

· 研究论著 ·

既往自然流产史及相关因素与单次取卵周期累积活产结局的相关性分析

张莹莹 谈际范 张丽梅 严茜 周灿权 王琼

【摘要】 目的 探讨既往自然流产史与单次取卵周期累积活产（活产）结局的关系。**方法** 收集因输卵管或男方因素就诊的不孕症患者临床资料，分析既往自然流产史及其他因素如年龄、血清抗苗勒管激素（AMH）、卵泡刺激素、黄体生成素、雌二醇、窦卵泡数、BMI、试管周期数、正常受精率、卵裂率和优质胚胎率对活产率的影响。**结果** 共纳入 275 例患者，与无自然流产组患者相比，自然流产组患者的年龄较高、血清 AMH 水平较低、窦卵泡数和获卵数较少、再次妊娠的活产率较低（ P 均 < 0.05 ）。年龄（ $OR = 0.912$, 95% CI 0.849 ~ 0.979）、既往自然流产次数（ $OR = 0.579$, 95% CI 0.402 ~ 0.833）和正常受精率（ $OR = 5.933$, 95% CI 1.503 ~ 23.410）与活产率相关（ P 均 < 0.05 ）。在年龄 < 35 岁患者中，无自然流产、偶发自然流产、复发性自然流产患者的活产率比较差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ），其中复发性自然流产者的活产率低于无自然流产及偶发自然流产者（ P 均 < 0.017 ）。年龄 ≥ 35 岁患者中，无自然流产、偶发自然流产、复发性自然流产患者的活产率比较差异无统计学意义（ $P > 0.05$ ）。无自然流产及偶发自然流产者中，年龄 < 35 岁患者的活产率均高于年龄 ≥ 35 岁患者（ P 均 < 0.01 ）。**结论** 年龄、既往自然流产次数和正常受精率与活产率有关。在年龄 < 35 岁患者中，复发性自然流产患者的活产率较低。无自然流产及偶发自然流产者中，年龄 ≥ 35 岁患者活产率较高。

【关键词】 抗苗勒管激素；早期自然流产；复发性自然流产；活产率；胚胎移植

Correlation analysis between previous spontaneous abortion and related factors and cumulative live birth rate of single ovulation cycle

Zhang Yingying, Tan Jifan, Zhang Limei, Yan Xi, Zhou Canquan, Wang Qiong. Center of Reproductive Medicine, the First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080
Corresponding author, Wang Qiong, E-mail: wangqiongqz@hotmail.com

【Abstract】 Objective To analyze the relationship between previous spontaneous abortion and the cumulative live birth rate of single ovulation cycle. **Methods** Clinical data of 275 infertile patients due to uterine tubal or male factors were collected and retrospectively analyzed. The effect of previous spontaneous abortion and other factors including age, anti-Mullerian hormone (AMH), follicle stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), estradiol (E2), antral follicle count (AFC), body mass index (BMI), number of ovulation cycle, normal fertilization rate, cleavage rate, high-quality D3 embryo rate upon the cumulative live birth rate of single ovulation cycle was evaluated. **Results** Compared with patients without a history of spontaneous abortion, those with previous spontaneous abortion were older, had a lower level of serum AMH, less AFC, less retrieved oocytes and lower live birth rate of secondary pregnancy (all $P < 0.05$). Age ($OR = 0.912$, 95% CI 0.849-0.979), number of previous spontaneous abortions ($OR = 0.579$, 95% CI 0.402-0.833) and normal fertilization rate ($OR = 5.933$, 95% CI 1.503-23.410) were significantly correlated with the live birth rate (all $P < 0.05$). In patients aged < 35 years, the live birth rate significantly differed among patients with no spontaneous abortion, occasional and recurrent spontaneous abortion (all $P < 0.05$). The live birth rate in patients with recurrent spontaneous abortion was significantly lower compared with that in those with no

