

IVF 治疗中卵丘颗粒细胞密度对胚胎学结局的影响

董 竞 吴 铃 赵激浪 欧阳杰 凡 永 吕祁峰 李孟惠 李 斌

摘 要 **目的** 研究体外受精(IVF)时卵丘卵母细胞复合物(cumulus - oocyte complex, COC)上的卵丘颗粒细胞密度对胚胎学结局的影响。**方法** 回顾性分析 710 个 IVF 周期,其中卵丘颗粒细胞部分切除周期(研究组)355 个及未处理对照周期 355 个。研究通过比较两组中患者的受精率、卵裂率、优质胚胎率、卵子利用率、临床妊娠率和活产率等多种指标来探讨 IVF 治疗时卵丘颗粒细胞对胚胎学和移植结局的影响;随后又按照授精皿中的卵子数将患者分为低密度(1~5 个)、中密度(6~10 个)和高密度(11~15 个)3 组,通过与对照组患者比较,进一步明确不同 COC 授精密度情况下颗粒细胞密度对受精和胚胎发育的影响。**结果** 研究组患者的受精率、正常受精率、有效成囊率和卵子利用率均显著高于对照组($P < 0.01$),而其异常受精率则显著低于对照组($P < 0.01$)。低、中及高不同授精密度下,当授精密度 ≤ 5 个卵子时,研究组和对照组的受精率、正常受精率、异常受精率、有效成囊率和卵子利用率等比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$);当授精密度 > 5 个时,研究组的正常受精率、有效成囊率和卵子利用率均显著高于对照组($P < 0.05$),异常受精率均显著低于对照组($P < 0.05$)。两组的临床妊娠率、种植率、活产率等比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 体外授精时,通过切除 COC 上的卵丘颗粒细胞以降低其密度,能够改善患者 IVF 治疗时的胚胎学结局。

关键词 卵丘卵母细胞复合物 体外受精 颗粒细胞

中图分类号 R711.6

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2020.11.010

Effect of Cumulus Granular Cell Density on Embryological Outcome during IVF Treatment. Dong Jing, Wu Ling, Zhao Jilang, et al. Department of Assisted Reproduction, Ninth People's Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200011, China

Abstract **Objective** To explore the effect of the density of cumulus granulocytes on cumulus - oocyte complex (COC) on embryological outcome during IVF. **Methods** The data of 710 IVF cycles were collected retrospectively, including 355 cycles of partial excision of granular cells (study group) and 355 untreated control cycles. In this study, the impact of the density of cumulus granulosa cells on the embryology and transplantation outcomes was evaluated by comparing fertility rate, cleavage rate, good - quality embryo rate, oocyte utilization rate, clinical pregnancy rate and live birth rate between the two groups. In addition, the patients were divided into three groups according to the number of oocytes in the insemination dishes: low density (1 - 5), medium density (6 - 10) and high density (11 - 15). Compared with the control group, the influence of granular cell density on fertilization and embryo development under different insemination densities was further clarified. By comparing with the patients in the control group, we can further clarify the effect of granular cell density on fertilization and embryo development under different COC precisions. **Results** The fertilization rate, normal fertilization rate, effective blastocyst formation rate and oocyte utilization rate of patients in the study group were significantly higher than those of the control group ($P < 0.01$), while abnormal fertilization rate was significantly lower than that of the control group ($P < 0.01$). Under different insemination densities (low, medium and high), when the insemination density was less than or equal to 5, there were no significantly differences of fertilization rate, normal fertilization rate, abnormal fertilization rate, effective blastocyst formation rate and oocyte utilization rate between the study group and control group ($P > 0.05$). When the insemination density was more than 5, the normal fertilization rate, effective blastocyst formation rate and oocyte utilization rate in study group were significantly higher than those of control group ($P < 0.05$), while the abnormal fertilization rate was significantly lower than that of control group ($P < 0.05$). There was no statistical difference in clinical pregnancy rate, implantation rate and live birth rate between the two groups ($P > 0.05$). **Conclusion** The removal of cumulus granulosa cells on the COC to reduce their density can improve the embryological outcome of patients during IVF treatment

Key words Cumulus - oocyte complex; IVF; Cumulus cells

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81971448)

作者单位:200011 上海交通大学医学院附属第九人民医院辅助生殖科

通讯作者:李斌,电子邮箱:libinlicc@163.com

进行体外授精时,受精及早期胚胎质量将直接影响不孕症患者的治疗结局。常规体外受精 - 胚胎移植(IVF - ET)操作中,卵丘 - 卵母细胞复合物(cumulus - oocyte complex, COC)将直接与数量合适的精子

