

· 临床研究 ·

添加拮抗剂后 E₂ 变化对 IVF-ET 妊娠结局的影响

董丽, 张娟娟, 李欣, 陈梦茜, 陈小燕, 凌秀凤, 赵纯*

南京医科大学附属妇产医院生殖医学中心, 江苏 南京 210004

[摘要] 目的:探讨促性腺激素释放激素拮抗剂方案(gonadotrophin releasing hormone antagonist, GnRH-ant)中添加拮抗剂后雌二醇(estradiol, E₂)变化对体外受精-胚胎移植(*in vitro* fertilization and embryo transfer, IVF-ET)妊娠结局的影响。方法:回顾性分析2016年1月—2019年5月在南京医科大学附属妇产医院生殖医学中心应用拮抗剂方案进行IVF-ET治疗后行新鲜周期胚胎移植的316例患者的临床资料。测定添加拮抗剂当天和后1日血清中内分泌激素情况。根据患者添加拮抗剂当天和后1日血清中E₂水平的变化情况分成3组:雌激素升高组(A组, 159例)、雌激素持平组(B组, 155例)和雌激素下降组(2例, 病例数少, 未进行后续统计学分析), 观察A、B两组患者基本情况、临床治疗情况、实验室指标及临床妊娠相关指标的差异。结果:A、B两组患者在年龄、不孕年限、体重指数(body mass index, BMI)水平、基础内分泌水平、抗缪勒管激素(anti Mullerian hormone, AMH)水平等基本情况差异均无统计学意义。在临床治疗及实验室指标中, 促性腺激素(gonadotropin, Gn)启动剂量、Gn总剂量、Gn天数、拮抗剂总剂量、拮抗剂天数、人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin, HCG)日孕酮水平、HCG日内膜厚度、获卵总数、正常受精率、可移植胚胎数、优质胚胎数、优胚率、移植胚胎数等方面差异均无统计学意义。临床结局比较, 两组异位妊娠率和卵巢过度刺激率差异均无统计学意义, 但A组临床妊娠率、胚胎种植率及活产率更高, 流产率更低, 差异有统计学意义。结论:选择拮抗剂方案行IVF-ET的患者中, 添加拮抗剂后1日血清中E₂水平会出现波动, E₂水平较前增加>30%对行新鲜周期胚胎移植的患者临床妊娠结局更有利。

[关键词] 体外受精-胚胎移植; 拮抗剂方案; 胚胎移植; 妊娠结局

[中图分类号] R715.9

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2020)11-1672-04

doi: 10.7655/NYDXBNS20201118

在体外受精-胚胎移植(*in vitro* fertilization and embryo transfer, IVF-ET)过程中, 通过控制性促排卵(controlled ovarian stimulation, COS)获取多枚卵子, 形成多枚胚胎, 来提高累计妊娠率, 改善治疗结局。

上世纪后期, 促性腺激素释放激素拮抗剂(gonadotrophin releasing hormone antagonist, GnRH-ant)的广泛应用, 为COS带来了新的选择。GnRH-ant是GnRH受体的竞争性阻断剂, 通过阻断促性腺激素的分泌来降低垂体分泌促卵泡生成素(follicle stimulating hormone, FSH)和促黄体生成素(luteinizing hormone, LH), 从而快速有效地抑制过早出现的LH高峰, 极大降低了卵泡黄素化的发生率, 显著提高获卵率, 在国内得到了越来越多的应用^[1], 临床工作中发现, 拮抗剂添加后血清中雌二醇(estradiol, E₂)水平会出现波动情况^[2-3], 然而E₂波动对妊娠结局的

影响尚无定论, 因此本文旨在探讨添加拮抗剂后E₂变化对IVF-ET治疗结局的影响, 为进一步改善拮抗剂治疗方案的妊娠结局积累经验。

1 对象和方法

1.1 对象

回顾性分析2016年1月—2019年5月在南京市妇幼保健院生殖医学中心, 采用拮抗剂方案进行IVF/单精子卵胞浆内注射(*intracytoplasmic sperm injection*, ICSI)治疗后行新鲜周期胚胎移植316例患者的临床资料。患者纳入标准: 因输卵管因素、男方因素行IVF/ICSI治疗; 均采用拮抗剂方案, 同时行新鲜周期胚胎移植。排除标准: 影响胚胎着床的疾病如输卵管积水、宫腔粘连、子宫畸形、子宫内膜异位症等。本研究经医院伦理委员会批准, 所有患者知情同意。

