

年轻患者体外受精 - 胚胎移植后 生化妊娠的相关因素分析

李 颖 王一鹏 兰永连 梁 毓 张 军 王树玉

摘要 目的 探讨年轻患者行体外受精 - 胚胎移植 (IVF - ET) 治疗后发生生化妊娠的相关因素。方法 回顾性分析了 2019 年 1 ~ 12 月在笔者医院首次行 IVF - ET 治疗, 无自然流产史、无子宫解剖学异常的年轻患者, 移植后生化妊娠的 44 例为研究组, 同期 IVF - ET 后正常分娩的 128 例为对照组, 比较两组一般情况和助孕指标, 选择有统计学意义的指标行多因素 Logistic 回归分析, 探讨年轻患者生化妊娠的相关影响因素。结果 经多因素 Logistic 回归分析, 发现年龄、宫外孕病史、获卵数、内膜厚度和移植优胚数是影响年轻患者生化妊娠的因素 ($P < 0.05$)。结论 对于无自然流产史、无子宫解剖学异常的年轻患者, 年龄增大、宫外孕病史可能是生化妊娠的危险因素; 获卵数多、子宫内膜略厚和移植优质胚胎可能是妊娠活产的有利因素。

关键词 生化妊娠 体外受精 - 胚胎移植 分娩 危险因素

中图分类号 R71

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2021.04.018

Analysis of Relevant Factors of Biochemical Pregnancy in Young Patients Undergoing in Vitro Fertilization - embryo Transfer. Li Ying, Wang Yipeng, Lan Yonglian, et al. Beijing Obstetrics and Gynecology Hospital, Capital Medical University, Beijing 100026, China

Abstract Objective To investigate the related factors of biochemical pregnancy in young patients undergoing in vitro fertilization - embryo transfer. **Methods** A retrospective analysis was performed on the young women, without spontaneous abortion and anatomical abnormality of uterus, who received IVF - ET in our hospital from January 2019 to December 2019. 44 cases were enrolled for biochemical pregnancy group and 128 cases for delivery group. The general conditions and the assisted reproductive indicators were analyzed. **Results** Multiple Logistic regression analysis showed that age, history of ectopic pregnancy, number of retrieved oocytes, thickness of endometrium and number of high - quality embryos transplanted were the relevant factors of biochemical pregnancy in young patients ($P < 0.05$).

Conclusion The risk factors of biochemical pregnancy were older age and ectopic pregnancy in young patients without history of spontaneous abortion and anatomical abnormality of uterus. More retrieved oocytes, slightly thicker endometrium and high - quality embryos are protective factors for pregnancy.

Key words Biochemical pregnancy; In vitro fertilization - embryo transfer; Delivery; Risk factor

人类辅助生殖技术 (assisted reproductive technology, ART) 的进步和发展让无数的不孕夫妇获益, 但在 ART 的实施过程中, 不孕夫妇也面临着巨大的心理、情感、身体和经济压力。胚胎移植后, 即使检测到人绒毛膜促性腺激素 (human chorionic gonadotropin, HCG) 阳性, 也可能出现不同的结局, 比如临床妊娠活产、临床妊娠流产或生化妊娠^[1]。早期的文献报道, 约 15% ~ 20% 的孕妇会发生早期妊娠丢失^[2]。有些患者在 ART 过程中, 仅出现了血清或尿液 HCG 阳性, 但超声提示宫腔内外均未见到孕囊, 随后妊娠状态自然终止, 临床上称之为生

化妊娠 (biochemical pregnancy, BP), 又称为不明部位妊娠、隐匿性流产, 生化妊娠是离妊娠很近又很远的情况, 让患者出现了希望又破灭, 带来较大的精神压力。

