

非预期卵巢低反应患者的影响因素及个体化治疗的研究进展

马明男 朱霞 李慧珍 赵雨恒 黄炜瑜 马天仲

广东医科大学附属医院生殖医学中心, 广东湛江 524001

[摘要] 目前针对非预期卵巢低反应(POR)的治疗策略侧重于获取更多的卵母细胞,而波塞冬标准的提出至少获取 1 个可移植的整倍体胚胎,成为辅助生殖技术成功的新指标,因此将仅有的卵母细胞培育成优质胚胎是此类患者治疗的重要方面。本文重点阐述影响非预期 POR 的相关因素及其获取优质胚胎个体化治疗相关的 7 个措施:扳机日卵泡大小、双扳机方案、人工卵母细胞激活、囊胚移植、植入前非整倍体检测、时差成像、生物工程技术的应用。

[关键词] 波塞冬标准;非预期卵巢低反应;胚胎质量;个体化治疗

[中图分类号] R714.8

[文献标识码] A

[文章编号] 1673-7210(2024)01(c)-0060-04

DOI: 10.20047/j.issn1673-7210.2024.03.11

Research progress on influencing factors of patients with unexpected poor ovarian response and individualized treatment

MA Mingnan ZHU Xia LI Huizhen ZHAO Yuheng HUANG Weiyu MA Tianzhong

Center for Reproductive Medicine, Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Guangdong Province, Zhanjiang 524001, China

[Abstract] Current treatment strategies for unexpected poor ovarian response (POR) focus on obtaining more oocytes, and the POSEIDON standard proposes to obtain at least one transplantable euploid embryo, it has become a new indicator of the success of assisted reproductive technology, so growing the only oocytes into high-quality embryos is an important aspect of the treatment of such patients. This paper focuses on the related factors affecting unexpected POR and seven measures related to obtaining high-quality embryo individualized treatment: trigger day follicle size, double trigger protocol, artificial oocyte activation, blastocyst transfer, preimplantation genetic testing for aneuploidy, time-lapse imaging, application of bioengineering techniques.

[Key words] POSEIDON; Unexpected poor ovarian response; Eembryo quality; Individualized treatment

在辅助生殖技术(assisted reproductive technology, ART)控制性超促排卵(controlled ovarian hyperstimulation, COH)过程中,部分基础血清卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)及雌二醇(estradiol, E₂)等水平均正常、卵巢储备功能正常的患者出现的卵巢低反应(poor ovarian response, POR)被称为非预期 POR。此类患者促性腺激素用量大,周期取消率高,在体外受精-胚胎移植(*in vitro* fertilization and embryo transfer, IVF-ET)治疗前难以识别,多在 COH 治疗过程中发现^[1]。2016 年由多个国家的生殖学者组成的波塞冬工作组根据患者临床和生物学特征重新定义 POR 的波塞冬标准,根据年龄、抗苗勒管激素(anti-müllerian hormone, AMH)、基础窦卵泡数(antral follicle count, AFC)分为 4 组,其中 POSEIDON 1 组和 2 组患者在治疗前具有足够卵巢储备,但获取的卵母细胞少于预期,导致每个启动周期的活产率(cumulative live birth rates, CLBR)较低^[2-3]。针对此类低反应患者的治疗,通常侧重于卵巢刺激及如何获得更多的卵母细胞数量,根据最新的相关研究提示,通过个体化治疗将有限的卵母细胞培育成优质胚胎是非预期 POR 患者的重要管理策略。本文综述基于波塞冬分层下非预期 POR 患者影响因素及如何获取优质胚胎个体化治疗的研究进展进行阐述。

[作者简介] 马明男(1994.5-),女,广东医科大学第一临床医学院 2021 级妇产专业在读硕士研究生;研究方向:生殖医学。

[通讯作者] 马天仲(1982.4-),男,博士,副研究员,硕士生导师;研究方向:辅助生殖,早期胚胎发育。

塞冬小组根据患者临床和生物学特征重新定义 POR 的波塞冬标准,根据年龄、抗苗勒管激素(anti-müllerian hormone, AMH)、基础窦卵泡数(antral follicle count, AFC)分为 4 组,其中 POSEIDON 1 组和 2 组患者在治疗前具有足够卵巢储备,但获取的卵母细胞少于预期,导致每个启动周期的活产率(cumulative live birth rates, CLBR)较低^[2-3]。针对此类低反应患者的治疗,通常侧重于卵巢刺激及如何获得更多的卵母细胞数量,根据最新的相关研究提示,通过个体化治疗将有限的卵母细胞培育成优质胚胎是非预期 POR 患者的重要管理策略。本文综述基于波塞冬分层下非预期 POR 患者影响因素及如何获取优质胚胎个体化治疗的研究进展进行阐述。

