

者在日常学习及生活中因指甲畸形、缺失而产生心理障碍,适用于儿童甲下血肿伴甲床撕裂的病例。

参考文献

- 1 Gellman H. Fingertip – nail bed injuries in children: current concepts and controversies of treatment[J]. J Craniofac Surg, 2009, 20(4): 1033 – 1035
- 2 Al – Qadhi S, Chan KJ, Fong G, *et al.* Management of uncomplicated nail bed lacerations presenting to a children's emergency department [J]. Pediatr Emerg Care, 2011, 27(5): 379 – 383
- 3 Bharathi RR, Bajantri B. Nail bed injuries and deformities of nail[J]. Indian J Plast Surg, 2011, 44(2): 197 – 202

- 4 Memon FW. Results of vertical figure – of – eight tension band suture for finger nail disruptions with fractures of distal phalanx[J]. Indian J Orthop, 2012, 46(3): 346 – 350
- 5 Patankar HS. Use of modified tension band sutures for fingernail disruptions[J]. J Hand Surg Eur Vol, 2007, 32(6): 668 – 674
- 6 Bristol SG, Verchere CG. The transverse figure – of – eight suture for securing the nail[J]. J Hand Surg Am, 2007, 32(1): 124 – 125
- 7 Pearce S, Colville RJ. Nailbed repair and patient satisfaction in children[J]. Ann R Coll Surg Engl, 2010, 92(6): 483 – 485

(收稿日期:2013 – 08 – 16)

(修回日期:2013 – 09 – 22)

促排卵天数不能预测长方案 IVF – ET 妊娠结局

颜 慧 程 静 吕杰强

摘 要 **目的** 分析长方案中促排卵天数对试管婴儿妊娠结局的影响。**方法** 回顾性分析自 2010 年 4 月 ~ 2012 年 6 月在本中心行 IVF – ET 治疗的长方案周期共 599 例。将所有的周期按促排卵天数分为 < 10 天、10 ~ 12 天、> 12 天 3 个组,比较各组间总的 Gn(gonadotropin)使用量、成熟卵泡数、取卵个数、授精卵个数、优质胚胎数、原发不孕率和临床妊娠率。评估促排卵天数对这些参数的影响。将卵巢功能好的周期再次分组,分析促排卵天数对以上这些参数的影响。**结果** 对总的周期来说,3 组间的妊娠率分别为 28.6%、31.5%、29.7%,3 组间比较 U 差异无统计学意义($P > 0.05$),然而,3 组间 Gn 使用量、卵泡数量随着促排卵时间的延长而增多($P < 0.05$)。重新分组后,3 个促排卵天数间的 Gn 使用量、成熟卵泡数、取卵个数、受精卵个数、优质胚胎数、原发不孕率和临床妊娠率等均无统计学差异($P > 0.05$)。**结论** 促排卵天数不能预测长方案 IVF – ET 的妊娠结局,增加促排卵天数能增加卵泡数量,但是不能增加成熟卵泡数量,并没有改善临床妊娠结局,提示为获取更多卵泡而延长促排卵时间的做法是不经济的,且费时费力。

关键词 促排卵天数 IVF – ET 临床妊娠率 促性腺激素

[中图分类号] R321 [文献标识码] A

No Predict Value of the Duration of Gonadotropin on Outcome of In – vitro Fertilization Treatment. Yan Hui, Cheng Jing, Lu Jieqiang. Reproductive Centre Department, The Second Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, 325000 Zhejiang, China

