

DOI:10.16781/j.0258-879x.2017.07.0852

• 专题报道 •

促性腺激素释放激素激动剂超长方案提高中重度子宫内膜异位症患者辅助生殖技术妊娠率

杜惠[△], 张文静[△], 朱旻, 施敏凤, 刘敏, 白雪梅, 松迪, 印惠荣, 林莎莎, 洪毅, 孙燕华, 罗婷, 张慧琴*
第二军医大学长海医院生殖医学中心, 上海 200433

[摘要] **目的** 探讨促性腺激素释放激素激动剂(GnRH-a)超长方案降调节对中重度子宫内膜异位症患者体外受精-胚胎移植(IVF-ET)胚胎种植率和临床妊娠率的影响。**方法** 回顾性分析2012年6月—2016年7月在第二军医大学长海医院生殖医学中心采用IVF-ET助孕的120例子宫内膜异位症患者的临床资料,患者行IVF-ET助孕时分别选择GnRH-a超长方案($n=42$)、长方案($n=38$)或短方案($n=40$)。分析比较:(1)3组患者的年龄,不孕年限,基础卵泡刺激素、促黄体生成素(LH)和雌二醇(E_2)的水平,以及人绒毛膜促性腺激素(hCG)日LH、 E_2 和孕酮的水平;(2)3组患者的平均取卵数、MII卵子数、受精率、卵裂率、可用胚胎数、胚胎种植率和临床妊娠率。**结果** (1)3组患者一般资料差异无统计学意义。(2)超长方案和长方案组患者hCG日的LH和孕酮水平均低于短方案组(P 均 <0.05)。(3)超长方案组患者的受精率、卵裂率、胚胎种植率和临床妊娠率均高于短方案组($P<0.05$)。**结论** 中重度子宫内膜异位症患者在腹腔镜或开腹手术切除病灶后,行IVF-ET助孕时应用超长方案可提高临床妊娠率与胚胎种植率。

[关键词] 子宫内膜异位症;GnRH-a超长方案;体外受精;胚胎移植;妊娠结局

[中图分类号] R 321-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2017)07-0852-05

Gonadotropin-releasing hormone agonist super-long protocol elevates pregnancy rate of assisted reproductive technique in patients with moderate-to-severe endometriosis

DU Hui[△], ZHANG Wen-jing[△], ZHU Min, SHI Min-feng, LIU Min, BAI Xue-mei, SONG Di, YIN Hui-rong, LIN Sha-sha, HONG Yi, SUN Yan-hua, LUO Ting, ZHANG Hui-qin*

Reproductive Medical Center, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

[Abstract] **Objective** To explore the impact of gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRH-a) super-long protocol on embryo implantation rate and clinical pregnancy rate of *in vitro* fertilization and embryo transfer (IVF-ET) in patients with moderate-to-severe endometriosis. **Methods** This retrospective study included 120 women with endometriosis who received IVF-ET from Jun. 2012 to Jul. 2016 in Reproductive Medical Center of Changhai Hospital of Second Military Medical University. Among the 120 patients, 42 received super-long GnRH-a protocol, 38 received long GnRH-a protocol, and 40 received short GnRH-a protocol during IVF-ET. We compared: (1) The patients' age, infertility years, basal serum levels of follicle stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH) and estradiol (E_2), and the levels of FSH, LH, E_2 and progesterone on the human chorionic gonadotropin hCG day; (2) the average number of retrieved oocyte, fertilization rate, cleavage rate, number of available embryos, embryo implantation rate and clinical pregnancy rate. **Results** (1) There was no significant difference in general characteristics between three protocols. (2) Compared with the short GnRH-a protocol group, the super-long GnRH-a protocol and long GnRH-a protocol had significantly decrease serum LH and progesterone levels on the hCG day (all $P<0.05$). (3) The fertilization rate, cleavage rate, embryo implantation rate and clinical pregnancy rate of super-long GnRH-a protocol were significantly higher than those of the short GnRH-a protocol ($P<0.05$). **Conclusion** The IVF-ET using super-long GnRH-a protocol can improve the embryo implantation rate and clinical pregnancy rate of the patients with moderate-to-

[收稿日期] 2017-04-17 **[接受日期]** 2017-06-22

[作者简介] 杜惠, 硕士, 主治医师, E-mail: huihui_family@163.com; 张文静, 硕士, 主治医师, E-mail: jieqengzjw@126.com

[△]共同第一作者 (Co-first authors).

