

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2023.08.029

❖ 临床研究 ❖

辨证中药穴位贴敷辅助黄体酮治疗 IVF-ET 术后先兆流产的临床研究

翁兆银, 季莉, 钱春枝

(六安市中医院妇产科, 安徽 六安 237000)

【摘要】目的: 探讨辨证中药穴位贴敷辅助黄体酮治疗体外受精-胚胎移植 (IVF-ET) 术后先兆流产的疗效及其对内分泌、淋巴细胞亚群和妊娠的影响。**方法:** 选取 100 例 IVF-ET 术后先兆流产患者为研究对象, 根据治疗方案不同将患者分为对照组和观察组, 每组各 50 例。对照组患者予以黄体酮肌肉注射治疗; 观察组在对照组基础上实施辨证中药穴位贴敷辅助治疗, 两组均治疗至妊娠 12 周。比较两组患者的疗效、内分泌激素 [人绒毛膜促性腺激素 (β -HCG)、孕酮 (P)、雌二醇 (E_2)] 水平、TBNK 淋巴细胞亚群 [$CD4^+$ 、 $CD8^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$ 、 $CD19^+$ 、 $CD16^+CD56^+$] 水平及妊娠情况 (流产率及活产率)。**结果:** 观察组患者治疗总有效率高于对照组 (86.00% vs. 68.00%, $P < 0.05$)。治疗后, 观察组患者 β -HCG、P、 E_2 水平高于对照组 ($P < 0.05$); $CD4^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$ 、 $CD19^+$ 、 $CD16^+CD56^+$ 水平低于对照组 ($P < 0.05$); 早期流产率低于对照组 (18.00% vs. 34.00%, $P < 0.05$); 活产率高于对照组 (90.24% vs. 72.73%, $P < 0.05$)。**结论:** 辨证中药穴位贴敷辅助治疗 IVF-ET 先兆流产能够提高疗效, 降低早期流产率, 改善妊娠结局, 机制可能与调节机体内分泌功能和免疫功能有关。

【关键词】 先兆流产; 体外受精-胚胎移植; 穴位贴敷; 中医; 内分泌; TBNK 淋巴细胞亚群

【中图分类号】 R714.2 **【文献标志码】** A

Effect of acupoint application of traditional Chinese medicine assisted intramuscular injection of progesterone on threatened abortion after IVF-ET

WENG Zhao-yin, JI Li, QIAN Chun-zhi

(Department of Obstetrics and Gynecology, Lu'an Hospital of Traditional Chinese Medicine, Lu'an 237000, Anhui, China)

【Abstract】Objective: To investigate the efficacy of acupoint application of dialectical Chinese medicine in adjuvant treatment of threatened abortion after in vitro fertilization-embryo transfer (IVF-ET) and its influence on endocrine level, TBNK lymphocyte subsets level and pregnancy. **Methods:** A total of 100 patients with threatened abortion after IVF-ET were divided into control group and observation group according to different treatment plans, 50 cases in each group. The control group was treated with progesterone intramuscular injection, the observation group was treated with acupoint application based on syndrome differentiation on the basis of the control group, and both groups were treated until 12 weeks of pregnancy. The curative effects, levels of endocrine hormones [human chorionic gonadotropin (β -HCG), Progesterone (P), estradiol (E_2)], T, BNK lymphocyte subsets [$CD4^+$, $CD8^+$, $CD4^+/CD8^+$, $CD19^+$, $CD16^+CD56^+$], and the pregnancy status (abortion rate and live birth rate) were compared between the two groups. **Results:** The effective rate of the observation group was higher than that of the control group (86.00% vs. 68.00%, $P < 0.05$). After treatment, the β -HCG, P and E_2 levels in the observation group were higher than those of the control group ($P < 0.05$), and the levels of $CD4^+$, $CD4^+/CD8^+$, $CD19^+$ and $CD16^+CD56^+$ in the observation group were lower than those in the control group ($P < 0.05$). The early abortion rate in the observation group was lower than that in the control group (18.00% vs. 34.00%, $P < 0.05$). The live birth rate in the observation group was higher than that in the control group (90.24% vs. 72.73%, $P < 0.05$). **Conclusion:** Acupoint application based on syndrome differentiation treatment of threatened abortion after IVF-ET can improve the curative effect, reduce early abortion rate and improve pregnancy outcome, and its mechanism may be related to the regulation of endocrine state and immune state.

