

影响体外受精-胚胎移植妊娠结局的多因素分析*

张群芳¹, 赵 猛², 陈国勇¹, 何凌云¹, 刘 芸¹(南京军区福州总医院: 1. 妇产科生殖中心; 2. 检验科, 福州 350025)

【摘要】 目的 探讨卵巢储备功能正常的因输卵管因素接受长方案降调节体外受精-胚胎移植(IVF-ET)成功患者的相关因素, 为不孕患者制订个性化助孕方案以提高妊娠率提供依据。**方法** Logistic 回归分析临床和实验室各参数, 寻找各协变量对妊娠结局的影响大小及影响方向(正或负)。**结果** 所有因素中, Gn 天数、内膜厚度、Gn 总量对妊娠结局影响显著。其中, Gn 天数、内膜厚度和优胚数的回归系数 B 为正, 与妊娠呈正相关; 而 Gn 总量系数为负($\beta = -0.000\ 34$), 与妊娠呈负相关。**结论** 子宫内膜越厚, Gn 天数适当延长, 优胚率增加, 适当减少 Gn 总量, 提高 IVF 妊娠率, 其他因素在 IVF-ET 治疗结局中可能不起作用。

【关键词】 体外受精-胚胎移植结局; 子宫内膜厚度; Gn 天数; 优胚数; Gn 总量

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2015.14.007 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2015)14-1994-03

Analysis on multiple actors influencing pregnant outcomes of in vitro fertilization and embryo transplantation in patients with normal responder* ZHANG Qun-fang, ZHAO Meng, CHEN Guo-yong, He Lin-yun, Liu Yun (1, Reproductive Center, Department of Obstetrics and Gynecology; 2, Department of Clinical laboratory, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Region, Fuzhou, Fujian 350025, China)

【Abstract】 Objective To explore the related factors in the patients with normal ovarian function receiving the successful long down regulation protocol controlled ovarian stimulation(COH) in vitro fertilization and embryo transfer (IVF-ET) to provide the basis for formulating the personalized assisted reproduction scheme to improve the pregnancy rate. **Methods** The Logistic regression analysis was adopted to analyze the clinical and laboratory parameters for searching the influence extent and direction(positive or negative) of the various concomitant variables on the pregnancy outcome. **Results** Among all the factors, pregnancy(Gn) duration, endometrial thickness and total Gn amount had significant effects on the pregnancy outcome. The regression coefficient B of Gn duration, endometrial thickness and number of good-quality embryos was positive, showing the positive correlation with the pregnancy, but which of total Gn amount was negative($\beta = -0.000\ 34$), showing negative correlation with pregnancy. **Conclusion** The endometrium thickness is thicker and the Gn duration is extended appropriately, the good-quality embryos rate is increased, and the total Gn amount is appropriately decreased, the IVF-ET pregnant rate is increased. Other factors may not work in the pregnant outcome of IVF-ET.

【Key words】 outcome of in vitro fertilization-embryo transfer; endometrial thickness; Gn duration; number of good-quality embryos; total Gn amount

国内不孕不育的平均发病率为 12.5%~15.0%, 其中 1/4 的不孕不育患者久治不愈, 体外受精-胚胎移植(IVF-ET)是治疗的重要手段之一。如何提高 IVF-ET 妊娠的成功率是目前生殖医学亟待解决的问题。本文回顾性分析 2012 年 1~12 月因输卵管因素接受 IVF-ET 治疗的 309 例患者临床和实验室各项指标, 探讨与妊娠结局的相关因素, 为不孕患者制订个性化助孕方案提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2012 年 1~12 月在本院生殖中心接受 IVF-ET 治疗的 309 例患者。纳入标准: (1) 年龄小于 38 岁; (2) 首次接受 IVF-ET 助孕; (3) 基础促卵泡激素(bFSH) ≤ 10.0 mIU/m; (4) 体质量指数(BMI) $18.0 \sim 28.0$ kg/m², (5) 月经规则; (6) 移植 1~2 枚胚胎。本研究患者经过福州总医院医学伦理委员会批准, 患者均签署了知情同意书。排除标准: 移植日若出现宫腔积液、内膜厚度小于 7 mm、雌二醇(E₂) >

