

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2018.21.026

冻融卵裂期胚胎当日解冻与提前解冻移植对临床妊娠结局的影响

李维娟, 李彦奇, 张 坤

(新疆佳音医院 IVF 胚胎实验室, 乌鲁木齐 830001)

摘 要:目的 探讨解冻移植周期中卵裂期胚胎当天解冻移植和提前解冻过夜培养后移植对临床妊娠结局的影响。**方法** 回顾性分析 2017 年 1—4 月在该院生殖中心接受冻融卵裂期胚胎移植治疗的 277 例患者, 即 277 个冻融卵裂期胚胎移植周期。根据解冻后胚胎培养时间分为当日解冻组(A 组 162 个周期)和提前解冻组(B 组 115 个周期); 根据患者的年龄, A 组 B 组分别分成 3 组, 即 A1、B1: 年龄 <30 岁, A2、B2: 年龄 30~<35 岁和 A3、B3: 年龄 ≥35 岁, 比较各组间的移植结局。**结果** A 组与 B 组临床妊娠率分别为 38.27%、43.48%, 着床率分别为 24.68%、26.98%, 差异无统计学意义($P>0.05$)。A3、B3 分别与 A1、B1、A2、B2 相比, 其临床妊娠率和着床率均明显降低, 差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 冻融卵裂期胚胎提前解冻培养后再进行移植并不能改善妊娠结局, 但随着女性年龄的增高, 临床妊娠率和着床率均会随之下降。

关键词:冻融卵裂期胚胎; 复苏; 妊娠率; 着床率

中图法分类号: R711.6

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2018)21-3250-03

Comparison of early thawing of frozen - thawed embryo embryo and thawed transplantation

LI Weijuan, LI Yanqi, ZHANG Kun

(Department of IVF Embryo Laboratory, Jiayin Hospital of Xinjiang, Urumqi, Xinjiang 830001, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of thawed embryos on the day of thawing and thawed overnight thawed embryos on the clinical outcome. **Methods** A retrospective analysis was performed of 277 patients undergoing freeze-thaw cleavage-phase embryo transfer (277 freeze-thaw cleavage-phase embryo transfer cycles) from January to April 2017 in reproductive center of Jiayin Hospital of Xinjiang. According to the time of thawing, the embryos were divided into the thawed group (group A, 162 cases) and the thawed in advance group (115 cases, group B). According to the age of the patients, group A and group B were divided into three groups, namely A1, B1 with the age <30 years old, A2, B2 with the age 30—<35 years old and A3, B3 with the age ≥35 years old, compared transplanting outcomes between these groups. **Results** The clinical pregnancy rates in group A and B were 38.27%, 43.48%, the implantation rates were 24.68% and 26.98% respectively, there were no statistical differences ($P>0.05$). The clinical pregnancy rates in group A3 and B3 were significant lower than those in group A1, B1, A2, B2 ($P<0.05$). **Conclusion** The transplantation of frozen and thawed embryos before thawing in advance does not improve pregnancy outcomes. However, as the age of women increases, both the clinical pregnancy rate and the implantation rate will decrease.

Key words: cryopreservation embryo; recovery; pregnancy rate; implantation rate

冻融胚胎移植(FET)是将胚胎置于超低温的液氮(−196℃)中冷冻保存,并在适宜时间解冻胚胎,进行分期、分批、可多次移植的一项技术,胚胎冷冻-解冻的过程称之为“冻融”。1983 年世界上首例冻融胚胎成功妊娠,1985 年世界首例由 FET 获得的健康婴儿诞生。目前 FET 技术已广泛应用于临床,并成为辅助生殖技术中不可缺少的一部分。有研究表明,该技术不仅可以减少卵巢过度刺激综合征,使患者可以选择在更适合的时期进行移植,降低多胎妊娠率、促排卵次数及患者费用,还可减轻患者的身心压力和提高体外受精(IVF)的累积妊娠率^[1-2]。对于延长冻融胚胎复苏后体外培养时间是否有助于改善妊娠结局尚有

