

冻融胚胎移植的3种内膜准备方法比较

肖潇,蔡立义*,熊芳,钱莉,张昀,陈洁,杨炜敏

(南京医科大学附属无锡妇幼保健院生殖医学科,江苏 无锡 214002)

[摘要] 目的:探讨冻融胚胎移植(frozen-thawed embryo transfer, FET)3种不同的内膜准备方法对临床结局的影响。方法:回顾性分析2010年4月~2012年3月在本中心进行的冻融胚胎移植共287个周期,其中自然周期组184例,激素替代周期组57例,促排卵周期组46例。比较周期妊娠率、流产率、种植率、多胎妊娠率等指标。结果:3组的临床妊娠率分别为37.5%、38.6%、47.8%,流产率分别为8.7%、27.3%、18.2%,种植率分别为18.6%、21.8%、28.6%。促排卵周期组的临床妊娠率高于自然周期组及激素替代组,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。但相较于自然周期组,促排卵周期组的种植率显著增加($P < 0.05$)。移植1、2、3枚胚胎的临床妊娠率和多胎率分别是27.8%、36.9%、43.9%和0%、6.8%、14.2%。随着移植数目的增加,临床妊娠率有增加趋势。移植3枚胚胎的多胎率较移植1枚胚胎显著增加($P < 0.05$)。结论:在冻融胚胎移植周期中,3种内膜准备的妊娠率、流产率无明显差异,但促排卵周期组的种植率较高。增加移植胚胎数目在提高妊娠率的同时,显著增加多胎率。

[关键词] 冻融胚胎移植;自然周期;激素替代周期;促排卵周期;临床妊娠率

[中图分类号] R321-33

[文献标志码] B

[文章编号] 1007-4368(2014)05-685-04

doi: 10.7655/NYDXBNS20140532

随着辅助生育技术的发展与完善,冻融胚胎移植技术(frozen-thawed embryo transfer, FET)成为辅助生育的重要治疗手段。它能最大限度地利用每个体外受精(*in-vitro* fertilization, IVF)周期以获得妊娠,在提高累积妊娠率,减轻患者治疗费用,预防卵巢过度刺激综合征,避免胚胎浪费等方面起着重要的作用。目前国外已趋向于单胚胎移植^[1]。因此在每个IVF周期中,将有更多的胚胎进行冷冻。本中心有冷冻胚胎的周期数约占总周期数的75%。在有优质胚胎的同时,准备适宜的子宫内膜,是提高妊娠率的关键。因此,冻融胚胎的内膜准备成为新的研究课题。本研究回顾性分析本中心2010年4月~2012年3月共287个FET周期内膜的不同准备方法,其中自然周期组184例,激素替代周期组57例,促排卵周期组46例。比较周期妊娠率、流产率、种植率、多胎妊娠率等指标,探讨不同内膜准备方法、移植胚胎数目对妊娠结局的影响,以便能更好地进行个体化的冷冻胚胎移植内膜准备,提高临床妊娠率。

1 对象和方法

1.1 对象

[基金项目] 无锡市医院管理中心医学技术联合攻关项目(YGZX1204)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: caili76@hotmail.co.jp

选择本中心2010年4月~2012年3月期间因新鲜胚胎移植失败或取消新鲜胚胎移植者而进行的FET,共287个周期,女性平均年龄为(30.5 ± 4.1)(22~41)岁,不孕年限(4.6 ± 3.5)(1~10)年。各组患者内膜形态无特殊,移植前均B超或宫腔镜检查排除内膜病变。月经周期规则、自然周期监测有排卵者为自然周期组(184例);月经周期不规则、卵巢功能低下、既往内膜薄者采用激素替代周期准备内膜(57例);排卵障碍、激素替代内膜不理想患者采用促排卵方案(46例),各组患者内膜均达到8~13 mm时行黄体酮转化。

