

补肾益气和血法中药改善体外授精-胚胎移植妊娠结局及其作用机制研究

金志春 郑洁 夏敏 刘杰 孙虹 雷亚兰 胡兴文 张纯 吴艳婷 叶朝阳
徐小芳 刘敏 吴璇 何联 姚娟 张倩 艾华
(湖北省妇幼保健院,武汉,430070)

摘要 目的:观察补肾益气和血法中药介入体外授精-胚胎移植(IVF-ET)的作用效果,并从血清和卵泡液相关生殖激素、细胞因子等指标探索补肾和血法中药改善IVF-ET妊娠结局的作用机制。方法:选取2016年1月至2019年6月湖北省妇幼保健院收治的符合研究标准的患者171例作为研究对象,随机分为观察组($n=85$)与对照组($n=86$),2组均采用短效长方案,观察组在取卵前3个月加用中药。观察2组患者不同时期的血清和卵泡液生殖内分泌激素、相关因子水平、子宫动脉血流和临床妊娠率。结果:观察组着床率、临床妊娠率分别为54.43%、68.23%,对照组分别为36.69%、53.48%,观察组优于对照组(均 $P<0.05$)。与对照组比较,血清中观察组人绒毛膜促性腺激素(hCG)注射日、雌激素(E_2)、孕激素(P)和睾酮(T)水平降低;取卵日 E_2 、P水平降低;移植日 E_2 水平降低;移植7日 E_2 水平升高(均 $P<0.05$)。取卵日和移植日血清胰岛素样生长因子-2(IGF-2)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6(IL-6)、白血病抑制因子(LIF)、转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)和血管内皮生长因子(VEGF)水平升高,肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平降低(均 $P<0.05$)。移植7日血清IGF-2、IL-1 β 、IL-6、LIF和VEGF水平升高,TNF- α 水平降低(均 $P<0.05$)。卵泡液中 E_2 水平升高,P水平降低(均 $P<0.05$);卵泡液中IGF-2、IL-1 β 、IL-6、LIF、TGF- β_1 和VEGF水平升高,TNF- α 水平降低(均 $P<0.05$)。与对照组比较,观察组明显改善子宫动脉血流情况($P<0.05$)。结论:补肾益气和血法中药可显著改善IVF-ET妊娠结局,其机制可能与补肾益气和血法中药可以调节血清和卵泡液相关生殖激素、细胞因子和子宫动脉血流有关。

关键词 补肾益气和血法中药;体外授精-胚胎移植;临床妊娠;生殖内分泌;激素;细胞因子;子宫动脉血流

Improvement of IVF-ET Pregnancy Outcomes with Bushen Yiqi Hexue Therapy by Chinese Medicine and the Underlying Mechanisms

JIN Zhichun, ZHENG Jie, XIA Min, LIU Jie, SUN Hong, LEI Yalan, HU Xingwen, ZHANG Chun, WU Yanting,
YE Zhaoyang, XU Xiaofang, LIU Min, WU Xuan, HE Lian, YAO Juan, ZHANG Qian, AI Hua
(Maternity and Child Health Care Hospital Hubei, Wuhan 430070, China)

Abstract Objective: To observe the intervention effects of Bushen Yiqi Hexue therapy by Chinese medicine in in vitro fertilization-embryo transfer(IVF-ET) and explore the underlying mechanisms in improving IVF-ET pregnancy outcomes through the analysis of serum and follicular fluid reproductive hormones, cytokines, and related indicators. **Methods:** A total of 171 patients who met the research criteria and were admitted to Maternity and Child Health Care Hospital Hubei from January 2016 to June 2019 were randomly divided into a observation group(85 cases) and a control group(86 cases). Both groups underwent a short-long protocol, with the observation group additionally receiving Chinese medicine treatment for three months before oocyte retrieval. The serum and follicular fluid levels of reproductive endocrine hormones and related factors, uterine artery blood flow, and clinical pregnancy rates were observed at different time points in both groups. **Results:** The implantation rate and clinical pregnancy rate in the observation group were 54.43% and 68.23%, respectively, and 36.69% and 53.48% in the control group, respectively, and the observation group was superior to the control group(both $P<0.05$). Compared with the control group, the observation group had lower levels of human chorionic gonadotropin(hCG) on the day of injection and lower levels of estrogen(E_2), progesterone(P), and testosterone(T) in the serum($P<0.05$). On the day of oocyte retrieval, the observation group had lower E_2 and P levels($P<0.05$). On the day of ET, the E_2 level was reduced, and on the 7th day after ET, the E_2 level was higher in the observation group(both $P<0.05$). The observation group had higher levels of insulin-like growth factor-2(IGF-2), interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6(IL-6), leukemia inhibitory factor(LIF), transforming growth factor- β_1 (TGF- β_1), and vascular endothelial growth factor(VEGF) in the serum on the day of oocyte retrieval and ET, while tumor necrosis factor- α (TNF- α) levels were lower(all $P<0.05$). On the 7th day after ET, the serum levels of IGF-2, IL-1 β , IL-6, LIF, and VEGF were higher, and TNF- α levels were lower(all $P<0.05$). The observation group had a higher E_2 level and a lower P level in the follicular fluid(both $P<0.05$), as well as higher levels of IGF-2, IL-1 β , IL-6, LIF, TGF- β_1 , and VEGF, and lower TNF- α levels(all $P<0.05$). Compared with the control group, the observation group

