

## 两种移植管下 D5、D6 囊胚行冻融移植后妊娠结局的比较

王 喆 邹微微 章志国 纪冬梅 曹云霞

**摘要** 目的 比较两种胚胎移植管对第 5 日(D5)囊胚及第 6 日(D6)囊胚冷冻后首次冻融周期胚胎移植患者妊娠结局的影响。方法 回顾性分析 1 032 例首次行冻融周期囊胚移植患者的临床资料,依据使用的移植管分成两组,Cook 组采用 COOK-K-JETS-551910-S 移植管(627 个周期),Wallace 组采用 Wallace-1816 移植管(405 个周期),按照移植胚胎的发育天数分为 Cook-D5 组(472 个周期)、Cook-D6 组(155 个周期)、Wallace-D5 组(304 个周期)、Wallace-D6 组(101 个周期),分析比较各组患者的一般情况、获卵数、受精数、2PN 数、囊胚形成率、生化妊娠率、临床妊娠率、胚胎种植率、异位妊娠率、单卵双胎率等。结果 Cook-D5 组与 Wallace-D5 组相比,Cook-D5 组的生化妊娠率、临床妊娠率、胚胎种植率均高于 Wallace-D5 组( $P < 0.05$ ),Cook-D6 组与 Wallace-D6 组相比,两组间的生化妊娠率、临床妊娠率、胚胎种植率差异均

无统计学意义;Cook-D5 组与 Cook-D6 组相比,Wallace-D5 组与 Wallace-D6 组相比,D5 组受精数、2PN 数、囊胚形成率、生化妊娠率、临床妊娠率均高于 D6 组( $P < 0.05$ )。结论 在同样首次移植 D5 优质冻融囊胚下,Cook 移植管的临床妊娠结局相比 Wallace 移植管更好。在同样首次移植优质冻融囊胚下,D5 囊胚相比 D6 囊胚可获得更好的妊娠结局。

**关键词** 冻融囊胚移植; 胚胎移植术; 第 5 日囊胚; 第 6 日囊胚; 妊娠结局

中图分类号 R711.6

文献标志码 A 文章编号 1000 - 1492(2019)01 - 0096 - 06  
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000 - 1492.2019.01.019

在辅助生殖过程中,影响妊娠结局的一个重要步骤是胚胎移植技术。随着囊胚培养以及囊胚玻璃化冻融技术在生殖医学领域中的广泛应用,目前新鲜周期移植取消率增加,全胚胎冷冻后的冻融胚胎移植比例明显增长<sup>[1]</sup>。已有研究<sup>[2]</sup>表明,全胚胎冷冻可以使卵巢过度刺激综合征高风险、内膜异常、孕激素过高及患有全身性疾病等不适合新鲜移植的患者将胚胎冷冻以后再移植。有研究<sup>[3]</sup>表明冻融胚

2018 - 08 - 31 接收

基金项目: 安徽省自然科学基金(编号: 1608085QH201)

作者单位: 安徽医科大学第一附属医院妇产科生殖医学中心,合肥 230022

作者简介: 王 喆,女,硕士研究生;

曹云霞,女,教授,主任医师,博士生导师,责任作者,E-mail: caoyunxia6@126.com

clinical characteristics of miR-133b relative expression were analyzed. hsa-miR-133b was transfected to Hep-2 cells and the transfection efficiency was detected through fluorescence microscopy. For overexpression of miR-133b group and NC group Hep-2 cells, cell proliferation, cell cycle and apoptosis, cell invasion were measured by MTT method, flow cell technology and Tanswell respectively. miR-133b target gene was verified by bioinformatics prediction and luciferase reporter gene experiment, and target gene GSTP1 gene protein expression was detected by Western blot. **Results** 5 up-regulated expression miRNAs and 8 down-regulated expression miRNAs in laryngeal carcinoma were obtained and miR-133b was selected for functional study. miR-133b expression significantly lowered about 4.1 times in laryngeal carcinoma tissue sample, and the expression of miR-133b levels negatively correlated with local tumor infiltration depth, lymph node metastasis, clinical stage and histological grade. Transfected hsa-miR-133b mimic to laryngeal carcinoma Hep-2 cells and the transfection efficiency was over 80%, overexpression miR-133b in Hep-2 cells was achieved. Overexpression of miR-133b can significantly inhibit the laryngeal carcinoma cell proliferation, affect cell cycle, promote cell apoptosis and inhibit cell migration. It was clear that miR-133b targeted with GSTP1, and overexpression of miR-133b can significantly reduce the expression of GSTP1 protein. **Conclusion** miR-133b can regulate laryngeal carcinoma Hep-2 cell proliferation, apoptosis, invasion behavior by targeted GSTP1, and hsa a certain clinical significance, which provide new ideas and theoretical basis of clinical diagnosis, prognosis and molecular targeted therapy of laryngeal carcinoma in the future.

