

# HCG 注射日血清雌孕激素对试管婴儿妊娠结局的影响

周丹妮, 杨菁, 吴庚香, 李赛姣, 余楠, 赵萌, 文妍琪

(武汉大学人民医院生殖医学中心, 武汉 430060)

**[摘要]** 探究体外受精-胚胎移植/单精子卵泡浆内注射-胚胎移植(IVF/ICSI)患者注射人绒毛膜促性腺激素(HCG)日血清雌孕激素水平对妊娠结局的影响。回顾分析武汉大学人民医院生殖医学中心2011年9月—2012年9月符合相关条件行IVF的新鲜周期患者1 270例,按血清孕酮值将其分为两组进行比较,低孕酮组HCG日血清孕酮值 $<2.0$  pg/mL,高孕酮组HCG日血清孕酮值 $\geq 2.0$  pg/mL;再按照孕酮与雌二醇比值( $P/E_2$ )分为两组,以0.6作为 $P/E_2$ 切点。比较两组间的女方年龄、不孕年限、基础卵泡刺激素(FSH)值、促性腺激素(Gn)天数、Gn用量、获卵数、MII卵数、受精数、卵裂数、优胚数、移植数、 $E_2$ 值、临床妊娠率、胚胎着床率。高孕酮组Gn天数、Gn用量、获卵数、MII数、卵裂数、 $E_2$ 值增加,但临床妊娠率、胚胎着床率减少;高 $P/E_2$ 比值组女方年龄、基础FSH、Gn天数、Gn用量、获卵数、受精数、优胚数、 $P$ 值均增加,妊娠结局无明显差异。HCG注射日血清孕酮水平过高会降低临床妊娠率及胚胎着床率。

**[关键词]** 孕酮值;HCG日;IVF/ICSI新鲜周期;临床妊娠率

**[中图分类号]** R715.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1009-1742(2014)05-0079-06

## 1 前言

试管婴儿是治疗不孕症、提高育龄妇女妊娠率的重要手段,近年来虽然辅助生殖技术进展迅猛,但患者妊娠率仍徘徊在40%左右<sup>[1]</sup>。妊娠结局失败与患者年龄、卵巢反应性、胚胎质量、子宫内膜容受性均有重要相关性。改善子宫内膜容受性是提升妊娠率的关键因素,而子宫内膜容受性与着床窗期血清雌孕激素水平有关;国外文献中多采用孕酮水平或孕酮与雌二醇比值( $P/E_2$ )预测妊娠结局<sup>[2,3]</sup>。本研究回顾了2011年9月—2012年9月共1 270例新鲜体外受精-胚胎移植/单精子卵泡浆内注射-胚胎移植(IVF/ICSI)周期患者的临床资料,旨在探索注射人绒毛膜促性腺激素(HCG)日血清雌孕激素与患者妊娠结局的关系。

## 2 资料与方法

### 2.1 研究对象

本中心回顾了2011年9月—2012年9月实施IVF/ICSI新鲜周期助孕治疗的患者共1 270例(排除因卵巢过度刺激、发热等其他原因行全胚冷冻或取消移植周期),其中IVF共834例,ICSI共436例。患者平均年龄为 $(31.30\pm 4.56)$ 岁。不孕因素包括:盆腔及输卵管因素(63.91%)、男方因素(18.64%)、子宫内膜异位症(12.01%)、卵巢储备能力低下(4.17%)及其他因素(1.27%)。

### 2.2 研究方法

#### 2.2.1 资料收集

在控制性超促排卵治疗前,收集患者各项指标(如女方年龄、不孕年限、不孕原因)。记录周期中

**[收稿日期]** 2014-03-31

**[作者简介]** 杨菁,1958年出生,女,湖北武汉市人,教授,博士生导师,研究方向为生殖内分泌;E-mail: dryangqing@hotmail.com

促性腺激素(Gn)用量及时间,于注射HCG日测定患者血清孕酮及雌二醇水平。记录获卵数、受精数、卵裂数、优质胚胎数目、单次移植胚胎数,移植胚胎后14 d查血HCG水平,若为阳性则定期查血HCG、孕酮至移植后30 d行超声实时显像检查孕囊数。

