

黄体期长方案中人绒毛膜促性腺激素注射日血清孕酮水平与临床妊娠关系的研究

张胜坤 程 静 黄朝霞 吕杰强

摘 要 **目的** 探讨黄体期长方案中人绒毛膜促性腺激素(HCG)注射日血清孕酮水平与临床妊娠的关系。**方法** 回顾性分析 2009 年 1 月~2010 年 10 月在温州医学院附属第二医院生殖中心行黄体期长方案且有完整资料的 370 个 IVF 周期。以 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 ng/ml 分别作为截断值,比较不同截断值时高低孕酮组的一般临床资料、实验室指标及临床妊娠率。**结果** 不同截断值时,两组的临床妊娠率无明显差别($P>0.05$);当以 1.0、1.5、2.0 和 2.5 ng/ml 为截断值时,高孕酮组获卵数、成熟卵数、HCG 日雌二醇水平高于低孕酮组,差异有统计学意义($P\leq 0.05$)。**结论** IVF-ET 黄体期长方案中 HCG 注射日孕酮水平在一定范围内升高对临床妊娠无影响,高孕酮水平可能是较多的卵泡同步发育造成的。

关键词 黄体期长方案 HCG 注射日 孕酮 临床妊娠

Relationship between Serum Progesterone Concentrations and Pregnancy on the day of Human Chorionic Gonadotropin Administration during Luteal Phase Long Protocol. Zhang Shengkun, Cheng Jing, Huang Zhaoxia, Lü Jieqiang. Centre of Reproductive and Health, The Second Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Zhejiang 325027, China

Abstract Objective To explore the relationship between serum progesterone concentration and pregnancy on the day of human chorionic gonadotropin (HCG) during long protocol. **Methods** From January 2009 to October 2010, 370 circles with serum progesterone measurement on the day of HCG administration for final oocyte maturation in IVF were analyzed retrospectively in Center of Reproductive Health in The Second Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College. When the cutoff of serum progesterone were set at 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 ng/ml, respectively, general clinical data, laboratory results and the clinical pregnancy rate between all patients at lower and higher group at different cutoff were analyzed. **Results** No significant difference was found with respect to pregnant rate between lower and higher serum progesterone groups at any cutoff. However, the number of oocyte retrieved was larger in higher group than in the lower group when the cutoff was 1.0, 1.5, 2.0 and 2.5 ng/ml, and so the estradiol level and mature eggs. **Conclusion** The serum progesterone concentration on the day of HCG administration do not influence clinical pregnant rate in the long protocol. The higher progesterone may be from the growth of more follicle synchronously.

Key words Long protocol; The day of HCG administration; Progesterone; Clinical pregnancy

体外受精-胚胎移植(IVF-ET)周期中 HCG 注射日血清孕酮水平与妊娠的关系一直是研究的热点,但两者之间的关系目前仍有争议。一些学者认为升高的血清孕酮会降低 IVF-ET 周期的妊娠率^[1,2];也有研究表明孕酮水平与妊娠无明显相关性^[3,4]。回顾这些研究发现:研究者纳入了不同的促排卵方案,选择的对象也有很大差异,这可能是得出不同结论的原因。因此,为了探讨 HCG 注射日血清孕酮水平与临床妊娠率的准确关系,以期确定血清孕酮的最佳截断值,更好地指导临床实践而开展本研究。

资料与方法

1. 临床资料来源:对 2009 年 1 月~2010 年 10 月在温州医学院附属第二医院生殖中心行 IVF-ET 的患者进行回顾性分析,选择符合以下标准的为研究对象:①年龄 ≤ 40 岁;②体重指数(BMI) $\leq 25\text{kg/m}^2$;③月经比较规则,周期 28~35 天;④第 1 次行 IVF-ET 且促排卵方案为黄体期长方案;⑤无子宫畸形、宫腔息肉、多囊卵巢综合征(PCOS)、中重度子宫内膜异位症等;⑥有完整的资料及明确的妊娠结局。整理满足上述条件的 370 个周期的相关数据并进行分析。370 个周期中不孕原因有:输卵管因素(输卵管切除术后、堵塞、积水、通而不畅等)、男方因素(中重度少精、弱精或者无精子症)、不明原因不孕等。

2. 黄体期长方案实施方法:Gn 使用前 1 个月经周期的黄体中期予 GnRH-a(达菲林,法国益普生制药有限公司)0.60~0.75mg 降调节,待月经来潮 3~5 天测量卵泡刺激素

