

冷冻胚胎解冻移植 264 个周期临床分析

魏春霞, 于丛一, 麦美琪, 李 予, 古少君, 李翠明, 杨冬梓, 张清学
(中山大学附属第二医院妇产科生殖中心, 广东 广州 510120)

摘要: 【目的】探讨影响冷冻胚胎解冻移植妊娠率的因素。【方法】收集 2001 年 11 月到 2006 年 1 月 264 位病人在本中心进行冷冻胚胎解冻移植 264 个周期的资料, 进行回顾分析。【结果】264 个周期中有 67 个周期妊娠, 周期妊娠率 25.38%。妊娠组平均每次移植胚胎个数多于非妊娠组 (2.84 ± 0.57 vs 2.45 ± 0.82 , $P < 0.05$), 移植 1 个、2 个、3 个及以上冷冻解冻胚胎的妊娠率分别为 9.38%、18.67%、38.22%, 其中移植 3 个及以上胚胎者的妊娠率高于移植 1 个和 2 个胚胎者的妊娠率 ($P < 0.05$)。胚胎解冻后体外培养 24 h 平均细胞数增长率 $\geq 50\%$ 者的妊娠率 (34.43%) 高于增长率 $< 50\%$ 者 (17.28%), $P < 0.05$, 至少移植一个胚胎细胞数在 6 细胞及以上的周期妊娠率明显高于移植胚胎细胞数小于 6 细胞的周期 (35.85% vs 16.67%, $P < 0.05$); 移植 级胚胎与 级胚胎的妊娠率分别为 35.26%、17.58%, $P < 0.05$ 。新鲜移植周期妊娠者其冻融周期妊娠率为 42.86%, 而在新鲜移植周期未妊娠者其冻融周期妊娠率为 28.31%, 差异有显著性, $P < 0.05$ 。自然周期、激素替代周期妊娠率分别为 28.21%、21.30%, 无统计学差异。LH 峰日内膜厚度及类型无统计学差异。【结论】移植胚胎的个数、质量、发育潜能、原新鲜周期的结局影响冷冻胚胎移植能否妊娠。

关键词: 胚胎冷冻; 胚胎移植; 妊娠

中图分类号: R711.75

文献标识码: A

文章编号: 1672-3554(2007)01-0101-04

A Retrospective Analysis of 264 Thawed Embryo Transfer Cycles

WEI Chun-xia, YU Cong-yi, MAI Mei-qi, LI Yu, GU Shao-jun, LI Cui-ming,
YANG Dong-zi, ZHANG Qing-xue

(Department of Obstetrics and Gynecology, Reproductive Medical Centre, The Second Affiliated Hospital,
SUN Yat-sen University, Guangzhou, 510120, China)

Abstract: 【Objective】To analyze the impact of a number of factors on the pregnancy rate of frozen/thawed embryo transfer. 【Methods】A database was analyzed retrospectively concerning frozen/thawed embryo transfer cycles from November 2001 to January 2006 which covered 264 cycles in 264 patients. 【Result】The pregnancies occurred in 67 cycles of all 264 cycles. The pregnancy rate per cycle was 25.38%. There was significant difference in the number of embryos transferred each cycle between pregnant and non-pregnant group (2.84 ± 0.57 vs 2.45 ± 0.82 , $P < 0.05$). The pregnancy rate were 9.38%, 18.67%, and 38.22% in the cycles of transferred 1, 2, and no less than 3 embryos respectively ($P < 0.05$). The pregnancy rate was higher in those cycles which cells of embryos increased no less than 50 percent or which cells of embryos were no less than six cells at transfer. Those cycles that conception occurred in previous fresh cycles had high pregnancy rate ($P < 0.05$). The pregnancy rate were 28.21% and 21.30% in spontaneous cycles and HRT cycles respectively ($P > 0.05$). There was no significant difference of the endometrial thickness and the echogenic pattern on the day of LH surge between pregnant and non-pregnant group. 【Conclusion】The pregnancy rate was associated with the number of embryos transferred, quality of embryos, potential of embryos development, outcome of previous fresh cycle.

