

论著·临床研究

皱缩囊胚移植对胚胎种植及临床结局的影响研究

李园园, 宋雪梅, 严为巧, 黄晓洁

(徐州市妇幼保健院生殖医学中心, 江苏 徐州 221000)

[摘要] 目的 探讨皱缩囊胚移植对胚胎种植及临床结局的影响。方法 回顾性分析 2019 年 1 月至 2021 年 4 月在该中心就诊的囊胚培养过程中时差成像出现皱缩现象患者(囊胚皱缩组)的临床资料,比较其冻融周期单囊胚移植后与对照组(未出现皱缩现象的患者)的妊娠结局情况。结果 囊胚皱缩组患者移植后的种植率(45.07%)、临床妊娠率(45.07%)显著低于对照组(59.93%、59.93%),差异均有统计学意义($P < 0.05$);囊胚皱缩组患者活产率(40.85%)低于对照组(50.68%),流产率与对照组相差不大(9.38%、13.71%),差异均无统计学意义($P > 0.05$)。结论 囊胚皱缩是一个值得关注的影响胚胎种植率和临床妊娠率的因素。

[关键词] 皱缩囊胚; 单胚胎移植; 妊娠结局

DOI:10.3969/j.issn.1009-5519.2023.22.016

中图法分类号:R711.6

文章编号:1009-5519(2023)22-3855-03

文献标识码:A

Study on the influence of shrinkage blastocyst transfer on embryo implantation and clinical outcome

LI Yuanyuan, SONG Xuemei, YAN Weiqiao, HUANG Xiaojie

(Center for Reproductive Medicine, Xuzhou Maternity and Child Health Care

Hospital, Xuzhou, Jiangsu 221000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of shrinkage blastocyst transfer on embryo implantation and clinical outcome. **Methods** The clinical data of patients with the appearance of shrinkage (the blastocyst shrinkage group) by time-lapse imaging during blastocyst culture in this center from January 2019 to April 2021 were retrospectively analyzed, and the pregnancy outcome after single blastocyst transplantation in freeze-thaw cycle was compared with that of the control group (patients without blastocyst shrinkage). **Results** The implantation rate (45.07%) and clinical pregnancy rate (45.07%) in the blastocyst shrinkage group were significantly lower than those of the control group (59.93%, 59.93%), and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The live birth rate (40.85%) in the blastocyst shrinkage group was lower than that of the control group (50.68%), and the abortion rate was similar to that of the control group (9.38%, 13.71%), with no statistically significant difference ($P > 0.05$). **Conclusion** Blastocyst collapse is an important factor affecting embryo implantation rate and clinical pregnancy rate.

[Key words] Shrinkage blastocyst; Single embryo transfer; Pregnancy outcome

辅助生殖技术实施过程中延长胚胎培养至囊胚阶段可以在体外筛选更具发育潜能的胚胎^[1],时差成像(time-lapse imaging)技术能够实时检测胚胎发育过程,并能够有效记录胚胎的发育信息,方便追踪并评估胚胎移植以后的发育潜能。单囊胚移植策略大大降低了多胎妊娠的风险,减少了因多胎妊娠引起的不良妊娠结局事件的发生,是一项值得大力推广的技术。在培养囊胚过程中,发现有的囊胚形成后在对其进行冷冻或移植前囊胚出现皱缩,延长体外培养时间囊胚又重新扩张,这部分囊胚移植后是否会影响囊胚种植和新生儿活产值得研究。目前,大多数生殖中心普遍采用 1999 年 GARDNER 等^[2]提出的人类囊胚

分级评分方法,该方法通过对囊胚腔大小和孵化情况、内细胞团细胞和滋养层细胞及结构致密性进行评分。本研究的目的是通过回顾性分析移植皱缩囊胚对临床妊娠结局的影响,为临床工作中实施单囊胚移植策略,合理选择囊胚移植顺序时提供参考,以期提高患者的妊娠成功率并减少患者的移植次数。

