



## 基于全场光学相干层析技术评估卵母细胞质量\*

刘美君 于吉田 宁\*\*

(沈阳师范大学物理科学与技术学院, 沈阳 110000)

**摘要** 胞质质量是影响卵母细胞发育能力的重要因素, 然而目前仍缺少无损且客观高效地评估胞质成熟度的方法. 已知胞质成熟度低是导致体外成熟卵母细胞发育能力远低于体内成熟卵母细胞的主要原因. 全场光学相干层析技术 (FF-OCT) 具有无损非标记且三维高分辨的特点. 经对比 FF-OCT 采集的体内成熟与体外成熟小鼠卵胞质图像发现, 具有大面积高亮皮质区及胞质均匀分布的卵母细胞, 其胞质成熟度更高. 为验证这一点, 对比了显微镜下筛选和 FF-OCT 筛选的体外成熟卵母细胞的体外受精率, 发现显微镜筛选组的体外受精率远低于体内成熟的情况, FF-OCT 筛选组的体外受精率与体内成熟组之间无显著差异. 这说明 FF-OCT 筛选的体外成熟卵母细胞发育能力接近于体内成熟的卵母细胞. 此外还利用 FF-OCT 成功观测到新鲜及老化卵母细胞之间的形态差别, 即老化卵母细胞胞质均匀性更差及高亮皮质区更小. 因此, FF-OCT 可用于无损评估胞质质量, 且大面积高亮皮质区的存在及胞质分布的均匀性是评估胞质质量的有效指标.

**关键词** 全场光学相干层析, 小鼠卵母细胞, 胞质成熟

**中图分类号** O436.1, TP274+.2, Q246

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2020.0106

体外成熟卵母细胞质量是决定哺乳动物体外受精能力、胚胎体外发育潜能及妊娠成功与否的关键因素<sup>[1-2]</sup>. 有效筛选出高质量的体外成熟卵母细胞是提高体外受精、胚胎移植等生物技术的重要基础. 卵母细胞体外成熟情况主要通过评估核成熟及胞质成熟来实现<sup>[3]</sup>. 其中, 核成熟主要通过检测第一极体排出来衡量<sup>[3]</sup>. 然而, 到目前为止, 胞质成熟的评估仍无确定、有效的方法. 而胞质成熟程度的评估对筛选出高质量的体外成熟卵母细胞非常重要. 很多研究指出胞质成熟度低是导致体外成熟卵母细胞发育能力远低于体内成熟卵母细胞的主要原因<sup>[4-5]</sup>.

目前常用的评估胞质成熟程度的方法有: a. 传统的基于形态检测的方法, 主要是观察胞质颜色、颗粒性及极体形态等<sup>[6]</sup>. 这种方法结果主观性太强, 其结果的可靠性依赖于技术人员经验. b. 新型的基于生物学技术检测生化指标的方法: 主要是利用荧光染色、RT-PCR、蛋白质印迹 (Weston blot) 等技术检测胞质中某些成分的浓度、活性或表达量 (如 G6PDH 活性、PDE3 活性、Bcl/Bax 相对表达量、ROS 水平及 GSH 水平等)<sup>[7-10]</sup> 或细胞器 (如皮

质颗粒、线粒体等) 的分布<sup>[11-12]</sup>, 以此来判断胞质成熟情况. 这种新型的方法能弥补基于形态检测方法的不足, 然而仍存在显著缺点, 表现在: 侵入式研究、生物操作步骤繁琐复杂、实验耗时长、损伤卵母细胞 (以致其无法完成后续体外受精等过程). 鉴于此, 非常需要一种无损伤、客观高效、且易于实现的评估胞质成熟度的方法.

胞质成熟过程是为卵母细胞受精及早期胚胎发育做准备的过程, 在此过程中积累所需的能量、mRNA、蛋白质等物质, 同时, 还伴随着微管重组、线粒体重新分布等过程, 从而引起胞质微观结构的变化<sup>[11-12]</sup>. 因此, 不同成熟程度的胞质, 其内部生物大分子的分布是不同的, 从而引起折射率等指标的变化, 表现出不同的光学性能 (如散射强度的差异). 本文拟利用全场光学相干层析技术 (full-field optical coherence tomography, FF-OCT)

\* 国家自然科学基金(11804235), 沈阳师范大学重大孵化项目(51700303)及沈阳市中青年科技创新人才支持计划(RC200213)资助项目.

\*\* 通讯联系人.

