

改良超长激素替代方案在反复种植失败患者冻融胚胎移植中的应用

周媛萍 王海燕 朱玉蓉 吴晓云

【摘要】 目的 探讨改良超长激素替代方案在反复种植失败(RIF)患者冻融胚胎移植中的应用价值。方法 选取 2016 年 1 月至 2017 年 12 月因胚胎种植失败次数 ≥ 2 次而行冻融胚胎移植的患者 249 例,按照不同的内膜准备方案分为 3 组,A 组 76 例为自然周期,B 组 91 例为激素替代周期,C 组 82 例为改良超长激素替代周期。比较 3 种不同内膜准备方案患者的临床结局。结果 3 组患者的胚胎着床率、临床妊娠率、异位妊娠率、早期流产率均无统计学差异(均 $P > 0.05$),但 C 组患者的胚胎着床率和临床妊娠率较 A 组和 B 组有明显升高趋势。结论 对于 RIF 患者,改良超长激素替代方案可在一定程度上提高临床妊娠率,但是否能达到有统计学意义的结果,有待临床扩大样本进一步研究。

【关键词】 改良超长方案 反复种植失败 冻融胚胎移植

Application of modified super-long hormone replacement program for frozen-thawed embryo transfer in patients with recurrent implantation failure ZHOU Yuanping, WANG Haiyan, ZHU Yurong, et al. Reproductive Medicine Center, Huzhou Women and Children Hospital, Huzhou 313000, China

【Abstract】 **Objective** To evaluate the application of modified super-long hormone replacement program for frozen-thawed embryo transfer in patients with recurrent implantation failure. **Methods** Total 249 cycles of frozen-thawed embryo transfer were performed in patients with ≥ 2 failures at our center from January 2016 to December 2017. Patients were divided into 3 groups, 76 cases received natural cycle(group A), 91 cases received hormone replacement cycle (group B) and 82 cases received modified super-long hormone replacement cycle (group C). The clinical outcomes of three groups were compared. **Results** There were no significant differences in embryo implantation rate, clinical pregnancy rate, ectopic pregnancy rate and early abortion rate among three groups ($P > 0.05$), although the implantation rate and clinical pregnancy rate of group C had a trend of increasing. **Conclusion** The study has not shown the advantage of modified super-long hormone replacement program for patients with repeated transplantation failure, and the further study are needed.

【Key words】 Modified super-long Recurrent implantation Frozen-thawed embryo transfer

反复种植失败(recurrent implantation failure, RIF)是指多次胚胎未能成功植入子宫内膜,是目前辅助生殖技术中的一大难题。目前,对于 RIF 的定义尚无统一标准。临床较为认可将 RIF 定义为连续 2 次及以上种植失败,累计种植优质卵裂期胚胎 ≥ 4 个,或囊胚 ≥ 2 个,未获得临床妊娠^[1-2]。RIF 临床病因多样,其中子宫内膜容受性因素占 RIF 原因的 2/3^[3]。有研究在冻融胚胎移植中加用促性腺激素释放激素激动剂(gon-

nadotrophin-releasing hormone agonist, GnRHa)进行垂体降调节联合激素替代方案,与单纯激素替代方案比较,临床妊娠率高,同时周期取消率低^[4]。本研究考虑到单次大剂量 GnRHa 可能存在过度抑制而影响子宫内膜对外来激素敏感性的问题,采用 2 次低剂量 GnRHa 降调节后再联合激素替代方案(改良超长激素替代方案)进行冻融胚胎移植。通过回顾性研究,比较改良超长激素替代、单纯激素替代和自然周期这 3 种内膜准备方案在 RIF 患者冻融胚胎移植中的临床结局,探讨改良超长激素替代方案在 RIF 患者冻融胚胎移植中的应用价值。

DOI: 10.12056/j.issn.1006-2785.2019.41.11.2018-1282

作者单位:313000 湖州市妇幼保健院生殖医学中心

通信作者:吴晓云, E-mail: wxy2103859@163.com

1 对象和方法

1.1 对象 选取 2016 年 1 月至 2017 年 12 月在本中心因胚胎种植失败次数 ≥ 2 次而行冻融胚胎移植的患者 249 例,按照不同的内膜准备方案分为 3 组,A 组 76 例为自然周期,B 组 91 例为激素替代周期,C 组 82 例为改良超长激素替代周期。纳入标准:(1)既往胚胎种植失败次数 ≥ 2 次,累计移植优质卵裂期胚胎 ≥ 4 个,目前

