反复控制性卵巢刺激对卵巢功能状态的影响

梁晓燕, 李 轶, 杜 静, 林文清, 庄广伦
(中山大学附属第一医院妇产科生殖中心, 广东 广州 510080)

摘 要:【目的】评价在辅助生育技术治疗中反复控制性卵巢刺激对卵巢功能的影响。【方法】回顾性分析 1994 年 3 月至 2005 年 5 月就诊于本中心接受 IVF 治疗行控制性卵巢刺激 (COH)≥ 4 个治疗周期的 127 例患者的病历资料(共 508 个周期),比较多次 COH 后基础激素水平的变化,以及不同治疗周期患者的取卵数和促性腺激素(Gn)的使用剂量。【结果】随着 COH 治疗周期数的增加,患者的年龄逐渐增加,比较各周期患者月经第 3 天 FSH、LH、PRL、等的基础值,各激素水平之间并无统计学意义 (P=0.25 ~ 0.93)。与首次接受促超排卵周期相比较,促性腺激素(Gn)的使用剂量在第 3、4、5、6、7、8 治疗周期显著增加(P=0.0001~0.0084),但是各周期患者取卵数并无统计学意义(P=0.21~0.61),在对年龄分组后比较各周期 Gn 的使用剂量也无统计学差异 (P=0.12 ~ 0.94)。本研究还对一直在本院接受 COH 治疗≥7 个周期的 12 例患者进行自身对照的比较,发现随着 COH 周期数的增加,患者的 Gn 使用剂量也增加,但控制年龄因素的作用后,Gn 的使用剂量则无统计学差异(P=0.13)。【结论】反复的 COH 治疗不会影响卵巢的储备功能, 接受多个周期 COH 治疗后的患者 Gn 使用剂量的增加是由于年龄因素所导致的。

关键词:辅助生育技术; 反复控制性卵巢刺激; 卵巢穿刺手术; 卵巢储备功能
中图分类号:R329.1 **文献标识码**: A **文章编号**:1672-3554(2008)02-0186-04

Influence of Repeated Controlled Ovarian Hyperstimulation on Ovarian State

LIANG Xiao-yan, LI Yi, DU Jing, LIN Wen-qing, ZHUANG Guang-lun
(Center for Reproductive Medicine, The First Affiliated Hospital, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract:【Objective】To assess the effect of repeated controlled ovarian hyperstimulation (COH) and puncture on the ovarian state in the patients treated with assisted reproduction techniques (ARTs). 【Methods】Our research was conducted by retrospective analysis of the data between March 1994 and May 2005 from the 127 patients (508 cycles) who received at least four COH cycles in our center. We compared the basal sexual hormones after repeated COH in treatment of in vitro fertilization (IVF) or intracytoplasmic sperm injection (ICSI), the dosage of gonadotropin (Gn), as well as the oocytes retrieved number. 【Results】As the COH cycle increased and patient aged, there were no significant differences in the basal serum level of follicle stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), estrodial (E2), prolactin (PRL), and testosterone (T) between different cycles (P=0.25-0.93). When compared with the patient in the first cycle, gonadotropin dosage significantly climbed up in the 3rd, 4th, 5th, 6th, 7th, and 8th cycles (P=0.0001-0.0084), no statistic difference in retrieved oocyte number(P=0.21-0.61), but after the patients were divided into different age groups no significant difference was found in the same age group (P=0.12-0.94). Besides that we compared 12 patients who received COH cycle in our center all the time, it was found that the Gn dosage was increased as patient aged; however, those differences disappeared after age was controlled (P=0.13). 【Conclusions】 Repeated controlled ovarian stimulation does not affect ovarian reserved function. The increasing of Gn dosage was caused by patient aging.