作者单位:325027 温州医学院附属第二医院不孕不育生殖健康中心

通讯作者:吕杰强,电子信箱:jieqianglu@126.com

(FSH)、黄体生成素(LH)、雌二醇(E₂)并予注射 FSH(果纳芬,瑞士雪兰诺药厂),经期 7~8 天起每 1~3 天行阴道超声检查检测卵泡生长情况并动态检测 FSH、LH、P 及 E₂。部分患者根据需要在卵泡中晚期加用尿促性腺激素(HMG)。当至少有 3 个优势卵泡直径≥16mm 时,嘱当晚 21:00~22:00 时注射 HCG 5000~10000IU,注射后 34~36h 后行阴道超声下取卵术,并进行 IVF。培养 2~3 天后,选择 1~3 个胚胎超声引导下行 ET。ET 当天起予黄体酮针 60mg 肌内注射共 14 天作为黄体期支持,同时予阿司匹林 75mg 每天 1 次口服至妊娠停药。ET 后 6 天起,予补佳乐 2 片,每天 2 次,口服。ET 后 2 周,检测血 β-HCG,若为阴性,视为未妊娠;若为阳性,继续黄体酮支持,2 周后行超声检查发现妊娠囊、胚芽及原始心管即为临床妊娠,并继续随访;若流产或者异位妊娠经病理证实仍判断为临床妊娠。

3. 收集的指标:患者年龄、不孕年限、不孕因素、窦卵泡数目、HCG 日孕酮水平、HCG 日内膜厚度、获卵数、成熟卵数、正常受精数、优质胚胎数、是否妊娠。

4. 分组方法:HCG 日血清孕酮值作为分组标准,分别以 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0ng/ml 作为截断值,当孕酮≤该截断值时定为低孕酮组;当孕酮>该截断值时定为高孕酮组。

5. 统计学方法:采用 SPSS 16.0 软件分析包进行统计学分析。计量资料采用 *t* 检验,率的比较采用四格表 χ^2 检验。以 $P\leq 0.05$ 表示差异有统计学意义。

结 果

1. 分别以 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 作为截断值时,高孕酮组所占比例分别为 1.1%~75.4%(表 1)。

表 1 不同截断值时高孕酮周期所占比例

截断值 (ng/ml)	高孕酮周期数	百分比 (%)
1.0	279	75.4
1.5	165	44.6
2.0	64	17.3
2.5	28	7.6
3.0	4	1.1

2. 分别以 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 为截断值时,高孕酮组与低孕酮组间妊娠率比较差异无统计学意义

($P>0.05$)(表 2)。

表 2 不同截断值时,高低孕酮组间妊娠率比较

截断值(ng/ml)	妊娠周期	未妊娠周期	妊娠率(%)	P	
1.0	低	41	50	45.05	0.47
	高	129	150	46.24	
1.5	低	98	107	47.80	0.24
	高	72	93	43.64	
2.0	低	140	166	45.75	0.49
	高	30	34	46.88	
2.5	低	159	183	46.49	0.30
	高	11	17	39.29	
3.0	低	167	199	45.63	0.25
	高	3	1	75.00	

低表示低孕酮组;高表示高孕酮组

3. 分别以 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 为截断值时,两组间年龄、不孕年限、不孕因素、窦卵泡数目等一般资料比较差异无统计学意义(表 3)。

表 3 不同截断值时,高低孕酮组间一般资料比较

截断值	年龄 (岁)	<i>P</i>	不孕年限 (岁)	<i>P</i>	窦卵泡数	<i>P</i>
1.0	低 30.8±3.4	0.58	4.3±3.0	0.61	12.4±4.0	0.43
	高 30.5±3.9		4.2±2.9		12.7±3.8	
1.5	低 30.9±3.7	0.19	4.3±3.0	0.41	12.3±3.7	0.11
	高 30.3±3.8		4.1±2.9		13.0±4.1	
2.0	低 30.5±3.7	0.43	4.2±3.0	0.96	12.5±3.8	0.29
	高 31.0±4.0		4.2±2.9		13.1±4.3	
2.5	低 30.5±3.8	0.06	4.2±3.0	0.60	12.6±3.8	0.79
	高 31.9±3.7		4.5±2.7		12.8±4.4	
3.0	低 30.6±3.8	0.46	4.2±3.0	0.32	12.6±3.9	0.22
	高 32.0±2.9		2.8±2.4		15.0±4.1	

