

首次体外受精 - 胚胎移植治疗周期为全部非优质胚胎的移植策略分析

邹林兵 戴志俊 张芳芳 汪凌云 王静雅 洪名云

【摘要】目的 通过分析首次体外受精 - 胚胎移植 (IVF-ET) 治疗周期全部非优质胚胎新鲜周期与复苏周期胚胎移植的相关数据, 探讨首次 IVF-ET 治疗周期全部非优质胚胎的移植价值及策略。方法 回顾性分析 2014 年 1 月至 2019 年 1 月在安徽省妇幼保健院生殖医学中心首次 IVF-ET 获得的全部胚胎为非优质胚胎的周期、首次行新鲜周期移植或复苏周期移植的 347 个周期, 其中首次移植第 3 天 (D3) 新鲜周期胚胎共 179 个周期, 首次移植 D3 复苏周期胚胎共 107 个周期, 首次移植第 5 天 (D5) 新鲜周期胚胎 5 个周期, 首次移植 D5 复苏周期胚胎 56 个周期, 对其移植后的临床相关情况进行分析。**结果** 在首次 IVF-ET 治疗获得全部胚胎为非优质胚胎的周期中, 首次 D3 新鲜周期胚胎移植的临床妊娠率、种植率、流产率分别为 34.63% (62/179)、22.78% (72/316) 和 12.90% (8/62), 首次 D3 复苏周期胚胎移植的临床妊娠率、种植率、流产率分别为 30.84% (33/107)、23.28% (44/189) 和 21.21% (7/33), 两组比较, 差异均无统计学意义 ($P>0.05$); 首次 D5 新鲜周期胚胎移植临床妊娠率、种植率、流产率分别为 60.00% (3/5)、50.00% (3/6) 和 0 (0/3), 首次 D5 复苏周期胚胎移植临床妊娠率、种植率、流产率分别为 48.21% (27/56)、40.85% (29/71) 和 18.52% (5/27), 两组比较, 差异均无统计学意义 ($P>0.05$); 首次 D5 新鲜周期移植临床妊娠率、种植率分别为 60.00% (3/5) 和 50.00% (3/6), 首次 D3 新鲜周期临床妊娠率、种植率分别为 34.63% (62/179) 和 22.78% (72/316), 两组比较, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$); 首次 D5 复苏周期移植临床妊娠率、种植率分别为 48.21% (27/56) 和 40.85% (29/71), 首次 D3 复苏周期临床妊娠率、种植率分别为 30.84% (33/107) 和 23.28% (44/189), 两组比较, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。**结论** 在首次 IVF-ET 治疗获得全部胚胎为非优质胚胎的周期中, 首次复苏周期 D3 胚胎移植与新鲜周期 D3 胚胎移植的临床妊娠结局相当, 新鲜囊胚移植与复苏囊胚移植均可获得较高的妊娠率, 临床上应根据患者不同情况, 选择适宜的移植策略, 避免胚胎浪费。

【关键词】 体外受精 - 胚胎移植; 非优质胚胎; 妊娠率

Transfer strategy analysis of all non-top quality embryos in the first cycle of in vitro fertilization and embryo transfer treatment

ZOU Linbing, DAI Zhijun, ZHANG Fangfang, WANG Lingyun, WANG Jingya, HONG Mingyun.

(Reproductive Medical Center of Maternal and Child Health Hospital affiliated to Anhui Medical University, Hefei 230001, China)

【Abstract】 Objective To analyze the transplantation value and strategy of all non-top quality embryos in the first cycles of IVF-ET treatment by analyzing the data of all non-top quality embryos in fresh cycle embryo transfer and resuscitation cycle embryo transfer in the first cycles of IVF-ET treatment. **Methods** A retrospective analysis of the total number of non-top quality embryos obtained from the first IVF-ET treatment at the Reproductive Medical Center of the Maternal and Child Health Hospital of Anhui Province from January 2014 to January 2019 was carried out for the first time in a fresh cycle or resuscitation cycle. The cycles, in which the first D3 fresh cycle embryos were transplanted for a total of 179 cycles, the first D3 resuscitation embryos were transplanted for 107 cycles, the first D5 fresh cycle embryos were transplanted for 5 cycles, and the first D5 resuscitation embryos were transplanted for 56 cycles. Clinically relevant conditions were

doi:10.13390/j.issn.1672-1861.2020.02.005

基金项目: 合肥市医学重点专科建设计划资助项目 [合卫科教 (2016) 256 号]; 安徽省重点研究与开发计划项目 (1704a0802171)

