

临床研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.001964

短期同步添加小剂量生长激素在体外受精失败患者再次助孕中的应用研究

陈巧莉, 李竞宇, 刘卫卫, 张利宏, 赵玲, 李馥洁, 裴莉, 叶虹, 黄国宁

(重庆市妇幼保健院遗传与生殖研究所, 重庆 400013)

【摘要】目的:研究体外受精-胚胎移植(*in vitro* fertilization-embryo transfer, IVF-ET)助孕中同步添加小剂量生长激素(growth hormone, GH)对胚胎质量及助孕结局的影响。**方法:**以 2017 年 9 月至 2018 年 9 月,前一周期 IVF 助孕未获优质胚胎且未获成功妊娠的 76 例年轻患者(<37 岁)为研究对象,再次助孕采用与前一周期相同的促排卵方案,控制性超排卵(controlled ovarian hyperstimulation, COH)期间同步添加小剂量生长激素,采用自身对照,比较患者前后两次助孕的 Gn 时间、获卵数、获可移植胚胎数、优胚率、子宫内膜厚度、临床妊娠率、着床率和生化/临床妊娠流产率等。**结果:**患者添加 GH 后,促排卵 Gn 用药总量、停 Gn 日血清雌二醇水平、停 Gn 日子宫内膜厚度、获卵数、平均可移植胚胎数较前一周期均无统计学差异,无可移植胚胎周期取消率相似($P>0.05$),但添加 GH 后 Gn 用药天数缩短[(10.39 ± 1.38) d vs. (11.14 ± 1.78) d, $P=0.004$], 优质胚胎率(18.9% vs. 0.0%)、临床妊娠率[51.32%(39/76) vs. 7.89%(6/76)], 着床率[38.73%(55/142) vs. 5.00%(7/140)]均显著提高,差异有统计学意义($P<0.05$),生化/临床妊娠流产率无统计学差异($P>0.05$)。**结论:**无明确原因胚胎质量差的患者,再次 IVF 助孕同步添加小剂量 GH,能获得理想的助孕结局。

【关键词】体外受精-胚胎移植;生长激素;胚胎质量;助孕结局

【中图分类号】R698.2

【文献标志码】A

【收稿日期】2018-12-09

Clinical effect of short-term low-dose growth hormone supplementation in promoting pregnancy in patients with previous *in vitro* fertilization failure

Chen Qiaoli, Li Jingyu, Liu Weiwie, Zhang Lihong, Zhao Lin, Li Fuijie, Pei Li, Ye Hong, Huang Guoning
(Reproductive and Genetic Research Institute, Chongqing Maternal and Child Health care Hospital)

【Abstract】Objective: To investigate the effect of low-dose growth hormone (GH) supplementation on embryo quality and pregnancy outcome in patients undergoing *in vitro* fertilization-embryo transfer (IVF-ET). **Methods:** From September 2017 to September 2018, 76 young patients, aged <37 years, who did not obtain a high-quality embryo or achieve successful pregnancy after the previous cycle of IVF, were enrolled as subjects. In the subsequent cycle, the same regimen for ovulation induction was used, and low-dose GH was provided as a supplement during controlled ovarian hyperstimulation (COH). A self-control study was performed to compare duration of gonadotropin (Gn), number of retrieved oocytes, number of transplantable embryos, rate of high-quality embryos, endometrial thickness, clinical pregnancy rate, implantation rate, and chemical or clinical pregnancy loss rate between the two cycles. **Results:** After the supplementation with GH, there were no significant changes in the total amount of Gn, serum estradiol level on the day of Gn withdrawal, endometrial thickness on the day of Gn withdrawal, number of retrieved oocytes, average number of transplantable embryos, and rate of cancellation due to no transplantable embryos ($P>0.05$), but there was a significant reduction in the number of days of Gn administration (10.39 ± 1.38 vs. 11.14 ± 1.78, $P=0.004$) and significant increases in the rate of high-quality embryos (18.9% vs. 0.0%), clinical pregnancy rate [51.32%(39/76) vs. 7.89% (6/76)], and implantation rate [38.73%(55/142) vs. 5.00%(7/140)]. There were no significant change in chemical or clinical pregnancy loss rate ($P>0.05$). **Conclusion:** For patients with poor embryo quality of unknown causes, low-dose GH supplementation in the second cycle of IVF can help to achieve a good pregnancy outcome.