5 000 pmol/L 和/或获卵数大于 15 个等则取消移植。

1.2 超促排卵方案、取卵、受精及妊娠判断 采用常规黄体中期方案: 治疗前 1 个周期的黄体中期按体质量肌肉注射 Gn-RHa 醋酸曲普瑞林(长效达菲林, 3.75 毫克/支, 法国益普生公司) 1.250~1.875 mg, 注射后 14 d 查促卵泡激素(FSH)、黄体生成激素(LH)、E₂、孕酮(P), 垂体达降调节标准(FSH < 5 mIU/mL, LH < 5 mIU/mL, E₂ < 30 pg/mL, 子宫内膜厚度小于 5 mm), 根据患者年龄、基础内分泌、基础窦卵泡数(AFC)、BMI 等用 Gn 促排卵(rFSH 或人绝经期促性腺激素) 150~225 IU, 阴超监测卵泡数量、大小及子宫内膜厚度, 测 E₂、P、LH, 调整 Gn 用量, 当 3 个主导卵泡直径大于 17 mm 时, 当晚肌肉注射人绒毛膜促性腺激素(HCG) 250 μ g。35~36 h 后取卵, 取卵后黄体酮阴道凝胶和地屈孕酮片黄体支持。取卵后第 3 天移植 1~2 枚 8-细胞胚胎。

1.3 优质胚胎及妊娠结局判定 优质胚胎为 2PN, 碎片小于

* 基金项目: 南京军区医学科技面上项目(2013-MS125); 南京军区福州总医院院内课题(201212)。

作者简介: 张群芳, 女, 博士, 副主任医师, 研究方向为生殖医学。

20%,7-细胞以上的胚胎。取卵后 72 h 在阴道 B 超引导下进行胚胎移植。移植 14 d 后抽血检查 β -HCG,移植 28 d 后 B 超检查,见妊娠囊及胎心搏动,判定为临床妊娠。

1.4 分析指标 包括年龄、原发继发、不孕年限、Gn 间隔时间(即降调时间)、Gn 天数、Gn 总量、HCG 日子宫内膜厚度、HCG 日 E_2 值、获卵数、IVF 卵子数、IVF 受精卵裂率、IVF 优胚数、移植胚胎数、IVF2PN 受精、IVF 其他受精等 15 项指标。

1.5 统计学处理 使用 SPSS16.0 统计软件进行分析,二元 Logistic 回归分析:因变量为妊娠结局(0,1),即宫内成功妊娠

为 1,不成功为 0。考察的协变量包括不孕类型、不孕年限、助孕方案、Gn 间隔时间、Gn 天数、Gn 总量、获卵总数、IVF 卵子数、IVF 受精卵裂数、IVF 优胚数、移植胚胎数、HCG 日内膜厚度、HCG 日血 E_2 、IVF2PN 受精、IVF 其他受精等。采用 Backward Condition 的方法,剔除概率 $P>0.10$ 。

2 结 果

2.1 移植妊娠组与移植未妊娠组的部分协变量比较 309 例移植患者中,移植妊娠组 132 例(含早期流产和活胎分娩),移植未妊娠组 177 例。两组的部分协变量指标比较结果见表 1。

表 1 移植妊娠组与移植未妊娠组的部分协变量比较($\bar{x}\pm s$)