低表示低孕酮组;高表示高孕酮组

4. 分别以 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 为截断值时,HCG 日内膜厚度、正常受精数、优质胚胎数比较差异无统计学意义($P>0.05$);以 1.0、1.5、2.0 和 2.5ng/ml 为截断值时,高孕酮组的获卵数、HCG 日雌二醇水平高于低孕酮组,差异有统计学意义($P\leq 0.05$)(表 4)。

表 4 不同截断值时 HCG 日内膜厚度等比较

截断值	HCG 日内膜厚度	<i>P</i>	HCG 日 E ₂	<i>P</i>	获卵数	<i>P</i>	成熟卵数	<i>P</i>	正常受精数	<i>P</i>	优质胚胎数	<i>P</i>
1.0	低 10.8±1.9	0.45	1974±1206	0.000	12.4±5.8	0.010	10.5±5.5	0.009	7.9±4.3	0.11	4.9±3.4	0.35
	高 10.7±1.9		2814±1335		14.2±5.9		12.2±5.1		8.7±4.2		5.3±3.5	
1.5	低 10.7±1.8	0.86	2313±1320	0.000	12.8±5.5	0.001	11.1±5.2	0.009	8.1±4.2	0.07	4.9±3.2	0.06
	高 10.6±2.0		2974±1306		15.0±6.1		12.6±5.2		9.0±4.3		5.6±3.7	
2.0	低 10.8±1.8	0.09	2495±1306	0.001	13.4±5.6	0.030	11.5±5.2	0.017	8.3±4.1	0.06	5.0±3.3	0.08
	高 10.3±2.4		3148±1449		15.8±6.9		13.3±5.4		9.4±4.7		5.8±4.1	
2.5	低 10.7±1.9	0.27	2562±1332	0.022	13.7±5.8	0.050	11.7±5.3	0.040	8.4±4.1	0.09	5.1±3.4	1.87
	高 10.3±2.5		3169±1493		15.6±6.6		13.8±5.9		9.8±5.1		6.0±4.0	
3.0	低 10.7±1.9	0.45	2570±1356	0.061	13.7±5.9	0.440	11.8±5.3	0.390	8.4±4.2	0.07	5.2±3.5	0.74
	高 10.0±1.4		3321±1405		16.0±7.5		14.1±5.8		10.7±7.0		5.8±2.2	

低表示低孕酮组;高表示高孕酮组

讨 论

在正常的月经周期中,卵泡期的颗粒细胞等也产生孕酮,但数量极少。卵泡发育晚期,LH 峰前约 12h 孕酮略增加,协同 LH 峰促进卵泡的最后成熟及排卵的发生。而在超促排卵过程中,HCG 日孕酮水平升高也称为过早黄素化,这种现象在 IVF-ET 周期比较常见。其原因可能由于大量应用外源性促性腺激素(Gn),募集的多个卵泡同时发育,由于每个卵泡都可以产生孕酮,造成 COH 过程中孕酮升高。文献报道在 IVF 周期中当以 0.8~2.0ng/ml 为截断值时,高水平孕酮所占比例 13%~71%^[5]。本研究中以 1.0~2.0ng/ml 时,高水平孕酮组 17.3%~75.4% 之间,与上述文献基本相似。而以 3.0ng/ml 作为截断值时,高水平孕酮仅有 1.1%,远低于上述文献的发生率。可能原因为:①文献报道中的最大截断值为 2.0ng/ml,本研究却是 3.0ng/ml,更高的截断值使高水平孕酮周期数减少;②在临床工作中,由于担心高孕酮水平对临床结局的不良影响,取消了一部分高孕酮水平周期的新鲜移植,这部分没有纳入研究的周期也会减少高水平孕酮所占比例。本研究 370 周期中,仅有 4 周期 HCG 注射日孕酮水平超过 3.0ng/ml,故以 3.0ng/ml 为截断值时,高水平孕酮仅占 1.1%。

HCG 日孕酮水平与 IVF-ET 临床妊娠之间的关系一直是研究的热点。一些研究认为,高水平孕酮对临床妊娠无不良影响。其中比较有说服力的有 2 个研究。一个是 Venetis 等^[6]行 Meta 分析并没有发现 HCG 注射日孕酮水平升高与临床妊娠有关系;另一个是 Melo 等^[7]对赠卵的研究,120 名妇女分别在高孕酮水平与低孕酮水平(截断值为 HCG 注射日血清孕酮 1.2ng/ml)各赠卵 1 次,高低孕酮组间临床妊娠率分别为 54.4%、55.7%,差异无统计学意义。本研究中以 1.0、1.5、2.0、2.5ng/ml 为截断值时高孕酮组获卵数、成熟卵数、HCG 日雌二醇水平明显高于低孕酮组,差异有统计学意义;以 3.0ng/ml 为截断值是高孕酮组获卵数、HCG 日雌二醇水平也高于低孕酮组,但差异无统计学意义。Melo 等^[7]报道高孕酮组获卵数、成熟卵数较低孕酮组多,与本研究一致。这表明 HCG 日高水平的孕酮可能与超促排卵过程中过多卵子同步发育有关。