DOI: 10.3969/j.issn.0253-9802.2019.04.003

基金项目：国家自然科学基金（81170568）；广东省自然科学基金（2015A030313192）

作者单位：510080 广州，中山大学附属第一医院生殖医学中心（张莹莹，张丽梅，严茜，周灿权，王琼）；518000 深圳，中山大学附属第七医院妇产科（谈际范）

通信作者，王琼，E-mail: wangqiongqz@hotmail.com

spontaneous abortion and occasional spontaneous abortion (both $P < 0.017$). In patients aged ≥ 35 years, the live birth rate did not significantly differ among patients with no spontaneous abortion, occasional and recurrent spontaneous abortion ($P > 0.05$). The live birth rate of patients aged < 35 years without spontaneous abortion and with occasional spontaneous abortion was remarkably higher than that of their counterparts aged ≥ 35 years (both $P < 0.01$). **Conclusions** Age, number of previous spontaneous abortion and normal fertilization rate are correlated with the live birth rate. The live birth rate in patients aged < 35 years with recurrent spontaneous abortion is relatively low, whereas that in those aged ≥ 35 years without spontaneous abortion and with occasional spontaneous abortion is relatively high.

【Key words】 Anti-Müllerian hormone; Early spontaneous abortion; Recurrent spontaneous abortion; Live birth rate; Embryo transplantation

自然流产是女性妊娠常见的并发症之一，发生率约占临床确认流产的 15%^[1]。其中绝大多数流产发生在妊娠早期。有研究显示，自然流产的发病风险跟年龄呈正相关，表明自然流产和女性卵巢储备功能密切相关^[2]。笔者前期研究显示，复发性自然流产患者基础性激素水平下降，提示患者出现卵巢储备功能下降^[3-5]。临床上有多种指标可用于反映卵巢储备功能的高低，如抗苗勒管激素 (AMH)、基础窦卵泡数、月经期性激素水平等。其中，AMH 的分泌不受女性月经周期和外源性性激素的影响，被认为是反映卵巢储备功能的较好指标。有学者报道，与非自然流产患者相比，复发性自然流产患者 AMH 水平较低^[3-4]。既往研究显示，自然流产与血清 AMH 水平有关，可能是反映卵巢功能的一个潜在指标。有早期自然流产史的患者，其辅助生殖再次妊娠的结局值得关注。目前此类研究报道不多。因此，本研究探讨了既往自然流产史对胚胎移植活产率的影响，并纳入多种因素拟全面分析单次取卵周期胚胎移植累积活产 (活产) 结局的影响因素，现报告如下。

对象与方法

一、研究对象

2015 年 1 月至 2016 年 3 月在中山大学附属第一医院生殖医学中心就诊，采用体外受精 (IVF)/单精子胞浆注射 (ICSI) 助孕的不孕症患者。纳入标准：①行 IVF/ICSI 助孕；②年龄 ≤ 45 岁；③既往病史完整且同意收集其外周血者；④在纳入研究时的促排卵周期至少有 1 个胚胎可进行移植且移植后活产结局明确。本研究中的自然流产特指不明原因的自然流产。排除标准：①夫妻染色体有一方或两方异常者；②女方合并多囊卵巢综合征、子宫内膜异位症、子宫腺肌症、高泌乳素血症、血糖异常等内分泌代谢性紊乱者或自身免疫

性疾病者；③宫腔粘连或解剖结构异常者。本研究为回顾性研究，已经过中山大学附属第一医院医学伦理委员会批准，并获得所有入组患者签署知情同意书。

二、方法

1. 促排卵方案

采用黄体中期促性腺激素释放激素激动剂 (GnRH-a，达必佳) 抑制垂体分泌功能后，依据患者年龄、基础性激素水平及 B 超提示的卵巢体积和 AFC 结果，确定促性腺激素 (Gn) 的起始剂量并根据卵泡生长情况酌情调整 Gn 用量。当直径 ≥ 18 mm 的优势卵泡超过 2 个时注射人绒毛膜促性腺激素 (HCG) 10 000 IU，34 ~ 36 h 后经阴道超声引导下进行取卵。取卵后 4 ~ 6 h 行 IVF 或者 ICSI 操作，16 ~ 20 h 后行受精情况观察，评估胚胎质量并选择优质第 3 日 (D3)/第 5 日 (D5) 胚胎进行新鲜移植或者冷冻移植。术后，所有患者行常规黄体支持方案，无其他治疗或者处理 (本研究患者均为不明原因复发性自然流产患者，均仅行常规黄体支持，未行免疫治疗、肝素治疗或者其他任何治疗)。

