

## · 论 著 ·

## 内膜刺激对于薄型子宫内膜患者冷冻胚胎移植结局的影响

朱颖春, 刘景瑜, 宋天然, 王 玢, 贺方方, 孙海翔

**[摘要]** **目的** 评估内膜刺激对于薄型子宫内膜患者的冷冻胚胎移植结局的影响。**方法** 回顾性分析 157 周期移植优质冷冻胚胎的薄型子宫内膜患者临床资料, 将上述周期分为内膜刺激组和非内膜刺激组。内膜刺激组 60 个周期的患者于胚胎移植周期前一周期对内膜进行刺激; 非内膜刺激组 97 个周期的患者于胚胎移植周期前一周期未行内膜刺激。比较 2 组临床妊娠率、着床率、异位妊娠率以及早期流产率。**结果** 内膜刺激组和非内膜刺激组比较, 临床妊娠率 (61.67% vs 52.58%)、着床率 (44.34% vs 41.88%) 有所提高, 异位妊娠率 (2.70% vs 3.92%)、早期流产率 (8.11% vs 17.65%) 有所降低, 但以上指标的差异均不具统计学意义 ( $P>0.05$ )。**结论** 内膜刺激对于薄型子宫内膜患者冷冻胚胎移植的妊娠率、着床率有提高的趋势, 异位妊娠率、早期流产率有降低的趋势。

**[关键词]** 内膜刺激; 薄型子宫内膜; 妊娠结局; 子宫内膜容受性

**[中图分类号]** R711.6 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1672-271X(2017)05-0477-04

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1672-271X.2017.05.007

## The outcomes of frozen embryo transfer in patients with thin endometrium with local stimulation

ZHU Ying-chun, LIU Jing-yu, SONG Tian-ran, WANG Bin, HE Fang-fang, SUN Hai-xiang

(Reproductive Medical Center, Drum Tower Hospital Affiliated to Nanjing University School of Medicine, Nanjing 210008, Jiangsu, China)

**[Abstract]** **Objective** The paper evaluates the impacts of endometrial stimulation to thin endometrium in patients on frozen embryo transfer outcomes. **Methods** Retrospective analysis of 157 cycles included in this study in which patients with thin endometrium were transferred with high quality division frozen embryos. The cycles were divided into endometrial stimulation group (experimental group) and the non-stimulation group (control group). Patients of Endometrial stimulation group (60 embryo transfer cycles) received Endometrial stimulation 1 week before transplantation. Patients of non-stimulation group (97 embryo transfer cycles) were treated without Endometrial stimulation. The clinical pregnancy rate, implantation rate, ectopic pregnancy rate and early abortion rate were compared between the two groups. **Results** Clinical pregnancy rate (61.67% vs 52.58%) and implantation rate (44.34% vs 41.88%) increased in endometrial stimulation group than that in non-stimulation group, and ectopic pregnancy rate (2.70% vs 3.92%) and early abortion rate (8.11% vs 17.65%) decreased in endometrial stimulation group than that in non-stimulation group. However, the differences between the two groups were not statistically significant. **Conclusion** Endometrial stimulation for patients with thin endometrium had a tendency to improve pregnancy rate and implantation rate of frozen embryo transfer. Ectopic pregnancy rate and early abortion rate had a tendency to reduce. But based on the sample size and other factors, the difference between the two groups was not statistically significant. We need to expand the sample size, and refine the details for further discussion.

**[Key words]** Endometrial stimulation; Thin endometrium; Outcomes of embryo transfer; Uterine receptivity

子宫内膜容受性是指子宫内膜接受胚胎的能力, 它与内膜厚度、形态、容受性分子等息息相关<sup>[1]</sup>。子宫内膜的容受性与胚胎移植的结局有着

密不可分的联系。研究表明, 薄型子宫内膜者较子宫内膜厚者, 更难获得良好妊娠结局<sup>[2]</sup>。人类辅助生育技术周期中, 薄型子宫内膜是一直困扰临床医师的一个问题, 大部分的治疗方法对于薄型子宫内膜效果并不明显<sup>[3]</sup>。有学者认为对内膜进行机械性刺激, 可以改善子宫内膜的容受性, 促进胚胎着床<sup>[4-5]</sup>。一般各中心对于薄型子宫内膜的定义不同, 有研究认为子宫内膜厚度最好能达到或超过 8 mm<sup>[6]</sup>, 本中心也采用此标准, 将 <8 mm 的内膜定义为薄型子宫内膜。本研究对在本中心进行复苏

作者单位: 210008 南京, 南京大学医学院附属鼓楼医院生殖医学中心

通讯作者: 孙海翔, E-mail: stevensunz@163.com

引用格式: 朱颖春, 刘景瑜, 宋天然, 等. 内膜刺激对于薄型子宫内膜患者冷冻胚胎移植结局的影响[J]. 东南国防医药, 2017, 19(5): 477-480.