关于 HCG 日孕酮水平升高对 IVF-ET 周期中妊娠率的影响目前尚无一致结论。Bosch 等^[2]将 HCG 日孕酮水平 1.2ng/ml 作为截断点,对行 IVF-ET 的患者研究发现高孕酮组的胚胎种植率和临床妊

娠率显著低于低孕酮组,Foad 等^[8]的研究也认为高水平孕酮虽然对胚胎质量无有害影响,但却使种植率和妊娠率下降。Howies 等研究发现,HCG 日予以小剂量的孕酮反而会使临床妊娠率比对照组显著提高(23% vs 39%)。本研究中,在高孕酮组尽管获卵数、成熟卵数显著高于低孕酮组,但 HCG 日的高孕酮水平并未影响到正常受精数、优质胚胎的数量以及临床妊娠率,此结论与国内奚秋平等^[9]研究结果一致即 HCG 日高低孕酮组间临床妊娠率无差异。

分析众多研究结论不一致的原因可能是由于 IVF-ET 中采取不同的超促排卵方案,纳入标准不一致,截断值不统一等,这些都可能会影响结论的一致性和准确性。本研究仅将黄体期长方案患者作为研究对象,且排除了中重度的子宫内膜异位症、PCOS 等,而且取不同孕酮值为截断值时,结果表明高低孕酮组间妊娠率无明显差异。值得一提的是当以 3.0ng/ml 作为截断值时,高孕酮水平组妊娠率明显高于低孕酮组(45.63% vs 75.00%),由于高孕酮组仅有 4 个周期,不能排除偶然因素造成,所以差异并无统计学意义。为了排除两组间一般资料的差异,本研究对高低孕酮组间年龄、不孕年限、窦卵泡数等进一步比较,结果如表 3 所示,不同截断值时,高低孕酮组间年龄、不孕年限、窦卵泡数等差异无统计学意义。

总之,本研究比较了不同截断值时高低孕酮组间的妊娠率,发现高低孕酮组间妊娠率差异无统计学意义。以 1.0、1.5、2.0 及 2.5ng/ml 为截断值时,高孕酮组获卵数、成熟卵数、HCG 注射日雌二醇水平显著高于低孕酮组,这提示较高的孕酮水平是可能是由于过多的卵泡同步发育造成的,一定范围内的升高,对临床妊娠率无影响。由于本研究仅入选 370 周期黄体期长方案的 IVF-ET 患者,这一结论尚需大样本、多中心、前瞻性研究进一步证实。

参考文献

- 1 Shulman A, Ghetler Y, Beyth Y, *et al.* The significance of an early (premature) rise of plasma progesterone in in vitro fertilization cycles induced by a "long protocol" of gonadotropin releasing hormone analogue and human menopausal gonadotropins [J]. J Assist Reprod Genet, 1996, 13(3): 207-211
- 2 Bosch E, Valencia I, Escudero E, *et al.* Premature luteinization during gonadotropin-releasing hormone antagonist cycles and its relationship with in vitro fertilization outcome [J]. Fertil Steril, 2003, 80(6): 1444-1449
- 3 Urman B, Alatas C, Aksoy S, *et al.* Elevated serum progesterone level on the day of human chorionic gonadotropin administration does not adversely affect implantation rates after intracytoplasmic sperm injection

tion and embryo transfer[J]. Fertil Steril, 1999, 72(6): 975-979

4 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

5 Aboubakr M, Elnashar. Progesterone rise on the day of HCG administration (premature luteinization) in IVF: an overdue update[J]. J Assist Reprod Genet, 2010, 27(4): 149-155

6 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]. Human Reproduction Update, 2007, 13(4): 343-355

7 Melo MA, Meseguer M, Garrido N, *et al.* The significance of premature luteinization in an oocyte-donation programme[J]. Human Reproduction, 2006, 21(6): 1503-1507

