

文章编号:1000-5404(2014)15-1619-04

论著

GnRH-a 预处理在冻融胚胎移植中的价值

东亚君,李玉艳,李敏,刘永刚,李明舵,朱向飞,邓丽,何畏 (400038 重庆,第三军医大学西南医院妇产科生殖医学中心)

[摘要] **目的** 探讨促性腺激素释放激素激动剂(gonadotrophin releasing hormone agonist, GnRH-a)预处理在冻融胚胎移植(frozen-thawed embryo transfer, FET)中的价值。**方法** 回顾分析我科2012年6月至2013年10月因不孕接受FET治疗的507个冻融胚胎移植周期,根据是否接受GnRH-a预处理分为:GnRH-a组(A组)与非GnRH-a组(B组)。分析比较两组患者平均年龄、女性不孕病因、孕激素启动日子宫内膜厚度、移植胚胎数、临床妊娠率及多胎率等之间的差异。**结果** A组(60个冻融胚胎移植周期)的临床妊娠率明显高于B组(447个冻融胚胎移植周期),分别为58.34%和43.40%,差异有统计学意义($P < 0.05$);继续妊娠的观察中,A组胚胎停育及异位妊娠发生率明显低于B组;两组患者平均年龄、移植日子宫内膜厚度、冷冻胚胎复苏率、移植胚胎数目以及优质胚胎率差异均无统计学意义。在盆腔输卵管性不孕人群中,GnRH-a预处理组的临床妊娠率明显高于常规人工周期组($P < 0.05$)。**结论** GnRH-a预处理的方法可以改善子宫内膜容受性,有利于胚胎早期种植,尤其对于盆腔输卵管性不孕患者。

[关键词] GnRH-a;冻融胚胎;子宫内膜容受性;移植;结局

[中图分类号] R321-33; R711.6; R977.12

[文献标志码] A

Value of gonadotrophin releasing hormone agonist in frozen-thawed embryo transfer

Dong Yajun, Li Yuyan, Li Min, Liu Yonggang, Li Mingduo, Zhu Xiangfei, Deng Li, He Wei (Center of Reproductive Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[Abstract] **Objective** To evaluate the impact of gonadotrophin releasing hormone agonist (GnRH-a) on the outcome of frozen-thawed embryo transfer (FET). **Methods** A total of 507 FET treatment cycles performed in our department from June 2012 to October 2013 were collected and retrospectively analyzed. The patients were identified as 2 groups, group A ($n = 60$) receiving GnRH-a in the treatment cycle whereas group B ($n = 447$) not. The age of the patients, etiology of female infertility, endometrial thickness on the day of progesterone initiation day, the number of transferred embryos, clinic pregnancy rate and multiple pregnancy rate were compared between the 2 groups. **Results** There was no significant difference in the age, endometrial thickness on the day of progesterone initiation and the number of the embryos transferred between the 2 groups, but the clinical pregnancy rate was significantly higher in group A than group B (58.34% vs 43.40%, $P < 0.05$). In addition, the embryonic diapause and ectopic pregnancy rates were lower in group A than group B. In the pelvic tubal factor patients, the clinic pregnancy rate was obviously increased after GnRH-a pretreatment ($P < 0.05$). **Conclusion** GnRH-a pretreatment improves endometrial receptivity in FET cycles, and is helpful for early embryo transfer, especially for the pelvic tubal infertility.

