

The Impact of EmbryoGlue Culture Medium on Clinical Outcomes of Blastocyst Blastocyst Transplantation

Qiaoyan Wang Lingling Jin Mengting Zhou Huaqing Li*

Reproductive Center Dongyang Hospital Affiliated to Wenzhou Medical University, Zhejiang, Jinhua, 321000, China

Abstract

Objective: To investigate the clinical outcomes of embryo transfer using EmbryoGlue, a specialized culture medium for blastocyst-stage embryos. **Methods:** This study enrolled patients who underwent blastocyst-stage frozen-thaw embryo transfer at the Reproductive Center of Dongyang People's Hospital, Zhejiang Province, between August 1, 2020, and December 31, 2022. Patients were categorized into two groups based on the type of transfer medium: Group G-2 and EmbryoGlue. Clinical pregnancy outcomes were compared between groups using univariate analysis and bivariate regression analysis, with laboratory test results and ultrasound findings analyzed before and after hormone replacement therapy (baseline and post-treatment). **Results:** A total of 333 cycles were included, with 162 cycles in the G-2 group and 171 in the EmbryoGlue group. The clinical pregnancy rate was 56.79% in the G-2 group versus 56.73% in the EmbryoGlue group ($P = 0.990$), showing no significant difference. The live birth rate was 48.77% in the G-2 group versus 47.37% in the EmbryoGlue group ($P = 0.799$), also showing no statistically significant difference. Logistic regression analysis across three subgroups (advanced maternal age (≥ 35 years) vs. non-advanced maternal age (< 35 years), IVF vs. ICSI, HRT vs. GnRH-HRT) revealed no statistically significant correlation between EmbryoGlue and G-2 embryo transfers and patients' clinical pregnancy or live birth rates. **Conclusion:** In freeze-thaw embryo transfer, EmbryoGlue and G2 culture media showed comparable clinical outcomes.

Keywords

EmbryoGlue; embryo transfer; clinical pregnancy rate; live birth rate; blastocyst embryo

胚胎移植培养基 EmbryoGlue 对卵裂期冻融胚胎移植临床结局的影响

王巧燕 金玲玲 周梦婷 厉华卿*

温州医科大学附属东阳医院生殖中心, 中国·浙江 金华 321000

摘要

目的: 探讨胚胎移植培养基 EmbryoGlue 对卵裂期冻融胚胎移植临床结局的影响。**方法:** 选取2020年8月1日至2022年12月31日期间在浙江省东阳市人民医院生殖中心接受第3天卵裂期冻融胚胎移植的患者作为研究对象。根据移植培养基的类型, 将患者分为G-2组和EmbryoGlue组。分析患者在激素替代治疗前(基线)及治疗后的实验室检测报告和超声结果, 并通过单变量分析和二元回归分析比较两组的临床妊娠结局。**结果:** 共纳入333个周期, 其中G-2组162个周期, EmbryoGlue组171个周期。G-2组的临床妊娠率为56.79%, EmbryoGlue组为56.73% ($P = 0.990$), 无显著差异。G-2组的活产率为48.77%, EmbryoGlue组为47.37% ($P = 0.799$), 无统计学意义。在三个亚组(高龄(≥ 35 岁)与非高龄(< 35 岁)、IVF与ICSI、HRT与GnRH-HRT)中进行的Logistic回归分析发现, EmbryoGlue移植与G-2移植与患者的临床妊娠率和活产率之间无统计学关联。**结论:** 在冻融胚胎移植中, EmbryoGlue移植培养基与G2培养基具有相似的临床结局。