作者单位: 230001 合肥 安徽医科大学附属妇幼保健院生殖医学中心

通信作者: 洪名云 Email: 2006mingyun@sina.com

analyzed. **Results** In the cycles of the first IVF-ET treatment for all embryos as non-top quality embryos, the clinical pregnancy rate, the clinical pregnancy rate, implantation rate and abortion rate in the first fresh D3 cycle were 34.63% (62/179), 22.78% (72/316) and 12.90% (8/62), the clinical pregnancy rate, the implantation rate and abortion rate of embryo transfer in the first D3 resuscitation cycle were 30.84% (33/62), there was no significant difference between the two groups ($P>0.05$). The clinical pregnancy rate, implantation rate and abortion rate of embryo transfer in the first D5 fresh cycle were 60.00% (3/5), 50.00%(3/6), 0(0/3), The clinical pregnancy rate, implantation rate and abortion rate of embryo transfer in the first D5 resuscitation cycle were 60.00% (3/5), 50.00% (3/6), 0 (0/3), respectively. There was no significant difference between the two groups ($P>0.05$). The clinical pregnancy rate and implantation rate of the first D5 fresh cycle transplantation were 60.00% (3/5) and 50.00% (3/6). The clinical pregnancy rate and implantation rate of the first D3 fresh cycle transplantation were 34.63% (62/179), 22.78% (72/316). There was significant difference between the two groups ($P<0.05$). The clinical pregnancy rate and implantation rate of first D5 resuscitation cycle transplantation were 48.21% (27/56) and 40.85% (29/71). The clinical pregnancy rate and implantation rate of first D3 resuscitation cycle transplantation were 30.84% (33/107) and 23.28% (44/189). There was significant difference between the two groups ($P<0.05$). **Conclusion** The first pregnancy cycle D3 embryo transfer is equivalent to the clinical pregnancy outcome of fresh cycle D3 embryo transfer in the cycles of all non-top quality embryos in the first IVF-ET treatment. Both fresh blastocyst transfer and resuscitation blastocyst transfer can be obtained high pregnancy rate, Clinically, according to different conditions of patients, we should choose appropriate transplantation strategy to avoid embryo waste.

【 Key words 】 in vitro fertilization-embryo transfer; non-top quality embryo; pregnancy rate

Chin J Clin Obstet Gynecol, 2020, 21:129-132

体外受精 - 胚胎移植 (in-vitro fertilization and embryo transfer, IVF-ET) 治疗中, 胚胎质量的好坏是影响临床妊娠的重要因素。但由于各种因素的影响, 在每一周期促排方案后所得配子受精后进行体外培养, 所形成的胚胎不是全部均能发育为优质胚胎, 甚至有可能发育为全部非优质胚胎。这些非优质胚胎, 存在发育潜力较低下的问题^[1]。受限于非优质胚胎的发育潜能, 其利用价值在大多数辅助生殖中心尚存争议^[2]。如何更好地利用这些治疗周期所获的全部非优质胚胎获得更理想的临床妊娠率, 是辅助生殖领域研究的重点之一。本文通过回顾性分析首次 IVF-ET 治疗中全部非优质胚胎周期移植的资料, 比较首次第 3 天 (D3) 新鲜周期和首次 D3 复苏周期胚胎移植, 首次第 5 天 (D5) 新鲜周期和首次 D5 复苏周期胚胎移植的临床妊娠结局, 探讨这些周期中非优质胚胎的应用价值及移植策略。

资料与方法

一、一般资料

收集 2014 年 1 月至 2019 年 1 月在安徽省妇幼保健院生殖医学中心首次 IVF-ET 治疗获得的全部胚胎为非优质胚胎的周期、首次行新鲜周期移植或复苏周期移植 347 个周期, 其中包括首次移植 D3

新鲜周期胚胎 179 个周期, 首次移植 D3 复苏周期胚胎 107 个周期, 首次移植 D5 新鲜周期胚胎 5 个周期, 首次移植 D5 复苏周期胚胎 56 个周期。纳入标准: ① 女性患者治疗年龄 ≤ 44 岁; ② 首次接受 IVF-ET 治疗, 获卵数 ≥ 1 个, 且形成胚胎数 ≥ 1 个; ③ D3 卵裂期胚胎评分全部为非优质胚胎, 首次新鲜周期或首次复苏周期移植; ④ 受精方式为体外受精 (IVF) 或卵胞浆内单精子注射 (ICSI)。排除标准: ① 受精方式为早补救或晚补救 ICSI, 部分 ICSI (half-ICSI); ② 男女双方染色体异常、子宫内膜异位症及子宫肌瘤等可能影响胚胎着床的因素。所有患者治疗前均签署知情同意书。

