

论著·临床研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.02.008

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20211229.2054.008.html\(2021-12-30\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20211229.2054.008.html(2021-12-30))

来曲唑诱导排卵内膜准备方案对高龄不孕患者冻融胚胎移植周期妊娠结局的影响*

刘 聪,李伟伟,李颖敏,董丽霞,张 楠,闫娅妮,殷秀荣[△]

(河北省秦皇岛市妇幼保健院生殖医学科 066000)

[摘要] **目的** 探讨来曲唑诱导排卵内膜准备方案对高龄不孕患者冻融胚胎移植(FET)周期妊娠结局的影响。**方法** 回顾性分析 2015 年 1 月至 2019 年 12 月在秦皇岛市妇幼保健院生殖医学科首次行 FET 的 1 058 例高龄不孕患者的临床资料,按照子宫内膜准备方案分为来曲唑诱导排卵组(LC 组)和自然周期组(NC 组),LC 组 650 例,NC 组 408 例。比较两组的一般临床资料、临床妊娠率、着床率、早期流产率、异位妊娠率及活产率。**结果** 两组患者年龄、不孕年限、体重指数(BMI)、基础性激素、抗苗勒管激素(AMH)、移植日内膜厚度、移植胚胎数、移植优胚率、异位妊娠率、早期流产率比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。LC 组的植入窗期雌二醇及孕酮水平、着床率、临床妊娠率、活产率均明显高于 NC 组($P<0.05$)。**结论** 来曲唑诱导排卵内膜准备方案可能通过改善高龄不孕患者的黄体功能提高临床妊娠率和活产率。

[关键词] 高龄;不孕;诱导排卵;冻融胚胎移植;子宫内膜容受性**[中图分类号]** R711.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2022)02-0219-04

Effect of letrozole induced ovulation endometrial preparation protocol on pregnancy outcome of frozen thawed embryo transfer cycle in advanced age infertile patients*

LIU Cong, LI Weiwei, LI Yingmin, DONG Lixia, ZHANG Nan, YAN Yani, YIN Xiurong[△]

(Department of Reproductive Medicine, Qinhuangdao Municipal Maternal and Child Health Care Hospital, Qinhuangdao, Hebei 066000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of letrozole induced ovulation endometrial preparation scheme on pregnancy outcome of frozen thawed embryo transfer (FET) cycles in the advanced age infertile patients. **Methods** The clinical data of 1 058 advanced age infertile patients undergoing frozen thawed embryo transfer for the first time in reproductive medicine department of Qinhuangdao Municipal Maternal and Child Health Care Hospital from January 2015 to December 2019 were retrospectively analyzed. According to the endometrial preparation scheme, they were divided into the letrozole induced ovulation group (LC group) and natural cycle group (NC group). There were 650 cases in The LC group and 408 cases in the NC group. The general clinical data, clinical pregnancy rate, implantation rate, abortion rate, ectopic pregnancy rate and live birth rate were compared between the two groups. **Results** There were no statistically significant differences in age, infertility years, body mass index (BMI), basic sex hormone, anti Mullerian hormone (AMH), endometrial thickness on the day of transplantation, number of transferred embryos, excellent embryo rate, ectopic pregnancy rate and abortion rate between the two groups ($P>0.05$). The levels of estradiol and progesterone in implantation window period, implantation rate, clinical pregnancy rate and live birth rate in the LC group were significantly higher than those in the NC group ($P<0.05$). **Conclusion** The letrozole induced ovulation endometrial preparation scheme improves the clinical pregnancy rate and live birth rate in the advanced age infertile patients possibly by improving the luteal function.

[Key words] advanced age; infertility; ovulation induction; frozen thawed embryo transfer; endometrial receptivity

* 基金项目:河北省医学科学研究课题计划项目(20191390);秦皇岛市科学技术研究与发展计划项目(202004A036)。 作者简介:刘聪(1984—),副主任医师,硕士,主要从事生殖医学研究。 [△] 通信作者, E-mail: licongle@163.com。