进行共同孵育过夜,第 2 天去除卵丘细胞后观察原核形成及早期胚胎发育情况^[1]。在这个过程中,因延长了精卵共同孵育的时间,死亡的精子及受精过程中大量散落的卵丘细胞可能会产生一些不利于早期胚胎发育的物质,如氧化自由基等,从而影响体外胚胎的发育^[2]。此外,过多的精子和卵丘细胞也会大量消耗掉培养液中的营养成分,从而对早期的胚胎造成不良的影响。短时授精研究发现,缩短精卵共育的时间不会影响受精率,可提高胚胎发育质量^[3~5]。但有研究认为,卵母细胞过早的脱离卵丘细胞存在的微环境会对其成熟、受精产生不利的影响,保留卵丘细胞能够增加卵子受精后的胚胎发育能力,提高胚胎利用率和临床妊娠率^[2,6]。现有研究多集中在通过减少精卵共育的时间来改善临床结局,但 IVF 授精时,卵丘颗粒细胞存在的密度对胚胎学结局的影响尚未引起关注。本研究旨在探讨传统 IVF 授精时,COC 上卵丘颗粒细胞密度对胚胎学结局的影响。本文将通过受精率、卵裂率、优质胚胎率、卵子利用率、临床妊娠率和活产率等多种指标来评价 IVF 授精时,卵丘细胞的多寡对胚胎学和胚胎移植结局的影响。

对象与方法

1. 研究对象:回顾性分析 2016 年 11 月~2017 年 5 月(对照组)和 2017 年 11 月~2018 年 5 月(研究组)在上海交通大学医学院附属第九人民医院辅助生殖科接受体外受精-胚胎移植治疗的不孕症患者 710 例。患者纳入标准:首次 IVF 周期患者;年龄 ≤ 35 岁;基础卵泡刺激素(follicle stimulating hormone, FSH) $< 10\text{IU/L}$;窦卵泡数 ≥ 5 个;获卵数 ≤ 15

个。排除标准:严重的内外科系统性疾病不适宜接受促排卵治疗及不能耐受妊娠患者;有高泌乳素血症及产生高雄激素的其他内分泌疾病,如卵巢和肾上腺肿瘤等。对照组按照 1:1 与研究组根据年龄、不孕年限和体重指数等患者基本资料进行倾向得分匹配^[7]。本研究严格遵守《赫尔辛基宣言》并得到医院医学伦理学委员会的审批,参与对象均签署知情同意书。

2. 超促排卵及取卵:按本中心孕激素促排卵方案进行促排^[8]。从月经周期的第 3~5 天开始促排,在促排 7~8 天后,阴道超声监测卵泡的发育情况,并进行性激素水平的测定,根据卵泡的发育情况及血清中的激素水平,调整用药量,当有 1 个以上卵泡的直径达到 20mm 或者 3 个以上的卵泡直径达到 18mm 以上时扳机,扳机 34~36h 后在阴道超声引导下取卵术。

3. 剥除卵丘细胞:先用巴斯德管将取到的 COCs 在 2ml G-IVF(瑞典 Vitrolife 公司)中洗去残留红细胞,随后转入含 1ml G-IVF 的 Falcon 353037 培养皿(美国 Corning 公司)中,置于培养箱内继续孵育 3~4h。授精操作前,先在无菌大皿 Falcon 353003 中做一个 200 μl G-IVF 的液滴,再将待切除卵丘颗粒细胞的 COCs 转入液滴中(≤ 5 个 COCs),用 1ml BD 注射器在 COC 周围呈井字形切割 4 下(图 1),切除卵母细胞周围约 80% 的卵丘颗粒细胞后,随后将处理好的 COC 转入含 1ml G-IVF 的 Falcon 353037 培养皿中,等待加精。重复上述操作,将所有需要切除卵丘颗粒细胞的 COCs 处理完毕。上述所有操作均是在 37 $^{\circ}\text{C}$, 6% CO_2 的操作箱(美国 Astec 公司, ss-250)中进行。

