

生长激素预处理在胚胎植入前染色体非整倍体检测中的应用研究

周海燕^{1,2,3}, 吴彩云^{1,5,6}, 黄德煊^{1,5,6}, 郝燕^{1,5,6}, 陈大蔚^{1,5,6}, 王孟寒⁴, 赵刚⁴, 周平^{1,3}

摘要 目的 研究生长激素(GH)预处理对整倍体的改善及妊娠结局的影响。方法 前瞻性分析行胚胎植入前染色体非整倍体检测(PGT-A)助孕的134例患者,其中30例行自身对照,104例行组间对照。根据是否添加GH分为GH预处理组和GH非预处理组,GH预处理为促性腺激素(Gn)启动前行4~6周的GH 2 U/d皮下注射,Gn启动日剂量加倍直至扳机日,GH非预处理为未用过GH处理。前次PGT-A周期失败后一年内再次行PGT-A时予GH预处理构成自身对照组。组间对照和自身对照分别比较各组间的基本情况、囊胚情况及助孕结局。**结果** 无论组间对照还是自身对照,

GH预处理后的HCG日子宫内膜厚度、卵巢敏感指数(OSI)、获卵数、MII卵数、2PN数、2PN受精率、可利用卵母细胞率、活检囊胚数、整倍体囊胚数、整倍体囊胚率、至少一个整倍体率均明显增加,差异均有统计学意义($P < 0.05$),GH预处理后的Gn总量、Gn天数、嵌合体囊胚数、嵌合体囊胚率无明显变化,差异均无统计学意义,GH预处理后的种植率、临床妊娠率均有提高,但差异均无统计学意义。**结论**

GH预处理可以明显增加行PGT-A患者的整倍体数和整倍体率,并有改善妊娠结局的趋势。

关键词 生长激素预处理;胚胎植入前染色体非整倍体检测;整倍体;妊娠结局

中图分类号 R 715.5

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2024)06-0988-06

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.06.012

2024-01-17 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:82301896);安徽科技重大专项(编号:202003a07020012)

作者单位:¹安徽医科大学第一附属医院妇产科,合肥 230032

²安徽医科大学附属巢湖医院妇产科,巢湖 238000

³国家卫生健康委配子及生殖道异常研究重点实验室,合肥 230032

⁴中国科学技术大学电子工程与信息科学系,合肥 230027

⁵生殖健康与遗传安徽省重点实验室,合肥 230032

⁶安徽省生命资源保存与人工器官工程技术研究中心,合肥 230032

作者简介:周海燕,女,副主任医师,硕士;

周平,女,副教授,主任医师,博士生导师,责任作者,E-mail:zhou_p_325@aliyun.com

近年来,不孕不育在世界各地呈高发、多发现象,并影响着大多数发达国家15%~25%的夫妇,世界卫生组织已将其视为全球公共卫生问题^[1]。人类配子和胚胎染色体非整倍体的高发生率被认为是体外受精(*in vitro* fertilization and embryo transfer, IVF-ET)失败和流产的主要原因^[2]。多年来,生长激素(growth hormone, GH)已被许多研究证实可以改善卵母细胞质量并最终提高活产率。那么,GH是否可以提高患者整倍体以得到更好的助孕结局。

ovarian hyperstimulation (COH) cycle, and to explore the clinical application of melatonin-supplemented IVM technology. **Methods** 159 patients were recruited into the study. 920 mature oocytes were collected during their COH cycles processed for conventional IVF/ICSI protocols, while 1 283 immature oocytes from the same cycles were matured in a melatonin-supplemented IVM medium before ICSI was performed. A retrospective analysis was conducted to compare the impact of conventional assisted reproductive technology and improved IVM technology on the outcomes of assisted reproductive therapy and pregnancy outcomes. **Results** Compared with mature oocytes collected from COH cycles treated with conventional IVF/ICSI, oocytes promoted by improved melatonin-supplemented IVM technology had a lower rate of high-quality blastocyst formation. However, after embryo transfer, there was no significant difference in the clinical outcomes of mature oocytes obtained through two methods, including clinical pregnancy rate, full-term birth rate, neonatal length, and neonatal Apgar score. **Conclusion** The application of melatonin-supplemented IVM significantly increases the utilization of immature oocytes collected from COH cycles, improving the pregnancy outcomes of patients assisted by assisted reproductive technology.