【Key words】 Threatened abortion; In vitro fertilization-embryo transfer; Acupoint application; Traditional Chinese medicine; Endocrine; TBNK lymphocyte subsets

近年来, 辅助生殖技术的进步使得体外受精-胚胎移植 (in vitro fertilization-embryo transfer, IVF-ET)

成为越来越多不孕患者的受孕选择。但 IVF-ET 生殖治疗相比自然妊娠, 存在较高的早产、流产等不良

结果^[1]。早期先兆流产的干预是确保 IVF-ET 术后临床妊娠和抱婴成功的关键^[2]。先兆流产的发病机制与内分泌异常、机体免疫紊乱有关^[3]。黄体酮是先兆流产的常用治疗药物,能够有效促进蜕膜生长,稳定子宫内膜,改善胚胎种植率,但肌肉注射黄体酮无法改善机体内环境,且用量过大可能导致胚胎发育异常^[4]。中医药对先兆流产的防治积累了丰富的经验,在提高卵巢储备功能、改善子宫内膜容受性、促进胚胎种植等方面有着积极作用,具有保胎安胎的独特功效^[5]。穴位贴敷是经典的中医外治疗法,已有研究^[6]显示,中药穴位贴敷对先兆流产有确切疗效。本研究旨在探讨辨证中药穴位贴敷辅助黄体酮治疗 IVF-ET 术后先兆流产的疗效及对内分泌水平、TBNK 淋巴细胞亚群水平和妊娠的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2020 年 9 月至 2022 年 2 月六安市中医院收治的 100 例先兆流产患者为研究对象,根据治疗方案不同将患者分为对照组和观察组,每组各 50 例。本研究符合《赫尔辛基宣言》,并通过院医学伦理委员会审批,患者及家属知情同意。两组患者一般资料比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。纳入标准:(1)因不孕症行 IVF-ET 辅助生殖治疗;(2)符合《妇产科学》中早期先兆流产诊断标准^[7];(3)无严重心肝肾功能障碍;(4)无凝血功能障碍;(5)愿意接受中药穴位贴敷治疗。排除标准:(1)合并子宫畸形或子宫腺肌症者;(2)生殖道结构异常者;(3)染色体异常者;(4)伴精神异常者;(5)依从性差者。

表 1 两组患者一般资料比较($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 年龄(岁) | 不孕年限(年) | 体质量指数(kg/m ²) | 移植次数(次) |
|-----------|------------|-----------|---------------------------|-----------|
| 观察组(n=50) | 28.54±5.12 | 4.43±1.42 | 23.25±3.14 | 1.56±0.51 |
| 对照组(n=50) | 29.32±4.78 | 4.58±1.39 | 23.42±3.58 | 1.69±0.57 |
| t 值 | 0.787 | 0.534 | 0.252 | 1.202 |
| P 值 | 0.433 | 0.595 | 0.801 | 0.232 |

1.2 方法

对照组患者予以黄体酮针(浙江仙琚制药)肌肉注射,40 mg/次,1 次/d。由确定妊娠时起,用药至妊娠 12 周。观察组患者在对照组基础上予以中药穴位贴敷治疗,中医辨证施治:(1)肾虚证者予以寿胎丸加减方,即菟丝子 30 g、桑寄生 30 g、川续断 20 g、阿胶 12 g、砂仁 12 g;(2)血热证者予以保阴煎加减,即生地 10 g、熟地黄 10 g、麦冬 10 g、黄柏 10 g、黄芩 10 g、川续断 10 g、香附 6 g、炙甘草 6 g。中

药研磨成粉,由制剂室调制成膏状,清洁皮肤后,肾虚者取肾腧、关元、气海穴;血热者取肾腧、膈腧、神阙穴;1 次/d,6~8 h/次,用药至妊娠 12 周。

1.3 观察指标

(1)临床疗效^[8]:阴道流血停止,症状消失,并且各项检查结果提示正常妊娠,判定为治愈;阴道流血减少,症状明显改善,并且各项检查结果提示为正常妊娠,判定为好转;阴道流血未改善,相关症状加重,流产,或者死胎,则判定为无效。总有效率=(有效+好转)例数/总例数×100%。(2)内分泌指标:治疗前后采集空腹静脉血 5 mL,3 000 r/min 离心 10 min,留取血清,采用 cobas 602 罗氏化学发光分析仪检测人绒毛膜促性腺激素(β -human chorionic gonadotropin, β -HCG)、孕酮(progesterone, P)、雌二醇(estradiol, E₂)水平。(3)TBNK 淋巴细胞亚群:治疗前后采用流式细胞术测定,包括 CD4⁺、CD8⁺、CD19⁺、CD16⁺CD56⁺,并计算 CD4⁺/CD8⁺值。(4)妊娠情况:术后 4 周、6 周、8 周行超声检查,了解胚胎发育情况,对患者妊娠成功情况进行判断。超声提示胎儿存活,发育良好,则保胎成功;超声提示胚胎停止发育,或者已经出现流产,则保胎失败。于孕 20、30、40 周对患者进行随访,了解妊娠结局。