Tel: 024-86575015, E-mail: tiann517@aliyun.com

收稿日期: 2020-08-04, 接受日期: 2020-08-17

分析卵胞质的成熟程度. FF-OCT是基于样品背向散射光低相干干涉而建立起来的成像技术, 具有无损伤、非标记、高分辨、操作简单、实验耗时短、易于实现等特点<sup>[13]</sup>. 即, FF-OCT图像表征着样品的背向散射强度. 本文通过对比体内成熟与体外成熟卵母细胞FF-OCT图像, 分析卵母细胞FF-OCT图像特点与卵胞质成熟程度之间的关联. 本文将对传统显微镜下观察方法与FF-OCT方法筛选出的卵母细胞的体外受精能力, 并将FF-OCT筛选方法应用于观测老化对卵母细胞质量影响的实例中, 由此验证FF-OCT用于评估卵胞质质量的有效性. 本文研究结果将为筛选出最优质量的体外成熟卵母细胞提供一种可能的无损、客观、高效的新方法.

## 1 材料与方 法

### 1.1 生物样品制备

体内成熟卵母细胞制备: 7~8周龄ICR雌性小鼠腹腔注射孕马血清促性腺激素5 U/只, 48 h后腹腔注射人绒毛膜促性腺激素5 U/只, 15 h后脱颈椎处死. 摘取卵巢及输卵管, 并置于人输卵管培养液 (HTF) 中. 剔除卵巢及输卵管周围脂肪组织, 并分离卵巢与输卵管. 针头划开输卵管膨大处, 释放出颗粒细胞包裹的一团卵丘-卵母细胞复合体. 随后, 将此团细胞移入0.05%透明质酸酶中, 于培养箱内孵育5 min, 以去除颗粒细胞. 由此获得体内成熟的卵母细胞. 选择形态完好的卵母细胞用于进

一步分析.

排卵后老化卵母细胞制备: 将从小鼠输卵管膨大处采集的新鲜卵丘-卵母细胞复合体放入石蜡油覆盖的HTF微滴中, 并置于37°C、5% CO<sub>2</sub>的培养箱内继续培养12 h. 随后去除颗粒细胞, 由此制备了排卵后老化的卵母细胞.

体外成熟卵母细胞制备: 脱颈椎处死7~8周龄ICR雌鼠, 并摘取完整卵巢. 剔除卵巢周围脂肪组织后, 无菌针头反复刺扎卵泡, 释放裸卵. 选择生发泡完整的裸卵, 经清洗后, 移入石蜡油覆盖的添加10%胎牛血清的HTF中, 并置于37°C、5% CO<sub>2</sub>的培养箱内培养16 h. 选择排出第一极体且形态完好的卵母细胞用于实验研究.

体外受精: ICR雄性小鼠脱颈椎处死, 取下附睾尾部, 转移到HTF液滴中. 将附睾尾部穿刺, 使精子缓慢挤出. 然后, 将精子悬液在HTF液滴中获能90 min, 将获能精子加入含成熟卵母细胞的液滴中培养6 h, 随后统计卵母细胞体外受精情况.

### 1.2 图像采集

FF-OCT系统见图1. 其中, 光源为250 W卤素灯, 中心波长为600 nm, 带宽为180 nm (图1). 物镜为水浸物镜, 数值孔径为0.5. 由此可得, 该系统的横向分辨率为 $\Delta x = 0.6 \frac{\lambda_0}{NA} \approx 0.7 \mu\text{m}$ , 纵向分辨率为 $\Delta z = 0.44 \frac{\lambda_0^2}{n\Delta\lambda} \approx 0.7 \mu\text{m}$ , 纵向步长设为1.1  $\mu\text{m}$ .

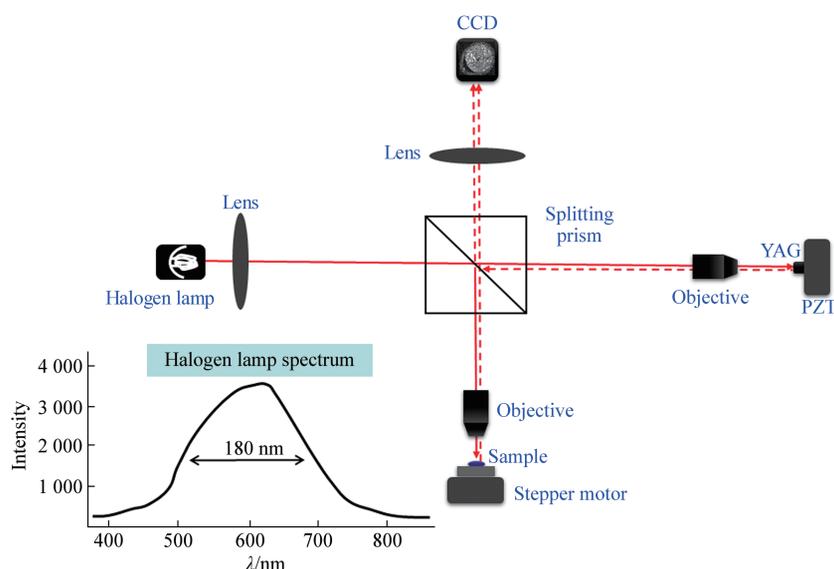


Fig. 1 Schematic diagram of full-field OCT system and halogen light spectrum

### 1.3 图像预处理

图像预处理流程如下(图2):原始OCT图像(一组记录不同深度位置的二维光学切片)首先进行强度归一化处理(以确保所有光学切片的灰度一

致),随后通过各项异性扩散算法去除噪声<sup>[13]</sup>,接下来进行目标区域分割,最后分析OCT图像灰度分布特点.

