

体外受精-胚胎移植治疗中卵巢反应性的影响因素分析

钟依平, 沈晓婷, 齐 诤, 周灿权, 李 洁, 方 丛, 梁晓燕
(中山大学附属第一医院生殖医学中心, 广东 广州 510080)

摘要:【目的】探讨体外受精-胚胎移植(IVF-ET)过程中卵巢对控制性促排卵(COS)反应性的影响因素,寻找合适的预测卵巢反应性的指标。【方法】回顾性分析在中山大学附属第一医院生殖医学中心接受IVF-ET的1342名不孕病人IVF-ET第1治疗周期的资料。【结果】采用单因素线性回归分析:女性年龄、基础血清FSH、E₂水平、基础血清FSH/LH比值与控制性促排卵的获卵数呈负相关($P < 0.01$),而月经周期天数、基础血清LH水平与控制性促排卵的获卵数呈正相关($P < 0.01$)。经多因素线性回归分析:女性年龄、基础血清FSH、E₂水平、基础血清FSH/LH比值与控制性促排卵的获卵数呈负相关($P < 0.01$),而月经周期天数与控制性促排卵的获卵数呈正相关($P < 0.01$)。【结论】女性年龄、月经周期天数、基础血清FSH、E₂水平、基础血清FSH/LH比值可以预测控制性促排卵的卵巢反应性。

关键词: 卵巢储备; 排卵诱导; 卵巢反应性

中图分类号:R711 文献标识码:A 文章编号:1672-3554(2008)03-0358-04

Factors Influencing Ovarian Response during In Vitro Fertilization and Embryo Transfer //

ZHONG Yi-ping, SHEN Xiao-ting, QI Quan, ZHOU Can-quan, LI Jie, FANG Cong, LIANG Xiao-yan (Reproductive Medicine Center, The First Affiliated Hospital of SUN Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract:【Objective】To investigate the factors affecting ovarian response during IVF-ET and try to find some appropriate markers to predict the ovarian response.【Methods】A total of 1342 first cycles of IVF-ET performed in Reproductive Medical Center of the First Affiliated Hospital, SUN Yat-Sen University were analyzed retrospectively.【Results】There was a decreasing tendency in the number of oocytes retrieved after controlled ovarian stimulation (COS) with the increase of women age, basal FSH, E₂ levels and basal FSH/LH. While there was an increasing tendency in the number of oocytes retrieved after COS with the increase of menstrual cycle and basal LH level. The results were concluded by single-variate analysis. After a multi-variate linear regression, there was still a decreasing tendency in the number of oocytes retrieved after COS with the increase of women age, basal FSH, E₂ levels and basal FSH/LH. While there was an increasing tendency in the number of oocytes retrieved after COS with the increase of menstrual cycle.【Conclusion】Women age, menstrual cycle, basal FSH, E₂ levels and basal FSH/LH can predict ovarian response during controlled ovarian stimulation.

Key words: ovarian reserve; ovulation-induction; ovarian response

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2008, 29(3):358-COV3]

体外受精与胚胎移植术(in vitro fertilization and embryo transfer, IVF-ET)的妊娠成功需要培养出高质量的胚胎供移植,这与获取适量数目的成熟卵母细胞有关,目前主要通过控制性促排卵(controlled ovarian stimulation, COS)技术来实现。而并非所有不孕症患者都对控制性促排卵有良好反应,如何准确地预测卵巢储备功能是目前生殖医学领域亟待解决的问题^[1,2]。

1 材料与方 法

1.1 研究对象

研究对象为2003年4月至2005年2月在中山大学附

属第一医院生殖医学中心接受IVF-ET的不孕病人。其不孕原因包括男方因素、女性输卵管因素、盆腔粘连、子宫内膜异位症及其它(多次人工受精失败及不明原因等)。共有1342例患者进行IVF-ET第1治疗周期列入研究。

1.2 方 法

1.2.1 IVF-ET 治疗按本中心常规方案进行^[3]。即应用垂体降调节长方案[促性腺激素释放激素类似物/促性腺激素/绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotrophin, HCG)序贯方案]进行促排卵,至卵泡成熟(超声实时显像见双卵巢内有1个以上卵泡直径大于18 mm时),当天使用HCG 10 000 IU,36 h左右回收卵母细胞,培养4~6 h进行体外受精,42~45 h后根据本中心采用的胚胎评分系统选择优

收稿日期:2007-12-25

基金项目:广东省计划生育委员会基金(093028);广东省医学科研基金(A2001160)

