

• 临床研究 •

## DOR患者自然周期体外受精应用 GnRH-a 扳机对胚胎实验室技术指标的影响

周羽西, 李欣, 张娟娟, 张娟, 赵纯\*

南京医科大学附属妇产医院生殖医学中心, 江苏 南京 210004

**[摘要]** 目的: 研究卵巢储备功能减退(diminished ovarian reserve, DOR)人群自然周期体外受精(*in vitro* fertilization, IVF)方案中, 使用促性腺激素释放激素激动剂(gonadotropin-releasing hormone agonist, GnRH-a)扳机对胚胎实验室技术指标的影响。方法: 回顾性分析2018年1月1日—2023年4月30日在南京医科大学附属妇产医院生殖医学中心行自然周期IVF助孕的DOR患者资料, 根据是否使用GnRH-a扳机分为扳机组和未扳机组, 扳机组300周期, 未扳机组47周期, 利用倾向性评分匹配进行1:3匹配, 分析比较两组患者的总获卵数、可移植胚胎数、优质胚胎数、正常受精率、卵子利用率、优质胚胎率和未获卵率的差异。结果: 通过倾向性评分匹配后共纳入165周期(未扳机组46周期, 扳机组119周期), 扳机组优质胚胎率高于未扳机组(61.1% vs. 35.0%,  $P=0.045$ ), 两组总获卵数、可移植胚胎数、优质胚胎数、正常受精率、卵子利用率和未获卵率差异无统计学意义( $P$ 均 $>0.05$ )。结论: 自然周期使用GnRH-a扳机能提高DOR患者的优质胚胎率。

**[关键词]** 卵巢储备功能减退; 自然周期; 促性腺激素释放激素激动剂; 胚胎结局

**[中图分类号]** R321

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2024)07-954-04

**doi:** 10.7655/NYDXBNSN231211

## The effect of natural cycle in vitro fertilization using GnRH-a trigger on embryo laboratory technical indicators in DOR patients

ZHOU Yuxi, LI Xin, ZHANG Juanjuan, ZHANG Juan, ZHAO Chun\*

Center of Reproductive Medicine, the Affiliated Obstetrics and Gynaecology Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210004, China

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRH-a) trigger on the laboratory technical indicators of embryos during natural cycle *in vitro* fertilization (IVF) in patients with diminished ovarian reserve (DOR). **Methods:** A retrospective study was conducted to analyze the data of patients with DOR who underwent natural IVF cycles in the Reproductive Medicine Center of the Affiliated Obstetrics and Gynaecology Hospital of Nanjing Medical University from January 1, 2018 to April 30, 2023. According to whether the GnRH-a trigger was used, the patients were divided into the trigger group and the non-trigger group, with 300 cycles in the trigger group and 47 cycles in the non-trigger group. A 1:3 propensity score matching (PSM) was performed to compare the total number of oocytes retrieved, transferable embryos, high-quality embryos normal fertilization rate, oocyte utilization rate, high-quality embryos rate, and non-retrieved oocytes rate between the two groups. **Results:** A total of 165 cycles were included the (46 cycles in the non-trigger group and 119 cycles in the trigger group) after PSM, and the high-quality embryo rate in the trigger group was higher than that in the non-trigger group (61.1% vs. 35.0%,  $P=0.045$ ). There were no significant differences in the total number of oocytes retrieved, the number of transferable embryos, the number of high-quality embryos, the normal fertilization rate, the oocyte utilization rate, and the non-retrieved oocyte rate between the two groups (all  $P > 0.05$ ). **Conclusion:** The use of GnRH-a trigger during the natural cycle can improve the rate of high-quality embryos in patients with DOR.