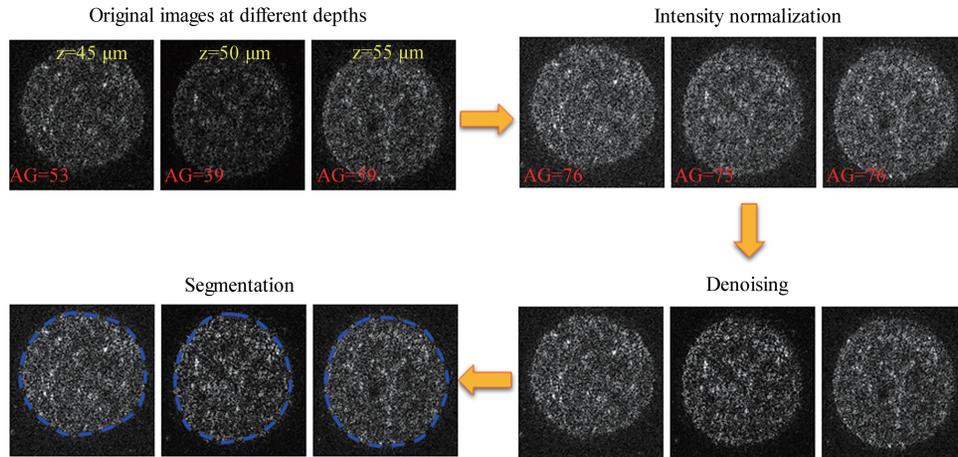


Fig. 2 Flow chart of the image processing procedure

AG is the abbreviation of average gray value.

### 1.4 统计分析

实验数据以 $\bar{x}\pm s$ 形式表示,实验独立重复3次.数据间显著性差异通过单因素方差分析或卡方检验进行分析(SPSS16.0). $P<0.05$ 代表差异显著.

## 2 结果与讨论

### 2.1 利用FF-OCT系统分析卵母细胞图像

#### 2.1.1 FF-OCT采集的卵母细胞图像

本文利用FF-OCT系统采集了30个体内成熟和30个体外成熟卵母细胞的图像,从OCT图像中可清晰看到胞质、透明带、卵周间隙等结构(图3),经三维分割后(利用Amira软件实现),可测量出各结构的平均灰度值.体内成熟卵母细胞的胞质、透明带、卵周间隙的平均灰度值分别为 $(63\pm 7)$ 、 $(54\pm 6)$ 和 $(7\pm 3)$ ,与体外成熟卵母细胞相应结构的灰度值( $(59\pm 9)$ 、 $(46\pm 9)$ 和 $(11\pm 2)$ )之间无明显差别(图3c).

#### 2.1.2 体内成熟和体外成熟卵母细胞卵胞质皮质区灰度值比较

本文在卵母细胞皮质区域内绘制了一个矩形框,该矩形框跨过部分卵周间隙和部分卵胞质区域(图4a, d),随后,沿卵母细胞径向绘制“灰度-位置”曲线.观察到两种“灰度-位置”曲线形式:一

种为“灰度-位置”曲线有一个突出的峰型,该峰位对应着卵胞质皮质区,其左侧对应着卵周间隙区域,右侧对应着卵胞质区域(图4b).该峰值明显高于左右两侧卵周间隙和卵胞质的灰度值.也就是说,具有突出峰型的卵母细胞存在着皮质高亮区,即在卵胞质的最外围存在高亮区域.将高亮区域用伪彩标记,由此绘制出图4c.另一种为“灰度-位置”曲线呈平缓的台阶状,“台阶”两侧分别对应着卵周间隙和卵胞质区域(图4e).台阶状“位置-灰度”曲线不存在突出的峰型,这表明该卵母细胞不存在高亮的皮质区域(图4d, f).经统计发现,体内成熟组高亮皮质区对卵母细胞中心所张的立体角均值为 $(1.75\pi \pm 0.75\pi)$ ,远大于体外成熟组的情况( $(0.87\pi \pm 0.59\pi)$ , $P<0.05$ ,图4g).以该组数据中位数为分界( $\pi$ )发现,体内成熟组中,高亮皮质区对卵母细胞中心的立体角超过 $\pi$ 的卵母细胞比率约为80%,远大于体外成熟组的情况(36.7%,表1, $P<0.05$ ).这表明多数体内成熟的卵母细胞具有大面积高亮皮质区.卵母细胞的成熟过程伴随着皮质颗粒、线粒体等细胞器在卵胞质内部的重新排列<sup>[11-12]</sup>.通常情况下,皮质颗粒迁移至卵胞质皮质区是卵母细胞发育质量良好的重要标志<sup>[11, 14]</sup>.本实验利用FF-OCT所采集的卵胞质图像