* 通信作者 (Corresponding author). Tel: 021-31162048, E-mail: 13764015980@139.com

severe endometriosis compared with using long or short GnRH-a protocol.

[Key words] endometriosis; GnRH-a super-long protocol; fertilization *in vitro*; embryo transfer; pregnancy outcome

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2017, 38(7): 852-856]

子宫内膜异位症(简称内异症)是指子宫内膜组织出现在子宫腔以外,继发疼痛、不孕、包块等,是生育期妇女的常见疾病,约占生育期妇女疾病的10%^[1]。内异症通常分为卵巢型(卵巢子宫内膜异位囊肿,简称巧囊)、深部浸润型和腹膜型。中重度内异症及合并子宫肌腺病对盆腔微环境、输卵管的正常蠕动、卵子输送、胚胎质量、子宫内膜容受性和黄体功能均会产生不利影响而导致不孕^[2]。而且,中重度内异症患者在体外受精-胚胎移植(*in vitro* fertilization and embryo transfer, IVF-ET)助孕过程中常常出现卵子数目少、质量差,胚胎碎片多,甚至无移植胚胎,妊娠率偏低等问题^[3]。因此选择合理的促排卵方案至关重要。普通长方案、短方案、拮抗剂方案等均可用于内异症患者,但效果差异很大。现将本中心2012年6月—2016年7月在中重度内异症患者IVF-ET助孕过程中应用不同促排卵方案助孕的结果报告如下。

1 资料和方法

1.1 研究对象 回顾性分析2012年6月—2016年7月在本中心采用IVF-ET助孕的120例内异症不孕患者的临床资料。纳入标准:经腹腔镜和(或)开腹手术证实单侧或双侧卵巢子宫内膜异位样囊肿剥除和(或)子宫肌腺瘤挖除术后(患者诊断标准按照美国不孕不育协会标准分期Ⅲ/Ⅳ);经B超确诊子宫肌腺病合并糖类抗原125(carbohydrate antigen 125, CA125)升高;年龄 ≤ 40 岁;不孕年限 ≥ 2 年;具备IVF-ET助孕指征,即基础卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH) ≤ 10.0 mIU/mL、基础窦卵泡计数 ≥ 5 枚;月经周期规律;体质量指数(body mass index, BMI)为18.0~24.0 kg/m²;首次接受IVF-ET助孕。排除标准:子宫畸形(双子宫、双角子宫、纵隔子宫等);多囊卵巢综合征、子宫内膜炎、盆腔结核、恶性肿瘤病史;男方严重少、弱、畸精子症,无精症或隐匿性精子症;双方任意一方染色体异常;患者IVF-ET术前3个月内使用激素类药物和免疫抑制剂。所有患者均已签署知情同意书。本研

究通过长海医院医学伦理委员会审批通过。

1.2 研究方法 将所有患者按促排卵方案分为超长方案组(42例)、长方案组(38例)和短方案组(40例)。

超长方案组于月经第2天采用阴道B超检查测量患者的子宫大小和窦卵泡,检测血清基础FSH、促黄体生成素(luteinizing hormone, LH)和雌二醇(estradiol, E₂)水平,并肌内注射第1针注射用醋酸曲普瑞林(商品名:达菲林,3.75 mg/支,法国益普生公司)3.75 mg;用药第28天注射第2针(3.75 mg),28 d后注射第3针(3.75 mg)。每次用药前进行阴道B超检查和血清FSH、LH、E₂水平检测,第3针注射用醋酸曲普瑞林注射后第14天B超监测卵泡和子宫内膜,检测血清FSH、LH、E₂水平。用药第21天启动促性腺激素(gonadotropin, Gn;商品名:果纳芬,75 IU/支,默克雪兰诺公司)150~225 IU/d和尿促性素(75 IU/支,丽珠医药集团股份有限公司)75~150 IU/d递减方案促排卵,启动Gn后B超监测卵泡发育和血清激素水平。当1~2枚优势卵泡直径 ≥ 18 mm、子宫内膜厚度 ≥ 8 mm时,肌内注射重组人绒毛膜促性腺激素(hCG;商品名:艾泽,250 μ g/支,默克雪兰诺公司)250 μ g,36 h后取卵,4~6 h后行体外受精(*in vitro* fertilization, IVF),72 h后选择优质胚胎进行胚胎移植(embryo transfer, ET),移植后给予黄体酮阴道缓释凝胶(商品名:雪诺同,90 mg/支,默克雪兰诺公司)联合地屈孕酮片(商品名:达芙通,10 mg/片,荷兰Abbott Biologicals公司)口服进行黄体支持。剩余可用胚胎冷冻保存。2周后随访血人绒毛膜促性腺激素 β (human chorionic gonadotropin β , β -hCG),如血 β -hCG升高,孕5周时行B超检查见宫内胎心搏动确认临床妊娠。如果患者出现卵巢过度刺激综合征(ovarian hyperstimulation syndrome, OHSS)倾向,新鲜周期预防OHSS取消移植,胚胎全部冻存,等待2个月后进行冻融胚胎移植。

