

·临床研究·

解冻单囊胚形态评分与早期血清 β -人绒毛膜促性腺激素浓度和活产的相关性

蔡小华, 欧建平, 李涛

(中山大学附属第三医院生殖医学中心, 广东广州 510630)

摘要:【目的】在解冻单囊胚移植后HCG阳性患者中,评估囊胚形态评分对第12天血清 β -人绒毛膜促性腺激素(β -hCG)水平和活产结局的影响;分析血清 β -hCG水平对活产的预测价值。【方法】回顾本院2016年1月至2020年5月的519个单囊胚激素替代治疗-冻融胚胎移植(HRT-FET)周期HCG阳性患者的数据。先根据Gardner囊胚分级分为4组(AA、AB、BA和BB);再根据囊腔扩张程度分期分为4组(3期、4期、5期、6期,Gardner评分)。比较不同分级和分期的囊胚移植后第12天的血清 β -hCG浓度和活产率;通过相关性检验确定囊胚Gardner分级或分期与血清 β -hCG水平之间的关系,绘制ROC曲线确定预测活产的血清 β -hCG临界值。【结果】①移植后第12天血清 β -hCG浓度AA组和AB组均显著高于BB组($P < 0.001$, $P < 0.001$),移植不同分级的囊胚活产率差异无统计学意义($P = 0.120$)。移植不同分期的囊胚后第12天血清 β -hCG浓度和活产率差异均无统计学意义($P = 0.091$, $P = 0.557$)。②囊胚分级与第12天血清 β -hCG浓度之间存在显著的弱相关性($r_s = -0.221$, $P < 0.001$),在控制了混杂因素后仍存在显著的弱相关性($r_s = -0.228$, $P < 0.001$);囊胚分期与第12天血清 β -hCG浓度之间不存在显著的相关性($r_s = -0.052$, $P = 0.240$),在控制了混杂因素后相关性仍然不显著($r_s = -0.029$, $P = 0.508$)。③ROC曲线分析得出,第12天血清 β -hCG预测活产的临界值为657.5 mU/mL ($P < 0.001$)。【结论】囊胚的分级和分期不影响活产率,不同分级的囊胚产生的血清 β -hCG差异有统计学意义;可通过早期血清 β -hCG值预测活产。

关键词:囊胚形态;血清 β -人绒毛膜促性腺激素;活产率;体外受精-胚胎移植

中图分类号:R714.8 文献标志码:A 文章编号:1672-3554(2023)03-0497-07

DOI: 10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).2023.0318

Correlation Between Blastocyst Morphology Score, Early Serum β -hCG Concentrations and Live Birth After Thawed Single Blastocyst Transfer

CAI Xiao-hua, OU Jian-ping, LI Tao

(Fertility Center, The Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China)

Correspondence to: LI Tao; E-mail: ltiao@mail.sysu.edu.cn

Abstract:【Objectives】To assess the correlation between blastocyst morphology score, serum human chorionic gonadotropin β subunit (β -hCG) levels on day 12 after transfer and live birth outcomes among cycles tested HCG-positive after thawed single blastocyst transfer; to analyze the predictive value of serum β -hCG levels on live birth.【Methods】We reviewed the data of 519 frozen-thawed single blastocyst transfer cycles (FET) that had been tested HCG-positive from January 2016 to May 2020 at our IVF center. These FET cycles were firstly divided into 4 groups (AA, AB, BA, and BB) according to Gardner's grading system of inner cell mass (ICM) and trophectoderm cell (TE), and then 4 groups (stages 3, 4, 5 and 6) according to the degree of blastocyst expansion. Serum β -hCG concentrations on day 12 after transfer and live birth rates were compared among groups transferred with different blastocysts grading and expansion stage. The relationship

收稿日期:2022-11-22

作者简介:蔡小华,主管技师,研究方向:生殖医学,E-mail:caixh25@mail.sysu.edu.cn;李涛,通信作者,副研究员,研究方向:生殖医学,E-mail:ltiao@mail.sysu.edu.cn

