

克罗米芬组合低剂量促性腺激素方案和常规拮抗剂方案在体外授精胚胎移植治疗中的临床治疗结局比较

吴 畏, 冒韵东, 王 焯, 蔡令波, 马 翔, 刁飞扬, 孟 艳, 刘嘉茵*

(南京医科大学第一附属医院生殖医学中心, 生殖医学国家重点实验室, 江苏 南京 210029)

[摘要] 目的: 比较卵巢功能正常的体外授精胚胎移植治疗患者, 应用克罗米芬组合低剂量促性腺激素方案和常规拮抗剂方案的临床治疗结局。方法: 应用前瞻性随机对照研究, 选择 2014 年 9 月—2015 年 12 月在南京医科大学第一附属医院就诊, 女方卵巢功能评估正常, 拟行体外授精胚胎移植治疗的 120 对夫妇为研究对象。按随机数字信封法分为实验组(克罗米芬组合低剂量促性腺激素方案)和对照组(常规拮抗剂方案)进行促排卵及体外授精胚胎移植治疗, 两组均行全胚冷冻, 择期冻融胚胎移植, 随访至活产或用完本次取卵周期形成的所有胚胎, 比较两组患者治疗的临床指标、实验室指标和临床妊娠结局。结果: 实验组患者促性腺激素用量低于对照组, 促性腺激素用药天数短于对照组, 但两组患者临床妊娠率、活产率的差异无统计学意义。结论: 克罗米芬组合低剂量促性腺激素方案, 在促性腺激素用量减少和用药天数缩短情况下, 能达到常规拮抗剂方案的临床治疗结局, 是一种经济、有效、温和的新促排卵方案。

[关键词] 克罗米芬; 促性腺激素; 体外授精; 胚胎移植; 临床妊娠率; 活产率

[中图分类号] R711.6

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2017)12-1583-04

doi: 10.7655/NYDXBNS20171209

Comparison of clinical outcomes between clomiphene citrate combined with low-dose gonadotropin and conventional antagonist protocol in the treatment of *in vitro* fertilization and embryo transfer

Wu Wei, Mao Yundong, Wang Wei, Cai Lingbo, Ma Xiang, Diao Feiyang, Men Yan, Liu Jiayin*

(The State Key Laboratory of Reproductive Medicine, Clinical Center of Reproductive Medicine, the First Affiliated Hospital, NJMU, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To compare the clinical outcomes of patients with normal ovarian function *in vitro* fertilization and embryo transfer therapy, using clomiphene citrate combined with low dose gonadotropin regimen and conventional antagonist regimen. **Methods:** A prospective randomized controlled trial was conducted. One hundred and twenty couples were selected from September 2014 to December 2015 at the First Affiliated Hospital of NJMU, the normal ovarian function of the woman and the *in vitro* fertilization embryo transfer therapy. The women were divided into experimental group (clomiphene citrate combination low dose gonadotropin regimen) and control group (conventional antagonist regimen) according to the randomized digital envelope method. Both of the two groups All embryo were frozen and frozen-thawed embryos were transferred, followed-up to live or running out of all embryos of this cycle in two groups, compare the clinical and laboratory results and clinical outcomes of the two groups were compared. **Results:** The dosage of gonadotropin in the experimental group was lower than that in the control group. The stimulate time of gonadotropin was shorter than that of the control group. There was no significant difference in clinical pregnancy rate and cumulative live birth rate between two groups. **Conclusion:** The combination of clomiphene citrate and low dose gonadotropin program can achieve the clinical outcome as good as the conventional antagonist regimen in the case of reduced dosage of gonadotropin and shortened stimulation days. It is a new economical, effective and mild ovulation induction program.

