

· 临床论著 ·

补肾调周法联合微刺激干预卵巢低反应
不孕患者的临床研究

左文婷 谈 勇 殷燕云 杨 琳

摘要 目的 观察补肾调周法联合微刺激对卵巢低反应 (poor ovarian response, POR) 不孕患者临床疗效的影响,探讨在 POR 患者行控制性促排卵周期中运用补肾调周法的可行性和有效性。**方法** 将 76 例 POR 患者随机分为治疗组 (38 例) 和对照组 (38 例),对照组采用微刺激方案,治疗组在对照组基础上运用补肾调周中药,疗程为 3 个月。比较两组肾阴虚证候改善情况、促性腺激素 (Gn) 天数、Gn 用量、注射人绒毛膜促性腺激素 (HCG) 日雌二醇 (E_2) 水平、获卵数、M II 卵数、M II 卵受精率、优质胚胎数、优质胚胎率、周期取消率、移植日子宫内膜厚度、生化妊娠率和临床妊娠率。**结果** 治疗组总有效率 94.7% (36/38) 高于对照组 [76.3% (29/38)] ($P < 0.05$)。治疗后治疗组获卵数、M II 卵数、优质胚胎数、优质胚胎率及移植日子宫内膜厚度均优于对照组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$);治疗组 Gn 天数、Gn 用量、HCG 日 E_2 、M II 卵受精率、周期取消率、生化妊娠率及临床妊娠率与对照组比较,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。**结论** 补肾调周法能增加 POR 患者超促排卵周期的获卵数、M II 卵数,提高优质胚胎率,增加子宫内膜厚度,提高妊娠率。

关键词 补肾调周法;微刺激;卵巢低反应

Treating Infertile Patients with Poor Ovarian Response by Cycle Regulating by Shen Supplementing Combined Microstimulation ZUO Wen-ting, TAN Yong, YIN Yan-yun, and YANG Lin *Department of Productive Medicine, Jiangsu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing (210000)*

ABSTRACT Objective To observe the effect of cycle regulating by Shen supplementing combined microstimulation on infertile patients with poor ovarian response (POR), and to study its feasibility and validity for POR patients in controllable ovarian stimulation cycle. **Methods** Totally 76 POR patients were randomly divided into the treatment group and the control group, 38 in each group. Patients in the control group received microstimulation program, while those in the treatment group additionally took Chinese herbal decoction for Shen supplementing and cycle regulating. The course of treatment was 3 months. Improved conditions of Shen yin deficiency syndrome, days for Gn use, Gn dosage, E_2 level on HCG injection day, oocyte retrieval numbers, M II oocyte numbers, M II oocyte fertilization rate, high quality embryo number and high quality embryo rate, cycle cancellation rate, endometrial thickness on embryo transfer (ET) day, biochemical pregnancy rate, and clinical pregnancy rate were compared. **Results** The total effective rate of the treatment group was 94.7% (36/38), significantly higher than that of the control group [76.3% (29/38), $P < 0.05$]. The obtained oocyte numbers, M II oocyte numbers, high quality embryo number and high quality embryo rate, endometrial thickness on ET day were significantly higher in the treatment group than in the control group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). There were no statistical differences in days for Gn use, Gn dosage, E_2 level on HCG day, M II oocyte fertilization rate, cycle cancellation rate, biochemical pregnancy rate, or clinical pregnancy rate between the two groups ($P > 0.05$).

基金项目:江苏省中医药局资助项目 (No.BL2013039)

作者单位:江苏省中医院生殖医学科 (南京 210000)

通讯作者:谈 勇, Tel:15850532528, E-mail:875317115@qq.com.

DOI: 10.7661/j.cjim.20170315.033

Conclusion Cycle regulating by Shen supplementing method could increase oocyte retrieval numbers and MⅡ oocycet numbers in ovarian stimulation cycle, elevate high quality embryo rate, endometrial thickness and pregnancy rate.

