

不同扳机方案在卵巢储备功能减退患者中的应用

张雨, 刘雨生, 张娱, 栾红兵, 卢芳汀

摘要 目的 探讨促性腺激素释放激素激动剂(GnRH-a)、人绒毛膜促性腺激素(hCG)以及两者联合扳机方案在卵巢储备功能减退(DOR)患者中的应用效果。方法 回顾性分析和比较 DOR 患者微刺激方案 912 例和人工黄体期方案 390 例中采用 GnRH-a、hCG 以及两者联合双扳机的临床效果。结果 微刺激方案和人工黄体期方案中 hCG 扳机组与双扳机组间获卵数差异均无统计学意义, 但均高于 GnRH-a 组。微刺激方案中 hCG 扳机组的受精率显著低于 GnRH-a 及双扳机组; 人工黄体期方案中 hCG 及 GnRH-a 扳机组的受精率显著低于双扳机组 ($P < 0.017$); 两种方案中 hCG 联合 GnRH-a 扳机组的优质胚胎率均显著高于 hCG 扳机组和 GnRH-a 扳机组 ($P < 0.017$); 两种促排方案双扳机组的临床妊娠率均高于 GnRH-a 扳机组和 hCG 扳机组, 但差异无统计学意义。结论 DOR 患者的微刺激和人工黄体期方案中, hCG 联合 GnRH-a 双扳机方案优于单纯 hCG 和 GnRH-a 扳机, 可获得更多的卵母细胞和优质胚胎, 改善临床妊娠率。

关键词 卵巢储备功能下降; 促性腺激素释放激素激动剂; 绒毛膜促性腺激素

中图分类号 R 715.9

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2017)09-1323-04
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.09.015

随着二胎政策的放开及社会、环境等因素的影

2017-04-13 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81601416)

作者单位: 安徽医科大学附属省立医院生殖医学中心, 合肥 230001

作者简介: 张雨, 女, 硕士研究生;

刘雨生, 男, 教授, 主任医师, 博士生导师, 责任作者, E-mail: shengzhizhongxin@126.com

响, 卵巢储备功能减退 (decrease ovarian reserve, DOR) 且有生育要求的女性逐渐增多。DOR 患者由于卵巢体积减小, 窦卵泡数目减少, 在促排卵过程中周期取消率高, 获卵数少, 受精率下降, 胚胎质量差, 妊娠率下降, 因此, 有研究者试图通过不同的卵巢刺激方案来提高 DOR 患者的获卵率和胚胎数^[1-4]。微刺激方案、人工黄体期方案因其疗程短、重复率高、费用低近年成为 DOR 患者较常用的方案。但在促排过程中存在黄体生成素 (luteinizing hormone, LH) 不足, 常需添加外源性 LH 或激发内源性 LH 的药物。人绒毛膜促性腺激素 (human chorionic gonadotropin, hCG) 因其具有与 LH 共同的受体和相似的生物活性一直作为经典的扳机药物, 但其生物学活性为 LH 的 6 倍, 且半衰期长, 发生卵巢过度刺激综合征 (ovarian hyperstimulation syndrome, OHSS) 的概率显著增加^[5]。促性腺激素释放激素激动剂 (gonadotropin-releasing hormone agonist, GnRH-a) 可触发内源性 LH 的分泌, 且半衰期短, 能降低 OHSS 风险, 但可诱发黄体萎缩, 导致黄体功能不足和黄体中期的 LH 水平不足^[6]。该研究通过回顾性分析 DOR 患者 hCG、GnRH-a 以及 hCG 联合 GnRH-a 扳机在卵泡期和黄体期促排卵方案中的临床效果, 以期临床提供更好的扳机方案。

1 材料与方法

1.1 病例资料 选取 2013 年 12 月~2015 年 12 月在本院行体外受精-胚胎移植 (*in vitro* fertilization

group and LacZ group. The cell scratch test was used to compare the migration ability of BMSCs after lentiviral vector transfection. The mRNA and protein of BMSCs were extracted on 0, 1, 4, 7, and 14 days. The expression of osteocalcin (OCN) and osteopontin (OPN), the key factors of osteogenic differentiation of BMSCs, were detected by Real time-PCR and Western blot. **Results** After Lenti-miR-21-Luciferase and Lenti-LacZ-Luciferase were successfully transfected into BMSCs, the migration of BMSCs in miR-21 group was enhanced significantly ($P < 0.001$). Expression of OCN and OPN at the mRNA and protein levels were significantly increased ($P < 0.05$). **Conclusion**

MiR-21 can significantly promote the osteogenic differentiation of BMSCs, lay the foundation for further *in vivo* experiments.