协变量	<i>n</i>	年龄 (岁)	不孕年限 (年)	降调时间 (d)	Gn 天数 (d)	Gn 总量 (IU)	HCG 日子宫 内膜(mm)	E_2 (pmol/L)	获卵数
移植妊娠组	135	31.07±4.01	4.53±3.16	16.84±3.77	11.48±1.94	2 614.18±2 711.93	11.59±11.06	2 335.48±1 226.14	8.44±3.61
非妊娠组	177	31.54±4.22	4.52±2.97	17.07±4.30	11.15±1.57	1 845.79±786.68	12.52±12.65	2 494.00±2 457.35	8.39±3.43
<i>P</i>		0.324	0.994	0.611	0.106	0.296	0.076	0.494	0.898

由表 1 可以看出,除 HCG 日子宫内膜厚度一项因素有明显意义外,其他指标均差异无统计学意义($P>0.05$)。由于各因素对妊娠结局的影响可能不是相互独立,因此,需要进行 Logistic 回归分析。

2.2 全部协变量条件似然比检验 309 例移植患者中,妊娠 132 例,未妊娠 177 例。全部纳入协变量时,所有协变量的条件参数似然比检验结果,见表 2。

表 2 全部协变量条件参数似然比检验

协变量	回归系数	回归误	<i>P</i>
年龄	−0.010 00	0.034	0.779
不孕类型	−0.168 00	0.250	0.503
不孕年限	0.021 00	0.042	0.625
治疗方案	−0.177 00	0.317	0.578
Gn 间隔时间	−0.018 00	0.032	0.559
Gn 天数	0.182 00	0.094	0.054
Gn 总量	−0.000 34	0.000	0.092
获卵总数	−0.039 00	0.099	0.691
IVF 卵数	−0.007 00	0.114	0.952
IVF 受精卵裂数	0.289 00	0.216	0.180
IVF 优胚数	0.118 00	0.084	0.163
移植胚胎数	0.571 00	0.460	0.215
内膜厚度	0.092 00	0.047	0.050
E_2	0.000 00	0.000	0.431
IVF 受精 2PN	−0.298 00	0.224	0.184
IVF 受精其他	−0.346 00	0.216	0.109
常量	−2.728 00	1.818	0.134

从表 2 中可以看出,对妊娠结局有明显影响的因素有($P\leq 0.10$):Gn 天数、内膜厚度、Gn 总量;前二者的回归系数为正,说明对 Gn 天数持续越长、内膜厚度越厚,越容易妊娠成功;而 Gn 总量回归系数为负(−0.000 34),说明 Gn 总量越大,越不容易妊娠。此 3 个因素中,尤以内膜厚度影响最明显($P=0.05$)。

2.3 二元 Logistic 回归结果 采用 Backward Condition 方法的 Logistic 回归分析结果。其中,Gn 总量回归系数为负($\beta=-0.000 3$),说明 Gn 总量越大,越不容易妊娠成功;而 Gn 天

数、优胚数和内膜厚度,其系数 B 均为正,说明这些自变量对妊娠结局均有正向的明显影响,即有利于妊娠成功。见表 3。

表 3 对妊娠结局影响最显著的协变量
(二元 Logistic 回归分析)

协变量	回归系数	回归误	<i>P</i>
Gn 天数	0.176 0	0.081	0.031
Gn 总量	−0.000 3	0.000	0.090
IVF 优胚数	0.086 0	0.048	0.071
内膜厚度	0.082 0	0.045	0.070
常量	−2.737 0	0.946	0.004

3 讨 论

胚胎种植和子宫内膜成熟的同步化及提高内膜的容受性可提高 IVF-ET 种植率和妊娠率。但是生殖临床要研究子宫内膜必须在月经刚来潮时诊刮,取材比较困难,所以临床上监测卵泡时观察子宫内膜多以厚度和形态为主。有学者证实促排卵周期过高的 E_2 水平影响内膜,使其向分泌期转化不足以及腺体和基质发育不同从而影响 IVF-ET 的妊娠率^[1-2]。P-COS 不孕症患者存在子宫内膜对类固醇激素的高反应,致使 $\beta 3$ 整合素的表达减少而不利于胚胎着床^[3]。本研究也认为子宫内膜越厚,成功妊娠概率越高。若患者既往有盆腔结核累及子宫内膜结核,或既往有宫腔操作史损伤子宫内膜,抑或子宫内膜占位性病变如子宫内膜息肉、黏膜下肌瘤都可影响胚胎种植造成妊娠率下降。

