

中医药多途径介入低预后再次IVF-ET拮抗剂方案患者 卵巢功能、中医证候及自孕的临床疗效评估

徐云姬¹, 夏宛廷¹, 张璇¹, 马黔红², 黄金珠³, 曾倩^{1*}

(1. 成都中医药大学附属医院, 成都 610075; 2. 四川大学华西第二医院, 成都 610041;

3. 成都中医药大学护理学院, 成都 611137)

[摘要] 目的: 分析中医药多途径介入对体外受精-胚胎移植(IVF-ET)失败后拟再次接受IVF-ET拮抗剂方案低预后(肾阴虚肝郁血瘀证)患者卵巢功能、中医证候及自然受孕情况的影响。方法: 选取2020年8月至2023年2月在四川大学华西第二医院、成都中医药大学附属医院就诊拟再次接受IVF-ET拮抗剂方案助孕且符合纳入标准的肾阴虚肝郁血瘀证低预后患者128例, 按随机对照表分为观察组和对照组, 每组各有患者64例。对照组采用口服脱氢表雄酮(DHEA)治疗, 观察组采用多途径中医药(口服中药汤剂+耳穴贴压+补肾活血方导法)治疗。经过3个月经周期的治疗后, 收集两组患者的卵巢功能评估相关指标, 中医证候评分和自然受孕情况。结果: 与本组治疗前比较, 观察组患者基础卵泡刺激素(bFSH)、基础卵泡刺激素/基础黄体生成激素(bFSH/bLH)值、基础雌二醇(bE₂)、窦卵泡数(AFC)、获卵数、正常受精数、优胚数、中医证候评分在治疗后均有明显改善($P<0.05$, $P<0.01$), 对照组患者bFSH/bLH、中医证候评分均较治疗前升高($P<0.05$), 而bFSH、bE₂、AFC值、获卵数、正常受精数、优胚数差异无统计学意义。治疗后观察组患者bFSH、bFSH/bLH、bE₂、AFC、正常受精数、优胚数、中医证候评分改善情况均优于对照组($P<0.05$, $P<0.01$), 而获卵数差异无统计学意义。治疗后, 观察组自然受孕3人, 而对照组无自然受孕者。结论: 对于IVF-ET失败后, 拟再次接受IVF-ET拮抗剂方案的肾阴虚肝郁血瘀证低预后患者, 通过多途径的中医药干预, 可以降低bFSH、bFSH/bLH值、改善bE₂水平, 增加AFC、获卵数、正常受精数和优胚数, 改善卵巢功能、月经状况和中医证候, 提高生活质量, 使部分患者在再次进周前自然受孕, 改善妊娠结局。

[关键词] 中医药多途径介入; 低预后; 再次体外受精-胚胎移植(IVF-ET); 卵巢功能; 中医证候; 自然受孕

[中图分类号] R242; R2-0; R2-031; R271.14; R711.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2024)09-0093-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20241292

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20240308.1527.006>

[网络出版日期] 2024-03-10 07:19:42

Clinical Efficacy of TCM Multi-channel Intervention Plus Antagonist Regimen on Ovarian Function, TCM Syndromes and Natural Conception in Poor Ovarian Responders Undergoing IVF-ET

XU Yunji¹, XIA Wanting¹, ZHANG Xuan¹, MA Qianhong², HUANG Jinzhu³, ZENG Qian^{1*}

(1. Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Chengdu 610075, China;

2. West China Second University Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China;

3. School of Nursing, Chengdu University of TCM, Chengdu 611137, China)

[Abstract] **Objective:** To objectively analyze the effects of traditional Chinese Medicine (TCM) multi-channel intervention on the ovarian function, TCM syndromes and natural conception of poor ovarian responders (kidney-Yin deficiency, liver depression and blood stasis pattern) who planned to receive another *in vitro*

[收稿日期] 2023-11-29

[基金项目] 四川省科技厅项目(2020YFSY0043)

[第一作者] 徐云姬, 硕士, 医师, 从事中医药防治不孕症的临床研究, E-mail: xuyunji@stu.cdutcm.edu.cn

[通信作者] * 曾倩, 教授, 博士生导师, 从事中医药对不孕症的防治诊疗与研究, E-mail: zqian999d@126.com

fertilization embryo transfer (IVF-ET) antagonist regimen. **Method:** The 128 low-prognosis patients (kidney Yin deficiency, liver depression and blood stasis pattern) who attended the West China Second University Hospital, Sichuan University and the Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine from August 2020 to February 2023 and met the inclusion criteria were selected, and then divided into the treatment group and the control group according to the random number table, with 64 patients in each group. The control group was treated with oral dehydroepiandrosterone (DHEA), while the treatment group was treated with multi-channel TCM (oral TCM decoction + auricular point sticking + Bushen Huoxue prescription through retention enema). After 3 menstrual cycles, the relevant indicators for ovarian function evaluation, TCM syndrome scores and natural conception were collected from both groups. **Result:** Compared with the situation before treatment, the basal follicle stimulating hormone (bFSH), bFSH/basal luteinizing hormone (bLH), basal estradiol (bE_2), antral follicle count (AFC), the number of oocytes obtained, the number of normal fertilization, the number of superior embryos and TCM syndrome scores in the treatment group were improved after treatment ($P < 0.05$, $P < 0.01$). For the control group, the bFSH/bLH and TCM syndrome scores were increased after treatment ($P < 0.05$), while the bFSH, bFSH/bLH, bE_2 , AFC, the number of oocytes obtained, the number of normal fertilization, and the number of superior embryos showed no significant difference after treatment. Compared with the control group after treatment, bFSH, bFSH/bLH, bE_2 , AFC, the number of normal fertilization, the number of superior embryos and TCM syndrome scores in the treatment group were better ($P < 0.05$, $P < 0.01$), while there was no significant difference in the number of oocytes obtained. After treatment, there were 3 cases of natural conception in the treatment group, while there were no natural conception in the control group. **Conclusion:** For patients with poor ovarian response and kidney Yin deficiency, liver depression and blood stasis pattern, multi-channel intervention of TCM plus the antagonist regimen can reduce bFSH, bFSH/bLH values, improve the levels of bE_2 , increase AFC, the number of oocytes obtained, the number of normal fertilization and the number of superior embryos, improve ovarian function, menstruation and TCM syndromes, improve their quality of life, and even enable some patients to get pregnant naturally before re-progression and improve their pregnancy outcome.