随着现代社会的发展,高龄女性寻求辅助生殖技术进行助孕的人数不断增多。但由于高龄女性较多存在窦卵泡数减少、卵子质量下降等情况,容易出现卵巢低反应,给助孕过程带来极大的挑战。并且,由于高龄女性助孕过程中较多应用非常规的控制性促排卵方案或积攒胚胎的需要,需行冻融胚胎移植(frozen-thawed embryo transfer, FET)的比例较高,提高高龄不孕女性 FET 周期的妊娠率和活产率、降低流产率是辅助生殖领域研究的热点问题^[1-2]。但目前国内外关于高龄女性在 FET 周期如何选择合适的内膜准备方案的研究较少,本研究通过对本科室行 FET 的高龄不孕女性的内膜准备方案进行回顾性分析,旨在为改善高龄不孕女性的妊娠结局提供参考及临床依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2015 年 1 月至 2019 年 12 月在本院生殖医学科首次行 FET 助孕的高龄不孕患者为研究对象。纳入标准:年龄 ≥ 35 岁,首次行 FET,移植胚胎为 D3 卵裂期胚胎。排除标准:(1)合并宫腔粘连、子宫内膜息肉、子宫肌瘤、子宫腺肌症、子宫内膜异位症、输卵管积水者;(2)严重内外科疾病者;(3)急性生殖道感染者;(4)甲状腺功能异常者;(5)夫妇任何一方有染色体异常者。本研究共纳入患者 1 058 例,按照内膜准备方案分为来曲唑诱导排卵组(LC 组, $n = 550$)和自然周期组(NC 组, $n = 508$)。本研究操作流程严格遵守临床操作规范,并通过本院医学伦理委员会审核批准,所有研究对象均签署知情同意书后入组。

1.2 方法

1.2.1 内膜准备方法

LC 组于月经第 2~5 天给予来曲唑(江苏恒瑞医药股份有限公司,国药准字 H19991001)2.5 mg,口服,共服药 5 d。NC 组不应用任何诱导排卵药物。两组均从月经第 10 天开始监测卵泡发育情况直至排卵,期间依据卵泡监测情况、血黄体生成素(luteinizing hormone, LH)情况适时肌内注射人绒毛膜促性腺激素(HCG,珠海市丽珠集团丽珠制药厂)10 000 U 诱导排卵。卵泡直径大于或等于 18 mm 或雌激素达 734 pmol/L、内膜厚度大于或等于 7 mm 时, $LH < 20$ mIU/mL,于 21:00 肌内注射 HCG,隔日记为 D0 天; $LH \geq 20$ mIU/mL,于 14:00—16:00 肌内注射 HCG,次日记为 D0 天,于 D3 行卵裂期胚胎移植。

1.2.2 胚胎选择及移植

患者在控制性卵巢刺激经阴道超声引导下穿刺

取卵,受精后第 3 天观察卵裂期胚胎并评分。卵裂期胚胎评价标准^[3], I 级胚胎:细胞数 7~9 个,卵裂球大小均等,形态规则,碎片比例 $< 10\%$; II 级胚胎:卵裂球大小略不均等,形态略不规则,碎片比例 $10\% \sim < 26\%$; III 级胚胎:卵裂球大小不均,形态有明显的规则,碎片比例 $26\% \sim 50\%$; IV 级胚胎:卵裂球大小严重不均,碎片比例 $> 50\%$ 。I~II 级胚胎为优质胚胎, I~III 级胚胎为可利用胚胎。在 B 超引导下,将装有复苏胚胎的移植内管通过外管插至距宫底 0.5~1.0 cm 处,然后将胚胎注入宫腔,均采用 COOK 移植管由专人完成移植。

1.2.3 黄体支持

所有研究对象于 D1 天开始给予黄体支持,口服地屈孕酮(荷兰雅培公司生产)20 mg,每天 2 次,直至妊娠后 8~10 周。

1.3 观察指标

1.3.1 血雌二醇(E2)和孕酮(P)水平

于排卵后第 5、7、9 天分别抽取所有研究对象肘静脉血 3 mL,采用 AIA900 全自动免疫分析仪及配套试剂检测血清 E2 和 P 水平,计算平均值。

1.3.2 临床结局随访

胚胎移植后 14 d 行血 HCG 检测,血 HCG > 6.2 mIU/mL 诊断为妊娠,继续动态监测血 HCG 变化,血 HCG 增高明显者,移植 28~30 d 行阴道超声,见孕囊或胎心搏动,诊断为临床妊娠。妊娠不足 28 周,胎儿体重小于 1 000 g 而终止妊娠者视为流产。记录胚胎着床情况,并计算着床率、临床妊娠率、流产率、异位妊娠率等临床指标。着床率=着床胚胎数/移植胚胎数 $\times 100\%$,临床妊娠率=临床妊娠周期数/移植周期数 $\times 100\%$,早期流产率=12 周前流产周期数/临床妊娠周期数 $\times 100\%$,异位妊娠率=异位妊娠周期数/临床妊娠周期数 $\times 100\%$ 。

1.4 统计学处理

采用 SPSS22.0 软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用两独立样本 t 检验;计数资料以百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般资料比较