中，体内成熟组中多数卵母细胞具有的大面积高亮皮质区可能对应着皮质颗粒细胞迁移至皮质区域。

而体外成熟组中多数卵母细胞不具有大面积高亮皮质区可能说明皮质颗粒细胞尚未迁移至皮质区。

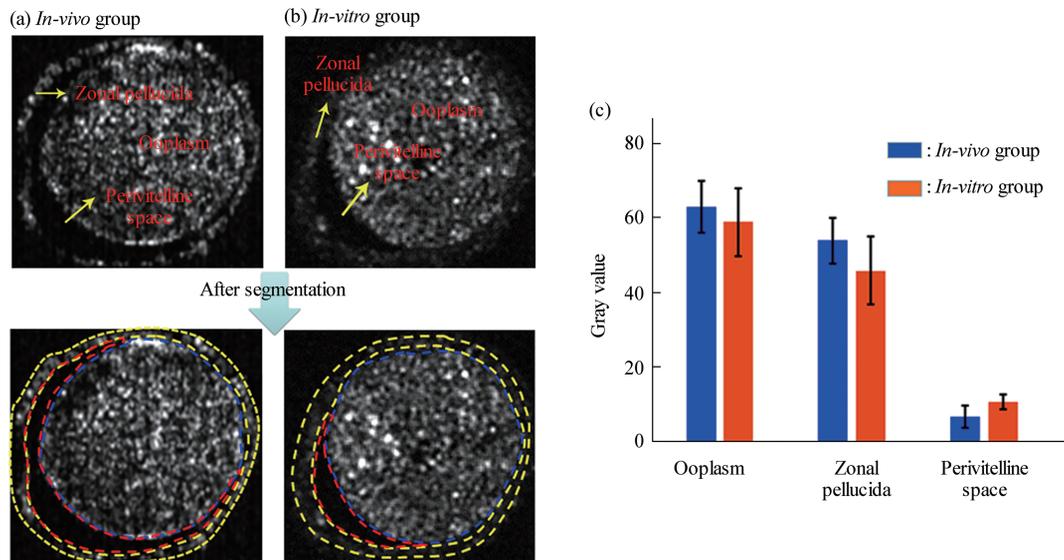


Fig. 3 Segmentation and gray comparisons of various biological structures in oocytes captured by full-field OCT

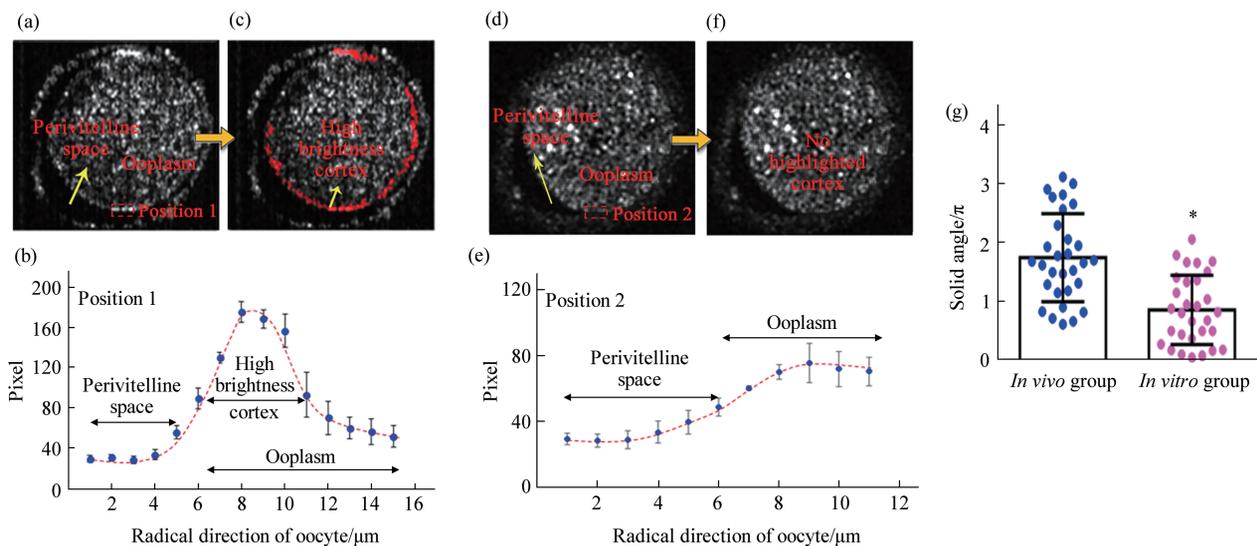


Fig. 4 Gray-value analysis of cortical area of ooplasm

\* $P < 0.05$ .

