高龄卵巢低反应患者体外受精 - 胚胎移植的不同促排卵方案分析

徐晓菲[1]，王 辉[1]，张翊昕[2]，姚元庆[1]
[1]解放军总医院 妇产科，北京 100853；[2]南开大学医学院研究生处，天津 300071

摘要：目的 比较不同促排卵方案在高龄（年龄≥ 40 岁）卵巢低反应患者体外受精 / 卵母细胞浆内单精子注射 (in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection，IVF/ICSI) 助孕中的应用效果。**方法** 回顾性分析 2013 年 1 月 – 2015 年 8 月于解放军总医院生殖中心以促性腺激素释放激素激动剂 GnRH–a 长方案、GnRH–a 短方案和微刺激方案促排卵行 IVF/ICSI 助孕的≥ 40 岁卵巢低反应病例 (168 个周期)，比较各组临床资料及结局。**结果** 3 组一般情况、受精率、优质胚胎率、胚胎种植率和临床妊娠率差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)；微刺激方案组促性腺激素 (gonadotropin，Gn) 用量和使用时间分别为 (735.75 ± 725.25) IU 及 (7.03 ± 2.74) d，显著低于其他两组 [(2 749.50 ± 724.50) IU，(9.76 ± 1.40) d；(2 248.50 ± 800.25) IU，(9.51 ± 2.40) d]；长方案组获卵数为 (5.90 ± 4.44) 个，多于短方案组 (4.07 ± 2.59) 个和微刺激方案组 (3.86 ± 3.03) 个，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** 微刺激方案 Gn 用量较小且具有良好的临床结局，对于卵巢储备低下的高龄不孕患者是更加经济、有效的选择。

关键词：高龄；卵巢低反应；体外受精 – 胚胎移植；促排卵
中图分类号：R 711.6 **文献标志码：**A **文章编号：**2095–5227(2016)07–0750–04 **DOI：**10.3969/j.issn.2095–5227.2016.07.022
网络出版时间：2016–04–01 10:15:26 **网络出版地址：**http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3275.R.20160401.1015.004.html

Analysis of different ovarian stimulation protocols for IVF/ICSI therapy to infertile women with advanced age and poor ovarian response

XU Xiaofei[1], WANG Hui[1], ZHANG Yixin[2], YAO Yuanqing[1]
[1]Department of Obstetrics & Gynecology, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China; [2]Medical College Graduate Student Department, Tianjin Nankai University, Tianjin 300071, China
Corresponding author: YAO Yuanqing. Email: yaoyq@126.com

Abstract: Objective To compare the effect of different ovarian stimulation protocols in poor ovarian response patients aged 40 years or older for in vitro fertilization (IVF/ICSI). **Methods** A total of 168 cycles of 115 patients with poor ovarian response and aged 40 years or older undergoing IVF/ICSI therapy with different methods including long gonadotropin releasing hormone agonist (GnRH-a) protocol, short GnRH-a protocol and micro stimulation from January 2013 to August 2015 in Chinese PLA General Hospital were analyzed. They were divided into three groups according to different ovarian stimulation protocols, and the clinical data and outcomes were compared between three groups. **Results** There was no statistical difference in general characteristics, fertilization rate, the rate of high quality embryo and clinical pregnancy rate ($P > 0.05$). But the duration and dosage of gonadotropin (Gn) administration in micro-stimulation protocol group differed significantly comparing with the other two groups [(735.75 ± 725.25) IU *vs* (2 749.50 ± 724.50) IU, (2 248.50 ± 800.25) IU; (7.03 ± 2.74) d *vs* (9.76 ± 1.40) d, (9.51 ± 2.40) d, $P < 0.05$]. And long GnRH-a protocol group got more oocytes retrieved than the other two groups [(5.90 ± 4.44) *vs* (4.07 ± 2.59), (3.86 ± 3.03), $P < 0.05$]. **Conclusion** Compared with long and short GnRH-a protocols, micro-stimulation protocol reduces Gn dosage, which seems to be the most economic and effective choice for aged women with poor ovarian response.
Keywords: advanced age; poor ovarian response; in vitro fertilization-embryo transfer; ovarian stimulation

