

## 正常卵巢功能患者使用不同降调方案的临床研究

谢言信, 潘萍, 林海燕, 杨冬梓, 李予  
(中山大学孙逸仙纪念医院妇产科生殖中心, 广东广州 510120)

**摘要:**【目的】探讨不同剂量促性腺激素激动剂(GnRH- $\alpha$ )对卵巢储备功能正常的年轻女性垂体降调程度及体外受精与胚胎移植(IVF-ET)妊娠结局的影响。【方法】63名年龄 $<35$ 岁卵巢储备功能正常、拟行GnRH- $\alpha$ 长方案助孕的不孕患者,按曲普瑞林的剂量随机分为三组降调,0.05 mg/d,0.1 mg/d和1.25 mg 单次,达到降调标准后常规予高纯度的尿促性腺激素(HMG-HP)促排卵,比较各组降调程度及IVF结局。【结果】三组在注射GnRH- $\alpha$ 后均达到降调标准,达到降调的平均天数,降调后启动日的LH、E<sub>2</sub>水平,窦卵泡总数、 $<4$  mm及8~9 mm的窦卵泡数差异无统计学意义。启动日当天,三组间血FSH水平差异具有显著统计学意义[(3.92 $\pm$ 1.12) U vs. (3.03 $\pm$ 1.14) U vs. (2.05 $\pm$ 1.12) U,  $P<0.001$ ]。短效0.05 mg组在GnRH- $\alpha$ 注射4 h后,血清FSH、LH水平均高于短效0.1 mg组。达到降调标准后,三组Gn启动剂量、使用时间及使用总量相似的情况下,hCG日直径14~18 mm卵泡数[(3.91 $\pm$ 2.12)个 vs. (5.81 $\pm$ 3.55)个 vs. (6.43 $\pm$ 3.39)个,  $P<0.001$ ]、 $\geq 18$  mm/ $\geq 10$  mm卵泡数比例[(33.1% $\pm$ 13.2%) vs. (24.0% $\pm$ 12.4%) vs. (30.1% $\pm$ 12.2%)],  $P<0.05$ ],差异具有统计学意义。0.05 mg组hCG日LH水平明显高于0.1 mg组与1.25 mg组[(2.47 $\pm$ 1.33) U vs. (1.80 $\pm$ 0.69) U vs. (1.43 $\pm$ 0.53) U,  $P<0.05$ ],但三组均未出现早发LH峰和提前排卵。尽管三组获卵数差异存在统计学意义,分别为[(10.14 $\pm$ 4.80)个 vs. (11.51 $\pm$ 2.42)个 vs. (12.79 $\pm$ 2.73)个,  $P<0.05$ ],但三组之间MII卵子数相似,且0.05 mg组的E<sub>2</sub>水平/获卵数水平明显高于其他两组[(282.33 $\pm$ 42.13) U vs. (221.62 $\pm$ 32.02) U vs. (200.03 $\pm$ 37.89) U,  $P<0.001$ ]。三组新鲜周期活产率分别为61.9%、55.0%和50.0%,每取卵周期累积活产率分别为85.7%、76.2%和75.0%,0.05 mg组的临床妊娠率、活产率、累积临床妊娠率及累积活产率较0.1 mg组、1.25 mg组有升高趋势。【结论】对于卵巢储备功能正常的年轻不孕女性,GnRH- $\alpha$ 用量减少,达到降调后,垂体降调程度减轻,hCG日LH水平升高,虽然获卵数减少,但E<sub>2</sub>水平/获卵数显著升高,新鲜移植周期活产率及取卵周期的累积活产率均有升高趋势。

**关键词:**促性腺激素释放激素激动剂(GnRH- $\alpha$ );体外授精与胚胎移植;垂体降调

**中图分类号:**R711.6 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-3554(2018)03-0405-08

### Three GnRH Agonist Protocols of Down Regulation on Pituitary Suppression and Pregnancy Outcome of In Vitro Fertilization in Women with Normal Ovarian Reserve: A Randomized-Control Clinical Trial

XIE Yan-xin, PAN Ping, LIN Hai-yan, YANG Dong-zi, LI Yu

(IVF center, Sun Yat-Sen Memorial Hospital, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510020, China)

corresponding to: Li Yu; E-mail: liyuliyu0922@163.com

**Abstract:**【Objective】To investigate the effects of different doses of gonadotropin releasing hormone agonist (GnRH- $\alpha$ ) on the down-regulation of normal ovarian reserve, and compared the down-regulation level as well as the clinical outcome of in vitro fertilization and embryo transfer (IVF-ET) cycles.【Methods】This RCT study included 63 infertility couples of age $<35$  yrs. women with normal ovarian reserve function who were intended to received GnRH- $\alpha$  long protocol treatment. Of the 63 women were randomly divided into three groups according to the dose of triptorelin, 21 received daily 0.05 mg

收稿日期:2017-12-18

基金项目:广东省教育部产学研结合项目(2013B090500096)