### 2.1.3 体内成熟和体外成熟卵母细胞卵胞质灰度分布比较

本文将卵母细胞看成一个球体，并将球体半径等分为4份，由此从中心向外划分4个壳层（图5a）。本文计算了卵母细胞每个壳层的平均灰度值（gray value, GV），并利用各壳层平均灰度彼此相减的绝对值之和和量化卵母细胞的灰度分布特点（grayscale distribution, GD）。即， $GD =$

$$\sum_{i=1}^4 \sum_{j=i+1}^4 |GV_i - GV_j|$$

其中 $|GV_i - GV_j|$ 代表*i*壳层和*j*壳层平均灰度值相减的绝对值。我们仅以卵母细胞卵胞质的灰度分布特点（GD值）为指标，再次分析上述30个体内成熟和30个体外成熟卵母细胞的OCT图像，发现体内成熟组GD均值为（11.8 ± 5.9），远小于体外成熟组的GD均值（29.2 ± 10.8）（图5b,  $P < 0.05$ ）。进一步，以GD值中位数（17）

为分界发现, 体内成熟组中  $GD$  值小于 17 的卵母细胞比率约为 83.3%, 远大于体外成熟组的情况 (30%, 表 1,  $P < 0.05$ )。可见, 体内成熟组  $GD$  值较小. 这说明各壳层平均灰度值彼此差异较小, 卵胞质灰度在各壳层分布相对均匀. 而体外成熟组的  $GD$  值明显高于体内成熟组. 这说明体外成熟组卵胞质灰度分布不均匀, 在某些位置聚集, 表现出该壳层的灰度值大于其他壳层. 有研究指出 FF-OCT 技术采集的早期胚胎胞质图像可用于评估胞质内线粒体的分布情况<sup>[15]</sup>. 线粒体为卵母细胞成熟等过程提供所需能量, 其分布、数量可直接影响卵母细胞质量<sup>[12]</sup>. 发育能力较强的成熟卵母细胞中, 线粒体呈均匀分布, 而质量下降的卵母细胞中, 线粒

体往往聚集分布<sup>[16]</sup>. 本文利用 FF-OCT 采集的卵胞质图像可能反应的就是卵胞质内线粒体的分布情况. 体内成熟卵母细胞卵胞质灰度均匀, 可能表明线粒体分布均匀, 而体外成熟卵母细胞卵胞质灰度聚集可能预示着线粒体的聚集分布.

此外, 进一步统计体内成熟组和体外成熟组中既有大面积高亮皮质区又具有较小  $GD$  值的卵母细胞比率. 我们仍以两组数据的中位数 ( $\pi$  及 17) 为分界发现, 体内成熟组中高亮皮质区所张立体角大于  $\pi$  且  $GD$  值小于 17 的卵母细胞比率约为 76.7%, 远大于体外成熟组的情况 (26.7%, 表 1,  $P < 0.05$ )。

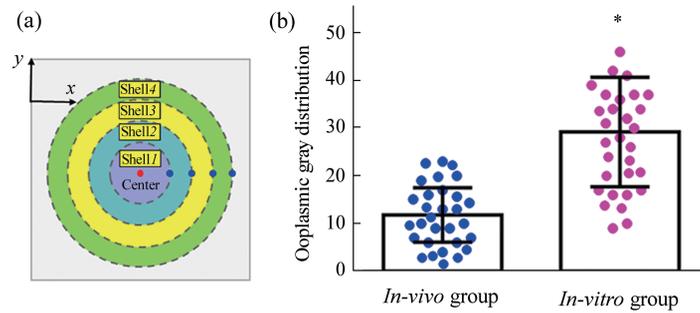


Fig. 5 Grayscale distribution analysis of ooplasm

\* $P < 0.05$ .

Table 1 Oocyte quality assessment between *in-vivo* and *in-vitro* groups by comparing their FF-OCT images

	Rate of oocytes with solid angle more than $\pi$ /%	Rate of oocytes with $GD$ value less than 17/%	Rate of oocytes with both solid angle more than $\pi$ and $GD$ value less than 17/%
<i>In-vivo</i> group	80.0 ± 10.0	83.3 ± 5.7	76.7 ± 5.7
<i>In-vitro</i> group	36.6 ± 5.7*	30.0 ± 10.0*	26.7 ± 11.5*

\* $P < 0.05$ , there is significant difference between the *in-vivo* and *in-vitro* groups.

