

小卵泡穿刺联合 GnRH 拮抗剂在 PCOS 患者的 IVF-ET 效果分析

应映芬 卢晓声 杨替楚 姜 振 张慧娜 程 静

摘 要 **目的** 探讨超促排卵过程中经阴道超声下小卵泡穿刺联合 GnRH 拮抗剂对多囊卵巢综合征(PCOS) 患者的疗效。**方法** 选取 2013 年 6 月~2016 年 6 月在笔者中心行体外受精-胚胎移植(IVF-ET) 超促排卵过程中卵泡发育数量过多的 PCOS 患者 139 例 141 周期, 其中实验组(小卵泡穿刺联合 GnRH 拮抗剂)60 例 62 个周期, 对照组 79 例 79 个周期(按临床常规减量 Gn 或卵泡成熟日根据 E_2 水平行 coasting 治疗)。比较两组的一般情况、日 Gn 最大量、Gn 使用天数、Gn 总用量、获卵数、成熟率、受精率、卵裂率以及 OHSS 发生率、取消移植率、临床妊娠率等数据。**结果** 两组患者的年龄、体重指数、不孕年限以及基础内分泌差异无统计学意义(P 均 >0.05)。实验组日 Gn 最大量较对照组显著减少($P < 0.01$), 实验组的 Gn 天数、扳机日 E_2 水平和扳机日 $\geq 10\text{mm}$ 卵泡个数减少, 较对照组差异有统计学意义(P 均 < 0.05), 实验组获卵数较对照组显著减少($P = 0.000$)。实验组的卵子成熟率和优胚率较对照组显著增加(P 均 < 0.01)。实验组的中重度 OHSS 发生率和取消移植率显著减少(P 均 < 0.01), 实验组的临床妊娠率和持续妊娠率较对照组增加, 差异有统计学意义(P 均 < 0.05)。**结论** 经阴道超声下小卵泡穿刺联合 GnRH 拮抗剂是一种有效解决 PCOS 患者超促排卵过程中过多卵泡发育问题的手段, 可以显著降低中重度 OHSS 的发生率, 改善卵子成熟率和优胚率, 提高 IVF-ET 的临床结局。

关键词 多囊卵巢综合征 小卵泡穿刺术 GnRH 拮抗剂 体外受精-胚胎移植 卵巢过度刺激综合征

中图分类号 R711.6 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.12.021

Analysis the Effectiveness of Small Follicle Puncture with GnRH Antagonist in Polycystic Ovarian Syndrome During IVF-ET Cycle. Ying Yingfen, Lu Xiaosheng, Yang Tanchu, et al. Reproductive Health Center, The Second Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Zhejiang 325027, China

Abstract **Objective** To evaluate the effectiveness of small follicle puncture with GnRH antagonist in polycystic ovarian syndrome during IVF-ET cycle. **Methods** Totally 139 women of polycystic ovarian syndrome, accepted IVF-ET treatment during the period from June 2013 to June 2016 in our reproductive center, were analyzed retrospectively which contained 60 patients in experimental group and 79 infertile females in control group. The basal characteristics, largest Gn dosage, Gn duration, total dosage of Gn, the number of retrieved oocytes, the rates of maturity, fertilization and cleavage and so on in both group were compared. **Results** There were no significant differences in the average age, BMI, infertility duration and basal hormone level between both groups (all $P > 0.05$). The largest dosage of Gn was more in control group ($P < 0.01$). Gn duration, estrogen level on the day of hCG and number of $\geq 10\text{mm}$ oocytes were all less than those in control group (all $P < 0.05$). The number of oocyte retrieved was much less in experimental group ($P = 0.000$). The rates of oocyte maturity and optimistic quality embryos were better than those in control group (both $P < 0.01$). The incidence of severe OHSS and cancel rate of embryo transfer were less in experimental group (both $P < 0.01$). The rates of clinical pregnancy and ongoing pregnancy were better in the experimental group (both $P < 0.05$). **Conclusion** Small follicle puncture together with GnRH antagonist can effectively reduce the incidence of severe OHSS and improve the outcomes of IVF-ET cycles.

