

网络出版时间: 2020-9-4 09:36 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20200903.1449.026.html>

复苏周期中不同发育天数双囊胚移植临床结局分析

穆耀琴^{1 2 3 4 5}, 丁 丁^{1 2 3 4 5}, 魏兆莲^{1 2 3 4 5}, 曹云霞^{1 2 3 4 5}, 章志国^{1 2 3 4 5}, 周 平^{1 2 3 4 5}

摘要 目的 比较玻璃化冻融后双 D5、D5 + D6 与双 D6 囊胚移植的临床结局, 同时探究复苏周期中 D5 + D6 囊胚移植方案的有效性和安全性。方法 回顾性分析和比较行体外受精/卵胞质内单精子显微注射技术 - 胚胎移植 (IVF/

2020-06-25 接收

基金项目: 国家重点研发计划生殖健康及重大出生缺陷防控研究重点项目专项(编号: 2017YFC1002004); 中国医学科学院中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(编号: 2019PT310002); 安徽高校协同创新项目(编号: GXXT-2019-044)

作者单位: ¹安徽医科大学第一附属医院妇产科, 合肥 230022

²国家卫生健康委配子及生殖道异常研究重点实验室, 合肥 230032

³出生人口健康教育部重点实验室, 合肥 230032

⁴生殖健康与遗传安徽省重点实验室, 合肥 230032

⁵安徽省生命资源保存与人工器官工程技术研究中心(安徽医科大学), 合肥 230032

作者简介: 穆耀琴, 女, 硕士研究生;

周 平, 女, 副教授, 主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: zhoup_325@aliyun.com;

章志国, 男, 副教授, 副研究员, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: zzg_100@163.com

ICSI-ET) 双囊胚移植的 2180 个周期的临床数据。按照移植胚胎发育天数分为 3 组: 双 D5 组 1201 个周期; D5 + D6 组, 205 个周期; 双 D6 组 774 个周期。结果 D5 + D6 组的生化妊娠率、临床妊娠率及多胎妊娠率均高于双 D6 组 ($P < 0.001$), 且低于双 D5 组 ($P < 0.001$)。双 D5 组的早期流产率高于 D5 + D6 组和双 D6 组 ($P > 0.05$, $P < 0.05$)。D5 + D6 组的异位妊娠率低于双 D5 组和双 D6 组, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 D5 + D6 囊胚移植作为一种新的移植方案可以获得较好的临床结局。

关键词 双 D5 囊胚; D5 + D6 囊胚; 双 D6 囊胚; 冻融囊胚移植; 临床结局

中图分类号 R 714.8

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2020)10-1610-04

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.10.026

胚胎冷冻技术自 1983 年首次从人类 8 细胞期冷冻 - 解冻胚胎移植中获得妊娠以来, 已经有了快速的发展。随着囊胚形成率的不断提高以及冷冻技术的不断改进, 囊胚期玻璃化冷冻 - 解冻移植已经成为辅助生殖领域的常规技术^[1]。目前, 尽管单囊胚移植因较低的多胎妊娠率已经成为一种趋势, 但

The application of multiphase CT angiography in assessing collaterals of patients with acute ischemic stroke

Li Zhijie¹, Sun Zhongwu², Liu Bin¹

(¹Dept of Radiology, ²Dept of Neurology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To compare collateral status on single-phase CT angiography(sCTA) and multiphase CT angiography(mCTA) and their ability to predict a target mismatch on CT perfusion(CTP) and clinical outcomes in patients with acute ischemic stroke(AIS) . **Methods** Sixty-eight AIS patients with occlusions in the M1 segment of the middle cerebral artery and/or intracranial internal carotid artery within 24 h onset were included. The collaterals assessment of sCTA and mCTA were compared. The ability to predict target mismatch on CTP and clinical outcomes was compared between sCTA and mCTA by using receiver operating curve analysis. **Results** mCTA was better for visualizing collaterals when compared with sCTA. The ability of mCTA to predict target mismatch(AUC = 0.82; 95% CI: 0.727 ~ 0.877) and clinical outcome(AUC = 0.851; 95% CI: 0.735 ~ 0.944) was better than that of sCTA ($P < 0.05$ overall) . When it comes to collateral status > 2 , mSCTA predicted target mismatch on CTP was the best. The ability of mCTA to predict clinical outcome was comparable to CTP($P = 0.29$) . **Conclusion** mCTA can be a new tool to combine with CTP for the imaging triage of patients with acute ischemic stroke.