作者简介:谢言信, 硕士, 医师, 研究方向:辅助生育技术、生殖内分泌, E-mail: joycat0930@qq.com; 李予, 通信作者, 副主任医师, 硕士生导师, E-mail: liyuliyu0922@163.com

short-acting GnRH- $\alpha$ , 21 received daily 0.1 mg short-acting GnRH- $\alpha$ , while 21 received reduced-dose depot of 1.25 mg GnRH- $\alpha$ . 【Results】 In the three groups, the average duration of down-regulation reached after injection of GnRH- $\alpha$ , the level of LH and E<sub>2</sub>, the total number of antral follicles, the number of antral follicles of <4 mm and 8-9 mm were similar. The serum follicle-stimulating hormone level on the day of gonadotropin initiation were significantly higher in the two short-acting groups compared with the long-acting group [(3.92±1.12) U vs. (3.03±1.14) U vs. (2.05±1.12) U,  $P<0.001$ ]. Four hours after the GnRH $\alpha$  injection, the serum FSH, LH levels were higher in short-acting 0.05 mg group than the short-acting short-acting 0.1 mg group. Both number of days of gonadotropin stimulation and gonadotropin doses were similar in three groups. On the day of hCG administration, the numbers of 14-18mm diameter follicles [(3.91±2.12) vs. (5.81±3.55) vs. (6.43±3.39),  $P<0.001$ ] as well as the proportion of follicles with diameter  $\geq 18$  mm/ $\geq 10$  mm [(33.1%±13.2%) vs. (24.0%±12.4%) vs. (30.1%±12.2%),  $P<0.05$ ], were both statistically significant different in three groups. Although serum LH level on hCG day was significantly increased in 0.05 mg group [(2.47±1.33) U vs. (1.80±0.69) U vs. (1.43±0.53) U,  $P<0.05$ ]. No premature LH surge and premature ovulation was observed. The number of retrieved oocytes was significant different [(10.14±4.80) vs. (11.51±2.42) vs. (12.79±2.73),  $P<0.05$ ]. However, no significant differences was found regard to the number of MII oocytes, and the serum estrogen level per egg was significant higher in 0.05 mg group [(282.33±42.13) U vs. (221.62±32.02) U vs. (200.03±37.89) U,  $P<0.001$ ]. The live birth rate (LBR) of these three groups in fresh cycles were 61.9%, 55.0%, and 50.0%, respectively. The cumulative LBR were 85.7%, 76.2%, and 75.0%, respectively. A increased trend was observed in the clinical pregnancy rate, cumulative clinical pregnancy rate and cumulative LBR in 0.05 mg group than the other two groups. 【Conclusion】 For women with normal ovarian reserve, as the GnRH- $\alpha$  dosage decreased, the down-regulation of pituitary reduced, while serum LH levels on the day of hCG trigger increased. The number of oocytes retrieved was decreased, the proportion of cycles which retrieved > 15 oocytes was also lower. However, the average estrogen level per egg was significant increased, and a better clinical outcome of IVF-ET was received.

Key words: gonadotropin releasing hormone agonist; in vitro fertilization and embryo transfer; pituitary down-regulation

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2018, 39(3):405-412]

促性腺激素激动剂(gonadotropin releasing hormone agonist, GnRH- $\alpha$ )目前被广泛用于体外受精-胚胎移植(in vitro fertilization and embryo transfer, IVF-ET)的垂体降调节,使卵泡发育同步化,内源性黄体生成素(luteotropic hormone, LH)峰得以抑制,阻遏卵泡过早黄素化,达到多卵泡发育,同一周期获得更多卵子的目的。目前临床使用的GnRH- $\alpha$ 分为长效3.75 mg和短效0.1 mg两种剂型。两种剂型用于促排卵长方案均可获得满意的垂体降调节效果。长效GnRH- $\alpha$ 单次全量注射,药物可有规律的均匀释放28 d,但可能导致垂体过度抑制,促排卵过程中患者使用性腺激素(gonadotropin, Gn)制剂时间、总剂量明显增加,因此临床上尝试将GnRH- $\alpha$ 减量或使用短效制剂,以达到防止卵巢过度抑制,减少促排卵药物使用时间及总量的目的。本研究拟对卵巢储备功能正常的年轻不孕女性,随机分组,对比使用不同剂量、剂型的GnRH- $\alpha$ 后垂体降调节程度及卵泡同步化是否存在差异,以及对IVF助孕

结局有无影响,从而为临床选择降调节方案提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究对象

2013年6月至10月,63名患者于中山大学孙逸仙纪念医院生殖医学中心进入该临床随机对照研究。入选标准:①20~35岁不孕患者;②既往月经规则,月经周期25~35 d;③体质量指数(body mass index, BMI): 18~25 kg/m<sup>2</sup>;④基础血清卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)<10 U/L;⑤窦卵泡计数(Antral follicle count, AFC)>7个;⑥双侧卵巢同时存在。排除标准:①中重度子宫内膜异位症;②有卵巢手术史;③既往助孕治疗有卵巢反应不良史;④多囊卵巢综合征;⑤下丘脑-垂体功能障碍;⑥高催乳素血症;⑦合并其它疾病,包括糖尿病、高血压、甲状腺疾病等;⑧既往体外受精助孕 $\geq 3$ 次;⑨有临床意义的宫腔病变未纠