8 Foad, Joseph B, Mira, *et al.* Does high serum progesterone level on the day of human chorionic gonadotropin administration affect pregnancy rate after intracytoplasmic sperm injection and embryo transfer[J]. Gynecological Endocrinology, 2008, 24(7): 368-372

9 奚秋萍, 冒韵东, 刘嘉茵, 等. 体外受精-胚胎移植周期中注射人绒毛膜促性腺激素日患者血清孕酮水平与妊娠结局的相关性[J]. 中华妇产科杂志, 2010, 45(2): 118-123

(收稿: 2011-06-05)

(修回: 2011-06-29)

eIF4E 和 cyclinD1 在结直肠癌中的表达和临床意义

朱慧能 张 谷 陈丽荣

摘 要 **目的** 探讨 eIF4E 和 cyclinD1 蛋白表达在结直肠癌的发生发展中的临床意义。**方法** 用 EnVision 二步法检测 80 例原发性结直肠癌、30 例结直肠腺瘤和 20 例正常结直肠黏膜 eIF4E 和 cyclinD1 蛋白表达。**结果** ①eIF4E 蛋白在结直肠黏膜、腺瘤和腺癌组中的阳性率分别为 10.0%、83.3%、92.5%，腺癌组和腺瘤组阳性率均高于黏膜组 ($P < 0.01$)。eIF4E 蛋白在结直肠癌中的表达与肿瘤浸润深度、淋巴结转移、TNM 分期和 5 年生存有显著相关性 ($P < 0.05$)；②cyclinD1 蛋白在结直肠黏膜、腺瘤和腺癌组中的阳性率分别为 0、46.7%、55.0%，腺癌组和腺瘤组阳性率均高于黏膜组 ($P < 0.01$)。cyclinD1 蛋白在结直肠癌中的表达与组织学分级 ($P < 0.05$)、淋巴结转移和 TNM 分期 ($P < 0.01$) 有显著相关性；③结直肠癌组织中 eIF4E 与 cyclinD1 蛋白表达呈正相关 ($r = 0.914, P < 0.01$)。**结论** ①eIF4E 蛋白表达上调可发生结直肠癌发展的全过程，提示 eIF4E 在结直肠癌的发生发展中起重要作用。eIF4E 蛋白高表达的结直肠癌大多浸润深、淋巴结转移较多，患者预后较差，eIF4E 可作为临床上结直肠癌的预后评价指标；②结直肠癌中 eIF4E 与 cyclinD1 蛋白表达呈正相关，提示两者存在协同关系。

关键词 结直肠癌 eIF4E cyclinD1 免疫组织化学

Clinical Significance of eIF4E and CyclinD1 Expression in Primary Colorectal Cancer. Zhu Huineng, Zhang Gu, Chen Lirong. Department of Pathology, Zhejiang Cancer Hospital, Zhejiang 310022, China

Abstract Objective To explore clinical significance of expression of eukaryotic translation initiation factor 4E (eIF4E) and cyclinD1 proteins in the tumorigenesis and progression of colorectal carcinoma. **Methods** Standard two-step EnVision method of immunohistochemical staining was performed to detect the expression of eIF4E and cyclinD1 proteins in the specimens, including 80 cases of primary colorectal cancer (CRC) surgically resected, 20 cases of normal mucosa and 30 cases of colorectal adenoma. **Results** The positive rates of eIF4E expression in CRC, colorectal adenoma and normal mucosa were 10.0%, 83.3%, 92.5%, respectively. The expression rates of eIF4E in CRC and colorectal adenoma were significantly higher than those in normal mucosa ($P < 0.01$). eIF4E protein expression in CRC was closely correlated with infiltration depth, lymph node metastasis, TNM stage and 5-year survival ($P < 0.05$). The positive rates of cyclinD1 expression in CRC, colorectal adenoma and normal mucosa were 0, 46.7%, 55%, respectively. The expression rates of cyclinD1 in CRC and colorectal adenoma were significantly higher than those in normal mucosa ($P < 0.01$). CyclinD1 protein expression in CRC was closely correlated with histological grading ($P < 0.05$), lymph node metastasis and TNM stage ($P < 0.01$). There was a positive relationship between the expression of eIF4E and cyclinD1 in CRC ($r = 0.914, P < 0.01$). **Conclusion** The abnormality of

作者单位: 310022 杭州, 浙江省肿瘤医院病理科 [浙江省临床病理重点(扶持)学科] (朱慧能、张谷); 310009 浙江大学医学院附属第二医院病理科 (陈丽荣)

通讯作者: 朱慧能, 电子信箱: zhn00@126.com