

护卵汤对体外受精-胚胎移植长方案 干预效应的临床研究

王 肖¹ 尤昭玲²

摘要 **目的** 研究护卵汤对行受精-胚胎移植(*in vitro* fertilization and embryo transfer, IVF-ET)患者治疗的可行性和有效性。**方法** 将 120 例患者按随机数字表法分为护卵汤配合西药组(干预组, 60 例)和西药组(对照组, 60 例)。对照组采用常规的长效长方案;干预组于月经周期第 3 天开始同时加服护卵汤, 每天 1 剂, 连服 12 天。观察两组患者绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin, HCG)注射日子宫内膜厚度、形态、内膜血流 Applebaum 分型、螺旋动脉血流搏动指数(pulsation index, PI)及阻力指数(resistance index, RI)、促性腺激素(gonadotropin, Gn)天数、Gn 用量、获卵数、优质卵率、受精率、卵裂率、优质胚胎率、生化妊娠率、中医肾虚证候积分及疗效, 以及最终对临床妊娠率及活产分娩率的影响。**结果** 与对照组比较, 干预组获卵数、优质卵率、受精率和优质胚胎率升高($P < 0.05$), HCG 日子宫内膜厚度增加、PI 及 RI 明显减少($P < 0.01$), Gn 天数、Gn 用量和中医证候积分减少($P < 0.05$), 临床妊娠率及活产分娩率升高($P < 0.05$)。干预组内膜血流 Applebaum 分型优于对照组($P < 0.05$)。干预组总有效率为 96.5% (55/57) 高于对照组的 80.0% (44/55), 差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 在 IVF-ET 治疗周期, 应用护卵汤可明显改善患者肾虚症状, 改善卵子及胚胎质量, 改善子宫内膜容受性, 最终提高临床妊娠率及活产率。

关键词 护卵汤; 体外受精-胚胎移植; 子宫内膜容受性

Long Program Intervention of Huluan Decoction on *In Vitro* Fertilization and Embryo Transfer
WANG Xiao¹ and YOU Zhao-ling² 1 Reproductive Center of First Affiliated Hospital, Zhengzhou University, Zhengzhou (450052); 2 Department of Obstetrics & Gynecology, First Affiliated Hospital, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha (410007)

ABSTRACT **Objective** To observe the curative effect and feasibility of Huluan Decoction (HD) in assisted reproductive technique (ART) for *in vitro* fertilization and embryo transfer (IVF-ET) patients. **Methods** Totally 120 patients were assigned to the Western medicine (WM) group (60 cases, as the control) and the WM + HD group (60 cases, as the intervention) according to random digit table. Patients in the control group received routine long-acting long program. Those in the intervention group additionally took HD, one dose per day for 12 successive days starting from the 3rd day of the menstrual cycle. The following indicators were observed in the two groups: endometrial thickness on human chorionic gonadotropin (HCG) day, endometrial morphology, endometrial blood flow Applebaum type, spiral arteries blood flow pulsation index (PI) and resistance index (RI), gonadotropin (Gn) days, Gn dosage, the number of retrieval eggs, the rate of high quality eggs, the fertilization rate, the cleavage rate, the high quality embryo rate, the biochemical pregnancy rate, curative effect and integral of Shen deficiency syndrome. And their effects on final pregnancy rate and liveborn birth rate were also observed. **Results** In the intervention group the number of retrieval eggs, the rate of high quality eggs, the fertilization rate, and the high quality embryo rate all increased ($P < 0.05$), endometrial thickness on HCG day significantly increased, PI and RI obviously decreased ($P < 0.01$), Gn days, Gn dosage, integral of Shen deficiency syndrome were reduced ($P < 0.05$), clinical pregnancy rate and liveborn birth rate were also elevated

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81303003); 湖南省研究生科研创新项目(No. CX2013B322)

作者单位:1. 郑州大学第一附属医院生殖中心(郑州 450052); 2. 湖南中医药大学第一附属医院妇产科(长沙 410007)

通讯作者:尤昭玲, Tel: 0731-8560031, E-mail: youzhaoling012@163.com

DOI: 10.7661/CJIM.2016.07.0806

($P < 0.05$), as compared with the control group. Endometrial blood flow Applebaum type was superior in the intervention group to that in the control group ($P < 0.05$). The total effective rate was 96.5% (55/57 cases) in the intervention group, higher than that in the control group [80.0% (44/55 cases); $P < 0.05$].