2. AMH、性激素水平检测

所有患者于月经第 2 日采用普通静脉采血管留取外周血 1 ~ 2 ml，3 500 转/分离心 5 min，分离血清至少 100 μ l，保存在 -80°C 冰箱，以备检测 AMH 水平，注意避免反复冻融样本。血清 AMH 检测使用超敏感 AMH 定量检测试剂盒 (ELISA 法，广州康润生物科技有限公司)。血清卵泡刺激素 (FSH)、黄体生成素 (LH) 及雌二醇于月经第 2 ~ 5 日测定，采用全自动免疫化学发光法。各项检测的批间及批内误差均在要求范围内。

3. 正常受精率、卵裂率、优质胚胎率和活产率的计算

收集患者纳入研究时单个取卵周期胚胎生长

情况;以纳入研究时单个取卵周期所获的胚胎进行移植的累积妊娠结局为本研究所观察的妊娠结局。优质胚胎:取卵日后第 3 日观察,包含 7 个以上均一的卵裂球,且细胞碎片 < 20% 的胚胎定义为优质胚胎。其中正常受精率 = 二原核 (2PN) 胚胎数 / 获卵数,卵裂率 = 卵裂胚胎数 / 2PN 胚胎数,优质胚胎率 = 优质胚胎数 / 2PN 胚胎数,早期妊娠丢失率 = 早期妊娠丢失患者数 / 接受移植的患者数,活产指妊娠时间 ≥ 28 周且胎儿出生存活,活产率 = 产活产胎儿患者数 / 接受移植的患者数。

4. 研究方法

根据患者是否有自然流产史分为无自然流产组与自然流产组,比较 2 组患者的临床特征,然后以活产结局作为因变量,将年龄、AMH、FSH、LH、雌二醇、既往自然流产次数、窦卵泡数、BMI、试管周期数、获卵数、正常受精率、卵裂率和优质胚胎率纳入多变量二项 Logistic 回归方程进行回归分析,再按年龄分为非高龄 (< 35 岁) 患者与高龄 (≥ 35 岁) 患者,分析年龄对无自然流产、偶发自然流产、复发性自然流产患者活产率的影响。

三、统计学处理

应用 SPSS 20.0 分析数据。正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示;非正态分布的计量资料以中位数 (四分位间距) 表示,组间比较采用 Wilcoxon 秩和检验。计数资料以率表示,组间比较采用 χ^2

检验或 Fisher 确切概率法。相关性分析采用二项 Logistic 回归分析 (逐步法)。总体比较以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义,多重比较采用 Bonferroni 法校正检验水准。

结 果

一、研究对象的一般资料分析

本研究纳入结局分析的患者共 275 例,年龄 (33.8 ± 4.6) 岁, BMI (21.4 ± 2.8) kg/m^2 , 其中年龄 < 35 岁 161 例、 ≥ 35 岁 114 例。无自然流产 170 例、有既往早期自然流产者共 105 例,其中 1 次早期自然流产 (偶发自然流产者) 77 例、 ≥ 2 次早期自然流产 (复发性自然流产者) 28 例。妊娠结局为活产 164 例 (59.6%), 非活产 111 例,其中未孕 91 例 (33.1%)、生化妊娠 10 例 (3.7%)、早期自然流产 10 例 (3.7%)。

二、无自然流产组和自然流产组的临床特征比较

与无自然流产组患者相比,自然流产组患者的年龄较高、血清 AMH 水平较低、窦卵泡数较少、获卵数较少、再次妊娠的活产率较低 (P 均 < 0.05)。2 组患者的 FSH、LH、雌二醇、BMI、试管周期数、正常受精率、卵裂率、优质胚胎率和早期妊娠丢失率比较差异均无统计学意义 (P 均 > 0.05), 见表 1。

