

体外受精-胚胎移植后异位妊娠 86 例临床分析

田 婷 韩 丹 刘书华 周 平 曹云霞

摘要 目的 探讨辅助生殖技术中异位妊娠(EP)的发生率、影响因素和早期诊疗、防治的方法。方法 回顾性分析体外受精-胚胎移植(IVF-ET)、卵胞浆内单精子显微注射(ICSI)、胚胎植入前遗传学诊断(PGD)和冻融胚胎移植(F-ET)治疗后 86 例 EP 患者的临床资料。结果 共有 2 903 个周期获临床妊娠, 86 例 EP 发生率 2.96%, 其中包括宫内宫外同时妊娠 4 例(4.65%)。患者年龄、不孕年限、体重指数、是否合并排卵障碍、男方因素不孕、染色体异常、既往分娩史、获卵数、移植胚胎数目、移植管进入宫腔深度对 EP 的发生影响不大。输卵管盆腔病变、子宫内膜异位症及其术后与 EP 的发生有显著的关联($OR = 11.457, P = 0.000$; $OR = 3.479, P = 0.002$)。子宫内膜厚度 ≥ 7.5 mm 时, 输卵管妊娠风险则有所下降($OR = 10.463, P = 0.002$)。结论 输卵管盆腔病变、子宫内膜异位症及其术后, 移植日子宫内膜厚度是 EP 发生的重要影响因素。妊娠早期血人绒毛膜促性腺激素(HCG)监测结合阴道 B 超检查是 EP 主要的早期诊断方法。

关键词 体外受精; 胚胎移植; 异位妊娠

中图分类号 R 713

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2015)03-0372-04

经体外受精助孕治疗获得的妊娠结果不同于自然妊娠, 其异位妊娠(ectopic pregnancy, EP)率明显增高, 而且世界上报道的第一例体外受精-胚胎移植(*in vitro* fertilization and embryo transfer, IVF-ET)助孕的结局即是 EP^[1]。在诱发排卵中子宫内妊娠合并 EP 也较常见, 这类 EP 发生率增加至 1.2%。

2015-01-06 接收

作者单位: 安徽医科大学第一附属医院生殖医学中心, 合肥 230022

作者简介: 田 婷, 女, 硕士研究生;

周 平, 女, 副教授, 副主任医师, 硕士生导师, 责任作者,

E-mail: zhoup-325@aliyun.com

IVF-ET 将胚胎连同不等数量的培养介质放在子宫底部附近, 使某些抵达输卵管和子宫的胚胎同时植入^[2]。该研究回顾性分析安徽医科大学第一附属医院生殖医学中心经辅助助孕治疗后发生 EP 的 86 例临床资料, 以探究 EP 的高危影响因素和早期诊断方法, 从而降低 IVF 助孕发生 EP 的风险。

1 材料与方法

1.1 病例资料 收集 2011 年 1 月~2013 年 12 月接受辅助生育技术(assisted reproductive techniques, ART)助孕患者的临床资料 2 903 例获临床妊娠, 新鲜周期组 1 560 例(包括 62 例 EP 和 1 498 例宫内妊娠患者), 冻融周期组 1 343 例; EP 组 86 例。患者年龄 21~40(30.12 $\pm$ 4.20)岁, 不孕年限 1~15(4.71 $\pm$ 3.34)年, 原发不孕占 33.7%, 继发不孕占 66.3%。单纯随机抽取同一时期在我中心行 ART 助孕获宫内妊娠并分娩的患者 314 例作为对照组, 患者年龄 21~41(30.11 $\pm$ 4.32)岁, 不孕年限 1~15(4.11 $\pm$ 3.07)年, 原发不孕占 54.8%, 继发不孕占 45.2%。助孕指征包括输卵管及盆腔因素、子宫内膜异位症(endometriosis, EMs)、排卵障碍、男方因素、染色体异常等。助孕方式包括 IVF-ET, 卵胞浆内单精子显微注射(intracytoplasmic sperm injection-embryo transfer, ICSI-ET), 胚胎植入前遗传学诊断(preimplantation genetic diagnosis, PGD)和冻融胚胎移植(frozen-thawed embryo transfer, F-ET)。

1.2 试剂 达菲林(法国益普生生物技术公司); 达必佳(瑞士辉凌国际制药有限公司); 卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)(瑞士默克雪兰诺公司); 尿促性素(human menopausal gonadotropin,

Prx1, E-cadherin and Vimentin were not correlated with sex, age, size, site of tumor. E-cadherin and Vimentin expression were not correlated with nerve invasion in pancreatic carcinoma tissue. Prx1 expression in pancreatic carcinoma was positively correlated with Vimentin expression ($P < 0.05$); Prx1 and Vimentin were negatively correlated with E-cadherin expression ($P < 0.05$). **Conclusion** Prx1, E-cadherin and Vimentin expressions are associated with the ability of invasion and metastasis in pancreatic carcinoma, Prx1 abnormal expression maybe serve as a potential poor prognostic marker of patients with pancreatic carcinoma.