between Gardner's grading or expansion stage of blastocysts and serum β -hCG levels was determined by correlation test, and ROC curves were plotted to determine the threshold values of serum β -hCG for predicting live birth.【Results】(1) The serum β -hCG concentration in the AA group and AB group on the 12th day after the transfer was significantly higher than that in the BB group ($P < 0.001$, $P < 0.001$). However, there was no significant difference in the live birth rate when different ICM/TE-graded blastocysts were transferred ($P = 0.120$). There were no significant differences in serum β -hCG concentration on day 12 after transfer and live birth rate among blastocysts with different expansion stages ($P = 0.091$, $P = 0.557$). (2) There was a significant weak correlation between blastocyst ICM/TE grading and serum β -hCG concentration on day 12 ($r_s = -0.221$, $P < 0.001$), and even after controlling for confounding factors ($r_s = -0.228$, $P < 0.001$); There was no significant correlation between blastocyst's expansion stage and serum β -hCG concentration on day 12 after the transfer ($r_s = -0.052$, $P = 0.240$), and the association remained insignificant after controlling for confounding factors ($r_s = -0.029$, $P = 0.508$). (3) ROC curve analysis showed that the cut-off value for predicting live birth by serum β -hCG on day 12 was 657.5 mU/mL ($P < 0.001$).【Conclusions】Neither the ICM/TE grade nor the expansion stage of blastocysts affect the live birth rate, there is significant difference in the level of β -hCG produced by blastocyst with different ICM/TE grade; Our results suggest that early serum β -hCG level can predict live birth.

Key words: blastocyst morphology; serum β -human chorionic gonadotropin; live birth rate; In vitro fertilization - embryo transfer

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2023, 44(3): 497-503]

在体外受精-胚胎移植(in vitro fertilization-embryo transfer, IVF-ET)治疗时,为了更快获得妊娠,选择最有发育潜能的胚胎移植至关重要。近年来囊胚培养和囊胚移植在临床上得到广泛的应用,主要原因在于通过延长胚胎培养2~3 d,可以更好地选择有发育潜能的胚胎移植,因此囊胚移植比卵裂胚移植具有更高的种植率和临床妊娠率^[1]。在囊胚移植时,选择其中最具有发育潜能的囊胚优先移植可使患者更快获得妊娠。移植囊胚的选择标准主要根据 Gardner 的形态评分,即囊胚腔扩张和孵化程度(expansion and hatching stage, EH)、内细胞团形态(inner cell mass, ICM)和滋养外胚层的形态(trophoblast, TE)特征,囊胚的这些形态学参数与新鲜胚胎移植后的妊娠率和活产率呈正相关^[2]。 β -人绒毛膜促性腺激素(Human chorionic gonadotropin β subunit, β -hCG)是由滋养层细胞分泌的糖蛋白,可在受精后6~8 d的母体血液中检测到。 β -hCG被认为是母体识别妊娠的信号,妊娠早期适当的 β -hCG水平对于胚胎的运输、植入以及生长发育十分重要^[3]。血清 β -hCG水平也是检验早期妊娠的唯一指标,HCG阳性之后尚需抽血检验血清 β -hCG水平,较多患者不仅焦虑血清 β -hCG水平,还忧虑移植囊胚的形态评分,担心移植非AA级的囊胚可能导致流产的风险增高。而目前为止,较多研究分析了囊胚形态评分与妊娠结局之间的关系,其重点在于分析囊胚种植的几率,及获得临床

妊娠的几率;较少研究分析HCG阳性后囊胚形态与血清 β -hCG浓度和妊娠结局,尤其活婴出生之间的关系。因此,本研究将在HCG阳性患者中评估囊胚形态与移植后第12天血清 β -hCG浓度的相关性,确定血清 β -hCG水平对活产的预测价值,以期缓解患者在胚胎移植后承受的压力和焦虑,帮助临床医生进行后续监测和管理。

1 材料与方法

1.1 研究对象

本研究已取得中山大学附属第三医院生殖伦理委员会批准,患者均签署知情同意书。将2016年1月至2020年5月中山大学附属第三医院生殖医学中心的HRT-FET周期数据进行回顾性队列分析,纳入标准:①激素替代治疗-冻融胚胎移植(hormone replacement frozen-thawed embryo transfer, HRT-FET)周期;②第5天或第6天单囊胚移植;③在移植后的第12天血清 β -hCG呈阳性(β -hCG₁₂ > 5 mU/mL);④所有受试者均无原位输卵管积水或未经治疗的粘膜下肌瘤或子宫息肉。排除标准:①单卵双胎妊娠;②异位妊娠;③在第12天胎龄之前或之后检测血清 β -hCG者;④血清 β -hCG在外院检测者。本研究最终纳入了506名患者及其对应的519个周期进行研究。

