

• 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.09.029

激光人工皱缩对单囊胚解冻后移植结局的影响*

段如冰,梁晓东,梁辉洪,娄娟,郭江华

广东省江门市中心医院生殖医学诊疗中心,广东江门 529000

摘要:目的 探讨激光人工皱缩对单囊胚解冻后移植结局的影响。方法 对 2011 年 12 月至 2018 年 12 月广东省江门市中心医院生殖医学诊疗中心接受经阴道超声引导下穿刺取卵术及助孕治疗,且行单囊胚移植的不孕症患者进行回顾性队列研究。将 508 例研究对象分为皱缩组($n=222$,囊胚采用激光打孔皱缩后再玻璃化冷冻)和对照组($n=286$,囊胚未行皱缩直接玻璃化冷冻),分析冷冻复苏后单个囊胚的发育情况及妊娠结局。结果 两组优质囊胚率、临床妊娠率、生化妊娠率、种植率、流产率、异位妊娠率等指标比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。结论 在单囊胚玻璃化冷冻中,不论是否行激光人工皱缩均能够获得比较理想的妊娠结局;未行激光人工皱缩的玻璃化冷冻从经济性、安全性上优势更大,建议在单囊胚冻融移植中将其作为首选方案。

关键词:激光人工皱缩; 玻璃化冷冻; 单囊胚移植; 体外人工授精; 卵胞浆内单精子注射

中图分类号:R715.5

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2020)09-1245-03

近三十年来,人类生殖医学是发展最快、最活跃和最富有成果的学科之一。由于环境污染、过度晚婚晚育等因素,人类的生育力呈下降趋势,不孕不育的发病率逐年上升^[1-2]。胚胎质量是影响临床治疗不孕症结局的重要因素之一,将卵裂期胚胎继续培养至囊胚阶段能获得更高的种植率^[3-4],故囊胚冷冻技术对治疗不孕症结局尤为重要。单囊胚移植可以有效降低多胎率^[5-6],降低胎儿和产妇的风险,是移植策略的必然趋势。囊胚腔中液体较多,冷冻保护剂不能充分渗透到细胞内,导致冰晶形成,进而损伤细胞^[7]。基于激光的人工皱缩技术能在囊胚玻璃化冷冻前使囊胚腔塌陷,避免了由冰晶引起的细胞冷冻损伤。但是激光人工皱缩对单个囊胚玻璃化冷冻后的发育潜能的影响尚未阐明。本研究采用回顾性队列研究,探讨单个囊胚经激光人工皱缩后行玻璃化冷冻-解冻对移植结局的影响,为单囊胚解冻移植策略提供理论参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2011 年 12 月至 2018 年 12 月在广东省江门市中心医院生殖医学诊疗中心就诊的 508 例不孕症女性为研究对象。纳入标准:(1)体外人工授精(IVF)/卵胞浆内单精子注射(ICSI)患者,年龄 <39 岁。(2)遵医嘱及患者意愿行囊胚培养,所得囊胚经玻璃化冷冻保存。(3)囊胚解冻后移植 1 个囊胚的患者。(4)观察周期均为第一次取卵周期。(5)患者对本研究充分知情同意,自愿参与,并签署知情同意书,且允许其数据被匿名用于临床科学研究。排除标准:(1)供卵、移植前基因诊断(PGD)/移植前基因筛查(PGS)、卵子体外成熟(IVM)的周期。(2)

经皮睾丸精子抽取术(TESA)/经皮附睾精子吸取术(PESA)来源的精子授精后获得的囊胚。

本研究为回顾性队列研究,研究对象分为皱缩组和对照组,皱缩组患者的囊胚采用激光打孔皱缩后再玻璃化冷冻(222 例);对照组患者的囊胚未行皱缩直接玻璃化冷冻(286 例)。