Key words pancreatic carcinoma; Peroxiredoxin 1; E-cadherin; Vimentin

HMG) 和人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin, HCG) (珠海市丽珠制药厂); 黄体酮(台州市浙江仙居制药公司)。

1.3 方法 控制性促排卵按照本中心常规方案进行, 长方案: 黄体中期肌肉注射达菲林或达必佳进行垂体降调节, 14 d 后或下次月经第 3 天肌肉注射促性腺激素(gonadotropins, Gn) 促排卵, Gn 包括 FSH 和 HMG, 阴道超声监测卵巢及卵泡大小, 当有 ≥ 2 个优势卵泡(直径 ≥ 18 mm) 时, 停用 Gn, 于当晚肌注 HCG 10 000 IU, 注射 HCG 后 32 ~ 36 h 在阴道 B 超监测引导下穿刺取卵术; 短方案: 月经第 2 ~ 3 天肌注达菲林降调节, 第 5 天肌肉注射 Gn 促排卵, 其他同长方案。在取卵后 2 ~ 6 h 采用体外受精或者胞浆内单精子注射法受精, 遗传病患者采用 PGD。于 0.5% CO₂ 培养箱中体外培养 2 ~ 3 d(4 ~ 8 细胞阶段) 进行胚胎移植。冻融周期胚胎移植时间为自然周期排卵后第 3 天, 或者人工周期注射黄体酮后的第 5 ~ 6 天。移植后隔日肌注 HCG 或每日肌注黄体酮进行黄体支持。移植胚胎数目 ≤ 3 枚, 移植液均为 20 μ l。移植 14 d 后检验尿 HCG 阳性, 35 d 后阴道 B 超监测宫腔内有孕囊及胎心搏动者诊断为临床宫内妊娠; 若在宫外有孕囊者诊断为 EP; 宫内外均发现有孕囊诊断为宫内宫外同时妊娠。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 16.0 软件建立数据库, 以表达应用 t 检验和 χ^2 检验。对 t 检验和 χ^2 检验差异有统计学意义的因素, 进一步行 Logistic 多元回归分析。

2 结果

2.1 新鲜周期与冻融周期的比较 临床妊娠 2 903 例, 其中 EP 86 例(2.96%), 包括宫内宫外同时妊娠 4 例(4.65%), 单侧输卵管妊娠 78 例(90.69%), 双侧输卵管同时妊娠 1 例(1.16%), 卵巢妊娠 2 例(2.33%), 宫角妊娠 1 例(1.16%)。新鲜周期组 EP 患者 62 例; 冻融周期组中 EP 患者 24 例。新鲜周期中 EP 发生率显著高于冻融周期, 差异有统计学意义($P=0.001$), 见表 1。

表 1 新鲜周期与冻融周期比较 [n (%)]

组别	EP	宫内妊娠
新鲜周期	62(3.97) **	1 498(96.03)
冻融周期	24(1.79)	1 319(98.21)
合计	86(2.96)	2 817(97.04)

与冻融周期比较: ** $P < 0.01$

2.2 不孕因素及一般临床特征的比较 在对诸多因素分析中发现, EP 组与对照组患者年龄、不孕年限、体重指数、排卵障碍、男方因素不孕、染色体异常、既往分娩史、获卵数、移植胚胎数目、移植管进入宫腔深度对 EP 的发生影响不大。新鲜周期组中 EP 患者 HCG 日平均雌二醇-2(estradiol, E) 值、孕酮(progesterone, P) 值均高于宫内妊娠患者, 差异有统计学意义($t=2.291$, $P=0.023$; $t=10.989$, $P=0.000$); 进一步比较, E2/P 比值差异有统计学意义($t=3.224$, $P=0.001$)。

