低分子肝素对胚胎反复种植失败患者子宫动脉血流的影响

谭小方，许健，戴小颖，丁家怡，施蔚虹　南通市妇幼保健院，江苏 南通 226006

摘　要：目的　观察低分子肝素对胚胎反复种植失败患者子宫动脉血流灌注的影响，并探讨其可能机制。方法　实验组为胚胎反复种植失败患者 32 例，对照组为首次行 IVF-ET 助孕临床妊娠者 32 例，观察两组的子宫动脉阻力指数（RI）和收缩期峰值流速/舒张末期流速（S/D）的情况，实验组应用低分子肝素治疗，观察其对子宫动脉血流的影响。结果　实验组的子宫动脉阻力指数和收缩期峰值流速/舒张末期流速明显高于对照组（$P<0.01$），低分子肝素能够降低胚胎反复种植失败患者的子宫动脉阻力指数和收缩期峰值流速/舒张末期流速（$P<0.01$）。结论　低分子肝素能够改善胚胎反复种植失败患者的子宫动脉血流灌注。

关键词：反复种植失败；子宫动脉阻力指数；低分子肝素
中国图书分类号：R321.33　文献标识码：B　文章编号：1001-4411(2019)13-3034-03；doi：10.7620/zgfybj.j.issn.1001-4411.2019.13.41

体外受精-胚胎移植（in vitro Fertilization and Embryo Transfer，IVF-ET）的临床妊娠率目前约为 50%，但仍有 10%左右的妇女多次移植优质胚胎而未获得临床妊娠[1]，即胚胎反复种植失败（repeated implantation failure，RIF）。目前国内外多数学者认为胚胎反复种植失败是指移植 3 次以上优质胚胎或多次移植胚胎数量共计≥10 枚仍未获得临床妊娠[2]。子宫动脉是供应子宫血液循环重要组成部分，正常的子宫动脉血流灌注是胚胎着床和发育需要的，子宫动脉血流灌注异常可影响胚胎种植的子宫内膜容受性，进而影响胚胎的种植。本研究拟通过对反复种植失败 32 例患者“种植窗”期子宫动脉阻力指数和 S/D 的观察，采用低分子肝素钠抗凝治疗，分析低分子肝素治疗对子宫动脉血流灌注情况的影响。现将结果报道如下。

1　资料与方法

1.1　研究对象　选取 2015 年 3 月-2017 年 3 月于南通市妇幼保健院生殖医学中心因输卵管因素行 IVF-ET 助孕的患者，年龄 25~35 周岁。其中 RIF 患者 32 例为观察组，32 例首次行 IVF-ET 助孕临床妊娠者为对照组。RIF 患者入选标准：移植 3 个周期且均移植优质胚胎未获得临床妊娠者。

1.1.1　入选标准　①患者行 IVF-ET 的指征均为输卵管因素；②男方多次精液常规检查正常；③平素月经规则，28~30 d，基础内分泌正常；④B 超检查双侧卵巢完整无异常，无卵巢手术史；⑤无子宫内膜异位症病史；⑥宫腔形态正常；⑦甲状腺、血糖、胰岛素等内分泌检测正常；⑧自身免疫性抗体阴性：抗磷脂抗体、抗核抗体，甲状腺抗体均阴性；⑨夫妻双方染色体正常。