[Key words] clomiphene citrate; gonadotropin; *in vitro* fertilization; embryo transfer; clinical pregnancy rate; live birth rate

[Acta Univ Med Nanjing, 2017, 37(12):1583-1586]

[基金项目] 国家科技重大专项子课题(2017YFC1001300)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: jyliu_nj@126.com

个体化促排卵方案一直是体外受精胚胎移植 (*in vitro* fertilization, IVF) 治疗的目标^[1]。而经典促排卵药物克罗米芬 (clomiphene citrate, CC) 的优势也更多地被重新认识^[2]。CC 与低剂量促性腺激素 (gonadotropin, Gn) 组合方案, 与“温和友善”的 IVF 的观念一致^[3]。

以往文献报道更多的是针对卵巢功能下降的患者采用温和刺激方案^[4]。而本研究针对卵巢功能正常的患者, 采用随机对照研究, 比较 CC 组合低剂量 Gn 方案和常规拮抗剂方案的单次取卵周期的累积妊娠率、累积活产率、流产率等临床妊娠结局, 同时还观察 Gn 用量、Gn 使用天数、获卵数、获卵率、可移植胚胎数、高评分胚胎数、高评分胚胎率等实验室和临床指标。

1 对象和方法

1.1 对象

应用前瞻性随机对照研究, 选择 2014 年 9 月—2015 年 12 月, 在南京医科大学第一附属医院就诊, 拟行 IVF 治疗, B 超及基础性激素检查正常, 女方卵巢功能评估正常的 120 对不孕夫妇为研究对象。本研究经南京医科大学第一附属医院伦理委员会批准, 符合医学伦理学标准, 所有治疗均取得患者夫妇双方的知情同意。

入选标准: ①年龄: 20~34 岁; ②体重指数 (body mass index, BMI): $18 \sim 24 \text{ kg/m}^2$; ③体重: $40 \text{ kg} \leq \text{体重} \leq 80 \text{ kg}$; ④基础 FSH: $< 10 \text{ U/L}$; ⑤基础 LH: $< 10 \text{ U/L}$; ⑥储备卵泡数目: > 6 枚; ⑦第 1 次进行体外受精治疗。排除标准: ①Ⅲ期、Ⅳ期子宫内膜异位症患者; ②卵巢肿瘤手术史; ③子宫畸形的患者: 单角子宫、双角子宫、双子宫、纵膈子宫等; ④子宫腺肌症; ⑤黏膜下子宫肌瘤; ⑥宫腔粘连; ⑦患者或其丈夫染色体核型异常者 (包括染色体多态); ⑧自然流产 3 次及以上 (包括生化妊娠流产); ⑨有辅助生育技术禁忌证或妊娠禁忌证; ⑩对 CC、Gn、促性腺激素释放激素类似物 (GnRH) 拮抗剂及其赋形剂过敏者。

1.2 方法

将 120 对夫妇按随机信封法分为实验组和对照组。实验组采用 CC 组合低剂量 Gn 方案 (体重 $\leq 60 \text{ kg}$, 果纳芬 75.0~112.5 U 启动, 体重 $> 60 \text{ kg}$, 150.0 U 启动)。对照组采用拮抗剂方案 (体重 $\leq 60 \text{ kg}$, 果纳芬 75.0~150.0 U 启动, 体重 $> 60 \text{ kg}$, 150.0~187.5 U 启动), 两组均不用口服避孕药预处理。

所有入组患者月经来潮第 3 天 (D3) 查血促卵

泡生成素 (FSH)、雌二醇 (E_2)、促黄体生成素 (LH) 及经阴道 B 超检查, 储备卵泡直径 4~8 mm 者符合启动条件, 按序抽取随机号 (随机信封), 纳入实验组 (CC+Gn 组) 或对照组 (GnRH 拮抗剂组)。

实验组: 自 D3 启动之日起, 予以低剂量 FSH 果纳芬 (Gonal-F[®], Merck Serono, 德国) 75.0~112.5 U 启动, 同时加用 CC 50 mg/d 口服 (FERTALIN, CODAL SYNTO LTD, 塞浦路斯)。FSH 刺激的第 6 天首次 B 超监测, 空腹抽血查 E_2 、LH, 并行经阴道 B 超检查, 根据卵泡大小决定复查激素和 B 超时间。主导卵泡直径达到 14 mm 时, 开始吲哚美辛栓 0.1 g/d 纳肛。若 LH 超过 20 U/L 或达 D3 基础 LH 3 倍以上, 添加拮抗剂醋酸加尼瑞克 0.25 mg/d (Orgalutran MSD, 德国)。

对照组: 自 D3 启动之日起, 予以 FSH 果纳芬 112.5~150.0 U 启动, 同时可添加贺美奇 HP-LH 75 U/L, 适时监测 E_2 、LH、P。当有 1 枚主导卵泡直径达到 12~14 mm 或 $E_2 \geq 2500 \text{ pmol/L}$ 时, 添加拮抗剂醋酸加尼瑞克 0.25 mg/d。

