

微刺激和自然周期中 IVF 和 ICSI 的结局分析

冯 婷,钱晓乔,高 彦,王 婵,刘嘉茵*

(南京医科大学第一附属医院临床生殖中心,江苏 南京 210029)

[摘要] 目的:探讨高龄、因卵巢功能减退、有诱导排卵禁忌证等反复种植失败的患者,采用克罗米芬微刺激或自然周期体外受精(in vitro fertilization, IVF)/单精子卵胞浆内注射(intracytoplasmic sperm injection, ICSI)治疗,分析关于卵母细胞质量及胚胎发育潜能的数据。方法:分析微刺激周期和自然周期不同受精方式下的实验室数据,包括获卵率、卵子成熟率、正常受精率、正常卵裂率、可移植胚胎率、优质胚胎率、妊娠率。结果:2010 年 1 月~2012 年 11 月,共完成 IVF/ICSI 治疗周期 2 565 个,其中克罗米芬微刺激周期 1 752 个,自然周期 813 个。随着周期数的增加,正常受精率、卵裂率、可移植胚胎率、优质胚胎率、妊娠率及临床妊娠率呈上升趋势。结论:对于卵巢功能减退、高龄、有诱导排卵禁忌证等卵巢低反应的患者,优质胚胎率低下和(或)反复移植失败的低生育力患者,使用微刺激或自然周期方案是优先选择的方案。

[关键词] 自然周期;微刺激;胚胎发育

[中图分类号] R321-33

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2014)09-1236-04

doi: 10.7655/NYDXBNS20140917

The laboratory result analysis of mild-stimulation or natural cycle treatment in IVF/ICSI

Feng Ting, Qian Xiaoqiao, Gao Yan, Wang Wei, Liu Jiayin*

(Human Clinical Reproductive Medicine Center, the First Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the quality of oocyte and embryo developmental potential of poor ovarian responders with ovarian dysfunction, aged, ovulation induction contraindications, leading to repeated implantation failure by a conventional stimulation protocol for IVF/ICSI. **Methods:** The differences between minimal stimulation and natural cycle were compared in embryo development, embryo implantation, clinical pregnancy and outcomes. **Results:** A total of 2 565 cycles completed IVF/ICSI-ET treatment during January 2010 to November 2012 which includes 1 752 minimal stimulation cycles and 813 natural cycles. The ratios of normal fertilization rate, cleavage rate and good quality embryos all tend to increase with the increase of cycle number. **Conclusion:** For patients with aged, ovulation induction contraindications, ovarian dysfunction and patients with previous poor ovarian response or low high-quality embryo rate, mild stimulation or natural cycle might be an optimal choice.

[Key words] natural cycle; mild-stimulation; embryonic development

[Acta Univ Med Nanjing, 2014, 34(09): 1236-1239]

世界上第 1 例试管婴儿采用的是自然周期方案,发展至今,目前多数辅助生殖中心是使用大量促性腺激素刺激患者卵巢,以获得更多成熟的卵子,但长期反复使用促性腺激素刺激卵巢会增加卵巢癌、子宫内膜癌、乳腺癌的风险^[1],部分患者对促性腺激素的刺激反应强烈,导致卵巢过度刺激(ovarian hyperstimulation syndrome, OHSS),还有一部分患者对

促性腺激素的刺激反应低下;此外,促排卵药物价格昂贵,监控排卵的时间较长^[2-3],微刺激或自然周期能消除因使用大量外源性激素所产生的不良反应,但因获卵数低而较少在临床中常规应用^[3-5],加之经常出现内源性黄体生成素(LH)峰的提前而诱导卵母细胞早排,增加了周期取消率。本研究回顾性分析了近 2 年来微刺激和自然周期的体外受精(in vitro fertilization, IVF)/单精子卵胞浆内注射(intracytoplasmic sperm injection, ICSI)的实验室数据,评估这 2 种受精方式的临床周期应用价值,以便积累更多经验。

