

论著·临床研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.07.023

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210223.1001.006.html\(2021-02-23\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210223.1001.006.html(2021-02-23))

全胚冷冻技术对活产率和卵巢过度刺激综合征发生的影响

王春利,施文浩,徐洁

(西北妇女儿童医院生殖中心,西安 710003)

[摘要] **目的** 评价全胚冷冻技术对活产率和卵巢过度刺激综合征(OHSS)发生的影响。**方法** 选取 2013 年 1 月至 2017 年 12 月该院行体外受精-胚胎移植且取卵数大于或等于 15 个的患者 2 983 例,其中行全胚冷冻患者 1 036 例为研究组,行新鲜周期移植患者 1 947 例为对照组。比较两组患者的一般临床基线资料、累积活产率(CLBR)和 OHSS 发生率,进行研究组 CLBR 的 logistic 多因素分析。**结果** 采取 1:1 倾向性评分匹配后两组患者均为 516 例,其年龄、不孕因素、基础卵泡刺激素水平、BMI 等比较差异无统计学意义($P > 0.05$),研究组获卵数多于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。倾向性评分匹配后研究组无 OHSS 发生,对照组有 9 例,差异有统计学意义($P = 0.007$)。研究组各移植周期中 CLBR 高于对照组,但只有第 1 个移植周期差异有统计学意义($P < 0.05$)。多因素 logistic 回归分析显示,获卵数和年龄是 CLBR 的重要预测指标。**结论** 优先选择全胚冷冻可有效降低发生 OHSS 的可能,并获得更高的 CLBR。

[关键词] 体外受精胚胎移植术;全胚冷冻;累积活产率;卵巢过度刺激综合征**[中图分类号]** R714.8**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2021)07-1182-05

Effects of whole-embryo freezing technology on live birth rate and occurrence of ovarian hyperstimulation syndrome

WANG Chunli, SHI Wenhao, XU Jie

(Reproductive Center, Northwest Women's and Children's Hospital, Xi'an, Shaanxi 710003, China)

[Abstract] **Objective** To evaluate the effect of whole embryo freezing technology on the live birth rate and ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS). **Methods** A total of 2 983 cases of patients undergoing in vitro fertilization-embryo transfer (IVF-ET) with number of oocytes retrieved ≥ 15 in this hospital from January 2013 to December 2017 were selected, among them 1 036 cases of whole embryo cryopreservation served as the study group and 1 947 cases of fresh cycle transplantation as the control group. The general clinical baseline data, cumulative live birth rate (CLBR) and OHSS occurrence rate were compared between the two groups, and the logistic multivariate analysis of CLBR in the study group was carried out. **Results** There were 516 cases in the two groups after 1:1 propensity score matching. There was no statistically significant difference in the age, infertility factors, basal FSH level, BMI, etc. ($P > 0.05$); the number of oocytes retrieved in the study group was more than that in the control group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The study group had no OHSS occurrence after propensity matching, while there were 9 cases in the control group, and the difference was statistically significant ($P = 0.007$). CLBR in each transplantation circle in the study group was higher than that in the control group, but the difference only in the first transplantation cycle had statistical significance ($P < 0.05$). The multivariate logistic regression analysis showed that the number of oocytes retrieved and age were the important predictive factors of CLBR. **Conclusion** The preference selection of whole embryo freezing can effectively reduce the possibility of OHSS and obtain higher CLBR.

[Key words] in vitro fertilization and embryo transfer; whole embryo freezing; cumulative live birth rate; ovarian hyperstimulation syndrome

