

·临床研究·

## HCG日不同优势卵泡比例对IVF/ICSI妊娠结局的影响

林海燕, 李 予, 张清学, 李 轶

(中山大学孙逸仙纪念医院生殖医学中心, 广东 广州 510120)

**摘要:**【目的】为摸索适合不同方案最佳人绒毛膜促性腺激素注射日(HCG日)优势卵泡比例,探讨HCG日直径18 mm以上卵泡不同比例在不同方案中对体外受精/单精子卵泡浆内显微注射-胚胎移植(IVF/ICSI-ET)结局的影响,为个体化确定HCG日提供依据。【方法】本研究回顾性分析2014年至2016年长方案IVF/ICSI共3 064周期,拮抗剂方案IVF/ICSI共918周期临床资料。按照HCG日优势卵泡(直径 $\geq 18$  mm)的不同比例将患者在不同方案中均分成3组:低比例组:优势卵泡比例 $< 20\%$ ;中比例组: $20\% \leq$ 优势卵泡比例 $\leq 40\%$ ;高比例组:优势卵泡比例 $> 40\%$ 。分别分析不同方案中不同年龄段,3组患者间基本资料及助孕结局。【结果】 $\leq 30$ 岁年龄群患者中,促性腺激素释放激素激动剂(GnRHa)长方案中,成熟卵子率在HCG日优势卵泡比 $< 20\%$ 组明显低于另外2组( $P < 0.05$ )。临床妊娠率比较3组间无统计学差异。而在拮抗剂方案中,临床妊娠率、中重度卵巢过度刺激综合征(OHSS)发生率在3组间差异无明显统计学意义( $P > 0.05$ )。 $\geq 40$ 岁年龄群患者中,长方案中,获卵数在HCG日优势卵泡比 $< 20\%$ 组明显高于另外2组,可利用胚胎率最低( $P < 0.05$ );可利用胚胎率在HCG日优势卵泡比 $> 40\%$ 组高,但临床妊娠率低于另外2组,但差异无统计学意义。拮抗剂方案中,临床妊娠率在HCG日优势卵泡比 $< 20\%$ 组明显高于另外2组,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。两种方案中均无中重度OHSS发生。【结论】在 $\leq 30$ 岁患者中无论长方案或拮抗剂方案,随着HCG日优势卵泡比增加可能增加成熟卵子率,但不影响临床结局。而在 $\geq 40$ 岁患者中无论长方案或拮抗剂方案,HCG日优势卵泡比例 $> 40\%$ ,临床妊娠率明显降低,在拮抗剂方案中将优势卵泡比例控制在20%以内更重要。

**关键词:** HCG注射日; GnRH拮抗剂方案; GnRH激动剂长方案; 优势卵泡比例

**中图分类号:** R715.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-3554(2019)03-0415-08

### The Proportion of Dominant Follicles for the HCG-trigger Timing and IVF/ICSI Outcome

LIN Hai-yan, LI Yu, ZHANG Qing-xue, LI Yi

(Reproductive center, Department of Gynecology and Obstetrics, Sun Yat-sen Memorial Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China)

Correspondence to: YI Li; E-mail: liyi820920@126.com

**Abstract:** 【Objective】 The aim of this study was to investigate the proportion of dominant follicles (PDF) on HCG day in young and aged women. 【Methods】 In total, 3 064 cycles of GnRH agonist long protocol and 918 cycles of GnRH antagonist protocol from 2014 to 2016 were retrospectively included. Patients were divided into 3 groups (low PDF,  $< 20\%$ ; medium PDF,  $\geq 20\%$  and  $\leq 40\%$ ; high PDF,  $> 40\%$ ). The measurements regarding the ovarian stimulation characteristics, clinical pregnancy rate was compared between different PDF groups stratified by age and protocol. 【Results】 In patients aged  $\leq 30$  years who received the GnRH agonist long protocol, no significant difference was found in the clinical pregnancy rate between the different PDF groups ( $P > 0.05$ ). Regarding the GnRH antagonist protocol, no significant difference was found in the clinical pregnancy rate and moderate or severe OHSS rate ( $P > 0.05$ ). In patients aged  $\geq 40$  years, the clinical pregnancy rate in the low PDF group was higher than that in the high PDF groups (40% vs. 30.88%) in GnRH

收稿日期: 2018-11-01

基金项目: 国家自然科学基金(81671523); 广东省自然科学基金(2017A030313895)

作者简介: 林海燕, 主治医师, 研究方向: 生殖内分泌疾病与不孕不育诊治, E-mail: linhaiyan\_818@163.com; 李轶, 通信作者, 博士, 副主任医师, 研究方向: 不孕症及辅助生育技术助孕, E-mail: liyi820920@126.com

agonist long protocol. Concerning the GnRH antagonist protocol, patients in the low PDF group had a significantly higher clinical pregnancy rate than those in the other two groups (27.27% vs. 9.09%, 7.40%;  $P = 0.002$ ). 【Conclusions】 PDF within 20% is recommended for older patients ( $\geq 40$  years), especially in those receiving the GnRH antagonist protocol.

