

不同移植方案对高龄患者冻胚移植妊娠结局的影响

汤友苗, 王兴玲, 乔玉莲, 姜 华, 杜明泽

摘要 目的 探讨不同移植方案对高龄患者冻融胚胎移植(FET)妊娠结局的影响。方法 回顾性分析行FET高龄患者的临床资料,共1 820个周期。按内膜准备方案和移植胚胎类型分为自然周期卵裂胚移植组(自然周期A组,共511个周期)、自然周期囊胚移植组(自然周期B组,共231个周期)、激素替代治疗(HRT)周期卵裂胚移植组(激素替代A组,共811个周期)、HRT囊胚移植组(激素替代B组,共267个周期),比较4组的着床率、临床妊娠率、异位妊娠率、流产率、早产率、活产率及多胎妊娠率。结果 自然周期A组的流产率和活产率(20.5% vs 22.0%)与激素替代A组(33.5% vs 16.5%)间差异有统计学意义($P < 0.05$),两组间着床率、临床妊娠率、异位妊娠率、早产率及多胎妊娠率差异均无统计学意义。自然周期B组与激素替代B组间着床率、临床妊娠率、异位妊娠率、流产率、早产率、活产率及多胎妊娠率差异均无统计学意义。自然周期B组和激素替代B组着床率、临床妊娠率、活产率均显著高于自然周期A组和激素替代A组($P < 0.05$),但异位妊娠率、流产率、多胎妊娠率间差异无统计学意义。结论 高龄患者行冻融囊胚移植时无论采用自然还是HRT周期均可获得较好的临床结局,而冻融卵裂胚移植自然周期方案优于HRT方案。

关键词 冻融胚胎移植; 激素替代治疗; 卵裂期胚胎; 囊胚; 妊娠结局

中图分类号 R 711.6

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2018)10-1594-04
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.10.022

随着人们婚姻、生育观念的转变和国家二孩政策的实施,越来越多的高龄女性因不能自然妊娠寻求助孕。但高龄患者常因可利用胚胎少、内膜及激素异常等因素不能进行新鲜周期移植,玻璃化冷冻和胚胎培养技术的迅速发展为冻融胚胎移植(frozen-thawed embryo transfer, FET)提供了坚实的技术保障。有报道FET的临床妊娠率已接近甚至超过了新鲜周期胚胎移植^[1-2],已经成为重要的助孕手段。FET周期中内膜准备方案与内膜容受性是影响

其临床结局最重要的因素,目前临床上常用的内膜准备方案包括自然周期和激素替代治疗(hormone replacement treatment, HRT)。该研究通过回顾性分析不同移植方案对高龄女性FET周期妊娠结局的影响,旨在改善其FET临床结局。

1 材料与方法

1.1 病例资料 回顾性分析2014年1月~2017年7月在郑州大学第三附属医院生殖中心行FET助孕高龄患者的临床资料,共1 820个周期。按内膜准备方案和移植胚胎类型不同分为自然周期卵裂胚移植组(自然周期A组,共511个周期)、自然周期囊胚移植组(自然周期B组,共231个周期)、激素替代治疗(HRT)周期卵裂胚移植组(激素替代A组,共811个周期)、HRT囊胚移植组(激素替代B组,共267个周期)。纳入标准:①年龄 ≥ 35 岁;②移植胚胎均为卵裂期(D3)或囊胚期(D5)冻融胚胎;③不孕夫妇双方染色体正常。排除标准:①因内膜等各种原因取消移植;②存在严重子宫畸形、黏膜下子宫肌瘤、内膜病变、宫腔粘连;③合并高血压、糖尿病等内科疾病。

1.2 方法

1.2.1 自然周期方案 适用于平素月经规律、有正常排卵者。月经周期2~3 d常规阴道超声检查,排除卵巢及子宫异常情况,月经10~12 d开始监测卵泡发育,当卵泡直径 ≥ 14 mm,嘱每日阴超,测定血促黄体生成素(luteinizing hormone, LH)、雌二醇(estradiol, E2)、孕酮(progesterone, P)及尿LH值,直至出现LH峰,给予肌注绒毛促性腺激素(human chorionic gonadotropin, HCG)(珠海丽珠制药厂)10 000 U,次日阴超监测不论是否排卵均予以转化内膜。