### 2.2.2 IVF/ICSI方案

本研究中1 270例IVF/ICSI新鲜周期常规采用长方案进行垂体降调,子宫内膜异位症患者采用超长方案降调,卵巢储备功能较差者采用短方案降调节。长方案降调为月经周期第21天(D21)开始使用GnRH-a(达必佳,达菲林)0.1 mg/d皮下注射,达降调标准后改为0.05 mg/d;对于月经周期不规律者,采用口服避孕药(达英35)行预处理,口服1~3个周期,于D21开始给予GnRH-a 0.05 mg/d皮下注射。达到降调标准后,根据患者年龄及窦卵泡数,基础卵泡刺激素(FSH)给予重组促卵泡素(果纳芬)150~300 U/d,应用5 d后根据卵泡发育情况及血清激素水平调整用量,第7~9天应用人绝经期促性腺激素(丽珠医药)75~150 U,当患者双侧卵巢中有多个卵泡平均直径 $\geq 16$  mm时,于当晚肌注HCG 8 000~10 000 U,并于34~36 h后在本中心实验室行阴道B超监测下采卵,于4~6 h内进行体外受精,患者采卵后收住入院,于2~3 d后行胚胎移植。至采卵日起患者每日肌注黄体酮80 mg,移植后第12天根据查血HCG结果酌情减少黄体酮用量,在怀孕3个月时停用黄体酮。移植后30 d行阴道B超检查。B超下见孕囊,胎芽、胎心可确定为临床妊娠。短方案于月经第2天开始肌注0.05 mg/d的GnRH-a,降调节直至HCG日,月经第3天促排卵,促排卵药物用法同长方案。

### 2.2.3 激素水平测定

采用化学发光免疫分析测定血清中FSH、黄体生产素(LH)、雌二醇( $E_2$ )、P及HCG含量(ADIVACentaur,美国)。

### 2.2.4 统计方法

采用SPSS 19.0统计软件进行分析;概率数据比较采用四格表 $\chi^2$ 检验,计量资料采用 $t$ 检验。

## 3 结果

### 3.1 不同孕酮水平与妊娠结局的关系

本研究中将HCG日孕酮值划分为以下六

组: $<0.5$  pg/mL,  $0.5 \sim 1.0$  pg/mL,  $1.0 \sim 1.5$  pg/mL,  $1.5 \sim 2.0$  pg/mL,  $2.0 \sim 2.5$  pg/mL以及 $\geq 2.5$  pg/mL组。比较不同血清孕酮水平患者的临床妊娠率及着床率,结果显示当血清P值 $>$ 于2 ng/mL时,新鲜周期的临床妊娠率及着床率呈下降趋势(见图1)。