本研究还发现 Gn 天数适当延长,可增加 IVF 妊娠率,究其原因可 Gn 天数适当延长,可增加卵泡的成熟,卵母细胞是处于有丝分裂后的细胞,含有大量的线粒体,若 Gn 时间太短,HCG 注射过早,大卵泡未发育完全而次大卵泡(<14 mm)所占比例较高,卵泡颗粒细胞上的 LH 受体不够丰富,不能对 HCG 作出恰当的反应,导致卵丘小而紧附卵泡壁,降低卵母细胞的回收率和成熟度,受精率低、卵裂率、着床率低。Kyrou 等^[4]认为至少 3 个优势卵泡平均直径大于或等于 16 mm,另有学者认为大于或等于 17 mm 时注射 HCG^[5-8]。Awonuga 等^[9]研究,当 3 个卵泡直径达 17~18 mm 时注射 HCG 与推迟 1 d 注射 HCG 比较,获卵数、受精率与妊娠率较高。通过分析发

现优胚数增加使胚胎着床的概率增加提高 IVF 妊娠率。

本研究还发现根据患者年龄、基础内分泌、基础窦卵泡数(AFC)、BMI 等选择个体化治疗,在有效的最低剂量内使用 Gn,IVF 妊娠概率增加,因为如果 Gn 剂量过大,卵母细胞超微结构异常发生率增加,染色体非整倍体增加^[10]。卵泡继续在外源性 Gn 作用下发育而分泌更多的雌激素,诱发内源性 LH 峰,卵泡黄素化,无法获得卵子,且过早的恢复了有丝分裂,错过受精的最佳时机,卵裂率和成功率均受到影响,且子宫内膜暴露雌孕激素时间延长,子宫内膜容受性改变,影响胚胎着床。

国内也有学者分析不孕症相关因素,认为年龄是影响女性生育能力的主要因素^[11],因为本研究的纳入标准是患者年龄小于 38 岁,所以年龄的影响因素不明显,今后要加大样本量进行进一步分析。

综上所述,对于卵巢储备功能正常,接受黄体中期长方案降调节 IVF-ET 的患者,子宫内膜越厚,Gn 天数适当延长,优胚率增加、适当减少 Gn 总量提高 IVF 妊娠率,其他因素在 IVF-ET 治疗结局中可能不起作用,所以提倡个体化治疗非常重要。

参考文献

[1] Simon C,Cano F,Vallbuena D,et al. Clinical evidence for a detrimental effect on uterine receptive of high serum oestradiol concentrations in high and normal responder patients[J]. Hum Reprod,1995,10(11):2432-2437.

[2] Ghazala B,Wai-Sum O,Emest H,et al. Morphometric analysis of peri-implantation endometrium in patients having excessively high oestradiol concentrations after ovarian stimulation[J]. Hum Reprod,2001,16(3):435-440.

[3] Quezada S,Avellaira C,Johnson MC,et al. Evaluation of steroid receptors,coregulators and molecules associated with uterine receptivity in secretory endometrial from untreated women with polycystic ovary syndrome[J]. Hum Reprod,2001,16(3):435-440.

[4] Kyrou D,Kolibianakis EM,Fatemi HM,et al. Is earlier administration of human chorionic gonadotropin (hCG) associated with the probability of pregnancy in cycles stimulate with recombinant follicle-stimulating hormone

and gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonists: a prospective randomized trial [J]. Fertil Steril, 2011,96(5):1112-1115.

