

· 临床医学 ·

两种长效 GnRH-a 在降调节方案冻融胚胎移植周期准备内膜的临床疗效比较

张娟,周羽西,张娟娟,李欣,张姝秋,苏雁,凌秀凤,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:比较两种长效促性腺激素释放激素激动剂(gonadotropin-releasing hormone agonist, GnRH-a)在降调节联合激素替代周期冻融胚胎移植(frozen embryo transfer, FET)中的临床疗效。方法:回顾性队列研究分析2019年11月1日—2021年1月31日期间在南京医科大学附属妇产医院生殖医学中心采用2种不同的长效 GnRH-a 准备内膜的冻融囊胚移植周期共462周期,其中曲普瑞林组324周期,亮丙瑞林组138周期。通过 Logistic 回归模型分析2种长效 GnRH-a 与 FET 临床疗效的关系。结果:亮丙瑞林组雌激素启动日 LH $[(2.70\pm 1.28)\text{mU/ml}]$ 高于曲普瑞林组 $[(2.41\pm 1.19)\text{mU/mL}]$, $P=0.017$;亮丙瑞林组种植率(62.6%)高于曲普瑞林组(54.6%),差异有统计学意义($P=0.044$),临床妊娠率相对于曲普瑞林组有升高趋势,但差异无统计学意义($P=0.334$),早期流产率较曲普瑞林组有下降趋势,但差异也无统计学意义($P=0.490$)。在 Logistic 回归模型中,校正包括年龄、移植囊胚数、优质囊胚数、雌激素启动日 LH 水平、内膜厚度在内的混杂因素后,亮丙瑞林组相对于曲普瑞林组临床妊娠率的校正 OR 值为 1.493(95%CI=0.932~2.392, $P=0.095$)。结论:在降调节激素替代 FET 中,亮丙瑞林和曲普瑞林均可达到满意的降调效果,亮丙瑞林可提高囊胚的种植率,并获得与曲普瑞林相似的临床结局。

[关键词] 亮丙瑞林;曲普瑞林;降调节联合激素替代周期;冻融胚胎移植;临床结局

[中图分类号] R711.6

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2022)02-206-05

doi:10.7655/NYDXBNS20220210

Comparison of clinical efficacy of two long - acting gonadotropin - releasing hormone agonists in down-regulation combined with hormone replacement cycle of frozen-thawed embryo transfer

ZHANG Juan, ZHOU Yuxi, ZHANG Juanjuan, LI Xin, ZHANG Mianqiu, SU Yan, LING Xiufeng, ZHAO Chun*

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

[Abstract] **Objective:** This study aims to compare the clinical efficacy of two long-acting gonadotropin-releasing hormone agonists (GnRH - a) in down - regulation combined with hormone replacement cycle frozen - thawed embryo transfer (FET). **Methods:** A retrospective cohort study of 462 frozen-thawed blastocyst transfer cycles using two different long-acting GnRH - a for endometrial preparation was performed at the Department of Reproductive Medicine, the Affiliated Obstetrics and Gynaecology Hospital of Nanjing Medical University from November 1, 2019 to January 31, 2021, including 324 cycles in the triptorelin group and 138 cycles in the leuprorelin group. Logistic regression model was used to analyze the relationship between two long-acting GnRH - a and the clinical efficacy of frozen-thawed blastocyst transfer. **Results:** The level of LH $[(2.70\pm 1.28)\text{mU/mL}]$ on estrogen initiation day was higher than that in triptorelin group $[(2.41\pm 1.19)\text{mU/ mL}]$, $P=0.017$; The implantation rate of leuprorelin group (62.6%) was higher than that of triptorelin group (54.6%), and the difference was statistically significant ($P=0.044$); the clinical pregnancy rate was increased compared with the triptorelin group, but the difference was not statistically significant ($P=0.334$), and the early abortion rate was decreased compared with the triptorelin group, but the difference was not statistically significant ($P=0.490$). In the logistic regression model, after adjusting for confounding factors including age, number of blastocyst, number of good-quality blastocyst, the level of LH on

[基金项目] 国家自然科学基金(81971386)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: zhaochun2008@yeah.net

estrogen initiation day and endometrium thickness, the adjusted OR value of clinical pregnancy rate in leuporelin group versus triptorelin group was 1.493 (95% CI= 0.932~2.392, $P=0.095$). **Conclusion:** In the down-regulation combined with hormone replacement cycle of FET, both leuporelin and triptorelin can achieve satisfactory down-regulation effect. Leuporelin can improve the blastocyst implantation rate, and obtain similar clinical outcomes with triptorelin.