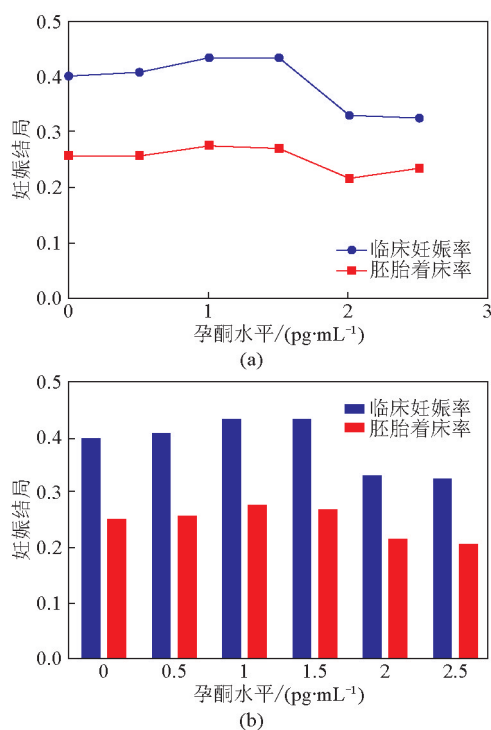


图1 孕酮水平与妊娠结局的关系

Fig. 1 The relationship between serum progesterone levels and pregnancy outcome

### 3.2 高孕酮组与低孕酮组各项指标的比较

以P值2.0 ng/mL作为切点,其中高孕酮组129例、低孕酮组1 141例。比较两组间的女方年龄、不孕年限、基础FSH值、Gn天数、Gn用量、获卵数、MII卵数、受精数、卵裂数、优胚数、移植数、 $E_2$ 值、临床妊娠率、胚胎着床率。结果如表1所示,孕酮值升高与Gn天数、Gn用量、获卵数、MII数、卵裂数、 $E_2$ 值呈正相关,但与临床妊娠率、胚胎着床率负相关。

结果显示,随着血清孕酮的升高,临床妊娠率、胚胎着床率显著下降。孕酮的升高可能与Gn用量有关,Gn用量越多,新鲜周期患者募集到的卵泡也越多,导致血清雌二醇、孕酮水平增加,获卵数增加。从而受精数、MII卵子数、卵裂数均增加,但值得关注的是,高孕酮组虽获卵数增加,但其优质胚

胎数目无明显变化,且妊娠率、着床率均降低。

表1 新鲜IVF/ICSI周期中高孕酮组与低孕酮组  
相关指标的比较

Table 1 Related indicators in high progesterone group  
compared with low progesterone group of  
fresh IVF/ICSI cycle

项目	低孕酮组	高孕酮组	P值
不孕年限	5.05±3.408	5.11±3.567	0.854
女方年龄	31.19±4.254	32.31±4.540	0.006
基础FSH	7.058 1±2.221 8	6.893 9±2.537 7	0.492
Gn天数	11.79±2.150	12.58±2.170	<0.001
Gn用量	33.82±16.19	39.24±16.09	0.001
获卵数	11.57±6.121	14.22±6.963	<0.001
受精数	8.06±5.111	9.89±8.06	0.003
MII数	6.92±4.479	8.40±5.930	0.008
卵裂数	7.91±5.061	9.70±6.454	0.004
优胚数	4.45±3.527	5.18±4.773	0.104
移植数	2.13±0.577	2.09±0.500	0.408
$E_2$ 值/(pg·mL <sup>-1</sup> )	4 509.10± 2 600.61	6 053.52± 3 108.31	<0.001
临床妊娠率/%	42.07	32.56	0.018
胚胎着床率/%	26.60	21.34	0.024

### 3.3 孕酮/雌二醇与妊娠结局的关系

因为孕酮(分子质量314.46 Da)水平与获卵数、雌二醇(分子质量272.38 Da)水平正相关,采用HCG注射日孕酮与雌二醇比值( $P/E_2$ )来预测妊娠结局,本研究中将HCG日孕酮/雌二醇划分为<0.2, 0.2~0.4, 0.4~0.6, 0.6~0.8, 0.8~1.0以及≥1.0组。比较不同血清孕酮水平患者的临床妊娠率及着床率,结果显示当 $P/E_2$ 大于0.6时,新鲜周期的临床妊娠率及着床率呈下降趋势(见图2)。

### 3.4 孕酮/雌二醇分组各项指标的比较

以0.6作为 $P/E_2$ 切点,其中 $P/E_2 \geq 0.6$ 组91例, $P/E_2 < 0.6$ 组1179例。比较两组间的女方年龄、不孕年限、基础FSH值、Gn天数、Gn用量、获卵数、MII卵数、受精数、卵裂数、优胚数、移植数、 $P$ 值、 $E_2$ 值、临床妊娠率、胚胎着床率。结果如表2所示,孕酮/雌二醇升高与女方年龄、基础FSH、Gn天数、Gn用量、获卵数、受精数、优胚数、 $P$ 值呈正相关,但与临床妊娠率、胚胎着床率无明显相关性。