Abstract Objective To examine whether the duration of gonadotropin impactes IVF outcome of long protocols. **Methods** A retrospective analysis of 599 long protocols IVF – ET cycles at our institution between April 2010 and June 2012 was performed. All the protocols were categorized into three groups which were < 10 days, 10 ~ 12 days, > 12 days. Parameters among the three groups assessed were total ampoules of gonadotropins, the number of mature eggs, the number of eggs retrieved, the number of fertilization embryos, the number of high – quality embryos, primary infertility rates and clinical pregnancy rates. Whether the duration of gonadotropin stimulation affectes these parameters was evaluate. **Results** For all the cycles, the duration of stimulation cannot predict IVF – ET outcome. The clinical pregnancy in the three groups were 28.6%, 31.5%, 29.7%, showed no significant difference($P > 0.05$). However, the total Gn consuming and the retrieved oocytes was more in the longer ovary stimulation cycles($P < 0.05$). After regroup the patient who had good ovary function, we found all the parameters were the same in three groups($P > 0.05$). **Conclusion** The duration of gonadotropin stimulation cannot predict IVF – ET outcome in the long protocol. Plonger the ovary stimulation can get more unmatute oocytes which can't improve the clinical outcome. It implys that it's uneconomical and time – wasted to plong the stimulation duration in order to get more oocyte in one cycle.

Key words Ovary stimulation duration; IVF – ET; Clinical outcome; Gonadotropin

作者单位:325000 温州医科大学附属第二医院不孕不育健康生殖中心

通讯作者:吕杰强,电子邮箱:jq1@wzhealth.com

自 1978 年世界首例试管婴儿诞生至今,目前全世界已有 400 万试管婴儿问世^[1]。试管婴儿即体外受精 - 胚胎移植 (in - vitro fertilization and embryo transfer, IVF - ET) 技术为众多不孕症夫妇带来了福音,但妊娠率一直不理想,许多学者都研究了影响妊娠率的因素。妇女的年龄和卵巢的反应性是影响 IVF 成功的显著因素^[2,3]。在试管婴儿周期中,20 ~ 30 岁的不孕妇女能获得最好的妊娠结局^[4]。体重指数也被认为是辅助生殖技术 (assisted reproductive technology, ART) 周期成功的预测指标^[5]。一旦进入试管婴儿的促排卵周期中,以上影响因素就很难再改变了,但促排卵天数是可以随时调整的,有研究认为促排卵天数不影响 ART 的结局^[6]。Chuang 等^[7]则认为延长的促排卵天数预示着较差的临床妊娠率,到底促排卵天数对 ART 的结局有没有预测作用呢?

资料与方法

1. 基本情况:收集 2010 年 4 月 ~ 2012 年 6 月笔者医院生殖中心行 IVF - ET 治疗,促排卵方案为长方案患者的临床资料。排除标准:①有明确影响胚胎着床的其他因素,如输卵管积水、子宫畸形及宫腔粘连史;②多囊卵巢综合征患者及卵巢多囊性改变的患者;③子宫内膜异位症患者。所有的周期于前次月经黄体期予达菲林 (gonadotrophin releasing hormone agonist, GnRH - a, 法国益普生制药有限公司) 0.65 ~ 0.70mg,在确定卵巢抑制后 (LH < 5mIU/ml 且 E₂ < 50pg/ml),于月经第 3 日给予适量的重组卵泡生成素 (rFSH, 瑞士雪兰诺)。通过 B 超监测卵泡生长情况直至注射 hCG (human chorionic gonadotrophin, 瑞士雪兰诺)。获卵后经培养 4 ~ 6h 行授精,授精后 16 ~ 20h 开始观察胚原核,有两个原核的视为正常授精。根据卵裂球形态与大小、核碎片量及分布、胞质均质情况等经行胚胎评分,分为 1 ~ 6 级胚胎^[8],1 级和 2 级胚胎被认为是优质胚胎。1 ~ 3 级胚胎被用来胚胎移植。取卵后第 2 ~ 3 日开始进行胚胎移植。尿妊娠实验阳性加上 B 超检查见宫腔内明显的心管搏动被认为是临床妊娠。

2. 分组:将 599 个周期分成人数大致相等的 5 个组,笔者发现 5 个组间的妊娠率很接近。为了分析促排卵天数对妊娠率的影响,将所有的周期按照促排卵天数分为 <10 天、10 ~ 12 天、>12 天 3 个组。为了进一步统一 3 组间患者的卵巢的反应性,将年纪 <38 岁且促排卵后取卵数 >5 个的周期重新分组^[7]。

