

补充褪黑素的人卵母细胞体外培养成熟技术在 COH 周期中的应用

任宇^{1,2,3,4}, 韩星星^{1,4,5,6}, 张琦琦^{1,4,5,6}, 刘璐⁷, 许孝凤^{1,4,5,6}, 章志国^{1,2,3,4}, 邹慧娟^{1,2,3,4}

摘要 目的 比较同一控制性超促排卵 (COH) 治疗周期中,体内成熟与改良技术体外培养成熟 (IVM) 的卵母细胞的早期胚胎发育能力及临床结局,探讨补充褪黑素的 IVM 技术在临床中的应用。方法 收集 159 例患者在 COH 周期中的 920 个成熟卵母细胞进行常规体外受精 (IVF/ICSI) 处理,同时收集同周期中 1 283 个未成熟卵母细胞,在添加褪黑素的改良 IVM 培养基中培养成熟后行 ICSI 处理。通过回顾性分析,比较常规助孕技术与改良 IVM 技术这两种方式,对辅助生殖治疗的助孕结局和妊娠结局的影响。结果 与从 COH 周期中收集到的行常规 IVF/ICSI 处理的成熟卵母细胞相比,经改良 IVM 技术促成成熟的卵母细胞的优质囊胚形成率较低。但经胚胎移植后,两种方式获得的成熟卵母细胞的临床结局包括临床妊娠率、足月产率、婴儿体长、新生儿 Apgar 评分,差异均无统计学意义。结论 IVM 可以提高从 COH 周期中回收的未成熟卵母细胞的卵子利用率,改善辅助生殖技术助孕患者的妊娠结局。

关键词 卵母细胞;体外培养成熟技术;体外受精;控制性超促排卵;妊娠结局

中图分类号 R 715.5

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2024)06-0983-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.06.011

2024-04-25 接收

基金项目:国家重点研发计划资助项目(编号:2022YFC2703000);国家自然科学基金(编号:32000642,82071724);安徽省卫健委重点项目(编号:AHWJ2023A10019);安徽省重点研发与开发计划项目(编号:202204295107020041);安徽医科大学校科研基金(编号:2023xkj158)

作者单位:¹安徽医科大学第一附属医院妇产科,合肥 230032

²国家卫生健康委配子及生殖道异常研究重点实验室,合肥 230032

³出生人口健康教育重点实验室,合肥 230032

⁴生命资源保存与人工器官教育部工程研究中心,合肥 230032

⁵生殖健康与遗传安徽省重点实验室,合肥 230032

⁶安徽省转化医学研究院,合肥 230032

⁷安徽医科大学第一附属医院东城院区肥东县人民医院妇产科,合肥 231600

作者简介:任宇,女,硕士研究生;

邹慧娟,女,博士,副研究员,硕士生导师,责任作者, E-mail:zhj@ahmu.edu.cn

在常规的体外受精 (*in vitro* fertilization / intracytoplasmic sperm injection, IVF/ICSI) 治疗过程中,收集的未成熟卵母细胞由于在促排卵的过程中受到生长抑制,发育落后,常被直接丢弃^[1]。随着未成熟卵母细胞体外成熟 (*in vitro* maturation, IVM) 体系的不断改进,未成熟卵母细胞成为重要的生育资源。IVM 技术是指通过特殊的培养条件,模拟人体促卵母细胞成熟的环境,促使未成熟的卵母细胞恢复减数分裂、可受精并发育成胚胎^[2]。IVM 技术为因各种原因无法成功进行常规 IVF/ICSI 治疗的女性提供了新的生育选择,可以作为女性生育力的体外储备方法之一。课题组前期研究^[3]显示,将褪黑素 (melatonin, MT) 添加到 IVM 培养液中 (新型改良 IVM 技术),可以显著提高控制性超促排卵 (controlled ovarian hyperstimulation, COH) 周期中人未成熟卵母细胞的发育潜能。该研究通过观察比较从同一 COH 周期中收集到的行常规 IVF/ICSI 的成熟卵母细胞和未成熟卵母细胞行改良 IVM 技术成熟后卵母细胞的受精、卵裂及胚胎发育情况和妊娠结局,探讨改良 IVM 技术对辅助生殖治疗临床结局的影响。