Key words Polycystic ovarian syndrome; Small follicle puncture; GnRH antagonist; In vitro fertilization and embryo transfer; Ovarian hyperstimulation syndrome

多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome, PCOS)是一种生殖代谢紊乱综合征, 主要以高雄激素

和卵巢多囊样改变为特征。临床表现有月经不规则或持续性无排卵、高雄激素的表现、胰岛素抵抗、肥胖等^[1]。近几十年来, 辅助生殖技术发展至今, 经典长方案仍是目前国内绝大多数生殖中心的一线超促排卵方案。PCOS 患者在经典长方案超促排卵过程中容易出现多卵泡同时发育, 出现卵巢过度刺激综合征

基金项目:浙江省温州市科技局科技计划项目(Y20150213)

作者单位:325027 温州医科大学附属第二医院生殖中心(应映芬、卢晓声、姜振、张慧娜、程静);325000 温州医科大学(杨替楚)

(ovarian hyperstimulation syndrome, OHSS)^[2]。卵泡穿刺术在治疗 PCOS 患者的卵泡过多发育问题上已取得较为理想的效果^[3,4]。GnRH 拮抗剂可以降低 OHSS 发生率^[5]。但是目前 PCOS 患者使用经典长方案超促排卵过程中使用小卵泡穿刺技术联合 GnRH 拮抗剂在预防 OHSS 风险方面未见类似报道。本研究对小卵泡穿刺联合 GnRH 拮抗剂在 PCOS 患者经典长方案中预防 OHSS 发生率和患者临床结局进行分析。为更好的降低 PCOS 患者在一线超促排卵过程中降低 OHSS 风险提供理论依据。

资料与方法

1. 一般资料:选择 2013 年 6 月~2016 年 6 月在笔者医院生殖医学中心行经典长方案体外受精-胚胎移植(in vitro fertilization-embryo transfer, IVF-ET)患者的临床资料进行回顾性分析。根据 2003 年 PCOS 诊断的鹿特丹标准^[6],筛选年龄<38 岁,既往 IVF 周期中发生过 1 次 OHSS 患者,排除男方因素、免疫因素、其他内分泌疾病和子宫内膜及输卵管因素所致的 PCOS 不孕者。按照入选标准共有 139 例患者 141 周期符合条件,最终实验组的患者有 60 例 62 周期,对照组的患者有 79 例 79 周期。OHSS 的分类按 Golan 的 2009 年最新分类法分 3 度 6 级^[7]。

2. 超促排卵方案:实验组和对照组均使用经典的黄体期长方案,即在黄体中期肌内注射长效 GnRH 激动剂(达必佳,德国辉凌制药有限公司)0.75mg。所有患者降调节 14 天进行垂体脱敏状态检测(LH<5IU/L, FSH<5IU/L, E₂<50pg/ml),符合垂体脱敏状态的患者进行促性腺激素(Gn)(果纳芬,瑞士雪兰诺药厂)87.5~150IU 启动, Gn 7~10d 若双侧卵巢卵泡数目≥25 个,充分患者知情同意后,实验组立即行小卵泡穿刺术,并在穿刺当天加用 GnRH 拮抗剂(思则凯,瑞士雪兰诺药厂)0.25mg,之后根据卵泡发育及激素水平继续 Gn 治疗;对照组继续应用 Gn(按临床常规减量或卵泡成熟日根据 E₂水平行 coasting 治

疗)。当卵泡监测到 2 个优势卵泡的最大直径≥18mm 时停用 Gn,注射人绒毛膜促性腺激素(注射用绒促性素,丽珠集团丽珠制药厂)4000~10000IU。上述过程中记录 Gn 天数、Gn 日最大量、Gn 启动量以及 Gn 总量。注射人绒毛膜促性腺激素 34~36h 后行经阴道超声引导下卵泡穿刺术,常规 IVF/ICSI 受精并培养,记录获卵数、成熟数、受精数、卵裂数、D3 优胚率和临床妊娠率等数据。胚胎培养第 3 天根据患者有无 OHSS 倾向,并行知情同意后,决定移植或取消移植(全部胚胎冷冻保存)。鲜胚移植患者给予常规黄体支持。

3. 妊娠确定:胚胎移植后 14 天血 hCG>25mIU/ml 确定为妊娠,hCG 阳性日后 14 天经阴道超声检查了解胚胎发育情况,确定是否临床妊娠。临床妊娠为阴道超声下宫腔内见到孕囊或胎心;持续妊娠为孕周≥12 周的妊娠;早期流产为<12 孕周的流产。

4. 阴道超声引导下小卵泡穿刺术:术前 30min 肌内注射盐酸哌替啶 50mg 镇痛,在阴道超声引导下,采用 17G 单腔穿刺针,在负压 7.5 kPa 下(穿刺针和全自动负压吸引泵均由 COOK 公司提供),经阴道从不同平面穿刺抽吸卵巢内直径为 12mm 以下的小卵泡,双侧卵巢共保留 10 个左右相对大的卵泡。术中用 5%利多卡因行阴道两侧穹隆局部麻醉。术后留院观察 2h,若无异常即可离院。必要时应用抗生素预防感染。

