

论 著

(临床研究)

不同内膜准备方案在 35 岁以下患者首次冻融单囊胚移植周期中的结局分析

时 娴, 马彩辉, 郑 娟

【摘要】 目的 分析不同子宫内膜准备方案在 35 岁以下患者首次行冻融单囊胚移植的临床结局。 **方法** 回顾性分析 2017 年 1 月-2020 年 10 月在陆军第七十三集团军医院首次行冻融单囊胚移植年龄 35 岁以下患者的临床资料, 共 1580 周期, 按照不同内膜准备方案分为 3 组: 单纯激素替代(HRT)组(531 周期), 促性腺激素释放激素激动剂(GnRHa)降调节后激素替代(GnRHa-HRT)组(189 周期), 自然周期(NC)组(860 周期)。分别比较 3 组患者的一般情况和临床结局, 通过多因素 logistic 回归模型分析三种内膜准备方案对患者临床妊娠率和活产率的影响。 **结果** HRT 组年龄及转化日内膜厚度均显著低于 GnRHa-HRT 组和 NC 组($P<0.05$), 且 HRT 组临床妊娠率和活产率均较 GnRHa-HRT 组和 NC 组显著下降($P<0.05$)。二元 logistic 回归分析显示: 校正混杂因素后, GnRHa-HRT 组和 NC 组内膜准备方案较 HRT 组可显著提高临床妊娠率和活产率($P<0.05$)。 **结论** GnRHa-HRT 和 NC 内膜准备方案均可提高 35 岁以下患者冻融单囊胚移植的活产率, 在临床工作中需结合患者具体情况制定个体化内膜准备方案。

【关键词】 内膜准备; 冻融单囊胚移植; 35 岁以下; 活产率

【中图分类号】 R714.8

【文献标志码】 A

【文章编号】 1672-271X(2022)05-0460-05

【DOI】 10.3969/j.issn.1672-271X.2022.05.003

Analysis of clinical outcomes of three endometrial preparation protocols in patients younger than 35 years receiving their first freeze-thawed single blastocyst transfer cycles

SHI Xian, MA Cai-hui, ZHENG Juan

(Reproductive Medicine Center, Army 73rd Group Military Hospital of PLA, Xiamen 361000, Fujian, China)

【Abstract】 Objective To compare the clinical outcomes of three endometrial preparation protocols in patients younger than 35 years receiving their first frozen-thawed single blastocyst transfer. **Methods** We retrospectively analyzed the patients younger than 35 years receiving their first frozen-thawed single blastocyst transfer at the Reproductive Medicine Center of the Army 73rd Group Military Hospital of PLA between January 2017 and October 2020. A total of 1580 cycles were included. All cycles were categorized into three groups according to their protocol of endometrial preparation: hormone replacement therapy (HRT) group (531 cycles), gonadotropin releasing hormone agonists (GnRHa) combined with HRT (GnRHa-HRT) group (189 cycles), and natural cycle (NC) group (860 cycles). The patient characteristics and clinical outcomes among groups were compared. Multivariate analyses were used to evaluate the association between endometrial preparation protocols and clinical pregnancy and live birth. **Results** Female age, endometrial thickness in the HRT group were all significantly lower than those in the GnRHa-HRT group and the NC group ($P<0.05$). The clinical pregnancy rate and live birth rate in the HRT group were all significantly lower than those in the GnRHa-HRT group and

the NC group ($P<0.05$). After the adjustment of confounding factors, the logistic regression analyses suggested that the clinical pregnancy rates and live birth rates in the GnRHa-HRT group and the NC group were significantly higher than those in the HRT group ($P<0.05$).

Conclusion Both GnRHa-HRT and NC protocols are associated with

基金项目: 厦门市医学优势亚专科建设项目(厦卫科教 2018296)

作者单位: 361000 厦门, 陆军第七十三集团军医院生殖医学中心(时 娴、马彩辉、郑 娟)

通信作者: 郑 娟, E-mail: juanzheng6@163.com

higher live birth rates in frozen-thawed blastocyst transfer cycles in young patients. Individualized endometrial preparation protocols should be formulated based on the characteristics of the patients in clinical circumstances.

