文章编号:1000-5404(2009)21-2081-03

论著

适当的降调节在体外受精-胚胎移植长方案治疗中的价值

何 畏,俞炽阳,王凤英,李红梅,龙 玲,曲宗银,邓 丽,姚春丽 (第三军医大学西南医院妇产科生殖中心,重庆 400038)

摘 要:目的 探讨使用促性腺激素释放激素激动剂降调节在体外受精-胚胎移植治疗中的意义。**方法** 回顾分析我中心2008年1-12月185例因不孕不育接受体外受精-胚胎移植助孕的长方案治疗周期共187个。根据促性腺激素使用前患者是否达到降调标准,分为达标组($n=95$)与未达标组($n=92$)。分析比较2组患者年龄、使用促性腺激素释放激素激动剂(gonadotrophin releasing hormone agonist, GnRH-a)和促性腺激素(gonadotropine, Gn)剂量、获卵数、成熟卵数、受精率、优质胚胎率、临床妊娠率等之间的差异。**结果** 2组的临床妊娠率分别为48.94%和32.61%,达标组显著高于未达标组($P<0.05$);继续妊娠的观察中,二者的流产率无明显差别;达标组使用GnRH-a和Gn的剂量略大于未达标组,但两组间的差异无统计学意义。实验室资料显示两组的获卵数、MⅡ卵数以及受精率均较接近,均无明显差异($P>0.05$);而在优质胚胎获得率的对比中,达标组(43.70%)明显高于未达标组(31.80%)($P<0.05$)。**结论** 在体外受精-胚胎移植的长方案治疗中,垂体降调节达标者的临床妊娠率高于未达标者。可见降调节是否充分和适当对助孕治疗的结局有重要意义。本中心现行的降调节标准是适宜的。

关键词: 降调节;GnRH-a;体外受精-胚胎移植;长方案
中图法分类号: R321.2; R321.3; R977.12 **文献标识码:** A

Value of proper pituitary down-regulation in treatment of IVF-ET

HE Wei, YU Chi-yang, WANG Feng-ying, LI Hong-mei, LONG Ling, QU Zong-yin, DENG Li, YAO Chun-li (Reproductive Medicine Center, Department of Gynecology and Obstetrics, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To evaluate the value of pituitary down-regulation induced by gonadotrophin releasing hormone agonist (GnRH-a) in the outcome of *in vitro* fertilization-embryo transfer (IVF-ET). **Methods** Totally 185 cases, which involved 187 cycles undergoing IVF/intracytoplasmic sperm injection (ICSI) treatment, admitted in our reproductive medicine center from Jan. to Dec. 2008 were retrospectively analyzed. All patients got triptorelin 0.05 mg per day from mid-luteal phase of the prior menstrual cycle (day18 to 21). According to the level of pituitary down-regulation before controlling ovarian hyperstimulation (COH), patients were divided into 2 groups: full-down-regulation group (group A, 95 cycles) and not full-down-regulation group (group B, 92 cycles). Their age, doses of GnRH-a and gonadotropine (Gn), number of retrieved oocytes and metaphase Ⅱ oocytes, fertilization rate, high quality embryos and clinic pregnancy rate were compared. **Results** The rate of clinic pregnancy in the group A was obviously higher than that in group B (48.94% *vs* 32.61%, $P<0.05$). No difference was observed in the abortion rate. Although no difference observed among the doses of GnRH-a and Gn, number of retrieved oocytes and metaphase Ⅱ oocytes and fertilization rate in 2 groups, the high quality embryos in group A was significantly higher than group B (43.70% *vs* 31.80%, $P<0.05$). **Conclusion** Complete and proper pituitary down-regulation induced by GnRH-a in long protocol exerts great influence on the outcome of IVF treatment. The standard used in our reproductive center could be a good choice during the pituitary down-regulation.

