DOI:10.16016/j.2097-0927.202107177

正常反应人群拮抗剂方案与激动剂长方案的临床特点及结局比较

张 争,蒋承芳,李玉艳,何 畏 400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)第一附属医院妇产科,生殖医学中心

[**摘要**] **目的** 分析比较体外授精-胚胎移植(*in vitro* fertilization-embryo transfer, IVF-ET)治疗中采用促性腺激素释放激素(gonadotrophin releasing hormone, GnRH)拮抗剂方案(简称拮抗剂方案)或激动剂长方案(简称长方案)的正常反应人群 IVF-ET 周期的临床特点及结局。**方法** 收集 2017 年 1 月至 2019 年 3 月我中心接受 IVF-ET 治疗采用拮抗剂或长方案的卵巢正常反应患者的临床资料,根据新鲜周期的方案及是否移植分为 3 组,A 组:拮抗剂未移植组(128 例),B 组:拮抗剂移植组(138 例),C 组:长方案移植组(720 例);同时,进一步统计拮抗剂未移植组患者第 1 次冷冻胚胎移植(frozen embryo transfer,FET)转化日内膜厚度及临床结局,作为 D 组,比较拮抗剂方案与长方案在正常反应人群中应用的临床特点及结局。**结果** ①A、B 组使用促性腺激素(gonadotropin, Gn)时间及用量均<C 组,其中 Gn 时间差异均有统计学意义($P<0.05$),Gn 用量 A 组及 C 组间差异有统计学意义($P<0.05$);②A、B 组绒毛膜促性腺激素(chorionic gonadotropin,HCG)日血清雌二醇(estradiol, E2)水平均低于 C 组($P<0.05$);HCG 日内膜 C 组最厚,D 组黄体转化日内膜均低于 A、B、C 3 组,其中 A 组与 B 组、C 组及 D 组间的差异均有统计学意义($P<0.05$);③A、B 组获卵数均<C 组($P<0.05$),A、B 组及 C 组间成熟卵(metaphase Ⅱ,MⅡ)卵率、正常受精率及优质胚胎率差异均无统计学意义($P>0.05$);④B、C、D 3 组患者生化妊娠率、临床妊娠率差异均无统计学意义,B 组患者着床率最低,流产率最高,与 C 组间差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 正常反应人群拮抗剂方案可获得与长方案相似的卵母细胞及胚胎,拮抗剂对子宫内膜容受性的负面影响可能会引起临床妊娠率低,流产率高。

[**关键词**] 拮抗剂方案;正常反应人群;体外授精-胚胎移植

[**中图法分类号**] R181.35; R711.6; R977.12 [**文献标志码**] A

Clinical features and outcomes of IVF-ET cycles between GnRH antagonist and GnRH agonist long protocol in normal responders: a comparison of 266 cases

ZHANG Zheng, JIANG Chengfang, LI Yuyan, HE Wei Reproductive Medical Center, Department of Gynaecology and Obstetrics First Affiliated Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038, China

[**Abstract**] **Objective** To analyze and compare the clinical features and outcomes of *in vitro* fertilization-embryo transfer (IVF-ET) cycles in normal responders using gonadotrophin (Gn) releasing hormone (GnRH) antagonist or GnRH agonist long protocol. **Methods** The clinical data of patients who received IVF treatment and had normal ovarian response to GnRH antagonist or GnRH agonist long protocol in our reproductive center from January 2017 to March 2019 were collected. According to the treatment protocol and the fresh embryo transplanted or not, these patients were divided into Group A (receiving GnRH

[**基金项目**] 军队计生专项研究任务(17JS002)

