

# 左归丸加减对卵巢储备功能降低肾阴虚证不孕患者 体外受精-胚胎移植治疗的影响

于莎, 李江慧, 龙慧, 匡延平

上海交通大学医学院附属第九人民医院, 上海 200011

**摘要:**目的 探讨左归丸加减在卵巢储备功能降低(DOR)肾阴虚证不孕患者体外受精-胚胎移植(IVF-ET)治疗中的应用价值。方法 回顾性分析 2016 年 1 月—2018 年 6 月上海交通大学医学院附属第九人民医院辅助生殖科行 IVF-ET 治疗至少 2 个促排卵周期的 20 例 DOR 患者的临床资料。第 1 周期(未使用左归丸加减)为中药处理前组(52 周期);之后予左归丸加减口服至少 3 个月(中药持续干预),再次进入促排卵周期为中药处理组(46 周期)。比较患者 2 个周期促排卵结局。结果 经左归丸加减治疗后,再次接受 IVF-ET 治疗可获得有效胚胎的周期比率由 28.3%升至 57.6% ( $P<0.05$ )。治疗前后周期的促性腺激素(Gn)用量、促排天数、治疗结束直径 $\geq 10$  mm 卵泡数、治疗结束直径 $\geq 14$  mm 卵泡数、获卵数(率)、成熟卵数(率)、受精卵数(率)及可用胚胎数比较差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。结论 左归丸加减可提高 DOR 肾阴虚证不孕患者获得有效胚胎的周期比率,在一定程度上提高 IVF-ET 治疗效率。

**关键词:** 左归丸; 卵巢储备功能下降; 肾阴虚证; 体外受精-胚胎移植; 获得有效胚胎的周期比率

中图分类号: R271.917.5 文献标识码: A 文章编号: 1005-5304(2019)09-0029-05

DOI: 10.3969/j.issn.1005-5304.2019.09.008

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



## Effects of Modified *Zuogui* Pills Combined with IVF-ET on DOR Patients with Kidney-yin Deficiency

YU Sha, LI Jianghui, LONG Hui, KUANG Yanping

Shanghai Ninth People's Hospital Affiliated to School of Medicine of Shanghai Jiaotong University,  
Shanghai 200011, China

**Abstract:** **Objective** To explore the application value of modified *Zuogui* Pills in IVF-ET treatment of infertility patients with diminished ovarian reserve (DOR) and kidney-yin deficiency syndrome. **Methods** A retrospective study was conducted according to the clinical data of 20 DOR patients treated with IVF-ET in the Department of Assisted Reproduction of Shanghai Ninth People's Hospital Affiliated to School of Medicine of Shanghai Jiaotong University from January 2016 to June 2018. Modified *Zuogui* Pills were not used in the first cycle and was regarded as the pretreatment group (52 cases), and later modified *Zuogui* Pills were orally taken for at least 3 months (TCM continuous intervention). The treatment group (46 cases) was given modified *Zuogui* Pills oral pretreatment before entering the second treatment cycle. 2 cycles of promoting ovulation outcome of patients were compared. **Results** After treatment of modified *Zuogui* Pills, the cycle ratio of effective embryos obtained by IVF-ET treatment increased from 28.3% to 57.6% ( $P<0.05$ ). There was no statistical significance in Gn dosage, days of ovulation stimulation, number of follicles ( $\geq 10$  mm and  $\geq 14$  mm) at the end of treatment, number and the rate of oocytes retrieved, metaphase II oocytes, fertilized oocytes and the number of viable embryos ( $P>0.05$ ). **Conclusion** Modified *Zuogui* Pills can increase the cycle ratio of effective embryos in patients with DOR and kidney yin deficiency, and improve the efficiency of IVF-ET treatment to some extent.

