

HCG 注射日血清低孕酮水平不会降低 IVF 妊娠率及活产率

邢俊, 王俊霞, 王玢, 孙海翔*

(南京大学医学院附属鼓楼医院生殖医学中心, 江苏 南京 210008)

[摘要] 目的:探究体外受精-胚胎移植/单精子卵泡浆内注射-胚胎移植(IVF/ICSI)中人绒毛膜促性腺激素(HCG)注射日血清孕酮(P)水平对妊娠结局的影响。方法:选取 2007 年 1 月~2013 年 10 月本中心实施 IVF/ICSI 长方案助孕治疗 4 385 例患者,按 HCG 注射日血清孕酮水平将其分为 3 组:低孕酮组(< 0.5 ng/ml)、中孕酮组($0.5\sim 1.5$ ng/ml)、高孕酮组(> 1.5 ng/ml),比较 3 组间的促排卵情况及临床妊娠结局。结果:高孕酮组促性腺素(Gn)天数、Gn 用量、HCG 注射日雌二醇(E2)水平、获卵数、优质胚胎数增加,但临床妊娠率、活产率减少;低孕酮组获卵数、优质胚胎数均减少,但临床妊娠率、活产率与中孕酮组无统计学差异。结论:HCG 注射日血清孕酮水平过高会降低临床妊娠率及活产率,但低孕酮水平不会降低 IVF 妊娠率及活产率。

[关键词] 孕酮值;IVF/ICSI;妊娠结局

[中图分类号] R711.6

[文献标志码] B

[文章编号] 1007-4368(2014)12-1737-04

doi: 10.7655/NYDXBNS20141235

控制性超促排卵(controlled ovarian hyperstimulation, COH)对于体外受精-胚胎移植(*in vitro* fertilization-embryo transfer, IVF-ET)周期具有重要意义。关于 COH 过程中高孕酮水平对 IVF-ET 结局的影响,学术界一直存有争议。2007 年 Venetis 等^[1]的回顾分析指出,目前尚无充分的证据支持人绒毛膜促性腺激素(HCG)注射日孕酮(P)水平的升高与 IVF-ET 临床妊娠结局间具有相关性。2008 年 Bosch^[2]在针对上述文章发表的评论中明确支持高孕酮水平对妊娠结局具有不良影响的观点。但是,迄今为止,很少有文章研究 HCG 注射日低 P 水平对妊娠结局的影响。直至最近, Santos-Ribeiro 等^[3]通过回顾性研究指出:HCG 注射日低 P 水平导致低 IVF 活产率。与之相反,2014 年 Cai 等^[4]运用多元 Logistic 回归模型,分析 IVF 周期活产率的两个最重要的独立预测因素是优质胚胎数和 HCG 注射日的孕酮水平。文章指出,低 P 水平有利于妊娠率及活产率,当孕酮水平 > 0.6 ng/ml 时,妊娠率及活产率开始下降。因此,在更加严格统一的入组条件下,研究 HCG 注射日低 P 水平对妊娠结局的影响就显得十分必要。

1 对象与方法

1.1 对象

[基金项目] 国家自然科学基金青年基金(81200127);南京市医学科技发展项目(QYK10149);南京市卫生青年人才培养工程资助

*通信作者(Corresponding author), E-mail:stevensunz@163.com

收集 2007 年 1 月~2013 年 10 月在本院生殖医学中心实施体外受精-胚胎移植/单精子卵泡浆内注射-胚胎移植(IVF/ICSI)孕治疗 4 385 例患者。病例入选纳入标准:①首次接受 IVF 或 ICSI 治疗;②年龄 22~40 岁;③具有正常月经周期;④基础卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH) < 12 mU/ml,雌二醇(E2) < 80 pg/ml;⑤体质指数(body mass index, BMI):18~25;⑥采用常规长方案促排卵的患者。排除标准为:①近半年有盆腹腔手术史、放疗或化疗等明显损害卵巢功能因素者;②既往或现在患有影响促性腺激素(gonadotropin, Gn)或性激素分泌及代谢疾病者;③临床或生化学检查诊断为多囊卵巢综合征者;④子宫内膜异位症或子宫腺肌症患者;⑤HCG 日子宫内膜厚度 < 7 mm。IVF 或 ICSI 适应证包括:输卵管因素(双侧输卵管切除、不通或严重通而不畅)、反复促排卵失败、男性因素(严重少、弱畸形精子症、无精子症、逆行射精)及其他因素(多次人工授精失败及不明原因)。

