

人绒毛膜促性腺激素日雌激素水平对胚胎质量和妊娠结局的影响

吴华颖,王卓然,王明磊,卢美松*

作者单位:150000 黑龙江 哈尔滨,哈尔滨医科大学附属第一医院生殖医学科

作者简介:吴华颖,毕业于哈尔滨医科大学,硕士,医师,主要研究方向为辅助生殖技术及妇科内分泌疾病的诊治

* 通信作者,E-mail:lumeisong0417@163.com

【摘要】目的 探讨新鲜周期人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin,hCG)日不同雌二醇(estradiol, E_2)水平对体外受精患者胚胎质量和妊娠结局的影响。**方法** 回顾性分析哈尔滨医科大学附属第一医院生殖医学科2017年1月至2018年12月因不孕症行体外受精/卵细胞浆内单精子注射患者1 134例的临床资料,共1 134个周期。根据hCG日 E_2 水平分为5组:A组: $1\ 000\text{ pg/mL} < E_2 \leq 2\ 000\text{ pg/mL}$;B组: $2\ 000\text{ pg/mL} < E_2 \leq 3\ 000\text{ pg/mL}$;C组: $3\ 000\text{ pg/mL} < E_2 \leq 4\ 000\text{ pg/mL}$;D组: $4\ 000\text{ pg/mL} < E_2 \leq 5\ 000\text{ pg/mL}$;E组: $E_2 > 5\ 000\text{ pg/mL}$ 。比较各组间一般资料、促排卵情况及妊娠情况。**结果** C组MII卵率高于A组、B组,两个原核(2 pronucleus,2PN)受精率、2PN卵裂率、优质胚胎率显著高于其余各组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。C组临床妊娠率、活产率高于其余3组,早产率低于其余3组,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** hCG日 E_2 控制在 $3\ 000 \sim 4\ 000\text{ pg/mL}$ 能够获得更好的胚胎质量,优质胚胎率更高;可能获得较好的临床妊娠率和活产率,改善妊娠结局。

【关键词】 雌激素水平;胚胎质量;妊娠结局;人绒毛膜促性腺激素

【中图分类号】R 711.6

【文献标志码】A

【文章编号】1674-4020(2021)01-059-04

doi:10.3969/j.issn.1674-4020.2021.01.15

Effect of estrogen level on hCG day on embryo quality and pregnancy outcome

WU Huaying, WANG Zhuoran, WANG Minglei, LU Meisong*

Department of Reproduction, The First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin Heilongjiang 150000, P. R. China

* Corresponding author, E-mail:lumeisong0417@163.com

【Abstract】Objective To investigate the effect of different estrogen (E_2) levels on the embryo quality and pregnancy outcome of fresh cycle patients with IVF on hCG day. **Methods** 1 134 cycles of IVF/ICSI were retrospectively analyzed in Department of Reproduction, The First Affiliated Hospital of Harbin Medical University from January 2017 to December 2018. According to the different levels of E_2 on hCG day, they were divided into 5 groups: group A: $1\ 000\text{ pg/mL} < E_2 \leq 2\ 000\text{ pg/mL}$; group B: $2\ 000\text{ pg/mL} < E_2 \leq 3\ 000\text{ pg/mL}$; group C: $3\ 000\text{ pg/mL} < E_2 \leq 4\ 000\text{ pg/mL}$; group D: $4\ 000\text{ pg/mL} < E_2 \leq 5\ 000\text{ pg/mL}$; Group E: $E_2 > 5\ 000\text{ pg/mL}$. Analyzed the general information, ovulation induction and pregnancy among the groups. **Results** The MII oocyte rate in group C was higher than that in group A and B, and the fertilization rate of 2PN, cleavage rate of 2PN and high-quality embryo rate were significantly higher than those of other groups ($P < 0.05$). The clinical pregnancy rate and live birth rate in group C were higher than those of other three groups, premature birth rate was lower than that of other three groups, but the differences were not statistically significant ($P > 0.05$). **Conclusion** Control of E_2 at $3\ 000 \sim 4\ 000\text{ pg/mL}$ on hCG day can receive better embryo quality and high-quality embryo rate; it may obtain better clinical pregnancy rate and live birth rate, and improve pregnancy outcome.