Key words AIS; CTA; collaterals; CTP

是对于反复种植失败的患者，双囊胚移植可以获得较高的种植率和临床妊娠率，避免了反复移植失败产生的心理负担及高昂的费用，仍然是众多中心常用的移植方案。该研究通过比较复苏周期中双 D5、D5 + D6 以及双 D6 三种囊胚移植方案的临床结局，为改进临床制定囊胚移植方案提供依据。

1 材料与方法

1.1 病例资料 选择 2016 年 1 月 ~ 2019 年 10 月于安徽医科大学第一附属医院生殖中心行体外受精/卵胞质内单精子显微注射技术 - 胚胎移植 (*in vitro* fertilization/ intracytoplasmic sperm injection and embryo transfer IVF/ICSI-ET) 的患者。共纳入 2 180 个复苏周期，按照不孕不育因素分为仅男性因素：394 个周期；仅女性因素：1 190 个周期；男性与女性因素：520 个周期；不明原因：76 个周期。按照囊胚发育天数以及移植胚胎数分为双 D5 组：1 201 个周期；D5 + D6 组：205 个周期；双 D6 组：774 个周期。纳入标准为：① 年龄 ≤ 40 岁；② 宫腔形态正常；③ 移植前子宫内膜厚度 ≥ 8 mm。排除标准为：① 具有复发性流产史；② 反复种植失败；③ 子宫内膜疾病；④ 子宫畸形；⑤ 卵巢储备功能减退。

1.2 囊胚培养 采用 Blastocyst 培养液（美国 COOK 公司）进行囊胚培养。将发育至 D3 的胚胎转移至续胚皿中，待发育至 D5、D6 时分别根据 Gardner 评分标准选择可冷冻的胚胎。

1.3 囊胚冷冻 - 解冻 采用玻璃化冷冻 - 解冻液（日本 KITAZATO 公司）按照试剂说明书操作。冷冻前行激光打孔辅助皱缩；冷冻时将囊胚转移至 ES 液中平衡 5 min，再转移至 VS 液，将胚胎置于冷冻载杆并投入液氮，此步骤于 1 min 内完成。解冻时将胚胎转移至 TS 液中 1 min；DS 液、WS1 液、WS2 液中各 3 min，再转移至胚胎培养皿中，移植前行激光辅助孵化。

1.4 子宫内膜的准备方法 自然周期：月经规律者于月经第 8 ~ 10 天 B 超监测内膜及卵泡生长情况，当卵泡 ≥ 12 mm 时监测排卵，于排卵后第 5 天移植囊胚。人工周期：月经不规律者于月经第 3 天起使用补佳乐或芬吗通建立内膜，B 超监测子宫内膜，当内膜 ≥ 8 mm 时行肌肉注射黄体酮转化内膜（黄体酮用量为：每日 60 mg）。内膜转化日算为第 0 天，第 5 天移植囊胚。

1.5 临床结局评价 移植后 14 d 测血清人绒毛膜促性腺激素（ β -human chorionic gonadotropin, β -HCG），若值大于 5 mIU/ml 为生化妊娠；移植后 30 d B 超检查见孕囊者为临床妊娠；在宫腔外的部位（如输卵管）着床者为异位妊娠；妊娠 12 周以内失败者为早期流产，B 超下见两个及以上孕囊诊断为多胎妊娠。

1.6 统计学处理 采用 SPSS 22.0 统计学软件进行数据的整理与分析，计量资料数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示，符合正态分布以及方差齐性资料，均数比较采用 ANOVA 检验方法；率的比较采用 χ^2 检验方法， $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 玻璃化冻融囊胚复苏周期基本情况比较 本研究共纳入 2 180 个复苏周期，按照囊胚发育天数以及移植胚胎数分为双 D5 组、D5 + D6 组与双 D6 组。对 3 组间年龄、不同年龄段人群分布、原发/继发不孕、不孕年限、体质量指数（body mass index, BMI）、基础促卵泡激素（follicle-stimulating hormone, FSH）以及基础黄体生成素（luteinizing hormone, LH）方面比较，差异均无统计学意义（ $P > 0.05$ ）。见表 1。

