

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2023.07.013

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail//50.1097.r.20221201.1244.006.html\(2022-12-02\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail//50.1097.r.20221201.1244.006.html(2022-12-02))

单纯来曲唑促排卵方案用于多囊卵巢综合征患者冻融移植周期的临床价值

刘锦, 黄蓉, 涂文娇, 刘新琼, 邓宇傲[△]

(广东省深圳市人民医院/暨南大学第二临床医学院/南方科技大学第一附属医院生殖医学中心, 广东深圳 518020)

[摘要] **目的** 比较单纯口服来曲唑促排卵方案与人工周期方案用于多囊卵巢综合征(PCOS)不孕患者冻融移植(FET)周期的优缺点,探讨来曲唑应用于PCOS患者FET周期的临床价值。**方法** 回顾性分析538例PCOS不孕患者首次行冻融单囊胚移植的临床资料。根据子宫内膜准备方案分为2组,其中来曲唑组114例,单纯口服来曲唑促排卵;人工周期组424例,行人工周期方案。对2组患者的一般资料、临床结局等数据进行统计分析。**结果** 来曲唑组转化日E₂水平[(253.5±40.6)pg/mL vs. (169.4±31.5)pg/mL]、子宫内膜厚度[(10.1±2.6)mm vs. (8.9±3.5)mm]高于人工周期组,差异有统计学意义(P<0.05);来曲唑组临床妊娠率(67.5% vs. 63.2%)、活产率(59.6% vs. 51.2%)均略高于人工周期组,但差异无统计学意义(P>0.05);来曲唑组患者孕早期先兆流产率(7.7% vs. 23.1%)、治疗总费用[(7 331.7±99.8)元 vs. (7 739.2±60.5)元]低于人工周期组,差异有统计学意义(P<0.05);来曲唑组孕早期P水平[(16.3±5.8)ng/mL vs. (8.7±3.4)ng/mL]、平均就诊次数[(5.8±1.7)次 vs. (3.1±0.3)次]高于人工周期组,差异有统计学意义(P<0.05);2组患者孕早期自然流产率、妊娠时间及新生儿出生体重差异均无统计学意义(P>0.05)。**结论** 来曲唑促排卵方案可作为PCOS患者FET周期备选方案。

[关键词] 来曲唑;人工周期;多囊卵巢综合征;冻融胚胎;单囊胚;移植**[中图分类号]** R711.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2023)07-1021-05

The clinical value of letrozole alone for ovulation promotion in patients with polycystic ovary syndrome during freeze-thaw transplantation cycle

LIU Jin, HUANG Rong, TU Wenjiao, LIU Xinqiong, DENG Yuao[△]

(Reproductive Medicine Center, Shenzhen People's Hospital/the Second Clinical

Medical College of Jinan University/the First Affiliated Hospital of Southern University of Science and Technology, Shenzhen, Guangdong 518020, China)

[Abstract] **Objective** To compare the advantages and disadvantages of oral letrozole for ovulation promotion and artificial cycle in the frozen-thaw transplantation (FET) cycle of infertile patients with polycystic ovarian syndrome (PCOS), and to explore the clinical value of letrozole in the FET cycle of PCOS patients. **Methods** The clinical data of 538 infertile patients with PCOS undergoing frozen-thawed single blastocyst transfer for the first time were analyzed retrospectively. According to the endometrial preparation plan, they were divided into two groups, 114 patients were included in the letrozole group, who were treated with letrozole alone to promote ovulation; 424 patients were included in the artificial cycle group, who were treated with artificial cycle scheme. The general data and clinical outcomes of the two groups of patients were statistically analyzed. **Results** The E₂ level [(253.5±40.6) pg/mL vs. (169.4±31.5)pg/mL] and endometrial thickness [(10.1±2.6)mm vs. (8.9±3.5)mm] in the letrozole group were significantly higher than those in the artificial cycle group (P<0.05); The clinical pregnancy rate (67.5% vs. 63.2%) and live birth rate (59.6% vs. 51.2%) in the letrozole group were slightly higher than those in the artificial cycle group, but the differences were not statistically significant (P>0.05). The threatened abortion rate (7.7% vs. 23.1%) and total of treatment cost [(7 331.7±100.8)yuan vs. (7 739.2 ± 60.5)yuan] in the letrozole group were significantly lower than those in the artificial cycle group (P<0.05); The level of P in early pregnancy [(16.3±5.8)ng/mL