【Key words】 estrogen level; embryo quality; pregnancy outcome; hCG

随着体外受精-胚胎移植(in vitro fertilization-embryo transferred, IVF-ET)技术的发展,应用控制性超促排卵(controlled ovarian hyperstimulation, COH)募集卵泡,在辅助生殖技术中应用越来越广泛。有文献表明超生理量雌激素通过改变子宫内膜容受性的形成,从而影响子宫内膜容受性,进而影响胚胎质量和妊娠结局^[1-2]。目前,国内外研究关于高水平雌激素对于胚胎质量和妊娠结局的影响争论不一^[3-4],本研究根据人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin, hCG)日的不同雌二醇(estradiol, E_2)水平分为5组,探讨雌激素水平对胚胎质量和妊娠结局的影响,指导临床COH过程中控制合适的雌激素范围。

1 资料与方法

1.1 研究对象

回顾性研究2017年1月至2018年12月于哈尔滨医科大学附属第一医院生殖医学科因不孕症行IVF/ICSI患者1 134例的临床资料,共1 134个周期,年龄21~38岁。纳入标准:①年龄<40岁;②不孕原因为输卵管因素或男方因素(轻至重度少、弱、畸精子症);③卵巢储备功能正常;④无家族性遗传性疾病。排除标准:①患有影响胚胎着床的疾病:子宫内膜异位症、子宫肌瘤、子宫纵隔、宫腔粘连等;②患有影响妊娠的疾病:糖尿病、高血压、甲状腺疾病、肾上腺疾病等;③女方复发性流产,早产病史;④男方或女方染色体异常;⑤男方无精症,需行睾丸穿刺取精者。

1.2 分组

根据注射hCG日 E_2 水平分为5组,A组: $1\ 000\text{ pg/mL} < E_2 \leq 2\ 000\text{ pg/mL}$;B组: $2\ 000\text{ pg/mL} < E_2 \leq 3\ 000\text{ pg/mL}$;C组: $3\ 000\text{ pg/mL} < E_2 \leq 4\ 000\text{ pg/mL}$;D组: $4\ 000\text{ pg/mL} < E_2 \leq 5\ 000\text{ pg/mL}$;E组: $E_2 > 5\ 000\text{ pg/mL}$ 。

1.3 促排卵方案

所有患者均采用长方案促排卵方案,于前一周黄体中期,应用促性腺激素释放激素激动剂(GnRH-a)醋酸曲普瑞林注射液(达必佳辉凌德国制药有限公司)0.05 mg~0.1 mg/d皮下注射,至达到垂体降调节标准,即 $E_2 < 50\text{ pg/mL}$,黄体生成素(luteinizing hormone, LH) < 5.0 mIU/mL,内膜 < 5 mm。开始应用促性腺激素(gonadotropin, Gn):果纳芬(瑞士雪兰诺)/丽申宝(中国丽珠集团丽珠制药厂)/人绝经期促性腺激素(human menopausal gonadotropin, HMG)(中国丽珠集团丽珠制药厂)促排卵,经阴道B超监测卵泡发育情况,检测血清 E_2 、LH、孕酮(progesterone, P)水平,调整促排卵用药剂量,当2~3个主导卵泡直径达18 mm时,肌内注射hCG 4 000~10 000 IU,36 h后经阴道超声下取卵。

1.4 体外受精培养及移植

卵胞质内生发泡消失,可见第一极体(Pb1)为成熟卵母细胞(MII期)。取卵当日男方留取精液,采用密度梯度离心-上游法处理精液。根据精液质量采用IVF/卵母细胞单精子显微注射(intracytoplasmic sperm injection,