Key words miR-21; bone marrow mesenchymal stem cells; lentiviral vector transfection; osteogenic differentiation

and embryo transfer, IVF-ET) 助孕的 1 302 例不孕症患者作为研究对象, 病例纳入标准: ① 卵泡刺激素 (follicle-stimulating hormone, FSH) ≥ 10 U/L 或 FSH/LH ≥ 3 ; ② 卵巢基础窦卵泡 ≤ 5 个; ③ 前 1 周期获卵数 < 3 枚。以上 3 个条件中的满足其中 1 个即可判断为 DOR^[7]。

1.2 方法

1.2.1 微刺激方案 月经周期第 2 天开始口服克罗米芬 100 mg/d 或来曲唑 2.5 mg/d 5 d 后停用克罗米芬或来曲唑并予以促性腺激素 (gonado-tropins, Gn) 150 U/d 肌注 结合血 LH、雌二醇、孕酮值和阴道 B 超结果适时调整药量, 至少有 1 个卵泡直径 ≥ 18 mm 时给予 3 种不同的扳机方案: ① hCG 扳机方案: hCG 10 000 IU 肌注; ② GnRH-a 扳机方案: GnRH-a 0.1 mg 皮下注射; ③ 双扳机方案: hCG 2 000 U 肌注联合 GnRH-a 0.1 mg 皮下注射, 给予扳机后 34 ~ 36 h 取卵。

1.2.2 人工黄体期方案 月经周期第 2 ~ 3 天开始口服甲羟孕酮 10 mg/d (可加入克罗米芬 100 mg/d) 至取卵日, 同时给予 Gn 150 U/d 肌注, 结合血 LH、雌二醇、孕酮值和阴道 B 超结果适时调整药量, 至少有 1 个卵泡直径 ≥ 18 mm 时给予 3 种不同的扳机方案, 扳机方案与微刺激方案相同。

1.2.3 IVF-ET 过程 取卵后按操作常规进行体外受精, 取卵后第 3 天观察胚胎情况, 微刺激方案的患者在取卵后第 3 天常规行胚胎移植, 人工黄体期方案在取卵后第 3 天常规行胚胎冷冻, 间隔 1 个月后, 适时行冻胚移植及黄体支持, 1 个月后阴道超声宫腔内见原始心管搏动确诊为临床妊娠。

1.3 监测指标 主要监测指标有平均获卵数、受精率、优质胚胎率、可利用胚胎率 (按 Bourn Hall 标准进行分级, 取卵后第 3 天胚胎有 6 ~ 10 个卵裂球, 评分 II 级以上或第 5 天 3BB 以上的胚胎为优质胚胎, 评分 IV 级以上的胚胎为可利用胚胎)。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 17.0 软件进行分析,

结果以 $\bar{x} \pm s$ 或率 (%) 表示, 将所获得的数据输入 Excel 表, 计数资料组间比较行 χ^2 检验, 计量资料两组间比较用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义, 多组之间的两两比较, P 值应用 Bonferroni 修正, $\alpha = 0.017 (0.05/3)$ 。

2 结果

2.1 患者一般情况及用药情况比较 两组间患者年龄、不孕年限、身体质量指数 (body mass index, BMI)、基础 FSH、Gn 天数和用量差异均无统计学意义, 见表 1。

表 1 两组一般情况及用药情况 ($\bar{x} \pm s$)

指标	微刺激方案 (n=912)	人工黄体期方案 (n=390)	t 值	P 值
年龄 (岁)	37.21 \pm 5.65	36.29 \pm 3.45	0.47	0.68
不孕年限 (年)	6.20 \pm 4.03	5.24 \pm 4.69	0.43	0.71
BMI (kg/m ²)	23.61 \pm 2.96	22.82 \pm 3.14	1.16	0.24
基础 FSH (U/L)	10.35 \pm 5.72	11.19 \pm 6.15	0.51	0.62
Gn 天数 (d)	8.68 \pm 4.36	9.03 \pm 3.21	1.38	0.18
Gn 用量 (U)	824.52 \pm 51.78	879.35 \pm 43.22	1.07	0.32

2.2 微刺激方案不同扳机方案促排卵及 IVF 结果比较 hCG 扳机组与双扳机组间平均获卵数差异无统计学意义, 但均高于 GnRH-a 组 ($P < 0.017$); hCG 扳机组受精率显著低于 GnRH-a 及双扳机组 ($P < 0.017$); 双扳机组的优质胚胎率和可利用胚胎率均高于 hCG 扳机组和 GnRH-a 扳机组, 差异有统计学意义 ($P < 0.017$), 见表 2。