1.2.2 HRT周期方案 适用于平素月经不规律、排卵障碍、自然周期子宫内膜生长不良者。月经周期2~3 d常规阴道超声检查,内膜剥脱后(≤ 6 mm)开始口服戊酸雌二醇(商品名:补佳乐,德国拜耳公司)2~6 mg,根据患者子宫内膜生长情况调整剂量,当子宫内膜厚度 ≥ 7 mm,雌激素作用时间 ≥ 12 d时给予转化内膜。

2018-05-21 接收

基金项目: 河南省医学科技攻关计划项目(编号: 201702110)

作者单位: 郑州大学第三附属医院生殖中心, 郑州 450052

作者简介: 汤友苗,女,硕士研究生;

王兴玲,女,教授,主任医师,硕士生导师,责任作者, E-mail: wangxl12312@163.com

表1 4组基础资料比较($\bar{x} \pm s$)

项目	自然周期 A (<i>n</i> = 511)	自然周期 B (<i>n</i> = 231)	激素替代 A (<i>n</i> = 811)	激素替代 B (<i>n</i> = 267)	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
女方年龄(岁)	39.65 ± 3.54	39.45 ± 3.58	39.80 ± 3.52	39.14 ± 3.77	2.530	0.056
不孕年限(年)	5.25 ± 4.72	5.58 ± 4.51	5.37 ± 4.74	5.13 ± 4.39	0.452	0.716
女方体重指数(kg/m ²)	23.43 ± 2.99	22.98 ± 2.77	23.42 ± 2.90	23.45 ± 2.86	1.644	0.177
移植日内膜厚度(mm)	9.09 ± 1.67	9.12 ± 1.55	8.91 ± 1.56	8.95 ± 1.53	1.872	0.132
移植胚胎(个)	1.91 ± 0.37	1.87 ± 0.34	1.91 ± 0.41	1.89 ± 0.32	1.083	0.355

1.2.3 内膜转化及胚胎移植 转化日根据患者意愿给予肌注黄体酮针(广州白云山明兴制药有限公司) 60 mg/d 或阴塞黄体酮缓释凝胶(雪诺酮,瑞士默克雪兰诺有限公司) 90 mg/d,同时口服地屈孕酮(达芙通,荷兰苏威制药公司) 20 mg/d 至移植后 14 d。转化日+3 d 移植卵裂期胚胎,转化日+5 d 移植囊胚期胚胎。

1.3 胚胎评级及复苏

1.3.1 卵裂期胚胎评级 参考 Broun Hall Clinic 评分系统。综合卵裂球大小、数目、均匀程度及碎片比例进行评级。I 级:卵裂球大小均匀,形态规则,透明带完整;胞质均匀清晰,没有颗粒现象;碎片 0~5% 之间。II 级:卵裂球大小略不均匀,形态略不规则,胞质可有颗粒现象;碎片 6%~20%。III 级:胚胎卵裂球大小不均,形态可有明显的不规则,碎片占 21%~50%;IV 级:胚胎卵裂球大小严重不均,胞质有严重颗粒现象,碎片占 50% 以上。受精后第 3 日(D3)卵裂球数目 ≥ 6 的 I 级、II 级胚胎视为优质胚胎。

1.3.2 囊胚期胚胎评级 参考 Gardner et al^[3] 评分系统。

1.3.3 冻融胚胎复苏 采用本中心胚胎实验室玻璃化冷冻复苏的操作标准^[4] 进行。

1.4 妊娠判断及观察指标 移植后 14 d 进行尿 HCG 和血 β-HCG 检测,移植后 35 d 进行超声检查可见妊娠囊及原始心管搏动定义为临床妊娠;受精卵在子宫腔外着床定义为异位妊娠;妊娠不足 28 周、胎儿体重不足 1 000 g 而终止者定义为流产;妊娠满 28 周至不足 37 周(196~258 d)间分娩者定义为早产;一次妊娠宫腔内同时有两个或两个以上胎儿时诊断为多胎妊娠。胚胎着床率(%) = 着床胚胎总数(孕囊数)/移植胚胎总数 × 100%,临床妊娠率(%) = 临床妊娠数/移植周期数 × 100%,异位妊娠率(%) = 异位妊娠数/临床妊娠数 × 100%,活产率(%) = 有活产婴儿出生的分娩次数(分娩数)/移植周期数 × 100%,流产率(%) = 流产数/临床妊娠数 × 100%,早产率(%) = 早产数/临床妊娠数 ×