ICSI)进行受精。受精后16~18 h观察,卵母细胞排出第二极体(Pb2),出现2个原核(2 pronucleus, 2PN),卵母细胞完成受精。胚胎连续培养72 h,观察胚胎情况。胚胎质量评估标准参照2015年《辅助生殖促排卵药物治疗专家共识》^[5],优质胚胎为I-II级胚胎。取卵后72 h进行经超声引导下胚胎移植,剩余胚胎冷冻保存。

1.5 黄体支持

准备移植患者取卵后当日开始肌内注射黄体酮注射液40 mg q d,取卵后第二天开始口服地屈孕酮(达芙通荷兰苏威制药有限公司)10 mg tid,维持用药至验孕当日。移植后14 d抽血检测 β -hCG,大于5 U为生化妊娠,隔日复查 β -hCG翻倍情况。未妊娠者停用黄体酮注射液、地屈孕酮,生化妊娠者维持用药至移植后35 d,行超声检查,发现孕囊和胎心搏动者确定为临床妊娠。

1.6 统计学分析

本研究采用SPSS 22.0软件进行统计学分析,定量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间整体比较采用方差分析,组间两两比较采用LSD法;定性资料采用率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验,检验水准 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

本研究共纳入1 134个周期,其中A组108个周期,B组229个周期,C组256个周期,D组235个周期,E组306个周期,5组之间年龄、不孕年限、体质量指数(body mass index, BMI)、基础卵泡刺激素(basic follicle stimulating hormone, bFSH)、抗苗勒管激素(antimüllerian hormone, AMH)比较差异无统计学意义($P > 0.05$),详见下页表1。

2.2 促排卵情况

5组患者促排卵情况比较,Gn应用总剂量A组高于其余各组,E组低于其余各组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。Gn使用天数C组高于E组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。穿刺卵泡数、获卵数,MII数,A组低于其余各组,E组高于其余各组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。MII卵率A组低于其余各组,C组高于A组、B组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。2PN受精率,2PN卵裂率,优质胚胎率C组高于其余各组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。5组受精方式比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),详见下页表2。

2.3 妊娠情况

1 134个周期中,共移植457个周期,其中A组77周期,B组152个周期,C组97个周期,D组131个周期,E组为避免卵巢过度刺激的发生,未进行移植。移植患者择优移植2枚胚胎,剩余胚胎冷冻保存。C组临床妊娠率、活产率高于其余3组,早产率低于其余3组,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。各组双胎妊娠率,流产率,剖宫产率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),详见下页表3。

表 1 5 组患者一般资料比较($\bar{x} \pm s$)

组别	周期(个)	年龄(岁)	不孕年限(年)	BMI(kg/m ²)	bFSH(IU/L)	AMH(ng/mL)
A 组	108	31.30 ± 3.23	4.44 ± 2.30	22.64 ± 2.53	5.48 ± 1.09	5.5 ± 3.86
B 组	229	31.26 ± 2.97	4.45 ± 2.26	22.57 ± 2.81	5.41 ± 1.21	5.51 ± 2.92
C 组	256	31.22 ± 3.44	4.42 ± 2.54	22.59 ± 3.12	5.41 ± 1.20	5.56 ± 3.28
D 组	235	31.23 ± 3.50	4.42 ± 2.36	22.61 ± 2.91	5.38 ± 1.20	5.95 ± 3.21
E 组	306	31.25 ± 3.48	4.47 ± 2.49	22.53 ± 2.82	5.39 ± 1.14	6.18 ± 4.32
F 值		0.013	0.021	0.043	0.151	1.827
P 值		1.000	0.999	0.997	0.963	0.121

表 2 5 组患者促排卵情况比较($\bar{x} \pm s$)

