

# 累计妊娠率相关因素的探讨与分析

胡艳秋 余宏 董乃俊

**【摘要】** 目的 探讨累计妊娠率的相关因素。方法 选取本生殖中心 2010 年 11 月至 2013 年 6 月完成一次取卵周期的患者为研究对象, 比较年龄、获 MII 卵比率、受精率、正常受精率、囊胚形成率和可移植胚胎率与累计临床妊娠率的相关性, 并对相关因素进行深入探讨。结果 年龄、囊胚生成率和可移植胚胎率与累计临床妊娠率相关。其中, 30 岁以下组累计妊娠率明显高于 30 岁以上组(卡方检验  $P < 0.05$ )。有囊胚生成组累计妊娠率显著高于无囊胚生成组(卡方检验  $P < 0.05$ )。可移植胚胎率(ETR)  $> 75\%$  组累计妊娠率高于  $50\% < \text{ETR} \leq 75\%$  组, 更高于  $\text{ETR} \leq 50\%$  组, 各组间妊娠结局均有差异(卡方检验  $P < 0.05$ )。结论 年龄、囊胚生成率和可移植胚胎率与累计妊娠率相关。30 岁以下具有较高的临床妊娠率; 非优质胚胎囊胚培养在预测累计妊娠率上有一定价值; 可移植胚胎率在一次性取卵周期累计妊娠率中有强提示作用。

**【关键词】** 妊娠率; 年龄因素; 囊胚; 可移植胚胎率

**The discussion on the cumulative pregnancy rate related factors** HU Yan-qiu, SHE Hong, DONG Nai-jun. Reproductive Medicine Center, Northern Jiangsu People's Hospital, Yangzhou 225001, China  
Corresponding author: HU Yan-qiu, Email: yanqiu@yaho.com

**【Abstract】 Objective** To explore IVF productivity rate(or cumulative pregnancy rate per collection cycle) correlated factors. **Methods** Patients completed an oocyte retrieval cycle in our reproductive medicine center from November, 2010 to June, 2013 were chose as the study objects. The correlation between age, MII oocyte ratio, fertilization rate, normal fertilization rate, blastocyst formation rate(BFR), embryo transfer rate(ETR) and productivity rate were analyzed. And the relevant factors were explored further. **Results** Age, BFR and ETR were related with productivity rate. Productivity rate of less than 30 years old group was higher than more than 30 years old group(chi-square test,  $P < 0.05$ ). Productivity rate of blastocyst formed group was higher than no blastocyst formed group(chi-square test,  $P < 0.05$ ). The pregnancy outcome among  $\text{ETR} > 75\%$  group,  $50\% < \text{ETR} \leq 75\%$  group and  $\text{ETR} \leq 50\%$  group were different(chi-square test,  $P < 0.05$ ). **Conclusions** Age, blastocyst formation rate and embryo transfer rate were correlated with productivity rate. Less than 30 years had higher clinical pregnancy rate. Blastocyst culture of poor quality embryo has certain value in the prediction of productivity rate. Embryos transfer rate has strong implications in prediction of productivity rate.

**【Key words】** Pregnancy rate; Age factors; Blastula; Embryo transfer rate

1978 年世界第一个试管婴儿诞生以来, 体外受精-胚胎移植(IVF-ET)技术已被广泛用于治疗多种原因引起的不孕症。IVF-ET 中, 妊娠率受多方面因素的影响<sup>[1-2]</sup>。随着玻璃化冻融解冻技术的发展和成熟, 冷冻胚胎解冻临床妊娠率也得到较大的提高, 一次取卵可进行多个周期的胚胎移植, 累计妊娠率有了较大的提高<sup>[3]</sup>, 同时减轻了患者因反复促排取卵的花费及痛苦。本文回顾性分析了我中心 2010 年 11 月至 2013 年 6 月完成一次取卵周期的 197 例患者临床结局, 分析了年

