

全囊胚培养在高龄低储备不孕患者中的应用分析

陈攀宇, 李婷婷, 贾磊, 方丛, 梁晓燕

(中山大学附属第六医院生殖医学研究中心, 广东 广州 510655)

摘要:【目的】探讨全囊胚培养是否能使高龄低储备不孕患者获益。【方法】回顾性分析2016年5月至2017年4月于中山大学附属第六医院生殖医学研究中心就诊,采用IVF/ICSI助孕的高龄低储备不孕患者。根据第3天(D3)可移植胚胎的处理方式分为全养囊胚组(A组)及不养囊胚组(B组),比较两组的累积生化妊娠率,累积临床妊娠率。【结果】一共纳入符合条件的231名患者进行统计,A组130名,B组101名。两组患者的基本情况无差异。A组的累积生化妊娠率/临床妊娠率高于B组,差异无统计学意义($P>0.05$)。剔除A组中因无囊胚形成而最终未行胚胎移植的患者后,A组的累积生化妊娠率/临床妊娠率显著优于B组($P<0.05$)。对患者基本情况与培养囊胚结局的多因素分析结果显示:D3可移植胚胎数少是培养囊胚失败的危险因素(OR=0.277,95%CI为0.103~0.744, $P<0.05$)。【结论】高龄低储备不孕患者行全囊胚培养不会对妊娠结局造成不利影响。相反,只要培养成囊胚可供移植,囊胚培养组的妊娠结局优于不养囊胚组;D3可移植胚胎数量少是培养囊胚失败的危险因素。在对患者进行充分地知情告知后,我们可酌情考虑对部分高龄低储备不孕患者行全囊胚培养。

关键词: 高龄;低储备;全囊胚培养;累积生化妊娠率;累积临床妊娠率

中图分类号: R711.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-3554(2017)06-0878-08

Application Analysis of All-blastocyst-culture in Elderly Infertile Patients with Low Ovarian Reserve

CHEN Pan-yu, LI Ting-ting, JIA Lei, FANG Cong, LIANG Xiao-yan

(Reproductive Medicine Research Center, The Sixth Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510655, China)

Corresponding to: FANG Cong; E-mail: fangconggd@163.com

Abstract: 【Objective】 To determine whether all-blastocyst-culture can benefit elderly infertile patients with low ovarian reserve. 【Methods】 To retrospectively analyze elderly patients with low ovarian reserve undergoing IVF/ICSI in Reproductive Medicine Research Center of the Sixth Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University from May 2016 to April 2017. We divide them into group A (All-blastocyst-culture) and group B (None-blastocyst-culture) based on different culture approach of D3 transferrable embryo. To compare the cumulative biochemical pregnancy rate, cumulative clinical pregnancy rate between them. 【Results】 A total of 231 eligible patients are included, with 130 in group A and 101 in group B. The basic conditions of the two groups show no difference. Cumulative biochemical pregnancy rate / clinical pregnancy rate in group A is higher than that of group B, though the difference is not statistically significant ($P>0.05$). After removing patients who did not undergo embryo transfer due to failure in blastocyst culture, the cumulative biochemical pregnancy rate/clinical pregnancy rate in group A is significantly higher than group B ($P<0.05$). Multivariate analysis of the patient's basic condition and the outcome of blastocyst culture showed that the number of D3 transferrable embryo was a risk factor for the failure of blastocyst culture (OR=0.277, 95%CI: 0.103 ~ 0.744, $P<0.05$). 【Conclusion】 All-blastocyst-culture will not adversely affect the pregnancy outcome of elderly infertile patients with low ovarian reserve. On the contrary, once they obtain transferable embryos, pregnancy outcome in All-Blastocyst-Culture group are better than None-Blastocyst-Culture group. A small number of D3 transferrable embryo is a risk factor for failure to culture blastocyst. If the patients were fully informed consent, we can consider implementing all-blastocyst-culture for elderly infertile patients with low ovarian reserve.

Key words: elderly infertile patients; low ovarian reserve; all blastocyst culture; cumulative biochemical pregnancy rate; cumulative clinical pregnancy rate

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2017, 38(6): 878-885]

收稿日期: 2017-08-17

基金项目: 国家重点研发计划(2017YFC1001603)

作者简介: 陈攀宇, 硕士, 医师, E-mail: saltyandy@163.com; 方丛, 通信作者, 博士, 主任医师, 博士生导师, E-mail: fangconggd@163.com