作者简介:钟依平(1963-),男,广东梅县人,副教授,硕士生导师,专长:生殖医学,E-mail:zydoctor@126.com

质胚胎进行胚胎移植。

1.2.2 临床资料收集 在治疗前月经周期第2~3天采血分离血清,测定血清促卵泡素(follicle-stimulating hormone, FSH)、促黄体生成素(luteinizing hormone, LH)和雌二醇(estradiol, E₂)水平。在IVF-ET治疗周期收集以下资料:病人年龄、月经周期天数、不孕原因、不孕年限、HCG注射日当天上午采血测定血清FSH、LH、E₂水平、获卵数、受精数、卵裂数、移植胚胎数。血清FSH、LH、E₂水平的测定采用微粒酶标免疫分析法(Abbott AxSYM System,美国)进行。

FSH测定的灵敏度为0.37 IU/L,批内变异3.65%~7.64%,批间变异2.13%~5.93%;LH测定的灵敏度为0.5 IU/L,批内变异4.28%~4.57%,批间变异0.00%~2.49%;E₂测定的灵敏度为20 pg/mL,批内变异4.0%~10.9%,批间变异0.00%~6.40%。

1.3 统计学处理

线性回归分析采用SPSS 11 for windows,组间均数差别检验采用方差分析,组间率差别检验采用卡方检验。

2 结果

2.1 一般资料

—共观察1342例病人。观察对象的年龄平均32.0(S=4.2)岁。月经周期平均30.3(S=5.64)d。基础血清FSH平均6.91(S=2.71)IU/L。基础血清LH平均5.2(S=2.9)IU/L。基础血清FSH/LH比值平均1.62(S=0.89)。基础血清E₂平均60.2(S=30.9)pg/mL。获卵数平均13.5(S=7.9)。

2.2 影响获卵数的单因素分析

采用单因素线性回归分析方法,以获卵数为因变量,对所收集资料中可能影响获卵数的因素包括年龄,月经周期,基础血清FSH、LH、E₂水平,基础血清FSH/LH比值等为自变量,分别进行分析。结果显示:女性年龄、基础血清FSH/LH、基础血清FSH、E₂水平与获卵数呈负相关(P<0.01),而月经周期天数、基础血清LH水平与获卵数呈正相关(P<0.01,表1)。

表1 影响获卵数的单因素分析

Table 1 Factors influencing ovarian response by single-variate analysis

	B	SE	Beta	t	P
Age	-0.411	0.055	-0.211	-7.426	0.000
Menstrual cycle	0.233	0.040	0.167	5.829	0.000
FSH (IU/L)	-0.729	0.097	-0.212	-7.488	0.000
LH (IU/L)	0.338	0.080	0.121	4.208	0.000
FSH/LH	-2.219	0.252	-0.248	-8.817	0.000
E ₂ (pg/mL)	-0.022	0.008	-0.080	-2.747	0.006

2.3 影响获卵数的多因素分析

采用多重线性回归方法,对单因素分析结果中显示有

相关性关系的因素进行分析,结果显示:获卵数与女性年龄、基础血清FSH/LH比值、基础血清FSH、E₂水平呈负相关(P<0.01),获卵数与月经周期天数呈正相关(P<0.01,表2)。

表2 影响获卵数的多因素分析

Table 2 Factors influencing ovarian response by multivariate linear regression

	B	SE	Beta	t	P
FSH/LH	-1.492	0.265	-0.167	-5.638	0.000
Age	-0.304	0.054	-0.156	-5.617	0.000
FSH (IU/L)	-0.443	0.100	-0.129	-4.419	0.000
Menstrual cycle	0.141	0.039	0.101	3.633	0.000
E ₂ (pg/mL)	-0.019	0.007	-0.072	-2.614	0.000
Constant	25.378	2.309		10.993	0.006

回归方程为 $\hat{Y}=25.378-1.492X_1-0.304X_2-0.443X_3+0.141X_4-0.019X_5$ (\hat{Y} :获卵数, X_1 :FSH/LH, X_2 :年龄, X_3 :FSH, X_4 :周期, X_5 :E₂)

2.4 影响获卵数的各因素间的相关性

采用线性相关方法,对以上多重线性回归方法分析结果中有统计学意义的因素进行分析。结果显示:女性年龄与月经周期呈负相关关系,女性年龄与基础血清FSH、E₂水平、基础血清FSH/LH呈正相关关系。月经周期与基础血清FSH、E₂水平、基础血清FSH/LH比值呈负相关关系。基础血清FSH水平与基础血清FSH/LH比值呈正相关关系,基础血清FSH水平与基础血清E₂水平呈负相关关系。基础血清FSH/LH与基础血清E₂水平呈负相关关系(表3)。