## 2.2 实验验证

### 2.2.1 形态筛查方法与FF-OCT筛查方法比较

前文得到具有大面积高亮皮质区且胞质均匀分布的卵母细胞, 其胞质成熟度更高, 将具有更好的发育潜能. 为验证这一点, 我们对比了传统的基于显微镜观察的卵母细胞筛选方法和本文基于 FF-OCT 的筛选方法, 发现: a. 显微镜下观察到的形态较差的体外成熟卵母细胞 (图 6a), 其对应的 FF-OCT 图像呈现出胞质不均匀分布及无高亮皮质区的特点 (图 6a'), 这与传统方法的认定结果一致. b. 显微镜下观察到的形态较好的体外成熟卵母细胞 (图 6b, c), 一部分对应的 FF-OCT 图像具有大面积高亮皮质区且胞质灰度分布均匀 (图 6b'), 另一部分则不兼具这两个胞质分布特点 (图 6c').

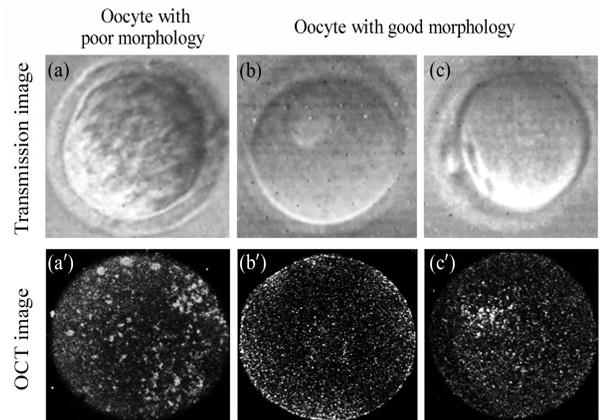


Fig. 6 Oocyte images captured by microscope observation (a—c) and FF-OCT (a'—c')

进一步以卵母细胞的体外受精能力为指标, 分析基于显微镜观察的方法和基于FF-OCT成像的方法筛选出体外成熟卵母细胞的质量. 结果表明(表2), 显微镜下观察形态较好的体外成熟卵母细胞, 其体外受精比率约为69%, 明显小于体内成熟卵母细胞的体外受精率(82.6%,  $P < 0.05$ ). 我们对形态较好的体外成熟卵母细胞根据其FF-OCT图像再次进行分类, 把兼具大面积高亮皮质区(对应立体角大于 $\pi$ )及均匀胞质( $GD$ 值小于17)的体外成熟卵母细胞归类为A级卵母细胞, 把不兼具这两个胞质分布特点的卵母细胞归类为B级. 发现, A级体外成熟卵母细胞的体外受精率可达77.8%, 与体内成熟卵母细胞的体外受精率之间无显著差异( $P > 0.05$ ); B级体外成熟卵母细胞的体外受精率仅为64.1%, 低于A级体外成熟卵母细胞及体内成熟卵母细胞的受精率( $P < 0.05$ ). 这些结果表明, 根据FF-OCT图像筛选出的优质卵母细胞(A级卵母细胞)受精能力接近于体内成熟的卵母细胞. 体外成熟卵母细胞发育能力不及体内成熟卵母细胞, 往

往与体外成熟卵母细胞胞质成熟度欠佳有关<sup>[17-18]</sup>. 显微镜下筛选出的体外成熟卵母细胞的体外受精率低于体内成熟卵母细胞, 而进一步经FF-OCT筛选出的A级体外成熟卵母细胞的体外受精率与体内成熟卵母细胞之间无显著差异. 这说明FF-OCT筛选的体外成熟卵母细胞发育质量接近于体内成熟的卵母细胞, 或者说, FF-OCT筛选方法可以筛选出胞质成熟度更好的卵母细胞.

## 2.2.2 FF-OCT筛查方法分析排卵后老化卵母细胞质量

进一步, 利用FF-OCT分析排卵后老化12 h的卵母细胞质量. 以体内成熟的新鲜卵母细胞为对照, 发现(表3): 老化组卵母细胞高亮皮质区对卵母细胞中心所张立体角均值为( $1.13\pi \pm 0.49\pi$ ),  $GD$ 均值为( $21.7 \pm 8.45$ ). 新鲜组(对照组)相应数据分别为( $1.75\pi \pm 0.59\pi$ ), ( $13.2 \pm 5.49$ ), 二者均与老化组之间存在显著差异. 再有, 老化组中, 高亮皮质区对卵母细胞中心的立体角超过 $\pi$ 的卵母细胞比率约为45%,  $GD$ 值小于17的卵母细胞比率约为49.8%, 既具有大面积高亮皮质区(立体角大于 $\pi$ )又具有均匀胞质( $GD$ 值小于17)的A级卵母细胞比率约为38.6%. 新鲜组中相应的数据分别为84.2%、79.7%及78.1%. 这表明排卵后体外老化可引起卵母细胞高亮皮质区面积下降, 胞质灰度分布不均匀. 可见, FF-OCT筛选方法可观察到新鲜卵母细胞与老化卵母细胞之间的差别, 这进一步证实了FF-OCT筛选方法在评估卵母细胞质量方面的有效性.