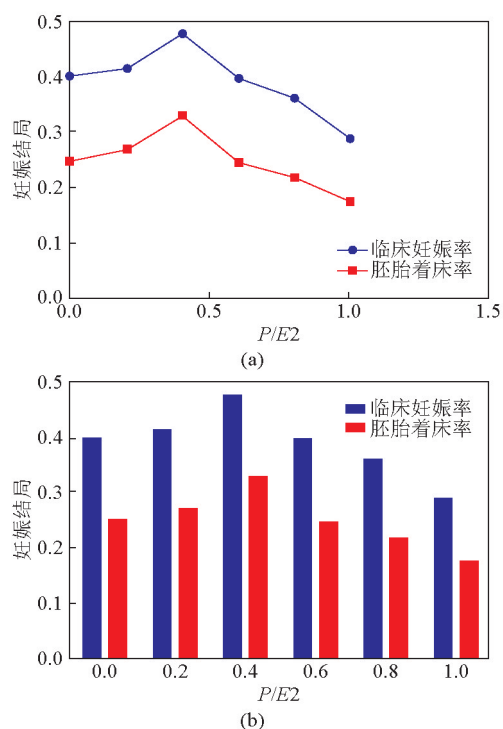


图2 孕酮/雌二醇与妊娠结局的关系

Fig. 2 The relationship between serum progesterone/  
estradiol and pregnancy outcome

表2 新鲜IVF/ICSI周期孕酮/雌二醇分组相关指标的比较  
Table 2 Indicators in high progesterone/estradiol group  
and low group in fresh IVF/ICSI cycles

项目	$P/E_2 < 0.6$	$P/E_2 \geq 0.6$	P值
不孕年限	5.089±3.441 3	4.696±3.160 5	0.298
女方年龄	31.22±4.311	32.39±3.911	0.011
基础FSH	6.824 6±2.314 78	7.998 3±4.144 13	0.009
Gn天数	11.80±2.077	12.82±2.920	<0.001
Gn用量	33.23±15.322	48.04±20.992	<0.001
获卵数	12.21±6.175	6.99±5.149	<0.001
受精数	8.49±5.259	4.95±4.453	<0.001
MII数	7.38±4.670	4.30±3.871	<0.001
卵裂数	8.34±5.208	4.84±4.443	<0.001
优胚数	4.64±3.661	2.92±3.402	<0.001
移植数	2.13±0.572	2.12±0.554	0.910
$P$ 值/(ng·mL <sup>-1</sup> )	1.10±0.580	2.70±4.033	<0.001
$E_2$ 值/(pg·mL <sup>-1</sup> )	4 875.04± 2 638.166 7	1871.48± 1 582.092	<0.001
临床妊娠率/%	42.53	35.16	0.104
胚胎着床率/%	26.48	21.47	0.213

结果显示,孕酮/雌二醇偏高,可能是由于女方年龄、基础FSH高,导致促排卵效果不明显,故而Gn剂量增加,用药周期较长,募集的卵泡数目也明显低于另一组。导致产生的雌激素减少,受精数、MII数、卵裂数、优胚数均减少。但由于新鲜周期两组间的移植胚胎数目相近,新鲜周期的临床妊娠率以及胚胎着床率无统计学差异。