1.4 统计学分析

采用 SPSS24.0 软件对数据进行分析与处理。计量资料符合正态分布且方差齐性,以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较行独立样本 t 检验,组内比较行配对样本 t 检验;计数资料以[n(%)]表示,组间比较行独立样本 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者临床疗效比较

观察组患者治疗总有效高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组患者临床疗效比较[n(%)]

| 组别 | 治愈 | 好转 | 无效 | 总有效 |
|------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 观察组(n=50) | 41(82.00) | 2(4.00) | 7(14.00) | 43(86.00) |
| 对照组(n=50) | 24(48.00) | 10(20.00) | 16(32.00) | 34(68.00) |
| χ^2 值 | | | | 4.574 |
| P 值 | | | | 0.032 |

2.2 两组患者内分泌指标比较

治疗前,两组患者 β -HCG、P 及 E₂ 水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。治疗后,两组患者 β -HCG、P 及 E₂ 水平均升高($P < 0.05$),且观察组高于对照组($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 两组患者内分泌指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | β -HCG (IU/L) | | P (ng/mL) | | E_2 (pg/mL) | |
|----------------|---------------------|----------------------|--------------|---------------|----------------|--------------------|
| | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 |
| 观察组 ($n=50$) | 312.54 ± 44.54 | 153 684.87 ± 456.24* | 28.14 ± 8.58 | 37.28 ± 8.67* | 313.25 ± 79.54 | 1 874.21 ± 136.77* |
| 对照组 ($n=50$) | 315.37 ± 49.18 | 142 368.17 ± 412.83* | 28.78 ± 9.14 | 33.25 ± 7.65* | 309.47 ± 85.42 | 1 412.39 ± 145.69* |
| t 值 | 0.302 | 130.054 | 0.361 | 2.465 | 0.229 | 16.342 |
| P 值 | 0.764 | <0.001 | 0.719 | 0.016 | 0.819 | <0.001 |

* $P < 0.05$, 与组内治疗前相比。

2.3 两组患者 TBNK 淋巴细胞亚群水平比较

治疗前, 两组患者 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ 、 $CD19^+$ 、 $CD4^+$ / $CD8^+$ 及 $CD16^+$ $CD56^+$ 水平比较, 差异无统计学意

义 ($P > 0.05$)。治疗后, 两组患者 $CD4^+$ 、 $CD19^+$ 、 $CD4^+$ / $CD8^+$ 及 $CD16^+$ $CD56^+$ 水平均降低, 且观察组低于对照组 ($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 两组患者 TBNK 淋巴细胞亚群水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | $CD4^+$ | | $CD8^+$ | | $CD4^+$ / $CD8^+$ | | $CD19^+$ | | $CD16^+$ $CD56^+$ | |
|----------------|--------------|---------------|--------------|--------------|-------------------|--------------|--------------|---------------|-------------------|---------------|
| | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 |
| 观察组 ($n=50$) | 57.34 ± 5.23 | 37.21 ± 3.89* | 28.12 ± 3.47 | 27.65 ± 3.59 | 1.95 ± 0.34 | 1.25 ± 0.28* | 24.35 ± 2.06 | 14.25 ± 2.37* | 28.67 ± 3.68 | 15.42 ± 3.41* |
| 对照组 ($n=50$) | 56.78 ± 4.96 | 39.45 ± 3.74* | 28.19 ± 3.56 | 28.02 ± 3.45 | 1.97 ± 0.36 | 1.39 ± 0.25* | 24.68 ± 1.97 | 16.75 ± 2.12* | 29.10 ± 3.52 | 17.86 ± 3.37* |
| t 值 | 0.549 | 2.935 | 0.100 | 0.525 | 0.286 | 2.637 | 0.819 | 5.559 | 0.717 | 3.599 |
| P 值 | 0.584 | 0.004 | 0.921 | 0.600 | 0.776 | 0.010 | 0.415 | <0.001 | 0.475 | 0.001 |

* $P < 0.05$, 与组内治疗前相比。

2.4 两组患者早期流产率比较

观察组患者早期流产率为 18.00% (9/50), 低于对照组的 34.00% (17/50), 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.5 两组患者妊娠结局比较

排除早期流产患者, 观察组患者随访 41 例, 对照组患者随访 33 例。观察组患者活产率高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 5。