近10年来,我国女性平均生育年龄从26岁推迟至28岁,由于大中城市中的生存和压力更大,女性的平均生育年龄往往超过30岁。随着我国全面放开二孩政策,越来越多高龄女性开始进行二孩的备孕,其中不乏年龄大于37岁的女性。2016年上半年,我国高龄孕产妇的比例达到19.9%,与2014年相比增长63.1%^[1]。随着年龄的增长,女性的卵巢功能减退,卵子质量降低,染色体非整倍体畸形和退化增加、流产率增加、妊娠率下降、活产率下降^[2],孕育的子代染色体异常几率增加。许多高龄女性要想生育,需借助辅助生殖技术。囊胚培养是目前体外受精-胚胎移植(Invitro fertilization-embryo transfer, IVF-ET)中的发展中的新趋势,是对胚胎的进一步筛选。囊胚移植相比卵裂期胚胎移植,可进一步提高胚胎利用率^[3]、活产率^[4]且降低异位妊娠率^[5]。但是,囊胚培养对胚胎实验室的环境及技术要求更高^[6],且存在无囊胚形成而取消周期的风险。这对难求一子的高龄夫妇无疑是一个巨大的打击。目前,对于高龄低储备不孕人群是否应该行囊胚培养的研究不多,本文的研究目的是通过回顾性分析于本中心就诊的高龄低储备不孕患者,比较全囊胚培养组及未行囊胚培养组的累积生化妊娠率、累积临床妊娠率,探讨囊胚培养是否能使高龄低储备不孕人群获益。

1 材料与方法

1.1 研究对象

回顾性分析2016年5月至2017年4月于中山大学附属第六医院生殖医学研究中心就诊,采用IVF/ICSI助孕的不孕患者,入选标准为:①IVF/ICSI助孕;②年龄>40岁;③AMH<1.1 ng/mL;④所有促排周期中至少有一枚D3可移植胚胎。本研究为回顾性研究,对患者无进行任何干预,且无公开任何患者个人信息。本研究已经过中山大学附属第六医院伦理委员会审批并获得患者签署书面知情同意。

1.2 控制性卵巢刺激方案

控制性卵巢刺激方案采用本中心常规的长方案、拮抗剂方案、黄体期促排方案(LPS)、自然周期方案、改良自然周期方案、微刺激方案[常规使用来曲唑+促性腺激素(Gn)]和高孕激素状态下

促排卵方案(progestin-primed ovarian stimulation, PPOS)。

1.2.1 长方案 于前次月经周期第21天开始用促性腺激素释放激素激动剂(Gonadotropin Releasing Hormone, GnRH-a),14 d后返院行经阴道黑白B超及抽血检测性激素(Follicle-Stimulating Hormone, FSH; Luteinizing Hormone, LH; Estradiol, E2; Progesterone, P)。达到降调节标准后每天予150~300 U Gn促排。当有2个直径达18 mm或3个达17 mm或4个达16 mm卵泡时,予10 000 U人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin, hCG; 丽珠制药,中国珠海)肌肉注射,36 h后取卵。取卵后进行常规IVF或ICSI。

1.2.2 拮抗剂方案 月经第3天开始Gn促排,促排第6~7天或主导卵泡直径达13~14 mm及E2>300 pg/mL时开始每日使用醋酸西曲瑞克0.25 mg(思则凯,瑞士雪兰诺公司),当有2个直径达17 mm的卵泡时,当晚予10 000 U hCG(丽珠制药,中国珠海)肌肉注射,36 h后取卵。取卵后进行常规IVF或ICSI。

1.2.3 黄体期促排方案 卵泡期取卵后即开始注射Gn, hMG(乐得宝,75 U/安培,中国丽珠制药)起始剂量150~225 U, 2~3 d后开始B超等监测,根据卵泡发育情况调整Gn剂量,直至hCG注射日;当至少1~2个卵泡直径 \geq 18 mm、血E2水平达到平均每个优势卵泡约200 pg/mL时,当日给予hCG 10 000 U,注射后34 h取卵,取卵后进行常规IVF或ICSI。

1.2.4 自然周期方案 月经第7~9天行阴道超声检测,隔1~3天重复进行检测。当有优势卵泡直径>12 mm时,每天进行阴道超声检测及抽血检测性激素(LH、E2、P),当优势卵泡直径达到16 mm时,当晚予hCG 10 000 U(丽珠制药,中国珠海)肌肉注射,36 h后取卵。取卵后进行常规IVF或ICSI。

1.2.5 改良自然周期方案 从月经周期第6天开始经阴道超声监测卵泡,当主导卵泡平均直径达到14 mm时,给予患者醋酸西曲瑞克0.25 mg/d(思则凯,瑞士雪兰诺公司)和消炎痛50 mg,每日2次,以防止卵泡自发性排卵,同时给予患者人绝经期促性腺激素(HMG)150 U/d(丽珠公司)。此3种药持续应用至hCG注射日。当主导卵泡达到17~20 mm时,给予患者hCG(丽珠公司)10 000 U促使卵泡最终成熟。注射hCG 34 h后阴道超声下