vs. (8.7 ± 3.4) ng/mL] and the average number of visits [(5.8 ± 1.7) times vs. (3.1 ± 0.3) times] in the letrozole group were significantly higher than those in the artificial cycle group ($P < 0.05$); There was no significant difference in spontaneous abortion rate, pregnancy time and newborn weight between the two groups ($P > 0.05$). **Conclusion** Letrozole for ovulation promotion can be used as an alternative for FET cycle in patients with PCOS.

[Key words] letrozol; artificial menstrual cycle; polycystic ovarian syndrome; frozen-thawed embryo; single blastocyst; transplantation

多囊卵巢综合征 (polycystic ovary syndrome, PCOS) 不孕患者行体外受精 (in vitro fertilization, IVF) 时常常因卵巢过度刺激高风险而采取全胚冷冻策略。由于自身无排卵或稀发排卵, 后续冷冻移植 (frozen-thawed embryo transfer, FET) 周期多采用人工周期方案准备子宫内膜, 优点是启动和复诊时间可以灵活安排, 但无排卵伴随的黄体缺失可能是引起一系列妊娠期并发症的诱因^[1-2]。通过口服或者肌肉注射药物促排卵也能达到准备子宫内膜的目的。肌肉注射人绝经尿促性腺激素 (human menopausal gonadotropins, HMG) 促排卵需连续注射, 患者接受度较低。单纯口服来曲唑诱发排卵时, 单卵泡发育率高, 卵泡发育过程中产生类似于自然周期的激素波动, 同步促进子宫内膜发生周期性变化, 但患者就医次数增加, 存在无优势卵泡发育而面临取消周期的风险。

良好的临床结局是辅助生殖技术的主要目标, 便利、安全及经济成本等也是重要的考量因素。对于 PCOS 不孕患者而言, 究竟哪种子宫内膜准备方案更能兼顾安全性及有效性, 现有的相关研究较少, 且大多关注临床妊娠率的比较, 而对诊疗流程及产科、新生儿结局的关注较少。此外, 各研究因样本量、移植胚胎数目、移植胚胎类型及临床观察节点的差异, 导致研究结论不一致。因此, 本研究回顾性分析本院生殖医学中心 538 例 PCOS 不孕患者首次冻融单囊胚移植的临床数据, 从多个角度对单纯口服来曲唑促排卵方案与人工周期方案进行比较, 为寻求更优方案提供建议。

1 资料与方法

1.1 一般资料

回顾性分析本院生殖医学中心 2017 年 1 月至 2021 年 1 月因不孕症合并 PCOS 患者行首次冻融单囊胚移植的病例资料。纳入标准: (1) 女方年龄 20~35 岁, 诊断为 PCOS, 诊断标准参照 2003 年 5 月欧洲人类生殖和胚胎学会及美国生殖医学会提出的 PCOS 诊断标准^[3]; (2) 新鲜周期全胚冷冻后行第 1 次 FET 且移植单囊胚者。排除标准: (1) 合并输卵管积水; (2) 合并宫腔异常, 如宫腔粘连、薄型子宫内膜 (转化日 < 7 mm)、子宫内膜息肉等; (3) 合并内科疾病如甲状腺功能异常、高血压病、糖尿病等。共有 538 例患者符合上述标准纳入研究, 其中 114 例患者为单纯口服来曲唑促排卵方案 FET, 424 例患者为人工周期