**Key words:** HCG triggering time; GnRH antagonist protocol; GnRH agonist long protocol; proportion of dominant follicles

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2019, 40(3):415-422]

辅助生育技术(assisted reproductive technology, ART)技术发展至今,人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotrophin, HCG)日注射外源性HCG促卵子最后成熟(即“扳机”)是重要的步骤。一直以来HCG注射时机尚未有完全一致标准。临床上以阴道B超监测出现至少2~3个主导卵泡直径 $\geq 18$  mm或3个直径 $\geq 17$  mm时可考虑注射HCG(即HCG日)<sup>[1]</sup>。促排卵方案中除长方案之外,拮抗剂方案也因其独特的安全性优势,明显降低卵巢过度刺激综合征(ovarian hyperstimulation syndrome, OHSS)发生率,其应用渐增多。拮抗剂方案进入临床十余年,其临床妊娠率却一直低于长方案。有学者提出拮抗剂方案的学习曲线包括了扳机时机的重新学习,将已经习惯的长方案的扳机标准放入拮抗剂方案中是不合适的。有的学者认为推迟HCG注射时间可改善结局;也有学者提出不同意见,拮抗剂方案中HCG扳机时机不应该推迟,否则影响临床妊娠率<sup>[2-4]</sup>,甚至需要比长方案更严格从而提出提早注射HCG。由于患者个体间卵巢储备不一,HCG日优势卵泡比例更能反映个体间的差异。经典的长方案以较好的卵泡同步发育为特点,保证了稳定的临床妊娠率,而拮抗剂方案利用卵泡发育不同步在卵巢高储备患者促排中占有优势,明显降低OHSS发生率<sup>[5]</sup>。为了解HCG日优势卵泡比例在不同方案、不同年龄群中对ART结局的影响,我们通过回顾性分析病例资料,分层分组比较不同年龄段、不同方案间不同HCG日不同优势卵泡比例助孕结局的影响,旨在寻找适合不同年龄段、不同方案的HCG扳机标准,为控制性促排卵的个体化治疗提供临床依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究对象

收集2014年1月至2016年12月在中山大学

孙逸仙纪念医院生殖中心行长方案或拮抗剂方案体外受精-胚胎移植/单精子卵泡浆内显微注射(IVF/ICSI)周期资料,纳入标准:①女方年龄 $\geq 20$ 岁以上;②具有IVF/ICSI指征,包括经皮附睾或睾丸显微取精术(PESA/TESA)周期;③长效长方案/短效长方案或者拮抗剂方案;④完成HCG日扳机患者。排除标准:资料不完整。同时满足以上纳入、排除标准,其中长效长方案/短效长方案IVF/ICSI共3 064周期,拮抗剂方案IVF/ICSI共918例。所有患者均已签署知情同意书,回顾性研究项目已获得医院生殖伦理委员会批准。

### 1.2 促排卵方案及分组情况

1.2.1 长方案或短效长方案IVF/ICSI 月经周期的第18~22天(排卵后5~7 d)即黄体中期行阴道B超检查见典型的黄体声像,必要时测血孕酮水平 $\geq 5$   $\mu\text{g/L}$ ,确定排卵后予以注射促性腺激素释放激素激动剂(gonadotropin releasing hormone agonist, GnRHa) 0.93~1.25 mg降调节(短效长方案中予以短效GnRHa 0.1 mg肌肉注射,每日1次直至HCG日),2周后行阴道B超检查及血卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)、黄体生成素(luteinizing hormone, LH)、雌二醇(estradiol, E2)检查,达到完全降调节标准后(当FSH $< 5$  U/L, LH $< 5$  U/L, E2 $< 50$  pg/mL,子宫内膜厚度 $< 6$  mm时)予以促性腺激素(gonadotropin)每天100~300 U促排卵,每3~5 d监测B超及血性激素了解卵泡发育情况,当出现至少一个卵泡直径大于等于18 mm或至少3个卵泡直径大于等于17 mm可予以HCG 4 000~10 000 U扳机,36~38 h后经阴道取卵术,取卵后即行胚胎培养3~5 d行胚胎移植术,黄体支持从取卵日开始使用黄体酮注射液每天60 mg或者阴道用黄体酮胶囊每天600 mg直至验孕日。

1.2.2 拮抗剂方案IVF/ICSI 月经周期第2~3天抽血查性激素FSH、LH、E2,经阴道B超了解双侧

卵巢窦卵泡情况,即开始使用促性腺激素每天75~300 U促排卵,每3~5 d监测B超及血性激素了解卵泡发育情况,当出现至少一个卵泡直径大于等于18 mm或至少3个卵泡直径大于等于17 mm可予以HCG 4 000~10 000 U扳机或GnRHa 0.1~0.2 mg扳机。36 h后在阴道B超引导下使用17 G取卵针经阴道穿刺取卵术,取卵后即行胚胎培养3~5 d行胚胎移植术,黄体支持从取卵日开始使用黄体酮注射液60 mg/d或者阴道用黄体酮胶囊600 mg/d直至验孕日。