[Keywords] multi-channel intervention of traditional Chinese medicine (TCM); poor ovarian response; another *in vitro* fertilization embryo transfer (IVF-ET); ovarian function; TCM syndromes; natural conception

近年来,随着中国女性实际生育年龄的推迟、“二孩”和“三孩”政策的逐步放开及社会再婚比例的提高,有正常生育要求的高龄女性比率也日益上升。然而,随着女性年龄的增长,卵巢储备功能、各级卵子数目及子宫内膜容受性会逐步减低,卵母细胞非整倍体率和生殖道肿瘤的发病率会逐渐升高,不孕症在有生育需求女性中的发生率逐渐上升^[1-2]。1958年,国际妇产科联合会将生育时年龄在35岁以上的女性定义为高龄产妇。2019年,中华医学会生殖医学分会建议^[3],从卵巢储备功能减退(DOR)的角度来定义“高龄”,这包括基础卵泡刺激素(bFSH)、基础雌二醇(bE_2)、基础卵泡刺激素/基础黄体生成激素(bFSH/bLH)值升高、抗缪勒管激素(AMH)下降及窦卵泡数(AFC)减少,而不仅限于女性的实际年龄。研究发现使用辅助生殖技术(ART)来实现妊娠的女性,年龄每增长1岁,妊娠率就会减少6%^[4]。根据年龄的不同,DOR的发生率在6%~

64%^[5],这类患者在体外受精-胚胎移植(IVF-ET)过程中,出现卵巢低反应(POR)的可能性增大,导致受精和减数分裂异常的发生率明显升高,进一步降低了妊娠率^[6],因此被称为低预后患者。改善卵巢功能,提高IVF-ET的成功率,甚至帮助患者自然受孕,是拟再次接受IVF-ET辅助妊娠低预后患者亟待解决的问题。

在中医典籍中,没有与DOR或POR相关的疾病名称,但可以根据其临床表现分类为“月经后期”“月经过少”“闭经”“不孕症”等。近年来IVF-ET的低预后现状引起了中医药领域的广泛关注,对IVF-ET低预后患者采用中医药辨证论治,发现中医药治疗有效改善了IVF-ET低预后患者的卵子数量和质量,提高了胚胎着床率和临床妊娠率^[7-11]。

拮抗剂方案是目前IVF-ET控制性超促排卵方案中常用的方案之一,但其新鲜胚胎周期移植率和临床妊娠结局并不理想^[12],有关中医药介入干预低

预后 IVF-ET 拮抗剂方案的研究报道也较为少见。笔者导师曾倩教授长期致力于中医妇科的临床研究,从整体出发,以中药汤剂口服、耳穴贴压、补肾活血方导法等途径为法,对行 IVF-ET 失败的低预后患者进行辨证论治,取得了良好的疗效,但是目前尚缺乏系统的临床研究与总结,因此,本研究着重于运用中医学的整体观念、辨证论治、综合治疗、阴阳调和等方法,对拟再次接受 IVF-ET 拮抗剂方案,且中医证候为肾阴虚肝郁血瘀的低预后患者进行干预,期望改善低预后患者的卵巢功能,提高其临床妊娠率和活产率,甚至使部分患者在再次行 IVF-ET 前成功自然受孕。

1 资料与方法

1.1 研究对象 根据统计学公式 $n =$

$$\left[\frac{Z_{\alpha/2} \sqrt{\pi_c(1-\pi_c)(Q_1^{-1} + Q_2^{-1})} + Z_{\beta} \sqrt{\frac{\pi_1(1-\pi_1)}{Q_1} + \frac{\pi_2(1-\pi_2)}{Q_2}}}{\pi_1 - \pi_2} \right]^2$$

计算纳入患者例数,设定 $\alpha=0.05, \beta=0.20, Q_1=Q_2=0.50, \pi_c=Q_1\pi_1+Q_2\pi_2$,同时考虑脱落率 $\leq 20\%$,故每组最少样本量为 48 例。本研究已通过成都中医药大学附属医院伦理委员会审批,批件号 2020KL-027;并在中国临床试验注册中心进行国际注册,中国临床试验注册号 ChiCTR2000038229。

选取 2020 年 8 月至 2023 年 2 月在四川大学华西第二医院就诊,计划再次接受 IVF-ET 拮抗剂方案的 184 例肾阴虚肝郁血瘀证低预后患者,评估后排除 56 例,最终纳入病例 128 例,按随机对照表分为