关键词

EmbryoGlue; 胚胎移植; 临床妊娠率; 活产率; 卵裂期胚胎

1 引言

自1978年首位体外受精-胚胎移植(IVF-ET)婴儿诞

【基金项目】 本研究由浙江省医学会临床药学及医疗保险科
研专项基金(项目编号: 2022ZYC-B20)。

【作者简介】 王巧(1977-), 女, 中国浙江东阳人, 本科, 副主任技师, 从事辅助生殖实验、免疫研究。

【通讯作者】 厉华卿(1983-), 女, 硕士, 中国浙江东阳人, 主任医师, 从事辅助生殖研究。

生以来, 各国为提高试管婴儿的活产率做出了诸多努力。胚胎移植是IVF-ET治疗过程中的关键步骤。子宫内膜容受性、胚胎质量以及移植技术等多种因素均影响胚胎着床。胚胎着床是IVF成功妊娠的决定性因素之一[1]。因此, 胚胎移植培养基的成分对于胚胎发育和着床至关重要[2]。

透明质酸(HA)是一种非硫酸化的糖胺聚糖聚合物, 天然存在于许多哺乳动物组织的细胞外和细胞间基质中, 也是女性生殖道中最丰富的大分子之一[3]。Gardner等人首次提出, HA可作为胚胎培养基的补充剂, 以提高小鼠的着床率和妊娠率[4]。EmbryoGlue(Vitrolife)是一种富含透明质

酸的胚胎移植培养基，其透明质酸浓度高于常规用作胚胎移植液的囊胚培养液（Vitrolife）。然而，EmbryoGlue 作为移植培养基的临床效果在国内外仍存在争议 [5,6,7]。

目前，关于胚胎胶的研究主要集中在新鲜胚胎移植或囊胚移植 [8,9]。关于冻融周期中不同年龄组卵裂期胚胎的研究非常少 [10,11]，且尚未形成统一意见。本研究回顾性分析了使用 EmbryoGlue 和 G-2 移植培养基进行卵裂期冻融胚胎移植周期的临床结局，并进一步探讨了 EmbryoGlue 对第 3 天卵裂期冻融胚胎移植临床结局的影响。

2 资料与方法

2.1 研究对象

本研究采用回顾性研究的方法，分析了 2020 年 8 月 1 日至 2022 年 12 月 31 日期间在温州医科大学附属东阳人民医院生殖医学中心接受第 3 天卵裂期冻融胚胎移植患者的临床资料。

纳入标准：① 冻融复苏周期年龄 < 45 岁；② 移植 2 枚卵裂期胚胎，且其中至少拥有 1 枚优质胚胎；③ 移植日子宫内膜厚度 ≥ 7 mm；④ 采用激素替代或降调节-激素替代

方案进行内膜准备。排除标准：① 既往反复移植（≥ 3 次）失败；② 严重子宫畸形；③ 严重子宫内膜异位症；④ 严重宫腔粘连；⑤ 补救性卵胞浆内单精子注射（MZSI）；⑥ 子宫肌瘤 ≥ 3cm 或子宫腺肌症患者。根据移植培养基的类型将患者分为 G-2 组和 EmbryoGlue 组。所有患者均签署了本研究的知情同意书。本研究共纳入 333 例符合条件的患者，其中 G-2 组 162 个周期，EmbryoGlue 组 171 个周期。两组患者基本资料比较详见表 1

2.2 研究方法

2.2.1 子宫内膜准备

激素替代治疗（HRT）。方案 1：于月经第 2~5 天检查基础卵泡刺激素（FSH）、黄体生成素（LH）、雌二醇（E2）和孕酮（P），超声检查无显著异常。口服戊酸雌二醇片（拜耳，德国）3 mg，每日两次。根据子宫内膜厚度逐渐增加剂量。在 HRT 的第 12 至 21 天，若子宫内膜厚度 ≥ 7 mm，则开始给予黄体酮（浙江仙琚制药股份有限公司）60 mg 每日一次肌肉注射，联合地屈孕酮片（Abbott Biologicals B.V., 荷兰）10 mg 每日三次口服。在转化后的第 4 天进行卵裂期胚胎移植。