1 材料与方法

1.1 病例资料 采用回顾性队列研究,分析 2019 年 6 月—2023 年 12 月期间 159 例就诊于安徽医科大学第一附属医院妇产科生殖医学中心接受 IVF/ICSI + IVM-ET 治疗患者的临床资料,其中女方年龄 20 ~ 43 (30.25 ± 4.29) 岁,男方年龄 23 ~ 48 (31.55 ± 4.88) 岁。患者的基础情况见表 1。该研究经安徽医科大学伦理委员会批准 (编号:2015013)。

1.2 方法

1.2.1 试剂耗材 供卵者自体血清;重组人卵泡刺激素购自巴西 Serino Barueri 公司;促性腺激素释放激素拮抗剂购自瑞典 Merck 公司;人绒毛膜促性腺激素 (human chorionic gonadotropin, hCG) 购自澳大利亚 AESCA Pharma 公司;丙酮酸钠、双抗、TCM199 购自美国 Sigma 公司;胚胎培养液购自澳大利亚

Cook 公司;组织培养油购自瑞典 Vitrolife 公司;PVP 购自美国 Irvine Scientific 公司。

表 1 助孕患者及配偶一般资料($\bar{x} \pm s$)

项目	数值
例数	159
女方年龄(岁)	30.25 ± 4.29
体质量指数(kg/m ²)	23.17 ± 3.63
不孕年限(年)	3.45 ± 2.55
基础卵泡刺激素(IU/L)	7.02 ± 2.62
基础黄体生成素(IU/L)	6.23 ± 4.84
基础雌二醇(pmol/L)	141.74 ± 93.10
催乳素(mIU/L)	41.66 ± 104.12
孕酮(nmol/L)	1.84 ± 1.81
睾酮(nmol/L)	1.84 ± 2.57
男方年龄(岁)	31.55 ± 4.88
精子浓度(×10 ⁶ /ml)	59.28 ± 55.80
前向运动精子率(%)	32.61 ± 21.39
精子畸形率(%)	96.63 ± 2.25
精子 DNA 碎片率(%)	18.46 ± 10.29
精子高可染性指数(%)	8.53 ± 4.66

1.2.2 控制性超促排卵方案 所有患者均采用 COH 方案(促性腺激素释放激素激动剂长方案、拮抗剂方案或微刺激方案),B 超显示 2 个优势卵泡直径 ≥ 18 mm 或 3 个优势卵泡直径 ≥ 17 mm 时,注射 hCG 10 000 U,34 ~ 36 h 后行超声引导下经阴道穿刺取卵术完成取卵。取卵日患者手淫取精,经上游法或密度梯度离心后挑选活动精子进行 IVF 或 ICSI,若无活动精子,则进行睾丸穿刺获取精子进行 ICSI。所有 IVM 卵母细胞行 ICSI 技术授精。

1.2.3 IVM 培养 IVM 培养液的配制:80% TCM199(含双抗及丙酮酸钠) + 0.075 IU/ml 促卵泡激素(follicle-stimulating hormone, FSH) + 0.5 IU/ml hCG + 0.8 μg/ml 17-雌二醇(E₂) + 10⁻⁵ mol/L MT + 20% 自体血清,平衡过夜备用。

取卵后在体视显微镜下筛卵。卵母细胞根据卵丘-卵母细胞复合体和剥离颗粒细胞方法确定成熟度。以第一极体排出判定为卵母细胞成熟。获得的第二次减数分裂(metaphase-II, M II)期成熟卵母细胞培养进行常规 IVF/ICSI 处理,生发泡(germinal vesicle, GV)期或第一次减数分裂(metaphase-I, M I)期的未成熟卵母细胞进行 IVM 体外培养,培养 24 ~ 48 h 后, M II 成熟卵母细胞进行 IVF/ICSI,放入培养箱中继续发育。

