

体外受精/卵细胞浆内单精子注射-胚胎移植后早期流产影响因素分析

车小群,王丽莲,唐 棣,王 笑,许丽华,马天仲* (广东医科大学附属第一医院生殖中心,广东湛江 524001)

摘要:目的 分析体外受精/卵细胞浆内单精子注射-胚胎移植(IVF/ICSI-ET)后早期流产影响因素。方法 收集IVF/ICSI-ET后妊娠者820例,分为早期流产组(105例)和继续妊娠组(715例),比较两组临床和实验室检查指标。结果 IVF/ICSI-ET后早期流产率为12.8%。早期流产组的年龄、启动日雌二醇水平及身体质量指数(BMI)高于继续妊娠组($P<0.01$ 或 0.05)。随着年龄增大、BMI增加,流产率也不断升高($P<0.01$ 或 0.05)。早期流产组胚胎绒毛染色体检测异常率为59.7%(37/62)。结论 IVF/ICSI-ET早期流产主要因素为胚胎染色体异常,而高龄和肥胖患者也会增加早期流产风险。

关键词: 体外受精; 胚胎移植; 早期流产

中图分类号: R714

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610(2021)04-0403-04

Influencing factors of early abortion following in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection-embryo transfer

CHE Xiao-qun, WANG Li-lian, TANG Di, WANG Xiao, XU Li-hua, MA Tian-zhong* (Reproductive Medicine Center, Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524001, China)

Abstract: Objective To analyze the influencing factors of early abortion after in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection-embryo transfer (IVF/ICSI-ET). Methods A total of 820 pregnant women following IVF/ICSI-ET were enrolled, including 105 subjects with early abortion group and 715 with continued pregnancy. The clinical and laboratory parameters were compared between 2 groups. Results The early abortion rate was 12.8% in 820 pregnant women following IVF/ICSI-ET. The age, estradiol level at initial day and body mass index (BMI) were higher in early miscarriage group than in continued pregnancy group ($P<0.01$ or 0.05). The miscarriage rate was elevated with the increase of age and BMI ($P<0.01$ or 0.05). The abnormal rate of chromosomes in embryonic villi was 59.7% (37/62) in early abortion group. Conclusion The embryo chromosomal abnormality is the main cause of early abortion following IVF/ICSI-ET, while the risk of early abortion is also high in the older and obese women

Key words: in vitro fertilization; embryo transfer; early abortion

随着体外受精/卵细胞浆内单精子注射-胚胎移植(IVF/ICSI-ET)助孕技术的不断进步,目前国内外IVF/ICSI-ET平均的临床妊娠率已达50%~60%,但妊娠后出现的自然流产却使得抱婴回家率降低,只能达到30%左右,不仅给IVF/ICSI助孕患者带来生理、精神上的伤害,还加重了患者的经济负担。自然流产多发生于妊娠早期,其发生原因尚不完全明确。对

IVF/ICSI-ET术后早期自然流产的临床相关因素进行探讨,将有助于提高IVF/ICSI助孕的抱婴率。本研究回顾性分析了广东医科大学附属第一医院生殖中心2013年10月至2019年12月进行IVF/ICSI-ET治疗新鲜周期胚胎移植后获得妊娠的820例患者,对早期流产的原因进行相关临床因素分析,旨在提高IVF/ICSI-ET的抱婴率,降低流产率,为临床治疗提供相应的干预措施。

1 资料和方法

1.1 研究对象

选取2013年10月-2019年12月在广东医科大学附属第一医院生殖中心行IVF/ICSI-ET治疗后新鲜移植周期妊娠的820例患者为研究对象,已排除异位妊

基金项目: 广东省医学科研基金立项项目(No.A2017596),
广东省自然科学基金项目(No.2018A0303130308)

收稿日期: 2020-11-23; 修订日期: 2021-03-05

作者简介: 车小群(1977-),女,硕士,副主任医师

通信作者: 马天仲,男,博士,硕士生导师, E-mail: tiann8283@163.com

娠、晚期流产及资料不全者。移植后28 dB超下有孕囊者确认临床妊娠患者820例。发生早期流产(妊娠未达14周)的105例患者为早期流产组,持续妊娠(包括分娩和孕14周以上继续妊娠患者)的715例患者为持续妊娠组。