争议^[3]。本研究通过对解冻移植周期中卵裂期胚胎当天解冻移植和提前解冻过夜培养后移植的临床妊娠结局进行回顾性分析,探讨解冻移植周期中卵裂期胚胎当天解冻移植和提前解冻过夜培养后移植对 IVF 结局的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性分析 2017 年 1—4 月在本院生殖中心接受冻融卵裂期胚胎移植治疗的 277 例患者,即 277 个冻融卵裂期胚胎移植周期,均为玻璃化冷冻。本研究中卵裂期胚胎 FET 周期移植胚胎数 ≥1 个,接受移植患者年龄 22~49 岁,平均(32.63±5.56)岁。纳入标准:(1)子宫正常,既往无子宫手术

史;(2)均为不超过 3 次的 IVF 移植周期。排除标准:(1)程序化冷冻胚胎移植周期;(2)囊胚移植周期;(3)解冻后继续培养成囊胚再移植周期。根据解冻后胚胎培养时间的不同分为当日解冻组(A 组)和提前解冻组(B 组)。其中移植当日解冻胚胎 162 个周期(A 组),接受移植患者平均年龄(32.27 ± 4.02)岁,平均解冻胚胎数(1.91 ± 0.59)个;提前解冻 115 个周期(B 组),接受移植患者平均年龄(30.11 ± 3.43)岁,平均解冻胚胎数(1.92 ± 0.50)个,2 组一般情况比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。根据患者的年龄,可将 A 组和 B 组分别分成 3 组,即 A1、B1:年龄 <30 岁;A2、B2:年龄 $30 \sim <35$ 岁;A3、B3:年龄 ≥ 35 岁。

1.2 方法

1.2.1 胚胎冷冻-复苏 依照本院常规的促排卵方案,在 IVF 后第 3 天进行胚胎冷冻。本院胚胎冷冻标准:(1)第 3 天细胞数 ≥ 7 个细胞,卵裂球大小均匀,无空泡,碎片 $\leq 10\%$;(2)第 3 天细胞数 ≥ 4 个细胞,碎片 $\leq 10\%$,且与第 2 天相比卵裂球数目有所增加。采用玻璃化冻融法对胚胎进行冷冻和复苏。胚胎复苏后,观察胚胎的透明带和卵胞浆,选择复苏后卵裂球 $\geq 50\%$ 的胚胎进行移植。

1.2.2 复苏的胚胎分组 A 组当日解冻,即在移植当天进行胚胎复苏,体外培养 1~3 h 后进行移植。B 组提前解冻,在移植的前一天下午进行胚胎复苏,体外培养 18~20 h 后进行移植。

1.2.3 内膜准备 采用人工周期,于月经第 3 天口服戊酸雌二醇 2~6 mg/d,B 超显示子宫内膜厚度为 8~15 mm 时,加用黄体酮 40 mg/d 肌肉注射和黄体酮软胶囊(安琪坦),第 3 天或第 2 天下午解冻胚胎。胚胎移植均在 B 超引导下进行,移植后给予常规黄体支持。

1.2.4 临床妊娠标准 胚胎移植后 14 d,尿人绒毛膜促性腺激素(HCG)阳性,血 HCG ≥ 25 mIU/mL,可定为生化妊娠。胚胎移植三周后行 B 超可见孕囊,判断为临床妊娠。临床妊娠率=临床妊娠周期数/移植周期数 $\times 100\%$,胚胎着床率=着床胚胎数/移植胚胎数 $\times 100\%$ 。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理及统计学分析。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 当日解冻和提前解冻移植结局比较 A 组与 B 组的临床妊娠率分别为 38.27%、43.48%,着床率分别为 24.68%、26.98%,2 组之间差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 年龄与 FET 结局的关系 A3、B3 分别与 A1、B1,A2、B2 相比,其临床妊娠率和着床率均明显降低,

差异有统计学意义($P < 0.05$)。即随着女性年龄增高,临床妊娠率和着床率均随之下降,见表 1。

表 1 年龄与 FET 结局的关系

组别	胚胎移植周期(个)	临床妊娠率(%)	着床率(%)
A1	19	63.16	48.65
B1	24	58.33	32.61
A2	45	53.33	34.48
B2	30	53.33	38.18
A3	98	26.53	16.04
B3	61	32.79	18.75