1 资料与方法

1.1 研究对象 回顾性分析 2019 年 1 月至 2021 年 4 月在本中心就诊的囊胚移植患者,其中玻璃化冷冻前囊胚培养过程中时差成像出现皱缩现象,复苏后均完整扩张的患者为囊胚皱缩组,未出现皱缩现象的患者为对照组。纳入本研究患者均采取单囊胚移植策

略。囊胚皱缩的标准参照文献[3-4]:皱缩囊胚指囊胚滋养层与透明带的分离间隙大于或等于 50%囊胚腔,有的囊胚腔皱缩 1 次,有的则皱缩多次。本研究纳入标准:(1)女方年龄小于或等于 40 岁;(2)囊胚冷冻前出现 1 次或多次皱缩。排除标准:(1)反复种植失败(移植 3 次或 3 次以上均失败);(2)子宫畸形、宫腔粘连、子宫内膜病变、子宫内膜异位症;(3)夫妻一方或双方染色体结构或数目异常;(4)反复妊娠丢失。本研究获医院生殖伦理委员会审核批准[(2022)生殖伦理第(01)号],所有患者均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 控制性超促排卵 月经周期的第 2~4 天开始启动周期促排卵,给予注射用重组人促卵泡激素或尿促卵泡激素 150~300 IU/d,用药 4~6 d 或者主导卵泡 12~13 mm 时加用促性腺激素释放激素拮抗剂(醋酸西曲瑞克 0.25 mg/d)至扳机日(注射夜针时间),给予人绒毛膜促性腺激素(hCG)7 000~10 000 IU 或促性腺激素释放激素激动剂(醋酸曲普瑞林)0.2 mg 单扳机或联合扳机。

1.2.2 穿刺取卵与体外受精 扳机后 36 h 取卵,卵母细胞在体外培养条件下培养 4 h,根据精液质量及不孕症病史确定体外受精/卵胞质内单精子注射(IVF/ICSI)受精方式,受精后 18 h 观察原核,胚胎培养至取卵后第 5~6 天依据 GARDNER 等^[2]标准对囊胚进行分级,其中大于或等于 4BB 的囊胚评为优质囊胚,≥4BC 或 4CB 的囊胚为可利用囊胚。

1.2.3 解冻复苏周期移植 本研究均采用玻璃化冷冻单囊胚移植,人工激素替代周期准备子宫内膜,月经第 2、3 天给予雌激素 4~8 mg/d 口服 14 d 左右,当内膜达到有效厚度(≥7 mm)后采用孕激素(孕酮阴道缓释凝胶、地屈孕酮片等)转化内膜 5 d,第 6 天行囊胚期冻融胚胎移植,移植后继续给予雌孕激素黄体支持。

1.2.4 妊娠结局判定 囊胚移植后 35 dB 超引导下

宫腔内可见孕囊及胎心者为临床妊娠,孕 28 周前胎儿丢失视为流产。

1.2.5 观察指标 临床妊娠率=胎囊例数/移植周期数×100%,种植率=胎囊例数/移植胚胎总数×100%,流产率=流产例数/胎囊例数×100%,异位妊娠率=异位妊娠例数/胎囊例数×100%,活产率=活产分娩周期数/移植周期数×100%。

1.3 统计学处理 采用 SPSS22.0 软件对数据进行统计分析,其中计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 *t* 检验,计数资料以率表示,采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 2 组患者基本资料比较 本研究共纳入 66 例囊胚皱缩患者 71 个移植周期,其中 15 例患者移植 2 个周期,262 例对照组患者 292 个周期,其中 15 例患者移植 2 个周期。与对照组相比,囊胚皱缩组患者年龄、体重指数(BMI)、子宫内膜厚度差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