Key words oocyte; *in vitro* maturation technology; *in vitro* fertilization; controlled ovarian hyperstimulation; pregnancy outcome

目前,关于该方面研究和报道较少。该文前瞻性分析 134 例行胚胎植入前染色体非整倍体筛查 (pre-implantation genetic testing for aneuploidy, PGT-A) 的助孕患者,通过分析其囊胚情况及助孕结局,探讨 GH 预处理是否可以通过改善整倍体以达到提高该类求孕人群助孕结局的目的。

1 材料与方法

1.1 病例资料 2021 年 1 月-2023 年 5 月在安徽医科大学第一附属医院生殖中心行 PGT-A 助孕患者中招募 137 对就诊夫妇,收集其病例信息、囊胚情况及妊娠结局。纳入标准:①符合 PGT-A 适应证^[3];反复妊娠丢失、反复种植失败、高龄(38 岁及以上)、不良妊娠史、男性因素不育、性染色体数目异常;②既往 PGT-A 周期未得到活产且非整倍体率高于 50% 及以上或未获得整倍体囊胚;③无 GH 使用禁忌证;④既往无任何生长激素使用史。排除标准:①女方患有影响妊娠的生殖系统疾病(子宫腺肌病、宫腔粘连、子宫畸形、子宫内膜异位症、卵巢手术史等);②夫妻任何一方有常染色体结构性异常或单基因病;③有 GH 使用禁忌证;④女方合并有内科系统类或代谢性疾病,如肝炎急性期、甲状腺功能亢进、急性肾炎或慢性肾功能不全等。

研究分为自身对照和组间对照,其中自身对照组有一例因家庭原因退出,两组中各有一例因卵巢反应不佳取消取卵。最终,共有 134 对夫妇加入了本次研究,其中组间对照 104 例,包括 GH 预处理组(Gn 启动前予以小剂量 GH 预处理 4~6 周, $n=44$) 和非预处理组(未用 GH 预处理, $n=60$)。前次 PGT-A 周期失败再次行 PGT-A 时予 GH 预处理构成自身对照组(两次 PGT-A 周期间隔 1 年内且 2 次周期的卵巢刺激方案类似, $n=30$)。均建议整倍体胚胎并行单胚胎植入。其中,生长激素预处理组有 1 例因未获得整倍体胚胎,与患者及家属详细沟通后,患者及家属要求植入一枚嵌合体胚胎,其余进入移植周期患者均行单整倍体胚胎植入。所有患者均没有 GH 副反应及卵巢过度刺激综合征等不良事件发生。

1.2 研究方法

1.2.1 治疗方案 GH 预处理:促性腺激素(gonadotropins, Gn)启动前进行为期 4~6 周的 GH 2U 1 次/d 皮下注射预处理,Gn 启动日改为 4U 1 次/d 至

扳机日。GH 非预处理:整个周期中未用 GH 处理。

所有患者均采用合适的促排卵方案,中心常规控制性超促排卵方案(controlled ovarian hyperstimulation, COH)促排。阴道彩超(transvaginal ultrasound, TVS)监测到有一个优势卵泡直径达到 18 mm (或 2 个卵泡直径 ≥ 17 mm 或 3 个卵泡直径 ≥ 16 mm)时,予以人绒毛膜促性腺激素 10 000 IU (human chorionic gonadotropin, HCG, 2 000 IU/支,浙江丽珠制药厂;或艾泽 250 μ g, 德国默克公司)扳机,36~38 h 后在 TVS 引导下取卵,术后常规黄体支持至孕 12 周。取卵后行卵细胞胞质内单精子显微注射(intracytoplasmic sperm injection, ICSI),再转入胚胎培养液中培养,胚胎在辅助孵化下培养到囊胚期,第 5~6 天根据 Gardner^[4]评分标准对囊胚进行分级,选择 4 BC 及以上囊胚,对达标囊胚使用激光脉冲释放 5~10 个滋养外胚层细胞进行活检,活检后的囊胚编号并立即冷冻,再运用高通量测序(next generation sequencing, NGS)从处理后的细胞中提取并纯化部分遗传物质,使用 REPLI-g 单细胞试剂盒进行全基因组扩增,构建文库后上机测试,对所得数据进行分析,最后依据获得的报告结果选择整倍体胚胎进行单胚胎解冻移植。取卵后第 2 次月经开始内膜准备,依据患者月经周期情况,采用人工或自然周期内膜生长方式。当 TVS 监测子宫内膜 8 mm 及以上且均匀平整时,给予地屈孕酮(10 mg, 2~3 次/d, 荷兰雅培公司)或黄体酮阴道缓释凝胶(雪诺酮, 90 mg, 德国默克公司)1 支/d 阴道用药转化内膜,5 d 后移植。