1 影响非预期 POR 的因素

相关研究表明,非预期 POR 卵巢低反应可能有以下原因^[4-6]。①与 FSH、黄体生成素(luteinizing hormone,

LH) 受体或 LH 多态性相关。丝氨酸携带者(rs6166)和 FSHR(rs1394205)多态性的 A 等位基因纯合子均表现出在 COH 中的低反应; LH β 受体亚基变异会增加 COH 期间 FSH 的总量; ②促性腺激素释放激素(gonadotropin-releasing hormone, GnRH)的剂量不理想。促排卵过程中由于受体多态性等因素影响, 此类非预期 POR 的 GnRH 用量常高于预期。③促排卵期间的卵泡发育不同步。生殖细胞中磷脂酰肌醇 3 激酶信号和减数分裂过程的不同步导致出生后卵巢中的卵泡异质性。④排卵触发/获取卵母细胞相关的技术问题。⑤环境因素^[4-6]。卵泡液中苯的水平高会导致卵泡刺激素受体的转导缺陷从而导致 COH 中卵巢反应降低; 氧化应激导致自由基增加, 从而影响胚胎的质量。

2 个体化治疗

2.1 扳机日卵泡大小

扳机日卵泡大小与卵母细胞成熟度及发育潜能的关系一直存在争议。2019 年欧洲人类生殖与胚胎学会(European Society of Human Reproduction and Embryology, ESHRE)关于 IVF/ 卵胞质内单精子注射卵巢刺激指南中指出, 扳机日卵泡最佳大小尚无明确标准^[7]。但有研究发现, 对于年龄 <35 岁的患者, 较大卵泡(直径 ≥ 16 mm)可以产生质量更优的卵母细胞^[8]。同时也有研究表明, 较小的卵泡(直径 13~15 mm)也能产生更具发育能力的卵母细胞从而提高活产率^[9]。即使是来自小卵泡的卵母细胞如果可以受精, 其发育潜力可与来自较大卵泡的卵母细胞相媲美^[10]。

虽然还没有任何研究专门评估卵泡大小在非预期 POR 患者中的作用, 仍需要进一步研究不同辅助生殖技术类型的卵泡大小影响的差异, 但根据现有证据可总结出在获取卵泡时, POSEIDON 1 组患者应侧重选择直径 >16 mm 的卵泡, POSEIDON 2 组患者适当扩大扳机日卵泡大小的范围(直径 ≥ 13 mm)可能会获取更有发育潜能的胚胎。对于卵巢反应不佳的患者多取 1 个卵泡, 就意味着妊娠结局的改变。

2.2 双扳机方案

随着辅助生殖技术的发展, 双扳机方案也成为普遍的治疗方法, 将小剂量的人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin, hCG)与 GnRH-a 结合使用, 不仅能诱发 LH 峰, 还能诱发内源性 FSH 峰, 使其更接近生理状态, 更有利于卵母细胞成熟。一项 meta 分析证实了双扳机方案在卵母细胞数量和质量及临床妊娠和活产率方面的益处^[11]。

虽然双扳机方案对于 POR 患者是一个很好的策略, 尤其是对于 POSEIDON 3 组和 4 组的高龄人群可

提高活产率, 但缺乏关于这种方法在非预期 POR 人群中的研究数据^[12]。对于非预期 POR 患者可尝试应用双扳机方案作为首选治疗策略, 但仍需大量临床研究证明提供依据。

2.3 人工卵母细胞激活(artificial oocyte activation, AOA)

精子携带的磷脂酶 C-zeta (phospholipase C α Zeta, PLC α)被认为是卵母细胞激活的生理触发因素^[13]。PLC α 进入卵胞质并裂解膜结合的磷脂酰肌醇二磷酸, 产生二酰甘油启动透明带反应和肌醇三磷酸, 肌醇三磷酸与位于内质网中的受体结合, 刺激 Ca²⁺释放, 游离 Ca²⁺激活几种卵母细胞激酶从而完成受精, 而 Ca²⁺释放不足或异常会导致卵胞质内单精子注射受精率低或受精失败^[14-15]。研究发现, AOA 的应用可改善高龄患者的胚胎质量, 尤其是年龄 ≥ 40 岁的女性^[16]。