3. 统计学方法:所有计量资料数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,计数资料以率表示。采用 SPSS 18.0 软件进行统计学分析,两组计量资料之间采用独立样本 *t* 检验,3 组计量资料之间采用方差分析,所有的计数资料如原发不孕率、临床妊娠率等用卡方分析或者 Fisher's 精确检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. 全部周期的临床妊娠率的分布:一共有 599 个周期纳入统计分析,临床妊娠的共有 272 个周期,总的临床妊娠率为 45.4%。将总的周期分为人数大致相等的 5 个组,5 个组的临床妊娠率分别为 45.7%、46.0%、44.8%、44.9%、46.2%,临床妊娠率在 5 个促排卵天数组间比较没有统计学差异 (*P* > 0.05),详见图 1。

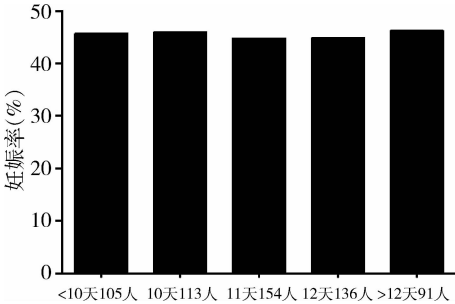


图 1 按人数划分的 5 个促排卵天数组间的临床妊娠率

2. 3 个组的一般临床资料和临床妊娠率的比较:表 1 比较了全部周期 3 组间的一般资料和 IVF - ET 的结局,笔者发现各组间的妇女的年龄,原发不孕率,基础 FSH 值,不孕年限等一般资料没有差别, *P* > 0.05,但是随着促排卵时间的延长,总的 Gn 使用量和取卵个数增多,3 组间的总的 Gn 使用量分别为 19.3 ± 4.7、26.2 ± 6.6、27.6 ± 8.8 支,对应的 3 组间的取卵个数为 9.5 ± 4.4、10.8 ± 6.3、12.4 ± 6.1 个, Gn 使用量及取卵个数在 3 组间比较差异均有统计学意义 (*P* < 0.05)。有意思的是,尽管取卵个数增加,成熟卵泡数,授精卵个数,优质胚胎数,正常授精胚胎

表 1 总的周期的 3 组间比较

项目	<10 天 n = 105	10 ~ 12 天 n = 403	>12 天 (n = 91)	P
女方年龄 (岁)	29.2 ± 3.7	30.7 ± 3.7	30.0 ± 3.6	NS
原发不孕率 (%)	30	127	27	NS
不孕年限 (年)	4.5 ± 2.8	4.3 ± 2.9	4.6 ± 2.7	NS
女方体重指数 (kg/m ²)	22.4 ± 3.1	22.1 ± 2.9	22.4 ± 2.3	NS
基础 FSH 值 (mIU/ml)	8.4 ± 1.8	8.3 ± 1.9	8.3 ± 1.6	NS
总 Gn 用量 (支)	19.3 ± 4.7	26.2 ± 6.6	27.6 ± 8.8	<0.05
成熟卵泡个数 (个)	5.5 ± 2.8	5.7 ± 2.9	5.3 ± 2.8	NS
取卵个数 (个)	9.5 ± 4.4	10.8 ± 6.3	12.4 ± 6.1	<0.05
授精卵个数 (个)	7.1 ± 5.7	7.4 ± 5.4	7.6 ± 5.3	NS
优质胚胎数 (个)	5.7 ± 4.3	6.1 ± 4.2	5.0 ± 3.9	NS
正常受精胚胎数 (个)	6.8 ± 3.2	6.5 ± 3.8	6.3 ± 3.6	NS
移植胚胎数 (个)	2.1 ± 0.5	2.1 ± 0.6	2.1 ± 0.7	NS
临床妊娠率 (%)	45.7	45.2	46.2	NS