1.2.2 妊娠判定 移植后继续黄体支持至移植后 12 d 行血 HCG 检测是否妊娠,30 d 后行 TVS 检查宫腔内是否有孕囊及心管搏动确定是否临床妊娠。后续处理同常规 IVF-ET。

1.2.3 囊胚分级标准 根据 Gardner^[4]评分标准对孵化第 5~6 天的囊胚进行形态学分析,根据囊胚膨胀程度和孵化状态,给囊胚一个 1~6 分的数字评分:1:早期囊胚,囊胚腔未达胚胎体积的一半;2:早期囊胚,囊胚腔超过胚胎体积的一半;3:囊胚饱满,囊胚腔完全充满胚胎;4:胚泡膨大,胚腔体积比早期胚大,胚带开始变细;5:正在孵化的囊胚,滋养外胚层开始通过带突出(未显示);6:孵化的囊胚,囊胚已经完全脱离带(未显示)。评估初始阶段可以在解剖显微镜上进行,对囊胚进行评分的第二步应在

倒置显微镜下进行。1~2级均为早期囊胚。对于分级为3~6级的囊胚(即完整囊胚),内细胞团和滋养外胚层的发育情况可评估如下:内细胞团分级:A为紧密排列,细胞较多;B为松散组,具几个细胞;C为细胞很少。滋养外胚层等级:A级为多个细胞形成内聚上皮;B为少量细胞形成松散的上皮;C为很少有大细胞。临床上一般将评分至少在3BB及以上囊胚定义为优质囊胚。

1.2.4 统计指标 ①基本资料:年龄、体质量指数(body mass index, BMI)、窦卵泡数(antral follicle count, AFC)、基础促性腺激素(follicle stimulating hormone, FSH)、促黄体生成素(luteotropic hormone, LH)、E2(bFSH、bLH、bE2)、不孕年限(月)、FSH/LH。②临床资料:Gn总量、Gn天数、HCG日子宫内膜厚度、AFC、卵巢敏感指数(ovarian sensivity index, OSI)、获卵数、MII卵数、可利用卵母细胞率、双原核受精卵(two pronucleus, 2PN)数、2PN受精率、活检囊胚数、整倍体囊胚数、整倍体囊胚率、嵌合体囊胚数、嵌合体囊胚率、至少一个整倍体率、整倍体率、种植率、临床妊娠率。OSI = 获卵数/外源性Gn总量 × 1 000;至少一个整倍体率 = 至少有一个整倍体的人数/总人数 × 100%;种植率 = 着床胚胎数/正常胚胎移植数 × 100%;临床妊娠率 = 临床妊娠周期数/移植周期数 × 100%。

1.3 统计学处理 采用SPSS 26.0软件进行统计分析,所有计量资料符合正态分布的采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 t 检验;其他计量资料采用 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,采用非参数秩和检验(Z 检验)。所有计数资料用率(%)表示,用 χ^2 检验或Fisher确切概率法。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料比较

表1 GH预处理组与非预处理组患者的一般资料比较($\bar{x} \pm s$)

项目	GH预处理组($n=44$)	GH非预处理($n=60$)	t/Z 值	P 值
年龄(岁)	36.18 ± 5.05	37.18 ± 4.73	0.812	0.302
不孕年限(月) ^Δ	36.00(15.00,54.00)	24.00(12.00,60.00)	1.500	0.134
AFC(n)	10.11 ± 5.57	8.70 ± 4.58	0.892	0.202
FSH(mIU/ml)	8.25 ± 2.78	8.66 ± 2.75	0.753	0.483
LH(mIU/ml)	4.67 ± 1.89	4.34 ± 1.52	0.803	0.327
E2(pmol/L) ^Δ	163.00(97.33,296.50)	163.00(90.13,276.50)	0.095	0.924
FSH/LH	1.95 ± 0.74	2.18 ± 0.79	0.961	0.163
BMI(kg/m ²)	23.41 ± 2.63	22.77 ± 2.96	0.898	0.254

