

根据卵泡输出率评估 IVF 中卵巢的反应性及结局

邢 俊, 王俊霞, 王 玢, 孙海翔*

(南京大学医学院附属鼓楼医院生殖医学中心, 江苏 南京 210008)

[摘要] 目的:研究在体外受精-胚胎移植(IVF-ET)中,卵泡输出率(follicular output rate,FORT)对卵巢反应性的评估能力及对妊娠结局的预测能力。方法:共研究 3 292 例控制性超排卵患者,每位患者均以外源性重组卵泡刺激素(recombinant follicle stimulating hormone,rFSH) 225 iu 启动。根据 FORT 值将其分为低、中、高 3 组。回顾性研究了 3 组间控制性超排卵数据及实验室指标。结果:窦卵泡数(antral follicle count,AFC)在高 FORT 组最低,在低 FORT 组最高。排卵前卵泡数(preovulatory follicle count,PFC)及注射人体绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotrophin,HCG)日当天雌二醇(estradiol,E2)在高 FORT 组中最高,在低 FORT 组中最低。获卵数、总胚胎数、优质胚胎数在低、中、高 3 组间逐步升高,差异有统计学意义。而胚胎种植率及临床妊娠率在 3 组间亦有统计学差异,在高 FORT 组中最高。结论:FORT 是研究卵巢反应性的有力工具,高 FORT 组将具有更好的妊娠结局。

[关键词] 卵泡输出率;卵巢反应性;控制性超排卵;窦卵泡;体外受精-胚胎移植

[中图分类号] R321.3

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2014)02-174-05

doi:10.7655/NYDXBNS20140210

Assessing the reactivity of ovary and its outcome in IVF based on follicular output rate

Xin Jun, Wang Junxia, Wang Bin, Sun Haixiang*

(Reproductive Medicine Centre, Nanjing Drum Tower Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing 210008, China)

[Abstract] **Objective:**To evaluate the activity of FORT on assessing ovarian response and predicting pregnancy outcome by FORT in IVF-ET. **Methods:**Three thousand and two hundred and eighty-two patients of controlled ovarian stimulation,divided into low, medium and high groups based on FORT,were investigated and each activated by rFSH 225 U. The controlled ovarian stimulation data of these patients and their laboratory index were analyzed. **Results:**Antral follicle count (AFC) is the lowest in the high FORT group and the highest in the low FORT group,preovulatory follicle count (PFC),as well as E2 with injection of HCG in the same day,are the highest in the high FORT group and the lowest in the low FORT group. The number of retrieved oocytes,the total number of embryos and the number of high quality embryos escalate increased consistently with the FORT in these group,and the differences were significant among group amparison comparison. Meanwhile,the embryo implantation rate and the clinical pregnancy rate also differ statistically in these groups and reach to the highest level in the high FORT group. **Conduction:**FORT is an important tool to study the reactivity of ovary. The high FORT group has better pregnancy outcome.

[Key words] follicular output rate;ovarian response;controlled ovarian stimulation;antral follicle;IVF-ET

[Acta Univ Med Nanjing, 2014, 34(02): 174-178]

卵泡输出率(FORT)为 B 超监测下人体绒毛膜促性腺激素(HCG)日 16~22 mm 排卵前卵泡数

(PFC)与自然月经周期第 3 天 3~8 mm 窦卵泡数(AFC)的比值,也即 $FORT = (16 \sim 22 \text{ mm})PFC \times 100 / (3 \sim 8 \text{ mm})AFC$ 。最新的观点认为,FORT 是研究卵巢反应性的有力工具。在月经周期规律的患者中,FORT 可以作为体外受精(IVF)结局的预测指标^[1-4]。但是,迄今为止,所有关于 FORT 的研究或者不区分启动剂量^[3-4],或者采用大剂量的重组卵泡刺激素

