

胚胎移植管血染情况对胚胎移植临床妊娠率的影响

邱 绮, 贾 佳, 黄 佳, 林海燕, 李 予, 杨冬梓, 张清学*

(中山大学孙逸仙纪念医院妇产科生殖中心, 广东 广州 510120)

摘要:【目的】探讨胚胎移植管血染情况对于体外受精-胚胎移植(IVF-ET)中胚胎种植率及临床妊娠率的影响。【方法】回顾性分析 2011 年 1 月至 2012 年 12 月于中山大学孙逸仙纪念医院生殖医学中心行黄体期长方案 IVF, 并行新鲜周期胚胎移植患者的资料, 按照胚胎移植时移植管是否血染及血染程度分组, 比较各组的助孕情况和结局。【结果】一共纳入 1 762 个 IVF 周期, 其中血染组共有 593 个周期, 无血染组有 1 169 个周期。两组患者的年龄、不孕年限、基础 FSH、HCG 日内膜厚度、获卵数、Gn 总数、2PN 受精率及移植胚胎数均没有统计学差异($P > 0.05$), 血染组种植率低于无血染组(31.3% vs. 36.5%, $P = 0.001$); 血染组临床妊娠率低于无血染组(48.9% vs. 55.1%, $P = 0.014$)。血染组按血染程度分为少许血染、中-多量血染两组, 种植率及临床妊娠率在两组间无明显统计学差异($P = 0.503$, $P = 0.277$)。多因素 Logistic 回归分析显示移植管血染是影响临床妊娠的危险因素(OR = 0.75, 95% CI 0.6-0.9)。【结论】移植管血染可降低胚胎种植率、临床妊娠率, 移植管血染程度对胚胎种植率、临床妊娠率的影响有待于进一步研究。

关键词: 体外受精-胚胎移植; 血染; 种植率; 临床妊娠率

中图分类号: R711.74 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-3554(2014)03-0402-05

Effect of Blood Present on ET Catheter on Success Rates of IVF

QIU Qi, JAI Jia, HUANG Jia, LIN Hai-yan, LI Yu, YANG Dong-zi, ZHANG Qing-xue*

(Reproductive Center, Sun Yat-sen Memorial Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China)

Abstract:【Objectives】 To investigate the effect of the embryo transfer catheter bloody staining during embryo transfer on their clinical outcomes.【Methods】 Retrospective analysis about patients who underwent long protocol in vitro fertilization (IVF) cycle from January 2011 to December 2012 in Reproductive Center of Sun Yat-sen Memorial Hospital. These transfers were divided into two groups according to whether the blood present on the transfer catheter or not. Further analysis was done in the subgroups according to the degree of blood on the ET catheter.【Results】 In 1169 cycles without bloody staining on the catheter during ET, 593 cycles were associated with bloody staining. The implantation rate (IR) and clinical pregnancy rate (CPR) in the group without bloody staining were higher than the group with bloody staining (36.5% vs 31.3%, $P = 0.001$, and 55.1% vs 48.9%, $P = 0.014$). While no significant difference was found in IR and CPR among different groups of bloody staining degree. Multivariable logistic regression analysis revealed that transfer catheter bloody staining was a dangerous factor influencing clinical outcome.【Conclusions】 Bloody staining on the embryo transfer catheter may decrease the embryo implantation and clinical pregnancy rate. However the degree of bloody staining may not worsen the clinical outcome.

Key words: IVF-ET; transfer catheter bloody staining; implantation rate; clinical pregnancy rate

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2014, 35(3):402-406]

体外受精-胚胎移植技术(in vitro fertilization-embryo transfer, IVF-ET)作为不孕症重要的治疗

手段已获得长足的进步, 然而每个促排卵周期的临床妊娠率波动于 30% ~ 40%^[1-2]。胚胎移植作为

收稿日期: 2013-12-27

基金项目: 广东省自然科学基金(S2011010004662)

作者简介: 邱绮, 硕士研究生, E-mail: catharine_qq@126.com; * 通信作者: 张清学, 主任医师, E-mail: zhangqingxue666@aliyun.com