观察组和对照组,每组各有患者 64 例,观察组在成都中医药大学附属医院妇科门诊接受多途径的中医药干预。对照组因放弃妊娠脱落 2 例(3.1%),剔除 0 例(0%),完成 62 例(96.9%);观察组因放弃妊娠脱落 1 例(1.6%),因依从性差剔除 2 例(3.1%),完成 61 例(95.3%)。见图 1。两组患者用药前基线资料比较,差异均无统计学意义,资料具有可比性,见表 1。

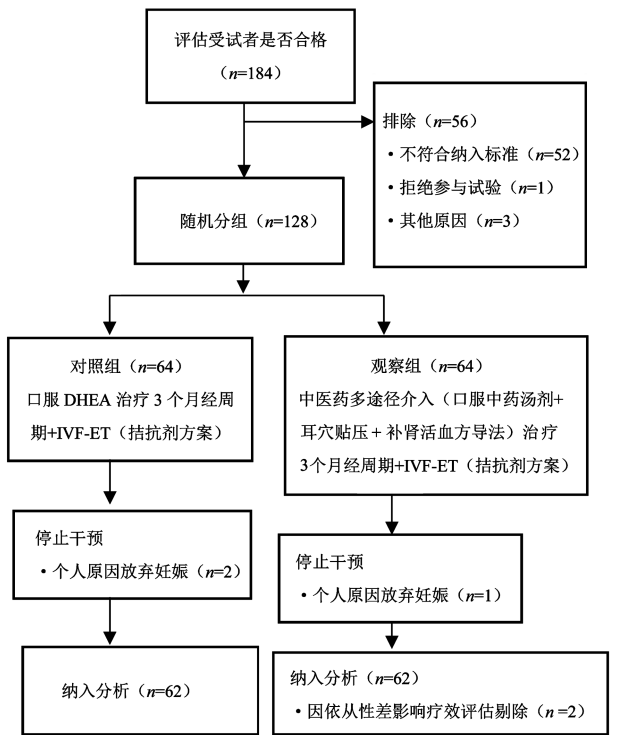


图 1 研究流程
Fig. 1 Research process

表 1 两组患者用药前基线资料比较

Table 1 Comparison of pre-medication baseline data between two groups of patients

组别	例数	年龄 ^a /岁	bFSH ^a /IU·L ⁻¹	bFSH / bLH ^b	bE ₂ ^b /ng·L ⁻¹	AMH ^b /μg·L ⁻¹	AFC ^b /个
对照组	62	34.81±4.98	8.24±3.06	2.38(2.11)	47.45(58.67)	1.13(0.88)	6(4)
观察组	61	33.26±3.59	8.78±3.55	2.43(2.86)	46.30(43.05)	1.09(0.73)	4(4)

组别	例数	前次 IVF-ET 情况 ^b /个			中医证候评分/分		
		获卵数	正常受精数	优胚数	主证 ^b	次证 ^a	总评分 ^b
对照组	62	5(4)	2(2)	1(2)	21(6)	16.37±2.93	37.81±5.25
观察组	61	4(3)	2(2)	1(1)	21(9)	15.13±4.03	35.49±8.70

注:^a数据类型为 $\bar{x} \pm s$; ^b数据类型为中位数(四分位间距)[$M(Q)$](表 4 同)

1.2 诊断标准

1.2.1 波塞冬标准 2016 年,欧洲生殖和内分泌专家委员会根据患者个体获卵数制定了群体分型策略(即波塞冬标准),用以指导 POR 的个体化管理,以及对于 POR 更加细致的分层,本研究主要涉及

第 2 组和第 3 组人群,具体如下。第 2 组人群:年龄 ≥ 35 岁, $AFC \geq 5$ 个, $AMH \geq 1.2 \mu g \cdot L^{-1}$,前次 IVF 中获卵数 1~9 个;第 3 组人群:年龄 <35 岁, $AFC < 5$ 个, $AMH < 1.2 \mu g \cdot L^{-1}$ 。

1.2.2 IVF-ET 适用范围 按照中华人民共和国

卫生主管部门2003年发布的《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》(卫科教发[2003]176号)的有关规定:①各种因素导致女方配子运送障碍;②排卵障碍;③中度或重度子宫内膜异位症;④男方精液检查异常,如少精、弱精、畸精等;⑤免疫因素引起的不孕、不育或原因不明的不孕。

1.3 中医辨证标准 纳入的中医证候为肾阴虚肝郁血瘀证,其辨证标准主要依据2012年中华中医药学会制定的《中医妇科常见病诊疗指南》和2016年第10版《中医妇科学》制订。主证:①月经量少;②腰膝酸软;③情绪抑郁或烦躁易怒;④经色黯。次证:①头晕耳鸣或耳聋;②口咽干燥;③失眠或健忘;④性欲减退;⑤五心烦热或潮热盗汗;⑥脱发或齿松;⑦胸胁、乳房胀痛;⑧善太息;⑨少腹胀痛;⑩不思饮食;⑪下腹刺痛。舌脉:舌质红或紫暗或有瘀斑、瘀点,少苔或无苔,脉弦细数或弦滑或沉弦或涩。注:以上主证②~④项必备,伴或不伴①,次证①~⑥、⑦~⑪每项必备1项,参照舌脉即可诊断。

