

在体外受精中精卵作用时间对卵子受精及胚胎发育的影响

黄莉, 薛林涛(综述), 何冰(审校)

作者单位: 530021 南宁, 广西壮族自治区人民医院生殖中心

作者简介: 黄莉, 女, 研究生, 硕士学位, 副研究员, 研究方向: 生殖胚胎学。E-mail: hfireli@sina.com

[摘要] 目前在体外受精-胚胎移植中精卵共培养作用时间的长短在体外受精-胚胎移植中对卵子受精、胚胎发育质量及临床妊娠结局的影响日益受到关注。适当缩短精卵作用时间, 可使优质胚胎率及临床妊娠率增高, 获得可喜的临床结局。

[关键词] 精子; 卵子; 体外受精-胚胎移植; 受精时间

[中图分类号] Q 492.6 [文献标识码] A [文章编号] 1674-3806(2010)07-0686-03

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2010.07.37

Effect of exposure time of sperm-oocyte coincubation on fertilization and embryonic development quality in vitro fertilization HUANG Li, XUE Lin-tao, HE Bing. Reproductive Medical Center, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

[Abstract] Now the effect of exposure time of sperm-oocyte coincubation on fertilization, embryonic development quality and pregnancy outcome in vitro fertilization (IVF) has been given more and more attention. Adequate shortened exposure of oocytes to spermatozoa improves in-vitro fertilization outcome; high quality embryo rates and pregnancy rates is increased, delightful clinic outcome is obtained.

[Key words] Sperm; Oocyte; In-vitro fertilization-embryo transplantation (IVF-ET); Fertilization time

目前在体外受精-胚胎移植(IVF-ET)常规操作中, 为了获得理想的受精率, 我们需要在每个卵子周围保持一定数目的精子, 一般为 20 000 ~ 50 000 条, 这种受精浓度是非生理性的, 远远高于体内受精能够到达受精部位与卵子接触到精子数量, 同时精卵共培养时间也与体内受精不同。因此这种非生理性的精子浓度以及精卵共培养时间的长短在体外受精中对卵子受精结局及胚胎发育情况的影响日益受到关注。

1 精卵作用机理

受精就是精子与卵子相互作用, 融合形成双倍体合子的过程, 经历精子获能、精子识别并穿过透明带、精卵质膜相互作用及精卵激活几个阶段。在这一系列过程中, 会发生许多分子水平的生理和生化事件。精子获能是受精成功的必要条件, 射出的精子表面牢固附着一些来自附睾和精浆的成分, 如糖蛋白、去获能因子、多肽、纤粘蛋白等。除去或改变这些精子质膜的稳定因子及保护物质是精子获能的基础^[1], 尤其是抑制顶体反应的去获能因子的去除是精子获能中的重要事件。正常 IVF 操作中, 通过使用含适量能量物质和血清白蛋白的培养基对精子洗涤、离心即可使其体外获能。但如果某种遗传方面的异常使精子表面的附着物或去获能因子不易除去, 将使精子不能获能, 从而影响正常受精。获能后的精子活力增强, 出现超激活运动其与精子穿过透明带

(ZP)的能力密切相关。精子与 ZP 相互作用大致可分三步: (1) 顶体完整的精子与 ZP 结合。(2) 正在进行顶体反应和完成顶体反应的精子与 ZP 结合。(3) 完成顶体反应的精子进入并穿过 ZP。精卵识别是通过精子表面的卵子结合蛋白与 ZP 上的精子受体相互作用而实现的。总之, 精子与 ZP 的作用是相当复杂的, 有多种精子蛋白参与初级和次级识别, 如果先天或后天的卵结合蛋白、ZP 糖蛋白异常都会影响精卵正常结合, 致使受精失败。精子进入 ZP 后, 随之发生的精卵质膜融合是一个多种分子参与、多对配基与受体协同作用的过程, 其不仅是一个膜融合的过程, 而且与卵子活化信号的传导密切相关, 可以说卵子活化信号的启动就是从精卵质膜相互作用开始的, 卵子激活是通过卵子内钙波及钙振荡实现的。精子激活卵子机制有多种假说, 目前公认的是精子因子假说。该假说认为卵子的激活是由于精子内存在着卵激活相关因子。精卵结合后, 精子激活是以精核染色质去致密为标志的。M II 期卵子中谷胱甘肽(GSH)水平与 GV 期卵子相比水平极高。研究表明 GSH 参与精核去致密过程^[2]。GSH 通过不断的氧化还原反应, 清除精子染色质中鱼精蛋白二硫键, 使鱼精蛋白被组蛋白替代, 染色质去致密, 与此同时激活的卵母细胞恢复减数分裂, 排出第二极体, 雌雄染色质周围重建核膜, DNA 复制, 雌雄原核融合, 胚胎形成。总之从