目前发生生化妊娠的机制尚不清楚, 可能与染色体异常和解剖学、免疫学或其他原因导致的子宫内膜容受性差有关, 但是对这些问题研究相对较少^[3]。近年来, 有研究认为生化妊娠可能跟女性年龄、胚胎周期移植数目及质量、子宫内膜等因素相关, 但是关于年轻患者发生生化妊娠的研究很少^[4,5]。本研究回顾性研究了在笔者医院行体外受精 - 胚胎移植 (in vitro fertilization - embryo transfer, IVF - ET) 治疗, 无自然流产史、无子宫解剖学异常的年轻患者, 分析其结局为生化妊娠和活产患者的临床资料, 探讨年轻患者发生生化妊娠的相关因素。

基金项目: 北京市科技计划项目 (Z181100001718108)

作者单位: 100026 首都医科大学附属北京妇产医院

通讯作者: 王一鹏, 电子邮箱: wangyipeng@ccmu.edu.cn

资料与方法

1. 研究对象: 回顾性分析 2019 年 1 ~ 12 月在笔者医院首次行 IVF - ET 治疗患者的临床资料。入组标准: ①年龄 ≤ 35 岁; ②符合 IVF - ET 适应证; ③基础 FSH < 10IU/L。排除标准: ①除外 IVF - ET 禁忌证; ②无自然流产史; ③超声提示子宫无解剖学异常; ④无卵巢手术史及放化疗史; ⑤超声或输卵管造影未见输卵管积液。生化妊娠的 44 例为研究组, 同期 IVF - ET 后正常分娩的 128 例为对照组。生化妊娠的诊断标准: ①低 β - hCG 峰值 (β - hCG 高于正常值但是低于 100mIU/ml); ②尿或血清 β - hCG 浓度快速下降; ③下一个月经期的短暂延迟; ④移植后 30 ~ 35 日未看到妊娠囊或除外宫外孕^[6]。正常分娩组诊断标准: 移植后 30 ~ 35 日超声见宫内活胎, 持续妊娠至足月分娩。

2. 临床资料收集: 收集患者的一般情况 (年龄、身高、体重等)、不孕年限、基础内分泌、窦卵泡数、促性腺激素 (gonadotropin, Gn) 用量、HCG 日 LH、E₂、P 值、HCG 日内膜厚度、实验室相关指标和移植胚胎情况。(1) 体外受精 - 胚胎移植: 选择促排卵方案, 一般采用促性腺激素释放激素激动剂 (gonadotropin - releasing hormone agonist, GnRH - a) 长方案和 GnRH 拮抗剂 (gonadotropin - releasing hormone antagonist, GnRH - ant) 方案。阴道超声监测卵泡和子宫内膜生长情况, 测定血清 E₂、LH、P, 根据结果适时调整用量, 直至卵泡发育成熟, 予以人绒毛膜促性腺激素诱导卵母细胞成熟, 注射后 34 ~ 36h 在阴道超声引导下经后穹窿穿刺取卵, 同期手淫法取精, 4 ~ 6h 后进行体外受精。72h 后进行胚胎评分, 选择 1 ~ 2 个发育好的胚胎移植入子宫腔。(2) 妊娠的确定: 胚胎移植后 12 ~ 14 日测血 HCG > 10mIU/ml 确定为妊娠; 于胚胎移植后 30 ~ 35 天行腹部超声检查见一个或多个孕囊, 见到孕囊确定为临床妊娠, 观察胎芽及胎心情况, 包括异位妊娠。正常分娩患者随访至分娩后。

3. 统计学方法: 采用 SPSS 21.0 统计学软件对数据进行统计分析, 采用 χ² 检验、t 检验、单因素分析、多因素 Logistic 回归分析等统计学方法, 以 P < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. 生化妊娠组与分娩组一般资料比较: 生化妊娠的 44 例为研究组, 同期 IVF - ET 后正常分娩的 128 例为对照组, 两组患者年龄、bFSH、窦卵泡数、AMH、