3 讨 论

FET 在经历 30 多年的发展后,已成为辅助生殖技术的重要手段之一。因此,影响 FET 临床妊娠结局的相关因素也成了国内外学者共同探讨的问题。影响 FET 临床妊娠结局的因素很多,包括患者年龄、胚胎质量、移植时子宫内膜是否适宜、冻融胚胎复苏后体外培养时间等^[4-5]。李伟等^[6]认为卵裂球的完整性是影响冻融胚胎种植率的重要因素,移植前提早解冻观察复苏后胚胎有无进一步生长,有助于评价冻融胚胎的发育潜能。有报道认为,延长解冻后的培养时间对胚胎临床妊娠结局没有好处,缩短体外培养时间则可以明显提高种植率和活产率^[7]。另外一些学者则发现延长冻融胚胎体外培养时间并不影响冻融卵裂期胚胎的发育潜能,也不能提高 FET 的妊娠率和着床率^[8-10]。本研究也表明提前解冻并未明显改善妊娠结局。但是,有研究表明将第 3 天卵裂期胚胎冻融后培养至囊胚移植,可以明显提高临床妊娠率^[11]。因此,临床可通过适量增加囊胚的移植数目,从而改善 FET 的临床妊娠结局。

随着年龄的增长,在 FET 周期中卵母细胞的数量及质量逐渐下降,临床妊娠率也随之下下降。因此,女性的年龄是影响 FET 临床妊娠的因素之一。本研究表明,年龄 ≥ 35 岁患者临床妊娠率和着床率明显低于年龄 <35 岁患者,年龄 ≥ 35 岁患者临床妊娠率较低可能是因为卵巢储备能力、卵子数量和质量,以及子宫内膜容受性均降低,并且染色体异常概率增加,从而导致临床妊娠率下降,这与已有研究结论相一致^[12-13]。

综上所述,冻融卵裂期胚胎提前解冻培养后再进行移植并不能改善妊娠结局,但年龄是影响冻融胚胎妊娠率和着床率的重要因素,随着女性年龄的增高,临床妊娠率和着床率均会随之下降。因此,在临床工作中应根据患者的具体情况选择恰当的时间进行移植,从而提高临床妊娠率。

参考文献

[1] WEINERMAN R,MAINIGI M. Why we should transfer frozen instead of fresh embryos;the translational rationale [J]. Fertil Steril,2014,102(1):10-18.
[2] TAHANI A A,SAFAK T,AMIR A (下转第 3253 页)

氧化应激损伤在 DKD 的发生、发展中起关键作用。高糖诱导细胞内活性氧(ROS)产生增加,导致 ROS 生成和清除失衡^[9-10]。一方面,ROS 增加会导致肾小球滤过膜上的负电荷丢失,破坏肾小球滤过屏障,带负电荷的清蛋白易于从肾小球滤过膜溢出。长期蛋白尿会导致肾小球和肾小管损伤。另一方面,ROS 引起的氧化应激反应,致使脂质过氧化产物蓄积,引起肾脏损伤。SOD、MDA 和 AOPPs 是评价机体氧化应激状态的常用指标,其水平反映了机体氧化应激损伤的严重程度。血清 miR-146a 表达变化与机体氧化应激损伤之间存在何种联系?尹斌等^[11]学者研究显示,miR-146a 可减轻过氧化氢所致人胃腺癌细胞株的氧化应激损伤,过表达 miR-146a 可明显增加细胞 SOD 活力,减少 MDA 水平。本研究结果显示,模型组大鼠血清 MDA 和 AOPPs 水平明显高于对照组,SOD 水平明显低于对照组,说明模型组大鼠存在明显的氧化应激反应,肾脏氧化应激损伤可能是导致 DKD 发生、发展的重要原因。

综上所述,DKD 大鼠血清 miR-146a 表达降低,可能参与了炎症反应和肾脏氧化应激损伤,从而参与 DKD 的发生、发展。miR-146a 有望成为 DKD 的潜在分子标志物之一,从而指导疾病的诊断和治疗。

参考文献

[1] 杨立勇.关注糖尿病微血管并发症研究进展[J].中华糖尿病杂志,2016,8(8):449-451.
[2] 罗萍,毛继明,汪浩,等.相关生物标志物在糖尿病肾病早期诊断的临床意义[J].检验医学与临床,2017,14(14):2082-2085.
[3] ELMARAKBY A A, SULLIVAN J C. Relationship between oxidative stress and inflammatory cytokines in diabetic nephropathy[J]. Cardiovasc Ther, 2012, 30(1): 49-

59.