Conclusion In IVF-ET treatment cycle, use of HD could obviously improve clinical symptoms of Shen deficiency patients, elevate the quality of eggs and embryos, improve the endometrial receptivity, and finally elevate clinical pregnancy rate and liveborn birth rate.

KEYWORDS Huluan Decoction; *in vitro* fertilization and embryo transfer; endometrial receptivity

不孕症是指有正常性生活,一年内未采取任何避孕措施而无成功妊娠^[1]。近年来由于压力、环境、社会背景等诸多变化,不孕症成为继心血管疾病、肿瘤外的全球的第三大疾病^[2]。以体外受精-胚胎移植(*in vitro* fertilization and embryo transfer, IVF-ET)等助孕技术的兴起,对不孕症的治疗具有里程碑的意义,但控制性超促排卵(controlled ovarian hyperstimulation, COH)引起了胚胎质量差、子宫内膜发育与胚胎着床不同步、胚胎着床困难等问题,也造成了生殖内分泌环境紊乱^[3]。近年来的实验研究及临床实践表明,中药不仅能减轻 COH 后带来的肾虚证候,整体调节行辅助生殖技术患者的生殖内分泌水平,还能改善卵母细胞质量、提高受精率及胚胎着床率、改善子宫内膜容受性,最终提高临床妊娠率^[4]。本研究观察护卵汤对 IVF-ET 长方案干预效应的临床指标及临床结局,现报道如下。

资料与方法

1 诊断标准

1.1 西医诊断标准 参照《妇产科学》^[1]确立不孕症诊断标准:有正常性生活、未经避孕 1 年而未妊娠者,称不孕症。参考《卫生部关于修订人类辅助生殖技术与人类精子库相关技术规范、基本标准和伦理原则》确立 IVF-ET 适应症:女方因输卵管因素造成精子与卵子遇合困难;排卵障碍;子宫内膜异位症;不明原因不育;男方少、弱精症。

1.2 中医辨证分型标准 参考中国中西医结合学会与老年病研究专业委员会^[5]修订的“中医虚证辨证参考标准”确立中医肾虚不孕症诊断标准。

2 纳入标准 (1)符合行 IVF-ET 的西医诊断标准及中医辨证标准;(2)拟进入 IVF-ET 长方案周期,女方年龄 25~40 岁;(3)签署知情同意书。

3 排除标准 (1)男女任何一方患有泌尿生殖系统急性感染、严重的精神疾患;(2)患有《母婴保健法》规定的不宜生育的疾病;(3)合并有心血管、肝、肾和造血系统等严重原发性疾病;(4)男女任何一方有吸毒等不良嗜好;(5)男女任何一方接触致畸量的毒物、射线、药品并处于作用期;(6)女方因躯体疾病不能承受妊娠或子宫不具备妊娠功能。

4 一般资料 120 例均为 2013 年 8 月—2014 年 12 月湖南中医药大学第一附属医院尤昭玲教授妇科工作室及中信湘雅生殖医院行 IVF-ET 治疗的不孕患者(120 个治疗周期),按随机数字表法分为护卵汤配合西药组(干预组)和西药组(对照组),每组 60 例。两组患者平均年龄、不育年限和基础 FSH、排卵日子宫内膜厚度、BMI 和中医证候积分比较(表 1),差异均无统计学意义($P > 0.05$)。本研究经湖南中医药大学第一附属医院伦理委员会审核。

5 给药方法 入选患者均于前 1 个月经周期的黄体中期给予达菲林(曲普瑞林,3.75 mg/支,益普生生物制药公司,法国,产品批号:U056)1.875 mg 肌肉注射,达到降调节水平后(月经周期 d3)根据黄体生成素(luteinizing hormone, LH)、雌二醇(estradiol, E₂)、孕酮(progesterone, P)等激素水平及卵泡发育情况开始每天肌肉注射果纳芬(75 IU/支,注射用重组人促卵泡激素,默克雪兰诺,德国,产品批号:Y14A6694)或丽申宝(注射用尿促卵泡素,珠海丽珠医药,产品批号:090202)及调整用量,干预组于月经周期第 3 天开始同时加服护卵汤(生地 10 g 熟地 10 g 石斛 10 g 山药 15 g 沙参 10 g 桑葚子 10 g 莲子 10 g 菟丝子 10 g 莲心 5 g 月季花 5 g 覆盆子 10 g 三七花 5 g 甘草 5 g),每天 1 剂,早、晚分服,连服 12 天。当阴道 B 超检查显示 2~3 个以上的卵泡直径 ≥ 18 mm,且 14 mm 以上的卵泡数与 E₂ 值相当时,给予