[Key words] endometrial preparation; freeze-thaw single blastocyst transfer; patients younger than 35 years; live birth rate

0 引言

随着体外受精-胚胎移植技术的发展,其临床妊娠率逐年升高,近年来生殖专家提倡单活胎分娩,以缩小辅助生殖技术受孕和自然妊娠之间两种围产结局之间的差异。与新鲜周期单囊胚移植相比,冻融单囊胚移植可显著降低发生中重度卵巢过度刺激综合征的风险^[1],且临床妊娠率和活产率较单卵裂期胚胎移植更高^[2]。但目前全面实施单囊胚移植的时机尚不成熟,选择性单囊胚移植更容易被患者接受。临床常用的冻融胚胎移植(frozen embryo transfer, FET)内膜准备方案有自然周期(natural cycle, NC)、促排卵周期(ovulation induction cycle, OIC)、激素替代周期(hormone replacement therapy, HRT)和促性腺激素释放激动剂降调节后激素替代周期(GnRH a down-regulation in combination with hormone replacement therapy, GnRHa-HRT),各种方案各有优劣,何种方案最佳尚无统一标准。为寻找较合适的冻胚移植内膜准备方案,本研究纳入 1580 个周期的病历资料,分析不同内膜准备方案对临床结局的影响,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象 回顾性分析 2017 年 1 月-2020 年 10 月在陆军第七十三集团军医院首次行冻融单囊胚移植年龄 35 岁以下患者的临床资料,共 1580 个周期,按照不同内膜准备方案分为 3 组:HRT 组(531 周期),GnRHa-HRT 组(189 周期),NC 组(860 周期)。另有 40 周期行促排卵内膜准备方案,因数量少,未纳入本次研究。纳入标准:①女方年龄<35 岁;②新鲜周期取消移植行全胚冷冻的患者(不同原因取消移植例数:预防卵巢过度刺激综合征 1 363 例;扳机日孕酮高 36 例;第 5 天上午囊胚未形成 15 例;输卵管积水 35 例;子宫内膜异常 52 例;其他疾病 72 例;个人因素 8 例);③第 1 次移植,且移植 1 个第 5 天囊胚的患者。排除标准:①患者夫妻任何一方有染色体异常;②诊断为子宫畸形(如纵膈子宫、双子宫、单角子宫、残角子宫等);③影响胚胎

着床的子宫内膜因素(如子宫内膜息肉、宫腔粘连等);④排卵障碍。本研究所有患者均签署知情同意书,已通过陆军第七十三集团军医院医学伦理委员会审查(批准号:73JYY202275108)。

1.2 研究方法

1.2.1 胚胎冷冻与复苏 综合评估患者的情况,对于新鲜周期无法行胚胎移植的患者,所有胚胎行囊胚培养,养出的囊胚进行玻璃化冷冻。复苏周期根据内膜生长情况,对囊胚进行复苏,采用快速复温法,按照胚胎复苏试剂盒(K-SIBW-5000,澳大利亚库克公司)说明进行复苏。显微镜下观察胚胎存活情况,最后将囊胚转移至含囊胚培养液的培养皿中,培养 2 h 后进行胚胎移植。

1.2.2 囊胚评分标准 囊胚评分主要采用 Gardner 评分系统^[3],根据囊胚腔扩张程度,评估囊胚腔大小和滋养层是否孵出,把囊胚分成 6 级。对处于 3~6 级的囊胚,进一步对内细胞团和滋养外胚层进行评分:内细胞团按内细胞数目和紧密程度可以分为 A、B、C 三级;滋养外胚层也根据细胞数目和紧密程度分为 A、B、C 三级。评分 4BB 级及以上的囊胚属于优质囊胚。

