

· 临床论著 ·

坤泰胶囊对在体外受精 - 胚胎移植中卵巢低反应患者的影响

栾素娴 孙平平 张玉花 赵文杰 马华刚

摘要 目的 探讨坤泰胶囊治疗在体外受精 - 胚胎移植(*in vitro* fertilization-embryo transfer, IVF-ET)中卵巢低反应(poor ovarian response, POR)患者的临床效果。**方法** 90 例均为 2015 年 4 月—2016 年 4 月在山东省潍坊市人民医院生殖医学科就诊的卵巢储备功能减退(diminished ovarian reserve, DOR)的不孕症患者。均采用常规微刺激方案,充分知情同意,根据是否同意用药分观察组(48 例)和对照组(42 例),观察组进入周期前 1 个月开始口服坤泰胶囊;对照组直接进入周期。观察两组患者年龄、不孕年限、体质指数(body mass index, BMI)、肾阴虚证候评分、基础卵泡刺激素(basal follicle stimulating hormone, bFSH)、基础促黄体生成素(basal luteinizing hormone, bLH)、基础雌二醇(basal estradiol, bE₂)、基础窦卵泡数(antral follicle count, AFC)、抗苗勒管激素(anti-Müllerian hormone, AMH)水平;比较两组 IVF 过程中促性腺激素(gonadotropin, Gn)应用天数、Gn 用量、人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotrophin, HCG)扳机日单个成熟卵泡(直径≥14 mm)的 E₂ 水平、获卵数、可移植胚胎数、优质胚胎数。**结果** 两组 Gn 天数及 Gn 用量,差异无统计学意义($P > 0.05$);观察组 HCG 日单个成熟卵泡 E₂ 水平、获卵数、可移植胚胎数较对照组高($P < 0.05$);优胚数亦呈上升趋势,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 坤泰胶囊能提高 IVF-ET 中 POR 患者 HCG 日单个成熟卵泡 E₂ 水平,增加获卵数和可移植胚胎数,有助于改善 IVF 结局。

关键词 坤泰胶囊; 卵巢储备功能减退; 卵巢低反应; 体外受精 - 胚胎移植

Effect of Kuntai Capsule on Poor Ovarian Response Patients Undergoing *In-vitro* Fertilization-Embryo Transfer LUAN Su-xian, SUN Ping-ping, ZHANG Yu-hua, ZHAO Wen-jie, and MA Hua-gang
Department of Reproductive Medicine, Weifang People's Hospital, Shandong (261041)

ABSTRACT Objective To study the application of Kuntai Capsule (KTC) in poor ovarian response (POR) patients undergoing *in vitro* fertilization-embryo transfer (IVF-ET). **Methods** Recruited were 90 diminished ovarian reserve (DOR) infertility patients at Department of Reproductive Medicine, Weifang People's Hospital from April 2015 to April 2016. All patients received routine micro-stimulation protocol and signed informed consent. They were assigned to the observation group (48 cases) and the control group (42 cases) according to whether they would accept treatment protocols. Patients in the observation group took KTC one month earlier before they entered the menstrual cycle, while those in the control group entered the menstrual cycle directly. Age, duration of infertility, body mass index (BMI), scores for Shen yin deficiency syndrome (SYDS), levels of basal follicle stimulating hormone (bFSH) basal luteinizing hormone (bLH), basal estradiol (bE₂), and antral follicle count (AFC), anti-Müllerian hormone (AMH) were observed in the two groups. Gonadotropin (Gn) using days, Gn dosage, E₂ level in single mature follicle (diameter ≥14 mm) on human chorionic gonadotrophin (HCG) day, the number of oocytes retrieved, portable embryos number, and high quality embryos number were compared during IVF. **Results** No statistical difference was shown in Gn using days or Gn dosage between the two groups ($P > 0.05$). E₂ levels in single mature follicle on HCG day, number of oocytes retrieved, and portable embryos number were higher in the observation group than in the control group ($P < 0.05$). The high quality

作者单位:山东省潍坊市人民医院生殖医学科(山东 261041)

通讯作者:马华刚, Tel:0536-8192693, E-mail:mahuagang@126.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20170828.249

embryos number showed increasing tendency, but with no statistical difference between the two groups ($P > 0.05$). Conclusion KTC could improve E_2 levels in single mature follicle on HCG day, increase number of oocytes retrieved and portable embryos number in POR patients undergoing IVF-ET, thus improving the outcome of IVF.