[**通信作者**] 何 畏,E-mail:anyhewei@163.com

2097-0927/Copyright © 2022, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

antagonist, but no fresh embryo transplanted, $n=128$), Group B (GnRH antagonist, with fresh embryo transplanted, $n=138$), and Group C (GnRH agonist long protocol, with fresh embryo transplanted, $n=720$). Besides, the frozen embryo transfer (FET) cycles of Group A were analyzed, and served as Group D. The thickness of endometrium on luteal conversion day and outcome of Group D were compared with those of Group B and Group C. **Results** ①The duration and dosage of Gn were shorter and less in Group A and B than Group C, and statistical difference was seen in Gn duration ($P<0.05$), and in Gn dosage only between Group A and C ($P<0.05$). ②On HCG day, the serum estradiol (E2) level were lower in Group A and B than Group C ($P<0.05$), the endometrium of Group C was the thickest, and the thickness of endometrium on luteal conversion day of Group D was lower than that on the HCG day of Group A, B and C, where the differences between Group A and B, and Group C and D were statistically significant ($P<0.05$). ③ The number of oocytes obtained in Group A and B were less than that in Group C ($P<0.05$), but there were no statistical difference in metaphase Ⅱ (MⅡ) oocyte rate, normal fertilization rate and high-quality embryo rate among Group A, B and C. ④ Biochemical pregnancy rate and clinical pregnancy rate had no statistical differences among Group B, C, and D ($P<0.05$). Group B had the lowest implantation rate but the highest miscarriage rate, and had obvious differences with Group C ($P<0.05$). **Conclusion** GnRH antagonist protocol can obtain similar oocytes and embryos as the GnRH-a long protocol in normal response population. However, the antagonist may exert negative impact on endometrial receptivity and result in low pregnancy rate and high abortion rate.

[**Key words**] GnRH antagonist protocol; normal response population; *in vitro* fertilization-embryo transfer

Supported by the Project of Military Special Research Task on Family Planning (17JS002). Corresponding author: HE Wei, E-mail: anyhewei@163.com

控制性超促排卵是体外授精-胚胎移植(*in vitro* fertilization-embryo transfer, IVF-ET)治疗的重要环节,随着试管婴儿技术的不断发展,安全舒适、经济高效已成为临床促排卵方案选择的新理念。近年来,拮抗剂方案在国内临床使用不断增多,较长方案而言,其治疗周期短、外源性促性腺激素(gonadotropin ,Gn)用量少以及卵巢过度刺激综合征(ovarian hyperstimulation syndrome, OHSS)的发生降低目前已达成共识,现多推荐用于多囊卵巢综合征(polycystic ovarian syndrome, PCOS)及卵巢低反应患者[1]。然而,正常反应人群作为体外授精(in vitro fertilization-Embryo transfer ,IVF)治疗的主体,拮抗剂方案能否成为其主导方案,目前尚存争议,主要原因在于拮抗剂方案新鲜周期移植后临床结局报道不一。虽然有 Meta 分析显示卵巢储备正常人群使用拮抗剂方案,在有效降低 OHSS 发生率的同时,可获得与激动剂长方案相似的临床妊娠率与活产率[2-4]。但同时仍有为数不少的研究及系统评价表明新鲜周期拮抗剂方案的胚胎着床率及临床妊娠率均较激动剂长方案低[1,5-6],其原因均认为与拮抗剂方案子宫内膜容受性降低有关[7-8]。在临床工作中,我们时常困惑于拮抗剂方案是否能够更多的用于卵巢正常反应人群,其新鲜周期是否推荐胚胎移植,而获得与长方案相似的临床结局? 为此,本研究回顾性分析我中心接受拮抗剂方案或激动剂长方案的正常反应人群 IVF 周期的临床特点及结局,以期为正常反应人群方案选择及新鲜周期移植策略提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

本研究回顾性收集 2017 年 1 月至 2019 年 3 月在陆军军医大学第一附属医院生殖医学中心接受体外授精(*in vitro* fertilization ,IVF)/卵胞浆内单精子注射技术(intracytoplasmic sperm injection, ICSI)助孕的 986 个治疗周期。患者年龄 22~39(30.8±3.9)岁,不孕原因有输卵管性不孕 504 例,双方因素 182 例,女方多因素 98 例,排卵障碍 46 例,不明原因 45 例,男方因素 111 例。纳入标准:①年龄≤39 岁;②基础卵泡刺激素(basal follicle-stimulating hormone,bFSH)≤12 U/L;③5<获卵数≤15。排除标准:①子宫内膜异位症、子宫腺肌症患者;②存在子宫畸形,宫腔粘连等宫腔异常患者;③夫、妻染色体异常患者。根据新鲜周期是否移植分为 3 组,A 组:拮抗剂未移植组(128 例),B 组:拮抗剂移