表 5 两组患者妊娠结局比较 [n (%)]

| 组别 | 晚期流产 | 死胎 | 早产 | 活产 |
|----------------|----------|---------|----------|-----------|
| 观察组 ($n=41$) | 2(4.88) | 0(0.00) | 2(4.88) | 37(90.24) |
| 对照组 ($n=33$) | 4(12.12) | 1(3.03) | 4(12.12) | 24(72.73) |
| χ^2 值 | - | - | - | 3.874 |
| P 值 | 0.397 | 0.446 | 0.397 | 0.049 |

“-”为 Fisher 确切概率法。

3 讨论

先兆流产在中医主要归属为“胎动不安”的范畴, 肾虚、血热是其主要病机。妇女在妊娠后经血聚以养胎, 冲为血海, 冲任充盈, 胞有血养而有所载。肾与冲任紧密关联, 肾气充沛, 有助于气血冲任充沛, 如果肾气亏损, 则可引起冲任不固, 难以载胎养胎, 其治疗以补肾安胎最为常见^[9]; 此外, 根据“产前一盆火”的中医理论, 认为“热”在妊娠病理状态

有重要作用, 其发病机制可总结为热、虚、滞, 其治疗原则以清热凉血安胎为主^[10]。

穴位贴敷是一种无创痛的中医外治手段。研究^[11]表明, 中药穴位贴敷对先兆流产有较好疗效。本研究观察组根据患者中医辨证分型进行选药施以穴位贴敷, 肾虚证予以寿胎丸加减, 血热证予以保阴煎加减, 结果显示, 观察组患者治疗总有效率高于对照组 ($P < 0.05$), 表明中药穴位贴敷辅助治疗 IVF-ET 术后先兆流产可提高临床疗效。

本研究结果显示, 治疗后, 观察组患者 β -HCG、P、 E_2 水平均高于对照组 ($P < 0.05$), 表明中药穴位贴敷能够改善先兆流产患者机体内分泌紊乱, 有益于胚胎的生长发育。 β -HCG 是评价妇女内分泌功能的关键指标, 在妊娠早期即可被检出, 其水平随着孕周的进行而增高。 β -HCG 的升高能够抑制子宫平滑肌的兴奋性, 可有效起到缓解子宫收缩的作用^[12]; P 由黄体产生, 其水平增高能够反映滋养层细胞功能, 对受精卵在宫内的生长发育有益^[13]; 孕早期 E_2 水平的升高能够反映胎儿胎盘单位功能良好及存活, 其表达降低可增大流产风险^[14]。张静^[15]研究报道, 中药穴位贴敷能够调节先兆流产患者血清 P、 E_2 水平, 与本研究结论一致。中药穴位贴敷改善患者内分泌状况的机制可能与中药能够改善性腺机能, 增强垂体-卵巢促黄体作用及具有雌激素样活性有关。

本研究中,与对照组相比,观察组患者治疗后的 CD4⁺、CD19⁺、CD4⁺/CD8⁺ 和 CD16⁺CD56⁺ 水平更低($P < 0.05$),提示中药穴位贴敷能够改善患者机体免疫功能。淋巴亚群与流产的关系日益受到关注。CD4⁺T 细胞是一种辅助性 T 细胞,能够介导细胞免疫,其水平增高可提示母体存在较强的细胞免疫,可能会对胚胎造成异常免疫排斥反应,而对妊娠进行产生不利影响。CD8⁺T 细胞中的抑制性 T 细胞,可对由 CD4⁺T 细胞参与的迟发性超敏反应产生抑制作用,进而能够对胚胎受到的母体排斥产生保护作用。研究^[16]证实,CD4⁺T 细胞和 CD4⁺/CD8⁺ 值异常增高与流产密切相关,不利于妊娠。NK 细胞 CD16⁺CD56⁺ 存在溶血细胞颗粒,能够对胚胎造成免疫排斥和杀伤。复发性流产患者 CD16⁺CD56⁺ 水平高于正常妊娠人群^[17]。CD19⁺ 淋巴细胞水平与机体体液免疫功能密切相关,有研究^[18]认为,CD19⁺ 淋巴细胞增高可导致自身免疫系统紊乱,使得抗体攻击胚胎,从而诱发流产。本研究穴位贴敷所使用的菟丝子、桑寄生、熟地黄等多种中药成分具有调节免疫作用^[19-20],因此能够纠正机体免疫失衡,使胚胎不被母体排斥,有利于正常妊娠。

综上,中药穴位贴敷辅助治疗 IVF-ET 术后先兆流产疗效确切,可提高临床妊娠率,机制可能与纠正机体内分泌和调节细胞免疫功能有关。本研究样本量较小,其所得结果仍需进一步验证,以为中药穴位贴敷在先兆流产防治中的应用提供更好指导。

参考文献

[1] 席思思,单学敏,王宁,等. 体外受精-胚胎移植拮抗剂方案前行口服避孕药预处理在非多囊卵巢综合征患者中的疗效评价[J]. 中华医学杂志,2021,101(28):2228-2232.