冻融胚胎移植的首例“试管婴儿”于 1984 年在澳大利亚的成功出生,是辅助生殖技术的又一里程碑事

件^[1]。至今,胚胎冷冻技术已经成功应用在临床 30 多年,它能减少患者促排卵和取卵的次数,减少胚胎

的浪费,大大降低患者的痛苦,提高累积妊娠率^[2]。同时,胚胎玻璃化冷冻技术的应用可有效解决胚胎解冻后存活率的情况,避免排卵周期中刺激素对于子宫内膜的影响,预防妊娠过程中可能出现的卵巢过度刺激综合征(ovarian hyperstimulation syndrome, OHSS)^[1]。因此,全胚冷冻辅助生殖技术已经逐渐作为常规方案应用于临床^[3]。近年来关于全胚冷冻技术的临床研究较多,但关于取卵数较多的相关研究较少,同时玻璃化冷冻技术在我国应用时间不长,其安全性尚存在争议^[4]。因此,本研究采取回顾性分析方式,分析首次完整周期且取卵数大于或等于 15 个的患者资料,探究全胚冷冻技术对首次取卵数大于或等于 15 个患者的累积活产率(cumulative live birth rates, CLBR)和 OHSS 发生的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2013 年 1 月至 2017 年 12 月在本院行体外受精-胚胎移植且取卵数大于或等于 15 个的 2 983 例女性患者为研究对象,平均年龄(30.67±3.93)岁。本研究经本院伦理委员会审核批准,患者及家属签署知情同意书。纳入标准:(1)首次取卵数大于或等于 15 个;(2)存在男方因素、女方排卵因素、女方输卵管

因素、混合因素、不明原因等不孕因素;(3)年龄 20~50 岁。排除标准:(1)生殖器畸形;(2)未移植完所有胚胎而终止治疗;(3)未移植完所有胚胎而进入下一取卵周期;(4)病例和随访资料不全。根据患者接受的胚胎移植方式分为研究组(术前经个体化评估存在 OHSS 风险,取卵后行全胚冷冻,择期复苏后移植的患者 1 036 例)和对照组(取卵后新鲜胚胎周期移植的患者 1 947 例)。

1.2 方法

1.2.1 促排卵方案

所有患者均采用短效长方案,当满足卵泡发育成熟时停用卵泡刺激素,抽血检查患者血清孕酮、黄体生成素和雌二醇水平^[5]。当晚注射人绒毛膜促性腺激素(HCG)诱导卵泡成熟,等待 36~38 h 后行取卵术。

1.2.2 胚胎培养与移植

胚胎放入恒温培养箱,温度设定为 37℃。培养 3 d 后,取卵观察胚胎卵裂期情况,对照组选择 2 枚胚胎移植,研究组所有胚胎采用玻璃化冷冻,待患者 OHSS 风险转化结合子宫内膜准备情况,选取移植时机。冷冻胚胎移植前要进行胚胎复苏,成功复苏冷冻胚胎的标准为单个胚胎中至少存在一半以上的卵裂球^[6],见图 1。