(IVF-ET)中最重要的步骤之一,其对助孕结局的影响越来越受到重视^[3-4]。一次成功的胚胎移植过程包括移植管顺利、无损伤的通过宫颈,将胚胎放置在最适宜的宫腔部位。临床资料证实移植过程采用超声引导、采用质地较软的移植管等有利于提高临床妊娠率^[5-6]。移植管血染是否影响胚胎种植,降低妊娠率,现有的临床资料较为有限。尽管Phillips等^[7]对移植管血染与妊娠率关系进行荟萃分析指出两者无明显相关性,然而纳入分析的研究仅5篇,其中发生移植管血染的例数总共为213例,样本例数较小^[8];另外不同中心对于移植管血染的描述及定义不同^[7];且该综述未纳入部分阳性结果研究报道^[9-10],可能影响对两者关系的正确判断。本研究旨在通过对单中心统一标准下较大样本资料的分析,探讨移植管血染与胚胎种植及临床妊娠率的影响,为同道们提供参考。

1 材料与方法

1.1 研究对象

收集2011年1月至2012年12月在中山大学孙逸仙纪念医院生殖中心行长方案IVF的1762个周期的助孕资料。根据移植管血染情况分为无血染、少量血染(仅移植管尖血染)、中度血染(移植管尖及管壁均血染)或重度血染(血自宫颈外口溢出)。血染组共593个周期,其中少量血染组364周期,中度血染组211周期,重度血染组18周期。考虑重度血染组较其他两组样本量明显减少,为减少偏倚,故将中度及重度血染组合并为中-重度血染组,共229周期。选择同期行黄体期长方案IVF助孕,年龄匹配、移植管无血染共1169个周期作为对照组。

1.2 研究方法

所有患者均采用黄体期长方案,月经规则者于黄体中晚期(月经第18~21天);月经不规律者服用短效避孕药,用药第14天,予促性腺激素释放激素激动剂(gonadotropin releasing hormone agonist, GnRHa)注射行垂体降调节。2周后抽血及B超确认达到降调节标准后予促性腺激素(gonadotropin, Gn)启动,Gn使用4~5d后经阴道超声监测卵泡生长情况,根据卵泡数目和发育情

况调整促排卵药物用量,当至少有一个卵泡直径 ≥ 18 mm时,当晚注射人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin, HCG)10 000 U,36 h后经阴道超声引导下穿刺取卵。取卵前患者丈夫需禁欲3~7 d,手淫法取精,评估精液质量,行体外受精,受精后16~18 h观察受精情况,取卵后72 h挑选1~3个优质胚胎移植。

移植日患者充盈膀胱,取膀胱截石位。窥器暴露宫颈,用生理盐水拭净宫颈及周围穹窿部分分泌物。腹部B超引导下置COOK®胚胎移植管外管于宫颈内口处,实验室人员用内管吸取胚胎及培养液约20 μ L,交给移植医师,移植医师将内管沿外管送至宫腔中部,缓慢注入培养液及胚胎,停留约10 s后缓慢取出内外管,判断、记载移植管血染情况,并送回实验室检查有无胚胎存留。若发现胚胎遗留立即行第2次移植。

取卵后每天肌注黄体酮60 mg行黄体支持。移植后第14天验晨尿HCG,阳性者为生化妊娠,移植后5周行B超检查,见妊娠囊及心管搏动者为临床妊娠。

1.3 临床资料收集

患者的年龄、不孕年限、基础FSH、HCG日内膜厚度、获卵数、Gn总量、受精数、正常受精数、移植胚胎数、移植时移植管的血染情况、ET后2周血 β -HCG水平、妊娠囊数等。

1.4 统计方法

采用SPSS20.0统计软件,Kolmogorov-Smirnov行正态性检验,符合正态分布数据采用均数 \pm 标准差表示,定量资料组间均数比较采用成组 t 检验及单因素方差分析,Pearson χ^2 test用于定性资料组间比较。设定 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。数据通过多自变量Logistic回归分析,计算其OR值及其95%置信区间。设定 $P < 0.05$ 表明自变量与因变量有关。