1.2 方法

1.2.1 促排卵方案

所有垂体降调节均应用长方案:促性腺激素释放激素类似物(gonadotropin-releasing hormone analogues, GnRHa)(Ferring 公司, 德国)/rFSH(Serono 公司, 瑞士)和 hMG(珠海丽珠制药公司),并用 HCG(Serono 公司, 瑞士)进行促排卵。当 ≥ 2 个卵泡直径达 18 mm 时,注射 HCG 5 000~10 000 U。HCG 注射后 34~36 h,超声引导下经阴道穿刺取卵。

1.2.2 受精、卵裂观察及妊娠诊断

取卵后 4~6 h 行 IVF, 16~20 h 后观察受精状况。取卵后 3 d(受精后 64~68 h), 由同一位胚胎学专家按胚胎细胞数、无核碎片量和有若无多核卵裂球评估胚胎质量。选择移植胚胎的标准: ≥ 6 个卵裂球、碎片量 $\leq 20\%$ 、无多核卵裂球。取卵日开始给予黄体酮或 HCG 支持黄体。胚胎移植 2 周后, 检验晨尿 HCG, 阳性为生化妊娠, 4 周后 B 超观察, 见妊娠囊和胎心搏动为临床妊娠。由专职人员对每例接受 IVF/ICSI-ET 后妊娠患者的妊娠结局进行随访, 所有入选患者均随访至未妊娠或分娩。

1.3 统计学方法

采用 SPSS13.0 进行数据统计分析。对患者的一般人口学特征和临床检测指标进行简单的统计描述。计量指标经正态性检验后采用均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 两组之间比较采用两个独立样本 t 检验, 多组之间比较采用单因素方差分析 (F 检验); 率的比较采用 χ^2 检验; 采用 Logistic 回归模型分析 HCG 注射日 P 值及其他临床变量和临床妊娠结局的关系。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 患者一般人口学特征及临床检测指标结果

共纳入 4 385 例患者, 其平均年龄(29.88 ± 4.14)岁, 平均不孕年限(4.30 ± 2.79)年, 平均基础 FSH(6.38 ± 1.54)mU/ml, BMI 均值为 22.8, COH 情况及 IVF 结局等指标的统计情况见表 1。

表 1 患者临床检测指标 ($\bar{x} \pm s$)

指标	研究对象($n=4\ 385$)
年龄(岁)	29.88 ± 4.14
BMI	21.94 ± 2.75
不孕年限(年)	4.30 ± 2.79
基础 FSH(mU/ml)	6.38 ± 1.54
AFC(个)	14.76 ± 3.76
Gn 使用天数(d)	10.05 ± 1.56
总 Gn 用量(U)	$1\ 913.42 \pm 555.51$
HCG 注射日 E2(pg/ml)	$4\ 798.31 \pm 1\ 996.28$
HCG 注射日 P(ng/ml)	0.89 ± 0.63
内膜厚度(mm)	11.57 ± 2.08
获卵数(个)	11.15 ± 3.96
受精率(%)	84.17 ± 15.31
优质胚胎数(个)	5.23 ± 3.03
移植胚胎数(个)	2
临床妊娠率(%)	67.43
活产率(%)	56.83

2.2 人口学特征、COH 情况及 IVF 结局指标比较

以 P 值 0.5 ng/ml 和 1.5 ng/ml 作为截断值^[5-6], 其中高孕酮组 380 例、中孕酮组 3 052 例、低孕酮组 953 例。比较两组间的女方年龄、BMI、不孕年限、基础 FSH 值、窦卵泡数(antral follicle count, AFC)、Gn 用量、Gn 天数、HCG 注射日 E2、内膜厚度、获卵数、受精率、优质胚胎数、临床妊娠率、活产率。结果如表 2 所示, 发现 3 组的年龄、BMI、不孕时间、AFC 间无统计学差异。高孕酮组 Gn 天数、Gn 用量、HCG 注射日 E2 水平、获卵数、优质胚胎数较中孕酮组、中孕酮组增加, 但临床妊娠率、活产率减少, 差异有统计学意义; 低孕酮组较中孕酮组、高孕酮组 HCG 注射日 E2 水平、获卵数、优质胚胎数均减少, 但临床妊娠率、活产率与中孕酮组无统计学差异。