表 1 两组一般资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	年龄(岁)	病程(年)	基础 FSH(U/L)	内膜厚度(mm)	BMI(kg/m ²)	中医证候积分(分)
干预	60	31.15 $\pm$ 4.33	4.93 $\pm$ 1.71	6.27 $\pm$ 1.15	10.01 $\pm$ 1.46	21.26 $\pm$ 1.45	20.58 $\pm$ 2.52
对照	60	31.35 $\pm$ 4.29	4.88 $\pm$ 1.64	6.53 $\pm$ 1.39	9.99 $\pm$ 1.81	21.38 $\pm$ 1.52	20.78 $\pm$ 2.10

人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin, HCG, 珠海丽珠医药, 产品批号: 090515B) 10 000 IU肌肉注射。

6 观察指标及方法

6.1 实验室指标 获卵数、优质卵率、受精率、卵裂率、优质胚胎率。获卵数即穿刺取卵后所获得的卵细胞个数。优质卵率(%) = Ⅲ级卵细胞个数/取卵数 × 100%。受精率(%) = (2 原核 + 1 原核 + 多原核 + 晚期卵裂)/获卵数 × 100%。卵裂率(%) = 移植当天有卵裂的胚胎数(不包括异常受精卵子分裂来的卵裂球)/正常受精卵子数(包括受精当天未看到原核, 第 2 天卵裂的胚胎)。优质胚胎率(%) = 优质胚胎/胚胎总数 × 100%。

6.2 子宫内膜容受性相关指标比较 HCG 日子宫内膜厚度、类型, 螺旋动脉血流搏动指数(pulsation index, PI)及阻力指数(resistance index, RI)、内膜血流 Applebaum 分型。子宫内膜类型采用 Gonen 和 CaPSer 的分类方法分为 3 型^[6], A 型: 内膜外层和中部强回声, 内层低回声, 宫腔中线回声明显, 即三线型子宫内膜; B 型: 宫腔中线回声不明显, 为中部孤立回声; C 型: 无宫腔中线回声, 为均质强回声。子宫螺旋动脉血流 PI = (收缩期血流速率峰值 - 舒张终末期血流速率)/平均速率; RI = (收缩期血流速率峰值 - 舒张终末期血流速率)/收缩期血流速率峰值。子宫内膜血流 Applebaum 分型^[7] I 型: 血管穿过内膜外侧低回声带, 但未达到内膜高回声外边缘; II 型: 血管穿过内膜高回声外边缘, 但未进入内膜低回声区; III 型: 血管进入内膜低回声区。

6.3 临床指标及临床结局比较 临床指标: Gn 用量、Gn 使用天数、生化妊娠率、临床妊娠率、活产分娩率、中医证候积分。参考《中药新药临床研究指导原则》^[8]进行中医证候评分。临床结局: ET 后 14 天测尿 HCG 或血 β-HCG, 阳性者诊断为生化妊娠, 生化妊娠率(%) = 生化妊娠例数/移植周期数 × 100%。ET 后 30 天行阴道 B 超检查, 见孕囊、胎芽及胎心者诊断为临床妊娠, 临床妊娠率(%) = 临床妊娠例数/移植周期数 × 100%。活产分娩率(%) = 活产分娩次数/移植周期数 × 100%。

6.4 中医证候疗效比较 疗效指数(n) = (疗前

积分 - 疗后积分)/疗前积分 × 100%; 痊愈: n ≥ 90.00%, 显效: 90.00% > n ≥ 66.67%, 有效: 66.67% > n ≥ 33.33%, 无效: n < 33.33%。