Key words: assisted reproduction techniques; repeated controlled ovarian hyperstimulation; ovarian puncture surgery; ovarian reserve

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2008,29(2):186-189,201]

收稿日期:2007-07-25
基金项目:国家自然科学基金 (30271367, 30300372); 广东省自然科学基金(07117364) ; 广东省科技攻关项目(2006B35901001)
作者简介:梁晓燕(1962-),女,云南大理人,博士,教授,博士生导师,E-mail: lxyzy@263.net

目前，虽然近三十年来助孕技术的临床运用及研究都取得了飞速发展，但对不孕妇女来说，仍然存在接受助孕治疗时要面临多次卵巢刺激和手术穿刺的风险，并以此提高妊娠的机会。对于卵巢的反复控制性刺激（controlled ovary hyperstimulation，COH）及穿刺术是否会影响卵巢的储备功能从而导致患者卵巢功能的过早衰竭，这一直是辅助生殖学临床医生和患者共同关注的问题[1,2]。本研究通过对多次接受 COH 治疗的患者的病历资料进行回顾性分析，拟在探讨该项技术对患者卵巢功能的影响，并进一步评价该技术临床运用的安全性。

1　材料与方法

1.1　一般资料

收集我中心从 1994 年 3 月至 2005 年 5 月接受 IVF/ICSI 治疗进行 COH≥4 个治疗周期的 127 位患者的病历资料（其中部分患者的前 3 治疗周期在其它中心完成），治疗总周期数共为 508 例，并对一直在本中心完成≥7 个治疗周期 12 位患者进行自身对照的比较。患者年龄 25～42 岁，因女方盆腔因素或男方少弱精等不孕原因就诊，每次 COH 治疗周期的间隔时间大于 3 个月。测定月经第 3 天基础促卵泡生成素（follicle-stimulating hormone, FSH），促黄体生成素（luteinizing hormone, LH），雌二醇（estradiol，E_2）及睾酮（testosterone, T）的水平。接受促性腺激素释放激素激动剂 GnRH agonist（Buserelin: Suprefact, Hoeches, Frankfurt, Germany, or Diphereline: Ipsen France）结合促性腺激素（Metrodin-HP, Gomal-F Pergonel, Serono, Genenva, Swizerland）的长方案或短方案，进行卵巢促超排卵刺激。当超过 4 个卵泡的直径≥18 mm 时，使用绒毛膜促性腺激素（human chorionic gonadotrophin，HCG；Profasi, Serono）10 000 IU，36 h 后经阴道超声引导下穿刺取卵，采用常规 IVF 受精或胞浆内单精子注射（intracytoplasmic sperm injection，ICSI）受精，取卵后 2～3 d 行胚胎移植。黄体支持采用 HCG 或/和黄体酮注射剂。

1.2　测定指标

主要参数是在每次使用促性腺激素进行控制促超排卵前，月经第 3 天抽取患者的外周静脉血，采用微粒子酶联免疫发光法（美国，AXSYM 公司）检测 FSH、LH、PRL、E_2 及 T 的水平，并记录取卵数、促性腺激素（Gn）的使用剂量。

1.3　统计学方法

数据分析运用 SAS V8.01 软件，统计学方法采用 t 检验和重复测量资料的方差分析，$P<0.05$ 被认为有统计学差异。

2　结　果

比较患者首次接受 COH 治疗与随后多次 COH治疗后垂体降调节前月经第 3 天 FSH、LH、PRL、E_2、T 的基础值（表 1），数据显示在接受常规长方案及或短方案的卵巢刺激后，各周期之间患者的激素水平无统计学差异（P=0.25~0.93）。从表 1 还可以看出，随着 COH 治疗周期数的增加，与首次接受促超排卵周期相比较，促性腺激素（Gn）的使用剂量在第 3、4、5、6、7、8 治疗周期显著增加

表 1　不同控制性超排卵周期 Gn 使用剂量、取卵数目和基础性激素水平的比较

Table 1　Comparison of retrieved gonadotropin (Gn) dosage, retrieved oocyte number and basal hormone between different controlled ovarian hyperstimulation (COH) cycle