5. 统计学方法:采用 SPSS 22.0 统计学软件对数据进行统计分析处理。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组比较采用两独立因素 *t* 检验;计数资料组间比较采用行×列 χ^2 检验法, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 患者一般资料及基础内分泌情况:3 组患者的年龄、体重指数(BMI)、不孕年限和基础 LH、FSH 及 E₂ 差异均无统计学意义(P 均>0.05,表 1)。

表 1 患者一般情况及基础内分泌

组别	周期 <i>n</i>	年龄 (岁)	不孕年限 (年)	体重指数 (kg/m ²)	基础内分泌		
					LH (IU/L)	FSH (IU/L)	T (ng/ml)
对照组	79	28.57 ± 3.44	3.79 ± 1.58	23.78 ± 2.49	7.97 ± 3.21	5.18 ± 1.32	0.64 ± 0.21
实验组	62	29.08 ± 2.81	4.21 ± 1.96	23.27 ± 3.59	8.93 ± 2.38	4.87 ± 1.82	0.72 ± 0.19

2. 两组患者的超促排卵情况:实验组日 Gn 最大量较对照组显著减少($P<0.01$),实验组的 Gn 天数、扳机日 E₂ 水平和扳机日≥10 卵泡个数减少,较对照

组比较差异有统计学意义(P 均<0.05),实验组获卵数较对照组显著减少($P=0.000$,表 2)。

表 2 两组患者的超促排卵情况

组别	周期 <i>n</i>	Gn 启动量 (IU)	Gn 最大量 (IU/d)	Gn 总量 (IU)	Gn 天数 (天)	扳机日 E ₂ 水平 (pg/ml)	≥10 卵泡数 (个)	≥14 卵泡数 (个)	获卵数 (个)
对照组	79	135.83 ± 44.86	189.16 ± 71.29	1898.33 ± 849.31	13.47 ± 3.84	4176.38 ± 1287.97	28.18 ± 8.74	13.98 ± 5.61	20.20 ± 6.64
实验组	62	129.98 ± 32.50	139.36 ± 37.94 [#]	1684.03 ± 648.13	11.78 ± 3.14 ^{##}	3450.23 ± 1640.03 ^{###}	23.70 ± 7.68 ^{###}	13.27 ± 5.36	13.90 ± 5.16 ^{###}

与对照组比较,[#]*P* < 0.01,^{##}*P* < 0.05,^{###}*P* = 0.000

3. 两组患者的实验室检查情况:实验组的卵子成熟率和优胚率较对照组显著增加(*P* 均 < 0.01)。两组的受精率和卵裂率差异无统计学意义(表 3)。

表 3 两组患者的实验室情况

组别	周期 <i>n</i>	成熟率[%(<i>n</i>)]	受精率[%(<i>n</i>)]	卵裂率[%(<i>n</i>)]	优胚率[%(<i>n</i>)]
对照组	79	79.9(1291/1616)	76.8(992/1291)	94.5(937/992)	53.8(494/919)
实验组	62	85.5(713/834) [#]	80.2(572/713)	95.3(545/572)	62.3(329/528) [#]

与对照组比较,[#]*P* < 0.01

4. 两组患者的临床结局比较:实验组的中重度 OHSS 发生率和取消移植率显著减少(*P* 均 < 0.01),且实验组中 3 例 OHSS 均为中度。实验组的临床妊娠率和持续妊娠率较实验组增加,差异有统计学意义(*P* 均 < 0.05,表 4)。

表 4 两组患者的临床结局比较

组别	周期 <i>n</i>	中重度 OHSS 率[%(<i>n</i>)]	取消移植率[%(<i>n</i>)]	临床妊娠率[%(<i>n</i>)]	持续妊娠率[%(<i>n</i>)]	流产率[%(<i>n</i>)]
对照组	79	21.5(17/79)	30.0(30/79)	32.7(16/49)	28.6(14/49)	6.3(1/16)
实验组	62	4.8(3/62) [#]	12.9(8/62) [#]	53.7(29/54) [*]	50.0(27/54) [*]	3.4(1/29)