正。本研究获得中山大学孙逸仙纪念医院生殖伦理委员会批准,患者均经充分咨询后签署知情同意书。

### 1.2 降调节方案与分组

63名入组患者均于自然月经周期的黄体中期进行垂体降调节,随机分为3组,每组21例:1组皮下注射短效曲普瑞林(达必佳,0.1 mg/支,德国辉凌制药有限公司)0.05 mg/d至注射人绒毛膜促性腺激素(hCG)日;2组皮下注射短效曲普瑞林(达必佳,0.1 mg/支,德国辉凌制药有限公司)0.1 mg/d至注射hCG日;3组单次皮下注射长效曲普瑞林(达必佳,3.75 mg/支,德国辉凌制药有限公司)1.25 mg。于降调节后14 d测患者FSH、LH、雌二醇(estradiol,  $E_2$ )水平,卵巢窦卵泡数及子宫内膜厚度评估,垂体降调节的判定标准为:FSH<5 U/L, LH<5 U/L,  $E_2$ <185 pmol/L, 双侧卵巢窦卵泡直径均<10 mm,且未见卵泡囊肿,子宫内膜厚度≤5 mm。达到降调节标准日,测量各组窦卵泡的数目及直径,组1及组2还增加测定当日注射达必佳前及注射后4 h的血FSH、LH及 $E_2$ 水平;同时测定各组降调节前后的抗苗勒管激素(anti-Mullerian hormone, AMH)水平。

### 1.3 促排卵/体外受精与胚胎移植

达到降调节标准后开始促排卵,根据患者的年龄、AMH、AFC及基础性激素水平决定用药剂量,每天予150~225 U的HMG-HP(贺美奇,75 U/支,德国辉凌制药有限公司)。定期监测患者卵泡生长情况及血清 $E_2$ 、LH、孕酮(progesterone, P)水平,必要时调整HMG-HP的剂量。当直径≥18 mm的卵泡有两个以上时,于当晚肌肉注射hCG(珠海丽珠制药公司)6 000~10 000 U,34~36 h后行B超引导下经阴道取卵术,术后常规给予黄体酮60 mg/d,肌肉注射,行黄体支持。取卵后4~6 h后根据患者配偶精子条件行IVF或ICSI受精,常规观察受精及胚胎培养,于取卵72 h后移植2个卵裂期胚胎,并将剩余的可利用胚胎于当日行玻璃化冷冻保存。移植后2周查血hCG确定生化妊娠,移植后4~5周行B超检查以确定临床妊娠及孕囊数目,宫内见孕囊为宫内临床妊娠。随访妊娠及分娩结局,妊娠≤12周丢失者为早期流产,活胎分娩为活产。新鲜胚胎移植未妊娠者,如有冷冻胚胎,于取卵1~3月后行自然周期解冻胚胎移植;经阴道超声结合尿LH检测确定排卵日,排卵后常规给

予微粒化黄体酮胶囊400 mg/d(安琪坦,博赏医药公司),于排卵后的第3天移植2个复苏胚胎,随访临床妊娠及分娩结局。

### 1.4 血清AMH的检测

血清性激素的浓度测定使用免疫化学发光测定法(UniCelDxi 800 Access, Beckman Coulter, Inc., USA)。血清AMH的浓度则使用酶联免疫吸附试验(ELISA; Ansh Labs, 英国)测定,检测范围是0.06~18 ng/mL。

### 1.5 评估指标

主要评估指标降调节的程度与效果、卵泡大小的均一性,次要评估指标为移植周期的活产率及取卵周期的累积活产率。

### 1.6 样本量计算与统计学分析

样本量是以本生殖中心2012年10月至12月间三种降调节方案的平均获卵数为基础[分别为(8.60±3.13), (12.22±4.03), (11.42±4.23)],由PAS软件计算获得。检验效能为1-β=80%,统计学差异水平为α=0.05,得出每组需要病例数至少21例。使用SPSS 16.0软件进行统计学分析,计量资料以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用方差分析,post-hoc比较采用LSD法;计数资料以率(%)表示,分析采用ANOVA检验, P<0.05为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 患者的基本资料