取卵。取卵后进行常规IVF或ICSI。

1.2.6 微刺激方案 月经第3天起,连服来曲唑5 mg 5 d,服用来曲唑的第3天及第5天及停用来曲唑后加用HMG150 U/d(丽珠公司)。当有一个卵泡直径达到18 mm或两个达到17 mm时,当晚予10 000 U hCG(丽珠制药,中国珠海)肌肉注射,36 h后取卵。取卵后进行常规IVF或ICSI。

1.2.7 高孕激素状态下的超促排卵方案 Gn联合MPA方案:于月经周期第2~4日(自然行经或者孕酮撤退性出血)起肌肉注射给予人绝经期促性腺激素(hMG,马鞍山丰原制药有限公司),起始剂量为150~225 U,每天一次,联合口服MPA(浙江仙琚药业)10 mg/d,每天一次直至扳机当日。当1个卵泡直径 \geq 18 mm或 $>$ 3个卵泡直径 \geq 16 mm时,予以促性腺激素释放激素激动剂(GnRH-a,达必佳,德国辉凌公司)0.1 mg皮下注射加联合hCG10 000 U(丽珠制药,中国珠海)肌肉注射,34~36 h后行常规阴道超声取卵。取卵后进行常规IVF或ICSI。

1.3 卵裂期胚胎培养

常规IVF受精的卵子于授精后18 h剥除卵子周围颗粒细胞,观察受精情况后微滴培养至第3天,对胚胎进行观察评分;ICSI受精的卵子则在取卵后2 h对卵子进行剥卵操作后行ICSI,于授精后18 h观察受精情况,后微滴培养至第3天,对胚胎进行观察评分。本中心卵裂期D3胚胎评分标准为:I级,卵裂球大小均匀,形状规则,无明显胚胎碎片;II级,卵裂球大小略不均,形态略不规则,胚胎碎片 $<$ 20%;III级,卵裂球大小明显不均,胚胎碎片20%~50%;IV级,胚胎碎片 $>$ 50%。卵裂期优质胚胎定义为:D3胚胎评分为I~II级,卵裂球数为6~9枚。可移植胚胎标准为取卵后72 h观察为4细胞以上,分级为I~II级。

1.4 囊胚培养

囊胚培养采用商业化的序贯培养液(G5 series, Vitrolife AB company, Sweden)。囊胚的评分按照Gardner评分系统进行,简述如下:根据囊腔扩张程度进行分期:囊腔不足胚胎体积的50%为1期;超过50%为2期;占满整个胚胎为3期;囊腔扩张、透明带变薄为4期;囊胚开始从透明带里孵出为5期;囊胚完全孵出为6期。处于3~6期的囊胚,再对内细胞团(inner cell mass, ICM)和滋养外胚层(trophectoderm, TE)进行评分。ICM评分:细胞数量多且分布紧密为A;细胞数量较少且分布

松散为B;细胞数量非常少则为C。TE评分:较多的细胞形成连接紧密的上皮层为A;较少的细胞连接松散为B;细胞少且体积大为C。优质囊胚的标准为:受精后第5天(D5)达3BB及以上的囊胚。若D5未达以上标准,则培养至D6再按照以上标准观察和冷冻。特殊情况下,对未达以上标准的部分囊胚也进行了冷冻。3~6期,内细胞团或滋养外胚层其中至少一项评分达到B级的囊胚为可移植囊胚。

1.5 胚胎冻融、培养与移植

卵裂期胚胎冷冻采用玻璃化法冷冻试剂盒(Kitazato, 日本),操作按说明书进行,每载杆放置2枚胚胎,置于最前端,快速放入液氮中保存;于移植当天上午解冻,根据患者情况选择解冻胚胎的数量,一般2枚胚胎,采用玻璃化解冻试剂盒(Kitazato, 日本),具体操作按说明书进行;解冻后胚胎转入含人血清替代品的1026中(Quinn's, SAGE, 美国),培养3~4 h,再行移植。解冻后未移植的胚胎,根据其质量决定继续冻存或废弃。