宫外孕史比较, 差异有统计学意义 (P < 0.05, 表 1)。

表 1 生化妊娠与分娩组一般资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	生化妊娠组	分娩组	P
n	44	128	-
年龄 (岁)	32.14 ± 2.29	30.31 ± 2.54	0.000
原发/继发不孕 (n)	24/20	78/50	0.457
不孕年限 (年)	3.91 ± 2.62	3.73 ± 2.07	0.654
体重指数	23.73 ± 3.30	23.11 ± 4.13	0.369
bFSH (IU/L)	7.92 ± 2.65	6.94 ± 1.71	0.005
bE ₂ (pg/ml)	42.89 ± 15.59	45.36 ± 16.50	0.385
bLH (IU/L)	3.77 ± 2.32	4.50 ± 2.35	0.076
窦卵泡数 (n)	10.18 ± 4.50	12.95 ± 6.03	0.006
AMH (ng/ml)	3.43 ± 3.02	4.76 ± 3.11	0.014
人工授精失败史 (n)	6	30	0.168
PCOS (n)	5	17	0.742
宫外孕史 (n)	12	14	0.001
子宫内膜异位症 (n)	3	5	0.423
甲状腺抗体阳性 (n)	4	22	0.196
抗核抗体阳性 (n)	4	8	0.506

2. 生化妊娠组与分娩组助孕相关指标比较: 两组助孕指标比较, 获卵数、成熟卵数、正常受精数、D3 优胚数、移植优胚数、内膜厚度差异有统计学意义 (P < 0.05, 表 2)。

表 2 生化妊娠与分娩组助孕相关指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	生化妊娠组	分娩组	P
HCG 日 E ₂ (pg/ml)	2702.02 ± 1095.94	2531.20 ± 1027.93	0.351
HCG 日 LH (IU/L)	2.23 ± 1.54	2.43 ± 2.55	0.622
HCG 日 P (ng/ml)	0.89 ± 0.38	0.95 ± 0.98	0.683
Gn 总量 (IU)	2325.59 ± 1108.51	2189.06 ± 769.39	0.369
获卵数 (n)	6.59 ± 3.54	9.05 ± 3.99	0.000
ICSI 比率 (%)	9.09 (4/44)	12.50 (16/128)	0.543
成熟卵数 (n)	6.23 ± 3.23	8.00 ± 3.45	0.003
正常受精数 (n)	5.27 ± 2.88	6.83 ± 3.35	0.007
D3 优胚数 (n)	2.14 ± 2.03	3.13 ± 2.39	0.018
移植胚胎数/周期 (n)	1.82 ± 0.39	1.86 ± 0.35	0.513
移植优胚数 (n)	1.32 ± 0.77	1.72 ± 0.52	0.000
内膜厚度 (mm)	9.68 ± 1.99	10.63 ± 1.94	0.006

3. 生化妊娠相关因素 Logistic 回归分析: 将单因素比较中两组差异有统计学意义的因素, 包括年龄、bFSH、窦卵泡数、AMH、宫外孕史、获卵数、成熟卵数、正常受精数、D3 优胚数、移植优胚数、内膜厚度进行 Logistic 回归分析, 发现年龄、宫外孕病史、获卵数、内膜厚度和移植优胚数是影响年轻患者生化妊娠的因素 (P < 0.05, 表 3)。

表 3 生化妊娠相关因素 Logistic 回归分析

项目	β	P	Exp(β)	OR(95% CI)
年龄	0.265	0.015	1.304	1.053 ~ 1.616
宫外孕史	1.669	0.002	5.309	1.804 ~ 15.628
bFSH	0.175	0.195	1.191	0.914 ~ 1.552
AMH	-0.182	0.117	0.834	0.664 ~ 1.047
窦卵泡数	0.035	0.577	1.035	0.917 ~ 1.169
获卵数	-0.722	0.013	0.486	0.275 ~ 0.859
成熟卵数	0.368	0.382	1.445	0.633 ~ 3.295
正常受精数	0.361	0.171	1.435	0.855 ~ 2.408
D3 优胚数	0.046	0.750	1.047	0.788 ~ 1.391
移植优胚数	-1.357	0.003	0.258	0.107 ~ 0.621
内膜厚度	-0.339	0.010	0.713	0.550 ~ 0.923