1.2 方法

1.2.1 激素替代治疗 从月经周期或者撤退性出血的第1~3天开始,口服戊酸雌二醇(补佳乐,1 mg/片,德国拜耳)6 mg/d,8~14 d后根据B超监测的子宫内膜厚度(endometrial thickness, EMT)调整用量。如果EMT<8.0 mm或者血清雌二醇(Estradiol, E2)水平<200 pg/mL时,加用芬吗通(红片)(2 mg/片,美国雅培制药),阴道上药,2 mg/d。当EMT \geq 8.0 mm后,检测血清E2,当E2 \geq 200 pg/mL时给予孕酮转化内膜,同时维持原雌激素剂量。

1.2.2 子宫内膜转化 肌注黄体酮注射液40 mg/d,联合口服地屈孕酮片(达芙通,10 mg/片,美国雅培制药)20 mg/d,然后在第6天移植囊胚,囊胚移植后继续黄体支持用药。

1.2.3 囊胚评分及冷冻标准 本中心的囊胚都是由同一位资深胚胎学家进行评分。依据 Gardner 分级对囊胚进行评分,先根据囊胚EH期分成1~6期:1期,早期囊胚,囊胚腔体积小于囊胚总体积的一半;2期,囊胚腔体积大于或等于囊胚总体积的一半;3期,正在扩张的囊胚,囊胚腔占据整个囊胚;4期,扩张后囊胚,囊胚腔体积较早期囊胚明显扩大,透明带变薄;5期,正在孵出的囊胚,部分囊胚正在从透明带破裂口孵出;6期,完全孵化出的囊胚,囊胚完全从透明带中脱出。3~6期囊胚需对 ICM 和 TE 进行评分。ICM 评分:A级,细胞数目多,结合紧密;B级,细胞数目较少,结合较松散;C级,细胞数目极少。TE 评分:A级,细胞数目多,细胞紧密排列在囊胚腔的外围;B级,细胞数目较少,滋养层细胞较松散;C级,细胞数目极少。

本中心 D5 囊胚的冷冻标准是 3BC 以上, D6 囊胚的冷冻标准是 3BB 以上。

1.2.4 囊胚冻融及移植 采用玻璃化冷冻与解冻方法,使用日本加藤商品化试剂套装。囊胚冷冻时将人工皱缩后的囊胚放入平衡液(equilibration solution, ES)中,室温 10 min,接着移入玻璃化冷冻液(vitrification solution, VS)60 s,当时间还剩 10 s 左右时,将囊胚放在载杆尖端处,立即投入液氮中。解冻时将载杆迅速浸入预热的解冻液 1(warming solution 1, WS1)中 37 °C,轻轻晃动使囊胚从载杆滑入解冻皿,1 min 后将其转移至 WS2 液中,室温计时 3 min,接着转移至 WS3,室温 5 min,再移至 2 个 WS4 中,室温各 3 min,最后转移至 3037 移植皿,放入培养箱等待移植。复苏后约 1 个小时在超声引导下进行囊胚移植。

1.2.5 血清 β -hCG 分析 血清 β -hCG 在 cobas e 602 系统上检测(罗氏诊断,德国),测定的变异系数范围为 4%~6.5%,妊娠妇女血清 β -hCG > 5 mU/mL。

1.2.6 妊娠结局 移植后 4 周经阴道超声探及孕囊为临床妊娠,宫腔外见孕囊为异位妊娠。生化妊娠定义为移植后第 12 天 β -hCG > 25 mU/mL,随后出现下降,7 周看胎时阴道超声未见到孕囊。妊娠在 12 周前自行终止定义为早期流产。活产为获得孕 28 周以上活产胎儿。

1.3 统计学方法

使用 Kolmogorov-Smirnov 检验评估连续数据的正态性,呈正态分布的计量数据以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,不符合正态分布的计量数据以中位数(第 25 百分位数,第 75 百分位数) $M (P_{25} \sim P_{75})$ 表示,分类数据采用百分率(%)表示。本研究中的各组计量数据均不同时符合正态分布及方差齐性,多组比较采用 Kruskal-Wallis H 检验,组内两两组比较采用 Bonferroni 法;两组非参数比较采用 Mann-Whitney U 检验;分类数据的比较采用卡方分析和 Bonferroni 校正进行多重比较;通过 Spearman 相关性检验确定囊胚 Gardner 分级或分期与血清 β -hCG 水平之间的关系,并计算了偏相关系数以补偿混杂因素的作用。使用 SPSS 软件统计数据, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义,ROC 曲线使用 MedCalc 20.0 统计绘制。