**Key words** miR-133b; GSTP1; laryngeal cancer Hep-2 cells; proliferation; apoptosis; migration

胎移植后的临床妊娠结局相比于新鲜周期移植的妊娠结局更好。患者自身条件、胚胎发育天数与质量及移植技术等多方面因素是决定冻融囊胚是否可获得临床妊娠的关键因素。Kovalevsky et al<sup>[4]</sup>的研究认为第5日(D5)囊胚冻融移植后临床妊娠率、种植率和抱婴率显著高于第6日(D6)冻融囊胚,但Hiraoka et al<sup>[5]</sup>研究表明D5和D6囊胚冻融移植的临床结局并无明显差异。胚胎移植技术中包含很多影响因素,包括移植管类型、移植管血染程度、胚胎装载入移植管的方式等均会影响妊娠结局。所以辅助生殖助孕中的冻融囊胚移植需要大样本统计分析并建立标准化操作流程来最大程度的帮助患者提高临床妊娠结局。本研究回顾性的分析了行体外受精(*in vitro* fertilisation, IVF)或卵胞浆内单精子显微注射(*intracytoplasmic sperm injection*, ICSI)治疗后首次解冻移植的患者共1032例,比较Cook移植管与Wallace移植管、D5冻融囊胚与D6冻融囊胚对妊娠结局的影响。

## 1 材料与方法

**1.1 病例资料** 收集2016年8月~2017年8月在安徽医科大学第一附属医院生殖医学中心首次接受冻融囊胚移植助孕治疗的不孕症患者为研究对象。纳入标准:①年龄<40岁;②首次进行解冻移植的D5或D6囊胚;③不孕原因为盆腔输卵管因素或男方因素;排除标准:①遗传性及家族性病史;②有习惯性流产史、不良妊娠史;③子宫生殖道畸形;④疤痕子宫(剖宫产、子宫肌瘤挖除史);⑤卵巢功能减退、子宫内膜异位症。本研究为病例对照研究,获得安徽医科大学第一附属医院伦理委员会批准。

**1.2 囊胚培养** 患者采用的促排卵方案包括长方案、短方案、拮抗剂方案、微刺激方案等。绒毛膜促性腺激素(hCG)注射后34~36h取卵,所获卵母细胞置于受精培养液中,男方手淫法或穿刺法取精,精液采用梯度离心法或上游法处理。取卵后3h行体外受精或者卵胞浆内单精子显微注射。授精后4~6h拆除颗粒细胞观察是否排出第二极体,再将受精卵移至卵裂期培养液,37℃培养箱中培养。授精后16~20h观察原核形成情况,挑出多PN受精及受精异常胚胎,其余继续培养48h,观察第3日胚胎,评估卵裂期胚胎质量,后将胚胎移入囊胚期培养液,继续培养至D5或D6囊胚。采用Gardner囊胚

评分法对囊胚进行评分,将D5评分 $\geq$ 3AA、3AB、3BA、3BB或者D6评分 $\geq$ 4AA、4AB、4BA、4BB的囊胚定为优质囊胚。

**1.3 囊胚的玻璃化冷冻-解冻** 囊胚冷冻流程:①采用Hamilton软件进行激光打孔,打孔时避开囊胚内细胞团;②打孔后囊液流出约5min后囊胚皱缩;③室温下将囊胚移入平衡液中5min;④囊胚转移至玻璃化冷冻液中不超过60s;⑤将囊胚放在在已标记的冷冻载杆上并迅速浸入液氮中保存。囊胚解冻流程:①将冷冻载杆浸入解冻液中不超过60s;②迅速将胚胎移至稀释液和洗涤液1、2中各3min;③最后将胚胎转移至囊胚培养液中,并置于平板培养箱内37℃培养;④复苏2h后观察囊胚的存活情况。