数,移植胚胎数尤其是临床妊娠率在3组间没有区别($P > 0.05$)。

3. 重新分组后3组的一般资料和临床妊娠率的比较:在卵巢反应好的周期中,3组间的一般资料比较差异没有统计学差异,虽然年纪偏大的妇女需要更长时间的刺激,3组间的年龄分别是 26.3 ± 2.5 、 27.8 ± 2.7 、 28.7 ± 2.4 岁,经比较差异没有统计学意义。重新分组后,3组间的总的Gn使用量是一样的,取卵个数是一样的($P > 0.05$),成熟卵泡数、取卵个数、授精卵个数、优质胚胎数、正常授精胚胎数、移植胚胎数及临床妊娠率经比较均没有统计学差异($P > 0.05$),详见表2。

表2 卵巢功能好的周期的3组间的比较

项目	<10 天 (<i>n</i> = 79)	10 ~ 12 天 (<i>n</i> = 296)	> 12 天 (<i>n</i> = 67)
女方年龄(岁)	26.3 ± 2.5	27.8 ± 2.7	28.7 ± 2.4
原发不孕率(%)	34	127	31
不孕年限(年)	3.7 ± 1.9	3.6 ± 1.3	3.6 ± 1.6
女方体重指数(kg/m^2)	20.3 ± 2.3	20.5 ± 2.1	21.3 ± 1.8
基础FSH值(mIU/ml)	8.0 ± 1.5	8.3 ± 1.1	8.2 ± 1.6
总Gn用量(支)	20.7 ± 5.7	21.2 ± 6.6	21.6 ± 5.8
成熟卵泡个数(个)	5.3 ± 2.5	5.5 ± 2.3	5.5 ± 2.8
取卵个数(个)	10.5 ± 3.4	10.8 ± 3.3	10.4 ± 3.1
授精卵个数(个)	7.7 ± 3.7	7.1 ± 3.4	7.1 ± 4.0
优质胚胎数(个)	5.2 ± 4.3	5.1 ± 4.2	5.0 ± 3.9
正常受精胚胎数(个)	6.8 ± 3.0	6.3 ± 3.2	6.5 ± 3.4
移植胚胎数(个)	2.5 ± 0.7	2.7 ± 0.3	2.9 ± 0.4
临床妊娠率(%)	51.9	52.0	47.8

P 均 > 0.05

讨 论

促排卵天数指的是整个促排卵周期中Gn注射的天数,Gn开始的时间都是卵巢达到抑制状态,结束的时间各个中心则有较大的差异。有些中心结束Gn时间是当至少3个卵泡直径达到或超过 $18 \sim 20\text{mm}$ ^[9]。本中心则是在至少有1个卵泡达 18mm 或者至少2个卵泡直径达 17mm 或者至少3个卵泡直径达 16mm 。总之,停止Gn时机都是在卵巢产生了一定量的主导卵泡。是否有一个最适合的卵巢刺激天数能获得较好的妊娠结局呢?通过分析发现不同的促排卵天数组间的临床妊娠率是没有统计学差异的,表1和表2都说明Gn注射天数与卵巢产生主导卵泡的能力是没有关系的,也就是说卵巢产生主导卵泡的能力是固有的,在一定的Gn的作用下最终都会表达出来,只是速度不一样^[6]。