当 4 枚主导卵泡直径达到 16 mm 以上或 3 枚主导卵泡直径达到 17 mm 以上时, 予以 GnRH 激动剂达菲林 0.2 mg 扳机 (Triptorelin, Ferring Pharmaceuticals), CC 及 GnRH 拮抗剂均用到扳机日。达菲林应用后 36 h 取卵, 取卵当天开始黄体支持, 对照组和实验组均应用孕激素。取卵后第 3 天全胚冷冻。取卵术后第 2 次月经来潮采用自然周期或促排卵周期准备冻胚移植, 排卵后第 4 天行胚胎移植, 达芙通 10 mg 每天 2 次黄体支持。移植后 14 d 抽血查 HCG, 阴性者本次随访终止, 阳性者在移植后 30 d 行经阴道 B 超, 见胎心搏动者为临床妊娠阳性, 继续随访至分娩。第 1 次胚胎移植失败者继续进行第 2 次、第 3 次冻胚移植直至本取卵周期所有胚胎用完为止。

1.3 统计学方法

数据来源于本院生殖医学中心的临床生殖医学数据系统 (clinical reproductive medicine system, CCRM)。采用 SPSS19.0 统计软件包进行统计分析。采用独立样本 *t* 检验进行两组均数的比较, 采用 χ^2 检验进行两组率的比较。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 两组患者基本情况

两组患者共纳入 120 例, 其中实验组 60 例、对照组 60 例, 无失访。对照组 2 例单卵泡发育未取卵, 1 例无可移植胚胎。实验组及对照组各 2 例疑似部

分卵子早排。

实验组和对照组患者年龄、BMI、基础 FSH、基础 LH、AMH 的差异无统计学意义, 还不能认为两组患者的年龄等基本情况不同。实验组和对照组患者基础 E₂ 的差异有统计学意义, 可认为实验组患者基础 E₂ 比对照组低(表 1)。

表 1 实验组和对照组患者基本情况的比较

Table 1 Comparison the general data between experiment group and control group ($\bar{x} \pm s$)

指标	实验组	对照组	P 值
年龄(岁)	29.15±3.29	28.37±3.81	0.230
BMI(kg/m ²)	21.41±2.39	21.97±2.21	0.190
基础 FSH(U/L)	7.57±1.46	7.43±2.09	0.664
基础 E ₂ (pmol/L)	152.16±54.87	180.09±67.36	0.014
基础 LH(U/L)	5.74±3.94	5.41±2.52	0.586
AMH(ng/mL)	7.80±4.50	7.77±4.70	0.979

2.2 两组患者促排卵治疗临床指标比较

实验组和对照组患者 Gn 平均用量差异有统计学意义, 可认为实验组患者 Gn 用量低于对照组。实验组和对照组患者 Gn 平均用药天数差异有统计学意义, 可认为实验组患者 Gn 用药天数短于对照组。实验组和对照组患者扳机日内膜平均厚度的差异有统计学意义, 可认为实验组患者内膜厚度薄于对照组。实验组和对照组患者扳机日 LH 的差异有统计学意义, 可认为实验组患者扳机日 LH 高于对照组。实验组和对照组患者扳机日 LH/基础 LH 差异有统计学意义, 可认为实验组患者扳机日 LH/基础 LH 高于对照组。实验组和对照组患者扳机日 E₂、扳机日 P、OHSS 率和卵子早排率差异无统计学意义, 还不能认为两组患者的扳机日 E₂、扳机日 P、OHSS 率和卵子早排率不同(表 2)。

2.3 两组患者促排卵治疗实验室指标比较

实验组和对照组患者获卵数、2PN 数、可移植胚胎数、高评分胚胎数、高评分胚胎率、卵子利用率差异无统计学意义, 还不能认为两组患者的获卵数等促排卵治疗实验室指标不同(表 3)。

2.4 两组患者临床妊娠结局比较

实验组和对照组的 1 次移植临床妊娠率、2 次移植累积临床妊娠率、3 次移植累积妊娠率的差异无统计学意义, 还不能认为两组患者的临床妊娠率不同。实验组和对照组的 1 次移植活产率、2 次移植累积活产率、3 次移植累积移植活产率的差异无统计学意义, 还不能认为两组患者的活产率不同。实验组和对照组流产率的差异无统计学意义, 还不能