二、治疗方法

根据患者年龄、激素水平及卵巢储备等情况选择相应的促排卵方案 (包括长方案、超长方案、改良长方案、改良超长方案、短方案、拮抗剂方案及微刺激方案等), B 超下对卵泡发育情况进行监测, 根据优势卵泡直径大小, 结合血值, 给予人绒毛膜促性腺激素 (hCG)。注射 hCG 36 h 后在 B 超引导下经阴道穿刺取卵, 取出后行 IVF 或 ICSI 后 (17 ± 1) h 进行原核 (PN) 观察, D3 进行卵裂期胚胎评分, D5 或 D6 进行囊胚评分。其中胚胎评分标准: 卵裂期胚胎按照 ASEBIR 胚胎评估标准^[3]进行评估, 根据卵裂球数与碎片情况

进行综合评分, 将其分为 I 级、II 级、III 级及 IV 级胚胎, 其中 I 级、II 级为优质胚胎, III 级、IV 级胚胎为非优质胚胎; 囊胚按照 Gardner 评分标准^[4], 根据囊腔扩张程度, 将囊胚分为 1 级至 6 级, 内细胞团评分为 A 级、B 级、C 级, 滋养外胚层细胞评分为 A 级、B 级、C 级, 选择 D5、D6 天发育到 4BC 以上 (包括 4BC) 的囊胚移植或冷冻保存。新鲜胚胎移植与否需根据患者当天子宫内、孕酮值及是否有过度刺激等情况而定。新鲜未被移植的胚胎经患者夫妇双方知情同意后当天予以冷冻或继续培养囊胚至 D6, 视情况决定囊胚移植或冷冻。对于冷冻保存的胚胎, 患者在合适时机行复苏周期, 复苏周期移植前需根据患者排卵情况选择自然周期或人工激素替代周期进行内膜准备。冷冻胚胎于移植前 2~4 h 解冻, 其中胚胎冷冻解冻方法如下。

三、胚胎冷冻解冻方法

玻璃化冷冻具体步骤: 取 0.5 ml ES、VS 室温 (24℃) 下平衡至少 30 min, 将胚胎置于平衡液 ES 中 10~12 min, 后移入 VS 中充分混匀 60s 内将胚胎置于冷冻载体 Cryotop 顶端投入液氮。胚胎解冻复苏具体步骤, 将解冻试剂取出在室温下平衡至少 30 min, 并取解冻液 TS 于 Falcon 3653 皿中置于 37℃ 预温, 将要解冻胚胎从液氮中取出后置于 TS 中 1 min, 然后在室温下依次将胚胎转入 DS、WS1、WS2 中 3 min、5 min、1 min。最后将胚胎移入平衡过的培养液中, 置于 37℃、6% CO₂ 的培养箱中培养 2~4 h, 选择存活的胚胎予以移植。

四、临床妊娠

新鲜周期或复苏周期胚胎行宫腔内移植, 移植两周后测定血或尿 hCG 水平, 阳性者移植一个月后行 B 超下监测, 见孕囊者为临床妊娠。

五、统计学方法

采用 SPSS 25.0 统计软件对数据进行分析, 计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用 *t* 检验, 计数资料以率 (%) 表示, 采用 χ^2 检验与 fish 确切概率法, 检验水准 $\alpha=0.05$ 。

结 果

一、各组患者一般资料比较

首次 D3 新鲜周期与首次 D3 复苏周期患者在年龄、不孕年限、体质指数及内膜厚度相比, 差异无统计学意义 ($P>0.05$); 首次 D5 新鲜周期与首次

D5 复苏周期在年龄、不孕年限、体质指数及内膜厚度相比, 差异无统计学意义 ($P>0.05$), 见表 1。

表1 各组患者一般资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	年龄 (岁)	不孕年限 (年)	体质指数 (kg/m ²)	内膜厚度 (mm)
D3新鲜周期	179	31.87 ± 4.95	3.58 ± 3.04	23.01 ± 4.16	9.56 ± 1.72
D3复苏周期	107	32.02 ± 5.08	3.40 ± 3.14	22.88 ± 3.62	9.82 ± 1.56
D5新鲜周期	5	30.20 ± 5.68	3.60 ± 2.07	20.44 ± 0.74	9.67 ± 1.63
D5复苏周期	56	30.61 ± 4.53	3.57 ± 2.88	22.26 ± 3.10	9.78 ± 1.59