1.2 方案

1.2.1 治疗方案

月经周期第3天起应用外源性促性腺激素

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81971386); 江苏省卫计委指导性课题(2018106); 南京市科技发展项目(201803016)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: zhaochun2008@yeah.net

(gonadotropin, Gn)[重组人卵泡刺激素 rFSH(默克雪兰诺公司,瑞士);尿促性腺激素 HMG(珠海丽珠制药)]进行COS。当达以下条件时,开始应用拮抗剂思则凯(默克雪兰诺公司,法国):①卵泡直径 ≥ 14 mm,或者优势卵泡直径 > 12 mm且血清E₂ > 300 pg/mL;②LH > 10 U/L和/或优势卵泡平均直径 > 12 mm和/或血清E₂ > 150 pg/mL。当有1~2枚主导卵泡直径 ≥ 18 mm时,结合血E₂、LH和孕酮(progesterone, P)水平,注射人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin, HCG)5 000~10 000 U诱发排卵,36 h后行取卵术,72 h行胚胎移植,自取卵日起,每日肌注黄体酮40 mg,用药至移植后14 d检测血清HCG,阳性者于移植后28 d行B超检查,见孕囊者确定为临床妊娠,黄体支持用药至孕12周。

1.2.2 分组情况

本研究共纳入316例拮抗剂方案进行超促排卵后行新鲜周期移植的患者,拮抗剂添加后1日E₂较添加当天上升的有297例,占比94%(297/316),仅有19例E₂值下降,占比6%(19/316)。根据患者COS过程中添加拮抗剂当天和后1日血清中E₂水平变化情况,参考既往文献E₂变化情况^[2-3]进行如下分组: E₂升高组[A组159例,占比50%(159/316), (拮抗剂添加后1日血E₂-拮抗剂添加当日E₂)/拮抗剂添加当日E₂ $\geq 30\%$], E₂持平组[B组155例,占比49%(155/316), (拮抗剂添加后1日血E₂-拮抗剂添加当日E₂)/拮抗剂添加当日E₂在-30%~30%];仅有2例E₂水平较拮抗剂添加前降低水平超过30%以上,因例数较少,未入组行统计学分析。

1.2.3 观察指标

观察两组患者一般临床资料,包括年龄、不孕年限、体重指数(body mass index, BMI)、基础内分泌水平、IVF治疗及妊娠结局情况:Gn启动剂量、Gn总剂量、Gn天数、拮抗剂总剂量、拮抗剂天数、HCG日E₂、HCG日孕酮、移植日子宫内膜厚度、获卵数、正

常受精率、可移植胚胎数、优质胚胎数、优胚率、临床妊娠率、种植率、流产率等指标。

优质胚胎判定标准(Peter评分标准^[4]):取卵后第3天观察胚胎,卵裂球大小均匀,形状规则,透亮,细胞数 ≥ 7 ,同时碎片率 $< 10\%$ 确定为优质胚胎。

1.3 统计学方法

应用SPSS 25.0进行统计学分析,计量资料比较采用t检验,计数资料比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者的一般情况比较

2组患者在年龄、不孕年限、BMI水平、基础内分泌水平、抗缪勒管激素(anti Mullerian hormone, AMH)水平差异均无统计学意义($P > 0.05$,表1)。

表1 A组与B组患者的基本情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

指标	A组(n=159)	B组(n=155)	P值
年龄(岁)	31.30 \pm 4.93	32.74 \pm 5.87	0.12
不孕年限(年)	3.54 \pm 2.89	3.62 \pm 3.00	0.81
BMI(kg/m ²)	22.63 \pm 3.78	22.25 \pm 3.21	0.34
基础FSH(U/L)	7.95 \pm 2.17	8.34 \pm 2.89	0.18
基础E ₂ (pg/mL)	50.12 \pm 43.59	51.48 \pm 31.39	0.75
AMH(ng/mL)	3.64 \pm 3.00	3.44 \pm 3.22	0.63