[Key words] leuporelin; triptorelin; down-regulating hormone replacement cycle; frozen-thawed embryo transfer; clinical outcomes
[J Nanjing Med Univ, 2022, 42(02):206-210]

冻融胚胎移植(frozen-thawed embryo transfer, FET)已被广泛用于辅助生殖技术(assisted reproductive technology, ART)中,作为新鲜周期胚胎移植的替代方法,FET不仅降低了卵巢过度刺激综合征(ovarian hyperstimulation syndrome, OHSS)的风险,还提高了每个体外受精(*in vitro* fertilization, IVF)周期的累积妊娠率^[1]。目前临床上常用的FET内膜准备方案包括内膜准备常用方案有自然周期(natural cycle, NC)、激素替代周期(hormone replacement treatment, HRT)和降调节联合激素替代周期。已有大量文献报道使用促性腺激素释放激素激动剂(gonadotropin-releasing hormone agonist, GnRH-a)降调节联合激素替代准备内膜的FET不仅可以增加子宫内膜异位症患者的活产率^[2-3],而且在非子宫内膜异位症人群中也可以获得比单纯HRT更高的临床妊娠率和活产率^[4]。醋酸曲普瑞林和醋酸亮丙瑞林均是临床上常用的GnRH-a,先前的研究主要集中在子宫内膜异位症患者^[5-6]或前列腺癌患者^[7],比较两者对下丘脑-垂体-性腺轴的抑制效果,或是比较了二者在黄体期长方案^[8-9]或早卵泡期长方案^[10-11]行IVF-ET中的降调节效果和临床结局。然而目前尚无针对该两种长效GnRH-a在FET中临床疗效比较的报道,本研究回顾性地分析比较了曲普瑞林和亮丙瑞林在GnRH-a-HRT在冻融囊胚移植中准备内膜的临床疗效。

1 对象和方法

1.1 对象

回顾性分析2019年11月1日—2021年1月31日期间在南京医科大学附属妇产医院采用GnRH-a-HRT行冻融囊胚移植患者的临床资料。纳入标准:①年龄 ≤ 40 岁;②基础卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH) < 10 U/L。排除标准:①中重度宫腔粘连;②移植日内膜厚度 < 7 mm;③子宫畸形;④子宫腺肌症或中重度内异症。本研究符合《赫尔辛基宣言》,经医院伦理委员会批准(伦理批件号:

2020KY070),所有患者均知情同意。

将GnRH-a-HRT行FET的患者根据内膜准备过程中使用长效GnRH-a的种类分为两组,曲普瑞林组注射醋酸曲普瑞林(达菲林,3.75 mg/支,法国益普生生物制药公司)1.875 mg降调节,亮丙瑞林组注射醋酸亮丙瑞林(贝依,3.75 mg/支,上海丽珠制药有限公司)1.875 mg降调节。

1.2 方法

1.2.1 胚胎冷冻及复苏

患者通过IVF或卵胞浆内单精子注射(intracytoplasmic sperm injection, ICSI)获得的胚胎,玻璃化冷冻第5、6天的囊胚,待解冻复苏后移植囊胚。

1.2.2 胚胎评分标准

第5或第6天囊胚评分按照Gardner标准^[12]评分,即根据囊胚扩张程度、内细胞团和滋养细胞3个参数组成的评分系统,本中心优质囊胚为Gardner评分 ≥ 3 BB。