两组患者的年龄、不孕年限、体重指数(BMI)、基础性激素水平[基础雌二醇(bE2)、基础卵泡刺激素(bFSH)、基础黄体生成素(bLH)]、抗苗勒管激素(AMH)水平、内膜厚度、平均移植胚胎数等一般资料比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

表 1 两组一般资料比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	年龄(岁)	不孕年限(年)	BMI(kg/m ²)	内膜厚度(mm)	移植胚胎数(个)
LC 组	650	38.01±2.50	4.05±1.48	24.54±1.87	9.29±1.87	1.72±0.15
NC 组	408	37.82±2.19	3.92±1.51	24.82±2.89	9.48±1.93	1.74±0.19
t		1.261	1.380	1.913	1.589	1.901
P		0.208	0.2168	0.056	0.112	0.058

组别	n	bE2(pmol/L)	bFSH(mIU/mL)	bLH(mIU/mL)	AMH(ng/mL)
LC 组	650	158.92±24.38	8.87±2.76	6.97±3.92	2.02±1.31
NC 组	408	161.78±23.45	8.38±2.18	7.26±4.28	2.11±1.38
t		1.885	0.069	1.130	1.065
P		0.060	0.945	0.259	0.287

2.2 两组植入窗期血清 E2 和 P 水平比较

与 NC 组比较,LC 组在植入窗期血清 E2、P 水平均明显升高(P<0.05),见表 2。

2.3 两组胚胎移植条件及妊娠结局比较

两组移植优胚率、异位妊娠率、早期流产率差异均无统计学意义(P>0.05);LC 组的着床率、临床妊娠率、活产率明显高于 NC 组(P<0.05),见表 3。

表 2 两组植入窗期血清 E2 和 P 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	E2(pmol/L)	P(nmol/L)
LC 组	650	489.71±125.23	55.98±18.34
NC 组	408	463.12±119.21	53.42±12.78
t		3.424	2.468
P		<0.001	0.014

表 3 两组妊娠结局比较[% (n/n)]

组别	n	移植优胚率	着床率	临床妊娠率	早期流产率	异位妊娠率	活产率
LC 组	650	34.88(390/1118)	37.66(421/1118)	49.38(321/650)	14.02(45/321)	1.25(4/321)	41.85(272/650)
NC 组	408	38.03(270/710)	29.71(211/710)	41.67(170/408)	15.88(27/170)	1.18(2/170)	34.56(141/408)
χ ²		1.861	12.097	6.003	0.309	0.133	5.594
P		0.173	<0.001	0.014	0.579	0.715	0.018

3 讨 论

年龄是影响女性生育能力的重要因素,随着年龄的增长,高龄女性容易出现卵巢储备功能减退,通过辅助生殖技术改善高龄女性的妊娠结局是临床关注的重点和难点^[4]。FET 作为辅助生殖技术的重要补充,在高龄女性助孕过程中应用广泛。影响 FET 成功与否的因素包括胚胎质量、子宫内膜容受性及子宫与胚胎发育的同步化,而选择一个合适的内膜准备方案成了 FET 成功的关键。

目前,临床中常用的内膜准备方案包括自然周期、诱导排卵周期、激素替代周期、降调节周期。但是,关于内膜准备方案的选择,目前没有统一共识,2017 年的 1 篇系统评价^[5]指出目前没有最优的内膜准备方案。但近年来有研究显示,与自然周期和诱导排卵周期准备内膜方案相比,人工周期患者存在更高的流产率^[6],并且可能在产科结局(妊娠期高血压、剖宫产率)中存在更大的负面影响^[7]。自然周期 FET 的周期取消率高^[8]、降调节周期治疗周期长、费用高

等缺点也限制了自然周期和降调节周期的使用,而促排卵周期准备内膜通过诱导优势卵泡的发育,为 FET 提供合适的内分泌环境,既可降低周期取消率,又避免人工周期应用大剂量雌激素对母婴的不良影响。关于高龄不孕女性在 FET 周期应用何种内膜准备方案,目前研究较少且没有定论。高龄女性由于卵母细胞质量下降及孕期合并症增多的特点,在选择内膜准备方案上更应权衡利弊、仔细斟酌。本研究通过比较高龄不孕女性在 FET 周期应用来曲唑诱导排卵准备内膜与自然周期准备膜的临床资料与妊娠结局,为此类患者的治疗提供参考及临床依据。

临床中常用的口服促排卵药物包括克罗米酚和来曲唑。来曲唑作为芳香化酶抑制剂,可降低雌激素水平,反馈性刺激机体内源性促性腺激素分泌,促进卵泡生长。并且与克罗米酚相比,来曲唑不与雌激素受体结合,半衰期短,停药后仍能产生足量的雌激素作用于子宫内膜为胚胎着床提供合适的内分泌环境。近年来,来曲唑也被广泛应用于高龄助孕患者中,并