表 1 两组患者基本资料比较

变量	总计	2 组	EmbryoGlue 组	P
	n = 333	n = 162	n = 171	
女性年龄 (岁)	32 (30, 37)	33 (30.75, 38)	32 (28, 36)	< 0.001
男性年龄 (岁)	34 (30, 38)	34.5 (31, 39)	34 (30, 38)	0.096
不孕类型, n (%)				0.276
原发不孕	162 (48.65)	56 (34.57)	69 (40.35)	
继发不孕	171 (51.35)	106 (65.43)	102 (59.65)	
不孕年限 (岁)	3 (2, 5)	2 (1, 4)	3 (2, 5)	0.159
女性体重 (千克)	56 (51, 64)	56 (50, 63.63)	55 (51, 65)	0.341
女性身体质量指数 (kg/m ²)	22.43 (20.43, 24.97)	22.48 (20.34, 24.97)	22.31 (20.43, 25.39)	0.815
不孕原因				
女性因素	131 (39.34)	62 (38.27)	69 (40.35)	0.401
男性因素	40 (12.01)	22 (13.58)	18 (10.53)	0.392
双方因素	153 (45.95)	73 (45.06)	80 (46.78)	0.753
不明原因因素	9 (2.70)	5 (3.09)	4 (2.34)	0.674
受精方式 n (%)				0.163
IVF	277 (83.18)	130 (80.25)	147 (85.96)	
ICSI	56 (16.82)	32 (19.75)	24 (14.04)	
治疗方案 n (%)				< 0.05
HRT	248 (74.47)	112 (69.14)	136 (79.53)	
GnRh-HRT	85 (25.53)	50 (30.86)	35 (20.47)	
药物名称 n (%)				0.293
芬吗通	116 (34.83)	101 (62.35)	116 (67.84)	
补佳乐	217 (65.17)	61 (37.65)	55 (32.16)	
孕酮 (nmol/L)	0.87 (0.62, 1.17)	0.9 (0.6, 1.17)	0.85 (0.64, 1.17)	0.890
子宫内膜厚度 (mm)	10 (8.85, 11.8)	9.65 (8.6, 11)	10.5 (9, 12)	< 0.01
优质胚胎数, n (%)				0.623
1	123 (36.94)	62 (38.27)	61 (35.67)	
2	210 (63.06)	100 (61.73)	110 (64.33)	

方案2: 于月经第2~5天检查基础FSH、LH、E2和P, 超声检查无显著异常。从月经第2~5天开始口服芬吗通红色片(Abbott Biologicals B.V., 荷兰)2 mg, 每日两次或三次。在HRT的第12至21天, 若子宫内膜厚度 ≥ 7 mm, 则开始给予黄体酮(浙江仙琚制药股份有限公司)60 mg 每日一次肌肉注射, 联合芬吗通黄色片每日三次, 每次一片口服。在转化后的第4天进行胚胎移植。

降调节+HRT。在月经第2~5天肌肉注射醋酸曲普瑞林(成都天台山制药有限公司)3.75 mg 进行降调节。在降调节后14-28天随访血清FSH、LH、E2水平并进行子宫内膜超声检查。当垂体降调节达标时: LH < 5 U/L, FSH < 5 U/L, E2 < 50 pg/ml, 子宫内膜厚度 < 5 mm, 最大卵泡直径 $\leq 5-10$ mm, 开始口服戊酸雌二醇片或芬吗通红色片, 其余方案同HRT。

2.3 复苏胚胎评估

2.3.1 胚胎质量评估方法与定义

(1) 卵裂期胚胎质量主要根据碎片比例和卵裂球均匀度进行评估。

I级: 碎片比例 $\leq 10\%$, 卵裂球大小均匀;

II级: 碎片比例 $\leq 25\%$, 卵裂球大小均匀;

III级: 碎片比例 $\leq 50\%$, 卵裂球大小不均匀;

