

卵泡中晚期添加 HMG 对体外受精-胚胎移植结局的影响

范 静,姜 宏[△],王雪梅,宋小敏,张莹莹

(安徽医科大学解放军临床学院生殖中心,合肥 230031)

摘要:目的 探讨促排卵过程中添加人绝经期促性腺激素(HMG)对体外受精-胚胎移植(IVF-ET)结局的影响。方法 回顾性分析在解放军 105 医院生殖中心接受 IVF-ET 治疗的 406 例不育患者的临床资料,研究对象均于月经第 3~5 天行重组人促卵泡激素(r-FSH)促超排卵,当卵泡最大直径达 14 mm 时,A 组(257 个周期)每天添加 HMG 75~150 U(r-FSH+HMG 组),B 组(149 个周期)继续使用 r-FSH 至 HCG 注射日。按添加 HMG 当日的血清黄体生成素(LH)水平,将 A 组再分为 A1 组:LH<1 U/L,99 个周期;A2 组:1 U/L≤LH≤2 U/L,96 个周期;A3 组:LH>2 U/L,62 个周期。比较各组的临床结局。结果 A 组促性腺激素(Gn)用量、Gn 时间、受精率及妊娠率显著高于 B 组,流产率显著低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);两组间添加 HMG 日及 HCG 日血清 LH 水平、获卵数、卵裂率及胚胎种植率差异均无统计学意义($P>0.05$)。各亚组 HMG 的添加剂量随 HMG 日 LH 水平升高逐渐减少,差异有统计学意义($P<0.05$);A3 组的 Gn 时间显著低于 A1、A2 组,而受精率则显著高于 A1、A2 组,差异有统计学意义($P<0.05$);A2 的妊娠率显著高于 A1 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。A1、A2、A3 3 组间 r-FSH 用量、HCG 日 LH 水平、获卵数、卵裂率、胚胎种植率及流产率差异均无统计学意义($P>0.05$)。结论 卵泡中晚期添加 HMG 可提高妊娠率,降低流产率,尤其血清 LH 在 1~2 U/L 时添加 HMG 可获较好的临床结局。

关键词:妊娠;体外受精-胚胎移植;黄体生成素;人绝经期促性腺激素

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.05.020

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)05-0563-03

Effects of HMG supplementation in the middle and late follicle phases on the outcome of in vitro fertilization-embryo transfer

Fan Jing, Jiang Hong[△], Wang Xuemei, Song Xiaomin, Zhang Yingying

(Reproductive Medicine Center, the PLA Clinical College of Anhui University, Hefei, Anhui 230031, China)

Abstract: Objective To explore the effects of human menopausal gonadotropin(HMG) supplementation on the outcome of women underwent in vitro fertilization-embryo transfer(IVF-ET). **Methods** The data of 406 IVF-ET cycles in Reproductive Medicine Center of the 105th Hospital of PLA were analyzed retrospectively. All cases underwent long down regulation protocol with gonadotropin releasing hormone agonist(GnRH-a) in the mid-luteal phase and controlled ovarian stimulation(COS) was carried out with follicle stimulation hormone(r-FSH) on the days 3-5 of the menstrual cycle. Then 75-150 U HMG was administrated in group A(257 cycles) when a dominant follicle reached a diameter of 14 mm, while the remaining cases(149 cycles) underwent HCG still with r-FSH were served as group B. Based on the LH levels on the day of HMG administration, the cases in group A were subdivided into: group A1(99 cycles), LH<1 U/L; group A2(96 cycles), 1 U/L≤LH≤2 U/L, and group A3(62 cycles), LH>2 U/L. Clinical outcomes of all groups were analyzed and compared. **Results** The durations and doses of gonadotropin(Gn), the rates of fertilization and pregnancy were higher and the abortion rate was lower in group A than that in group B($P<0.05$). There were no significant difference in serum LH concentrations on the days of HMG and HCG administration, oocytes retrieved, the rates of cleavage and embryo implantation between group A and group B($P>0.05$). There was significant difference in serum LH levels on the day of HMG supplementation among group A1, A2 and A3($P<0.05$) and the doses of HMG supplemented reduced gradually from group A1 to group A3($P<0.05$). The duration of Gn was significantly lower and the fertilization rate was significantly higher in group A3 compared with group A1 and A2($P<0.05$). The pregnancy rate in group A2 and A3 was higher than that in group A1, which showed significant difference between group A2 and A1($P<0.05$). Meanwhile, there were no significant difference in doses of r-FSH, serum LH concentrations on the day of HCG administration, oocytes retrieved, the rates of cleavage, implantation and abortion among the three groups($P>0.05$). **Conclusion** HMG supplementation in the middle and late follicle phases in standard long down-regulation protocol during IVF could obtain higher pregnancy rate and lower abortion rate, especially when their serum LH level was between 1 U/L and 2 U/L without obvious increase of LH.