长方案组于月经第3天行阴道B超检查测量患者子宫大小和窦卵泡,检测血清基础FSH、LH、E₂的水平。于月经第21天或排卵后7~8 d肌注射

用醋酸曲普瑞林 1.25 mg,待再次月经第3天开始给予 Gn 225~300 IU/d 促排卵,根据卵泡发育和血清激素水平调整用药剂量,至 hCG 注射日取卵和 ET,移植后注意事项同超长方案组。

短方案组于患者月经第2天开始给予醋酸曲普瑞林注射液(商品名:达必佳,0.1 mg/d,辉凌公司),于月经第3天开始给予 Gn (150~225 IU/d)递减或递增方案促排卵,B超监测卵泡发育,至 hCG 注射日取卵和 ET,移植后注意事项同超长方案组。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 16.0 软件进行数据

处理。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料以率(%)表示,组间比较采用 t 检验或 χ^2 检验。检验水准(α)为 0.05。

2 结果

2.1 3组患者一般资料的比较 3组患者的年龄、不孕年限、BMI、窦卵泡数目(antral follicle count, AFC)与基础 FSH、LH 和 E_2 水平的差异均无统计学意义(P 均 >0.05)。见表1。

表1 3组内异症患者的一般资料

Tab 1 General characteristics of patients with endometriosis among three groups

Characteristic	$\bar{x} \pm s$			P value
	Super-long GnRH-a protocol <i>n</i> =42	Long GnRH-a protocol <i>n</i> =38	Short GnRH-a protocol <i>n</i> =40	
Age (year)	32.69±3.62	31.54±2.11	33.45±2.79	0.173 9
Duration of infertility <i>t</i> /year	5.46±3.04	5.27±3.00	6.29±3.26	0.773 5
BMI (kg · m ⁻²)	21.93±1.60	21.51±1.59	22.48±1.32	0.244 9
Antral follicles count	4.98±1.95	5.16±1.48	5.38±1.22	0.473 8
Basal FSH z_B /(mIU · mL ⁻¹)	6.77±2.66	5.47±1.63	6.25±1.96	0.059 6
Basal LH z_B /(mIU · mL ⁻¹)	5.74±8.41	3.23±0.97	4.42±1.71	0.061 8
Basal E_2 ρ_B /(pg · mL ⁻¹)	40.57±19.58	50.69±35.29	53.34±29.85	0.123 5

GnRH-a: Gonadotropin-releasing hormone agonist; BMI: Body mass index; FSH: Follicle-stimulating hormone; LH: Luteinizing hormone; E_2 : Estradiol

2.2 3组患者控制性超促排卵(controlled ovarian hyperstimulation,COH)监测指标的比较 与短方案组相比,超长方案组患者 hCG 日 LH、孕酮水平降低(P 均 <0.05),Gn 使用天数(卵巢过度刺激时

间)延长($P<0.05$);长方案组患者 hCG 日 LH 和孕酮水平降低($P<0.05$)。与长方案组比较,超长方案组的 Gn 使用天数和使用剂量稍大,但两组差异无统计学意义($P>0.05$)。见表2。

表2 3组内异症患者控制性超促排卵参数比较

Tab 2 Comparison of controlled ovarian hyperstimulation parameters of patients with endometriosis among three groups

Index	$\bar{x} \pm s$		
	Super-long GnRH-a protocol <i>N</i> =42	Long GnRH-a protocol <i>N</i> =38	Short GnRH-a protocol <i>N</i> =40
Duration of ovarian hyperstimulation <i>t</i> /d	11.00±1.63*	9.91±3.34	8.17±0.79
Total unit of Gn (IU)	3 637±199	3 355±922	3 061±444
LH level on hCG day z_B /(mIU · mL ⁻¹)	0.56±0.22*	1.22±0.75*	4.32±1.72
E_2 level on hCG day ρ_B /(pg · mL ⁻¹)	2 325±1 373	2 561±812	2 216±1 044
Progesterone level on hCG day ρ_B /(ng · mL ⁻¹)	1.47±0.92*	0.98±0.39*	2.06±1.13