**1.4 囊胚移植** 本中心冻融周期首次解冻移植优先选择优质囊胚。

**1.4.1 移植前子宫内膜准备** 囊胚移植的内膜准备分为自然周期和人工周期。采用自然周期的患者通过经阴道超声监测卵泡大小、内膜厚度和形态,通常于排卵日开始口服地屈孕酮(10mg、Bid),排卵后D5解冻移植D5或D6囊胚。采用人工周期的患者自月经第3日起口服戊酸雌二醇,12日后经阴道超声监测子宫内膜厚度,医师可根据内膜厚度调整用药剂量,待内膜厚度 $\geq$ 8mm时,黄体酮60mg/d肌注5d后解冻D5或D6囊胚并移植。

**1.4.2 移植管选择** Cook组采用美国Cook移植管(型号:K-JETS-551910-s),由导引导管和转移导管组成:导引导管长17.3cm,直径约1.81mm,白色,头部成球颈型,头端预弯有25°倾角,宫颈塞设在离头端4cm处,在离头端5cm处另设有一个活塞;移植导管长24cm,后端有金属支撑管支撑,前端为8cm长的聚乙烯管,外径约0.93mm,内径约0.47mm,底部有间隔1cm的4个刻度。在导引导管进入宫腔困难时,可加用支撑芯辅助导引导管穿越宫颈。Wallace组采用英国Wallace移植管(型号:1816),长18cm,由两部分组成:外导管为聚丙烯管,直径约2.24mm,外导管内常规含有内芯,内导管为聚氨酯管,直径约1.65mm。

**1.4.3 冻融囊胚移植方法** 在实施胚胎移植前嘱患者憋尿,取截石位。行经腹部B超确定子宫位置、宫体与宫颈的角度、宫颈管长度及宫腔深度。插导引导管前去除宫颈粘液,用含囊胚培养液的棉签清洗宫颈内口。两组装载胚胎的方法相同,待移植

表1 Cook 组与 Wallace 组的一般资料比较( $\bar{x} \pm s$ )

项目	Cook 组( n = 627)		Wallace 组( n = 405)		F 值	P 值
	D5 组( n = 472)	D6 组( n = 155)	D5 组( n = 304)	D6 组( n = 101)		
年龄( 岁)	29.31 ± 3.98	30.86 ± 4.55	29.53 ± 4.13	30.49 ± 4.99	3.089	0.791
BMI( kg/m <sup>2</sup> )	22.29 ± 2.96	22.21 ± 2.87	22.51 ± 3.72	21.95 ± 2.64	0.639	0.617
基础 FSH( IU/L)	6.97 ± 1.96	7.01 ± 2.24	7.13 ± 2.39	7.20 ± 2.70	4.320	0.108
基础 LH( IU/L)	6.06 ± 4.70	5.96 ± 3.92	5.81 ± 3.43	5.76 ± 3.58	3.386	0.159
基础 E2( pmol/L)	132.62 ± 81.13	137.76 ± 86.05	135.85 ± 88.68	139.91 ± 74.43	3.302	0.804

医师提示可以装载胚胎时开始装载,移植管末端连接 1 ml 注射器,用囊胚培养液冲洗移植管,先抽吸约 1 cm 空气,其次是约 2 cm 含胚移植液,最后是约 1 cm 空气。装载完毕后将移植管递给助手辅助医师进行移植。Cook 组移植流程:手术医师将导引导管由宫颈内口进入宫腔,如果由宫颈口进入宫腔困难,可在导引导管内插入支撑芯辅助穿越宫颈,然后将支撑芯抽出,由助手协助将装载胚胎的转移导管插入宫腔,缓慢推注完全后留管 40 s,取出转移导管及导引导管,送培养室检查有无胚胎残留。Wallace 组移植流程:将外导管由宫颈内口轻插入宫腔,插入外导管成功后,抽出内芯,由助手协助插入装载有胚胎的内导管,将胚胎缓慢注入宫腔后,留管 40 s,将移植内、外管一起抽出,送培养室检查有无胚胎残留。

**1.5 胚胎移植后处理及妊娠结局判断** 患者平卧休息 40 min 后离院,医生指导下继续予以黄体支持治疗。生化妊娠:移植后 14 d 测血 hCG 阳性;临床妊娠:移植后 30 d 行阴道 B 超检查宫腔内孕囊数目及有无心管搏动。临床妊娠率 = 临床妊娠周期数 / 移植囊胚周期数 × 100%; 胚胎种植率 = B 超下检测到孕囊数 / 移植囊胚数 × 100%; 异位妊娠率 = 异位妊娠周期数 / 临床妊娠周期数 × 100%; 单卵双胎率 = 单卵双胎妊娠周期数 / 临床妊娠周期数 × 100%。