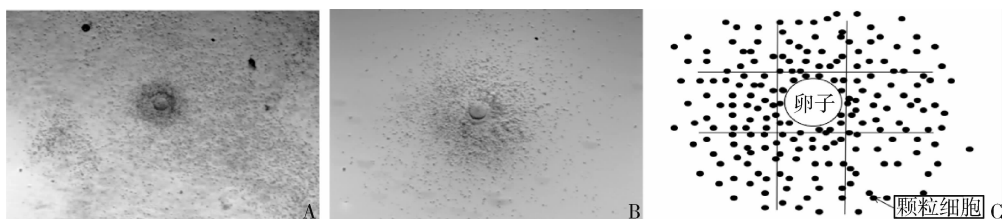


图 1 卵丘颗粒细胞部分去除前后的比较($\times 4$)

A. 颗粒细胞部分去除前;B. 颗粒细胞部分去除后;C. 切卵丘示意图

4. 精液处理与体外受精:男方取卵日手淫法取精,密度梯度离心联合上游法优化处理精液,随后将精子置入 37 $^{\circ}\text{C}$ 、6% CO_2 培养箱内孵育备用。取卵后 3~4h,去除和未去除部分卵丘颗粒细胞的卵子行常规 IVF 授精。COC 均置于盛有 1ml G-IVF 的 Falcon 353037 培养皿中,加入经密度梯度离心后优选的精

子,孵育过夜后,观察原核。

5. 胚胎培养与观察:授精后约 16~18h 观察受精情况,72h 观察胚胎卵裂情况。采用 Cummins' 标准对第 3 天胚胎进行评级^[9]。其中 I 级和 II 级胚胎作为优质胚胎进行冷冻保存;III 级和 IV 级胚胎继续培养至囊胚期。囊胚采用 Gardner 和 Schoolcraft 评分系统进

行评级。在第 5 天或第 6 天,只有 3BC 级或更高级别的胚胎被冷冻,而囊胚在第 7 天至少达到 3CC 才有资格被冷冻。胚胎冷冻根据既有方法采用 Cryotop 进行^[10]。

6. 胚胎移植与妊娠结果判断:笔者所在中心常规采用冻融胚胎移植(FET),胚胎移植的内膜准备主要有自然周期、微刺激和激素替代 3 种方式,均按笔者所在中心常规进行^[11]。胚胎移植操作均在超声监测下进行,移植后 14 天行尿 hCG 检测,阳性为生化妊娠,再经 14 天行阴道超声检查,见孕囊者为临床妊娠。

7. 统计学方法:采用 SPSS 22.0 统计学软件对数据进行统计处理,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,计数资料以率(%)表示。计量资料符合正态分布者采用 *t* 检验,不符合正态分布者采用 *Kruskal-Wallis H* 检验,计数资料用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 患者基本资料:经过倾向得分匹配后共入选 710 个周期,研究组和对照组各 355 个周期。两组患者的年龄、不孕年限、体重指数、基础 FSH、基础 LH、不孕原因和平均获卵数等基本资料比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$,表 1)。

2. IVF 治疗时降低卵丘颗粒细胞密度对患者受精和胚胎发育的影响:研究组的受精率、正常受精率、有效成囊率和卵子利用率均高于对照组相应指标($P < 0.01$),异常受精率则低于对照组($P < 0.01$)。两组间卵裂率和优胚率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),详见表 2。

3. IVF 治疗时不同 COC 授精密度下卵丘颗粒细胞密度对胚胎学结局的影响:研究组(切除 COC 上部

分卵丘颗粒细胞)中按授精卵数分为低密度(1~5 个)、中密度(6~10 个)和高密度(11~15 个)3 组分别与对照组相应授精卵密度的患者进行比较,以分析不同授精密度情况下卵丘颗粒细胞密度对受精和胚胎发育的影响。3 个授精密度组内,研究组和对照组患者的年龄、不孕年限、体重指数、基础 FSH、基础 LH、不孕原因和平均获卵数等基本资料比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$,表 3)。

表 1 患者的基本资料 [$n(\%)$, $\bar{x} \pm s$]

项目	对照组	研究组	<i>P</i>
周期数	355	355	
年龄(岁)	32.03 ± 2.21	31.80 ± 2.40	0.199
不孕年限(年)	3.25 ± 2.00	3.31 ± 1.94	0.729
体重指数(kg/m ²)	21.86 ± 3.20	22.21 ± 3.36	0.150
基础 FSH(IU/L)	5.68 ± 1.38	5.65 ± 1.21	0.762
基础 LH(IU/L)	3.69 ± 2.13	4.02 ± 2.41	0.060
不孕原因			0.293
输卵管因素	212(59.72)	240(67.61)	
排卵障碍	12(3.38)	11(3.10)	
子宫内膜异位症	13(3.66)	10(2.82)	
混合因素	99(27.89)	80(22.54)	
不明原因	19(5.35)	14(3.94)	
获卵数	8.72 ± 3.75	8.68 ± 3.74	0.865