表 1 自然流产组和非自然流产组一般资料的比较

项 目	无自然流产组 (170 例)	自然流产组 (105 例)	Z/χ^2 值	P 值
年龄 (岁)	32 (6)	35 (6)	-3.428	<0.001
AMH (ng/ml)	4.07 (4.55)	3.32 (2.78)	-3.181	0.001
FSH (IU/ml)	5.54 (1.77)	5.72 (2.51)	-0.615	0.539
LH (IU/ml)	3.38 (1.81)	3.32 (1.96)	-0.083	0.934
雌二醇 (IU/ml)	35.00 (20.25)	36.00 (18)	-0.329	0.742
窦卵泡数 (个)	10 (7)	8 (5)	-3.109	0.002
BMI (kg/m^2)	20.96 (3.57)	21.10 (3.49)	-0.993	0.321
试管周期数 (个)	1.24 (0)	1.12 (0)	-1.744	0.081
获卵数 (个)	13 (11.0)	11 (8.5)	-2.570	0.010
正常受精率 (%)	65.78 (0.26)	67.09 (0.29)	-0.480	0.632
卵裂率 (%)	93.83 (0.10)	93.28 (0.73)	-0.103	0.303
优质胚胎率 (%)	59.60 (0.34)	53.16 (0.43)	-1.357	0.175
早期妊娠丢失率 [例 (%)]	8 (4.71)	10 (9.52)	1.845	0.174
活产率 [例 (%)]	115 (67.65)	49 (46.67)	11.869	<0.001

三、既往自然流产史及相关因素与活产结局的相关性分析

1. 活产结局的影响因素分析

以活产结局作为因变量,将年龄、AMH、

FSH、LH、雌二醇、既往自然流产次数、窦卵泡数、BMI、试管周期数、获卵数、正常受精率、卵裂率和优质胚胎率纳入 Logistic 回归方程进行回归分析,结果显示年龄 ($OR = 0.912$, 95% CI 0.849 ~

0.979)、既往自然流产次数 ($OR=0.579$, 95% CI 1.503~23.410)与活产相关 (P 均 <0.05), 见表 2。0.402~0.833)和正常受精率 ($OR=5.933$, 95% CI

表 2

二项 Logistic 回归分析结果

项 目	B	SE	Wald	P 值	OR	95% CI	
						下限	上限
年龄	-0.093	0.036	6.527	0.011	0.912	0.849	0.979
既往自然流产次数	-0.547	0.186	8.676	0.003	0.579	0.402	0.833
正常受精率	1.780	0.700	6.463	0.011	5.933	1.503	23.410

2. 年龄对无自然流产、偶发自然流产、复发性自然流产患者活产率的影响

非高龄患者中, 无自然流产、偶发自然流产、复发性自然流产患者的活产率比较差异有统计学意义 ($P<0.05$), 复发性自然流产者活产率低于无自然流产及偶发自然流产者 (P 均 <0.017)。高龄

患者中, 无自然流产、偶发自然流产、复发性自然流产患者的活产率比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。无自然流产及偶发自然流产者中, 非高龄患者的活产率均高于高龄患者 (P 均 <0.01), 见表 3。

表 3

年龄对无自然流产、偶发自然流产、复发性自然流产患者活产率的影响

例 (%)

组 别	例数	活产	非活产	χ^2 值	P 值	χ^2 值 ^b	P 值 ^b	χ^2 值 ^c	P 值 ^c
无自然流产非高龄患者	114	85 (75) ^a	29 (25)	7.560	0.006	22.370	<0.001	2.367	0.306
高龄患者	56	30 (54)	26 (46)						
偶发自然流产非高龄患者	35	25 (71) ^a	10 (29)	8.521	0.004				
高龄患者	42	16 (38)	26 (62)						
复发性自然流产非高龄患者	12	1 (8)	11 (92)	-	0.088 ^d				
高龄患者	16	7 (44)	9 (56)						

注: 与复发性自然流产非高龄者比较, ^a $P<0.017$; ^b 非高龄无自然流产、偶发自然流产、复发性自然流产患者的活产率比较; ^c 高龄无自然流产、偶发自然流产、复发性自然流产患者的活产率比较; ^dFisher 确切概率法

