

低分子肝素对反复种植失败合并易栓症患者妊娠结局的影响观察

张欣 王琇 张丽 (河北省计划生育科学技术研究院,国家卫生健康委员会计划生育与优生重点实验室 石家庄 050071)

摘要 目的: 观察低分子肝素对体外受精-胚胎移植中反复种植失败的合并易栓症患者再次解冻移植助孕临床妊娠结局的影响。方法: 选取在我院生殖中心行体外受精-胚胎移植反复种植失败合并易栓症患者,再次解冻移植共 171 周期,随机分为两组。研究组 86 周期给予低分子肝素+常规黄体支持,对照组 85 周期仅给予常规黄体支持。比较两组患者的妊娠结局,同时观察研究组的药品不良反应发生情况。结果: 研究组和对照组的临床妊娠率(37.2% vs. 22.4%)、胚胎着床率(23.23% vs. 13.75%)、活产率(90% vs. 55.56%)等指标比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。研究组 15 例患者出现阴道少量出血(17.44%),30 例患者注射部位皮肤出现淤点、瘀斑(34.88%)。症状均较轻微。结论: 低分子肝素可以提高反复种植失败合并易栓症患者的临床妊娠率、胚胎着床率及活产率。

关键词 低分子肝素;反复种植失败;易栓症;体外受精-胚胎移植;临床妊娠率

中图分类号: R714 文献标识码: A 文章编号: 1008-049X(2020)09-1792-03

Effect of Low Molecular Weight Heparin on Pregnancy Outcomes in Patients with Repeated Implantation Failure and Thrombophilia

Zhang Xin, Wang Xiu, Zhang Li (Hebei Family Planning Science & Technology Research Institute, Key Laboratory for Family Planning and Birth Health of the National Health Committee, Shijiazhuang 050071, China)

ABSTRACT Objective: To explore the effect of low molecular weight heparin (LMWH) on the outcomes of thawed embryo transfer in patients with repeated implantation failure and thrombophilia during *in vitro* fertilization-embryo transfer (IVF-ET). **Methods:** Totally 171 cycles of repeated implantation failure and thrombosis were selected in our reproductive center for *in vitro* fertilization and embryo transfer, and randomly divided into two groups. The study group was given low molecular weight heparin and the conventional luteal support for 86 cycles, and the control group was only give the conventional luteal support for 85 cycles. The pregnancy outcomes of the two groups was observed and the adverse drug reactions in the study group were observed. **Results:** There were significant differences in the clinical pregnancy rate (37.2% vs. 22.4%), embryo implantation rate (23.23% vs. 13.75%) and live birth rate (90.00% vs. 55.56%) between the study group and the control group ($P < 0.05$). 15 patients in the study group had a small amount of vaginal bleeding (17.44%), and ecchymosis and petechiae were found in 30 patients (34.88%). The symptoms were all mild. **Conclusion:** Low molecular weight heparin can improve the clinical pregnancy rate, embryo implantation rate and live birth rate of patients with repeated implantation failure complicated with thrombophilia.

KEY WORDS Low molecular weight heparin; Repeated implantation failure; Thrombophilia; *In vitro* fertilization and embryo transfer; Clinical pregnancy rate

反复种植失败(repeated implantation failure, RIF)的定义不尽相同,大多数学者建议将 RIF 定义为 40 岁以下,连续 2 个体外受精(*in vitro* fertilization, IVF)、冻融胚胎移植(frozen-thawed embryo transfer, FET)或卵细胞浆内单精子注射(intracytoplasmic sperm injection, ICSI)周期未获得临床妊娠,同时满足移植囊胚数 ≥ 2 个,或移植卵裂期优质胚胎数 ≥ 4 个^[1]。易栓症(thrombophilia)是指存在抗凝蛋白、凝血因子、纤溶蛋白等遗传性或获得性缺陷而具有高血栓栓塞倾向的一种疾病状态^[2]。易栓症在 RIF 中的作用机制类似于在复发性流产中的作用机制,因此有学者提出对 RIF 患者在胚胎种植前进行易栓症相关检查,异常者可及早给予预防性抗凝治疗^[3]。但目前国内有关 RIF 合并易栓症预防性治疗的研究

尚不多见。本文观察低分子肝素用于 RIF 合并易栓症患者再次解冻移植的价值,及其对患者临床妊娠结局的影响,报道如下。

1 资料与方法

1.1 病例选择

选取 2015 年 10 月~2018 年 10 月在我院生殖中心行 IVF 反复种植失败,同时合并易栓症的再次解冻移植患者共 171 周期。

纳入标准:①患者年龄 < 40 岁,基础卵泡刺激素(FSH) $< 10 \text{ U} \cdot \text{L}^{-1}$,双侧卵巢窦卵泡数 > 5 个;②冷冻胚胎为同一时期高孕激素状态下促排卵来源的胚胎;③连续 2 个 FET 周期未获得临床妊娠,同时满足移植囊胚数 ≥ 2 个,或移植卵裂