IV级: 碎片比例 $> 50\%$ 。

(2) 优质胚胎定义: 卵裂期优质胚胎定义为①双原核; ②细胞数 ≥ 7 且 ≤ 9 ; ③I级和II级胚胎; ④碎片率 $\leq 10\%$ 。

2.3.2 复苏成功标准

本中心一般在胚胎复苏后约2小时进行移植, 胚胎复苏后卵裂球存活率 $> 50\%$ 即判定胚胎复苏成功。

2.4 胚胎解冻与移植

本研究中, 所有冷冻液和解冻液分别采用玻璃化冷冻液(Kitazato Corporation)和玻璃化解冻液(Kitazato Corporation)。在胚胎解冻前, 将1号解冻液预热至 37°C , 并将2~4号解冻液平衡至室温。解冻时, 将含有胚胎的承载杆从液氮中迅速取出, 抖落其上的液氮, 迅速将承载杆前端浸入1号解冻液中, 浸泡1分钟。随后将胚胎依次转移至2号至4号解冻液中, 停留时间分别为3分钟、5分钟和5分钟。完成后, 将胚胎在G-2培养基中培养, 观察并评分胚胎存活情况, 评估其是否为优质胚胎。

在胚胎移植开始前1小时, 将选定的胚胎转移至移植培养基(EmbryoGlue或G-2)中。胚胎复苏后立即转移至含有约0.8 mL G-2培养基的培养皿中。G-2组直接使用G-2培养基进行移植。EmbryoGlue组在移植前15-30分钟, 将胚胎转移至含有0.8 mL EmbryoGlue培养基的培养皿中。G-2培养基在使用前于 37°C 、 6% CO_2 和 5% O_2 的培养箱中平衡过夜。EmbryoGlue培养基在使用前于 37°C 、 6% CO_2

和 5% O_2 的培养箱中平衡至少2小时, 但不超过18小时。

2.5 移植后处理与随访

移植后, 常规给予黄体酮进行黄体支持。移植后14天检测血中人绒毛膜促性腺激素(hCG)含量。hCG ≥ 10 IU/L被视为生化妊娠。移植后28天进行超声检查, 见到孕囊则判定为临床妊娠。通过腹腔镜检查或超声发现宫外孕囊来诊断异位妊娠[12]。流产定义为妊娠在满28周前终止且胎儿体重小于1000克。超声显示子宫内有两个或两个以上孕囊则视为多胎妊娠。活产是指妊娠满28周后出生且出生后具有健康生命体征的胎儿。

2.6 统计方法

使用SPSS 26.0(IBM, USA)对数据进行统计分析。连续变量中, 符合正态分布的数据以均值 \pm 标准差表示, 否则以中位数和四分位数表示。组间差异采用方差分析和卡方检验进行分析。随后, 进行多变量二元逻辑回归分析, 以确定培养基及其他潜在因素对妊娠结局的影响。结果以优势比(OR)及其95%置信区间(CI)表示。P值 < 0.05 被认为具有统计学意义。

3 结果

3.1 基本临床资料

共纳入了2020年8月1日至2022年12月31日期间在温州医科大学附属东阳市人民医院生殖医学中心接受治疗的333个冻融胚胎移植周期, 其中包括G-2组162个周期($n = 162$)和EmbryoGlue组171个周期($n = 171$)。EmbryoGlue组的女性年龄为 $32.0(28.0, 36.0)$ 岁, 显著低于G-2组的 $33.0(30.75, 38.0)$ 岁, 差异具有统计学意义($P < 0.001$)。两组在男性年龄、不孕类型、不孕年限、女性体重、体重指数、不孕因素和受精方式方面均无统计学显著差异(表1)。

3.2 冻融胚胎移植激素替代治疗前子宫内膜转化情况检测

本研究中, G-2组在移植前日的子宫内膜厚度为 $9.65(8.6, 11.0)$ mm, 显著低于EmbryoGlue组的 $10.5(9.0, 12.0)$ mm, 差异具有统计学意义($P < 0.01$)。两组在治疗方案的使用上存在显著差异($P < 0.05$)。两组在子宫内膜准备方案用药、移植前日孕酮水平以及移植优质胚胎数量方面均无统计学显著差异(表1)。