## 4 讨论

### 4.1 HCG日血清孕酮来源

Fleming等<sup>[4]</sup>的研究认为,IVF周期中孕酮的分泌主要与卵泡数、FSH对颗粒细胞的刺激以及LH对卵泡膜细胞作用(促进孕酮向雄激素和雌激素转化)有关。而 $P/E_2$ 比值的升高则是卵巢储备功能下降的表现,卵泡发育不良,多个卵泡同时发育,产生过多的孕酮<sup>[5]</sup>。根据两细胞-两促性腺激素理论,孕酮作为雌、雄激素的中间产物,在FSH、LH作用下,通过颗粒细胞及卵泡膜转化为雌激素、雄激素。在普通人群中,由于早发LH峰可能导致血清孕酮水平提前升高。但在IVF周期中由于GnRH-a的降调节作用,LH峰很少出现,故而HCG日孕酮升高与LH关联不大。本研究显示:HCG日孕酮水平与获卵数、 $E_2$ 值有明显相关性。可推测HCG日提前升高的 $P$ 值可能与促排卵过程中多卵泡同时发育有关。而Kiliçdag等<sup>[6]</sup>的研究也认为HCG日孕酮水平的升高与卵泡数目有关,卵子-卵丘复合体增多,颗粒细胞作用不断累积致使孕酮升高。

### 4.2 界值的设定

目前大部分关于HCG日孕酮水平的文献是用受试者工作特征(ROC)曲线来探寻其与妊娠结局的关系,但这两者之间并非线性关系。ROC曲线是反映敏感性和特异性连续变量的综合指标。本研究中所采用的 $P$ 值为治疗时的测量值。因此,批间测定以及批内测定存在变异系数,不能得出相应 $P$ 值的真阳性率、假阳性率,故而无法采用ROC曲线决定界值。此外,消除批间测定以及批内测定的变异系数,需集中所有患者的血清再次统一检测 $P$ 值,但临床上还需根据当时所测得的结果调整治疗方案,故其可行性小。因而认为ROC曲线这一评估方法并不适合本研究。

为了探索孕酮水平、 $P/E_2$ 的界值,本研究将孕酮水平、 $P/E_2$ 分为多个区间,分别统计不同孕酮水平、 $P/E_2$ 区间临床妊娠率与胚胎着床率,观察趋势设定

界值。

### 4.3 HCG日雌孕激素水平对妊娠结局的影响

目前HCG日血清雌孕激素水平是否影响IVF/ICSI的妊娠结局一直倍受争议。有研究认为孕酮升高负面影响IVF/ICSI妊娠结局<sup>[3]</sup>,但也有报道其对IVF/ICSI结局无不良影响<sup>[7]</sup>,甚至有孕酮升高增加IVF妊娠率的报道<sup>[8]</sup>。还有研究认为 $P/E_2$ 与孕酮水平预测妊娠结局更为可靠<sup>[9]</sup>。

由于近年来试管婴儿用药方案的不断改进,本研究选取一年中新鲜周期的患者,减少了用药方案差异性,是首个关于HCG日血清雌孕激素水平的大样本研究。结果显示,HCG日血清孕酮升高可能与Gn用量有关,获卵数、受精数、MII卵子数、卵裂数增加,但临床妊娠率、胚胎着床率显著下降。高孕酮组虽获卵数增加,但其优质胚胎数目无明显变化,且妊娠率、着床率均降低。推测因Gn用量而导致的高孕酮虽能提升获卵数,但并不能真正有效提高卵子的质量,可能还影响子宫内膜容受性,导致胚胎着床率下降。而孕酮/雌二醇偏高与女方年龄、基础FSH高、卵巢储备功能下降有关。故而促排卵效果不明显,所需的Gn剂量增加,用药周期延长,募集的卵泡数目减少。导致产生的雌激素减少,受精数、MII数、卵裂数、优胚数均减少。但由于新鲜周期两组间的移植胚胎数目相近,新鲜周期的临床妊娠率以及胚胎着床率无统计学差异,故 $P/E_2$ 不能作为预测IVF周期妊娠结局的指标。 $P/E_2$ 升高是否影响妊娠结局还需进一步的大样本随机对照研究。