【Key words】*in vitro* fertilization-embryo transfer; growth hormone; embryo quality; pregnancy outcome

作者简介:陈巧莉, Email: wy_cql@163.com,

研究方向:辅助生殖。

通信作者:叶虹, Email: yehong1210@163.com。

基金项目:重庆市科卫联合医学科研资助项目(编号:2018MSXM030);

重庆市科卫联合资助项目(编号:2018MSXM034)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20190110.1444.006.html>

(2019-01-11)

随着体外受精-胚胎移植(*in vitro* fertilization-embryo transfer, IVF-ET)技术的发展,提高助孕成功率是临床亟待解决的重点,而胚胎的成功种植依赖于胚胎的质量和子宫内膜的容受性,最近大多数研究显示:生长激素(growth hormone, GH)能提高卵巢对促性腺激素的反应性,促进卵泡发育和成熟,改善卵子质量^[1],增加优质胚胎数^[2],增加子宫内膜腺体数量,改善子宫内膜组织形态和功能,有助于提高 IVF-ET 临床妊娠率^[3-4],但对 IVF-ET 助孕中不明原因胚胎质量差的患者添加 GH 能否改善其助孕结局,目前临床研究较少,缺乏数据的支持。本项目以该类患者为研究对象,观察再次助孕中,控制性超排卵(controlled ovarian hyperstimulation, COH)同步添加小剂量生长激素后能否改善胚胎质量,提高优质胚胎率及临床妊娠结局,探讨该方案在此类患者中的临床应用价值。

1 资料和方法

本研究以 2017 年 9 月至 2018 年 9 月在我院前次 IVF-ET 助孕周期未获优质胚胎且未获成功妊娠的患者为研究对象,为排除年龄及其他因素对胚胎质量及助孕结局的干扰,本研究仅纳入年龄<37 岁、18.5 kg/m²<BMI<24 kg/m²、无内分泌疾病及子宫内膜异位症、排卵正常、子宫正常、无男性不育因素且染色体正常的夫妇,排除微刺激方案、自然周期助孕、PGD/PGS 及生长激素禁忌证患者,共纳入 76 个助孕周期。采用前一助孕周期做自身对照。

1.1 促排卵方案

患者采用标准 GnRh- α 长方案或拮抗剂方案,具体操作如下:①长方案于前 1 个月经黄体中期查阴道 B 超及血清雌二醇、孕酮水平,若提示已排卵,给予短效 GnRh- α 0.05~0.1 mg/d \times 16~20 d(达必佳或达菲林)行垂体降调节,达降调标准后开始 Gn,予基因重组促卵泡激素(r-FSH)150~300 IU/d 促排卵,阴道 B 超监测卵泡发育,当有 3 个以上卵泡直径达到 18 mm 以上时,停用 Gn 当晚肌内注射 r-HCG 250 μ g(默克-雪兰诺,德国)扳机,36~37 h 后在阴道 B 超引导下穿刺取卵,经常规体外受精方法受精,培养 3 d 后移植 1、2 个胚胎,黄体支持采用阴道黄体酮栓 90 mg/d(默克-雪兰诺,德国)。②拮抗剂方案于月经第 2~3 天行血清性激素及阴道 B 超检查,若雌二醇、促卵泡刺激素、促黄体生成素、孕酮、泌乳素均处于基础状态且盆腔 B 超检查无异常,则开始 Gn,促排卵具体实施同长方案。再次助孕周期的促排卵方案、授精方式等均同前一周期。长方案患者于垂体降调节开始添加基因重组生长激素(赛增,长春金赛药业)2 IU/d;拮抗剂方案于 Gn 日

开始添加生长激素 3IU/d,均至扳机日停药。

1.2 胚胎评价及标准

按照 Peter 卵裂期胚胎评分标准,受精后第 3 天评为 I~II 级的胚胎为优质胚胎, I~III 级为可移植胚胎。

1.3 妊娠判定及随访

胚胎移植 14 d 进行血清 HCG 检测,血 HCG>5 IU/L 确定为生化妊娠者,于移植后 28 d 行 B 超检查:见孕囊判定为临床妊娠,临床妊娠随访至孕 12 周。

1.4 观察指标

采用自身对照,比较两组 Gn 时间、获卵数、获可移植胚胎数、优质胚胎率、临床妊娠率、着床率、生化/临床妊娠流产率和子宫内膜厚度等。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析,计量资料比较采用 *t* 检验,计数资料的比较采用卡方检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 COH 情况比较