植组(138 例),C:激动剂长方案移植组(720 例),回顾性分析 3 组组研究对象的一般资料及临床结局;在此基础上,进一步统计拮抗剂未移植组患者第 1 次冷冻胚胎移植(frozen embryo transfer,FET)的内膜情况及临床结局,作为 D 组。所有研究对象已签署相关知情同意书,该研究已经通过陆军军医大学第一附属医院伦理委员会批准(KY2021072)。

1.2 超促排卵方案

1.2.1 拮抗剂方案 月经第 2~3 天开始使用促性腺激素(gonadotropin, Gn)(起始剂量 150~225 U),根据卵泡发育情况适时调节 Gn 用量及添加拮抗剂(思则凯,瑞士默克)0.25 mg,皮下注射,直至 HCG 日。当至少 2 个卵泡直径达 18 mm 或 3 个卵泡直径达 17 mm 时,给予注射用绒促性素(chorionic gonadotrophin, HCG)6 000~10 000 U 肌肉注射,36~38h 后行取卵术,进行 IVF/ICSI 授精。

1.2.2 激动剂长方案(简称长方案) 于黄体中期开始促性腺激素释放激素激动剂(gonadotrophin releasing hormone agonist, GnRH-a)(达菲林,法国益普生)0.1 mg 皮下注射,共 14~16 d,降调节达标后,即 FSH<5 mU/mL、LH<5 mU/L、E2<50 pg/mL、双侧卵泡直径<5 mm,内膜厚度<5 mm 时,开始使用 Gn,Gn 起始剂量 150~225 U,根据卵泡生长情况适时调整 Gn 剂量,当至少 2 个卵泡直径达 18 mm 或 3 个卵泡直径达 17 mm 时,给予注射用绒促性素(chorionic gonadotrophin, HCG)6 000~10 000 U 肌肉注射,36~38 h 后行取卵术,进行 IVF/ICSI 授精。所有患者均常规观察受精及胚胎发育情况,对于取卵术后无明显不适,无中重度 OHSS 发生风险,HCG 日内膜厚度>8 mm,血清孕酮(progesterone, P)<2.0 ng/mL 的患者移植第 3 天胚胎 1~2 枚。未能行新鲜周期移植的患者,给予全胚冷冻,择期行 FET 术。移植后 10 d 抽血查 HCG,5 周后超声检查见孕囊者确诊为临床妊娠。

1.2.3 观察指标 比较 A、B、C 3 组患者的一般资料,统计 3 组患者 Gn 天数、Gn 总量、HCG 日血清 E2、HCG 日子宫内膜厚度、获卵数、MII 卵率、正常受精率、可移植胚胎数、优质胚胎率、生化妊娠率、着床率、临床妊娠率及流产率。此外,同时统计 D 组患者转化日子宫内膜的厚度、生化妊娠率、着床率、临床妊娠率及流产率。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 19.0 软件对结果进行分析,正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$,统计学方法采用单因素方差分析或配对样本 t 检验,计数资料以率(%)表示,根据样本量采用 χ^2 或 Fisher's Exact 检验,检验水准 $\alpha=0.05$。

2 结果

本研究共纳入新鲜周期 986 个,其中拮抗剂未移植组 128 个周期(A 组),拮抗剂移植组 138 个周期(B 组),长方案移植组 720 个周期(C 组)。拮抗剂未移植患者 FET 周期 128 个(D 组)。

2.1 3 组研究对象一般资料比较

A、B、C 各组研究对象男女双方的平均年龄、不孕年限、体质指数(body mass index, BMI)及 bFSH 水平组间差异均无统计学意义($P>0.05$,表 1)。