[Key words] gonadotrophin releasing hormone agonist; frozen-thawed embryo; endometrial receptivity; transfer; pregnancy outcome

Corresponding author: He Wei, E-mail: anyhewei@163.com

冻融胚胎移植术(frozen-thawed embryo transfer, FET)属于体外受精-胚胎移植(*in vitro* fertilizati embryo transfer, IVF-ET)的衍生技术,是提高累积妊娠率、减

少并发症、降低治疗费用的重要手段。FET时无需再应用过多的促排卵药物,无需再行取卵术,更有利于调整子宫内膜状态,因而,越来越多人关注FET,并致力于如何提高FET的临床结局。已知影响FET的主要因素有子宫内膜的厚度和类型、胚胎质量与数目、患者年龄等,其中可控的因素是子宫内膜状况^[1-2]。因此,

[通信作者] 何畏, E-mail: anyhewei@163.com

[优先出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140225.1541.014.html> (2014-02-25)

如何改善子宫内膜的容受性成为热点问题。促性腺激素释放激素激动剂(gonadotrophin releasing hormone agonist, GnRH-a)可抑制促性腺激素分泌,从而抑制卵巢功能,显著减少雌激素的分泌,使异位子宫内膜处于休眠状态,是盆腔子宫内膜异位症药物治疗的首选。此外,GnRH-a还是辅助生殖助孕技术中最常用的药物,被广泛用于长方案垂体降调节。2010年Hill等^[3]回顾性分析了1391个冻融胚胎移植周期,发现使用GnRH-a降调节的激素代替疗法作为冻融胚胎移植的内膜准备方式比自然周期子宫内膜的临床妊娠率与活产率更高。在单纯激素替代的人工周期冻融胚胎移植中是否也存在这样的效应?鉴于此,在临床以及实验室诊治技术稳定的基础上,我们对2012年6月至2013年10月部分FET病例进行了回顾性分析,报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

2012年6月至2013年10月因不孕症自愿在第三军医大学西南医院妇产科生殖中心接受人类辅助生殖助孕治疗,且有冷冻胚胎保存的患者为研究总体。纳入标准:年龄22~37岁,不孕年限为2~8年,以单纯补充外源雌激素准备子宫内膜(人工周期),胚胎均为受精后第3天经玻璃化冷冻保存,且冻存期限4~12个月,共计482例患者,507个冻融胚胎移植周期(部分患者接受了2次以上FET术)。排除标准:①BMI≥26 kg/m²;②染色体异常;③合并男性不育因素。患者均符合国家关于辅助生殖助孕技术治疗的要求,签署知情同意书,报医院伦理委员会批准备案。

1.2 方法

1.2.1 胚胎玻璃化冷冻与复苏培养 除胚胎培养液外,其余试剂系美国Irvine Scientific公司产品,操作严格按照试剂使用说明进行。玻璃化冷冻步骤:待冻存胚胎经平衡液(equilibration solution, ES)中平衡5 min后,以最小体积移入冷冻液(vitrification solution, VS)中,共4步,具体为VS1 5 s→VS2 5 s→VS3 10 s→VS4;然后在液氮中,90 s内将胚胎转移至麦管叶片,检查无误后转入套管内,投入容器液氮罐中保存。胚胎复苏步骤:将套管从液氮罐中取出,将载有胚胎的叶片置于37℃提前预热20 min的复苏液(thawing solution, TS),1 min后胚胎转移至稀释液(dilution solution, DS)停留4 min,再转移至洗涤液(washing solution, WS),4 min后转移到胚胎培养液中(G-2培养液,瑞典Vitrolife产品);观察胚胎的存活情况,并置于37℃、CO₂培养箱中培养17~20 h,选择存活的胚胎(50%以上卵裂球完整)进行移植。

1.2.2 子宫内膜准备与胚胎移植 患者均采用人工周期,接受GnRH-a预处理组(A组)患者于月经第2天注射1.8 mg长效GnRH-a(达菲林,法国易普生公司),21 d后给予戊酸雌二醇(补佳乐,德国拜耳公司)6 mg/d,4 d后行阴道超声监测子宫内膜厚度与声像情况,以阴道B超子宫纵切面上子宫内膜线两侧缘的最大距离作为子宫内膜厚度(mm),内膜分型按照Gonen的分型标准^[4];逐渐增加补佳乐剂量至8~10 mg/d;服