[基金项目] 国家自然科学基金青年基金(81200127);南京市医学科技发展项目(QYK10149);南京市卫生青年人才培养工程

*通信作者(Corresponding author),E-mail:stevensunz@163.com

(rFSH)启动^[1-2]。已知卵巢反应性与启动剂量密切相关。过高或过低的促性腺激素(gonadotropin, Gn)启动剂量均不能真实、全面地反映卵巢的反应性。并且,相同的启动剂量组才更具有可比性。因此,研究在统一的适量Gn启动下,FORT与卵巢反应性及妊娠结局的关系就显得十分必要。

1 对象和方法

1.1 对象

收集2007年1月~2011年12月在本院生殖医学中心实施体外受精-胚胎移植(IVF-ET)助孕治疗的3292例患者。病例纳入标准:本次IVF周期为第1周期;年龄23~43岁;月经周期25~35d;基础卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)<12 mIU/ml,雌二醇E2<80 pg/ml;经阴道B超证实双侧卵巢完整且无形态学异常;宫腔形态正常,无粘连、瘢痕;垂体降调节后AFC>4个。排除标准:近半年有盆腹腔手术史、放疗或化疗等明显损害卵巢功能因素者;既往或现在患有影响Gn或性激素分泌及代谢疾病者;临床或生化学检查诊断为多囊卵巢综合征者;子宫内异位症或子宫腺肌症患者;HCG日子宫内膜厚度<7 mm、E2≤200 pg/ml。

1.2 方法

1.2.1 促排卵方案

所有垂体降调节均应用长方案:促性腺激素释放激素激动剂(gonadotrophin releasing hormone analogue, GnRH-a)(Ferring公司,德国)/rFSH(Serono公司,瑞士)和HMG(珠海丽珠制药公司),并用HCG(Serono公司,瑞士)进行促排卵。当≥2个卵泡直径达18 mm时,注射HCG 5 000~10 000 U。HCG注射后34~36 h,超声引导下经阴道穿刺取卵。

1.2.2 受精、卵裂观察及妊娠诊断

取卵后4~6 h行IVF,16~20 h后观察受精状况。取卵后3 d(受精后64~68 h),由同1位胚胎学专家按胚胎细胞数、无核碎片量和有核卵裂球评估胚胎质量。选择移植胚胎的标准:≥6个卵裂球、碎片量≤20%、无核卵裂球。取卵日开始给予黄体酮或HCG支持黄体。胚胎移植2周后,检验晨尿HCG,阳性为生化妊娠,4周后B超观察,见妊娠囊和胎心搏动为临床妊娠。

1.2.3 AFC以及成熟卵泡的计数

采用Aloka阴道B超检测,测量自然月经周期第3日的AFC(直径3~8 mm)。统计HCG注射日直径≥14 mm的成熟卵泡数,所有卵泡测量均由有经

验的专门医生进行。FORT=(14~22 mm)PFC×100/(3~8 mm)AFC。

1.3 统计学方法

计量指标经正态性检验后采用均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组之间比较采用两个独立样本 t 检验,多组之间比较采用单因素方差分析(F 检验);率的比较采用 χ^2 检验;采用Spearman相关检验分析FORT与各因素的相关性。所有统计分析均使用SPSS13.0进行, $P \leq 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 妊娠组与非妊娠组的FORT、临床特征及妊娠结局比较

分别统计比较妊娠组与非妊娠组的临床数据与实验室数据(表1),FORT在妊娠组(2324个周期)与非妊娠组(968个周期)中结果无统计学差异。此外,不孕时间、体质指数(BMI)、基础FSH、基础FSH/基础黄体生成素(luteinizing hormone, LH)、基础E2、AFC、Gn总量、Gn天数、HCG日E2、PFC在两组间也无统计学差异。而获卵数[(11.6±3.9)个和(11.0±3.8)个, $P=0.033$]、总胚胎数[(10.2±4.0)个和(9.4±3.9)个, $P=0.013$]、优质胚胎数[(5.4±2.9)个和(4.5±2.8)个, $P<0.001$]在妊娠组中显著高于非妊娠组。