基金项目:湖北省自然科学基金项目(2015CFA100)——补肾益气和血法中药改善体外授精-胚胎移植妊娠结局及其机制研究

作者简介:金志春(1962.02—),男,博士,主任医师,二级教授,博士研究生导师,第六批全国名老中医药专家学术经验继承工作指导老师,研究方向:中西医结合妇科与生殖医学,E-mail:jzc88@163.com

通信作者:吴艳婷(1991.04—),女,硕士,住院医师,研究方向:中西医结合妇科,E-mail:1357327675@qq.com

showed significant improvement in uterine artery blood flow ($P < 0.05$). **Conclusion:** Bushen Yiqi Hexue therapy by Chinese medicine significantly improves IVF-ET pregnancy outcomes, possibly through their regulation of serum and follicular fluid reproductive hormones, cytokines, and uterine artery blood flow.

Keywords Bushen Yiqi Hexue therapy by Chinese medicine; In vitro fertilization-embryo transfer; Clinical pregnancy; Reproductive endocrine; Hormone; Cytokines; Uterine arterial blood flow

中图分类号: R289.5; R242 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2023.14.013

不孕症是一种属于全球范围的特殊生殖健康疾病, 据统计, 近年来越来越多的家庭受不孕不育问题困扰, 不孕症患者已达全球人口的 20%, 而我国不孕夫妇为 7%~15%^[1]。目前, 辅助生殖技术已经成为治疗不孕症的重要手段, 提高辅助生殖妊娠率成为亟待解决的问题。中医药在治疗不孕症方面有一定的优势。研究显示, 在体外受精-胚胎移植 (In Vitro Fertilization-embryo Transfer, IVF-ET) 中使用针药结合可以提高 IVF-ET 的临床妊娠率^[2]; 中药复方在辅助生殖技术 (Assisted Reproductive Technology, ART) 治疗过程中, 可减少促性腺激素的剂量, 降低卵巢过度刺激的发生率, 对胚胎形成、植入率、优质胚胎率以及子宫内膜容受性、妊娠率均有显著提高^[3]。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2016 年 1 月至 2018 年 12 月在湖北省妇幼保健院生殖中心就诊的 171 例患者, 采用随机数字表法分为观察组 ($n = 85$) 和对照组 ($n = 86$)。观察组年龄最大 40 岁, 年龄最小 25 岁, 平均年龄 (29.86 ± 3.11) 岁; 不孕年限最长为 8 年, 最短为 1 年, 平均不孕年限 (2.91 ± 1.71) 年; 平均体质指数 (Body Mass Index, BMI) (21.44 ± 3.10) kg/m^2 , 平均窦卵泡计数 (Antral Follicle Count, AFC) 为 (13.39 ± 3.92) 个。对照组年龄最大 39 岁, 年龄最小 25 岁, 平均年龄 (30.20 ± 3.26) 岁; 不孕年限最长 10 年, 最短 1 年, 平均不孕年限 (3.10 ± 2.46) 年; 平均 BMI 为 (24.49 ± 21.78) kg/m^2 , AFC 为 (13.17 ± 4.03) 个。2 组患者年龄、不孕年限、BMI、AFC 比较差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$), 具有可比性。本研究经湖北省妇幼保健院伦理委员会批准 (伦理审批号: 鄂妇幼伦审字第 20150017 号)。

1.2 诊断标准 女性无避孕, 性生活至少 12 个月未孕者, 可诊断为不孕症^[4]。

1.3 纳入标准 输卵管因素不孕; 女方年龄 25~40 岁, 男方年龄 25~45 岁; 男女双方无全身性疾病影响孕育者; 愿意参加研究, 并签署知情同意者; 男方精液检查指标正常 (精液常规检查参照世界卫生组织第五版标准)。

1.4 排除标准 既往有卵巢手术史或盆腔放疗史者; 合并子宫内膜异位症、子宫腺肌症和子宫肌瘤者; 男女双方一方有较严重的全身性疾病者, 如心、肝、肾功能不良、血液疾病、内分泌疾病 (如甲状腺、肾上腺功能异常或糖尿病)、全身代谢性疾病、精神疾病、恶性肿瘤、染色体异常。

1.5 脱落与剔除标准 不符合纳入标准者; 不按指定要求治疗, 或者治疗过程中接受有可能影响有效疗效的治疗者; 治疗过程中有比较严重的并发症或者发生其他特殊疾病等不宜继续此治疗者; 依从性差, 未在规定时间内复查或者复诊, 资料不全者; 自动退出研究者。