1.4 纳入标准 ①既往IVF-ET失败史 ≥ 1 次,拟再次接受IVF-ET;②符合波塞冬人群分类标准的第2组和第3组人群;③具备IVF-ET适应证,排除禁忌证;④患者无囊胚或冷冻胚胎;⑤所有患者的促排卵方案均选取拮抗剂方案;⑥中医辨证符合肾阴虚肝郁血瘀证标准者;⑦知晓并自愿地签署知情同意书。满足以上7项者方能纳入。

1.5 排除标准 ①不满足纳入标准者;②男方精液异常者;③属于过敏体质或对试验用药过敏者;④有严重的基础疾病,如心血管、肝、肾和血液疾病或精神疾病者;⑤患有急性传染病或身体有器质性疾病者;⑥被诊断患有生殖器官畸形、生殖系统肿瘤或炎症者;⑦患有《母婴保健法》中规定的遗传性疾病者;⑧具有吸毒等严重不良嗜好者;⑨接触导致畸形剂量的放射线、毒物或药品并处于活性阶段。

1.6 脱落及剔除标准 ①依从性差,纳入试验后,未遵从医嘱服药,或无随访数据者;②自行使用悖离试验方案的药物,对试验有效性和安全性判断产生重大影响者;③在试验过程中出现严重不良反应、并发症或特殊生理变化,导致无法继续进行研究者;④用药后转至其他生殖中心辅助妊娠者。

1.7 治疗方案

1.7.1 对照组 口服脱氢表雄酮(DHEA,美国健安喜,规格25 mg $\times$ 90粒/瓶,建议患者自行购买)3个月

经周期(口服,每天1次,每次25 mg)+IVF-ET拮抗剂方案促排、取卵。本研究IVF-ET拮抗剂方案由四川大学华西第二医院生殖中心参照《体外受精胚胎移植技术实施指南》拟订并实施。

1.7.2 观察组 口服中药汤剂(滋肾助孕方/安胎方)+耳穴贴压+补肾活血方导法治疗3个月经周期+IVF-ET拮抗剂方案促排、取卵。

①口服中药汤剂。滋肾助孕方组成为熟地黄10 g(产地河南,批号220401)、山药15 g(产地河南,批号220211)、山茱萸10 g(产地河南,批号220616-11)、枸杞子10 g(产地宁夏,批号220403)、茯苓10 g(产地云南,批号220102)、当归5 g(产地甘肃,批号220601)、酒白芍15 g(产地安徽,批号220601)、炙黄芪25 g(产地甘肃,批号2205003)、甘草5 g(产地新疆,批号220331)。安胎方组成为桑寄生10 g(产地广西,批号2205003)、续断10 g(产地四川,批号220502)、生地黄10 g(产地河南,批号220402)、百合20 g(产地湖南,批号220526)、地骨皮10 g(产地四川,批号220216-11)、山药15 g(同前)、枸杞子10 g(同前)、白芍10 g(产地安徽,批号220118)、黄芩10 g(产地山西,批号220101)。①煎药方法:用冷水将药物浸泡15 min,大火煮沸,再用小火熬煮15 min,滤出药液,约200 mL,以同样的方法再煎煮2次,共滤出药液600 mL,将所有药液均匀混合,饭后30 min,加热服用,1剂/2 d,每天3次,每次100 mL;②服药时间:月经周期第1天开始服用滋肾助孕方,持续服用21 d,药后查血清人绒毛膜促性腺激素+孕激素:若自然受孕,则改服安胎方至妊娠后70 d;若未受孕,则下一月经周期继续服用,连续服用3个月经周期。

②耳穴贴压。穴位:取穴选择肝、肾、神门、内分泌、耳迷根、额、颞、枕等穴位。方法:使用乙醇棉签擦拭消毒耳穴皮肤,将王不留行籽胶布(上海泰成科技发展有限公司,批号210207)贴在耳穴上,可保留5 d,每天适当按压3次,使耳郭产生温热胀痛感,在月经周期的第1天开始贴压耳穴,每周更换1次,3次为1个疗程。

③补肾活血方导法。由菟丝子15 g(产地内蒙古,批号2205002)、枸杞子10 g(同前)、覆盆子10 g(产地浙江,批号220109)、续断20 g(同前)、山药20 g(同前)、丹参10 g(产地山东,批号220302)、丝瓜络15 g(产地河北,批号2205002)、山楂15 g(产地河北,批号220602)组成。补肾活血方的制剂由成都中医药大学附属医院中药房提供,经药剂科李涓

主任药师鉴定符合2020年《中华人民共和国药典》版规定,药剂科根据《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求(2021年版)》将上述中药饮片经水煎、滤过、浓缩、精制、纯化,制成免煎制剂(专利号:ZL201410390113.7)。方法:排空大小便,侧卧位,将臀部垫高,充分暴露肛门,常规消毒,将吸痰管以医用石蜡油润滑,插入肛门内8~10 cm后固定,用50 mL空针抽取药液,药液温度以39~41℃为宜,连接吸痰管,缓慢而均匀地将药液推入直肠内,灌肠后尽可能使药液在肠道内保留1 h以上,月经干净后直肠给药,1次/d,连用12 d停。

注:①若患者自然受孕,停用补肾活血方导法,不再进入后续IVF-ET周期,动态监测血清人绒毛膜促性腺激素、雌激素、孕激素水平及B超结果,给予中药安胎方+耳穴贴压+西医常规黄体支持;若未受孕,则进入后续的IVF-ET周期。