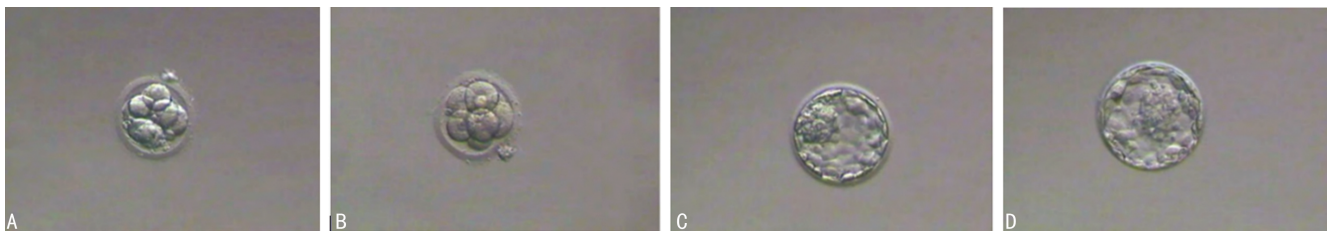


图 1 胚胎玻璃化冷冻前后比较

1.2.3 子宫内膜准备

(1)自然周期方案:患者正常排卵且平时月经周期规律者采用此方案,月经来潮后第 10 天 B 超监测卵泡发育情况,发现排卵后,及时检查患者孕酮水平,冷冻胚胎的移植时机根据孕酮水平决定,每次移植胚胎 2 枚。当孕酮大于或等于 1.5 ng/mL 时,于排卵 2 d 后行卵裂期胚胎移植;当孕酮小于 1.5 ng/mL 时,于排卵 3 d 后行卵裂期胚胎移植。(2)人工周期方案:患者自然周期无优势卵泡发育或平时月经周期不规律者采用此方案。于月经来潮第 5 天,戊酸雌二醇 4 mg/d 起始,第 8 天开始根据子宫内膜生长情况补药。当子宫内膜厚度超过 8 mm 时肌内注射黄体酮 60 mg/d,3 d 后移植卵裂期胚胎或者 5 d 后移植囊胚,每次移植胚胎 2 枚。

1.2.4 黄体支持

所有患者取卵后当日开始注射黄体酮针,60 mg/d 肌内注射,同时每晚给予地屈孕酮,20 mg/d 口服

用药。

1.2.5 术后随访调查

所有患者皆进行为期 2 年的随访。行胚胎移植术 14 d 后查血 HCG,囊胚移植术后 12 d 查血 HCG,判断是否妊娠。HCG 阳性患者于术后 1 个月行 B 超检查,以原始心管搏动及宫内孕囊的出现作为临床妊娠的标准。临床妊娠确定后,行黄体支持至妊娠 10 周。随访终点为患者首次活产或所有胚胎移植完仍无活产。

1.2.6 观察指标

本次研究的主要观察指标为 OHSS 发生率和 CLBR。CLBR 为移植完 1 个周期所得的胚胎获得活产的总概率,采用保守 CLBR 的计算方法:假设未成功获得活产而选择终止治疗的患者,再无活产机会。同时记录所有患者临床一般指标,包括年龄、身高、体重、不孕因素、基础卵泡刺激素水平、促性腺激素(gonadotropins, Gn)使用时间和剂量、获卵数。

1.3 统计学处理

采用 SPSS26.0 统计软件进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验;计数资料以构成比表示,采用 χ^2 检验;logistic 回归模型进行多因素分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组患者基线资料比较

两组患者不孕因素和 Gn 使用时间差异无统计学

意义($P > 0.05$),而年龄、基础卵泡刺激素水平、BMI、Gn 剂量和获卵数差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。考虑到年龄因素对基线资料的影响,对两组患者采取 1:1 倾向性评分匹配,匹配后研究组和对照组患者数皆为 516 例,共 1 976 个周期。匹配完成后,两组患者的年龄、不孕因素、基础卵泡刺激素水平、BMI、Gn 使用时间和剂量比较差异无统计学意义($P > 0.05$),研究组获卵数多于对照组($P < 0.05$),见表 2。

表 1 两组患者的基线资料比较(倾向性评分匹配前)

组别	n	年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	不孕因素(n)				
			男方因素	女方输卵管因素	女方排卵因素	混合因素	不明原因
研究组	1 036	29.53±3.76	107	94	617	213	5
对照组	1 947	31.27±4.02	182	133	1 175	447	10
t/χ^2		2.453			6.981		
P		0.014			0.137		

组别	n	基础卵泡刺激素($\bar{x} \pm s$, U/L)	BMI($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)	Gn 使用时间($\bar{x} \pm s$, d)	Gn 剂量($\bar{x} \pm s$, U)	获卵数($\bar{x} \pm s$, 个)
对照组	1 947	6.25±1.58	21.66±2.73	11.14±2.53	1 839.46±563.63	17.43±2.53
t/χ^2		3.974	2.457	1.784	3.091	5.452
P		<0.001	0.014	0.075	0.002	<0.001

表 2 两组患者的基线资料比较(倾向性评分匹配后)

组别	n	年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	不孕因素(n)				
			男方因素	女方输卵管因素	女方排卵因素	混合因素	不明原因
研究组	516	29.33±3.96	54	47	308	104	3
对照组	516	29.57±3.84	60	45	337	71	3
t/χ^2		1.453			7.886		
P		0.146			0.096		