1.2.3 内膜准备 ①HRT 组:患者于月经周期的第 2 天行阴道 B 超检查,显示无卵巢囊肿等异常后给予口服戊酸雌二醇片(补佳乐,德国,拜耳公司)6 mg/d,根据子宫内膜厚度适当调整药物剂量,服药 14~16 d 后,若子宫内膜厚度 ≥ 8 mm,当日(计算为 0 d)给予黄体支持行内膜转化,内膜转化第 6 日行冷冻囊胚复苏移植。②GnRHa-HRT 组:患者于月经周期第 2 天行经阴道 B 超监测,双侧卵巢均无 >8 mm 窦卵泡者,给予 GnRHa(达菲林,法国,博福-益普生公司)3.75 mg,肌肉注射,28 d 后复查,若抽血血清雌二醇 <50 pg/mL,卵泡刺激素 <5 mIU/mL,黄体生成素 <5 mIU/mL,同时 B 超示子宫内膜厚度 <5 mm,则为达到降调节标准,此时联合 HRT 行内膜准备,方法同 HRT。③NC 组:患者于月经周期第 9~11 天行阴道 B 超监测排卵,于排卵当日即给予黄体支持,并于排卵后(排卵日为 0 d)5 d 行囊胚移植。

1.3 妊娠结局判断 胚胎移植后 2 周,查血人绒毛膜促性腺激素(beta human chorionic gonadotropin β -hCG),如 β -hCG 阳性(>5 IU/L)则判断为生化妊娠,继续行黄体支持。移植后 4~5 周经阴道 B 超检查子宫腔内见孕囊或宫外妊娠者为临床妊娠。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析。计量资料采用均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析;计数资料采用构成比或率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用 logistic 回归分析各参数与临床妊娠率、活产率的关系。以 $P\leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 一般情况和临床结局比较 3 组患者不孕年限、不孕类型、输卵管因素比例、男方因素比例、不明原因比例、优质囊胚移植率比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);GnRHa-HRT 组子宫内膜异位症患者所占比例较 HRT 组和 NC 组显著升高($P<0.01$);HRT 组年龄和转化日内膜厚度明显低于 Gn-

RHa-HRT 组和 NC 组($P<0.01$),且 HRT 组临床妊娠率和活产率低于 GnRHa-HRT 组和 NC 组($P<0.05$)。见表 1。

2.2 影响临床妊娠的独立因素 当校正相关混杂因素后,GnRHa-HRT 组和 NC 组相对于 HRT 组的校正 OR 值分别为 1.547(95% CI=1.066~2.246)、1.325(95% CI=1.043~1.684),提示应用 GnRHa-HRT 方案或 NC 方案行内膜准备较 HRT 方案临床妊娠率显著提高,同时结果显示不孕年限、不孕类型、转化日内膜厚度、是否移植优质囊胚也是影响临床妊娠率的重要因素($P<0.05$),见表 2。

2.3 影响活产的独立因素 当校正相关混杂因素后,GnRHa-HRT 组和 NC 组相对于 HRT 组的校正 OR 值分别为 1.662(95% CI=1.164~2.374)、1.369(95% CI=1.086~1.726),提示 GnRHa-HRT 组和 NC 组内膜准备方案较 HRT 组可以提高活产率,同时结果显示年龄、不孕年限、转化日内膜厚度、是否移植优质囊胚也是影响活产率的重要因素($P<0.05$),见表 3。