表 2 两组患者受精和胚胎发育的比较 [% (n/N)]

项目	对照组	研究组	<i>P</i>
受精率	79.88(2469/3091)	82.52(2516/3049)	0.008
正常受精率	68.88(2129/3091)	75.86(2313/3049)	0.000
异常受精率	11.00(340/3091)	6.66(203/3049)	0.000
卵裂率	97.98(2086/2129)	98.14(2270/2313)	0.698
优胚率	46.31(966/2086)	48.81(1108/2270)	0.099
有效囊胚形成率	17.50(199/1137)	23.21(276/1189)	0.001
卵子利用率	37.36(1157/3097)	43.86(1351/3080)	0.000

表 3 不同授精密度情况下两组患者基本资料 [$n(\%)$, $\bar{x} \pm s$]

项目	低密度(1~5 个)		中密度(6~10 个)		高密度(11~15 个)	
	对照组	研究组	对照组	研究组	对照组	研究组
周期数	79	79	153	153	123	123
年龄(岁)	32.56 ± 2.19	32.00 ± 2.06	32.09 ± 2.22	31.87 ± 2.52	31.60 ± 2.13	31.59 ± 2.44
不孕年限(年)	3.80 ± 2.35	3.14 ± 1.93	3.15 ± 2.01	3.23 ± 1.89	3.03 ± 1.66	3.53 ± 2.01
体重指数(kg/m ²)	22.28 ± 3.70	22.66 ± 4.04	21.86 ± 3.24	22.39 ± 3.40	21.59 ± 2.78	21.72 ± 2.74
基础 FSH(IU/L)	6.21 ± 1.75	5.76 ± 1.41	5.57 ± 1.30	5.77 ± 1.20	5.45 ± 1.11	5.42 ± 1.03
基础 LH(IU/L)	3.37 ± 2.21	3.93 ± 3.08	3.65 ± 2.07	4.04 ± 2.13	3.96 ± 2.14	4.05 ± 2.26
不孕原因						
输卵管因素	41(51.90)	44(55.70)	96(62.75)	108(70.59)	75(60.98)	88(71.54)
排卵障碍	4(5.06)	2(2.53)	3(1.96)	2(1.31)	5(4.07)	7(5.69)
子宫内膜异位症	4(5.06)	3(3.80)	9(5.88)	6(3.92)	0	1(0.81)
混合因素	26(32.91)	28(35.44)	36(23.53)	31(20.26)	37(30.08)	21(17.07)
不明原因	4(5.06)	2(2.53)	9(5.88)	6(3.92)	6(4.88)	6(4.88)
获卵数	3.46 ± 1.34	3.48 ± 1.43	8.16 ± 1.36	8.03 ± 1.34	12.81 ± 1.44	12.81 ± 1.33

当 COC 授精密度 ≤ 5 个时,研究组和对照组之间受精率、正常受精率、异常受精率、卵裂率、优胚率、有效成囊率和卵子利用率比较,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。当 COC 授精密度 > 5 个时,研究组的正常受精率、有效成囊率和卵子利用率显著高于对照组

($P < 0.05$),异常受精率显著低于对照组 ($P < 0.05$),其中当 COC 授精密度 > 10 个时,研究组的受精率、正常受精率、异常受精率、有效成囊率和卵子利用率与对照组的比较,差异有统计学意义 ($P < 0.01$),详见表 4。

表 4 不同授精密度情况下两组患者受精和胚胎发育的比较 [% (n/N)]

项目	低密度(1~5 个)		中密度(6~10 个)		高密度(11~15 个)	
	对照组	研究组	对照组	研究组	对照组	研究组
受精率	83.21(223/268)	87.64(234/267)	81.96(1022/1247)	81.25(988/1216)	77.66(1224/1576)	82.63(1294/1566)**
正常受精率	71.64(192/268)	78.65(210/267)	70.65(881/1247)	75.41(917/1216)**	67.01(1056/1576)	75.73(1186/1566)**
异常受精率	11.57(31/268)	8.99(24/267)	11.31(141/1247)	5.84(71/1216)**	10.66(168/1576)	6.90(108/1566)**
卵裂率	99.48(191/192)	98.10(206/210)	97.84(862/881)	97.71(896/917)	97.82(1033/1056)	98.48(1168/1186)
优胚率	47.12(90/191)	55.34(114/206)	45.71(394/862)	46.09(413/896)	46.66(482/1033)	49.74(581/1168)
有效囊胚形成率	16.83(17/101)	20.88(19/91)	16.84(79/469)	22.18(108/487)*	18.17(103/567)	24.39(149/611)**
卵子利用率	39.19(107/273)	45.09(124/275)	37.82(472/1248)	42.31(520/1229)*	36.48(575/1576)	45.05(710/1576)**