组别	n	基础卵泡刺激素($\bar{x} \pm s$, U/L)	BMI($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)	Gn 使用时间($\bar{x} \pm s$, d)	Gn 剂量($\bar{x} \pm s$, U)	获卵数($\bar{x} \pm s$, 个)
对照组	516	5.97±1.38	21.36±2.53	11.21±2.33	1 749.59±555.78	19.58±3.58
t/χ^2		1.684	1.004	0.784	1.091	2.382
P		0.092	0.315	0.433	0.275	0.017

2.2 两组患者倾向性评分匹配前后 OHSS 发生率比较

倾向性匹配前研究组有 2 例发生 OHSS,对照组有 19 例,差异有统计学意义($P = 0.015$);倾向性匹配后研究组无 OHSS 发生,对照组有 9 例,差异有统计学意义($P = 0.007$),见表 3。

2.3 两组患者倾向性评分匹配后不同移植周期 CLBR 比较

5 个移植周期中,研究组的 CLBR 均高于对照组,但只在第 1 个移植周期差异有统计学意义($P =$

0.013),见表 4。

表 3 两组患者倾向性评分匹配前后 OHSS 发生率比较(%)

组别	倾向性匹配前	倾向性匹配后
研究组	0.19	0
对照组	0.96	1.74
χ^2	5.928	7.174
P	0.015	0.007

2.4 两组患者倾向性评分匹配后不同获卵数 CLBR 比较

不同获卵数的研究组 CLBR 均高于对照组,但差异无统计学意义($P > 0.05$);研究组的 CLBR 随着获卵数的增加而增加,对照组在获卵数 20~24 个时 CLBR 最高,见表 5。

表 4 两组患者倾向性评分匹配后不同周期 CLBR 比较(%)

移植周期	研究组(n=516)	对照组(n=516)	χ^2	P
1	41.86	34.88	5.763	0.013
2	56.40	51.94	2.983	0.090
3	61.63	56.98	3.012	0.081
4	63.95	58.14	2.387	0.147
5	65.39	60.27	2.165	0.159

表 5 倾向性评分匹配后两组患者不同获卵数 CLBR 比较(%)

获卵个数	研究组(n=516)	对照组(n=516)	χ^2	P
15~19 个	60.93	55.13	1.579	0.159
20~24 个	65.74	63.46	0.178	0.683
≥25 个	67.94	59.28	0.348	0.523
χ^2	3.984	2.783		
P	0.014	0.038		

2.5 研究组患者 CLBR 的多因素 logistic 回归分析

多因素 logistic 回归分析显示,获卵数和年龄是研究组患者 CLBR 的重要影响因素。在获卵数分组中,20~24 个和 25 个及以上的 CLBR 各是 15~19 个的 3 倍($OR = 2.346, 95\%CI: 1.683 \sim 3.237$)和 5 倍($OR = 5.345, 95\%CI: 4.342 \sim 7.182$);在年龄分组中,35~39 岁和 40~50 岁的 CLBR 各是 20~29 岁的 1/2($OR = 0.587, 95\%CI: 0.465 \sim 0.718$)和 1/5($OR = 0.247, 95\%CI: 0.175 \sim 0.395$)。不孕因素、BMI 等因素对 CLBR 无影响($P > 0.05$),见表 6。

表 6 研究组患者 CLBR 的多因素 logistic 回归分析

变量	OR	95%CI	P
获卵数(个)			
15~19	对照		
20~24	2.346	1.683~3.237	<0.001
≥25	5.345	4.342~7.182	<0.001
年龄(岁)			
20~29	对照		
30~34	1.034	0.873~1.231	0.683
35~39	0.587	0.465~0.718	<0.001
40~50	0.247	0.175~0.395	<0.001
不孕因素			
男方因素	对照		
女方输卵管因素	0.923	0.878~1.153	0.457
女方排卵因素	1.201	0.946~1.399	0.693
混合因素	0.873	0.621~1.126	0.438