### 1.3 治疗结局及指标

胚胎移植(Embryo Transfer, ET)后12~14 d血HCG大于20 U/L诊断为生化妊娠,ET后34 d经阴道B超见宫内妊娠囊及早期心管搏动诊断为临床妊娠。患者首先以年龄分为 $\leq 30$ 岁年龄群和 $\geq 40$ 岁年龄群,然后以HCG日优势卵泡比(proportion of dominant follicles, PDF)分组。HCG日优势卵泡比为HCG日直径18 mm及以上卵泡数目/直径10 mm及以上卵泡数目。优势卵泡比呈偏态分布,取百分比33%、67%分布界点作为分组标准。相对应的取以优势卵泡比20%与40%分为3组。低比例组:优势卵泡比例 $< 20\%$ ;中比例组:优势卵泡比例20%~40%;高比例组:优势卵泡比例 $> 40\%$ 。各组间比较患者基本临床资料包括年龄、体质量指数(body mass index, BMI)、不孕年限、窦卵泡数(antral follicle count, AFC)和基础FSH等,还包括ART助孕资料,Gn启动量、获卵数、受精率、可利用胚胎率、临床妊娠率和OHSS发生率等。其中临床妊娠率为临床妊娠周期/胚胎移植周期总数;可利用胚胎率为第3天胚胎形态学评分为4细胞II级以上或第5天囊胚评分3级以上胚胎总数/获卵数。

### 1.4 统计学方法

采用SPSS 19.0行统计学分析,使用one-sample K-S法对数据进行正态检验。对符合正态分布的计量资料进一步行方差齐性检验,方差齐的数据采用ANOVA方差分析,以均数 $\pm$ 标准差表示;两两比较采用LSD及Tamhane法分析。对定性资料采用卡方检验,以百分率表示。非正态分布数据采用对数法进行正态转化后,行Logistic回归分析,向前LR,观察与临床妊娠相关的指标。均为双侧检验, $P < 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 患者基本资料比较

3组患者的基本临床资料如年龄、BMI、AFC之间无统计学差异(表1、2)。

### 2.2 促排卵资料比较

$\leq 30$ 岁年龄群患者中使用长方案结果分析:促性腺激素(gonadotropin, Gn)总用量及启动量均随着HCG日优势卵泡比增加而增加( $F=13.773$ ,  $20.925$ ,  $P < 0.001$ ;表1)。HCG日E2水平呈现随着优势卵泡比增加而下降趋势( $F=14.977$ ,  $P < 0.001$ ;表1)。随着HCG日18 mm以上卵泡数目增加,3组PDF增加,其他指标包括Gn天数、HCG日孕酮(progesterone, P)3组间无明显统计学差异。使用拮抗剂方案结果分析:Gn总用量、启动量及Gn天数在3组间无统计学差异,HCG日E2水平呈现随着优势卵泡比增加而下降趋势( $F=4.974$ ,  $P=0.007$ ;表1)。随着HCG日18 mm以上卵泡数目增加,3组PDF增加(表1)。

$\geq 40$ 岁年龄群患者中使用长方案结果分析:Gn总用量及启动量在HCG日优势卵泡比 $> 40\%$ 组明显高于另外2组( $P < 0.05$ ;表2),HCG日优势卵泡比 $< 20\%$ 组HCG日E2水平明显高于 $> 40\%$ 组( $P < 0.05$ ;表2)。随着HCG日18 mm以上卵泡数目增加,3组PDF增加( $P < 0.05$ ;表2)。使用拮抗剂方案结果分析:Gn启动量在HCG日优势卵泡比20%~40%组明显高于另外2组,Gn总用量、HCG日E2水平等3组间比较差异无统计学意义。随着HCG日18 mm以上卵泡数目增加,3组优势卵泡比增加( $F=220.70$ ,  $P < 0.001$ ;表2)。两种方案中,其他指标包括Gn天数、HCG日P等3组间无明显统计学差异(表2)。

### 2.3 胚胎培养及结局指标比较

$\leq 30$ 岁年龄群患者中无论在长方案还是拮抗剂方案,获卵数都随着HCG日优势卵泡比增加而增加( $P < 0.05$ ;表3)。使用长方案结果分析:成熟卵子率在HCG日优势卵泡比 $< 20\%$ 组明显低于另外2组( $F=4.766$ ,  $P < 0.05$ ;表3)。HCG日优势卵泡比 $> 40\%$ 组在卵裂率的比较上明显低于另外2组( $F=6.688$ ,  $P < 0.05$ ;表3),临床妊娠率比较3组间无统计学差异,中重度OHSS发生率并未随HCG日优势卵泡比增加而增加。使用拮抗剂方

表1 不同促排卵方案≤30岁患者临床特征比较

Table 1 Comparison of clinical characteristics of patients ≤30 years among different (x̄ ± s)