KEYWORDS cycle regulating method by Shen supplementing; microstimulation; poor ovarian response

在体外受精-胚胎移植技术中,卵巢低反应(poor ovarian response, POR)是临床医生面临的相当棘手的问题,主要表现为获卵数少、卵泡质量差、优质胚胎少以及周期取消率高等。目前仍然无适合 POR 的超促排卵方案,主要包括增加 Gn 用量、超促排周期中添加黄体生长激素、雄激素、生长激素等,如何改善 POR 群体的生育结局成为辅助生殖技术中的研究热点。补肾调周中药在改善卵巢功能方面有独特的优势,本研究在肾阴虚型 POR 患者接受体外受精-胚胎移植的过程中,采用微刺激方案,同时结合运用中药补肾调周法干预,观察其对 POR 患者治疗结局的影响。现将其结果报道如下。

资料与方法

1 诊断标准

1.1 西医诊断标准 采用 2011 年欧洲生殖与胚胎学会(ESHER)的 Bologna 诊断标准^[1],患者满足以下 3 个条件中的 2 个:(1)高龄(年龄≥40 岁)或具有 POR 的其他危险因素;(2)之前有 POR 病史(常规刺激方案获卵数≤3 个);(3)卵巢储备功能检测结果异常,如窦卵泡数(antral follicle count, AFC)5~7 个,或者抗苗勒管激素(anti-Müllerian hormone, AMH)0.5~1.1 ng/mL。若不属于高龄或储备功能正常,既往最大刺激发生 2 次 POR 的也可诊断。

1.2 中医证候诊断标准 参照《中医诊断学》^[2]拟定证属肾阴虚,表现为:婚久不孕,月经迟发,或停闭不行,经量少,腰膝酸软,头晕耳鸣,阴道干涩,潮热盗汗,五心烦热,失眠健忘等,舌质淡,苔白,脉沉细。具备以上证候 3 条以上即可诊断。

2 纳入标准 (1)符合西医及中医辨证分型诊断标准;(2)年龄 26~42 岁;(3)经 B 超证实宫腔形态正常,无子宫内膜息肉、宫腔粘连、子宫内膜异位症等子宫病变;(4)经患者知情同意。

3 排除标准 (1)基础促卵泡生成激素(bFSH)>20 mIU/mL;(2)既往有卵巢、子宫手术病史、高血压、糖尿病等内分泌疾病病史。

4 一般资料 2014 年 12 月—2015 年 12 月就诊于江苏省中医院生殖医学科符合 POR 诊断标准的患者共 76 例,按计算机随机数字表法分为治疗组(补肾调周中药+微刺激组)和对照组(微刺激组),每组 38 例。两组在年龄、体重指数(BMI)、不孕年限、AFC、基础内分泌[bE₂、bFSH、基础促黄体生成素(bLH)]比较(表 1),差异无统计学意义(P>0.05)。本研究经江苏省中医院伦理委员会批准通过(No. 2015NL-037-04)。

5 治疗方法 对照组于月经第 2~3 天起口服克罗米芬(CC, 50 mg/片,塞浦路斯高特制药有限公司,批号:A1208)50~100 mg,连服 5 天,服完 CC 每日或隔日肌注人绝经尿促性素(hMG, 75 IU/支,丽珠集团丽珠制药厂,批号:H10940097)75~225 IU,定期行阴道 B 超监测卵泡发育情况,并测定血 E₂、促黄体生成素(LH)、孕酮(P),根据血清激素值以及 B 超结果决定 Gn 用量,当主导卵泡直径≥18 mm 时,予注射用人绒毛促性腺激素(HCG,丽珠集团丽珠制药厂)5 000~1 000 IU 肌注,治疗组在对照组基础上,根据月经周期对应使用相应的代表方,经期方:乌药 10 g 制香附 10 g 丹皮 10 g 山楂 10 g 丹参 10 g 赤芍 10 g 五灵脂 10 g 益母草 10 g 茯苓 10 g;卵泡期方:熟地黄 10 g 当归 10 g 白芍 10 g