受精到胚胎形成是一个极其复杂的过程。其中发生许多生理、生化事件,涉及到复杂的蛋白相互作用及信号传导。此过程中的许多机理及具体作用分子尚不清楚,还需大量的研究工作。

2 精卵作用时间对受精结局的影响

受精是精卵之间相互作用的一个极为复杂的过程,卵子正常受精的标准是出现 2 个 PN 和 2 个 PB,正常受精率也是衡量实验室受精条件的主要指标,但是实际工作中仍有大约 5%~15% 的卵子表现为异常的受精结局,这说明受精过程出现了异常,其中 3PN 使 IVF 中最常见的异常受精类型,而且 3PN 胚胎的核型分析结果大多为异常,因此移植选择中均将此类胚胎丢弃,造成了卵子资源浪费。有研究表明,在人体外受精中,受精发生在卵子暴露于精子中很短的时程内,大部分卵子在受精后 4 h 内即可排出第二极体^[3],并且由于皮质颗粒的释放,会出现较明显的胞浆皮质反应,而原核的出现多在受精后 6~8 h。IVF-ET 时是将卵母细胞与高密度的精子一起培养。与传统的过夜培养相比,Gianaroli 等^[4]认为短时间精卵共培养受精率会明显增高,而 Dirnfeld 等^[5]的研究结果则相反,可能对于部分精子穿透卵子时间较长,或卵子成熟度不够的病人,过早去除颗粒细胞会影响卵母细胞的正常受精。同时也有研究表明短时受精可以降低多精受精率,但不会降低整体受精率,Almiñana C 等^[11]的研究结果证实:缩短精卵孵育时间可以降低多精受精率,降低卵子透明带硬化的发生。这也可能是由于短时受精缩短了部分存在受精缺陷的不成熟或过成熟卵母细胞与精子作用的时间,从而降低了多条精子进入卵子的机会。但由于人卵 IVF 的详细过程尚未完全阐明,故上述结果的确切原因也不清楚。

3 精卵作用时间对胚胎质量的影响

胚胎质量差是 IVF-ET 治疗失败的主要原因之一,提高胚胎质量需要从体外培养的各个环节入手。目前常规体外受精是将卵子置于一定浓度的精子环境中完成受精,而这种浓度是远高于体内自然受精所需,体内能够达到受精部位与卵子接触的精子只有几十条甚至更少。研究发现,受精卵长时间暴露于高精子密度的环境中,由于精子代谢产物的堆积、脱落的颗粒细胞及死精子等都消耗培养液的能量,使卵细胞处于一个不良营养环境中,而且精子代谢产生的多种有害物质如活性氧成分(ROS)、氧自由基等会影响受精卵的发育^[6]。另外有研究证明卵子长时间暴露于大量精子及氧自由基,可能通过释放透明带硬化因子,如组织型浆液激活因子^[7],加重透明带变硬程度,可能成为受精后胚胎发育和成功种植的主要障碍。近些年有报道提出缩短精卵孵育时间至 4~6 h,甚至更短^[8],M. dirnfeld^[9],Kattera S^[10]等学者通过对 1~2 h 与常规 20 h 精卵孵育时间长短的比较研究,发现后者卵子透明带增厚变硬,1~2 h 与常规 20 h 精卵孵育时间相比在优质胚胎率、临床妊娠、种植率以及胚胎利用率有着明显的优势,具有显著性差异,同时正常受精率与常规过夜受精无显著差异;Almiñana C 等^[11]在 10 min 极短精卵孵育时间的研究显示:10 min 短时精卵孵育时间的囊胚转化率远