胚胎种植成功最关键的因素之一是子宫内膜的容受性。目前的研究认为,雌孕激素水平及其在子宫内膜的受体共同调节子宫内膜的同步发育以及容受性<sup>[10]</sup>。Melo等<sup>[11]</sup>关于赠卵的研究发现,HCG日血清孕酮水平升高,并不影响供卵者的卵母细胞受精率及卵裂率,而受卵者的种植率、临床妊娠率也无统计学差异,提示孕酮水平升高对卵母细胞质量影响不明显,而影响子宫内膜容受性。Li等<sup>[12]</sup>的研究发现,HCG日 $P$ 值 $\geq 1.25$  ng/mL时,使子宫内膜提前转化为分泌期内膜,导致种植窗改变而影响子宫内膜对胚胎的容受性,导致妊娠结局改变。Nikas等<sup>[13]</sup>在电镜下观察发现,IVF周期中晚卵泡期的血清孕酮水平提前升高使子宫内膜的胞饮突过早形成,从而提前关闭种植窗,降低胚胎种植率。Labarta等<sup>[14]</sup>的研究表明,HCG日血清孕酮水平升高导致内膜基因表达的显著改变。也有研究提示新鲜周

期内膜容受性的改变与高 $E_2$ 水平、孕激素以及雌孕激素的平衡有关<sup>[15]</sup>。

## 5 结语

综上所述,本研究显示HCG注射日血清孕酮水平过高会降低临床妊娠率及胚胎着床率,而孕酮值2.0 ng/mL为其界值点。而IVF/ICSI患者的临床妊娠率以及胚胎种植率还受到多方面因素的影响,且不同患者血清激素水平的变化也存在个体差异性,因此,HCG日高雌、孕激素水平与妊娠结局相关性及其对胚胎着床的影响机制仍有待进一步研究。

为了避免HCG日高孕酮水平对妊娠结局的潜在影响,对于HCG日高孕酮水平的患者可取消新鲜周期,行全胚冷冻。或结合B超监测卵泡生长情况,提前注射HCG、使用糖皮质激素来改善子宫内膜的种植环境。

## 参考文献

- [1] Afatoonian A, Oskouian H, Ahmadi S, et al. Can fresh embryo transfers be replaced by cryopreserved-thawed embryo transfers in assisted reproductive cycles? A randomized controlled trial [J]. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 2010, 27(7): 357-363.
- [2] Cetinkaya E S, Berker B, Aytac R, et al. The value of the progesterone-to-estradiol ratio on the day of HCG administration in predicting ongoing pregnancy and live birth rates in normore-sponders undergoing GnRH antagonist cycles [J]. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 2013, 170(2): 452-457.
- [3] Papanikolaou E G, Pados G, Grimbizis G, et al. GnRH-agonist versus GnRH-antagonist IVF cycles: Is the reproductive outcome affected by the incidence of progesterone elevation on the day of HCG triggering? A randomized prospective study [J]. *Human Reproduction*, 2012, 27(6): 1822-1828.
- [4] Fleming R, Jenkins J, Julian Jenkins, et al. The source and implications of progesterone rise during the follicular phase of assisted reproduction cycles [J]. *Reproductive Biomedicine Online*, 2010, 21(4): 446-449.
- [5] Younis J S, Simon A, Laufer N. Endometrial preparation: Lessons from oocyte donation [J]. *Fertility and Sterility*, 1996, 66(6): 873-884.
- [6] Kiliçdag E B, Haydardedeoglu B, Cok T, et al. Premature progesterone elevation impairs implantation and live birth rates in GnRH-agonist IVF/ICSI cycles [J]. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 2010, 281(4): 747-752.
- [7] Martínez F, Coroleu B, Clua E, et al. Serum progesterone concentrations on the day of HCG administration cannot predict pregnancy in assisted reproduction cycles [J]. *Reproductive Biomedicine Online*, 2004, 8(2): 183-190.
- [8] Doldi N, Marsiglio E, Destefani A, et al. Elevated serum progesterone on the day of HCG administration in IVF is associated with a higher pregnancy rate in polycystic ovary syndrome [J]. *Human Reproduction*, 1999, 14(3): 601-605.
- [9] Lee F K, Lai T H, Lin T K, et al. Relationship of progesterone/estradiol ratio on day of hCG administration and pregnancy outcomes in high responders undergoing in vitro fertilization [J]. *Fertility and Sterility*, 2009, 92(4): 1284-1289.
- [10] Ozturk S, Demir R. Particular functions of estrogen and progesterone in establishment of uterine receptivity and embryo implantation [J]. *Histol Histopathol*, 2010, 25: 1215-1228.
- [11] Melo M A B, Meseguer M, Garrido N, et al. The significance of premature luteinization in an oocyte-donation programme [J]. *Human Reproduction*, 2006, 21(6): 1503-1507.
- [12] Li R, Qiao J, Wang L, et al. Serum progesterone concentration on day of HCG administration and IVF outcome [J]. *Reproductive Biomedicine Online*, 2008, 16(5): 627-631.
- [13] Nikas G, Makrigiannakis A. Endometrial pinopodes and uterine receptivity [J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2003, 997(1): 120-123.
- [14] Labarta E, Martínez-Conejero J A, Alamá P, et al. Endometrial receptivity is affected in women with high circulating progesterone levels at the end of the follicular phase: A functional genomics analysis [J]. *Human Reproduction*, 2011, 26(7): 1813-1825.
- [15] Macklon N S, van der Gaast M H, Hamilton A, et al. The impact of ovarian stimulation with recombinant FSH in combination with GnRH antagonist on the endometrial transcriptome in the window of implantation [J]. *Reproductive Sciences*, 2008, 15(4): 357-365.