患者添加 GH 后,平均促排卵 Gn 用药总量、停 Gn 日血清雌二醇水平、停 Gn 日子宫内膜厚度分别为(2586.61 \pm 823.44) IU、(2781.20 \pm 1304.02) pg/mL、(9.91 \pm 1.73) cm,较前一周期均无统计学差异($P>0.05$),获卵数、平均可移植胚胎数也无统计学差异,无可移植胚胎周期取消率相似($P>0.05$),但添加 GH 后平均 Gn 用药天数较前一周期缩短[(10.39 \pm 1.38) d vs. (11.14 \pm 1.78) d, $P=0.004$],优质胚胎率在添加 GH 后达 18.9%,着床率达 38.73%,均较前一周期均明显提高,差异有统计学意义($P=0.000$),见表 1。

2.2 助孕结局比较

添加 GH 前后,患者的临床妊娠率分别为 7.89%(6/76) vs. 51.32%(39/76);着床率:5.00%(7/140) vs. 38.73%(55/142),两周期比较,差异有统计学意义($P=0.000$)。添加 GH 周期临床妊娠 39 例中 1 例妊娠 1 个月流产,其余 38 例妊娠中;未使用 GH 周期临床妊娠 6 例中 1 例为异位妊娠,另 5 例均孕 3 个月内流产,但前后两周期生化/临床妊娠流产率比较均无统计学差异($P>0.05$),见表 2。

3 讨论

3.1 生长激素对卵子/胚胎质量及妊娠率的影响

GH 是由脑垂体分泌的一种单一肽链蛋白质激素,其合成与分泌主要受下丘脑产生的生长激素释放激素和生长激素抑制激素的双重调节,具有促进生长、调节代谢的作用。在 COH 中 GH 发挥了似“共促性腺激素”的角色:GH 一方面可以直接与卵巢上

表 1 应用 GH 前后两周期 COH 和配子情况比较

指标	第二周期 (GH 组)	第一周期 (未使用 GH 组)	统计量	P 值
周期数	76	76		
平均年龄 (岁)	33.05 ± 4.12	31.57 ± 4.05	2.476 ^b	0.016
Gn 天数	10.39 ± 1.38	11.14 ± 1.78	-2.979 ^b	0.003
Gn 量 (IU)	2 469.74 ± 705.26	2 586.61 ± 823.44	-0.793 ^b	0.430
停 Gn 日 E2 (pg/mL)	2 781.20 ± 1 304.02	3 201.84 ± 1 406.03	-1.881 ^b	0.064
停 Gn 日子宫内膜厚度 (cm)	9.91 ± 1.73	9.75 ± 1.71	1.026 ^b	0.308
获卵数	10.37 ± 5.56	3 201.84 ± 1 406.03	0.276 ^b	0.784
MII 卵数	9.45 ± 4.94	8.82 ± 5.08	0.353 ^b	0.725
平均可移植胚胎数	2.89 ± 1.80	2.46 ± 1.62	1.444 ^b	0.153
优质胚胎率 (% , n/n) ^a	18.89 (41/217)	0 (0/177)	35.328 ^c	0.000
无可移植胚胎周期率 (% , n/n)	1.31 (1/76)	3.94 (3/76)	0.257 ^c	0.612

注: a 优质胚胎率 = 受精第 3 天胚胎数 (I - II) / 正常受精的卵裂胚胎数; b: t 值; c: χ^2 值

表 2 应用 GH 前后两周期妊娠结局分析

指标	第二周期 (GH 组)	第一周期 (未使用 GH 组)	统计量	P 值
周期数	76	76		
移植胚胎数	1.86 ± 0.44	1.84 ± 0.54	-0.374 ^b	0.709
临床妊娠率 (% , n/n) ^a	51.32 (39/76)	7.89 (6/76)	32.326 ^c	0.000
生化妊娠流产率 (% , n/n)	9.21 (7/76)	13.16 (10/76)	0.265 ^c	0.608
临床妊娠流产率 (% , n/n)	1.32 (1/76)	6.58 (5/76)	1.562 ^c	0.209
着床率 (% , n/n)	38.73 (55/142)	5.00 (7/140)	44.822 ^c	0.000