[基金项目] 国家 973 项目资助(2012CB944902);国家临床重点专科资助项目

*通信作者(Corresponding author), E-mail: jyliu@njmu.edu.cn

1 对象和方法

1.1 对象

采用南京医科大学第一附属医院生殖中心 CCRM 数据库的资料。从 2010 年 1 月~2012 年 11 月,由于高龄、卵巢功能低下、优质胚胎率低下、反复种植失败等在本中心治疗的患者,均为完成取卵、IVF/ICSI 治疗周期,其中自然周期 813 例,微刺激周期 1 752 例。两组年龄分别为 22~46(36.3 ± 4.8)岁和 22~47(35.2 ± 4.8)岁。

1.2 方法

1.2.1 治疗方案

每个治疗周期的月经第 3 天 B 超监测窦卵泡的大小和数目,清晨空腹测定血清卵泡刺激素(FSH)、LH、雌二醇(E₂)的水平。选择克罗米芬微刺激方案的标准:无正常发育速度的优势卵泡,窦卵泡直径均 < 8 mm,FSH < 20 U/L,E₂ < 280 pmol/L 时使用。选择自然周期的标准:①有正常发育速度的优势卵泡,窦卵泡直径均 > 8 mm,FSH < 20 U/L,E₂ > 280 pmol/L;②既往取卵周期中卵母细胞形态异常;③有诱导排卵禁忌证;④使用微刺激 IVF/ICSI 治疗无效者。自然周期不使用任何药物。

1.2.2 卵母细胞的采集与处理

B 超监测卵泡的生长发育情况,当优势卵泡直径 > 15 mm、血 LH < 10 U/L 或尿 LH 值 < 20 U/L、每个主导卵泡平均 E₂ ≈ 1 100 pmol/L 时,即当晚 20:30 皮下注射 0.2 mg GnRH-a(曲普瑞林,博福-益普生公司,法国)诱发排卵,注射后 36 h 经阴道穿刺取卵;若血 LH > 10 U/L 或尿 LH > 20 U/L 时,则 24 h 取卵。取出卵母细胞后,将带卵丘放射冠的卵母细胞经含 10% 人血清替代品的 HTF 培养液(澳丽晶公司,丹麦)充分洗涤,移入该培养液(已在培养箱平衡过夜)中,置 CO₂ 培养箱(37℃、5% CO₂、饱和湿度)中备用。

1.2.3 精子的处理与受精

男方精液的常规结果均符合 IVF 或 ICSI 的操作指征。取卵当日常规用 PureCeption(SAGE 公司,美国)精子梯度分离液处理新鲜精液。按 IVF/ICSI 的常规操作方案受精。于受精后 16~18 h 在倒置显微镜 400 倍下观察受精情况,培养液为含 10% 人血清替代品的 GM 培养液(SAGE 公司,美国)。

1.2.4 胚胎发育与评价

每隔 24 h 观察胚胎的发育情况,根据胚胎发育速度,卵裂球的数目、均一度,细胞质的形态以及碎

片的多少对胚胎进行综合整体的评价。移植当日可移植胚胎的标准是胚胎发育速度基本正常,卵裂球不均一或均一、数目不均等或均等,细胞质中允许有少量空泡,碎片程度不超过 15%;优质胚胎的标准是胚胎发育速度正常,卵裂球均一、数目不均等或均等,细胞质均一、无空泡,碎片程度不超过 10%。

1.2.5 胚胎移植的条件

克罗米芬微刺激周期:扳机日内膜厚度 ≥ 8 mm 或胚胎发育略差时,于受精第 3 天行胚胎移植;若内膜厚度 < 8 mm、发育为优质胚胎时,则玻璃化冻存全部胚胎,待下个自然周期行冻胚移植。自然周期:取卵患者一般当月移植。

1.2.6 妊娠结局

种植后常规肌注黄体酮(上海通用药业)20 mg/d 和口服达芙通(苏威药业,荷兰)10~20 mg/d 以健黄体;在种植后第 14 天取静脉血测 hCG 值,以检验是否妊娠;第 40 天 B 超检查胎数及胎心,确定是否临床妊娠并随访胎儿出生情况。