1.2 方法

本研究严格按照国家卫计委颁发的辅助生殖技术指南的适应证,根据患者的个体差异,选择合适的促排卵方案进行促排卵治疗,依据男性精液质量选择合适的受精方式包括IVF和ICSI两种。取卵后受精,胚胎培养后第3天或者第5天新鲜胚胎移植。常规采用地屈孕酮和黄体酮栓剂来支持黄体功能,移植后D5囊胚12 d、D3卵裂期胚胎14 d测血清人绒毛膜促性腺激素(HCG)确认生化妊娠,28 d阴道超声宫腔内有孕囊者确认为临床妊娠,妊娠未达14周发生流产者定义为早期流产。早期流产患者知情选择药流或清宫术,及是否进行流产绒毛胚胎染色体检测。最后,比较早期流产组和持续妊娠组的女方在年龄、身体质量指数(BMI)、不孕年限、基础促卵泡生成素(FSH)、基础雌二醇(E₂)、基础促黄体生成素(LH)、启动日FSH、启动日LH、启动日E₂、促性腺素(Gn)总天数、HCG日E₂、HCG日LH、HCG日孕酮(P)、获卵数、移植胚胎数、移植优胚数的临床相关资料。

1.3 统计学处理

数据采用SPSS 22.0软件进行统计分析,计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,符合正态分布的资料采用独立样本 t 检验,不符合正态分布资料采用Mann-Whitney U检验。计数资料的比较采用 χ^2 检验或趋势检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 单因素比较

IVF/ICSI-ET助孕治疗后新鲜移植周期并临床妊娠者820例中,早期流产105例,继续妊娠715例,早期流产率为12.8%。单因素比较,早期流产组患者的年龄、BMI及启动日E₂均高于持续妊娠组,差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 0.01),见表1。

2.2 不同年龄分组流产率的比较

将患者年龄分为4组,即 ≤ 30 岁、30~35岁、35~40岁、 > 40 岁。随着年龄增大,流产率也增加,差异有统计学意义($\chi^2 = 14.934, P < 0.01$),见表2。

2.3 启动日不同的E₂分组早期流产率的比较

按启动日E₂, < 10 ng/L、10~50 ng/L、 > 50 ng/L分组,随着雌激素增加,流产率稍为增加,但差异无统计学意义($P > 0.05$),见表3。

表1 早期流产组和继续妊娠组临床单因素比较 ($\bar{x} \pm s$)

因素	早期流产组($n=105$)	继续妊娠组($n=715$)
女/岁	32.99 $\pm$ 4.76 ^a	31.03 $\pm$ 4.32
不孕年限/岁	3.86 $\pm$ 2.90	3.50 $\pm$ 2.45
BMI/(kg/m ²)	22.27 $\pm$ 2.80 ^a	21.46 $\pm$ 3.20
基础FSH/(IU/L)	6.89 $\pm$ 1.95	6.76 $\pm$ 1.92
基础E ₂ /(ng/L)	49.86 $\pm$ 49.97	45.01 $\pm$ 49.88
基础LH/(IU/L)	5.76 $\pm$ 3.04	5.96 $\pm$ 3.44
启动日FSH/(IU/L)	3.12 $\pm$ 1.79	2.79 $\pm$ 1.75
启动日LH/(IU/L)	1.80 $\pm$ 1.44	1.69 $\pm$ 1.27
启动日E ₂ /(ng/L)	14.54 $\pm$ 41.45 ^a	9.21 $\pm$ 9.25
Gn总天数/d	10.06 $\pm$ 2.20	10.37 $\pm$ 2.54
HCG日E ₂ /(ng/L)	2 772.63 $\pm$ 2 432.03	2 819.62 $\pm$ 2 190.00
HCG日LH/(IU/L)	1.75 $\pm$ 1.26	1.79 $\pm$ 1.10
HCG日P/(μg/L)	0.57 $\pm$ 0.38	0.56 $\pm$ 0.34
获卵数/枚	10.68 $\pm$ 4.88	11.02 $\pm$ 4.62
移植胚胎数/枚	1.89 $\pm$ 0.32	1.86 $\pm$ 0.36
移植优胚数/枚	1.11 $\pm$ 0.64	1.12 $\pm$ 0.57