2.3 人工黄体期方案不同扳机方案促排卵及 IVF 结果比较 GnRH-a 扳机组与双扳机组间获卵数差异无统计学意义, hCG 扳机组获卵数显著高于 GnRH-a 扳机组 ($P < 0.017$); hCG 扳机组及 GnRH-a 扳机组的受精率低于双扳机组, 差异有统计学意义 ($P < 0.017$); 双扳机组的优质胚胎率显著高于 hCG 扳机组和 GnRH-a 扳机组 ($P < 0.017$), 可利用胚胎率显著高于 hCG 扳机组 ($P < 0.017$), 与 GnRH-a 扳

表 2 微刺激方案不同扳机方案的促排卵及 IVF 结果比较

项目	hCG 扳机组	GnRH-a 扳机组	双扳机组	t_1/χ_1^2 值	P_1 值	t_2/χ_2^2 值	P_2 值	t_3/χ_3^2 值	P_3 值
促排周期数 (n, 个)	232	450	230	-	-	-	-	-	-
获卵周期数 (n, 个)	226	340	212	-	-	-	-	-	-
平均获卵数 (个 $\bar{x} \pm s$)	4.35 \pm 2.31	3.01 \pm 1.98	4.92 \pm 3.67	2.76	< 0.017	0.58	0.561	4.78	< 0.017
受精率 (%)	67.56 (708/1 048)	72.61 (745/1 026)	72.96 (761/1 043)	6.08	< 0.017	7.05	< 0.017	0.02	0.897
优质胚胎率 (%)	55.94 (395/706)	57.08 (411/720)	75.28 (533/708)	0.14	0.705	57.72	< 0.017	51.96	< 0.017
可利用胚胎率 (%)	76.49 (540/706)	77.91 (561/720)	83.89 (594/708)	0.34	0.562	11.76	< 0.017	7.88	< 0.017

注: P_1, t_1, χ_1^2 : hCG 扳机组与 GnRH-a 扳机组比较; P_2, t_2, χ_2^2 : hCG 扳机组与双扳机组比较; P_3, t_3, χ_3^2 : GnRH-a 扳机组与双扳机组比较

表3 人工黄体期方案不同扳机方案的促排卵及 IVF 结果比较

项目	hCG 扳机组	GnRH-a 扳机组	双扳机组	t_1/χ_1^2 值	P_1 值	t_2/χ_2^2 值	P_2 值	t_3/χ_3^2 值	P_3 值
促排周期数(n , 个)	125	138	127	-	-	-	-	-	-
获卵周期数(n , 个)	113	126	115	-	-	-	-	-	-
平均获卵数(个, $\bar{x} \pm s$)	5.39 \pm 2.96	3.55 \pm 2.03	5.46 \pm 3.62	3.08	<0.017	0.00	0.982	2.21	0.030
受精率(%)	67.00(408/609)	70.98(291/410)	86.63(538/621)	1.62	0.203	56.16	<0.017	30.40	<0.017
优质胚胎率(%)	54.73(220/402)	52.65(149/283)	63.14(334/529)	0.21	0.646	6.36	<0.017	7.98	<0.017
可利用胚胎率(%)	74.38(299/402)	75.61(214/283)	82.04(434/529)	0.08	0.780	7.56	<0.017	4.33	0.037

注: P_1, t_1, χ_1^2 :hCG 扳机组与 GnRH-a 扳机组比较; P_2, t_2, χ_2^2 :hCG 扳机组与双扳机组比较; P_3, t_3, χ_3^2 :GnRH-a 扳机组与双扳机组比较

机组间差异无统计学意义,见表3。

2.4 不同扳机方案的临床妊娠结局 微刺激与人工黄体期方案中,hCG 扳机组与 GnRH-a 扳机临床妊娠率间差异均无统计学意义;微刺激方案中 hCG 联合 GnRH-a 扳机组的临床妊娠率(31.82%)虽高于 hCG(22.64%)和 GnRH-a(23.31%)扳机组,但差异无统计学意义。人工黄体期促排方案中,双扳机组的临床妊娠率(33.91%)与 hCG(24.78%)及 GnRH-a(25.40%)扳机组间差异无统计学意义。见表4。