1.3 统计学方法

数据经整理后,计算各组相关指标的发生率,具体计算方法如下:获卵率(%)=取卵数/卵泡数×100%;体外成熟率(%)=成熟卵数/取卵总数×100%;正常受精率(%)=双原核受精卵数/成熟卵数×100%;卵裂率(%)=正常卵裂胚胎数/双原核受精卵数×100%;可移植胚胎率(%)=可移植胚胎数/双原核受精卵数×100%;优质胚胎率(%)=优质胚胎数/双原核受精卵数×100%;胚胎种植率(%)=胎数/移植胚胎数×100%;妊娠率(%)=(临床妊娠周期数+生化妊娠周期数)/移植周期数×100%;临床妊娠率(%)=临床妊娠周期数/移植周期数×100%;活产率(%)=活产周期数/临床妊娠周期数×100%;流产率(%)=流产周期数/临床妊娠周期数×100%。

计量资料用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,计数资料用百分率表示。采用 SPSS17.0 系统,应用卡方检验比较 IVF 和 ICSI 不同组间的正常受精率、胚胎发育及临床妊娠结局等, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 微刺激、自然周期对胚胎发育的影响

考虑到由于自然周期的获卵率较低、不同受精方式可能会造成影响,本研究将自然周期(N)、微刺激周期(C)均分为 IVF、ICSI 两组,即 N-IVF、N-ICSI 组和 C-IVF、C-ICSI 组。每组间的正常受精率和胚胎质量都非常接近,无统计学差异,表明上

述因素对胚胎的体外培养、发育潜能均未产生影响(表1)。

2.2 微刺激、自然周期对胚胎移植和临床妊娠的影响

不同的受精方式、治疗方式均未对胚胎的移植、临床妊娠及结局产生影响,每组间均无统计学差异,表明临床结局与受精方式、治疗方式的选择关联不大(表2)。

2.3 微刺激、自然周期的实验室数据总结

不同治疗方式(微刺激/自然周期)、受精方式(IVF/ICSI)下体外培养的胚胎,其发育潜能并不受上述因素的影响,各组数据之间没有明显的统计学差异,因此将每年所有的实验室数据综合在一起进行分析比较(表3)。近3年来实验室的数据平稳,没

有较大波动,各组间没有明显统计学差异,但随着IVF/ICSI移植周期数的逐年增加,正常受精率、卵裂率、可移植胚胎率及优质胚胎率呈上升趋势。

2.4 微刺激、自然周期两种治疗方式的胚胎移植及临床数据总结

不同治疗方式(微刺激/自然周期)、受精方式(IVF/ICSI)下体外培养的胚胎,移植后的结局并不受上述因素影响,各组临床数据之间没有明显统计学差异,因此将每年所有胚胎移植及临床数据综合在一起进行分析比较(表4)。3年来的数据平稳,没有较大起伏,各组间没有明显统计学差异,随着IVF/ICSI周期数的逐年增加,妊娠率及临床妊娠率呈上升的趋势。

表1 两种治疗方式对胚胎发育影响的比较

Table 1 Comparison of two treatment effects on embryonic development

组别	平均年龄(岁)	取卵周期数(例)	正常受精率(%)	卵裂率(%)	可移植胚胎率(%)	优质胚胎率(%)
N-IVF	36.5	684	79.7(567/711)	99.1(562/567)	80.9(459/567)	63.7(361/567)
N-ICSI	35.0	129	80.2(105/131)	99.0(104/105)	84.8(89/105)	63.8(67/105)
C-IVF	35.2	1 377	76.2(2 272/2 983)	98.2(2 231/2 272)	80.9(1 837/2 272)	64.9(1 474/2 272)
C-ICSI	34.9	375	75.2(672/894)	99.3(667/672)	83.3(560/672)	62.2(418/672)

表2 两种治疗方式对胚胎种植及临床妊娠的影响

Table 2 Influence of the two treatments for embryo implantation and clinical pregnancy