基金项目:河北省卫生和计划生育委员会医学科学研究课题计划项目(编号:20190975)

通讯作者:王琇 Tel: 18731160960 E-mail: 18731160960@163.com

期优质胚胎数 ≥ 4 个;④符合《易栓症诊断中国专家共识2012》中易栓症诊断标准^[4]。遗传性易栓症的检测项目包括抗凝血酶、蛋白C、蛋白S、同型半胱氨酸。抗磷脂抗体检测:包括狼疮抗凝物(LA)、抗磷脂(ACL)抗体和抗 $\beta 2$ 糖蛋白I($\beta 2$ -GPI)抗体。LA的检测在抗凝治疗前或停用口服抗凝药至少1周后进行。抗磷脂抗体作为抗磷脂综合征的诊断条件之一,应至少一项抗磷脂抗体两次检测阳性,且两次检测至少间隔12周。蛋白C活性 $<65\%$,蛋白S活性 $<55\%$,抗凝血酶活性 $<60\%$,同型半胱氨酸 $\geq 15 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 为异常。

排除标准:①男女双方染色体异常;②先天性子宫异常;③宫腔粘连、子宫内膜息肉等;④输卵管积水;⑤合并内科疾病(高血压、糖尿病、甲状腺功能异常、肝功能异常、血小板减低等);⑥合并急性出血性疾病(消化道溃疡等)。

1.2 分组与治疗方法

本研究方案经医院生殖伦理委员会讨论通过,纳入患者均签署知情同意书。

采用随机数字表法将纳入患者随机分为研究组和对照组。两组均给予常规黄体支持:黄体酮阴道缓释凝胶(默克雪兰诺有限公司,规格:90 mg/支,批号:C18147Y/F) 90 mg,阴道用,qd,地屈孕酮片(雅培公司,规格:10 mg/片,批号:360217) 10 mg po bid。研究组患者在此基础上,从移植日开始给予达肝素钠(瑞辉公司,规格:5 000 IU/支,批号:H20170040) 5 000 IU,皮下注射,qd。移植后14 d,查血 β -HCG,28 d后行B超检查了解宫腔内有无孕囊及数目。确定妊娠后继续常规黄体支持至妊娠8~10周;研究组达肝素钠持续用至妊娠12周。两组患者均随访至胎儿出生。

1.3 观察指标

胚胎着床率:着床胚胎总数/移植胚胎总数 $\times 100\%$;临床妊娠率:临床妊娠周期数/移植周期数 $\times 100\%$;活产率:活产人数/怀孕人数 $\times 100\%$ 。

用药期间定期检查凝血,至少每2~4周1次。定期检查肝、肾功能,至少每1~2个月1次,发现异常及时处理。详细记录研究组患者使用达肝素钠过程中的不良反应发生情况,如出血、凝血功能异常、变态反应、血清转氨酶升高等^[5]。

1.4 统计学方法

应用SPSS 19.0软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较采用 t 检验,计数资料比较采用 χ^2 检验或Fisher精确概率检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者基本资料比较

两组患者年龄、体质指数、基础FSH水平、平均移植胚胎数及各项易栓症异常指标所占比例等方面比较,差异均无统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.2 两组FET妊娠结局比较

研究组临床妊娠率、胚胎种植率及活产率等指标均明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.3 研究组不良反应发生情况

研究组在使用达肝素钠期间,有15例患者出现阴道少

表1 两组患者一般情况比较 [$\bar{x} \pm s$, $n(\%)$]

指标项目	研究组($n=86$)	对照组
年龄(岁)	31.8 \pm 3.97	31.1 \pm 4.27
BMI($\text{kg} \cdot \text{m}^{-2}$)	22.76 \pm 3.52	23.09 \pm 3.67
基础FSH($\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$)	6.33 \pm 1.55	6.70 \pm 1.44
平均移植胚胎数(个)	1.8 \pm 0.43	1.88 \pm 0.40
蛋白S异常比例	1(1.16)	1(1.18)
蛋白C异常比例	1(1.16)	1(1.18)
抗凝血酶异常比例	2(2.33)	2(2.35)
同型半胱氨酸异常比例	33(38.37)	32(37.64)
抗磷脂抗体异常比例	20(23.26)	19(22.35)
抗 $\beta 2$ 糖蛋白I抗体异常比例	17(19.77)	18(21.18)
狼疮抗凝物异常比例	6(6.98)	7(8.24)
≥ 2 项指标异常比例	6(6.98)	5(5.88)

表2 两组患者的妊娠结局比较 [$n(\%)$]