2.2 低、中、高FORT组促排卵周期资料比较

如表2所示,根据FORT将3292例分为3组:低于33%百分位数(<0.75,低FORT组; $n=1148$),33%~67%百分位数(0.75~0.95,中FORT组; $n=876$),高于33%百分位数(>0.95,高FORT组; $n=1268$)。比较3组间的促排卵周期资料,发现3组的年龄、不孕时间、BMI、基础FSH、基础FSH/基础LH、基础E2间无统计学差异。而AFC[(14.6±2.7)个、(14.2±2.7)个、(12.8±2.5)个; $P<0.001$]在高FORT组最低,在低FORT组最高。PFC[(8.5±2.3)个、(12.3±2.5)个、(15.3±3.3)个; $P<0.001$]及注射HCG日E2[(3698±1602)pg/ml、(4993±1910)pg/ml、(5702±2137)pg/ml; $P<0.001$]在高FORT组中最高,在低FORT组中最低,与既往报道一致^[1-4]。

2.3 低、中、高FORT组实验室资料比较

如表3所示,获卵数[(8.8±3.1)个、(11.4±3.0)个、(13.9±3.6)个; $P<0.001$]、总胚胎数[(7.4±3.0)个、(9.6±3.0)个、(12.4±3.9)个; $P<0.001$]、优质胚胎数[(4.0±2.3)个、(5.2±2.8)个、(6.0±3.1)个; $P<$

表1 妊娠组与非妊娠组的病例特征、促排卵数据及妊娠结局
Table 1 Characteristics, ovarian stimulation data and IVF outcomes of patients according to pregnancy

指标	妊娠组	非妊娠组	P 值
n	2 324	968	
女方年龄(岁)	30.3 ± 3.0	30.9 ± 3.1	NS
不孕时间(年)	4.2 ± 2.8	4.6 ± 3.0	NS
BMI(kg/m ²)	21.8 ± 2.6	21.8 ± 2.9	NS
基础FSH(miu/ml)	6.2 ± 1.5	6.4 ± 1.4	NS
基础FSH/基础LH	2.5 ± 1.2	2.6 ± 1.1	NS
基础E2(pg/ml)	43.0 ± 13.0	43.6 ± 13.3	NS
AFC(个)	13.8 ± 2.7	13.6 ± 2.7	NS
Gn总量(ampoule)	25.5 ± 5.9	25.8 ± 5.2	NS
Gn天数(d)	9.8 ± 1.4	9.9 ± 1.2	NS
注射HCG日E2(pg/ml)	4 794 ± 2 112	4 855 ± 1 994	NS
PFC(个)	12.3 ± 4.1	11.7 ± 3.8	NS
FORT(个)	91.7 ± 32.2	88.2 ± 30.0	NS
取卵数(个)	11.6 ± 3.9	11.0 ± 3.8	0.033
总胚胎数(个)	10.2 ± 4.0	9.4 ± 3.9	0.013
受精率(%)	87.1 ± 15.2	83.9 ± 17.6	0.034
ET数(个)	1.99 ± 0.08	1.96 ± 0.19	0.016
优质胚胎数(个)	5.4 ± 2.9	4.5 ± 2.8	<0.001
优质胚胎率(%)	53.6 ± 22.0	48.0 ± 23.3	0.004

0.001]在低、中、高3组间逐步升高,差异有统计学意义。并且,胚胎种植率及临床妊娠率在3组间有统计学差异,在高FORT组中最高。

2.4 FORT的影响因子

如表4所示,对可能影响FORT的多个因素行单因素Spearman相关性分析,结果显示:FORT与女方年龄、基础FSH、第3天E2、AFC不存在显著相关性。FORT与Gn总量有显著相关性($P < 0.001$), Spearman相关系数-0.200。FORT与Gn天数有显著相关性($P = 0.019$), Spearman相关系数0.082。

3 讨论

在辅助生殖中,促排卵是其中关键环节,利用外源性的促性腺素可以提高卵泡的募集及卵子的产出。如何准确预测患者的卵巢反应性是IVF-ET治疗中极为重要的环节。虽然单个卵泡对FSH敏感性的调节机制还不完全清楚,但是已经明确,对促性腺激素的适当反应是生长、分化良好的颗粒细胞的一大特征^[5-6]。事实上,颗粒细胞对FSH能产生相应的反应,不仅仅是因为它有功能性的FSH受体,更重要的是,颗粒细胞也具有一系列的作用,如它参与信