GnRH-a: Gonadotropin-releasing hormone agonist; Gn: Gonadotropin; LH: Luteinizing hormone; hCG: Human chorionic gonadotropin; E_2 : Estradiol. * $P<0.05$ vs short GnRH-a protocol group

2.3 3组患者 COH 参数和 ET 结局的比较 由表3可见,超长方案组的受精率、卵裂率、临床妊娠率、胚

胎种植率均高于短方案组($P<0.05$);总流产率略低于短方案组,但差异无统计学意义($P>0.05$)。

与短方案组比较,长方案组卵裂率升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),总流产率有降低趋势,但差异无统计学意义。临床妊娠率长方案组略高于短方案组,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。超长方案组1例预防 OHSS 未移植;无可移植胚胎2例;1例宫内

外同时怀孕,宫外手术后宫内继续妊娠。长方案组1例预防 OHSS 未移植,无可移植胚胎1例,1例3胎行减胎术。短方案组4例无可移植胚胎。见表3。

表3 3组内异症患者控制性超促排卵参数及 IVF-ET 结局比较

Tab 3 Comparison of controlled ovarian hyperstimulation parameters and IVF-ET outcomes of endometriosis patients among three groups

Index	Super-long GnRH-a protocol	Long GnRH-a protocol	Short GnRH-a protocol
Average retrieved oocytes ^a	5.12($n=42$)	6.50($n=38$)	6.63($n=40$)
Rate of fertilization ^b %(n/N)	87.91(189/215)*	61.13(151/247)	67.92(180/265)
Rate of cleavage ^c %(n/N)	100.00(189/189)*	92.71(140/151)*	79.45(143/180)
Rate of available embryos ^d %(n/N)	56.08(106/189)	57.85(81/140)	61.54(88/143)
Rate of clinical pregnancy ^e %(n/N)	74.36(29/39)*	47.22(17/36)	38.89(3/31)
Embryo implantation rate ^f %(n/N)	43.59(34/78)*	34.33(23/67)	30.56(2/17)
Abortion rate ^g %(n/N)	9.68(3/31)	11.76(2/17)	28.57(4/14)

^a: Number of retrieved oocytes/number of patients; ^b: Number of fertilization/number of retrieved oocytes; ^c: Number of cleavage/number of fertilization; ^d: Number of available embryos/number of cleavage; ^e: Number of clinical pregnancy/number of transplanting cycles; ^f: Number of embryo implantation/number of transferred embryos; ^g: Number of abortion rate/number of pregnancy. GnRH-a: Gonadotropin-releasing hormone agonist; IVF-ET: *In vitro* fertilization and embryo transfer. * $P < 0.05$ vs short GnRH-a protocol group

3 讨论

内异症对生育年龄女性的生殖功能影响非常大,约30%~40%的内异症患者并发不孕。内异症引起不孕的机制是复杂的,中重度内异症患者可引起子宫、输卵管与盆壁粘连,而且众多证据表明内异症患者存在盆腔免疫反应的异常,免疫活性细胞释放白介素6(interleukin-6, IL-6)、表皮细胞生长因子(epidermal growth factor, EGF)和成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)等促进异位内膜存活、增殖,并导致局部纤维增生、粘连,使颗粒细胞功能受损,影响卵子质量,降低受精率和胚胎发育潜能。Barnhart等^[4]通过一项 meta 分析发现内异症性不孕患者的获卵数、受精率、优质胚胎率均低于输卵管性不孕患者,且子宫内膜容受性下降,影响胚胎着床。