与同密度对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

4. IVF 治疗时降低卵丘颗粒细胞密度对患者胚胎移植结局的影响:研究组和对照组分别进行了 449 和 387 个 FET 周期,研究组和对照组的生化妊娠率、临床妊娠率、宫外孕率、流产率、种植率、活产率、继续妊娠率等比较,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$);研究组的新生儿孕周、出生体重和出生缺陷率与对照组相似,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),详见表 5。

表 5 两组患者 FET 结果的比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	对照组	研究组	P
FET 周期数	387	449	
移植胚胎数	1.74 $\pm$ 0.44	1.76 $\pm$ 0.43	0.664
生化妊娠率 [% (n/N)]	57.36(222/387)	56.12(252/449)	0.718
临床妊娠率 [% (n/N)]	53.75(208/387)	51.45(231/449)	0.507
宫外孕率 [% (n/N)]	2.88(6/208)	3.03(7/231)	0.928
流产率 [% (n/N)]	11.06(23/208)	13.42(31/231)	0.452
种植率 [% (n/N)]	39.70(268/675)	36.50(288/789)	0.208
活产率 [% (n/N)]	45.48(176/387)	42.09(189/449)	0.325
继续妊娠率 [% (n/N)]	0.78(3/387)	0.89(4/449)	1.000
新生儿数	231	243	
新生儿孕周(周)	37.94 $\pm$ 1.90	37.53 $\pm$ 2.55	0.085
新生儿出生体重(g)	2972.57 $\pm$ 591.44	2962.74 $\pm$ 681.07	0.867
出生缺陷率 [% (n/N)]	1.30(3/231)	2.88(7/243)	0.340

讨 论

随着辅助生殖技术的发展,人们不断探索如何改进实验方法以获取更高的受精率、更优质的胚胎及更高的临床妊娠率。本研究旨在了解 IVF 治疗时卵丘颗粒细胞存在的密度对早期胚胎发育的影响,发现在 IVF 授精前通过切除部分卵丘颗粒细胞降低其密度

可显著提高卵子的正常受精率、降低异常受精率,改善早期胚胎质量,增加患者卵子利用率,而对胚胎移植结果没有明显影响。

卵丘颗粒细胞可分泌雌二醇(estradiol, E₂)及孕酮(progesterone, P₄),常规 IVF 受精过程中大量颗粒细胞产生的高水平的 E₂、P₄ 对胚胎具有直接的毒性作用^[12,13]。卵丘颗粒细胞还可产生大量的活性氧类物质(reactiveoxygenspecies, ROS),引起细胞膜流动性降低,促使 DNA 碎片形成和胚胎发育停止,导致透明带硬化,影响胚胎正常孵出,降低胚胎的生存能力^[14,15]。此外体外培养过程中大量颗粒细胞也会消耗培养液中的营养,使卵子处于一个相对营养不足的环境中。为减少卵丘颗粒细胞代谢产物对卵子及受精卵可能产生的负面影响,本研究在授精前切除过多的颗粒细胞以降低其密度,在保证受精时间的同时,降低卵子、受精卵周围不良代谢产物的浓度,减少对授精液营养成分的消耗。Gianaroli 等^[3]研究发现,减少 COC 暴露于授精液中的时间后,受精率和种植率都显著提高,表明减少 COC 暴露于授精液中的时间有利于胚胎发育。

多项研究认为短时受精有利于胚胎质量及种植潜能的提高,是减少了卵丘或精子代谢废物对卵子产生的潜在损害,这与本研究有异曲同工之效^[16~18]。但是史鸿志等^[19]研究发现,过夜受精在受精率、优质胚胎率等指标上甚至优于短时受精联合补救 ICSI,因为过夜受精减少了体外操作和暴露时间,一些卵母细胞在过夜培养过程中胞质和胞核达到了更好的成熟

状态,且在一个合适的受精浓度范围内,精卵作用时间的延长并不产生负面的影响,反而为卵母细胞提供了更多的优质精子选择。本研究通过在授精前切除COC上部分卵丘颗粒细胞以降低其密度的方法,让卵子在过夜受精的同时又减少了卵丘颗粒细胞代谢废物对卵子产生的潜在损害,研究结果证明了此授精方案的有效性,未来将需进一步扩大样本量,并进行随机对照研究来探索授精前切除部分颗粒细胞对卵子受精和胚胎发育的影响。