1.6 治疗方法

1.6.1 控制性超促排卵、取卵、移植及移植后处理方法 从月经第 20 天开始肌内注射注射用醋酸曲普瑞林 (短效 GnRH-a, 达菲林, Ipsen Pharma Biotech, 法国, 批号: u09478) 0.1 mg/d, 连续 14 d 后启动促排卵, 从启动日开始肌内注射促性腺激素 (Gonadotropin, Gn) (重组人促卵泡激素-Gona-F, Recombinant Human Follitropin Alfa, 商品名为果纳芬, 雪兰诺公司, 批号: BA072608) 150~375 IU/d, 直至人绒毛膜促性腺激素 (Human Chorionic Gonadotropin, hCG) 注射日, 在此期间根据卵泡发育情况适当调整剂量。2 组均定期检测卵泡, 当至少有 1 个卵泡直径 ≥ 17 mm 时开始抽血检测黄体生成素 (Luteinizing Hormone, LH)、雌激素 (Estrogen, E_2) 和孕激素 (Progesterone, P) 以确定 hCG 注射时间。当至少有 1 个优势卵泡直径 ≥ 18 mm 时肌内注射 hCG (丽珠集团丽珠制药厂, 批号: 160102) 10 000 IU, 34~36 h 后在超声引导下经阴道常规穿刺取卵, 并收集优势卵泡内卵泡液备测。常规方法进行体外受精, 有可移植胚胎者取卵日后第 3 天行胚胎移植。胚胎移植后常规每日肌内注射黄体酮注射液 (仙居制药公司, 批号: H33020828) 60 mg, 移植后第 14 天查血人绒毛膜促性腺激素 β 亚单位 (Human Chorionic Gonadotrophin- β , β -hCG), 确定已孕者移植后第 28 天行阴道超声检查孕囊。

1.6.2 中药治疗方法 取卵日前 3 个月开始口服补

肾益气和血法中药治疗,每日1剂,早晚各1次,连续至移植后3个月。移植前采用补肾益气活血方,用菟丝子15g、补骨脂10g、枸杞子15g、川续断15g、桑寄生15g、女贞子15g、墨旱莲15g、黄芪15g、党参15g、白术10g、山药15g、山茱萸10g、当归10g、川芎10g、香附10g、益母草5g、白芍10g、丹参15g、熟地黄15g、甘草10g;临床应用时,应根据症状、体征和舌象,辨证加减;若兼阴虚,潮热盗汗、舌红少苔、脉细数,知母10g、生地黄15g、地骨皮15g;若兼阳虚,怕冷肢寒,可酌加淫羊藿15g、仙茅10g、艾叶10g;若兼脾虚,出现腹泻,口淡无味等,可加砂仁15g、茯苓10g。若兼肝郁气滞,出现乳房胀痛,烦躁易怒,加柴胡15g、香附10g、郁金15g;若兼湿热,舌苔黄腻,加黄柏15g、茵陈30g、败酱草10g、薏苡仁20g;若夜寐不安,心神不宁,加远志15g、酸枣仁15g、夜交藤15g;若瘀结成块,加三棱10g、莪术10g、土鳖虫10g;若合并慢性盆腔炎,小腹腰骶疼痛,加金刚藤30g、天丁30g、白花蛇舌草20g。

月经期方用:当归10g、川芎10g、桃仁10g、红花10g、三棱10g、莪术10g、益母草15g、川牛膝15g。

移植后用补肾益气养血方,药用菟丝子15g、补骨脂10g、枸杞子15g、川续断15g、桑寄生15g、女贞子15g、墨旱莲15g、黄芪15g、党参15g、白术10g、山药15g、山茱萸10g、当归10g、川芎10g、白芍10g、熟地黄15g、甘草10g。临床应用时,应根据症状、体征和舌象,辨证加减;若肾精亏虚,加女贞子15g、墨旱莲15g;若兼阴虚内热,加知母10g、生地黄15g、地骨皮15g;若腰酸较甚,加杜仲15g;若阴道出血,加杜仲炭15g、地榆炭15g、仙鹤草15g、阿胶15g;若大便溏薄,加砂仁15g等。

中药煎服法:先用清水浸泡30min,以武火煎至汤药沸腾,再改用文火煎30~40min取汁,共煎煮2次,将汁药混合浓缩200mL左右,均分成2份,早晚温服(饭前或饭后30min)。移植前与移植后中药疗程各1~3个月,根据具体症状变化,每1~2周复诊调整用药,中药由湖北省妇幼保健院提供。

1.7 观察指标 临床妊娠相关指标,包括2组受精卵、可移植胚胎、移植胚胎、着床胚胎、临床妊娠等情况。

1.8 疗效判定标准

1.8.1 血清生殖内分泌激素与相关因子 月经周期第3天(降调开始周期)和启动日(降调后开始使用超促排药首日)抽血查内分泌激素促卵泡激素

(Follicle-stimulating Hormone, FSH)、LH、 E_2 、P、睾酮(Testosterone, T)、催乳素(Prolactin, PRL)水平,在hCG注射日抽血查LH、 E_2 、P、T水平,采卵日(取卵前)、移植日(移植前)和移植7d抽血查 E_2 、P、T和胰岛素样生长因子-2(Insulin-like Growth Factor-2, IGF-2)、白细胞介素-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-6、白血病抑制因子(Leukemia Inhibitory Factor, LIF)、转化生长因子- β_1 (Transforming Growth Factor- β_1 , TGF- β_1)、血管内皮生长因子(Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF)、肿瘤坏死因子- α (Tumor Necrosis Factor- α , TNF- α)水平。抽取静脉血5mL,离心后取上清液分装,-70℃冻存待测。在移植后第14天抽血查 β -hCG水平(检测是否受孕)。相关激素检测用电化学发光法,试剂盒由德国罗氏生产,检测方法均按照每种试剂盒提供的说明书操作。相关因子检测试剂盒由武汉云克隆科技股份有限公司及伊莱瑞特生物提供,检测方法均按照每种试剂盒提供的说明书操作。