1.8 观察指标 ①卵巢功能评估相关指标:基础生殖激素水平(包括bFSH、bFSH/bLH、bE₂),AMH,AFC,获卵数,正常受精数及优胚数(I级、II级胚胎数);②中医证候评分改善情况:疗效指数(n)=(治疗前评分-治疗后评分)/治疗前评分 $\times 100\%$ 。痊愈: $n \geq 95\%$,症状消失或基本消失;显效: $70\% \leq n < 95\%$,症状明显减轻;有效: $30\% \leq n < 70\%$,症状有所减轻;无效: $n < 30\%$,症状无减轻或加重。总有效率=有效病例总数(痊愈+显效+有效)/病例总数 $\times 100\%$ 。③自然受孕情况、妊娠结局和自然受孕率(自然受

孕率=自然受孕例数/本组总例数 $\times 100\%$)。

1.9 统计学方法 所有数据分析均采用IBM SPSS 26.0软件。计量资料组间比较:符合正态分布采用独立样本 T 检验分析,采用 $\bar{x} \pm s$ 进行统计描述;不符合正态分布,采用非参数检验分析,采用中位数(M)和四分位数间距 $Q(Q=P_{75}-P_{25})$ 进行统计描述;计量资料组内比较:符合正态分布采用配对样本 T 检验分析;不符合正态分布,采用威尔科克森秩和检验分析;计数资料:采用卡方检验,Pearson Chi-Square检验(当 $T \geq 5$ 时)或Fisher's Exact检验(当 $T < 1$ 或 $1 \leq T < 5$ 超过25%时)。检验水准 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

在中医药干预过程中,观察组自然受孕3人,不再进入后续的IVF-ET周期。所以,除去中医证候比较例数不变(观察组61人,对照组62人),其他疗效指标比较例数改为观察组58人,对照组62人。

2.1 两组患者治疗前后基础生殖激素、AFC比较

与本组治疗前比较,治疗后对照组患者bFSH/bLH值明显升高($Z = -1.990$, $P < 0.05$),而bFSH、bE₂、AFC差异无统计学意义($Z = -1.79$ 、 -1.19 、 -1.11),观察组治疗后bFSH、bFSH/bLH、bE₂、AFC明显改善($Z = -2.39$ 、 -4.25 、 -3.04 、 -3.34 , $P < 0.05$, $P < 0.01$)。与对照组治疗后比较,观察组bFSH、bFSH/bLH、bE₂、AFC改善优于对照组($Z = -2.15$ 、 -2.79 、 -2.19 、 -2.37 , $P < 0.05$, $P < 0.01$)。见表2。

表2 两组患者治疗前后基础生殖激素、AFC比较[$M(Q)$]

Table 2 Comparison of basal reproductive hormones and AFC between two groups of patients before and after treatment[$M(Q)$]

组别	例数	时间	bFSH/U·L ⁻¹	bFSH / bLH	bE ₂ /ng·L ⁻¹	AFC/个
对照组	62	治疗前	7.95(3.45)	2.46(2.11)	47.45(58.67)	6.00(4.25)
		治疗后	9.00(3.63)	2.73(1.72) ¹⁾	48.95(41.92)	5.00(3.00)
观察组	58	治疗前	8.20(4.35)	2.64(2.83)	46.35(43.4)	4.00(4.00)
		治疗后	7.35(3.58) ^{1,3)}	2.00(1.62) ^{2,4)}	37.75(27.92) ^{2,3)}	6.00(2.00) ^{2,3)}

注:与本组治疗前比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与对照组治疗后比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ (表3、表4同)

2.2 两组患者治疗前后IVF-ET获卵数、正常受精数、优胚数比较 与本组治疗前比较,治疗后对照组获卵数、正常受精数、优胚数差异无统计学意义($Z = -0.04$ 、 -0.37 、 -0.07),观察组获卵数、正常受精数、优胚数均显著改善($Z = -4.01$ 、 -5.07 、 -5.12 , $P < 0.01$)。与对照组治疗后比较,观察组正常受精数、优胚数改善情况优于对照组($Z = -3.25$ 、 -4.06 , $P < 0.01$),两组获卵数差异无统计学意义($Z = -1.66$)。见表3。

2.3 两组患者中医证候比较

2.3.1 两组患者治疗前后中医证候评分比较 与本组治疗前相比,对照组治疗后中医主证、次证、证候总评分均较治疗前升高($Z = -3.12$ 、 -5.06 、 -4.50 , $P < 0.01$),观察组治疗后中医主证、次证、证候总评分改善显著($Z = -6.85$ 、 $T = 28.48$ 、 37.08 , $P < 0.01$)。与对照组治疗后比较,观察组中医主证、次证、证候总评分改善优于对照组($Z = -8.90$ 、 -8.94 、 -9.16 , $P < 0.01$)。见表4。

表3 两组患者治疗前后IVF-ET获卵数、正常受精数、优胚数比较 [M(Q)]

Table 3 Comparison of number of oocytes obtained, number of normal fertilization and number of superior embryos by IVF-ET between two groups of patients before and after treatment [M(Q)]

组别	例数	时间	获卵数	正常受精数	优胚数
对照组	62	治疗前	5(4)	2(2)	1(2)
		治疗后	4(2)	2(2)	1(2)
观察组	58	治疗前	4(3)	2(2)	1(1)
		治疗后	5(4) ²⁾	3(3) ^{2,4)}	2(2) ^{2,4)}