Groups	GnRHa long protocol					GnRH antagonist protocol				
	A(n=419)	B(n=502)	C(n=208)	F	P	A(n=151)	B(n=145)	C(n=66)	F	P
Age/years	27.7±2.0	27.7±1.9	27.8±1.9	0.473	0.623	27.4±2.0	27.5±2.0	27.6±2.0	0.246	0.782
BMI/(kg/m <sup>2</sup> )	20.7±3.6	20.8±2.8	21.1±2.7	1.373	0.254	21.6±2.9	21.4±3.1	21.8±2.9	0.468	0.627
Basal FSH/(U/L)	7.5±2.2	7.7±2.2	8.1±2.8 <sup>1)2)</sup>	4.920	0.007	7.1±2.1	7.2±1.8	7.9±2.8 <sup>1)2)</sup>	3.452	0.033
AFC	19.6±9.9	17.2±8.8	15.0±8.85	17.403	<0.001	27.5±13.6	25.9±11.6	23.2±12.8	2.464	0.087
Total dose of Gn/U	1 875±691	2 018±700	2 190±808	13.773	<0.001	1 630±768	1 569±637	1 616±677	0.298	0.742
Initiation dose of Gn/U	139.8±36.3	153.1±41.7	160.3±46.8 <sup>1)2)</sup>	20.925	<0.001	143.6±43.4	144.2±49.9	155.7±54.5	1.627	0.198
Days of Gn	12.0±2.3	12.1±2.2	12.4±3.1	2.356	0.095	10.5±3.2	10.40±5.12	9.8±2.3	0.714	0.490
E2/(pg/mL)	3 476±1 260	3 146±1 339	2 850±1 412	14.977	<0.001	3 486±1349	3 279±1422	2 782±1452 <sup>1)</sup>	4.974	0.007
P/(μg/L)	0.1±0.5	1.1±0.6	1.1±0.6	1.163	0.313	1.3±0.8	1.2±0.7	1.1±0.5 <sup>1)</sup>	4.176	0.016
Number of ≥18 mm follicles on the HCG day	1.99±1.40	3.96±1.79	5.51±2.66	275.166	<0.001	2.04±1.53	4.31±2.35 <sup>1)</sup>	5.01±3.38 <sup>1)</sup>	53.747	<0.001
PDF	0.10±0.05	0.28±0.06	0.55±0.14	2 117.779	<0.001	0.10±0.06	0.29±0.06	0.54±0.12	756.038	<0.001

BMI: body mass index; FSH: follicle-Stimulating Hormone; AFC: antral follicle count; Gn: Gonadotropin; E2: estradiol on the HCG day; P: progesterone on the HCG day; PDF: proportion of dominant follicles; A: low PDF; B: medium PDF; C: high PDF; 1):  $P < 0.05$  vs. Group A; 2):  $P < 0.05$  vs. Group B

表2 不同促排卵方案≥40岁患者临床特征比较

Table 2 Comparison of clinical characteristics of patients ≥40 years among different (x̄ ± s)

Groups	GnRHa long protocol					GnRH antagonist protocol				
	A(n=58)	B(n=106)	C(n=79)	F	P	A(n=30)	B(n=40)	C(n=58)	F	P
Age/years	41.3±1.3	41.3±1.4	41.7±1.7	2.701	0.069	42.3±1.7	42.3±1.9	42.4±1.7	0.075	0.928
BMI/(kg/m <sup>2</sup> )	21.8±2.3	22.8±2.8	23.2±3.5 <sup>1)2)</sup>	3.632	0.028	22.2±2.6	22.6±2.7	23.0±2.9	0.976	0.380
Basal FSH/(U/L)	8.1±2.0	8.7±2.8	8.9±3.4	1.122	0.327	10.5±4.6	9.9±4.6	9.8±3.2	0.298	0.743
AFC	9.9±7.3	9.1±5.0	7.7±5.7	2.523	0.082	6.6±4.3	8.5±5.0	5.8±3.7 <sup>2)</sup>	4.150	0.018
Total dose of Gn/U	2 850±751	3 180±758 <sup>1)</sup>	3 154±838 <sup>1)</sup>	3.681	0.027	2 034±825	2 418±704	2 231±790	2.129	0.123
Initiation dose of Gn/U	230.0±53.6	247.5±55.5	252.9±52.5 <sup>1)2)</sup>	3.181	0.043	228.4±68.4	262.2±48.6 <sup>1)</sup>	229.6±61.5 <sup>2)</sup>	4.113	0.019
Days of Gn	11.7±2.0	12.2±2.0	12.0±2.2	1.128	0.325	9.2±2.9	9.2±2.4	9.4±2.5	0.081	0.922
E2/(pg/mL)	2 534±1 316	2 340±1 190	1 920±1 281 <sup>1)</sup>	4.281	0.015	1 575±1 259	1 857±1 089	1 681±1 224	0.501	0.607
P/(μg/L)	1.1±0.9	1.0±0.5	1.0±0.6	0.038	0.963	1.2±0.5	1.0±0.5	1.2±1.0	1.089	0.340
Number of ≥18 mm follicles on the HCG day	1.17±1.04	2.56±1.26	3.44±1.80	42.875	<0.001	0.60±0.72	1.80±0.82	2.86±1.77	29.338	<0.001
PDF	0.09±0.07	0.30±0.06	0.58±0.18	308.213	<0.001	0.06±0.06	0.31±0.05	0.59±0.16	220.700	<0.001

BMI: body mass index; FSH: follicle-Stimulating Hormone; AFC: antral follicle count; Gn: Gonadotropin; E2: estradiol on the HCG day; P: progesterone on the HCG day; PDF: proportion of dominant follicles; A: low PDF; B: medium PDF; C: high PDF; 1)  $P < 0.05$  vs. Group A; 2)  $P < 0.05$  vs. Group B.