迄今为止, 有关 AOA 克服胚胎发育问题的文献很少且存在争议, 很少有试验研究使用 Ca²⁺载体改善受精和胚胎发育, 并且缺乏低反应者的数据。然而, 当非预期 POR 患者的卵母细胞总数有限时, 对于年龄 ≥ 40 岁的患者可以尝试通过 AOA 改善受精和可用胚胎的质量。

2.4 囊胚移植

囊胚移植在 ART 中可能是有利的, 因为囊胚期胚胎到达子宫内腔的时间与自然周期中发生的时间更一致。一项回顾性分析表明, 卵裂期胚胎延长培养至囊胚期可获得较好的妊娠结局, 提高了胚胎的利用率^[17]。最近对 27 项随机对照试验的 539 例患者进行的 meta 分析发现, 囊胚移植的活产率高于卵裂期胚胎移植后的活产率, 而流产率、多胎妊娠率差异无统计学意义^[18]。然而另一项系统回顾和 meta 分析包括来自 12 项研究的数据, 招募了 1 200 名囊胚移植的女性 1 248 名接受卵裂期胚胎移植的女性, 观察出囊胚移植对活产/持续妊娠无显著的差异^[19]。

在未经选择的患者中是否使用囊胚移植至今尚无统一结论。对于低反应者, 许多临床医生提倡卵裂期胚胎移植, 以降低由于胚胎未能发育到囊胚期而导致的周期取消。有研究正在进行一项随机对照试验, 比较接受 IVF 预后不良的患者的囊胚移植与卵裂期胚胎移植, 如果囊胚移植被证明优于卵裂期胚胎移植, 那么对低反应者采用囊胚移植将获得更高的单胎移植率, 减少多胎妊娠, 并简化实验室方案。但随着胚胎培养系统的改进, 可推测对于预后良好的患者, 囊胚移植是有益的^[20]。

2.5 植入前非整倍体检测(preimplantation genetic testing for aneuploidy, PGT-A)

PGT-A 技术主要运用在高龄产妇、反复植入失败、

反复流产、严重男性不育或选择性单胚胎移植等的情况。对于非预期 POR 患者,建议在 POSEIDON2 组患者中考虑应用 PGT-A,尤其是年龄>38 岁的患者^[21]。

与正常的卵巢储备患者比较,卵巢低反应患者的胚胎非整倍体的风险相对增加,其中反复流产的患者发生卵母细胞非整倍体更高^[22-23]。而 PGT-A 是目前唯一可以避免非整倍体胚胎移植的临床策略。最近 1 篇 meta 分析的结果提示,PGT-A 没有改善一般人群的临床结果,但对>35 岁女性的囊胚期胚胎进行 PGT-A 时提高了活产率^[24]。

2.6 时差成像(time-lapse imaging, TLI)

近年来,为挑选优质胚胎提高临床妊娠率引入了 TLI 新型胚胎培养及检测系统,与常规传统培养箱比较,TLI 培养箱可以连续监测胚胎发育,而无需通过从培养箱中取出胚胎来扰乱培养条件,为胚胎发育提供稳定安全的培养环境,而且可以获得更多的胚胎动力学参数,挑选最优发育的胚胎进行移植^[25]。TLI 可以应用于非预期 POR 患者,从而挑选出最具植入能力的胚胎,提高种植率从而改善妊娠结局。

2.7 辅助治疗新方法

在过去的几年中,生殖专家致力于探索解决 POR 的新方法,试图利用具有再生潜力的因素,例如干细胞、离体的生长因子或富血小板血浆(platelet-rich plasma, PRP)来恢复卵巢环境^[26-27]。干细胞治疗的目的是解决 POR 女性的卵巢衰老问题,研究表明,干细胞治疗可能对受损卵巢组织的结构和生育能力具有恢复作用^[28]。PRP 治疗后的短时间内可以使得激素改善、卵母细胞产量提高、临床妊娠及活产率明显好转^[29-30]。线粒体功能障碍已被认为是决定卵母细胞质量的主要参数,使用年轻健康供体的线粒体来增强卵母细胞的繁殖能力,为胚胎移植前的早期发育阶段提供更好的环境^[31]。