1.2.3 子宫内膜准备

所有纳入的患者均采用GnRH-a-HRT方案准备内膜:两组患者均于月经周期第2天注射1.875 mg长效GnRH-a,注射14 d后检测血清FSH、黄体生成素(luteinizing hormone, LH)、雌二醇(estradiol, E_2)及B超明确是否达到降调节标准($FSH < 5$ U/L、 $LH < 5$ U/L、 $E_2 < 50$ ng/L,内膜厚度 < 5 mm)。达到降调节标准后,观察到血清FSH或 E_2 水平呈上升趋势时^[13],进行激素替代,给予口服补佳乐(拜耳公司,德国)4~6 mg/d,7 d后行阴道B超观察子宫内膜厚度,并调整雌激素用量,待B超监测至子宫内膜厚度 ≥ 8 mm(内膜雌激素处理时间 > 10 d),肌内注射黄体酮注射液(浙江仙琚制药)40 mg/d或阴道用雪诺同凝胶(德国默克)90 mg/d。囊胚于使用黄体酮后第6天行FET。移植后的黄体支持:雪诺同凝胶90 mg/d+地屈孕酮(雅培公司,荷兰)30 mg/d或者黄体酮40 mg/d+地屈孕酮30 mg/d。

1.2.4 妊娠结果判断

于FET后2周查血检测 β -人绒毛膜促性腺激素

(human chorionic gonadotropin, hCG)值。hCG>50 U/L则黄体支持持续至妊娠10周后逐渐减药停黄体支持。FET后4周经阴道B超见宫内孕囊诊断为临床妊娠。妊娠12周内妊娠丢失为早期流产。

1.2.5 观察指标

观察记录两组患者的年龄、体重指数(body mass index, BMI)、基础内分泌FSH、LH、E₂、抗苗勒管激素(anti-Müllerian hormone, AMH)水平、不孕类型、不孕年限、不孕原因,雌激素启动日FSH、LH、E₂水平、移植囊胚数、优质囊胚数、内膜厚度、降调节到雌激素启动日天数、雌激素使用天数、雌激素用量、种植率、临床妊娠率及早期流产率。种植率=种植胚胎数/移植胚胎数×100%,临床妊娠率=临床妊娠数/移植周期数×100%,早期流产率=早期流产数/临床妊娠数×100%。

1.3 统计学方法

所有数据均采用SPSS26.0统计学软件进行分析。计量资料均符合正态分布,采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用独立样本 t 检验;计数资料采用百分比(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验或Fisher确切概率法。影响因素的分析采用Logistics回归模型。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者一般情况比较

本研究纳入冻融囊胚移植周期数共462周期,其中曲普瑞林组324周期,亮丙瑞林组138周期。曲普瑞林组与亮丙瑞林组相比,女方年龄、BMI、AMH、基础FSH、基础LH、基础E₂、不孕类型、不孕年限、不孕原因差异均无统计学意义($P > 0.05$,表1)。

表1 患者基线资料分布特征

Table 1 Demographic characteristics of the patients at baseline

项目	曲普瑞林组(n=324)	亮丙瑞林组(n=138)	χ^2/t 值	P 值
年龄(岁)	29.62 ± 3.32	29.51 ± 3.79	0.309	0.757
BMI(kg/m ²)	22.81 ± 3.78	22.32 ± 3.53	1.299	0.194
AMH(ng/mL)	7.40 ± 4.95	6.79 ± 4.57	1.232	0.219
基础FSH(mU/mL)	7.37 ± 1.91	7.53 ± 1.94	-0.797	0.426
基础LH(mU/mL)	6.41 ± 3.70	7.13 ± 4.99	-1.525	0.129
基础E ₂ (pg/mL)	45.79 ± 22.21	44.17 ± 19.68	0.742	0.459
不孕类型[n(%)]			0.894	0.344
原发不孕	203(62.7)	80(58.0)		
继发不孕	121(37.3)	58(42.0)		
不孕年限(年)[n(%)]			0.594	0.743
≤2	147(45.4)	66(47.8)		
3-5	139(42.9)	54(39.1)		
>5	38(11.7)	18(13.0)		
不孕原因[n(%)]			3.719	0.445
输卵管及男方因素	164(50.6)	61(44.2)		
多囊卵巢综合征	83(25.6)	41(29.7)		
轻度子宫内膜异位症	16(4.9)	11(8.0)		
反复种植失败	15(4.6)	4(2.9)		
其他因素	46(14.2)	21(15.2)		