**[Key words]** diminished ovarian reserve; natural cycle; gonadotropin-releasing hormone agonist; embryo outcome

[J Nanjing Med Univ, 2024, 44(07): 954-957]

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81971386)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: 33755876@qq.com

随着年龄的增长,女性的生育能力急剧下降,卵母细胞的数量和质量也随之下落。卵巢储备功能减退(diminished ovarian reserve, DOR)是一个与卵巢衰老紧密相关的概念,指的是育龄期女性月经正常,但对卵巢刺激反应降低或生育力下降<sup>[1]</sup>。近年来,自然周期体外受精(natural cycle *in vitro* fertilization, NC-IVF)在DOR患者中得到了越来越多的应用<sup>[2-3]</sup>。与目前广泛采用的控制性超促排卵(controlled ovarian hyperstimulation, COH)不同,NC-IVF是基于自然募集和选择卵泡,不使用COH。然而,NC-IVF人为干预较少,卵泡排卵时间不受控制,导致周期取消率高。为了降低NC-IVF提前排卵的风险,在临床实践中常常需要使用避免或减少周期取消发生的药物<sup>[4]</sup>。目前关于DOR患者自然周期是否需要使用扳机药物尚无统一的标准和共识。因此,本研究旨在分析NC-IVF使用促性腺激素释放激素激动剂(gonadotrophin-releasing hormone agonist, GnRH-a)扳机对DOR患者胚胎实验室技术指标的影响。

## 1 对象和方法

### 1.1 对象

回顾性分析2018年1月1日—2023年4月30日于南京医科大学附属妇产医院生殖医学中心行NC-IVF/卵细胞质内单精子注射(intracytoplasmic sperm injection, ICSI)助孕治疗的DOR患者资料。纳入标准:①符合DOR诊断标准<sup>[5]</sup>,基础卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)≥10 mU/mL、双侧窦卵泡计数(antral follicle count, AFC) < 5~7枚、抗苗勒管激素(anti-Müllerian hormone, AMH) < 1.1 ng/mL,满足以上任意2项;②采用自然周期方案。排除标准:①夫妻任意一方染色体异常;②夫妻任意一方合并严重内外科疾病。根据取卵前是否扳机分为扳机组和未扳机组。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 自然周期方案

自月经第8~10天,经引导超声监测卵泡生长情况,并查血清雌二醇(estradiol, E<sub>2</sub>)、黄体生成素(luteinizing hormone, LH)及孕酮(progesterone, P<sub>4</sub>)水平,当卵泡平均直径≥16 mm且E<sub>2</sub>≥150 ng/L,无论是否出现LH峰,扳机组注射GnRH-a(达菲林,益普生生物制药公司,法国)0.2 mg扳机,扳机后32~36 h取卵;未扳机组如LH < 20 mU/mL,则不使用任何药物32~34 h后取卵,如LH ≥ 20 mU/mL则不使用任何药物24 h后取卵。

#### 1.2.2 受精观察和胚胎评价

根据男方精液质量,选择IVF或ICSI受精,受精后16~18 h观察受精情况,2个原核(two pronuclear, 2PN)受精卵为正常受精卵,培养72 h观察胚胎卵裂情况。采用Peter评分标准<sup>[6]</sup>对卵裂期胚胎进行评价,优质胚胎为卵裂球数目≥6个,卵裂球大小较均匀,形态较规则,碎片率 < 20%,细胞透亮;可移植胚胎为碎片率 < 50%。

#### 1.2.3 观察指标

观察记录两组患者的年龄、不孕年限、体重指数、基础FSH、基础LH、基础E<sub>2</sub>、AMH、AFC、取卵前1 d激素(LH、E<sub>2</sub>、P<sub>4</sub>)、总获卵数、可移植胚胎数、正常受精率、卵子利用率、优质胚胎率及未获卵率等。正常受精率=(2PN受精数/获卵数)×100%,卵子利用率=(可移植胚胎数/获卵总数)×100%,优质胚胎率=(优质胚胎数/可移植胚胎数)×100%,未获卵率=(取卵时未获卵周期/总取卵周期)×100%。