2 结果

本研究共纳入 519 个移植后的第 12 天血清 β -hCG 呈阳性(β -hCG₁₂ > 5 mU/mL),且解冻单囊胚移植周期进行分析,其中 468 例确定临床妊娠,最终 388 例成功活产。

2.1 囊胚分级与临床结局

基于 Gardner 囊胚等级(ICM 和 TE)将患者分为 4 组,第 1 组:AA 级($n = 238$)、第 2 组:AB 级($n = 121$)、第 3 组:BA 级($n = 49$)、第 4 组:BB 级($n = 107$)。第 5 组只有 4 例胚胎等级为 BC 或 CB 的受试者,因此未纳入分析,(无 AC、CA 或 CC 级胚胎移植),最后共 515 个周期,其中临床妊娠 465 例,活产 385 例。结果显示,4 组间年龄和 β -hCG₁₂ 经 H 检验,差异有统计学意义, ($H = 22.083, P < 0.001$; $H = 26.448, P < 0.001$);采用 Bonferroni 法进一步作两两比较,发现 AA 组的女方年龄显著小于其他 3 组($P < 0.001, P = 0.005, P < 0.001$); β -hCG₁₂

浓度 AA 组和 AB 组均显著高于 BB 组 ($P < 0.001$, $P < 0.001$)。4 组间 D5 囊胚的占比经卡方检验分析, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 26.456$, $P < 0.001$), 采用 Bonferroni 法进一步作两两比较, 发现 AA 组和

AB 均显著高于 BB 组 ($P < 0.001$, $P = 0.002$)。其他参数组间差异无统计学意义, 患者特征及周期结局详见表 1。

表 1 根据 Gardner 囊胚分级入组的患者基本资料及临床结局
Table 1 Demographic and clinical outcome by blastocyst Gardner's grade groups

Item	Total	AA	AB	BA	BB	H/χ^2	P
Number of cycles	515	238	121	49	107		
Age /year ¹⁾	30.0 (27.0~33.0)	29.0 (26.0~32.2)	31.0 (29.0~34.5)	31.0 (29.0~35.0)	31.0 (29.0~34.0)	22.083	<0.001
BMI/(kg/m ²)	20.8 (19.1~22.8)	20.6 (18.9~22.4)	21.3±3.0	21.5±3.9	20.9 (19.4~23.1)	4.819	0.186
Infertility duration /year	3.0(2.0~4.0)	3.0(2.0~4.0)	3.0(1.0~5.0)	2.0(1.0~4.0)	3.0(2.0~5.0)	4.376	0.224
Infertility type /%						4.841	0.181
Primary infertility	52.6 (271/515)	56.7 (135/238)	45.5 (55/121)	46.9 (23/49)	54.2 (58/107)		
Secondary infertility	47.4 (244/515)	43.3 (103/238)	54.6 (66/121)	53.1 (26/49)	45.8 (49/107)		
Fertilization type /%						1.467	0.690
IVF	78.8 (406/515)	79.4 (189/238)	80.2 (97/121)	77.6 (40/49)	74.8 (80/107)		
ICSI	21.2 (109/515)	20.6 (49/238)	19.8 (24/121)	22.5 (9/49)	25.2 (27/107)		
Days of embryo development/% ¹⁾						26.456	<0.001
D5	92.6 (477/515)	97.1 (231/238)	95.0 (115/121)	87.8 (43/49)	82.2 (88/107)		
D6	7.4 (38/515)	2.9 (7/238)	5.0 (6/121)	12.2 (6/49)	17.8 (19/107)		
EMT/mm	9.5 (8.5~10.6)	9.4 (8.5~10.5)	9.5 (8.4~10.3)	10.1±1.8	9.7±1.4	3.299	0.348
Clinical pregnancy rate /%	90.3 (465/515)	91.6 (218/238)	94.2 (114/121)	87.8 (43/49)	84.1 (90/107)	7.608	0.055
Early abortion rate	13.8 (64/465)	12.4 (27/218)	14.9 (17/114)	20.9 (9/43)	12.2 (11/90)	2.517	0.472
Late abortion rate	4.00 (16/401)	4.2 (8/191)	2.1 (2/97)	11.8 (4/34)	2.5 (2/79)	5.424	0.112
Live birth rate /%	82.8 (385/465)	83.9 (183/218)	83.3 (95/114)	69.8 (30/43)	85.6 (77/90)	5.830	0.120
β -hCG ₁₂ /(mU/mL) ¹⁾	862.7 (515.6~1265.0)	943.0 (635.4~1391.3)	958.8±508.3	776.3±504.5	696.2±437.0	26.448	<0.001