三组患者之间的年龄、BMI、原发不孕的比例、不孕年限、各种不孕原因,卵巢储备评估指标AFC、AMH及基础FSH等差异均无统计学意义(P>0.05;表1)。

### 2.2 三组垂体降调效果的比较:

比较三组间达到降调节标准、启动促排卵日的血FSH、LH、 $E_2$ 水平以及不同直径窦卵泡的数目,并且在组1和组2比较达到降调节日注射短效GnRH-α后4 h血FSH、LH的水平。三组均达到降调节标准,达到降调节的平均天数,降调节后启动日的LH、 $E_2$ 水平,窦卵泡总数、<4 mm及8~9 mm的窦卵泡数差异无统计学意义(P>0.05)。降调节后的启动日,三组间血FSH水平的差异均有统计学意义(P<0.05), post-hoc分析各组间FSH水平差异有统计学意义(P<0.025);4~7 mm窦卵泡数三

表1 三组患者的一般情况

Table 1 Three groups of patients in general

(n=21)

	Group			F	P
	1(0.05 mg)	2(0.1 mg)	3(1.25 mg)		
Age/years	29.81±2.22	28.71±2.45	30.28±2.02	2.711	0.075
BMI/(kg/m <sup>2</sup> )	21.41±2.81	20.41±2.07	20.70±2.29	0.952	0.392
Infertility period/years	4.08±2.03	4.14±2.74	3.80±1.80	0.134	0.875
Primary infertility	54.6%	52.4%	61.9%	0.514	0.773
Infertility causes Male factor	7	6	8		0.807
Pelvic factors	8	9	5		0.403
Unknown reasons	1	0	1		0.597
Dual factors	5	6	7		0.792
Basic FSH/(U/L)	8.22±1.52	7.41±1.50	8.19±1.49	2.021	0.141
AFC	17.52±6.60	16.73±5.61	14.85±4.06	1.292	0.282
AMH/(ng/mL)	3.44±1.75	3.70±2.33	3.95±3.18	0.213	0.808

BMI: body mass index; FSH: follicle-stimulating hormone; AMH: anti mullerian hormone

表2 三组患者降调节后血清性激素、窦卵泡及垂体兴奋状态的评估

Table 2 Evaluation of serum sex hormone, antral follicles and pituitary down-regulation excited state in the three groups (n=21)

	Group			F	P
	1(0.05 mg)	2(0.1 mg)	3(1.25 mg)		
Days of down-regulation	15.02±1.81	14.69±1.32	15.10±1.73	0.404	0.669
FSH(U/L) on initiation day	3.92±1.12	3.03±1.14 <sup>1)</sup>	2.05±1.12 <sup>1)</sup>	16.814	0.000
LH(U/L) on initiation day	1.79±0.61	1.70±0.63	2.02±0.64	1.163	0.319
E <sub>2</sub> (pg/L) on initiation day	15.74±8.69	15.82±10.54	15.8±11.8	0.001	0.999
AFC on the day of Gninitiation	18.31±6.74	17.53±7.49	14.42±5.00	2.109	0.130
Diameter <4 mm	4.53±3.72	6.14±4.93	5.53±4.42	0.744	0.480
Diameter 4~7 mm	13.49±7.52	11.22±6.51	8.81±6.22 <sup>1)</sup>	2.562	0.086
Diameter 8~9 mm	0.30±0.81	0.11±0.49	0.00±0.21	1.466	0.239
GnRH $\alpha$ 4 h FSH/(U/L)	7.42±3.43	4.21±1.41 <sup>1)</sup>	/	3.966	0.000
GnRH $\alpha$ 4 h LH/(U/L)	5.21±2.03	3.22±2.62 <sup>1)</sup>	/	2.764	0.009
GnRH $\alpha$ 4 h E <sub>2</sub> (pg/L)	23.32±10.43	18.88±11.74	/	1.333	0.190

1) significant difference compared to group 1.

组间差异未达统计学意义( $P=0.086$ ),但 post-hoc 分析组1和组3之间差异有统计学意义( $P<0.025$ ); GnRH- $\alpha$ 后4 h血FSH、LH水平组1和组2间差异有统计学意义( $P<0.05$ ),但E<sub>2</sub>水平各组间差异无统计学意义( $P>0.05$ ;表2)。

### 2.3 三组促排卵与胚胎实验室参数的比较

组2有1名患者因为宫腔内膜薄取消胚胎移植;组3有3名患者因为卵巢过度刺激综合症风险(ovarian hyperstimulation syndrome, OHSS)取消移植,1名患者因腹痛不适取消移植,1名患者因为不明原因卵巢反应不良取消取卵周期。

三组促排卵使用Gn启动剂量分别、Gn刺激时间、Gn总量差异无统计学意义( $P>0.05$ )。hCG日三组直径 $\geq 18$  mm及10~14 mm卵泡数差异无统计学意义( $P>0.05$ );卵泡直径为14~18 mm卵泡数分别为(3.91±2.12)、(5.81±3.55)、(6.43±3.39)个,差异有统计学意义( $P=0.031$ ),post-hoc分析组1和组3之间差异有统计学意义( $P<0.025$ );卵泡直径 $\geq 18$  mm/ $\geq 10$  mm比例分别为33.1%±13.2%、24.0%±12.4%、30.1%±12.2%,post-hoc分析组1和组2之间差异有统计学意义( $P<0.025$ )。三组获卵数分别为(10.14±4.80)、(11.51±2.42)、(12.79±2.73)个,