注: a: 临床妊娠率 = 临床妊娠周期数 / 采卵周期数; b: t 值; c: χ^2 值

的 GH 受体结合, 促进卵巢雄性激素和芳香化酶的合成, 另一方面可以经过循环系统到达肝脏, 刺激 IGF-1 的分泌, 增加黄体生成素 (luteinizing hormone, LH) 和卵泡刺激素 (follicle-stimulating hormone, FSH) 的效应, 从而间接增强 Gn, 促进卵泡膜细胞、颗粒细胞增生和甾体激素的生成, 促进卵泡发育的作用。同时 GH 还能增加卵泡颗粒细胞上 FSH、LH 受体的数量, 提高卵巢对 Gn 的敏感性, 从而促进早期卵泡的生长发育和卵母细胞成熟, 提高卵子质量进而改善胚胎质量, 提高妊娠率^[6]。1 项纳入 1 117 名患者的大样本量回顾性研究结果显示: 在 IVF 长方案助孕患者中添加 GH 可以显著提高优质胚胎率、临床妊娠率和着床率^[7]。2018 年有研究报告: 促排卵中, 卵巢功能减退的患者添加 GH 后虽然总的获卵数没有变化, 但获成熟卵率明显增加。作者认为: 相对于增加获卵数而言, 生长激素更能改善卵子质量^[8]。近期的几项研究发现: 线粒体功能是影响卵母细胞质量和胚胎发育潜能的主要因素^[9], COH 中添加 GH 虽然不能促进卵母细胞内线粒体的形成和(或)生长, 但可以通过激活线粒体三羧酸循环中的各种蛋白,

从而增强线粒体功能, 改善卵母细胞线粒体的功能提高卵子质量^[1]。GH 的临床应用中, 特别是最近几年的相关研究结果展示了更多的证据证明 GH 对卵母细胞及胚胎质量的改善。本研究结果也显示: 第一周期未获优质胚胎的患者, 在第二周期添加 GH 后, 优胚率及着床率均显著提高。同时, 本研究还发现添加 GH 后 Gn 用药天数缩短 [(10.39 ± 1.38) d, $P=0.000$], 估计与 GH 提高卵巢对 Gn 的敏感性、促进卵泡的生长发育有关。子宫内膜是决定胚胎着床的关键因素之一, 目前已有基础和临床实验研究表明生长激素在子宫内膜的发育以及胚胎着床中均扮演重要角色: Noel 等^[10]给羊注射 GH 后, 观察到子宫内膜腺体数量增加、分泌功能增强、子宫乳蛋白分泌增加、子宫内膜组织形态和功能得到改善。Altmae 等^[11]的随机对照研究显示, GH 应用于反复着床失败的患者, 能明显增加子宫内膜厚度, 提高子宫内膜容受性, 临床妊娠率和活产率均明显升高。本研究结果虽未观察到使用 GH 后子宫内膜厚度的增加, 但妊娠率的显著提高也提示 GH 可能使内膜容受性处于理想状态。

3.2 生长激素使用时间及其有效剂量

随着对生殖生理各环节的深入研究,人们已经认识到:GH 在原始卵泡募集至小窦卵泡发育中均发挥重要作用^[12],因此在促排卵周期之前的几周甚至数月(小窦卵泡生长发育对 GH 敏感期)开始使用,能募集到更多的卵泡,从而提高获卵数量及质量。目前大多数 IVF 中心均在 COH 前 4~12 周开始添加 GH,单次注射剂量从 1~12 IU 均有临床报道(大部分为 4~6 IU/d)^[1,7]。我们知道:过大剂量的生长激素可能诱导胰岛素抵抗和高血糖,也可能影响甲状腺功能以及出现眼睑水肿、下肢水肿、腰部疼痛等副作用^[3],因此在疗效相当的情况下,小剂量生长激素能增加用药的安全性,更具一定的临床优势。有研究表明:生长激素缺乏的成年妇女每天补充 0.4~0.5 IU 的 GH,在没有副作用的情况下,可以将 IGF-1 水平维持正常^[13];Burger 等^[14]对接受促排卵的妇女分别给予 4、12、24 IU 3 种不同 GH 剂量隔日注射,发现在减少 Gn 用量方面 3 种剂量效果相似,提示小剂量 GH 同样能有效增强卵巢反应性。从本研究结果看:COH 同期添加 2~3 IU/d 的 GH 已经能有效提高优质胚胎率、临床妊娠率和着床率,但此剂量是否为最佳有效剂量尚需要通过进一步的基础及临床研究来帮助探明。但添加 GH 后,患者 Gn 用药总量、获卵数、平均可移植胚胎数较无明显变化,是否因使用 GH 的剂量小和时间短,尚未能影响卵巢对 Gn 的反应性及卵泡招募,而只是改善现有卵母胞的质量有关还有待进一步探讨。