Key words: pregnancy; in vitro fertilization-embryo transfer; luteinizing hormone; human menopausal gonadotropin

获取足够数量高质量的卵母细胞和胚胎是改善体外受精-胚胎移植(in vitro fertilization-embryo transfer, IVF-ET)妊娠结局的关键因素。通过促性腺激素释放激素激动剂(gonadotropin releasing hormone agonist, GnRH-a)对垂体降调节后给予重组人促卵泡激素(r-FSH)进行超促排卵的标准方案为多数生殖中心所采用,并取得了较好的临床效果。但在临床实践中发现,垂体降调节后部分患者卵泡中期血清黄体生成素(luteinizing hormone, LH)水平较低^[1],而两细胞两种促性腺激

素理论认为,卵泡发育的中晚期需要血清 LH 的协同作用,低水平的血清 LH 是否影响卵泡发育以及 IVF-ET 结局尚存在争议。本文回顾性分析 406 例 IVF-ET 患者临床资料,探讨在控制性促排卵(controlled ovarian stimulation, COS)过程中卵泡中晚期添加外源性人绝经期促性腺激素(HMG)与 IVF-ET 结局的关系,以期改善促排卵方案,提高临床妊娠率。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性分析 2009 年 1 月至 2012 年 7 月在解

表 1 卵泡中晚期添加 HMG 对 IVF-ET 临床结局的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	周期数 (n)	Gn 时间 (d)	Gn 用量(支)		添加 HMG 日 LH(U/L)	HCG 日 LH(U/L)	获卵数 (n)	受精率 [n(%)]	卵裂率 [n(%)]	种植率 [n(%)]	妊娠率 [n(%)]	流产率 [n(%)]
			r-FSH	HMG								
A 组	257	11.33±1.81*	27.34±7.25*	4.63±3.68	1.53±0.79	1.81±1.20	12.63±5.00	2 315(74.75)*	2 174(93.91)	126(23.25)	118(45.91)*	19(16.10)*
B 组	149	10.05±1.32	22.70±5.47	—	1.63±0.38	1.83±1.39	13.21±5.58	1 492(63.35)	1 412(94.64)	60(18.07)	55(36.91)	16(29.09)

*: $P < 0.05$, 与 B 组比较; —: 表示此项无数据。

表 2 卵泡中晚期不同 LH 水平添加 HMG 对 IVF-ET 临床结局的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	周期数 (n)	Gn 时间 (d)	Gn 用量(支)		添加 HMG 日 LH(U/L)	HCG 日 LH(U/L)	获卵数 (n)	受精率 [n(%)]	卵裂率 [n(%)]	种植率 [n(%)]	妊娠率 [n(%)]	流产率 [n(%)]
			r-FSH	HMG								
A1 组	99	11.39±1.59 Δ	26.32±7.28	5.57±4.49	0.78±0.13	1.70±1.13	12.49±4.83	797(72.99) Δ	747(93.73)	41(17.76)	38(38.38)	6(15.79)
A2 组	96	11.51±2.15 Δ	28.17±0.56	4.36±3.17*	1.58±0.24*	1.95±1.25	12.10±5.08	835(73.76) Δ	788(94.37)	55(25.37)	51(53.13)*	9(17.64)
A3 组	62	10.42±1.34*	27.69±8.10	3.53±2.44*	2.64±0.56*	1.76±1.25	13.65±5.04	683(78.24)	639(93.56)	30(22.83)	29(46.77)	4(13.79)