表 1 2 组患者基本资料比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	年龄 (岁)	BMI (kg/m ²)	子宫内膜厚度 (mm)
对照组	262	30.76±3.81	23.62±3.78	9.24±1.22
囊胚皱缩组	66	32.96±3.82	23.23±3.76	9.48±1.22
<i>t</i>	—	4.361	—0.776	1.500
<i>P</i>	—	0.668	0.717	0.851

注:—表示无此项。

2.2 2 组患者临床结局比较 本研究患者均选择单囊胚移植。对照组患者 175 例临床妊娠,其中 1 例单卵双胎,1 例输卵管妊娠。囊胚皱缩组患者的临床妊娠率和种植率显著低于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$);囊胚皱缩组患者活产率低于对照组,流产率与对照组相差不大,差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

表 2 2 组患者临床结局比较[%(*n*/*n*)]

组别	临床妊娠	种植	双胎	流产	异位妊娠	活产
对照组	59.93(175/292)	59.93(175/292)	0.01(1/175)	13.71(24/175)	0.01(1/175)	50.68(148/292)
囊胚皱缩组	45.07(32/71)	45.07(32/71)	0	9.38(3/32)	0	40.85(29/71)
χ^2	5.147	5.147	0.184	0.449	0.184	2.213
<i>P</i>	0.023	0.023	0.668	0.503	0.668	0.137

3 讨 论

时差成像技术通过瞬时曝光、连续拍摄胚胎体外发育过程对胚胎进行监控,能够有效记录胚胎的发育信息,不仅为选择高发育潜能胚胎提供参考依据,也

为单囊胚移植的实施提供有效的助力。单囊胚移植不但能有效降低患者多胎妊娠的发生风险,而且也能明显减少孕产期合并症及并发症的发生,是一项值得肯定及临床推广的技术。单囊胚移植时如何选择最

具发育潜能的胚胎是摆在胚胎学家面前的重要难题,除了依据胚胎的发育速度和囊胚评级来选择囊胚移植顺序外,挖掘其他一些有意义的信息也值得思考。受精卵从卵裂期胚胎发育到囊胚直至最后孵化的过程中,有的囊胚在未孵化前会出现 1 次甚至多次的囊胚皱缩,延长体外培养时间囊胚又重新扩张,其作用机制目前尚不明确,国内至今未见这方面的研究报道,因此有必要探讨这部分皱缩囊胚移植后对临床结局的影响。

本研究囊胚皱缩组患者的种植率(45.07%)显著低于对照组(59.93%),这与相关研究报道结论一致^[3,5-6],同时 MARCOS 等^[5]的研究表明,囊胚皱缩组与对照组相比其囊胚孵化率差异无统计学意义,囊胚皱缩组患者临床妊娠率虽然与对照组差异无统计学意义,但有降低的趋势。不同的是本研究囊胚皱缩组的临床妊娠率(45.07%)显著低于对照组(59.93%),与 SCIORIO 等^[6]和 GONZALEZ 等^[7]的研究一致,研究结果不同的原因可能是,MACOS 等^[5]未采用单囊胚移植,因此囊胚皱缩不能作为一个独立的因素真正影响临床妊娠率。此外,MACOS 等^[5]研究进行的是新鲜周期移植,本研究采用的是冻融周期单囊胚移植,囊胚复苏后均会激光打孔囊胚透明带,削薄的囊胚透明带有利于囊胚孵出,以往的文献曾有报道^[8-10],此方法可提高临床妊娠率。

本研究发现囊胚皱缩组的活产率低于对照组(40.85% vs. 50.68%),但差异无统计学意义,这与 2020 年 EBNER 等^[11]研究报道结果一致。2020 年,SCIORIO 等^[12]的研究结果显示,囊胚皱缩组的持续妊娠率显著低于对照组。2016 年,BODRI 等^[3]的研究发现未校正与患者年龄和周期数等因素,在此情况下进行单囊胚移植,发现囊胚多次皱缩与活产率的降低相关,校正后发现囊胚皱缩 1 次或多次均与活产率无关^[3],可能的原因是此研究移植策略采用的是同一例患者依据发育速度和囊胚评级选择移植顺序,并不涉及 BODRI 等^[3]研究中需要校正取卵周期数和患者年龄的问题。本研究认为囊胚皱缩是一个独立的值得关注的影响胚胎种植率和临床妊娠率的因素。