1.2.4 胚胎移植 M II 期卵母细胞根据精子情况

行 IVF/ICSI 方式授精,第 3 日行胚胎移植或者第 5 日行囊胚移植,移植胚胎数目为 1 ~ 2 个。解冻胚胎时,首先将包含囊胚的 Cryotop 放置在含有 1 mol/L 蔗糖、温度为 37 °C 的解冻液中,持续几秒钟。然后将囊胚转移到含有 0.5 mol/L 蔗糖的稀释液中保持 3 min,再用不含蔗糖的稀释液冲洗 3 min。存活的囊胚被取出,放置在含有 6% CO₂ 和 5% O₂、温度为 37 °C 的湿润环境中。移植后第 15 日血 HCG 检测提示妊娠。移植后 30 ~ 35 d 行 B 超检查,见孕囊确定临床妊娠。

1.2.5 观察指标 主要观察指标及计算方法为:受精率 = 双原核卵母细胞数/成熟卵母细胞数 × 100%;分裂率 = 分裂胚胎数/双原核卵母细胞数 × 100%;囊胚形成率 = 形成囊胚数/分裂胚胎数 × 100%;优质囊胚形成率 = 优质囊胚数/分裂胚胎数 × 100%;生化妊娠率 = 生化妊娠周期数/胚胎移植周期数 × 100%;临床妊娠率 = 临床妊娠周期数/胚胎移植周期数 × 100%;活产率 = 活产周期数/胚胎移植周期数 × 100%;流产率 = 流产周期数/胚胎移植周期数 × 100%;早产率 = 早产周期数/胚胎移植周期数 × 100%;足月产率 = 足月产周期数/胚胎移植周期数 × 100%;新生儿男婴率 = 新生男婴数/新生儿总数 × 100%;新生儿女婴率 = 新生女婴数/新生儿总数 × 100%;新生儿双胎率 = 双胎数/总胎数 × 100%。新生儿婴儿健康状况的评价:新生儿呈正常生理状况、适当体温、正常发育、良好的皮肤颜色、正常呼吸心率、健康喂养、无感染的表现,评为“良好”;新生儿呈轻微生理不足、略有不规则、轻微发育滞后、轻微喂养问题、轻微皮肤问题、轻微感染迹象的表现,评为“一般”。

1.3 统计学处理 使用 SPSS 26.0 软件进行数据分析处理。符合正态分布的计量资料采用 *t* 检验进行组间比较,并用 $\bar{x} \pm s$ 表示。计数资料采用 χ^2 检验进行差异性分析,以百分率(%)表示。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 常规和改良 IVM 组卵母细胞的胚胎发育情况

本研究纳入的 159 例患者共 159 个取卵周期中,共取得 2 203 个卵母细胞,其中成熟卵母细胞 920 个(常规组),未成熟卵母细胞 1 283 个(IVM 组)。如表 2 所示,未成熟卵母细胞经改良 IVM 技术培养 24 ~ 48 h 后,有 866 个卵母细胞分裂为 M II 期的成熟卵母细胞。经 IVF/ICSI 受精后,常规组和 IVM 组

的双原核数、分裂胚胎数目、卵母细胞分裂率差异无统计学意义。IVM 组的成熟卵母细胞受精率高于常规组,差异有统计学意义($P < 0.001$)。常规组的形成囊胚数目、卵母细胞囊胚形成率、可移植胚胎数目、优质囊胚数目以及优质囊胚形成率均高于改良 IVM 组,且差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 常规和改良 IVM 组的胚胎移植助孕情况 如表 3 所示,本研究中常规组的胚胎移植周期数是 123 个,改良 IVM 组的胚胎移植周期数 75 个。IVM 组的首次移植胚胎数是(1.45 ± 0.56)个,大于常规组的首次移植胚胎数(1.28 ± 0.51)个,差异有统计学意义($P < 0.05$),但是两组间的每周期移植胚胎数差异无统计学意义。此外,常规组和 IVM 组的首次生化妊娠率、每移植周期生化妊娠率、首次临床妊娠率和每移植周期临床妊娠率,差异无统计学意义。