100%,多胎率(%) = 多胎数/临床妊娠数 × 100%。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 21.0 软件对数据进行分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 描述,样本均数采用单因素方差分析;率的比较采用行 × 列 χ^2 检验,检验水准为 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 患者一般资料比较 由表 1 可见,四组间女方年龄、不孕年限、体重指数、移植日内膜厚度、移植胚胎数差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 各组临床结局比较 目前仍有 22 例患者处于妊娠中,未追踪到晚期流产、早产、活产及双胎结局。

2.2.1 自然周期 A 与激素替代 A 组临床结局比较

由表 2 可见,两组着床率、临床妊娠率、异位妊娠率、早产率及多胎妊娠率间差异无统计学意义($P > 0.05$),但激素替代 A 组的流产率显著高于自然周期 A 组,活产率显著低于自然周期 A 组($P < 0.05$)。

表2 自然周期 A 与激素替代 A 组临床结局比较(%)

项目	自然周期 A (<i>n</i> = 511)	激素替代 A (<i>n</i> = 811)	χ^2 值	<i>P</i> 值
着床率	19.1(193/1 009)	16.2(255/1 577)	3.759	0.053
临床妊娠率	29.9(153/511)	26.0(211/811)	2.419	0.120
异位妊娠率	3.3(5/153)	1.9(4/211)	0.693	0.624
流产率	20.5(30/146)	33.5(69/206)	7.085	0.008
早产率	8.9(13/146)	13.1(27/206)	1.498	0.221
活产率	22.0(111/504)	16.5(133/806)	6.240	0.012
多胎妊娠率	17.1(25/146)	10.7(22/206)	3.066	0.080

2.2.2 自然周期 B 与激素替代 B 组临床结局比较

由表 3 可见,两组着床率、临床妊娠率、异位妊娠率、流产率、早产率、活产率及多胎妊娠率间差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2.3 自然周期 A 与自然周期 B 组临床结局比较

由表 4 可见,自然周期 B 组的着床率、临床妊娠率、活产率显著高于自然周期 A 组($P < 0.05$),而两组异位妊娠率、流产率、多胎妊娠率间差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

表3 自然周期B与激素替代B组临床结局比较(%)

项目	自然周期 B (n = 231)	激素替代 B (n = 267)	χ^2 值	P 值
着床率	44.6(161/361)	44.1(186/422)	0.022	0.883
临床妊娠率	57.1(132/231)	55.8(149/267)	0.090	0.764
异位妊娠率	0.8(1/132)	0.7(1/148)	0.007	1.000
流产率	28.0(35/125)	34.9(51/146)	1.494	0.222
早产率	13.6(17/125)	11.6(17/146)	0.235	0.628
活产率	39.7(89/224)	36.0(95/264)	0.724	0.395
多胎妊娠率	14.4(18/125)	14.5(21/146)	<0.001	0.985

表4 自然周期A组与自然周期B组临床结局比较(%)

项目	自然周期 A (n = 511)	自然周期 B (n = 231)	χ^2 值	P 值
着床率	19.1(193/1009)	44.6(161/361)	90.011	<0.001
临床妊娠率	29.9(153/511)	57.1(132/231)	49.758	<0.001
异位妊娠率	3.3(5/153)	0.8(1/132)	2.167	0.290
流产率	20.5(30/146)	28.0(35/125)	2.051	0.152
早产率	8.9(13/146)	13.6(17/125)	1.508	0.219
活产率	22.0(111/504)	39.7(89/224)	24.406	<0.001
多胎妊娠率	17.1(25/146)	14.4(18/125)	0.374	0.541

2.2.4 激素替代A与激素替代B组临床结局比较

由表5可见,激素替代B组的着床率、临床妊娠率、活产率均显著高于激素替代A组($P < 0.05$),两组异位妊娠率、流产率、多胎妊娠率间差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

表5 激素替代A与激素替代B组临床结局比较(%)

项目	激素替代 A (n = 811)	激素替代 B (n = 267)	χ^2 值	P 值
着床率	16.2(255/1577)	44.1(186/422)	150.780	<0.001
临床妊娠率	26.0(211/811)	55.8(149/267)	80.132	<0.001
异位妊娠率	1.9(4/211)	0.7(1/148)	0.956	0.603
流产率	33.5(69/206)	34.9(51/146)	0.078	0.779
早产率	13.1(27/206)	11.6(17/146)	0.167	0.683
活产率	16.5(133/806)	36.0(95/264)	45.021	<0.001
多胎妊娠率	10.7(22/206)	14.5(21/146)	1.145	0.285