讨 论

生化妊娠又称为不明部位妊娠、隐匿性流产。在自然妊娠过程中,生化妊娠被认为是相当普遍的,有研究显示生化妊娠约占妊娠总数的 25%。在 ART 的过程中也存在生化妊娠,之前有研究者认为与未受刺激周期比较,Gn 刺激多卵泡发育可能改变子宫内膜基因和蛋白的表达,在冷冻胚胎移植周期中外源性雌激素和孕激素也会引起子宫内膜基因和蛋白表达的改变,这些改变可能会影响移植后胚胎的发育,增加生化妊娠率^[6]。但 Zeadna 等^[7]研究发现,新鲜体外受精和冷冻胚胎移植的生化妊娠率为 13.8%,新鲜和冷冻胚胎移植的生化妊娠率比较差异无统计学意义,IVF-ET 的生化妊娠率(14%)低于自然妊娠的生化妊娠率(18%)。

生化妊娠发生的机制尚不清楚,目前认为可能与年龄、胚胎周期移植数目及质量、染色体异常和解剖学、免疫学或其他原因导致的子宫内膜容受性差有关^[3-5]。日常工作中发现年轻患者,除外自然流产史、子宫解剖学异常的因素后,生化妊娠仍然存在。笔者比较了年轻患者行 IVF-ET 治疗的相关指标,探讨可能导致年轻患者生化妊娠的因素,希望为临床上改善患者结局提供思路。本研究将行 IVF-ET 年轻患者生化妊娠组和分娩组一般情况进行比较,发现生化妊娠组年龄偏大,相应的 bFSH、窦卵泡数、AMH 反应出的卵巢储备功能低于分娩组,既往宫外孕史患者更多,差异有统计学意义($P < 0.05$)。助孕结局比较,生化妊娠组的获卵数、成熟卵数、正常受精数、D3 优胚数、移植优胚数、内膜厚度均小于分娩组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。经过 Logistic 回归分析发现年龄、宫外孕病史、获卵数、内膜厚度和移植优胚数是影响年轻患者生化妊娠的因素($P < 0.05$)。

对于年龄与生化妊娠的关系,有研究认为随着女

性年龄的增长,生化妊娠率也会上升,可能跟年龄增大导致非整倍体率的增加有关^[8]。De Neubourg 等^[9]研究了年龄小于 38 岁的 370 个周期,移植单个优质胚胎后生化妊娠率为 8.1% (30/370),流产率为 6.2% (23/370),持续妊娠率为 36.5% (135/370)。2020 年的一项回顾性队列研究招募了 2177 例受试者,按年龄分层进行比较,发现临床流产率随年龄增加而增加($P = 0.000$),但是年龄增长对生化妊娠率的影响差异无统计学意义($P = 0.72$, 21 ~ 30 岁为 10.7%, 31 ~ 35 岁为 9.8%, 36 ~ 40 岁为 11.5%, 41 ~ 42 岁为 13.6%),因此笔者认为 21 ~ 42 岁女性的生化妊娠率并没有随着年龄的增长而增加^[10]。本研究发现,生化妊娠组的年龄高于分娩组,相应的与年龄高度相关的反应卵巢功能 bFSH、窦卵泡数、AMH、获卵数也有差异。虽然都是年轻患者,但是生化妊娠组年龄还是高于正常分娩组。随着年龄的增长,卵巢储备功能下降、胚胎质量和子宫内膜容受性的差异,可能增加了生化妊娠的发生。