**Keywords:** *Zuogui* Pills; diminished ovarian reserve; kidney yin deficiency; IVF-ET; the rate of obtaining effective embryos cycle

基金项目: 国家自然科学基金(81503603); 上海市科委中医引导类项目(15401932700)

通讯作者: 匡延平, E-mail: kuangyanp@126.com

卵巢储备是指卵巢皮质内存留原始卵泡的数量及质量,反映女性的生育潜能。卵巢储备功能降低(diminished ovarian reserve, DOR)导致卵巢产生卵子的能力减弱,卵子数量和质量均下降,生育能力随之下降<sup>[1]</sup>。DOR在不孕人群的发生率约为10%,随着年龄增长而不断升高<sup>[2]</sup>。DOR患者在接受体外受精-胚胎移植(IVF-ET)治疗时,卵巢反应性降低(POR),临床上多通过改良促排卵方案(如微刺激方案、高孕激素促排卵方案等)<sup>[3-6]</sup>,补充脱氢表雄酮(DHEA)<sup>[7-8]</sup>,添加生长激素(GH)<sup>[9]</sup>等以提高DOR患者卵巢反应性,但获卵数却减少,卵子质量下降,临床妊娠率降低,流产率增加,严重影响IVF-ET治疗的成功率。中医学认为,肾藏精,主生殖,“补肾”是治疗DOR的基本原则。中医治疗可增加卵泡数量,提高卵子质量,改善卵巢储备功能<sup>[10-11]</sup>。本研究回顾性分析DOR肾阴虚证不孕患者采用中药治疗前后的取卵周期结局,探讨左归丸加减在IVF-ET治疗过程中的应用价值。现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

回顾性分析2016年1月—2018年6月于本院辅助生殖科行IVF-ET治疗至少2个取卵周期的20例DOR患者共计98个取卵周期的临床资料。本文采用自身前后对照研究,未使用左归丸预处理的取卵周期为中药处理前组(52周期);口服左归丸加减至少3个月后再次进入的取卵周期为中药处理组(46周期)。2次促排卵周期间隔3~12个月。本研究经本院伦理委员会审查批准(沪九院伦审[2016]04号)。

### 1.2 西医诊断标准

目前尚无统一的DOR诊断标准,本研究参照POR博洛尼亚诊断标准<sup>[12]</sup>及《妇产科学》<sup>[13]</sup>拟定。①双侧卵巢的窦卵泡计数(AFC)<5个;②10 mIU/mL<基础促卵泡生成素(FSH)<40 mIU/mL;③抗苗勒氏管激素(AMH)<1.1 ng/mL。

### 1.3 中医辨证标准

参照《中药新药临床研究指导原则(试行)》<sup>[14]</sup>和《中医妇科学》<sup>[15]</sup>拟定肾阴虚证辨证标准。主症:①月经先期:连续2个或2个以上月经周期提前7d以上,月经量基本正常;②月经后期:连续2个或2个以上月经周期延后7d以上,月经量基本正常;③月经过少:月经量较以往明显减少,经期不足2d,甚或点滴即净,月经周期基本正常。次症:腰骶酸痛,头晕耳鸣,潮热,失眠多梦,性欲减退,神疲乏力。舌脉:舌光少苔,脉细或数。具备主症①③或②③,

次症2项及以上,结合舌脉即可辨证。

### 1.4 纳入标准

①接受IVF-ET治疗的不孕症患者;②年龄25~45岁;③有规律自发的月经周期;④符合上述西医诊断标准及中医辨证标准者;⑤近3个月未使用激素或其他药物治疗者;⑥患者均签署知情同意书。

### 1.5 排除标准

①多囊卵巢综合征者;②子宫肌瘤或合并子宫畸形者;③伴全身系统性疾病不宜妊娠者;④伴生殖道肿瘤者。

### 1.6 脱落标准及剔除标准

①不能配合治疗,主动提出退出研究者;②未按本研究规定治疗者;③资料不全、中途失访者。

### 1.7 治疗方法

#### 1.7.1 促排卵方案

高孕激素状态下促排卵方案(PPOS方案):月经第3日予安宫黄体酮10 mg/d,5d后,每隔2~4d进行超声并测定血清性激素。随着卵泡发育,雌激素不断上升,在负反馈作用下FSH下降,当FSH≤8.0 mIU/mL,予低剂量尿促性素(HMG,上海丽珠制药有限公司,75 IU/支)75~150 IU/d促进卵泡后期的发育,当2个及以上卵泡直径≥18 mm时,注射短效促性腺激素释放激素激动剂(GnRH-a,醋酸曲普瑞林注射液,德国辉凌制药有限公司)0.1 mg及绒毛膜促性腺激素(HCG,上海丽珠制药有限公司)1000 IU诱发排卵,34~36 h取卵。