2.2 玻璃化冻融囊胚复苏周期妊娠结局比较 D5 + D6 组的生化妊娠率、临床妊娠率及多胎妊娠率均高于双 D6 组（ $P < 0.001$ ），且低于双 D5 组（ $P <$

表 1 玻璃化冻融囊胚复苏周期基本情况比较（ $\bar{x} \pm s$ ）

项目	双 D5 组	D5 + D6 组	双 D6 组	F/ χ^2 值	P 值
周期数	1 201	205	774	-	-
年龄（岁）	30.69 ± 3.93	31.10 ± 4.12	30.91 ± 3.95	1.40	> 0.05
年龄 35 ~ 40 岁 [n(%)]	18.57(223/1 201)	22.93(47/205)	20.54(159/774)	2.67	> 0.05
原发/继发[n(%)]	660/541(54.95/45.05)	112/93(54.63/45.37)	424/350(54.78/45.22)	0.01	> 0.05
不孕年限(年)	3.42 ± 2.51	3.39 ± 2.64	3.64 ± 2.31	2.07	> 0.05
BMI(kg/m ²)	22.30 ± 2.93	22.67 ± 3.14	22.60 ± 3.03	2.92	> 0.05
基础 FSH(IU/L)	7.10 ± 1.99	7.13 ± 2.19	7.32 ± 2.02	2.89	> 0.05
基础 LH(IU/L)	5.79 ± 3.34	5.41 ± 3.45	5.42 ± 3.95	2.86	> 0.05

表 2 玻璃化冻融囊胚复苏周期妊娠结局比较 [n(%)]

项目	双 D5 组	D5 + D6 组	双 D6 组	χ^2 值	P 值
周期数	1 201	205	774	-	-
生化妊娠率	833(69.36)	119(58.05) ***	306(39.53) ***	10.245	<0.001
临床妊娠率	763(63.53)	106(51.71) ***	269(34.75) ***	156.221	<0.001
异位妊娠率	10(0.83)	0(0)	1(0.13)	4.758	>0.05
多胎妊娠率	333(27.73)	32(15.61) ***	64(8.27) ***	115.113	<0.001
早期流产率	35(2.91)	3(1.46)	8(1.03)*	8.540	<0.05

与双 D5 组比较: * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$; 与双 D6 组比较: *** $P < 0.001$

0.001)。双 D5 组的早期流产率高于 D5 + D6 组和双 D6 组 ($P > 0.05$, $P < 0.05$)。D5 + D6 组的异位妊娠率低于双 D5 组和双 D6 组, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

3 讨论

在辅助生殖领域, 选择囊胚期移植已经成为一种常规方案。近年来, 已经有很多报道比较了不同冻融囊胚移植方案的临床结局, 比如 D5 囊胚的活产率高于 D6 囊胚^[2], 双 D5 囊胚移植与双 D6 囊胚相比可以获得更高的种植率与临床妊娠率^[3]。然而目前国内对 D5 + D6 冻融囊胚移植方案的相关报道十分罕见。李国臻等^[4]通过对 1 578 个复苏周期的分析发现 D5 + D6 组的临床种植率和妊娠率均高于双 D5 组和双 D6 组 ($P < 0.05$)。虽然表明 D5 + D6 囊胚移植是一种有效的方案, 但研究并未证实 D5 + D6 囊胚移植的安全性。本文通过比较玻璃化冻融后双 D5、D5 + D6 与双 D6 囊胚移植的临床结局, 证实了复苏周期中 D5 + D6 囊胚移植方案的有效性和安全性。