与对照组比较,[#]*P* < 0.01,^{##}*P* < 0.05

讨 论

PCOS 是育龄期妇女常见的生殖代谢紊乱综合征,以长期无排卵和高雄激素血症为基本特征,总体发生率为 5% ~ 10%,无排卵患者的发生率达到 30% ~ 60%^[8]。药物诱导排卵是治疗 PCOS 患者的主要方法。虽然 GnRH 拮抗剂于 2006 年进入中国,目前一线 IVF-ET 超促排卵方案仍是 GnRH 激动剂长方案^[9-11]。PCOS 长方案中,GnRH 激动剂行垂体降调节减少了早发性和内源性的促黄体生成素峰的出现,改善卵泡发育同步化,增加卵泡募集数量。也正因如此使得卵泡爆发式发育,引起高雌血症导致严重 OHSS 的发生,使得临床医生措手不及^[12]。目前对超促排卵过程中有 OHSS 发生倾向的患者,临床医生会减少促性腺激素的剂量,Coasting 加用 GnRH 拮抗剂,加用芳香化酶抑制剂,小卵泡穿刺,甚至提前扳机改用未成熟卵体外培养技术等方法,但目前仍然没有一个确切的优化方法^[13-16]。

1991 年首次报道经阴道超声引导下小卵泡穿刺抽吸术的应用,研究发现多囊卵巢患者卵泡抽吸后,

可获得较高的排卵率及妊娠率^[17]。其机制可能是卵泡液的抽吸减少或消除了卵泡液中雄激素和抑制素等因子对卵巢功能的影响。抽吸卵泡同时损坏了部分卵巢间质致使雄激素合成下降,解除了优势卵泡募集受阻并且减少了对卵泡成熟的抑制,同时颗粒细胞芳香化酶活性恢复,使雄激素充分芳香化为雌激素,卵泡局部雄激素降低,优势卵泡得以进一步增长,发育并排卵。此外,与腹腔镜下卵巢楔形切除或卵巢打孔术相比,经阴道小卵泡穿刺抽吸术是在 B 超引导下,从卵巢下极进针,位置局限,对卵泡几乎没有较大的损伤,对卵巢周围的盆腔组织和血管也无损伤,其对 OHSS 的抑制作用立竿见影。

多项研究表明,超声下经阴道小卵泡穿刺术能直接减少窦卵泡的数量,改善卵巢的内分泌状况,减少控制性超促排卵周期中 OHSS 的发生率,改善卵母细胞的成熟率,提高优胚率,并获得较高的临床妊娠率^[14,17]。本研究采用小卵泡穿刺联合 GnRH 拮抗剂结果与上述研究结果一致,考虑可能是小卵泡穿刺后降低小窦卵泡(10 ~ 14mm 卵泡群)数量,使得卵巢局

部内分泌状态改善,同时加用的 GnRH 拮抗剂通过竞争性地阻断腺垂体 GnRH 受体,短暂而迅速地抑制内源性 LH 和 FSH 的释放,使得穿刺小卵泡后剩余的中晚卵泡的颗粒细胞及卵泡膜细胞的 LH 减少,使颗粒细胞中芳香化酶的作用底物减少, E_2 合成受到影响,使得血清 E_2 水平进一步下降,进一步减少 OHSS 的发生^[18]。针对 OHSS 高风险的 PCOS 患者,GnRH 激动剂长方案过程中 OHSS 风险高发的缺点,用 GnRH 拮抗剂在卵泡生长发育中后期予以弥补,不失为一种临床处理方式,这在本研究中实验组无一例 PCOS 患者出现重度 OHSS 的结果得到印证。另外,近 5 年来 GnRH 拮抗剂研究资料显示,GnRH 激动剂和拮抗剂可以促进卵母细胞最终成熟^[19,20]。本研究在长方案基础上加用 GnRH 拮抗剂,提高取卵后的卵子成熟率和优胚形成率,考虑与 GnRH 激动剂联合拮抗剂在改善高雌血症基础上,进一步改善了中晚卵泡的生发发育的内环境有关。

本研究中 PCOS 患者在长方案超促排卵过程中采用小卵泡穿刺结合 GnRH 拮抗剂的使用明显减少了 Gn 日最大剂量和 Gn 天数,明显降低扳机日 E_2 水平,减少 14mm 以下的小卵泡群的数量以及扳机日的总获卵数,增加了卵子成熟率和优胚率,明显减少中重度 OHSS 发生率、取消移植率,提高了临床妊娠率,明显改善 PCOS 的临床结局。因此,小卵泡穿刺联合 GnRH 拮抗剂对 PCOS 超促排卵过程中预防中重度 OHSS 的发生起到双重保险作用,是一种较可靠的预防 OHSS 发生的组合方式。鉴于本研究时间、样本量有限,将来希望通过增加样本量,甚至是多中心的前瞻性随机对照研究予以进一步证实。