2.2 两组患者的临床情况比较

两组患者应用Gn启动剂量、Gn总剂量、Gn天数、拮抗剂天数、拮抗剂总剂量、HCG日P水平、HCG日内膜厚度差异均无统计学意义($P > 0.05$,表2)。

2.3 两组患者胚胎情况比较

两组患者在获卵总数、正常受精率、可移植胚胎数、优质胚胎数、优胚率、移植胚胎数差异均无统计学意义($P > 0.05$,表3)。

2.4 两组患者妊娠情况比较

A组的临床妊娠率、胚胎种植率、活产率均明显高于B组,流产率低于B组($P < 0.05$,表4);而异位

表2 A组与B组患者临床治疗情况比较

($\bar{x} \pm s$)

指标	A组(n=159)	B组(n=155)	P值
Gn启动剂量(U)	234.28 \pm 33.49	236.69 \pm 41.33	0.570
Gn总剂量(U)	2 028.93 \pm 464.59	2 106.69 \pm 554.42	0.180
Gn天数(d)	8.42 \pm 1.29	8.68 \pm 1.46	0.090
拮抗剂总剂量(mg)	0.66 \pm 0.32	0.69 \pm 0.32	0.480
拮抗剂天数(d)	3.31 \pm 1.07	3.25 \pm 1.37	0.650
HCG日E ₂ (pg/mL)	2 964.66 \pm 1 503.67	2 465.30 \pm 1 341.69	0.002
HCG日P(ng/mL)	1.07 \pm 0.48	1.07 \pm 0.54	0.930
HCG日内膜厚度(mm)	9.66 \pm 1.67	9.38 \pm 1.36	0.110

妊娠率、卵巢过度刺激(ovarian hyperstimulation syndrome, OHSS)率均为迟发性,2组差异无统计学意义($P > 0.05$,表4)。

表3 A组与B组患者胚胎情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

指标	A组(n=159)	B组(n=155)	P值
获卵总数(枚)	6.93 ± 2.74	6.44 ± 3.26	0.15
正常受精率(%)	75.74 ± 21.25	75.20 ± 38.15	0.88
可移植胚胎(枚)	4.64 ± 2.53	4.42 ± 2.54	0.45
优质胚胎数(枚)	2.78 ± 2.45	2.61 ± 2.28	0.52
优胚率(%)	49.46 ± 35.87	44.32 ± 37.35	0.22
移植胚胎数(枚)	2.13 ± 0.43	2.10 ± 0.49	0.58

表4 A组与B组患者妊娠情况比较 [% (n/N)]

指标	A组(n=159)	B组(n=155)	χ^2 值	P值
临床妊娠率	50.31(80/159)	38.71(60/155)	4.28	0.040
胚胎种植率	29.88(101/338)	21.23(69/325)	6.50	0.010
异位妊娠率	2.50(2/80)	8.33(5/60)	2.46	0.120
流产率	3.75(3/80)	15.00(9/60)	5.54	0.020
活产率	47.17(75/159)	29.68(46/155)	10.14	0.001
OHSS率	5.00(4/80)	3.33(2/60)	0.23	0.630

3 讨论

COS是IVF-ET治疗的关键步骤之一,治疗过程中,通过个体化方案^[5],获取多枚卵子,改善妊娠结局^[6]。血E₂水平是COS中评估卵泡发育情况和药物反应的重要依据^[7],血E₂水平与卵泡数量呈正相关,E₂增长反映了卵泡的发育情况及卵巢反应性,决定药物剂量的调整及预测治疗结局^[8]。激动剂方案超促排卵过程中E₂的变化情况可预测IVF-ET的治疗结局。那么拮抗剂方案中E₂的变化对临床治疗和妊娠结局是否有影响?