表 1 两组患者一般资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	治疗组(38 例)	对照组(38 例)	P 值
年龄(岁)	35.70 ± 4.83	36.81 ± 4.88	0.32
BMI(kg/m ²)	21.77 ± 3.61	22.29 ± 3.89	0.58
不孕年限(年)	5.61 ± 4.51	4.06 ± 2.87	0.11
AFC(个)	4.42 ± 1.41	3.70 ± 1.48	0.05
bE ₂ (ng/L)	65.20 ± 43.80	73.06 ± 81.54	0.62
bFSH(mIU/mL)	8.85 ± 3.08	8.33 ± 3.01	0.50
BLH(mIU/mL)	3.82 ± 2.14	4.66 ± 3.28	0.22

淮山药 10 g 山萸肉 10 g 川断 10 g 菟丝子 10 g; 排卵期方: 丹参 10 g 赤芍 10 g 山药 10 g 丹皮 10 g 茯苓 10 g 川断 10 g 炒薏苡仁 10 g 红花 10 g 川芎 10 g; 黄体期方: 党参 10 g 白术 10 g 白芍 10 g 山药 10 g 淫羊藿 10 g 茯苓 10 g 川断 15 g 鹿角霜 10 g 覆盆子 10 g。根据主次证型的不同可以增加或减少 2~3 味药(限制具体药物范围)随证加减。所有药物由本院中药房代煎, 真空装袋, 每袋 150 mL, 早、晚各 1 袋, 饭后温服。

HCG 日注射 32~36 h 后在阴道 B 超引导下行穿刺取卵术, 根据精子质量选择授精方式, 取卵后 4~6 h 受精, 选取第 3 天优质胚胎进行全胚冷冻。取卵后均口服地屈孕酮片(10 mg/片, Abbott Healthcare Products B.V., 批号: H20130110), 早晚各 1 粒, 连服 10 天, 撤药后 3~7 天出血。休息 2 个月, 在下个月经周期行人工或自然周期建内膜, 行冻胚移植, 移植 1~2 枚优质胚胎, 治疗组在对照组基础上对应月经周期服用中药。

6 观察指标及检测方法

6.1 肾阴虚证候改善情况 痊愈: 腰膝酸软、阴道干涩、潮热盗汗、五心烦热等症状基本消失; 好转: 腰膝酸软、阴道干涩、潮热盗汗、五心烦热等症状好转; 未愈: 腰膝酸软、阴道干涩、潮热盗汗、五心烦热等症状未见好转甚至加重, 所有患者均由专人进行问诊。

6.2 相关实验室及临床指标 实验室指标: MII 卵数、MII 卵受精率、优质胚胎数及优质胚胎率, 临床指标: Gn 天数、Gn 用量、HCG 注射日 E_2 值、周期取消率、移植胚胎数、移植日子宫内膜厚度、生化妊娠率、临床妊娠率。

7 统计学方法 采用 SPSS 17.0 软件进行分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 t 检验, 计数资料用率表示, 采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 两组临床疗效比较 两组治疗病例无脱落, 肾阴虚证候改善比较治疗组治愈 30 例, 好转 6 例, 无效 2 例, 总有效率 94.7% (36/38); 对照组治愈 20 例, 好转 9 例, 无效 9 例, 总有效率 76.3% (29/38), 两组比较, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 0.047$, $P < 0.05$)。

2 两组实验室指标及临床指标比较(表 2) 治疗组获卵数、MII 卵数、优质胚胎数、优质胚胎率及 ET 日子宫内膜厚度均优于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$,