*: $P < 0.05$, 与 A1 组比较; Δ : $P < 0.05$, 与 A3 组比较。

放军 105 医院生殖中心接受 IVF-ET 治疗的 406 例不育患者的临床资料。纳入标准: 年龄小于或等于 38 岁, 采用黄体期长方案进行垂体降调节, 月经周期规律; 不孕原因主要为输卵管因素、轻度子宫内膜异位症、男性因素、不明原因不孕等。排除多囊卵巢综合征, 卵巢低反应(获卵数小于或等于 4 个, 基础 r-FSH ≥ 10 U/L), 高泌乳素血症等内分泌疾病, 反复种植失败(3 次胚胎移植未孕)、未予处理的输卵管积液、子宫肌瘤症及重度子宫内膜异位症患者。根据 COS 过程中是否添加 HMG 分为: A 组(r-FSH+HMG 促超排), 共 257 个周期; B 组(单用 r-FSH 促超排), 共 149 个周期, 两组间患者年龄、不孕年限、达菲林用量、垂体降调时间、体质量指数(BMI)及受精方式差异均无统计学意义($P > 0.05$)。根据添加 HMG 当日 LH 水平将 A 组再分为: A1 组, LH < 1 U/L, 99 个周期; A2 组, $1 \text{ U/L} \leq \text{LH} < 2 \text{ U/L}$, 96 个周期; A3 组, LH $> 2 \text{ U/L}$, 62 个周期, 3 组间患者年龄、不孕年限、达菲林用量、垂体降调时间、BMI 及受精方式差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 IVF-ET 过程

所有患者均于前一个月经周期黄体中期注射长效达菲林(法国 IPSEN 公司)进行垂体降调节, 月经周期第 3~5 天使用 r-FSH (Gonal-F, 瑞士)进行超促排卵, 阴道 B 超及生殖激素监测卵泡发育情况, 当卵泡最大直径达 14 mm, A 组添加 HMG 75~150 U, B 组继续独用 r-FSH。当 B 超显示 3 个以上卵泡直径大于或等于 18 mm, 当晚皮下注射重组人绒毛膜促性腺激素(HCG, 德国 Merck 公司)250 μg , 34 h 后 B 超引导下经阴道取卵术。常规体外受精或卵胞浆内单精子显微注射(ICSI), 观察并记录卵子受精和胚胎发育情况, 取卵后第 3 天选择 2~3 枚行胚胎移植, 常规黄体支持。4 周后 B 超下见孕囊及原始心管搏动诊断为临床妊娠, 继续予黄体支持。

1.2.2 血清生殖激素水平测定

当卵泡最大直径达 14 mm 时取静脉血 3 mL, 分离血清, 采用化学发光法(北京倍爱康公司, BHP9507)测定血清 LH 和雌二醇(E2)水平。

1.3 统计学处理

采用 SPSS17.0 统计软件进行分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 t 检验和方差分析, 计数资料采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 卵泡中晚期添加 HMG 对 IVF-ET 的临床结局的影响

A 组促性腺激素(Gn)时间、Gn 用量、受精率及临床妊娠率显著高于 B 组, 但流产率显著低于 B 组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 两组间添加 HMG 日 LH、HCG 日 LH 水平、获卵数、卵裂率及胚胎种植率差异均无统计学意义($P > 0.05$), 见表 1。

2.2 卵泡中晚期不同 LH 水平添加 HMG 对 IVF-ET 结局的

影响 从 A1 到 A3 组, HMG 日添加 LH 水平逐渐递增, A2 和 A3 显著高于 A1 组, 而添加 HMG 的量逐渐减少, 差异有统计学意义($P < 0.05$); A3 组的 Gn 时间显著低于 A1 和 A2 组, 受精率则显著高于 A1 和 A2 组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); A2 和 A3 组的妊娠率均高于 A1 组, 其中 A2 与 A1 组间差异有统计学意义($P < 0.05$); 3 组间 r-FSH 用量、HCG 日 LH 水平、卵裂率、胚胎种植率及流产率差异均无统计学意义($P > 0.05$), 见表 2。

3 讨论

两细胞两促性腺激素学说认为, 血清 LH 水平对卵泡的正常发育、成熟和黄体期功能至关重要。过高或过低的 LH 水平均不利于卵泡生长, 并可影响卵子受精能力、胚胎的质量和着床能力^[2-3]。在 COS 中使用 GnRH-a 降调节, 常出现患者体内 LH 水平过低, 单纯用 r-FSH 促排卵, 可出现卵泡发育迟缓, 卵子质量差, 受精率和种植率下降, 临床妊娠率降低及流产率升高, 有研究发现, 添加 LH 有助于改善卵子和胚胎质量^[4-5]。目前, 临床上在 COS 过程中多数采用 HMG 或 r-FSH 进行外源性 LH 补充。有国外学者证实, 添加 HMG 较单纯采用 r-FSH 促排卵患者, 染色体正常的胚胎数显著增加, 且与 r-FSH 比较, 应用 HMG 促排卵, 活产率可提高 4%^[6-7]。王松等^[8]通过对 281 例在添加 HMG 或 r-hLH 患者的临床资料进行回顾性分析, 发现添加 HMG 或 r-hLH 患者均获得较高的优胚率及临床妊娠率。本研究中, 添加 HMG 虽较单纯使用 r-FSH Gn 时间和用量增加, 但受精率及临床妊娠率显著升高, 流产率降低($P < 0.05$)。添加 HMG 日及 HCG 日 LH 水平均无显著性差异, 提示添加 HMG 并不会明显升高体内 LH 水平, 对卵母细胞质量产生负面影响。由于 1 支 HMG 中含有 r-FSH 和 LH 各 75 U, 在卵泡中晚期加入适量 HMG 可协同 r-FSH 共同促进卵泡的发育、成熟, 因此, 对于采用标准长方案治疗的患者, 卵泡中晚期添加适量 HMG 有助于改善妊娠结局。