组别	周期(个)	Gn 总剂量(U)	Gn 使用天数(d)	穿刺卵泡数(个)	获卵数(个)	MII 数(个)
A 组	108	2 924.59 ± 992.02 ^a	12.37 ± 2.82 ^{ab}	9.84 ± 4.26 ^a	7.91 ± 3.92 ^a	6.57 ± 3.57 ^a
B 组	229	2 633.76 ± 854.07 ^b	12.22 ± 3.17 ^{ab}	12.97 ± 4.36 ^b	10.40 ± 4.17 ^b	8.85 ± 3.86 ^b
C 组	256	2 476.38 ± 935.26 ^{bc}	12.55 ± 3.64 ^a	15.33 ± 5.24 ^c	12.21 ± 4.77 ^c	10.71 ± 4.50 ^c
D 组	235	2 342.22 ± 859.14 ^c	12.04 ± 2.22 ^{ab}	17.05 ± 5.01 ^d	13.99 ± 4.78 ^d	12.07 ± 4.64 ^d
E 组	306	2 002.93 ± 649.02 ^d	11.68 ± 2.06 ^b	20.21 ± 6.12 ^e	16.52 ± 6.50 ^e	14.34 ± 4.93 ^e
F 值		32.888	3.685	110.761	81.184	86.234
P 值		<0.001	0.006	<0.001	<0.001	<0.001

组别	MII 卵率(%)	受精方式		2 PN 受精率	2 PN 卵裂率	优质胚胎率
		IVF	ICSI			
A 组	83.14(710/854) ^a	77(71.30)	31(28.70)	73.80(524/710) ^a	95.99(503/524) ^a	53.19(250/470) ^a
B 组	85.09(2026/2381) ^b	160(69.87)	69(30.13)	74.23(1504/2026) ^a	95.74(1440/1504) ^a	52.05(673/1293) ^a
C 组	87.78(2743/3125) ^c	179(69.92)	77(30.08)	78.20(2145/2743) ^b	98.00(2102/2145) ^b	62.16(1158/1863) ^b
D 组	86.29(2836/3287) ^{bc}	165(70.21)	70(29.79)	74.75(2120/2836) ^a	96.46(2045/2120) ^a	53.28(1022/1918) ^a
E 组	86.79(4387/5055) ^{bc}	215(70.26)	91(29.74)	74.95(3288/4387) ^a	96.53(3174/3288) ^a	52.68(1580/2999) ^a
χ ² 值	16.920	0.084	0.084	15.173	17.020	52.359
P 值	0.002	0.999	0.999	0.006	0.002	<0.001

注:标有相同字母表示组间差异无统计学意义(P>0.05);标有不同字母表示组间差异有统计学意义(P<0.05)。

表 3 4 组患者妊娠情况比较(%)

组别	例数	临床妊娠率	双胎妊娠率	流产率	活产率	早产率	剖宫产率
A 组	77	49.35(38/77)	28.95(11/38)	21.05(8/38)	37.66(29/77)	17.24(5/29)	75.86(22/29)
B 组	152	53.95(82/152)	24.39(20/82)	10.96(9/82)	47.27(72/152)	20.83(15/72)	83.33(60/72)
C 组	97	58.76(57/97)	33.33(19/57)	14.04(8/57)	49.48(48/97)	14.58(7/48)	81.25(39/48)
D 组	131	51.91(68/131)	27.94(19/68)	13.24(9/68)	43.51(57/131)	22.81(13/57)	92.98(53/57)
χ ² 值		1.757	1.343	2.239	2.923	1.315	5.634
P 值		0.624	0.719	0.524	0.404	0.725	0.126

3 讨论

血清雌激素是评估 COH 过程中卵巢反应性的重要指标,在相同的方案下,卵巢对于药物反应存在个体差异,hCG 日 E₂ 水平可能通过影响卵子发育情况,导致胚胎质量不同,进而影响患者的妊娠结局。其发生机制可能有以下几个方面:优势卵泡上存在雌激素受体,雌激素促进卵泡的发育和成熟^[6],因此,雌激素在卵子发育中起到关键作用。雌激素在胚胎激活过程中发挥关键作用,Yu 等^[1]通过研究发现雌激素可通过细胞通路激发内质