1.8.2 卵泡液生殖内分泌激素与相关因子在穿刺取卵时先抽取优势卵泡卵泡液(不需要稀释)检测卵泡液中 E_2 、P、T和IGF-2、IL-1 β 、IL-6、LIF、TGF- β_1 、VEGF、TNF- α 水平。入选卵泡标准:卵泡直径大于16mm,1个卵泡内含有1个卵母细胞,空卵泡除外。在取卵日收取每位研究对象检测侧卵巢卵泡内清亮、无血染的卵泡液,放置于离心机中以3000r/min,离心半径13.5cm,离心10min,离心后取上清液,分装,-70℃冻存待测。激素与因子检测方法相同。

1.8.3 子宫动脉血流阻力情况 在注射hCG日(即卵泡成熟前)和移植日(移植前)超声检查子宫动脉血流阻力。仪器采用深圳S50彩色多普勒超声诊断仪,经阴道检测子宫动脉血流。

1.9 统计学方法 采用IBM SPSS Statistics 19统计软件和PEMS 3.2(Ridit分析用)进行数据分析。2组同期比较,计量资料采用 t 检验,计数资料采用检验,计数等级资料采用Ridit分析。分析时采用双侧检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2组患者临床妊娠相关指标比较 2组患者均未出现异位妊娠,正常受精数、可移植胚胎数、移植胚胎数,差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。平均着床胚胎数、着床胚胎率、临床妊娠率,观察组高于对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见表1~2。

表 1 2 组患者临床妊娠相关指标($\bar{x} \pm s$, 个)

组别	正常受精数	可移植胚胎数	移植胚胎个数	平均着床胚胎数
对照组($n=86$)	13.78 ± 6.49	6.05 ± 4.688	1.87 ± 0.18	0.72 ± 0.77
观察组($n=85$)	12.99 ± 6.41	6.58 ± 4.351	1.86 ± 0.35	1.01 ± 0.82
<i>t</i> 值	0.810	0.773	0.235	2.375
<i>P</i> 值	0.424	0.441	0.814	0.019

表 2 2 组患者着床胚胎率和临床妊娠率(%)

组别	着床胚胎率	临床妊娠率
对照组($n=86$)	36.69	53.48
观察组($n=85$)	54.43	68.23
χ^2 值	6.325	4.517
<i>P</i> 值	0.012	0.034

2.2 2 组患者不同时期血清生殖激素比较 在 D_3 及 Gn 启动日,2 组患者血清激素 FSH、LH、 E_2 、P、T 和 PRL 水平差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。hCG 注射日,2 组患者 LH 水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$), E_2 、P、T 水平观察组显著低于对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。取卵日,2 组患者 T 水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$), E_2 、P 2 种激素观察组显著低于对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。移植日,P、T 水平 2 组比较差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$), E_2 水平观察组显著低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。移

植 7 d,2 组患者 E_2 、T 水平差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$),观察组显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

2.3 2 组患者不同时期卵泡液生殖激素比较 T 水平 2 组患者比较差异无统计学意义($P > 0.05$); E_2 水平观察组显著高于对照组,而 P 水平对照组明显高于观察组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见表 4。

2.4 2 组患者不同时期血清 IGF-2、IL-1 β 、IL-6、LIF、TGF- β_1 、VEGF 及 TNF- α 水平比较 取卵日及移植日,血清 IGF-2、IL-1 β 、IL-6、LIF、TGF- β_1 、VEGF 水平观察组均高于对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);TNF- α 水平观察组低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。移植 7 d,IGF-2、IL-1 β 、IL-6、LIF、VEGF 水平观察组均高于对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);TNF- α 水平观察组低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);TGF- β_1 水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 5。

2.5 2 组患者卵泡液 IGF-2、IL-1 β 、IL-6、LIF、TGF- β_1 、VEGF 及 TNF- α 水平比较 IGF-2、IL-1 β 、IL-6、LIF、TGF- β_1 、VEGF 水平观察组均高于对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);TNF- α 水平观察组低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 6。

表 3 2 组患者不同时期血清生殖激素比较($\bar{x} \pm s$)

组别	FSH(mIU/mL)	LH(mIU/mL)	E_2 (pg/mL)	P(ng/mL)	T(ng/mL)	PRL(pg/mL)
对照组($n=86$)						
D_3	6.71 ± 1.89	5.55 ± 3.29	39.15 ± 20.87	0.37 ± 0.26	0.26 ± 0.16	17.61 ± 8.07
Gn 启动日	3.05 ± 1.21	1.48 ± 0.62	14.02 ± 8.66	0.51 ± 0.27	0.24 ± 0.12	19.45 ± 9.20
hCg 注射日		1.46 ± 0.67	4 891.57 ± 3 042.53	1.11 ± 0.51	0.68 ± 0.27	
Opu 日			2 524.07 ± 1 673.06	19.25 ± 9.41	0.94 ± 0.53	
ET 日			1 283.25 ± 803.16	58.00 ± 44.32	0.51 ± 0.30	
ET7 日			462.13 ± 424.15	36.28 ± 25.69	0.22 ± 0.20	
观察组($n=85$)						
D_3	6.36 ± 1.63	5.07 ± 2.33	38.58 ± 14.91	0.46 ± 0.39	0.25 ± 0.11	17.80 ± 10.80
Gn 启动日	3.04 ± 1.03	1.49 ± 0.61	12.98 ± 7.62	0.48 ± 0.21	0.22 ± 0.10	22.16 ± 10.89
hCg 注射日		1.59 ± 0.78	4 100.62 ± 1 991.86*	0.92 ± 0.34*	0.57 ± 0.30*	
Opu 日			2 036.39 ± 1 048.56*	15.82 ± 12.08*	0.84 ± 0.46	
ET 日			1 033.75 ± 713.80*	52.87 ± 43.13	0.45 ± 0.29	
ET7 日			525.78 ± 466.02	43.85 ± 23.71*	0.25 ± 0.14	