关于添加 HMG 日血清 LH 水平与妊娠结局的关系, 目前国内尚无统一标准。国内有学者认为, Gn 第 6 天血清 LH $< 1.2 \text{ U/L}$, 添加 HMG 可获得较好的临床结局^[9], 也有学者认为长方案卵巢刺激启动日血 LH $< 1 \text{ U/L}$ 患者早期添加 LH 对 IVF-ET、卵胞浆内单精子显微注射技术结局更有利; 而启动日血 LH $\geq 1 \text{ U/L}$ 患者, 仅在伴有 r-FSH 慢反应时可以从 LH 添加中获益^[10]。国外一些学者们也存在不同的观点, Kolibianakis 等^[11]认为在卵巢刺激第 8 天 LH $< 0.5 \text{ U/L}$ 持续妊娠率最高, 而 Revelli 等^[12]对 530 例卵巢低反应患者的 LH 添加时机进行了研究, 认为在 Gn 刺激的第 7 天补充 LH, 且 r-FSH/LH 的比例为 2:1(300 U:150 U)时促排效果最佳。本研究结果显示, 卵泡中晚期随体内 LH 水平升高, 受精率明显

提高,这表明一定水平的 LH 对中晚期卵泡的生长发育至关重要,补充适量 LH 可以改善卵母细胞的质量,提高受精率。1 U/L \leq LH \leq 2 U/L 患者获较高的妊娠率,与 LH $<$ 1.0 U/L 和 LH $>$ 2 U/L 患者差异有统计学意义($P<0.05$),获卵率、卵裂率、种植率及妊娠率差异无统计学意义($P>0.05$)。在 LH $<$ 1.0 U/L 组,由于垂体降调后垂体受到过度抑制,Gn 用量和天数增加,但受精率和妊娠率较低,可能与体内 LH 水平太低,需要更大剂量的 LH 才能够维持卵泡的正常发育,而 HMG 的添加剂量不足有关,但过大剂量的 HMG 可能会导致卵母细胞非整倍体率增加,引起胚胎染色体的异常,增加流产风险^[13]。因此,对该类患者增加外源性 HMG 的剂量能否改善妊娠结局有待进一步研究证实。对于内源性 LH 水平较高的患者,Humaidan 等^[14]认为,补充 LH 并不能改善妊娠率,尤其 LH $>$ 1.99 U/L 时无需补充外源性 LH。王伟周等^[15]也认为血清 LH 水平控制在 2~4 U/L 即可提高新鲜周期临床妊娠率,本研究中 LH $>$ 2 U/L 组患者较其他两组,所需 Gn 的时间短,需补充的 HMG 剂量小,但临床妊娠率未明显改善,与上述两者观点一致。

综上所述,在采用 GnRH-a 降调节方案促超排卵过程中,应在卵泡发育中晚期及时添加 HMG,可提高妊娠率,降低流产率,尤其是 LH 在 1~2 U/L 时添加 HMG 可在一定程度上改善 IVF-ET 的临床结局。

参考文献:

- [1] 黄静,姜宏,张文香,等.促性腺激素释放激素激动剂降调节后血清黄体生成素水平对体外受精-胚胎移植结局的影响[J].生殖医学杂志,2011,20(5):356-359.
- [2] Kovacs P,Kovacs T,Kaali SG. Results with early follicular phase recombinant luteinizing hormone supplementation during stimulation for in vitro fertilization[J]. Fertil Steril,2010,93(2):475-479.
- [3] 王莹,皮洁. HCG 注射日血清 LH 与 IVF-ET 妊娠率相关性的临床研究[J]. 中国优生与遗传杂志,2013,21(6):115,142.
- [4] Hill MJ,Levy G,Levens ED. Does exogenous LH in ovarian stimulation improve assisted reproduction success? An appraisal of the literature [J]. Reprod Biomed Online,2012,24(3):261-271.
- [5] Matorras R,Prieto B,Exposito A, et al. Mid-follicular LH supplementation in women aged 35-39 years undergoing ICSI cycles;a randomized controlled study[J]. Reprod Biomed Online,2011,22 Suppl 1:S43-S51.
- [6] Weghofer A,Munne S,Brannath W, et al. The impact of LH-containing gonadotropins on diploidy rates in preim-

plantation embryos: long protocol stimulation [J]. Hum Reprod,2008,23(3):499-503.

- [7] Coomarasamy A,Afnan M,Cheema D, et al. Urinary hMG versus recombinant FSH for controlled ovarian hyperstimulation following an agonist long down-regulation protocol in IVF or ICSI treatment;a systematic review and meta-analysis[J]. Hum Reprod,2008,23(2):310-315.
- [8] 王松,陈雷宁,全松. 重组人黄体生成激素与人绝经期促性腺激素对 IVF-ET 结局影响的对比研究[J]. 国际生殖健康/计划生育杂志,2013,32(1):5-8.
- [9] 师娟子,田莉,孟彬,等. 控制性超促排卵过程中血清 LH 低于正常时添加 rL 或 HMG 的效果比较[J]. 生殖与避孕,2012,32(9):589-592.
- [10] 骆丽华,刘雨生,季静娟,等. 长方案卵巢刺激启动日血清黄体生成激素水平作为黄体生成激素添加指标的价值[J]. 中国实用妇科与产科杂志,2012,28(8):619-623.
- [11] Kolibianakis EM,Zikopoulos K,Schiettecette J, et al. Profound LH suppression after GnRH antagonist administration is associated with a significantly higher ongoing pregnancy rate in IVF[J]. Hum Reprod,2004,19(11):2490-2496.
- [12] Revelli A,Chiado' A,Guidetti D, et al. Outcome of in vitro fertilization in patients with proven poor ovarian responsiveness after early vs. mid-follicular LH exposure:a prospective,randomized,controlled study[J]. J Assist Reprod Genet,2012,29(9):869-875.
- [13] Zhivkova RS,Delimitreva SM,Toncheva DI, et al. Analysis of human unfertilized oocytes and pronuclear zygotes--correlation between chromosome/chromatin status and patient-related factors[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol,2007,130(1):73-83.
- [14] Humaidan P,Bungum L,Bungum M, et al. Ovarian response and pregnancy outcome related to mid-follicular LH levels in women undergoing assisted reproduction with GnRH agonist down-regulation and recombinant FSH stimulation[J]. Hum Reprod,2002,17(8):2016-2021.
- [15] 王伟周,商微,李敏,等. 促性腺激素释放激素激动剂降调节后月经第 3 天血清黄体生成素值对体外受精-胚胎移植的影响[J]. 中华临床医师杂志:电子版,2011,5(10):2835-2838.

(收稿日期:2013-09-14 修回日期:2013-11-04)

(上接第 562 页)

- 静脉麻醉在患儿扁桃腺体切除术中的应用[J]. 重庆医学,2011,40(18):1839-1841.
- [15] 朱宇宏,王丽,柳忠禄. 腺样体切除术出血原因及预防方法[J]. 中国耳鼻咽喉头颈外科,2011,18(6):333-334.
 - [16] Steinke JW,Bradley D,Araang OP, et al. Cysteiny lleukotriene expression in chronic hyperplastic sinusitis is nasal polyposis;importance to eosinophilis and asthma[J]. J Allergy Clin Immunol,2003,111(2):342-349.
 - [17] Lieser JD,De Rkay CS. Pediatric sinusitis: when do we operate? [J]. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg,

2005,13(1):60-66.

- [18] Georgalas C,Thomas K,Owens C, et al. Medical treatment for rhinosinusitis is associated with adenoidal hypertrophy in children: an evaluation of clinical response and changes on magnetic resonance imaging [J]. Ann Otol Rhinol Laryngol,2005,114(8):638-644.
- [19] Tuncer U,Aydogan B,Soylu L, et al. Chronic rhinosinusitis and adenoid hypertrophy in children[J]. Am J Otolaryngol,2004,25(1):5-10.

(收稿日期:2013-09-22 修回日期:2013-11-08)