EP 组继发性不孕患者 57 例(66.3%), 高于对照组继发性不孕者 142 例(45.2%) 所占比例, 差异有统计学意义($P=0.001$); 输卵管盆腔因素, EMs 及其术后所占比例高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 既往妊娠史、既往人流史、既往 EP 史和既往盆腔手术史所占比例均高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。

本中心胚胎移植均在阴道超声引导下进行, 移植管距宫底距离均为 1.5 cm。EP 组移植日子宫内膜厚度与对照组相比, 差异有统计学意义($P < 0.01$), 见表 2。

表 2 EP 组与对照组间的临床资料对比 [n (%) $\bar{x} \pm s$]

临床因素	EP 组($n=86$)	对照组($n=314$)	P 值
年龄(岁 $\bar{x} \pm s$)	30.12 $\pm$ 4.20	30.11 $\pm$ 4.32	0.993
不孕年限(年 $\bar{x} \pm s$)	4.71 $\pm$ 3.34	4.11 $\pm$ 3.07	0.115
原发不孕 [n (%)]	29(33.72)	172(54.78)	0.001
继发不孕 [n (%)]	57(66.28)	142(45.22)	0.904
体重指数(kg/m ² $\bar{x} \pm s$)	22.01 $\pm$ 2.41	22.05 $\pm$ 2.85	
既往妊娠史 [n (%)]	58(67.4)	141(44.9)	0.000
既往人流史 [n (%)]	44(51.2)	100(31.8)	0.001
既往分娩史 [n (%)]	7(8.14)	24(7.64)	0.879
既往 EP 史 [n (%)]	22(25.60)	51(16.20)	0.047
既往盆腔手术史 [n (%)]	38(44.2)	83(26.40)	0.001
输卵管盆腔因素 [n (%)]	83(96.50)	221(70.30)	0.000
EMS 及其术后 [n (%)]	17(19.80)	34(10.80)	0.028
排卵障碍 [n (%)]	4(4.65)	16(5.09)	1.000
男方因素 [n (%)]	5(5.81)	18(5.73)	1.000
染色体异常 [n (%)]	2(2.32)	5(1.59)	1.000
获卵数(枚 $\bar{x} \pm s$)	15.84 $\pm$ 7.99	14.97 $\pm$ 7.36	0.340
移植日内膜(mm $\bar{x} \pm s$)	9.92 $\pm$ 2.07	11.80 $\pm$ 2.48	0.000
移植胚胎数(个 $\bar{x} \pm s$)	2.27 $\pm$ 0.50	2.27 $\pm$ 0.49	0.888
导管进入宫腔深度(cm $\bar{x} \pm s$)	5.70 $\pm$ 0.49	5.70 $\pm$ 0.53	0.987

将差异有统计学意义的因素纳入 Logistic 多元回归进一步分析, 其中将移植日子宫内膜 7.5 mm 划为临界值进行比较, 结果表明输卵管盆腔病变、EMs 及术后, 移植日子宫内膜厚度是 ART 助孕后

EP 发生的主要影响因素,见表3。

表3 ART后EP相关因素多元回归分析

相关因素	β	Wald	P 值	OR	95% CI
不孕类型	0.324	0.167	0.682	1.382	0.293 ~ 6.532
既往妊娠史	0.693	0.670	0.413	2.000	0.380 ~ 10.523
既往人流史	0.434	0.532	0.466	1.372	0.586 ~ 3.212
既往EP史	0.429	0.000	0.986	0.993	0.428 ~ 2.301
既往盆腔手术史	0.311	2.269	0.132	1.596	0.869 ~ 2.934
输卵管盆腔因素	2.439	14.989	0.000	11.457	3.334 ~ 39.376
EMs 及术后	1.247	9.890	0.002	3.479	1.660 ~ 7.567
移植日子宫内膜厚度	2.348	9.426	0.002	10.463	2.337 ~ 46.841

3 讨论

3.1 ART后EP的发生率 随着辅助生育技术的不断发展,EP的发生率明显增加。IVF助孕后EP的发病率为2.1%~11.0%,显著高于自然妊娠的EP率(0.5%)^[3]。本研究显示,IVF助孕后EP的发病率为2.96%,与文献报道基本相符。