KEYWORDS Kuntai Capsule; diminished ovarian reserve; poor ovarian response; *in vitro* fertilization-embryo transfer

目前,随着生育政策的放开,要求生育二胎的 ≥ 40 岁的女性人数增多,这部分患者最主要的特点就是卵巢储备功能减退(diminished ovarian reserve, DOR),在接受体外受精-胚胎移植(*in vitro* fertilization-embryo transfer, IVF-ET)过程中经常出现卵巢低反应(poor ovarian response, POR)的情况。POR 患者可分为两类^[1]:一类为卵巢储备减少,表现为窦卵泡数目减少,即使改变方案或药物也不能增加成熟卵泡,获卵数减少,该类患者预后一般不佳;另一类为卵巢储备功能充足,但对药物的反应存在差异,调整方案或改变药物种类或用量可能有充分的应答,这一类患者一般预后较好。目前临床上对 DOR 患者主要是采用微刺激或拮抗剂方案行 IVF 助孕^[2],但往往很难获得满意的效果。近年来,随着中医药在辅助生殖技术方面的应用和功效日益受到重视,许多学者研究发现,补肾中药具有提高卵母细胞质量、改善卵巢反应性,调整下丘脑-垂体-卵巢轴功能,促进卵泡生长和发育,调控相关细胞因子及其受体水平,调节激素及其受体水平,改善子宫内膜容受性等作用^[3-5]。本研究目的就是通过观察中药坤泰胶囊在 POR 患者中的应用,来进一步探索中药在辅助生殖技术中的地位和作用,从而为高龄不孕症患者的治疗提供参考。

资料与方法

1 诊断标准

1.1 不孕症诊断标准 原发性不孕指既往无妊娠史,现夫妇同居有正常性生活,未避孕未孕 1 年;继发性不孕指既往有妊娠史,现夫妇同居有正常性生活,未避孕未孕 0.5 年^[6]。

1.2 DOR 诊断标准 早卵泡期的血清卵泡刺激素(follicle stimulating hormone, FSH)水平 > 10 U/L 或两侧窦卵泡数(antral follicle count, AFC) < 5 个^[7]。

1.3 POR 诊断标准 根据 2011 年欧洲人类生殖与胚胎学会(ESHRE)共识的 Bologna 诊断标准^[1,2]:行辅助生殖技术(assisted reproductive technology, ART)的患者满足以下 3 个条件中的 2 个即可诊断:(1)高龄(≥ 40 岁)或具有 POR 的其他

危险因素如卵巢手术史等;(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 5~7 个,或者抗苗勒管激素(anti-Müllerian hormone, AMH) $0.5 \sim 1.1$ ng/mL。

1.4 中医肾阴虚证辨证标准 参考《中医妇科学》^[8]及《中医诊断学》^[9]中肾阴虚证标准辨证,并观察症状轻重(腰膝酸痛、咽干颧红、头晕耳鸣、潮热盗汗、五心烦热、失眠多梦等)及舌苔脉象(舌红少津无苔、脉细数),每种症状按其无、轻、中、重分别计分 0、1、2、3 分,满分 24 分。

2 纳入标准及排除标准

2.1 纳入标准 (1)符合 DOR、POR 及中医肾阴虚证诊断标准;(2)均符合“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的通知”^[10]中 IVF-ET 适应症,无手术禁忌症;(3)所有患者均详细告知 DOR 可能导致的风险及意外情况,并签署知情同意书。

2.2 排除标准 (1)男方少弱畸形精子症;(2)子宫内膜异位症;(3)输卵管因素不孕者;(4)患有全身或者生殖器官恶性肿瘤;(5)免疫性不孕以及复发性流产患者;(6)近 3 个月内使用过性激素药物者;(7)已知对本药组成成分过敏者。

3 一般资料 90 例为 2015 年 4 月—2016 年 4 月在山东省潍坊市人民医院生殖医学科行 IVF-ET 不孕患者,均符合纳入标准。根据是否同意用药分观察组和对照组,观察组 48 例,对照组 42 例,两组患者平均年龄、不孕年限、BMI、肾阴虚证候积分以及月经第 2 日基础内分泌指标(bFSH、bLH、bE₂)、AFC、AMH 比较(表 1),差异均无统计学意义($P > 0.05$)。本研究通过本院生殖医学伦理委员会批准(伦理号:201501005)。

4 方法

4.1 用药方法 两组均采用微刺激方案:枸橼酸氯米芬片(clomifene citrate, CC, 高特制药有限公司,批号:J0302) 50 mg 口服,每日 1 次,月经第 3 日开始,连用 5 日,后加用人绝经期促性腺激素(human menopausal gonadotropin, HMG, 烟台东诚北方制药有限公司,批号:201504051) 225~300 U 肌肉注射,