微刺激方案:自月经第3日起口服克罗米芬(塞浦路斯高特制药,50 mg/粒)50 mg,每日1次;月经第5日起注射HMG 150 IU,隔日1次,当1个卵泡直径>20 mm或3个卵泡直径>18 mm,注射醋酸曲普瑞林注射液0.1 mg诱发排卵,34~36 h取卵。

拮抗剂方案:自月经第3日起注射HMG 75~150 IU,在使用HMG第5~6日加注GnRH拮抗剂(醋酸西曲瑞克,0.25 mg/支,默克雪兰诺)0.125~0.25 mg直至诱发排卵日。当2个及以上卵泡直径≥18 mm时,注射醋酸曲普瑞林注射液0.1 mg及HCG 1000 IU诱发排卵,34~36 h取卵。

自然周期方案:自月经第7日起行阴道超声监测,当优势卵泡直径≥13 mm,血清雌二醇(E2)≥150 pg/mL,需隔日或每日行阴道超声监测,当优势卵泡直径≥18 mm且未出现促黄体生成素(LH)峰,注射醋酸曲普瑞林注射液0.1 mg及HCG 1000 IU诱发排卵,次日予芬必得(0.2 g/粒,中美天津史克制药有限公司)0.6 g口服,32~36 h取卵。当出现LH峰(≥

20 IU/mL), 不予醋酸曲普瑞林注射液诱发排卵, 仅予芬必得 0.6 g 口服, 根据 LH 峰出现时间, 推断取卵时间, 一般在 LH 峰出现后 18~30 h 取卵。

### 1.7.2 中药治疗

左归丸组成: 熟地黄 15 g, 山药 15 g, 山萸肉 15 g, 枸杞子 12 g, 川牛膝 12 g, 菟丝子 12 g, 鹿角胶 9 g, 龟甲胶 9 g。伴经行血块、经色紫黑、舌边有瘀斑、脉沉涩, 少佐理气活血药如桃仁、红花、当归、丹参; 伴腹胀、便秘、大便干结, 加麻子仁、白芍、大黄、枳实、厚朴; 伴神疲乏力、食少便溏、夜寐欠安, 加党参、白术、炙甘草、丹参、当归、茯神、酸枣仁、远志(农本方颗粒剂)。每日 1 剂, 每次 100 mL, 早晚餐后 30 min 分服。

所有患者中药治疗至少 3 个月后, 再次进入促排卵周期(促排期间中药持续干预), 促排卵方案同上。

### 1.8 取卵、授精及胚胎质量评估

在阴道 B 超引导下取卵, 抽取所有直径  $>10$  mm 的卵泡。取卵后根据精子情况或既往受精情况, 采用体外受精或卵胞浆内单精子注射。

根据胚胎原核评分、发育速度及形态学等参数, 卵裂球的大小、形态、数目、胞质情况、碎片比例分为 4 级进行质量评分<sup>[16]</sup>。I 级: 胚胎卵裂球大小均匀, 形态规则且胞质均匀清晰, 碎片无或  $<10\%$ ; II 级: 胚胎卵裂球不等, 且形态欠规则, 碎片  $10\% \sim 24\%$ ; III 级: 胚胎卵裂球大小不均等, 碎片  $25\% \sim 50\%$ ; IV 级: 胚胎卵裂球大小严重不均, 碎片  $>50\%$ 。I、II 级胚胎为优质胚胎。取卵周期获得优质胚胎以玻璃化方法进行全胚冷冻保存, 剩余未达到优质胚胎标准胚胎继续培养, 至囊胚形成后冷冻。