尚有冻存胚胎的患者;(2)既往宫腔镜检查宫腔无明显异常;排除标准:(1)子宫内膜异位症、子宫腺肌病、多囊卵巢综合征、输卵管积水患者;(2)甲状腺功能异常患者;(3)严重内外科疾病;(4)急性生殖道感染;(5)性激素应用禁忌的患者;(6)夫妻其中一方或双方染色体异常患者。3 组患者一般资料比较差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$),见表 1。

表 1 3 组患者一般资料比较

组别	n	年龄(岁)	BMI	不孕年限(年)	基础 FSH(U/L)	基础 LH(U/L)	基础 E ₂ (pmol/L)	移植周期数(个)
A 组	76	30.57 ± 5.14	21.85 ± 2.50	3.93 ± 2.79	6.94 ± 1.54	5.82 ± 2.34	121.51 ± 44.09	3.17 ± 0.38
B 组	91	30.49 ± 4.85	21.74 ± 2.49	4.07 ± 3.16	6.97 ± 1.59	5.70 ± 2.28	128.47 ± 52.18	3.24 ± 0.52
C 组	82	31.89 ± 5.23	22.32 ± 2.53	4.13 ± 3.26	6.82 ± 1.65	5.47 ± 2.33	132.97 ± 51.92	3.29 ± 0.56
P 值		0.139	0.278	0.912	0.811	0.623	0.349	0.305

注:FSH:卵泡刺激素;LH:黄体生成素;E₂:雌二醇

1.2 方法

1.2.1 内膜准备 A 组:主要针对月经周期规律的患者,于月经第 10 天开始卵泡监测,当优势卵泡直径 $> 14\text{mm}$ 时开始测血 LH、E₂、孕酮(P),血 LH $> 20\text{U/L}$ 时当日下午 15:00 注射促绒毛膜性腺激素(HCG)10 000U(5 000U/支,丽珠制药,批号:150810);B 组:患者均在月经第 2~3 天开始口服戊酸雌二醇(商品名:补佳乐,1mg/片,德国拜耳医药保健公司生产,批号:228B),6mg/d,7d 后加量至 8mg/d,服用 14~21d,子宫内膜厚度 $\geq 7\text{mm}$,E₂ 水平 $\geq 600\text{pmol/L}$ 时给予黄体酮针 60mg/d(20mg/支,仙璐制药,批号:160105)肌肉注射,行内膜转化。C 组:患者均在月经第 2~3 天皮下注射 GnRHa(商品名:贝依,3.75mg/支,丽珠制药,批号:160101)1.875mg,4 周后注射第二针 1.875mg,于第二针后 3 周开始进行激素替代,方案同 B 组。

1.2.2 冻融胚胎移植 A 组于 HCG 注射第 5 天进行卵裂期胚胎移植,B 组和 C 组于内膜转化第 4 天进行卵裂期胚胎移植,移植均在 B 超定位下专人移植,移植管均采用 COOK 移植管(美国库克公司,型号:K-JETS-7019)。

1.2.3 移植后黄体支持 A 组口服地屈孕酮片(商品名:达芙通,10mg/片,美国雅培公司,批号:349369)20mg,2 次/d。B 组和 C 组移植后采用每日黄体酮阴道缓释凝胶(商品名:雪诺同,8%,90mg/支,德国 Merck Serono 公司,批号:C14106)90mg 阴道内塞入+地屈孕酮片 20mg 口服。

1.3 妊娠的判断 移植后 14d 返院测血 β -人绒毛膜促性腺激素(β -HCG), β -HCG $< 10\text{U/L}$ 为未妊娠,停用所有药物, β -HCG $> 10\text{U/L}$ 为生化妊娠,继续同前用药。移植 30d 进行阴道超声检查,超声下见宫内妊娠囊或流

产物见绒毛或宫外见妊娠囊诊断为临床妊娠。明确宫内妊娠后补佳乐逐渐减量至孕 8 周停用,雪诺同于孕 10 周停用,达芙通于孕 12 周停用。若为流产或宫外孕,则及时停药并进行相应处理。持续妊娠者按规范进行定期产前检查。

1.4 观察指标 (1)移植相关指标:包括转化日内膜厚度、平均移植胚胎数、平均移植优质胚胎数;(2)胚胎着床率;(3)临床妊娠率;(4)早期流产率;(5)异位妊娠率。