方案 FET。

1.2 方法

1.2.1 子宫内膜准备

来曲唑组: 月经周期第 3~5 天开始口服来曲唑 5 mg/d (芙瑞, 江苏恒瑞公司), 连续 5 d, 停药 2~3 d 后 B 超监测卵泡发育, 当优势卵泡直径 > 16 mm 时, 每天监测卵泡及测尿黄体生成激素 (luteinizing hormone, LH), 尿 LH 强阳时测血清 LH、雌二醇 (estradiol, E_2) 及孕酮 (progesterone, P) 水平, 排卵当天开始口服地屈孕酮 40 mg/d + 阴道用黄体酮软胶囊 400 mg/d, 排卵后第 5 天移植 1 枚第 5 天 (D5) 或 D6 的冷冻囊胚。当优势卵泡直径 > 20 mm 而尿 LH 仍为阴性时, 根据血清 E_2 水平适时注射绒促性素 8 000 U, B 超监测至卵泡排出; 发生卵泡黄素化不破裂时, 以血清 P 水平升高 (≥ 2 ng/mL) 日为假设排卵日。人工周期组: 月经周期第 3~5 天开始口服戊酸雌二醇 4~6 mg/d, 服用戊酸雌二醇后 7~10 d 后 B 超检测子宫内膜形态和厚度, 根据子宫内膜厚度调整戊酸雌二醇用量, 戊酸雌二醇最大剂量为 10 mg/d。当子宫内膜厚度 ≥ 7 mm 且血清 $E_2 \geq 100$ pg/mL 时加用 P 转化子宫内膜。具体方法为口服地屈孕酮 40 mg/d + 阴道用黄体酮软胶囊 400 mg/d, 自转化日起 5 d 后移植 1 枚 D5 或 D6 的冷冻囊胚。

1.2.2 胚胎冷冻及解冻方法

胚胎玻璃化冷冻与复苏由实验室专职人员按操作常规进行。胚胎移植当天复苏, 根据 Gardner 囊胚分级法对复苏后的囊胚再次进行分级和评分, 培养 2 h 后移植。

1.2.3 胚胎移植

胚胎移植前 1.0~1.5 h 嘱患者饮 500~1 000 mL 水充盈膀胱, 腹部超声引导下将胚胎放入子宫腔 (距子宫底 1.0~1.5 cm)。移植导管送实验室检查, 确定无胚胎遗留后完成移植。

1.3 观察指标

包括临床妊娠率、孕早期自然流产率、先兆流产率、早产率、活产率、平均就诊次数、治疗总费用、妊娠时间及新生儿出生体重等。

1.4 妊娠的确定和随访结局

胚胎移植后 14 d 测血清人绒毛膜促性腺激素 (β -hCG) 水平。临床妊娠定义为胚胎移植后 4~5 周超声检查可见一个或多个孕囊, 确定宫内妊娠者继续用

药至移植术后 6~8 周。临床妊娠率=临床妊娠周期数/移植周期数×100%；早期自然流产率=孕 12 周内自然流产周期数/临床妊娠周期数×100%；活产率=孕 28 周以上分娩数/移植周期数×100%。

1.5 统计学处理

采用 SPSS23.0 软件分析数据, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 比较采用独立样本 *t* 检验, 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 2 组患者的一般情况

2 组患者年龄、不孕时间、BMI、基础促卵泡生成素(b-FSH)、基础 LH(b-LH)、基础睾酮(b-T)差异均

无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 2 组患者转化日及移植胚胎情况

2 组转化日子宫内膜厚度、 E_2 、P 比较差异有统计学意义($P < 0.05$), 2 组转化日 A 型子宫内膜率及移植优质囊胚率差异无统计学意义($P > 0.05$), 见表 2。

2.3 2 组患者临床结局、就诊次数及总费用比较

来曲唑组孕早期 P、平均就诊次数(启动日至移植日)高于人工周期组, 孕早期先兆流产率、治疗总费用低于人工周期组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 2 组患者孕早期自然流产率、临床妊娠率、早产率、活产率、妊娠时间、新生儿出生体重差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 3、4。

表 1 2 组患者一般资料比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	年龄(岁)	不孕时间(年)	b-FSH(IU/L)	b-LH(IU/L)	b-T(ng/mL)	BMI(kg/m ²)
来曲唑组	114	29.2±2.6	3.0±2.4	6.8±2.2	6.8±3.8	69.0±13.5	24.1±6.4
人工周期组	424	29.3±2.9	3.1±1.9	7.2±1.9	9.5±5.4	72.0±16.1	23.9±4.0
<i>t</i>		0.13	0.24	0.53	0.65	0.78	0.17
<i>P</i>		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