Cycle	n	Age	Gn ampoules	No. oocytes	FSH(IU/L)	LH(IU/L)	PRL(μg/L)	E_2(pmol/L)	T(nmol/L)
1	82	31 ± 4	27 ± 12	12 ± 7	7.3 ± 5.2	7.0 ± 2.7	20 ± 11	291 ± 269	0.7 ± 0.6
2	93	32 ± 4	33 ± 15	10 ± 6	8.3 ± 3.8	7.7 ± 3.1	24 ± 17	284 ± 197	0.8 ± 0.4
3	99	33 ± 4	34 ± 14	13 ± 9	7.5 ± 3.2	6.4 ± 2.7	24 ± 17	271 ± 192	0.7 ± 0.5
4	110	34 ± 4	37 ± 18	13 ± 9	7.5 ± 3.4	5.2 ± 4.0	20 ± 19	265 ± 226	1.1 ± 0.6
5	58	34 ± 4	38 ± 16	11 ± 7	7.5 ± 2.3	6.1 ± 4.4	20 ± 18	306 ± 270	0.6 ± 0.3
6	23	35 ± 4	38 ± 16	8 ± 5	7.9 ± 3.4	5.6 ± 3.6	18 ± 7	302 ± 200	0.7 ± 0.4

Student's t-test was used to compare Gn ampoules, retrieved oocyte number and basal sexual hormone in the first cycle with subsequent cycle, (1) Gn ampoules P=0.0001~0.0084 ($P < 0.05$); (2) Retrieved oocyte number P=0.21~0.61 ($P > 0.05$); (3) Basal hormone P=0.25~0.93 ($P > 0.05$). COH: controlled ovarian hyperstimulation; FSH: follicle stimulating hormone; LH: luteinizing hormone; RPL: prolactin; E_2: estrodial; T: testosterone

(P=0.0001~0.0084)，但是各周期患者取卵数并无显著差异(P=0.21~0.61)。

表 2 将不同治疗周期的患者按年龄分组后，相同年龄组患者的取卵数并无显著性差异 (P > 0.05)，而不同治疗周期各年龄组间 Gn 的使用剂量相互比较显示：①年龄< 30 岁组，35~40 岁组和≥40 各治疗周期之间无统计学差异(P >0.05)。②30~35 岁组：各治疗周期之间数据有明显差异(P< 0.0001)；多重方差分析结果为第 1、2、3 治疗周期组间无统计学差异，第 4、5、6 治疗周期组间无统计学差异，但是前 3 个治疗周期和后 3 个治疗周期之间却存在显著性差异(P< 0.0001)，其中第 4、5、6 周期的 Gn 使用剂量要显著高于第 1、2、3 周期。

此外，我们对一直在本院接受 COH 治疗周期数≥7 个以上的 12 位患者的年龄、取卵数、以及 Gn 的使用剂量进行了自身对照的比较。我们发现随着患者年龄的增加，取卵数呈现逐步下降的趋势，特别是在 > 35 岁时下降特别明显(P < 0.05；图 1)。

表 2 各年龄组不同控制性超排卵周期取卵数和 Gn 使用剂量的比较

Table 2 Comparison of retrieved oocyte number and gonadotropin (Gn) dosage between different controlled ovarian hyperstimulation (COH) cycle in the same age group

Cycle	Age(years)	n	No. oocytes	Gn ampoules	Cycle	Age (years)	n	No. oocytes	Gn ampoules
1	< 30	31	11 ± 7	22 ± 8	4	< 30	15	12 ± 9	29 ± 17
	30~	33	13 ± 6	24 ± 7		30~	55	15 ± 8	36 ± 15
	35~	14	9 ± 7	44 ± 12		35~	28	12 ± 6	42 ± 23
	≥40	4	9 ± 4	47 ± 20		≥40	12	5 ± 5	40 ± 18
2	< 30	31	10 ± 6	29 ± 12	5	< 30	5	14 ± 9	25 ± 13
	30~	39	11 ± 5	28 ± 10		30~	24	14 ± 6	40 ± 18
	35~	16	10 ± 7	39 ± 14		35~	22	10 ± 6	40 ± 16
	≥40	7	7 ± 5	62 ± 8		≥40	7	9 ± 8	38 ± 13
3	< 30	25	14 ± 12	30 ± 11	6	< 30	3	4 ± 3	15 ± 12
	30~	45	14 ± 8	34 ± 13		30~	8	12 ± 6	44 ± 12
	35~	21	10 ± 6	37 ± 18		35~	9	8 ± 4	42 ± 14
	≥40	8	6 ± 4	45 ± 16		≥40	3	3 ± 2	42 ± 16