基金项目：南通市科技计划项目（GLZ16078）；南通市卫计委青年基金项目（WQ2015068）
通讯作者：施蔚虹，E-mail：swh0788@163.com

1.1.2　排除标准　①合并子宫畸形、输卵管积水、宫腔病变；②移植日子宫内膜厚度≤8 mm；③合并多囊卵巢综合征、高泌乳素血症、甲状腺功能紊乱和糖尿病。

观察组和对照组患者均签订知情同意书，且经南通市妇幼保健院生殖医学伦理委员会批准。

1.2　促排卵方案　采用黄体期减量长方案行垂体降调节，于自然周期排卵后一周或口服达英 35 第 17 天予注射用醋酸曲普瑞林（达菲林）0.93~1.25 mg 肌内注射，14 d 后垂体达到降调节标准［雌激素（E_2）<50 pg/ml，黄体生成素（LH）<5 IU/L，卵泡刺激素（FSH）<5 IU/L，子宫内膜厚度≤5 mm，双侧卵巢卵泡直径约 5~6 mm，无卵巢功能性囊肿］，给予肌内注射促性腺激素 150~300 IU 促排卵；根据 B 超监测卵泡发育情况及激素水平调整剂量。扳机标准为：有一个主导卵泡≥18 mm 或 2 个卵泡直径≥17 mm 或 3 个卵泡直径≥16 mm 时，结合雌激素水平，注射人绒毛膜促性腺激素（HCG）6 000~10 000 IU；注射后 36 h 行经阴道超声引导下取卵术，常规行体外受精和胚胎培养；取卵后 72 h（D3）后行胚胎移植或冷冻胚胎，移植后予黄体支持，在移植术后 14 d 查血 HCG 阳性者为生化妊娠；在移植后 28 d 行阴道 B 超检查，见宫内孕囊且有心管搏动者诊断为临床妊娠。

1.3　检测方法　采用由 GE 公司生产的 Voluson E8 型三维彩色多普勒超声诊断仪，探头频率为 5.0 MHz，患者取仰卧位，休息 5 min 后进行检查。①常规检查子宫的大小、位置、形态及双侧卵巢的大小和形态。②测量子宫动脉的血流值：按 Goswamy 和 Steptoe 标准测量子宫动脉，同时将子宫动脉血流频谱波形分类[3]。子宫动脉由髂内动脉分出后，在宫颈内口水平横切，宫颈双侧可探及子宫动脉宫体上行支，彩色多普勒常见有 L、U 或 S 型，适当调整彩色多普勒至血流信号显示良好，取样容积 2 mm。尽量使取样线与血流方向一致，与血流方向夹角必须<

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

60°。取 6 个连续稳定的心动周期频谱，测量并记录双侧子宫动脉血流动力学参数：阻力指数（RI）、收缩期峰值流速/舒张末期流速（S/D），所有患者由同一名专业人员手动测量 3 次取平均值。

1.4 统计学分析 应用 SPSS 17.0 统计软件对数据资料进行统计学分析，计量资料以均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，采用 t 检验，以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者一般情况的比较 两组患者在平均年龄、不孕年限、基础卵泡刺激素（FSH）、基础窦卵泡数（双侧 AFC）、体质量指数（BMI）、Gn 用量、Gn 天数、平均获卵数、受精率、卵裂率、胚胎移植日子宫内膜厚度及黄体酮用量方面比较差异均无统计学意义（$P>0.05$）。见表 1。

2.2 两组患者子宫动脉 RI、S/D 比较 见表 2。

表 1 两组患者一般情况（$\bar{x}\pm s$）

组别	例数	年龄(岁)	不孕年限	FSH	AFC	BMI	Gn 用量(U)
观察组	32	29.5±2.7	3.75±1.52	7.31±0.82	18±2	22.9±1.8	2 150±660
对照组	32	29.7±3.1	3.63±1.78	7.55±0.75	16±3	22.4±2.2	2 226±651
t 值		0.344	0.302	1.157	2.056	0.896	0.462
P 值		0.642	0.463	0.491	0.118	0.093	0.744

组别	例数	Gn 天数	平均获卵数	受精率(%)	卵裂率(%)	子宫内膜厚度(mm)	取卵后黄体酮用量(mg/d)
观察组	32	10.4±1.0	13.6±3.7	82.6±7.2	97.5±3.8	10.9±1.3	73.8±9.4
对照组	32	10.5±1.1	13.6±4.9	80.3±4.0	97.8±3.2	11.4±1.9	73.0±9.7
t 值		0.466	0.029	1.589	0.322	1.116	0.262
P 值		0.518	0.123	0.119	0.517	0.396	0.603

表 2 两组患者子宫动脉 RI 和 S/D 情况（$\bar{x}\pm s$）

组别	例数	RI(左侧)	RI(右侧)	S/D(双侧之和)
观察组	32	0.86±0.39	0.87±0.53	18.58±0.68
对照组	32	0.76±0.41	0.76±0.54	11.85±1.72
t 值		9.16	7.02	19.49
P 值		<0.01	<0.01	<0.01