注:与对照组同期比较,* $P < 0.05$

表 4 2 组患者卵泡液生殖激素比较($\bar{x} \pm s$)

组别	E_2 (pg/mL)	P(ng/mL)	T(ng/mL)
对照组($n=86$)	371 079.08 ± 153 970.06	11 966.93 ± 4 151.01	6.56 ± 3.49
观察组($n=85$)	445 389.81 ± 305 486.94	10 353.65 ± 4 537.62	7.50 ± 4.11
<i>t</i> 值	2.012	2.426	1.610
<i>P</i> 值	0.046	0.016	0.109

表5 2组患者血清 IGF-2、IL-1 β 、IL-6、LIF、TGF- β_1 、VEGF 及 TNF- α 水平比较($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

组别	IGF-2	IL-1 β	IL-6	LIF	TGF- β_1	VEGF	TNF- α
对照组($n=86$)							
Opu 日	3 472.20 \pm 1 146.84	20.32 \pm 10.34	15.03 \pm 12.30	33.56 \pm 16.10	7 124.41 \pm 4 512.47	26.20 \pm 17.40	5.98 \pm 4.69
ET 日	3 303.59 \pm 1 337.55	18.94 \pm 6.21	19.98 \pm 8.25	33.94 \pm 15.75	4 885.49 \pm 2 460.25	45.47 \pm 18.72	7.11 \pm 4.16
ET7 日	3 045.46 \pm 1 185.23	16.73 \pm 6.60	18.47 \pm 7.25	30.21 \pm 14.93	4 723.08 \pm 2 143.41	37.32 \pm 25.88	7.11 \pm 2.4
观察组($n=85$)							
Opu 日	3 954.98 \pm 1 701.06*	23.92 \pm 9.02*	19.33 \pm 11.15*	39.87 \pm 19.70*	8 600.26 \pm 4 763.77*	32.10 \pm 18.61*	4.30 \pm 3.08*
ET 日	3 772.80 \pm 1 528.74*	21.62 \pm 6.37*	24.01 \pm 9.96*	39.53 \pm 18.00*	5 690.06 \pm 2 163.75*	51.33 \pm 19.21*	5.66 \pm 2.78*
ET7 日	3 561.04 \pm 1 486.14*	19.38 \pm 7.93*	22.59 \pm 9.71*	35.48 \pm 18.58*	5 254.77 \pm 2 288.78	46.69 \pm 30.74*	5.55 \pm 4.68*

注:与对照组同期比较,* $P < 0.05$ 表6 2组患者卵泡液 IGF-2、IL-1 β 、IL-6、LIF、TGF- β_1 、VEGF 及 TNF- α 水平比($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

组别	IGF-2	IL-1 β	IL-6	LIF	TGF- β_1	VEGF	TNF- α
对照组($n=86$)	3 472.20 \pm 1 146.84	20.32 \pm 10.34	15.03 \pm 12.30	33.56 \pm 16.10	7 124.41 \pm 4 512.47	26.20 \pm 17.40	17.26 \pm 11.92
观察组($n=85$)	3 954.98 \pm 1 701.06	23.92 \pm 9.02	19.33 \pm 11.15	39.87 \pm 19.70	8 600.26 \pm 4 763.77	32.10 \pm 18.61	13.60 \pm 10.34
t 值	3.076	2.727	2.302	2.416	3.059	2.173	2.144
P 值	0.002	0.007	0.023	0.017	0.003	0.031	0.033

2.6 2组患者不同时期子宫动脉血流情况比较

hCG 注射日,观察组双侧子宫动脉血流搏动指数(Pulse Index, PI)、阻力指数(Resistance Index, RI)均显著低于对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。移植日,观察组双侧子宫动脉血流 PI、RI 值均显著低于对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见表7~8。

表7 2组患者 hCG 日子宫动脉血流情况($\bar{x} \pm s$)

组别	左侧		右侧	
	PI	RI	PI	RI
对照组($n=86$)	1.86 \pm 0.21	0.75 \pm 0.06	1.87 \pm 0.15	0.78 \pm 0.098
观察组($n=85$)	1.74 \pm 0.27	0.73 \pm 0.05	1.78 \pm 0.26	0.74 \pm 0.095
t 值	3.184	2.606	2.478	2.207
P 值	0.002	0.010	0.014	0.029

表8 2组患者移植日子宫动脉血流情况($\bar{x} \pm s$)

组别	左侧		右侧	
	PI	RI	PI	RI
对照组($n=86$)	1.77 \pm 0.14	0.75 \pm 0.05	1.79 \pm 0.18	0.77 \pm 0.06
观察组($n=85$)	1.71 \pm 0.22	0.73 \pm 0.06	1.72 \pm 0.23	0.74 \pm 0.06
t 值	2.284	2.493	2.142	3.051
P 值	0.024	0.015	0.034	0.003