随着女性生育年龄的不断推迟以及国家二胎政策的放开，越来越多的高龄不孕患者寻求辅助生殖技术帮助，但生育能力因年龄增加逐年下降，35 岁以上的高龄妇女生育能力下降明显，40 岁以后下降更为显著[1–2]。卵巢低反应 (poor ovarian response，POR) 是卵巢对促性腺激素 (gonadotropin，Gn) 刺激反应不良的病理状态，常有 Gn 刺激周期发育卵泡数少、Gn 用量大、获卵少、周期取消率高及临床妊娠率低等问题[3–5]。为了探讨不同促排卵方案在高龄卵巢低反应不孕女性患者 IVF–ET 周期中的应用效果，本文回顾性分析了解放军总医院生殖中心促排卵 IVF/ICSI 助孕的≥ 40 岁病例 (168 个周期)，并对不同促排卵方案进行比较，旨在为高龄卵巢低反应患者寻找更合理的助孕方案。

对象和方法

1 研究对象 选择 2013 年 1 月 – 2015 年 8 月于解放军总医院生殖医学中心接受体外受精 / 卵母细胞浆内单精子注射 (in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection，IVF/ICSI) 助孕治疗的年龄≥ 40

收稿日期：2016–01–14
作者简介：徐晓菲，女，在读硕士。研究方向：生殖医学。Email: sophiexxfly@163.com
通信作者：姚元庆，男，主任医师。Email: yaoyq@126.com

岁 POR 女性患者，纳入标准采用 2011 年欧洲人类胚胎与生殖学会 (European Society of Human Reproduction and Embryology，ESHRE) 对 POR 诊断达成的共识[6]：1) 高龄 (≥ 40 岁) 或存在其他 POR 危险因素；2) 前次常规方案 IVF 周期获卵≤ 3 个；3) 卵巢储备低下 [窦卵泡数 (antral follicle count，AFC) < 5 ~ 7 个或抗苗勒管激素 (anti-mullerian hormone，AMH) < 0.5 ~ 1.1 mg/L]。以上 3 条中至少满足 2 条即可诊断为 POR。若年龄≥ 40 岁，有 1 项卵巢贮备功能检查异常也可诊断为 POR。排除自然周期取卵、中途取消周期、生殖系统器质性病变及合并严重其他疾病患者。符合入选条件的共 168 个治疗周期，按照患者临床促排卵方案的不同分为 3 组：促性腺激素释放激素激动剂 (gonadotropin-releasing hormone agonists，GnRH-a) 长方案组 (A 组)，共 47 个周期；GnRH-a 短方案组 (B 组)，共 89 个周期；微刺激组 (C 组)，共 32 周期。

2 促排卵方案 1) 长方案：黄体中期开始给予短效 GnRH-a(醋酸曲普瑞林，0.1 mg/d，成都天台山制药公司)，进行垂体降调节。用药后至月经第 2 天评价降调效果，若达到降调标准则继续应用短效 GnRH-a，并开始加用促性腺激素类药物：尿促卵泡素 (uFSH，上海丽珠制药公司) 或重组人促卵泡激素 (rFSH，雪兰诺 -CH) 150 ~ 450 IU/d 肌内或皮下注射。2) 短方案：月经第 2 天起应用短效 GnRH-a(醋酸曲普瑞林，0.1 mg/d，成都天台山制药公司) 进行垂体降调节，同日起使用尿促卵泡素 (uFSH，上海丽珠制药公司) 或重组人促卵泡激素 (rFSH，雪兰诺 -CH) 进行促排卵治疗，并根据卵泡发育情况调整使用药量，至卵泡直径≥ 18 mm 时停用 Gn。3) 微刺激方案：月经第 2 ~ 3 天时开始使用克罗米酚 (CC，50 mg/ 片，塞浦路斯高特药厂)50 ~ 100 mg/d，或来曲唑 (LE，2.5 mg/ 片，江苏恒瑞医药股份有限公司)2.5 ~ 5.0 mg/d，5 d 后根据 B 超监测情况适时停用 CC 或 LE，同时给予 Gn 促超排卵 (Gn 用量≤ 150 IU/d)。结合卵泡直径，血 LH 值及雌、孕激素水平确定人绒毛膜促性腺激素 (human chorionic gonadotropin，HCG) 注射时间。

3 胚胎移植 在促排卵过程中，根据患者年龄、体质量指数 (body mass index，BMI) 及卵巢储备功能个体化用药，阴道 B 超监测子宫内膜及卵泡发育情况，并参考卵泡发育情况增减 Gn 用量。当至少有 1 个卵泡直径≥ 18 mm 或至少 2 个卵泡直径≥ 17 mm 时，停用 Gn，当晚注射 HCG(上海丽珠制药有限公司)10 000 IU，36 h 后行 B 超引导下经阴道卵泡穿刺取卵术。新鲜移植患者取卵后 72 h 行胚胎移植，腹部超声引导下移植 1 ~ 3 个胚胎，黄体支持选择黄体酮阴道凝胶，术后 14 d 静脉抽血检测 HCG 水平，阳性者于移植后 4 周进行阴道超声检查，提示有孕囊和胎心搏动者为临床妊娠。