2.3 常规和改良 IVM 组的妊娠结局 本研究中已有 162 个移植周期获得妊娠结局。如表 4 所示,常规组和 IVM 组两组间的首次移植活产率、首次移植流产率、每移植周期活产率、每移植周期流产率差异均无统计学意义。在已知妊娠结局的 43 个移植周期的常规组和 16 个移植周期的 IVM 组中,分娩孕周分别是(38.22 ± 1.83)周、(37.21 ± 2.70)周,差异无统计学意义,且两组的首次移植周期早产率、每

移植周期早产率、首次移植周期足月产率的差异均无统计学意义。在已知妊娠结局的移植周期中,常规组共获得 50 个新生儿,改良 IVM 组共获得 24 个新生儿,两组的男婴率、女婴率、单双胎率、单胎婴儿体质量、单胎婴儿体长、双胎婴儿体长、单胎婴儿健康状况、双胎婴儿健康状况、单胎 Apgar 评分、双胎 Apgar 评分的差异均无统计学意义。但是 IVM 组的新生儿双胎婴儿体质量低于常规组,且差异有统计学意义($P < 0.05$)。

3 讨论

在辅助生殖领域,常规 COH 治疗是一个复杂且精细的过程,虽然如今 COH 的应用在卵泡发育方面取得了许多进步,使卵泡能够更加均匀且同步地发育,但临床实践仍然面临着卵泡发育不均的挑战。在 COH 周期中收集到的卵母细胞主要来源于两类卵泡:大卵泡(优势卵泡)和小卵泡。大卵泡通常产生成熟卵母细胞,而小卵泡则多产生未成熟卵母细胞^[4]。这些未成熟卵母细胞,由于核质成熟不同步及发育潜能较差,常被认为在生育利用上价值有限,从而被丢弃。然而,考虑到人类卵母细胞的珍贵性和稀缺性,这种做法值得深入探讨。从医学伦理和资源利用的角度来看,如果能够合理利用这些 COH

表 2 常规和改良 IVM 组卵母细胞的胚胎发育情况 [% (n/n), $\bar{x} \pm s$]

项目	常规组	IVM 组	t/χ^2 值	P 值
卵母细胞总数(个)	920	1 283	-	-
卵母细胞成熟数目(个)	920	866	-	-
卵母细胞成熟率	100(920/920)	67.50(866/1283)	368.833	<0.001
每取卵周期双原核数(个)	4.44 ± 4.01	4.65 ± 3.37	-0.515	0.607
成熟卵母细胞受精率	76.74(706/920)	85.45(740/866)	21.963	<0.001
每取卵周期分裂胚胎数目(个)	4.27 ± 3.94	4.46 ± 3.21	-0.453	0.651
卵母细胞分裂率	96.32(680/706)	95.81(709/740)	0.245	0.621
形成囊胚数目(个)	2.54 ± 2.55	1.79 ± 1.10	3.425	0.001
卵母细胞囊胚形成率	59.56(405/680)	40.20(285/709)	52.048	<0.001
可移植胚胎数(个)	2.52 ± 2.56	1.76 ± 1.09	3.455	0.001
优质囊胚数目(个)	2.04 ± 2.34	1.33 ± 1.02	3.548	<0.001
卵母细胞优质囊胚形成率	47.49(325/680)	29.76(211/709)	47.365	<0.001

表 3 常规和改良 IVM 组的胚胎移植助孕情况 [% (n/n), $\bar{x} \pm s$]