7 统计学方法 本研究所得数据采用统计软件 SPSS 17.0 进行统计分析, 两组先进行正态性和方差齐性检验, 计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 因 n > 50, 两组之间均数比较用完全随机设计成组 z 检验; 计数资料采用 χ^2 检验; 等级资料采用 Ridit 分析。对于不满足正态性的等级资料用秩和检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1 脱落情况 干预组因内膜薄周期取消 2 例, 依从性差脱落 1 例, 完成 57 例; 对照组因移植日内膜薄周期取消 3 例, 依从性差脱落 2 例, 完成 55 例。

2 两组实验室指标比较(表 2) 与对照组比较, 干预组在获卵数、优质卵率、受精率、优质胚胎率高于对照组, 差异有统计学意义(P < 0.05)。

3 两组患者 HCG 日子宫内膜容受性比较(表 3) 与对照组比较, 干预组 HCG 日子宫内膜厚度明显增加, 螺旋动脉血流 PI 及 RI 明显减少, 差异均有统计学意义(P < 0.01)。干预组内膜血流 Applebaum 分型方面(Ⅲ型 49 例, Ⅱ型 8 例, I 型 0 例)优于对照组(Ⅲ型 37 例, Ⅱ型 16 例, I 型 2 例), 差异有统计学意义(P = 0.043 < 0.05)。

4 两组患者临床指标及临床结局比较(表 4) 与对照组比较, 干预组 Gn 用量、Gn 使用天数、临床妊娠率、活产分娩率、中医证候积分等方面优于对照组, 差异有统计学意义(P < 0.05)。

表 3 两组患者 HCG 日子宫内膜容受性比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	HCG 日内膜厚度 (mm)	子宫螺旋动脉血流 PI	子宫螺旋动脉血流 RI
干预	57	11.21 ± 2.01 *	1.72 ± 0.09 *	0.57 ± 0.17 *
对照	55	10.30 ± 1.75	1.77 ± 0.11	0.64 ± 0.07

注: 与对照组比较, *P < 0.01

5 两组患者中医证候疗效比较(表 5) 干预组总有效率为 96.5% (55/57), 对照组总有效率为 80.0% (44/55), 治疗组总有效率高高于对照组, 差异有统计学意义(P < 0.05)。

表 2 两组实验室指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	获卵数(个)	优质卵率(%)	受精率(%)	卵裂率(%)	优质胚胎率(%)
干预	57	12.05 ± 3.30 *	70.04 ± 11.37 *	76.90 ± 9.10 *	93.71 ± 4.56	63.82 ± 10.42 *
对照	55	10.94 ± 2.53	66.55 ± 5.97	73.02 ± 9.28	92.37 ± 4.16	59.56 ± 11.23

注: 与对照组比较, *P < 0.05

表 4 两组患者临床指标及临床结局比较

组别	例数	Gn 使用天数 (天, $\bar{x} \pm s$)	Gn 用量(IU, $\bar{x} \pm s$)	生化妊娠率 [例(%)]	临床妊娠率 [例(%)]	活产分娩率 [例(%)]	治疗后中医证候积分 (分, $\bar{x} \pm s$)
干预	57	10.62 $\pm$ 1.73 *	1 922.08 $\pm$ 240.16 *	41(1.9)	34(68.4) *	28(49.1) *	9.53 $\pm$ 2.01 *
对照	55	11.50 $\pm$ 1.65	2 022.50 $\pm$ 243.69	32(58.1)	27(49.1)	17(30.9)	15.00 $\pm$ 2.11

注:与对照组比较, * $P < 0.05$

表 5 两组患者中医证候疗效比较

组别	例数	痊愈	显效	有效	无效	总有效 (%)
		(例)				
干预	57	29	21	5	2	96.5 *
对照	55	22	12	10	11	80.0