**1.6 统计学处理** 采用 SPSS 16.0 统计软件对数据进行分析,正态分布计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用独立样本 t 检验,多组间比较采用 F 检验;计数资料采用 % 表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 患者基本情况分析** 共有 1 032 个周期符合本研究纳入标准,Cook 组共 627 个周期,其中 D5 组 472 个周期,D6 组 155 个周期;Wallace 组共 405 个周期,其中 D5 组 304 个周期,D6 组 101 个周期。各

组患者的年龄、体质指数(BMI)、基础卵泡刺激素(FSH)值、基础黄体生成素(LH)值、基础雌二醇(E2)等一般情况比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ) 组间有可比性。见表 1。

**2.2 不同移植管对妊娠结局的影响** Cook 组与 Wallace 组、Cook-D5 组与 Wallace-D5 组、Cook-D6 组与 Wallace-D6 组各组间的获卵数、受精数、2PN 数、囊胚形成率、移植胚胎数、移植日内膜厚度差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ) ,Cook 组的生化妊娠率、临床妊娠率、胚胎种植率均高于 Wallace 组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ) ,两者的异位妊娠率与单卵双胎率差异无统计学意义( $P > 0.05$ ) ,见表 2;在同样移植 D5 冻融囊胚的情况下,Cook-D5 组的生化妊娠率、临床妊娠率、胚胎种植率均高于 Wallace-D5 组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ) ,Cook-D5 组(2.24%)的单卵双胎率虽明显高于 Wallace-D5 组(0.49%) ,但单卵双胎率差异无统计学意义( $P > 0.05$ ) ,见表 3;在同样移植 D6 冻融囊胚的情况下,Cook-D6 组与 Wallace-D6 组的生化妊娠率、临床妊娠率、胚胎种植率差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ) ,见表 4。

**2.3 D5 冻融囊胚和 D6 冻融囊胚的实验室及妊娠**

表2 Cook 组与 Wallace 组的囊胚形成与妊娠结局比较( $\bar{x} \pm s$ )

项目	Cook 组( n = 627)	Wallace 组( n = 405)	t/ $\chi^2$ 值	P 值
取卵周期获卵数	15.24 ± 8.24	15.06 ± 8.39	0.340	0.734
取卵周期受精数	11.31 ± 6.30	10.99 ± 6.22	0.788	0.431
取卵周期 2PN 数	9.29 ± 6.26	9.08 ± 6.20	0.527	0.598
取卵周期囊胚形成率(%)	54.78(3 884/7 090)	53.95(2 402/4 452)	0.756	0.385
冻融周期移植胚胎数	1.78 ± 0.42	1.76 ± 0.45	0.814	0.416
冻融周期移植日内膜厚度( mm)	10.78 ± 1.67	10.67 ± 1.70	1.006	0.315
生化妊娠率(%)	71.29(447/627)	63.95(259/405)	6.136	0.013
临床妊娠率(%)	69.38(435/627)	62.96(255/405)	4.570	0.033
胚胎种植率(%)	56.32(628/1 115)	49.23(350/711)	8.790	0.003
异位妊娠率(%)	0.23(1/435)	0.78(2/255)	0.220	0.639
单卵双胎率(%)	1.84(8/435)	0.78(2/256)	0.631	0.427

表3 Cook-D5组与Wallace-D5组的囊胚形成与妊娠结局比较( $\bar{x} \pm s$ )

项目	Cook-D5组 (n=472)	Wallace-D5组 (n=304)	t/ $\chi^2$ 值	P值
取卵周期获卵数	16.28 ± 8.29	15.66 ± 8.45	1.010	0.313
取卵周期受精数	12.34 ± 6.34	11.64 ± 6.21	1.502	0.134
取卵周期2PN数	10.23 ± 6.30	9.68 ± 6.46	1.175	0.240
取卵周期囊胚形成率(%)	57.73(3362/5824)	57.37(2031/3540)	0.113	0.737
冻融周期移植胚胎数	1.78 ± 0.41	1.75 ± 0.44	0.844	0.399
冻融周期移植日内膜厚度(mm)	10.75 ± 1.65	10.69 ± 1.77	0.477	0.634
生化妊娠率(%)	77.33(365/472)	69.08(210/304)	6.560	0.010
胚胎种植率(%)	75.64(357/472)	67.76(206/304)	5.754	0.016
临床妊娠率(%)	62.74(527/840)	55.53(296/533)	7.047	0.008
异位妊娠率(%)	0.28(1/357)	0.97(2/206)	0.234	0.629
单卵双胎率(%)	2.24(8/357)	0.49(1/206)	1.565	0.211