表4 不同扳机方案临床妊娠结局比较

组别	临床妊娠率(%)	χ^2 值	P 值
微刺激方案			
hCG 扳机组	22.64(48/212)	0.01	$P_1 = 0.936$
双扳机组	31.82(70/220)	4.13	$P_2 = 0.042$
GnRH-a 扳机组	23.31(86/369)	4.70	$P_3 = 0.030$
人工黄体期方案			
hCG 扳机组	24.78(28/113)	0.00	$P_1 = 0.969$
双扳机组	33.91(39/115)	1.87	$P_2 = 0.171$
GnRH-a 扳机组	25.40(32/126)	1.71	$P_3 = 0.191$

P_1 :hCG 扳机组与 GnRH-a 扳机组比较; P_2 :hCG 扳机组与双扳机组比较; P_3 :GnRH-a 扳机组与双扳机组比较

3 讨论

自然周期中高浓度的 LH 峰既可诱发卵母细胞进行减数分裂成为次级卵母细胞,同时可促进相关促排卵物质分泌,使卵丘和颗粒细胞分离,为卵细胞的排出提供条件,是卵子成熟及排卵的重要条件^[8]。hCG 因其具有与 LH 共同的受体和相似的生物活性一直作为经典的扳机药物,但因其生物学活性较高,且半衰期长,发生 OHSS 的概率显著增加。而 GnRH-a 可激发垂体的“flare-up”效应,诱发更加接近生理性的 LH 峰^[9-10],促进卵泡的最终成熟。由于 GnRH-a 触发的 LH 峰水平低于 hCG 且作用时间短,OHSS 的发生率低,已成为临床医师新的扳机

方案。但由于 GnRH-a 扳机触发的 LH 峰的时间较短(24~36 h),低于生理性 LH 峰的持续时间(48 h 左右),同时半衰期短(1 h),可导致黄体功能的缺陷,黄体中期的 LH 水平低于自然周期约 75%,导致卵泡成熟及胚胎种植障碍^[11]。

不同扳机方案对于临床妊娠率影响的机制尚不清楚。Humaidan et al^[12]在低 OHSS 风险女性的促排过程中采用 GnRH-a 扳机,显示与单纯 hCG 扳机相比,取卵后 36 h 补充 1 500 U hCG 并未改善临床妊娠率。另有研究^[13]比较微刺激促排方案中单独使用 hCG 扳机与 GnRH-a 扳机的临床妊娠率,显示两者间差异无统计学意义。而一项非随机对照研究结果^[14]显示,同时使用 GnRH-a 和 hCG(1 000~2 500 U)两种药物扳机(根据患者体重制定 HCG 剂量),可以获得较高的临床妊娠率。本研究纳入的研究对象均为 DOR 的患者,获卵率低,OHSS 风险低,且不同促排方案患者间年龄、BMI、基础 FSH 值、Gn 天数、Gn 用量间差异均无统计学意义,两组间具有可比性。本研究结果显示,hCG 联合 GnRH-a 双扳机方案优于单纯 hCG 和 GnRH-a 扳机,受精率明显高于 hCG 和 GnRH-a 扳机方案,并可获得更多的卵母细胞和优质胚胎;两种促排方案中单纯使用 hCG 与 GnRH-a 扳机的临床妊娠率差异无统计学意义;hCG 联合 GnRH-a 扳机组的临床妊娠率虽明显高于单纯 hCG 和 GnRH-a 扳机组,但经统计学分析差异无统计学意义,其临床应用价值尚需加大样本量进一步验证。

综上所述,联合 GnRH-a 和小剂量 hCG 双扳机一方面可补充 GnRH-a 扳机所导致的黄体期 LH 不足,另一方面能避免较大剂量 hCG 的生物学负效应和发生 OHSS 的风险,并显著提高了卵巢储备功能低下患者的获卵数、优质胚胎率及可利用胚胎率,临床妊娠率得到了一定的改善,是 DOR 患者 IVF 过程有应用价值的扳机方案。