龄、获卵 MII 比率、受精率、正常受精率、囊胚形成率和可移植胚胎率等实验室相关因素与累计临床妊娠率的相关性, 为累计临床妊娠率预测的临床应用提供依据。

## 资料与方法

### 一、资料来源

以我院生殖医学中心 2010 年 11 月至 2013 年 6 月完成一次取卵周期胚胎移植的患者为研究对象, 患者年龄 21~43 岁, 平均年龄(29.72±4.26)岁, 共 197 个取卵周期。

### 二、新鲜周期过程

前次月经周期第 21 天或黄体中期开始使用达必佳(丹麦辉凌公司)0.1 mg/d, D3 开始肌注 Gn[rFSH 果纳

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2013.22.057

基金项目: 国家自然科学基金(81000272); 江苏省“333 人才工程”; 扬州市医学重点人才基金

作者单位: 225001 江苏扬州, 苏北人民医院生殖医学中心

通讯作者: 胡艳秋, Email: yanqiu@yaho.com

芬(默克雪莱诺公司)75 IU/支和(或)HMG 尿促性腺激素(丽珠公司)75 IU/支]150~300 IU/d。同时,达必佳减量为每日0.05 mg 直至注射人绒毛膜促性腺激素(HCG)日。当有2个卵泡平均直径大于18 mm 或4个卵泡平均直径大于16 mm,测定雌激素水平,停用Gn,并于当晚肌注HCG 8000~100 00 IU。36 h 后在阴道超声引导下经阴道穿刺取卵,记录获卵数。所获卵子在37℃、6% CO<sub>2</sub>培养箱培养,根据男方精液情况采用IVF或卵胞浆内单精子显微注射(ICSI),授精后1 d 观察原核形成情况,其后进行胚胎观察评分。胚胎培养3~5 d 进行新鲜胚胎移植,经患者知情同意后将剩余的可移植胚胎进行玻璃化冷冻保存。

### 三、胚胎评分标准

1. 卵裂期胚胎:根据第3天胚胎形态和碎片多少将胚胎分为4级:I级:卵裂球大小均匀,胞质无异常,碎片<5%;II级:卵裂球大小均匀或不均匀,碎片<20%;III级:碎片20%~50%;IV级:碎片>50%;可移植胚胎包括I级、II级和III级胚胎。

2. 囊胚评级:囊胚根据Gardner 囊胚分级系统评分<sup>[4]</sup>,囊胚腔分期:1:囊胚腔<胚胎总体积的1/2;2:囊胚腔>胚胎总体积的1/2;3:囊胚腔完全占据了胚胎的总体积;4:囊胚腔充满胚胎,胚胎的总体积变大,透明带变薄;5:囊胚的一部分从透明带中逸出;6:囊胚全部从透明带中逸出。内细胞团分级:A:细胞数目多,排列紧密;B:细胞数目少,排列松散;C:细胞数目很少。滋养层细胞分级:A:上皮细胞层由较多的细胞组成,结构致密;B:上皮细胞层由不多的细胞组成,结构松散;C:上皮细胞层由稀疏的细胞组成。≥4BB 囊胚为可移植胚胎。

### 四、胚胎玻璃化冷冻及解冻

冷冻卵裂期I级、II级胚胎,如果少于6枚,冷冻较好的III级胚胎补足6枚。其余III级、IV级胚胎进行囊胚培养。根据胚胎的质量,每根冷冻载杆冷冻1~3枚I~III级d3 卵裂期胚胎或1~2枚囊胚。

1. 胚胎玻璃化冷冻:胚胎冷冻采用玻璃化冷冻试剂盒(KITAZATO@ Vitrification KIT, KITAZATO, 日本),将冷冻液ES和VS在室温(23℃)下平衡30 min。将胚胎放入ES中,胚胎会出现皱缩再恢复(卵裂期胚胎约5 min,囊胚约8~10 min),吸出胚胎放入VS中(约30 s),将胚胎放在载体Cryotop上(尽量少残留液体),将Cryotop迅速插入液氮中,使胚胎迅速降温,冷冻胚胎于液氮罐中保存。囊胚期胚胎冷冻前行人工皱缩。

