

## 玻璃化冷冻囊胚复苏移植与新鲜囊胚移植的临床结局比较

赵 静,张姝秋,张军强,陈小燕,赵 纯,凌秀凤\*

(南京医科大学附属南京妇幼保健院生殖中心,江苏 南京 210004)

**[摘要]** **目的:**比较新鲜囊胚移植周期与玻璃化冷冻囊胚复苏移植周期的临床结局。**方法:**回顾性分析 2009~2011 年本院生殖中心完成的 874 例囊胚移植周期,其中新鲜囊胚移植周期(A组)280 例,冻融囊胚复苏移植周期(B组)594 例,比较两组临床妊娠率、种植率、妊娠结局及新生儿情况等各项指标。**结果:**①A组平均移植胚胎数显著高于B组,分别为 $(1.88 \pm 0.47)$ 和 $(1.70 \pm 0.53)$ 个;临床妊娠率及种植率A组(43.93%、24.96%)显著低于B组(55.39%、40.51%, $P < 0.05$ );②A组和B组的流产率、早产率、单胎率、多胎率分别为13.82%、32.46%、70.16%、29.84%和16.72%、33.84%、71.86%、28.14%,孕龄分别为 $(265.49 \pm 14.45)$ d、 $(264.43 \pm 16.08)$ d均无统计学差异( $P > 0.05$ )。两组中仅B组见1例异位妊娠,而A组无异位妊娠;③A组和B组巨大儿、生长受限及新生儿出生缺陷发生率分别为6.00%、19.66%、1.70%和9.40%、17.82%、0.90%,两组间无统计学差异。**结论:**玻璃化冷冻囊胚复苏移植显著提高了囊胚移植的种植率及妊娠率,且并没有增加新生儿出生缺陷、流产率、早产率,也没有增加巨大儿和新生儿生长受限的出生比率。因此,玻璃化冻融囊胚移植技术是安全有效的,值得在临床上应用推广。

**[关键词]** 玻璃化冷冻;囊胚移植;妊娠结局

**[中图分类号]** Q492.6

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2014)01-041-03

**doi:**10.7655/NYDXBNS20140109

## Comparison of clinical outcomes between vitrified-thawed blastocyst transfer and fresh blastocyst transfer

Zhao Jing, Zhang Mianqiu, Zhang Junqiang, Chen Xiaoyan, Zhao Chun, Ling Xiufeng\*

(Department of Reproduction, Nanjing Maternity and Child Health Hospital Affiliated to NJMU, Nanjing 210004, China)

**[Abstract]** **Objective:** To compare the clinical outcomes between fresh blastocyst transfer with vitrified-thawed blastocyst transfer.

**Methods:** From 2009 to 2011, 874 cases of blastocyst transfer cycles were performed in our center, including 280 cases of fresh blastocyst transfer (group A), and 594 cases of vitrified-thawed blastocyst transfer (group B). Meanwhile a retrospective analysis was performed on the two groups by comparing clinical pregnancy rate, implantation rate, pregnancy outcomes and neonatal status.

**Results:** ①The number of transferred embryos in group A ( $1.88 \pm 0.47$ ) was higher than that of group B ( $1.70 \pm 0.53$ ), and the clinical pregnancy rate and implantation rate of group A was significantly lower than that of group B (43.93%, 24.96% and 55.39%, 40.51%, respectively,  $P < 0.05$ ). ②No statistical differences were found in the rate of abortion, premature delivery rate, gestational age, pregnancy rate and multiple pregnancy rate in group A (13.82%, 32.46%, 265.49  $\pm$  14.45d, 70.16%, 29.84%, respectively) and group B (16.72%, 33.84%, 264.43  $\pm$  16.08 d, 71.86%, 28.14%, respectively). In group B, there was only one case of ectopic pregnancy, while no ectopic pregnancy in group A. ③There were no statistical differences in macrosomia, growth restriction and the rate of birth defect between group A (6%, 19.66%, 1.7%, respectively) and group B (9.4%, 17.82%, 0.9%, respectively). **Conclusion:** Vitrified-thawed blastocysts transplantation significantly improved blastocyst implantation rate and pregnancy rate, and did not increase neonatal birth defects, miscarriage, premature delivery rate, and there was no increase of macrosomia and neonatal growth restriction ratio at birth. Therefore, vitrified-thawed blastocysts transfer is an effective and safe protocol in ART practice.