参考文献

- Macut D, Pfeifer M, Yildiz BO, *et al.* Polycystic ovary syndrome [J]. *Neuroendocrinology*, 2013, 98(1): 1-96
- Sheng Y, Lu G, Liu J, *et al.* Effect of body mass index on the outcomes of controlled ovarian hyperstimulation in Chinese women with polycystic ovary syndrome: a multicenter, prospective, observational study [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2017, 34(1): 61-70
- 陈子江, 李媛, 赵力新, 等. 超声下未成熟卵泡抽吸术治疗多囊卵巢综合征不孕的临床研究[J]. *中华妇产科杂志*, 2005, 40(5): 295-298
- 毕红, 温开群, 王秀华, 等. 未成熟卵泡抽吸术对多囊卵巢综合征不孕患者卵巢窦卵泡计数及其内分泌功能的影响[J]. *中国妇幼保健*, 2013, 28(32): 5322-5324
- Fouda UM, Sayed AM, Elshaer HS, *et al.* GnRH antagonist rescue protocol combined with cabergoline versus cabergoline alone in the prevention of ovarian hyperstimulation syndrome: a randomized controlled trial [J]. *J Ovarian Res*, 2016, 9(1): 26-29
- The Rotterdam ESHRE/ASRM - Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome [J]. *Fertil Steril*, 2004, 8(1): 19-25
- Abraham G, Ariel W. Symposium: update on prediction and management of OHSS, a modern classification of OHSS [J]. *Reprod Biomed Online*, 2009, 19(1): 28-32
- Charalampakis V, Tahrani AA, Helmy A, *et al.* Polycystic ovary syndrome and endometrial hyperplasia: an overview of the role of bariatric surgery in female fertility [J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2016, 207: 220-226
- Xiao J, Chen S, Zhang C, *et al.* Effectiveness of GnRH antagonist in the treatment of patients with polycystic ovary syndrome undergoing IVF: a systematic review and meta analysis [J]. *Gynecol Endocrinol*, 2013, 29(3): 187-191
- Lin H, Li Y, Li L, *et al.* Is a GnRH antagonist protocol better in PCOS patients? A Meta-analysis of RCTs [J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e91796
- Wang R, Lin S, Wang Y, *et al.* Comparisons of GnRH antagonist protocol versus GnRH agonist long protocol in patients with normal ovarian reserve: a systematic review and meta-analysis [J]. *PLoS One*, 2017, 24, 12(4): e0175985
- Humaidan P, Quartarolo J, Papanikolaou EG. Preventing ovarian hyperstimulation syndrome: guidance for the clinician [J]. *Fertil Steril*, 2010, 94(2): 389-400
- Franik S, Kremer JA, Nelen WL, *et al.* Aromatase inhibitors for subfertile women with polycystic ovary syndrome: summary of a Cochrane review [J]. *Fertil Steril*, 2015, 103(2): 353-355
- Cai J, Liu L, Sun L, *et al.* Effects of previous ovarian drilling on cumulative ongoing pregnancy rates among patients with polycystic ovarian syndrome undergoing in vitro fertilization [J]. *Int J Gynaecol Obstet*, 2016, 134(3): 272-277
- Mourad S, Brown J, Farquhar C. Interventions for the prevention of OHSS in ART cycles: an overview of Cochrane reviews [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2017, 23(1): CD012103
- Seok HH, Song H, Lyu SW, *et al.* Application of serum anti-Müllerian hormone levels in selecting patients with polycystic ovary syndrome for in vitro maturation treatment [J]. *Clin Exp Reprod Med*, 2016, 43(2): 126-132
- Mio Y, Toda T, Tanikawa M, *et al.* Transvaginal ultrasound-guided follicular aspiration in the management of anovulatory infertility associated with polycystic ovaries [J]. *Fertil Steril*, 1991, 56(6): 1060-1065
- Al-Inany HG, Youssef MA, Ayeleke RO, *et al.* Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive technology [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2016, 29(4): CD001750
- Copperman AB, Benadiva C. Optimal usage of the GnRH antagonists: a review of the literature [J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2013, 11: 20
- Youssef MA, Van der Veen F, Al-Inany HG, *et al.* Gonadotropin-releasing hormone agonist versus HCG for oocyte triggering in antagonist-assisted reproductive technology [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2014, 31, (10): CD008046

(收稿日期:2017-06-02)

(修回日期:2017-06-02)