2 结果

2.1 两组基本情况及助孕结局比较

血染组共有593个周期,无血染组有1169个周期,两组资料符合正态分布,女方年龄、不孕年限、基础FSH、HCG日内膜厚度、获卵数、Gn总数、

2PN 受精率、移植胚胎数均没有统计学差异 ($P > 0.05$), 血染组的种植率及临床妊娠率均低于无血染组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, 表 1)。

2.2 不同血染程度助孕结局比较

根据血染程度的不同, 把血染组分为少许血染、中-重度血染, 其中少许血染 364 例, 中-重度血染 229 例; 两组资料女方年龄、不孕年限、基础 FSH、HCG 日内膜厚度、获卵数、Gn 总数、2PN 受

表 1 两组患者的基本情况及妊娠结局比较
Table 1 Basic characteristics and outcomes of two groups

	Blood	No blood	<i>P</i> value
No. of cycles	593	1 169	
Female age/years	32.72 ± 4.41	32.77 ± 4.03	0.811
Duration of infertility/years	4.69 ± 3.31	4.93 ± 3.52	0.158
Basal FSH/(IU/L)	8.65 ± 3.47	8.68 ± 2.65	0.829
Thickness of Endometrium on HCG day/mm	11.42 ± 2.83	11.33 ± 2.64	0.524
No. of oocytes retrieved	10.78 ± 5.47	11.04 ± 5.29	0.283
Total Gn dosage/IU	2 292.92 ± 863.64	2 330.38 ± 891.69	0.400
Fertilization rate of 2PN/%	69.32 ± 19.40	68.94 ± 19.51	0.696
No. of embryos transferred	2.22 ± 0.54	2.21 ± 0.52	0.896
Implantation rate/%	31.3	36.5	0.001
Clinical pregnancy rate/%	48.9	55.1	0.014

表 2 不同血染程度组患者基本情况及妊娠结局比较
Table 2 Effect of different degrees of blood on IR and CPR

	Mild blood	Moderate- Severe blood	<i>P</i> value
No. of cycles	364	229	
Female age/years	32.53 ± 4.41	33.09 ± 4.43	0.138
Duration of infertility/years	4.71 ± 3.61	4.92 ± 3.17	0.243
Basal FSH/IU/L	8.79 ± 3.74	8.44 ± 2.89	0.239
Thickness of endometrium on HCG day/mm	11.68 ± 2.87	11.26 ± 2.73	0.083
No. of oocytes retrieved	10.64 ± 5.41	10.97 ± 5.65	0.446
Total Gn dosage/IU	2 303.88 ± 864.48	2 275.65 ± 827.81	0.699
Fertilization rate of 2PN/%	69.58 ± 19.14	68.91 ± 19.99	0.683
No. of embryos transferred	2.19 ± 0.52	2.27 ± 0.57	0.089
Implantation rate/%	30.5	32.3	0.503
Clinical pregnancy rate/%	47.8	50.7	0.277

IR; implantation rate; CPR; clinical pregnancy rate.

表 3 对妊娠结局影响变量的 Logistic 回归分析结果
Table 3 The The logistic regression to analyze the effect of variables on clinical outcome

Variable	B	Wald	<i>P</i>	Exp(B)	95%CI. for EXP(B)
Age	-0.1	45.2	< 0.001	0.9	0.88-0.93
Blood	-0.3	6.3	0.01	0.75	0.6-0.9
ET two embryos	0.9	13.1	< 0.001	2.6	1.5-4.2
ET three embryos	1.2	19.1	< 0.001	3.3	1.9-5.5