2. 胚胎玻璃化解冻:玻璃化冷冻胚胎解冻采用玻璃化解冻试剂盒(KITAZATO@ Vitrification Thaw

KIT, KITAZATO, 日本),使用前,TS 37℃平衡,DS、WS1和WS2 室温下(23℃)平衡30 min。将载体Cryotop从液氮中取出,迅速将前端浸入TS中,胚胎从载体上脱落,1 min后依次移入DS、WS1、WS2液各3 min后,移入囊胚培养液中,观察胚胎卵裂球增殖情况,置于37℃、6% CO<sub>2</sub>培养箱中培养(卵裂期胚胎培养20~24 h,囊胚培养2 h)。胚胎移植前行激光辅助孵出(laser-assisted hatching)。

### 五、冷冻胚胎解冻移植的患者子宫内膜的准备

根据患者的卵巢功能、既往内膜情况及依从性选择内膜准备的方案,分为自然周期法和人工周期法。自然周期法:既往月经规则有排卵者,于月经第8~10天开始超声监测卵泡发育,以确定排卵日期,排卵后3~5 d且内膜厚度≥8 mm行胚胎移植;人工周期法:对于月经周期不规则、无明显排卵者,或既往内膜薄,需要大剂量外源性雌激素刺激内膜生长,于月经第3天开始口服戊酸雌二醇(补佳乐,德国先灵有限公司),阴道超声监测,当子宫内膜≥8 mm时肌注黄体酮(通用药业,上海)使内膜转化为分泌期,3~5 d后行胚胎移植,继续给予黄体酮及戊酸雌二醇。移植14 d后患者测血β-hCG,移植5周后超声见孕囊及胎心搏动为临床妊娠。

鲜胚或冻胚移植妊娠视为本次取卵周期妊娠,一次取卵所获可移植胚胎全部移植均未获妊娠视为本次取卵周期未妊娠。

### 六、统计学分析

使用SPSS 16.0统计软件。计量资料采用 $t$ 检验,计数资料采用 $\chi^2$ 检验, $P<0.05$ 被认为有统计学意义。

## 结 果

一、197个取卵周期患者年龄、MII 卵子比率、受精率、正常受精率、囊胚形成率和可移植胚胎率与累计临床妊娠率的比较

妊娠组139个周期,未妊娠组58个周期。患者年龄、囊胚形成率和可移植胚胎率两组间有显著差异; MII 卵子比率、受精率、正常受精率两组间比较没有统计学差异( $P>0.05$ ) (表1)。

二、不同年龄组患者获得 MII 卵子数、 MII 卵子比率、受精率、正常受精率、囊胚形成率、可移植胚胎率、累计临床妊娠率、多胎率和流产率的比较

年龄≤30岁组107个周期,年龄>30岁组90个周期。获得 MII 卵子数、累计临床妊娠率两组间有显著差异; MII 卵子比率、受精率、正常受精率、可移植胚胎率、多胎率和流产率两组间比较没有统计学差异( $P\geq 0.05$ ) (表2)。

表1 妊娠组与未妊娠组患者情况的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	取卵周期数	患者平均年龄(岁) <sup>a</sup>	M II 卵子比率(%)	受精率(%)	正常受精率(%)	囊胚形成率(%) <sup>b</sup>	可移植胚胎率(%) <sup>c</sup>
妊娠组	139	29.08±3.90	86.24±14.03	84.73±18.30	73.59±19.75	27.00±29.88	70.76±20.88
未妊娠组	58	31.24±4.70	82.42±14.49	85.68±18.69	70.69±22.07	14.68±26.27	50.58±22.05

注: <sup>a</sup>P=0.001, <sup>b</sup>P=0.007, <sup>c</sup>P=6.3×10<sup>-9</sup>

表2 不同年龄组患者情况的比较

组别	患者平均年龄(岁, $\bar{x} \pm s$ )	M II 卵子数( $\bar{x} \pm s$ ) <sup>a</sup>	受精率(%, $\bar{x} \pm s$ )	正常受精率(%, $\bar{x} \pm s$ )	囊胚形成率(%, $\bar{x} \pm s$ )	可移植胚胎率(%, $\bar{x} \pm s$ )	累计临床妊娠率(%) <sup>b</sup>	多胎率(%)	流产率(%)
≤30岁组	26.55±2.38	14.19±5.78	84.33±17.54	72.66±17.27	22.40±28.31	66.32±23.03	81.31(87/107)	26.83(22/82)	6.10(5/82)
>30岁组	33.48±2.60	12.00±6.30	85.82±19.39	72.83±23.78	24.53±30.65	63.03±23.17	57.78(52/90)	9.80(5/51)	13.73(7/51)