3.3 妊娠结局的单因素分析

本研究发现, 在G-2组和EmbryoGlue组的单因素分析中, 移植胚胎数、着床率、临床妊娠率、生化妊娠率、早期流产率、异位妊娠率、单胎妊娠率、多胎妊娠率和活产率均无统计学显著差异(表2)。

3.4 影响患者临床妊娠率和活产率因素的Logistic回归分层分析

将Logistic回归分析应用于三个亚组: 高龄(≥ 35 岁)

与非高龄 (< 35 岁)、IVF 与 ICSI、HRT 与 GnRH-HRT, 以探讨胚胎移植液 EmbryoGlue 在本研究中的作用。在多元因素分析中, 结果显示, 在调整了女性年龄、男性年龄、不孕类型、不孕年限、激素水平、女性体重、女性 BMI、不孕原因、受精方式、治疗方案、药物名称、孕酮、子宫内膜厚度和移植胚胎数等因素后, 因女性因素导致的不孕在使用胚胎移植液 EmbryoGlue 时可能会降低临床妊娠的成功率 (调整后 OR = 0.823, 95% CI = 0.717-0.945, P < 0.05)。此外, 在胚胎移植液 EmbryoGlue 对临床妊娠和活产的影响方面, 未观察到其他统计学显著差异。因此, 我们的研究发现, EmbryoGlue 移植培养基的临床妊娠结局与 G2 培养基相似。患者中影响临床妊娠率和活产率的因素进行分层二元逻辑回归分析, 详见表 3 所示

表 2 两组患者妊娠结局的单变量分析

变量	G-2 组 N (%)	EmbryoGlue 组 N (%)	P
植入胚胎数			
0	70 (43.10)	76 (44.44)	0.820
1	66 (40.74)	65 (38.01)	0.610
2	26 (16.05)	30 (17.54)	0.716
着床率	118 (36.42)	125 (36.55)	0.972
临床妊娠	92 (56.79)	97 (56.73)	0.990
生化妊娠	20 (12.35)	21 (12.28)	0.986
早期流产	13 (8.02)	15 (8.77)	0.806
异位妊娠	0 (0)	1 (0.58)	0.331
单胎妊娠	66 (40.74)	68 (39.77)	0.856
多胎妊娠	26 (16.05)	28 (16.37)	0.936
活产	79 (48.77)	81 (47.37)	0.799

表 3 对两组患者中影响临床妊娠率和活产率的因素进行分层二元逻辑回归分析。

变量	临床妊娠				活产			
	Unadjusted		Adjusted		Unadjusted		Adjusted	
	OR (95% CI)	P	OR (95% CI)	P	OR (95% CI)	P	OR (95% CI)	P
女性年龄 (岁)								
< 35	1.141 (0.646, 2.016)	0.649	1.384 (0.709, 2.702)	0.340	1.136 (0.656, 1.965)	0.649	2.042 (0.494, 8.436)	0.324
≥ 35	1.020 (0.498, 2.087)	0.957	0.960 (0.397, 2.319)	0.927	1.195 (0.565, 2.526)	0.641	0.788 (0.131, 4.758)	0.795
治疗方案								
HRT	0.873 (0.526, 1.449)	0.599	0.895 (0.495, 1.620)	0.715	0.872 (0.529, 1.439)	0.593	1.110 (0.356, 3.461)	0.857
Gnrh-HRT	1.640 (0.687, 3.916)	0.265	2.397 (0.746, 7.696)	0.142	2.076 (0.851, 5.064)	0.108	2.838 (0.863, 9.334)	0.086
受精方式								
IVF	0.937 (0.581, 1.511)	0.790	1.213 (0.709, 2.077)	0.480	0.979 (0.611, 1.570)	0.931	1.383 (0.534, 3.582)	0.505
ICSI	1.519 (0.524, 4.404)	0.441	0.656 (0.152, 2.832)	0.572	1.667 (0.567, 4.900)	0.353	2.205 (0.461, 10.548)	0.322
不孕原因								
女性因素	1.121 (0.562, 2.235)	0.745	0.823 (0.717, 0.945)	0.006	1.212 (0.607, 2.419)	0.585	1.392 (0.328, 5.909)	0.654
男性因素	1.400 (0.392, 4.997)	0.604	1.500 (0.201, 11.219)	0.693	1.500 (0.429, 5.248)	0.526	2.730 (0.415, 17.964)	0.296
多重因素	0.808 (0.425, 1.536)	0.516	0.911 (0.435, 1.908)	0.804	0.880 (0.467, 1.661)	0.694	2.762 (0.578, 13.204)	0.203
特发性	1.500 (0.106, 21.312)	0.765	--	--	0.667 (0.047, 9.472)	0.765	--	--