4 观察指标 比较各组患者的年龄、不孕年限、BMI、基础内分泌激素水平、AFC 等基本情况，HCG 日子宫内膜厚度、HCG 日血清雌二醇 (estrodiol，E2)、黄体生成素 (luteinizing hormone，LH)、孕酮 (progesterone，P) 水平、Gn 使用总量及使用时间、获卵数、受精率及临床妊娠率等。受精率 =2PN 受精卵 / 卵母细胞总数 ×100%；优质胚胎率 =(Ⅰ级 + Ⅱ级胚胎数)/ 卵裂数 ×100%；周期临床妊娠率 = 临床妊娠数 / 周期数 ×100%。

5 统计学方法 采用 SPSS17.0 软件建立数据库并进行统计处理，3 组间计量资料比较采用方差分析，两两比较采用 SNK 检验，非正态方差不齐时采用秩和检验，计数资料比较采用 χ^2 检验，$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 3 组一般情况比较 115 例患者，年龄 40 ~ 50 岁，平均年龄 42.11 岁；原发不孕 35 例，继发不孕 80 例；平均不孕年限 6.67 年；输卵管原因不孕 45 例，合并内异症 12 例，排卵障碍 16 例，不明原因不孕 13 例。各组患者的年龄、BMI、不孕年限、基础 E2 水平等一般情况均无统计学差异 ($P > 0.05$)。见表 1。

2 各组 HCG 日激素水平和用药情况比较 3 组 Gn 使用时间、Gn 用量比较：A、B 组较高，C 组最低，C 组与 A/B 组差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)，A、B 两组间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。B、C 组 HCG 日血清 E2 值低于 A 组 ($P < 0.05$)，B、C 两组间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。HCG 注射日 P 水平、LH 值及子宫内膜厚度 3 组间比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

3 各组 IVF 结局比较 长方案组获卵数多于短方案组和微刺激方案组，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。3 组间受精率、优质胚胎率、移植胚胎数、临床妊娠率差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 3。

表 1 3 组高龄 POR 患者基本情况比较

Tab. 1 Comparison of baseline characteristics of patients in three groups

Item	Group A (n=47)	Group B (n=89)	Group C (n=32)	*P*
Age (yrs)	41.83 ± 1.68	42.26 ± 1.78	42.91 ± 2.59	0.055
Years of infertility (yrs)	4.79 ± 1.49	4.52 ± 1.63	5.19 ± 2.26	0.162
BMI (kg/m^2)	22.53 ± 1.42	22.28 ± 1.56	22.41 ± 1.80	0.534
Basic serum FSH level (mIU/ml)	8.97 ± 3.66	10.68 ± 5.10	10.66 ± 4.91	0.113
Basic serum LH level (mIU/ml)	4.79 ± 1.49	4.52 ± 1.63	5.19 ± 2.26	0.123
Basic serum E2 level (pg/ml)	156.22 ± 120.38	170.38 ± 93.62	167.72 ± 64.64	0.721
AFC (n)	3.50 ± 1.99	3.17 ± 1.45	2.72 ± 1.55	0.115

Group A: long GnRH-a protocol group; Group B: short GnRH-a protocol group; Group C: micro stimulation group

表 2 3 组高龄 POR 患者用药情况比较

Tab. 2 Comparison of drug utilization in three groups

Item	Group A (n=47)	Group B (n=89)	Group C (n=32)	*P*
Dosage of Gn (IU)	2 749.50 ± 724.50	2 248.50 ± 800.25	735.75 ± 725.25[a]	0.000
Duration of Gn (d)	9.76 ± 1.40	9.51 ± 2.40	7.03 ± 2.74[a]	0.000
E2 on HCG day (pg/ml)	5 725.59 ± 5 344.70[b]	4 088.42 ± 2 651.48	3 879.35 ± 3 113.19	0.029
LH on HCG day (mIU/ml)	3.77 ± 1.87	3.69 ± 2.61	4.44 ± 3.12	0.339
P on HCG day (pg/ml)	1.21 ± 0.77	1.23 ± 0.89	1.28 ± 0.69	0.935
Endometrial thickness (mm)	10.07 ± 1.94	10.15 ± 2.95	9.29 ± 2.01	0.282