参考文献

- [1] Kyrou D, Kolibianakis E M, Venetis C A, et al. How to improve the probability of pregnancy in poor responders undergoing *in vitro* fertilization: a systematic review and meta-analysis [J]. *Fertil Steril*, 2009, 91(3): 749–66.
- [2] Lamazou F, Fuchs F, Grynberg M, et al. Cancellation of IVF-ET cycles: poor prognosis, poor responder, or variability of the response to controlled ovarian hyperstimulation? An analysis of 142 cancellations [J]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*, 2012, 41(1): 41–7.
- [3] 聂丽娜, 何国平, 童先宏, 等. 五种促排卵方案在卵巢储备功能下降患者中临床用药与结局的比较 [J]. *生殖医学杂志*, 2011, 20(6): 470–4.
- [4] 董丽霞, 李丽玮. 体外受精-胚胎移植卵巢低反应的处理对策 [J]. *生殖医学杂志*, 2013, 22(1): 77–80.
- [5] Youssef M A, Van der Veen F, Al-Inany H G, et al. Gonadotropin-releasing hormone agonist versus HCG for oocyte triggering in antagonist assisted reproductive technology cycles. [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2011, 1(11): CD008046.
- [6] Humaidan P, Kol S, Papanikolaou E G. GnRH agonist for triggering of final oocyte maturation: time for a change of practice [J]. *Hum Reprod Update*, 2011, 17(4): 510–24.
- [7] Ferraretti A P, La Marca A, Fauser B C, et al. ESHRE consensus on the definition of ‘poor response’ to ovarian stimulation for *in vitro* fertilization: the Bologna criteria [J]. *Hum Reprod*, 2011, 26(7): 1616–24.
- [8] 唐洁, 许波, 江小华, 等. 卵母细胞发育停滞 [J]. *生殖医学杂志*, 2009, 18(3): 211–4.
- [9] Kuang Y, Hong Q, Chen Q, et al. Luteal-phase ovarian stimulation is feasible for producing competent oocytes in women undergoing *in vitro* fertilization/intracytoplasmic sperm injection treatment, with optimal pregnancy outcomes in frozen-thawed embryo transfer cycles [J]. *Fertil Steril*, 2014, 101(1): 105–11.
- [10] 杨隽, 王树玉, 马延敏, 等. 短效 GnRH-a 在促排卵周期中诱导卵泡成熟与排卵的研究 [J]. *中国优生与遗传杂志*, 2008, 16(9): 102–5.
- [11] Humaidan P, Bredkjaer H E, Bungum L, et al. GnRH agonist (buserelin) or hCG for ovulation induction in GnRH antagonist IVF/ICSI cycles: a prospective randomized study. [J]. *Hum Reprod*, 2005, 20(5): 1213–20.
- [12] Humaidan P, Polyzos N P, Alsbjerg B, et al. GnRH trigger and individualized luteal phase hCG support according to ovarian response to stimulation: two prospective randomized, controlled multi-centre studies in IVF patients [J]. *Hum Reprod*, 2013, 28(9): 2511–21.
- [13] 刘宝莲, 宁艳春, 樊桂玲, 等. HCG 和 GnRH-a 在微刺激方案 IVF 中扳机作用效果分析 [J]. *河北医药*, 2015, 37(23): 3619–20.
- [14] Shapiro B S, Daneshmand S T, Garner F C, et al. Gonadotropin-releasing hormone agonist combined with a reduced dose of human chorionic gonadotropin for final oocyte maturation in fresh autologous cycles of *in vitro* fertilization. [J]. *Fertil Steril*, 2008, 90(1): 231–3.

The application of different trigger schemes for the patients with DOR during the procedure of IVF

Zhang Yu, Liu Yusheng, Zhang Yu, et al

(Dept of Reproductive, The Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230001)

Abstract Objective To compare the clinical effects of trigger schemes of GnRH-a, hCG, and GnRH-a combined with hCG for the patients with decrease ovarian reserve (DOR). **Methods** A retrospective analysis was performed on 912 cases received minimal ovarian stimulation and 390 cases received the protocol of artificial luteal phase. The trigger schemes of GnRH-a, hCG and GnRH-a combined with hCG were applied in two groups, then the clinical outcomes were compared. **Results** In minimal ovarian stimulation group, the average eggs retrieved in hCG trigger group and combined trigger group were both higher than that in GnRH-a group ($P < 0.017$), while which showed no significant difference between the hCG trigger group and combined trigger group. Fertilization rate in minimal ovarian stimulation group triggered with hCG was lower than that triggered with GnRH-a and combined trigger, of which in artificial luteal phase group triggered with GnRH-a combined hCG was significantly higher than that triggered with hCG or GnRH-a ($P < 0.017$). High-quality embryo rates in two ovarian stimulation protocols triggered with GnRH-a combined hCG were significantly higher than that triggered with GnRH-a or hCG ($P < 0.017$). There were no significant difference in clinical pregnancy rate among three trigger schemes in both protocol of ovarian stimulation. **Conclusion** The combined trigger scheme in minimal ovarian stimulation and the protocol of artificial luteal phase could increase the eggs retrieved and the rates of high-quality embryo for the patients with DOR.

Key words decrease ovarian reserve; gonadotropin releasing hormone agonist; chorionic gonadotropin chorionic