1.5 统计学处理 应用 SPSS17.0 统计软件。计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,3 组间比较采用方差分析,两两比较采用 q 检验;计数资料组间比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组患者移植相关指标的比较 见表 2。

表 2 3 组患者移植相关指标的比较

组别	n	转化日内膜厚度(mm)	平均移植胚胎数(个)	平均移植优胚胎数(个)
A 组	76	8.30 ± 1.10	1.71 ± 0.46	1.59 ± 0.55
B 组	91	8.42 ± 1.11	1.78 ± 0.42	1.68 ± 0.51
C 组	82	8.59 ± 1.25	1.83 ± 0.38	1.63 ± 0.56
P 值		0.3	0.203	0.564

注:优胚的标准按实验室四级评分法

由表 2 可见,3 组患者在内膜转化日的子宫内膜厚度、平均移植胚胎数、平均移植优胚数的比较均无统计学差异(均 $P > 0.05$)。

2.2 3 组患者妊娠结局的比较 见表 3、图 1。

表 3 3 组患者妊娠结局的比较(%)

组别	n	胚胎着床率	临床妊娠率	早期流产率	异位妊娠率
A 组	76	22.31(29 / 130)	34.21(26 / 76)	15.38(4 / 26)	3.85(1 / 26)
B 组	91	23.46(38 / 162)	35.16(32 / 91)	9.38(3 / 32)	6.25(2 / 32)
C 组	82	29.33(44 / 150)	45.12(37 / 82)	8.10(3 / 37)	2.70(1 / 37)
P 值		0.333	0.282	0.629	0.761

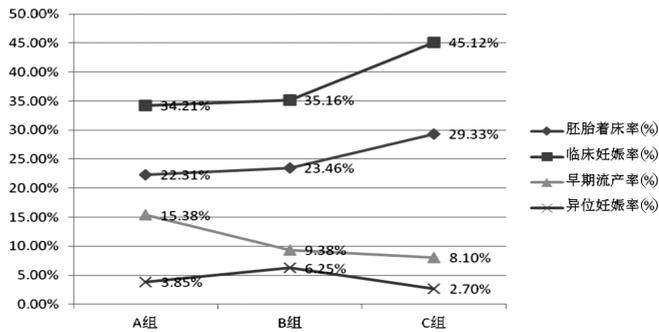


图 1 3 组患者妊娠结局的比较

由表 3、图 1 可见,3 组患者的胚胎着床率、临床妊娠率、早期流产率及异位妊娠率均无统计学差异(均 $P > 0.05$),但从图 1 的曲线趋势上看,C 组患者的胚胎着床率和临床妊娠率较 A 组和 B 组有明显升高趋势。

3 讨论

冻融胚胎移植是辅助生殖技术中的重要组成部分,随着玻璃化冷冻等技术的日益完善,冻融胚胎移植的临床妊娠率也不断提高,但仍有部分患者经历多次移植仍未获得临床妊娠,反复种植失败也由此成为临床棘手的热点问题。胚胎着床是一个复杂的过程,而具有发育潜能的胚胎和子宫内膜容受性是胚胎种植的两大重要因素,其中子宫内膜容受性因素占 RIF 原因的 2/3。因此如何改善子宫内膜容受性成了当前提高冻融胚胎移植临床妊娠率的关键问题。

目前临床上冻融胚胎移植的内膜准备方案主要包括自然周期、激素替代周期、促排卵周期和改良超长激素替代方案。对于初次行冻融胚胎移植的患者,往往根据患者的自身情况选择相应的内膜准备方案,但对于 RIF 患者,如何改善子宫内膜容受性,优化子宫内膜准备方案尤为重要。本文通过回顾性分析得出,对于 RIF 患者,改良超长激素替代方案与单纯激素替代方案和自然周期两种方案相比,胚胎着床率和临床妊娠率无明显差异,但从图 1 的曲线趋势上看,C 组患者的胚胎着床率和临床妊娠率较 A 组和 B 组有明显升高趋势。