二、各组患者移植临床结局比较

首次 IVF-ET 治疗获得全部胚胎为非优质胚胎的周期中, 首次 D3 新鲜周期胚胎移植临床妊娠率、种植率、流产率与首次 D3 复苏周期胚胎移植比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$); 首次 D5 新鲜周期胚胎移植临床妊娠率、种植率、流产率与首次 D5 复苏周期的胚胎移植比较, 差异均无统计学意义 ($P>0.05$); 首次 D5 新鲜周期移植临床妊娠率、种植率与首次 D3 新鲜周期比较, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$); 首次 D5 复苏周期移植临床妊娠率、种植率与首次 D3 复苏周期比较, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$), 见表 2。

表2 各组患者移植临床妊娠结局比较 [% (n/n)]

组别	例数	妊娠率	种植率	流产率
D3新鲜周期	179	34.63(62/179)	22.78 (72/316)	12.90 (8/62)
D3复苏周期	107	30.84(33/107)	23.28(44/189)	21.21(7/33)
D5新鲜周期	5	60.00 (3/5) ^a	50.00 (3/6) ^a	0 (0/3)
D5复苏周期	56	48.21(27/56)	40.85(29/71) ^b	18.52(5/27)

注: a 表示与 D3 新鲜周期比较, $P<0.05$; b 表示与 D3 复苏周期比较, $P<0.05$

讨 论

患者在接受辅助生殖助孕治疗过程中, 由于众多因素的影响, 仅有约 30% 的患者能获得一定数量的优质胚胎进行移植或冷冻^[5], 剩余大多数患者获得非优质胚胎, 由于这些胚胎的临床妊娠率显著低于优质胚胎, 因此, 在一定程度上增加这些患者的心理负担^[6]。对于这些全部为非优质胚胎的周期的胚胎, 该如何抉择, 尚无较为统一的指南。有文献报道, 冻融 D3 胚胎移植是非优质胚胎周期较好的移植时机选择, 冻融 D3 胚胎移植作为仅获得非优质胚胎患者的首次移植, 对改善其临床结局是安全有效的^[7-8]。本研究结果显示, 在首次 IVF-

ET 治疗中全部非优质胚胎周期中, 首次 D3 新鲜周期胚胎移植的临床妊娠率、种植率及流产率与首次 D3 复苏周期胚胎移植相比, 差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。说明在首次 IVF-ET 治疗周期全部非优质胚胎的周期中, 无论是新鲜 D3 胚胎或冻融 D3 胚胎均具有较高的移植价值, 其临床结局相当, 这些胚胎行新鲜移植或冻融胚胎复苏移植是可行的, 在一定程度上可以减轻患者的损失, 提高胚胎的利用率。

胚胎形态学观察作为目前绝大多数生殖中心最为常用的胚胎评分方法, 并不能完全反映出胚胎的真正的发育潜能^[9-10]。对于 D3 的非优质胚胎, 还有一种常见的处理方法, 就是将这些胚胎体外培养至 D5 或 D6 看是否有囊胚形成, 从而进一步优选出具有发育潜能的胚胎。本资料结果显示, 在首次 IVF-ET 治疗获得的全部胚胎为非优质胚胎的周期中首次 D5 新鲜周期胚胎移植与首次 D5 复苏周期胚胎移植相比, 临床妊娠率 60.00% vs 48.21% ($P>0.05$)、种植率 50.00% vs 40.85% ($P>0.05$)、流产率 0% vs 18.52% ($P>0.05$), 且均显著高于 D3 的胚胎移植后的临床妊娠率 ($P<0.05$)。这一结果说明, 这些治疗周期非优质胚胎形成的囊胚行新鲜周期或复苏周期移植其临床妊娠结局更好, 在一定程度上改善了患者的妊娠结局。

有文献报道, 非优质胚胎培养囊胚培养形成率显著低于优质胚胎的囊胚形成率^[11-12]。对于那些卵巢功能不好且年龄较大的患者, 将 D3 胚胎延长培养至囊胚, 患者可移植囊胚的形成率较低, 累积妊娠率并没有明显改善^[13-14]。这样势必会造成患者的移植周期取消率增高, 移植机会减少, 甚至无可移植机会, 这无形中增加了患者的心理负担。虽然, 囊胚培养可以进一步优选胚胎, 但由于面临无囊胚移植的风险较大, 因此, 不应该盲目地将这些胚胎全部进行囊胚培养。