表1说明Gn注射天数越长,使用的Gn也越多,得到的卵泡会越多,但是成熟卵泡和临床妊娠率却没有得到提高。以往有研究指出当颗粒细胞上缺少FSH受体或者卵巢中没有足够的血管网络来分散Gn或者存在抗FSH的抗体时,增加FSH的量是不能改善IVF的结局^[10]。最近的一个研究表明,在促排卵过程中,LH要达到一定的阈值,添加FSH才能促进卵泡的生长,始基卵泡募集到窦状卵泡需要几个月时间,是不依赖FSH的过程^[11,12]。在促排卵的过程中,在两周左右的时间里注射大量的FSH是不能增加成熟卵泡的数量,可能只有当循环中的FSH超过窦状卵泡刺激的FSH阈值时,这样的卵泡才能继续发展成为成熟卵泡^[13]。增加Gn的量能增加取卵数量,但是并没有增加成熟卵泡的数量和改善妊娠结局,可能是因为有一批卵泡的LH没有达到FSH刺激的阈值或者FSH没有达到Gn刺激的阈值,在Gn的刺激下并没有发展成为成熟卵泡,这些卵泡虽然能生长,但是却没有能改善妊娠结局。

GnRH-a对垂体卵巢轴降调节抑制程度与GnRH-a剂型、剂量和个体卵巢储备功能、卵巢局部GnRH-a及其受体调节和LH受体功能密切相关,在卵巢反应好的周期中,在一定量的Gn刺激下卵巢功能都能表现出来,只是这个时间有长有短^[14]。而Chuang等^[7]认为,促排卵天数较长的周期的妊娠率较低,可能是他们的研究没有将多囊卵巢综合征患者及子宫内膜异位症患者排除,多囊卵巢综合征患者的促排卵时间要比非多囊卵巢综合征患者的促排卵时间平均长 1.2 天^[15]。笔者的研究中没有分析Gn的注射模式对Gn天数的影响,具体的Gn增量或者减量模式与Gn天数的关系还需要进一步大样本的分析。

对比表1和表2,可以看到延长Gn使用时间和增加Gn的用量能增加总的卵泡数量,但是不能加成熟卵泡的数量,卵巢功能好的患者,一定量的Gn都能使卵泡达到取卵标准,这与Gn使用的时间无关。总之,促排卵天数不能预测长方案IVF-ET的妊娠结局,增加Gn的时间和用量不能改善IVF-ET的妊娠结局。

参考文献

- 彭靖,罗大儒. 试管婴儿技术的发展与探讨[J]. 自然杂志,2010,32(6):338-339
- Qublan HS, Malkwai HY, Tahat YA, et al. Factors affecting its results and outcome[J]. Obstet Gynaecol, 2005, 25(7):689-693
- 李蓉,乔杰,刘平,等. 胚胎移植12491个周期的临床效果及影响因素[J]. 中华妇产科杂志,2008,43(8):563-566

- 4 Yan J, Wu K, Tang R, *et al.* Effect of maternal age on the outcomes of in vitro fertilization and embryo transfer (IVF - ET) [J]. *Sci China Life Sci*, 2012, 5(8): 694 - 698
- 5 Ku SY, Kim SD, Jee BC, *et al.* Clinical efficacy of body mass index as predictor of in vitro fertilization and embryo transfer outcomes [J]. *J Korean Med Sci*, 2006, 21(2): 300 - 303
- 6 Martin JR, Mahutte NG, Arici A, *et al.* Impact of duration and dose of gonadotrophins on IVF outcomes [J]. *Reprod Biomed Online*, 2006, 13(5): 645 - 650
- 7 Chuang M, Zapantis A, Taylor M, *et al.* Prolonged gonadotropin stimulation is associated with decreased ART success [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2010, 27(12): 711 - 717
- 8 Yeung WS, Li RH, Cheung TM, *et al.* Frozen - thawed embryo transfer cycles [J]. *Hong Kong Med J*, 2009, 15(6): 420 - 426
- 9 杨硕, 陈新娜, 乔杰, 等. GnRH 拮抗剂固定方案和 GnRH 激动剂长方案在卵巢储备功能正常的不孕患者初次 IVF - ET 中的疗效比较 [J]. *中华妇产科杂志*, 2012, 47(4): 245 - 249
- 10 Loutradis D, Drakakis P, Vomvolaki E, *et al.* Different ovarian stimulation protocols for women with diminished ovarian reserve [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2007, 24(12): 597 - 611
- 11 O'Dea L, O'Brien F, Currie K, *et al.* Follicular development induced by recombinant luteinizing hormone (LH) and follicle - stimulating hormone (FSH) in anovulatory women with LH and FSH deficiency: evidence of a threshold effect [J]. *Curr Med Res Opin*, 2008, 24(10): 2785 - 2793
- 12 Gougeon A. Regulation of ovarian follicular development in primates: facts and hypotheses [J]. *Endocr Rev*, 1996, 17(2): 121 - 155
- 13 Lekamge DN, Lane M, Gilchrist RB, *et al.* Increased gonadotrophin stimulation does not improve IVF outcomes in patients with predicted poor ovarian reserve [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2008, 25(11 - 12): 515 - 521
- 14 李洁, 刘倍余. 识别促性腺激素释放激素激动剂对垂体卵巢轴调节抑制程度及意义 [J]. *生殖医学杂志*, 2011, 20(1): 17 - 21
- 15 Heijnen EM, Eijkemans MJ, Hughes EG, *et al.* A meta - analysis of outcomes of conventional IVF in women with polycystic ovary syndrome [J]. *Hum Reprod Update*, 2006, 12(1): 13 - 21
- (收稿日期: 2013 - 09 - 01)
- (修回日期: 2013 - 10 - 07)