**Table 2 Oocyte quality assessment by comparing the *in-vitro* fertilization rate**

	<i>In-vivo</i> group (Control, $n=46$ )	<i>In-vitro</i> group ( $n=100$ )	
		Grade A oocyte ( $n=36$ )	Grade B oocyte ( $n=64$ )
<i>In-vitro</i> fertilization rate	(82.6 $\pm$ 3.5)%	(69.1 $\pm$ 1.7)%*	(64.1 $\pm$ 2.1)%*

\* $P < 0.05$ . There is significant difference compared with the *in-vivo* group.

**Table 3 Assessment of oocyte quality in fresh and aging groups by using FF-OCT**

	Average of solid angle	Rate of oocytes with solid angle more than $\pi$ %	Average of $GD$	Rate of oocytes with $GD$ value less than 17%	Rate of oocytes with both solid angle more than $\pi$ and $GD$ value less than 17%
Fresh group	$1.75\pi \pm 0.59\pi$	84.2 $\pm$ 4.8	13.2 $\pm$ 5.49	79.7 $\pm$ 4.6	78.1 $\pm$ 5.3
Aging group	$1.13\pi \pm 0.49\pi$ *	45.0 $\pm$ 5.0 *	21.7 $\pm$ 8.45*	49.8 $\pm$ 4.7 *	38.6 $\pm$ 3.2 *

\* $P < 0.05$ , there is significant difference between the fresh and aging groups.

## 3 结 论

卵胞质成熟对卵母细胞及早期胚胎发育至关重要, 然而目前仍缺少无损且客观高效的评估卵胞质质量的方法. 针对此问题, 本文结合FF-OCT技术及图像灰度分析, 提出一种无损且客观高效评估卵胞质质量的方法. 本文发现卵胞质FF-OCT图像是

否具有大面积高亮皮质区及其灰度分布均匀性可作为评估卵胞质成熟度的有效指标. 通过对比体内成熟卵母细胞、显微镜下筛选的体外成熟卵母细胞及FF-OCT筛选的体外成熟卵母细胞的体外受精率, 发现FF-OCT筛选组的体外受精率更接近于体内成熟的情况, 也就是说, FF-OCT筛选出的体外成熟卵胞质质量更接近于体内成熟卵细胞的情况. 此

外, 利用FF-OCT筛选方法可以成功观察到新鲜卵母细胞与老化卵母细胞之间的形态差别. 这些结果充分说明非标记、无损伤的FF-OCT技术可用于评估卵胞质质量.