表 2 两组实验室和临床指标比较

项目	治疗组(38 例)	对照组(38 例)
Gn 天数(天, $\bar{x} \pm s$)	8.31 $\pm$ 2.45	8.85 $\pm$ 2.79
Gn 总量(IU, $\bar{x} \pm s$)	937.89 $\pm$ 495.46	1109.72 $\pm$ 859.43
获卵数(个, $\bar{x} \pm s$)	3.19 $\pm$ 1.09 *	2.52 $\pm$ 1.08
HCG 日 E_2 (ng/L, $\bar{x} \pm s$)	4685.27 $\pm$ 7054.91	3023.92 $\pm$ 3485.08
MII 卵数(个, $\bar{x} \pm s$)	2.88 $\pm$ 1.00 *	2.30 $\pm$ 1.03
MII 卵受精率(% , $\bar{x} \pm s$)	90.23 $\pm$ 22.83	83.33 $\pm$ 24.35
优质胚胎数(个, $\bar{x} \pm s$)	1.72 $\pm$ 1.06 **	1.90 $\pm$ 0.78
优质胚胎率(% , $\bar{x} \pm s$)	75.17 $\pm$ 32.79 *	53.37 $\pm$ 40.21
周期取消率(%)	18.4(7/38)	21.0(8/38)
ET 日子宫内膜(mm, $\bar{x} \pm s$)	7.64 $\pm$ 2.51 **	5.90 $\pm$ 2.26
生化妊娠率(%)	28.9(11/38)	21.1(8/38)
临床妊娠率(%)	23.7(9/38)	18.4(5/38)

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

$P < 0.01$), 治疗组 Gn 天数、Gn 用量、HCG 日 E_2 、MII 卵受精率、周期取消率、生化妊娠率及临床妊娠率与对照组比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

讨 论

POR 患病率为 9%~25%^[3], 患者卵巢储备功能低下, 对 Gn 反应性差, 获卵数较少, 胚胎质量差, 临床妊娠率、活产率低, 尚无最佳的治疗方案, 生长激素(GH)能显著改善 POR 患者的临床妊娠率和活产率, GH 能提高卵巢对 Gn 的反应性, 促进卵泡发育, 协调卵泡浆和原核的成熟, 提高卵泡质量, GH 释放因子能改善 POR 的妊娠率^[4,5]。

国医大师夏桂成教授基于对脏腑和奇经八脉的认识, 创建补肾调周法改善生殖节律, 提出以心肾平衡阴阳为主轴、肝脾气血为枢纽的气血调节理论, 构成女性生殖生理的完整调控系统, 演绎生殖节律变化。肾者, 主静, 静则藏, 静能生水, 天癸的产生源于先天; 心者, 主动, 动则运行, 有动, 才能调摄节律性运动; 子宫者, 实是奇恒之腑, 受肾所主宰, 当其类腑行泻作用时, 受心所主宰, 心肾之间阴阳互根互动, 支持着五脏六腑之间活动与生殖功能之间的联系, 实现节律的变更, 生殖节律受控于心-肾为核心的中医生殖轴^[6]。行经期, 祛旧生新, 经后期阴长阳消, 阴长至重, 进入经间排卵转化期; 然后又进入阳长阴消的经前期, 重阳必阴又进入行经期, 终而复始, 循环往复^[7]。补肾调周中药中, 经期以五味调经散加减, 方中丹参、丹皮、山楂、赤芍、益母草活血化瘀排出经血, 乌药、制香附、五灵脂行气止痛, 茯苓健脾宁心; 卵泡期方中熟地、当归、白芍、淮山药、山萸肉滋阴养血, 川断、菟丝子补肾助阳, 阳中求阴; 经间排卵期方中丹参、赤芍、丹皮、红花、川芎活血通络, 茯苓、薏苡仁健脾利湿, 川断补肾助阳以助转化;