1.2 方法

1.2.1 控制性超促排卵与囊胚评分 控制性超促排卵按本中心常规操作进行^[8]。患者胚胎在 37℃、6% CO₂、5% O₂ 的环境中,用 G-1 和 G-2 培养液(Vitrolife,瑞典)进行序贯培养,根据胚胎和患者情况决定第 3 天或第 5 天移植。第 3 天移植或冷冻后剩余的胚胎经患者知情同意后行囊胚培养。分别于第 5 天、第 6 天观察,采用 Gardner 评分方法对囊胚进行评分;将移植完剩余的符合冷冻标准的囊胚进行冷冻保存。移植或者冷冻保存的囊胚标准: ≥ 3 期,内细胞团或滋养层细胞至少有 1 个在 C 级以上,不包括内细胞团细胞及滋养层细胞均为 C 级者。子宫内膜准备包括自然周期、激素替代周期和促排卵周期 3 种方案。

1.2.2 激光打孔皱缩囊胚 皱缩组在囊胚冷冻前进行激光打孔,使扩张囊胚皱缩。具体过程如下:采用 RI 激光破膜系统(Saturn Active,英国)对扩张囊胚行激光打孔,使用单一的激光照射(409 μ s)滋养细胞较薄弱区(远离内细胞团)打孔,囊腔迅速皱缩,水分流出,囊胚放回培养箱中,5~10 min 后囊胚腔完全收缩,立即使皱缩的囊胚玻璃化冷冻,并储存在-196℃液氮罐中。对照组囊胚直接行玻璃化冷冻。

1.2.3 囊胚冷冻与复苏 皱缩组与对照组囊胚冷冻、解冻试剂均选择日本 Kitazato 冷冻及解冻试剂

* 基金项目:广东省江门市医疗卫生领域科技计划项目(2019020300860004534)。

盒,操作方法参照其说明书^[9]。

1.3 观察指标 (1)比较两组患者的优胚率,将囊胚发育至 ≥ 3 期,内细胞团和滋养层细胞均 $\geq B$ 级定义为优质囊胚;(2)比较两组患者临床妊娠率、生化妊娠率、种植率、流产率及异位妊娠率。移植 12 d 后查患者血、尿人绒毛膜促性腺激素(HCG),若呈阳性且第 35 天行超声检查见到孕囊,并有心管搏动则判定为临床妊娠。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理及统计分析。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$

表示,组间比较采用独立样本 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 两组患者临床资料比较 两组患者的年龄、不孕年限、内膜厚度及内膜准备方案等比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 两组患者移植结局比较 两组患者的临床妊娠率、优质囊胚率、生化妊娠率、种植率、流产率和异位妊娠率,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

表 1 两组患者临床资料比较

| 组别 | n | 年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁) | 不孕年限 ($\bar{x} \pm s$, 年) | 内膜厚度 ($\bar{x} \pm s$, mm) | 内膜准备方案[n(%)] | | |
|-----|-----|------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|--------------|-----------|----------|
| | | | | | 自然周期 | 激素替代周期 | 促排卵周期 |
| 皱缩组 | 222 | 31.4 \pm 3.9 | 3.9 \pm 2.8 | 10.0 \pm 1.9 | 15(6.8) | 171(77.0) | 36(16.2) |
| 对照组 | 286 | 31.5 \pm 4.4 | 4.0 \pm 2.9 | 10.1 \pm 2.1 | 17(5.9) | 227(79.4) | 42(14.7) |
| P | | 0.941 | 0.868 | 0.744 | | 0.815 | |

表 2 两组患者移植结局比较

| 组别 | n | 临床妊娠周期 (n) | 优质囊胚率 [n(%)] | 临床妊娠率 [n(%)] | 生化妊娠率 [n(%)] | 种植率 [n(%)] | 流产率 [n(%)] | 异位妊娠率 [n(%)] |
|-----|-----|---------------|-----------------|-----------------|-----------------|---------------|---------------|-----------------|
| 皱缩组 | 222 | 114 | 153(68.9) | 114(51.4) | 28(12.6) | 114(51.4) | 13(11.4) | 2(1.8) |
| 对照组 | 286 | 143 | 143(50.0) | 143(50.0) | 35(12.2) | 143(50.0) | 18(12.6) | 2(1.4) |
| P | | | 0.090 | 0.763 | 0.899 | 0.763 | 0.772 | 0.819 |