网中 Ca²⁺ 释放,细胞内高浓度 Ca²⁺ 可活化骨架蛋白,进而导致胚胎细胞整合素的聚集和活化,诱导胚胎植入子宫内膜。由于 COH 中募集了大量卵泡,超生理量雌激素也可能对胚胎和妊娠结局产生不利影响。有研究显示 hCG 日高水平 E₂ 可能导致卵母细胞滑面内质网聚集体(smooth endoplasmic reticulum clusters,SERC)形成,并且 E₂ 水平越高,SERC 出现概率越高,卵母细胞的成熟和受精过程受到 Ca²⁺ 的调控,而 SERC 聚集会干扰 Ca²⁺ 释放,SERC(+) 卵母细胞形成的胚胎质量差,卵裂率、受精率

和种植率均明显降低,而生化妊娠率和流产率明显增高^[7-8]。既往研究证实^[2,9]超生理量 E_2 影响子宫内膜腺饮突的形成,而子宫内膜腺饮突表达区域是胚胎选择种植的区域,同时高水平的 E_2 抑制子宫内膜向分泌期转化,影响子宫内膜的容受性,从而降低临床妊娠率。

因此,探讨如何在 COH 过程中控制 hCG 日合适的 E_2 范围,能获得高质量胚胎和妊娠结局是本研究的重点。本研究结果显示随着 hCG 日 E_2 水平的增高,穿刺卵泡数,获卵数, MII 数呈递增趋势,说明 E_2 在卵子发育成熟中起到了重要作用,但 2PN 受精率、2PN 卵裂率、优质胚胎率 C 组明显优于其余各组,这与高水平 E_2 对于胚胎质量存在负面影响的结论相一致。

Joo 等^[10] 研究显示,年龄 <38 岁的女性, hCG 日 $E_2 \leq 4\,000\text{ pg/mL}$ 时,胚胎质量、临床妊娠率与血清 E_2 水平呈正相关, $E_2 > 4\,000\text{ pg/mL}$ 时,妊娠率则减少。国内有研究发现,对于年龄 <38 岁的女性, E_2 最佳范围是 $3\,000 \sim 4\,000\text{ pg/mL}$ ^[11]。本研究中 C 组 MII 卵率 87.78%, 2PN 受精率 78.20%、2PN 卵裂率 98%、优质胚胎率 62.16%, 显著高于其余各组,与国内外研究结果相一致。本研究中 Gn 应用总剂量 A 组显著高于各组, E 组显著低于各组,这可能是由于 E 组患者为卵巢高反应性,对于药物更加敏感,导致 Gn 用量减少。根据取卵后患者的内膜厚度,患者的身体情况及个人意愿,进行胚胎移植,由于 C 组、D 组 E_2 水平偏高,卵巢过度刺激的发生风险增加,可能是由于部分患者自觉有胃胀、腹胀等症状而取消移植,造成 C 组、D 组鲜胚移植率降低。Hansen 等^[12] 研究显示卵巢高反应患者,雌激素水平增高,高水平雌激素导致子宫内膜腺体和间质细胞发育不协调,子宫内膜的容受性降低,影响妊娠情况。国内有文献指出 hCG 日 E_2 在 $4\,000 \sim 4\,499\text{ pg/mL}$ 时,子代低出生体重发病风险较高,提示 hCG 日血清高水平 E_2 影响子代不良妊娠结局^[13]。本研究中 D 组妊娠率、活产率低于 C 组,早产率高于 C 组,说明超生理量雌激素可能对妊娠造成负面影响。还有文献认为雌激素水平与妊娠率、活产率无显著相关性^[14-15]。本研究中 C 组妊娠率、活产率高于其余 3 组,早产率低于其余 3 组,但差异无统计学意义,可能是由于样本量不足导致,需要扩大样本量研究, hCG 日控制 E_2 水平能够得到更好的妊娠结局有待于进一步研究。

对于长方案 COH 患者, hCG 日 E_2 控制在 $3\,000 \sim 4\,000\text{ pg/mL}$ 能够获得更好的胚胎质量,可能获得较好的临床妊娠率和活产率。对于卵巢储备功能正常患者,控制 hCG 日 E_2 水平在合适的范围,既可以获得理想的胚胎质量,又能达到满意的妊娠结局,对临床 COH 过程中提供了指导。

【参考文献】

[1] Yu Linlin, Yuan Dongzhi, Zhang Shima, et al. Progress of non-

genomic action of estrogen and its impact on female reproduction [J]. Acta Physiologica Sinica, 2016, 68(4): 547-556.