2.3 观察组患者低分子肝素治疗前、后 RIF 子宫动脉的 RI、S/D 比较 见表 3。

表 3 低分子肝素治疗前、后 RIF 患者子宫动脉 RI 和 S/D 情况（$\bar{x}\pm s$）

类别	例数	RI(左侧)	RI(右侧)	S/D(双侧之和)
治疗前	32	0.86±0.39	0.87±0.53	18.58±0.68
治疗后	32	0.75±0.39	0.77±0.21	11.40±1.38
t 值		10.80	8.82	24.69
P 值		<0.01	<0.01	<0.01

3 讨论

胚胎的质量和子宫内膜的容受性是影响胚胎种植成功的关键因素[4]，目前胚胎种植率在 20%~30%左右，子宫内膜容受性降低是胚胎种植失败的主要原因[5]。由于子宫内膜环境对胚胎种植有重要影响，如何提高胚胎的种植率是目前 IVF-ET 面临的主要问题。子宫内膜容受性是指子宫内膜在受激素调控的特定时期内处于接受状态，人类子宫内膜仅在一个极短的时期内允许胚胎着床，这个时期称为“种植窗”，通常在月经周期的第 20~24 天，子宫内膜的微环境如内分泌水平、激素水平、血管化程度等是胚胎成功植入的前提。

子宫动脉是子宫血液循环的重要组成部分，正常的子宫动脉血流灌注是胚胎着床和发育的前提，目前认为异常的子宫动脉血流灌注与复发性流产、妊娠期高血压、子痫、胎儿生长受限等有关[6]。许多学者认为子宫动脉血流灌注情况可作为预测子宫内膜容受性的指标，因此子宫血流的异常可能影响子宫内膜的容受性。复发性流产中子宫动脉血流阻力高的患者影响子宫内膜的血流灌注，导致子宫内膜局部血管化程度降低，可能导致局部缺血或血栓形成，影响胚胎着床及妊娠维持，进而导致胚胎停止发育[7]。王磊等[8]研究发现在复发性流产患者中，经阴道彩色多普勒超声能很好地检查子宫动脉血流参数，能实时反映子宫动脉阻力情况，复发性流产患者的子宫动脉阻力明显高于正常早孕妇女。也有学者研究发现在复发性流产患者中，子宫动脉的 PI、RI 和 S/D 比正常妊娠组高，予阿司匹林治疗后能改善子宫动脉血流[9]。

有学者认为反复种植失败与复发性流产的可能具有相同的病理基础，只是不同时期的不同表现，RIF 为胚胎反复着床失败[10]，而复发性流产为妊娠继续

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

失败。因此，RIF 患者可能也存在子宫动脉血流灌注异常，如 S/D 增高使子宫血流灌注不足，可能是胚胎反复种植失败的原因之一。本研究通过对胚胎反复种植失败患者的子宫动脉与行 IVF-ET 首次助孕临床妊娠妇女的子宫动脉 RI 和 S/D 统计比较分析发现差异有统计学意义（$P<0.01$），提示在胚胎反复种植失败患者与复发性流产患者子宫动脉血流灌注一样存在异常，因此推测可能是导致胚胎种植失败的原因之一。这与国内学者曲庆兰等[11]的研究结果相近，其研究结果提示 HCG 日测定子宫动脉搏动指数有助于评价子宫内膜容受性，预测种植率，异常的子宫动脉血流灌注可能是 RIF 发病的一个因素。

目前国内外的研究表明，低分子肝素对由于血栓前状态导致的复发性流产具有良好的治疗效果。因为低分子肝素能促进滋养细胞生长、分裂，抑制滋养细胞凋亡及诱导滋养细胞侵袭，并有调节免疫功能的作用，有利于胚胎着床，增加胎盘的血流灌注，进而促进胎儿生长发育。崔英等[12]研究发现在复发性流产患者中，低分子肝素能够降低子宫动脉的阻力指数，改善子宫动脉血流灌注，提高保胎成功率。

本研究结果提示在反复种植失败患者中，低分子肝素具有改善子宫血流灌注的作用，能够降低子宫动脉 RI 和 S/D，增加胚胎种植时子宫动脉的血供，提高子宫内膜的容受性，进而提高胚胎的种植率，此研究为治疗胚胎反复种植提供一种思路。