Lindheim等^[9]研究发现,拮抗剂方案中约35%患者可出现E₂下降,多发生于拮抗剂使用3d后,拮抗剂治疗过程中血E₂下降不影响获卵率、受精率、胚胎质量,但可使胚胎着床率和临床妊娠率显著降低。李洁等^[3]发现在PCOS患者行拮抗剂方案COS过程中,若早卵泡期出现自发性E₂下降,可能会导致卵母细胞及胚胎质量欠佳,进而影响妊娠结局。由此可见拮抗剂方案中血E₂水平的变化可能与IVF-ET的妊娠结局紧密相关。GnRH-ant可迅速抑制垂体作用,减少内源性FSH及LH的分泌,使得卵泡中的颗粒细胞及卵泡膜细胞中的LH减少,导致卵泡膜细胞中的睾酮分泌减少,颗粒细胞中芳香化酶的作用底物减少,从而影响E₂的合成使E₂水平降低。那么添加拮抗剂后1日是否会引起E₂水平的变化,

是否与IVF-ET的治疗结局相关。文献检索后发现对拮抗剂添加后1日E₂水平的变化与IVF-ET妊娠结局相关的研究较少,本研究收集了南京医科大学附属妇产医院生殖医学中心316例不孕症患者的临床资料发现,拮抗剂添加后1日,94%的患者E₂值稳步上升,仅有6%的患者E₂出现下降,与既往研究结果一致,说明添加拮抗剂后E₂多数呈稳定上升趋势。

雌激素和孕激素可共同作用于子宫内膜胞饮突、子宫内膜基质发育、子宫内膜着床相关因素等来改变子宫内膜容受性。胚胎着床动态过程中,子宫内膜始终处于生长的动态阶段,雌激素可启动子宫内膜的增殖,进而诱导孕激素受体的产生,而孕激素受体产生的黄素化开启着床窗。受雌激素和孕激素的协同作用,子宫内膜仅在窗口期内允许胚胎着床^[10]。一定水平的雌激素使子宫内膜接受胚胎的信息传递,并能控制种植窗口期的长短,过高水平的雌激素则会缩短种植窗,并使其很快关闭,同时引起植入相关基因表达异常,导致容受性下降和着床失败,使胚胎种植率降低^[11]。本研究发现A组HCG日的E₂水平高于B组,其临床妊娠率、胚胎种植率和活产率却均显著高于B组。A组HCG日的E₂水平为(2 964.66±1 503.67)pg/mL,并未达到高反应人群E₂过高的水平,这说明拮抗剂方案中雌激素在一定范围内,子宫内膜容受性是雌激素水平成正比的,而且拮抗剂方案中HCG日相对高水平的雌激素也有助于移植后的黄体支持,从而提高胚胎种植率和活产率^[12]。

E₂的变化幅度与IVF妊娠结局密切相关。王晓博等^[13]研究发现,E₂下降>40%导致不良妊娠结局;也有人认为E₂下降>20%就可对妊娠结局产生不良影响^[14]。但李洁等^[3]研究显示早卵泡期自发性E₂下降或调整剂量导致E₂下降幅度>30%,即使停用拮抗剂,继续给予HMG治疗,妊娠率仍低于对照组。我们认为E₂下降幅度30%可能为重要节点,本研究发现GnRH-ant方案添加拮抗剂后1日50%患者的E₂水平上升超过30%;而49%患者的E₂水平在±30%范围内波动,仅1%患者E₂水平较拮抗剂添加前下降超过30%,且各组间均无药物调整。观察A、B两组患者临床治疗及妊娠结局,发现A组临床妊娠率、胚胎种植率、活产率也均显著高于B组,而流产率低于B组;其他指标均无明显差异,与李洁等^[3]发现早卵泡期自发性E₂下降影响临床妊娠率一致。

本研究首次关注拮抗剂方案治疗人群中添加拮抗剂当日与后1日E₂变化的情况,并且通过设定

E₂变化的幅度进行分组从而进行比较研究,较以往研究能够更科学、更合理地预测 IVF 治疗的结局。近年来,拮抗剂方案在国内临床应用的经验逐渐累积,在卵巢低反应、反复种植失败及 PCOS 人群的临床应用也越来越广泛^[15-16],是一种安全、有效、经济的治疗方案。本研究发现,拮抗剂添加后绝大多数患者血 E₂水平呈现持平及稳步上升的趋势,仅极少数出现 E₂下降幅度超过 30%的情况。尽管添加拮抗剂后 E₂较前上升超过 30%的患者后期行鲜胚移植结局更优,但添加拮抗剂前仍无法预测患者 E₂水平变化情况,故在添加拮抗剂后应密切监测卵泡大小和各项激素水平的变化,适时调整 Gn 剂量和添加 LH,详细评估后期各项指标及患者自身主诉情况,进而决定是否行鲜胚移植或行全胚冷冻。现阶段拮抗剂方案的应用仍处于不断摸索完善阶段,针对特定人群需制定个性化的精准治疗方案,进而优化妊娠结局。