表 1 两组一般资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	年龄 (岁)	不孕年限 (年)	BMI (kg/m ²)	肾阴虚证 积分(分)	AFC (个)	AMH (ng/mL)	bFSH (IU/L)	bLH (IU/L)	bE ₂ (pmol/L)
观察	48	43.58 ± 2.67	2.89 ± 1.14	26.02 ± 2.11	18.85 ± 3.11	4.75 ± 1.31	0.59 ± 0.09	12.35 ± 3.65	4.63 ± 2.72	157.40 ± 45.08
对照	42	44.42 ± 2.35	2.77 ± 1.56	25.87 ± 3.19	19.16 ± 2.79	4.92 ± 1.44	0.57 ± 0.23	11.92 ± 4.52	4.52 ± 2.91	159.50 ± 46.72

每日 1 次,至最大卵泡直径达 18 mm 时予人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotrophin, HCG)10 000 U 扳机(HCG 日)。

观察组进入周期前 1 个月开始口服坤泰胶囊(方药组成:熟地黄、黄连、白芍、黄芩、阿胶、茯苓,每粒 0.5 g,含生药量为 1.7 g,贵阳新天药业股份有限公司生产,生产批号:150501),每次 4 粒,每日 3 次,持续至取卵日。对照组直接进入周期。

4.2 观察指标及检测方法

4.2.1 基础内分泌测定 于月经周期第 2 日空腹抽静脉血 5 mL,离心后取血清,置于 -70 °C 的冰箱中待检。采用化学发光法测定 bFSH、bE₂、bLH,试剂盒购自天津九鼎医学生物有限公司。

4.2.2 AMH 测定 采用 ELISA 定量检测,双孔平行对照,取平均值,试剂盒购自美国 DSL 公司。

4.2.3 AFC 以及卵泡测量 采用东芝 340 彩色多普勒超声诊断仪经阴道超声检查。

4.2.4 两组 IVF 过程中 Gn 天数、Gn 用量、HCG 日单个成熟卵泡(直径 ≥ 14 mm)的 E₂ 水平、获卵数、可移植胚胎数、优质胚胎数^[11]。

4.3 统计学方法 采用 SPSS 17.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用配对 *t* 检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1 两组 IVF 过程中 Gn 天数、Gn 用量、HCG 日单个成熟卵泡 E₂ 水平、获卵数、可移植胚胎数及优质胚胎数比较(表 2) 与对照组比较,观察组 Gn 天数与 Gn 用量差异无统计学意义(*P* > 0.05);HCG 日单个成熟卵泡 E₂ 水平较对照组升高,获卵数以及可移植胚胎数均亦较对照组增多(*P* < 0.05),优质胚胎数有上升趋势,

但差异无统计学意义(*P* > 0.05)。

讨 论

POR 是辅助生殖技术治疗时常见的棘手问题,2011 年 Polyzos NP^[12] 报道在 ART 过程中 9% ~ 24% 的人发生 POR;国内胡琳莉等^[13] 报道 40 岁以上患者 POR 发生率超过 50%;POR 意味着促排卵过程中 Gn 用量增加,周期取消率增高,获卵数减少,可利用胚胎数目减少,优质胚胎数降低,临床妊娠率降低。对高龄患者来讲经济与心理的双重付出与回报形成巨大反差,对临床医师也是巨大的挑战,如何增加窦卵泡数目,如何增加卵泡对 Gn 的敏感性,如何获取足够优质胚胎,目前有许多尝试但尚无定论。许多专家提出为改善 IVF 治疗结局,在促排卵前进行相应预处理,以提高卵巢对促排卵药物的敏感性,增加卵子数量,改善卵子质量,增加可利用胚胎数目。目前常用的预处理药物有生长激素(GH)类药物、雄激素(DHEA、睾酮)、芳香化酶抑制剂(来曲唑)、雌激素(补佳乐)、避孕药(OC)、乙酰胆碱酯酶抑制剂(吡啶斯的明)、抗氧化药物(左旋精氨酸、辅酶 Q10)等^[1,2,14]。然而尽管预处理的药物种类较多,目前尚缺乏有力的循证医学证据。

中医学认为女子生理、生殖均以肾为中心,肾为先天之本,藏精、主生殖,精血同源,二者相互滋生,相互转化,而女性以血为本,故精血的摄藏最终依赖于肾气的充盛,肾气亏虚、精血不足则导致不孕症的发生,因此,中医学认为补肾填精、益气养血活血是治疗不孕症的关键,同样,中药治疗 POR 也是遵循补肾养血、活血化瘀、疏肝理气的治疗原则,辨证施治^[8,9]。坤泰胶囊是一种传统方剂,由熟地黄、黄连、黄芩、白芍、阿胶、茯苓组成,具有滋阴降火、清心除烦、安心安神、调节阴