尽管生物工程技术的安全性和伦理问题仍是目前未解决的难题,但对于卵巢反应不良患者的治疗带来的改善是不可忽视的^[32]。这些创新的技术丰富了非预期 POR 治疗方案的选择,也给患者带来了希望。

综上所述,通过评估非预期 POR 的相关因素,并行相关预处理,从而获取更多可用卵母细胞。在获取卵母细胞时,个体化选择扳机日卵泡大小,适当扩大扳机日卵泡直径的范围;双扳机方案可作为此类患者的优选策略;AOA 的应用有望改善老年患者的胚胎质量;囊胚移植有可能降低周期取消率;POSEIDON2 组患者中考虑应用 PGT-A,尤其是年龄>38 岁的患者;TLI 的应用可挑选出优质胚胎;生物工程技术有望改善胚胎质量,但其安全性和伦理问题仍是目前未解决

的难题。尽管目前非预期 POR 患者的诊疗已经取得了相当大的进步,但提出的推荐意见及可行性还需要大量临床研究验证。非预期 POR 患者的管理目标主要为增加可移植优质胚胎的数目,这要求我们充分掌握患者的特征,从排卵诱导前的预处理、促排卵方案的选择、促性腺激素类型及剂量、排卵触发和辅助治疗等方面贯彻个体化治疗原则,从而获得更好的妊娠结局。

利益冲突声明:本文所有作者均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] 武学清,孔蕊,田莉,等.卵巢低反应专家共识[J].生殖与避孕,2015,35(2):71-79.
- [2] Alviggi C, Andersen CY, Buehler K, *et al.* A new more detailed stratification of low responders to ovarian stimulation: from a poor ovarian response to a low prognosis concept [J]. Fertil Steril, 2016, 105(6): 1452-1453.
- [3] Sunkara SK, Ramaraju GA, Kamath MS. Management Strategies for POSEIDON Group 2 [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2020, 11(1): 105.
- [4] Dieamant F, Petersen CG, Vagnini LD, *et al.* The Ala307Thr polymorphism of the follicle-stimulating hormone receptor (FSHR) gene is associated with the dose of recombinant FSH received during IVF/ICSI treatment [J]. JBRA Assist Reprod, 2023, 27(1): 78-84.
- [5] Sperduti S, Paradiso E, Anzivino C, *et al.* LH increases the response to FSH in granulosa-lutein cells from sub/poor-responder patients *in vitro* [J]. Hum Reprod, 2023, 38(1): 103-112.
- [6] Sachdeva G, Suchindra R, Vohra A, *et al.* Fresh transfer of an average quality slow growing day-3 embryo versus frozen transfer in a poor responder: a clinical management dilemma [J]. JBRA Assist Reprod, 2022, 26(4): 677-678.
- [7] Bosch E, Broer S, Griesinger G, *et al.* Erratum: ESHRE guideline: ovarian stimulation for IVF/ICSI [J]. Hum Reprod Open, 2020, 2020(4): a67.
- [8] Yang J, Gao J, Wang Y, *et al.* Impact of follicular size categories on oocyte quality at trigger day in young and advanced-age patients undergoing GnRH-ant therapy [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2023, 14(1): 1167395.
- [9] Mohr-Sasson A, Orvieto R, Blumenfeld S, *et al.* The association between follicle size and oocyte development as a function of final follicular maturation triggering [J]. Reprod Biomed Online, 2020, 40(6): 887-893.
- [10] Tamura I, Kawamoto-Jozaki M, Fujimura T, *et al.* Relationship between follicular size and developmental capacity of oocytes under controlled ovarian hyperstimulation in assist-