BMI: body mass index; IVF: in-vitro fertilization; ICSI: intracytoplasmic sperm injection; D5: day 5; D6: day 6; EMT: endometrial thickness; β -hCG₁₂: Day 12 human chorionic gonadotropin β subunit. 1) There was significant difference between the two groups. Age: AA vs AB, $P < 0.001$; AA vs BA, $P = 0.005$; AA vs BB, $P < 0.001$. Days of embryo development: AA vs BB, $P < 0.001$; AB vs BB, $P = 0.002$. β -hCG₁₂: AA vs BB, $P < 0.001$; AB vs BB, $P < 0.001$.

2.2 囊腔扩张度分期与临床结局

基于 Gardner 囊胚分期(EH)将患者分为 4 组, 第 1 组: 3 期 ($n = 29$)、第 2 组: 4 期 ($n = 448$)、第 3 组: 5 期 ($n = 27$)、第 4 组: 6 期 ($n = 15$), 共纳入 519 个周期进行分析。结果显示, 4 组间原发性不孕的占比和 D5 囊胚的占比经卡方检验分析, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 16.155$, $P = 0.001$; $\chi^2 = 21.844$, $P < 0.001$), 采用 Bonferroni 法进一步作两两比较, 发现原发性不孕的占比第 1 组显著高于第 3 组和第 4 组 ($P = 0.001$, $P = 0.002$); D5 囊胚的占比第 1 组显著

高于第 3 组和第 4 组 ($P = 0.004$, $P = 0.003$), D5 囊胚的占比第 2 组显著也高于第 3 组和第 4 组 ($P = 0.001$, $P < 0.001$), 其他参数组间差异无统计学意义, 患者特征及周期结局详见表 2。

2.3 囊胚质量与血清 β -hCG₁₂ 的相关性

为了分析囊胚质量与血清 β -hCG₁₂ 之间的关系, 我们对 519 个周期的数据进行了相关性分析。此外, 还计算了偏相关系数来控制混杂因素。表 1 和表 2 中 $P < 0.05$ 的参数视为可能的混杂因素, 即女性年龄、不孕类型和胚胎发育天数。结果显

表2 根据 Gardner 囊胚扩张度分期的患者基本资料及临床结局

Table 2 Demographic and clinical outcome by blastocyst Gardner's degree of blastocyst expansion

Item	Total	Stage 3	Stage 4	Stage 5	Stage 6	H/χ^2	P
Number of cycles	519	29	448	27	15		
Age /year	30.0(27.0~33.0)	31.6±4.4	30.0(27.0~33.0)	31.3±4.2	31.4±5.8	3.910	0.271
BMI /(kg/m ²)	20.8 (19.2~22.8)	21.9±3.2	20.8 (19.1~22.7)	21.0±2.3	21.3±2.3	1.113	0.774
Infertility duration /year	3.0(2.0~4.0)	3.0(2.5~4.0)	3.0(2.0~4.0)	2.0(1.0~5.0)	3.5±2.6	4.163	0.244
Infertility type/% ¹⁾						16.155	0.001
Primary infertility	52.6 (273/519)	75.9 (22/29)	53.4 (239/448)	29.6 (8/27)	26.7 (4/15)		
Secondary infertility	47.4 (246/519)	24.1 (7/29)	46.7 (209/448)	70.4 (19/27)	73.3 (11/15)		
Fertilization type /%						7.637	0.054
IVF	79.0 (410/519)	75.9 (22/29)	77.7 (348/448)	92.6 (25/27)	100.0 (15/15)		
ICSI	21.0 (109/519)	24.1 (7/29)	22.3 (100/448)	7.4 (2/27)	0.0 (0/15)		
Days of embryo development/% ¹⁾						21.844	<0.001
D5	92.3 (479/519)	100.0 (29/29)	93.8 (420/448)	74.1 (20/27)	66.7 (10/15)		
D6	7.7 (40/519)	0.0 (0/29)	6.3 (28/448)	25.9 (7/27)	33.3 (5/15)		
EMT /mm	9.5 (8.5~10.6)	9.1(8.4~10.6)	9.5(8.6~10.6)	9.2±1.4	8.8(8.5~10.1)	3.218	0.359
Clinical pregnancy rate /%	90.2 (468/519)	100.0 (29/29)	89.7 (402/448)	85.2 (23/27)	93.3 (14/15)	4.415	0.192
Early abortion rate	13.7 (64/468)	10.4 (3/29)	13.4 (54/402)	26.1 (6/23)	7.1 (1/14)	3.292	0.334
Late abortion rate	4.0 (16/404)	7.7 (2/26)	3.5 (12/348)	0.0 (0/17)	15.4 (2/13)	0.334	0.092
Live birth rate /%	82.9 (388/468)	82.8 (24/29)	83.6 (336/402)	73.9 (17/23)	78.6 (11/14)	2.053	0.557
β -hCG ₁₂ /(mU/mL)	857.3 (507.8~1255.0)	802.8±421.2	888.5 (533.1~1291.8)	741.0±506.5	720.3±577.5	6.462	0.091