用补佳乐12~17 d肌肉注射黄体酮(丽珠药业)40 mg/d;注射第4天晨行复苏后胚胎移植术。非GnRH-a组(B组)患者于月经第2天直接服用戊酸雌二醇(补佳乐),剂量及方法与A组相同。患者均按卫生部的规定移植1~3个复苏胚胎。以患者注射黄体酮日为解冻日。本中心优胚标准:原核为2PN且评分为Z1或Z2。IVF/ICSI受精后42~44 h(D2)卵裂为4~5细胞,无多核,卵裂球大小均匀,评分在3分以上。IVF/ICSI受精后66~68 h(D3)为7~9细胞或已致密化,评分在3分以上的。胚胎复苏率=解冻胚胎存活数/解冻胚胎数;完整胚胎率=完整存活胚胎存活数/解冻胚胎数;胚胎存活数指胚胎解冻后,卵裂球比例≥50%,胚胎完整存活指胚胎解冻后卵裂球完全存活。

1.2.3 黄体支持与临床妊娠标准 胚胎移植后继续给予雌孕激素支持,移植2周后检测血清中β-HCG,如β-HCG明显升高,则继续黄体支持;移植后4~5周行B超检查,见孕囊、胚芽及原始胎血管搏动者为临床妊娠。

1.3 统计学分析

采用SPSS 13.0统计软件,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用t检验;率的比较用 χ^2 检验与Fisher检验。

2 结果

2.1 两组患者年龄、不孕年限及病因构成的比较

A、B两组患者分别为60、447个冻融胚胎移植周期(此后均简称为例),年龄分别为(31.2±3.4)岁和(30.9±4.4)岁,不孕年限分别为(4.3±2.2)年和(4.5±3.2)年。两组患者平均年龄、平均不孕年限比较差异无统计学意义(P>0.05)。女性不孕原因分析显示A组排列前3位的分别是盆腔输卵管因素(36/60,60.00%)、子宫内膜异位症(11/60,18.33%)和排卵障碍(7/60,11.67%);B组排列前3位分别为盆腔输卵管因素(349/447,78.08%)、女方其他因素(包括子宫形态异常、子宫肌瘤等,53/447,11.86%)和子宫内膜异位症(24/447,5.37%)。见表1。

表1 两组患者不孕病因构成因素

不孕病因	A组	B组	合计
盆腔输卵管因素	36	349	385
子宫内膜异位症	11	24	35
排卵障碍	7	21	28
女方其他因素	6	53	59
合计	60	447	507

2.2 两组患者胚胎复苏率、完整胚胎率、优质胚胎率及移植胚胎数的比较

两组共计复苏胚胎1369枚,存活1343枚,完整胚胎数1255枚。507例FET周期均获得可移植胚胎,无1例因胚胎因素取消治疗。在两组间进行胚胎复苏率、完整胚胎率、优质胚胎率、移植胚胎数的相互比较,差异均无统计学意义(P>0.05)。见表2。

表2 两组患者复苏后胚胎参数的比较

组别	n	胚胎复苏率(%)	完整胚胎率(%)	优质胚胎率(%)	移植胚胎数(枚)
A组	60	98.78	91.65	56.75	2.03±0.24
B组	447	99.27	91.98	56.24	1.99±0.33

2.3 妊娠结局

507例患者均在B超引导下宫腔内胚胎移植术。两组患者移植日子宫内膜厚度分别为(9.83±1.28)mm和(9.60±3.18)mm;移植后A组临床妊娠35例,妊娠率为58.33%(35/60);B组临床妊娠194例,临床妊娠率为43.40%(194/447)。A、B两组临床妊娠率差异有统计学意义($P < 0.05$)。持续随访过程中,B组发生异位妊娠者11例(5.67%),A组没有发生;A组发生胚胎停育者2例(5.71%),B组15例(7.73%)。