注: <sup>a</sup>P=0.012, <sup>b</sup>P<0.05

表3 有、无囊胚形成组患者情况的比较

组别	囊胚形成率(%, $\bar{x} \pm s$ )	年龄(岁, $\bar{x} \pm s$ )	M II 卵子比率(%, $\bar{x} \pm s$ )	受精率(%, $\bar{x} \pm s$ )	正常受精率(%, $\bar{x} \pm s$ )	可移植胚胎率(%, $\bar{x} \pm s$ ) <sup>a</sup>	累计临床妊娠率(%) <sup>a</sup>	多胎率(%)	流产率(%)
有囊胚形成组	46.04±25.51	29.68±3.89	86.55±12.92	84.98±19.91	71.54±22.29	72.80±21.25	80.00(80/100)	16.46(13/79)	8.86(7/79)
无囊胚形成组	0	29.75±4.63	83.64±15.41	85.04±16.75	73.97±18.39	56.59±22.10	60.82(59/97)	25.93(14/54)	9.26(5/54)

注: <sup>a</sup>P<0.05

表4 不同可移植胚胎率组患者情况的比较

组别	可移植胚胎率(%, $\bar{x} \pm s$ )	年龄(岁, $\bar{x} \pm s$ )	M II 卵子比率(%, $\bar{x} \pm s$ )	受精率(%, $\bar{x} \pm s$ )	囊胚形成率(%, $\bar{x} \pm s$ ) <sup>a</sup>	累计临床妊娠率(%) <sup>a</sup>	多胎率(%)	流产率(%)
ETR≤50%组	36.25±11.56	30.72±4.92	82.68±16.27	83.74±19.36	10.94±21.45	45.00(27/60)	25.00(6/24)	8.33(2/24)
50%<ETR≤75%组	64.60±6.34	29.43±4.11	84.32±12.97	88.45±16.34	20.07±26.19	68.25(43/63)	7.5(3/40)	12.50(5/40)
ETR>75%组	88.16±8.19	29.15±3.67	87.77±13.22	83.11±19.02	36.26±32.45	90.79(69/76)	26.09(18/69)	5.80(4/69)

注: <sup>a</sup>P<0.05

三、有囊胚形成组与无囊胚形成组患者年龄、M II 卵子比率、受精率、正常受精率、可移植胚胎率、累计临床妊娠率、多胎率和流产率的比较

有囊胚形成组 100 个周期, 无囊胚形成组 97 个周期。可移植胚胎率和累计临床妊娠率两组间有显著差异; 年龄、M II 卵子比率、受精率、正常受精率、流产率和多胎率两组间比较没有统计学差异 ( $P>0.05$ ) (表 3)。

四、不同可移植胚胎率组患者年龄、M II 卵子比率、受精率、囊胚形成率、累计临床妊娠率、多胎率和流产率的比较

可移植胚胎率≤50%组 60 个周期, 50%<可移植胚胎率≤75%组 63 个周期, 可移植胚胎率>75%组 76 个周期。囊胚形成率和累计临床妊娠率三组间有显著差异; 年龄、M II 卵子比率、受精率、正常受精率、流产率和多胎率两组间比较没有统计学差异 ( $P>0.05$ ) (表 4)。