Key words: down-regulation; gonadotrophin releasing hormone agonist; *in vitro* fertilization-embryo transfer; long proposal

作者简介: 何 畏,女,四川省蓬溪县人,博士,副主任医师,副教授,主要从事生殖免疫与生殖生理方面的研究。E-mail: anyhewei@yahoo.com.cn
收稿日期: 2009-03-09;**修回日期:** 2009-05-15

长期以来,研究者从卵巢贮备功能、控制性超排卵(controlling ovarian hyperstimulation, COH)、获卵数目与质量、子宫内膜容受性和实验室质控等多个方面对影响体外受精-胚胎移植(*in vitro* fertilization-embryo transfer, IVF-ET)治疗成功的因素做了充分的探索。但是,可能缘于患者来源、垂体降调节给药剂量和路径等方面的差异,对于在运用促性腺激素释放激素激动剂(gonadotrophin releasing hormone agonist,GnRH-a)实现垂体降调节的过程中降调是否充分、恰当,各家评定的标准不一。由于降调节实现的垂体去势或脱敏,可使卵细胞的成熟过程完全受外源激素的控制,从而实现可控性和可操作性,因此,GnRH-a 联合促性腺激素(gonadotropine,Gn)的长方案超促排卵治疗方案在辅助生殖助孕领域的应用最广泛[1]。深入研究探索降调节在 IVF-ET 中的价值,有利于指导临床选择合适的降调节标准,避免降调节过深导致促排卵效果不良和 Gn 总剂量增大,或降调节不足以致卵细胞反应不同步、子宫内膜容受性受影响等。本中心在充分总结以往经验的基础上,对 2008 年所有接受 IVF-ET 长方案治疗的病例进行了回顾性分析,旨在进一步指导临床实践。

1 资料与方法

1.1 研究对象

2008 年 1 - 12 月因不孕不育在西南医院妇产科生殖中心接受短效 GnRH-a 长方案 IVF-ET 或/ICSI-ET(intracytop lasmic sperm injection-embryo transfer)助孕治疗的女性患者均入选,排除其基础内分泌检查 FSH > 10 mU/ml 或 E_2 > 60 pg/ml 后,研究对象共 185 例(其中原发不育 66 例,继发不育 119 例),完成的助孕治疗的周期总数为 187 个;患者年龄 25 ~ 44(31.40 ± 4.22)岁,不孕年限为 4 ~ 15 年。对患者不孕不育的病因构成分析显示输卵管阻塞 125 例,盆腔结核 5 例,排卵障碍 5 例,重度盆腔子宫内膜异位症 5 例,宫颈原位癌 1 例,无精症 3 例,男性重度弱精症 12 例,不明原因不孕 7 例,其他如合并子宫肌瘤,轻中度弱精症等共 22 例。所有患者均符合国家卫生部关于人类辅助生殖助孕技术规范治疗的要求,签署知情同意书,并报院伦理委员会批准备案。所有性激素的检测均在同一实验室,用同一酶免试剂盒。

1.2 方法

1.2.1 降调节 所有入选女性患者自黄体中期(月经周期的第 18 ~ 21 天)起每天皮下注射短效 GnRH-a(醋酸曲普瑞林)0.05 mg,至月经第 2 ~ 5 天检测血清雌二醇(Estradiol,E_2)、黄体生成素(Luteinizing Hormone,LH)和促卵泡生成素(Follicle Stimulating Hormone,FSH),并行阴道超声检查。根据中心的降调标准:① E_2 < 35 ng/ml、LH < 2 mU/ml;② 子宫内膜厚度 ≤5 mm,双侧卵巢上卵泡最大直径 ≤5 mm;评判在 Gn 使用前降调节是否达到标准,并由此将患者分为达标组与未达标组。

1.2.2 控制性超促排卵治疗 GnRH-a 的使用由降调节起一直延续到整个控制性超排卵治疗中;同时,从月经第 2 ~ 5 天(卵泡早期)起每天给予纯化的重组促卵泡素(rFSH)促排卵;每 1 ~ 3 天根据个体的反应情况(超声监测卵泡大小、测定血清 E_2、LH 等)调整 rFSH 的剂量。当超声检查发现 2 个直径 ≥18 mm 或 4 个 ≥16 mm 的卵泡时,注射绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotrophin,HCG)10 000 U,34 ~ 38 h 后经阴道在超声引导下采卵。采卵日起每日肌注黄体酮 60 mg,直至移植后 2 周。

1.2.3 体外受精与优质胚胎判断 取卵后根据精液质量、不孕不育的原因选择助孕方式(IVF 或 ICSI);常规方法体外培养,第 3 天选择质量最好的胚胎移植(移植胚胎数 ≤3 个),剩余胚胎予以冷冻。优质胚胎的判断主要根据形态学特征,参考 Ariff Bongoso 评分:如第 3 天胚胎的细胞数满足 6 ~ 8 个、大小接近和形态规则的卵裂球且胞质碎片 <15% 等。