Δ:该行的均数用 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,采用非参数秩和检验,统计量为 Z 值

的年龄、BMI、AFC、bFSH、bLH、bE2、FSH/LH、不孕年限(月)之间比较,差异没有统计学意义。见表1。

2.2 临床数据比较

2.2.1 GH处理组与非处理组间的比较 GH预处理组的HCG日子宫内膜厚度、OSI、获卵数、MII卵数、2PN数、2PN受精率、可利用卵母细胞率、活检囊胚数、整倍体囊胚数、整倍体囊胚率、至少一个整倍体率均明显高于非预处理组,且差异有统计学意义($P < 0.05$)。GH预处理组和非预处理组之间Gn总量、Gn天数、嵌合体囊胚数、嵌合体囊胚率、种植率、临床妊娠率无明显变化,差异没有统计学意义,见表2。

2.2.2 GH预处理前后自身的比较 GH预处理后的HCG日子宫内膜厚度、OSI、获卵数、MII卵数、2PN数、2PN受精率、可利用卵母细胞率、活检囊胚数、整倍体囊胚数、整倍体囊胚率、至少一个整倍体率均明显高于预处理前,且差异有统计学意义($P < 0.05$)。GH预处理前后的Gn总量、Gn天数、AFC、嵌合体囊胚数、嵌合体囊胚率、种植率、临床妊娠率无明显变化,差异没有统计学意义,见表3。

3 讨论

1993年PGT-A首次被引入用于筛选整倍体胚胎移植以提高辅助生殖效率^[5]。但有患者经PGT-A后得到极低数目的整倍体囊胚甚至未能获得整倍体囊胚,导致这部分群体仍难得到满意的妊娠结局。过去几十年里,许多研究人员一直致力于证明IVF期间添加GH可以改善预后,GH已被证实可以改善卵母细胞的质量及活产,但目前很少有研究探讨GH的补充是否可以减少非整倍体胚胎^[6]。

GH是垂体产生和分泌的一种激素,主要在夜间产生和分泌,通过GH受体(growth hormone receptor, GHR)或胰岛素样生长因子-1(Insulin-like growth

表2 GH 预处理组与非预处理组患者的临床资料比较($\bar{x} \pm s$)

项目	GH 预处理组($n=44$)	GH 非预处理组($n=60$)	$t(Z)/\chi^2$ 值	P 值
Gn 总量 (IU)	2 653.95 ± 924.31	2 672.55 ± 646.75	0.125	0.911
Gn 天数(d)	9.61 ± 1.95	9.76 ± 1.81	0.298	0.692
HCG 日子宫内膜厚度 (mm)	10.78 ± 2.38	9.48 ± 2.67	6.245	0.017
OSI	4.78 ± 4.40	3.01 ± 2.64	2.191	0.033
获卵数(n)	10.49 ± 7.11	7.05 ± 4.77	2.681	0.009
MII 卵数(n)	8.51 ± 6.24	5.32 ± 3.52	7.687	0.001
2PN 数(n)	6.62 ± 5.92	3.77 ± 2.82	4.568	0.002
2PN 受精率[% (n/n)]	61.63(265/430)	53.05(226/426)	6.435	0.011
可利用卵母细胞率[% (n/n)]	81.16(349/430)	74.88(319/426)	4.924	0.026
活检囊胚数(n)	3.50 ± 2.09	1.83 ± 1.09	6.115	<0.001
整倍体囊胚数(n) ^Δ	1.00(0.25,1.00)	0.00(0.00,1.00)	4.629	0.000
整倍体囊胚率[% (n/n)]	33.56(49/146)	19.09(21/110)	6.612	0.01
嵌合体囊胚数(n) ^Δ	0.00(0.00,1.00)	0.00(0.00,1.00)	1.808	0.071
嵌合体囊胚率[% (n/n)]	19.18(28/146)	22.73(25/110)	0.481	0.488
至少一个整倍体率	75.00(33/44)	33.33(20/60)	17.635	<0.001
移植周期数	22	19		
种植率[% (n/n)]	72.73(16/22)	63.16(12/19)	0.431	0.511
临床妊娠率[% (n/n)]	59.09(13/22)	52.63(10/19)	0.173	0.678