VEGF165 基因重组腺相关病毒构建及转染猪骨髓间充质干细胞的研究

夏利龙 朱成楚 陈保富 张 波 陈 宇 胡炳川 张 健

摘 要 **目的** 构建携带人血管内皮细胞生长因子(hVEGF)的重组腺相关病毒载体,在体外转染猪骨髓间充质干细胞并观察其表达。**方法** 细胞 AAV 包装质粒 pAAV - IRES - ZsGreen 及含 hVEGF 的质粒经 EcoR I + BamH I 双酶切、连接,构建 pAAV - hVEGF165 - IRES - ZsGreen 载体,采用磷酸钙法转染 293AAV 细胞系,获得 rAAV2 - hVEGF165 及对照重组腺相关病毒,real - time PCR 法测定病毒效价。Western blot 检测重组 rAAV2 - hVEGF165 在猪骨髓间充质干细胞的表达,MTS 法检测 VEGF 蛋白活性。**结果** 成功构建 rAAV2 - hVEGF165 重组腺相关病毒载体,rAAV2 - hVEGF165 经双酶切和测序鉴定正确,real - time PCR 法测定病毒效价为 5×10^{12} vg/ml。转染 rAAV2 - hVEGF165 的猪骨髓干细胞能够有效表达 VEGF 蛋白,并能促进血管内皮细胞的增殖。**结论** 成功构建 rAAV2 - hVEGF165 重组腺相关病毒载体,并能在猪骨髓间充质干细胞中有效转染和表达,为进一步探索 rAAV2 - hVEGF165 对治疗缺血性心肌疾病的研究提供实验基础。

关键词 血管内皮生长因子 腺相关病毒 心肌缺血 骨髓间充质干细胞

[中图分类号] R541 [文献标识码] A

Construction of Recombinant Adeno - associated Viruse Vector Carrying Human Vascular Endothelial Growth Factor Gene and Its Expression in Porcine Mesenchymal Stem Cells. Xia Lilong, Zhu Chengchu, Chen Baofu, *et al.* Department of Thoracic Surgery, Taizhou Hospital Affiliated to Wenzhou Medical University, Zhejiang 317000, China

Abstract Objective To construct recombinant adeno - associated viruse vector carrying human vascular endothelial growth factor gene, and assess its expression in porcine mesenchymal stem cells in vitro. **Methods** AAV packaging plasmid pAAV - IRES - ZsGreen

基金项目:浙江省公益技术应用研究基金资助项目(2011C37083)

作者单位:317000 临海,温州医科大学附属台州医院

通讯作者:朱成楚,电子信箱:xialilong1987@sina.com