3 讨论

目前补肾益气和血法中药改善 IVF-ET 妊娠结局尚有争议,但有研究提示补肾中药可以改善 IVF-ET 妊娠结局^[5-8],研究结果的不同可能与药物的浓度、剂量、煎药方法以及辨证加减有关。

补肾益气和血中药对 IVF-ET 妊娠结局的作用机制研究很局限。1) 调节神经内分泌功能,补肾中药对女性性腺轴功能具有双相调节作用,能改善女性生殖内分泌激素环境,促使下丘脑-垂体-卵巢轴

的调节功能得到改善,提高对促性腺激素的敏感性,改善卵子质量及子宫内膜容受性^[9-10],提高 IVF-ET 的种植率和妊娠率,改善 IVF-ET 的妊娠结局。2) 改善子宫内膜容受性,张琦和张勤华^[11]使用温肾活血方治疗反复移植失败患者,发现移植日子宫内膜的腺体弯曲扩张,分泌活跃,间质疏松,与腺体发育同步,可见整齐的核下空泡,并能明显增加增殖期内膜的厚度,在其向分泌期转化过程中还能维持内膜厚度,监测血流显示在内膜及内膜下均能见到丰富血流,且螺旋动脉 PI、RI 均较低,提示温肾活血方能改善患者“种植窗”期子宫内膜形态,增加内膜血液循环,增加子宫内膜容受性,为胚胎着床创造有利条件。许娟等^[12]研究发现,温经祛瘀中药可提高胞饮突的表达,使子宫内膜腺体弯曲,腺上皮柱状、假复层、腺腔面上皮表面出现较多微绒毛样突起,腺体间质组织疏松,间质内小血管增生,胚胎着床率更高。3) 防治卵巢过度刺激,陈小燕等^[13]采用益气血补肝肾中药干预 IVF-ET 过程,观察发现服中药患者中重度卵巢过度刺激综合征发生率不高,具有较高优质胚胎率,移植日 VEGF 表达较低,表明中药可能通过降低患者移植日后的血清 VEGF 来降低中重度卵巢过度刺激综合征的发生。

女性生殖内分泌激素是生殖功能的基础,其主要生理功能是控制性发育、正常月经及性功能。参与生殖的性激素主要有 FSH、LH、E₂、PRL、P、T 和 hCG。本研究中,2 组病例基础状态的各项内分泌平均值与正常妇女类似,且 2 组间差异无统计学意义,经过垂体降调节后,启动日 2 组血清生殖内分泌激

素比较差异均无统计学意义,且均达到了垂体抑制状态。基础状态 and 启动日生殖内分泌激素状态,提示 2 组患者在补肾益气 and 血法中药治疗前相似,具有可比性。

本研究中,hCG 注射日, E_2 、P、T 3 种激素 2 组比较均有显著性差异,观察组 3 种激素均显著低于对照组。在 IVF-ET 时,hCG 注射日血清 E_2 、P、T 水平均明显高于正常妇女同期水平,LH 水平 2 组比较差异无统计学意义,提示补肾益气 and 血法中药有一定的降调 E_2 、P 和 T 水平的作用,但对 LH 水平 2 组未产生显著性差异。取卵日, E_2 和 P 2 种激素观察组均显著低于对照组,T 水平 2 组比较差异无统计学意义,提示中药有一定的降调 E_2 、P 水平的作用,但对 T 水平 2 组差异无统计学意义。移植日, E_2 在观察组显著低于对照组,2 组比较差异有显著性,P、T 2 种激素 2 组比较差异均无统计学意义,提示中药对移植日过高的血清 E_2 有一定的降低作用,但对移植日 P 和 T 无明显影响。移植 7 d, E_2 在观察组显著高于对照组,P、T 水平 2 组比较差异无统计学意义。提示中药对移植 7 d 血清 E_2 有一定的升调作用,但对移植日 P 和 T 无明显影响。卵泡液中, E_2 在观察组明显高于对照组,而 P 则相反,在对照组显著高于观察组,T 水平 2 组比较差异无统计学意义,提示补肾益气 and 血法中药对卵泡液中 E_2 水平有一定的升调作用,对卵泡液中的 P 水平有一定的降调作用,但对卵泡液中的 T 水平影响不明显。

人类生殖功能的调节受多种因素的影响,目前所了解的具有一定的局限性,IGF-2、IL-1 β 、IL-6、LIF、TGF- β_1 、VEGF、TNF- α 与生殖密切相关。IL-1 β 是 IL-1 其中的一种,对女性生殖的调节是多途径的,一是通过血液循环直接作用于生殖中枢,二是在卵巢、子宫及卵泡液中局部表达,通过对黄体细胞孕酮分泌及对 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性的影响,参与生殖调节^[14]。IL-6 则参与妊娠和女性生殖内分泌的建立、胚泡着床及其胚胎生长发育等生理活动^[15]。研究发现,LIF 参与生殖的各个环节,其具有抑制多向生长潜能的胚胎干细胞分化并保持其增殖的作用,可以促进卵泡发育成熟、诱发排卵,促进胚胎发育和着床,影响妊娠率。IGF-2 可影响卵泡发育、优势卵泡的选择、卵母细胞成熟、胚胎早期发育、内膜分化、胚胎着床及甾体激素合成等^[16-18]。TGF- β_1 主要在初级卵泡的卵母细胞、窦卵泡的膜细胞和颗粒细胞中表达,对于卵泡发育及妊娠过程起着重要作用^[19]。在卵泡生长发育过程中,VEGF 诱导的血管