表 1 首次行冻融单囊胚移植患者一般情况和临床结局比较

项目	HRT 组	GnRHa-HRT 组	NC 组	χ^2 或 F 值	P 值
周期数	531	189	860		
女方年龄($\bar{x}\pm s$,岁)	28.92 \pm 2.8	29.79 \pm 2.86	29.43 \pm 2.94	8.090	0.000
不孕年限($\bar{x}\pm s$,年)	3.56 \pm 2.16	3.22 \pm 2.07	3.54 \pm 2.22	1.890	0.151
不孕类型[n (%)]				0.045	0.978
原发	279(52.54)	99(52.38)	456(53.02)		
继发	252(47.46)	90(47.62)	404(46.98)		
病因[n (%)]					
输卵管因素	320(60.26)	115(60.85)	515(59.88)	0.066	0.967
子宫内膜异位症	34(6.40)	38(20.11)	70(8.14)	33.655	0.000
男方因素	106(19.96)	33(17.46)	207(24.07)	5.711	0.058
不明原因	82(15.44)	22(11.64)	116(13.49)	5.652	0.059
转化日内膜厚度($\bar{x}\pm s$,mm)	8.21 \pm 1.34	8.94 \pm 1.97	9.33 \pm 1.79	72.882	0.000
优质囊胚移植率[n (%)]	518(97.55)	179(94.71)	836(97.21)	4.124	0.127
临床妊娠率[n (%)]	318(59.89)	133(70.37)	585(68.02)	11.818	0.003
活产率[n (%)]	275(51.79)	122(64.55)	522(60.70)	14.305	0.001

HRT 组:单纯激素替代内膜准备;GnRHa-HRT 组:促性腺激素释放激素激动剂降调节后激素替代内膜准备;NC 组:自然周期内膜准备

表 2 以临床妊娠为因变量的二元 logistic 回归分析结果

变量	β	标准误	Wald	OR 值	95%CI	P 值
内膜准备(GnRHa-HRT 组比 HRT 组)	0.436	0.190	5.269	1.547	1.066~2.246	0.022
内膜准备(NC 组比 HRT 组)	0.282	0.122	5.319	1.325	1.043~1.684	0.021
女方年龄	-0.028	0.020	2.009	0.973	0.936~1.011	0.156
不孕年限	-0.070	0.026	7.462	0.932	0.887~0.98	0.006
不孕类型	0.292	0.119	6.076	1.339	1.062~1.689	0.014
病因						
输卵管因素	-0.357	0.221	2.600	0.700	0.454~1.080	0.107
子宫内膜异位症	0.023	0.204	0.013	1.024	0.686~1.527	0.909
男方因素	-0.218	0.232	0.884	0.804	0.511~1.266	0.347
不明原因	-0.160	0.261	0.376	0.852	0.510~1.422	0.540
转化日内膜厚度	0.094	0.034	7.696	1.099	1.028~1.174	0.006
是否优质囊胚	1.215	0.310	15.388	3.370	1.836~6.183	<0.001

HRT 组:单纯激素替代内膜准备;GnRHa-HRT 组:促性腺激素释放激素激动剂降调节后激素替代内膜准备;NC 组:自然周期内膜准备

表 3 以活产为因变量的二元 logistic 回归分析结果

变量	β	标准误	Wald	OR 值	95%CI	P 值
内膜准备(GnRHa-HRT 组比 HRT 组)	0.508	0.182	7.8	1.662	1.164~2.374	0.005
内膜准备(NC 组比 HRT 组)	0.314	0.118	7.059	1.369	1.086~1.726	0.008
女方年龄	-0.041	0.019	4.791	0.959	0.925~0.996	0.029
不孕年限	-0.066	0.025	6.917	0.936	0.892~0.983	0.009
不孕类型	0.194	0.114	2.901	1.214	0.971~1.519	0.089
病因						
输卵管因素	-0.224	0.211	1.128	0.799	0.528~1.209	0.288
子宫内膜异位症	0.161	0.197	0.669	1.175	0.798~1.730	0.414
男方因素	-0.107	0.222	0.233	0.899	0.582~1.388	0.630
不明原因	0.029	0.250	0.014	1.030	0.631~1.681	0.907
转化日内膜厚度	0.073	0.032	5.169	1.076	1.010~1.146	0.023
是否优质囊胚	1.002	0.313	10.238	2.723	1.474~5.030	0.001