组别	移植周期数	移植胚胎数	胚胎种植数	胚胎种植率(%)	妊娠率(%)	临床妊娠率(%)	活产率(%)	流产率(%)
N-IVF	389	392	84	21.4(84/392)	50.6(197/389)	22.1(86/389)	70.9(61/86)	19.8(17/86)
N-ICSI	73	91	24	26.4(24/91)	74.0(54/73)	34.2(25/73)	64.0(16/25)	28.0(7/25)
C-IVF	461	620	128	20.6(128/620)	57.9(267/461)	27.5(127/461)	59.1(75/127)	22.0(28/127)
C-ICSI	137	196	36	18.4(36/196)	52.6(72/137)	23.4(32/137)	75.0(24/32)	25.0(8/32)

表3 2010~2012年实验室数据总结

Table 3 Laboratory data summary from 2010 to 2012

年份	平均年龄(岁)	取卵周期数(例)	正常受精率(%)	卵裂率(%)	可移植胚胎率(%)	优质胚胎率(%)
2010	35.6	596	75.2(941/1 252)	98.2(924/941)	78.1(735/941)	54.2(510/941)
2011	35.6	914	74.9(1 428/1 906)	99.1(1 415/1 428)	82.8(1 182/1 428)	67.2(959/1 428)
2012 ^a	35.3	1 069	79.8(1 376/1 725)	98.4(1 354/1 376)	80.7(1 111/1 376)	66.6(917/1 376)
合计	35.5	2 580	76.7(3 745/4 883)	98.6(3 693/3 745)	80.9(3 028/3 745)	63.7(2 386/3 745)

a:统计时间为1~11月。

表4 2010~2012年胚胎种植及临床妊娠的总结

Table 4 Summary of embryo implantation and clinical pregnancy from 2010 to 2012

年份	移植周期数	移植胚胎数	胚胎种植数	胚胎种植率(%)	妊娠率(%)	临床妊娠率(%)	活产率(%)	流产率(%)
2010	270	345	67	21.4(67/345)	52.6(142/270)	23.7(64/270)	71.9(46/64)	25.0(16/64)
2011	379	469	103	22.0(103/469)	56.7(215/379)	26.6(101/379)	68.3(69/101)	28.7(29/101)
2012 ^a	415	475	99	20.8(99/475)	56.9(236/415)	25.5(106/415)	69.8(74/106)	23.6(25/106)
合计	1 064	1 289	269	20.9(269/1 289)	55.7(593/1 064)	25.5(271/1 064)	69.7(189/271)	25.8(70/271)

a:统计时间为1~11月。

3 讨论

在不孕不育患者中,由于高龄、卵巢功能低下等原因易导致优质胚胎率低下、反复种植失败。其中9%~24%患者表现为卵巢低反应,尤其是年龄>40岁的患者^[6-7]。可能由于先天遗传、既往手术中对卵巢组织的损伤、严重的盆腔及卵巢周围粘连等因素破坏了卵巢组织,影响卵巢血供^[8]。而高龄患者,由于卵巢功能减退,储备卵泡数量减少,如果应用促排卵药物则难以获得较高质量的胚胎,种植潜力和临床妊娠率下降。微刺激和自然周期方案均非常接近生理状态,和促排卵周期相比较,虽然获卵率较低,但在本中心获得的各项实验室数据,包括正常受精率、卵裂率、可移植胚胎率和优质胚胎率,均比较理想,并不会影响胚胎着床与临床结局,说明有很好的临床应用价值。

当使用大剂量促排卵药物时,可能会增加卵母细胞非整倍体发生的概率^[9],导致胚胎的嵌合体和异常染色体比例升高^[10],造成高质量胚胎率下降,妊娠率随之降低。而在自然状态下,每批卵泡中质量最好的卵母细胞容易被募集^[11-13],使用微刺激或自然周期方案既可获得每批卵母细胞中最优质的少数卵母细胞、减少卵母细胞的浪费、降低了多胎风险,降低因多胎带来的围产期并发症(如早产等)^[14-15]。因此在本研究中,不管是微刺激还是自然周期组,尽管受精方式不同,但IVF和ICSI两组的正常受精率、卵裂率、可移植胚胎率、优质胚胎率以及临床指标均无统计学差异,说明胚胎质量和发育潜能主要与卵母细胞的质量有关,与受精方式关联不大,在男方精液结果正常的情况下,尽量选择IVF的受精方式,应严格把握ICSI指征。