精率、移植胚胎数、种植率及临床妊娠率均没有统计学差异($P > 0.05$, 表 2)。

2.3 移植管血染与临床妊娠率的关系

为进一步探讨移植管血染与临床妊娠率之间的关系,采用多自变量 Logistic 回归分析筛选影响妊娠结局的变量,是否临床妊娠为自变量,年龄、基础 FSH、获卵数、移植管血染与否、内膜厚度、移植胚胎数为因变量。采用年龄、基础 FSH、获卵数、内膜厚度为连续型定量变量,移植管血染与否、移植胚胎数为有序多分类变量,采用逐步向前法建立 logistic 回归方程。结果显示(表 3),年龄、移植管血染与否与临床妊娠结果负相关,OR (95%CI) 分别为 0.9(0.88-0.93),0.75(0.6-0.9)。移植胚胎数与妊娠结局呈正相关,而基础 FSH、获卵数、子宫内膜厚度对新鲜周期临床妊娠与否的影响则未具有统计学意义。

3 讨 论

成功的胚胎移植过程包括移植管顺利、无损伤的通过宫颈,将胚胎放置在适宜的宫腔位置。胚胎移植是辅助生殖技术过程最重要的步骤之一。围绕如何优化移植技术,提高种植率、妊娠率方面,近年来进行了大量的相关研究,如是否需要模拟移植、经腹或经阴道 B 超引导的对比、是否需要充盈膀胱、胚胎放置的位置、移植管停留时间等。尽管如此,仍有部分移植周期为困难移植,表现为移植过程耗时长;需要额外工具(宫颈钳、导管铁芯、宫腔探针等)辅助;造成患者明显不适等。移植困难已经被证实对胚胎种植率、临床妊娠率、活产率等造成负面影响^[4]。然而对于移植困难的描述常常较为主观,而胚胎移植管血染的出现从一个侧面反映了移植过程的难易程度,成为相对客观的指标之一。而胚胎移植管血染对种植率、临床妊娠率的影响仍然存在争议,我们的研究旨在评估移植管血染对种植率及妊娠率的影响。

在既往的研究中,Sallam 等^[11]回顾性分析了 655 名患者共 783 个移植周期,其中 236 周期移植管血染,血染组临床妊娠率显著降低(16.53% vs. 23.03%, $P < 0.05$)。Singh 等^[3]对 2008 年 1 月至

2010 年 12 月在其中心行 IVF/ICSI 助孕的患者共 342 周期的移植过程进行分析,其中无血染 241 周期,外管血染 71 周期,管尖血染 30 周期,其中管尖血染组临床妊娠率较无血染组显著降低(13.3% vs. 24.1%, $P = 0.032$)。然而 Silberstein 等^[12]在一项对于软质内芯及硬质内芯移植管的选择与妊娠结局关系的研究中指出,虽然软质内芯移植管血染的发生率较硬质内芯显著降低(15% vs. 55%),但其临床妊娠率无明显差异(50% vs. 45%)。上述结论的不同可能由于样本量的差异、不同中心对于血染的定义不同,以及所纳入研究的患者人群的基础情况存在差异所致。

目前,对于血染的程度,国内外尚缺乏统一的标准,既往文献中对于血染的定义均为等级资料,缺乏量化的标准,难以完全借鉴^[7]。因此我们采用的是依据本中心自己的标准所进行的相对量化,即少量血染指仅移植管尖血染、中度血染指移植管尖及管壁均血染,重度血染指出血自宫颈外口溢出。采用此种半定量标准,移植者在移植后即可根据移植时情况确定分度,方便快捷,有利于不同移植者之间分度的准确性及统一性但由于不同中心采用的胚胎移植管类型不尽相同,此标准的具体应用仍需结合各中心的实际情况。我们在分析中采用“有、无血染”二分类及血染程度多分类分别进行了比较,发现在患者基本情况相似条件下,移植管血染降低胚胎种植率(31.3% vs. 36.5%)及临床妊娠率(48.9% vs. 55.1%)。而在不同血染程度组间种植率及临床妊娠率的差异无统计学意义。然而重度血染组例数相对其他两组明显少,可能影响了对于结果的判断。在临床实践中医师尽量避免困难移植的出现,甚至存在因操作困难移植取消等情况,因此单个中心进行分析移植管血染程度对临床妊娠率的影响存在一定局限性。需要多个中心采用相同的判断标准汇总数据进行分析,以期明确血染程度对于临床妊娠率的影响情况。