案结果分析:成熟卵子率、卵裂率、正常受精率、异常受精率、可利用胚胎率在3种不同比例组均无统计学差异。临床妊娠率、中重度OHSS发生率在3组间差异无明显统计学意义( $\chi^2 = 6.236, P > 0.05$ ;表3,图1)。

≥40岁年龄群患者中使用长方案结果分析:HCG日优势卵泡比<20%组获卵数明显高于另外2组,可利用胚胎率最低( $F = 3.458, P < 0.05$ ;表4)。HCG日优势卵泡比>40%组可利用胚胎率高,但临床妊娠率(30.88%)低于另外2组(40%、42.04%),

但差异无统计学意义。使用拮抗剂方案结果分析: 获卵数、成熟卵子率、受精率、正常受精率、异常受精率、卵裂率、可利用胚胎率在3组间均无统计学差异。临床妊娠率在HCG日优势卵泡比<20%组

为27.27%,明显高于另外2组(9.09%,7.40%),差异具有统计学意义( $\chi^2=21.413, P<0.05$ ;表4,图1)。两种方案中均无中重度OHSS发生。

表3 不同促排卵方案≤30岁患者IVF/ICSI助孕结局比较  
Table 3 Comparison of IVF/ICSI outcomes of patients ≤30 years among different [ $\bar{x} \pm s, \%(n)$ ]

Groups	GnRHa long protocol					GnRH antagonist protocol				
	A(n=419)	B(n=502)	C(n=208)	F/ $\chi^2$	P	A(n=151)	B(n=145)	C(n=66)	F/ $\chi^2$	P
Number of oocytes retrieved/n	16.6±7.0	12.5±5.5	9.31±5.20	113.416	<0.001	17.4±8.9	12.8±6.7	8.0±5.2	38.900	<0.001
Rate of embryo transfer cancelled because of no usable embryos/%	1.0(4)	0.2(1)	1.4(3)	5.650 <sup>3)</sup>	0.227	0	0.7(1)	1.5(1)	3.962 <sup>3)</sup>	0.411
Rate of matured oocytes	0.86±0.13	0.87±0.13	0.89±0.15 <sup>1)2)</sup>	4.766	0.009	0.84±0.14	0.87±0.12	0.87±0.18	1.690	0.186
Rate of normally fertilized oocytes/%	55.1±32.0	55.2±33.9	49.6±38.0	2.278	0.103	66.0±23.5	62.4±26.8	62.3±32.1	0.840	0.433
Rate of abnormally fertilized oocytes/%	11.4±13.4	11.1±12.8	10.2±14.8	0.582	0.559	12.4±10.8	14.2±16.3	12.7±17.1	0.618	0.540
Fertilized rat/%	66.5±36.4	66.3±38.2	59.8±42.5	3.029	0.083	78.5±24.7	76.6±29.8	75.1±35.2	0.349	0.706
Cleavage rate/%	78.0±39.9	76.1±41.4	67.4±45.9 <sup>1)</sup>	6.688	0.009	92.1±22.2	88.6±29.5	83.8±36.2	2.026	0.133
Rate of usable embryos/%	0.47±0.27	0.48±0.29	0.48±0.30	0.107	0.898	0.58±0.22	0.55±0.24	0.56±0.28	0.411	0.663
Clinical pregnancy rate/%(n)	67.4 (209/310)	66.0 (274/415)	63.9 (110/172)	1.090 <sup>3)</sup>	0.896	41.3 (38/92)	43.9 (47/107)	52.3 (23/44)	8.279 <sup>3)</sup>	0.144
Rate of moderate and severe OHSS/%(n)	2.14 (9/419)	1.79 (9/502)	1.44 (3/208)	32.207 <sup>3)</sup>	0.009	2.64 (4/151)	1.37 (2/145)	1.51 (1/66)	6.236 <sup>3)</sup>	0.182

A: low PDF; B: medium PDF; C: high PDF; 1) P<0.05 vs. Group A; 2) P<0.05 vs. Group B; 3)  $\chi^2$  test was used.

表4 不同促排卵方案≥40岁患者IVF/ICSI助孕结局比较  
Table 4 Comparison of IVF/ICSI outcomes of patients ≥40 years among different protocols [ $\bar{x} \pm s, \%(n)$ ]