3.2 ART后发生EP的危险因素分析

3.2.1 盆腔输卵管病变、EMs及其术后和移植日子宫内膜厚度是IVF-ET助孕后影响EP发生的主要因素。输卵管具有适宜于胚胎着床的结构,并可表达“着床期”的一些特异分子,是妊娠发生的基础;同时受精卵经此通道向子宫输送时,输卵管病理改变导致受精卵无法正常通过输卵管到达子宫,这种滞留为输卵管妊娠提供了可能性。输卵管局部产生的前列腺素也可能参与输卵管妊娠的胚胎植入^[4]。本研究回归分析结果表明:输卵管盆腔病变与EP的发生有显著的关联。所以,盆腔输卵管病变是ART后EP发生的重要影响因素。近期研究^[5]显示,正常子宫内膜在着床时间窗内在雌孕激素作用下可以产生白细胞介素-11(interleukin-11, IL-11)等因子,与各自受体结合后通过共有的信号通路发挥作用,使得子宫内膜增殖、重构,从而具有胚胎容受性。而在EMs患者中,子宫内膜无IL-11及其受体的表达。盆腔粘连可使输卵管的正常蠕动消失,不利于胚胎移回宫腔,促使EP的发生。本研究中EP组EMs及其术后所占比例高于对照组,差异有统计学意义。因此,EMs及其术后是EP的另一个高危因素。

本研究中EP组移植日子宫内膜平均厚度薄于对照组,差异有统计学意义。子宫内膜厚度 ≥ 7.5 mm时,输卵管妊娠风险则有所下降。可见,移植日子宫内膜厚度与EP的发生明显相关,较厚的子宫

内膜更加有利于胚胎的着床。

3.2.2 外源性促性腺激素的应用对ART后EP的影响 外源性促性腺激素的应用改变了人体内的激素水平,高雄激素可促进输卵管肌层的节律性收缩振幅,输卵管纤毛的活动减弱,从而使胚胎不能及时运送回宫腔内。Paltieli et al^[6]报道较高的孕激素水平可导致输卵管功能发生异常,可能是宫外孕发生的原因之一。本研究中新周期EP组HCG日平均 E_2 值、P值均高于对照组,有统计学意义;进一步比较, E_2/P 比值同样具有统计学意义。近期一项回顾性研究^[7]表明,冻融周期胚胎移植EP发生率(0.47%)低于新鲜周期组(0.34%)。Clayton et al^[8]研究显示,与赠卵和代孕周期相比,行IVF的患者EP发生率明显升高。本研究中新周期的EP发生率明显高于冻融周期,差异有统计学意义。故推测超排卵周期中妇女体内高激素水平可能是EP的重要影响因素。

3.2.3 手术操作对ART后EP的影响 移植 ≤ 2 枚高质量胚胎有助于防止EP的发生^[8]。移植管距宫底距离(transfer distance from the fundus, TDF)是临床妊娠的重要影响因素^[9]。当TDF ≤ 0 时,对妊娠率有较深远的不良影响;同时,EP率也有增加的趋势。Tiras et al^[10]研究表明移植管尖端到宫底距离在1~2 cm范围内,似乎是最佳的胚胎移植部位,从而获得更高的妊娠。

3.2.4 其他因素对ART后的影响 在IVF-ET后EP发生的过程中,胚胎染色体异常起到了重要的作用^[11]。染色体正常的胚胎其EP发生率较染色体异常的胚胎并没有降低^[12]。本研究中EP组染色体异常2例,对照组5例,差异无统计学意义。故染色体异常是否会引起宫外孕仍有待于进一步研究。

3.3 ART后EP的诊疗和预防 动态监测血 β -HCG结合阴道B超检查是主要的早期诊断方法。宫腔内未探及孕囊,宫旁扫及异常低回声并可见胚芽和心管搏动者确诊为EP。监测到宫内有孕囊时,若孕囊数与移植的胚胎数目不相符,应仔细观察附件区及盆腔情况。一旦确诊,则开腹或在腹腔镜下行患侧输卵管切除术。对于宫内外同时妊娠的患者,既要处理宫外妊娠灶,又要力争保护宫内活胎。ART治疗前可建议患者结扎或切除有功能病变的输卵管,以避免再次发生EP。同时,保留健侧输卵管,因为患者在助孕期间仍有自然受孕的可能。移植胚胎数目尽量不超过2枚优质胚胎,同时加强助孕治疗后的随访,以减少或防止ART后EP的发生。