囊胚冷冻复苏采用本中心常规玻璃化冷冻方法操作。简述如下:在37℃下将囊胚转移到A液(含200 mL/L血清蛋白替代物SPS的缓冲液HEPES)中平衡2 min,后转入B液(含75 mL/L乙二醇和75 mL/L二甲亚砷的HEPES)平衡2 min,最后转入C液(含150 mL/L乙二醇和150 mL/L二甲亚砷的HEPES)作用1 min后,30 s内将胚胎移至冷冻载体,尽快浸入液氮中保存。复苏时将囊胚从液氮中取出,浸入0.33 mol/L平衡液1(含0.33 mol/L蔗糖和200 mL/L SPS的HEPES)平衡2 min,然后转移至0.2 mol/L平衡液2(含0.2 mol/L蔗糖和200 mL/L SPS的HEPES)中平衡3 min,最后转至无蔗糖的平衡液中平衡5 min后转移至囊胚培养液中继续培养。3级及以上的囊胚在冷冻前进行了人工皱缩囊腔,即采用激光系统(ZILOS-tk Laser Zona Drill System; Hamilton Thorn Bioscience, Inc, Beverly, MA, USA)在远离内胚层的一侧透明带进行打孔(激光强度:300 μ s),将囊胚液释放,囊腔缩小,然后进行冷冻。2级及以下胚胎未进行激光人工皱缩。根据患者冷冻保存胚胎的数量和质量,复苏周期解冻1~2枚移植。复苏后观察,移植解冻成功的所有胚胎。

1.6 分组

研究期间内所有D3胚胎都进行囊胚培养的

患者归全囊胚培养组(A组);研究期间内所有D3胚胎都不进行囊胚培养的患者归为不培养囊胚组(B组)。比较两者的累积生化妊娠率、累积临床妊娠率。

1.7 结局指标

累积生化妊娠率的计算公式为:生化妊娠的人数/接受IVF或ICSI治疗的总人数;累积临床妊娠率的计算公式为:临床妊娠的人数/接受IVF或ICSI治疗的总人数。

1.8 统计学方法

采用SPSS23.0软件包对患者的基本资料及相关结局指标进行分析。对于满足正态分布的连续型资料采用独立样本 t 检验,对于分类变量采用卡方检验, $P < 0.05$ 认为有统计学意义。多因素分析采用多变量Logistic回归分析模型(Enter法), $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者基本情况比较

两组患者的基本情况如表1所示,两组的女

方年龄、不孕年限、BMI、基础FSH、AMH、双侧窦卵泡数及男方年龄均无显著差异。

表1 患者基本情况的比较

	Group A	Group B	t	P
n	130	101		
Female age/years	43.1±1.7	43.1±1.6	-0.157	0.875
Female Infertility/years	4.1±4.4	4.6±4.8	-0.731	0.465
Body mass index/(kg/m ²)	23.4±2.7	23.4±2.4	0.032	0.974
Basal Follicle-stimulating hormone/(U/L)	10.0±4.4	10.3±5.2	-0.451	0.652
Anti-Mullerian hormone/(ng/mL)	0.6±0.6	0.3±0.3	-0.120	0.905
Antral follicle count	4.0±2.3	4.1±2.3	-0.339	0.735
Male age/years	44.8±4.6	44.9±4.1	-0.211	0.833

Group A: all-blastocyst-culture,group B:non-blastocyst-culture

2.2 新鲜周期基本情况比较

两组患者新鲜周期促排方案分析显示,行全囊胚培养的患者更多的使用高孕激素状态下促排

表2 新鲜周期基本情况比较

	Group A	Group B	χ^2	t	P
n	130	101			
Ovarian stimulation protocol					
GnRH-agonist based	6/130(4.6)	8/101(7.9)	1.091		0.296
GnRH-antagonist based	15/130(11.5)	19/101(18.8)	2.396		0.122
Luteal phase stimulation	1/130(0.8)	1/101(1.0)	0.000		1.000
Natural cycle	3/130(2.3)	4/101(4.0)	0.116		0.734
Modified natural cycle	1/130(0.8)	0/101(0)	0.000		1.000
Mini-cycle	40/130(30.8)	49/101(48.5)	7.558		0.006
Progestin-primed ovarianstimulation	64/130(49.2)	20/101(19.8)	21.273		0.000
No. of oocytes retrieved	3.0±2.1	2.9±1.7		0.491	0.624
No. of transferrable D3 embryo	1.8±1.1	1.8±0.9		0.456	0.649
No. of good quality D3 embryo	1.4±1.1	1.4±0.9		-0.284	0.777
Invitro fertilization					
No.of cycles	105	76			
No. of 2PN	2.1±1.4	1.9±1.0		0.999	0.319
Rate of 2PN/%	79.4±25.4	76.5±27.4		0.727	0.468
Intracytoplasmic sperm injection					
No.of cycles	25	25			
No. of 2PN	2.2±1.4	2.3±1.2		-0.297	0.768
Rate of 2PN/%	77.0±30.1	86.1±21.9		-1.231	0.225