2.3 采用 Logistic 逐步回归分析研究 HCG 日 P 值和临床妊娠结局的关系

以妊娠结局为因变量(未妊娠=0, 妊娠=1), 以 HCG 日 P(高、中、低)为自变量(1、2、3)进行 Logistic 回归分析。结果显示, 妊娠患者优质胚胎数明显多于未妊娠患者($P < 0.001$), 而基础 FSH 水平、Gn 总量、Gn 总天数、HCG 注射日 E2、卵子总数、受精率以及移植数, 两组之间无明显差别($P > 0.05$)。单因素分析结果显示, HCG 注射日 P 是妊娠的保护因素($OR = 0.869, 95\%CI: 0.772 \sim 0.978$)。多因素的分析结果显示, 调整基础 FSH 水平、Gn 总量、Gn 总天数、HCG 日 E2、卵子总数、受精率、优质胚胎数、移植数等因素后, HCG 注射日 P 值与妊娠结局仍有明显的相关($OR = 0.738, 95\%CI: 0.595 \sim 0.915$)。

以活产结局为因变量(未存活=0, 存活=1), 以 HCG 日 P(高、中、低)比值为自变量(1、2、3)进行 Logistic 回归分析。结果显示, 妊娠存活患者, 其卵子总数以及优质胚胎数明显多于妊娠未存活患者(P 分别为 0.015、0.001), 而基础 FSH 水平、Gn 总量、Gn 总天数、HCG 注射日 E2、受精率以及移植数, 两组之间无明显差别($P > 0.05$)。单因素分析结果显示, HCG 注射日 P 是妊娠的保护因素($OR = 0.880, 95\%CI: 0.787 \sim 0.984$)。多因素的分析结果显示, 调整基础 FSH 水平、Gn 总量、Gn 总天数、HCG 注射日 E2、卵子总数、受精率、优质胚胎数、移植数等因素后, HCG 注射日 P 值和活产结局妊娠结局仍有明显的关联($OR = 0.653, 95\%CI: 0.524 \sim 0.814$)。

3 讨论

注射 HCG 日孕酮水平上升是否会影响妊娠结局的争议有 20 年历史^[7]。但迄今为止, 很少有文章

表 2 HCG 日不同血清 P 值组间相关指标的比较

指标	低 P(≤ 0.5 ng/ml)953 例	中 P(0.5~1.5 ng/ml)3 052 例	高 P(> 1.5 ng/ml)380 例	P 值
年龄(岁)	30.02 \pm 3.25	29.96 \pm 3.63	29.88 \pm 4.14	0.904
BMI	22.43 \pm 2.94	21.85 \pm 2.69	21.42 \pm 2.55	0.175
不孕年限(年)	4.32 \pm 2.78	4.28 \pm 2.79	4.47 \pm 2.86	0.447
基础 FSH(mU/ml)	6.56 \pm 1.57	6.35 \pm 1.53	6.21 \pm 1.52	<0.001
AFC(个)	14.58 \pm 3.76	14.79 \pm 3.76	15.00 \pm 3.79	0.139
总 Gn 用量(U)	1 948.47 \pm 562.84	1 892.31 \pm 546.55	1 994.21 \pm 594.42	<0.001
Gn 使用天数(d)	10.07 \pm 1.56	10.01 \pm 1.49	10.36 \pm 1.97	<0.001
HCG 注射日 E2(pg/ml)	4 233.35 \pm 1 893.97	4 925.20 \pm 1 968.57	5 195.33 \pm 2 184.02	<0.001
内膜厚度(mm)	11.52 \pm 2.06	11.57 \pm 2.07	11.69 \pm 2.20	0.393
获卵数(个)	10.48 \pm 4.03	11.32 \pm 3.89	11.52 \pm 4.21	<0.001
受精率(%)	85.39 \pm 15.73	83.91 \pm 15.02	83.22 \pm 16.34	0.124
优质胚胎数(个)	5.015 \pm 3.12	5.27 \pm 2.96	5.44 \pm 3.31	<0.001
临床妊娠率(%)	67.79	68.48	58.16	<0.001
活产率(%)	57.92	57.43	49.21	<0.001

研究 HCG 注射日低 P 水平对妊娠结局的影响。

HCG 日血清孕酮升高对 IVF-ET 妊娠结局的影响尚无定论,但国内外多数研究还是支持卵泡晚期孕酮升高会降低 IVF 临床妊娠率^[5,8]。Santos-Ribeiro 等^[3]的研究指出当孕酮水平升至 1.5 ng/ml 以上会降低 IVF 周期的活产率。Ozcakir 等^[9]认为,孕酮水平升至 2.86~3.18 nmol/L 并持续 2 d,可使子宫内膜提前向分泌期转变,种植窗提前,影响胚胎种植,降低临床妊娠率。George 等^[10]通过电子显微镜观察超排卵周期子宫内膜形态,发现卵泡晚期孕酮水平升高可以加速子宫内膜胞饮突的形成,而胞饮突的表达变化导致子宫内膜容受性的变化,可能加速着床窗的提前关闭,胚胎发育和子宫内膜发育不同步,从而导致 IVF 妊娠结局不良。本研究也发现,高孕酮组较中孕酮组、中孕酮组临床妊娠率、活产率减少,差异有统计学意义。