本研究显示双 D5 组与 D5 + D6 组的生化妊娠率和临床妊娠率均高于双 D6 组 ($P < 0.001$)。分析原因: 一方面是胚胎的质量, D5 囊胚的质量高于 D6 囊胚——D6 囊胚相对于 D5 发育速度较慢, 胚胎非整倍体率高, 开始出现纤维化现象^[5]; 另一方面是子宫内膜的情况——内膜的厚度、雌孕激素以及血流情况是影响胚胎种植的关键因素。如 Nazari et al^[6] 对薄型子宫内膜的患者注入自体富含血小板的血浆后, 与对照组相比, 生化妊娠率与临床妊娠率均增加^[6]。在本研究中, 为了尽量消除内膜的差异性导致数据的不可靠性, 已排除了薄型子宫、子宫内膜疾病以及反复种植失败的患者。但即使有高质量的胚胎和完整的内膜也不一定能种植成功, 只有当胚胎发育和子宫内膜同步时才能种植。这种同步性要求在种植窗开放且关闭前的一段时间内移植囊胚, 才能提高囊胚种植率。在本中心, 无论是 D5 还是

D6 囊胚移植日内膜均为内膜转化第 5 天, 因此 D5 囊胚的种植率更高。该研究结果虽然与李国臻等^[4]的研究结果不完全一致, 但同样可以表明 D5 + D6 囊胚移植是一种有效的方案。

尽管双 D5 组的生化妊娠率与临床妊娠率高于 D5 + D6 组, 但同时伴随着更高的多胎妊娠率。多胎妊娠率与囊胚的种植率有直接的关系, 种植率越高, 临床妊娠率越高, 多胎妊娠率就越高。世界上很多国家已经在提倡减少医源性造成的多胎妊娠, 使医疗资源分配合理化, 提高产妇和新生儿健康。医源性的多胎妊娠不仅对产妇的身体健康造成危害, 同时还存在早产儿、低体重儿以及子代残疾等潜在风险。此外, 选择性减胎术及术后流产、早产等并发症造成了医疗资源的浪费。因此, 单胚胎移植逐渐成为一种趋势, 然而对于高龄、患有内膜疾病以及反复种植失败的患者, 双囊胚移植仍然是首选方案。双囊胚移植可以获得较高的种植率和临床妊娠率, 避免了反复移植失败产生的心理负担及高昂的费用, 提高了囊胚利用率, 缩短了获得良好的妊娠结局的时间。在本研究中, D5 + D6 囊胚移植在获得较满意的临床妊娠率的前提下, 降低了多胎妊娠率。异位妊娠的发生与薄型子宫、内异症以及胚胎植入的数量、新鲜移植/冷冻移植有关^[7]。本研究已排除了上述因素的影响, 结果显示 D5 + D6 组的异位妊娠率低于双 D5 组和双 D6 组, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。早期流产率与身体的免疫状况、内膜的血运、内膜微环境、植入前胚胎的非整倍体率、GnRH 扳机当天的血 LH 水平等多种因素有关^[8~9]。本研究结果显示双 D5 组的早期流产率高于 D5 + D6 组与双 D6 组 ($P > 0.05$, $P < 0.05$)。早期流产率与囊胚发育天数的关系目前尚不清楚, 有待进一步研究。根据 Sunderam et al^[10] 的研究, 以上结果的分析可以表明 D5 + D6 囊胚移植是一种较安全的方法。

综上, 相比于双 D5 与双 D6 囊胚移植, D5 + D6 囊胚移植既可以得到满意的临床妊娠率, 又可以降

低多胎妊娠率,避免产科并发症的发生,因此可以作为一种新的移植方案应用于临床。此外,如何根据囊胚的级别、内膜的厚度、雌孕激素的水平及卵巢储备功能制定个体化的移植方案,提高辅助生殖助孕的结局,值得进一步的探讨与研究。