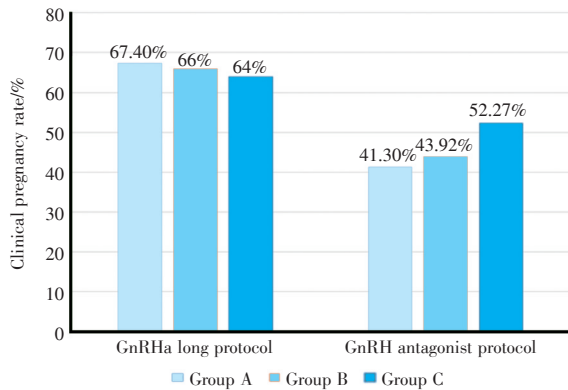
Groups	GnRHa long protocol					GnRH antagonist protocol				
	A(n=58)	B(n=106)	C(n=79)	F/ $\chi^2$	P	A(n=30)	B(n=40)	C(n=58)	F/ $\chi^2$	P
Number of oocytes retrieved/n	10.8±6.9	7.8±4.0	5.8±3.6	18.671	<0.001	5.9±4.6	5.1±2.3	4.2±3.1	2.807	0.064
Rate of embryo transfer cancelled because of no usable embryos/%(n)	5.2(3)	1.9(2)	5.1(4)	1.741 <sup>3)</sup>	0.392	10(3)	2.5(1)	8.6(5)	4.165 <sup>3)</sup>	0.230
Rate of matured oocytes/%	0.87±0.16	0.89±0.15	0.90±0.13	0.917	0.401	0.81±0.29	0.88±0.20	0.92±0.17	2.533	0.082
Rate of normally fertilized oocytes/%	55.5±34.4	56.4±32.4	47.0±39.0	1.782	0.171	58.9±35.7	69.9±30.0	61.9±35.3	1.040	0.357
Rate of abnormally fertilized oocytes/%	14.2±18.7	14.5±16.8	11.9±20.3	0.510	0.601	13.2±28.3	12.4±17.4	17.1±27.0	0.499	0.609
Fertilized rate/%	69.7±37.8	70.9±36.7	58.9±42.6	2.381	0.095	72.2±36.8	82.3±28.5	80.0±33.3	0.871	0.421
Cleavage rate/%	76.9±40.1	79.9±39.0	66.9±46.1	2.290	0.103	81.2±37.7	91.2±26.7	86.1±33.6	0.821	0.443
Rate of usable embryos/%	0.46±0.27	0.50±0.28	0.58±0.31 <sup>1)</sup>	3.458	0.033	0.62±0.31	0.66±0.27	0.62±0.32	0.321	0.726
Clinical pregnancy rate/%	40.0(18/45)	42.0(37/88)	30.9(21/68)	7.277 <sup>3)</sup>	0.211	27.3(6/22)	9.1(3/33)	7.4(2/27)	21.413 <sup>3)</sup>	0.002

A: low PDF; B: medium PDF; C: high PDF; 1): P<0.05 vs. Group A; 3)  $\chi^2$  test was used.

### 2.4 logistic 回归分析

长方案3 064个周期资料,采用二元回归模型,以临床妊娠作为因变量,代入女方年龄、AFC等多个指标,结果显示:女方年龄、Gn总量、AFC、

HCG日P、PDF、成熟卵子率与临床妊娠密切相关。而Gn天数及启动量、HCG日E2、正常受精率等与临床妊娠相关性不高(表5)。



GnRHa long protocol:  $\chi^2=1.090$ ,  $P=0.896$ ; GnRH antagonist protocol:  $\chi^2=8.279$ ,  $P=0.144$ .

图1  $\leq 30$ 岁患者长方案与拮抗剂方案中不同PDF临床妊娠率比较

Fig.1 Comparison of clinical pregnancy rate of age  $\leq 30$  patients between different Protocols

拮抗剂方案918个周期资料,采用二元回归模型,以临床妊娠作为因变量,代入女方年龄、AFC等多个指标,结果显示:女方年龄、体质量指数、Gn启动量、正常卵裂率与临床妊娠密切相关(表6)。

### 3 讨论

优势卵泡直径达18~22 mm时提示卵泡成熟。在促排卵周期中需给予HCG诱发排卵,给药时间需根据卵泡的成熟情况来确定,过早给予可导致卵泡闭锁,过迟给予可造成卵泡过熟老化和子宫内膜容受性下降。因此,HCG注射日优势卵泡18 mm以上卵泡比例与妊娠密切相关,对预测治疗周期妊娠机会具有重要意义。大量研究证实从优势卵泡中获得的卵子质量优于小卵泡<sup>[6]</sup>,因此大多数观点倾向于从大卵泡获取卵子易于形成优质的胚胎。获得妊娠者优势卵泡直径均在17~23 mm范围内,其中直径为18~22 mm者占93.3%<sup>[7]</sup>。临床现象中极大卵泡(直径大于23 mm)获卵率低,中等大小卵泡(直径约12~16 mm)获卵率高,仍有机会获得优质胚胎<sup>[8]</sup>;传统的方法根据HCG日17~18 mm以上卵泡数目1~3个即决定HCG注射时机,具有一定的片面性,年轻高卵巢储备的患者与高龄低卵巢储备的患者均以同一标准行HCG注射,后续的获卵情况及妊娠结局却可能截

表5 长方案中临床妊娠相关因素Logistic回归分析

Table 5 Logistic regression analysis of factors related to clinical pregnancy in GnRHa long

	B	SE	P	OR	OR 95% CI
Age/years	-0.072	0.011	0.000	0.931	(0.911, 0.950)
Total dose of Gonadotropin/U	0.000	0.000	0.025	1.000	(1.000, 1.000)
AFC	0.015	0.006	0.012	1.015	(1.003, 1.026)
P on the HCG day/( $\mu\text{g/L}$ )	-0.283	0.089	0.001	0.753	(0.663, 0.896)
PDF	-0.702	0.235	0.003	0.496	(0.313, 0.785)
Rate of matured oocytes/%	0.887	0.341	0.009	2.428	(1.245, 4.735)
Constant	2.524	0.482	0.000	12.478	/

AFC: Antral follicle count; P: progesterone; PDF: Proportion of dominant follicles

表6 拮抗剂方案中临床妊娠相关因素Logistic回归分析

Table 6 Logistic regression analysis of factors related to clinical pregnancy in GnRH antagonist protocol

	B	SE	P	OR	OR 95% CI
Age/years	-0.047	0.021	0.025	0.954	(0.916, 0.994)
BMI/( $\text{kg/m}^2$ )	0.057	0.029	0.050	1.059	(1.000, 1.121)
Initiation dose of gonadotropin/U	-0.005	0.002	0.004	0.995	(0.992, 0.998)
Rate of normally fertilized oocytes/%	0.010	0.004	0.014	1.010	(1.002, 1.017)
Constant	0.045	0.879	0.960	1.046	/

BMI: Body mass index.