3 讨论

3.1 基础血清内分泌激素与获卵数的关系

3.1.1 基础血清FSH水平与获卵数的关系 月经周期第2~3天血清卵泡刺激素(基础FSH)水平测定是预测卵巢储备功能的一项常用指标^[1,2],卵巢储备功能下降常伴有卵泡期早期血清FSH水平升高,这是由于下丘脑对卵巢内分泌功能不良的适应性反应—促性腺激素释放激素(GnRH)代偿增高,GnRH作用于垂体引起FSH增高。这些患者在IVF-ET控制性促排卵时,对外源性腺激素反应不良,需要使用的促性腺激素(Gn)数量增加,而发育的卵泡数少,获卵数少及E₂水平低。因此,测定基础FSH可预测卵巢的反应性,当基础FSH \geq 15 IU/L,在COS中大多数为低反应者或无反应者而多数取消周期^[1,2]。Toner等^[4]研究了1478个连续IVF周期的周期第3天FSH水平与IVF-ET妊娠率的关系,认为基础FSH水平可以预测妊娠结局,基础FSH \geq 15 mIU/mL,尤其是 \geq 25 mIU/mL妊娠率明显降低。Bancsi等^[5]报道基础FSH水平升高,妇女IVF的周期取消率显著增加,获卵数减少、妊娠率明显下降。我们的研究也证实了随着基础FSH水

表 3 影响获卵数的各因素间的相关系数与 P 值

Table 3 Correlation coefficients and P value of multy fators influencing ovarian response		(r, P)			
	Age	Menstrual cycle	FSH	FSH/LH	E_2
Age	1, -	-0.141, < 0.01	0.115, < 0.01	0.126, < 0.01	0.138, < 0.01
Menstrual cycle	-0.141, < 0.01	1, -	-0.103, < 0.01	-0.172, < 0.01	-0.061, < 0.05
FSH	0.115, < 0.01	-0.103, < 0.01	1, -	0.349, < 0.01	-0.063, < 0.05
FSH/LH	0.126, < 0.01	-0.172, < 0.01	0.349, < 0.01	1, -	-0.062, < 0.05
E_2	0.138, < 0.01	-0.061, < 0.05	-0.063, < 0.05	-0.062, < 0.05	1, -

平升高,在 COS 中卵巢的反应性下降,获卵数减少。

3.1.2 基础 FSH/LH 与获卵数的关系 月经周期第 2~3 天血清卵泡刺激素/黄体生成素(基础 FSH/LH)是预测卵巢储备功能的又一项指标^[1,2],基础血清 FSH/LH 比值升高提示卵巢储备功能下降。Mukherjee 等^[6]在基础血清 FSH 水平正常(基础血清 FSH < 15 mIU/mL)者行 IVF 的 74 例患者的研究发现,基础血清 FSH/LH 比值 ≥ 3.6 组的妊娠率明显低于基础血清 FSH/LH 比值 < 3.6 组,周期取消率前者比后者高,同时证实在基础血清 FSH 水平正常情况下,基础血清 FSH/LH > 3.6 预测超排卵反应不良的敏感性达 85%、特异性达 95%。Liu^[7]等分析了进行首次 IVF-ET 治疗的卵巢反应情况,共 297 妇女,年龄在 40 岁以下,月经第 3 天血清 FSH 水平 ≤ 10 IU/L,按月经第 3 天血清 FSH/LH < 2(200 例),与血清 FSH/LH ≥ 2 (97 例)比较。血清 FSH/LH ≥ 2 组,应用 Gn 启动量及 Gn 总量较大,但 HCG 日血清 E_2 水平较低,获卵数较少,IVF-ET 周期取消率较高,优质胚胎数及冷冻胚胎数较少。提示月经周期第 2~3 天血清 FSH/LH 比值可反映卵巢储备情况。本研究显示:随着基础血清 FSH/LH 比值升高,COS 后获卵数减少。