表2 低、中、高FORT组的病例特征及促排卵数据

Table 2 Patients characteristics and COH data in the low, medium and high FORT groups

指标	低FORT(<75%)	中FORT(75%~95%)	高FORT(>95%)	P 值
n	1 148	876	1 268	
女方年龄(岁)	30.8 ± 3.1	30.7 ± 3.0	30.2 ± 2.9	NS
不孕时间(年)	4.6 ± 2.9	4.4 ± 3.2	4.0 ± 2.6	NS
BMI(kg/m ²)	22.2 ± 2.8	21.6 ± 2.6	21.7 ± 2.6	NS
基础FSH(miu/ml)	6.3 ± 1.5	6.2 ± 1.4	6.2 ± 1.4	NS
基础FSH/基础LH	2.7 ± 1.3	2.5 ± 1.1	2.6 ± 2.7	NS
基础E2(pg/ml)	43.6 ± 12.9	43.6 ± 13.3	42.3 ± 12.6	NS
AFC(个)	14.6 ± 2.7	14.2 ± 2.7	12.8 ± 2.5	<0.001
Gn总量(ampoule)	27.1 ± 6.3	24.8 ± 5.3	24.7 ± 5.1	<0.001
Gn天数(个)	9.8 ± 1.5	9.8 ± 1.3	10.0 ± 1.3	NS
注射HCG日E2(pg/ml)	3 698 ± 1 602	4 993 ± 1 910	5 702 ± 2 137	<0.001
PFC(个)	8.5 ± 2.3	12.3 ± 2.5	15.3 ± 3.3	<0.001
FORT中位数(%)	60.6	86.7	115.4	-
FORT最小值(%)	28.6	76.5	100.0	-
FORT最大值(%)	75	94.7	220.0	-

号级联反应、类固醇生成、细胞增殖与分化。这一切提示AFC对FSH的反应性或许可以构成窦卵泡健康、生育力的指征。

过去,人们常常使用基础FSH、AFC、抗苗勒氏管激素(anti-mullerian homone, AMH)浓度等来评价卵巢的反应性,并预测IVF的结局,但这些预测指

标都有一定的局限性。例如,既往研究证实低FSH值与卵巢高反应性及高妊娠率相关^[7],但是,后续的Meta分析指出基础FSH值不能作为一个常规的IVF结局的预测指标^[8],这可能是因为周期期间的变异造成的^[9]。AFC可以反映卵巢的储备,并与获卵数密切相关^[10-11],但是,它不能预测卵子、胚胎的质量

表 3 低、中、高 FORT 组的 IVF-ET 实验室数据及结局

Table 3 IVF-ET data and outcome in the low, average and high FORT groups

指标	低 FORT(<75%)	中 FORT(75%~95%)	高 FORT(>95%)	P 值
n	1 148	876	1 268	
取卵数(个)	8.8 ± 3.1	11.4 ± 3.0	13.9 ± 3.6	<0.001
总胚胎数(个)	7.4 ± 3.0	9.6 ± 3.0	12.4 ± 3.9	<0.001
受精率(%)	84.8 ± 17.8	86.4 ± 15.8	87.0 ± 14.7	NS
ET 数(个)	1.99 ± 0.10	1.98 ± 0.15	1.99 ± 0.11	NS
优质胚胎数(个)	4.0 ± 2.3	5.2 ± 2.8	6.0 ± 3.1	<0.001
优质胚胎率(%)	54.7 ± 23.0	52.0 ± 22.9	50.6 ± 21.8	NS
种植率(%)	51.76	51.96	55.41	0.019
临床妊娠率(%)	67.57	68.04	73.19	0.026