参考文献

- [1] Rienzi L ,Gracia C ,Maggiulli R ,et al. Oocyte ,embryo and blastocyst cryopreservation in ART: systematic review and meta-analysis comparing slow-freezing versus vitrification to produce evidence for the development of global guidance [J]. *Hum Reprod Update* ,2017 ,23(2) :139 - 55.
- [2] Bourdon M ,Pocate-Cheriet K ,Finet de Bantel A ,et al. Day 5 versus Day 6 blastocyst transfers: a systematic review and meta-analysis of clinical outcomes[J]. *Hum Reprod* ,2019 ,34(10) :1948 - 64.
- [3] 刘琳,李艳辉,丁晓芳等.冻融周期第5天、第6天和第7天囊胚移植结局分析[J].武汉大学学报(医学版),2014,35(6):876 - 80.
- [4] 李国臻,段新崇,杨志伟等.冻融周期中D5、D5加D6、D6期囊胚移植妊娠结局比较[J].中国计划生育和妇产科,2019,11(7):24 - 7.
- [5] 赵娟,李辉,覃亦伟等. MAD1、BUB3在非整倍体流产胚胎中的作用[J].临床和实验医学杂志,2017,16(4):343 - 6.
- [6] Nazari L ,Salehpour S ,Hoseini S ,et al. Effects of autologous platelet-rich plasma on endometrial expansion in patients undergoing frozen-thawed embryo transfer: A double-blind RCT[J]. *Int J Reprod BioMed* ,2019 ,17(6) :443 - 8.
- [7] Fang C ,Huang R ,Wei L N ,et al. Frozen-thawed day 5 blastocyst transfer is associated with a lower risk of ectopic pregnancy than day 3 transfer and fresh transfer[J]. *Fertil Steril* ,2015 ,103(3) :655 - 61. e3.
- [8] Sato T ,Sugiura-Ogasawara M ,Ozawa F ,et al. Preimplantation genetic testing for aneuploidy: a comparison of live birth rates in patients with recurrent pregnancy loss due to embryonic aneuploidy or recurrent implantation failure[J]. *Hum Reprod* ,2019 ,34(12) :2340 - 8.
- [9] Benmachiche A ,Benbouhedja S ,Zoghmar A ,et al. Low LH level on the day of GnRH agonist trigger is associated with reduced ongoing pregnancy and live birth rates and increased early miscarriage rates following IVF/ICSI treatment and fresh embryo transfer [J]. *Front Endocrinol(Lausanne)* ,2019 ,18(10) :639.
- [10] Sunderam S ,Kissin D M ,Crawford S B ,et al. Assisted reproductive technology surveillance—United States, 2014 [J]. *MMWR Surveill Summ* ,2017 ,66(6) :1 - 24.

Analysis of clinical outcomes of double blastocysts transfer with different development days in resuscitation cycles

Mu Yaoqin^{1 2 3 4 5}, Ding Ding^{1 2 3 4 5}, Wei Zhaolian^{1 2 3 4 5}, et al

(¹Reproductive Medicine Center, Dept of Obstetrics and Gynecology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022; ²NHC Key Laboratory of Study on Abnormal Gametes and Reproductive Tract, Anhui Medical University, Hefei 230032; ³Key Laboratory of Population Health Across Life Cycle, Anhui Medical University, Ministry of Education of the People's Republic China, Hefei 230032; ⁴Anhui Province Key Laboratory of Reproductive Health and Genetics, Hefei 230032; ⁵Biopreservation and Artificial Organs, Anhui Provincial Engineering Research Center, Anhui Medical University, Hefei 230032)

Abstract Objective To compare the clinical outcomes of double D5, D5 + D6 and double D6 blastocysts transfer, meanwhile, explore the effectiveness and safety of D5 + D6 blastocysts transfer protocol. **Methods** A retrospective analysis of 2 180 cycles of *in vitro* fertilization/intracytoplasmic sperm injection-embryo transfer(IVF/ICSI-ET) in reproductive medicine center of our hospital. All cycles were divided into three groups in accordance with the different development days of blastocysts: double D5 group(*n* = 1 201) , D5 + D6 group(*n* = 205) and double D6 group(*n* = 774) . **Results** The biochemical pregnancy rates, clinical pregnancy rates and multiple pregnancy rates in the D5 + D6 group were higher than those in the double D6 group(*P* < 0.001) , and lower than those in the double D5 group(*P* < 0.001) . Double D5 group had higher early pregnancy loss rate compared with D5 + D6 group and double D6 group(*P* > 0.05 , *P* < 0.05 , respectively) . The ectopic pregnancy rate in the D5 + D6 group was lower than that in the double D5 group and the double D6 group , but there was no significant difference(*P* > 0.05) . **Conclusion** D5 + D6 blastocysts transfer as a new protocol can obtain good clinical outcomes.

Key words double D5 blastocysts; D5 + D6 blastocysts; double D6 blastocysts; vitrified-warmed blastocyst transfer; clinical outcomes