高于 6h 短精卵孵育时间。这可能是因为短时受精缩短了卵子暴露于过量代谢产物中的时间,减少了不利于胚胎发育的因素,在一定程度上起到了改善胚胎质量的作用,提高优质胚胎率,更符合体内受精后胚胎周围环境,进而提高临床妊娠率。

4 精卵作用时间对 IVF-ET 受精失败周期补救 ICSI 结局的影响

在 IVF-ET 受精失败周期补救 ICSI 中,传统的受精失败是在精卵孵育 20 h 后原核观察结果确定,再采用 ICSI 补救。目前短时精卵孵育一般在 4~6 h 后观察受精卵第二极体的排出来判断早期受精确定是否受精失败,在 6 h 后即可行早期 ICSI 补救。Christopher Chen 等^[12]研究结果显示:在受精失败行补救 ICSI 周期中,22 h 组的的受精率、卵裂率、优质胚胎率、临床妊娠率、种植率远低于 4~6 h 组的,而且多精受精率较 4~6 h 组的高。4~6 h 组的受精率、卵裂率、优质胚胎率、临床妊娠率、种植率与正常受精 IVF-ET 组的相似;其中原因可能是长时间的精卵孵育(16~20 h),卵子培养过程中的老化,导致细胞遗传异常增加、透明带的增厚以及胚胎发育时期与内膜发育的不同步等。Zhang NY 等^[13]短时受精联合早期补救 ICSI 对常规 IVF-ET 完全受精失败的研究结果,获得了高达 53.3% 的临床妊娠率,种植率 38%。因此适当缩短精卵孵育时间,常规 IVF-ET 受精失败及时行早期补救 ICSI 的方法,胚胎利用率高,临床结局可喜。但过早去除颗粒细胞对卵母细胞受精过程的刺激,是否引起受精卵激活异常目前尚未明确,有待大量样本的研究证实。

参考文献

- 1 Hartmann S, Bergmann M, Bohle RM, et al. Genetic imprinting during impaired spermatogenesis [J]. *Mol Hum Reprod*, 2006, 12(6): 407-411.
- 2 Zuelke KA, Jeffay SC, Zucker RM, et al. Glutathione (GSH) concentrations vary with the cell cycle in maturing hamster oocytes, zygotes, and pre-implantation stage embryos [J]. *Mol Reprod Dev*, 2003, 64(1): 106-112.
- 3 Payne D, Flaherty SP, Barry MF, et al. Preliminary observations on polar body extrusion and pronuclear formation in human oocytes using timelapse video cinematography [J]. *Hum Reprod*, 1997, 12(3): 532-541.
- 4 Gianaroli L, Cristina Magli M, Ferraretti AP, et al. Reducing the time of sperm-oocyte interaction in human in-vitro fertilization improves the implantation rate [J]. *Hum Reprod*, 1996, 11(1): 166-171.
- 5 Dirnfeld M, Bider D, Koifman M, et al. Shortened exposure of oocytes to spermatozoa improves in-vitro fertilization outcome: a prospective, randomized, controlled study [J]. *Hum Reprod*, 1999, 14(10): 2562-2564.
- 6 Gianaroli L, Fiorentino A, Magli MC, et al. Prolonged sperm-oocyte exposure and high sperm concentration affect human embryo viability and pregnancy rate [J]. *Hum Reprod*, 1996, 11(11): 2507-2511.
- 7 Rekkas CA, Besenfelder U, Havlicek V, et al. Plasminogen activator activity in cortical granules of bovine oocytes during in-vitro maturation [J]. *Theriogenology*, 2002, 57(7): 1897-1905.