之前有研究者认为,生化妊娠的发生可能与胚胎染色体异常相关,但是生化妊娠流产没有组织物排出,客观上无法进行胚胎染色体的检测。也有研究者认为植入前胚胎的非整倍体筛选并不能提高植入率,但能减少植入后临床妊娠流产的发生,是否进行非整倍体筛选与生化妊娠相关性不大^[6]。Vaiarelli 等^[11]评估了冷冻胚胎移植中胚胎非整倍体和胚胎发育阶段对生化妊娠的影响,卵裂期胚胎组、未检测囊胚组和整倍体囊胚组的生化妊娠率分别是 13.8% (30/217)、9.0% (37/412)、9.7% (42/433),差异无统计学意义。笔者认为生化妊娠的发生与移植胚胎发育的阶段、是否进行染色体检测关系不大。Ni 等^[12]的研究也认为囊胚非整倍体与生化妊娠的发生相关性不大,但与植入失败和早期流产相关。本研究中移植胚胎为卵裂期胚胎,未进行植入前胚胎的非整倍体筛选,尚不能评价胚胎染色体异常与生化妊娠的关系,这是本研究的不足之处。囊胚阶段胚胎进行非整倍体筛选,选择移植染色体正常胚胎后,评价生化妊娠和临床妊娠流产的高危因素将是很好的研究方向。

Dickey 等^[13]探讨了排卵前子宫内膜厚度与生化妊娠的关系,发现子宫内膜厚 $< 9\text{mm}$ 组的生化妊娠发生率为 7/32 (21.9%),明显高于子宫内膜厚度大于 9mm 组(0/49, $P < 0.01$),但是早期流产率与子宫内膜厚度无明显相关性。Zanetti 等^[5]研究发现生化妊娠组的子宫内膜厚度明显降低,笔者认为子宫内膜

厚度 <11mm 可能是生化妊娠的预测指标之一。本研究发现生化妊娠组的子宫内膜厚度低于分娩组,可能在正常范围内子宫内膜的增高有利于胚胎着床。在生化妊娠组中,有宫外孕史所占比例较高,推测宫外孕史可能是生化妊娠的高危因素。

关于生化妊娠与移植优质胚胎是否相关,有研究认为生化妊娠组的平均胚胎质量评分与临床妊娠组相似,但与流产组比较差异有统计学意义 ($P < 0.005$)。也有研究发现,与临床妊娠组和自然流产组比较,生化妊娠组的移植优质胚胎率较低 ($P = 0.000$)^[14]。本研究显示在每周移植胚胎数目没有差异的情况下,生化妊娠组的移植优胚数低于分娩组,移植优质胚胎是提高抱婴率的有利因素。

对于既往生化妊娠患者的 IVF - ET 治疗结局,有研究认为生化妊娠史与后续 IVF - ET 的活产率呈负相关^[4]。但也有研究认为生化妊娠并不是不育的指标,而是着床的一个生殖阶段,后续的治疗不影响胚胎移植的活产率甚至有更高的临床妊娠率,为临床治疗的成功带来了希望^[15]。因此,对于年轻的即使没有自然流产史和子宫解剖学异常的患者,生化妊娠也要引起足够的重视,给患者增加信心,适当地增加内膜厚度,选择优质胚胎进行移植,旨在取得良好的妊娠结局。

参考文献

- 1 Lee HM, Lee HJ, Yang KM, *et al.* Etiological evaluation of repeated biochemical pregnancy in infertile couples who have undergone in vitro fertilization [J]. *Obstet Gynecol Sci*, 2017, 60(6): 565 - 570
- 2 Salat - Baroux J. Recurrent spontaneous abortions [J]. *Reprod Nutr Dev*, 1988, 28(6B): 1555 - 1568
- 3 Shapiro BS, Daneshmand ST, Garner FC, *et al.* Evidence of impaired endometrial receptivity after ovarian stimulation for in vitro fertilization: a prospective randomized trial comparing fresh and frozen - thawed embryo transfer in normal responders [J]. *Fertil Steril*, 2011, 96(2): 344 - 348
- 4 Tarín JJ, Pascual E, Gómez R, *et al.* Predictors of live birth in women with a history of biochemical pregnancies after assisted reproduction treatment [J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2020, 248