取得了较满意的治疗效果^[9-10]。

子宫内膜容受性是指在胚胎“植入窗期”，子宫内膜在多种因子、化学分子的作用下，允许胚胎定位、黏附、侵入，并与胚胎完成对话的能力。一般在排卵后 6~8 d，子宫内膜具有最佳容受性，电镜下可见宫腔被覆上皮中无纤毛细胞膜顶端出现大而平滑的胞饮突，胞饮突是子宫内膜容受性的重要标志，对胚胎植入和妊娠的维持至关重要。有研究显示，来曲唑可以使胚胎植入窗期胞饮突充分表达，增加促进胚胎着床的细胞因子和整合素 $\alpha v\beta 3$ 的表达，改善子宫内膜容受性^[11-13]。

本研究结果显示，LC 组与 NC 组比较，排卵后的血清 E2、P 水平明显升高，提示来曲唑诱导排卵可提高“植入窗期”的雌激素、孕激素水平，而孕激素又是子宫内膜容受性的重要调控激素，因此认为来曲唑诱导排卵方案可能对改善子宫内膜容受性有重要作用。移植后的随访结果提示，LC 组的胚胎着床率、临床妊娠率及活产率均高于自然周期组，这一结果进一步证实高龄不孕女性的 FET 周期中，来曲唑诱导排卵方案准备内膜可能通过改善患者的子宫内膜容受性，增加胚胎着床机会，并在维持妊娠中有积极作用。

对于 FET 周期的内膜准备方案，目前虽然未达成共识，但每个中心应选择对患者最有利和最具成本效益且不良反应最少的内膜准备方法。高龄患者发生妊娠期糖尿病、妊娠期高血压、先兆子痫、前置胎盘等围产期的风险明显高于年轻初产妇，产妇不良妊娠结局的风险也随之增加，包括早产、死胎、低出生体重、新生儿死亡等^[14-15]。因此，对于高龄患者在 FET 周期的内膜准备方案上不推荐使用人工周期。自然周期和诱导排卵周期准备内膜避免了大剂量雌激素对孕妇及胎儿的不良影响，但高龄女性存在卵泡发育不良可能性增高，可能因此导致周期取消率增高、子宫内膜容受性下降，结合本研究结果认为，来曲唑诱导排卵准备内膜可能对改善高龄不孕女性的 FET 妊娠结局有积极作用。因此，来曲唑诱导排卵可作为高龄女性 FET 周期内膜准备方案；然而，根据目前的证据，将此方法确定为一线治疗尚不成熟，能否广泛应用于临床需要大样本的随机对照试验。

参考文献

[1] 周林燕,文娅,杨冬梓,等. 高龄妇女冻融胚胎移植临床结局及影响因素[J]. 生殖医学杂志, 2016,25(7):593-599.

[2] 管一春,范宏芳,肖知英,等. 高龄患者冻融胚胎移植中不同黄体支持方案对妊娠结局的影响

[J]. 中华生殖与避孕杂志, 2017, 37(3):188-192.

- [3] 中华医学会生殖医学分会第一届实验室学组. 人类体外受精-胚胎移植实验室操作专家共识(2016)[J]. 生殖医学杂志, 2017, 26(1):1-8.
- [4] Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Guidance on the limits to the number of embryos to transfer: a committee opinion[J]. Fertil Steril, 2017, 107(4): 901-903.
- [5] 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, 2017, 23(2):255-261.
- [6] ZHANG J, LIU H, WANG Y, et al. Letrozole use during frozen embryo transfer cycles in women with polycystic ovary syndrome[J]. Fertil Steril, 2019, 112(2):371-377.
- [7] JING S, LI X F, ZHANG S, et al. Increased pregnancy complications following frozen-thawed embryo transfer during an artificial cycle[J]. J Assist Reprod Genet, 2019, 36(5): 925-933.
- [8] GROENEWOUD E R, COHLEN B J, AI-OR AIBY H, et al. A randomized controlled, non-inferiority trial of modified natural versus artificial cycle for cryo-thawed embryo transfer[J]. Hum Reprod, 2016, 31(7):1483-1492.
- [9] 苏桂芳,白雪. 40 岁以上排卵障碍性不孕女性应用来曲唑促排卵的效果观察[J]. 中国妇幼保健, 2016, 31(22):4817-4819.
- [10] 陈秀芬,阮少媚,陈少芬,等. 来曲唑用于高龄不明原因不孕妇女促排卵的效果[J]. 实用临床医学, 2016, 17(10):44-45, 61.
- [11] 金聪聪,王佩玉,赵军招,等. 来曲唑联合激素替代方案在月经不规律患者冻融胚胎移植中的临床应用[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2016, 21(3):322-327.
- [12] HY Y J, CHEN Y Z, ZHU Y M, et al. Letrozole stimulation in endometrial preparation for cryopreserved thawed embryo transfer in women with polycystic ovarian syndrome: a pilot study[J]. Clin Endocrin (Oxf), 2014, 80(2):283-289.