1.2 方法

1.2.1 胚胎分级及冻融方法

采用促性腺激素释放激素(GnRH)激动剂(GnRH-a, 达必佳)长方案或短方案加促性腺激素(Gn)激素(Gonal-F, 果纳芬)进行超促排卵。超声监测、取卵、体外受精、胚胎培养、冷冻及解冻均按本中心常规进行。按照庄广伦等^[2]标准,观察受精后原核期、48 h及72 h胚胎变化。将早期胚胎划分为4级。I级:细胞大小均等,形状规则,透明带完整,胞质均匀清晰,没有颗粒现象,碎片少于5%;II级:细胞大小略不均匀、形状略不规则,胞质可有颗粒现象,碎片占10%~20%;III级:细胞大小明显不均,可有明显的形状不规则,胞质有颗粒现象,碎片占21%~50%;IV级:细胞大小严重不均匀,胞质可有严

重脱颗粒现象,碎片占50%以上。按胚胎评分系统将I、II和III级剩余胚胎进行冷冻,IV级胚胎废弃,其中I、II级胚胎为优质胚胎。胚胎冷冻采用为玻璃化冷冻程序。复苏胚胎后21h左右观察胚胎增殖,评级后移植。

1.2.2 胚胎复活标准

解冻后以50%以上卵裂球存活为存活胚胎。

1.2.3 移植时机选择

自然周期组于月经d11~13开始监测卵泡发育及内膜发育情况,排卵后予黄体酮针40mg/d肌注3d转换内膜,行FET术;部分患者卵泡不排则待血雌二醇(E₂)、黄体素(LH)峰值下降后予黄体酮转化3d行FET术,黄体酮维持至验血人体绒毛膜促性腺激素(HCG)日;激素替代组于月经d3予戊酸雌二醇(补佳乐)4~6mg/d口服7d后,B超监测内膜,然后调整补佳乐用量至B超提示内膜≥8mm时予黄体酮针60mg/d肌注3d转换内膜,行FET术,黄体酮维持至验血β-HCG日;促排卵周期组患者在月经d4予克罗米芬(CC)50mg/d或来曲唑(LE)25mg/d口服5d,d6、d8、d10分别予尿促性素(HMG)75U/d肌注,d11监测卵泡,根据卵泡生长速度调整HMG用量,卵泡成熟时予HCG10000U肌注,排卵后或卵泡不排者血清E₂、LH峰值下降后予黄体酮针60mg/d肌注3d转换内膜,行FET术,黄体酮维持至验血HCG日;各组均取移植前最后1次B超内膜情况行统计学分析。

1.2.4 妊娠诊断

胚胎移植后14d留晨尿或查血β-HCG,阳性者为生化妊娠,阳性者2周后超声检查,见孕囊即诊断为临床妊娠。

1.3 统计学方法

数据采用SPSS12.0统计软件包处理。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。各组数据均进行正态性(Shapiro-Wilk法)和方差齐性(Levene法)检验,若符合正态分布和方差齐性,则采用方差分析,3组间均数比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),均数间两两比较采用Student-Newman-Keuls检验;若不符合正态分布或方差不齐,则采用秩转换的非参数检验,3组间均数比较采用Kruskal-Wallis H检验,多个样本均数间两两比较采用多重比较。计数资料采用率表示,两组或多组计数资料的比较采用 χ^2 检验或Fisher精确概率法检验。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

共进行287个FET周期,自然周期组184例,激素替代周期组57例,促排卵周期组46例。各组患者的年龄、不孕年限、子宫内膜厚度差异无统计学意义($P > 0.05$),各组的移植胚胎均为d3,均移植不超过3枚胚胎(表1)。