2.4 不同女性不孕因素下FET治疗的结局比较

2.4.1 盆腔输卵管因素 A、B两组患者中盆腔输卵管因素分别占36例和349例,年龄分别为(30.7±3.4)岁和(29.8±3.5)岁。A、B两组FET后临床妊娠率分别为61.11%(22/36)和41.83%(146/349),差异有统计学意义($P < 0.05$);异位妊娠率分别为0(0/22)和7.53%(11/146),胚胎停育率分别为4.55%(1/22)和7.53%(11/146)。

2.4.2 排卵障碍因素 A、B两组患者中排卵障碍因素分别占7例和21例,年龄分别为(31.6±3.3)岁和(29.6±3.9)岁。A、B两组FET后临床妊娠率分别为85.71%(6/7)和61.90%(13/21),差异无统计学意义($P > 0.05$);均无异位妊娠发生,胚胎停育率分别为16.7%(1/6)和23.08%(3/13)。

2.4.3 子宫内膜异位症 A、B两组患者中子宫内膜异位症分别占11例和24例,年龄分别为(32.8±2.6)岁和(31.2±3.4)岁。两组FET后临床妊娠率分别为27.27%(3/11)和50.00%(12/24),差异无统计学意义($P > 0.05$);均无异位妊娠发生,胚胎停育率分别为0%(0/3)和8.33%(1/12)。

3 讨论

冻融胚胎移植是选择自然或模拟自然状态下子宫内膜着床前状态,择期将与之同步发育的胚胎植入子宫腔内。自然排卵周期中,仅在排卵后极短的时间胚胎可以粘附并植入子宫内膜,称为种植窗,多为促黄体生成激素峰后7~11d,非常短暂^[5]。已知有较多的因素参与了这一时期细胞间、细胞与基质间的相互作用,如白血病抑制因子(leukemia inhibitory factor, LIF)、整合素家族(integrins)、胞饮突(pinopods)、血管内皮生长因子(vasculature endothelial growth factor, VEGF)、雌孕激素及其受体等^[6]。因此,实现子宫内膜成熟与胚胎发育的同步化是FET成功的关键。目前子宫内膜准备的常用方法为自然周期法和人工周期法。前者因避免使用外源性激素,相对安全,但需要多次反复地监测内源性促黄体激素(luteinizing hormone, LH)峰以及卵泡大小,繁琐且难于发现排卵的准确时间,故取消率较高。后者人工周期方案便于计划与安排手术时间,避免排卵异常导致的取消周期,然而单纯在早卵泡期添加外源性雌激素可能会诱发内源性早发LH峰,影响子宫内膜微环境状态。两种方法的临床治疗结局相似^[7]。

在FET准备中给予GnRH-a预处理的方法最初源

于研究者对赠卵周期的观察。研究证实使用GnRH-a后不影响子宫内壁上胞饮突pinopodes的形成,但是与自然周期相比,胞饮突的形成平均提前1~2d^[8-9]。这样的效应是否影响子宫内膜容受性?GnRH-a预处理(垂体降调节)后的Gn/HCG超促排卵方案是辅助生殖治疗中最常用的方案。研究表明,与自然排卵周期相比,超促排卵过程中产生的远远超过生理水平的高雌激素,可导致整合素和LIF蛋白的mRNA表达的下降,子宫内壁上雌激素受体(estrogen receptor, ER)、孕激素受体(progesterone receptor, PR)、EGFR的表达异常等,从而导致子宫内膜容受性受到负面影响,降低妊娠率。但相对其他Gn/HCG超促排卵方案而言,GnRH-a-Gn/HCG方案的临床妊娠率与活胎分娩率最高^[10-11],提示GnRH-a在子宫内膜上的效应可能有益于胚胎早期种植。选择恰当的患者群体,在相似的胚胎质量和冻融技术前提下,再次回顾GnRH-a预处理后冻融胚胎移植后临床结局将有助于进一步明确GnRH-a的效应,寻找改善FET治疗结局的新方法或机制。