3 讨论

目前有关高龄不孕女性的年龄界定尚无统一标准,多采用高龄妊娠年龄界值,即 ≥ 35 岁。文献^[5-6]报道随着年龄增长女性卵巢功能不断下降,高龄患者常面临妊娠率低、流产率高、生育力低下等挑战。因此寻找高龄患者的最佳助孕方式以获得最优妊娠结局一直是生殖医学领域的研究热点。临床实践中也常遇到高龄患者因可利用胚胎少、内膜及激素异常等因素而导致新鲜周期取消情况,此时冷冻胚胎适时行FET成为一个不可或缺的补救措施。

大量研究^[7-8]证实,FET不仅可获得与新鲜周期移植相似的妊娠率和活产率,而且可提高累计妊娠率,减少患者的经济负担,降低卵巢过度刺激综合征及妊娠期并发症的发生。

虽有文献^[9]报道卵裂胚和囊胚移植的着床率和妊娠率差异并无统计学意义,但多数研究^[10-12]显示囊胚移植可获得更高的着床率和妊娠率。该研究结果也证实,高龄患者行囊胚移植的着床率、妊娠率、活产率均显著高于卵裂胚移植($P < 0.05$),表明高龄患者在FET周期中行囊胚移植或将冷冻后的卵裂胚行囊胚培养后移植可获得更好的临床结局。

刘格琳等^[13]报道在FET周期采用HRT方案行子宫内膜准备可以获得较好的临床结局,研究^[14-15]表明HRT方案与自然周期方案的FET临床结局并无差异,但年龄35~40岁的高龄患者自然周期FET的临床妊娠率优于HRT方案^[16]。该研究的结果显示,自然周期与HRT周期行囊胚FET的妊娠结局并无显著性差异($P < 0.05$),与石明华等^[17]结果一致。而行卵裂胚移植时,自然周期组的临床妊娠率、胚胎着床率虽与HRT组相似,但流产率显著低于HRT组,活产率则显著高于HRT组($P < 0.05$),表明在自然周期行卵裂胚FET可获得更好的妊娠结局。

综上所述,高龄患者行冻融囊胚移植时无论采用自然周期还是HRT周期均可获得较好的临床结局;而移植冻融卵裂胚时自然周期方案优于激素替代周期。由于该研究为回顾性研究且样本量有限,其结论尚需前瞻性随机对照研究进一步证实。

参考文献

- [1] 刘 闯,罗亚宁,李 丽,等. 冻融周期与新鲜周期囊胚移植的临床结局分析[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2013, 29(8): 671-4.
- [2] Roque M, Lattes K, Serra S, et al. Fresh embryo transfer versus frozen embryo transfer in *in vitro* fertilization cycles: a systematic review and meta-analysis[J]. Fertil Steril, 2013, 99(1): 156-62.
- [3] Gardner D K, Lane M, Stevens J, et al. Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: towards a single blastocyst transfer[J]. Fertil Steril, 2000, 73(6): 1155-8.
- [4] 刘艳丽,李君芳,张玉超,等. 冻融胚胎移植周期临床结局的影响因素[J]. 郑州大学学报: 医学版, 2017, 52(4): 434-8.
- [5] Franasiak J M, Forman E J, Hong K H, et al. The nature of aneuploidy with increasing age of the female partner: a review of 15 169 consecutive trophoblast biopsies evaluated with comprehensive chromosomal screening[J]. Fertil Steril, 2014, 101(3): 656-63. e1
- [6] 王若琳,钱卫平,周 亮. 高龄对卵母细胞质量的影响[J]. 生