然不同。因为不同患者使用同一方案卵泡发育同步性可能不一,同时同一患者使用不同方案卵泡发育情况可能不一致,单纯使用几个成熟卵泡数量确定HCG注射时机不适合所有方案、所有患者,有必要探索个体化的HCG注射时机。在我们的前期研究中发现高比例组卵子成熟率显著增加<sup>[9]</sup>,但优质胚胎率、种植率及妊娠率反而有所下降,一定程度上说明卵泡径线过大可能会对卵子质量造成负面影响,一方面可能是卵泡已黄素化,颗粒细胞开始发生凋亡增加,卵子可能老化,另一方面可能是影响了子宫内膜的容受性<sup>[10]</sup>。本研究在既往研究基础上改良后使用HCG日优势卵泡 $\geq 18$  mm卵泡数占直径10 mm以上卵泡总数比例作为HCG注射的参考依据,研究在比例不同的情况下不同年龄段、不同方案下注射HCG时机与妊娠结局的关系,进一步探索最适合HCG注射的优势卵泡比例。

不同方案中扳机时机可能对妊娠结局有不同程度的影响。长方案在完全抑制下丘脑-垂体-卵巢轴(hypothalamus-pituitary-ovarian axis, HPO)轴的情况下尽可能使多的卵泡发育成熟,获卵数与妊娠结局密切相关,推迟HCG注射将有更多的卵子可能成熟并被获得<sup>[11]</sup>,发生黄素化几率低,对内膜容受影响小。拮抗剂方案对HPO轴影响小,通过外源性Gn促卵子发育,卵子发育同步性较长方案差,主导卵泡生长快,HCG注射时机可能影响获卵数及后续胚胎发育。推迟HCG注射,成熟卵子率增加,但并不增加临床妊娠率。曾有学者推测在拮抗剂方案周期中,卵泡的募集波有2波<sup>[12-13]</sup>,前一周期黄体晚期卵泡募集波和月经周期卵泡早期卵泡募集波,可以体现在卵泡早期阴道B超上,卵泡大小不一。月经周期第3天开始使用外源性Gn,这两波卵泡均生长,但前一募集波卵泡更早进入优势卵泡群,后一募集波卵泡大小处于中等,于是出现了HCG注射时机的抉择问题。已有研究表明包括黄体期促排方案的证据均提示两波募集波获得的卵子质量或胚胎质量可能存在差异<sup>[14]</sup>。有研究提示在拮抗剂方案中增加成熟卵泡比例临床结局更好<sup>[15]</sup>。本研究结果提示增加优势卵泡比例在年轻患者不同年龄段患者中对临床结局影响小,但在高龄患者中增加优势卵泡比例,临床妊娠率明显降低。Logistic回归分析结果也提示PDF在常规方案中与年龄同时影响临床妊娠

的重要因素。我们推测年轻患者大多卵巢储备好,卵子发育受外界影响小,自我修复能力强<sup>[16]</sup>;高龄患者卵巢储备差,卵子发育较易受外界影响,自我修复能力差。

2014年我们首次提出使用HCG日成熟卵泡比例( $\geq 18$  mm以上卵泡数/卵泡总数)研究不同比例下注射HCG对卵子发育及妊娠结局的影响。由于HCG日卵泡总数包括一些小卵泡如10 mm以下卵泡具有较大的个体差异、方案差异性,为了能更好的优化优势卵泡比例这一指标,我们此次回顾性分析大样本的临床资料,旨在初步探索合适的优势卵泡比例指导临床决策。虽然在基线资料上有少数指标出现组间统计学差异,限于本研究是回顾性研究,存在多种混杂因素和偏倚。但年龄作为临床妊娠率的独立影响因素,在组间比较差异均无统计学意义。再加上回归分析结果,有理由相信本文分析的结论是有较大信服力的。HCG日优势卵泡比可以反映卵泡发育的同步性,推迟HCG注射可使成熟卵子率增加,但可能出现孕酮的提早升高,子宫内膜容受性受影响。合适的HCG日优势卵泡比,可使合适数量的卵子,达到细胞质及细胞核的同步成熟,优质胚胎数目多,保证了妊娠结局。既往有学者曾提出FORT(卵泡输出率)的概念<sup>[17-19]</sup>,在我们看来HCG日优势卵泡的数量及质量才是影响ART结局的关键因素。目前相关的研究极少,如何抓住特定人群如PCOS、高龄等人群特点利用HCG日优势卵泡比保证患者预后,是本研究的目的之一。在年轻( $\leq 30$ 岁)的患者中,年龄与卵子质量均较好,无论长方案或拮抗剂方案,随着HCG日优势卵泡比增加可能影响成熟卵子率,但不影响临床结局。而在高龄( $\geq 40$ 岁)患者中,年龄大卵子质量不佳,无论长方案或拮抗剂方案,HCG日优势卵泡比例 $>40\%$ ,临床妊娠率明显降低,在拮抗剂方案中将优势卵泡比例控制在20%以内更重要。