本研究选择的两组患者平均年龄、不孕年限及不孕病因学构成等基本相似,临床促排卵方案稳定,采用的胚胎冻融技术相同,胚胎复苏后各项参数无明显差别,然而GnRH-a预处理后患者的临床妊娠率明显高于对照组,在继续妊娠的观察中,GnRH-a预处理组胚胎停育及异位妊娠的发生率较对照组低。与文献[12-13]报道结果相似,提示GnRH-a预处理可以改善子宫内膜容受性,有利于胚胎的早期发育。由于盆腔输卵管性、子宫内膜异位症及排卵异常是女性不孕最常见的因素,本研究进一步从独立的不孕因素进行了分层分析,发现在盆腔输卵管因素中,接受GnRH-a预处理后的FET临床结局明显改善,而在子宫内膜异位症及排卵障碍因素中差异无统计学意义,提示GnRH-a对于改善盆腔炎症环境可能有益。由于3种不孕病因间病理机制不同,对子宫内膜容受性的影响也不同,后续需进一步扩大样本量进行研究。已知雌激素是影响种植窗期子宫内膜容受性的关键性因素^[14],推测经GnRH-a预处理后血清中雌激素水平持续低下可能改变了后期子宫内膜上种植窗的形成,有利于胚胎早期种植。持续低雌激素是否同时改变了子宫内膜中参与母胎界面的细胞间的相互作用有待深入研究。

参考文献:

- [1] Ashrafi M, Jahangiri N, Hassani F, et al. The factors affecting the outcome of frozen-thawed transfer cycle[J]. Taiwan J Obstet Gynecol, 2011, 50(2): 159-164.
- [2] Veleva Z, Orava M, Nuojua-Huttunen S, et al. Factors affecting the outcome of frozen-thawed embryo transfer [J]. Hum Reprod, 2013,

28(9): 2425-2431.

[3] Hill M J, Miller K A, Frattarelli J L. A GnRH agonist and exogenous hormone stimulation protocol has a higher live-birth rate than a natural endogenous hormone protocol for frozen-thawed blastocyst-stage embryo transfer cycles; an analysis of 1391 cycles[J]. *Fertil Steril*, 2010, 93(2): 416-422.

[4] Gonen Y, Casper R F. Prediction of implantation by the sonographic appearance of the endometrium during controlled ovarian stimulation for *in vitro* fertilization (IVF)[J]. *J In Vitro Fert Embryo Transf*, 1990, 7(3): 146-152.

[5] Marcus S F, Ledger W L. Efficacy and safety of long-acting GnRH agonists in *in vitro* fertilization and embryo transfer[J]. *Hum Fertil (Camb)*, 2001, 4(2): 85-93.

[6] Boomsma C M, Kavelaars A, Eijkemans M J, et al. Endometrial secretion analysis identifies a cytokine profile predictive of pregnancy in IVF[J]. *Hum Reprod*, 2009, 24(6): 1427-1435.

[7] Niu Z, Feng Y, Sun Y, et al. Estrogen level monitoring in artificial frozen-thawed embryo transfer cycles using step-up regime without pituitary suppression; is it necessary? [J]. *J Exp Clin Assist Reprod*, 2008, 5: 4.

[8] Bourgain C. Endometrial biopsy in the evaluation of endometrial receptivity[J]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*, 2004, 33(1 Pt 2): S13-S17.

[9] Glujovsky D, Pesce R, Fiszajin G, et al. Endometrial preparation for

women undergoing embryo transfer with frozen embryos or embryos derived from donor oocytes [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2010(1): CD006359.

[10] Olivennes F, Belaisch-Allart J, Empeire J C, et al. Prospective, randomized, controlled study of *in vitro* fertilization-embryo transfer with a single dose of a luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) antagonist (cetorelix) or a depot formula of an LH-RH agonist (triptorelin)[J]. *Fertile Steril*, 2000, 73(2): 314-320.