单纯激素替代过程中外源性雌激素的应用无法保证垂体被完全抑制,用药期间仍有可能出现优势卵泡生

长,而诱发内源性 LH 峰的出现,影响子宫内膜微环境,降低子宫内膜容受性^[5-6]。而最初在冻融胚胎移植中应用 GnRHa 预处理是源于研究者对赠卵周期中对于受卵者移植前的内膜准备,结果显示冻融胚胎移植周期中使用 GnRHa 进行降调节预处理,不影响子宫内膜微环境的形成,可以改善子宫内膜容受性,使子宫内膜与胚胎同步发育,有益于胚胎的早期种植^[7]。另有研究认为 RIF 的发生与免疫因素有关。对于存在免疫异常的患者,在冻融胚胎移植中使用 GnRHa 降调节,可部分逆转 Th2 类细胞因子,从而使 Th1/Th2 比例达到平衡,由此促进母胎免疫耐受,避免种植失败及妊娠丢失^[8]。近年来,国内外很多学者还发现不仅垂体存在 GnRH 受体,子宫内膜组织可能也存在 GnRH 受体,当 GnRHa 与子宫内膜上的 GnRH 受体结合后可增加子宫内膜细胞黏附分子的表达,抑制胚胎毒性自身抗体的产生,从而改善宫腔环境,提高子宫内膜容受性和胚胎的种植率^[9-11]。国内学者洪宇等^[12]研究表明,GnRH-a 可以增加子宫内膜整合素 $\alpha\gamma\beta3$ 的表达,整合素 $\alpha\gamma\beta3$ 可以通过介导滋养层细胞与子宫内膜上皮细胞之间的相互作用,参与囊胚黏附,使胚胎植入子宫内膜,从而提高子宫内膜容受性,提高胚胎种植率。但本文由于样本量有限,改良超长激素替代方案组临床妊娠率虽高于另外两组,但无统计学差异,仍需临床大样本的进一步研究。

综上所述,对于反复种植失败的患者,改良超长激素替代方案在改善冻融胚胎移植的临床妊娠率上有一定的优势,但仍需临床大样本的研究。

4 参考文献

- [1] 许彬,李艳萍.反复种植失败患者的个体化胚胎移植[J].生殖医学杂志,2017,26(7):630-633. DOI:10.3969/j.issn.1004-3845.2017.07.002.
- [2] Polanski LT,Baumgarten MN,Quenby S,et al. What exactly do we mean by 'recurrent implantation failure'? A systematic review and opinion[J]. Reprod Biomed Online,2014,28(4):409-423. DOI:10.1016/j.rbmo.2013.12.006.
- [3] 蔡美虹,黄睿,梁晓燕,等.垂体降调节对不明原因反复种植失败患者冻融胚胎移植周期的影响[J].实用妇产科杂志,2017,33(5):349-352.
- [4] Ozgur K,Berkkanoglu M,Bulut H,et al. Agonist depot versus OCP programming of frozen embryo transfer:a retrospective analysis of freeze-all cycles[J]. J Assist Reprod Genet,2016,33(2):207-

214. DOI:10.1007/s10815-015-0639-3. Epub 2015 Dec 23.
- [5] Groenewoud ER, Cantineau AE, Kollen BJ, 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):458-470. DOI: 10.1093/humupd/dmw046.
- [6] 方颖,洪黎明,杨晓葵. 降调节联合激素替代周期方案在多次胚胎种植失败患者冻融胚胎移植周期中的应用[J]. 首都医科大学学报, 2015, 35:1-4. DOI:10.3969/j.issn.1006-7795.2015.04.006.
- [7] 吴洪波,李柳铭,李慕军,等. GnRH α 在冻融周期胚胎反复种植失败患者中的应用[J]. 国际生殖健康 / 计划生育杂志, 2016, 35(4):269-272.
- [8] 杜彦,李洁亮,杜静,等. 反复种植失败患者冻融胚胎移植的三种内膜准备方案的分析[J]. 生殖医学杂志, 2017, 26(11):1104-1108. DOI: 10.3969/j.issn.1004-3845.2017.11.011.
- [9] 吴艳霞,杨红玉,常春. 子宫内位症不孕患者腹腔镜术后应用 GnRH- α 对妊娠的影响[J]. 临床误诊误治, 2013, 26(11):68-70. DOI: 10.3969/j.issn.1002-3429.2013.11.029.
- [10] 吴晓燕,李志凌,林虹,等. 多次胚胎移植失败患者采用冻融胚胎移植 3 种内膜准备方案结局分析[J]. 中国计划生育学杂志, 2014, 22(4): 248-251. DOI:10.3969/j.issn.1004-8189.2014.04.
- [11] 刘苾萱,张慧琴,冯书改,等. 改良超长激素替代方案改善胚胎种植失败患者冻融胚胎移植妊娠结局[J]. 第二军医大学学报, 2017, 38(7): 846-851. DOI:10.16781/j.0258-879x.2017.07.0846.
- [12] 洪宇,谢梅青,王良岸,等. GnRH- α 对内异症术后患者黄体中期子宫内膜整合素 $\alpha\gamma 3$ 和 PR 表达的影响[J]. 中华妇产科杂志, 2010, 45: 699-701. DOI:10.3760/cma.j.issn.0529-567x.2010.09.013.