既然授精过程中卵丘颗粒细胞产生的代谢废物会影响受精和胚胎发育,那么IVF授精时授精皿中不同的COC密度就会造成卵丘颗粒细胞密度的不同,可能会影响卵子受精和胚胎发育。因此本研究将入组患者按照IVF授精时授精皿内卵子数分组,分析不同授精密度下不同卵丘颗粒细胞密度对受精结果和早期胚胎发育的影响。本研究结果显示,当COC授精密度 ≤ 5 个时,研究组和对照组之间受精率、卵裂率、优胚率、有效成囊率和卵子利用率比较,差异均无统计学意义。结果与刘晓妍等^[20]研究结果一致,该研究发现,当授精密度为1~4个卵子时,授精前剥除部分卵丘细胞不会影响IVF的受精结局;当COC授精密度 > 5 个以后,研究组的正常受精率、有效成囊率和卵子利用率均显著高于对照组的相应指标,异常受精率也显著低于对照组;当COC授精密度 > 10 个时,研究组的受精率、正常受精率、异常受精率、有效成囊率和卵子利用率与对照组的差异愈加显著($P < 0.01$)。结果表明,卵丘颗粒细胞的高密度存在可能产生了有害的代谢物质影响了受精和胚胎发育,通过切除COC上部分卵丘颗粒细胞降低其密度后,能有效改善胚胎学结局,同时这种改善作用随着授精密度增加更加显著。

IVF治疗的临床结局是医患共同关心的问题。本研究发现研究组和对照组的生化妊娠率、临床妊娠率、宫外孕率、流产率、种植率和活产率等比较,差异均无统计学意义,两组的新生儿孕周、出生体重和出生缺陷率也相似,说明IVF授精过程中降低卵子周围颗粒细胞的密度不会对胚胎移植结局造成影响。

本研究未全部剥除而只是部分切除卵丘颗粒细胞,是因为卵丘颗粒细胞对卵母细胞与精子结合有重要的调节作用。研究表明,卵丘颗粒细胞具有参与精子与卵母细胞的相互识别、维持精子运动活力、引导精子到卵母细胞、诱导精子获能和顶体反应、防止透

明带硬化、提高精子的体外受精等能力。Fatechi等^[21]和Li等^[22]的研究表明,卵丘颗粒细胞的存在增加卵母细胞的体外受精率、卵裂率和胚胎后续发育能力,这说明卵丘颗粒细胞的存在不仅影响精卵结合,而且对卵母细胞的成熟以及受精卵的进一步发育具有重要的影响。另有研究发现,全部除去卵丘颗粒细胞的卵母细胞形成雌雄原核的能力受到了损伤,并有较高的多精受精率,提示卵丘颗粒细胞的存在有助于雌雄原核的形成及防止多精受精。

综上所述,本研究结果表明通过切除COC上的卵丘颗粒细胞以降低其密度,能够改善患者IVF治疗时的胚胎学结局。

参考文献

- 1 罗丽兰. 不孕与不育[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1999: 418-426
- 2 张丽红, 王克华, 李娟, 等. 缩短受精前卵母细胞培养和精卵共孵育时间对妊娠结局的影响[J]. 生殖医学杂志, 2006, 15(2): 127-129
- 3 Gianaroli L, Magli MC, Ferraretti AP, *et al.* Reducing the time of sperm oocyte interaction in human *in vitro* fertilization improves the implantation rate[J]. Hum Reprod, 1996, 11(1): 166-171
- 4 Dirnfeld M, Bider D, Koifman M, *et al.* Shortened exposure of oocytes to spermatozoa improves in vitro fertilization outcome; a prospective randomized controlled study[J]. Hum Reprod, 1999, 14(10): 2562-2564
- 5 Kattera S, Chen C. Short co-incubation of gametes in *in vitro* fertilization improves implantation and pregnancy rates: a prospective, randomized, controlled study[J]. Fertil Steril, 2003, 80(4): 1017-1021
- 6 徐志鹏, 张宁媛, 陈林君, 等. 短时受精周期中患者年龄与多原核合子发生及妊娠结局的关系[J]. 中国优生与遗传杂志, 2012, 20(8): 118-119
- 7 Du T, Wang Y, Fan Y, *et al.* Fertility and neonatal outcomes of embryos achieving blastulation on Day 7: are they of clinical value? [J]. Hum Reprod, 2018, 33(6): 1038-1051
- 8 Dong J, Wang Y, Chai WR, *et al.* The pregnancy outcome of progestin-primed ovarian stimulation using 4 versus 10 mg of medroxyprogesterone acetate per day in infertile women undergoing in vitro fertilization: a randomized controlled trial[J]. BJOG, 2017, 124(7): 1048-1055
- 9 Cummins JM, Breen TM, Harrison KL, *et al.* A formula for scoring human embryo growth rates in in vitro fertilization: its value in predicting pregnancy and in comparison with visual estimates of embryo quality[J]. J In Vitro Fert Embryo Transf, 1986, 3(5): 284-295
- 10 Cobo A, de los Santos MJ, Castell D, *et al.* Outcomes of vitrified early cleavage-stage and blastocyst-stage embryos in a cryopreservation program: evaluation of 3, 150 warming cycles[J]. Fertil Steril, 2012, 98(5): 1138-1146, e1