[参考文献]

- [1] KOLANSKA K, COHEN J, BENDIFALLAH S, et al. Pregnancy outcomes after controlled ovarian hyperstimulation in women with endometriosis-associated infertility: GnRH-agonist versus GnRH-antagonist [J]. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*, 2017, 46(9): 681-686
- [2] 李彩华, 吴 欢, 周 平, 等. 促性腺激素释放激素拮抗剂方案控制性促排卵过程中雌激素水平下降[J]. *生殖与避孕*, 2018, 38(3): 232-234
- [3] 李 洁, 杨 菁, 徐望明, 等. PCOS 患者 GnRH-ant 方案超促排卵过程中雌二醇水平下降的临床对策[J]. *生殖医学杂志*, 2016, 25(1): 5-10
- [4] BRINDSEN P R. A textbook of *in vitro* fertilization and assisted reproduction [M]. New York: The Part Heno Publishing Group, 1999: 196
- [5] YOUSSEF M A, VAN Wely M, AI-INANY H, et al. A mild ovarian stimulation strategy in women with poor ovarian reserve undergoing IVF: a multicenter randomized non-inferiority trial [J]. *Hum Reprod*, 2017, 32(1): 112-118
- [6] 吴 畏, 冒韵东, 王 婵, 等. 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[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2017, 37(12): 1583-1586
- [7] BASHIR S T, BAERWALD A R, GASTAL M O, et al. Follicle growth and endocrine dynamics in women with spontaneous luteinized unruptured follicles versus ovulation [J]. *Hum Reprod*, 2018, 33(6): 1130-1140
- [8] DEWAILLY D, ROBIN G, PEIGNE M, et al. Interactions between androgens, FSH, anti-Mullerian hormone and estradiol during folliculogenesis in the human normal and polycystic ovary [J]. *Hum Reprod Update*, 2016, 22(6): 709-7024
- [9] LINDHEIM S R, MORALES A J. GnRH antagonists followed by a decline in serum estradiol results in adverse outcomes in donor oocyte cycles [J]. *Hum Reprod*, 2003, 18(10): 2048-2051
- [10] 邢 俊, 王俊霞, 王 玢, 等. HCG 注射日血清低孕酮水平不会降低 IVF 妊娠率及活产率[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2014, 34(12): 1737-1740
- [11] LU X, KHOR S, ZHU Q, et al. Decrease in preovulatory serum estradiol is a valuable marker for predicting premature ovulation in natural/unstimulated *in vitro* fertilization cycle [J]. *J Ovarian Res*, 2018, 11(1): 96
- [12] GOLBASI H, INCE O, GOLBASI C, et al. Effect of progesterone/estradiol ratio on pregnancy outcome of patients with high trigger-day progesterone levels undergoing gonadotropin-releasing hormone antagonist intracytoplasmic sperm injection cycles: a retrospective cohort study [J]. *J Obstet Gynaecol*, 2019, 39(2): 157-163
- [13] 王晓博, 谢青贞, 吴开林, 等. HCG 扳机前雌激素下降对 IVF/ICSI 助孕妊娠结局的影响[J]. *生殖医学杂志*, 2016, 25(9): 782-786
- [14] 宋 琳, 金海霞, 李 婧, 等. 晚卵泡期血清雌激素下降对 IVF-ET 妊娠结局的影响[J]. *现代妇产科进展*, 2013, 22(5): 393-396
- [15] LAMBALK C B, BANGA F R, HUIRNE J A, et al. GnRH antagonist versus long agonist protocols in IVF: a systematic review and meta-analysis accounting for patient type [J]. *Hum Reprod Update*, 2017, 23(5): 560-79
- [16] FABREGUES F, SOLERNOU R, FERRER J, et al. Comparison of GnRH agonist versus luteal estradiol GnRH antagonist protocol using transdermal testosterone in poor responders [J]. *JBRA Assist Reprod*, 2019, 23(2): 130-136

[收稿日期] 2020-04-13