### 1.3 统计学方法

采用Stata、SPSS26.0统计学软件进行分析。符合正态分布的计量资料以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用独立样本 $t$ 检验;不符合正态分布的计量资料采用中位数(四分位数)[ $M(P_{25}, P_{75})$ ]表示,组间比较采用曼-惠特尼 $U$ 检验。计数资料以构成比或率(%)表示,组间比较采用 $\chi^2$ 检验或Fisher's精确检验。为使组间一般临床资料具有可比性,排除研究对象不均匀而引起的偏差,将自然周期未扳机组与扳机组的临床数据进行倾向性评分匹配(propensity score matching, PSM)。设置卡钳值为0.05,采用最临近匹配法,匹配变量包括基础FSH和基础E<sub>2</sub>,PSM过程中以是否使用扳机药物分组,将自然周期未扳机组与扳机组以1:3的比例进行匹配。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 PSM匹配前后两组患者基线情况的比较

匹配前共纳入347个周期,其中扳机组300周期,未扳机组47周期。两组患者基础FSH及基础E<sub>2</sub>的差异有统计学意义( $P$ 均 < 0.05),两组间年龄、不孕年限、体重指数、基础LH、AMH、AFC的差异无统计学意义( $P$ 均 > 0.05)。经PSM匹配后,两组患者基线情况差异均无统计学意义( $P$ 均 > 0.05,表1)。

### 2.2 PSM匹配后患者临床参数及胚胎实验室技术指标的比较

两组患者取卵前1 d LH、P<sub>4</sub>、总获卵数、可移

植胚胎数、优质胚胎数、正常受精率、卵子利用率及未获卵率差异无统计学意义( $P$ 均 $>0.05$ )。扳机组取卵前1 d  $E_2$  高于未扳机组, 两组差异有统计学意义( $P=0.010$ ), 扳机组优质胚胎率(61.1%)高于未扳机组(35.0%), 差异有统计学意义( $P=0.045$ , 表2)。

2.3 按照取卵前1 d  $E_2$  水平分组分析

取卵前1 d  $E_2$  水平的中位数为285 pg/mL, 将患者分为两组, 取卵前1 d 高 $E_2$ 组( $E_2 > 285$  pg/mL)及低 $E_2$ 组( $E_2 \leq 285$  pg/mL)的年龄、基础 $E_2$ 差异均无统计学意义( $P$ 均 $>0.05$ , 表3), 两组间优质胚胎率分别为46.9%和59.5%, 组间差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

表1 PSM前后两组患者的基线资料

Table 1 The baseline data between two groups before and after PSM [ $M(P_{25}, P_{75})$ ]

Variable	Before PSM				After PSM			
	Non-trigger group (n=47)	Trigger group (n=300)	Z	P	Non-trigger group (n=46)	Trigger group (n=119)	Z	P
Age(years)	40.00(35.50, 45.00)	39.00(33.00, 44.00)	-1.005	0.315	40.00(35.00, 45.00)	38.00(32.00, 44.00)	-1.567	0.117
Duration of infertility	3.00(1.00, 9.00)	3.00(1.00, 6.00)	-1.161	0.246	3.00(1.00, 9.00)	2.00(1.00, 6.00)	-1.373	0.170
Body mass index(kg/m <sup>2</sup> )	22.10(20.50, 24.05)	22.30(20.80, 24.02)	-0.368	0.713	21.95(20.30, 24.10)	21.80(20.70, 23.35)	-0.383	0.701
Basal FSH(mU/mL)	13.48(10.38, 16.83)	10.95(8.09, 16.41)	-2.001	0.045	12.87(10.27, 16.72)	12.81(10.03, 17.62)	-0.122	0.903
Basal LH(mU/mL)	5.05(3.78, 6.45)	4.40(3.17, 6.68)	-1.242	0.214	5.01(3.76, 6.31)	4.33(3.20, 6.19)	-1.343	0.179
Basal $E_2$ (pg/mL)	37.00(20.50, 63.00)	49.00(32.50, 95.50)	-3.250	0.001	37.23(21.00, 63.00)	37.00(25.00, 60.00)	-0.193	0.847
AMH(ng/mL)	0.41(0.20, 0.96)	0.36(0.10, 0.75)	-1.637	0.102	0.43(0.25, 0.97)	0.36(0.09, 0.72)	-1.818	0.069
Numgers of AFC	3.00(1.50, 4.00)	3.00(2.00, 4.00)	-0.509	0.611	3.00(1.00, 4.00)	3.00(2.00, 4.00)	-0.130	0.897