黄体期方中淫羊藿、川断、鹿角霜、覆盆子补肾助阳,党参、白术、茯苓健脾宁心,白芍、山药阴中求阳。

本研究中,治疗组在获卵数、MⅡ卵数、优质胚胎数、优质胚胎率高于对照组,这与刘建国等^[8]、连方等^[9]研究一致,说明补肾调周法在 IVF 周期中能改善卵巢反应性,增加获卵数,提高卵细胞、胚胎质量,促进有利于卵子受精、胚胎卵裂。与对照组比较,治疗组 Gn 天数、Gn 总量均减少、MⅡ卵受精率提高,周期取消率降低,但差异均无统计学意义。说明补肾调周法在减少 Gn 天数、降低 Gn 总量、提高 MⅡ卵受精率方面可能存在优势,需进一步大样本的临床研究证实。POR 患者胚胎质量差、临床妊娠率低,提高移植周期的成功率,需要提高胚胎质量以及改善子宫内膜容受性。本研究中所有患者均为冻胚移植周期,两组均选择优质胚胎移植,避免了胚胎因素对临床结局的影响,治疗组 ET 日子宫内膜高于对照组,表明补肾调周中药在增加子宫内膜厚度方面具有优势。研究表明中药在子宫内膜厚度、子宫内膜形态、子宫内膜及内膜下血流、妊娠率方面均有优势,能促进子宫内膜 bax 蛋白的表达和 Caspase-3 的激活,促进子宫内膜 PCNA 和 P21 表达,从而影响子宫内膜的蜕膜反应,进而提高子宫内膜容受性,促进胚泡着床^[10]。中药可改善超促排卵大鼠围种植期子宫内膜微血管密度及血管生成相关因子 VEGF 和 OPN 的表达,改善子宫内环境,从而提高妊娠率^[11]。治疗组生化妊娠率、临床妊娠率均高于对照组,但差异无统计学意义,说明在补肾调周法联合微刺激方案对 POR 患者的临床结局可能有一定的优势,但仍有待进一步的研究。

参 考 文 献

[1] Ferraretti AP, La Marca A, Fauser BC, et al. ES-HRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for *in vitro* fertiliza-

tion: The Bologna Criteria [J]. Hum Reprod, 2011, 26(7): 1616-1624.

- [2] 朱文锋主编. 中医诊断学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 194-195.
- [3] Keay SD, Lenton EA, Cooke ID, et al. Low-dose dexamethasone augments the ovarian response to exogenous gonadotrophins leading to a reduction in cycle cancellation rate in a standard IVF programme [J]. Hum Reprod, 2001, 16(9): 1861-1865.
- [4] Eftekhari M, Aflatoonian A, Mohammadian F, et al. Adjuvant growth hormone therapy in antagonist protocol in poor responders undergoing assisted reproductive technology [J]. Arch Gynecol Obstet, 2013, 287(5): 1017-1021.
- [5] Demirel A, Gurgan T. Comparison of microdose flare-up and antagonist multiple-dose protocols for poor-responder patients: A randomized study [J]. Fertil Steril, 2009, 92(2): 481-485.
- [6] 李建美, 谈勇. 夏桂成生殖节律理论探析 [J]. 江西中医药, 2007, 292(38): 10-11.
- [7] 谈勇, 胡荣魁. 中医女性生殖节律理论创新 [J]. 南京中医药大学学报, 2014, 30(4): 301-305.
- [8] 连方, 滕依丽, 张建伟, 等. 二至天葵颗粒对体外受精-胚胎移植周期人卵泡液白血病抑制因子和卵细胞质量的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2007, 27(11): 431-434.
- [9] 刘建国, 金保方, 杨晓玉, 等. 补肾调周法对 IVF-ET 的干预及其结局的影响 [J]. 南京中医药大学学报, 2012, 28(11): 513-516.
- [10] 黄冬梅, 黄光英, 陆付耳. 补肾益气和血方对胚泡着床障碍小鼠子宫内膜腺体凋亡的影响 [J]. 中医杂志, 2008, 49(7): 644-646.
- [11] 贡欣. 补肾活血法改善子宫内膜容受性的分子作用机制研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2014.

(收稿: 2016-07-31 修回: 2017-02-04)

责任编辑: 白霞

英文责编: 张晶晶