4 讨论

胚胎移植是 IVF-ET 治疗过程中的重要步骤之一。成功的胚胎着床需要具有发育潜能的胚胎、处于容受状态的子宫内膜以及胚胎与子宫内膜之间相互作用的建立。在过去的三十年中, 随着培养基的优化和促排卵方案的改进, 研究人员获得了更多的卵子、更高的受精率和更优质的胚胎, 体外受精 - 胚胎移植的临床妊娠率也在不断提高。然而, 胚胎着床失败是由于胚胎与子宫内膜之间缺乏良好的接触和相互作用。透明质酸 (HA) 是由葡萄糖醛酸和 N- 乙酰葡萄糖胺组成的透明质酸二糖单元, 是一种粘多糖, 主要分布在宫颈粘液、卵丘、卵泡液和精浆中。早在 1987 年, 就发现这种聚合物物质 HA 在胚胎着床期输卵管和子宫中的含量会增加。多项研究表明, 透明质酸不仅参与胚胎发育、细胞迁移和粘附等生理过程, 还能增加细胞间和细胞外基质的粘附性, 显著支持囊胚的沉积和粘附, 并能间接促进血管增生。

EmbryoGlue 是一种含有高浓度透明质酸 (0.5 mg/mL) 和低浓度重组人白蛋白 (rHA: 2.5 mg/mL) 的胚胎移植培养基, 而标准培养基 (G-2) 含有少量透明质酸 (0.125 mg/mL) 和低浓度重组人白蛋白 (rHA: 10 mg/mL)。

本研究回顾性分析了我中心为不孕症患者进行的 333 个第 3 天卵裂期冻融胚胎移植周期。我们的研究发现, 在第 3 天卵裂期胚胎移植中使用 EmbryoGlue 并未提高临床妊娠率或活产率。尽管 Simon 等人 [7] 报道使用富含高浓度透明质酸的培养基可使妊娠率提高 10%, 着床率提高 5%, 但他们的研究样本量较小 (每组 40 名患者), 且实验组的透明质酸浓度为 1.0g/ml, 这与 EmbryoGlue 不同, 也与我们的研究不符。Priti Karadbhajnne 等人提出, EmbryoGlue 可能改善反复植入失败患者的临床妊娠率, 但该结论基于病例报告。Singh 等人进行的一项前瞻性研究表明, 使用 EmbryoGlue 可使临床妊娠率提高 7%, 但结果无统计学意义。他们的研

究涉及新鲜胚胎移植, 胚胎日龄从2天到5天不等, 移植胚胎数量从1个到4个不等, 这与我们的研究不同。

5. 结论

富含HA的EmbryoGlue的临床结局与G-2相比无统计学显著差异。因此, 在冻融胚胎移植方面, EmbryoGlue移植培养基与G2培养基具有相似的临床结局。此外, 我们认识到EmbryoGlue在特定患者群体中的潜在价值, 特别是那些反复植入失败的患者。虽然我们的研究并未特别关注RIF患者, 但先前的研究表明, 在这种情况下使用EmbryoGlue可能会提高着床率和整体妊娠结局[10,13]。未来需要更大规模和更多样化人群的研究, 以全面探索EmbryoGlue在临床实践中的潜在益处和局限性, 并为改善胚胎移植结局寻找新的视角。