ANOVA was used to compare the retrieved oocyte number and Gn ampoules in the same age group: (1) age < 30: retrieved oocyte number P= 0.35, Gn ampoules P=0.14; (2) 30≤ age< 35 retrieved oocyte number P=0.20, Gn ampoules P < 0.0001; (3) 35≤ age < 40 retrieved oocyte number P=0.15, Gn ampoules P=0.94; (4) age ≥40 age retrieved oocyte number P=0.60, Gn ampoules P=0.12.

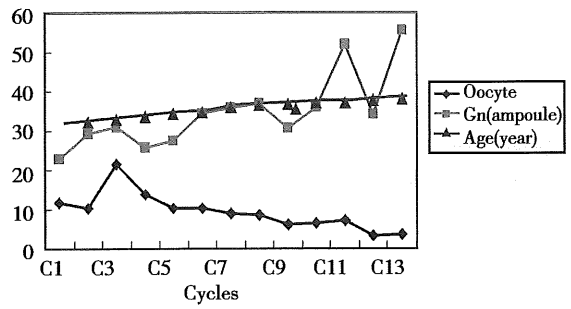


图 1 12 位患者年龄分布、使用 Gn 剂量及取卵数

Fig.1 The distribution of patients age, gonadotropin (Gn) dosage, and retrieved oocyte number in different cycles

采用重复测量资料的方差分析比较了这 12 名患者的年龄和 Gn 的使用剂量。在第 1、2、3、4 治疗周期之间年龄及 Gn 使用剂量无统计学差异，第 5、6、7 周期之间亦是，但是前 4 个治疗周期的年龄及 Gn 使用剂量要低于后 3 个治疗周期 (P= 0.0004 & P=0.0058)，表明随着患者年龄的增加，Gn 的使用量也显著地增加。但是控制年龄因素的影响后单独考虑治疗周期对 Gn 使用剂量的影响，不同治疗周期 Gn 的使用剂量的统计学差异消失(P=0.13)。

3 讨 论

对反复的卵巢手术穿刺及 COH 是否对卵巢的储备能力造成影响，以及是否会降低再次取卵结局一直是临床医生们困惑的问题，有关长期大样本的 meta 分析缺乏，但近 5 年来国际上相关的

不同报道之间存在争议[1,2]。Gobert[3,4]等提出因反复的阴道穿刺可能诱发卵巢自身性抗原的释放,引起卵泡池中卵泡数目降低,可能会导致这些妇女过早地进入绝经期,但也有学者持认为反复的卵巢刺激并不会影响患者的卵巢功能[5,6]。

为了进一步证实反复卵巢刺激是否会损害卵巢功能,从而对患者的生殖健康带来负面影响,我们进行的研究包括了 10 年内就诊我中心接受 IVF 治疗的患者,且至少接受过 4 个以上的 COH 周期,通过对这些患者的病历资料的分析来评价反复卵巢刺激对其卵巢功能所造成的影响。目前临床上有多种用于评价卵巢功能的指标如基础 FSH 水平、基础 E_2 水平、卵巢抑制素的测定及 B 超下观察卵巢的体积以及窦卵泡计数等多种方法[7-11]。通常情况下随着卵巢储备功能的下降,卵泡颗粒细胞分泌抑制素减少,导致月经第 3 天的基础 FSH 的水平会逐渐升高,促进一定数量窦卵泡的发育生长,由此所分泌的 E_2 水平也逐渐升高,因此基础状态下的 FSH 和 E_2 水平某种程度上可以反应卵巢的储备功能。临床上当基础 FSH≥15 IU/L, FSH/LH≥3.6,E_2≥80 pg/mL 时提示卵巢储备功能下降。另外,当患者卵巢储备功能下降时,在临床上最明显的表现就是在促超排卵治疗中反应不良,促性腺激素 Gn 的使用剂量显著增加,而取卵数却明显减少。