从病理生理学角度来看,胚胎移植管的血液来源有 2 个:宫颈出血及子宫出血。宫颈出血来源于移植管通过宫颈管时的机械损伤或者因炎症如细菌、病毒感染等引起的宫颈管内膜组织脆性的增加。子宫出血则是子宫壁或内膜损伤的表现,通

常与移植困难有关。一旦出现机械性的损伤,内膜血供受到影响、局部炎症因子的产生及释放,将妨碍胚胎着床。而损伤也可能导致前列腺素及缩宫素的释放,引起子宫收缩从而降低种植率。由创伤造成的宫腔内出血既妨碍胚胎的着床又导致子宫收缩,将显著降低临床妊娠率。本研究表明,移植管血染将会降低胚胎种植率及临床妊娠率。而移植管血染程度对胚胎种植率、临床妊娠率的影响有待于进一步研究。本研究通过较大样本量临床资料的对照研究证实移植管血染是影响临床妊娠的危险因素,故在胚胎移植过程中,应尽量使移植管轻柔、无损伤的到达宫腔以减少可能对妊娠结局的不利影响。

参考文献:

- [1] Gunby J, Bissonnette F, Librach C, et al. Assisted reproductive technologies (ART) in Canada: 2007 results from the Canadian ART Register [J]. *Fertil Steril*, 2011, 95(2): 542-547. e1-10.
- [2] Sunkara SK, Rittenberg V, Raine-Fenning N, et al. Association between the number of eggs and live birth in IVF treatment: an analysis of 400 135 treatment cycles [J]. *Hum Reprod*, 2011, 26(7): 1768-1774.
- [3] Singh N, Gupta P, Mittal S, et al. Correlation of technical difficulty during embryo transfer with rate of clinical pregnancy [J]. *J Hum Reprod Sci*, 2012, 5(3): 258-261.
- [4] Listijono DR, Boylan T, Cooke S, et al. An analysis of the impact of embryo transfer difficulty on live birth rates, using a standardised grading system [J]. *Hum Fertil (Camb)*, 2013, 16(3): 211-214.
- [5] Mains L, Van Voorhis BJ. Optimizing the technique of embryo transfer [J]. *Fertil Steril*, 2010, 94(3): 785-790.
- [6] Mansour RT, Aboulghar MA. Optimizing the embryo transfer technique [J]. *Hum Reprod*, 2002, 17(5): 1149-1153.
- [7] Phillips JA, Martins WP, Nastri CO, et al. Difficult embryo transfers or blood on catheter and assisted reproductive outcomes: a systematic review and meta-analysis [J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2013, 168(2): 121-128.
- [8] Bodri D, Colodron M, Garcia D, et al. Transvaginal versus transabdominal ultrasound guidance for embryo transfer in donor oocyte recipients: a randomized clinical trial [J]. *Fertil Steril*, 2011, 95(7): 2263-2268, 2268.e1.
- [9] Goudas VT, Hammitt DG, Damario MA, et al. Blood on the embryo transfer catheter is associated with decreased rates of embryo implantation and clinical pregnancy with the use of in vitro fertilization-embryo transfer [J]. *Fertil Steril*, 1998, 70(5): 878-882.
- [10] Visser DS, Fourie FL, Kruger HF. Multiple attempts at embryo transfer: effect on pregnancy outcome in an in vitro fertilization and embryo transfer program [J]. *J Assist Reprod Genet*, 1993, E10(1): 37-43.
- [11] Sallam HN, Agameya AF, Rahman AF, et al. Impact of technical difficulties, choice of catheter, and the presence of blood on the success of embryo transfer--experience from a single provider [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2003, 20(4): 135-142.
- [12] Silberstein T, Weitzen S, Frankfurter D, et al. Cannulation of a resistant internal os with the malleable outer sheath of a coaxial soft embryo transfer catheter does not affect in vitro fertilization-embryo transfer outcome [J]. *Fertil Steril*, 2004, 82(5): 1402-1406.

(编辑 徐杰)