, 如果将这些未成熟卵进行体外受精成功, 将增加可移植胚胎的数量, 提高妊娠率, 有利于助孕结局。但对于 ICSI 时利用 MI 期卵子的情况, 国内外文献鲜有报道。本文探讨来源于超排卵刺激周期的 MI 期末成熟卵在 ICSI 后受精和发育能力及其临床应用。

1 资料与方法

1.1 MI 期卵母细胞来源

选择 2011 年 3 月~10 月, 在生殖中心经卵巢刺激或微刺激行 ICSI 治疗中获得的未成熟卵母细胞, 共 31 个治疗周期, 病人年龄 25~38 岁(平均 32 岁)。所有病例均符合辅助生殖技术研究指征, 获医院生殖医学伦理委员会批准, 受试者知情同意后进入本研究。

1.2 研究方法

1.2.1 超排卵方案 采用促性腺激素释放激素类似物(GnRH-a)和促性腺激素(FSH/HMG)联合长、短或超短方案, 肌注人绒毛膜促性腺激素(HCG, Serono, 瑞士)5 000~10 000 U, 34~36 h 后经阴道 B 超下穿刺取卵。

1.2.2 卵子采集及处理 采集的卵冠丘复合体(OCCC)放置于受精培养基(Quinn's 1020, SAGE,

美国, 含 10% HSA)中孵育 2~4 h。ICSI 之前, 使用透明质酸酶(H-3757, Sigma, 80 IU/ml, 美国)处理 OCCC, 再以机械法剥除卵丘细胞, 在倒置显微镜下观察卵母细胞成熟度。将 ICSI 时无第一极体也无生发泡的 MI 期卵母细胞纳入实验组。

1.2.3 卵子的受精及胚胎培养 取卵当日进行 ICSI 授精, 采用的精子为新鲜精液或冷冻精液。ICSI 后的卵先转入受精培养基的 25 μ l 微滴中单独培养, 16~18 h 后转入卵裂培养基(Quinn's 1026, SAGE, 美国, 含 10% HSA)的 25 μ l 微滴中单独培养并观察受精情况, 以后每 24 h 观察胚胎生长情况并评级, 直至采卵后 72 h。

1.2.4 胚胎分级标准 根据文献[1]进行分级。I 级胚胎: 细胞大小均匀, 形状规则, 透明带完整, 胞质均匀清晰, 没有颗粒现象, 碎片 0~5%; II 级胚胎: 细胞大小略不均匀, 形状略不规则, 胞质可有颗粒现象, 碎片 10%~20%; III 级胚胎: 细胞大小明显不均匀, 可见明显不规则形状, 胞质可有颗粒现象, 碎片 21%~50%; IV 级胚胎: 细胞大小严重不均匀, 胞质有严重颗粒现象, 碎片 50% 以上。

1.2.5 受精率的计算 按 ICSI 时 MII 卵子受精率计算方式, 受精率 = [受精卵(双原核 + 多原核 + 单原核 + 双极体) + 晚期卵裂胚胎] / ICSI 卵子数 $\times 100\%$ 。

2 结果

共行 ICSI MI 期卵子 37 枚, 16~18 h 后观察出现双原核 4 枚, 单原核 1 枚; 48 h 内延迟出现双

原核或单原核 2 枚,未观察到原核但最终形成胚胎 4 枚,最后获得胚胎 11 枚。按本中心可移植胚胎评级标准分为:可移植胚胎 4 细胞 I 级及 5 细胞 ~ 8 细胞 I 级或 II 级胚胎共 9 枚,不可移植胚胎 4 细胞 II 级及 3 细胞 I 级胚胎各一枚,受精率为 29.73% (11/37)。剩余卵子 5 枚退化,18 枚最终形成 MII 期卵,仍有 3 枚为 MI 期卵。