### 1.9 观察指标

主要观察指标为获卵数, 次要观测指标包括基础血清性激素 FSH、LH、E2、孕激素(P)水平, AFC, 促性腺激素(Gn)用量及促排天数、诱发排卵日直径  $\geq 14$  mm 及直径  $\geq 10$  mm 卵泡, 获卵数(率)、正常受精数(率)、卵裂数(率)及可用胚胎数, 周期取消率, 获得有效胚胎的周期比率。

### 1.10 统计学方法

采用 SPSS22.0 统计软件进行分析。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 正态分布采用独立样本的  $t$  检验, 非正态分布采用 Mann-Whitney  $U$  检验; 计数资料采用卡方检验。 $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 2 组一般资料比较

本研究最终收集 20 例 DOR 患者共计 98 个取卵

周期, 其中中药处理前组取卵周期 52 个, 中药处理组取卵周期 46 个。中药处理组的无可用胚胎次数较中药处理前组增加 1 倍 ( $P < 0.05$ )。中药处理组基础 FSH、LH 水平较处理前有增加趋势 ( $P > 0.05$ ), E2 水平明显增加 ( $P < 0.05$ ), P 无明显变化 ( $P > 0.05$ )。2 组体质量指数(BMI)、既往移植失败次数比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见表 1。

表 1 DOR 肾阴虚证不孕患者一般资料 2 组比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

项目	中药处理前组 (52 周期)	中药处理组 (46 周期)	$t$ 值	$P$ 值
年龄/岁	35.27 $\pm$ 4.56	37.02 $\pm$ 5.15	-1.762	0.082
既往无可用胚胎次数	1.31 $\pm$ 1.63	2.78 $\pm$ 2.43	-3.483	0.001
既往移植失败次数	1.73 $\pm$ 2.77	1.76 $\pm$ 3.41	-0.048	0.962
BMI/(kg/m <sup>2</sup> )	20.70 $\pm$ 6.12	20.13 $\pm$ 7.89	0.399	0.691
基础 FSH/(mIU/mL)	12.95 $\pm$ 10.61	13.81 $\pm$ 11.83	-0.371	0.711
基础 LH/(mIU/mL)	4.72 $\pm$ 4.17	4.89 $\pm$ 4.15	-0.200	0.842
基础 E2/(pg/mL)	33.46 $\pm$ 31.03	53.79 $\pm$ 59.57	-2.038	0.046
基础 P/(ng/mL)	0.34 $\pm$ 0.34	0.37 $\pm$ 0.30	-0.519	0.605
AFC	2.73 $\pm$ 2.41	2.39 $\pm$ 2.08	0.736	0.464

### 2.2 2 组促排卵结局比较

2 组所采用的促排卵方案无明显变化。中药处理组促排过程中所需要的 Gn 用量有所下降, 促排天数较中药处理前组有所增加, 但差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 2。

表 2 DOR 肾阴虚证不孕患者促排卵情况 2 组比较

项目	中药处理前组 (52 周期)	中药处理组 (46 周期)
促排卵方案/例		
PPOS 方案	36	32
拮抗剂方案	7	5
微刺激方案	7	5
自然周期方案	2	4
Gn 用量 ( $\bar{x} \pm s$ , IU)	1006.73 $\pm$ 781.31	785.87 $\pm$ 729.51
促排天数 ( $\bar{x} \pm s$ , d)	10.37 $\pm$ 4.78	11.81 $\pm$ 6.74
治疗结束直径 $\geq 10$ mm 卵泡 ( $\bar{x} \pm s$ , 个)	2.50 $\pm$ 1.56	2.39 $\pm$ 1.58
治疗结束直径 $\geq 14$ mm 卵泡 ( $\bar{x} \pm s$ , 个)	1.96 $\pm$ 1.34	1.87 $\pm$ 1.30