2.2 临床结局

表1 各组患者一般资料比较

项目	自然周期组	激素替代周期组	促排卵周期组	P值
移植周期数(n)	184	57	46	-
不孕年限(年)	3.7 ± 2.8	3.6 ± 2.1	4.0 ± 3.1	>0.05
解冻胚胎数(枚)	443	135	114	-
移植胚胎数(枚)	441	133	112	-
胚胎复苏率(%)	99.5	98.5	98.2	-
平均移植胚胎数(枚)	2.4 ± 0.8	2.4 ± 0.7	2.4 ± 0.7	>0.05
移植日内膜厚度(mm)	9.8 ± 1.7	8.2 ± 0.7	9.0 ± 1.8	>0.05

3组的临床妊娠率为37.50%(69/184)、38.60%(22/57)、47.83%(22/46)。差异无统计学意义($P > 0.05$)。种植率分别为18.59%、21.80%、28.57%,促排卵周期内膜准备组比自然周期内膜准备有更高的着床率,差异有统计学意义($P < 0.05$,表2)。

2.3 胚胎移植数目与临床妊娠的关系

移植1枚胚胎36个周期,移植2枚胚胎103个周期,移植3枚胚胎148个周期。随着移植胚胎数目的增加,临床妊娠率有增加的趋势,但差异无统计

学意义($P > 0.05$)。与单胚胎移植相比,移植3枚胚胎的宫内双胎妊娠率及多胎妊娠率均有显著增加,差异有统计学意义($P < 0.05$,表3)。

3 讨论

自1983年澳大利亚Trounson取得第1例人类FET临床妊娠,FET技术成为IVF中极其重要的一环。FET的临床妊娠受很多因素的影响,如年龄、子宫内膜形态及厚度、移植胚胎数量及质量、冷冻方法

表 2 各组患者的临床结局

指标	自然周期组	激素替代周期组	促排卵周期组	P 值
移植周期数(n)	184	57	46	-
生化妊娠周期数[n(%)]	81(44.02)	28(49.12)	24(52.17)	>0.05
临床妊娠周期数[n(%)]	69(37.50)	22(38.60)	22(47.83)	>0.05
着床胚胎总数(枚)	82	29	32	-
种植率(%)	18.59	21.80	28.57 [#]	0.06
宫内单胎妊娠数[n(%)]	52(75.36)	14(63.63)	14(63.63)	-
宫内双胎妊娠数[n(%)]	12(17.39)	5(22.73)	7(31.82)	>0.05
宫内多胎妊娠数[n(%)]	2(2.90)	1(4.55)	1(4.55)	-
异位妊娠数[n(%)]	3(4.35)	2(9.09)	0(0.00)	-
流产周期数[n(%)]	6(8.70)	6(27.27)	4(18.18)	>0.05

与自然周期组相比, [#]P < 0.05。

表 3 胚胎移植数目与临床妊娠的关系

指标	移植 1 个胚胎 (n=36)	移植 2 个胚胎 (n=103)	移植 3 个胚胎 (n=148)	P 值
宫内单胎妊娠率	27.8(10/36)	27.2(28/103)	28.4(42/148)	>0.05
宫内双胎妊娠率	0(0/36)	5.8(6/103)	12.2(18/148) [#]	<0.05
宫内三胎妊娠率	0(0/36)	1.0(1/103)	2.0(3/148)	>0.05
总临床妊娠率	27.8(10/36)	36.9(38/103)	43.9(65/148)	>0.05
总多胎妊娠率	0(0/36)	6.8(7/103)	14.2(21/148) [#]	<0.05
宫内胚胎种植率	27.8(10/36)	20.9(43/103)	19.6(87/444)	>0.05