HRT 组:单纯激素替代内膜准备;GnRHa-HRT 组:促性腺激素释放激素激动剂降调节后激素替代内膜准备;NC 组:自然周期内膜准备

3 讨 论

随着国家生育政策的不断调整,不孕症患者对 FET 的需求日益增强。不同的 FET 内膜准备方案各有利弊,有学者对常用的激素替代周期、降调节联合激素替代周期及自然周期系统分析后指出,目前缺乏高质量的随机对照研究,还不能得出最佳 FET 方案的定论^[4]。Li 等^[5]研究显示 GnRHa 降调节联合促排卵周期较自然周期临床妊娠率和持续妊娠率均明显增高,但降调节后促排卵存在周期时间延长、卵巢过度刺激综合征风险高等问题,临床应用较少。本研究对 3 种常用的内膜准备方案临床结局进行比较,通过选取女方年龄小于 35 岁、首次移植单囊胚的患者,尽量排除高龄和反复种植失败等潜在影响临床结局的关键因素,从而更准确地

判断内膜准备方案的优劣。

自然周期通过监测患者排卵情况与体内激素水平,能够较好地控制子宫内膜种植窗,是实现子宫内膜与胚胎发育同步的最简便方法。一项新的荟萃分析显示,FET 中自然周期内膜准备方案较激素替代周期内膜准备方案的活产率更高,且妊娠期高血压、产后出血及早产的发生率显著降低^[6],但该研究未对年龄进行分层分析。Zheng 等^[7]的回顾性研究发现,年轻患者 FET 中 NC 组、HRT 组和 GnRHa-HRT 组的活产率相当,但 NC 组的早期流产率显著降低。本研究回归分析显示,校正了患者年龄、不孕年限、不孕类型、病因、转化日内膜厚度及胚胎情况后,NC 组和 GnRHa-HRT 组的临床妊娠率和活产率均较 HRT 组显著升高,而前两组临床结局无明显差异。自然周期用药少、经济、安全,故可

作为年轻冻融单囊胚移植患者的首选。

大量研究证实, GnRHa-HRT 内膜准备方案可显著提高子宫内膜异位症和子宫腺肌症患者 FET 妊娠率^[8-11], 而本中心数据显示非子宫内膜异位症患者 FET 应用 GnRHa-HRT 内膜准备方案亦能取得较好效果^[12], 考虑与子宫内膜容受性改善有关。Li 等^[13]收集 FET 取消周期患者的内膜组织, 发现 GnRHa 预处理后子宫内膜容受性的标记分子整合素 $\alpha V\beta 3$ 和白血病抑制因子表达增强。子宫内膜厚度是评价内膜容受性的重要指标, 本研究在多因素回归分析校正了子宫内膜厚度后, 依然显示 GnRHa-HRT 组的临床妊娠率及活产率较 HRT 组明显增高, 考虑可能降调节后“种植窗”改变, 内膜与胚胎发育同步性提高。传统观点认为 FET 前 GnRHa 预处理可使子宫内膜异位症患者受益, 但近年来也有观点认为, 子宫内膜异位症疾病本身并未影响患者卵子质量^[14], 自然周期 FET 也可取得理想的临床结局^[15]。本研究回归分析显示, 子宫内膜异位症对不孕患者 FET 临床妊娠率及活产率无显著影响。但参考本中心既往结果, GnRHa-HRT 内膜准备方案较其他方案胚胎种植率显著提高^[16], 故仍可作为子宫内膜异位症患者首选, 其他患者自然周期的次优选择。

综上所述, GnRHa-HRT 和自然内膜准备方案均可提高年龄小于 35 岁冻融囊胚移植活产率, 在临床工作中需结合患者具体情况制定个体化的准备方案。对于排卵正常者可首选自然周期, 子宫内膜异位症患者可选择 GnRHa-HRT 周期以获得更好的临床结局。未来可进行大样本前瞻性随机对照研究, 更全面分析不同子宫内膜准备方案对 FET 患者助孕结局的影响。