项目	常规组	IVM 组	t/χ^2 值	P 值
移植周期数(个)	123	75	-	-
首次移植胚胎数(个)	1.28 ± 0.47	1.45 ± 0.56	-2.114	0.036
每周期移植胚胎数(个)	1.34 ± 0.51	1.45 ± 0.55	-1.423	0.157
首次生化妊娠率	69.39(68/98)	62.32(43/69)	0.908	0.341
每移植周期生化妊娠率	69.92(86/123)	64.00(48/75)	0.746	0.388
首次临床妊娠率	60.20(59/98)	50.72(35/69)	1.479	0.224
每移植周期临床妊娠率	61.79(76/123)	50.67(38/75)	2.359	0.125

表4 常规和改良 IVM 组的妊娠结局 [% (n/n), $\bar{x} \pm s$]

项目	常规组	IVM 组	t/χ^2 值	P 值
移植周期总数	103	59	-	-
首次移植周期数	82	54	-	-
首次移植活产率	39.02 (32/82)	27.78 (15/54)	1.821	0.177
每移植周期活产率	41.75 (43/103)	27.12 (16/59)	3.467	0.063
首次移植流产率	60.98 (50/82)	72.22 (39/54)	1.821	0.177
每移植周期流产率	58.25 (60/103)	72.88 (43/59)	3.467	0.063
首次移植周期早产率	18.75 (6/32)	40.00 (6/15)	2.426	0.119
每移植周期早产率	25.58 (11/43)	43.75 (7/16)	1.816	0.178
首次移植周期足月产率	81.25 (26/32)	60.00 (9/15)	2.426	0.119
每移植周期足月产率	74.42 (32/43)	56.25 (9/16)	1.816	0.178
分娩孕周(周)	38.22 ± 1.83	37.21 ± 2.70	1.388	0.180
新生儿男婴率	52.00 (26/50)	70.83 (17/24)	2.363	0.124
新生儿女婴率	48.00 (24/50)	29.17 (7/24)	2.363	0.124
新生儿单胎率	83.33 (35/42)	60.00 (9/15)	3.418	0.064
新生儿双胎率	16.67 (7/42)	40.00 (6/15)	3.418	0.064
新生儿单胎婴儿体质量(g)	3 354.00 ± 540.92	3 314.44 ± 591.36	0.192	0.849
新生儿双胎婴儿体质量(g)	2 828.57 ± 254.74	2 433.33 ± 530.58	2.358	0.032
新生儿单胎婴儿体长(cm)	50.47 ± 2.69	48.67 ± 3.77	1.622	0.113
新生儿双胎婴儿体长(cm)	48.67 ± 1.07	46.92 ± 3.50	1.655	0.122
新生儿单胎婴儿健康状况	10.00 ± 0	10 ± 0.00	-	>0.05
新生儿双胎婴儿健康状况	10.00 ± 0	9.25 ± 1.39	1.528	0.17
新生儿单胎阿氏评分(Apgar)	10.00 ± 0.00	9.85 ± 0.38	1.000	0.356
新生儿双胎阿氏评分(Apgar)	9.83 ± 0.58	9.67 ± 0.82	0.504	0.621

新生儿单胎婴儿健康状况及新生儿双胎婴儿健康状况,“良好”记作 10 分,“一般”记作 7 分

周期中的未成熟卵母细胞,将对医学领域带来重大意义。首先,对于一些特殊人群,如癌症患者,在接受放疗或化疗之前,通过采集和保存这些未成熟的卵母细胞,可能有助于保留他们的生育能力^[5]。其次,这些卵母细胞的有效利用,还可能辅助提高行 COH 周期中行常规 IVF/ICSI 治疗的患者的妊娠成功可能性^[6]。本研究中,人未成熟卵母细胞在含 10^{-5} mol/L 褪黑素的改良 IVM 培养液中进行体外成熟培养,结果表明经改良 IVM 所获的成熟卵母细胞和从 COH 周期中收集到的行常规 IVF/ICSI 的成熟卵母细胞相比,IVM 组卵母细胞囊胚形成数目、囊胚形成率、可移植胚胎数目、优质囊胚数目以及优质囊胚形成率均较低,但是经胚胎移植后,两种方式达到的妊娠结局从临床妊娠率、足月产率、婴儿体长、新生儿 Apgar 评分方面比较,差异均无统计学意义,表明改良 IVM 技术能够提高从 COH 周期中回收的未成熟卵母细胞的利用率,获得与常规 IVF/ICSI 相似的妊娠结局,帮助患者改善妊娠结局。