表 2 2 组患者转化日及移植胚胎情况比较

组别	n	子宫内膜厚度 ($\bar{x} \pm s$, mm)	A 型子宫 内膜率[n(%)]	E_2 ($\bar{x} \pm s$, pg/mL)	P ($\bar{x} \pm s$, ng/mL)	优质囊胚率 [n(%)]
来曲唑组	114	10.1±2.6	99(86.8)	253.5±40.6	1.21±0.36	105(92.1)
人工周期组	424	8.9±3.5	355(83.7)	169.4±31.5	0.67±0.21	391(92.2)
<i>t</i> / χ^2		2.94	0.54	3.41	12.35	0.12
<i>P</i>		<0.05	>0.05	<0.01	<0.01	>0.05

表 3 2 组患者临床妊娠结局比较

组别	n	孕早期 P ($\bar{x} \pm s$, ng/mL)	孕早期先兆流产率 [n(%)]	孕早期自然流产率 [n(%)]	临床妊娠率 [n(%)]
来曲唑组	114	16.3±5.8	6(7.7)	7(9.1)	77(67.5)
人工周期组	424	8.7±3.4	62(23.1)	26(9.7)	268(63.2)
<i>t</i> / χ^2		25.90	9.20	0.03	0.73
<i>P</i>		<0.01	<0.01	>0.05	>0.05

表 4 2 组患者就诊及分娩情况比较

组别	n	平均就诊次数 ($\bar{x} \pm s$, 次)	治疗总费用 ($\bar{x} \pm s$, 元)	早产率 [n(%)]	活产率 [n(%)]	妊娠时间 ($\bar{x} \pm s$, d)	新生儿出生体重 ($\bar{x} \pm s$, g)
来曲唑组	114	5.8±1.7	7 331.7±99.8	16(20.8)	68(59.6)	266.5±19.5	3 023.5±480.6
人工周期组	424	3.1±0.3	7 739.2±60.5	38(14.2)	217(51.2)	268.8±13.9	3 208.1±524.4
<i>t</i> / χ^2		9.57	8.18	1.18	2.59	0.74	0.11
<i>P</i>		<0.01	<0.01	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

3 讨 论

具有发育潜能的优质胚胎和与其同步的子宫内

膜是妊娠成功的决定性因素。自然周期卵泡发育与子宫内膜增殖同步, 容受性最佳。PCOS 患者常无自

发排卵或偶发排卵, FET 周期采用自然周期方案取消率高, 因此临床上多采用人工周期方案或促排卵方案准备子宫内膜。来曲唑是临床上一线口服促排卵药物, 诱导卵泡发育且干扰下丘脑-垂体-卵巢轴功能。本研究中 PCOS 患者口服来曲唑后单卵泡发育率高, 卵泡黄素化不破裂发生率低。单卵泡发育过程中的激素变化与自然周期相似, 避免体内过高雌激素水平(多个卵泡发育)对子宫内膜容受性的负面影响。WANG 等^[4]、WALLACE 等^[5]从分子层面分析认为来曲唑促排卵后种植窗期子宫内膜胞饮泡及容受性因子如白血病抑制因子、整合素 $\alpha\beta 3$ 等的表达水平, 与自然周期相似^[6-8], 为来曲唑应用于 PCOS 患者 FET 提供了理论基础。

在为数不多的 FET 周期采用来曲唑促排卵方案的研究中, 转化日子宫内膜厚度、临床妊娠率、活产率等方面存在争议。其原因可能如下: (1) 现有的相关研究多数是回顾性分析, 研究对象有 PCOS 患者^[9]有异常排卵者, 也有正常排卵患者, 混杂以上 2 种患者探讨来曲唑促排卵方案与自然周期方案、人工周期方案的优劣, 不能体现出来曲唑在特定人群中的应用优势^[10-13]; (2) 囊胚移植临床妊娠率优于卵裂期胚胎移植已是共识, 不区分移植的胚胎类型造成数据偏差^[14]; (3) 移植胚胎数目不同对临床结局也有较大影响, 单胚胎及多胚胎移植混合统计^[13, 15], 也可能是造成研究结论不一致的原因, 而且容易误把多胎妊娠引起的产科及新生儿并发症与周期方案混淆; (4) 部分研究中来曲唑周期卵泡直径达 17 mm 就给予 HCG 扳机^[14-16], 晚卵泡期雌激素生理性升高促进子宫内膜进一步增殖的效果未能全部展现出来; (5) 部分研究中来曲唑促排卵周期添加 HMG 协同卵泡发育, 不能真实展现来曲唑在 FET 周期的实际效果^[16], 还可能造成多卵泡发育影响子宫内膜容受性。