BMI: body mass index; IVF: in-vitro fertilization; ICSI: intracytoplasmic sperm injection; D5: day 5; D6: day 6; EMT: endometrial thickness; β -hCG₁₂: Day 12 human chorionic gonadotropin β subunit. 1) There was significant difference between the two groups. Infertility type: Stage 3 vs Stage 5, $P = 0.001$; Stage 3 vs Stage 6, $P = 0.002$. Days of embryo development: Stage 3 vs Stage 5, $P = 0.004$; Stage 3 vs Stage 6, $P = 0.003$; Stage 4 vs Stage 5, $P = 0.001$; Stage 4 vs Stage 6, $P < 0.001$.

示囊胚分级(AA、AB、AB、BA、BB和BC/CB)与血清 β -hCG₁₂水平之间存在显著的弱相关性($r_s = -0.221$, $P < 0.001$),在控制了混杂因素后仍存在显著的弱相关性($r_s = -0.228$, $P < 0.001$);囊胚扩

张程度与血清 β -hCG₁₂水平之间不存在显著的相关性($r_s = -0.052$, $P = 0.240$),在控制了混杂因素后相关性仍然不显著($r_s = -0.029$, $P = 0.508$;表3)。

表3 囊胚质量与第12天 β -hCG的相关系数Table 3 Correlation Coefficient between blastocyst quality and Day 12 β -hCG

Items	Correlation Coefficient	P	Correlation Coefficient when controlling for confounders	P
Blastocyst Gardner's grade	-0.221	<0.001	-0.228	<0.001
Degree of blastocoele expansion	-0.052	0.240	-0.029	0.508

2.4 预测活产的 β -hCG₁₂阈值

本研究中共有388个周期获得活产,131个周期未获活产。通过Mann-Whitney U 检验发现,活产组的 β -hCG₁₂水平显著高于未活产组($U = -10.518, P < 0.001$),提示 β -hCG₁₂可能是预测活产的指标。

采用ROC曲线分析,以确定预测活产的 β -hCG₁₂阈值,分析结果得出 β -hCG₁₂预测活产的临界值为657.5 mU/mL, AUC 0.807 (95%CI: 0.770 - 0.840, $Z = 12.778, P < 0.001$),约登指数0.486,敏感性76.8%,特异性71.8%(图1)。

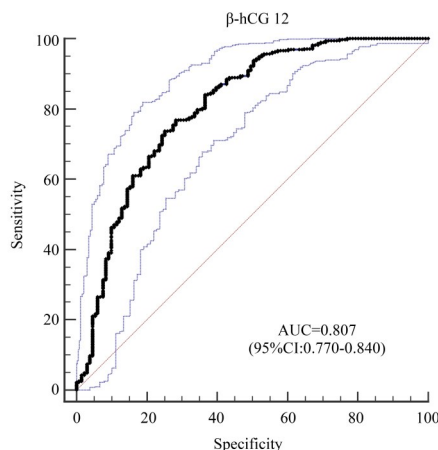


图1 第12天血清 β -hCG值预测活产的ROC曲线

Fig. 1 ROC curve of serum β -hCG value for predicting live birth on the 12th day

3 讨论

与其他研究不同,本研究纳入的并非全部单囊胚移植的FET周期,而是移植后第12天血清 β -hCG呈阳性的周期,已经初步确定生化妊娠(β -hCG阳性),此群患者对活婴出生有较高的期盼,因此对移植囊胚形态评分和血清 β -HCG水平更加焦虑。本研究中此组患者总体妊娠结局较好,总的临床妊娠率为90.2%,总体活婴出生率为82.9%。