周期胚胎移植的 157 例薄型子宫内膜患者进行回顾性分析,探讨子宫内膜刺激对薄型子宫内膜患者的胚胎移植后妊娠结局的影响。

1 资料与方法

1.1 研究对象 本研究纳入 2015 年 4 月 9 日至 2016 年 9 月 27 日移植冷冻胚胎的薄型子宫内膜患者 157 周期(来自 157 例患者),年龄 22~45 岁,平均 32.13 岁。分为内膜刺激组(60 个周期的患者)和非内膜刺激组(97 个周期的患者),2 组患者的基本特征(年龄、不孕年限、囊胚所占比例、移植胚胎个数、内膜厚度)比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 1。纳入条件:①月经周期 28~30 d,自然周期监测有排卵;②移植前内膜厚度为 5.5~7.5 mm(为方便观测与记录,本中心常规将所测量值进行舍入,小数点后第一位为 8、9、0、1、2 常规计作 0,3、4、5、6、7 常规计作 5);③移植 1~2 枚优质胚胎;④内膜刺激组与非内膜刺激组为同一天移植的患者,排除手术操作者及手术其他未知因素造成的影响;⑤在本中心的检查和治疗周期超声均未发现宫腔粘连及宫腔占位等内膜异常情况,病史中也未发现如子宫内膜癌、子宫腺肌病、子宫内膜息肉、子宫内膜结核等子宫内膜性疾病。超声观察来自 2 位超声医师,执行同一质控标准。超声仪器采用 GE 公司生产的 voloson. e,均使用腔内探头 RIC5-9W-RS 进行观察。

表 1 移植冷冻胚胎的薄型子宫内膜患者基本特征比较

指标	内膜刺激组 ( <i>n</i> =60)	非内膜刺激组 ( <i>n</i> =97)	<i>P</i> 值
年龄(岁)	32.72±5.65	31.76±5.21	0.279
不孕年限(年)	3.98±3.17	3.88±2.91	0.840
囊胚所占比例(%)	25.77	31.67	0.356
移植胚胎个数(个)	1.76±0.44	1.65±0.48	0.152
内膜厚度(mm)	7.24±0.30	7.20±0.48	0.563

1.2 方法 内膜刺激组 60 个周期的患者于胚胎移植周期前一周期的月经第 12、20 天使用一次性使用 S 型宫腔组织吸引管(上海家宝医学保健科技有限公司生产, TY-C3/30-1S 型)对内膜分别进行轻微抽吸刺激;非内膜刺激组 97 个周期的患者于胚胎移植周期前一周期未行内膜刺激。分别记录 2 组患者的临床妊娠率、着床率、异位妊娠率、早期流产率。

1.3 统计学分析 采用 SPSS16.0 软件进行统计学分析,使用  $\chi^2$  检验及 Fisher 精确检验评估 2 组妊娠结局有无差异。因异位妊娠例数少,异位妊娠率

采用 Fisher 精确检验,临床妊娠率、着床率、早期流产率的比较均采用  $\chi^2$  检验,以  $P<0.05$  表示差异有统计学意义。

2 结果

157 周期薄型子宫内膜患者移植冷冻胚胎的妊娠结局为:临床妊娠率为 56.05%(88/157),着床率为 42.86%(114/266),异位妊娠率为 3.41%(3/88),早期流产率为 13.64%(12/88)。内膜刺激组和非内膜刺激组在临床妊娠率、着床率、异位妊娠率、早期流产率方面的差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 2。

表 2 薄型子宫内膜患者冷冻胚胎移植临床结局比较(%)

指标	内膜刺激组 ( <i>n</i> =60)	非内膜刺激组 ( <i>n</i> =97)	<i>P</i> 值
临床妊娠率	61.67	52.58	0.265
着床率	44.34	41.88	0.691
异位妊娠率	2.70	3.92	1.000*
早期流产率	8.11	17.65	0.198