[a]$P < 0.05$, *vs* group A,B; [b]$P < 0.05$, *vs* group B, C

表 3 3 组高龄 POR 患者临床结局比较

Tab. 3 Clinical outcomes of cycles in three groups

Item	Group A (n=47)	Group B (n=89)	Group C (n=32)	*P*
Number of retrieved oocytes (n)	5.90 ± 4.44[a]	4.07 ± 2.59	3.86 ± 3.03	0.005
Fertilization rate (%)	70.85 ± 17.43	75.39 ± 18.93	76.58 ± 17.47	0.209
High quality embryo rate (%)	60.20 ± 15.77	57.20 ± 20.13	59.55 ± 23.15	0.551
Transplantation embryos number (n)	1.89 ± 0.86	1.88 ± 0.95	1.50 ± 1.38	0.156
Clinical pregnancy rate (n, %)	9(19.15)	17(19.10)	6(18.75)	0.998

[a]$P < 0.05$, *vs* group B, C

讨 论

近年来随着社会政策及居民生活方式的转变，越来越多具有生育需求的高龄女性面临不孕的风险，不论自然妊娠还是辅助生殖技术，年龄都是影响生育结局的一项关键因素。40 岁以上女性卵巢储备功能通常较低，其是诊断为卵巢低反应的指标之一[7]。有研究表明，POR 在高龄（≥ 40 岁）女性中发生率超过 50%[3]，随着年龄的增加，获卵数逐渐减少而非整倍体发生率增加，临床妊娠率及活产率随之下降，流产率增加[8-10]。因此我们需要了解高龄卵巢低反应患者的多方面信息，选择更加适合患者的助孕方案。

长方案、短方案及微刺激方案等均是各生殖中心普遍应用的促排卵方案。长方案主要通过 GnRH-a 对垂体进行降调节，具备卵泡同步性好、可抑制早发 LH 峰等优点。Maheshwari 等[11]分析发现，对于一般患者来说，长方案相对于短方案获卵数更多，但相应的 Gn 用量也会增加。Gn 类药物用量的增多不仅延长促排卵时间、治疗周期及增加药物费用，而且增加卵巢过度刺激等并发症的发生率。有研究显示，对 POR 患者增加 Gn 用量，患者卵泡数、获卵数、HCG 日 E2 水平无明显改善[12-13]。短方案则利用 GnRH-a 的 Flare-up 效应，常用于卵巢反应不良的患者[14]。此方案促排卵时间较短，能够有效提高卵泡的募集作用，减少对垂体的过度抑制，但也有研究表明其临床妊娠结局并无显著提高[15]。微刺激方案采用尿促性腺素与氯米芬、来曲唑等药物促排卵行 IVF-ET，操作相对简单，不仅降低了促性腺激素在促排卵周期中的用量、用药时间，大大降低治疗费用，同时也降低了卵巢过度刺激的发生率，更适用于卵巢功能低下及促排卵低反应患者；如果出现早发的 LH 峰也可在必要时使用拮抗剂，灵活性更高，可根据卵泡生长情况进行相应调节，有利于治疗方案的个体化，节省了有效治疗时间。

另外，激动剂方案应用于高龄及卵巢功能较差的不孕患者存在部分问题，例如 Gn 用量普遍较大、用药时间长、黄体功能不足、卵巢过度刺激的发生率增加等，垂体降调节后雌激素水平低下，会导致部分患者围绝经期改变，激动剂的激发作用还有可能产生黄体囊肿，不利于子宫内膜生长及胚胎着床[16]。更有研究表明，在促排卵过程中使用大剂量的促排卵激素有可能增加染色体异常的比例[17]，进而影响胚胎的发育和种植。专家认为，高龄患者常规促排卵方案失败后再考虑行微刺激方案，而极低反应患者可直接行微刺激方案或自然周期[18]。

本研究结果显示，≥ 40 岁女性采用长方案组获卵数最多，但存在 Gn 用量大、用药时间长等弊端，临床妊娠率无明显提高，故不能认为增大 Gn 剂量有助于改善高龄患者 IVF 结局；短方案组与微刺激组相比，Gn 用量大，获卵数及临床妊娠率无明显提高；微刺激组患者 Gn 用量及时间少于其他两组，而临床妊娠率与其他两组相比无明显差异，体现出一定的优势。

综上所述，长、短方案 Gn 应用时间长、剂量大，增加 Gn 用量并不能明显改善高龄卵巢低反应患者临床妊娠率。微刺激方案 Gn 用量较少，且具有良好的临床结局，对于卵巢储备低下的高龄不孕患者是更加经济、有效的选择。

参考文献

1 Van Noord-Zaadstra BM，Looman CW，Alsbach H，et al. Delaying childbearing：effect of age on fecundity and outcome of pregnancy[J]. BMJ，1991，302（6789）：1361-1365.