【参考文献】

- [1] Roque M, Haahr T, Geber S, *et al.* Fresh versus elective frozen embryo transfer in IVF/ICSI cycles: a systematic review and meta-analysis of reproductive outcomes[J]. *Hum Reprod Update*, 2019, 25(1): 2-14.
- [2] Glujovsky D, Farquhar C. Cleavage-stage or blastocyst transfer: what are the benefits and harms? [J] *Fertil Steril*, 2016, 106(2): 244-250.
- [3] Gardner DK, Lane M, Stevens J, *et al.* Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: towards a single blastocyst transfer[J]. *Fertil Steril*, 2000, 73(6): 1155-1158.
- [4] Mackens S, Santos-Ribeiro S, Vijver A, *et al.* Frozen embryo transfer: a review on the optimal endometrial preparation and timing[J]. *Hum Reprod*, 2017, 32(11): 2234-2242.
- [5] Li JC, Wang YH, Peng LY, *et al.* A Novel Promising Endometrial Preparation Protocol for Frozen-Thawed Embryo Transfer: A Randomized Controlled Trial[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2021, 12: 730059.
- [6] Wu H, Zhou P, Lin X, *et al.* Endometrial preparation for frozen-thawed embryo transfer cycles: a systematic review and network meta-analysis [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2021, 38(8): 1913-1926.
- [7] Zheng Q, Zhang H, Xu S, *et al.* Optimal Endometrial Preparation Protocols for Frozen-thawed Embryo Transfer Cycles by Maternal Age[J]. *Reprod Sci*, 2021, 28(10): 2847-2854.
- [8] Qi Q, Luo J, Wang Y, *et al.* Effects of artificial cycles with and without gonadotropin-releasing hormone agonist pretreatment on frozen embryo transfer outcomes[J]. *J Int Med Res*, 2020, 48(6): 300060520918474.
- [9] An J, Li L, Zhang X, *et al.* A clinical and basic study of optimal endometrial preparation protocols for patients with infertility undergoing frozen-thawed embryo transfer [J]. *Exp Ther Med*, 2020, 20(3): 2191-2199.
- [10] Li M, Xu L, Zhao H, *et al.* Effects of artificial cycles with and without gonadotropin-releasing hormone agonist pretreatment on frozen embryo transfer outcomes in patients with adenomyosis[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 19326.
- [11] 周雪源, 闻 姬, 孔 伟, 等. EMs 患者长效 GnRHa 降调节后人工周期行 FET 的临床结局[J]. *国际生殖健康/计划生育杂志*, 2019, 38(3): 194-196.
- [12] 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膜异位症人群的应用[J]. *中华生殖与避孕杂志*, 2020, 40(11): 881-886.
- [13] Li L, Liu L, Kou Z, *et al.* GnRH agonist treatment regulates IL-6 and IL-11 expression in endometrial stromal cells for patients with HRT regimen in frozen embryo transfer cycles[J]. *Reprod Biol*, 2022, 22(2): 100608.
- [14] Robin C, Uk A, Decanter C, *et al.* Impact of endometriosis on oocyte morphology in IVF-ICSI: retrospective study of a cohort of more than 6000 mature oocytes[J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2021, 19(1): 160.
- [15] Guo H, Wang Y, Chen Q, *et al.* Effect of Natural Cycle Endometrial Preparation for Frozen-Thawed Embryo Transfer in Patients with Advanced Endometriosis[J]. *Med Sci Monit*, 2016, 22: 4596-4603.
- [16] 孙小花, 郑 娟, 任建枝. 降调节对子宫内膜异位症患者冻融胚胎移植结局的影响[J]. *中国当代医药*, 2019, 26(24): 14-17.

(收稿日期:2022-03-06; 修回日期:2022-05-27)

(责任编辑:叶华珍; 英文编辑:朱一起)