表4 两组患者治疗前后中医证候评分比较 [M(Q)]

Table 4 Comparison of traditional Chinese medicine (TCM) syndrome scores between two groups of patients before and after treatment [M(Q)]

组别	例数	时间	主证	次证	总评分
对照组	62	治疗前	21.00(6.00)	16.50(3.25)	37.00(8.00)
		治疗后	27.00(9.75) ²⁾	24.00(7.25) ²⁾	50.00(12.00) ²⁾
观察组	58	治疗前	21.00(9.00)	15.13±4.03 ^a	35.49±8.70 ^a
		治疗后	6.00(6.00) ^{2,4)}	6.46±2.88 ^{2,4)a}	14.92±5.77 ^{2,4)a}

2.3.2 中医证候疗效比较 治疗后,观察组患者中医主证、次证、总证候疗效的总有效率均为100%(61/61),对照组患者中医主证、次证、总证候疗效的有效率均为12.9%(8/62),观察组总有效率高与对照组($\chi^2=95.003,95.489,114.929,P<0.01$)。见表5。

表5 两组患者治疗后中医证候疗效比较

Table 5 Comparison of TCM syndrome efficacy between two groups of patients after treatment

项目	组别	例数	痊愈 /例(%)	显效 /例(%)	有效 /例(%)	无效 /例(%)	总有效 率/%
主证疗效	对照组	62	0(0.0)	1(1.6)	7(11.3)	54(87.1)	12.9
	观察组	61	0(0.0)	16(26.2)	45(73.8)	0(0.0)	100.0 ¹⁾
次证疗效	对照组	62	0(0.0)	0(0.0)	8(12.9)	54(87.1)	12.9
	观察组	61	0(0.0)	12(19.7)	49(80.3)	0(0.0)	100.0 ¹⁾
总证候疗效	对照组	62	0(0.0)	1(1.6)	7(11.3)	54(87.1)	12.9
	观察组	61	0(0.0)	8(13.1)	53(86.9)	0(0.0)	100.0 ¹⁾

注:与对照组比较¹⁾P<0.01

2.4 两组患者自然受孕情况及妊娠结局比较 本研究共纳入受试者128例,最终完成123例。观察组61例,3例自然受孕,其中2例为临床妊娠,1例为早期流产;对照组62例,无自然受孕者。本研究中部分患者的卵巢功能过差,以至于在观察组中有3人放弃自孕,在对照组中有5人放弃自孕;并且由于新型冠状病毒疫情影响,大部分患者因接种新冠

疫苗严格避孕,观察组避孕患者有48人,仅10人未避孕,未避孕患者中仅自然受孕3人,自然受孕率为30.0%;对照组避孕患者有52人,仅5人未避孕,对照组无自然受孕者。两组患者的自然受孕情况及妊娠结局组间比较差异无统计学意义。见表6和表7。

表6 所有患者自然受孕情况及妊娠结局组间比较

Table 6 Comparison of natural conception and pregnancy outcomes of all patients between groups of patients

组别	例数	临床妊娠	早期流产	未妊娠
对照组	62	0(0.0)	0(0.0)	62(100.0)
观察组	61	2(3.3)	1(1.6)	58(95.1)

表7 未避孕患者自然受孕情况及妊娠结局组间比较

Table 7 Comparison of natural conception and pregnancy outcomes of uncontracepted patients between groups

组别	例数	临床妊娠	早期流产	未妊娠
对照组	5	0(0.0)	0(0.0)	5(100.0)
观察组	10	2(20.0)	1(10.0)	7(70.0)

2.5 不良反应发生情况 研究过程中所有受试者均未发现不良反应。

3 讨论

DOR患者卵母细胞数量和质量的下降,会导致POR的发生,影响女性的生育力,增加流产和胎儿畸形的风险,从而降低ART的成功率^[13],因此即便选择了ART助孕,生育效果依然不佳是生殖医学领域面临的一项重大问题。目前西医改善IVF-ET低预后患者卵巢功能的方法包括雌孕激素替代疗法、雄激素、生长激素、自体富血小板血浆、人脐带间充质干细胞、维生素D、辅酶Q₁₀、叶酸等,但存在一定的局限性。中医药领域采用口服中药、针灸、穴位埋线、经皮穴位电刺激、内外治法综合治疗等手段有效提高了IVF-ET低预后患者的临床妊娠率,改善了妊娠结局^[14-22]。

根据多年的临床经验和大量的前期研究^[23-25],曾倩教授认为肾阴虚肝郁血瘀是拟再次接受IVF-ET拮抗剂方案低预后患者发病机制的关键。在IVF-ET控制性超促排卵过程中,垂体功能下降,大量卵泡被募集,多个卵泡在短期内发育、成熟,将耗损大量肾精,使肾中精气严重亏虚。不孕症患者的生育要求非常强烈,而婚后长时间不孕、多次IVF-ET失败,生育压力大,造成精神紧张,肝失条达,疏泄失职,血海不充,最终导致胞宫失养,无法摄精成孕;金刃手术,如IVF-ET穿刺取卵或胚胎移