表4 Cook-D6组与Wallace-D6组的囊胚形成与妊娠结局比较( $\bar{x} \pm s$ )

项目	Cook-D6组 (n=155)	Wallace-D6组 (n=101)	t/ $\chi^2$ 值	P值
取卵周期获卵数	12.06 ± 7.24	13.25 ± 7.99	1.226	0.221
取卵周期受精数	8.17 ± 5.07	9.03 ± 5.87	1.248	0.213
取卵周期2PN数	6.42 ± 5.17	7.27 ± 4.94	1.305	0.193
取卵周期囊胚形成率(%)	41.23(522/1266)	40.68(371/912)	0.667	0.796
冻融周期移植胚胎数	1.77 ± 0.42	1.76 ± 0.49	0.205	0.837
冻融周期移植日内膜厚度(mm)	10.86 ± 1.74	10.61 ± 1.47	1.213	0.226
生化妊娠率(%)	52.90(82/155)	48.51(49/101)	0.471	0.492
临床妊娠率(%)	50.32(78/155)	48.51(49/101)	0.080	0.777
胚胎种植率(%)	36.73(101/275)	30.34(54/178)	1.960	0.161
异位妊娠率(%)	(0/78)	(0/49)	-	-
单卵双胎率(%)	(0/78)	(1/49)	-	-

表5 Cook-D5组与Cook-D6组的囊胚形成与妊娠结局比较( $\bar{x} \pm s$ )

项目	Cook-D5组 (n=472)	Cook-D6组 (n=155)	t/ $\chi^2$ 值	P值
取卵周期获卵数	16.28 ± 8.29	12.06 ± 7.24	5.661	0.000
取卵周期受精数	12.34 ± 6.34	8.17 ± 5.07	8.327	0.000
取卵周期2PN数	10.23 ± 6.30	6.42 ± 5.17	7.525	0.000
取卵周期囊胚形成率(%)	57.73(3362/5824)	41.23(522/1266)	114.218	0.000
冻融周期移植胚胎数	1.78 ± 0.41	1.77 ± 0.42	0.142	0.887
冻融周期移植日内膜厚度(mm)	10.75 ± 1.65	10.86 ± 1.74	0.708	0.479
生化妊娠率(%)	77.33(365/472)	52.90(82/155)	34.018	0.000
临床妊娠率(%)	75.64(357/472)	50.32(78/155)	35.192	0.000
胚胎种植率(%)	62.74(527/840)	36.73(101/275)	56.978	0.000
异位妊娠率(%)	0.28(1/357)	(0/78)	-	-
单卵双胎率(%)	2.24(8/357)	(0/78)	0.756	0.385

表6 Wallace-D5组与Wallace-D6组的囊胚形成与妊娠结局比较( $\bar{x} \pm s$ )

项目	Wallace-D5组 (n=304)	Wallace-D6组 (n=101)	t/ $\chi^2$ 值	P值
取卵周期获卵数	15.66 ± 8.45	13.25 ± 7.99	2.520	0.012
取卵周期受精数	11.64 ± 6.21	9.03 ± 5.87	3.716	0.000
取卵周期2PN数	9.68 ± 6.46	7.27 ± 4.94	3.921	0.000
取卵周期囊胚形成率(%)	(2031/3540)	(371/912)	81.339	0.000
冻融周期移植胚胎数	1.75 ± 0.44	1.76 ± 0.49	0.175	0.862
冻融周期移植日内膜厚度(mm)	10.69 ± 1.77	10.61 ± 1.47	0.436	0.663
生化妊娠率(%)	69.08(210/304)	48.51(49/101)	13.906	0.000
临床妊娠率(%)	67.76(206/304)	48.51(49/101)	12.045	0.001
胚胎种植率(%)	55.53(296/533)	30.34(54/178)	33.897	0.000
异位妊娠率(%)	0.97(2/206)	(0/49)	/	/
单卵双胎率(%)	0.49(1/206)	2.04(1/49)	0.043	0.835