- 8 Swenson K, Check JH, Summers-Chase D, et al. A randomized study comparing the effect of standard versus short incubation of sperm and oocyte on subsequent pregnancy and implantation rates following in vitro fertilization embryo transfer[J]. Arch Androl, 2000, 45(1):73-76.
- 9 Imfeld M, Bider D, Koifman M, et al. Shortened exposure of oocytes to spermatozoa improves in-vitro fertilization outcome: a prospective, randomized, controlled study[J]. Human Reproduction 1999, 14(10):2562-2564.
- 10 Kattera S, Chen C. Short co-incubation of gametes in vitro fertilization improves implantation and pregnancy rates: a prospective, randomized, controlled study. [J] Fertil Steril, 2003, 80(4):1017-1021.
- 11 Almiñana C, Gil MA, Cuello C, et al. In vitro fertilization (IVF) in straws and a short gamete co-incubation time improves the efficiency of porcine IVF[J]. Reprod Domest Anim, 2008 43(6):747-752.
- 12 Christopher C, Suresh K, et al. Rescue ICSI of oocytes that failed to extrude the second polar body 6 h post-insemination in conventional IVF [J]. Human Reproduction, 2003, 18(10):2118-2121.
- 13 Zhang NY, Sun HX, Hu YL, et al. Combination of short-period sperm-oocyte co-incubation and early rescue intracytoplasmic sperm injection after total failure of in vitro fertilization[J]. Zhonghua Nan Ke Xue, 2009, 15(6):538-541.

[收稿日期 2010-02-23][本文编辑 谭毅 黄晓红]

新进展综述

神经肌电图在腕管综合征中的诊断价值

张丽香(综述), 李吕力(审校)

作者单位: 530021 南宁, 广西壮族自治区人民医院神经内科

作者简介: 张丽香(1964-), 女, 大专, 主管技师, 研究方向: 神经电生理。E-mail: zhanglixiang1964@yahoo.cn

通讯作者: 李吕力(1950-), 男, 大学本科, 学士学位, 硕士研究生导师, 主任医师, 研究方向: 神经免疫疾病及脑血管病。

[摘要] 腕管综合征是临床上最常见的嵌压性周围神经病, 主要是腕部以下正中神经的受压, 从而引起感觉异常和功能障碍。神经肌电图检查有助于嵌压征的定性、定位诊断, 对早期诊断及治疗腕管综合征具有重要价值。

[关键词] 腕管综合征; 神经肌电图; 诊断及治疗价值

[中图分类号] R 741.044 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2010)07-0688-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2010.07.38

Value of the electroneuromyography in the diagnosis and treatment of carpal tunnel syndrome ZHANG Li-xiang, LI Lv-li. Department of Neurology, the People's Hospital of Guangxi Autonomous Region, Nanning 530021, China

[Abstract] Carpal tunnel syndrome is the most common entrapment peripheral neuropathy in clinical, in which the median nerve is compressed at the wrist, leading to paresthesia and functional disorder. The electroneuromyography is helpful in qualitative and anatomical diagnosis of the entrapment syndrome, and has great value in the early diagnosis and treatment of carpal tunnel syndrome.

[Key words] Carpal tunnel syndrome; Electroneuromyography; Diagnosis and treatment value

腕管综合征(carpal tunnel syndrome, CTS)为各种原因致腕管内压力增高, 正中神经(median nerve, MN)受压, 引起手指麻木、疼痛、感觉异常和功能障碍的一组症候群, 是最常见上肢嵌压神经病变之一^[1,2]。神经肌电图(electroneuromyography, ENMG)是检测上下运动神经元、周围神经、神经肌肉接头以及肌肉整个运动系统功能的一种重要的临床电生理学检查方法。主要研究运动单位(motor unit, MU)内一定数量的、一组肌纤维动作电位(motor unit action potentials, AP)

的时空关系, 它包括了神经传导速度(MNCV)和常规肌电图(electromyography, EMG)测定等; 神经肌电图检查在诊断腕管综合征中具有重要的价值。本文拟从神经肌电图、腕管综合征的电诊断标准与研究现状和进展几个方面作一综述。

1 腕管综合征的流行病学、病因学及病理生理

腕管综合征是最常见的周围神经疾病之一, 中老年女性多见。绝大多数腕管综合征的病因及发病机制不明。腕管综合征的发病率和患病率由于诊断标准不同而各有差异。