值得注意的是,本研究中经 IVM 培养成熟后的卵的受精率高于常规组的受精率,差异有统计学意义($P < 0.05$)。这也与之前的一项研究结果类似^[7]。这可能是由于未成熟卵母细胞经 IVM 培养成熟以后,核质成熟的同步率被进一步提高,使其更

易受精。

自 1991 年世界首例常规 IVM 试管婴儿诞生^[8]以来,IVM 技术已经取得了多方面的发展与进步。IVM 技术已经在一些国家的临床实践中得到应用,尤其是对于那些由于多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome,PCOS)等原因,不能接受传统体外受精治疗的患者,取得了一定的成功^[9]。但在这三十余年中,常规 IVM 的效率仍然相对较低,关于 IVM 技术还需要更多的研究进行探索。在安全性上,尽管目前的研究^[10]表明 IVM 是安全的,但通过这种技术出生的儿童的长期健康影响仍需更加长期的监测。另外,IVM 的培养条件还需要进一步优化,以提高卵母细胞的成熟度和质量。

相较于其他常见的 IVM 技术方式,本研究中所涉及到的改良 IVM 技术有两大创新点:① 使用裸露的未成熟卵母细胞进行培养。本研究中人未成熟卵母细胞进行 IVM 培养时,所有卵母细胞的颗粒细胞均被去除,这是 IVM 技术的一次重要突破。② 在 IVM 培养液里进行 10^{-5} mol/L MT 的补充。MT 具有很强的抗氧化作用,是一种广谱抗氧化剂,可以减少排卵过程中卵母细胞自由基的产生、促进卵母细胞核及细胞质的成熟,进而提高胚胎的体外发育能力^[11]。课题组的前期研究^[3]表明,MT 的加入可以

通过增加卵母细胞线粒体膜电位和 ATP 的生成、降低 ROS 和 Ca^{2+} 的产生从而对线粒体起到保护作用,进而促进从 COH 周期中回收的人类未成熟卵母细胞发育为健康的后代。同时,有研究^[12]发现在人类胚胎培养液中添加 MT 可以降低优质囊胚出现非整倍体的可能性,证明了 MT 在人类胚胎发育中具有保护作用。

综上所述,IVM 技术的出现弥补了传统体外受精方法的不足,为辅助生殖治疗提供了新的选择。它不仅减少了卵母细胞资源的浪费,帮助获得与常规 IVF/ICSI 相似的妊娠结局,还为更广泛的患者群体带来了生育的希望。在临床应用上,COH 周期中常规 IVF/ICSI 与 IVM 的联合应用,可能会帮助更多的不孕患者取得良好的妊娠结局。