# The effect of HCG-day serum progesterone and estradiol concentrations on pregnancy outcomes in IVF/ICSI-ET cycles

Zhou Danni, Yang Jing, Wu Gengxiang, Li Saijiao, Yu Nan, Zhao Meng, Wen Yanqi

(Reproductive Medicine Center in Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China)

**[Abstract]** To evaluate the effect of serum progesterone and estradiol concentrations on day of injecting human chorionic gonadotropin(HCG) on the pregnancy outcomes in the invitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection (IVF/ICSI) patients. From Sep. 2011 to Sep. 2012, 1 270 fresh IVF cycles who comply with relevant conditions were analyzed retrospectively in Reproductive Medicine Center in Renmin Hospital of Wuhan University. And according to the serum progesterone value, the patients are divided into two groups, One group is the value of serum progesterone which is less than 2.0 pg/mL on the day of injecting HCG, the other is the value of serum progesterone which is equal or greater than 2.0 pg/mL on the day of injecting HCG. Then in terms of the ratio about progesterone and estradiol ( $P/E_2$ ), the patients are divided into two groups with 0.6 as  $P/E_2$  cut-off point. Compared women's age, duration of infertility, basic follicle stimulating hormone (FSH) values, the total doses of gonadotropin, the duration of stimulation, number of oocytes retrieved, number of MII oocytes, number of fertilization, number of cleavage, number of high qualified embryo, number of embryos transferred per cycle, estradiol level on the HCG day, clinical pregnancy rate (%), embryo implantation rate (%). The higher concentration of progesterone group had more total doses of gonadotropin, duration of stimulation, number of oocytes retrieved, number of MII oocytes, number of cleavage,  $E_2$  value, but the clinical pregnancy rate, embryo implantation rate were statistically decrease. There was an increase in the age of female patient, basic FSH values and total doses of gonadotropin, duration of stimulation, number of oocytes retrieved, number of fertilization, number of high qualified embryo,  $P$  values in higher  $P/E_2$  ratio group. However, there was no obvious difference was found between the pregnancy outcome. Conclusion on day of injecting HCG, serum progesterone levels can reduce clinical pregnancy rates and embryo implantation rate.

**[Key words]** the value of serum progesterone; on day of injecting HCG; fresh IVF/ICSI cycles; clinical pregnancy rate