综上所述, 对首次 IVF-ET 治疗周期产生的全部非优质胚胎, 应谨慎对待, 尤其是对于仅有 3 个以下的非优质胚胎的患者, 因为较高的囊胚培养失败率, 获得囊胚移植的机会减少, 而非优质胚胎的 D3 新鲜移植或 D3 冷冻后行复苏移植, 可以让这些患者获得至少一次的移植机会, 减轻患者的心理压力, 避免胚胎的浪费。对首次 IVF-ET 治疗周期产生的全部非优质胚胎较多 (大于 3 个), 可以在行 D3

新鲜移植或 D3 冷冻 1 管 1~2 枚卵裂期胚胎后, 将剩余胚胎进行囊胚培养, 若成功可考虑优先移植囊胚, 这样有助于临床结局的改善。

参考文献

- [1] 黎智彪, 黄莉, 黄晓卉, 等. 影响形态学低评分胚胎体外囊胚形成的相关因素研究 [J]. 中国计划生育和妇产科, 2018, 10(2): 35-37. DOI: 10.3969/j.issn.1674-4020.2018.02.10.
- [2] Kotze D. A review of non-invasive and invasive embryo characteristics to identify the most competent embryo for transfer[J]. Br J Med Med Resh, 2014, 4(15): 2910-2930. DOI: 10.9734/BJMMR/2014/8231.
- [3] Alpha Scientists In Reproductive Medicine, ESHRE Special Interest Group of Embryology. Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting[J]. Hum Reprod, 2011, 22(6): 1270-1283. DOI: 10.1093/humrep/der037.
- [4] 邹林兵, 王静雅, 戴志俊, 等. 来源未见原核 (OPN) 卵裂期胚胎培养至囊胚的临床应用分析 [J]. 中国性科学, 2018, 27(4): 83-85. DOI: 10.3969/j.issn.1672-1993.2018.04.025.
- [5] 文琴, 姜宏, 周云, 等. 高龄低可利用胚胎患者的胚胎移植策略研究 [J]. 实用妇产科杂志, 2018, 34(9): 47-50. DOI: CNKI: SUN: SFCZ. 0.2018-09-017.
- [6] 丁锦丽, 杨菁, 张艳, 等. D3 非优质胚胎的冷冻价值及其临床结局分析 [J]. 生殖医学杂志, 2015, 24(4): 267-271. DOI: 10.3969/j.issn.1004-3845.2015.04.003.
- [7] 曹仁康. 体外受精-胚胎移植中非优质胚胎移植价值的评价 [J]. 中国妇幼保健, 2017, 32(20): 5062-5067. DOI: 10.7620/zgfybj.j.issn.1001-4411.2017.20.60.
- [8] 鲜红, 王芳, 滕文顶, 等. 体外受精中非优质胚胎的最佳移植策略探讨 [J]. 中国计划生育和妇产科, 2017, 9(10): 25-27. DOI: 10.3969/j.issn.1674-4020.2017.10.06.
- [9] 耿蒙慧, 张璨, 邢阿英, 等. 胚胎质量评估方法的研究进展 [J]. 中华妇幼临床医学杂志 (电子版), 2018, 14(5): 612-616. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1673-5250.2018.05.020.
- [10] Lagalla C, Barberi M, Orlando G, et al. A quantitative approach to blastocyst quality evaluation: morphometric analysis and related IVF outcomes[J]. J Assist Reprod Genet, 2015, 32(5): 705-712. DOI: 10.1007/s10815-015-0469-3.
- [11] 郭映纯, 李婷婷, 方丛. 卵裂期评分对优质囊胚移植妊娠结局的预测价值探讨 [J]. 实用妇产科杂志, 2019, 35(2): 132-136. DOI: CNKI: SUN: SFCZ. 0.2019-02-019.
- [12] 柴三明, 王志强, 张霖, 等. Day3 非优质胚胎继续培养囊胚的应用价值研究 [J]. 河北医科大学学报, 2017, 38(8): 901-906. DOI: 10.3969/j.issn.1007-3205.2017.08.008.
- [13] Chen P, Li T, Jia L, et al. Should all embryos be cultured to blastocyst for advanced maternal age women with low ovarian reserve: a single center retrospective study[J]. Gynecol Endocrinol, 2018, 34(9): 761-765. DOI: 10.1080/09513590.2018.1450379.
- [14] Speyer B, O'Neill H, Saab W, et al. In assisted reproduction by IVF or ICSI, the rate at which embryos develop to the blastocyst stage is influenced by the fertilization method used: a split IVF/ICSI study[J]. J Assist Reprod Genet, 2019, 36(4): 647-654. DOI: 10.1007/s10815-018-1358-3.

(收稿日期: 2019-08-16)