为了客观评价患者的卵巢功能,我们综合采用基础的激素水平、患者的取卵数以及 Gn 的用量来判断患者的卵巢的储备功能。分析显示,在反复 COH 后卵巢的基础性激素水平未产生显著性改变,患者 FSH、E_2 的基础值并没有出现升高的趋势,而且 FSH/LH 的比值也未改变;尽管随着治疗周期数的增加,患者的年龄也逐渐增大,第 1 ~ 6 周期中各治疗周期的获卵数却无显著差异;而患者使用的促性腺激素的用量显著增加,在排除年龄因素的作用后 Gn 用量的差异也消失,这说明 Gn 使用剂量的增加由年龄因素所导致的,与所接受的卵巢刺激无关,这些结果与国外报道相似[12]。由此可见反复控制性的卵巢刺激及卵巢穿刺手术本身不影响卵巢的储备功能,其原因可能是促性腺激素主要是通过卵泡膜细胞/颗粒细胞上的 FSH 及 LH 受体来发挥促进卵泡生长的生理作用,而只有当卵泡发育至窦卵泡前期时颗粒细胞才出现特异性 FSH 受体的表达[13],此时卵泡已经完成由卵泡池中的始基卵泡的募集过程。因此每次 COH 募集并不消耗作为卵巢储备功能基本功能单位的始基卵泡(primordial follicles),而是通过外源性的给予大量的 FSH/HMG 减少已募集的卵泡发生闭锁,从而使得更多的同簇卵泡生长发育,所以尽管患者在接受多个周期的促排卵治疗后卵巢的储备功能并没有出现众人所担忧的过度消耗。

本研究中将患者按年龄分组后比较 Gn 的使用剂量时发现,在将患者按不同年龄分组之后,在 30~35 岁组的患者在控制性超排卵治疗中促性腺激素的使用剂量却是随着 COH 周期数的增加而增加,我们推测这有可能是 30 ~ 35 岁患者来本中心就诊时,有多次促排卵治疗失败的经历,为了防止卵巢低反应的发生临床医生往往会使用较高剂量的 Gn 进行促排卵治疗,导致患者在第 3 周期以后的治疗 Gn 用量增加,因此这并不能说明控制性促超排卵会导致的卵巢功能的下降。为了证明该观点,我们通过对一直在本中心接受 COH 治疗的 12 例患者病历资料进行分析发现随着 COH 治疗周期的增加,患者促超排卵使用的 Gn 剂量也逐渐增加,但当控制年龄因素的影响后不同周期之间 Gn 使用的剂量并无差异,这就再次证实了患者卵巢功能的下降是由于年龄因素所导致的。尽管通过我们的研究证实反复多次的 COH 治疗不会影响卵巢的储备功能,诱导卵巢早衰的发生,但是对于某些特殊的人群,其年龄 > 35 岁,COH 治疗周期数≥7 次,在促超排卵时 Gn 的使用剂量显著增加,而取卵数却显著的下降,其原因除了年龄因素的影响外,是否与其它的因素有关还需进一步研究。

参考文献:

[1] Kolibianakis E, Osmanagaoglu K, Camus M, et al. Effects of repeated assisted reproductive technology cycles on ovarian response [J]. Fertil Steril, 2002, 77 (5):967-970.

[2] Hoveyda F, Engmann L, Steele J, et al. Ovarian response in three consecutive in vitro fertilization cycles [J]. Fertil Steril, 2002, 77(4): 706-710.

[3] Gobert B, Barbarino-Monnier P, Guillet-May F, et al. Anti-ovary antibodies after attempts at human in vitro fertilization induced by follicular puncture rather than hormonal stimulation [J]. J Reprod Fertil, 1992, 96(5):

(下转第 201 页　to page 201)