\* 采用 Fisher 精确检验

3 讨论

自人类辅助生育技术广泛应用于不孕症的治疗开始,子宫内膜容受性对于胚胎种植的重要性一直都被普遍认可。子宫内膜容受性与子宫内膜的厚度明显相关<sup>[7-8]</sup>。薄型子宫内膜更难获得良好妊娠结局。已有文献报道,对于 B 超显示回声紊乱及异常增厚的子宫内膜,在移植前进行机械刺激能显著提高移植周期的胚胎着床率、临床妊娠率和活产率<sup>[9]</sup>,移植前行内膜刺激术也能显著提高反复着床失败的患者移植周期的胚胎着床率、临床妊娠率和活产率<sup>[4]</sup>。一般认为机制如下:内膜刺激造成了子宫内膜的局部损伤,促进白介素(IL)、表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)等细胞因子的分泌,有利于胚胎着床<sup>[10-11]</sup>;子宫内膜的局部损伤也触发了局部的炎症反应,释放炎症递质,使巨噬细胞炎症蛋白 1 $\beta$ (macrophage inflammatory protein-1 $\beta$ , MIP-1 $\beta$ )、肿瘤坏死因子  $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ) 等表达增加,活化巨噬细胞和树突状细胞等<sup>[12]</sup>,胚胎的着床、发育是生殖免疫促炎和抑炎因子变化平衡的过程,在胚胎的种植窗,促炎因子促进胚胎粘附、侵入、着床,并促进滋养细胞侵入子宫内膜,促进血管生成,增加子宫内膜血流灌注<sup>[13-14]</sup>,清除不规则的子宫内膜,刺激子宫内膜修复生长;内膜刺激能引起子宫

内膜中的部分基因的上调和下调,从而提供了胚胎种植必备的基因表达<sup>[15]</sup>。

本中心研究结果与上述文献并不完全一致。薄型内膜患者,从数值看,经过内膜刺激的患者较未经过内膜刺激的患者,临床妊娠率和着床率有所升高,且异位妊娠率、早期流产率有所下降,但并未发现差异存在统计学意义。行内膜刺激的指征并非仅为薄型子宫内膜,也包括反复种植失败、内膜粘连分离术后、免疫因素不孕等。同时根据患者的综合情况、意愿以及医师的临床经验,移植前较大比例内膜厚度 $<8\text{ mm}$ 的患者当前周期选择不移植、调整方案期待内膜厚度至 $8\text{ mm}$ 后再移植。而有些患者刺激前内膜厚度 $<8\text{ mm}$ ,刺激后移植前内膜厚度 $\geq 8\text{ mm}$ ,并未列入研究范围。本研究为排除手术操作者及手术其他未知因素造成的影响,要求内膜刺激组与非内膜刺激组为同一天移植的患者,但实际移植日未必能够同时入组 2 组患者。即在有内膜刺激的患者的当天未必同时有非内膜刺激的患者,反之亦然。故总共入组 157 个薄型内膜移植周期,其中研究组 60 个,对照组 97 个,数据总量较小,对统计结果有一定的影响。虽然研究结果差异并无显著统计学意义,但临床观察经过内膜刺激,薄型子宫内膜患者的妊娠结局仍有变化,妊娠及着床率在数值上有所提高,因此会继续对这样的患者进行干预,以期待改善其妊娠结局。在后期的研究中,会逐渐增加样本量,延长观察时间,完善和修订试验条件和试验方法。

国内外已有试验提示内膜刺激的时间点和次数对临床结局存在影响;Barash 等<sup>[4]</sup>的试验中,于移植周期前一周期的第 8、12、22、26 天分别给予内膜刺激,临床妊娠率和种植率都有显著增加;Karimzadeh 等<sup>[5]</sup>的试验中,于移植周期前一周期的第 21~26 天给予 1 次内膜刺激,临床妊娠率和种植率差异无统计学意义;李先莲<sup>[16]</sup>的试验提示移植周期月经 3~5 d 刺激子宫内膜可以增加移植胚胎的着床率;Nastri 等<sup>[17]</sup>的研究认为取卵日行内膜刺激会降低临床妊娠率。本研究中,出于月经来潮子宫内膜重新生长对由刺激造成的损伤进行修复的考虑,内膜刺激组 60 个周期的患者未选择移植周期进行内膜刺激,而于移植周期前一周期进行内膜刺激。子宫内膜在卵巢激素的作用下呈周期性变化。其中增生晚期(11~14 d)子宫内膜腺体增生明显,间质细胞相互结合成网状,组织水肿明显,内膜刺激可使局部产生炎症反应,释放细胞因子,可以促进内膜细胞和血管的增生修复<sup>[18]</sup>,增加子宫内膜的