讨 论

近几年来, AMH 作为卵巢储备功能的评价指标受到越来越多的关注^[10]。然而, AMH 在预测胚胎移植结局以及卵子质量方面仍存在广泛争议。本研究显示, 外周血 AMH 水平与活产率无关。Tremellen 等^[11]报道, 在接受人工授精的不孕症患者中, AMH 并不能预测其活产率和流产率。也有研究显示, 不能依赖 AMH 水平预测不孕症患者辅助生殖阳性结局, 如临床妊娠率和活产率等^[12]。另有研究显示, 在有既往流产史患者中, AMH 并不能预测其自然妊娠后的临床妊娠率^[13]。因此, 不推荐临床上为了评估患者下次妊娠的流产率而常规查 AMH。这与本文结论相似。近期发表的一项回顾性研究也发现, AMH 不能预测原因不明复发性自然流产者的活产结局^[14]。Bhide 等^[15]应用时间推移技术评估胚胎质量, 更加客观地证实 AMH 和胚胎的形态学优劣无关。有学者报道, AMH 作为卵巢储备功能标志物不能预测胚胎的非整倍体^[1]。Gat 等^[16]却发现, 在年龄 <37 岁的不孕症患者中,

AMH 和囊胚的染色体整倍体性有关。另一项前瞻性研究显示, 在 33~44 岁有过自然流产史患者中, 低 AMH 患者的自然生育力并不低于高 AMH 患者^[17]。综合众多研究, AMH 是否能够预测胚胎移植后的生殖结局值得商榷, 需要更大样本的前瞻性研究论证。

本研究中, 相比于无自然流产组患者, 自然流产组患者的年龄较高、卵巢功能较差。纳入相关因素进行回归分析后显示, 既往自然流产史与活产结局有关。关于既往自然流产与辅助生殖技术妊娠结局相关的研究较少。Wang 等^[6]研究发现, 既往有不良妊娠史的患者 IVF 妊娠活产率和临床妊娠率较低, 年龄 <35 岁的患者既往自然流产次数越多, 胚胎移植后累积活产率越低。胚胎从种植到分娩的过程非常复杂, 这一点可能与多种因素相关。本研究中, 自然流产组患者的早期妊娠丢失率和无自然流产组相近, 其活产率降低可能更多与妊娠中后期胎盘功能及母体妊娠期并发症相关。多项研究均显示复发性自然流产人群的产科不良结局较其他人群多见, 死胎、早产、低出

生体重儿等发生率较高^[79]。因此,不仅要关注复发性自然流产人群再次妊娠的妊娠早期情况,也要关注其妊娠结局。

与既往研究不同的是,在进行多变量回归时,本文纳入了患者既往自然流产次数这一变量。本研究显示,年龄、既往自然流产次数和正常受精率是影响活产结局的因素。对于非高龄(<35岁)患者而言,复发性自然流产患者的活产率低于偶发自然流产患者和非自然流产患者;而对于高龄(≥ 35 岁)患者而言,不同自然流产次数患者间的胚胎移植累积活产率相近。在高龄患者中,并没有发现与非高龄患者相似的结果。这可能是由于在高龄患者中,其卵巢功能明显下降,高龄带来卵巢功能下降的负面影响已经远大于自然流产本身所带来的影响。本研究存在的不足之处在于复发性自然流产患者例数相对较少,日后研究将扩大样本量,尤其是既往自然流产次数 ≥ 2 次的患者例数,进一步验证研究结论。

综上所述,在临床工作中为患者提供咨询时,可以将AMH作为评估卵巢储备功能的指标,但是并不能仅依据AMH预测患者单次取卵周期累积活产结局。应结合患者的其他情况,如年龄和既往自然流产次数等给予患者更加客观的建议。另外,应对年龄<35岁且伴有复发性自然流产病史的不孕症患者给予足够的重视。