参考文献

- [1] Gardner DK, Lane M. Blastocyst transfer. *Clin Obstet Gynecol* 2003;46:231–8. <https://doi.org/10.1097/00003081-200306000-00005>.
- [2] Bontekoe S, Blake D, Heineman MJ, Williams EC, Johnson N. Adherence compounds in embryo transfer media for assisted reproductive technologies. *Cochrane Database Syst Rev* 2010;CD007421. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD007421.pub2>.
- [3] Carson DD, Dutt A, Tang JP. Glycoconjugate synthesis during early pregnancy: Hyaluronate synthesis and function. *Dev Biol* 1987;120:228–35. [https://doi.org/10.1016/0012-1606\(87\)90120-5](https://doi.org/10.1016/0012-1606(87)90120-5).
- [4] Gardner DK, Rodriegez-Martinez H, Lane M. Fetal development after transfer is increased by replacing protein with the glycosaminoglycan hyaluronan for mouse embryo culture and transfer. *Hum Reprod* 1999;14:2575–80. <https://doi.org/10.1093/humrep/14.10.2575>.
- [5] Chun S, Seo JE, Rim YJ, Joo JH, Lee YC, Koo YH. Efficacy of hyaluronan-rich transfer medium on implantation and pregnancy rates in fresh and frozen-thawed blastocyst transfers in Korean women with previous implantation failure. *Obstet Gynecol Sci* 2016;59:201–7. <https://doi.org/10.5468/ogs.2016.59.3.201>.
- [6] Fancsovsits P, Lehner A, Murber A, Kaszas Z, Rigo J, Urbancsek J. Effect of hyaluronan-enriched embryo transfer medium on IVF outcome: A prospective randomized clinical trial. *Arch Gynecol Obstet* 2015;291:1173–9. <https://doi.org/10.1007/s00404-014-3541-9>.
- [7] Simon A, Safran A, Revel A, Aizenman E, Reubinoff B, Porat-Katz A, et al. Hyaluronic acid can successfully replace albumin as the sole macromolecule in a human embryo transfer medium. *Fertil Steril* 2003;79:1434–8. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(03\)00349-2](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(03)00349-2).
- [8] Singh N, Gupta M, Kriplani A, Vanamail P. Role of embryo glue as a transfer medium in the outcome of fresh non-donor in-vitro fertilization cycles. *J Hum Reprod Sci* 2015;8:214–7. <https://doi.org/10.4103/0974-1208.170398>.
- [9] Valojerdi MR, Karimian L, Yazdi PE, Gilani MAS, Madani T, Baghestani AR. Efficacy of a human embryo transfer medium: A prospective, randomized clinical trial study. *J Assist Reprod Genet* 2006;23:207–12. <https://doi.org/10.1007/s10815-006-9031-7>.
- [10] Yung SSF, Lai SF, Lam MT, Lui EMW, Ko JKY, Li HWR, et al. Hyaluronic acid-enriched transfer medium for frozen embryo transfer: A randomized, double-blind, controlled trial. *Fertil Steril* 2021;116:1001–9. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2021.02.015>.
- [11] Bhoi NR, Murdia N, Murdia K, Chandra V, Suwalka I, Mistari W, et al. Effect of hyaluronic acid-containing transfer media (EmbryoGlue®) on the live birth rate in frozen thawed embryo transfer cycles. *Cureus* 2024;16:e52713. <https://doi.org/10.7759/cureus.52713>.
- [12] Dong L, Lian F, Wu H, Xiang S, Li Y, Wei C, et al. Reproductive outcomes of dual trigger with combination GnRH agonist and hCG versus trigger with hCG alone in women undergoing IVF/ICSI cycles: A retrospective cohort study with propensity score matching. *BMC Pregnancy Childbirth* 2022;22:583. <https://doi.org/10.1186/s12884-022-04899-2>.