续表 6 研究组患者 CLBR 的多因素 logistic 回归分析

变量	OR	95%CI	P
不明原因	0.239	0.175~0.314	0.298
BMI(kg/m ²)			
<24	对照		
24~<28	0.842	0.664~1.104	0.280
≥28	0.737	0.346~1.405	0.553
基础卵泡刺激素	0.984	0.967~1.103	0.436

3 讨论

OSHH 或 OSHH 倾向作为全胚冷冻技术的重要指征,是进行辅助生殖时常见的并发症,病情会随着妊娠的进展不断恶化。目前研究表明,HCG 是其可能的激发因素,但具体机制尚不明确^[7]。OSHH 具体的临床表现包括胸腹水、肝肾功能损害、血液浓缩、血栓形成^[8]等。已有研究表明,导致 OSHH 的高危因素主要为卵巢功能较好的年轻女性,在促排卵阶段使用较少剂量的促排卵激素便可得到较多的卵泡发育^[9]。

本次研究在初始进行基线资料对比时发现,研究组的患者年龄明显低于对照组($P < 0.05$),同时其基础卵泡刺激素和 Gn 剂量也明显低于对照组($P < 0.05$),但是获卵数却高于对照组($P < 0.05$),与以往研究结果一致^[10]。为了消除年龄对于本研究的影响,笔者采用了 1:1 倾向性评分匹配的方法,对两组患者数据进行匹配,最终结果显示研究组的 OHSS 发生率仍明显低于对照组($P < 0.05$),表明全胚冷冻技术对首次取卵术大于或等于 15 个的患者,可以有效预防 OSHH 的发生,这与 MOURAD 等^[11]荟萃分析的结果一致。临床为了提高辅助成功率而增加取卵数量后,应该选用全胚冷冻技术,从而有效预防 OSHH 的发生。

本研究结果显示,倾向性评分匹配后研究组的 CLBR 在 5 个移植周期均高于对照组,但是只在第 1 个移植周期差异有统计学意义($P < 0.05$)。本次研究的患者移植周期均不超过 5 个,计算全部患者完整周期后,最终结果显示研究组的 CLBR 高于对照组,但差异无统计学意义($P > 0.05$),说明对于获卵数大于或等于 15 个的患者,选择新鲜胚胎移植和全胚冷冻对于最终的 CLBR 无影响,这与以往的研究结果一致^[12]。但考虑到首次移植周期内的成功率,全胚冷冻技术要优于新鲜周期移植,因此,仍然建议对首次获卵数较多的患者优先选择全胚冷冻技术。

获卵数增高、CLBR 随之增加是 CLBR 的预测指标之一,已经得到大家的普遍共识,这也与本研究结果一致^[10]。同时多项研究结果证实,获卵数增多到一定数量以后,CLBR 并不会继续随着获卵数增多而增加。本研究显示,对照组在获卵数大于或等于 25 个时 CLBR 并未增加,与以往研究结果一致^[9]。VLAISAVLJEVIC 等^[13]研究表明,在进行新鲜胚胎

移植时,卵巢高反应人群的获卵数多,因而可以获得更多的胚胎储存备用,但是随着获卵数的增多 OSHH 的发生率也随之升高,这与本研究结果一致。因此,在实际临床选择取卵数时,不可盲目增加,而应该根据患者年龄、不孕原因等因素进行分析后选择。

进行全胚冷冻患者 CLBR 的多因素 logistic 回归分析后发现,不仅获卵数是 CLBR 的强预测指标,年龄也是 CLBR 的重要预测指标。随着年龄的增加 CLBR 会逐渐下降,年龄分组中,35~39 岁和 40~50 岁 CLBR 只有 20~29 岁的 1/2 和 1/5,说明辅助生殖技术可以让大多数不育不孕患者获得活产,但并不能改变和年龄相关的妊娠率下降情况。

目前关于全胚冷冻技术的应用及患者首次取卵数的选择尚没有明确的标准和指南,在实际的临床工作中,需要结合实验室的技术水平和患者的实际情况进行个体化治疗,原则上必须是针对患者全胚冷冻的妊娠结局优于新鲜胚胎移植,或者可以明显降低患者不良妊娠结局发生的可能性^[12]。经过分析后认为,可以作为明确的指征包括:OHSS 倾向、卵巢高反应、囊胚发育缓慢、卵泡期激素水平较高。同时,本研究作为回顾性研究,研究结果可能存在部分偏倚情况,尚需大样本的多中心前瞻性临床研究和荟萃分析进一步验证。