与继续妊娠组相比较:^a $P < 0.05$ 或 0.01

表2 不同年龄分组的流产率比较 (例)

分组	n	早期流产	继续妊娠 ^a
≤ 30 岁	389	39	350
30~35岁	275	31	244
35~40岁	136	28	108
> 40 岁	20	7	13

与早期流产比较:^a $P < 0.01$

表3 启动日不同的E₂分组早期流产率比较 (例)

分组	n	早期流产	继续妊娠
< 10 ng/L	565	64	501
10~50 ng/L	247	39	208
> 50 ng/L	8	2	6

2.4 不同BMI分组早期流产率的比较

随着BMI的增加,流产率也增加($\chi^2 = 5.647, P < 0.05$),差异有统计学意义,见表4。

表4 不同BMI分组早期流产率的比较 (例)

分组	n	早期流产	继续妊娠 ^a
< 18 kg/m ²	62	6	56
18~23 kg/m ²	509	54	455
23~25 kg/m ²	159	31	128
> 25 kg/m ²	90	14	76

与早期流产比较:^a $P < 0.01$

2.5 流产绒毛染色体情况

105例早期流产组患者中,在患者知情同意下,62例患者成功获取到流产绒毛经过染色体检测,其中37例检测为染色体异常,异常率为59.7%。

3 讨论

3.1 年龄对流产的影响

随着女性年龄增加,体内的过氧化物如氧自由基增加,卵细胞内的线粒体数量减少,导致染色体在减数分裂时不分离异常增加,卵母细胞染色体异常使胚胎非整倍体危险性增加,胚胎质量差。高龄妇女子宫内膜胶原含量增加,基质细胞的DNA及内膜细胞的性激素受体减少,内膜对胚胎的容受性下降。Schieve等^[1]报道,在新鲜周期胚胎移植的妊娠中,孕妇年龄>30岁时的流产率开始上升,>35岁更为明显,20~29岁妇女流产率为10.1%,>40岁增加2倍。使用供卵的年长妇女流产率高于年轻妇女,>40岁妇女用自己的卵助孕后代孕,其流产率低于预期,证实随年龄增大,子宫内膜容受性降低。IVF/ICSI术后早期流产的发生与女方年龄密切相关^[2-3]。衰老对颗粒细胞的存活也有负面影响,这又与自噬激活的降低有关。一项旨在探讨父母年龄与人胚泡基因表达谱之间关系的最新研究结果显示,随着年龄的增长,胚泡中自噬相关蛋白的表达下降^[4]。本研究将患者年龄分为4组,结果显示,随着年龄增大流产率也增加,差异有统计学意义。说明年龄因素对IVF/ICSI-ET结局有很大的影响,随着年龄的增大,IVF/ICSI-ET治疗后流产率明显增高,抱婴率下降。

3.2 肥胖对流产的影响

自噬是维持体内平衡的重要细胞内过程,自噬指的是溶酶体中细胞质含量被降解的过程^[5]。有学者发现自噬在生殖系统中具有重要作用^[6],包括卵母细胞凋亡^[7]、胚胎发育^[8]。自噬的激活调节了体外受精的许多重要过程,包括肥胖和衰老妇女的颗粒细胞变性^[9]和卵母细胞缺陷^[10]、胚胎的质量和活力^[11]。因此,可以提出自噬的激活可以克服肥胖在与体外受精相关的各个方面的有害影响,包括颗粒细胞变性、卵母细胞功能障碍和子宫内膜基质细胞蜕膜化。自噬的诱导通过降低内质网应激而改善了胚泡的发育能力。然而肥胖患者自噬功能的降低,可能会降低卵母细胞功能和影响到子宫内膜容受性。