总之,本研究结果显示:对既往 IVF 周期获卵相对充足、不明原因胚胎质量差的年轻患者,再次助孕可采用 COH 同步添加小剂量 GH 的方案,以期改善胚胎质量、提高临床妊娠率,同时减轻患者经济负担。

参 考 文 献

[1] Weall BM, Al-Sameria S, Conceicao J, et al. A direct action for GH in improvement of oocyte quality in poor-responder patients[J]. *Reproduction*, 2015, 149 (2): 147-154.

[2] Lattes K, Brassesco M, Gomez M, et al. Low-dose growth hormone supplementation increases clinical pregnancy rate in poor responders undergoing in vitro fertilization[J]. *Gynecological Endocrinology*, 2015, 31(7): 565-568.

[3] Araujo VR, Gastal MO, Wischral A, et al. In vitro development of

bovine secondary follicles in two and three-dimensional culture systems using vascular endothelial growth factor, insulin-like growth factor-1, and growth hormone[J]. *Theriogenology*, 2014, 82(9): 1246-1253.

[4] Drakopoulos P, Pluchino N, Bischof P, et al. Effect of growth hormone on endometrial thickness and fertility outcome in the treatment of women with panhypopituitarism: a case report[J]. *J Reprod Med*, 2016, 61(1-2): 78-82.

[5] Tanaka T, Yokoya S, Fujieda K, et al. Efficacy and safety of up to 8 years of long-term growth hormone treatment in short children born small for gestational age in Japan: analysis of the subpopulation according to the Japanese guideline[J]. *Clin Pediatr Endocrinol*, 2012, 21(4): 57-68.

[6] Regan SL, Knight PG, Yovich JL, et al. Growth hormone during *in vitro* fertilization in older women modulates the density of receptors in granulosa cells, with improved pregnancy outcomes[J]. *Fertility and Sterility*, 2018, 110(7): 1298-1310.

[7] Du XF, Yang XH, Li J, et al. Growth hormone co-treatment within a GnRH agonist long protocol improves implantation and pregnancy rates in patients undergoing IVF-ET[J]. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 2016, 294(4): 877-883.

[8] Choe SA, Kim MJ, Lee HJ, et al. Increased proportion of mature oocytes with sustained-release growth hormone treatment in poor responders: a prospective randomized controlled study[J]. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 2018, 297(3): 791-796.

[9] Eichenlaub-Ritter U, Wiczorek M, Luke S, et al. Age related changes in mitochondrial function and new approaches to study redox regulation in mammalian oocytes in response to age or maturation conditions[J]. *Mitochondrion*, 2011, 11(5): 783-796.

[10] Noel S, Herman A, Gray CA, et al. Ovine placental lactogen specifically binds to endometrial glands of the ovine uterus[J]. *Biol Reprod*, 2003, 68(3): 772-780.

[11] Altmae S, Mendoza-Tesarik R, Mendoza-C, et al. Effect of growth hormone on uterine receptivity in women with repeated implantation failure in an oocyte donation program: a randomized controlled trial[J]. *J Endocr Soc*, 2017, 2(1): 96-105.

[12] Kolodziejczyk J, Gregoraszuk EL, Leibovich H, et al. Different action of ovine GH on porcine theca and granulosa cells proliferation and insulin-like growth factors I- and II-stimulated estradiol production[J]. *Reprod Biol*, 2001, 1(1): 33-41.

[13] Ahmad AM, Hopkins MT, Thomas J, et al. Body composition and quality of life in adults with growth hormone deficiency: the effects of low-dose growth hormone replacement [J]. *Clin Endocrinol*, 2001, 54(6): 709-717.

[14] Burger HG, Kovacs GT, Polson DM, et al. Ovarian sensitization to gonadotropins by human growth hormone. Persistence of the effect beyond the treated cycle[J]. *Clinical Endocrinology*, 1991, 35(2): 119-122.

(责任编辑:唐秋娟)