Gardner 分级系统由三个标准组成:囊胚的扩张程度分期,与囊胚的生长速度有关,其次是ICM的形态分级,最后是TE的形态分级^[4]。Zhu等^[5]观察到生长较快的囊胚在移植后第9天产生的血清 β -hCG浓度显著高于生长较慢的囊胚,而在FET周期中则未见显著差异。Nsa等^[6]回顾性分析了643例新鲜单囊胚移植周期,发现一旦患者移植后受孕,Gardner囊胚分级和分期对血清 β -hCG水平

的影响比较小。本研究的结果跟Nsa等的结论相似,不同的是Nsa等研究的是新鲜周期,而本研究分析的是单囊胚FET周期。我们的结果表明,对于 β -hCG阳性的患者,随后血清 β -hCG的水平与囊胚的分级存在弱相关,AA级和AB级囊胚产生的 β -hCG水平高于BB级。囊胚分级与第12天血清 β -hCG浓度之间存在弱相关性,在控制了混杂因素后,仍然存在弱相关性。提示对于已初步种植的囊胚,ICM的质量可能影响TE细胞分泌 β -hCG。此外,移植不同分期的囊胚(不同扩张程度的囊胚),对此群患者血清 β -hCG水平无显著差异,表明囊胚的扩张程度不影响TE细胞分泌HCG。但是,本研究中单个移植的3期囊胚和5期/6期囊胚例数相对较少,尚不能得出明确的结论。

囊胚形态对临床妊娠率和活产率的影响,国内外学者报道不一。Van等^[2]研究报道,高评分的囊胚EH期、ICM分级和TE分级均与新鲜囊胚移植后妊娠率和活产率的增加显著相关。一些研究表明,ICM质量可能是决定活产率的关键因素^[7-8]。也有研究报道,囊胚腔扩张程度是单囊胚FET后活产最重要的形态学预测因子^[9],最近的一项回顾性队列研究发现,具有较高TE等级的胚胎会更早地分泌hCG^[10]。TE评分为A级的整倍体囊胚活产率高于TE评分为C级的整倍体囊胚,这表明TE等级影响囊胚发育与种植潜力^[11]。

但是上述研究分析的是所有囊胚移植周期中移植囊胚形态与妊娠结局之间的相关性,研究的重点在于评估囊胚是否成功种植和活产,而本研究针对的是HCG阳性的患者,因此得到不同的结果。我们的结果显示,对于已初步种植,HCG阳性的解冻单囊胚移植患者,不同的囊胚形态组之间(囊胚等级和扩张程度分期)临床妊娠率和活产率没有统计学差异,即患者一旦验尿阳性,不必纠结已移植的囊胚形态评分,囊胚评分不影响活产结局(因本研究未纳入BC/CB级单囊胚移植例,此结论不包括BC/CB级囊胚)。因此,HCG阳性已经初步显示了TE细胞的活性与潜能,而且囊胚种植后ICM细胞与TE细胞可在体内快速增殖,可能可以快速弥补体外发育时形态学差异。解冻囊胚移植的活产可能与解冻囊胚染色体的整倍性、机体免疫状态等因素有关。

虽然我们的结果表明解冻移植的单囊胚形态评分与血HCG仅存在弱相关,且不影响活婴出生率,但是血HCG水平与活婴出生率相关。 β -hCG

在妊娠期可以维持黄体生长,刺激黄体产生孕酮,还可以增强子宫内膜血管生成和生长,延长植入窗,从而使子宫内膜更容易接受胚胎^[3]。已有较多研究评估了初始 β -hCG值与妊娠结局的关系,提示较高的HCG水平有更好的持续妊娠率和活产率^[12]。

测得HCG阳性的患者对活婴出生的期望较高,对血HCG水平的检测结果更感焦虑,希望通过血HCG值了解成功活产的概率。Qiu等^[13]的研究发现,在单囊胚FET后第10天血清 β -hCG浓度预测临床妊娠和活产的曲线下面积分别为0.986和0.922,相应的阈值分别为113.28和146.37 mU/mL。另一项研究报道,解冻单囊胚移植后第11天血清 β -hCG浓度211.9 U/L可以预测活产^[14]。在我们的研究中,ROC曲线分析显示,单囊胚FET后第12天血清 β -hCG浓度657.5 mU/mL是预测活产的阈值。本研究评估了第12天血清 β -hCG水平对解冻单

