

经皮雌激素内膜准备对不明原因反复种植失败患者冻融胚胎移植妊娠结局的影响

周燕 陈楠 张红艳 江美燕 林珍云 费小阳

[摘要] 目的 探究不同内膜准备方式对不明原因反复种植失败(URIF)冻融胚胎移植(FET)临床妊娠结局的影响。方法 纳入URIF患者94例,根据内膜准备方式不同分为实验组(经皮雌二醇凝胶)33例和对照组(口服17 β -雌二醇)61例,比较不同内膜准备方案对URIF患者临床妊娠结局的影响。结果 实验组转化日雌二醇(E₂)水平明显高于对照组($t=2.92, P<0.05$),两组移植胚胎数及优质胚胎数、种植率比较,差异均有统计学意义(Z 分别=3.65、3.67, $\chi^2=6.07, P$ 均 <0.05)。但两组间转化日孕酮(P)、转化日内膜厚度、临床妊娠率、多胎率、流产率、活产率比较,差异均无统计学意义($Z=1.19, t=0.85, \chi^2$ 分别=3.22、0.85、0.03、1.78, P 均 >0.05)。结论 不同内膜准备方式对FET临床妊娠结局没有明显影响。

[关键词] 经皮雌激素; 不明原因反复种植失败; 冻融胚胎移植; 临床妊娠

Effect of transdermal estrogenic endometrial preparation on pregnancy outcome of frozen-thawed embryo transfer in patients with unexplained recurrent implantation failure ZHOU Yan, CHEN Nan, ZHANG Hongyan, et al. Department of Reproductive Medicine Center, Hangzhou Women's Hospital, Hangzhou 310008, China.

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of different endometrial preparation methods on the clinical pregnancy outcomes of frozen-thawed embryo transfer (FET) for unexplained recurrent implantation failure (URIF). **Methods** Totally 94 patients with URIF were included and divided into the experimental group (33 cases) and control group (61 cases) according to the different method of endometrial preparation. The experimental group received transdermal estrogen gel, and the control group received oral 17 β -oestradiol. The effects of different endometrial preparation regimens on clinical pregnancy outcomes in unexplained recurrent implantation failure were compared. **Results** The estradiol level on the day of conversion in the experimental group was significantly higher than that in the control group ($t=2.92, P<0.05$), and the differences in the number of embryos transferred, the number of high-quality embryos, and the implantation rate were statistically significant ($Z=3.65, 3.67, \chi^2=6.07, P<0.05$). However, there were no significant differences in the progesterone level and endometrial thickness on the day of conversion, clinical pregnancy rate, multiple pregnancy rate, miscarriage rate, and live birth rate between the two groups ($Z=1.19, t=0.85, \chi^2=3.22, 0.85, 0.03, 1.78, P>0.05$). **Conclusion** Different methods of endometrial preparation had no significant effect on clinical pregnancy outcomes in FET with URIF.

[Key words] transdermal estrogen; unexplained recurrent implantation failure; frozen-thawed embryo transfer; clinical pregnancy

尽管辅助生殖技术已成为解决不孕不育问题

DOI: 10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2024.001.003

基金项目:浙江省医药卫生科技计划项目(2021442135)

作者单位:310008 浙江杭州,杭州市妇产科医院(杭州市妇幼保健院)生殖医学中心

通讯作者:费小阳, Email: feixy1962@163.com

的主要治疗方式,然而不明原因反复种植失败(unexplained recurrent implantation failure, URIF)仍是辅助生殖技术的一大挑战。在中国, URIF的发病率为5%~11.1%^[1,2]。URIF病因复杂且具有异质性,近年研究指出胚胎发育缺陷、子宫内膜容受性降低、胚胎发育和子宫内膜种植窗不同步是导致URIF的

最常见原因^[3,4]。冻融胚胎移植(frozen-thawed embryo transfer, FET)可根据子宫内膜准备方案改善内膜环境,准确把握子宫内膜种植窗的开放时间段,改善子宫内膜容受性^[5],成为目前改善URIF妊娠结局的一个重要步骤。目前FET内膜准备方案最常见的有自然周期、激素替代治疗(hormone replacement therapy, HRT)、促排卵方案等^[6,7]。HRT因具有便捷性和灵活性的特点,被广泛应用于临床。然而不同的雌激素给药途径可显著改善内膜准备的时间,改善URIF患者FET周期中内膜准备的效率^[8]。目前临床上多经验性使用口服途径补充雌激素,针对经皮给药途径对URIF患者FET妊娠结局的研究仍较少。本次研究回顾性分析URIF患者的不同雌激素给药方式,探究经皮雌激素内膜准备对URIF患者临床妊娠结局的影响,旨在为URIF患者提供一种更为有效、经济、简便的内膜准备方案,改善妊娠结局。