(转第37页)

- for imaging of epidermal growth factor receptor – expressing tumors [J]. J Nucl Med, 2018, 59(2): 340 – 346
 - 7 Abourbeh G, Itamar B, Salnikov O, *et al.* Identifying erlotinib – sensitive non – small cell lung carcinoma tumors in mice using [(11) c] erlotinib pet [J]. EJNMMI Res, 2015, 5: 4
 - 8 Makino A, Miyazaki A, Tomoike A, *et al.* Pet probe detecting non – small cell lung cancer susceptible to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor therapy [J]. Bioorg Med Chem, 2018, 26(8): 1609 – 1613
 - 9 Sun X, Xiao Z, Chen G, *et al.* A pet imaging approach for determining egfr mutation status for improved lung cancer patient management [J]. Sci Transl Med, 2018, 10(431): 1 – 13
 - 10 Sundin A, Arnold R, Baudin E, *et al.* Enets consensus guidelines for the standards of care in neuroendocrine tumors: radiological, nuclear medicine & hybrid imaging [J]. Neuroendocrinology, 2017, 105(3): 212 – 244
 - 11 Backhaus P, Huss S, Kosek V, *et al.* Lung metastases of intracranial atypical meningioma diagnosed on posttherapeutic imaging after ¹⁷⁷Lu – dotatate therapy [J]. Clin Nucl Med, 2018, 43(6): e184 – e185
 - 12 Zhang J, Kulkarni HR, Singh A, *et al.* Complete regression of lung metastases in a patient with metastatic castration – resistant prostate cancer using ¹⁷⁷Lu – psma radioligand therapy [J]. Clin Nucl Med, 2020, 45(1): e48 – e50
 - 13 Vogelmeier CF, Criner GJ, Martinez FJ, *et al.* Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive lung disease 2017 report. Gold executive summary [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2017, 195(5): 557 – 582
 - 14 Zhou D, Lee H, Rothfuss JM, *et al.* Design and synthesis of 2 – amino – 4 – methylpyridine analogues as inhibitors for inducible nitric oxide synthase and in vivo evaluation of [¹⁸F] 6 – (2 – fluoropropyl) – 4 – methyl – pyridin – 2 – amine as a potential pet tracer for inducible nitric oxide synthase [J]. J Med Chem, 2009, 52(8): 2443 – 2453
 - 15 Huang HJ, Isakow W, Byers DE, *et al.* Imaging pulmonary inducible nitric oxide synthase expression with pet [J]. J Nucl Med, 2015, 56(1): 76 – 81
 - 16 Jones HA, Marino PS, Shakur BH, *et al.* In vivo assessment of lung inflammatory cell activity in patients with copd and asthma [J]. Eur Respir J, 2003, 21(4): 567 – 573
 - 17 Subramanian DR, Jenkins L, Edgar R, *et al.* Assessment of pulmonary neutrophilic inflammation in emphysema by quantitative positron emission tomography [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2012, 186(11): 1125 – 1132
 - 18 Sontake V, Gajjala PR, Kasam RK, *et al.* New therapeutics based on emerging concepts in pulmonary fibrosis [J]. Expert Opin Ther Targets, 2019, 23(1): 69 – 81
 - 19 Weatherley ND, Eaden JA, Stewart NJ, *et al.* Experimental and quantitative imaging techniques in interstitial lung disease [J]. Thorax, 2019, 74(6): 611 – 619
 - 20 Xiong Y, Nie D, Liu S, *et al.* Apoptotic pet imaging of rat pulmonary fibrosis with [¹⁸F] ml – 8 [J]. Mol Imaging, 2018, 17: 1536012118795728