此前已知文献研究主要集中在利用时差培养箱观察皱缩囊胚形成过程中的动力学参数变化和皱缩持续时间^[3,5-6],有 1 篇关于皱缩囊胚非整倍体率的报道^[9],该研究结果表明,囊胚皱缩组非整倍体率高于对照组,但差异无统计学意义,但该研究中患者的平均年龄较大,为(38.05±2.90)岁,此外,其仅对优质囊胚进行非整倍体检测,而年龄本来可以作为一个独立的因素影响胚胎的非整倍体率^[13],而皱缩囊胚在小于 35 岁患者中的非整倍体率情况文献中未见报道,下一步有必要对不同年龄段的皱缩囊胚的非整倍体

率进行检测。

本研究皱缩囊胚移植显著降低了患者的临床妊娠率和种植率,建议单囊胚移植时首选移植未发生囊胚皱缩的高评分囊胚。由于本研究纳入患者的样本量偏少,皱缩囊胚对胚胎后续发育潜能的影响仍需要前瞻性、多中心、大样本数据的研究支持。时差成像技术能避免胚胎被多次拿出培养箱观察,有更加稳定的培养条件,但其高频率的曝光拍摄,对于代安全性值得密切关注,后续将对其子代进行严密随访和关注。

参考文献

- [1] GLUJOVSKY D, FARQUHAR C, QUINTEIRO RETAMAR A M, et al. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted reproductive technology [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2016, 30(6): CD002118.
- [2] GARDNER D K, SCHOOLCRAFT W B. Culture and transfer of human blastocysts [J]. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 1999, 11(3): 307-311.
- [3] BODRI D, SUGIMOTO T, SERNA J Y, et al. Blastocyst collapse is not an independent predictor of reduced live birth: A time-lapse study [J]. *Fertil Steril*, 2016, 105(6): 1476-1483. e3.
- [4] KOBAYASHI M, KOBAYASHI J, SHIRASUNA K, et al. Abundance of cell-free mitochondrial DNA in spent culture medium associated with morphokinetics and blastocyst collapse of expanded blastocysts [J]. *Reprod Med Biol*, 2020, 19(4): 404-414.
- [5] MARCOS J, PÉREZ-ALBALÁ S, MIFSUD A. Collapse of blastocysts is strongly related to lower implantation success: A time-lapse study [J]. *Hum Reprod*, 2015, 30(11): 2501-2508.
- [6] SCIORIO R, THONG K J, PICKERING S J. Spontaneous blastocyst collapse as an embryo marker of low pregnancy outcome: A time-lapse study [J]. *JBRA Assist Reprod*, 2020, 24(1): 34-40.
- [7] GONZALEZ X V, ODA R, CAWOOD S. Contraction behaviour reduces embryo competence in high-quality euploid blastocysts [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2018, 35(8): 1509-1517.
- [8] NADA A M, EL-NOURY A, AL-INANY H, et al. Effect of laser-assisted zona thinning, during assisted reproduction, on pregnancy outcome in women with endometriosis: Randomized controlled trial [J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2018, 297(2): 521-528.