1 资料与方法

1.1 一般资料

回顾性分析2021年1月至2022年12月于杭州市妇产科医院生殖中心诊断为URIF再次行FET的94例患者临床资料,年龄24~39岁。纳入标准为:①年龄<40岁;②符合URIF诊断标准^[9];③未发现双方染色体异常;④未发现子宫发育畸形或子宫内膜异常;⑤有冷冻的卵裂期或囊胚期的胚胎,本次移植胚胎中至少有1枚优质胚胎。排除标准为:①患有严重的全身或局部急性炎症;②合并有子宫内膜病变或通过手术宫腔形态无法恢复正常;③任何一方染色体存在异常;④合并有内外科疾病,如甲状腺功能异常、自身免疫性疾病、糖尿病等。选取HRT内膜准备方案,根据雌激素给药方式不同分为实验组(经皮雌二醇凝胶组)33例和对照组(口服17 β -雌二醇组)61例。两组体重指数、抗苗勒管激素(antimullerian hormone, AMH)、促卵泡刺激素/促黄体生成素(follicle-stimulating hormone/luteinizing hormone, FSH/LH)等一般资料比较见表1。两组比较,差异均无统计学意义(P 均>0.05)。

1.2 方法

1.2.1 对照组

月经第3天开始口服17 β -雌二醇(雌二醇片/雌二醇地屈孕酮片复合包装,由美国Abbott Biologicals B.V.生产)2 mg,每日2次,间隔7 d后根据内膜厚度调整雌二醇剂量。当子宫内膜厚度 ≥ 8 mm时,开始内膜转化。

1.2.2 实验组

月经第3天给予经皮雌二醇凝胶

表1 两组一般资料比较

指标	实验组($n=33$)	对照组($n=61$)
年龄/岁	32(29,37)	33(31,36)
体重指数/kg/m ²	20.86 \pm 2.90	21.88 \pm 3.39
AMH/ng/mL	2.84 \pm 2.15	3.45 \pm 2.28
FSH/LH	2.80 \pm 2.48	2.97 \pm 3.10
不孕年限/年	2.50(2.00,3.50)	3.00(1.00,5.00)
既往移植周期数/期	3.79 \pm 1.99	3.23 \pm 1.49
不孕类型/例(%)		
原发	11(33.33)	31(50.82)
继发	22(66.67)	30(49.18)
不孕病因/例(%)		
女方因素	9(27.27)	20(32.79)
男方因素	10(30.31)	11(18.03)
双方因素	9(27.27)	24(39.34)
不明原因	5(15.15)	6(9.84)

(17 β -雌二醇凝胶,由法国Besins生产)2.5 g,每日2次,间隔7 d后根据内膜厚度调整雌二醇凝胶剂量。当子宫内膜厚度 ≥ 8 mm时,开始内膜转化。

1.2.3 黄体转化

加用黄体酮针(由浙江仙琚生产)40 mg肌肉注射,每日2次,联合地屈孕酮(由荷兰雅培生产)20 mg口服,每日2次。内膜转化第4天移植卵裂期胚胎,转化第6天移植囊胚。

1.3 监测指标

监测两组转化日雌二醇(estradiol, E₂)、转化日孕酮(progesterone, P)、转化日内膜厚度、移植胚胎数、优质胚胎数、临床妊娠率、种植率、多胎妊娠率、流产率、活产率。

1.4 统计学方法

采用SPSS 19.0统计软件,符合正态分布的计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较用 t 检验;不符合正态分布的计量资料以M(P₂₅, P₇₅)表示,组间比较采用Mann-Whitney U 检验。计数资料组间比较采用 χ^2 检验。设 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

两组临床妊娠结局比较见表2。

由表2可见,实验组转化日E₂水平明显高于对照组($t=2.92, P < 0.05$),两组移植胚胎数及优质胚胎数、种植率比较,差异均有统计学意义(Z 分别=3.65、3.67, $\chi^2=6.07, P$ 均<0.05)。但两组间转化日P、转化日内膜厚度、临床妊娠率、多胎妊娠率、流产率、活产率比较,差异均无统计学意义(Z 分别=1.19, $t=0.85, \chi^2$ 分别=3.22、0.85、0.03、1.78, P