Key words: embryo freezing; embryo transfer; pregnancy

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2007, 28(1): 101-104]

收稿日期: 2006-06-25

基金项目: 卫生部临床项目重点学科(2004年)及广州市科技局重点科研项目(2004Z1-E0101)

作者简介: 魏春霞(1976-), 女, 江西赣州人, 硕士研究生; 张清学, 副教授, 硕士生导师, 通讯作者, 电话: 020-81332233, E-mail: zhangqingxue@tm.com

自从 1978 年第一例试管婴儿成功后, 辅助生育技术不断发展。胚胎冷冻是辅助生育技术中的又一进步, 它增加每次促排卵周期的累积妊娠率, 减少促排卵的次数, 同时在有可能发生卵巢过度刺激综合征或其他不适合移植胚胎的周期, 可将胚胎冷冻以后再移植, 另外在需要进行胚胎种植前遗传学诊断时, 胚胎可先予冷冻, 等到了了解了胚胎的情况后再决定是否移植。目前国内外报道冷冻胚胎与新鲜胚胎移植周期的妊娠率差别很大, 影响冷冻胚胎移植成功的因素很多, 如年龄、胚胎评分及前次新鲜周期是否妊娠等^[1, 2]。本文对 2001 年 11 月到 2006 年 1 月 264 位病人在本中心进行 264 个冷冻胚胎解冻移植周期的资料进行总结分析, 探索可能影响冷冻解冻胚胎移植妊娠率的因素, 供同道们参考。

1 材料与方 法

1.1 资料来源

收集 2001 年 11 月到 2006 年 1 月 264 位病人在本中心进行 264 个冷冻胚胎解冻移植周期的资料总结分析。

1.2 方 法

超排卵方案采用长方案或短方案^[1], 将剩余胚胎分别于取卵后第 2 天或第 3 天进行冷冻, 2~8 细胞期胚胎冷冻的标准为: 1~2 级的高质量胚胎, 细胞碎片 <20%。胚胎冻融方法采用慢速冷冻和快速复温。解冻胚胎后在体外分别培养 2~4 h 或 24 h 后行胚胎移植。胚胎解冻后, 卵裂球成活率 50%, 认为该胚胎复苏。冷冻胚胎移植周期可以采用自然周期、雌孕激素替代周期和其他周期 (GnRH_a+HRT 周期/超排周期), 自然周期为 B 超监测排卵及内膜厚度, 尿 LH 峰出现后 48~72 h 行胚胎解冻移植; 雌孕激素替代周期服用雌激素 (补佳乐 2~8 mg/d), 当内膜厚度 8 mm 时, 加用孕激素 (黄体酮 40~60 mg/d, 肌内注射), 3 d 后行解冻胚胎移植。移植后部分病人加用黄体支持, 方法包括黄体酮肌注、HCG 肌注或两者结合, 15 d 后尿妊娠试验, B 超见到妊娠囊为临床妊娠。

1.3 统计方法

采用 SPSS 软件包统计。均数 ± 标准差, t 检验, ² 检验, 检验水准 =0.05。

2 结 果

2.1 一般情况

共收集 264 例病人, 年龄 23~51(31.62 ± 4.52) 岁, 不孕年限 1~23 (5.97 ± 3.08) 年, 进行 264 个冷冻胚胎移植周期, 共解冻 1 381 个胚胎, 复苏胚胎 1 092 个, 复苏率 79.07%; 移植胚胎 672 个, 移植胚胎 1~4 (2.55 ± 0.80) 个/周期, 共有 67 例妊娠, 周期妊娠率 25.38%, 种植率为 9.97%。将其分为妊娠组和非妊娠组, 妊娠组和非妊娠组的年龄、不孕年限、LH 峰日的内膜厚度、移植日雌二醇与孕酮水平无统计学差异 (表 1)。264 个冻融周期中, 有 20 个周期解冻后培养 2~4 h 移植, 妊娠率 15%, 低于培养 24 h (244 个周期) 的妊娠率 (26.23%), 但无统计学差异, P > 0.05。

表 1 妊娠和非妊娠病人的一般情况

Table 1 General condition of the patients with and without pregnancy

	Pregnancy (n=77 cycles)	Non-pregnancy (n=187 cycles)	t	P
Age (year)	30.7 ± 4.4	31.9 ± 4.4	1.94	0.05
The duration of infertility	5.5 ± 2.7	6.1 ± 3.2	1.52	0.13
No. of embryos transferred/ cycle	2.8 ± 0.6	2.4 ± 0.8	-4.25	0.001
Endometrial thickness on the day of LH surge (mm)	9.6 ± 2.0	9.9 ± 2.1	0.90	0.37
Oestradiol on the day of ET (ng/L)	160 ± 80	166 ± 99	0.26	0.79
Progesterone on the day of ET (µg/L)	11.2 ± 8.0	9.2 ± 5.9	-1.18	0.24