结局比较 无论使用 Cook 移植管或者 Wallace 移植管 ,Cook-D5 组、Wallace-D5 组的获卵数、受精数、2PN 数、囊胚形成率、生化妊娠率、临床妊娠率、胚胎种植率均分别高于 Cook-D6 组、Wallace-D6 组 ,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 5、表 6。

### 3 讨论

近年来研究表明冻融移植周期在辅助生殖技术中应用越来越广泛 ,可获得与新鲜移植周期相当甚至更好的妊娠结局。在冻融移植周期中 ,内膜准备方案、子宫内膜厚度、胚胎发育天数及质量、胚胎移植管的选择、胚胎装载技术、是否使用超声引导、移植难易程度、不同医师的熟练程度等多种因素均会影响胚胎是否移植成功。关于移植管是否会影响到妊娠结局目前尚无定论<sup>[6-7]</sup>。有研究<sup>[8]</sup>表明 D5 新鲜囊胚移植的妊娠率和种植率高于 D6 新鲜囊胚移

植 ,但冻融囊胚移植周期中由于冷冻及复苏的影响 ,不同发育天数囊胚移植的选择目前仍存在争议。因此在冻融囊胚移植周期中 ,移植管的选择和囊胚发育天数的选择是目前临床上急待需要解决的问题。

3.1 胚胎移植管的选择 目前临床上的胚胎移植管主要分为软移植管和硬移植管 ,而已有较多研究证实软移植管比硬移植管的妊娠结局更优。但是不同软管间哪种移植管更好 ,目前的研究大部分为小样本对新鲜胚胎的研究 ,且并无统一结论。Cook 移植管和 Wallace 移植管是目前生殖中心最常使用的两种移植管 ,而关于哪种移植管更好目前尚无统一意见。Saldeen et al<sup>[9]</sup>的一项前瞻性研究比较 202 名患者使用 Cook Sydney IVF( K-JETS-7019-SIVF) 移植管与 198 名患者使用 Edward-Wallace 移植管 ,发现两者的临床妊娠率与活产率差异无统计学意义。Rhodes et al<sup>[10]</sup>研究表明 Cook World 移植管相比

Edward-Wallace 移植管 ,临床妊娠率高 5% ,但两者差异无统计学意义。

本研究共纳入 1 032 例解冻移植周期 ,比较两种软移植管对妊娠结局的影响。两组患者在平均年龄、基础性激素、取卵周期获卵数、受精数、2PN 数、囊胚形成率、移植胚胎评价和内膜厚度等基本参数上具有可比性 ,分析了移植管这一因素对妊娠结局的影响 ,结果表明 Cook 移植管可将首次冻融周期的临床妊娠率与胚胎种植率提高将近 7% ,尤其对于移植 D5 冻融囊胚 Cook 移植管相比于 Wallace 移植管的优势更显著 ,临床妊娠率提高将近 8% ,可以显著改善妊娠结局 ,而移植 D6 冻融囊胚虽 Cook 移植管妊娠结局更好 ,但两者差异无统计学意义 ,该结果对临床有指导意义。Cook 移植管获得了较好的临床结局可能和以下因素有关: 一是为了方便手术医师更准确快速的将移植管置管入宫腔 ,Cook 移植管在设计时考虑到女性宫体与宫颈的生理弯曲度 ,将导引导管前端预先保留 25° 倾角; 宫颈塞的刻度设在离头端 4 cm 处且前端头部圆钝 ,确保导引导管进入宫颈内口后立即停止 ,尽可能减少导引导管进入宫腔的深度 ,避免导引导管对宫腔的损伤。二是移植导管内径更细 ,仅为 1.4Fr( 约 0.47 mm) ,且柔软 ,可避免造成宫内出血以及内膜损伤 ,但同时是否因内径过细造成单卵双胎率增加仍需增大样本量进一步探究; 装载胚胎的液体量有可能影响妊娠结局 ,在装载胚胎时管径越细 ,所需的含胚液体量越少 ,虽同样装载约 2 cm 含胚液体 ,Cook 移植导管所用的液体量较 Wallace 内管少 ,且 Wallace 移植管没有刻度 ,无法精确把握移植管的空气与液体量; 三是 Cook 导引导管无内芯 ,相对于有内芯的 Wallace 导管更加柔软 ,且置管后不用拔出内芯可避免对宫腔产生抽吸作用导致子宫内膜损伤。四是相对于 Wallace 移植管内管与外管之间空隙较大 ,Cook 导引导管与移植导管之间贴合更为紧密 ,降低了胚胎滞留于移植管内的概率。而移植 D6 囊胚 Cook 移植管相比 Wallace 移植管优势不明显 ,其原因可能是: D6 囊胚较 D5 囊胚囊胚腔扩张更大且可能已孵出 ,在冻融过程中对胚胎质量影响更大; Wallace 移植管较 Cook 移植管管径大 ,若囊胚已孵出 ,则在囊胚被装入移植管的过程中 ,孵出囊胚在管径较大的移植管内其形态保持更完好 ,受到的摩擦力更小 ,其内细胞团所受的影响也越小。