差异有统计学意义( $P=0.048$ ), post-hoc 分析组 1 和组 3 之间差异有统计学意义( $P<0.025$ )。hCG 日三组血 LH 水平的差异均有统计学意义( $P<0.05$ ), post-hoc 分析各组间 LH 水平差异有统计学意义( $P<0.025$ ); 获卵数三组间差异有统计学意义( $P=0.047$ ), post-hoc 分析组 1 和组 3 之间差异有统计学意义( $P<0.025$ );  $E_2$  水平/获卵数三组间差异有统计学意义( $P<0.001$ ), post-hoc 分析组 1 和组 2、组 1 和组 3 之间差异有统计学意义( $P<0.025$ ), 但组 2 和组 3 之间差异无统计学意义( $P>0.025$ )。三组间获卵 15 个以上周期比例分别为 23.8%、52.4%、45.0%, 三组间差异无统计学意义( $P=0.147$ ), 但组 1 和组 2 间, 获卵 15 个以上周期比例差异但未达

统计学意义( $P=0.055$ )。另外 ICSI 周期比例、2PN 受精率、可利用胚胎数、可利用胚胎率及优质胚胎率之间差异无统计学意义( $P>0.05$ , 表 3)。

组 1 取卵术后 1 人(获卵 15 个)发生轻度 OHSS 予门诊治疗后好转, 并行新鲜胚胎移植; 组 2 取卵术后 1 人(获卵 22 个)发生轻度 OHSS 予门诊治疗后好转, 并行新鲜胚胎移植; 组 3 取卵后, 3 人(分别获卵 38、16 和 29 个)因发生中度 OHSS, 取消新鲜胚胎移植, 予门诊治疗后好转。

2.4 三组妊娠及分娩结局的比较

三组平均移植胚胎数差异无统计学意义。组 1 完成 21 个新鲜胚胎移植周期, 13 周期获得临床妊娠, 10 人单胎妊娠, 3 人双胎妊娠(1 人中期妊娠

表 3 三组患者使用 Gn 降调后, hCG 日血清性激素、卵泡径线分布, 获卵情况及胚胎情况的评估  
Table 3 Data of Gn dose, serum hormones and follicular diameter distribution on the hCG trigger day, oocyte retrieval and evaluation of embryo conditions

	Group			F	P
	1 (0.05 mg)	2 (0.1 mg)	3 (1.25 mg)		
Cancellation cycle of POR	0	0	1		
Oocyte retrieval cycles	21	21	20	/	/
Gn started dose/U	162.50±44.89	153.57±35.38	162.50±32.11	0.389	0.679
Duration of stimulation/d,	12.00±2.30	11.57±2.44	12.76±2.65	1.083	0.345
Total Gn dose/U	2 060.69±590.53	1 853.52±468.36	2 239.28±947.87	1.691	0.210
hCG trigger Day					
Number of Follicles ≥18 mm	4.33±2.21	3.42±1.74	4.41±2.32	1.406	0.253
Number of Follicles 14~18 mm	3.91±2.12	5.81±3.55	6.43±3.39 <sup>1)</sup>	3.681	0.031
Number of Follicles 10~14 mm	4.63±2.41	6.72±4.15	4.73±2.91	2.732	0.073
≥18mm/≥10mm rate	33.1%±13.2%	24.0%±12.4% <sup>1)</sup>	30.1%±12.2%	3.199	0.048
LH(U/L) on the day of hCG	2.47±1.33	1.80±0.69 <sup>1)3)</sup>	1.43±0.53 <sup>1)2)</sup>	6.667	0.002
$E_2$ (pg/L) on the day of hCG	3 277.12±1 506.32	3 632.31±1 170.82	3 576.76±1 287.73	0.354	0.703
P(ng/mL) on the day of hCG	0.81±0.49	0.88±0.39	0.72±0.37	0.719	0.492
Endometrial thickness/mm	12.17±2.51	11.26±1.97	12.41±2.88	1.242	0.296
Number of oocyte retrieved	10.14±4.80	11.51±2.42	12.79±2.73 <sup>1)</sup>	3.215	0.047
Number of mature oocytes	11.61±12.10	10.12±5.89	11.02±6.33	0.157	0.855
Oocytes ≥15 ratio	23.8% (5/21)	52.4% (11/21)	45.0% (9/20)		0.147
$E_2$ /oocyte ratio/(pg/L)	282.33±42.13	221.62±32.02	200.03±37.89 <sup>1)</sup>	30.707	0.000
ICSI rates	19.0% (4/21)	23.8% (5/21)	30.0% (6/20)		0.714
Normal fertilization rate	81.6%±20.9%	86.8%±13.8%	85.4%±18.0%	0.460	0.634
Number of embryos available	4.91±3.32	6.61±3.22	6.94±5.03	1.624	0.206
Available embryo rate	85.7%±27.1%	77.7%±26.0%	78.4%±21.4%	0.644	0.529
Top-quality embryos rate	49.0%±33.0%	44.7%±35.3%	46.4%±29.7%	0.094	0.911
OHSS rate	1/21	1/21	3/20		0.384

POR: poor ovarian response; 1) significant difference compared to group 1; 2) significant difference compared to group 2; 3) significant difference compared to group 3.