**[Key words]** vitrification; blastocyst transfer; clinical outcome

[Acta Univ Med Nanjing, 2014, 34(01):041-043]

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81100420, 812707010), 江苏省自然科学基金(BK2012520), 南京医科大学重点实验室开放课题(SKLRM-KF-1203), 南京市卫生局十二五重大项目(ZDX12009)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: xiufengling@hotmail.com

由于囊胚期胚胎移植可以更好地选择胚胎的发育潜力,有利于胚胎着床,可提高每个周期的妊娠率,因此目前在临床上得到较为广泛的应用<sup>[1]</sup>。同时玻璃化冷冻技术经过几年来的迅猛发展,已经成为囊胚冷冻的主要方法。本文对 2009~2011 年本院生殖中心共 874 例囊胚移植周期进行回顾性分析,比较新鲜囊胚移植及冷冻囊胚复苏移植在临床妊娠率、妊娠结局等方面的差异。

## 1 对象和方法

### 1.1 对象

2009~2011 年本院生殖中心共完成 874 例囊胚移植周期,其中 280 例新鲜囊胚移植周期(A 组),594 例冻融囊胚复苏移植周期(B 组)。不孕原因包括盆腔输卵管因素、多囊卵巢综合征、子宫内膜异位症和男性因素等。超促排卵周期均采用长方案或短方案,取卵后根据患者情况采用自然授精或卵泡浆内单精子注射授精,受精后的第 3 天进行胚胎形态评级,并挑选 2~3 个优质胚胎冷冻或移植,剩余胚胎经患者知情同意后行囊胚培养,120~144 h(d5 或 d6)观察,将发育成囊胚的胚胎移植或冷冻。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 胚胎冷冻及复苏

囊胚冷冻:采用玻璃化冷冻法进行囊胚冷冻。囊胚复苏:移植前 1 d 复苏囊胚,常规行辅助孵出。在囊胚复苏后 14~16 h 显微镜下观察其形态并对其进行质量评估,囊胚腔重新扩张判断为囊胚存活。选择囊胚腔较大,滋养层细胞和内细胞团较好的囊胚进行移植。

#### 1.2.2 子宫内膜的准备

子宫内膜的成熟和胚胎发育的同步性是移植成功的关键。对于月经周期正常、排卵有规律的患者采用自然周期:从月经第 9~10 天开始超声监测卵泡发育和内膜发育的情况。在内膜厚度 $\geq 8$  mm 时,于排卵之后给予黄体酮 40 mg/d,第 5 天复苏胚胎,第 6 天胚胎移植。而对于月经周期不正常、没有排卵或排卵不规律、多囊卵巢综合征或有其他特殊情况的患者,则采用雌孕激素替代周期:从月经的第 3 天口服雌激素(补佳乐 3 mg/d,bid  $\times$  7 d),如果子宫内膜的厚度 $< 7$  mm,可以将雌激素的用量加大到 4~6 mg/d bid。当内膜厚度 $\geq 8$  mm 时,加用黄体酮 80 mg/d,于第 5 天复苏胚胎,第 6 天胚胎移植。

#### 1.2.3 妊娠结局判定

胚胎移植后 14 d 进行血 HCG 测定,检查阳性者 14 d 后行超声检查示子宫内见孕囊及原始心管搏动即为临床妊娠。

### 1.3 统计学方法

使用 SPSS13.0 软件进行卡方检验、*t* 检验。 $P \leq 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组一般情况及临床妊娠结局比较