1.2.4 临床妊娠标准 胚胎移植后 2 周血清 β-HCG 明显升高者(生化妊娠),继续黄体支持;移植后 5 ~ 6 周 B 超下见到明确孕囊、或胚芽及原始胎血管搏动者为临床妊娠。

1.3 统计学分析

主要检测指标包括 GnRH-a 和 Gn 用量,获卵数,成熟卵泡数目(MⅡ),受精率,优质胚胎数以及临床妊娠率。结果用 SPSS 10.0 统计软件进行数据分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,主要采用 t 检验;率的比较用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 降调节、控制性超排卵时间、使用 GnRH-a 以及 Gn 剂量的比较

2 组患者的平均年龄和不孕不育的疾病构成相似。达标组患者的降调节时间以及在 IVF 周期中使用 GnRH-a 的量较未达标组略长,但差别尚不具有显著性意义($P > 0.05$);在周期中控制性超排卵治疗时间以及 Gn 使用总量的比较中,达标组均较未达标组低,但差别仍无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

表 1 2 组 IVF 治疗患者年龄、降调节及使用 GnRH-a 和 Gn 剂量等的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	周期数(个)	年龄(岁)	降调节时间(d)	GnRH-a 剂量(mg)	COH 时间(d)	Gn 剂量(IU)
达标组	95	31.44 ±4.04	14.81 ±2.80	1.51 ±0.36	9.20 ±1.45	1 369.23 ±395.96
未达标组	92	31.35 ±4.37	11.53 ±3.18	1.16 ±0.07	9.65 ±1.06	1 674.40 ±477.42

2.2 获卵、受精以及胚胎形成情况比较

187 个 IVF 治疗周期中均成功获卵。达标组和未达标组的平均取卵数分别为(11.60 ±6.77)个和(13.11 ±6.73)个,获得 MⅡ 卵的平均数分别为(8.32 ±4.74)个和(10.21 ±5.62)个,两组的受精率分别为 64.09% 和 62.19%,两组间差别不显著($P > 0.05$);在优质胚胎的获得率上,达标组显著高于未达标

组,分别为 43.70% 和 31.80% ($P<0.05$)。

2.3　妊娠结局

除 A 组中有 1 例因发生双侧输卵管积水放弃新鲜胚胎移植外,其余均在 B 超引导下行宫腔内胚胎移植术。移植后达标组临床妊娠 46 例,妊娠率为 48.94% (46/94);未达标组临床妊娠 30 例,临床妊娠率为 32.61% (30/92),差异显著 ($P<0.05$)。以后的随访中,达标组中发生早期流产 2 例;未达标组早期流产 1 例。

3　讨论

如何改良辅助生殖助孕技术,提升临床妊娠率,乃至活胎出生率,实现生殖健康是生殖医学领域共同关注的焦点问题。目前临床应用最广泛的是降调节治疗,即通过 GnRH-a 实现的垂体去势,可以抑制内源性及早发的促黄体生成素峰产生,避免卵泡过早黄素化,提高卵子质量,增加优质胚胎数;此外,还有利于卵泡发育的同步化,增加获卵数,从而提高妊娠率[1,2]。

然而,对于理想降调节的判定标准至今尚无定论[3],主要源于患者对 GnRH-a 敏感性不同[4];目前,已报道的降调节标准多种,如:①LH < 5 U/L, E_2 < 20 pg/ml,B 超监测卵泡直径 < 0.5 cm,子宫内膜厚度 < 0.5 cm;②LH < 5 U/L, E_2 < 50 pg/ml;LH < 2 U/L, FSH < 2 U/L , E_2 < 183 pmol/L ;③E_2 < 20 ng/ml, FSH < 5 U/L, LH < 5 U/L,B 超未见优势卵泡等。还有研究认为不必使垂体完全脱敏,垂体部分脱敏在 IVF 中也是可行的[5,6];甚至有观点[7,8]认为"在 IVF-ET 中垂体-卵巢轴不需要完全降调节"。因此,尚缺乏临床便于普遍采用的降调节标准。目前,越来越多的生殖医学工作者认同在可控制性超促排卵治疗过程中应更强调方案、剂量的标准化与个体化,强调 IVF 治疗的预前处理,以减少卵巢反应不良与重度卵巢过度刺激综合征的发生。这也为规范降调节的方案带来了更大的难度。