注:与对照组比较, * $P < 0.05$

讨 论

护卵汤以“益肾健脾,暖巢增液”为治则。中医学认为:肾主生殖,是生殖之精的物质基础。熟地、生地功专益肾滋阴、填精益髓,为卵泡生长发育提供先天精髓,共用为君。菟丝子、桑葚子、覆盆子三者阴阳双补,生化无穷,有助于更多卵泡启动发育,濡养精卵和胞宫以助孕;卵泡的生长、发育及成熟亦需脾胃运化水谷精微增加卵巢的血液供应,以募集更多的优势卵泡及提供卵泡生长发育成熟所需的精微物质。故予山药、莲子补中益气、甘温调中之品,发挥“脾为百骸之母”的作用,且山药、莲子均为脾肾并补、中和平调之品,可见补命火,不伤中阳之妙法。五药共用为臣。石斛、沙参合用佐助君臣补肾益阴,使卵泡有所濡养而迅速增大及成熟。月季花、三七花宣扬散发,既可宣散肝经脉络,又可唤醒沉睡卵巢之泡,促卵泡排出,微微活血,没有伤卵动血之嫌,寓通于补,使补而不滞^[9]。心为君主之官,统领肾一天癸一冲任一胞宫轴,莲心益肾清心,配合石斛、月季花、莲子以清心养心宁心,促心肾相济。五药共用为佐药。甘草调和诸药,方中为使药。纵观全方,既温补先天肾气以生精,又培养后天脾胃以益血,并佐以调补肝血、交通心肾之品,使脾肾足,心肾交,气血旺,胞宫充盈,冲任得养而改善卵巢功能及子宫内膜容受性,最终提高临床妊娠率及活产率。护卵汤益肾健脾,暖巢增液,具有调节肾一天癸一充任一胞宫轴的功能。本研究结果表明,在 IVF-ET 治疗周期,应用护卵汤可明显改善患者肾虚症状,减少 Gn 用量及使用天数,提高获卵数、优质卵率、受精率及优质胚胎率,改善卵子及胚胎质量,最终提高临床妊娠率及活产率。

子宫内膜容受性良好与否,是辅助生殖技术是否成功的关键^[10]。中医学认为肾虚不能固胎,脾虚不能纳胎,子宫内膜的固胎、纳胎其实体现的就是现代医学的子宫内膜容受性。本研究显示,护卵汤能增加诱导排卵

周期 HCG 注射日子宫内膜的厚度,改善内膜血流 Applebaum 分型,并能降低子宫螺旋动脉血流动力学参数 PI、RI,增加子宫动脉及子宫内膜血流灌注,以改善子宫内膜容受性利于胚胎着床,这也是护卵汤改善 IVF 结局的机制之一。综上,本研究初步证明了护卵汤配合 IVF-ET,可提高患者的活产分娩率,但本研究只是对中医药在 IVF-ET 中协同应用的初步探讨,观察病例较少,且影响 IVF-ET 成功的因素众多而中药的作用环节广泛而模糊,有待进行大样本、多中心的随机双盲试验及远期疗效的观察。

参 考 文 献

[1] 乐杰主编. 妇产科学[M]. 第 7 版. 北京:人民卫生出版社, 2008:351-355.

[2] Achache H, Revel A. Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation, human reproduction update[J]. Hum Reprod Update, 2006, 2(6): 731-746.

[3] Bourdieu A, Akoum A. Embryo implantation: role of interleukin 1 family members[J]. Med Sci (Paris), 2014, 30(6-7): 644-650.

[4] 金保方. 中医药在现代生殖医学中的地位[J]. 生殖医学杂志, 2013, 22(12): 899-904.

[5] 中国中西医结合虚证与老年病研究专业委员会修订. 中医虚证辨证参考标准[J]. 中西医结合杂志, 1986, 6(10): 598.

[6] Gonen Y, Casper RF. Prediction of implantation by sonographic appearance of the endometrium during controlled ovarian stimulation for *in vitro* fertilization[J]. J In Vitro Fertil Embryo Transfer, 1990, 7(3): 146-152.

[7] Applebaum M. The uterine biophysical profile[J]. Ultrasound Obstet Gynecol, 1995, 5(1): 67-68.

[8] 郑筱萸主编. 中药新药临床研究指导原则(试行)[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2002:385-388.

[9] 王肖, 尤昭玲. 浅析尤昭玲教授妇科临证巧用三七花、人参花的经验[J]. 中医药导报, 2013, 19(9): 16-17.

[10] Edgell TA, Rombauts LJ, Salamonsen LA. Assessing receptivity in the endometrium: the need for a rapid, non-invasive test[J]. Reprod Biomed Online, 2013, 27(5): 486-496.

(收稿:2015-06-13 修回:2015-12-01)