认为两组患者流产率不同(表 4)。

3 讨论

CC 作用于下丘脑, 与雌激素竞争受体, 解除雌

表 2 实验组和对照组促排卵治疗临床指标的比较

Table 2 Comparison the clinical data of ovulation induction between experiment group and control group ($\bar{x} \pm s$)

指标	实验组	对照组	P 值
Gn 用量(U)	981.04±210.38	1 480.42±421.94	<0.001
Gn 天数(d)	8.47±1.20	9.30±1.70	0.002
扳机日内膜厚度(mm)	6.60±2.13	9.87±2.10	<0.001
扳机日 E ₂ (pmol/L)	12 295.37±7 702.76	11 213.94±6 934.98	0.421
扳机日 LH(U/L)	8.63±4.41	4.58±2.85	<0.001
扳机日 P(nmol/L)	4.33±2.70	3.73±1.86	0.158
扳机日 LH/基础 LH	1.84±1.08	0.93±0.57	<0.001
OHSS 率[%(<i>n</i> / <i>N</i>)]	1.67(1/60)	1.67(1/60)	0.476
卵子早排率[%(<i>n</i> / <i>N</i>)]	3.33(2/60)	3.33(2/60)	0.611

表 3 实验组和对照组患者促排卵治疗实验室指标的比较

Table 3 Comparison the laboratory data of ovulation induction between experiment group and control group ($\bar{x} \pm s$)

指标	实验组	对照组	P 值
获卵数(枚)	8.38±3.52	9.83±5.50	0.088
2PN 数(个)	5.92±3.08	6.32±3.53	0.510
可移植胚胎数(枚)	5.23±2.86	5.52±3.37	0.620
高评分胚胎数(枚)	4.25±2.64	4.17±3.24	0.878
高评分胚胎率 [%(<i>n</i> / <i>N</i>)]	81.21(255/314)	75.53(250/331)	0.080
卵子利用率 [%(<i>n</i> / <i>N</i>)]	12.33(62/503)	10.34(61/590)	0.300

表 4 实验组和对照组患者临床妊娠结局的比较

Table 4 Comparison the clinical pregnancy outcome between experiment group and control group (%)

指标	实验组	对照组	P 值
1 次移植临床妊娠率(%)	71.67	76.67	0.532
1 次移植活产率(%)	65.00	68.33	0.699
2 次移植累积临床妊娠率(%)	80.00	78.33	0.822
2 次移植累积活产率(%)	75.00	71.67	0.680
3 次移植累积临床妊娠率(%)	80.00	81.67	0.817
3 次移植累积活产率(%)	75.00	76.67	0.831
流产率 [%(<i>n</i> / <i>N</i>)]	10.00(5/50)	13.21(7/53)	0.612

激素的反馈作用,增加下丘脑 GnRH 的脉冲分泌,刺激内源性 Gn 释放,上调颗粒细胞芳香酶活性,增加卵泡对 Gn 的反应。同时由于 CC 竞争性结合雌激素受体,所以也可以抑制雌激素的正反馈作用,从而抑制内源性 LH 峰的出现而抑制排卵^[5]。CC 与 Gn 组合,由于协同效应而使得需要的外源性 Gn 剂量减少^[6]。本研究中实验组 Gn 平均用量 981 U,较拮抗剂组 1 480 U 明显降低,常规超促排卵 Gn 用量均在 1 500~2 000 U 左右。以往文献中,CC 组合 Gn 刺激方案多常规添加拮抗剂抑制内源性 LH 峰,预防卵子早排。本研究发现,对于大部分患者 CC 能很好地抑制内源性 LH 峰,实验组 60 例仅 10 例因 LH 升高添加了拮抗剂。