采用左归丸加减预处理后, 再次接受 IVF-ET 治疗能获得有效胚胎的周期比率提高 ( $P < 0.05$ )。促排结束后, 在获卵数(率)、成熟卵数(率)、受精卵数(率)及可用胚胎数方面, 2 组比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 详见表 3。中药处理前组有 3 例因促排过程中无优势卵泡生长、1 例提前排卵导致周期取消, 中药处理组 2 例因促排过程中无优势卵泡生长、1 例提前排卵导致周期取消。



表3 DOR 肾阴虚证不孕患者胚胎实验室结局 2 组比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

项目	中药处理前组 (52 周期)	中药处理组 (46 周期)
穿刺卵泡数	2.42 ± 1.71	2.41 ± 1.51
获卵数	1.50 ± 1.41	1.74 ± 1.45
获卵率/%	64.18 ± 39.31	69.81 ± 36.91
成熟卵数	1.63 ± 1.27	1.66 ± 1.17
成熟卵率/%	89.29 ± 27.98	89.19 ± 23.56
正常受精数	1.42 ± 1.24	1.28 ± 0.89
正常受精率/%	75.64 ± 39.15	84.65 ± 31.15
卵裂数	1.36 ± 1.28	1.31 ± 1.13
卵裂率/%	81.58 ± 39.29	82.05 ± 38.88
可用胚胎数	0.52 ± 0.65	0.60 ± 0.69
获得有效胚胎的周期比率/%	28.33 ± 39.77	57.58 ± 38.33
周期取消率(例, %)	4 (7.69)	3 (6.52)

### 3 讨论

DOR 属中医学“月经过少”“月经先期”“月经后期”“闭经”“不孕”等范畴。肾藏精，主生长、发育与生殖。肾中精气充盛，天癸成熟，月经来潮而有子，标志着卵巢生殖周期活动的开始；肾中精气衰退，天癸耗竭，月经闭绝，形坏而无子，提示卵巢生殖功能结束。所以，肾与卵巢生理功能密切相关，主宰着女性生殖机能的发育、旺盛与衰退，肾对卵巢生理功能的实现起决定性作用。肾中精气的生理效应包括肾阴和肾阳，肾阴亏虚，施化乏源，血海空虚，则月经后期而至、经来涩少、闭绝不行或年未老经水断，正如《医学正传·妇人科》言：“月经全靠肾水施化，肾水既乏，则经血日以干涸……渐而至于闭塞不通。”肾阳亏虚，推动乏力，即可导致血行不畅，瘀血内蕴，胞脉闭阻。因此，治疗 DOR 应滋肾阴、补肾阳或阴阳双补。为保证试验的严谨性，我们仅选择了 DOR 肾阴虚证患者，采用育阴涵阳代表方左归丸进行预处理。

左归丸出自《景岳全书·新方八阵》，由熟地黄、山药、枸杞子、山萸肉、川牛膝、菟丝子、鹿角胶及龟甲胶组成。八药合用，共奏滋阴补肾、填精益髓之功，主治真阴肾水不足，药物阴阳俱用，使“阴得阳生而泉源不竭，阳得阴助而生化无穷”。林妍<sup>[17]</sup>发现，超促排卵前采用左归丸预处理 2 个周期，可提高 POR 患者优质胚胎率（93.9% vs 70.13%， $P < 0.001$ ）和种植率（31.25% vs 10.53%， $P = 0.008$ ）。吴笛等<sup>[18]</sup>研究显示，左归丸可通过上调雷公藤多苷模型大鼠卵巢组织胎盘生长因子及受体，促进卵巢血管生成，从而改善卵巢储备功能。

本研究显示，采用左归丸预处理后，再次接受 IVF-ET 治疗可获得有效胚胎的周期比率提高（ $P < 0.05$ ）。提示左归丸预处理可能提高 DOR 肾阴虚证不孕患者获得有效胚胎的周期比率，提高 IVF-ET 的治疗效率。采用左归丸干预后患者基础 FSH、LH、E2 升高，其中 E2 较治疗前明显升高（ $P < 0.05$ ），经左归丸干预后 DOR 患者基础窦卵泡直径较前有所变大，考虑左归丸导致 DOR 患者基础 E2 升高，可能是因为左归丸作用于窦前卵泡的发育阶段，导致卵泡提前进入激素影响阶段。患者在接受中药治疗过程中，由于多种原因卵巢功能可能会下降，导致激素（特别是 FSH）有所上升，基础 E2 随之上升。