表 1 3 组研究对象一般资料比较

指标	A 组 ($n=128$)	B 组 ($n=138$)	C 组 ($n=720$)	P 值
女方年龄/岁	31.1±3.9	30.8±3.9	30.6±3.9	0.351
男方年龄/岁	33.4±4.9	32.8±4.3	32.6±5.1	0.278
不孕年限/年	4.5±2.7	4.5±2.8	4.3±3.3	0.685
BMI/kg·m^{-2}	22.2±3.1	22.5 ±2.6	22.0±3.7	0.322
bFSH/mU·mL^{-1}	8.5±3.9	8.3±2.6	8.1±2.0	0.195

2.2 3 组研究对象临床指标比较

在一般资料差异无统计学意义的前提下,进一步分析 3 组研究对象的临床资料(表 2)。A、B 组研究对象的 Gn 天数均短于 C 组,差异均具有统计学意义($P<0.05$),A 组患者的 Gn 总量少于 B 组及 C 组,B 组患者的 Gn 总量少于 C 组,其中 A 组与 C 组间的差异有统计学意义($P<0.05$)。B 组 HCG 日血清 E_2 低于 A 组及 C 组,3 组间的差异均具有统计学意义($P<0.05$),3 组研究对象间 MII 卵率、正常受精率、差异无统计学意义。B 组患者可移植胚胎数少于 A 组与 C 组,差异具有统计学意义($P<0.05$),3 组研究对象移植胚胎数差异无统计学意义。

2.3 3 组研究对象临床结局比较

D 组患者 FET 周期黄体转化日内膜厚度为(9.7±1.6)mm,该厚度较其在新鲜周期 HCG 日内膜厚度(即 A 组)薄,采用配对 t 检验,差异具有统计学意义($P<0.05$)。

比较 B、C 组及 D 组患者的临床结局(表 3)。C 组患者的着床率、临床妊娠在 3 组间最高,流产率最低,其中 B 组与 C 组间的差异有统计学意义($P<0.05$)。

表 2 3 组研究对象临床指标比较

指标	A 组	B 组	C 组
Gn /d	10.9±2.1	10.8±1.9	11.3±1.7[ab]
Gn 总量/U	2 142.9±726.2	2 220.7±633.8	2 269.0±581.2[a]
HCG 日 E2/pg·mL^{-1}	3 474.7±2 067.1[c]	2 746.5±2 231.6	4 027.2±1 935.6[ab]
HCG 日内膜厚度/mm	10.3±2.9	11.6±2.9	11.8±2.3[a]
获卵数/个	9.0±3.2	8.8±3.1	10.0±2.9[ab]
MII 卵率/%	89.8(1 037/1 155)	88.8(1 076/1 212)	90.2(6 523/7 232)
正常受精率/%	63.8(737/1 155)	59.7(724/1 212)	63.1(4 562/7 232)
可移植胚胎数/个	4.6±2.2[c]	3.8±2.3	4.8±2.3[b]
移植胚胎数/个	1.8±0.4	1.9±0.3	1.9±0.3

a:$P<0.05$,与 A 组比较;b:$P<0.05$,与 B 组比较;c:$P<0.05$,与 B 组比较

表 3 B、C 组与 D 组患者临床结局比较

指标	B 组	C 组	D 组
生化妊娠率	55.1%(76/138)	56.3%(406/720)	53.9%(69/128)
着床率	27.7%(70/253)	35.5%(488/1374)[a]	34.0%(82/241)
临床妊娠率	45.7%(63/138)	51.4%(370/720)[a]	48.4%(62/128)
流产率	15.9%(10/63)	5.7%(21/370)[a]	8.1%(5/62)

a:$P<0.05$,与 B 组比较

3 讨论

拮抗剂方案在国内应用至今已有 10 余年,其促排卵周期短、Gn 用量少、温和友好等优点已逐渐凸显,成为卵巢高反应及低反应患者的推荐方案之一。然而对于卵巢反应正常的研究对象,拮抗剂方案能否达到与长方案相似的临床结局,现有研究结论不一,拮抗剂方案是否应该推荐新鲜胚胎移植也是临床医生较为关注的热点。