时双胎之一停育),现均获得活产。新鲜胚胎移植周期未孕者,共行6周期冷冻胚胎移植周期,5周期获得临床妊娠,4人单胎妊娠,1人双胎妊娠,现均获得活产。组2完成20周期新鲜胚胎移植,11周期获得临床妊娠,4人单胎妊娠,7人双胎妊娠(2人中期妊娠时双胎之一停育),现均获得活产。新鲜周期未孕者,先后完成11周期冷冻胚胎移植,其中5周期获得临床妊娠,4人单胎妊娠,1人双胎妊娠,现均获得活产。组3完成16个新鲜胚胎移植周期,8周期获得临床妊娠,5人单胎妊娠,3人双胎妊娠,现均已活产。新鲜周期未孕

者,先后完成14周期冷冻胚胎移植,7周期获得临床妊娠,其中4人单胎妊娠,3人双胎妊娠,均已获得活产(表4)。

三组间,新鲜周期临床妊娠率分别为61.9%、55.0%和50.0%,种植率分别为76.2%、90.0%和68.8%,活产率分别为61.9%、55.0%和50.0%,每取卵周期累积临床妊娠率分别为85.7%、81.0%和75.0%,每取卵周期累积活产率分别为85.7%、76.2%和75.0%,各组之间差异无统计学意义。但组1的临床妊娠率、活产率、累积临床妊娠率及累积活产率较组2和组3有升高趋势。

表4 三组患者妊娠及分娩结局的比较

Table 4 Comparison of pregnancy rates and delivery outcomes in three groups

	Group			F	P
	1(0.05 mg)	2(0.1 mg)	3(1.25 mg)		
Cancel ET cycles	0	1	4	/	/
Number of fresh ET cycles	21	20	16		
Number of transferred embryos	2.10±0.49	2.09±0.32	2.00±0.10	0.717	0.493
Clinical pregnancy rate(/fresh ET)	61.9%(13/21)	55.0%(11/20)	50.0%(8/16)		0.764
Implantation rate(/fresh ET)	76.2%(16/21)	90.0%(18/20)	68.8%(11/16)		0.277
Live birth rate(/fresh ET)	61.9%(13/21)	55.0%(11/20)	50.0%(8/16)		0.764
Cumulative clinical pregnancy rate(/OPU)	85.7%(18/21)	81.0%(17/21)	75.0%(15/20)		0.685
Cumulative live birth rate(/OPU)	85.7%(18/21)	76.2%(16/21)	75.0%(15/20)		0.649

The count data was expressed as a rate (%), and the analysis used ANOVA test.

### 3 讨论

在IVF-ET促排卵周期中使用GnRH- $\alpha$ 进行降调节可以促进卵泡发育同步化,抑制内源性黄体生成素LH峰的产生,从而阻止卵泡过早黄素化或提前排卵。临床常用GnRH- $\alpha$ 制剂有长效和短效制剂之分。目前临床上将长效GnRH- $\alpha$ 减量使用防止卵巢过度抑制,减少Gn使用剂量及时间。而短效GnRH- $\alpha$ 与长效减量使用相比,因短效制剂半衰期短,需要每天注射以维持药效,比较繁琐,但其降调节剂量可根据患者垂体抑制程度进行个体化调整,因此在临床上也广泛使用。GnRH- $\alpha$ 垂体降调程度可能影响卵泡的同步化和促排卵结局,影响卵泡降调程度的因素包括GnRH- $\alpha$ 剂量和GnRH- $\alpha$ 降调持续时间。Dal Prato等2004年研究了降调节程度也与年龄的关系,研究发现小于38岁的妇女不管使用长效或短

效GnRH- $\alpha$ ,其降调程度均低于大于或等于38岁组<sup>[1]</sup>。本研究选取了20~35岁不孕年轻患者,按GnRH- $\alpha$ 的剂量随机分为三组降调节,0.05 mg/d,0.1 mg/d和1.25 mg单次<sup>[2]</sup>,达到降调节后常规予高纯度的尿促性腺激素(HMG-HP)促排卵,前瞻性的比较了各组降调节效果及IVF-ET结局。