参考文献

- [1] Steptoe P C , Edwards R G. Reimplantation of a human embryo with subsequent tubal pregnancy [J]. *Lancet* , 1976 , 1(7965) : 880 - 2.
- [2] 庄广伦. 现代辅助生育技术[M]. 5 版. 人民卫生出版社 2005: 415 - 6.
- [3] Korkontzelos I , Tsirkas P , Antoniou N , et al. Mild ovarian hyperstimulation syndrome coexisting with ectopic pregnancy after in vitro fertilization [J]. *Clin Exp Obstet Gynecol* , 2006 , 33(3) : 148 - 50.
- [4] 秦 力 , 王雁玲. 输卵管妊娠着床窗口的分子基础及母胎界面相关分子的表达[J]. *生殖医学杂志* 2003 , 12(6) : 369 - 73.
- [5] Dimitriadis E , Stoikos C , Stafford-Bell M , et al. Interleukin-11 , IL-11 receptoralpha and leukemia inhibitory factor are dysregulated in endometrium of infertile women with endometriosis during the implantation window [J]. *J Reprod Immunol* 2006 , 69(1) : 53 - 64.
- [6] Paltieli Y , Eibschitz I , Ziskind G , et al. High progesterone levels and ciliary dysfunction-a possible cause of ectopic pregnancy [J]. *J Assist Reprod Genet* 2000 , 17(2) : 103 - 6.
- [7] Decler W , Osmanagaoglu K , Meganck G , et al. Slightly lower incidence of ectopic pregnancies in frozen embryo transfer cycles versus fresh *in vitro* fertilization-embryo transfer cycles: a retrospective cohort study [J]. *Fertil Steril* 2014 , 101(1) : 162 - 5.
- [8] Clayton H B , Schieve L A , Peterson H B , et al. Ectopic pregnancy risk with assisted reproductive technology procedures [J]. *Obstet Gynecol* 2006 , 107(3) : 595 - 604.
- [9] Pope C S , Cook E K , Army M , et al. Influence of embryo transfer depth on *in vitro* fertilization and embryo transfer outcomes [J]. *Fertil Steril* 2004 , 81(1) : 51 - 8.
- [10] Tiras B , Polat M , Korucuoglu U , et al. Impact of embryo replacement depth on *in vitro* fertilization and embryo transfer outcomes [J]. *Fertil Steril* 2010 , 94(4) : 1341 - 5.
- [11] Goddijn M , van der Veen F , Schuring-Blom G H , et al. Cytogenetic characteristics of ectopic pregnancy [J]. *Hum Reprod* , 1996 , 11(12) : 2769 - 71.
- [12] Coste J , Fernandez H , Benifla J , et al. Role of chromosomal abnormalities in the ectopic pregnancy [J]. *Fertil Steril* 2000 , 74(6) : 1259 - 60.

Analysis of 86 ectopic pregnancy cases after *in vitro* fertilization and embryo transfer

Tian Ting , Han Dan , Liu Shuhua , et al

(*Reproductive Medical Center , The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University , Hefei 230022*)

Abstract *Objective* To investigate the incidence , affecting factors , early diagnosis , prevention and treatment methods of ectopic pregnancy(EP) in assisted reproductive technology. *Methods* A retrospective review was done on the clinical data of 86 patients with EP after *in vitro* fertilization and embryo transfer(IVF-ET) , intracytoplasmic sperm injection(ICSI) , preimplantation genetic diagnosis(PGD) and frozen-thawing embryo transfer(F-ET) . *Results* A total of 2 903 clinical pregnancies were obtained , and 86 ectopic pregnancies , the rate of EP was 2. 96% , of which 4 cases were heterotopic pregnancy(4. 65%) . It appeared to be no relationship in these aspects , that was , age , duration of infertility , body mass index(BMI) , ovulation dysfunction , infertility caused by male , chromosome abnormality , history of childbirth , the average follicle numbers , the average graftage embryonic number and the depth of transplant tube into the uterine cavity. However , tubal and pelvic diseases , endometriosis or endometriosis postoperatively was significantly associated with the occurrence of EP($OR = 11. 457$, $P = 0. 000$; $OR = 3. 479$, $P = 0. 002$) . When endometrial thickness was more than or equal to 7. 5 mm , the risk of tubal pregnancy decreased obviously($OR = 10. 463$, $P = 0. 002$) . *Conclusion* The main correlative factors with EP are total pathological and pelvis changes , endometriosis or endometriosis postoperatively and the thickness of endometrium in the day of embryo transfer. In addition , sera hCG level tests and transvaginal ultrasonography are recommended for early diagnosis.

Key words *in vitro* fertilization; embryo transplantation; ectopic pregnancy