参考文献

- [1] Mandelbaum R S, Awadalla M S, Smith M B, et al. Developmental potential of immature human oocytes aspirated after controlled ovarian stimulation[J]. J Assist Reprod Genet, 2021, 38(9): 2291-9.
- [2] Gilchrist R B, Smits J. Oocyte *in vitro* maturation: physiological basis and application to clinical practice[J]. Fertil Steril, 2023, 119(4): 524-39.
- [3] Zou H, Chen B, Ding D, et al. Melatonin promotes the development of immature oocytes from the COH cycle into healthy offspring by protecting mitochondrial function[J]. J Pineal Res, 2020, 68(1): e12621.
- [4] Bezerra F T G, Dau A M P, Van Den Hurk R, et al. Molecular characteristics of oocytes and somatic cells of follicles at different sizes that influence *in vitro* oocyte maturation and embryo production[J]. Domest Anim Endocrinol, 2021, 74: 106485.
- [5] Donnez J, Dolmans M M. Fertility preservation in women[J]. N Engl J Med, 2017, 377(17): 1657-65.
- [6] Li X, Mu Y, Elshewy N, et al. Comparison of IVF and IVM outcomes in the same patient treated with a modified IVM protocol along with an oocytes-maturing system containing melatonin: A pilot study[J]. Life Sci, 2021, 264: 118706.
- [7] 郑金玲. 未成熟卵母细胞体外成熟培养技术在多囊卵巢综合征不孕症治疗中的应用价值[J]. 中国实用医刊, 2017, 44(21): 61-4.
- [8] Cha K Y, Koo J J, Ko J J, et al. Pregnancy after *in vitro* fertilization of human follicular oocytes collected from nonstimulated cycles, their culture *in vitro* and their transfer in a donor oocyte program[J]. Fertil Steril, 1991, 55(1): 109-13.
- [9] Walls M L, Hunter T, Ryan J P, et al. *In vitro* maturation as an alternative to standard *in vitro* fertilization for patients diagnosed with polycystic ovaries: a comparative analysis of fresh, frozen and cumulative cycle outcomes[J]. Hum Reprod, 2015, 30(1): 88-96.
- [10] De Vos M, Grynberg M, Ho T M, et al. Perspectives on the development and future of oocyte IVM in clinical practice[J]. J Assist Reprod Genet, 2021, 38(6): 1265-80.
- [11] Nikmard F, Hosseini E, Bakhtiyari M, et al. The boosting effects of melatonin on the expression of related genes to oocyte maturation and antioxidant pathways: a polycystic ovary syndrome-mouse model[J]. J Ovarian Res, 2022, 15(1): 11.
- [12] 朱琦, 丁丁, 王凯娟, 等. 褪黑素对控制性超排卵周期中体外成熟卵母细胞受精后所获胚胎发育的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2022, 57(4): 616-21.

Application of melatonin-supplemented *in vitro* maturation technology for human oocytes during COH cycle

Ren Yu^{1,2,3,4}, Han Xingxing^{1,4,5,6}, Zhang Qiqi^{1,4,5,6}, Liu Lu⁷, Xu Xiaofeng^{1,4,5,6},
Zhang Zhiguo^{1,2,3,4}, Zou Huijuan^{1,2,3,4}

(¹Dept of Obstetrics and Gynecology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230032; ²NHC Key Laboratory of Study on Abnormal Gametes and Reproductive Tract, Hefei 230032; ³Key Laboratory of Population Health Across Life Cycle, Ministry of Education of the People's Republic of China, Hefei 230032; ⁴Engineering Research Center of Biopreservation and Artificial Organs, Ministry of Education, Hefei 230032; ⁵Anhui Province Key Laboratory of Reproductive Health and Genetics, Hefei 230032; ⁶Anhui Provincial Institute of Translational Medicine, Hefei 230032; ⁷Dept of Obstetrics and Gynecology, Feidong County People's Hospital, East of the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 231600)

Abstract Objective To compare the early embryonic developmental potential and clinical outcomes of oocytes matured *in vivo* and those matured by modified *in vitro* maturation (LVM) technology during the same controlled

生长激素预处理在胚胎植入前染色体非整倍体检测中的应用研究

周海燕^{1,2,3}, 吴彩云^{1,5,6}, 黄德煊^{1,5,6}, 郝燕^{1,5,6}, 陈大蔚^{1,5,6}, 王孟寒⁴, 赵刚⁴, 周平^{1,3}