肥胖症通过促进受损线粒体的积累来降低卵母细胞的性能,这可能归因于受损线粒体的清除率降低。线粒体自噬的减少可能是肥胖女性卵母细胞中

受损线粒体积累的原因。而且,这些卵母细胞在受精时将受损的线粒体带入囊胚。此外,已经报道了肥胖对子宫内膜基质细胞蜕膜化的负面影响,这归因于肥胖引起的自噬损伤^[12]。

已有文献证明,在肥胖妇女或多囊卵巢综合征患者中,由于循环的氧化低密度脂蛋白(oxLDL)水平升高,人类颗粒细胞的变性增加,它导致体外受精治疗的整体效率降低^[13]。研究表明,在高水平oxLDL循环过程中,颗粒细胞的自噬激活取决于氧化脂蛋白受体1和toll-like 4受体的激活^[14]。其他研究也证实,与年轻、正常体质量的女性相比,从老年肥胖女性中分离出的颗粒细胞具有更高的死亡率,这主要是由于修复性自噬的减少和雌激素水平的降低。

有研究表明^[15-16],肥胖妇女的慢性炎症会在滋养细胞中产生线粒体功能障碍。瘦素的表达与各种炎症反应和免疫系统密切相关。并且在肥胖症的病理生理、糖尿病发展和胰岛素抵抗中起关键作用^[17]。Butler等^[18]证实,糖代谢异常与女性不孕症有关,肥胖女性的不良妊娠结局发生率明显高于正常女性。

本研究中,早期流产组和继续妊娠组患者的BMI比较,差异有统计学意义($P<0.05$),进一步分组分析比较不同BMI的患者早期流产率,结果显示,随着BMI的增加流产率也增加($P<0.05$)。

3.3 内分泌对流产的影响

在对IVF-ET助孕时激素水平对流产影响的研究中,研究结果不一。ART周期使用促排卵药物超排卵,激素的作用改变了母体的内分泌环境,影响子宫内膜容受性及早期妊娠。刘春莲等^[19]研究发现流产组HCG日的 E_2 水平显著高于正常妊娠组。本研究中,早期流产组和继续妊娠组患者的启动日 E_2 比较,差异有统计学意义($P<0.05$),而基础FSH、基础 E_2 、基础LH、启动日FSH、启动日LH、HCG日 E_2 、HCG日LH、HCG日P与继续妊娠组比较,差异无统计学意义。进一步行分析比较启动日不同 E_2 水平患者的早期流产率。可以看出随着启动日雌激素增加,流产率也增加,但差异无统计学意义。可能与分组后病例数少,误差增大有关。启动日雌激素增加,流产率增加,可能是过高的 E_2 水平会造成内膜激素受体表达紊乱,造成子宫内膜容受性异常,流产率升高。

3.4 流产胚胎染色体情况

本文IVF/ICSI-ET早期流产组绒毛染色体检测异常率为59.7%,与自然妊娠早期流产率一致,早期流产从某种意义上说是一种优胜劣汰的自然选择,避免异常胎儿的出生给患者家庭和社会造成负担。应加

强对患者的优生知识宣教,及时给予合理的心理安抚,为再次成功妊娠做好准备。

综上所述,IVF/ICSI-ET 早期流产主要因素为胚胎染色体异常。患者高龄、肥胖、启动日 E_2 偏高,IVF/ICSI-ET 助孕妊娠后发生早期流产的风险增加,但还需扩大样本量进一步研究。目前本文尚未进行多因素分析,有待在日后研究中加以完善。临床医生在 IVF/ICSI-ET 入周期前应重视查找流产相关因素。女性高龄、肥胖是早期自然流产的危险因素,建议女性尽早生育。对 BMI 偏高患者,要进行身体质量管理,减重、行代谢方面相关检查及处理后再进入 ART 周期。要优化 IVF/ICSI-ET 超促排卵方案,稳定母体的内分泌平衡,改善子宫内膜容受性,将会降低自然流产率,提高抱婴率。

参考文献:

- [1] SCHIEVE L A, TATHAMLA L, PETERSON H B, et al. Spontaneous abortion among pregnancies conceived using assisted reproductive technology in the united states[J]. *Obstet Gynecol*, 2003, 101:959-967.
- [2] SUNKARA S K, KHALAF Y, MAHESHWARI A, et al. Association between response to ovarian stimulation and miscarriage following IVF: an analysis of 124 351 IVF pregnancies [J]. *Hum Reprod*, 2014, 29(6):1218-1224.
- [3] TAN T Y, LAU S K, LOH S F, et al. Female ageing and reproductive outcome in assisted reproduction cycles[J]. *Singapore Med J*, 2014, 55(6):305-309.
- [4] KAWAI K, HARADA T, ISHIKAWA T, et al. Parental age and gene expression profiles in individual human blastocysts [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):2380.
- [5] OHSUMI Y, Historical landmarks of autophagy research[J]. *Cell Res*, 2014, 24(1):9-23 .
- [6] CAO B, CAMDEN A J, PARNELL L A, et al. Autophagy regulation of physiological and pathological processes in the female reproductive tract[J]. *Am J Reprod Immunol*, 2017, 77 (5):12650.
- [7] WANG Y Y, SUN Y C, SUN X F, et al. Starvation at birth impairs germ cell cyst breakdown and increases autophagy and apoptosis in mouse oocytes[J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(2): e2613.
- [8] WU B J, ZHAO L X, ZHU C C, et al. Altered apoptosis/autophagy and epigenetic modifications cause the impaired postimplantation octaploid embryonic development in mice [J]. *Cell Cycle*, 2017, 16(1):82-90 .
- [9] SCHUBE U, NOWICHI M, JOGSCHIES P, et al. Resveratrol and desferoxamine protect human OxLDL-treated granulosa cell subtypes from degeneration[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014, 99(1):229-239.
- [10] BOUDOURES A L, SABEN J, DRURY A, et al. Obesity-exposed oocytes accumulate and transmit damaged mitochondria due to an inability to activate mitophagy[J]. *Dev Biol*, 2017, 426(1):126-138 .
- [11] SHEN X, ZHANG N, WANG Z, et al. Induction of autophagy improves embryo viability in cloned mouse embryos[J]. *Sci Rep*, 2015, 5:17829.
- [12] RHEE J S, SABEN J L, MAYER A L, et al. Diet-induced obesity impairs endometrial stromal cell decidualization: a potential role for impaired autophagy[J]. *Hum Reprod*, 2016, 31 (6):1315-1326.
- [13] SCHUBE U, NOWICKI M, JOGSCHIES P, et al. Resveratrol and desferoxamine protect human OxLDL-treated granulosa cell subtypes from degeneration[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014, 99(1):229-239.
- [14] SERKE H, VILSER C, NOWICKI M, et al. Granulosa cell subtypes respond by autophagy or cell death to oxLDL-dependent activation of the oxidized lipoprotein receptor 1 and toll-like 4 receptor[J]. *Autophagy*, 2009, 5 (7):991-1003.
- [15] PEREZ-PEREZ A, VILARINO-GARCIA T, FERNANDEZ-RIEJOS P, et al. Role of leptin as a link between metabolism and the immune system[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2017, 35:71-84 .
- [16] PEREZ-PEREZ A, TORO A, VILARINO-GARCIA T, et al . Leptin action in normal and pathological pregnancies[J]. *J Cell Mol Med*, 2018, 22(2):716-727.
- [17] REHMAN K, Akash M S H, ALINA Z. Leptin: a new therapeutic target for treatment of diabetes mellitus[J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(7):5016-5027.
- [18] BUTLER M G, MCGUIRE A, MANZARDO A M. Clinically relevant known and candidate genes for obesity and their overlap with human infertility and reproduction[J]. *J Assis Reprod Genet*, 2015, 32(4):495-508.
- [19] 刘春莲, 徐仙, 姜银芝, 等. 辅助生殖技术流产因素分析[J]. *宁夏医学杂志*, 2012, 34(9):895-896.