3 讨 论

影响囊胚玻璃化冷冻的因素很多,如冷冻前囊胚的选择、冷冻载杆、人工皱缩、辅助孵化及复苏后扩张速度等^[10-11]。既往研究显示,囊胚腔大小与冷冻复苏后的囊胚存活率呈负相关,因为囊胚腔内含有大量液体,若脱水不充分易形成细胞内冰晶,造成胚胎冷冻损伤^[12]。DESAI 等^[13]的研究显示,皱缩组与未处理组在存活率、复苏率上差异无统计学意义($P > 0.05$),皱缩组仅在复苏后囊胚的扩张速度上较快。本研究也显示,皱缩组的临床妊娠率、优质囊胚率、生化妊娠率、种植率、流产率、异位妊娠率与对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。这可能与商业化的玻璃化冷冻体系日渐成熟有关(细胞脱水置换充分、冷冻载杆薄、降温迅速)。

由于激光人工皱缩技术在临床上应用的时间较短,尚无大量的随访数据证明其对子代围生期和新生儿结局是否存在影响;且未经皱缩的囊胚冷冻复苏后也能达到理想的妊娠结局,故建议在单囊胚冻融移植中将不经人工皱缩的玻璃化冷冻作为患者的首选方案。需要指出的是,由于本研究是在单中心数据上进行的,故上述结论仍需要更大样本量的多中心研究进

行证实。

参考文献

[1] VARELA E, SÁNCHEZ-DE-PUERTA I, GARCÍA-VELASCO J A. Fertility, IVF and reproductive genetics[J]. Curr Opin Obstet Gynecol, 2018, 30(3): 203-208.

[2] HARPER J, BOIVIN J, O'NEILL H, et al. The need to improve fertility awareness[J]. Reprod Biomed Soc Online, 2017, 4(C): 18-20.

[3] CHEN P, LI T, JIA L, et al. Should all embryos be cultured to blastocyst for advanced maternal age women with low ovarian reserve: a single center retrospective study[J]. Gynecol Endocrinol, 2018, 34(9): 1-5.

[4] ALVIGGI C, CONFORTI A, CARBONE I F, et al. Influence of cryopreservation on perinatal outcome after blastocyst-vs cleavage-stage embryo transfer: systematic review and meta-analysis[J]. Ultrasound Obstet Gyn, 2018, 51(1, S1): 54-63.

[5] KANG S M, LEE S W, JEONG H J, et al. Clinical outcomes of elective single morula embryo transfer versus elective single blastocyst embryo transfer in IVF-ET[J]. J Assist Reprod Genet, 2012, 29(5): 423-428.

[6] HE Q H, WANG L, LIANG L L, et al. Clinical outcomes

of frozen-thawed single blastocyst transfer in patients requiring whole embryo freezing[J]. Syst Biol Reprod Med, 2016, 62(2):133-138.

[7] SEKI S, EDASHIGE K, WADA S, et al. Effect of the expression of aquaporins 1 and 3 in mouse oocytes and compacted eight-cell embryos on the nucleation temperature for intracellular ice formation[J]. Reproduction, 2011, 142(4):505-515.

[8] 陈希曦, 黎淑贞, 黎平, 等. 卵裂期胚胎不同解冻时间点对其囊胚培养及妊娠结局的影响[J]. 国际生殖健康/计划生育杂志, 2018, 37(3):38-42.

[9] HUANG T T F. The kitazato "closed" cryotop sc vitrification system performs comparably to its original "open" system. a study using unfertilized human eggs, mouse eggs, and mouse embryos[J]. Fertil Steril, 2016, 105(2): e22-e23.