- ed reproductive technologies [J]. *Reprod Med Biol*, 2021, 20(3):299–304.
- [11] Hu KL, Wang S, Ye X, *et al.* GnRH agonist and hCG (dual trigger) versus hCG trigger for follicular maturation: a systematic review and meta-analysis of randomized trials [J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2021, 19(1):78.
- [12] Tulek F, Kahraman A, Demirel LC. Dual trigger with gonadotropin releasing hormone agonist and human chorionic gonadotropin improves live birth rates in POSEIDON group 3 and 4 expected poor responders [J]. *Gynecol Endocrinol*, 2022, 38(9):731–735.
- [13] Saunders CM, Larman MG, Parrington J, *et al.* PLC zeta: a sperm-specific trigger of Ca^{2+} oscillations in eggs and embryo development [J]. *Development*, 2002, 129(15):3533–3544.
- [14] Stein P, Savy V, Williams AM, *et al.* Modulators of calcium signalling at fertilization [J]. *Open Biol*, 2020, 10(7):200118.
- [15] Ferrer-Buitrago M, Dhaenens L, Lu Y, *et al.* Human oocyte calcium analysis predicts the response to assisted oocyte activation in patients experiencing fertilization failure after ICSI [J]. *Hum Reprod*, 2018, 33(3):416–425.
- [16] Vuong LN. Alteration of final maturation and laboratory techniques in low responders [J]. *Fertil Steril*, 2022, 117(4):675–681.
- [17] 白雪, 王喜良, 尚梦楠, 等. D3 非可移植胚胎行囊胚培养的可行性探讨 [J]. *生殖医学杂志*, 2020, 29(8):1029–1033.
- [18] Glujovsky D, Quinteiro Retamar AM, Alvarez Sedo CR, *et al.* Cleavage-stage versus blastocyst-stage embryo transfer in assisted reproductive technology [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2022, 2022(6):D2118.
- [19] Martins WP, Nastri CO, Rienzi L, *et al.* Blastocyst vs cleavage-stage embryo transfer: systematic review and meta-analysis of reproductive outcomes [J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2017, 49(5):583–591.
- [20] Neuhausser WM, Vaughan DA, Sakkas D, *et al.* Non-inferiority of cleavage-stage versus blastocyst-stage embryo transfer in poor prognosis IVF patients (PRECiSE trial): study protocol for a randomized controlled trial [J]. *Reprod Health*, 2020, 17(1):16.
- [21] Abu-Musa A, Haahr T, Humaidan P. Novel Physiology and Definition of Poor Ovarian Response; Clinical Recommendations [J]. *Clin Recomm*, 2020, 21(6):2110.
- [22] Asgari F, Gavahi A, Karimi M, *et al.* Risk of embryo aneuploidy is affected by the increase in sperm DNA damage in recurrent implantation failure patients under ICSI-CGH array cycles [J]. *Hum Fertil (Camb)*, 2022, 25(5):872–880.
- [23] Bilibio JP, Lorenzoni PL, Oliveira BM, *et al.* Associations among morphological parameters, clinical factors and euploid blastocyst formation [J]. *JBRA Assist Reprod*, 2022, 26(2):199–207.
- [24] Simopoulou M, Sfakianoudis K, Maziotis E, *et al.* PGT-A: who and when? Alpha systematic review and network meta-analysis of RCTs [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2021, 38(8):1939–1957.
- [25] Sciorio R. Use of time-lapse monitoring in medically assisted reproduction treatments: a mini-review [J]. *Zygote*, 2021, 29(2):93–101.
- [26] Pantos K, Simopoulou M, Pantou A, *et al.* A Case Series on Natural Conceptions Resulting in Ongoing Pregnancies in Menopausal and Prematurely Menopausal Women Following Platelet-Rich Plasma Treatment [J]. *Cell Transplant*, 2019, 28(9/10):1333–1340.
- [27] Herraiz S, Buigues A, Diaz-Garcia C, *et al.* Fertility rescue and ovarian follicle growth promotion by bone marrow stem cell infusion [J]. *Fertil Steril*, 2018, 109(5):908–918.
- [28] Shi L, Zhang Z, Deng M, *et al.* Biological mechanisms and applied prospects of mesenchymal stem cells in premature ovarian failure [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2022, 101(32):e30013.
- [29] Sfakianoudis K, Simopoulou M, Nitsos N, *et al.* A Case Series on Platelet-Rich Plasma Revolutionary Management of Poor Responder Patients [J]. *Gynecol Obstet Invest*, 2019, 84(1):99–106.
- [30] Hosseinsadat R, Farsi Nejad A, Mohammadi F. Intra-ovarian infusion of autologous platelet-rich plasma in women with poor ovarian reserve: A before and after study [J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2023, 1(280):60–63.
- [31] Darbandi S, Darbandi M, Khorram K H, *et al.* Ooplasmic transfer in human oocytes: efficacy and concerns in assisted reproduction [J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2017, 15(1):77–78.
- [32] Umer A, Khan N, Greene DL, *et al.* The Therapeutic Potential of Human Umbilical Cord Derived Mesenchymal Stem Cells for the Treatment of Premature Ovarian Failure [J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2023, 19(3):651–666.

(收稿日期:2023-06-08)