[2] Wei CX,Zhang L,Pang CH, *et al.* Effect of the ratios of estradiol increase on the outcome of in vitro fertilization-embryo transfer with antagonist regimens:a single center retrospective cohort study[J]. BMC Pregnancy and Childbirth,2023,23(1):134.

[3] 颜晓钊,卢亦彬. 温肾安胎汤结合黄体酮针对先兆流产内分泌水平和 T 淋巴细胞亚群因子影响的研究[J]. 中华中医药学刊,2020,38(6):229-232.

[4] Greene MF. Progesterone for threatened abortion[J]. The New England Journal of Medicine,2019,380(19):1867-1868.

[5] 赖娟,刘芳,钱立锋,等. 中药加减辅助治疗先兆流产的临床效果及对相关因子的影响[J]. 中华全科医学,2020,18(5):783-786.

[6] 王芬,田丽颖,赖巨燕. 自拟固肾育胎方加减内服结合穴位贴敷治疗肾虚型早期先兆流产 25 例[J]. 安徽中医药大学学报,2020,39(4):34-37.

[7] 谢幸,孔北华,段涛. 妇产科学[M]. 第 9 版. 北京:人民卫生出版社,2018:71.

[8] 中国人民解放军总后勤部卫生部. 临床疾病诊断依据治愈好转标准[M]. 北京:人民军医出版社,1987.

[9] 余欣慧,蒋平. 补肾安胎冲剂联合地屈孕酮治疗肾虚型早期先兆流产 30 例[J]. 安徽中医药大学学报,2021,40(4):19-23.

[10] 马丽亚,张大伟,张颖,等. 庞氏安胎汤对先兆流产大鼠血清免疫因子及激素水平的影响[J]. 中医杂志,2019,60(2):159-162.

[11] 陆齐天,周一辰,曾薇薇,等. 穴位贴敷在先兆流产中的临床应用概况[J]. 环球中医药,2019,12(4):628-631.

[12] 蒋丹丹. β -HCG、CA125 及孕酮联合检测预测先兆流产结局的价值[J]. 实用中西医结合临床,2020,20(5):126-127,158.

[13] 熊荣勤,袁国敏,吴俊莉,等. 孕 5~8 周血清孕酮(P)、 β -hCG 联合 B 超对先兆流产患者安胎结局的预测价值[J]. 中国妇产科临床杂志,2021,22(5):483-485.

[14] 黄煌,贺会学. 血清人绒毛膜促性腺激素、白血病抑制因子、雌二醇及孕酮对异位妊娠与早期先兆流产的鉴别诊断分析[J]. 河南医学研究,2021,30(8):1425-1427.

[15] 张静. 中药穴位贴敷联合口服对胚胎移植术后先兆流产患者的保胎效果观察[J]. 中国妇幼保健,2020,35(18):3465-3468.

[16] Christiansen OB,Nielsen HS,Pedersen B. Active or passive immunization in unexplained recurrent miscarriage[J]. Journal of Reproductive Immunology,2004,62(1-2):41-52.

[17] Yamada H,Morikawa M,Kato EH, *et al.* Pre-conceptional natural killer cell activity and percentage as predictors of biochemical pregnancy and spontaneous abortion with normal chromosome karyotype[J]. American Journal of Reproductive Immunology,2003,50(4):351-354.

[18] 杨攀玉,曲婷,曾莉,等. 外周血 TBNK 淋巴细胞亚群和血清 Th1/Th2 细胞因子与不明原因复发性流产的相关性研究[J]. 中国免疫学杂志,2021,37(6):729-736.

[19] 赵千惠,薛文慧,郭禹,等. 菟丝子总黄酮对生殖内分泌调节的研究进展[J]. 中国畜牧兽医,2021,48(6):2002-2010.

[20] Hoai Sam V,Thi Xuyen N,Thi Huong N, *et al.* Study on tuberization of *Rehmannia glutinosa* (gaertn.) libosch[J]. Vietnam Journal of Biotechnology,2020,18(3):507-516.

(收稿日期:2023-01-12

修回日期:2023-03-25)