表 4 FORT 与各可能因素的相关性分析

Table 4 Univariate analysis of factors associated with FORT

可能因素	Spearman 相关系数	P 值
女方年龄(岁)	-0.068	0.054
基础 FSH(miu/ml)	-0.059	0.090
基础 E2 水平(pg/ml)	-0.036	0.303
AFC(个)	-0.040	0.248
Gn 总量(ampoule)	-0.200	<0.001
Gn 天数(d)	0.082	0.019

以及 IVF 的妊娠结局^[12]。此外,有一些研究显示 AMH 可以预测卵巢的反应性及成功率^[13-15],但另一些研究的结论与之相反,认为 AMH 并不能预测 IVF 的妊娠结局^[16-17]。

FORT 最早由 Genro 于 2011 年提出,最新的观点认为,FORT 是研究卵巢反应性的有力工具。已知卵巢反应性与 Gn 起始剂量密切相关,过高或过低的 Gn 起始剂量均不能真实、全面地反映卵巢的反应性。并且,相同的 Gn 启动剂量组才更具有可比性。所以,本研究统一采用临床中最常用的 rFSH 225 iu 的起始剂量来研究。此外,考虑到大量的文献及本中心的临床研究证实直径 14 mm 以上的卵泡已成熟,可以形成良好的受精卵。本文选择的 PFC 是直径 14~22 mm 的卵泡,而非既往 16~22 mm 卵泡。因此,本研究的 FORT 值普遍较其他研究数值高。本研究的结果显示,在妊娠组与非妊娠组中,FORT 无统计学差异。根据 FORT 值将其分为低、中、高 3 组,比较 3 组间控制性超排卵数据及实验室指标。结果发现 AFC 在高 FORT 组最低,在低 FORT 组最高。PFC 及注射 HCG 日当天 E2 在高 FORT 组中最高,在低 FORT 组中最低。获卵数、总胚胎数、优质胚胎数在低、中、高 3 组间逐步升高,差异有统计学意义。而胚胎种植率及临床妊娠率在 3 组间亦有统计学差异,在高 FORT 组中最高。此外,个别患者

的 FORT>100%,这是因为一些小的卵泡开始并未计入 AFC,但在 FSH 作用下启动、成熟,从而使得 PFC 数大于 AFC。总之,本研究结果进一步确证,FORT 可以作为对 FSH 反应性及生殖能力、预测 IVF 结局的一个指标。

值得注意的是,本研究结果提示,FORT 并不受一些常规的卵巢储备评价指标的影响(如年龄、基础 FSH、AFC、基础 E2)。这提示,随着卵巢的老化,AFC 并不会失去其对 FSH 的反应性^[18]。同样能支持这一假设的还有 AMH。AMH 是卵泡对 FSH 反应性的抑制剂,其在血中表达水平与 AFC 呈显著正相关^[19],随着年龄的增长,AMH 显著下降^[20],与 FORT 呈显著负相关^[1]。在本研究的结果中,可见高 FORT 组的患者 AFC 较低。所以,在高龄患者中,卵巢在促排卵周期中对 FSH 的低反应可能是因为卵泡池的消耗,而非卵巢反应性的下降,其具体机制仍有待进一步研究。并且,相对于 AFC,FORT 是一个独立的指标。这一结果也从侧面为既往报道单一 AFC 的预测性很差提供了可能的解释^[11]。

总之,本研究进一步证实,AFC 对卵巢的反应性可由 FORT 计算得出,它也反映了 IVF 的结局,并且 FORT 的这种预测能力并不受卵泡大小的影响^[1]。既往人们根据卵泡生长的实际个数来决定是否取消周期,而现在,有了新的指标——FORT。

[参考文献]

- [1] Genro VK, Grynberg M, Seheffer JB, et al. Serum anti-mullerian hormone levels are negatively related to follicular output rate(FORT) in normo-cycling women undergoing controlled ovarian hyperstimulation[J]. Hum Reprod, 2011, 26(3): 671-677
- [2] Gallot V, Berwanger AL, Genre V, et al. Antral follicle responsiveness to follicle-stimulating hormone administration assessed by the follicular output rate (FORT) may