[2] Moberg C, Bourlev V, Ilyasova N, et al. Endometrial expression of LIF and its receptor and peritoneal fluid levels of IL-1 α and IL-6 in women with endometriosis are associated with the probability of pregnancy [J]. Arc Gynecol Obstet, 2015, 292(2): 429-437.

[3] Nakajima Y, Kuwabara H, Kishimoto K, et al. Successful pregnancy and delivery via in vitro fertilization with cryopreserved and thawed embryo transfer in an acute myeloid leukemia patient after allogeneic bone marrow transplantation [J]. International Journal of Hematology, 2015, 101(4): 417-420.

[4] Zavy MT, Craig LTB, Wild RA, et al. In high responding patients undergoing an initial IVF cycle, elevated estradiol on the day of HCG has no effect on live birth rate [J]. Reprod Biol Endocrinol, 2014, 12(1): 119.

[5] 乔杰, 马彩虹, 刘嘉茵, 等. 辅助生殖促排卵药物治疗专家共识 [J]. 生殖与避孕, 2015, 35(4): 211-223.

[6] Role of estrogen and RAS signaling in repeated implantation failure [J]. BMB Rep, 2018, 51(5): 225-229.

[7] S  R, Cunha M, Silva J, et al. Ultrastructure of tubular smooth endoplasmic reticulum aggregates in human metaphase II oocytes and clinical implications [J]. Fertil Steril, 2011, 96(1): 143-149.

[8] Hattori H, Nakamura Y, Nakajo Y, et al. Deliveries of babies with normal health derived from oocytes with smooth endoplasmic reticulum clusters [J]. J Assist Reprod Genet, 2014, 31(11): 1461-1467.

[9] Abdul Hussain G, Azizieh F, Makhseed M, et al. Effects of progesterone, dydrogesterone and estrogen on the production of Th1/Th2/Th17 cytokines by lymphocytes from women with recurrent spontaneous miscarriage [J]. J Reprod Immunol, 2020, 140: 103-132.

[10] Joo BS, Park SH, An BM, et al. Serum estradiol levels during controlled ovarian hyper-stimulation influence the pregnancy outcome of in vitro fertilization in a concentration-dependent manner [J]. Fertil Steril, 2010, 93(2): 442-446.

[11] 王晓博, 谢青贞, 吴开林, 等. HCG 扳机前雌激素下降对 IVF/ICSI 助孕妊娠结局的影响 [J]. 生殖医学杂志, 2016, 25(9): 782-786.

[12] Hansen KR, He AL, Styer AK, et al. Predictors of pregnancy and live-birth in couples with unexplained infertility after ovarian stimulation-intrauterine insemination [J]. Fertil Steril, 2016, 105(6): 1575-1583. e2.

[13] 陈然, 陶诗瑶, 杜江波, 等. 人绒毛膜促性腺激素注射日血清雌二醇对子代不良出生结局的影响 [J]. 中华预防医学杂志, 2020, 54(6): 651-656.

[14] Arce JC, Smits J. Live-birth rate after HP-hMG stimulation in the long GnRH agonist protocol: association with mid-follicular hCG and progesterone concentrations, but not with LH concentrations [J]. Gynecol Endocrinol, 2013, 29: 46-50.

[15] Mittal S, Gupta P, Malhotra N, et al. Serum estradiol as a predictor of success of in vitro fertilization [J]. J Obstet Gynaecol India, 2014, 64(2): 124-129.

(收稿日期: 2020-07-15 编辑: 舒砚)