3.1.3 基础 E_2 与获卵数的关系 月经周期第 2~3 天血清 E_2 (基础 E_2)水平是卵巢储备的另一项指标^[1,2]。Smotrich 等^[8]报道月经周期第 3 天血清 E_2 水平 > 293.6 pmol/L (80 pg/mL)患者周期取消率高而妊娠率低,当血清 $E_2 \geq 367$ pmol/L (100 pg/mL)时无一例妊娠,Kligman 等^[9]认为基础血清 E_2 值升高是由于卵巢功能下降,卵泡池储备下降,抑制素分泌减少,故黄体晚期血清 FSH 升高导致了过早的卵泡募集,而血清 E_2 升高。本研究显示:基础血清 E_2 水平与获卵数呈负相关($P < 0.01$),其机理可能为:在月经周期的黄体晚期开始下一周期的卵泡募集,当卵巢储备减少时,抑制素分泌减少,首先在黄体晚期出现 FSH 升高,导致了过早的卵泡募集,卵泡期缩短,卵泡主导化的提前,促进颗粒细胞生成 E_2 ,月经周期第 2~3 天血清 E_2 水平升高,部分患者血清 E_2 水平升高负反馈抑制 FSH 而使月经第 2~3 天的血清 FSH 为正常水平,可表现为基础血清 E_2 升高,而基础血清 FSH 在正常范围。随着卵巢储备的进一步减少,颗粒细胞产生的 E_2 水平不足以抑制升高的 FSH 时开始出现基础 FSH 升高。

3.2 年龄与获卵数的关系

Rowe T^[10]认为妇女进入生育年龄后,女性随年龄上

升而呈现生育能力迅速下降的过程,包括卵子的质量,排卵的频率,性功能,子宫的情况及妊娠并发症。女性 35 岁以后卵巢内卵泡的数量急剧下降,卵子染色体异常发生率增加,颗粒细胞对促性腺激素敏感性降低,卵巢的储备能力急剧下降^[11]。IVF-ET 的成功率在 30 岁以后开始逐渐下降,35 岁以后下降更加显著。年龄 ≥ 40 岁进行 IVF-ET 治疗的患者大多数考虑为卵巢反应不良的对象。本研究显示,随着年龄增长,获卵数减少。

3.3 月经周期天数与获卵数的关系

女性的正常月经周期在 28~30 d 左右,随着年龄增长,卵巢功能下降,可发育的窦卵泡数目减少,卵巢分泌的抑制素减少,黄体期卵巢分泌的 E_2 、P 水平减少,对下丘脑-垂体的负反馈减弱,FSH 升高。这一现象在上一月经周期的黄体后期即出现,异常升高的 FSH 提前刺激卵巢内剩余不多的小卵泡的发育,使下一月经周期的卵泡期相对缩短,即表现为月经周期缩短,反映卵巢储备能力的下降,一般情况下,女性随年龄上升而月经周期天数逐渐缩短。本研究显示,患者的月经周期天数与 COS 的获卵数呈正相关关系。但是月经周期天数有很大的个体差异性,因此需要结合其他指标进行评价。

3.4 年龄与月经周期,基础 FSH、 E_2 FSH/LH 之间的关系

随女性年龄增长,卵巢功能下降,在 35 岁后尤为明显,卵巢内剩余的窦卵泡数明显下降,颗粒细胞对促性腺激素的反应性下降,月经周期发育的卵泡数目减少,分泌的 E_2 和抑制素下降,对下丘脑-垂体的负反馈作用减弱,下丘脑分泌 GnRH 增多,刺激垂体分泌更多的 FSH,在卵巢功能下降的早期,血清 FSH 水平上升而 LH 水平变化不大,则血清 FSH/LH 水平上升,可以在 FSH 水平明显上升前反映出卵巢储备功能的下降。在上一月经周期的黄体晚期,增高的 FSH 刺激卵巢内处于募集阶段的窦前卵泡提前发育,相对缩短了下一月经周期的卵泡期,可有一过性的基础血清 E_2 水平上升。本研究结果显示,综合女性年龄、月经周期天数、基础 FSH/LH 比值、基础 FSH 和 E_2 水平可以更好地评价卵巢储备功能及预测卵巢的反应性。

参考文献:

- [1] Maheshwari A, Fowler P, Bhattacharya S. Assessment of ovarian reserve_should we perform tests of ovarian reserve routinely?