- (5): 198 - 203
- 5 Zanetti BF, Setti AS, Iaconelli A Jr, *et al.* Predictive factors for biochemical pregnancy in intracytoplasmic sperm injection cycles [J]. *Reprod Biol*, 2019, 19(1): 55 - 60
- 6 Annan JJ, Gudi A, Bhide P, *et al.* Biochemical pregnancy during assisted conception: a little bit pregnant [J]. *J Clin Med Res*, 2013, 5(4): 269 - 274
- 7 Zeadna A, Son WY, Moon JH, *et al.* A comparison of biochemical pregnancy rates between women who underwent IVF and fertile controls who conceived spontaneously [J]. *Hum Reprod*, 2015, 30(4): 783 - 788
- 8 Salumets A, Suikkari A, Mäkinen S, *et al.* Frozen embryo transfers: implications of clinical and embryological factors on the pregnancy outcome [J]. *Hum Reprod*, 2006, 21(9): 2368 - 2374
- 9 De Neubourg D, Gerris J, Mangelschots K, *et al.* Single top quality embryo transfer as a model for prediction of early pregnancy outcome [J]. *Hum Reprod*, 2004, 19(6): 1476 - 1479
- 10 Dahan MH, Zeadna A, Dahan D, *et al.* The biochemical pregnancy loss rate remains stable up irrespective of age and differs in pattern from clinical miscarriages [J]. *Gynecol Endocrinol*, 2020, 25: 1 - 4
- 11 Vaiarelli A, Cimadomo D, Patrizio P, *et al.* Biochemical pregnancy loss after frozen embryo transfer seems independent of embryo developmental stage and chromosomal status [J]. *Reprod Biomed Online*, 2018, 37(3): 349 - 357
- 12 Ni T, Wu Q, Zhu Y, *et al.* Comprehensive analysis of the associations between previous pregnancy failures and blastocyst aneuploidy as well as pregnancy outcomes after PGT - A [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2020, 37(3): 579 - 588
- 13 Dickey RP, Olar TT, Taylor SN, *et al.* Relationship of biochemical pregnancy to pre - ovulatory endometrial thickness and pattern in patients undergoing ovulation induction [J]. *Hum Reprod*, 1993, 8(2): 327 - 330
- 14 Minasi MG, Colasante A, Riccio T, *et al.* Correlation between aneuploidy, standard morphology evaluation and morphokinetic development in 1730 biopsied blastocysts: a consecutive case series study [J]. *Hum Reprod*, 2016, 31(10): 2245 - 2254
- 15 Li J, Lin J, Yin M, *et al.* The live birth and neonatal outcomes in the subsequent pregnancy among patients with adverse pregnancy outcomes in first frozen embryo transfer cycles [J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2020, 302(3): 731 - 740

(收稿日期: 2020 - 12 - 03)

(修回日期: 2020 - 12 - 06)

(接第 136 页)

- 14 Kain ZN, Mayes LC, Caldwell AA, *et al.* Preoperative anxiety, postoperative pain, and behavioral recovery in young children undergoing surgery [J]. *Pediatrics*, 2006, 118(2): 651 - 658
- 15 Cui X, Zhu B, Zhao J, *et al.* Parental state anxiety correlates with preoperative anxiety in Chinese preschool children [J]. *J Paediatr Child Health*, 2016, 52(6): 649 - 655
- 16 Kain ZN, Caldwell AA, Maranets I, *et al.* Preoperative anxiety and emergence delirium and postoperative maladaptive behaviors [J].

Anesth Analg, 2004, 99(6): 1648 - 1654

- 17 黄霞, 蒋海清, 丁龙. 人文关怀配合支持性心理干预对行扁桃体腺样体摘除术患儿心理状态及应激反应的影响 [J]. *中国健康心理学杂志*, 2019, 27(8): 1202 - 1206
- 18 余云红, 赵体玉, 夏述燕, 等. 手术患儿术前焦虑非药物干预研究进展 [J]. *护理学杂志*, 2019, 34(17): 110 - 112

(收稿日期: 2020 - 11 - 13)

(修回日期: 2020 - 12 - 07)