植等,会损伤血脉,导致瘀血内停,瘀阻胞宫,容物困难,影响胚胎植入和生长发育,导致IVF-ET失败。

针对IVF-ET失败后拟再次接受IVF-ET拮抗剂方案的低预后患者肾阴虚肝郁血瘀的病机关键,治疗应按照孕前和孕后两阶段进行,自然受孕前口服滋肾助孕方,以“滋肾活血化瘀,疏肝怡情助孕”为法;自然受孕后口服安胎方,以“滋阴固冲安胎”为要。滋肾助孕方由左归饮加减化裁而成,左归饮用纯甘壮水之品滋阴填精,但恐滋腻碍脾,故加入黄芪、当归,取其益气健脾、养血活血之效,“脾者土也,治中央,常以四时长四藏”,若脾气健运,水谷得化,气血充沛,运行通畅,则灌溉四旁,脏腑得养,生生不息。肝为刚强之脏,主疏泄,其体属阴,又主藏血,肝血易虚,其用属阳,肝阳易亢,故用熟地黄、山茱萸、白芍,与当归配伍,寓行于补,补而不滞,行而不损,使血脉充盈,肝气柔和,补益肝体,助长肝用,使肝气条达,疏泄有度,郁结自消,全方共奏滋肾活血化瘀,疏肝怡情助孕之效。安胎方由保阴煎和寿胎丸加减而成,保阴煎填精益肾、凉血固冲,寿胎丸固摄冲任、贯通阴阳,全方共奏滋阴固冲安胎之效。

前期研究发现在IVF-ET实施过程中,需应用大量激素,这使得女性的下丘脑-垂体-卵巢轴(HPO)功能失调^[26-28]。以口服中药配合耳穴贴压疗法,可以有效调节此类患者的HPO功能,影响内啡肽和肾上腺皮质激素的分泌,维持体内激素水平的稳定,使机体处于“阴平阳秘”的状态,卵子和胚胎质量得到改善,胚胎植入和临床妊娠比率得到提高,早期流产率随之降低。

以往的实验研究发现,补肾活血方导法能够改善实验大鼠的卵巢功能,促进卵泡发育成熟,改善卵泡质量,促进子宫血管生成,改善组织血液瘀滞状态,减少子宫内膜炎症反应的发生,提高子宫内膜的容受性,促进胚胎植入^[29-33]。

本研究中,对于IVF-ET失败后拟再次接受IVF-ET拮抗剂方案的肾阴虚肝郁血瘀证低预后患者,通过多途径的中医药干预,可以降低bFSH、bFSH/bLH值、改善bE₂水平,增加AFC、获卵数、正常受精数和优胚数,改善卵巢功能、月经状况和中医证候,提高生活质量,甚至使部分患者在再次进周前自然受孕,改善妊娠结局。总之,曾倩教授从肾阴虚肝郁血瘀的病因病机出发,针对拟再次接受IVF-ET拮抗剂方案的低预后患者进行多途径的中医药干预,在自然受孕前采用滋肾助孕方,同时配合补肾活血方导法和耳穴贴压调经助孕,自然受孕

后采用安胎方配合耳穴贴压促进种子安胎,将中医内外治法结合应用于ART中,为中医药改善低预后拟再次IVF-ET患者卵巢功能、增加获卵数和优胚数、甚至使患者自然受孕提供了新的思路和方法。

综上所述,低预后拟再次IVF-ET拮抗剂方案肾阴虚肝郁血瘀证患者接受中医药多途径干预,临床疗效确切,且安全性较高,值得推广并应用。但由于受到“新型冠状病毒”疫情影响,大多数不孕患者选择推迟妊娠计划,导致样本量不足;入组患者多因接种新冠疫苗选择严格避孕,加之本研究中部分患者因卵巢功能过差放弃自孕,因此本研究中观察组仅自然受孕3人,而对照组无自然受孕者。在后续研究中,需要进一步扩大样本量,提高低预后患者的自然受孕意愿,增加研究数据的说服力。

【利益冲突】 本文不存在任何利益冲突。

【参考文献】

- [1] 中国医师协会生殖医学专业委员会. 高龄女性不孕诊治指南[J]. 中华生殖与避孕杂志, 2017, 37(2): 87-100.
- [2] 沈浣, 罗旭飞, 吴丹. 《中国高龄不孕女性辅助生殖临床实践指南》解读[J]. 实用妇产科杂志, 2020, 36(5): 350-353.
- [3] 中华医学会生殖医学分会. 中国高龄不孕女性辅助生殖临床实践指南[J]. 中国循证医学杂志, 2019, 19(3): 253-270.
- [4] BROER S L, VAN DISSELDORP J, BROEZE K A, et al. Added value of ovarian reserve testing on patient characteristics in the prediction of ovarian response and ongoing pregnancy: An individual patient data approach [J]. Hum Reprod Update, 2013, 19(1): 26-36.
- [5] MUTLU M F, ERDEM A. Evaluation of ovarian reserve in infertile patients [J]. J Turk Ger Gynecol Assoc, 2012, 13(3): 196-203.
- [6] 王丽媛, 甄秀梅, 王丽娜, 等. 卵巢储备功能减退患者辅助生殖技术前预处理的研究进展[J]. 生殖医学杂志, 2022, 31(11): 1601-1606.
- [7] 谈勇, 王如芯, 邹奕洁, 等. 中医药在辅助生殖技术治疗不孕症中的协同作用探赜[J]. 江苏中医药, 2023, 55(9): 1-7.
- [8] 任杏杏, 卫爱武, 何东杰, 等. 针灸联合益肾暖宫方对多次行体外受精-胚胎移植患者子宫内膜容受性、性激素水平及妊娠结局的影响[J]. 吉林中医药, 2023, 43(11): 1342-1346.
- [9] 李彧, 张澜, 朱萍, 等. 温肾养血方干预对卵巢低反应性患者体外受精-胚胎移植结局的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(6): 100-106.