Δ:该行的均数用 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,采用非参数秩和检验,统计量为 Z 值

表3 自身对照预处理前后临床资料比较($n=30, \bar{x} \pm s$)

项目	GH 预处理后	GH 预处理前	t/χ^2 值	P 值
Gn 总量 (IU)	2 961.61 ± 869.67	2 709.00 ± 563.79	0.842	0.221
Gn 天数 (d)	9.82 ± 2.14	9.68 ± 1.35	0.365	0.778
HCG 日子宫内膜厚度 (mm)	10.90 ± 2.37	9.21 ± 2.41	5.649	0.008
AFC (n)	8.67 ± 4.65	8.67 ± 4.65	0.014	0.997
OSI	3.82 ± 3.03	3.03 ± 2.16	2.963	0.003
获卵数(n)	9.30 ± 5.86	7.78 ± 6.08	2.254	0.033
MII 卵数(n)	7.07 ± 4.18	5.62 ± 4.33	2.402	0.023
2PN 数(n)	5.46 ± 3.93	4.07 ± 3.38	2.345	0.027
2PN 受精率[% (n/n)]	56.97(153/251)	53.71(118/229)	4.330	0.037
可利用卵母细胞率[% (n/n)]	77.69(205/251)	72.49(166/229)	5.755	0.016
活检囊胚数(n)	3.63 ± 2.34	2.17 ± 1.39	3.893	0.001
整倍体囊胚数(n)	1.27 ± 1.11	0.30 ± 0.53	5.706	0.000
整倍体囊胚率[% (n/n)]	34.86(38/109)	13.85(9/65)	8.087	0.004
嵌合体囊胚数(n)	0.63 ± 1.07	0.60 ± 1.00	0.122	0.904
嵌合体囊胚率[% (n/n)]	17.43(19/109)	27.69(18/65)	1.984	0.158
至少一个整倍体率[% (n/n)]	53.33(16/30)	26.67(8/30)	4.444	0.035
移植周期数	16	9		
种植率[% (n/n)]	81.25(13/16)	44.44(4/9)	3.586	0.058
临床妊娠率[% (n/n)]	62.50(10/16)	22.22(2/9)	3.744	0.053

factor, IGF-1) 结合并发出信号,影响整个生命周期的许多代谢过程。研究^[7]表明, GH 及其功能受体在女性生殖系统中有表达,包括卵巢和子宫。代谢器官和生殖组织中有 GH 及其功能受体存在,外源性 GH 就有了靶器官作用的理论基础。GH 可与卵巢上 GHR 作用,促进卵泡成熟、发育和排卵,并通过 IGF 系统调控,增强卵泡对 Gn 的敏感性,加速卵母细胞核成熟,提高线粒体活性和卵母细胞质量^[8]。

Li et al^[9]认为 GH 通过增加 MII 期卵母细胞、2PN 和移植胚胎的数量来改善辅助受孕结局,还可能加速减数分裂进程、平衡细胞环境的氧化还原稳态和促进卵母细胞发育能力等途径促进人卵母细胞成熟。一项荟萃分析和系统评价也认为^[10], GH 干预可收集到更多卵母细胞及 MII 期卵母细胞,并可改善子宫内膜功能,子宫内膜薄的女性受益更大。以上研究从各个方面证明了 GH 在辅助生殖中的积极

作用,并认为 GH 可提高卵巢反应性。但目前一直缺乏可直接预测卵巢反应的相关信息标志物,He et al^[11]认为,OSI 用来评估卵巢储备及反应更可靠,它与年龄负相关,与获卵细胞及 MII 卵正相关,与 COH 无关且独立影响卵巢反应。本研究显示 GH 预处理后 HCG 日子宫内膜厚度、OSI、获卵数、MII 卵数、2PN 数、2PN 受精率、可利用卵母细胞率、活检囊胚数均显著增加。推测 GH 预处理通过增强卵巢反应,收集更多卵母细胞并提高其发育能力,最终使卵母细胞的质和量得到提高,更多高质量卵泡的获得增加了活检囊胚数,GH 又可改善子宫内膜功能,这些有利因素最后统一作用于 PGT-A,进一步提高妊娠结局。