组别	临床妊娠率	胚胎着床率	活产率
研究组($n=86$)	32/86(37.2 ^a)	36/155(23.23 ^a)	45/50(90.00 ^a)
对照组($n=85$)	19/85(22.4)	22/160(13.75)	20/36(55.56)

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$ 。

量出血(17.44%),观察后发现出血可自止,继续使用低分子肝素出血量并未增加,患者未出现血小板减少。30例患者注射部位皮肤出现淤点、瘀斑(34.88%),更换注射部位后,症状可改善。

3 讨论

易栓症分为遗传性和获得性两种,遗传性易栓症主要有蛋白C、蛋白S、抗凝血酶III缺乏、高同型半胱氨酸血症等;获得性易栓症主要包括抗磷脂综合征等^[6],可导致各种妊娠并发症,如复发性流产(recurrent spontaneous abortion, RSA)、先兆子痫、胎儿宫内生长受限、胎盘早剥等。国内外有研究认为易栓症与反复种植失败相关^[2,7,8]。

易栓症导致反复种植失败的机制尚未完全阐明,可能机制如下:易栓症干扰凝血-纤溶系统平衡,使凝血功能相对增强,导致胎盘微血栓形成,阻碍胚胎种植^[2];影响滋养层细胞功能,包括侵入、分化、增殖甚至蜕膜化^[9];应激、内毒素和抗原等引起Th1细胞因子反应,Th1可上调滋养层和蜕膜中的f β 2凝血酶原酶,触发血栓和炎症反应,从而导致植入失败和孕早期自然流产^[10]。朱丹等^[11]研究发现,阿司匹林联合低分子肝素可提高抗磷脂抗体阳性复发性流产患者的活产率(86.96% vs. 52.89%)。2018年中国专家共识认为:易栓症导致RSA的证据等级为I级^[12]。由易栓症引起的RSA中,抗凝治疗被公认为首选治疗方法,低分子肝素在合并易栓症的RSA治疗中占有重要地位^[12]。由此推测抗凝治疗可能会改变RIF合并易栓症患者的妊娠结局。

目前国内常用的低分子肝素包括依诺肝素、达肝素、那曲肝素等,其在RIF中应用的时机、剂量及有效性研究结论尚不统一。有研究表明低分子肝素应用于RIF患者或可改善其子宫内膜容受性,缓解高凝状态,上调胰岛素样生长因子-1、白血病抑制因子、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子等的表达,提高滋养细胞对内膜细胞的侵入能力等^[13]。有研究提示低分子肝素可改善RIF患者的胚胎种植率、临床妊娠率、胎儿活产率,预防IVF过程中的卵巢过度刺激综合征

等^[14]、Qublan 等^[15] 在一项对照研究中提示低分子肝素应用于有血栓形成倾向的 RIF 患者,其胚胎种植率、临床妊娠率、胎儿活产率均有显著提高。低分子肝素可以改善抗磷脂患者的 IVF-ET 妊娠结局^[16]。Sokol 等^[17] 回顾性研究低分子肝素治疗妊娠期遗传性易栓症患者,发现治疗组的活产率高于未治疗组(82.5% vs. 53.8%)。熊正芳等^[18] 认为低分子肝素能改善 RIF 患者再次助孕的妊娠结局,尤其是对于高龄和高凝状态的患者。Hamdi 等^[19] 对 100 例 RIF 患者进行随机对照试验,发现 RIF 患者使用与未使用低分子肝素,其妊娠结局并无显著差异,可能与样本量偏少有关。Potdar 等^[20] 通过 Meta 分析谨慎认为,在不明原因的 RIF 患者中应用低分子肝素可提高活产率并降低流产率,但不建议在 RIF 中常规应用低分子肝素。本文对低分子肝素应用于 RIF 合并易栓症患者再次 FET 研究发现,研究组临床妊娠率、胚胎种植率、活产率等指标均明显优于对照组,因此低分子肝素可能对反复种植失败合并易栓症患者的妊娠结局有益。

美国食品药品监督管理局(FDA)将低分子肝素定为 B 类药物。对于胎儿方面,其不通过胎盘屏障,不会增加胎儿出血事件的发生。对于孕妇而言,一项大规模研究显示:出血的发生率为 1.98%,主要与产科原因有关^[21]。过敏性皮肤反应发生率为 1.80%,血小板减少发生率为 0.11%,骨质疏松发生率为 1.98%。本研究部分患者出现阴道少量出血,观察后发现出血可自止,尚无证据表明阴道出血是因使用低分子肝素引起,且在观察过程中,继续使用低分子肝素,出血量并未增加,患者未出现血小板减少。部分患者注射部位皮肤出现淤点、瘀斑,但不影响治疗,可能与患者注射方法有关。