(收稿日期:2019-05-16)

(本文编辑:沈昱平)

(上接第 1132 页)

- [15] 滕晓东,吴德明. 细胞周期蛋白 cyclinD1 与乳腺癌[J]. 医学研究杂志, 2002, 31(5):30-31. DOI:10.3969/j.issn.1673-548X.2002.05.017.
- [16] Sicinski P, Donaher JL, Parker SB, et al. Cyclin D1 provides a link between development and oncogenesis in the retina and breast [J]. Cell, 1995, 82(4):621-630. DOI:10.1016/0092-8674(95)90034-9.
- [17] Peurala E, Koivunen P, Haapasaaari KM, et al. The prognostic significance and value of cyclin D1, CDK4 and p16 in human breast cancer[J]. Breast Cancer Research, 2013, 15(1):R5-R6. DOI:10.1186/bcr3376.
- [18] Mohammadzadeh F, Hani M, Ranaee M, et al. Role of cyclin D1 in breast carcinoma[J]. Journal of research in medical sciences, 2013, 18(12):1021-1025. DOI: 10.1111/joim.12123.
- [19] 胡向阳,饶慧蓉. cyclinD1、Rb 基因蛋白在乳腺癌中的表达[J]. 临床与实验病理学杂志, 1998, 14(6):558-560.
- [20] O'Connor DS, Schechner JS, Adida C, et al. Control of apoptosis during angiogenesis by survivin expression in endothelial cells [J]. American Journal of Pathology, 2000, 156(2):393-398. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)64742-6.
- [21] Mrena J, Wiksten JP, Kokkola A, et al. COX-2 is associated with proliferation and apoptosis markers and serves as an independent prognostic factor in gastric cancer[J]. Tumor Biology, 2010, 31(1):1-7. DOI:10.1007/s13277-009-0001-4.
- [22] Borhane A, Jean-Christophe C, Albert M, et al. Inhibition of HuR and MMP-9 expression in macrophage-differentiated HL-60 myeloid leukemia cells by green tea polyphenol EGCG [J]. Leukemia Research, 2007, 31(9):1277-1284. DOI:10.1016/j.leukres.2006.10.001.
- [23] Yoo PS, Mulkeen AL, Cha CH. Post-transcriptional regulation of vascular endothelial growth factor: Implications for tumor angiogenesis[J]. World J Gastroenterol, 2006, 12(31):4937-4942. DOI:10.3748/wjg.v12.i31.4937.
- [24] Zhao J, Chen J, Lu B, et al. TIP30 Induces apoptosis under oxidative stress through Stabilization of p53 messenger RNA in human hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Research, 2008, 68(11):4133-4141. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-08-0432.
- [25] 沈耿,徐谦,曾星. 猪苓多糖通过 HuR 调节 Cyclin D1 表达抑制 A549 细胞增殖[J]. 中草药, 2016, 47(6):944-948. DOI:10.7501/j.issn.0253-2670.2016.06.015.
- [26] 张瑞雨,吕智美,刘毅,等. 人肾脏系膜细胞内 mRNA 稳定因子 HuR 蛋白对细胞周期蛋白 cyclinD1 转录后表达的调节[J]. 山东大学学报(医学版), 2012, 50(2):47-52. DOI:10.6040/j.issn.1671-7554.2012.02.011.
- [27] Guo X, Connick MC, Vanderhoof J, et al. MicroRNA-16 Modulates HuR Regulation of Cyclin E1 in Breast Cancer Cells[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2015, 16(4):7112-7132. DOI:10.3390/ijms16047112.
- [28] Schroeder R, Waldsich C, Wank H, et al. HuR regulates cyclin A and cyclin b1 mRNA stability during cell proliferation[J]. Embo Journal, 2014, 19(10):2340-2350. DOI:10.1093/emboj/19.10.2340.

(收稿日期:2019-01-13)

(本文编辑:马雯娜)