整倍体囊胚是健康活产的先决条件,PGT-A 主要目标就是要获得整倍体囊胚。本研究发现 GH 预处理可显著增加活检囊胚数,这为获得更多的整倍体囊胚实现了可能。一直以来,线粒体三磷酸腺苷(adenosine triphosphate,ATP)合成低而导致的细胞能量不足被认为是染色体畸变的一个原因,可以决定卵母细胞和胚胎的质量^[12]。线粒体是卵泡发育、卵母细胞纺锤体形成、染色体分离、减数分裂、受精等过程中能量供应的必需元素,其功能直接影响减数分裂过程中卵母细胞非整倍体的产生,干扰卵母细胞质量^[13]。Mikwar et al^[14]认为非整倍体是染色体在分离减数分裂过程中发生错误,卵母细胞产生错误数量的染色体导致的,当非整倍体卵母细胞与精子受精时,会产生非整倍体胚胎。而体外培养实验发现^[15],GH 治疗可改善减数分裂过程,使更多形态正常的 MII 卵母细胞发育为囊胚,降低了由纺锤体/染色体缺陷引起的非整倍体的发生率。小鼠卵母细胞体外成熟实验显示,GH 可以通过改善卵母细胞的纺锤体形态及线粒体膜电位来改善卵母细胞质量和妊娠结局^[16]。由此推测,GH 通过增强线粒体功能提高了卵母细胞质量,并提供大量 ATP 供能,降低了染色体分离过程中的错误率,减少了非整倍体卵母细胞和非整倍体囊胚形成,最终提高了整倍体卵母细胞和整倍体囊胚的数量。本研究数据显示,GH 预处理后的整倍体囊胚数及率、至少一个整倍体率显著增高。说明 GH 预处理进一步改善该类人群妊娠结局同时又扩大了受益群体规模。

综上所述,临床上对需干预的患者,尤其是极高非整倍体率群体宜尽早干预,尽早行 GH 治疗。前

期分组时一些混杂因素导致分组时存在选择对象的偏倚。同时,部分患者入组困难使得样本量较小,这些因素在一定程度上限制了本研究。所以,尽管本次研究结果鼓舞人心,仍需要更大样本的研究和实验来证实这一结果。

参考文献

- [1] Petre G C, Francini-Pesenti F, Di Nisio A, et al. Observational cross-sectional study on mediterranean diet and sperm parameters [J]. *Nutrients*, 2023, 15(23):4989.
- [2] Kimelman D, Pavone M E. Non-invasive prenatal testing in the context of IVF and PGT-A[J]. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2021, 70: 51-62.
- [3] 周海燕, 吴彩云, 陈大蔚, 等. 胚胎植入前染色体非整倍体检测在不同适应证中的助孕结局分析[J]. *安徽医科大学学报*, 2023, 58(4): 687-92.
- [4] Gardner D K, Lane M, Stevens J, et al. Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: towards a single blastocyst transfer[J]. *Fertil Steril*, 2000, 73(6): 1155-8.
- [5] Munné S, Lee A, Rosenwaks Z, et al. Diagnosis of major chromosome aneuploidies in human preimplantation embryos [J]. *Hum Reprod*, 1993, 8: 2185-91.
- [6] Guo Q, Liu P, Zhou W, et al. Growth hormone supplementation ameliorates blastocyst euploidy rates and improves pregnancy outcomes in women undergoing preimplantation genetic testing for aneuploidy cycles[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023, 14: 1117706.
- [7] Chang C W, Sung Y W, Hsueh Y W, et al. Growth hormone in fertility and infertility: mechanisms of action and clinical applications[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2022, 13: 1040503.
- [8] Han L, Tian H, Guo X, et al. Regulation of ovarian function by growth hormone: potential intervention of ovarian aging[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023, 13:1072313.
- [9] Li Y, Liu H, Yu Q, et al. Growth hormone promotes *in vitro* maturation of human oocytes [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2019, 10:485.
- [10] Shang Y, Minghua W, Ruohan H, et al. Administration of growth hormone improves endometrial function in women undergoing *in vitro* fertilization: a systematic review and meta-analysis[J]. *Human Reproduction Update*, 2022, 28(6): 838-57.
- [11] He Y, Liu L, Yao F, et al. Assisted reproductive technology and interactions between serum basal FSH/LH and ovarian sensitivity index[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023, 14: 1086924.
- [12] Labarta E, de Los Santos M J, Escrivá M J, et al. Mitochondria as a tool for oocyte rejuvenation[J]. *Fertil Steril*, 2019, 111(2): 219-26.
- [13] Scheffler F, Cabry R, Soyey M, et al. Growth hormone replacement improved oocyte quality in a patient with hypopituitarism: A study of follicular fluid[J]. *Ann Endocrinol (Paris)*, 2021, 82