2.2 对本冻融周期结果的影响

264 个冻融周期助孕情况见表 2。妊娠组的移植胚胎数多于未妊娠组, P < 0.05。移植 3 个及以上胚胎者其妊娠率高于移植 1 个及 2 个胚胎者的妊娠率, P 值分别为 0.002、0.003。胚胎解冻后 24 h 细胞数增长率 50% 者与增长率 < 50% 比较, 细胞增长率 50% 者较高, P < 0.05。有 36 个在前新鲜周期妊娠, 本冻融周期的妊娠率明显高于新鲜移植周期未妊娠者的冻融周期妊娠率, P = 0.03; 冻融周期移植评分较好的胚胎 (day 3 胚胎细胞数 6

或 day 2 胚胎细胞数=4, 级胚胎) 有较高的妊娠率, 与移植评分较差的胚胎比较有显著差异, P 值分别为 0.006 和 0.003。

2.3 子宫内膜对冷冻胚胎移植后妊娠率的影响

FET/TET 周期中各种子宫内膜准备方法包括

自然周期、激素替代周期。本资料 156 个自然周期, 108 个激素替代周期, 妊娠率分别 28.21%、21.30%, 自然周期的妊娠率较高, 但无统计学差异。妊娠组与非妊娠组的 LH 峰日子宫内膜厚度及类型无差别。

表 2 妊娠和非妊娠病人的助孕资料

Table 2 Clinical data in patients with and without pregnancy

	Non-pregnancy (n=187Cycles)	Pregnancy (n=77 cycles)	Pregnancy rate	²	P
Cycles of 1 embryo transferred	29	3	9.38%		
Cycles of 2 embryos transferred	61	14	18.67%		
Cycles of 3 embryos transferred	97	60	38.22%	16.29	0.001
Cells of embryos increased 50%/24h	120	63	34.43%		
Cells of embryos increased <50%/24h	67	14	17.28%	7.99	0.005
No. of day3 embryo cells 6 or day2 embryo cells=4	127	65	35.85%		
No. of embryo cells <6	60	12	16.67%	7.46	0.006
Grade embryos	112	61	35.26%		
Grade embryos	75	16	17.58%	9.02	0.003
Pregnancy in previous fresh cycle	20	16	44.44%		
Non-pregnancy in previous fresh cycle	167	61	26.75%	4.7	0.03
Spontaneous cycles	112	44	28.21%		
HRT cycles	85	23	21.30%	1.61	0.21
Compact blastmere or blastocyst transferred	35	24	44.68%		
Non- Compact blastmere or non- blastocyst transferred	152	53	25.85%	4.87	0.027
The echogenic pattern: A type	146	62	29.81%		
The echogenic pattern: B or C type	41	15	26.79%	0.20	0.66

3 讨 论

胚胎冷冻复苏技术的出现使得一次取卵可进行多个周期的胚胎移植, 从而增加妊娠的机会。但与新鲜胚胎相比, 冷冻胚胎的临床妊娠率及胚胎种植率均较低^[2]。本研究中冷冻胚胎的临床妊娠率为 25.38%, 与其他中心的研究结果相近。

3.1 移植方案及内膜厚度、类型对妊娠的影响

本研究中, 采用自然周期、激素替代周期的妊娠率没有统计学差别, 与 Oehninger^[3]的研究结果一致, 其认为自然周期与雌孕激素替代周期的妊娠率没有差别, 支持移植周期的方案对冻胚移植后的结果没有影响的结论。有学者报道, IVF-ET 周期超声下子宫内膜呈三线征回声者妊娠率较高, 但对冷冻周期的影响目前尚未定论。我们在 LH 峰日用 B 超检查子宫内膜, 发现三线征内膜与

非三线征内膜的妊娠率没有统计学差异。有人认为在 IVF-ET 中子宫内膜过厚或过薄都会降低妊娠率, 而有学者认为在冷冻胚胎的自然周期中内膜 <8 mm 不会影响妊娠率。本研究中, 妊娠组和非妊娠组内膜厚度在 9 mm 左右, 没有显著差异, 可能与我们在 B 超检查发现内膜过薄 (LH 峰日内膜 <6 mm) 时均建议患者取消周期有关。

3.2 移植胚胎的数目和质量对妊娠的影响

大多数学者认为移植胚胎的数目越多, 妊娠率也越高, 但多胎妊娠率也显著升高^[4]。我们的研究显示妊娠组平均每次移植胚胎个数多于未妊娠组, 移植 3 个及以上冻融胚胎的妊娠率最高。WANG^[5]的研究发现移植 2 个与移植 3 个冻融胚胎者的妊娠率没有明显差别, 而多胎率却有所下降。我们进一步分析发现, 至少移植一个优质胚胎 (day3 胚胎细胞数 6 或 day2 胚胎细胞数=4, 级胚胎) 的 132 个周期中, 移植一个或二个胚胎的