本研究中,三组在注射GnRH- $\alpha$ 后均达到降调节标准,达到降调节的平均天数,降调节后启动日的LH、E<sub>2</sub>水平,窦卵泡总数、卵泡直径<4 mm及8~9 mm的窦卵泡数相似。我们发现,三组降调后启动日当天,血清FSH以组1水平最高,组2次之,组3FSH水平最低,而短效0.05 mg组在GnRH- $\alpha$ 注射4 h后,血清FSH、LH水平均高于短效0.1 mg组。这说明长效1/3剂量GnRH- $\alpha$ (1.25 mg)对下丘脑-垂体-卵巢轴抑制效果明显强于短效制剂,而短效剂量越大,对HPO轴抑制越强。卵泡直径2~8 mm存在不同步性,这种不同步性在促排卵过程中进一步扩大<sup>[3]</sup>,本研究发现,长效

1.25 mg组 4~7 mm 窦卵泡数明显少于 0.05 mg 组, 长效 GnRH- $\alpha$  对卵泡发育同步性更明显, 这之前研究结论<sup>[4-5]</sup>相似。

在本研究中, 达到降调标准后, 三组 Gn 启动剂量、使用时间及使用总量相似的情况下, hCG 日直径 14~18 mm 卵泡数组 1 最少, 组 2、3 明显增多。随着卵泡发育不同步性的进一步扩大, 至 hCG 日卵泡直径  $\geq 18$  mm/ $\geq 10$  mm 卵泡数比例以组 1、2 较多, 组 3 明显减少, 这可能与由于短效长方案每天注射 GnRH- $\alpha$  后会形成 GnRH 脉冲释放, 诱发内源性 FSH、LH 脉冲式分泌, 导致卵泡发育同步化下降有关。GnRH- $\alpha$  的血药浓度在 0.11  $\mu$ g/L 时即可有效抑制 LH 水平, 本研究中, 虽然组 1 hCG 日 LH 水平明显高于组 2、3, 但三组未出现早发 LH 峰和提前排卵。

组 1 平均获卵数明显低于组 3, 但三组之间 MII 卵子数相似。组 1 的 E<sub>2</sub> 水平/获卵数比值明显高于组 3, 这可能与 GnRH- $\alpha$  下调大卵泡颗粒细胞甾体激素生成, 在长效 GnRH- $\alpha$  抑制作用下, LH 水平下降, 卵泡发育不均匀, 成熟卵泡减少, 导致雌激素水平下降, 卵母细胞质量下降有关<sup>[6]</sup>。hCG 日 E<sub>2</sub> 水平/获卵数比值影响长方案的妊娠结局, 此值的最佳范围为 200~500 pg/mL, 研究表明 hCG 日 E<sub>2</sub> 水平/获卵数 > 200 pg/mL 时能获得更高的妊娠率<sup>[7]</sup>, 但当 E<sub>2</sub>/获卵数 > 500 pg/mL 时, 胚胎着床率及妊娠率反而降低, 且 OHSS 发生率明显增高<sup>[8]</sup>。

自然周期中, 当 LH 升高, 促进颗粒细胞分泌孕酮。GnRH- $\alpha$  降调后, 对各个时期卵泡的颗粒细胞凋亡比例进行上调, 对小中期卵泡颗粒细胞增殖进行下调, 促进颗粒细胞的凋亡, 同时下调大卵泡颗粒细胞甾体激素生成<sup>[9]</sup>。因此, 降调后 LH 被抑制, hCG 日孕酮不高, 但由于多卵泡发育来源每个卵泡的孕酮累积、超量的外源性 Gn 促进颗粒细胞的胆固醇向孕酮转化、长方案过度抑制 LH 不能使孕酮向雄激素-雌激素代谢等原因, 导致 hCG 日孕酮升高<sup>[10]</sup>, 最终引起内膜容受性下

降, 降低胚胎植入率。一般而言, hCG 日孕酮水平平均为 (0.96 $\pm$ 0.16) nmol/L<sup>[11]</sup>, 在本研究中, 三组 hCG 日孕酮平均水平介于该平均值间, 未出现孕酮提前升高情况。

三组间胚胎形成率、优质胚胎率、平均移植胚胎数相似。新鲜周期临床妊娠率、种植率、活产率, 每取卵周期累积临床妊娠率、每取卵周期累积活产率相似, 但组 1 的临床妊娠率、活产率、累积临床妊娠率及累积活产率较组 2、3 均有明显升高趋势。

长效 GnRH- $\alpha$  降调具有一次注射, 无需每天反复注射的优点, 对 HPO 轴抑制较深, 有利于卵泡同步化, 但同时可能增加后期 Gn 使用剂量和时间, 且 E<sub>2</sub> 水平/获卵数值较低。而短效 GnRH- $\alpha$  虽然需要反复注射, 但可以根据患者垂体抑制水平进行剂量调整, 因此, 我们推测, 对于年轻、卵巢储备良好的患者, 短效 GnRH- $\alpha$  组虽然获卵数减少, 但 E<sub>2</sub> 水平/获卵数值增高, 成熟卵子无减少, 在一定获卵范围内, 妊娠率、活产率可能更高。之前研究也表明, 获卵数在 6~15 个, 既能获得最大的 IVF 成功率, 也能使包括 OHSS 在内的并发症降到最低<sup>[12-13]</sup>。而当获卵数为 15~20 个时, IVF 活产率达到平台; 大于 20 个时, 活产率显著降低<sup>[13]</sup>。