两组中患者年龄比较无统计学差异( $P > 0.05$ )。A 组移植胚胎数显著高于 B 组( $P < 0.05$ ),而临床妊娠率及种植率显著低于 B 组,两组间有统计学差异( $P < 0.05$ ,表 1)。

表 1 两组的临床妊娠结局

Table 1 The clinical pregnancy outcomes of two groups

	A 组	B 组
ET 周期(d)	280	594
患者年龄(岁)	30.97 $\pm$ 4.77	30.27 $\pm$ 4.20
移植胚胎数( <i>n</i> )	1.88 $\pm$ 0.47	1.70 $\pm$ 0.53*
妊娠数( <i>n</i> )	123	329
临床妊娠率(%)	43.93(123/280)	55.39(329/594)*
种植率(%)	24.96(147/589)	40.51(412/1017)*

与 A 组比较,\* $P < 0.05$ 。

### 2.2 两组分娩结局比较

两组流产率、早产率、孕龄、单胎率、多胎率均无统计学差异( $P > 0.05$ );B 组仅有 1 例异位妊娠,而 A 组无异位妊娠发生(表 2)。

表 2 两组的分娩结局

Table 2 The delivery outcome of two groups

	A 组	B 组
流产率(%)	13.82(17/123)	16.72(55/329)
早产率(%)	32.46(37/114)	33.84(112/331)
孕龄(d)	265.49 $\pm$ 14.45	264.43 $\pm$ 16.08
单胎率(%)	70.16(87/124)	71.86(240/334)
多胎率(%)	29.84(37/124)	28.14(94/334)
异位妊娠( <i>n</i> )	0	1

### 2.3 两组新生儿情况比较

两组巨大儿、生长受限及出生缺陷发生率均无统计学差异( $P > 0.05$ ,表 3)。

表 3 两组新生儿情况

Table 3 The newborns of two groups (%)

	A 组	B 组
巨大儿	6.14(7/114)	9.36(31/331)
生长受限	19.66(23/114)	17.82(59/331)
出生缺陷	1.75(2/114)	0.91(3/331)

### 3 讨论

随着实验室培养系统的不断完善,囊胚培养越来越普遍,由于囊胚结构的特殊性,慢速冷冻不能取得很好的效果。玻璃化冷冻具有操作方便、高效等特点,该技术可以用于各阶段胚胎和卵子的冷冻,这些年来玻璃化冷冻技术已成为冷冻囊胚的主要方法<sup>[2-3]</sup>,有逐渐取代慢速冷冻的趋势。玻璃化冷冻是在极低温度下、迅速的降温过程中使高黏度液体中的细胞内外迅速形成玻璃样固体的方法。在此过程中,冷冻保护剂中的囊胚胞浆会达到极高黏度、充分脱水,完全避免了冰晶形成,从而大大减少了胚胎细胞的损伤。有文献报道囊胚玻璃化冷冻可提高每个卵巢刺激周期的累积妊娠率<sup>[4-5]</sup>。在本研究中,冻囊胚周期中移植的胚胎较少,却获得了较高的种植率及妊娠率,与鲜囊胚相比均有统计学差异,说明进行冻融囊胚移植能够提高囊胚移植的成功率。因此囊胚冻融移植已成为辅助生殖技术不可缺少的重要手段,不仅提高了一次取卵的累计妊娠率,同时可以减少多胎妊娠的风险及卵巢过度刺激综合征的发生,并且可以对剩余胚胎进行冷冻保存,减少了再次取卵的痛苦。