为了展现来曲唑在 PCOS 患者 FET 周期中的实际效果, 本研究病例纳入标准规定: (1) 单纯口服来曲唑诱导排卵后有优势卵泡发育者, 如患者停用来曲唑后 1 周仍无优势卵泡, 则取消周期或加用 HMG 或改行人工周期方案, 但不纳入本研究; (2) 为了减少移植胚胎数目和胚胎类型对结局的影响, 所有患者均为首次冻融单囊胚移植同时避免将反复种植失败患者纳入研究造成数据偏差; (3) 限定女性患者年龄 ≤ 35 岁, 减少年龄因素对临床数据的影响。

本研究认为来曲唑组临床妊娠率、活产率略高于人工周期组, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 与 LI 等^[10]、ZHANG 等^[12-13]、LIN 等^[17]的研究结论一致, 即在胚胎质量稳定的情况下, 来曲唑促排卵方案可获得同等甚至略优于人工周期方案的临床结局。因而将内膜准备方案的安全性和便利性纳入临床决策范围, 更能展现个体化治疗的优势。本研究人工周期组患者孕早期先兆流产率显著高于来曲唑促组, 人工周

期组患者因先兆流产产生的焦虑情绪及治疗总费用显著增加, 这些在以往的研究中未见提及。笔者认为出现这一现象的可能原因如下: (1) 为了减少外源性雌激素对早期胚胎发育的可能影响, 人工周期方案在确定妊娠后逐渐递减雌激素用量, 因而孕早期患者体内雌孕激素的水平和变化曲线无法比拟妊娠黄体功能, 这可能是患者孕早期出现阴道流血等先兆流产症状发生率上升的原因之一, 本研究中人工周期组关键节点转化日、孕早期的 E_2 、P 水平均低于来曲唑组, 支持上述观点; (2) 已有不少学者关注到妊娠黄体缺失与产科并发症发生密切相关^[2], 尽管人工周期方案通过外源性补充雌孕激素模拟了黄体的主要功能, 但黄体分泌的松弛素及血管内皮生长因子等细胞因子无法外源性补充, 而这些细胞因子在妊娠维持中发挥着重要作用^[1-2, 18]。

单纯口服来曲唑单卵泡发育率高, 少数患者可能无优势卵泡发育而面临取消周期或更改方案, 当发生卵泡黄素化不破裂时需要通过监测血清 P 水平来推算移植时间等, 因而在灵活性方面较人工周期方案略逊一筹。人工周期方案患者就诊时间灵活, 但不便利, 持续大剂量使用雌激素可能增加患者肝肾负担及潜在血栓风险, 存在漏服错服风险, 以及可能增加孕产妇和新生儿风险^[15]。

本研究也存在局限性, 如研究的样本量偏小, 此外本研究未区分 D5 及 D6 囊胚, 未对胚胎的内细胞团及滋养层等细节进一步分层。上述因素都是影响数据可靠性的可能原因, 需在将来设计更严谨合理的前瞻性研究加以确认。

总之, PCOS 患者 FET 周期采用来曲唑促排卵方案可得到略优于人工周期方案的临床妊娠率及活产率, 还能减少患者的用药时间, 减轻患者的经济和躯体负担, 可作为备选方案。