促性腺激素释放激素(gonadotropin-releasing hormone, GnRH)是下丘脑分泌的十肽激素,是神经、免疫、内分泌三大调节系统相互联系的重要信号分子,对生殖调控具有重要意义^[5]。促性腺激素释放激素激动剂(gonadotropin-releasing hormone

agonist, GnRH-a)是人工合成的十肽激素,可竞争性作用于垂体-卵巢轴抑制卵巢激素的分泌,使异位的内膜萎缩^[6]。

经腹腔镜证实存在内异症而进行 IVF-ET 治疗的患者,采用长效注射用醋酸曲普瑞林进行2~3次的降调节可明显改善妊娠结局^[7]。一项 meta 分析表明,中重度内异症患者使用长效注射用醋酸曲普瑞林降调节3个月后再进入促排卵周期,优质胚胎率、胚胎种植率、妊娠率高于非降调组^[8]。任建枝等^[9]认为,延长 GnRH-a 使用时间的超长方案相较于常规长方案可提高优质胚胎率、胚胎种植率和临床妊娠率。因此,对盆腔中重度内异症患者采用超长方案(全量长效注射用醋酸曲普瑞林)能够获得较好的妊娠结局。本研究结果也显示,与短方案相比,超长方案患者的受精率、卵裂率、临床妊娠率和胚胎种植率均提高。

在卵巢巧克力囊肿患者中进行 IVF-ET 时促排卵方案的选择存在很多争议。在临床工作中经常见到卵巢巧克力囊肿剥除术后患者的卵巢储备功能已经严重受损,因此普通长方案或非全量长效方案也经常采纳。一项 meta 分析显示,卵巢巧克力囊

肿患者采用超长方案降调节后,虽然临床妊娠率无显著提高,但成熟卵子数更多、优胚率更高^[10]。因此,根据患者的卵巢储备情况选用合适的GnRH-a降调节剂量对于提高卵巢巧克力囊肿患者的临床妊娠率非常重要。

综上所述,GnRH-a 超长方案能提高中重度内异症不孕患者 IVF-ET 助孕时的胚胎种植率和临床妊娠率,与以往文献^[11]报道结果相似。但是由于本研究样本量小,在临床进一步推广应用前尚有待扩大样本量完善临床实践。

[参考文献]

- [1] 乐杰主. 妇产科学[M]. 8 版,北京:人民卫生出版社, 2014:268-274.
- [2] WU Z, YUAN M, LI Y, FU F, MA W, LI H, et al. Analysis of WNT4 polymorphism in Chinese Han women with endometriosis[J]. *Reprod Biomed Online*, 2015, 30: 415-420.
- [3] 盛青菁,潘家坪,滕晓明,黄媚媛,杨健之. 子宫内膜异位症对体外受精-胚胎移植结果的影响[J]. *同济大学学报(医学版)*, 2014, 35:80-84.
- [4] BARNHART K, DUNSMOOR-SU R, COUTIFARIS C. Effect of endometriosis on *in vitro* fertilization[J]. *Fertil Steril*, 2002, 77: 1148-1155.
- [5] BEYER D A, AMARI F, THILL M, SCHULTZ-MOSGAU A, AL-HASANI S, DIEDRICH K, et al. Emerging gonadotropin-releasing hormone agonists[J]. *Expert Opin Emerg Drugs*, 2011, 16: 323-340.
- [6] LAINAS T G, SFONTOURIS I A, ZORZOVILIS I Z, PETSAS G K, LAINAS G T, ALEXOPOULOU E, et al. Flexible GnRH antagonist protocol versus GnRH agonist long protocol in patients with polycystic ovary syndrome treated for IVF: a prospective randomised controlled trial (RCT)[J]. *Hum Reprod*, 2010, 25: 683-689.
- [7] 龚斐,唐奕,张红,卢光琇. 改良超长降调节方案改善不孕患者体外受精-胚胎移植中的结局[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2009, 34:185-189.
- [8] SALLAM H N, GARCIA-VELASCO J A, DIAS S, ARICI A. Long-term pituitary down-regulation before *in vitro* fertilization (IVF) for women with endometriosis[J/CD]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2006(1): CD4635.
- [9] 任建枝,沙爱国,韩冬梅,李萍,耿洁,马彩辉. 改良长方案的控制性超促排卵方案在体外受精-胚胎移植中的作用[J]. *生殖医学杂志*, 2013, 22:846-850.
- [10] BENSCHOP L, FARQUHAR C, VAN DER POEL N, HEINEMAN M J. Interventions for women with endometrioma prior to assisted reproductive technology [J/CD]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2010(11): CD8571. doi: 10.1002/14651858.
- [11] LIN X N, WEI M L, TONG X M, XU W H, ZHOU F, HUANG Q X, et al. Outcome of *in vitro* fertilization in endometriosis-associated infertility: a 5-year database cohort study[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2012, 125: 2688-2693.

[本文编辑] 杨亚红