[4] HU C, SUN L, XIAO L, et al. Insights into the mechanisms involved in the expression and regulation of extracellular matrix proteins in diabetic nephropathy[J]. Curr Med Chem, 2015, 22(24): 2858-2870.
[5] YOUSEFZADEH N, ALIPOUR M R, SOUFI F G. De-regulation of NF-kappa B-miR-146a negative feedback loop May be involved in the pathogenesis of diabetic neuropathy[J]. J Physiol Biochem, 2015, 71(1): 51-58.
[6] WANG Q, BOZACK S N, YAN Y, et al. Regulation of retinal inflammation by rhythmic expression of mi R-146a in diabetic retina rats[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2011, 52(7): 4402-4409.
[7] TAGANOV K D, BOLDIN M P, CHANG K J, et al. NF-kappaB-dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103(33): 12481-12486.
[8] HE Y, SUN X, HUANG C, et al. MiR-146a regulates IL-6 production in Lipopolysaccharide-Induced RAW264. 7 macrophage cells by inhibiting notch1[J]. Inflammation, 2014, 37(1): 71-82.
[9] LINDBLOM R, HIGGINS G, COUGHLAN M. Targeting mitochondria and reactive Oxygen Species-Driven pathogenesis in diabetic nephropathy[J]. Rev Diabet Stud Rds, 2015, 12(1/2): 134-156.
[10] 夏莉莉,汤瑜斌,邵侃.前列地尔对糖尿病肾病患者血液流变学、免疫功能及 MDA、SOD、ROS 的影响[J].海南医学院学报,2016,22(14):1528-1531.
[11] 尹斌,刘真,张亚洁,等. miRNA-146a 对过氧化氢所致人胃腺癌细胞株 AGS 氧化应激损伤的影响[J/CD]. 中华损伤与修复杂志(电子版),2016,11(6):416-421.

(收稿日期:2018-01-22 修回日期:2018-05-14)

(上接第 3250 页)

K, et al. Can we improve implantation by cancellation of fresh embryo transfer? [J]. Mid East Fertil Socie J, 2013, 18: 9-12.
[3] 吴黎,刘群,任新玲,等.冻融胚胎复苏后移植时间对妊娠结局的影响[J].中国妇幼保健,2012,27(15):2309-2311.
[4] VELEVA Z, ORAVA M, NUOJUA-HUTTUNEN S, et al. Factors affecting the outcome of frozen-thawed embryo transfer[J]. Hum Reprod, 2013, 28(9): 2425-2431.
[5] 马晓娟,孙丽君,宋娜,等.影响冻融胚胎移植妊娠结局的相关因素分析[J].生殖与避孕,2014,34(8):677-680.
[6] 李伟,施文浩,李明昭,等.玻璃化冻融后胚胎卵裂球的损伤与生长融合对移植结局的影响[J].生殖医学杂志,2015,24(7):542-545.
[7] RATO M L, GOUVEIA-OLIVEIRA A, PLANCH A C E. Influence of post-thaw culture on the developmental potential of human frozen embryos[J]. J Assist Reprod Genet, 2012, 29(8): 789-795.
[8] 骆荣,胡慧,洪焱,等.玻璃化冻融胚胎提前解冻与当日解

冻移植结局比较[J].生殖医学杂志,2015,24(1):17-20.

[9] 秦祖兴,唐永梅,牟联俊,等.冻融 D3 胚胎当天和过夜培养后移植临床结局分析[J].中国优生与遗传杂志,2015, 23(2):102-103.
[10] GUO L, LUO C, QUAN S, et al. The outcome of different post-thawed culture period in frozen-thawed embryo transfer cycle[J]. J Assist Reprod Genet, 2013, 30(12): 1589-1594.
[11] 王钦,刘琳琳,金真真,等. D3 卵裂期胚胎冻融后移植与冻融后培养至囊胚移植临床结局分析[J].中国优生与遗传杂志,2017,25(1):122-124.
[12] 王伟周,魏德莉,沈玉良,等.冻融胚胎移植妊娠结局的影响因素分析[J].生殖医学杂志,2016,25(6):517-521.
[13] CHECK J H, KATSOFF B, WILSON C, et al. Pregnancy outcome following fresh vs frozen embryo transfer into gestational carriers using a simplified slow freeze protocol [J]. Clin Exp Obstet Gynecol, 2012, 39(1): 23-24.

(收稿日期:2018-01-21 修回日期:2018-04-28)