- [10] 姚伊,郭瑞华,冯雪花,等. 自拟养卵方对IVF-ET中肾虚血瘀型卵巢储备功能下降患者的临床疗效观察[J]. 湖南中医杂志,2021,37(7):12-15,28.
- [11] 张珂,宋佳怡,夏天. 温肾健脾方对脾肾阳虚证卵巢储备功能下降患者IVF/ICSI-ET妊娠结局的影响[J]. 中国中西医结合杂志,2021,41(2):184-188.
- [12] LI W, ZHANG W, ZHAO H, et al. Efficacy of the depot gonadotropin-releasing hormone agonist protocol on *in vitro* fertilization outcomes in young poor ovarian responders from POSEIDON group 3[J]. Int J Gynaecol Obstet, 2022, 157(3):733-740.
- [13] 李婧婧. 卵巢储备功能减退患者辅助助孕的妊娠结局分析[D]. 长春:吉林大学,2023.
- [14] 贾志诚,郭颖,赖昊,等. 基于线粒体功能揭示《黄帝内经》“七七”理论内涵及高龄IVF-ET患者的中药干预机制[J]. 中国实验方剂学杂志,2023,29(12):128-134.
- [15] 史薇,刘敏,王智超等. 补肾养血活血类中药复方调控线粒体稳态治疗卵巢功能减退类疾病的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2023,29(1):240-249.
- [16] 杨柳青,陈菁双,章勤. 何氏养巢方对高龄DOR不孕症患者卵巢功能及IVF结局的影响[J]. 浙江中医药大学学报,2021,45(10):1107-1112.
- [17] 张君探,刘淑兰,高晓宁,等. 调经促孕十三针在辅助生殖技术中改善卵巢储备功能的临床研究[J]. 中国性科学,2021,30(7):96-99.
- [18] 郭燕京,马淑霞,赵芳. 针灸疗法对卵巢储备功能减退患者体外受精-胚胎移植妊娠结局的影响[J]. 河南中医,2022,42(4):615-619.
- [19] 王英姿,刘兆平,杨帆,等. 穴位埋线联合电刺激对肾虚证卵巢低反应的影响[J]. 上海针灸杂志,2021,2(40):180-183.
- [20] 刘娟,陆杉,王小云. 子午流注穴位电刺激对卵巢低反应患者辅助生殖结局的影响[J]. 实用医学杂志,2020,36(24):3434-3439.
- [21] 杨永琴,尤昭玲. 尤昭玲中医辅治体外受精-胚胎移植卵巢低反应经验[J]. 中国中医基础医学杂志,2019,25(2):260-261.
- [22] 方育恩,舒蒙蒙,杨炜敏,等. 针药结合辅助治疗卵巢储备功能减退的临床观察及对颗粒细胞线粒体活性的影响[J]. 北京中医药大学学报,2022,45(11):1168-1174.
- [23] 严诗丝,黄金珠,曾倩,等. 中医药多途径介入肾虚肝郁血瘀证再次IVF-ET长方案患者临床研究[J]. 南京中医药大学学报,2020,36(5):756-761.
- [24] 夏宛廷,杨佳丽,马黔红,等. 中医药多途径介入治疗对再次体外受精-胚胎移植肾虚肝郁血瘀证患者卵子及胚胎质量的影响[J]. 中华中医药杂志,2020,35(2):1021-1024.
- [25] 夏宛廷,马黔红,王珍,等. 中医药分步论治再次IVF-ET患者降调日至胚胎移植日助孕疗效分析[J]. 时珍国医国药,2017,28(11):2684-2686.
- [26] 郑小艳. 中医药多途径介入多中心123例再次IVF-ET患者(肾虚肝郁血瘀证)早期妊娠结局的分析[D]. 成都:成都中医药大学,2019.
- [27] 曾倩,马黔红,夏宛廷,等. 中医药分步论治IVF-ET失败137例患者再次IVF-ET助孕疗效分析[J]. 四川中医,2017,35(8):146-148.
- [28] 王珍. 中医药多途径介入IVF-ET失败患者的助孕疗效评价[D]. 成都:成都中医药大学,2015.
- [29] 周航,夏宛廷,韩娜娜,等. 补肾活血方“导法”调控5/12-LOX/LXA4/FPR2改善子宫内膜容受性不良大鼠的助孕机制[J]. 中华中医药学刊,2022,40(12):51-56,279-281.
- [30] 周航,夏宛廷,李宛静,等. 补肾活血导法改善PER“胞宫摄精成孕”的网络调控机制研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化,2022,24(2):610-625.
- [31] 严莉,郭珮,周航,等. 基于Ang/Tie-2信号通路研究补肾活血方导法调控大鼠种植窗期子宫组织血管生成的助孕机制[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2020,22(6):1862-1870.
- [32] 李宛静. 中医药多途径介入高龄再次IVF-ET患者的助孕疗效观察及补肾活血方导法改善肾虚血瘀模型大鼠卵巢功能的机制研究[D]. 成都:成都中医药大学,2020.
- [33] 刘常. 补肾活血方导法通过调控子宫炎性微环境改善肾虚血瘀着床障碍模型大鼠着床窗期子宫内膜容受性的研究[D]. 成都:成都中医药大学,2019.

[责任编辑 王鑫]