## 讨 论

每个取卵周期的“累计”妊娠率是移植完一次取

卵所得的所有胚胎(新鲜胚胎加冻存胚胎)后, 能达到临床妊娠的总机会率。本研究对我中心 197 例患者一次取卵周期临床累计妊娠结局进行分析, 总体累计临床妊娠率为 70.6%。分析妊娠组与未妊娠组年龄、获卵 M II 比率、受精率、正常受精率、囊胚形成率和可移植胚胎率等实验室相关因素与临床妊娠率的相关性。妊娠组患者年龄(29.08±3.90)岁, 显著低于未妊娠组(31.24±4.70)岁( $P=0.001$ ); 妊娠组患者囊胚形成率(27.00±29.88)%, 高于未妊娠组(14.68±26.27)%( $P=0.007$ ); 此外, 妊娠组患者可移植胚胎率(70.76±20.88)%, 高于未妊娠组(50.58±22.05)%( $P=6.3 \times 10^{-9}$ ); 妊娠组与未妊娠组 M II 卵子比率、受精率、正常受精率没有统计学差异。

已经有诸多的中外文献报道女性年龄与 IVF-ET 周期妊娠率的关系<sup>[4-5]</sup>。26~30 岁妊娠率基本保持恒定, 大于 30 岁呈明显下降趋势, 而大于 40 岁的妊娠率只有 8.9%, 认为年龄是影响妊娠率的独立因子。我们的研究分析了本中心进行 IVF-ET 的资料。得到与文献报道一致的结论, 即≥30 岁年龄段患者较<

30岁患者,其临床妊娠率降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),实际上这种妊娠率的变化与生育年龄妇女的妊娠率在30岁以后出现稳定下降的曲线是吻合的。对于年龄对妊娠的负面影响,几乎所有的研究都认为这是由于高龄妇女卵巢功能的下降导致卵子的质量下降<sup>[6]</sup>;子宫内膜容受性下降<sup>[7]</sup>;卵子数目减少<sup>[8]</sup>。随着年龄的增加,卵巢的储备明显的降低,获卵数,可移植的胚胎数也减少,从而间接降低临床妊娠率。本研究中年龄作为独立因素,通过减少获得MII卵数量,降低临床妊娠率,但不影响受精率、囊胚形成率。

本研究将D3移植和冷冻后剩余的相对较差的III、IV级卵裂期胚胎进行囊胚培养,发现平均囊胚形成率为22.53%,并且有囊胚形成组的累计妊娠率明显高于无囊胚形成组。说明通过囊胚培养筛选出非优质胚胎中有发育潜能的胚胎并冷冻保存,是提高患者每个治疗周期可用胚胎数的可行方法。非优质胚胎的囊胚形成情况可以间接预测妊娠与否。以往研究也表明,非优质胚胎形成囊胚对于妊娠的预测有积极的作用<sup>[9]</sup>。胚胎的质量和囊胚的形成密切相关。Hardy等<sup>[10-11]</sup>研究表明,随着胚胎碎片的增多,囊胚形成率降低。Neuber等<sup>[12]</sup>研究表明,第3天卵裂球数目超过7个的优质胚胎更容易发育成优质囊胚。囊胚形成率与卵裂速度成正比,卵裂速度较快的胚胎更容易形成优质囊胚<sup>[13]</sup>。相对较差的III、IV级胚胎中有囊胚形成,提示本次取卵周期所获胚胎发育潜能较优,这也与我们资料中可移植胚胎率较高情况相一致。充分说明了胚胎质量是妊娠与否的重要影响因素,早期胚胎能否逾越8细胞阻滞期发育到囊胚,直接预示着其随后的种植能力,这也提示我们若患者当周期非优质胚胎囊胚形成情况良好,在妊娠失败因素分析时,可侧重于患者内膜准备状态等胚胎植入环境方面。另外,非优质胚胎囊胚形成情况监测可作为实验室质控的一个常规项目,其对人类胚胎体外培养系统稳定性的衡量更为直接和准确。

此外,以往文献中<sup>[14-15]</sup>多以一次移植中的胚胎级别和数量与单次移植临床妊娠率间的关系进行研究,不便于对累计妊娠率的比较。本研究中选用可移植胚胎率,作为一次取卵周期所获胚胎质量的指标。文中可移植胚胎定义为D3 I~III级胚胎与D5, D6 4BB级以上囊胚之和占2PN卵裂胚胎的比例。我们的资料显示可移植胚胎率越高组的患者,其囊胚形成率越高,获得的累计妊娠率越高,三组间均具有显著差异( $P < 0.01$ )。一次取卵周期的可移植胚胎率高,表示此周期的胚胎质量普遍较高,因此由这种非优质卵裂