2.2 患者降调节效果、雌激素启动情况及临床结局比较

两组患者在雌激素启动日FSH、雌激素启动日E₂、内膜厚度、降调节到雌激素启动的天数、雌激素使用天数、雌激素用量上组间差异均无统计学意义($P > 0.05$)。亮丙瑞林组雌激素启动日LH水平高于曲普瑞林组,两组差异有统计学意义($P = 0.017$)。亮丙瑞林组移植囊胚数、移植优质囊胚数

低于曲普瑞林组,两组差异有统计学意义(P 均 < 0.01)。亮丙瑞林组的种植率(62.6%)高于曲普瑞林组(54.6%),差异有统计学意义($P = 0.044$)。亮丙瑞林组与曲普瑞林组的临床妊娠率、早期流产率无统计学差异(73.9% vs. 69.4%, 9.8% vs. 12.4%, P 均 > 0.05),但亮丙瑞林组临床妊娠率较曲普瑞林组有升高趋势,早期流产率较曲普瑞林组有降低趋势(表2)。

表2 两组患者降调节效果、雌激素启动情况及临床结局比较

Table 2 Comparison of down-regulation effect, estrogen initiation and clinical outcomes between two groups

项目	曲普瑞林组(n=324)	亮丙瑞林组(n=138)	χ^2/t 值	P值
雌激素启动日 LH (mU/mL)	2.41 ± 1.19	2.70 ± 1.28	-2.391	0.017
雌激素启动日 FSH (mU/mL)	3.11 ± 1.50	3.24 ± 1.45	-0.900	0.369
雌激素启动日 E ₂ (pg/mL)	26.93 ± 10.65	26.86 ± 9.58	0.073	0.942
移植囊胚数(枚)	1.71 ± 0.46	1.59 ± 0.49	2.440	0.015
移植优质囊胚数(枚)	1.56 ± 0.59	1.32 ± 0.63	3.877	<0.001
内膜厚度(mm)	10.27 ± 1.79	10.20 ± 1.85	0.367	0.714
降调节到雌激素启动的天数(d)	21.89 ± 5.52	21.17 ± 4.68	1.422	0.156
雌激素使用天数(d)	14.59 ± 2.53	14.37 ± 2.25	0.895	0.371
雌激素用量(mg)	91.35 ± 31.29	89.30 ± 25.73	0.677	0.499
种植率[n/N(%)]	302/553(54.6)	137/219(62.6)	4.038	0.044
临床妊娠率[n/N(%)]	225/324(69.4)	102/138(73.9)	0.934	0.334
早期流产率[n/N(%)]	28/225(12.4)	10/102(9.8)	0.476	0.490

2.3 GnRH-a 种类与 GnRH-a-HRT 准备内膜临床结局的 Logistic 回归分析

在校正了两组患者基线资料、降调节后雌激素启动情况及移植情况等差异因素后,应用以是否临床妊娠为因变量的二元 Logistic 回归,发现调整后移植囊胚数是 FET 临床妊娠率的影响因素($P=0.003$), GnRH-a 种类与临床妊娠率仍无显著相关性($OR=1.493, 95\%CI=0.932\sim 2.392, P=0.095$, 表 3)。

表3 以临床妊娠为因变量的二元 Logistic 回归分析结果

Table 3 Multivariate binary logistic analysis for clinical pregnancy

变量	OR	95%CI	P值
GnRH-a 种类	1.493	0.932~2.392	0.095
年龄	1.036	0.975~1.101	0.254
移植囊胚数	2.255	1.320~3.851	0.003
优质囊胚数	1.333	0.873~2.034	0.183
雌激素启动日 LH	0.996	0.840~1.180	0.959
内膜厚度	0.910	0.810~1.022	0.110