与移植 1 个胚胎组相比, [#]P < 0.05。

等,但主要取决于所移植胚胎的发育潜能及子宫内
膜容受性^[3]。冻融周期子宫内膜的准备方式有自然周
期法、激素替代周期法及促排卵周期法^[4]。月经周期
规则、自然周期监测有排卵、内膜发育厚度 ≥ 8 mm 可
采用自然周期移植;月经周期不规则、内膜偏薄、卵
巢功能低下者需采用激素替代周期准备内膜;排卵
障碍患者、激素替代周期无法达到理想内膜者则应
采用促排卵方案准备内膜。有报道称在 FET 中,采
用自然周期或激素替代周期可获得相似的种植率和
妊娠率^[5]。本研究进行了 3 种内膜准备方法行冻融
胚胎移植,尽量使子宫内膜达到一定的厚度且与胚
胎发育同步,提高子宫内膜的容受性,以获得较高的
妊娠率。

本研究认为排卵正常者尽量采用自然周期准备
内膜,它符合生理状态的激素水平,是最简便的方
法。通过 B 超监测排卵、子宫内膜发育情况,查血
E₂、LH 及 P 水平,选择胚胎移植的最佳时间。胚胎着
床需要一定内膜厚度,有研究认为内膜 ≥ 9 mm 行
胚胎移植妊娠率高^[6]。本研究中 3 组患者决定行
FET 术前,子宫内膜厚度均控制在 8~13 mm 之间,
得到了较好的临床结局。

采用激素替代治疗,对年龄偏大、卵巢功能低下
患者的临床妊娠有较大帮助^[7]。通过模拟血清激素
周期性变化,使血清雌激素水平升高与内膜厚度增

加同步化,从而使子宫内膜与胚胎发育同步来提高
妊娠率^[8]。有研究认为采用 GnRH-a 降调的激素替代
周期与未采用 GnRH-a 降调者相比,活产率提高^[9],
而另一些作者则认为无需预降调,不会影响临床妊
娠率^[10]。还有作者认为激素替代治疗用于部分有排
卵者也有较好的结局^[11]。罗莉等^[12]在 264 个冻胚移
植周期中采用自然周期及激素替代周期,两者妊娠
率无差别。本研究对月经不规则、子宫内膜偏薄、卵
巢功能低下的患者采用无 GnRH-a 预降调的激素替
代周期,在周期中尚未遇见无法抑制的卵泡发育,监
测内膜合适时行内膜转化后即可行 FET 术。

对于无排卵患者或激素替代周期内膜不理想
者,需要刺激卵泡生长,分泌内源性的性激素来促进
子宫内膜生长。本中心一般采用 CC 或 LE 联合
HMG 促排卵治疗,但有部分患者采用 CC+HMG 促
排卵者内膜过薄或者多卵泡发育而取消周期。LE 可
以用于所有 CC 抵抗的多囊卵巢综合征 (polycystic
ovary syndrome, PCOS) 患者^[13],它的半衰期短,很快
从体内清除,故随着卵泡的生长发育,其分泌增多的
雌激素能够作用于生殖系统各组织,使子宫内膜充
分生长,且多为单卵泡发育^[14],对于 FET 的激素水
平影响较小。本研究有 46 个促排卵周期,临床妊娠
率和种植率分别达到 47.83% 和 28.57%,且无 1 例
发生卵巢过度刺激综合征 (ovarian hyperstimulation

syndrome, OHSS)。在应用促排卵方案时要注意HMG的起始量要小,最好为单卵泡发育,同时严密监测卵泡发育,及时调整剂量。本研究结果提示促排卵周期组的种植率高于自然周期及激素替代周期组。

至于移植胚胎数目对妊娠的影响,陈华等^[15]认为移植3枚卵裂期胚胎较移植2枚者妊娠率提高,多胎率显著提高。Jiang等^[16]认为<35岁妇女解冻胚胎移植2个与3个相比较,能减少多胎率。本研究中,随着移植胚胎数目的增加,临床妊娠率有增加的趋势,多胎率明显增加,与以上观点一致。现阶段,本中心已不进行3枚卵裂期的优质胚胎同时移植。若患者优质胚胎较多,建议患者行囊胚培养来降低多胎率。因此,因三胎妊娠导致需进行减胎手术的患者例数明显下降,避免了减胎手术带来的风险,节省了医疗费用。对于冻融胚胎移植准备,主要应根据患者实际内分泌情况,结合经济、心理等多方面考虑来选择内膜准备方案。在本研究中,促排卵组种植率较高,临床妊娠率有增高趋势,但样本数偏少,需进一步增加样本量对比分析。本研究主张在有优质胚胎的同时,尽量避免多胚胎移植,针对患者采用个体化方案,以获得较高的妊娠率。