综上所述, 对于卵巢储备功能正常患者, GnRH- $\alpha$  用量减少, 达到降调后, 降调程度减轻, hCG 日 LH 水平升高, 获卵数减少, 获得 15 个卵子以上周期比例降低, OHSS 发生潜在风险减少, E<sub>2</sub> 水平/获卵数值显著升高, 临床妊娠率、活产率、累积妊娠率、累积活产率均有升高趋势。因此, 我们认为减轻垂体降调程度, 获得一定数目的卵子, 可能对卵巢储备功能正常的不孕患者的 IVF 结局更有益处。今后将扩大研究样本量, 进行更多 GnRH- $\alpha$  使用剂量的比较, 进一步比较不同降调方案的优缺点, 准确找出各类方案的适用人群, 制定个体化降调及促排卵治疗方案, 最终提高整体辅助生殖技术成功率。

#### 参考文献

[1] Dal Prato L, Borini A, Coticchio G, et al. Half-dose depot triptorelin in pituitary suppression for multiple ovarian stimulation in assisted reproduction

technology: A randomized study [J]. Hum Reprod, 2004, 19(10): 2200-2205.

[2] Li Y, Yang D, Zhang Q. Clinical outcome of one-third-dose depot triptorelin is the same as half-dose depot triptorelin in the long protocol of controlled

- ovarian stimulation [J]. *J Hum Reprod Sci*, 2012, 5(1): 14-19.
- [3] Gougeon A, Lefevre B. Evolution of the diameters of the largest healthy and atretic follicles during the human menstrual cycle [J]. *J Reprod Fertil*, 1983, 69(2): 497-502.
- [4] 王玢,孙海翔,刘景瑜,等.适当延长GnRH- $\alpha$ 降调节时间对卵泡发育同步性的影响[J].*中华男科学杂志*, 2011, 17(12): 1087-1091.  
Wang F, Sun HX, Liu JY, et al. Appropriate prolongation of GnRH- $\alpha$  down-regulation improves the synchronism of follicular development [J]. *Nat J Androl*, 2017, 17(12): 1087-1091.
- [5] 高军,苗本郁,欧建平,等.长、短效促性腺激素释放激素激动剂在体外受精-胚胎移植中自身对照研究[J].*生殖医学杂志*, 2013, 22(10): 744-748.  
Gao J, Miao BY, Ou JP, et al. Self-control comparison of long and short-acting GnRH- $\alpha$  agonist in IVF-ET [J]. *J Reprod Med*, 2013, 22(10): 744-748.
- [6] Stevenson AF. Human granulosa cells in vitro: Influence of GnRH/GnRH- $\alpha$  agonist on steroidogenesis and on IVF outcome [J]. *Indian J Exp Biol*, 1999, 37(12): 1167-1170.
- [7] Var T, Tonguc E, Dogan M, et al. Relationship between the oestradiol/oocyte ratio and the outcome of assisted reproductive technology cycles with gonadotropin releasing hormone agonist [J]. *Gynecol Endocrinol*, 2011, 27(8): 558-561.
- [8] 刘杏. HCG日雌二醇和获卵数的比值对IVF长方形妊娠结局的影响[J].*中国妇幼保健*, 2011, 26(36): 5765-5766.
- Liu X. Effect of the ratio of estradiol level/the number of retrieved oocytes on the day of HCG injection on the pregnancy outcome of IVF long protocol [J]. *Matern Child Health Care China*, 2011, 26(36): 5765-5766.
- [9] Sinha HA, Rajavashisth TB, Sinha HI, et al. Significance of apoptosis in the temporal and stage-specific loss of germ cells in the adult rat after gonadotropin deprivation [J]. *Biol Reprod*, 1997, 57(5): 1193-1201.
- [10] Fleming R, Jenkins J. The source and implications of progesterone rise during the follicular phase of assisted reproduction cycles [J]. *Reprod Biomed Online*, 2010, 21(4): 446-449.
- [11] Xu B, Li Z, Zhang H, et al. Serum progesterone level effects on the outcome of in vitro fertilization in patients with different ovarian response: An analysis of more than 10,000 cycles [J]. *Fertil Steril*, 2012, 97(6): 1321-1327.
- [12] Ji J, Liu Y, Tong XH, et al. The optimum number of oocytes in IVF treatment: An analysis of 2455 cycles in China [J]. *Human Reprod*, 2013, 28(10): 2728-2734.
- [13] Sunkara SK, Rittenberg V, Raine-fenning N, et al. Association between the number of eggs and live birth in IVF treatment: an analysis of 400 135 treatment cycles [J]. *Human Reprod*, 2011, 26(7): 1768-1778.

(编辑 余菁)