然而,迄今为止,很少有文章研究 HCG 注射日低 P 水平对妊娠结局的影响。Levy 等^[11]对 254 例 Gn-RHa 降调的患者行促排卵 IVF,结果显示,P < 0.7 ng/ml 或 > 0.8 ng/ml 时,临床妊娠率明显下降。Santos-Ribeiro 等^[3]通过回顾性研究指出:HCG 日注射低 P 水平导致低 IVF 活产率。与之相反,2014 年,Cai 等^[4]运用多元逻辑回归模型,分析 IVF 周期活产率的两个最重要的独立预测因素是优质胚胎数和 HCG 注射日的孕酮水平。文章指出,低 P 水平有利于妊娠率及活产率,当 P > 0.6 ng/ml 时,妊娠率及活产率开始下降。这就意味着 hCG 注射日相对较低的 P 更有利于取得理想的妊娠结局,过高的孕酮可能会影响子宫内膜的容受性和胚胎与内膜的同步发育。在本研究中,对病例进行了严格的入组挑选,

结果显示低孕酮组较中孕酮组、高孕酮组 HCG 注射日 E2 水平、获卵数、优质胚胎数均减少,但临床妊娠率、活产率与中孕酮组无统计学差异。

孕酮的主要作用是支持黄体期的子宫内膜,除此之外,动物实验也证实孕酮在卵子成熟、卵细胞受精能力、黄素化过程中发挥着必不可少的作用^[12]。在 IVF 长方案促排卵周期中,GnRHa 降调较好控制了早发 LH 峰,但晚卵泡期孕激素升高仍有发生,起初有学者认为晚卵泡期孕激素的增高是由于垂体脱敏不彻底,分泌一定水平的 LH 导致的^[13]。而近年有学者 Smitz 等^[14]认为 P 的增高与过低的 LH 相关,GnRH 类似物的应用使 LH 过低而导致 P 升高。Bosch 等^[5]认为可能是由于高水平的 FSH 刺激,使过多的卵泡发育,每个卵泡分泌一定数量的孕酮,从而产生累积作用致使 HCG 日孕激素增高。Kolibanakis 等^[15]也报道高剂量 FSH 刺激增加颗粒细胞中类固醇激素,不能在短时间内转化为孕酮,而低 LH 不能迅速地将孕酮转化为 E2,导致早期孕酮累积而上升。通常 HCG 注射日 E2 水平和 P 水平的升高存在相关性^[16]。此外,也有学者认为是 HCG 注射日孕酮升高是潜在的早期卵巢储备降低的一种表现^[17],还有学者认为与大剂量外源性 FSH 应用导致卵巢类固醇合成途径遭到某种程度破坏有关^[18]。本研究也发现,3 组中 E2 水平及获卵数随着孕酮的升高是有升高的趋势,高孕酮组获卵数、优质胚胎数较低孕酮组、中孕酮组增加,差异有统计学意义。

因此,限制 FSH 的总剂量可能是降低 HCG 日 P 水平的有效方法。例如,在两例小的随机对照试验中,晚卵泡期使用低剂量 HCG 替代每日使用的 FSH 会显著抑制 P 值的升高,但不影响其妊娠率^[5-6]。Smitz

等^[14]通过一项前瞻性研究比较 IVF 过程中分别采用 FSH 和 HMG 促排卵后血清及卵泡液中分泌激素的表达差异,结果显示单用 FSH 组 HCG 注射日孕酮水平明显高于 HMG 组。Bosch 等^[5]也证实了这一点。此外,在促排卵过程中,严密监测孕酮水平,在孕酮上升前掌握好 HCG 扳机使用时机,也会产生高的种植率^[19]。

[参考文献]