3.2 冻融移植囊胚的选择 已有研究<sup>[11]</sup> 表明囊胚发育天数、冻融囊胚质量以及移植数目显著影响冻

融囊胚的妊娠结局。谭巧等<sup>[12]</sup> 回顾性的分析了 1 539 例 D5 与 D6 冻融囊胚移植妊娠结局 ,结果显示对于 35 周岁以下的女性 ,移植 D5 或者 D6 优质囊胚其临床妊娠结局无统计学差异 ,而在无优质冻融囊胚移植情况下 ,移植 D5 非优质冻融囊胚可获得较好的妊娠结局。本研究结果显示 ,D5 冻融囊胚组获卵数、2PN 数、受精数、囊胚形成率、生化妊娠率、临床妊娠率和胚胎种植率均高于 D6 冻融囊胚组。可能原因如下: D6 囊胚较 D5 囊胚囊胚腔扩张更大 ,行玻璃化冷冻操作后可能对囊胚质量影响更大; 随着培养时间的延长 ,培养环境及培养液的改变可能导致胚胎质量变差; D6 囊胚发育较 D5 囊胚相对迟缓 ,D5 囊胚较 D6 囊胚 DNA 损伤可能更少; 还有研究<sup>[13]</sup> 显示胞质内线粒体含量明显影响胚胎发育潜能 ,D5 囊胚线粒体含量可能高于 D6; D6 冻融囊胚移植与子宫内膜准备不同步也可能影响妊娠结局。

综上所述 ,在移植 D5 优质冻融囊胚时 ,优先选择 Cook-K-JETS-551910-S 移植管较 Wallace-4816 移植管进行移植可获得更好的临床妊娠率和胚胎种植率; 在 D5 与 D6 同是优质囊胚的情况下 ,优先选择 D5 囊胚进行移植可获得更好的临床妊娠率与胚胎种植率。胚胎移植过程中选择适合患者的移植管可直接影响手术操作及妊娠结局。应尽量选择软质、管径较细、符合生理构造、顺滑和对子宫内膜损伤最小的胚胎移植管 ,以减少困难移植发生率 ,减轻患者焦虑情绪 ,提高临床妊娠结局。本研究为回顾性数据分析 ,仅纳入了本中心常使用的两种类型移植管 ,对于应该选择何种移植管以期获得最大的临床妊娠率 ,仍需要进行多中心的、纳入更多移植管类型的前瞻性研究。

### 参考文献

- [1] Corbett S ,Shmorgun D ,Claman P ,et al. The prevention of ovarian hyperstimulation syndrome[J]. *J Obstet Gynaecol Can* 2014 , 36( 11) : 1024 - 36.
- [2] 杨美琼 ,马文敏 ,罗国群 ,等. 全胚冷冻患者行解冻胚胎移植结局分析[J]. *广东医学* ,2013 ,34( 12) : 1865 - 7.
- [3] Roque M ,Lattes K ,Serra S ,et al. Fresh embryo transfer versus frozen embryo transfer in in vitro fertilization cycles: a systematic review and meta-analysis[J]. *Fertil Steril* 2013 ,99( 1) : 156-62.
- [4] Kovalevsky G ,Carney S M ,Morrison L S ,et al. Should embryos developing to blastocysts on day 7 be cryopreserved and transferred: an analysis of pregnancy and implantation rates[J]. *Fertil Steril* , 2013 ,100( 4) : 1008 - 12.
- [5] Hiraoka K ,Hiraoka K ,Miyazaki M ,et al. Perinatal outcomes following transfer of human blastocysts vitrified at day 5 , 6 and 7