- predict in vitro fertilization-embryo transfer outcome [J]. *Hum Reprod*, 2012, 27(4): 1066-1072
- [3] 梅 巳, 徐 仙, 刘春莲, 等. 卵泡输出率与体外受精—胚胎移植中卵巢反应性的研究[J]. *宁夏医学杂志*, 2012, 34(9): 839-841
- [4] Zhang N, Hao CF, Zhuang LL, et al. Prediction of IVF/ICSI outcome based on the follicular output rate [J]. *Reprod Biomed Online*, 2013, 27(2): 147-153
- [5] Shima K, Kitayama S, Nakano R. Gonadotropin binding sites in human ovarian follicles and corpora lutea during the menstrual cycle [J]. *Obstet Gynecol* 1987, 69(5): 800-806
- [6] Gougeon A. Regulation of ovarian follicular development in primates: facts and hypotheses [J]. *Endocr Rev*, 1996, 17(2): 121-155
- [7] Jurema MW, Bracero NJ, Garcia JE. Fine tuning cycle day 3 hormonal assessment of ovarian reserve improves in vitro fertilization outcome in gonadotropin-releasing hormone antagonist cycles [J]. *Fertil Steril*, 2003, 80(5): 1156-1161
- [8] 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
- [9] Bancsi LF, Broekmans FJ, Looman CW, et al. Predicting poor ovarian response in IVF; use of repeat basal FSH measurement [J]. *J Reprod Med*, 2004, 49(3): 187-194
- [10] 王俊霞, 孙海翔, 王 玢, 等. 应用 ROC 曲线评估年龄、窦卵泡数及基础卵泡刺激素预测卵巢储备功能的价值 [J]. *现代妇产科进展*, 2011, 20(10): 784-787
- [11] Broer SL, Mol BW, Hendriks D, et al. The role of antimullerian hormone in prediction of outcome after IVF: comparison with the antral follicle count [J]. *Fertil Steril*, 2009, 91(3): 705-714
- [12] Melo MA, Garrido N, Alvarez C, et al. Antral follicle count (AFC) can be used in the prediction of ovarian response but cannot predict the oocyte/embryo quality or the in vitro fertilization outcome in an egg donation program [J]. *Fertil Steril*, 2009, 91(1): 148-156
- [13] Barad DH, Weghofer A, Gleicher N. Comparing anti-Mullerian hormone (AMH) and follicle-stimulating hormone (FSH) as predictors of ovarian function [J]. *Fertil Steril*, 2009, 91(4 Suppl): 1553-1555
- [14] Lekamge DN, Barry M, Kolo M, et al. Anti-Mullerian hormone as a predictor of IVF outcome [J]. *Reprod Biomed*, 2007, 14(5): 602-610
- [15] Wunder DM, Guibourdenche J, Birkhauser MH, et al. Anti-Mullerian hormone and inhibin B as predictors of pregnancy after treatment by in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection [J]. *Fertil Steril*, 2008, 90(6): 2203-2210
- [16] Lee TH, Liu CH, Huang CC, et al. Serum anti-mullerian hormone and estradiol levels as predictors of ovarian hyperstimulation syndrome in assisted reproduction technology cycles [J]. *Hum Reprod*, 2008, 23(1): 160-167
- [17] Smeenk JM, Sweep FC, Zielhuis GA, et al. Antimullerian hormone predicts ovarian responsiveness, but not embryo quality or pregnancy, after in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection [J]. *Fertil Steril*, 2007, 87(1): 223-226
- [18] Hanoch J, Lavy Y, Holzer H, et al. Young low responders protected from untoward effects of reduced ovarian response [J]. *Fertil Steril*, 1998, 69(6): 1001-1004
- [19] Fanchin R, Schonauer LM, Righini C, et al. Serum anti-Mullerian hormone is more strongly related to ovarian follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3 [J]. *Hum Reprod*, 2003, 18(2): 323-327
- [20] De Vet A, Laven JS, de Jong FH, et al. Antimullerian hormone serum levels; a putative marker for ovarian aging [J]. *Fertil Steril*, 2002, 77(2): 357-362

[收稿日期] 2013-08-07