大量研究表明,不同卵巢反应人群使用拮抗剂方案,其 Gn 天数及用量均较长方案减少,OHSS 发生率降低,同时所获胚胎质量无差异[9-12]。在本研究中,拮抗剂组(A、B 组)与长方案组(C 组)的一般资料具备可比性,A、B 组患者的 Gn 时间、Gn 总量均<C 组,A、B 组患者 HCG 日血清 E_2、获卵数均低于 C 组。此外,A、B、C 3 组研究对象 MII 卵率、正常受精率及优质胚胎率差异均无统计学意义,与上述研究所得结论一致。

目前关于拮抗剂方案在卵巢正常反应人群中应用的最大争议在于其新鲜周期能否获得与长方案相似的临床结局。本研究发现,B、C、D 组的生化妊娠率差异无统计学意义,着床率 B 组明显低于 C 组与 D 组,B、C、D 组患者胚胎整体情况差异无统计学意义,移植胚胎数 B 组略少于 C 组,但同时,B 组的临床妊娠率均低于 C、D 组,而流产率却高于 C、D 组,并均与 C 组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。在内膜厚度方面,我们的数据显示无论何种方案,新鲜周期 HCG 日内膜厚度均高于 FET 周期黄体转化日,这可能与血清 E_2 水平的差异性有关。4 组间内膜厚度虽存在差异,但均高于 9 mm 以上。有研究表明,内膜厚度在 8~14 mm 之间时,临床妊娠率与着床率无显著差异[13],故在本研究中,内膜厚度的差异可能不是造成 B 组着床率、临床妊娠率低,流产率高的主要原因。既往均有研究表明卵巢正常反应人群应用拮抗剂方案临床妊娠率低于长方案,其原因主要在于拮抗剂对子宫内膜容受性直接或间接的负面影响,导致子宫内膜发育提前[14]。动物实验结果显示拮抗剂影响 Hoxa 10 基因的甲基化,进而导致子宫内膜整合素-β3 的表达下调,胞饮突发育受抑,子宫内膜容受性下降[15]。最近有学者进一步研究了拮抗剂方案治疗后子宫内膜容受性改变的分子机制,发现拮抗剂不仅可使子宫内膜组织提前进入分泌中期、子宫内膜容受性标志物(LIF/HOX10/S100P)表达下降,同时抑制子宫内膜上皮细胞 ATP 能量生成,并干扰其细胞骨架 F-actin 的聚合,从而不利于子宫内膜容受态的建立[16]。最新研究表明拮抗剂对子宫内膜局部免疫反应及重要蛋白的表达有负面影响,可干扰胚胎着床及后期胎盘的发育[8]。

本研究发现在卵巢正常反应人群,拮抗剂方案可在缩短 Gn 时间,减少 Gn 用量的同时,获得与长方案

相似的卵母细胞及胚胎质量,但在新鲜周期移植后,其临床妊娠率低,流产率高,考虑主要与拮抗剂对子宫内膜容受性的负面影响相关。但本研究为回顾性研究且患者样本量较少,在人群选择上可能存在一定的偏倚,仍需要多中心、随机对照研究进一步验证。

参考文献:

[1] LAMBALK C B, BANGA F R, HUIRNE J A, *et al*. GnRH antagonist versus long agonist protocols in IVF: a systematic review and meta-analysis accounting for patient type[J]. Hum Reprod Update, 2017, 23(5): 560-579. DOI:10.1093/humupd/dmx017.

[2] 李宣, 刘嘉茵, 陈文森, 等. 比较长方案与拮抗剂方案在正常反应人群中的应用[J]. 中华生殖与避孕杂志, 2018, 38(3): 219-223. DOI:10.3760/cma.j.issn.2096-2916.2018.03.009.
LI X, LIU J Y, CHEN W S, *et al*. Comparison of the agonist protocol and antagonist protocol in normal responders[J]. Reprod Contracept, 2018, 38(3): 219-223. DOI:10.3760/cma.j.issn.2096-2916.2018.03.009.

[3] YANG R, GUAN Y, PERROT V, *et al*. Comparison of the long-acting GnRH agonist follicular protocol with the GnRH antagonist protocol in women undergoing in vitro fertilization: a systematic review and meta-analysis[J]. Adv Ther, 2021, 38(5): 2027-2037. DOI:10.1007/s12325-020-01612-7.