期胚胎进行囊胚培养获得囊胚的概率必然高于可移植胚胎率低组,获得临床妊娠的可能性也相应提高。由此可见,可移植胚胎率与一次取卵周期累计妊娠率密切相关。

通过我们的研究发现:年龄、囊胚生成和可移植胚胎率与累计妊娠率相关。30岁以下具有较高的临床妊娠率;非优质胚胎囊胚培养在预测累计妊娠率有一定价值;可移植胚胎率在取卵周期累计妊娠率中有强提示作用。

#### 参 考 文 献

- [1] Ghobara T, Vandekerckhove P. Cycle regimens for frozen-thawed embryo transfer. *Cochrane Database Syst Rev*, 2008, 23: CD003414.
- [2] Kang SM, Lee SW, Jeong HJ, et al. Comparison of elective single cleavage-embryo transfer to elective single blastocyst-embryo transfer in human IVF-ET. *Clin Exp Reprod Med*, 2011, 38: 53-60.
- [3] Stanger JD, Yovich JL. Follicle recruitment determines IVF productivity rate via the number of embryos frozen and subsequent transfers. *Reprod Biomed Online*, 2013, 27: 286-296.
- [4] Wang YA, Healy D, Black D, et al. Age-specific success rate for women undertaking their first assisted reproduction technology treatment using their own oocytes in Australia, 2002-2005. *Hum Reprod*, 2008, 23: 1633-1638.
- [5] 朱桂金, 靳雷, 章汉旺, 等. 体外受精-胚胎移植 1807 周期临床分析. *生殖医学杂志*, 2004, 13: 25-28.
- [6] Vialard F, Lombroso R, Bergere M, et al. Oocyte aneuploidy mechanisms are different in two situations of increased chromosomal risk: older patients and patients with recurrent implantation failure after in vitro fertilization. *Fertil Steril*, 2007, 87: 1333-1339.
- [7] Soares SR, Troncoso C, Bosch E, et al. Age and uterine receptiveness: predicting the outcome of oocyte donation cycles. *J Clin Endocrinol Metab*, 2005, 90: 4399-4404.
- [8] Faddy MJ. Follicle dynamics during ovarian ageing. *Mol Cell Endocrinol*, 2000, 163: 43-48.
- [9] 梁菊艳, 王芳, 孙莹璞, 等. 废弃胚胎继续囊胚培养研究. *生殖与避孕*, 2008, 28: 598-601.
- [10] Hardy K, Stark J, Winston RM. Maintenance of the inner cell mass in human blastocysts from fragmented embryos. *Biol Reprod*, 2003, 68: 1165-1169.
- [11] Johansson M, Hardarson T, Lundin K. There is a cutoff limit in diameter between a blastomere and a small anucleate fragment. *J Assist Reprod Genet*, 2003, 20: 309-313.
- [12] Neuber E, Mahutte NG, Arici A, et al. Sequential embryo assessment outperforms investigator-driven morphological assessment at selecting a good quality blastocyst. *Fertil Steril*, 2006, 85: 794-796.
- [13] Thomas MR, Sparks AE, Ryan GL, et al. Clinical predictors of human blastocyst formation and pregnancy after extended embryo culture and transfer. *Fertil Steril*, 2010, 94: 543-548.
- [14] Van Montfoort AP, Dumoulin JC, Kester AD, et al. Early cleavage is a valuable addition to existing embryo selection parameters: a study using single embryo transfers. *Hum Reprod*, 2004, 19: 2103-2108.
- [15] 印惠荣, 钱晓乔, 蔡令波, 等. 单胚胎移植周期中胚胎质量及妊娠率分析. *山东医药*, 2009, 45: 28-30.

(收稿日期: 2013-09-26)

(本文编辑: 戚红丹)