本文认为冻融周期之所以较新鲜周期有较高的种植率和临床妊娠率可能是因为冻融周期的子宫内膜有更好的容受性。研究表明,良好的种植环境是胚胎种植成功及临床妊娠的关键,子宫内膜容受性可能影响胚胎的着床<sup>[6-7]</sup>。除此之外,由于囊胚冻融过程存在一定的退化率,以往有研究证明,发育潜能较低、胚胎质量较差的囊胚可能在冻融过程之后不能实现再次扩张<sup>[8]</sup>。因此本文认为囊胚复苏本身能淘汰掉一部分发育潜能不佳的囊胚,所以冻融之后可以获得更高的种植率和临床妊娠率。因此,可以认为正是由于冻融囊胚移植具有更好的子宫内膜容受性、胚胎发育和子宫内膜的同步性以及冻融过程本身能淘汰一部分发育潜能不佳的囊胚,所以与新鲜囊胚移植相比能够获得更加满意的临床妊娠结果。同时由于冻融囊胚复苏移植减少了每个周期胚胎移植的数目,也提供了减少多胎妊娠发生率的可能,目前本中心两组数据的多胎妊娠率虽没有统计学差异,但冻融囊胚复苏周期的多胎发生率有减少的趋势。两组中仅有1例异位妊娠,说明囊胚移植并不增加异位妊娠的发生。新鲜囊胚移植与冻融囊胚复苏移植的新生儿出生缺陷分别为1.7%及0.9%,无显著性差异,与先前报道的玻璃化冷冻发

生新生儿缺陷的为1.4%的几率相仿<sup>[9]</sup>,同时也与自然妊娠的人群相仿。另外本中心的数据显示冻融囊胚复苏移植周期并没有增加流产率及早产率,而新生儿的孕龄、巨大儿出生率及胎儿生长受限的发生率与新鲜囊胚移植周期相比也没有统计学差异,说明冻融胚胎复苏移植周期可以获得与新鲜囊胚移植类似的妊娠结局。

本文分析结果显示,玻璃化冷冻囊胚复苏移植周期可以获得更好的临床妊娠率,同时并没有增加新生儿的早产率、生长缺陷、巨大儿出生率及胎儿生长受限的发生率,因此,玻璃化冻融囊胚移植技术是安全有效的,值得在临床上应用推广。

#### [参考文献]

- [1] Blake DA, Farquhar CM. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted conception [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2007, 17: CD002118
- [2] Kuwayama M, Vajta G, Ieda S, et al. Comparison of open and closed methods for vitrification of human embryos and the elimination of potential contamination [J]. *Reprod Biomed Online*, 2005, 11(5): 608-614
- [3] 张军强, 武 恂, 李秀玲, 等. Cryotop 玻璃化冻融人类囊胚 79 例报告 [J]. *生殖医学杂志*, 2009, 18(6): 516-519
- [4] Huang JV, Chung JT, Tan SL, et al. High survival and hatching rates following vitrification of embryos at blastocyst stage: a bovine model study [J]. *Reprod Biomed Online*, 2007, 14(4): 464-470
- [5] Tong GQ, Cao SR, Wu X, et al. Clinical outcome of fresh and vitrified-warmed blastocyst and cleavage-stage embryo transfers in ethnic Chinese ART patients [J]. *J Ovarian Res*, 2012, 5(1): 27
- [6] 赵庆红, 杨 菁, 尹太郎, 等. 玻璃化冻融胚胎移植结局的相关影响因素 [J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2010, 14(18): 3293-3296
- [7] Zhu DD, Zhang JJ, Cao SR, et al. Vitrified-warmed blastocyst transfer cycles yield higher pregnancy and implantation rates compared with fresh blastocyst transfer cycles: time for a new embryo transfer strategy? [J]. *Fertil Steril*, 2011, 95(5): 1691-1695
- [8] Shu Y, Watt J, Gebhardt J, et al. The value of fast blastocoele re-expansion in the selection of aviable thawed blastocyst for transfer. [J]. *Fertil Steril*, 2009, 91(2): 401-406
- [9] Takahashi K, Mukaida T, Goto T, et al. Perinatal outcome of blastocyst transfer with vitrification using cryoloop: a 4-year follow-up study [J]. *Fertil Steril*, 2005, 84(1): 88-92

[收稿日期] 2013-05-27