低分子肝素是由普通肝素经过酶或化学解聚产生的小分子片段产物，具有选择性抗凝血因子 Xa 的活性，而对凝血酶及其他凝血因子影响较小，由于其生物利用度高，不良反应小，自 80 年代上市以来已成为经典的抗凝抗栓药物。低分子肝素在产科和复发性流产的治疗中也得到了认可，认为其是安全的，因低分子肝素不能通过胎盘，目前尚未发现其有致畸作用，美国 FDA 将低分子肝素定为 B 类药。低分子肝素的主要不良反应为出血、肝损害为一过性，发生过敏、血小板减少较少见。程国梅等[13]在研究低分子肝素治疗胎儿生长受限的 Meta 分析认为低分子治疗胎儿生长受限效果明显，所纳入的文献均认为低分子肝素不能通过胎盘，无致畸作用、血小板减少和产后出血等，仅有 1 篇提到出现注射部位皮下瘀斑。

本研究提示在胚胎反复种植失败患者中存在子宫动脉血流灌注异常，通过应用低分子肝素能够降低子宫动脉的 RI 和 S/D，进而改善胚胎反复种植失败患者的子宫动脉血流情况，进而提高其子宫内膜容受性和临床妊娠率。因本研究病例较少，且子宫动脉有较多分支，在临床应用中可能会受到检测者及检测技术的限制，对低分子肝素在反复种植失败患者中的效果需要进一步加大样本量的研究，同时需进行低分子肝素对提高子宫内膜容受性相关分子机制的研究。

致谢：2105 默克雪兰诺中国生殖医学研究基金

参考文献

[1] Coughlan C, Ledger W, Wang Q, et al. Recurrent implantation failure: definition and management [J]. Reprod Biomed Online, 2014, 28 (1): 14-38.

[2] Safdarian L, Najmi Z, Aleyasin A, et al. Recurrent IVF failure and hereditary thrombophilia [J]. Iran J Reprod Med, 2014, 12 (7): 467-470.

[3] Goswamy RK, Steptoe PC. Doppler ultrasound studies of the uterine artery in spontaneous ovarian cycles [J]. Hum Reprod, 1988, 3 (6): 721.

[4] 邵骏，谭小方，陈丽，等. 不孕症患者外周血 D 二聚体水平、血小板聚集率与体外受精-胚胎移植结果的关系 [J]. 山东医药，2015，43 (1): 36-38

[5] Lattová V, Dostál J, Pešková M, et al. Recurrent implantation failure and thrombophilia [J]. Ceska Gynekologie, 2015, 80(1): 5-10.

[6] 谢幸，苟文丽. 妇产科学 [M]. 第 8 版，北京：人民卫生出版社，2013：67-80.

[7] Jamal A, Abbasalizadeh F, Vafaei H, et al. Multicenter screening for adverse pregnancy outcomes by uterine artery Doppler in the second and third trimester of pregnancy [J]. Med Ultrason, 2013, 15 (2): 95-100.

[8] 王磊，洪向丽，鲍时华，等. 复发性流产患者子宫动脉血流的超声多普勒变化 [J]. 生殖与避孕，2014，34 (6): 471-475.

[9] Kang X, Wang T, He L, et al. Effect of Low - Dose Aspirin on Midluteal Phase Uterine Artery Blood Flow in Patients With Recurrent Pregnancy Loss [J]. J Ultrasound Med, 2016, 35 (12): 2583.

[10] 谭小方，施蔚虹，邵骏，等. 胚胎反复种植失败不孕症患者血清 AT-Ⅲ活性、D 二聚体水平及血小板聚集率变化 [J]. 山东医药，2016，56 (19): 70-71.

[11] 曲庆兰，殷伟红，王昕荣，等. 彩色多普勒超声评价反复种植失败患者子宫动脉血流特点研究 [J]. 中国实用妇科与产科杂志，2015，31 (2): 145-148.

[12] 崔英，江渭洁，李芳. 低分子肝素钙对复发性流产子宫动脉血流的影响 [J]. 江西中医药大学学报，2016，28 (6): 28-29.

[13] 程国梅，张琳瑛，陶贝贝. 低分子肝素治疗胎儿生长受限的 Meta 分析 [J]. 中国妇幼保健，2015，30 (27): 4755-4758.

收稿日期：2018-05-14　责任编校：徐强

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net