- [J]. *Human Reprod*, 2006, 21(11):2729-2735.
- [2] 周灿权, 钟依平. 对超排卵反应不良患者的应对策略[J]. *实用妇产科杂志*, 2005, 21(8):463-466.
- [3] 钟依平, 周灿权, 庄广伦等. 黄体生成素在控制性超排卵中的作用[J]. *中山大学学报:医学科学版*, 2003, 24(2):164-167.
- [4] Toner JP, Philput CB, Jones GS, et al. Basal follicle stimulating hormone level is a better predictor of in-vitro fertilization performance than age [J]. *Fertil Steril*, 1991, 55(5):784-791.
- [5] Bancsi LF, Broekmans FJ, Mol BW, et al. Performance of basal follicle-stimulating hormone in the prediction of poor ovarian response and failure to become pregnant after in vitro fertilization; a meta-analysis [J]. *Fertil Steril*, 2003, 79(5):1091-1100.
- [6] Mukherjee T, Copperman AB, Lapinski R, et al. An elevated day3 FSH:LH in the presence of a normal day 3 FSH predicts a poor response to COH [J]. *Fertil Steril*, 1996, 65(4):588-593.
- [7] Liu KE, Greenblatt EM. Elevated day 3 follicle-stimulating hormone/luteinizing hormone ratio ≥ 2 is associated with higher rates of cancellation in in vitro fertilization-embryo transfer cycles [J]. *Fertil Steril*, 2007, 17:[Epub ahead of print].
- [8] Smotrich DB, Widra EA, Gindoff PR, et al. Prognostic value of day 3 estradiol on in vitro fertilization outcome [J]. *Fertil Steril*, 1995, 64(6):1136-1140.
- [9] Kligman I, Rosenwaks Z. Differentiating clinical profiles: predicting good responders, poor responders, and hyperresponders [J]. *Fertil Steril*, 2001, 76(6):1185-1190.
- [10] Rowe T. Fertility and woman, s age [J]. *Reprod Med*, 2006, 52(3):157-163.
- [11] Bukulmez O and Arici A. Assessment of ovarian reserve [J]. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2004, 16(3):231-237.

(编辑 张恩健)

- (上接第 350 页 from page 350)
- reconstruction in young sheep [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2002, 124(4):798-805.
- [3] Breymann T, Thies WR, Boethig D, et al. Bovine valved venous xenografts for RVOR reconstruction: results after 71 implantations [J]. *Eur J Cardio-thorac Surg*, 2002, 21(4):703-710.
- [4] Boudjemline Y, Bonnet D, Massih TA, et al. Use of bovine jugular vein to reconstruct the right ventricular outflow tract: early results [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2003, 126(2):490-497.
- [5] Göber V, Berdat P, Pavlovic M, et al. Adverse mid-term outcome following RVOT reconstruction using the Contegra valved bovine jugular vein [J]. *Ann Thorac Surg*, 2005, 79(2):625-631.
- [6] Meyns B, Van Garsse L, Boshoff D, et al. The Contegra conduit in the right ventricular outflow tract induces supra-valvular stenosis [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2004, 128(6):834-840.
- [7] Schaner PJ, Martin ND, Tulenko TN, et al. Decellularized vein as a potential scaffold for vascular tissue engineering [J]. *J Vasc Surg*, 2004, 40(1):146-153.
- [8] Martin ND, Schaner PJ, Tulenko TN, et al. In vivo behavior of decellularized vein allograft [J]. *J Surg Res*, 2005, 129(1):17-23.
- [9] Conklin BS, Richter ER, Kreutziger KL, et al. Development and evaluation of a novel decellularized vascular xenograft [J]. *Med Eng Phys*, 2002, 24(3):173-183.
- [10] 韩雪峰, 杨大平, 郭铁芳. 曲拉通 X-100 对制备脱细胞血管基质影响的实验研究 [J]. *中华外科杂志*, 2002, 40(1):27-29.
- [11] 吕卫东, 吴忠仕, 胡铁辉, 等. 去细胞处理对牛颈静脉带瓣管道细胞外基质骨架的影响 [J]. *中南大学学报:医学版*, 2007, 32(5):819-823.
- [12] 陈欣欣, 张镜方, 曹勇, 等. 体外定向诱导人骨髓间质干细胞分化为内皮样细胞 [J]. *中山大学学报:医学科学版*, 2006, 27(3S):124-127.
- [13] Samouillan V, Dandurand-Lods J, Lamure A, et al. Thermal analysis characterization of aortic tissues for cardiac valve prostheses [J]. *J Biomed Mater Res*, 1999, 46(4):531-538.
- [14] Kasimir MT, Rieder E, Seebacher G, et al. Comparison of different decellularization procedures of porcine heart valves [J]. *Int J Artificial Organs*, 2003, 26(5):421-427.
- [15] Teebken OE, Bader A, Steinhoff G, et al. Tissue engineering of vascular grafts: human cell seeding of decellularized porcine matrix [J]. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 2000, 19(4):381-386.
- [16] Ozeki M, Narita Y, Kagami H, et al. Evaluation of decellularized esophagus as a scaffold for cultured esophageal epithelial cells [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2006, 79(4):771-778.

(编辑 徐杰)