本研究仅对本中心 1 个阶段的治疗进行回顾性分析，但样本量较少，存在一定局限性。今后应进行多中心大样本前瞻性随机对照试验，为左归丸的临床有效性提供更加客观的数据支持。

### 参考文献：

- [1] Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Testing and interpreting measures of ovarian reserve: a committee opinion[J]. Fertil Steril, 2015, 103: e9-e17.
- [2] SCOTT R T, LEONARDI M R, HOFMANN G E, et al. A prospective evaluation of clomiphene citrate challenge test screening of the general infertility population[J]. Obstet Gynecol, 1993, 82(4 Pt 1): 539-544.
- [3] MAY-PANLOUP P, FERRÉ-L'HÔTELLIER V, MORINIÈRE C, et al. Molecular characterization of corona radiata cells from patients with diminished ovarian reserve using microarray and microfluidic-based gene expression profiling[J]. Hum Reprod, 2012, 27(3): 829-843.
- [4] YOO J H, CHA S H, PARK C W, et al. Comparison of mild ovarian stimulation with conventional ovarian stimulation in poor responders[J]. Clin Exp Reprod Med, 2011, 38(3): 159-163.
- [5] MOHSEN I A, ELD R. Minimal stimulation protocol using letrozole versus microdose flare up GnRH agonist protocol in women with poor ovarian response undergoing ICSI[J]. Gynecol Endocrinol, 2013, 29(2): 105-108.
- [6] CHEN Q, WANG Y, SUN L, et al. Controlled ovulation of the dominant follicle using progestin in minimal stimulation in poor responders[J]. Reprod Biol Endocrinol, 2017, 15(1): 71.
- [7] CASSON P R, LINDSAY M S, PISARSKA M D, et al. Dehydroepiandrosterone supplementation augments ovarian stimulation in poor responders: a case series[J]. Hum Reprod, 2000, 15(10): 2129-2132.
- [8] BARAD D, BRILL H, GLEICHER N. Update on the use of

- dehydroepiandrosterone supplementation among women with diminished ovarian function[J]. J Assist Reprod Genet, 2007, 24(12): 629-634.
- [9] EFTEKHAR 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.
- [10] 肖志, 夏天, 赵志梅, 等. 从“肾主生殖”论卵巢储备功能降低所致不孕[J]. 天津中医药大学学报, 2017, 36(5): 341-343.
- [11] 武颖, 刘雁峰, 张莹. 滋阴补肾汤方在 IVF-ET 中对卵巢储备功能的干预[J]. 标记免疫分析与临床, 2015, 22(9): 856-858, 883.
- [12] FERRARETTI A P, LA MARCA A, FAUSER B C, et al. ESHRE consensus on the definition of ‘poor response’ to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria[J]. Hum Reprod, 2011, 26(7): 1616-1624.
- [13] 乐杰. 妇产科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 7.
- [14] 郑筱萸. 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: 239-243.
- [15] 张玉珍. 中医妇科学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2004: 78-323.
- [16] CUMMINS J M, BREEN T M, HARRISON K L, et al. A formula for scoring human embryo growth rates in in vitro fertilization: its value in predicting pregnancy and in comparison with visual estimates of embryo quality[J]. J In Vitro Fert Embryo Transf, 1986, 3(5): 284-295.
- [17] 林妍. 左归丸预处理对卵巢低反应不孕症患者的疗效观察[D]. 福州: 福建中医药大学, 2013.
- [18] 吴笛, 段恒. 左归丸上调雷公藤多苷诱导卵巢功能低下大鼠卵巢 PLGF 及 Flt-1 水平[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2016, 25(3): 237-241.
- (收稿日期: 2018-12-31)  
(修回日期: 2019-04-19; 编辑: 季巍巍)