均 >0.05)。

表2 两组临床妊娠结局比较

指标	实验组(n=33)	对照组(n=61)
转化日 E ₂ /pg/ml	169.67±70.18*	132.10±52.94
转化日 P/ng/ml	0.43(0.27,0.69)	0.33(0.20,0.54)
转化日内膜厚度/mm	9.36± 1.64	9.72± 2.06
移植胚胎数/个	2(1,2)*	2(2,2)
优质胚胎数/个	2(1,2)*	2(2,2)
临床妊娠率/例(%)	21(63.64)	27(44.26)
种植率/例(%)	24(72.73)*	34(55.74)
多胎妊娠率/例(%)	3(9.09)	7(11.47)
流产率/例(%)	2(6.06)	3(4.92)
活产率/例(%)	19(57.58)	24(39.34)

注:*,与对照组比较, $P<0.05$ 。

3 讨论

胚胎着床是依赖于胚胎和子宫内膜之间的多组分双向信号的微妙协调,受胚胎因素和子宫内膜容受性的双重影响^[10,11]。子宫内膜容受性的建立主要由雌激素和孕激素协调^[11]。雌激素刺激子宫内膜增生、诱导孕激素受体增加,孕激素诱导产生子宫内膜整合素等关键因子,促进内膜建立种植“窗口期”,决定种植窗口的开启(关闭)时间^[12]。在辅助生殖中,雌激素和孕激素的作用已被反复证明对临床妊娠率的影响^[13]。许多研究表明,HRT周期通过外源性补充雌激素,机动调整内膜种植窗开启(关闭)时间,灵活选择胚胎移植的时机,大幅降低移植取消率,已成为目前FET的主流内膜准备方案^[14]。

HRT周期中雌激素有多种不同的给药途径,包括口服给药、经阴道给药、经皮给药等。而针对效果稳定性及对临床妊娠结局影响的研究较少。本次研究纳入经口服给药和经皮给药两种途径的患者,结果显示经皮给药组转化日E₂水平明显高于口服给药组($P<0.05$),移植胚胎数、优质胚胎数、种植率比较,差异均有统计学意义(P 均 <0.05),而临床妊娠率未见显著差异,与Scheffer等^[15]研究结果一致。Scheffer等^[15]研究指出雌激素口服给药途径在肝脏和肠道的高代谢率导致雌酮/雌二醇(estrone/estradiol, E₁/E₂)的比例升高,而经皮给药产生的E₁/E₂较低,导致经皮雌激素被认为在诱导子宫内膜容受性方面优于口服雌激素,然而临床妊娠率未见显著差异。Garimella等^[16]前瞻性研究结果指出口服给药组与经皮给药组的着床率、临床妊娠率、流产率

及周期取消率均无显著差异,而经皮给药患者满意度得分显著高于口服给药组,副作用显著低于口服给药组。考虑经皮雌激素与口服雌激素在FET周期中同样有效,并且经皮雌激素具有更好的患者舒适度,副作用更少,安全性更好。Bagot等^[17]研究发现,E₂水平在经皮和口服途径之间并无差异,但口服途径导致凝血酶生成明显增加,考虑是由于口服雌二醇的主要代谢产物雌酮的肝脏首过代谢所介导,经皮途径可以避免。雌酮对凝血酶生成的影响使口服途径的女性静脉血栓风险增加。Fritz等^[18]指出E₂与持续妊娠率和活产率显著相关,较高的E₂水平可能会导致持续妊娠率和活产率降低。Ma等^[19]研究认为由于高剂量雌激素的凋亡和抗增殖作用导致种植窗口在雌激素水平较低时打开时间较长,而在雌激素水平较高时迅速关闭,提示高雌激素水平可能会显著缩短种植窗口期,加速种植窗口的关闭速度,降低胚胎种植概率。此外,既往研究指出胚胎移植周期中E₂水平升高与不良妊娠结局的发生率增加有关^[20]。尽管与本次研究结果不一致,但这些研究中大多数患者E₂水平显著高于本次研究。因此,通过经皮途径的E₂水平有利于在更接近生理的E₂水平上进行胚胎种植,增加妊娠概率。

在本次研究中,不同给药途径组间的子宫内膜厚度、临床妊娠率、种植率、多胎妊娠率、活产率、流产率在两组间差异无统计学意义。与Shahrokh等^[21]结果一致。Shahrokh等^[21]随机对照研究指出经皮给药和口服给药途径组中胚胎移植前子宫内膜厚度和子宫内膜准备时间相似,两组临床妊娠率无显著差异,而经皮给药组流产率更低,持续妊娠率更高。然而由于本次研究纳入样本量较少,仍存在潜在的选择性偏倚。因此后续需通过扩大样本量,开展多中心前瞻性随机对照研究进一步证实本次研究结果。

综上所述,两种给药途径的临床妊娠结局无明显差异。然而对于URIF患者,经皮雌二醇凝胶可获得与口服雌激素相似的临床妊娠结局的同时,可消除肝脏首过效应,降低静脉血栓风险,可成为FET患者激素替代疗法的首选给药方式。