(下转第 3861 页)

的实时监测,大大降低了对肠黏膜屏障的损伤,尤其是能够避免肠穿孔。另一方面,超声引导下水压灌肠所用的生理盐水具有良好的透析效果,在复位期间可吸收炎性物质,从而对炎症症状进行拮抗,且温盐水可以降低对肠黏膜的应激性损伤^[10]。

本研究结果显示,观察组急性肠套叠患儿复位时间、住院时间、大便隐血恢复时间明显短于对照组,复位成功率明显高于对照组,复发率明显低于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$);2 组患儿灌肠前白细胞介素-6、肿瘤坏死因子- α 、C 反应蛋白等应激反应指标和血清胃动素、神经降压素、胃泌素等胃肠激素指标水平比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),出院前 2 组患儿各项应激反应指标和胃肠激素指标水平均较灌肠前显著改善,且观察组患儿各项指标水平改善情况显著优于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$);观察组患儿呕吐、肠穿孔、腹胀等并发症发生率显著低于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

综上所述,超声引导下水压灌肠能有效降低对急性肠套叠患儿应激反应及胃肠激素的影响,提升患儿的治疗效果,减少并发症发生,其效果显著优于 X 线引导方式。

参考文献

- [1] 汪登亮,康权,王浩名,等. 超声引导下新型水灌肠仪器灌肠与传统空气灌肠治疗小儿肠套叠的有效性及安全性研究[J]. 中国全科医学,2019,22(6):712-714.
- [2] 薛彦生,黄诗淇,杨智敏,等. 腹腔镜小儿肠套叠术后医院感染的病原学特点及炎性因子表达对其预后的影响分析[J]. 中华医院感染学杂志,2019,29(2):297-299.
- [3] 付国美,王卫敏,王萌兴,等. 成人急性 B 淋巴细胞白血病合并克罗恩病致肠套叠 1 例并文献回顾[J]. 重庆医科大学学报,2019,44(2):227-229.
- [4] 赵成基,曾永娟,马仲福,等. 腹腔镜下球囊扩张法与传统开腹手法复位治疗肠套叠的临床疗效对比研究[J]. 中华实用儿科临床杂志,2020,35(11):860-863.
- [5] 胡烈榛,夏焙,刘婷婷,等. 儿童肠套叠超声下水灌肠复位术的有效性和安全性[J]. 中华超声影像学杂志,2021,30(9):800-805.
- [6] 王丽,王大勇,王四维,等. 儿童内翻型梅克尔憩室继发肠套叠临床特点及诊治[J]. 中华实用儿科临床杂志,2022,37(19):1482-1485.
- [7] 李灿琳,罗艳红,欧阳红娟,等. 2669 例儿童肠息肉的临床特征及继发肠套叠的危险因素分析[J]. 中国当代儿科杂志,2022,24(5):530-535.
- [8] 金洁,张飞燕,胡正飞,等. 圈养条件下猕猴属动物肠套叠的诊治及病因探讨——基于中国科学院昆明灵长类研究中心 2014—2018 年患肠套叠猴的病历统计数据[J]. 黑龙江畜牧兽医,2019(22):100-103.
- [9] 兰岭,龚亚红,徐协群,等. 急性肠套叠合并急性冠脉综合征高龄患者急诊剖腹探查术的麻醉与围术期管理[J]. 中华麻醉学杂志,2020,40(9):1054-1057.
- [10] 杨合英,王冠涛,李延安,等. 水压灌肠复位治疗原发性肠套叠的有效性及安全性分析[J]. 中华普通外科杂志,2021,36(2):143-144.
- [11] EBNER T, SESLI O, KRESIC S, et al. Time-lapse imaging of cytoplasmic strings at the blastocyst stage suggests their association with spontaneous blastocoel collapse[J]. Reprod Biomed Online,2020,40(2):191-199.
- [12] SCIORIO R, SAURA R H, THONG K J, et al. Blastocyst collapse as an embryo marker of low implantation potential: A time-lapse multicentre study[J]. Zygote,2020,28:1-9.
- [13] LA MARCA A, CAPUZZO M, IMBROGNO M G, et al. The complex relationship between female age and embryo euploidy[J]. Minerva Obstet Gynecol,2021,73(1):103-110.

(收稿日期:2023-05-29 修回日期:2023-10-24)

(收稿日期:2023-02-12 修回日期:2023-10-12)

(上接第 3857 页)