Group A: all-blastocyst-culture, group B:non-blastocyst-culture sperm injection

方案;而卵裂期胚胎不行囊胚培养的患者更多地使用微刺激方案进行促排卵。两组的新鲜周期结局分析情况如表2所示,无论是IVF周期还是ICSI周期,两组的2PN数、2PN率、D3可移植胚胎数及D3优质胚胎数均无显著差异。

表3 复苏周期基本情况比较
Table 3 Frozen cycle information [n(%)]

	Group A	Group B	χ^2	P
No. of cycles	45	50		
GnRHa+hormone replacement therapy	7(15.6)	6(12.0)	0.253	0.615
Hormone replacement therapy	27(60.0)	30(60.0)	0.000	1.000
Natural cycle	11(24.4)	14(28.0)	0.154	0.694

Group A: all-blastocyst-culture, Group B: non-blastocyst-culture

2.3 复苏周期基本情况比较

两组患者的复苏周期数据显示:两组的复苏周期准备内膜方案没有明显差异(表3)。

2.4 妊娠结局比较

我们对两组患者的妊娠结局(累计生化妊娠率、累计临床妊娠率及累计流产率)进行了比较:A组累计生化妊娠率、累计临床妊娠率高于B组,差异无统计学意义($P>0.05$,表4)。

剔除了A组中81个因无囊胚形成而不得不

表4 妊娠结局比较(I)

Table 4 Comparison of pregnancy outcome (I) [n/N(%)]

	Group A	Group B	χ^2	P
n	130	101		
Cumulative biochemical pregnancy	19(14.6)	8(7.9)	2.468	0.116
Cumulative clinical pregnancy	17(13.1)	6(5.9)	3.229	0.072
Cumulative miscarriage	5(29.4)	4(66.7)	1.257	0.262

Group A: all-blastocyst-culture, Group B: non-blastocyst-culture

表5 妊娠结局比较(II)

Table 5 Comparison of pregnancy outcome (II) [n/N(%)]

	Group A	Group B	χ^2	P
n	49	101		
Cumulative biochemical pregnancy	19(38.8)	8(7.9)	21.281	0.000
Cumulative clinical pregnancy	17(34.7)	6(5.9)	21.011	0.000
Cumulative miscarriage	5(29.4)	4(66.7)	1.257	0.262

Group A: all-blastocyst-culture, Group B: non-blastocyst-culture

取消周期的患者后,我们再对A、B两组患者的妊娠结局进行了比较:A组累计生化妊娠率及累计临床妊娠率均显著高于B组($P<0.05$,表5)。

为找出成功获得囊胚可移植的患者与无囊胚

表6 培养囊胚结局不同的患者基本情况比较

Table 6 Comparison of basic condition between patients with different blastocyst cultured outcome ($\bar{x} \pm s$)

	Group A1	Group A2	t	P
Female age/years	42.6±1.5	43.4±1.8	-2.452	0.016
Female infertility/years	4.3±4.4	3.9±4.5	0.428	0.669
Gravida	2.5±1.5	2.2±1.5	1.040	0.301
Para	0.9±0.4	0.7±0.5	2.133	0.035
Basal follicle-stimulating hormone/(U/L)	9.1±3.7	10.8±4.7	-2.113	0.037
Atnti-Mullerian hormone/(ng/mL)	0.6±0.3	0.6±0.3	0.701	0.485
No. of oocytes retrieved	3.7±2.3	2.4±1.4	3.379	0.001
No. of 2PN	2.7±1.7	1.7±1.0	3.458	0.001
No. of cleavage 2PN	2.7±1.7	1.7±1.0	3.567	0.001
No. of transferrable D3 embryo	2.4±1.5	1.4±0.7	4.306	0.000
No. of good quality D3 embryo	2.1±1.2	0.9±0.8	5.925	0.000

Group A1: patients who succeeded in blastocyst culture, group A2: patients who failed in blastocyst culture.

表7 患者基本情况与培养囊胚结局的多因素分析

Table 7 Multivariate analysis of patients' basic condition and the outcome of blastocyst culture

	β	SE	Wald	<i>P</i>	OR	95%CI
Female age	0.267	0.145	3.417	0.065	1.307	0.984~1.735
Gravida	-0.012	0.169	0.005	0.945	0.988	0.709~1.377
Para	-0.940	0.524	3.215	0.073	0.391	0.140~1.091
Basal follicle-stimulating hormone	0.107	0.059	3.302	0.069	1.113	0.992~1.249
Anti-mullerian hormone	0.467	0.787	0.352	0.553	1.595	0.341~7.463
No. of oocytes retrieved	-0.109	0.241	0.205	0.650	0.896	0.559~1.438
No. of 2PN	0.429	0.439	0.956	0.328	1.536	0.650~3.630
No. of transferrable D3 embryo	-1.284	0.504	6.485	0.011	0.277	0.103~0.744