[4] 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, 12(4): e0175985. DOI:10.1371/journal.pone.0175985.

[5] XU B F, ZHOU M J, WANG J W, *et al*. Increased AIF-1-mediated TNF-α expression during implantation phase in IVF cycles with GnRH antagonist protocol[J]. Hum Reprod, 2018, 33(7): 1270-1280. DOI:10.1093/humrep/dey119.

[6] GENG Y D, XUN Y, HU S Q, *et al*. GnRH antagonist versus follicular-phase single-dose GnRH agonist protocol in patients of normal ovarian responses during controlled ovarian stimulation[J]. Gynecol Endocrinol, 2019, 35(4): 309-313. DOI:10.1080/09513590.2018.1528221. [LinkOut]

[7] EFTEKHAR M, DEHGHANI FIROUZABADI R, KARIMI H, *et al*. Outcome of cryopreserved-thawed embryo transfer in the GnRH agonist versus antagonist protocol[J]. Iran J Reprod Med, 2012, 10(4): 297-302.

[8] CHEN Q, YU F, LI Y, *et al*. Comparative proteomics reveal negative effects of gonadotropin-releasing hormone agonist and antagonist on human endometrium[J]. Drug Des Devel Ther, 2019, 13: 1855-1863. DOI:10.2147/dddt.s201871.

[9] KARACAN M, ARVAS A, CEBI Z, *et al*. A "freeze-all" strategy or GNRH agonist trigger and concomitant HCG in high responders: a retrospective cohort study[J]. Fertil Steril, 2015, 104(3): e327. DOI:10.1016/j.fertnstert.2015.07.1022.

[10] 马黔红,朱桂金,孙赟,等.促性腺激素释放激素拮抗剂方案在辅助生殖领域中使用的专家共识[J].中华妇产科杂志,2015,50(11):805-809.
MA Q H, ZHU G J, SUN Y. *et al*. Expert consensus on application of gonadotropin releasing hormone antagonist programmes in the field of assisted reproduction[J]. Chin J Obstet Gynecol, 2015,50(11):805-809.

[11] 闫桂敏, 王炎秋, 纪亚忠. GnRH-A 在不同卵巢功能患者超排中应用的研究进展[J]. 同济大学学报(医学版), 2017, 38(1): 128-132. DOI:10.16118/j.1008-0392.2017.01.027.
YAN G M, WANG Y Q, JI Y Z. Application of gonadotropin-releasing hormone antagonist in controlled ovarian hyperstimulation for patients with different ovarian function[J]. J Tongji Univ Med Sci, 2017, 38(1): 128-132. DOI:10.16118/j.1008-0392.2017.01.027.

[12] WEISS J M, LUDWIG M, ORTMANN O, *et al*. GnRH antagonists in the treatment of infertility[J]. Ann Med, 2003, 35(7): 512-522. DOI:10.1080/07853890310001302.

[13] OLIVENNES F, CUNHA-FILHO J S, FANCHIN R, *et al*. The use of GnRH antagonists in ovarian stimulation[J]. Hum Reprod Update, 2002, 8(3): 279-290. DOI:10.1093/humupd/8.3.279.

[14] CHEN Q, YU F, LI Y, *et al*. Comparative proteomics reveal negative effects of gonadotropin-releasing hormone agonist and antagonist on human endometrium[J]. Drug Des Devel Ther, 2019, 13: 1855-1863. DOI:10.2147/dddt.s201871.

[15] 陈赛.促性腺激素释放激素拮抗剂对人子宫内膜容受性的影响及其机制研究[D].上海:上海交通大学,2016.
CHEN Q. Effect of gonadotropin releasing hormone antagonist on human endometrial receptivity and its mechanism[D]. Shanghai: Shanghai Jiaotong University, 2016.

[16] YOELI R, ASHKENAZI J, ORVIETO R, *et al*. Significance of increased endometrial thickness in assisted reproduction technology treatments[J]. J Assist Reprod Genet, 2004, 21(8): 285-289. DOI:10.1023/b:jarg.0000043701.22835.56.

(**收稿**:2021-07-28;**修回**:2021-11-12)

(编辑 王 红)