化在优势卵泡的确定和促性腺激素的传递中起重要作用^[20]。MORIZANE 等^[21]研究发现 TNF- α 通过诱导卵细胞、间质细胞及颗粒细胞凋亡,参与卵泡的闭锁过程,因而,卵泡液中 TNF- α 水平升高(如子宫内膜异位症患者)可致不孕高发。本研究显示,补肾益气 and 血法中药对取卵日和移植日血清 IGF-2、IL-1 β 、IL-6、LIF、TGF- β_1 和 VEGF 6 种相关因子可能有一定的升调作用,对 TNF- α 有一定的降调作用,对移植 7 d 血清 IGF-2、IL-1 β 、IL-6、LIF 和 VEGF 6 种相关因子可能有一定的升调作用,对 TNF- α 有一定的降调作用,但对 TGF- β_1 无明显影响。对卵泡液中 IGF-2、IL-1 β 、IL-6、LIF、TGF- β_1 和 VEGF 6 种相关因子可能有一定的升调作用,对 TNF- α 有一定的降调作用。

子宫动脉(Uterine Artery,UtA)是胚胎着床及其生长发育所需的母体血供来源,子宫内膜和内膜下血流则直接反映了胚胎着床部位微环境的血流灌注情况,内膜和内膜下血流增多有利于胚胎着床和妊娠,而内膜和内膜下无血流或血流缺乏往往代表一个较差的子宫环境,常伴有高龄、内膜薄、子宫动脉阻力指数高^[22]。本研究结果发现,观察组双侧子宫动脉血流 PI、RI 均显著低于对照组,提示补肾益气 and 血法中药可能降低子宫动脉血流指数,改善子宫供血,有利于卵泡发育、胚胎着床和胚胎发育。

综上所述,本研究结果显示,补肾益气 and 血法观察组胚胎着床率、临床妊娠率均显著高于对照组,提示补肾益气 and 血法中药介入 IVF-ET 可能提高着床率,改善妊娠结局。

利益冲突声明:无。

参考文献

- [1] ZEGERS-HOCHSCHILD F, ADAMSON GD, DE MOUZON J, et al. The International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) Revised Glossary on ART Terminology, 2009 [J]. Hum Reprod, 2009, 24(11): 2683-2687.
- [2] CAO H, HAN M, NG EH, et al. Can Chinese herbal medicine improve outcomes of in vitro fertilization? A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials [J]. PLoS One, 2013, 8(12): e81650.
- [3] 刘慧萍, 曾柳庭, 杨凯麟, 等. 中药复方对体外受精-胚胎移植干预治疗的 Meta 分析和系统评价 [J]. 生殖与避孕, 2016, 36(11): 904-916.
- [4] 谢幸, 苟文丽主编. 妇产科学 [M]. 8 版. 北京: 人民卫生出版社, 2014: 369-372.
- [5] 何珊, 常宏, 刘大艳, 等. 卵泡组方在体外受精-胚胎移植超排卵周期中的应用及临床观察 [J]. 今日药学, 2015, 25(3): 218-220.
- [6] 朱文杰, 李雪梅, 陈秀敏, 等. 滋肾育胎丸对体外受精-胚胎移植患

- 者胚胎种植率的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2002, 22(10): 729-730, 737.
- [7] 葛明晓, 赵彦鹏, 张金玉, 等. 益气血补肝肾法对垂体降调节超促排卵周期性激素水平及临床结局的影响[J]. 广州中医药大学学报, 2010, 27(5): 457-460.
- [8] 刘慧萍, 曾柳庭, 杨凯麟, 等. 中药复方对体外受精-胚胎移植干预治疗的 Meta 分析和系统评价[J]. 生殖与避孕, 2016, 36(11): 904-916.
- [9] 王玉荣, 谈勇. 补肾方药对卵巢作用的实验研究概况[J]. 上海中医药大学杂志, 2006, 40(4): 63-65.
- [10] 庞保珍, 庞清洋, 庞慧卿, 等. 中医药治疗免疫性不孕的研究进展[J]. 世界中医药, 2011, 6(6): 544-545.
- [11] 张琦, 张勤华. 温肾活血方对反复移植失败患者种植窗子宫内膜形态及血流的影响[J]. 生殖医学杂志, 2017, 26(12): 1217-1222.
- [12] 许娟, 蒋欣, 唐淮云, 等. 温经祛瘀方对子宫内膜病变不孕症患者体外受精-胚胎移植周期子宫内膜容受性的影响[J]. 广东医学, 2015, 36(8): 1275-1278.
- [13] 陈小燕, 邓伟民, 郭新宇, 等. 益气血补肝肾中药对卵巢过度刺激综合征患者血管内皮生长因子的影响[J]. 实用医学杂志, 2017, 33(16): 2788-2791.
- [14] 李庆雷, 倪江, 边淑玲, 等. 白细胞介素-1 β 对离体大鼠黄体细胞孕酮分泌及钠-钾三磷酸腺苷酶活性的影响[J]. 生殖医学杂志, 2000, 9(2): 88-91.
- [15] 李贵瑜, 孙即友. IL-6 与妇产科生理病理[J]. 中国妇幼保健, 2007, 22(16): 2293-2294.
- [16] LÉDÉE-BATAILLE N, LAPRÉE-DELAGE G, TAUPIN JL, et al. Follicular fluid concentration of leukaemia inhibitory factor is decreased among women with polycystic ovarian syndrome during assisted reproduction cycles [J]. Hum Reprod, 2001, 16(10): 2073-2078.
- [17] 陈静, 梁潇, 管凤丽, 等. 补肾调经法治疗多囊卵巢综合征不孕症有效性及安全性的系统评价[J]. 中草药, 2021, 52(10): 3037-3050.
- [18] 罗丽兰. 不孕与不育[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998: 8-14.
- [19] KRISTENSEN SG, ANDERSEN K, CLEMENT CA, et al. Expression of TGF-beta superfamily growth factors, their receptors, the associated SMADs and antagonists in five isolated size-matched populations of pre-antral follicles from normal human ovaries [J]. Mol Hum Reprod, 2014, 20(4): 293-308.
- [20] MATTIOLI M, BARBONI B, TURRIANI M, et al. Follicle activation involves vascular endothelial growth factor production and increased blood vessel extension [J]. Biol Reprod, 2001, 65(4): 1014-1019.
- [21] MORIZANE Y, HONDA R, FUKAMI K, et al. X-linked inhibitor of apoptosis functions as ubiquitin ligase toward mature caspase-9 and cytosolic Smac/DIABLO [J]. J Biochem, 2005, 137(2): 125-132.
- [22] 吉秀家, 张小花, 黄灿灿, 等. 少腹逐瘀汤调控 PTEN/Akt/mTOR 信号通路减轻子宫内异位症纤维化[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(12): 3207-3214.