形成的患者之间是否存在差异,我们对培养囊胚成功(A1组)与无囊胚形成(A2组)的患者的男女方年龄、不孕年限、妊娠次数、生产次数、基础FSH与AMH、获卵总数、2PN总数、2PN卵裂数、D3可移植胚胎数及D3优质胚胎数逐一进行了 t 检验,结果:培养囊胚成功的患者比培养囊胚失败的患者年龄稍低,活产次数稍多,基础FSH稍低,获卵数、2PN数及2PN卵裂数、D3可移植胚胎数及D3优质胚胎数均更高(所有 $P<0.05$,表6),说明在高龄低储备的患者中,相对预后更好的患者培养囊胚成功的可能性更大。

随后我们又纳入了女方年龄、妊娠次数、生产次数、基础FSH和AMH、获卵数、2PN数、D3可移植胚胎数与培养囊胚成功与否(赋值:培养囊胚成功=1;培养囊胚失败=2)进行Logistic回归分析,结果:D3可移植胚胎数较少是培养囊胚失败的危险因素,且与培养囊胚失败有关(OR=0.277,95%CI为0.103~0.744, $P<0.05$;表7)。

3 讨论

随着国家全面放开二孩政策,越来越多的高龄女性将“二孩”视为自己人生锦上添花不可或缺的经历。但是,高龄所致的生育力降低不仅是该族群女性备孕路上的拦路虎,也常常令生殖医生感到心有余而力不足。37岁女性的卵巢里只有约2.5万卵子,是她们出生时的1/40~1/80^[7-10]。曾有一项美国的研究显示,年龄高于37岁的女性,即使接受IVF的治疗,活产率也不会超过25%^[11]。女性年龄的增长对生育力的损害主要表现在卵子数量和质量严重下降。对于高龄女性的

助孕,生殖医生尝试了诸如改善卵子质量,增加卵巢反应性等各种方法,收效甚微。迅速高效的治疗对高龄女性非常关键。如何在较短的时间内尽快帮助高龄女性获得妊娠,已是亟待解决的严峻问题。

想要改善高龄女性的助孕结局,从根本上改变卵子质量的难度较大,如何筛选出质量较好的胚胎进行移植便成了可行性较高的一种方法。过去,业界学者们通过改变促排卵方案,譬如更多地使用微刺激方案、低剂量促性腺激素进行促排卵的方法,希望能减少胚胎的非整倍体率,改善胚胎质量^[12];抑或是通过胚胎植入前遗传学筛查(pre-implantation genetic screening, PGS)对早期胚胎进行染色体数目和结构异常的检测,从而挑选正常的胚胎植入子宫,以期获得正常的妊娠^[13]。目前,高形态学评分的D3胚胎,其质量不一定最佳已为大家所知。既往有研究显示,对于高龄女性,在D3优质胚胎中,有59%是染色体异常的胚胎;而在D5优质囊胚中,仅有35%为非整倍体^[14];有研究甚至发现,80%~90%D3胚胎的种植失败都可能来源于高形态学评分而实际质量不佳的D3胚胎^[15]。囊胚培养则可在很大程度上发现并淘汰这种“虚有其表”的胚胎,囊胚培养甚至还可对D3嵌合体胚胎进行自我纠正^[16],但囊胚培养是否适用于可移植胚胎数较少的高龄人群,目前的研究仍然较为稀缺。本文的目的就是探讨全部胚胎行囊胚培养在高龄低储备人群中的可行性。

在既往的研究中,Staessen等^[17]就已发现,对年龄大于36岁的患者进行囊胚移植可降低因染色体异常所致的流产率。而我们的结果则发现,

行全囊胚培养的患者,并未因培养囊胚失败造成的无胚胎可移植的存在而对妊娠率造成显著不利的影响。相反,行全囊胚培养的患者(在纳入了囊胚培养失败后取消周期的患者),她们的累计生化妊娠率、累计临床妊娠率仍高于不行囊胚培养的患者。虽然差异无统计学意义,我们仍可认为,高龄低储备人群养囊胚也许并不会对妊娠结局造成太多的不利影响。而且,在剔除A组中因无囊胚形成而取消周期的患者后,A组患者的累计生化妊娠率及临床妊娠率均显著高于B组(P 均为0.000)。由此,我们可以得出,只要胚胎培养成了囊胚并可进行移植,患者的妊娠率是高于卵裂期胚胎移植的。