血流;分泌中期(20~23 d)是胚胎着床的时刻,也是所谓的“种植窗”,内膜刺激可清除异常生长的子宫内膜,使子宫内膜对外源性激素的敏感度增加,同时所引发的局部炎症反应释放的细胞因子增加了局部的巨噬细胞和树突状细胞的胚胎亲和性,促进“母胎对话”<sup>[18-19]</sup>,促进滋养细胞迁移<sup>[18]</sup>,使得子宫内膜更适宜胚胎移植。故本研究选取月经第 12 天(增生晚期)、20 天(分泌中期)分别进行内膜刺激。文献也提示内膜刺激的部位和强度也可影响临床结局;很多试验采用清宫的方式实现内膜刺激;Huang 等<sup>[20]</sup>的试验中,减少内膜刺激的强度,宫腔镜下于子宫后壁内膜中线距宫底 10~15 mm 处行内膜刺激;胡玥玥等<sup>[21]</sup>的试验采用刮匙进行浅搔刮,使用探针进行轻刺激;李先莲<sup>[16]</sup>的试验采用内膜采集器,在宫腔内顺时针旋转,对内膜产生均匀、轻微的刺激;林洪波<sup>[22]</sup>制作子宫内膜微刺激修整装置,刺激子宫内膜的同时防止损伤子宫内膜基底层。本研究在所选取的时间点使用一次性使用 S 型宫腔组织吸引管对内膜分别进行 2 次轻微抽吸刺激,并未使用宫腔镜进行可视化操作,也未引进内膜采集器等新器械,强度和部位也没有量化。本研究内膜刺激组和非内膜刺激组在临床妊娠率、着床率、异位妊娠率、早期流产率方面的差异均无统计学意义,这可能也与内膜刺激的时间点、次数、强度、部位的差别有关。这些差别导致妊娠结局不同的原因,并没有定论的科学理论支持,而对于上述条件的选择,现阶段也并无统一标准。在之后的研究中,会对内膜刺激的时间点、次数、强度、部位进行对比,优化内膜刺激方案,并建立标准。

对于改善子宫内膜容受性,仍有各种尝试和研究,如雌孕激素补充改善子宫内膜成熟延迟<sup>[23]</sup>、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)宫腔灌注<sup>[24]</sup>、他莫昔芬的应用<sup>[25]</sup>、干细胞治疗<sup>[26-27]</sup>等,都取得了一定的成果。是否能将这些方式与内膜刺激结合起来,共同改善薄型子宫内膜患者的妊娠结局,也是需要继续探索的内容。

本试验结果,内膜刺激对于薄型子宫内膜患者冷冻胚胎移植的妊娠率、着床率有提高的趋势,异位妊娠率、早期流产率有降低的趋势,这对于寻找改善此类患者妊娠结局的方法具有一定意义。在临床治疗过程中,仍寄希望将内膜刺激作为改善妊娠结局的方法之一,需要进一步扩大临床试验样本量,并细化内膜刺激的时间点、次数、强度、部位,并将内膜刺激与其他改善子宫内膜容受性的方式相结合,以更好地应用于临床。