[5] Fanchin R,Louafi N,Mendez Lozano DH,et al. Perfollicle measurements indicate that anti-mullerian hormone secretion is modulated by the extent of follicle development and luteinization and may reflect qualitatively the ovarian follicular status[J]. Fertil Steril,2005,84(1):1672-1731.

[6] Orvieto R,Zohav E,Scharf S,et al. The influence of estradiol/follicle and estradiol/oocyte ratios on the outcome of controlled ovarian stimulation for in vitro fertilization[J]. Gynecol Endocrinol,2007,23(2):72-75.

[7] Kang SM, Lee SW, Jeong HJ, et al. Comparison of elective single blastocyst-embryo transfer to elective single blastocyst-embryo transfer in human IVF-ET[J]. Clin Exp Reprod Med,2011,38(1):53-60.

[8] Singh N, Bahadur A, Mittal S, et al. Predictive value of endometrial thickness, pattern and sub-endometrial blood flows on the day of hCG by 2D doppler in in vitro fertilization cycles: A prospective clinical study from a tertiary care unit[J]. J Hum Reprod Sci,2011,4(1):29-33.

[9] Awonuga AO, Wooddard T, Imudia AN, et al. Evaluation of the practice of delaying hCG administration to enable maturation of medium size follicles in patients undergoing superovulation for IVF/ICSI[J]. Fertil Steril, 2009, 92 (3):238.

[10] Singh N, Bahadur A, Mittal S, et al. Predictive value of endometrial thickness, pattern and sub-endometrial blood flows on the day of hCG by 2D doppler in in vitro fertilization cycles: a prospective clinical study from a tertiary care unit[J]. J Hum Reprod Sci,2011,4(1):29-33.

[11] 王丹丹,王兴玲,张彩霞,等. 影响体外受精-胚胎移植临床结局的多因素分析[J]. 中国妇幼保健,2009,24(30):4270-4272.

(收稿日期:2015-02-25 修回日期:2015-04-10)

(上接第 1993 页)

能指标以及纤溶实验室指标,有助于及时发现凝血功能异常,对 HDCP 的预防和治疗具有重要的临床价值。

参考文献

[1] 江芬. 62 例妊娠期高血压的临床观察分析[J]. 检验医学与临床,2012,15(6):58-59.

[2] 黄素花,张弘. 妊娠期高血压疾病患者凝血指标的变化及意义[J]. 中国现代医药杂志,2012,14(1):20-22.

[3] 王晓丽,王巧云. 妊娠期高血压疾病术后抗凝治疗的临床研究[J]. 医学综述,2014,20(9):16-1697.

[4] Morikawa M, Yamada T, Yamada T. Pregnancy-induced antithrombin deficiency [J]. Perinat Med, 2010, 38 (4): 379-385.

[5] Ehrental DB,Jurkovitz C,Hoffman M,et al. Prepregnancy body mass index as an independent risk factor for preg-

nancy-induced hypertension[J]. J Women Health, 2011, 20(1):67-72.

[6] 张爱容,曾嘉. 妊娠期高血压疾病孕妇凝血功能的对照研究[J]. 中国医药科学,2014,4(12):235-237.

[7] 刘建晓,李云霞. 妊娠期高血压治疗前后凝血指标的变化及意义[J]. 临床合理用药,2014,7(8):84-85.

[8] 王建荣,蔡丽霞,高辉. 妊娠期高血压疾病与正常妊娠凝血功能及血栓前状态对比观察[J]. 贵州医药,2014,38(7):597-599.

[9] 李晓丹,张锋,吴林斌,等. 妊娠期高血压疾病凝血和纤溶实验室指标变化的临床意义[J]. 中华全科医学,2014,12(1):1424-1426.

[10] 赵映华,吴雪琴,何勤径. 妊娠期高血压疾病孕妇凝血功能的对照研究[J]. 海南医学,2013,24(17):2522-2524.

(收稿日期:2015-01-20 修回日期:2015-03-10)