(2021-09-22 收稿 本文编辑: 杨觉雄)

(上接第 2017 页)

- [6] 杨洪艳, 成芳平, 王小云, 等. 绝经期生存质量量表中文版本的临床应用与评价[J]. 中华流行病学杂志, 2005, 26(1): 47-50.
- [7] 杨姣, 任玉嘉, 刘民辉, 等. 绝经期生存质量量表中文版的标准关联度研究[J]. 中南大学学报: 医学版, 2014, 39(7): 727-732.
- [8] 岑怡, 徐竺婷. 调心理气法对绝经综合征临床疗效观察[J]. 世界中医药, 2017, 12(7): 72-75.
- [9] 付昊, 龙虎, 蔡自建, 等. 熟地黄多糖的体内抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(4): 65-69.
- [10] 黄家情, 闻妮, 吕馨, 等. 栀子苷对尾静脉注射链霉素引起的痴呆样小鼠的保护作用[J]. 中国新药杂志, 2021, 30(12): 1103-1109.
- [11] 彭开锋. 栀子化学成分及生物活性研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2019.
- [12] 陈梦雨, 刘伟, 俞桂新, 等. 山药化学成分与药理活性研究进展[J]. 中医学报, 2020, 48(2): 66-70.
- [13] 周迎春, 张廉洁, 张燕丽. 山茱萸化学成分及药理作用研究新进展[J]. 中医药信息, 2020, 37(1): 114-120.
- [14] 孟敏, 杨翠翠, 张丽, 等. 山茱萸环烯醚萜苷对血管性痴呆大鼠学习记忆能力及脑组织病理变化的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2018, 25(6): 56-60.
- [15] 方崇锴, 杨丽廷, 莫宗权, 等. 基于网络药理学和分子对接探讨熊果酸治疗胃癌的分子机制[J]. 中国新药杂志, 2020, 29(20): 2372-2380.
- [16] 王常明, 姜睿斌, 李锋. 当归化学成分及抗肿瘤作用机制的研究进展[J]. 癌变. 畸变. 突变, 2019, 31(2): 162-165.
- [17] 吴玲芳, 王晓晴, 陈香茗, 等. 白芍化学成分及药理作用研究进展[J]. 国际药学研究杂志, 2020, 47(3): 16-28.
- [18] 赵秋龙, 段金殿, 卞晓坤, 等. 不同干燥方法对牡丹皮药材中化学成分的影响[J]. 中国现代中药, 2020, 22(1): 74-79, 102.
- [19] 张育贵, 张淑娟, 边甜甜, 等. 芍药苷药理作用研究新进展[J]. 中草药, 2019, 50(15): 3735-3740.
- [20] 崔鹤蓉, 王睿林, 郭文博, 等. 茯苓的化学成分, 药理作用及临床应用研究进展[J]. 西北药学杂志, 2019, 34(5): 130-136.
- [21] 刘珊珊, 郭杰, 李宗艾, 等. 泽泻化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(7): 120-137.
- [22] 颜美玲, 杨柳, 侯阿娇, 等. 柴胡化学成分及药理作用研究进展[J]. 中医药信息, 2018, 35(5): 103-109.
- [23] 杜鹤, 刘佳星, 闫艳, 等. 整合代谢组学与肠道菌群分析酸枣仁汤改善失眠大鼠的作用机制[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(24): 6741-6752.
- [24] 张倩茹, 李安平. 酸枣仁饮片功能性及生产过程中风险评估分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(10): 3906-3911.

(2021-10-13 收稿 本文编辑: 杨觉雄)