- [1] Venetis CA, Kolibianakis EM, Papanikolaou E, et al. Is progesterone elevation on the day of human chorionic gonadotrophin administration associated with the probability of pregnancy in in vitro fertilization? A systematic review and meta-analysis [J]. *Hum Reprod Update*, 2007, 13(4): 343-355
- [2] Bosch E. Comment on: is progesterone elevation on the day of human chorionic gonadotrophin administration associated with the probability of pregnancy in in vitro fertilization? [J]. *Hum Reprod Update*, 2008, 14(2): 194-195
- [3] Santos-Ribeiro S, Polyzos NP, Haentjens P, et al. Live birth rates after IVF are reduced by both low and high progesterone levels on the day of human chorionic gonadotrophin administration [J]. *Hum Reprod*, 2014, 29(8): 1698-1705
- [4] Cai Q, Wan F, Appleby D, et al. Quality of embryos transferred and progesterone levels are the most important predictors of live birth after fresh embryo transfer: a retrospective cohort study [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2014, 31(2): 185-194
- [5] Bosch E, Labarta E, Crespo J, et al. Circulating progesterone levels and ongoing pregnancy rates in controlled ovarian stimulation cycles for in vitro fertilization: analysis of over 4000 cycles [J]. *Hum Reprod*, 2010, 25: 2092-2100
- [6] Xu B, Li Z, Zhang HW, et al. Serum progesterone level effects on the outcome of in vitro fertilization in patients with different ovarian response: an analysis of more than 10,000 cycles [J]. *Fertil Steril*, 2012, 97: 1321-1327
- [7] Younis JS. Elevated P level on the day of hCG administration is related to FSH dose; is it the whole truth? [J]. *Hum Reprod*, 2011, 26(2): 498-499
- [8] Li R, Qiao J, Wang L, et al. Serum progesterone concentration on day of HCG administration and IVF outcome [J]. *Reprod Biomed Online*, 2008, 16(5): 627-631
- [9] Ozcikir HT, Levi R, Tavmergen, et al. Premature luteinization defined as progesterone estradiol ratio > 1 on hCG administration day seems to adversely affect clinical outcome in long gonadotropin releasing hormone agonist cycles [J]. *J Obstet Gynaecol Res*, 2004, 30(2): 100-104
- [10] Georagis N, Develioglu OH, Toner JP, et al. Endometrial pinopodes indicate a shift in the window of receptivity in IVF cycles [J]. *Hum Reprod*, 1999, 14(3): 787-792
- [11] Levy MJ, Smotrich DB, Widra EA, et al. The predictive value of serum progesterone and 17-OH progesterone levels on in-vitro fertilization outcome [J]. *J Assist Reprod Genet*, 1995, 12(3): 161-166
- [12] Stouffer RL, Xu F, Duffy DM. Molecular control of ovulation and luteinization in the primate follicle [J]. *Front Biosci*, 2007, 12: 297-307
- [13] Hofmann GE, Bentzien F, Bergh PA, et al. Premature luteinization in controlled ovarian hyperstimulation has no adverse effect on oocyte and embryo quality [J]. *Fertil Steril*, 1993, 60(4): 675-679
- [14] Smits J, Andersen AN, Devroey P, et al. Endocrine profile in serum and follicular fluid differs after ovarian stimulation with HP-hMG or recombinant FSH in IVF patients [J]. *Hum Reprod*, 2007, 22(3): 676-687
- [15] Kolibianakis EM, Zikopoulos K, Smits J, et al. Elevated progesterone at initiation of stimulation is associated with a lower ongoing pregnancy rate after IVF using GnRH antagonists [J]. *Human Reprod*, 2004, 19(7): 1525
- [16] Martinez F, Coroleu B, Clua E, et al. Serum progesterone concentrations on the day of HCG administration cannot predict pregnancy in assisted reproduction cycles [J]. *Reprod Biomed Online*, 2004, 8(2): 183-190
- [17] Younis JS, Matilsky M, Radin O, et al. Increased progesterone/estradiol ratio in the late follicular phase could be related to low ovarian reserve in in vitro fertilization-embryo transfer cycles with a long gonadotropin releasing hormone agonist [J]. *Fertil Steril*, 2001, 76(2): 294-299
- [18] Barriere P, Duclos AS, Masson D, et al. Does serum progesterone levels on the day of human chorionic gonadotrophin administration affect IVF results? [J]. *Fertil Steril*, 2007, 88(1): 144-149
- [19] Harada T, Katagiri C, Takao N, et al. Altering the timing of human chorionic gonadotropin injection according to serum progesterone (P) concentrations improves embryo quality in cycles with subtle P rise [J]. *Fertil Steril*, 1996, 65: 594-597

[收稿日期] 2014-08-17