## 【参考文献】

- [1] Bassil S. Changes in endometrial thickness, width, length and pattern in predicting pregnancy outcome during ovarian stimulation in in vitro fertilization [J]. *Ultrasound Obst Gyn*, 2001, 18(3): 258-263.
- [2] Momeni M, Rahbar MH, Kovanci E. A meta-analysis of the relationship between endometrial thickness and outcome of in vitro fertilization cycles [J]. *J Hum Reprod Sci*, 2011, 4(3): 130-137.
- [3] Senturk LM, Erel CT. Thin endometrium in assisted reproductive technology [J]. *Curr Opin in Obstet Gyn*, 2008, 20(3): 221-228.
- [4] Barash A, Dekel N, Fieldust S, *et al.* Local injury to the endometrium doubles the incidence of successful pregnancies in patients undergoing in vitro fertilization [J]. *Fertil Steril*, 2003, 79(6): 1317-1322.
- [5] Karimzadeh MA, Ayazi Rozbahani M, Tabibnejad N. Endometrial local injury improves the pregnancy rate among recurrent implantation failure patients undergoing in vitro fertilisation/intra cytoplasmic sperm injection: a randomised clinical trial [J]. *Aust NZ J Obst Gyn*, 2009, 49(6): 677-680.
- [6] Basir GS, So WWK, Ng EHY, *et al.* Evaluation of cycle-to-cycle variation of endometrial responsiveness using transvaginal sonography in women undergoing assisted reproduction [J]. *Ultrasound Obst Gyn*, 2002, 19(5): 484-489.
- [7] 陈 莺, 孙海翔, 胡娅莉, 等. 子宫内膜厚度对体外受精-胚胎移植治疗结局的影响 [J]. *生殖与避孕*, 2008, 28(12): 730-733.
- [8] 钟 华, 唐至立. 超声评价卵巢反应性和子宫内膜容受性与 IVF-ET 妊娠结局关系探讨 [J]. *中外医学研究*, 2017, 15(9): 52-53.
- [9] 李 蓉, 钟 凯, 卢丽华, 等. 胚胎移植周期机械刺激子宫内膜提高临床妊娠率 [J]. *生殖医学杂志*, 2004, 13(6): 342-345.
- [10] Karpovich N, Chobotova K, Carver J, *et al.* Expression and function of interleukin-11 and its receptor  $\alpha$  in the human endometrium [J]. *Mol Hum Reprod*, 2003, 9(2): 75-80.
- [11] Smith SK, Charnock-Jones DS, Sharkey AM. The role of leukemia inhibitory factor and interleukin-6 in human reproduction [J]. *Hum Reprod*, 1998, 13(suppl 3): 237-243.
- [12] Almog B, Shalom-Paz E, Dufort D, *et al.* Promoting implantation by local injury to the endometrium [J]. *Fertil Steril*, 2010, 94(6): 2026-2029.
- [13] Nastri CO, Ferriani RA, Raine-Fenning NJ, *et al.* OP11.08: Effect of local injury to the endometrium on endometrial vascularization in women undergoing assisted reproduction: a randomized controlled trial [J]. *Ultrasound Obst Gyn*, 2012, 40(S1): 89.
- [14] 王安然, 吴洪波, 李柳铭, 等. 子宫内膜浅表机械刺激对 IVF-ET 者子宫内膜血流动力学及妊娠结局的影响 [J]. *广西医科大学学报*, 2013, 30(2): 240-242.
- [15] Kalma Y, Granot I, Gnainsky Y, *et al.* Endometrial biopsy-induced gene modulation: first evidence for the expression of bladder-transmembrane uroplakin Ib in human endometrium [J]. *Fertil Steril*, 2009, 91(4): 1042-1049.
- [16] 李先莲. 改良式内膜刺激对体外受精-胚胎移植的影响 [J]. *中国药物与临床*, 2014, 15(6): 844-845.
- [17] Nastri CO, Lensen SF, Gibreel A, *et al.* Endometrial injury in women undergoing assisted reproductive techniques [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2015, doi: 10.1002/14651858.CD00951-7.pub3.
- [18] Mor G, Cardenas I, Abrahams V. Inflammation and pregnancy: the role of the immune system at the implantation site [J]. *Ann NY Acad Sci*, 2011, 1221(1): 80-87.
- [19] Granot I, Gnainsky Y. Endometrial inflammation and effect on implantation improvement and pregnancy outcome [J]. *Reprod (Camb Engl)*, 2012, 144(6): 661-668.
- [20] Huang SY, Wang CJ, Soong YK, *et al.* Site-specific endometrial injury improves implantation and pregnancy in patients with repeated implantation failures [J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2011, 9: 140. doi: 10.1186/1477-7827-9-140.
- [21] 胡玥玥, 黄晓卉, 江胜芳, 等. 子宫内膜浅搔刮对胚胎移植周期结局的影响 [J]. *中国优生与遗传杂志*, 2012, 20(10): 121-122, 60.
- [22] 林洪波. 子宫内膜微刺激修整装置: 中国, CN 201768020 U [P]. 2011-03-23.
- [23] 于晓莉, 赵丽文, 张烨敏, 等. 黄体中期血清孕酮测定和子宫内膜活检在不孕症诊断中的意义 [J]. *东南国防医药*, 2010, 12(5): 401-403.
- [24] 高明霞, 陈思同, 李丽斐, 等. 人粒细胞集落刺激因子 (G-CSF) 宫腔灌注改善子宫内膜容受性的临床研究 [J]. *生殖与避孕*, 2014, 34(7): 527-533.
- [25] 孙 琴, 李鸿儒, 邵一丹, 等. 他莫昔芬用于薄型子宫内膜患者冻融胚胎移植疗效观察的随机对照临床研究 [J]. *医学研究生学报*, 2017, 30(1): 52-56.
- [26] Ding L, Li X, Sun H, *et al.* Transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells on collagen scaffolds for the functional regeneration of injured rat uterus [J]. *Biomaterials*, 2014, 35(18): 4888-4900.
- [27] Song T, Zhao X, Sun H, *et al.* Regeneration of uterine horns in rats using collagen scaffolds loaded with human embryonic stem cell-derived endometrium-like cells [J]. *Tissue Eng Part A*, 2014, 21(1-2): 353-361.

(收稿日期: 2017-04-06; 修回日期: 2017-05-31)

(本文编辑: 叶华珍; 英文编辑: 王建东)