脑氧合情况。

此外,术中肝素化可能导致剖宫产术后大出血,对于同期进行手术的患者,在剖宫产术后与全身肝素化之前,可以在宫腔内放置水囊进行压迫止血,同时做好子宫动脉介入栓塞的准备。本组 4 例患者剖宫产术后 24 h 阴道引流量小于 300 mL,止血效果满意。

总之,妊娠中晚期心血管疾病患者在体外循环下进行心血管手术虽然风险极高,但通过多学科协作,选择合理的手术时机与方式,制订个体化围术期麻醉管理策略,仍能确保母体和胎儿的最佳临床结局。

参考文献

- [1] CAULDWELL M, JOHNSON M, JAHANGIRI M, et al. Cardiac interventions and cardiac surgery and pregnancy[J]. *Int J Cardiol*, 2019, 276(2):43-47.
- [2] European Society of Gynecology, Association for European Paediatric Cardiology, German Society for Gender Medicine, et al. ESC guidelines on the management of cardiovascular diseases during pregnancy: the task force on the management of cardiovascular diseases during pregnancy of the European society of cardiology (ESC)[J]. *Eur Heart J*, 2011, 32(24):3147-3197.
- [3] JOHN A S, GURLEY F, SCHAFF H V, et al. Cardiopulmonary bypass during pregnancy[J]. *Ann Thorac Surg*, 2011, 91(4):1191-1196.
- [4] JHA N, JHA A K, CHAND CHAUHAN R, et al. Maternal and fetal outcome after cardiac operations during pregnancy: a meta-analysis[J]. *Ann Thorac Surg*, 2018, 106(2):618-626.
- [5] BALSAM L B, DEANDA A. Double the jeopardy: balancing maternal and fetal risk during cardiac surgery[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2015, 149(2):611-612.
- [6] YATES M T, SOPPA G, SMELT J, et al. Perioperative management and outcomes of aortic surgery during pregnancy[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2015, 149(2):607-610.
- [7] Committee on Obstetric Practice, the American Society of Anesthesiologists. Committee Opinion No. 696: Nonobstetric Surgery During Pregnancy[J]. *Obstet Gynecol*, 2017, 129(4):777-778.
- [8] REGITZ-ZAGROSEK V, ROOS-HESELINK J W, BAUERSACHS J, et al. 2018 ESC guidelines for the management of cardiovascular diseases during pregnancy[J]. *Eur Heart J*, 2018, 39(34):3165-3241.
- [9] PATANE L, DI LENARDA A, ASPROMONTE N, et al. ANMCO/GISE/SICCH inter-society consensus document: antithrombotic therapy after surgery or structural interventional procedures for valvular heart diseases: how to treat postoperative complications [J]. *G Ital Cardiol (Rome)*, 2019, 20(3):149-186.
- [10] BARTH W H. Cardiac surgery in pregnancy [J]. *Clin Obstet Gynecol*, 2009, 52(4):630-646.
- [11] TOLCHER M C, FISHER W E, CLARK S L. Nonobstetric surgery during pregnancy[J]. *Obstet Gynecol*, 2018, 132(2):395-403.
- (收稿日期:2021-05-18 修回日期:2021-09-08)
- (上接第 222 页)
- [13] BAO S H, SHENG S L, PENG Y F, et al. Effects of letrozole and clomiphene citrate on the expression of HOXA10 and integrin $\alpha\beta 3$ in uterine epithelium of rats[J]. *Fertil Steril*, 2009, 91(1):244-248.
- [14] BEN-DAVID A, GLASSER S, SCHIFF E, et al. Pregnancy and birth outcomes among primiparae at very advanced maternal age: at what price? [J]. *Matern Child Health J*, 2016, 20(4):833-842.
- [15] FUCHS F, MONET B, DUCRUET T, et al. Effect of maternal age on the risk of preterm birth: a large cohort study [J]. *PLoS One*, 2018, 13(1):e0191002.
- (收稿日期:2021-07-11 修回日期:2021-11-03)