3 讨论

FET 的成功,除了需要具有种植潜能的胚胎,还需要具备有良好容受性的子宫内膜。GnRH-a 可通过抑制下丘脑-垂体-卵巢轴,抑制内源性雌激素水平,缩小子宫内膜异位灶;可促进子宫内膜整合素 $\alpha\gamma\beta 3$ 的表达^[14],改善子宫内膜容受性。

GnRH-a 通过竞争性地占据 GnRH 受体,抑制下丘脑分泌天然的 GnRH,减少垂体释放 LH 和 FSH,从而抑制卵泡发育,达到降调节效果。目前国内广泛使用的长效 GnRH-a 是醋酸曲普瑞林(进口)和醋

酸亮丙瑞林(国产),醋酸曲普瑞林是用右旋色氨酸取代天然 GnRH 结构中的第 6 位左旋甘氨酸,醋酸亮丙瑞林是用右旋亮氨酸取代天然 GnRH 结构中的第 6 位左旋甘氨酸,并去除第 10 位的甘氨酸。亮丙瑞林与 GnRH 受体结合的亲和力比内源性 GnRH 高 50 倍,曲普瑞林较内源性 GnRH 高 100 倍^[7]。目前尚无研究比较曲普瑞林和亮丙瑞林行 FET 的临床疗效。

本研究首次比较了曲普瑞林和亮丙瑞林在 FET 中的降调效果和妊娠结局。本研究结果显示,亮丙瑞林组雌激素启动日 LH 水平高于曲普瑞林组,这可能与曲普瑞林与 GnRH 受体结合的亲和力更强,对垂体的抑制作用更深,FSH、LH 及 E₂ 恢复稍缓相关。此外,本研究结果显示亮丙瑞林组的胚胎种植率显著高于曲普瑞林组,而临床妊娠率较曲普瑞林组有升高趋势,早期流产率有降低趋势,但差异无统计学意义,还需要加大样本量进行深入研究。以往有研究比较该两种长效 GnRH-a 在早卵泡期长方案中行 IVF-ET 的临床结局,结果显示亮丙瑞林可以提高胚胎的种植率,但在临床妊娠率、早期流产率上差异均无统计学意义^[11],与我们的结果一致。总体上,使用国产丙瑞林进行 FET 内膜准备可获得与曲普瑞林相似甚至更好的临床结局。

综上所述,本研究表明国产醋酸亮丙瑞林作用相对醋酸曲普瑞林较温和,但同样可以达到满意的降调节效果,临床结局不劣于曲普瑞林。本研究的不足在于研究结论不适用于中重度子宫内膜异位症及子宫腺肌病的患者,因为该部分的患者需要更充分的降调节,本研究使用的长效 GnRH-a 的处理方法不适用于该部分患者;此外本研究尚未进一

步追踪至活产,且样本例数有限,未来需要前瞻性随机对照研究来验证结果是否可信,这也将成为今后的研究方向。

[参考文献]

[1] MAHESHWARI A, BHATTACHARYA S. Elective frozen replacement cycles for all: ready for prime time? [J]. Hum Reprod, 2012, 28(1): 6-9

[2] KHAN K N, KITAJIMA M, HIRAKI K, et al. Changes in tissue inflammation, angiogenesis and apoptosis in endometriosis, adenomyosis and uterine myoma after GnRH agonist therapy [J]. Hum Reprod, 2010, 25(3): 642-653

[3] PARK C W, CHOI M H, YANG K M, et al. Pregnancy rate in women with adenomyosis undergoing fresh or frozen embryo transfer cycles following gonadotropin-releasing hormone agonist treatment [J]. Clin Exp Reprod Med, 2016, 43(3): 169-173

[4] 陈海啸, 任建枝, 蔡嘉力, 等. 降调节联合激素替代内膜准备方案在冻融胚胎移植中非子宫内异位症人群的应用 [J]. 中华生殖与避孕杂志, 2020, 40(11): 881-886

[5] LI Z, ZHANG H Y, ZHU Y J, et al. A randomized study comparing the side effects and hormonal status of triptorelin and leuprorelin following conservative laparoscopic surgery for ovarian endometriosis in Chinese women [J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2014, 183: 164-168