### 参 考 文 献

- [1] 黄颖, 于洋, 乔杰. 卵母细胞质量评估研究进展. 国际生殖健康/计划生育杂志, 2014, **33**(4): 301-305  
Huang Y, Yu Y, Qiao J. Journal of International Reproductive Health/Family Planning, 2014, **33**(4): 301-305
- [2] Bakri N M, Ibrahim S F, Osman N A, *et al.* Embryo apoptosis identification: Oocyte grade or cleavage stage?. Saudi J Biol Sci, 2016, **23**(1): S50-55
- [3] No J, Zhao M, Lee S, *et al.* Enhanced *in vitro* maturation of canine oocytes by oviduct epithelial cell co-culture. Theriogenology, 2018, **105**: 66-74
- [4] del Collado M, da Silveira J C, Oliveira M L F, *et al.* *In vitro* maturation impacts cumulus-oocyte complex metabolism and stress in cattle. Reproduction, 2017, **154**(6): 881-893
- [5] Gharibi S, Hajian M, Ostadhosseini S, *et al.* Effect of phosphodiesterase type 3 inhibitor on nuclear maturation and *in vitro* development of ovine oocytes. Theriogenology, 2013, **80**(4): 302-312
- [6] Talukder M, Iqbal A, Khandoker M, *et al.* Collection grading and evaluation of cumulus-oocyte-complexes for *in vitro* maturation in sheep. The Bangladesh Veterinarian, 2011, **28**(1): 31-38
- [7] Muasa B S, Mutembei H M, Camargo L S A, *et al.* Effect of follicle size of Boran cows on glucose 6 phosphate dehydrogenase activity and developmental competence. International Journal of Veterinary Science, 2015, **4**(4): 161-165
- [8] Shimada M. Regulation of oocyte meiotic maturation by somatic cells. Reprod Med Biol, 2012, **11**(4): 177-184
- [9] Yin S, Jiang X, Jiang H, *et al.* Histone acetyltransferase KAT8 is essential for mouse oocyte development by regulating reactive oxygen species levels. Development, 2017, **144**(12): 2165-2174
- [10] 叶小芳, 陈静波, 吕雪峰, 等. 卵母细胞老化对绵羊胚胎早期发育及胞质谷胱甘肽含量的影响. 中国细胞生物学学报, 2010, **32**(3): 392-398  
Ye X F, Chen J B, Lü X F, *et al.* Chinese Journal of Cell Biology, 2010, **32**(3): 392-398
- [11] Liu M. The biology and dynamics of mammalian cortical granules. Reproductive Biology and Endocrinology, 2011, **9**(1): 149
- [12] Allahveisi A, Ghaffari N M, Yousefian E. The central role of mitochondrial function in quality of human oocyte. International Journal of Fertility and Sterility, 2012, **6**(supplement 1): 33
- [13] 王一鸣, 王婷, 于吉, 等. 早期胚胎全场OCT图像的边界去模糊研究. 生物化学与生物物理进展, 2018, **45**(10): 1078-1082  
Wang Y M, Wang T, Yu J, *et al.* Prog Biochem Biophys, 2018, **45**(10): 1078-1082
- [14] Biswas D, Hyun S H. Supplementation with vascular endothelial growth factor during *in vitro* maturation of porcine cumulus oocyte complexes and subsequent development competence after *in vitro* fertilization. Theriogenology, 2011, **76**(1): 153-160
- [15] Zarnescu L, Leung M C, Abeyta M, *et al.* Label-free characterization of vitrification-induced morphology changes in single-cell embryos with full-field optical coherence tomography. Journal of Biomedical Optics, 2015, **20**(9): 096004
- [16] 刘美菊, 陈新霞. 影响高领小鼠卵母细胞质量的超微结构因素. 解剖学报, 2017, **48**(6): 740-745  
Liu M J, Chen X X. Acta Anatomica Sinica, 2017, **48**(6): 740-745
- [17] Chang H C, Liu H, Zhang J, *et al.* Developmental incompetency of denuded mouse oocytes undergoing maturation *in vitro* is ooplasmic in nature and is associated with aberrant Oct-4 expression. Human Reproduction, 2005, **20**(7): 1958-1968
- [18] Pereira N, Neri Q V, Lekovich J P, *et al.* The role of *in-vivo* and *in-vitro* maturation time on ooplasmic dysmaturity. Reproductive Biomedicine Online, 2016, **32**(4): 401-406

## Assessment of Oocyte Quality Based on full-Field Optical Coherence Tomography\*

LIU Mei-Jun, YU Ji, TIAN Ning\*\*

(College of Physics Science and Technology, Shenyang Normal University, Shenyang 110000, China)

**Abstract** The oocyte cytoplasmic maturity is important for the oocyte development competence. However, at present, there is still lack of a noninvasive, objective and efficient method to evaluate oocyte cytoplasmic maturity. It is known that the low ooplasm maturity is the main reason that causes the reduced development ability of *in-vitro* matured oocytes than the *in-vivo* oocytes. Full-field optical coherence tomography (FF-OCT) has the characteristics of noninvasive, label-free, three-dimension and high-resolution. FF-OCT captured the images of *in-vivo* and *in-vitro* matured mouse oocytes. After comparing those FF-OCT images, it was found that the oocytes with the large-area high-brightness cortex and even cytoplasm may present the higher cytoplasmic maturity. To verify this, the *in-vitro* fertilization rates of *in-vitro* matured oocytes which were screened by microscope observation and FF-OCT were compared, and it was found that the *in-vitro* fertilization rate in the microscope-observation group was much lower than that of *in-vivo* matured oocytes, the rate in the FF-OCT group had no significant difference from the rate of *in-vivo* matured oocytes. This indicated that the development ability of *in-vitro* matured oocytes screened by FF-OCT was close to that of *in-vivo* matured oocytes. Additionally, FF-OCT successfully observed the morphological differences between the fresh and aging oocytes, namely, the aging oocytes showed the worse cytoplasmic uniformity and smaller area of high-brightness cortex. Thus, FF-OCT can be used for noninvasive assessment of oocyte cytoplasmic quality, and the large-area high-brightness cortex existence and cytoplasmic gray distribution uniformity can be the effective indexes to evaluate the oocyte cytoplasmic maturity.

**Key words** full-field optical coherence tomography, mouse oocyte, cytoplasmic maturation

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2020.0106

---

\* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (11804235), Major Incubation Projects of Shenyang Normal University (51700303) and Support Plan for Young and Middle-aged Scientific and Technological Innovation Talents of Shenyang City (RC200213).

\*\* Corresponding author.

Tel: 86-24-86575015, E-mail: tiann517@aliyun.com

Received: August 4, 2020 Accepted: August 17, 2020