总结,HCG注射时机是控制性超排卵中重要的环节,个体化的把握注射时机对患者个体的临床妊娠结局产生重要的影响。与传统方法不同,本研究通过引入优势卵泡比例在大样本中比较不同年龄段、不同方案间比例的选择决定HCG注射时机,为控制性超促排卵个体化治疗提供了依据。

## 参考文献:

- [1] 乔杰,马彩虹,刘嘉茵,等. 辅助生殖促排卵药物治疗专家共识[J]. 生殖与避孕, 2015, 35(4): 211-223.  
Qiao J, Ma CH, Liu JY, et al. Expert consensus on the treatment of assisted reproductive ovulation induction drugs[J]. *Reprod & Contracept*, 2015, 35(4): 211-223.
- [2] Geng Y, Xun Y, Hu S, et al. GnRH antagonist versus follicular-phase single-dose GnRH agonist protocol in patients of normal ovarian responses during controlled ovarian stimulation[J]. *Gynecol Endocrinol*, 2018, 15: 1-5.
- [3] Lambalk CB, Banga FR, Huirme JA, et al. GnRH antagonist versus long agonist protocols in IVF: a systematic review and meta-analysis accounting for patient type[J]. *Hum Reprod Update*, 2017, 23(5): 560-579.
- [4] Wang R, Lin S, Wang Y, et al. Comparisons of GnRH antagonist protocol versus GnRH agonist long protocol in patients with normal ovarian reserve: A systematic review and meta-analysis[J]. *PLoS One*, 2017, 12(4): e0175985.
- [5] Lin H, Li Y, Li L, et al. Is a GnRH antagonist protocol better in PCOS patients? A meta-analysis of RCTs[J]. *PLoS one*, 2014, 9(3): e91796.
- [6] Kahraman S, Cetinkaya CP, Cetinkaya M, et al. The effect of follicle size and homogeneity of follicular development on the morphokinetics of human embryos[J]. *J Assist Reprod Genet*, 2017, 34(7): 895-903.
- [7] Ahmadi F, Akhbari F, Zamani M, et al. Value of endometrial echopattern at HCG administration day in predicting IVF outcome[J]. *Arch Iran Med*, 2017, 20(2): 101-104.
- [8] Nivet AL, Léveillé MC, Leader A, et al. Transcriptional characteristics of different sized follicles in relation to embryo transferability: potential role of hepatocyte growth factor signalling[J]. *Mol Hum Reprod*, 2016, 22(7): 475-484.
- [9] 李轶,李瑞岐,区颂邦,等. 成熟卵泡比例与HCG注射时机的选择及对卵子发育潜能的影响[J]. 中山大学学报(医学科学版), 2014, 35(4): 552-558.  
Li Y, Li RQ, Ou SB, et al. Proportion of dominant follicles as the guidance of HCG triggering and its effect on the oocyte development competence[J]. *J Sun Yat-sen Univ (Med Sci)*, 2014, 35(4): 552-558.
- [10] Kolibianakis EM, Bourgain C, Papanikolaou EG, et al. Prolongation of follicular phase by delaying hCG administration results in a higher incidence of endometrial advancement on the day of oocyte retrieval in GnRH antagonist cycles[J]. *Hum Reprod*, 2005, 20(9): 2453-2456.
- [11] Vandekerckhove F, Gerris J, Vansteelandt S, et al. Delaying the oocyte maturation trigger by one day leads to a higher metaphase II oocyte yield in IVF/ICSI: a randomized controlled trial[J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2014, 12(1): 31.
- [12] Baerwald AR, Adams GP, Pierson RA. Characterization of ovarian follicular wave dynamics in women[J]. *Biol Reprod*, 2003, 69(3): 1023-1031.
- [13] Vegetti W, Alagna F. FSH and folliculogenesis: from physiology to ovarian stimulation[J]. *Reprod Biomed Online*, 2006, 12(6): 684-694.
- [14] Li Y, Yang W, Chen X, et al. Comparison between follicular stimulation and luteal stimulation protocols with clomiphene and HMG in women with poor ovarian response[J]. *Gynecol Endocrinol*, 2016, 32(1): 74-77.
- [15] Hu X, Luo Y, Huang K, et al. New perspectives on criteria for the determination of HCG trigger timing in GnRH antagonist cycles[J]. *Medicine*, 2016, 95(20): e3691.
- [16] López Martín MJ, García D, Vassena R, et al. Oocyte developmental Competence is independent of ovarian reserve in women younger than 35 years[J]. *Reprod Biomed Online*, 2018, 37(6): 677-684.
- [17] Gallot V, Berwanger da Silva AL, Genro 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.
- [18] Genro VK, Matte U, De Conto E, et al. Frequent polymorphisms of FSH receptor do not influence antral follicle responsiveness to follicle-stimulating hormone administration as assessed by the Follicular Output RaTe (FORT) [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2012, 29(7): 657.
- [19] 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.

(编辑 余菁)