表2 两组患者胚胎实验室技术指标的比较

Table 2 The embryo laboratory technical indicators between the two groups of patients

Variable	Total(n=165)	Non-trigger group (n=46)	Trigger group (n=46)	Z/ $\chi^2$	P
The day before the oocyte retrieval					
LH[mU/mL, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	39.15(26.66, 65.36)	42.14(32.77, 52.18)	38.61(25.92, 78.31)	-0.294	0.768
$E_2$ [pg/mL, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	285.00(219.00, 367.00)	242.00(194.00, 330.00)	295.00(233.50, 390.50)	-2.586	0.010
P4[ng/mL, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	0.82(0.56, 1.25)	0.82(0.49, 1.18)	0.84(0.63, 1.30)	-0.792	0.428
Numbers of oocytes retrieved [ $M(P_{25}, P_{75})$ ]	1.00(0.00, 1.00)	1.00(0.00, 1.00)	1.00(1.00, 1.00)	-1.553	0.121
Numbers of transferable embryos [ $M(P_{25}, P_{75})$ ]	0.00(0.00, 1.00)	0.00(0.00, 1.00)	0.00(0.00, 1.00)	-0.164	0.869
Numbers of high-quality embryos [ $M(P_{25}, P_{75})$ ]	0.00(0.00, 0.00)	0.00(0.00, 0.00)	0.00(0.00, 1.00)	-1.594	0.111
Normal fertilization rate [% (n/N)]	74.80(95/127)	74.20(23/31)	75.00(72/96)	0.008	0.928
Oocyte utilization rate [% (n/N)]	58.30(74/127)	64.50(20/31)	56.30(54/96)	0.658	0.417
High-quality embryos rate [% (n/N)]	54.10(40/74)	35.00(7/20)	61.10(33/54)	4.007	0.045
Non-retrieved oocyte rate [% (n/N)]	24.80(41/165)	32.60(15/46)	21.80(26/119)	2.057	0.152

表3 取卵前1 d 不同 $E_2$ 水平组一般情况及优质胚胎率的比较

Table 3 Comparison of the general situation and high-quality embryo rate of different  $E_2$  level groups on the day before oocyte retrieval

Variable	$E_2 \leq 285$ pg/mL (n=83)	$E_2 > 285$ pg/mL (n=82)	Z/ $\chi^2$	P
Age[years, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	39.00(33.00, 43.50)	39.00(33.00, 45.00)	-0.256	0.798
Basal $E_2$ [pg/mL, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	38.00(23.09, 60.50)	36.00(25.00, 62.56)	-0.501	0.617
High-quality embryo rate [% (n/N)]	46.9(15/32)	59.5(25/42)	1.17	0.279

3 讨论

DOR 患者往往单周期难以获得2枚及以上的卵

子, 目前尚无理想的治疗方法。因此NC-IVF 特别推荐用于卵巢储备非常低或对COH 反应不佳的妇女, 因为它成本较低, 可重复性好。但NC-IVF 卵泡生长

规律难以掌握, 卵母细胞早排现象普遍, 临床上常使用阻断自发性LH峰或诱导卵母细胞最终成熟的药物, 因此罕见相关不使用任何药物的NC-IVF临床研究。本研究结果表明, DOR患者在NC-IVF中, GnRH-a扳机组与未使用任何药物的未扳机组相比, 胚胎质量更好, 优质胚胎率更高, 获卵数、受精率差异无统计学意义。