3 讨论

以往研究表明未成熟卵在体外培养时,细胞内 Ca^{2+} 经历大幅度的波动,从而获得全能的 Ca^{2+} 信号系统^[2]。这些卵母细胞将在受精过程中启动被激活的卵母细胞信号,使之打开胚胎发育的程序。将人的单个精子注入卵子可以观察到钙振荡现象,且具备自然受精过程中钙振荡所有的特征^[3]。本研究发现,MI 期卵子在 ICSI 后仍然有受精和胚胎出现,且受精率不算太低,猜测可能接近成熟的卵子其成熟和受精间隔时间较短,因此钙振荡所持续的时间可以使卵子在该时段内完成进一步的成熟及受精。胡京美^[4]与 Shu Y^[5]等也有过相似的报道。由此考虑在获卵少、不成熟卵子比例较高,尤其精子量极少、质量极差的冷冻精液或手术取精精液的情况下,部分未成熟 MI 期卵子受精后形成的胚胎可使病人获得可移植胚胎,提高妊娠的几率。

在控制性促排卵周期中普遍存在着卵母细胞发育不同步现象,除大部分成熟卵母细胞外,还有部分处于 MI 期的未成熟卵母细胞,如果这些未成熟卵进行体外受精成功,将增加可移植胚胎的数量,提高累积妊娠率,有利于助孕结局,本组 37 枚 MI 期卵子采用 ICSI 后 72 h,获得 11 枚胚胎,受精率为 29.73%。

4 参考文献

- [1] 徐艳文. 卵裂期胚胎的评分[M]//庄广伦. 现代辅助生育技术. 北京:人民卫生出版社,2005:240-241.
- [2] Herbert M, Gillespie JJ, Murdoch AP. Development of calcium signalling mechanisms during maturation of human oocytes[J]. Mol Hum Reprod, 1997(11):965.
- [3] Tesarik J, Sousa M, Greco E, et al. Spermatids as gametes: indications and limitations [J]. Hum Reprod, 1998 (S3): 89-107.
- [4] 胡京美,李媛,陈子江. MI 期末成熟卵 ICSI 后获优质可移植胚胎一例[J]. 中国优生与遗传杂志, 2007(15): 114.
- [5] Shu Y, Gebhardt J, Watt J, et al. Fertilization, embryo development, and clinical outcome of immature oocytes from stimulated intracytoplasmic sperm injection cycles [J]. Fertil Steril, 2007(5):1022-1027.

(2012-07-17 收稿, 2012-08-21 修回)

编辑:潘 娅

(上接第 657 页)

胸膜病变及局限性肺气肿等。(6)增强扫描时,见肺门或纵隔淋巴结环形强化、支气管腔内条形钙化等。

支气管狭窄并不是诊断 EBTB 的绝对指征,应特别注意支气管狭窄阻塞病例的肺门旁有无肿块影,有无明显的纵隔及肺门淋巴结肿大,有无支气管狭窄以及远端支气管充气征,对于鉴别困难者,应进行支气管镜检查并行病理活检^[5]。EBTB 与中央型肺癌鉴别的重要之处在于是否存在狭窄部腔外和肺门区肿块,但两者较难鉴别,应结合肺内表现及病灶区有无钙化等全面分析。

综上所述,胸部 X 线平片是诊断 EBTB 的首选方法,但胸部 CT 扫描在了解支气管腔内狭窄情况方面优于胸部 X 线平片,能发现隐匿性的病灶,而且也可判断病变有无活动性,对 EBTB 的诊断及疗效判断有很大的帮助。

4 参考文献

- [1] 李鸿雁,肖欣荣,任和芬. 支气管内膜结核的诊断治疗进展[J]. 西南国防医药, 2010(8):908-910.
- [2] 董琼雄,郑演演,李史来. 支气管内膜结核的临床影像学诊断(附 30 例报告)[J]. 实用放射学杂志, 2007(3):326-327.
- [3] 施剑斐. CT 诊断支气管内膜结核的价值及临床意义[J]. 中国高等医学教育, 2012(6): 145-146.
- [4] 李小晶. 支气管内膜结核高分辨率 CT 影像检查临床分析[J]. 临床肺科杂志, 2007(7):499-500.
- [5] 林霏申,张向荣,于俊,等. 支气管结核纤维支气管镜下分型的临床分析[J]. 实用临床医药杂志, 2011(21): 143-145.

(2012-08-27 收稿, 2012-10-31 修回)

编辑:文箫颖