综上所述,对于反复种植失败合并易栓症患者可以用低分子肝素治疗以期改善妊娠结局,妊娠期应用低分子肝素也是安全、有效的。但 RIF 发病机制复杂,且目前机制不明,低分子肝素对患者的内分泌状态、获卵情况、胚胎质量等相关临床指标,临床有效性评价指标较少,希望有更多中心开展大样本双盲随机对照研究来提供更多可靠的证据。

参 考 文 献

- 1 张国青,徐影,张雪莹,等.辅助生殖中反复种植失败的病因及相关对策的研究进展[J].中国妇幼保健,2018,33(8):1908-1911
- 2 倪亚莉,邓伟.易栓症与反复胚胎种植失败的相关性研究[J].生殖医学杂志,2018,27(1):60-63
- 3 Khizroeva J, Makatsariya A, Bitsadze V, et al. *In vitro* fertilization outcomes in women with antiphospholipid antibodies circulation [J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2018, 33(12): 1988-1993
- 4 中华医学会血液学分会血栓与止血学组.易栓症诊断中国专家共识(2012年版)[J].中华血液学杂志,2012,33(11):982
- 5 高媛,乔宠.低分子肝素治疗复发性流产对肝功能的影响[J].中国医科大学学报,2016,45(6):535-537
- 6 陈灿明,任卫娟,王奕芳,等.复发性流产血栓前状态病因学及治疗研究进展[J].国际生殖健康/计划生育杂志,2019,37(2):150-153
- 7 Lattová V, Dostál J, Pešková M, et al. Recurrent implantation failure

- and thrombophilia [J]. Ceska Gynekol, 2015, 80(1): 5-40
- 8 唐君,毛增辉,刘人杰,等.体外受精-胚胎移植反复种植失败与抗磷脂抗体的相关性研究[J].实用妇科内分泌杂志(电子版),2017,4(1):48-50
- 9 Krivokuća MJ, Stefanoska I, Rabi TA, et al. Immunoglobulins from sera of antiphospholipid syndrome patients are internalized in the HTR-8/SVneo cell line and cytotrophoblast in culture [J]. Immunobiology, 2018, 223(10): 544-548
- 10 Gutierrez G, Sarto A, Berod L, et al. Up-Regulation of TH2 fetal-placental levels could be involved in the protective effect of low-molecular-weight heparin treatment on spontaneous abortion in mice [J]. American Journal Of Reproductive Immunology, 2002, 48(3): 157
- 11 朱丹,阮加里,李阳阳,等.低分子肝素在反复生化妊娠合并抗磷脂抗体阳性患者中的队列研究[J].现代妇产科进展,2019,28(1):13-16
- 12 低分子肝素防治自然流产中国专家共识编写组.低分子肝素防治自然流产中国专家共识[J].中华生殖与避孕杂志,2018,38(9):701-708
- 13 李雪兰,陈薪,陈士岭.低分子肝素在存在血栓前状态的反着床失败患者中的应用研究进展[J].实用妇产科杂志,2016,10:735-738
- 14 Humaidan P, Quartarolo J, Papanikolaou EG. Preventing ovarian hyperstimulation syndrome: guidance for the clinician [J]. Fertility and Sterility, 2010, 94(2): 389-400
- 15 Qublan H, Amarin Z, Dabbas M, et al. Low molecular weight heparin in the treatment of recurrent IVF-ET failure and thrombophilia: a prospective randomized placebo-controlled trial [J]. Hum Fertil, 2008, 11(4): 246-253
- 16 Orquevaux P, Maseau A, Le Guern V, et al. *In vitro* fertilization in 37 women with systemic lupus erythematosus or antiphospholipid syndrome: a series of 97 procedures [J]. J Rheumatol, 2017, 44(5): 613-618
- 17 Sokol V, Ivanišević M, Herman M, et al. The role of low molecular weight heparin in women with hereditary thrombophilia for good perinatal outcome [J]. Acta Clin Croat, 2016, 55(2): 309-315
- 18 熊正芳,党小红,李冰,等.低分子肝素钙在多次着床失败患者中的应用[J].实用妇产科杂志,2015,8:614-617
- 19 Hamdi K, Danaii S, Farzadi L, et al. The role of heparin in embryo implantation in women with recurrent implantation failure in the cycles of assisted reproductive techniques (without history of thrombophilia) [J]. Journal of Family and Reproductive Health, 2015, 9(2): 59-64
- 20 Potdar N, Gelbaya TA, Konje JC, et al. Adjunct lowmolecular-weight heparin to improve live birth rate after recurrent implantation failure: a systematic review and metaanalysis [J]. Hum Reprod Update, 2013, 19(6): 674-684
- 21 Greer IA, Nelson-Piercy C. Low-molecular-weight heparin for thromboprophylaxis and treatment of venous thromboembolism in pregnancy: A systematic review of safety and efficacy [J]. Blood, 2005, 106(2): 401-407

(2020-03-17 收稿 2020-05-25 修回)