[参考文献]

- [1] Bergh C. Single embryo transfer: a mini-review [J]. *Hum Reprod*, 2005, 20(2): 323-327
- [2] 庄广伦. 现代辅助生育技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 240-241
- [3] Tarek G, Luciano N, Helen H, et al. Cryopreserved-thawed embryo transfer in natural or down-regulated hormonally controlled cycles: a retrospective study [J]. *Fertil Steril*, 2006, 85(3): 603-609
- [4] 夏蕾, 王卓然, 张洪秀, 等. 胚胎冷冻及复苏移植120周期临床效果分析[J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2008, 24(1): 50-52
- [5] Givens CR, Markun LC, Ryan IP, et al. Outcomes of natural cycles versus programmed cycles for 1677 frozen-thawed embryo transfers [J]. *Reprod Biomed Online*, 2009, 19(3): 380-384
- [6] 安锦霞, 倪亚莉. 雌孕激素替代法准备子宫内膜在冻融胚胎移植中的临床研究[J]. *实用妇产科杂志*, 2010, 26(10): 791-793
- [7] 谭真, 廖月婵, 李洁. 影响冻融胚胎移植结果的因素分析[J]. *中华现代妇产科学杂志*, 2005, 2(8): 692-694
- [8] 李豫峰, 朱桂金, 章汉旺, 等. 三种冻融胚胎移植内膜准备方法的比较[J]. *生殖与避孕*, 2009, 29(2): 113-116
- [9] Hill MJ, Miller KA, Frattarelli JL. A GnRH agonist and exogenous hormone stimulation protocol has a higher livebirth rate than a natural endogenous hormone protocol for frozen-thawed blastocyst-stage embryo transfer cycles: an analysis of 1391 cycles [J]. *Fertil Steril*, 2010, 93(2): 416-422
- [10] 田辉, 傅永伦, 匡延平. 无GnRH-a降调激素替代和hMG促排作子宫内膜准备对冻融胚胎移植影响的研究[J]. *生殖与避孕*, 2006, 26(6): 344-347
- [11] 苏迎春, 陈慧, 孙莹璞. 影响冷冻胚胎着床因素回顾性分析[J]. *生殖医学杂志*, 2007, 16(3): 196-198
- [12] 罗莉, 赵静, 李东红, 等. 自然周期与人工周期方案264个冻融胚胎移植临床结局比较[J]. *陕西医学杂志*, 2012, 41(2): 162-164
- [13] Elnashar A, Fouad H, Eldosoky M, et al. Letrozole induction of ovulation in women with clomiphene citrate-resistant polycystic ovary syndrome may not depend on the period of infertility, the body mass index, or the luteinizing hormone/ follicle-stimulating hormone ratio [J]. *Fertil Steril*, 2006, 85(2): 511-513
- [14] Requerm A, Herrero J, Lander J, et al. Use of letrozole in assisted reproduction: a systematic review and meta-analysis [J]. *Hum Reprod Update*, 2008, 14(6): 571-582
- [15] 陈华, 孙海翔, 王慧焱, 等. 自然周期与替代周期准备内膜对冷冻胚胎移植结局的影响[J]. *南京医科大学学报: 自然科学版*, 2010, 30(2): 245-248
- [16] 江楠, 王丽萍, 张春晖, 等. 减少移植胚胎数量对冻融胚胎移植结局的影响[J]. *中华妇产科杂志*, 2011, 46(3): 181-183

[收稿日期] 2013-07-13