参考文献:

- 1 Mrozikiewicz AE, Ożarowski M, Jędrzejczak P. Biomolecular markers of recurrent implantation failure: A review[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(18): 10082.
- 2 Cimadomo D, Craciunas L, Vermeulen N, et al. Definition, diagnostic and therapeutic options in recurrent implanta-

- tion failure: An international survey of clinicians and embryologists[J]. *Hum Reprod*, 2021, 36(2): 305-317.
- 3 Garneau AS, Young SL. Defining recurrent implantation failure: A profusion of confusion or simply an illusion?[J]. *Fertil Steril*, 2021, 116(6): 1432-1435.
 - 4 Coughlan C, Ledger W, Wang Q, et al. Recurrent implantation failure: Definition and management[J]. *Reprod Biomed Online*, 2014, 28(1): 14-38.
 - 5 Santamaria X, Simón C. Endometrial factor in unexplained infertility and recurrent implantation failure[J]. *Semin Reprod Med*, 2021, 39(5/6): 227-232.
 - 6 Ghobara T, Gelbaya TA, Ayeleke RO. Cycle regimens for frozen-thawed embryo transfer[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2017, 7(7): CD003414.
 - 7 Wu H, Zhou P, Lin X, et al. Endometrial preparation for frozen-thawed embryo transfer cycles: A systematic review and network meta-analysis[J]. *J Assist Reprod Genet*, 2021, 38(8): 1913-1926.
 - 8 Li L, Kou Z, Fu Y, et al. Clinical outcomes of personalized frozen-thawed embryo transfer timing for patients with recurrent implantation failure[J]. *Ann Transl Med*, 2022, 10(3): 131.
 - 9 《胚胎植入前遗传学诊断/筛查专家共识》编写组. 胚胎植入前遗传学诊断/筛查技术专家共识[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2018, 35(2): 151-155.
 - 10 Sehring J, Beltsos A, Jeelani R. Human implantation: The complex interplay between endometrial receptivity, inflammation, and the microbiome[J]. *Placenta*, 2022, 117: 179-186.
 - 11 Moustafa S, Young SL. Diagnostic and therapeutic options in recurrent implantation failure[J]. *F1000Research*, 2020, 9 (F1000Faculty Rev-208): 1-9.
 - 12 Bui AH, Timmons DB, Young SL. Evaluation of endometrial receptivity and implantation failure[J]. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2022, 34(3): 107-113.
 - 13 Ozturk S, Demir R. Particular functions of estrogen and progesterone in establishment of uterine receptivity and embryo implantation[J]. *Histol Histopathol*, 2010, 25(9): 1215-1228.
 - 14 Lawrenz B, Coughlan C, Melado L, et al. The ART of frozen embryo transfer: Back to nature![J]. *Gynecol Endocrinol*, 2020, 36(6): 479-483.
 - 15 Scheffer JB, Scheffer BB, Aguiar PS, et al. A comparison of the effects of three different estrogen used for endometrium preparation on the outcome of day 5 frozen embryo transfer cycle[J]. *JBRA Assist Reprod*, 2021, 25(1): 104-108.
 - 16 Garimella S, Karunakaran S, Gedela DR. A prospective study of oral estrogen versus transdermal estrogen (GEL) for hormone replacement frozen embryo transfer cycles[J]. *Gynecol Endocrinol*, 2021, 37(6): 515-518.
 - 17 Bagot CN, Marsh MS, Whitehead M, et al. The effect of estrone on thrombin generation may explain the different thrombotic risk between oral and transdermal hormone replacement therapy[J]. *J Thromb Haemost*, 2010, 8(8): 1736-1744.
 - 18 Fritz R, Jindal S, Feil H, et al. Elevated serum estradiol levels in artificial autologous frozen embryo transfer cycles negatively impact ongoing pregnancy and live birth rates[J]. *J Assist Reprod Genet*, 2017, 34(12): 1633-1638.
 - 19 Ma WG, Song H, Das SK, et al. Estrogen is a critical determinant that specifies the duration of the window of uterine receptivity for implantation[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(5): 2963-2968.
 - 20 Pereira N, Elias RT, Christos PJ, et al. Supraphysiologic estradiol is an independent predictor of low birth weight in full-term singletons born after fresh embryo transfer[J]. *Hum Reprod*, 2017, 32(7): 1410-1417.
 - 21 Shahrokh TE, Kabodmehri R, Hosein RB, et al. Transdermal estrogen (oestrogel) for endometrial preparation in freeze embryo transfer cycle: An RCT[J]. *Int J Reprod Biomed*, 2018, 16(1): 51-56.

(收稿日期 2023-05-30)

(本文编辑 葛芳君)