- (6): 590–6.
- [14] Mikwar M, MacFarlane A J, Marchetti F. Mechanisms of oocyte aneuploidy associated with advanced maternal age[J]. *Mutat Res Rev Mutat Res*, 2020, 785:108320.
- [15] Liu C, Li S, Li Y, et al. Growth hormone ameliorates the age-associated depletion of ovarian reserve and decline of oocyte quality via inhibiting the activation of Fos and Jun signaling[J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(5): 6765–81.
- [16] Lin Y, Xie B, Li X, et al. Supplementation of the *in vitro* maturation culture medium of mouse oocytes with growth hormone improves pregnancy outcomes[J]. *Reprod Sci*, 2021, 28(9): 2540–9.

Application of growth hormone pretreatment in preimplantation genetic testing for aneuploidy

Zhou Haiyan^{1,2,3}, Wu Caiyun^{1,5,6}, Huang Dehuan^{1,5,6}, Hao Yan^{1,5,6},
Chen Dawei^{1,5,6}, Wang Menghan⁴, Zhao Gang⁴, Zhou Ping^{1,3,4}

¹*Dept of Obstetrics and Gynecology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230032;*

²*Dept of Obstetrics and Gynecology, Chaohu Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Chaohu 238000;*

³*NHC Key Laboratory of Study on Abnormal Gametes and Reproductive Tract, Hefei 230032;*

⁴*Dept of Electronic Engineering and Information Sciences, University of Science and Technology of China, Hefei 230027;* ⁵*Anhui Province Key Laboratory of Reproductive Health and Genetics, Hefei 230032;*

⁶*Anhui Provincial Engineering Research Center of Biopreservation and Artificial Organs, Hefei 230032)*

Abstract Objective To investigate the effect of growth hormone (GH) pretreatment on the improvement of euploid and pregnancy outcome. **Methods** A prospective analysis was conducted on 134 patients undergoing preimplantation genetic testing for aneuploidy (PGT-A), among whom 30 patients were self-controlled and 104 patients were inter-group controlled. According to whether GH was added, the patients were divided into GH pretreatment group and GH non-pretreatment group. GH pretreatment included subcutaneous injection of GH 2U/day for 4–6 weeks before the start of gonadotropin (Gn), and the dose was doubled on the day of Gn until the trigger day. GH non-pretreatment meant no GH treatment, GH pretreatment was given when the previous PGT-A cycle failed within one year when the PGT-A was performed again, forming the self-control group. The basic situation, blastocyst situation and pregnancy outcome were compared between the groups by inter-group and self-control. **Results** No matter in the group control or self-controlled group, the endometrial thickness on the day of HCG, ovarian sensitivity index (OSI), number of oocytes obtained, MII oocytes, 2PN number, 2PN fertilization rate, available oocyte rate, number of biopsy blastocysts, number of euploid blastocysts, euploid blastocyst rate, and at least one euploid rate significantly increased after GH pretreatment, with statistically significant differences ($P < 0.05$). The total amount of Gn, Gn days, number of mosaic blastocysts, and mosaic blastocyst rate were not significantly changed after GH pretreatment, with no statistically significant differences. The implantation rate and clinical pregnancy rate increased after GH pretreatment, but with no statistically significant differences. **Conclusion** GH pretreatment can significantly improve the number and rate of euploid embryos in patients undergoing PGT-A, and has a tendency to improve pregnancy outcome.

Key words growth hormone pretreatment; preimplantation genetic testing for aneuploidy; euploid; pregnancy outcome