- 殖与避孕 2016 ,36(9):752-7.
- [7] Zhang J, Chang L, Sone Y, et al. Minimal ovarian stimulation (mini-IVF) for IVF utilizing vitrification and cryopreserved embryo transfer [J]. *Reprod Biomed Online*, 2010, 21(4): 485-95.
- [8] Yeung T W, Chai J, Li R H, et al. A randomized, controlled, pilot trial on the effect of dehydroepiandrosterone on ovarian response markers, ovarian response, and *in vitro* fertilization outcomes in poor responders [J]. *Fertil Steril*, 2014, 102(1): 108-15. e1.
- [9] 孙迎利, 张敏, 常秀峰, 等. 人卵裂胚和囊胚的玻璃化冷冻及临床应用 [J]. *中国优生与遗传杂志* 2011, 19(1): 106-9.
- [10] Wang S S, Sun H X. Blastocyst transfer ameliorates live birth rate compared with cleavage-stage embryos transfer in fresh *in vitro* fertilization or intracytoplasmic sperm injection cycles: reviews and meta-analysis [J]. *Yonsei Med J* 2014, 55(3): 815-25.
- [11] Aziminekoo E, Mohseni Salehi M S, Kalantari V, et al. Pregnancy outcome after blastocyst stage transfer comparing to early cleavage stage embryo transfer [J]. *Gynecol Endocrinol*, 2015, 31(11): 880-4.
- [12] 罗清炳, 徐鸿毅, 张鑫, 等. 囊胚和卵裂期胚胎玻璃化冷冻解冻移植周期的妊娠结果分析 [J]. *中国性科学* 2016, 25(11): 100-2.
- [13] 刘格琳, 柳胜贤, 杜翠果. 激素替代法和自然周期法进行冻融胚胎移植的临床观察 [J]. *中国实用医药* 2012, 7(24): 192-3.
- [14] 艾雅. 自然周期和激素替代周期行冻融胚胎移植的临床分析 [D]. 南宁: 广西医科大学 2016.
- [15] Groenewoud E R, Cantineau A E, Kollen B J, et al. What is the optimal means of preparing the endometrium in frozen-thawed embryo transfer cycles? A systematic review and meta-analysis [J]. *Hum Reprod Update*, 2013, 19(5): 458-70.
- [16] 李雪丽, 许琳, 吕芳, 等. 不同子宫内膜准备方案对冻融胚胎移植妊娠结局的影响 [J]. *中华妇幼临床医学杂志: 电子版*, 2017, 13(3): 299-302.
- [17] 石明华, 莫似恩, 邓立, 等. 四种子宫内膜准备方法在玻璃化冻融囊胚移植中的意义 [J]. *中国性科学* 2017, 26(6): 142-6.

The pregnancy outcomes of frozen-thawed embryo transfer in elder patients under different protocols

Tang Youmiao, Wang Xingling, Qiao Yulian et al

(Reproductive Center, The Third Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052)

Abstract Objective To compare the pregnancy outcomes of frozen-thawed embryo transfer (FET) in elder patients under different protocols. **Methods** The data of 1 820 FET cycles in elder patients were analyzed retrospectively. According to the endometrial preparation scheme and the type of embryo transferred, all subjects were divided into four groups: transferring cleavage-stage embryo in natural cycle (group natural cycle A, $n=511$), transferring blastocyst in natural cycle (group natural cycle B, $n=231$); transferring cleavage-stage embryo in hormone replacement treatment (HRT) cycle (group HRT A, $n=811$) and transferring blastocyst in HRT cycle (group HRT B, $n=267$). Embryo implantation rate, clinical pregnancy rate, ectopic pregnancy rate, abortion rate, pre-mature birth rate, live birth rate and multiple pregnancy rate were compared among the four groups. **Results** Group natural cycle A had lower abortion rate and higher live birth rate than group HRT A ($P<0.05$), while there were no significant differences in the rates of embryo implantation, clinical pregnancy, ectopic pregnancy, premature birth and multiple pregnancy between two groups. There were no significant difference in embryo implantation rate, clinical pregnancy rate, ectopic pregnancy rate, abortion rate, premature birth rate, live birth rate and multiple pregnancy rate between group natural cycle B and group HRT B. Embryo implantation rate, clinical pregnancy rate and live birth rate in group natural cycle B and group HRT B were significantly higher than those in group natural cycle A and group HRT A respectively ($P<0.05$), whereas the ectopic pregnancy rate, abortion rate and multiple pregnancy rate showed no significant differences between this groups. **Conclusion** The natural clinical outcomes of the frozen-thawed blastocyst transplantation in elderly patients should be satisfied regardless of natural or HRT cycle, and the natural cycle scheme of freeze-thaw cleavage embryo transplantation is superior to that of HRT. **Key words** frozen-thawed embryo transfer; hormone replacement treatment; cleavage-stage embryo; blastocyst; pregnancy outcome