综上所述,全胚冷冻技术作为一种重要的辅助生殖技术,已经广泛应用于临床实践,但鉴于目前还没有统一的规范和指南,要结合各自生殖中心实验的技术水平,对患者的实际情况进行个体化分析,不可盲目增加取卵数。对于首次获卵数大于或等于 15 个的患者,如果有 OHSS 倾向,优先选择全胚冷冻可以有效降低患者发生 OHSS 的可能,同时有望获得比新鲜周期患者更高的 CLBR。

参考文献

- [1] HUANG J, LU X, XIE Q, et al. Timing of frozen-thawed embryo transfer after controlled ovarian stimulation in a non-elective freeze-all policy[J]. *Ann Transl Med*, 2019, 7(23):752.
- [2] BILIANGADY R, PANDIT R, TUDU N K, et al. Is it time to move toward freeze-all strategy? A retrospective study comparing live birth rates between fresh and first frozen blastocyst transfer[J]. *J Hum Reprod Sci*, 2019, 12(4):321-326.
- [3] 陈巧莉,张孝东,熊顺,等. 7 043 个体外培养-胚胎移植助孕周期中新鲜胚胎移植周期与全胚冷冻后首次冻融胚胎移植周期分析[J]. *重庆医科大学学报*, 2019, 44(1):22-25.
- [4] MIZRACHI Y, HOROWITZ E, FARHI J, et al. Ovarian stimulation for freeze-all IVF cycles: a systematic review[J]. *Hum Reprod Update*, 2020, 26(1):118-135.
- [5] ROQUE M, NUTO B N, VALLE M, et al. Freeze-all strategy in IVF/ICSI cycles: an update on clinical utility[J]. *Panminerva Med*, 2019, 61(1):52-57.
- [6] 谭爱华,武晨琳,马淑芳. 因卵巢过度刺激行全胚冷冻后是否需要推迟解冻移植时间[J]. *临床医药文献电子杂志*, 2019, 6(15):100.
- [7] 毛书霞,李宏波,吴意赟,等. 三维超声定量指标对体外受精-胚胎移植中发生卵巢过度刺激综合征的预测价值[J]. *中国计划生育和妇产科*, 2019, 11(2):41-44.
- [8] ZHU Q, ZHU J, WANG Y, et al. Live birth rate and neonatal outcome following cleavage-stage embryo transfer versus blastocyst transfer using the freeze-all strategy[J]. *Reprod Biomed Online*, 2019, 38(6):892-900.
- [9] ZHANG J, LIU H, MAO X, et al. Effect of body mass index on pregnancy outcomes in a freeze-all policy: an analysis of 22,043 first autologous frozen-thawed embryo transfer cycles in China[J]. *BMC Med*, 2019, 17(1):114-119.
- [10] WEI D, LEGRO R S, CHEN Z J. The cumulative live birth rate after a freeze-only strategy versus a conventional fresh embryo transfer strategy: a call for more level 1 evidence[J]. *BMC Med*, 2020, 18(1):12-14.
- [11] MOURAD S, BROWN J, FARQUHAR C. Interventions for the prevention of OHSS in ART cycles: an overview of Cochrane reviews[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2017, 1(1):CD012103.
- [12] OZGUR K, BULUT H, BERKKANOGLU M, et al. Prediction of live birth and cumulative live birth rates in freeze-all-IVF treatment of a general population[J]. *J Assist Reprod Genet*, 2019, 36(4):685-696.
- [13] VLAISAVLJEVIC V, KOVACIC B, KNEZ J. Cumulative live birth rate after GnRH agonist trigger and elective cryopreservation of all embryos in high responders[J]. *Reprod Biomed Online*, 2017, 35(1):42-48.