[10] 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):139-155.

[11] SUNKARA S K, SIOZOS A, BOLTON V, et al. The influence of delayed blastocyst formation on the outcome of frozen-thawed blastocyst transfer: a systematic review and meta-analysis[J]. Hum Reprod, 2010, 25(8):1906-1915.

[12] BARTOLAC L K, LOWE J L, KOUSTAS G, et al. A comparison of different vitrification devices and the effect of blastocoele collapse on the cryosurvival of in vitro produced porcine embryos[J]. J Reprod Dev, 2015, 61(6):525-531.

[13] DESAI N, GOLDBERG J, AUSTIN C, et al. The new Rapid-i carrier is an effective closed system for human embryo vitrification at both the blastocyst and cleavage stage[J]. Reprod Biol Endocrinol, 2013, 11:41.

(收稿日期:2019-09-11 修回日期:2020-01-10)

• 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.09.030

大量输血患者的分析及临床意义*

胡海亮, 钟 涛, 夏 康, 杨 鹏, 卞茂红[△]

安徽医科大学第一附属医院输血科, 安徽合肥 230022

摘要:目的 总结分析临床大量输血情况, 提高临床合理用血水平, 节约血液资源。方法 利用临床输血信息管理系统与发血记录本, 回顾该院 2018 年 9 月至 2019 年 10 月 28 例大量输血患者的用血情况。结果 28 例患者共输注 386.0 U 红细胞, 平均每例 13.8 U; 输注新鲜冰冻血浆 42 850.0 mL, 平均每例 1 530.4 mL; 输注冷沉淀 65.0 U, 平均每例 2.3 U; 输注单采血小板 3.0 个治疗量, 平均每例 0.1 个治疗量。结论 根据临床症状、出血和相关实验室指标, 依据大量输血预案对大出血患者优先使用红细胞, 对血浆的使用稍加限制, 加强患者血液保护, 提高临床医生的合理用血意识。

关键词:大量输血; 红细胞; 血浆

中图分类号:R457.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2020)09-1247-04

一般健康成人的血容量占体质量的 7%~8%, 当单次失血量超过血容量的 15% 时, 会引起严重缺血缺氧的不可逆机体损伤, 此时, 大量输注血液制品是救治大量失血患者的重要手段^[1]。所谓大量输血, 通常是以输注红细胞为主, 包括: (1) 24 h 内输注不少于 10 U 红细胞制品; (2) 1 h 内输注 4 U 以上红细胞制品, 并持续输注红细胞制品及其他血液制品; (3) 3 h 内输注不少于患者一半血容量的血液制品^[2-3]。成分血制品具有针对性强、血液成分最大化利用及低不良反应发生率等特点^[4], 在临床中得到广泛应用。为提高临床合理用血水平及优化患者血液管理, 本研究对本院 2018 年 9 月至 2019 年 10 月 28 例大量输血患者情况

进行回顾分析, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 对本院 2018 年 9 月至 2019 年 10 月 28 例大量输血患者进行回顾性分析, 平均年龄 (51.3±17.3) 岁, 其中男 19 例, 平均年龄 (49.6±19.2) 岁, 女 9 例, 平均年龄 (54.9±12.8) 岁。纳入标准: 24 h 内输注红细胞不少于 10 U 的输血患者。排除标准: (1) 不符合大量输血条件的患者; (2) 病历资料不全的患者。

1.2 成分血品种及来源 成分血品种: 红细胞 (包括悬浮红细胞和去白悬浮红细胞)、血浆 (包括新鲜冰冻血浆、冰冻血浆、病毒灭活血浆和去冷沉淀血浆)、机

* 基金项目: 安徽医科大学第一附属医院青年基金项目 (2017kj22)。

[△] 通信作者, E-mail: mhbian2331@163.com。