选择微刺激和自然周期治疗较促排卵方案的费用少,对身体的伤害及治疗并发症(如卵巢过度刺激综合征、多胎妊娠)减少。本研究统计分析近3年来关于胚胎发育潜能、胚胎种植和临床结果的数据,各组间均没有明显的统计学差异,说明对于高龄、卵巢功能低下、多次常规促排卵治疗失败的患者,在有效控制由于卵子早排造成周期取消的前提下,微刺激或自然周期是更合适的选择。

[参考文献]

[1] Jin HL, Seong HY. Selection of patients for natural cycle in vitro fertilization combined with *in vitro* maturation of immature oocytes [J]. *Fertil Steril*, 2009, 91(4):1050 -

1055
[2] Edwards RG, Lobo RA, Bouchard P. Why delay the obvious need for milder forms of ovarian stimulation? [J]. *Hum Reprod*, 1997, 12(2):399-401
[3] Jarondi KA, Hollanders JMG, Sieck UV, et al. Pregnancy after transfer of embryos which were generated from *in vitro* matured oocytes [J]. *Hum Reprod*, 1997, 12(4):857-859
[4] Russell JB, Knezerich KM, Fabiau KF. Unstimulated immature oocyte retrieval: early versus midfollicular endometrial priming [J]. *Fertil Steril*, 1997, 67(4):616-620
[5] Mikkelsen AL, Smith SD, Lindenberg S. *In vitro* maturation of human oocytes from regularly menstruating woman may be successful without FSH priming [J]. *Hum Reprod*, 1999, 14(7):1847-1851
[6] Badawy A, Wageah A, El Gharib M, et al. Strategies for pituitary down-regulation to optimize IVF/ICSI outcome in poor ovarian responders [J]. *J Reprod Infertil*, 2012, 13(3):124-130
[7] Oudendijk JF, Yarde F, Eijkemans MJ, et al. The poor responder in IVF: is the prognosis always poor: a systematic review [J]. *Hum Reprod Update*, 2012, 18(1):1-11
[8] 高彦, 冒韵东, 王婵, 等. 微刺激和自然周期体外受精/卵泡浆内单精子注射治疗的临床结局分析 [J]. *生殖医学杂志*, 2013, 22(1):34-38
[9] Karande V, Gleicher N. A rational approach to the management of low responders in *in vitro* fertilization [J]. *Hum Reprod*, 1999, 14(7):1744-1748
[10] Baart EB, Martini E, Eijkemans MJ, et al. Milder ovarian stimulation for *in vitro* fertilization reduces aneuploidy in the human preimplantation embryo: a randomized controlled trial [J]. *Hum Reprod*, 2007, 22(4):980-988
[11] Ferraretti AP, La Marca A, Fauser BC, et al. ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for *in vitro* fertilization: the Bologna criteria [J]. *Hum Reprod*, 2011, 26(7):1616-1624
[12] Li J, Xu Y, Zhou G, et al. Natural cycle IVF/IVM may be more desirable for poor responder patients after failure of stimulated cycles [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2011, 28(9):791-795
[13] Nygren KG. Single embryo transfer: the role of natural cycle/minimal stimulation IVF in the future [J]. *Reprod Biomed Online*, 2007, 14(5):626-627
[14] 孟琳, 邓朝晖, 阳翎, 等. 选择性单胚胎移植的临床效果分析 [J]. *实用预防医学*, 2011, 18(4):674-676
[15] 李瑞岐, 王文军, 李轶, 等. 非选择性单胚胎移植的临床结局 [J]. *中山大学学报: 医学科学版*, 2013, 34(2):244-249