囊胚移植周期活产的预测值,只纳入单囊胚FET周期,排除了单卵双胞胎及异位妊娠。此外,FET周期也避免了外源性 β -HCG注射液对检测血清 β -hCG浓度所造成的干扰。最后,为了尽量减少混杂因素对血清 β -hCG值的影响,排除了其他实验室检测的 β -hCG数据。血 β -hCG值取决于多种因素,例如 β -hCG测量的日期,测定方法,每个中心应建立自己的阈值范围。另外胚胎在子宫内植入的确切位置和植入部位周围的子宫血流可能会导致释放到母体循环中的 β -HCG浓度发生变化^[13]。

总之,我们的研究表明,单囊胚HRT-FET第12天,AA级和AB级囊胚产生的 β -hCG水平均显著高于BB级囊胚,不同囊胚扩张阶段产生的 β -hCG水平无显著差异,移植囊胚的形态学参数不影响活产率,一旦HCG阳性,不必纠结已经移植的囊胚形态学评分。早期血清 β -hCG水平对活产有预测价值。

参考文献

- [1] Oron G, Esh-Broder E, Son WY, et al. Predictive value of maternal serum human chorionic gonadotropin levels in pregnancies achieved by in vitro fertilization with single cleavage and single blastocyst embryo transfers [J]. *Fertil Steril*, 2015, 103:1526 - 1531.
- [2] Van den Abbeel E, Balaban B, Ziebe S, et al. Association between blastocyst morphology and outcome of single-blastocyst transfer [J]. *Reprod Biomed Online*, 2013, 27:353 - 361.
- [3] Filicori M, Fazleabas AT, Huhtaniemi I, et al. Novel concepts of human chorionic gonadotropin: reproductive system interactions and potential in the management of infertility [J]. *Fertil Steril*, 2005, 84 (2) : 275-284.
- [4] Gardner DK, Surrey E, Minjarez D, et al. Single blastocyst transfer: a prospective randomized trial [J]. *Fertil Steril*, 2004, 81(3):551-555.
- [5] Zhu W, Yeung Q, Chan D, et al. Maternal β -HCG concentrations in early IVF pregnancy: association with the embryo development stage of blastocysts [J]. *Reprod Biomed Online*, 2019, 38(5):683-690.
- [6] Nsa B, Nama B, Roa B, et al. Blastocyst morphology has no relationship with serum β -hCG levels and live birth rates once pregnant [J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2021, 258:98-102.
- [7] Goto S, Kadowaki T, Tanaka S, et al. Prediction of pregnancy rate by blastocyst morphological score and age, based on 1,488 single frozen-thawed blastocyst transfer cycles [J]. *Fertil Steril*, 2011, 95 (3) : 948 - 952.
- [8] Richter KS, Harris DC, Daneshmand S T, et al. Quantitative grading of a human blastocyst: optimal inner cell mass size and shape [J]. *Fertil Steril*, 2001, 76 (6):1157-1167.
- [9] Ahlstrom A, Westin C, Wikland M, et al. Prediction of live birth in frozen-thawed single blastocyst transfer cycles by pre-freeze and post-thaw morphology [J]. *Hum Reprod (Oxf Engl)*, 2013, 28(5):1199 - 1209.
- [10] Licht P, Russu V, Wildt L. On the role of human chorionic gonadotropin (hCG) in the embryo-endometrial microenvironment: implications for differentiation and implantation [J]. *Semin Reprod Med*, 2001, 19(1):37-47.
- [11] Li N, Guan Y, Ren B, et al. Effect of blastocyst morphology and developmental rate on euploidy and live birth rates in preimplantation genetic testing for aneuploidy cycles with single-embryo transfer [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2022, 13:858042.
- [12] Zhao WE, Li YJ, Ou JP, et al. Predictive value of initial serum human chorionic gonadotropin levels for pregnancies after single fresh and frozen blastocyst transfer [J]. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*, 2017, 37(3): 395 - 400.
- [13] Qiu P, Wang Y, Ji H, et al. Predictive value of serum human chorionic gonadotropin concentrations for pregnancy outcomes of in vitro fertilization in women of different ages [J]. *Reprod Biomed Online*, 2021, 43(5): 962-969.
- [14] Xiong F, Li G, Sun Q, et al. Obstetric and perinatal outcomes of pregnancies according to initial maternal serum HCG concentrations after vitrified-warmed single blastocyst transfer [J]. *Reprod Biomed Online*, 2019, 38(3):455-464.

(编辑 孙慧兰)