传统的控制性超促排卵方案,旨在获得更多卵母细胞来补偿实验室培养的低效率,从而获得更多的可移植胚胎。Stoop 等^[7]统计了美国 23 000 个 ICSI 周期数据,卵子利用率仅 4.47%,即每 20 个卵子才能获得 1 个活产。本研究中卵子利用率实验组达 12.33%,平均每 8 枚卵子可获得 1 个活产,卵子利用率明显提高。近年来,体外培养实验室技术的提高,使得卵子利用率提高,IVF 治疗越来越倾向于更温和的卵巢刺激方案。大剂量 Gn 促排卵获得更多的卵子并没有提高 CLBR,反而大大增加 OHSS 风险、患者不适及经济负担^[8]。Luke 等^[9]来源于美国的 470 000 个 IVF 周期跟踪随访的统计结果提示,累计达 40%的中断治疗的首要原因是治疗过程的不适,相比常规促排卵方案,温和方案治疗患者退出率更低。

和常规大剂量 Gn 的超促排卵方案比,低剂量 Gn 可减少卵子发生染色体异常的风险^[10],提高卵子质量,减少胚胎非整倍体风险,从而提高卵子利用率。Baker 等^[11]的基于 650 000 例大样本的研究提示,活产率和 Gn 剂量呈负相关,即使是正常反应的人群也同样。

权威 Cochrane 荟萃分析^[3]的结果等报道了温和刺激方案获得了和常规刺激方案同样的累积临床妊娠率,而 OHSS 率从常规方案的 3.5%降至 0.8%~1.8%,与本研究结果一致。大样本研究结果显示,第 1 次取卵周期的活产率达 29.5%是合理的^[12]。本研究中 IVF 临床妊娠结局良好的患者使用 CC 组合低剂量 Gn 温和刺激方案组 CLBR 可达 80%,在短时间内获得了理想的临床妊娠结局,且更经济舒适。

[参考文献]

- [1] Edwards RG. The history of assisted human conception with especial reference to endocrinology[J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 1996,104(3):183-204
- [2] Antonio La Marca, Sesh Kamal Sunkara. Individualization of controlled ovarian stimulation in IVF using ovarian reserve markers: from theory to practice [J]. *Human Reproduction Update*, 2014, 20 :124 - 140
- [3] Gibreel A, Maheshwari A, Bhattacharya S. Clomiphene citrate in combination with gonadotropins for controlled ovarian stimulation in women undergoing in vitro fertilization[Z]. *The Cochrane Collaboration*,2012:1-23
- [4] Youssef MA, van Wely M, Al-Inany H, et al. A mild ovarian stimulation strategy in women with poor ovarian reserve undergoing IVF: a multicenter randomized non-inferiority trial[J]. *Human Reproduction*,2017,32: 112 - 118
- [5] Ferraretti AP, Gianaroli L, Magli MC, et al. Mild ovarian stimulation with clomiphene citrate launch is a realistic option for in vitro fertilization[J]. *Fert Steril*, 2015,104 (2):333-338
- [6] 高彦,冒韵东,王 嫒,等. 反复体外受精-胚胎移植治疗失败患者采用微刺激方案妊娠结局[J]. *生殖医学杂志*, 2012,21(1):34-37
- [7] Stoop D, Ermini B, Polyzos NP, et al. Reproductive potential of a metaphase II oocyte retrieved after ovarian stimulation: an analysis of 23 354 ICSI cycles[J]. *Human Reproduction*. 2012,27:2030 - 2035
- [8] Toftager M, Bogstad J, Løfssl K, et al. Cumulative live birth rates after one ART cycle including all subsequent frozen-thaw cycles in 1050 women: secondary outcome of an RCT comparing GnRH-antagonist and GnRH-agonist protocols [J]. *Human Reproduction*, 2017,32:556-567
- [9] Luke B, Brown MB, Wantman, E, et al. Cumulative birth rates with linked assisted reproductive technology cycles [J]. *N Engl J Med*, 2012, 366: 2483-2491
- [10] Gianaroli L, Magli MC, Cavallini G, et al. Predicting aneuploidy in human oocytes: key factors which affect the meiotic process[J]. *Human Reproduction*, 2010,25:2374-2386
- [11] Baker VL, Brown MB, Luke B, et al. Gonadotropin dose is negatively correlated with live birth rate: analysis of over 650,000 ART cycles[J]. *Fertility and Sterility*, 2015, 104(5): 1145 - 1152
- [12] Smith ADAC, Tilling K, Nelson SM, et al. Live-birth rate associated with repeat in vitro fertilization treatment cycles[J]. *JAMA*,2015, 314(24): 22-29

[收稿日期] 2017-07-19