表 2 两组 IVF 过程中 Gn 天数、Gn 用量、HCG 日单个成熟卵泡 E₂ 水平、获卵数、可移植胚胎数、优质胚胎数比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	Gn 天数 (天)	Gn 用量 (U)	HCG 日 E ₂ (pmol/L)	获卵数 (个)	可移植胚胎数 (个)	优质胚胎数 (个)
观察	48	5.92 ± 2.35	1 510 ± 618.40	1 368.42 ± 416.86 *	2.5 ± 0.57 *	1.33 ± 0.46 *	0.83 ± 0.80
对照	42	5.89 ± 2.07	1 490 ± 634.44	1 307.26 ± 507.3	2.08 ± 0.76	1.17 ± 0.15	0.58 ± 0.64

注:与对照组比较,**P* < 0.05

阳的作用;有学者在研究中发现:坤泰胶囊具有类似植物雌激素样作用,能够明显改善围绝经期妇女的更年期症状,它具有雌激素的生物活性,却不具备雌激素的不良反应,能够改善卵巢微循环,增强卵巢血供,延长卵巢的生命力^[15]。

本研究观察组患者在进入周期之前开始口服坤泰胶囊,直至取卵日,由于微刺激周期不常规移植,两组胚胎均行玻璃化冷冻。研究结果表明,观察组 HCG 日单个成熟卵泡 E₂ 水平、获卵数、可移植胚胎数较对照组增多($P < 0.05$);优胚数较对照组虽有上升趋势,但差异不明显,考虑与本身优质胚胎数量小,同时样本例数少有关。

本研究结果与连方教授等^[16]关于坤泰胶囊改善卵巢储备功能的报道有相似之处。随着辅助生殖技术本身的不断发展,中医药的应用也逐渐渗透到辅助生殖技术的各个环节,纯中药制剂的坤泰胶囊能够改善 POR 患者 IVF 助孕结局,值得进一步探索和研究。

参 考 文 献

- [1] 何方方. 卵巢低反应人群超促排卵的治疗策略[J]. 生殖医学杂志, 2012, 21(6): 528-530.
- [2] 武学清, 孔蕊, 田莉, 等. 卵巢低反应专家共识[J]. 生殖与避孕, 2015, 35(2): 71-79.
- [3] 李丽萍, 孙振高. 补肾中药在体外授精-胚胎移植中的应用[J]. 山东医药, 2008, 48(17): 116-117.
- [4] 张晓红, 杨正望, 尤昭玲. 补肾中药对卵巢功能及子宫内膜的影响[J]. 中医药学刊, 2005, 23(11): 2054-2055.
- [5] 孙振高, 连方, 李婷婷, 等. 补肾中药对超排卵周期子宫内膜容受性影响的超声学评价[J]. 中国超声医学杂志, 2011, 27(4): 353-356.
- [6] 陈子江, 刘嘉茵主编. 不孕不育[M]. 北京: 人民军医出版社, 2013: 1-5.

- [7] Sills ES, Alper MM, Walsh AP. Ovarian reserve screening in infertility: practical applications and theoretical directions for research[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2009, 146(1): 30-36.
- [8] 张玉珍主编. 中医妇科学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2008: 328-329.
- [9] 朱文锋主编. 中医诊断学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2006: 193-195.
- [10] 卫科教发(2003)176号. 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的通知[J]. 中华人民共和国卫生部公报, 2003, (3): 1-5.
- [11] 黄国宁, 孙海翔主编. 体外受精-胚胎移植实验室技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 238-244.
- [12] Polyzos NP, Devroey P. A systematic review of randomized trials for the treatment of poor ovarian responders: is there any light at the end of the tunnel? [J]. Fertil Steril, 2011, 96(5): 1058-1061.
- [13] 胡琳莉, 孙莹璞. 卵巢储备功能与卵巢反应性评估[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2015, 31(1): 18-21.
- [14] 王佳怡, 凌秀凤, 童华. 线粒体功能指标在辅助生殖技术中的应用[J]. 国际生殖健康/计划生育杂志, 2017, 36(1): 45-48.
- [15] 陈蓉, 林守清, 杨欣, 等. 坤泰胶囊与戊酸雌二醇对更年期综合征各种症状的不同疗效分析[J]. 医学综述, 2013, 19(10): 1869-1872.
- [16] 连方, 姜晓媛. 坤泰胶囊对 IVF 低反应患者获卵数、卵细胞和胚胎质量的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2014, 34(8): 917-921.

(收稿: 2016-07-19 修回: 2017-08-23)

责任编辑: 段碧芳

英文责编: 张晶晶