参考文献

- [1] CONRAD K P, BAKER V L. Corpus luteal contribution to maternal pregnancy physiology and outcomes in assisted reproductive technologies[J]. *Am J Physiol-Reg I*, 2013, 304 (2): 69-72.
- [2] VON VERSEN-HOYNCK F, STRAUCH N K, FLEISCHMANN R, et al. Effect of Mode of Conception on Maternal Serum Relaxin, Creatinine, and Sodium Concentrations in an Infertile Population[J]. *Reprod Sci*, 2019, 26 (3): 412-419.
- [3] Rotterdam Eshre/Asrm-Sponsored Pcos Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health

- risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS)[J]. *Hum Reprod*,2004,19(1):41-47.
- [4] WANG L, LV S, LI F, et al. Letrozole versus clomiphene citrate and natural cycle; endometrial receptivity during implantation window in women with polycystic ovary syndrome [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*,2021,11:532692.
- [5] WALLACE K L, JOHNSON V, SOPELAK V, et al. Clomiphene citrate versus letrozole; molecular analysis of the endometrium in women with polycystic ovary syndrome[J]. *Fertil Steril*,2011,96(4):1051-1056.
- [6] MILLER P B, PARNELL B A, BUSHNELL G, et al. Endometrial receptivity defects during IVF cycles with and without letrozole[J]. *Hum Reprod*,2012,27(3):881-888.
- [7] GANESH A, CHAUHAN N, DAS S, et al. Endometrial receptivity markers in infertile women stimulated with letrozole compared with clomiphene citrate and natural cycles[J]. *Syst Biol Reprod Med*,2014,60(2):105-111.
- [8] GARCIA-VELASCO J A. The use of aromatase inhibitors in in vitro fertilization[J]. *Fertil Steril*,2012,98(6):1356-1358.
- [9] SAMSAMI A, GHASMPOUR L, DAVOODI S, et al. Frozen embryo transfer: Endometrial preparation by letrozole versus hormone replacement cycle; a randomized clinical trial[J]. *Int J Reprod Biomed (Yazd)*, 2019, 17(12): 915-922.
- [10] LI D, KHOR S, HUANG J, et al. Frozen embryo transfer in mildly stimulated cycle with Letrozole compared to natural cycle in ovulatory women: A large retrospective study[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*,2021,12:677689.
- [11] TATSUMI T, JWA S C, KUWAHARA A, et al. Pregnancy and neonatal outcomes following letrozole use in frozen-thawed single embryo transfer cycles[J]. *Hum Reprod*,2017,32(6):1244-1248.
- [12] ZHANG J, LI Z, SUN L, et al. Comparison of pregnancy and neonatal outcomes of single frozen blastocyst transfer between Letrozole-induction and HRT cycles in patients with abnormal ovulation [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*,2021,12:664072.
- [13] ZHANG J, LIU H, WANG Y, et al. Letrozole use during frozen embryo transfer cycles in women with polycystic ovary syndrome [J]. *Fertil Steril*,2019,112(2):371-377.
- [14] MUSTAFA M K, ABDRABO H A, TAHOON A S. Randomized controlled trial comparing pregnancy outcome using artificial versus letrozole stimulated cycle in cryopreserved embryo transfer[J]. *Egyp J Hospital Med*,2018,72(6):4644-4649.
- [15] ZONG L, LIU P, ZHOU L, et al. Increased risk of maternal and neonatal complications in hormone replacement therapy cycles in frozen embryo transfer [J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2020,8(1):36.
- [16] ALEYASIN A, AGHAHOSSEINI M, SAFDARIAN L, et al. Can letrozole plus HMG protocol improve pregnancy outcomes in frozen-thawed embryo transfer? An RCT [J]. *Int J Reprod Biomed*, 2017,15(2):83-86.
- [17] LIN J, WANG N, HUANG J, et al. Pregnancy and neonatal outcomes of hMG stimulation with or without Letrozole in endometrial preparation for frozen-thawed embryo transfer in ovulatory women: a large retrospective cohort study[J]. *Drug Des Devel Ther*,2019,13:3867-3877.
- [18] SINGH B, RESCHKE L, SEGARS J, et al. Frozen-thawed embryo transfer; the potential importance of the corpus luteum in preventing obstetrical complications [J]. *Fertil Steril*, 2020,113(2):252-257.