 - 21 Xiong Y, Nie D, Liu S, *et al.* Apoptotic pet imaging of rat pulmonary fibrosis with small – molecule radiotracer [J]. Mol Imaging Biol, 2019, 21(3): 491 – 499
 - 22 Desogere P, Tapias LF, Hariri LP, *et al.* Type i collagen – targeted pet probe for pulmonary fibrosis detection and staging in preclinical models [J]. Sci Transl Med, 2017, 9(384): 1 – 13
 - 23 Schniering J, Benesova M, Brunner M, *et al.* ¹⁸F – azafol for detection of folate receptor – beta positive macrophages in experimental interstitial lung disease – a proof – of – concept study [J]. Front Immunol, 2019, 10: 2724
 - 24 Lukey PT, Coello C, Gunn R, *et al.* Clinical quantification of the integrin alphavbeta6 by [¹⁸F] fb – a20fmdv2 positron emission tomography in healthy and fibrotic human lung (petal study) [J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2020, 47(4): 967 – 979
 - 25 Kimura RH, Wang L, Shen B, *et al.* Evaluation of integrin $\alpha\beta 6$ cystine knot PET tracers to detect cancer and idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 4673
- (收稿日期: 2020 – 05 – 12)
(修回日期: 2020 – 05 – 19)
-
- (接第 48 页)
- 11 Du T, Chen H, Fu R, *et al.* Comparison of ectopic pregnancy risk among transfers of embryos vitrified on day 3, day 5, and day 6 [J]. Fertil Steril, 2017, 108(1): 108 – 116, e1
 - 12 Kattera S, Chen C. Short coincubation of gametes in in vitro fertilization improves implantation and pregnancy rates: a prospective, randomized, controlled study [J]. Fertil Steril, 2003, 80(4): 1017 – 1021
 - 13 Valbuena D, Martin J, Pablo JLD, *et al.* Increasing levels of estradiol are deleterious to embryonic implantation because they directly affect the embryo [J]. Fertil Steril, 2001, 76(5): 962 – 968
 - 14 Bungum M, Bungum L, Humaidan P. A prospective study, using sibling oocytes, examining the effect of 30 seconds versus 90 minutes gamete co – incubation in IVF [J]. Hum Reprod, 2006, 21(2): 518 – 523
 - 15 Nasresfahani M, Johnson MH, Aitken RJ. The effect of iron and iron chelators on the in – vitro block to development of the mouse preimplantation embryo: BAT6 a new medium for improved culture of mouse embryos in vitro [J]. Hum Reprod, 1990, 5(8): 997 – 1003
 - 16 李宜学, 田喜凤, 王晓波, 等. 短时受精在体外受精 – 胚胎移植治疗周期中的应用价值 [J]. 热带医学杂志, 2013, 13(1): 2104 – 2106
 - 17 刁英, 杨智敏, 谭兵兵, 等. 短时受精在体外受精 – 胚胎移植治疗周期中的应用价值 [J]. 中国妇幼保健, 2010, 25(15): 2104 – 2106
 - 18 简启亮, 王芳, 丁楠, 等. 短时受精与常规受精在体外受精周期效果的 Meta 分析 [J]. 中国循证医学杂志, 2014, 14(12): 1504 – 1509
 - 19 史鸿志, 张楠, 秦妍, 等. 短时受精联合 R – ICSI、half – ICSI、过夜受精在不同不孕情况中的应用 [J]. 生殖医学杂志, 2018, 27(12): 61 – 65
 - 20 刘晓妍, 张守信, 郝翠芳, 等. 卵母细胞授精前剔除部分卵丘细胞对体外受精 – 胚胎移植结局的影响 [J]. 生殖医学杂志, 2013, 22(3): 167 – 170
 - 21 Fatehi AN, Zeinstra EC, Kooij RV, *et al.* Effect of cumulus cell removal of in vitro matured bovine oocytes prior to in vitro fertilization on subsequent cleavage rate [J]. Theriogenology, 2002, 57(4): 1347 – 1355
 - 22 Li R, Norman RJ, Armstrong DT, *et al.* Oocyte – secreted factor(s) determine functional differences between bovine mural granulosa cells and cumulus cells [J]. Biol Reprod, 2000, 63(3): 839 – 845
- (收稿日期: 2020 – 05 – 25)
(修回日期: 2020 – 06 – 13)