2 葛明晓，陶莉莉，陈小平，等. 高龄妇女 409 个周期体外受精的临床结局［J］. 广东医学，2014，35（12）：1907-1910.

3 La Marca A，Sunkara SK. Individualization of controlled ovarian stimulation in IVF using ovarian reserve markers：from theory to practice［J］. Hum Reprod Update，2013，20（1）：124-140.

4 吕翠婷，郭丽娜，甄秀丽，等. 164 例卵巢低反应患者体外受精治疗促排卵方案分析［J］. 国际生殖健康 / 计划生育杂志，2015，34（3）：199-202.

5 陈东思，祁秀娟，刘建新，等. 三种促排卵方案用于卵巢低反应助孕患者效果比较［J］. 山东医药，2015，55（14）：83-85.

6 Ferraretti AP，La Marca A，Fauser BC，et al. ESHRE consensus on the definition of ‘poor response’ to ovarian stimulation for in vitro fertilization：the Bologna criteria［J］. Hum Reprod，2011，26（7）：1616-1624.

7 杨美琼，马文敏，罗国群，等. 40 岁以上的不孕妇女行 IVF/ICSI-ET 治疗 463 周期临床分析［J］. 实用医学杂志，2013，29（18）：2947-2949.

8 焦泽旭，庄广伦，周灿权，等. 高龄妇女接受体外受精 - 胚胎移植的结局［J］. 中华妇产科杂志，2002，37（4）：223-226.

9 闻姬，冯晓军，王力，等. 不同超促排卵方案对高龄患者体外受精结局影响的研究［J］. 现代妇产科进展，2010，19（5）：366-369.

10 张少娣，谢娟珂，耿嘉瑄，等. 40 岁以上患者体外受精 - 胚胎移植不同促排方案的疗效分析［J］. 生殖与避孕，2011，31（4）：250-254.

11 Maheshwari A，Gibreel A，Siristatidis CS，et al. Gonadotrophin-releasing hormone agonist protocols for pituitary suppression in assisted reproduction[J]. Cochrane Database Syst Rev，2011，66(8)：CD006919.

12 张慧娟. 体外受精 - 胚胎移植中卵巢低反应的治疗进展［J］. 国际生殖健康 / 计划生育杂志，2012，31（5）：405-407.

13 Tutuncu L，Dundar O. Increasing the stimulation dose of rFHS in unexpected poor responders is not associated with better IVF outcome［J］. Ginekol Pol，2012，83（2）：111-115.

14 Muasher SJ，Abdallah RT，Hubayter ZR. Optimal stimulation protocols for in vitro fertilization［J］. Fertil Steril，2006，86（2）：267-273.

15 Sbracia M，Farina A，Poverini R，et al. Short versus long gonadotropin-releasing hormone analogue suppression protocols for superovulation in patients > or = 40 years old undergoing intracytoplasmic sperm injection［J］. Fertil Steril，2005，84（3）：644-648.

16 王金芳，郝翠芳. 降调节过程中卵巢黄体囊肿形成的临床观察［J］. 生殖医学杂志，2014，23（3）：238-241.

17 Baart EB，Martini E，Eijkemans MJ，et al. Milder ovarian stimulation for in-vitro fertilization reduces aneuploidy in the human preimplantation embryo：a randomized controlled trial［J］. Hum Reprod，2007，22（4）：980-988.

18 乔杰，马彩虹，刘嘉茵，等. 辅助生殖促排卵药物治疗专家共识［J］. 生殖与避孕，2015，35（4）：211-223.

本刊“病例讨论”栏目征稿

本刊开辟“病例讨论”栏目，属原创性临床论文。

1.病例选择：1)疑难病例，特别是涉及多学科、多领域的疑难病例；2)容易误诊、漏诊且有经验教训的病例；3)诊断明确，但病情危重、治疗棘手的病例；4)罕见病例；5)常见病例，但临床表现形式特殊。以上病例均须最终获得明确诊断或成功治疗，临床资料应齐全，能提供实验室、影像学和(或)病理确诊依据。

2.写作格式：1)中英文摘要。无须按“目的”、“方法”、“结果”、“结论”格式，简单介绍病例和诊治要点即可。2)正文含导语，设“病例摘要”和“讨论”两部分。“病例摘要”：交代清楚患者主诉、病史(包括既往史)、实验室、影像学及病理学检查结果、临床诊断、治疗方案、治疗结果等。“讨论”：能较好地体现正确的临床思维，对读者的临床工作有实际借鉴意义；写清诊断和治疗思路、鉴别诊断要点、治疗上应注意的问题等，若为罕见病则介绍目前国内外的最新进展。3)列出相关的国内外主要参考文献。