囊胚培养的最大弊端在于患者可能由于无囊胚形成而导致取消周期^[18],对于高龄低储备患者尤甚。本研究A组患者中,有81人因无囊胚形成而导致无胚胎可移植;IVF周期总共有198个D3可移植胚胎进行囊胚培养,共养成80个囊胚,囊胚形成率40.40%,低于本中心IVF周期64%的平均囊胚形成率;其中高评分囊胚46个,占57.5%;ICSI周期总共有41个D3可移植胚胎进行囊胚培养,共养成8个囊胚,囊胚形成率19.51%,也明显低于本中心ICSI周期为55%的平均囊胚形成率;其中高评分囊胚4个,占50%。同时,我们的logistic回归分析也发现,培养囊胚成功组的D3可移植胚胎数显著多于培养囊胚失败组,且会对培养囊胚的结局造成影响。这些数据一方面说明高龄低储备人群的卵子质量较差,导致胚胎发育潜能明显低于年轻卵巢储备好的患者;另一方面说明即使是高龄低储备的患者,也存在个人条件及预后的差别,我们在为高龄低储备患者选择囊胚培养时,不可一概而论,必须充分了解患者的情况,若预估获卵数及D3胚胎数相对较多时,可建议患者行全囊胚培养;但必须明确告知患者养囊存在的风险。

但取消周期对于高龄低储备患者并非百害而无一利。首先,培养囊胚失败的胚胎,很可能其本身的质量就不甚理想,即使进行卵裂期胚胎移植,最终的结局也可能是失败。即是,培养囊胚提前预知了结局,为高龄患者节省了宝贵的时间,让她们可以尽快进行下一周期的促排卵;其次,取消周期也可为患者节省一笔昂贵的胚胎移植的费用。对于尤其需要效率的高龄患者,囊胚培养不失为

一个好的选择。

本研究也有不足之处。因纳入研究的患者的治疗日期为近一年,所以无法统计患者的累计活产率,也就无法确定全部胚胎行囊胚培养是否能为患者带来活产率的提高。

综上所述,高龄低储备不孕患者行全囊胚培养不会对妊娠结局造成不利影响。相反,只要培养成囊胚可供移植,全囊胚培养组妊娠结局优于不养囊胚组,但在为高龄低储备不孕患者选择胚胎培养方案时,必须对患者进行充分地知情告知,让患者充分了解培养囊胚的利弊后再做抉择。

参考文献

- [1] 赵捷,冯玲. 高龄孕妇的孕期管理[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2017, 33(01): 96-99.
Zhao J, Feng L. Management of pregnant women at advanced maternal age [J]. Chin J Pract Gynecol Obstet, 2017, 33(1): 96-99.
- [2] 陈士岭, 罗燕群, 夏容, 等. 女性年龄与不孕及生育力减退[J]. 国际生殖健康/计划生育杂志, 2011, 30(4): 265-271.
Chen SL, Luo YQ, Xia R, et al. Aging, infertility and age-related fertility decline in women [J]. J Int Reprod H/Fam Plan, 2011, 30(4): 265-271.
- [3] 莫美兰, 宋成, 张宏展, 等. 低等级胚胎继续培养的价值与其临床结局[J]. 生殖医学杂志, 2012, 21(3): 205-208.
Mo ML, Song C, Zhang HZ, et al. Effect of culturing low-grade embryos on the outcome of in vitro fertilization [J]. J Reprod Med, 2012, 21(3): 205-208.
- [4] Wang SS, Sun HX. Blastocyst transfer ameliorates live birth rate compared with cleavage-stage embryos transfer in fresh in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection cycles: Reviews and meta-analysis [J]. Yonsei Med J, 2014, 55(3): 815-825.
- [5] 高梦莹, 李永刚, 马艳萍, 等. 囊胚培养与囊胚移植的临床应用[J]. 生殖与避孕, 2011, 31(11): 765-768.
Gao MY, Li YG, Ma YP, et al. Clinical application of blastocyst culture and transfer, reproduction and contraception [J]. J Reprod Contracept, 2011, 31(11): 765-768.
- [6] 黄国宁, 刘东云, 韩伟. 辅助生殖技术实验室的建设及其质量控制[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2010, 26(10): 755-758.