[6] 赵梦丹, 李君琴, 杨佩磊, 等. 不同促性腺激素释放激素激动剂治疗子宫内异位症的应用情况和疗效分析 [J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(5): 604-607

[7] BOLTON E M, LYNCH T. Are all gonadotrophin-releasing hormone agonists equivalent for the treatment of prostate cancer? A systematic review [J]. BJU Int, 2018, 122(3): 371-383

[8] 蔺军敏, 李悦, 王志敏, 等. 两种促性腺激素释放激素类似物对IVF-ET临床效果的比较 [J]. 生殖医学杂志, 2016, 25(7): 590-594

[9] 袁莉娟, 刘秋香, 黄晓卉, 等. 达菲林和亮丙瑞林在IVF-ET临床使用中的不良反应妊娠结局研究 [J]. 实用预防医学, 2019, 26(26): 1002-1004

[10] 龚超超, 吴燕虹, 苏玮珏, 等. 两种长效促性腺激素释放激素激动剂在早卵泡期超长方案中助孕结局比较 [J]. 中华生殖与避孕杂志, 2021, 42(1): 18-24

[11] 聂玲, 伍琼芳. 亮丙瑞林在早卵泡期超长方案IVF/ICSI-ET助孕治疗中的应用 [J]. 生殖与避孕, 2016, 36(3): 235-239

[12] GARDNER D, SCHOOLCRAFT W. In vitro culture of human blastocyst//Towards reproductive certainty: infertility and genetics beyond 1999 [M]. Carnforth: Parthenon Press, 1999: 378-388

[13] 邢雅纯, 苏雁, 赵纯, 等. 降调节激素替代方案中雌激素启动时机对冻融胚胎移植妊娠结局的影响 [J]. 国际生殖健康/计划生育杂志, 2021, 40(2): 89-92

[14] 洪宇, 谢梅青, 王良岸, 等. GnRH-a对内异症术后患者黄体中期子宫内膜整合素 $\alpha V\beta 3$ 和PR表达的影响 [J]. 中华妇产科杂志, 2010, 58(9): 699-701

[收稿日期] 2021-10-29

(本文编辑:唐震)

(上接第188页)

pects [J]. Int Rev Immunol, 2021, Sep 6: 1-11

[22] GAN X, ZHANG R, GU J, et al. Acidic microenvironment regulates the severity of hepatic ischemia/reperfusion injury by modulating the generation and function of tregs via the PI3K-mTOR pathway [J]. Front Immunol, 2020, 10: 2945

[23] 吴茗, 徐睿, 刘书娜, 等. 卵巢癌细胞生长环境中CD4⁺Treg细胞和CD4⁺Teff细胞的糖代谢特征初探 [J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2021, 41(7): 999-1005

[24] SEMENZA G L. Tumor metabolism: cancer cells give and take lactate [J]. J Clin Invest, 2008, 118(12): 3835-3537

[25] FAN Q, YANG L, ZHANG X, et al. Autophagy promotes metastasis and glycolysis by upregulating MCT1 expression and Wnt/ β -catenin signaling pathway activation in

hepatocellular carcinoma cells [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2018, 37(1): 9

[26] JOHNSON J M, COTZIA P, FRATAMICO R, et al. MCT1 in invasive ductal carcinoma: monocarboxylate metabolism and aggressive breast cancer [J]. Front Cell Dev Biol, 2017, 5: 27

[27] KIM Y, CHOI J W, LEE J H, et al. Expression of lactate symporters MCT1 and MCT4 and their chaperone CD147 predicts tumor progression in clear cell renal cell carcinoma: immunohistochemical and The Cancer Genome Atlas data analyses [J]. Hum Pathol, 2015, 46(1): 104-112

[28] JOCHEMS C, SCHLOM J. Tumor-infiltrating immune cells and prognosis: the potential link between conventional cancer therapy and immunity [J]. Exp Biol Med (Maywood), 2011, 236(5): 567-579

[收稿日期] 2021-11-30

(本文编辑:唐震)