摘要 目的 研究生长激素(GH)预处理对整倍体的改善及妊娠结局的影响。方法 前瞻性分析行胚胎植入前染色体非整倍体检测(PGT-A)助孕的134例患者,其中30例行自身对照,104例行组间对照。根据是否添加GH分为GH预处理组和GH非预处理组,GH预处理为促性腺激素(Gn)启动前行4~6周的GH 2 U/d皮下注射,Gn启动日剂量加倍直至扳机日,GH非预处理为未用过GH处理。前次PGT-A周期失败后一年内再次行PGT-A时予GH预处理构成自身对照组。组间对照和自身对照分别比较各组间的基本情况、囊胚情况及助孕结局。**结果** 无论组间对照还是自身对照,

GH预处理后的HCG日子宫内膜厚度、卵巢敏感指数(OSI)、获卵数、MII卵数、2PN数、2PN受精率、可利用卵母细胞率、活检囊胚数、整倍体囊胚数、整倍体囊胚率、至少一个整倍体率均明显增加,差异均有统计学意义($P < 0.05$),GH预处理后的Gn总量、Gn天数、嵌合体囊胚数、嵌合体囊胚率无明显变化,差异均无统计学意义,GH预处理后的种植率、临床妊娠率均有提高,但差异均无统计学意义。**结论**

GH预处理可以明显增加行PGT-A患者的整倍体数和整倍体率,并有改善妊娠结局的趋势。

关键词 生长激素预处理;胚胎植入前染色体非整倍体检测;整倍体;妊娠结局

中图分类号 R 715.5

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2024)06-0988-06

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.06.012

2024-01-17 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:82301896);安徽科技重大专项(编号:202003a07020012)

作者单位:¹安徽医科大学第一附属医院妇产科,合肥 230032

²安徽医科大学附属巢湖医院妇产科,巢湖 238000

³国家卫生健康委配子及生殖道异常研究重点实验室,合肥 230032

⁴中国科学技术大学电子工程与信息科学系,合肥 230027

⁵生殖健康与遗传安徽省重点实验室,合肥 230032

⁶安徽省生命资源保存与人工器官工程技术研究中心,合肥 230032

作者简介:周海燕,女,副主任医师,硕士;

周平,女,副教授,主任医师,博士生导师,责任作者,E-mail:zhou_p_325@aliyun.com

近年来,不孕不育在世界各地呈高发、多发现象,并影响着大多数发达国家15%~25%的夫妇,世界卫生组织已将其视为全球公共卫生问题^[1]。人类配子和胚胎染色体非整倍体的高发生率被认为是体外受精(*in vitro* fertilization and embryo transfer, IVF-ET)失败和流产的主要原因^[2]。多年来,生长激素(growth hormone, GH)已被许多研究证实可以改善卵母细胞质量并最终提高活产率。那么,GH是否可以提高患者整倍体以得到更好的助孕结局。

ovarian hyperstimulation (COH) cycle, and to explore the clinical application of melatonin-supplemented IVM technology. **Methods** 159 patients were recruited into the study. 920 mature oocytes were collected during their COH cycles processed for conventional IVF/ICSI protocols, while 1 283 immature oocytes from the same cycles were matured in a melatonin-supplemented IVM medium before ICSI was performed. A retrospective analysis was conducted to compare the impact of conventional assisted reproductive technology and improved IVM technology on the outcomes of assisted reproductive therapy and pregnancy outcomes. **Results** Compared with mature oocytes collected from COH cycles treated with conventional IVF/ICSI, oocytes promoted by improved melatonin-supplemented IVM technology had a lower rate of high-quality blastocyst formation. However, after embryo transfer, there was no significant difference in the clinical outcomes of mature oocytes obtained through two methods, including clinical pregnancy rate, full-term birth rate, neonatal length, and neonatal Apgar score. **Conclusion** The application of melatonin-supplemented IVM significantly increases the utilization of immature oocytes collected from COH cycles, improving the pregnancy outcomes of patients assisted by assisted reproductive technology.

Key words oocyte; *in vitro* maturation technology; *in vitro* fertilization; controlled ovarian hyperstimulation; pregnancy outcome