参 考 文 献

- [1] Grande M, Borobio V, Bannasar M, Stergiotou I, Mercadé I, Masoller N, Peñarrubia J, Borrell A. Role of ovarian reserve markers, antimüllerian hormone and antral follicle count, as aneuploidy markers in ongoing pregnancies and miscarriages. *Fertil Steril*, 2015, 103 (5): 1221-1227.e2.
- [2] Helden JV, Weiskirchen R. Age-independent anti-Müllerian hormone (AMH) standard deviation scores to estimate ovarian function. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2017, 213: 64-70.
- [3] Pils S, Promberger R, Springer S, Joura E, Ott J. Decreased ovarian reserve predicts inexplicability of recurrent miscarriage? A retrospective analysis. *PLoS One*, 2016, 11 (9): e0161606.
- [4] Atasever M, Soyman Z, Demirel E, Gencdal S, Kelekci S. Diminished ovarian reserve: is it a neglected cause in the assessment of recurrent miscarriage? A cohort study. *Fertil Steril*, 2016, 105 (5): 1236-1240.
- [5] 王琼, 林海燕, 李洁明, 刘雅峰, 蔡玉梅. 原因不明性复发性流产患者的基础性激素水平. *中山大学学报(医学科学版)*, 2010, 31 (3): 409-412.
- [6] Wang Y, Sun Y, Di W, Kuang YP, Xu B. Association between induced abortion history and later in vitro fertilization outcomes. *Int J Gynaecol Obstet*, 2018, 141 (3): 321-326.
- [7] Nielsen HS, Steffensen R, Lund M, Egestad L, Mortensen LH, Andersen AM, Lidegaard Ø, Christiansen OB. Frequency and impact of obstetric complications prior and subsequent to unexplained secondary recurrent miscarriage. *Hum Reprod*, 2010, 25 (6): 1543-1552.
- [8] Field K, Murphy DJ. Perinatal outcomes in a subsequent pregnancy among women who have experienced recurrent miscarriage: a retrospective cohort study. *Hum Reprod*, 2015, 30 (5): 1239-1245.
- [9] Yang J, Wang Y, Wang XY, Zhao YY, Wang J, Zhao YY. Adverse pregnancy outcomes of patients with history of first-trimester recurrent spontaneous abortion. *Biomed Res Int*, 2017, 2017: 4359424.
- [10] 李再仪, 游泽山, 罗宋, 程卉. 抗苗勒管激素在腹膜型子宫内膜异位症患者卵巢储备功能评估中的价值研究. *新医学*, 2018, 49 (2): 129-132.
- [11] Tremellen K, Kolo M. Serum anti-Müllerian hormone is a useful measure of quantitative ovarian reserve but does not predict the chances of live-birth pregnancy. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*, 2010, 50 (6): 568-572.
- [12] Xu H, Zeng L, Yang R, Feng Y, Li R, Qiao J. Retrospective cohort study: AMH is the best ovarian reserve markers in predicting ovarian response but has unfavorable value in predicting clinical pregnancy in GnRH antagonist protocol. *Arch Gynecol Obstet*, 2017, 295 (3): 763-770.
- [13] Zarek SM, Mitchell EM, Sjaarda LA, Mumford SL, Silver RM, Stanford JB, Galai N, White MV, Schliep KC, DeCherney AH, Schisterman EF. Is anti-Müllerian hormone associated with fecundability? Findings from the EAGeR Trial. *J Clin Endocrinol Metab*, 2015, 100 (11): 4215-4221.
- [14] Pils S, Stepien N, Kurz C, Nouri K, Springer S, Hager M, Promberger R, Ott J. Does anti-Müllerian hormone predict the outcome of further pregnancies in idiopathic recurrent miscarriage? A retrospective cohort study. *Arch Gynecol Obstet*, 2019, 299 (1): 259-265.
- [15] Bhide P, Escriva M, Srikantharajah A, Joshi H, Gudi A, Shah A, Acharya G, Homburg R. Anti-Müllerian hormone (AMH) and embryo quality assessed by time-lapse imaging (TLI): a cross-sectional observational study. *Arch Gynecol Obstet*, 2017, 296 (3): 583-587.
- [16] Gat I, AlKudmani B, Wong K, Zohni K, Weizman NF, Librach C, Sharma P. Significant correlation between anti-müllerian hormone and embryo euploidy in a subpopulation of infertile patients. *Reprod Biomed Online*, 2017, 35 (5): 602-608.
- [17] Steiner AZ, Pritchard D, Stanczyk FZ, Kesner JS, Meadows JW, Herring AH, Baird DD. Association between biomarkers of ovarian reserve and infertility among older women of reproductive age. *JAMA*, 2017, 318 (14): 1367-1376.

(收稿日期: 2018-12-27)

(本文编辑: 林燕薇)