本研究基于 FSH 阈值的原理,即在周期的各阶段都可以募集到卵泡生长,对 GnRH-a 长方案做了一些改良。首先,加强对患者黄体期卵泡情况的观察,以了解自然周期中患者窦卵泡的储备情况,并由此将 GnRH-a 的最早给药时间提前至月经周期第 18 天;其次,设置了 LH < 3 U/L, E_2 < 30 ng/ml, B 超监测卵泡直径≤0.5 cm 的降调节标准。回顾性分析显示达标组较未达标组除降调节时间更长,使用 GnRH-a 略多外,其 Gn 用量及 COH 时间均较少;两组间获卵数(包括 MⅡ卵数目)、受精率的比较差异也不明显;但达标组优质胚胎获得率及临床妊娠率显著升高,提示降调节充分有利于卵质量的提升和子宫内膜容受性的改善,对 IVF 治疗的结局有利。从 COH 以及 Gn 剂量的初步比较可以看出,没有明显的垂体抑制过深现象。另外,极少数的患者出现 LH < 1 U/L, E_2 < 20 ng/ml ,其后的 COH 过程中也并未出现获卵少或受精率下降等,其优质胚胎获得率和临床妊娠率均良好(数据统计及进一步分析正在进行中)。可见,在 31 岁的平均年龄段,LH < 3 U/L, E_2 < 30 ng/ml, B 超监测卵泡直径≤0.5 cm 是适宜的降调节标准。

降调节作为 COH 前重要的环节,其程度应当适宜,过深或过浅都不利于 IVF 的结局[9]。本研究使用的标准将为类似年龄段的患者治疗提供重要参考,该标准是否适用于其他不同年龄段的患者尚在进一步的研究和观察中。

参考文献:

[1] Felberbaum R E, Ludwig M, Diedrich K. Clinical application of GnRH-antagonists[J]. Mol Cell Endocrinol, 2000, 166 (1): 9 - 14.

[2] Marcus S F, Ledger W L. Efficacy and safety of long-acting GnRH agonists in *in vitro* fertilization and embryo transfer[J]. Hum Fertil (Camb), 2001, 4 (2): 85 - 93.

[3] Shrim A, Elizur S E, Seidman D S, *et al*. Elevated day 3 FSH/LH ratio due to low LH concentrations predicts reduced ovarian response [J]. Reprod Biomed Online, 2006, 12(4): 418 - 422.

[4] Dal-Prato L, Borini A, Trevisi M R, *et al*. Effect of reduced dose of triptorelin at the start of ovarian stimulation on the outcome of IVF: a randomized study[J]. Hum Reprod, 2001, 16 (7): 1409 - 1414.

[5] Fleming R, Lloyd F, Herbert M, *et al*. Effects of profound suppression of luteinizing hormone during ovarian stimulation on follicular activity, oocyte and embryo function in cycles stimulated with purified follicle stimulating hormone[J]. Hum Reprod, 1998,13(7): 1788 - 1792.

[6] 李豫峰,王华丽,何巧花,等. 使用 GnRH-a 后完全降调与否与 IVF 结局的研究[J]. 中国优生与遗传杂志, 2008, 16(6): 120 - 123.

[7] Pakarainen T, Ahtiainen P, Zhang F P, *et al*. Extragonadal LH/hCG action--Not yet time to rewrite textbooks[J]. Mol Cell Endocrinol, 2007, 269(1 - 2): 9 - 16.

[8] Karligiotou E, Kollia P, Kallitsaris A, *et al*. Expression of human serum albumin (HSA) mRNA in human granulosa cells: potential correlation of the 95 amino acid long carboxyl terminal of HSA to gonadotrophin surge-attenuating factor[J]. Hum Reprod, 2006, 21(3): 645 - 650.

[9] 王凤英,李玉艳,俞炽阳,等. 对 IVF 超促排卵周期结局的分析[J]. 第三军医大学学报, 2005, 27(12): 1272 - 1276.

(编辑　栾　嘉)