本研究中, 取卵前1 d未扳机组LH较扳机组稍高, 但差异无统计学意义, 推测未扳机组可能是因为提前出现了LH峰, 导致卵母细胞质量下降, 进而影响胚胎质量。先前有研究比较了NC-IVF出现LH峰后取卵较未出现LH峰后取卵的差异, 发现出现LH峰后紧急取卵的有效胚胎率显著降低<sup>[7]</sup>。李丽娟等<sup>[8]</sup>认为扳机日不同LH水平组获卵率及正常受精率差异无统计学意义, 而LH<10 mU/mL组的优胚率显著高于LH>30 mU/mL组(60.16% vs. 48.08%,  $P < 0.05$ ), 这与本研究结果相似。此外本研究表明取卵前1 d扳机组E<sub>2</sub>高于未扳机组, 而排卵前E<sub>2</sub>的正反馈作用能诱导内源性LH峰的产生, 从而促进排卵前卵泡的成熟<sup>[9]</sup>, 未扳机组E<sub>2</sub>水平下降, 预示卵母细胞可能发生早排。因此, 临床上行NC-IVF监测应更加频繁, 以防止出现E<sub>2</sub>下降和提前的LH峰, 尽早在LH出现高峰前进行扳机。为了进一步探究取卵前1 d E<sub>2</sub>水平对优质胚胎率的影响, 本研究对取卵前1 d E<sub>2</sub>水平进行分组, 比较了低E<sub>2</sub>组和高E<sub>2</sub>组的优质胚胎率, 结果显示两组优质胚胎率差异无统计学意义(46.9% vs. 59.5%,  $P > 0.05$ )。由此看来, 扳机能提高优质胚胎率。

综上所述, 本研究表明对于DOR患者行NC-IVF, 使用GnRH-a诱导排卵能够提高优质胚胎率, 这对最终的成功妊娠具有重要的意义。然而, 由于本研究样本量小, 纳入的周期数较少, 存在一定的局限性, 仍需增加样本量进一步证实研究结果的可靠性。

#### [参考文献]

- [1] BOUCRET L, TRAMON L, RIOU J, et al. Influence of diminished ovarian reserve on early embryo morphokinetics during *in vitro* fertilization: a time-lapse study[J]. J Clin Med, 2022, 11(23): 7173
- [2] DRAKOPOULOS P, ROMITO A, ERRÁZURIZ J, et al. Modified natural cycle IVF versus conventional stimulation in advanced-age Bologna poor responders [J]. Reprod Biomed Online, 2019, 39(4): 698-703
- [3] FUJISHIRO E, YONEYAMA K, KAKINUMA T, et al. Retrospective outcome in women aged 45 years and older undergoing natural cycle IVF treatment [J]. Reprod Biomed Online, 2021, 43(1): 66-72
- [4] OVARIAN STIMULATION T E G G O, BOSCH E, BROER S, et al. ESHRE guideline: ovarian stimulation for IVF/IC-SI[J]. Hum Reprod Open, 2020, 2020(2): hoaa009
- [5] 卵巢储备功能减退临床诊治专家共识专家组, 中华预防医学会生育力保护分会生殖内分泌生育保护学组. 卵巢储备功能减退临床诊治专家共识[J]. 生殖医学杂志, 2022, 31(4): 425-434
- [6] BRINDEN P. A text of *in vitro* fertilization and assisted reproduction [M]. New York: The Parthenon Publishing Group Inc, 1999: 196
- [7] 洪青青, 陈秋菊, 匡延平. 自然周期紧急取卵在卵巢低反应患者中的应用[J]. 生殖与避孕, 2013, 33(8): 541-545
- [8] 李丽娟, 马 兰, 姜春榕, 等. 自然周期不同LH水平下取卵时机及授精方式对胚胎实验室参数的影响[J]. 生殖医学杂志, 2021, 30(4): 534-536
- [9] CHEN Q, CHAI W, WANG Y, et al. Progesterin vs. gonadotropin-releasing hormone antagonist for the prevention of premature luteinizing Hormone surges in poor responders undergoing *in vitro* fertilization treatment: a randomized controlled trial [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2019, 10: 796

[收稿日期] 2023-12-26

(本文编辑:戴王娟)