妊娠率为 29.03%，移植三个及以上的妊娠率为 42.57%，两组间没有统计学差异，提示当胚胎质量较好时，移植一个或二个胚胎并不会明显降低临床妊娠率。在自然妊娠过程中，受精卵从输卵管运输到子宫腔，需要经过卵裂球、融合及囊胚，胚胎进入宫腔时已分裂发育成早期囊胚，囊胚与子宫内膜发育同步，这才符合种植的生理要求。有研究表明囊胚移植妊娠率可高达 40%~50%。本研究中 59 个周期冷冻解冻后有囊胚或出现细胞融合，妊娠率明显高于解冻后无囊胚或细胞无融合的周期。

目前主要用形态学参数评估胚胎质量，如卵裂球的数目、大小、形状、有无碎片等，我们发现移植质量好的胚胎 (day3 胚胎细胞数 ≥ 6 或 day2 胚胎细胞数 ≥ 4 ，级胚胎) 其妊娠率高于移植质量较差的胚胎，这与在 IVF-ET 中胚胎质量影响妊娠的结果一致，有助于我们在挑选胚胎时根据患者实际情况和胚胎质量，综合考虑移植胚胎的数目，以利于提高妊娠率的同时降低多胎妊娠率。

3.3 胚胎解冻与移植间隔时间对妊娠的影响

Guerif 等^[6]的研究发现胚胎解冻后体外培养 20 h 以上再移植的种植率是培养 4 h 移植的 4 倍，因为培养时间长有利于选择优质胚胎。在我们的研究中，培养 2~4 h 移植者其妊娠率低于培养 24 h 者的妊娠率，但没有统计学意义，可能是培养 2~4 h 的周期数少，有待我们扩大样本量后进一步观察。移植胚胎细胞数增长 50% 的冻融周期的妊娠率明显高于细胞数增长缓慢或不增长的周期，因为我们解冻胚胎后在体外培养 24 h，能够挑选生长发育速度快、质量好的胚胎，有利于成功妊娠。

3.4 新鲜周期结局对妊娠的影响

Gabrielsen 等^[7]认为前新鲜周期成功是预测冻融周期结局的因素之一。我们的研究表明新鲜周期妊娠的患者，其冻融周期妊娠率较高，这可能与

其利于受孕的因素多有关，如新鲜周期妊娠者，说明其内膜接受能力较好，而且当时获得了较多的优质胚胎数而予以冷冻，本次冻融周期较易妊娠。

总之，我们认为移植胚胎的质量、个数、胚胎的发育潜能，新鲜周期的结局均可影响冻融周期的妊娠结果。

参考文献:

- [1] 张清学, 苏宁, 于丛一, 等. 超声引导下宫腔内胚胎移植术的临床观察[J]. 中山大学学报: 医学科学版, 2006, 27(2): 206-211.
- [2] GUEERIF F, BIDAULT R, CADORET V, et al. Parameters guiding selection of best embryos for transfer after cryopreservation: a reappraisal [J]. Hum reprod, 2002, 17(5):1321-1326.
- [3] OEHNINGER S, MAYER J, MUASHER S. Impact of different clinical variables on pregnancy outcome following embryo cryopreservation [J]. Mol Cell Endocrinol, 2000, 169(1-2):73-77.
- [4] 苗本郁, 周灿权, 方丛, 等. 自然周期冷冻胚胎解冻移植临床分析[J]. 中山大学学报: 医学科学版, 2005, 26(5):573-577.
- [5] WANG JX, YAP Y Y, MATTHEWS C D. Frozen-thawed embryo transfer: influence of clinical factors on implantation rate and risk of multiple conception [J]. Hum Reprod, 2001, 16(11):2316-2319.
- [6] GUERIF F, CADORET V, POINDRON J, et al. Overnight incubation improves selection of frozen-thawed blastocysts for transfer: preliminary study using supernumerary embryos. Theriogenology, 2003, 60(8): 1457-1466.
- [7] GABRIELSEN A, FEDDER J, AGERHOLM I. Parameters predicting the implantation rate of thawed IVF/ICSI embryos: a retrospective study [J]. Reprod Biomed Online, 2006, 12(1):70-76.

(编辑 张恩健)