- Huang GN, Liu DY, Han W. Construction and quality control of assisted reproductive technology laboratory [J]. *Chin J Pract Gynecol Obstet*, 2010, 26 (10): 755-758.
- [7] Baker TG. A quantitative and cytological study of germ cells in human ovaries [J]. *Proc R Soc Lond B Biol Sci*, 1963, 158(972): 417-433.
- [8] Block E. Quantitative morphological investigations of the follicular system in women; Variations at different ages [J]. *Acta Anat (Basel)*, 1952, 14(1-2): 108-123.
- [9] Faddy MJ, Gosden RG, Gougeon A, et al. Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: Implications for forecasting menopause [J]. *Hum Reprod*, 1992, 7(10): 1342-1346.
- [10] Female age-related fertility decline. Committee opinion No. 589 [J]. *Fertil Steril*, 2014, 101(3): 633-634.
- [11] Hornstein MD. State of the ART: Assisted Reproductive Technologies in the United States [J]. *Reprod Sci*, 2016, 23(12): 1630-1633.
- [12] Reed BG, Babayev SN, Bukulmez O. Shifting paradigms in diminished ovarian reserve and advanced reproductive age in assisted reproduction: Customization instead of conformity [J]. *Semin Reprod Med*, 2015, 33(3): 169-178.
- [13] 叶虹. 高龄女性体外受精助孕的促排卵策略[J]. *中国计划生育和妇产科*, 2016, 8(12): 1-3.
- Ye H, Ovarian hyperstimulation protocol of in vitro fertilization in elderly women [J]. *Chin J Fam Plan Gynecotokol*, 2016, 8(12): 1-3.
- [14] Fernández-Shaw S, Cercas R, Braña C, et al. Ongoing and cumulative pregnancy rate after cleavage-stage versus blastocyst-stage embryo transfer using vitrification for cryopreservation: Impact of age on the results [J]. *J Assist Reprod Gen*, 2015, 32(2): 177-184.
- [15] Magli MC, Gianaroli L, Munne S, et al. Incidence of chromosomal abnormalities from a morphologically normal cohort of embryos in poor-prognosis patients [J]. *J Assist Reprod Gen*, 1998, 15(5): 297-301.
- [16] Magli MC, Jones GM, Gras L, et al. Chromosome mosaicism in day 3 aneuploid embryos that develop to morphologically normal blastocysts in vitro [J]. *Hum Reprod*, 2000, 15(8): 1781-1786.
- [17] Staessen C, Platteau P, Van Assche E, et al. Comparison of blastocyst transfer with or without preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy screening in couples with advanced maternal age: A prospective randomized controlled trial [J]. *Hum Reprod*, 2004, 19(12): 2849-2858.
- [18] Marek D, Langley M, Gardner DK, et al. Introduction of blastocyst culture and transfer for all patients in an in vitro fertilization program [J]. *Fertil Steril*, 1999, 72(6): 1035-1040.

(编辑 余菁)

.....

(上接第 859 页 from page 859)

- [16] 许晶晶, 唐晓芳, 宋莹, 等. 急性心肌梗死行急诊冠状动脉介入治疗患者 CYP2C19 基因多态性对抗血小板药物作用的影响 [J]. *中华心血管病杂志*, 2017, 45(2): 116-120.
- Yu JJ, Tang XF, Song Y, et al. Impact of CYP2C19 genotypes on antiplatelet therapy among Chinese patients with acute myocardial infarction after percutaneous coronary intervention [J]. *Chin J Cardiol*, 2017, 45(2): 116-120.
- [17] 高波, 宋小英. 药物代谢酶 CYP2C19 基因检测在冠心病患者经皮冠状动脉介入治疗术后抗血小板治疗中的应用价值 [J]. *实用心脑血管病杂志*, 2016, 24(3): 52-55.
- Gao B, Song XY. Application value of genetic testing of drug-metabolizing enzyme CYP2C19 in the antiplatelet therapy of postoperative coronary heart disease patients treated by PCI [J]. *Pract J Cardiac Cereb Pneum Vasc Dis*, 2016, 24(3): 52-55.
- [18] Spokoyny I, Barazangi N, Jaramillo V, et al. Reduced clopidogrel metabolism in a multiethnic population: Prevalence and rates of recurrent cerebrovascular events [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2014, 23(4): 694-698.
- [19] Jeong TD, Kim SM, Kim HJ, et al. CYP2C19 genotype and early ischemic lesion recurrence in stroke patients treated with clopidogrel [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2015, 24(2): 440-446.
- [20] 苏嘉, 杜为平, 陈晓敏, 等. 并存疾病对氯吡格雷抗血小板治疗的影响 [J]. *中华心血管病杂志*, 2013, 41(7): 626-628.
- Su J, Du WP, Chen XM, et al. Effects of coexisting disease on antiplatelet therapy for clopidogrel [J]. *Chin J Cardiol*, 2013, 41(7): 626-628.
- [21] Scott SA, Sangkuhl K, Stein CM, et al. Clinical CYP2C19 genotype and clopidogrel therapy: 2013 update [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2013, 94(3): 317-323.

(编辑 孙慧兰)