- [J]. *J Exp Clin Assist Reprod* 2009 6: 4.
- [6] Allahbadia G N , Kadam K , Gandhi G , et al. Embryo transfer using the SureView catheter-beacon in the womb [J]. *FertilSteril* 2010 , 93( 2) : 344 – 50.
- [7] Buckett W M. A review and meta-analysis of prospective trials comparing different catheters used for embryo transfer [J]. *Fertil Steril* 2006 85( 3) : 728 – 34.
- [8] Maheshwari A , Griffiths S , Bhattacharya S. Global variations in the uptake of single embryo transfer [J]. *Hum Reprod Update* , 2011 , 17( 1) : 107 – 20.
- [9] Saldeen P , Abou-Setta A , Bergh T , et al. A prospective randomized controlled trial comparing two embryo transfer catheters in an ART program [J]. *Fertil Steril* , 2008 90( 3) : 599 – 603.
- [10] Rhodes T L , Higdon H L 3rd , Boone W R. Comparison of pregnancy rates for two embryo-transfer catheters [J]. *Fertil Steril* , 2007 87( 2) : 411 – 6.
- [11] Oron G , Son W Y , Buckett W , et al. The association between embryo quality and perinatal outcome of singletons born after single embryo transfers: a pilot study [J]. *Hum Reprod* 2014 29( 7) : 1444 – 51.
- [12] 谭巧 , 莫美兰 , 胡晓东 , 等. 35 周岁以下女性移植不同等级及不同发育速度冻融囊胚的临床结局 [J]. *生殖医学杂志* 2017 , 26( 8) : 759 – 65.
- [13] Murakoshi Y , Sueoka K , Takahashi K , et al. Embryo developmental capability and pregnancy outcome are related to the mitochondrial DNA copy number and ooplasmic volume [J]. *J Assist Reprod Genet* 2013 30( 10) : 1367 – 75.

## Comparison of pregnancy outcome after D5 and D6 blastocyst under freeze-thawing in two kinds of embryo transfer catheter

Wang Zhe Zou Weiwei Zhang Zhiguo , et al

( *Reproductive Medicine Center , Dept of Obstetrics and Gynecology , The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University , Hefei 230022* )

**Abstract Objective** To compare the pregnancy outcomes about D5 and D6 blastocyst under first freeze – thawing circles in two kinds of embryo transfer catheter. **Methods** 1 032 cycles of first freeze-thawing were analysed retrospectively. According to the embryo transfer catheter , the patients were divided into two groups: Cook group used COOK-K-JETS-551910-S embryo transfer catheter ( 627 cycles) , Wallace group used Wallace-1816 embryo transfer catheter ( 405 cycles) . According to the development of transplanted embryos , the patients were divided into four groups: Cook-D5 group ( 472 cycles) , Cook-D6 group ( 155 cycles) , Wallace-D5 group ( 304 cycles) , Wallace-D6 group ( 101 cycles) . The general situation of each group , the number of retrieved oocytes , the number of fertilized oocytes , the number of 2PN , blastocyst formation rate , biochemical pregnancy rate , clinical pregnancy rate , implantation rate , ectopic pregnancy rate , monozygotic twins rate were analysed. **Results** Compared with Cook-D5 group and Wallace-D5 group , Cook-D5 group had higher biochemical pregnancy rate , clinical pregnancy rate and implantation rate (  $P < 0.05$  ) . There was no significant difference in biochemical pregnancy rate , clinical pregnancy rate and implantation rate between Cook-D6 group and Wallace-D6 group; Compared with Cook-D5 group and Cook-D6 group , Wallace-D5 group and Wallace-D6 group , D5 group had higher number of fertilized oocytes , number of 2PN , blastocyst formation rate , biochemical pregnancy rate , clinical pregnancy rate and implantation rate (  $P < 0.05$  ) . **Conclusion** In first frozen – thawed D5 blastocyst transfer cycle , pregnancy outcomes in Cook embryo transfer catheter were better than Wallace embryo transfer catheter. D5 blastocyst transfer were better than D6 blastocyst transfer in frozen – thawed transfer cycle.

**Key words** frozen-thawed blastocyst transfer; catheterization; day 5 blastocyst; day 6 blastocyst; pregnancy outcome