[11] Tavaniotou A, Albano C, Smits J, et al. Impact of ovarian stimulation on corpus luteum function and embryonic implantation[J]. *J Reprod Immunol*, 2002, 55(1/2): 123-130.

[12] Fatemi H M, Kyrou D, Bourgain C, et al. Cryopreserved-thawed human embryo transfer; spontaneous natural cycle is superior to human chorionic gonadotropin-induced natural cycle [J]. *Fertil Steril*, 2010, 94(6): 2054-2058.

[13] Al-Inany H, van-Gelder P. Success of frozen embryo transfer; Does the type of gonadotropin influence the outcome? [J]. *Int J Womens Health*, 2010, 2: 89-98.

[14] Ma W G, Song H, Das S K, et al. Estrogen is a critical determinant that specifies the duration of the window of uterine receptivity for implantation[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 100(5): 2963-2968.

(收稿:2013-11-28;修回:2014-02-10)

(编辑 王红)

个案与短篇

文章编号:1000-5404(2014)15-1622-01

以左眼球突出为首表现的前列腺癌伴全身骨转移 1 例

封建立¹, 王笑梅², 孙道冬¹, 钟渝¹ (400020 重庆,解放军第324医院泌尿外科¹;400038 重庆,第三军医大学西南医院老年病科²)

[关键词] 前列腺癌; 骨转移; 眶尖综合征
[中图分类号] R737.25 [文献标志码] B

1 临床资料

患者,男性,68岁,因“左眼球突出1个月”入院。患者自觉1个月前开始出现左眼球突出,呈进行性加重,伴间断头昏及左侧头皮胀痛。体格检查:体温36.3℃,脉搏121/min,呼吸21/min。心肺未见明显异常。左侧额部皮肤肿胀,约6cm×10cm,触之有液流感。左侧眼球向外突出,结膜充血,可触及震颤。辅助检查:肝功能:碱性磷酸酶662IU/L。血清前列腺特异抗原(PSA):总PSA1465ng/mL,游离PSA42.380ng/mL。头部CT示左侧额颞顶部颅板下新月状高密度影,相邻颅骨骨质增生硬化表现,相邻头皮软组织肿胀,相邻脑叶受压改变,左侧脑室受压变形,中线轻度右侧移位。头部MRI示左侧额颞顶部异常信号影,考虑肿瘤性病变,骨来源可能。胸部CT示胸椎多发椎

体、双侧肩胛骨、多发肋骨及周围软组织改变,考虑肿瘤性病变,转移可能。前列腺MRI示前列腺癌,骨盆多发骨转移。全身骨扫描示广泛性骨转移瘤。诊断:前列腺癌伴全身骨转移。患者因自身因素拒绝行前列腺穿刺活检及颅骨转移部位活检,给予“氟他胺250mg,口服3次/d;醋酸戈舍瑞林3.6mg,皮下注射,1次/月”,同时给予抗感染、加强营养等对症支持治疗,好转出院。

2 讨论

前列腺癌是老年男性常见恶性肿瘤,高发年龄45~89岁,平均年龄72岁,并且随着年龄增长发病率逐渐增高。早期前列腺癌往往无明显症状,后期随着肿瘤进展,前列腺癌会表现出多种不同症状,主要包括:①膀胱出口梗阻症状;②局部浸润症状;③转移性症状。前列腺癌转移途径较多,其中35%的前列腺癌经血源传播,常见部位依次为髌骨(90%)、肺(46%)、肝(25%)、胸膜(21%)和肾上腺(13%)。此外,前列腺癌还可以经静脉回流到脊髓/脊柱静脉,形成脊柱扩散,最常见于腰椎

(下转 1625 页)

[通信作者] 封建立, E-mail: f-jianli@163.com
[优先出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140618.1743.008.html> (2014-06-18)