

· 山东郑氏妇科学术经验系列研究 ·

郑惠芳补肾健脾法对高龄体外受精-胚胎移植患者胚胎发育潜能的影响

郭颖¹, 连方¹, 贾志诚²

(1. 山东中医药大学附属医院, 山东 济南 250014; 2. 山东中医药大学, 山东 济南 250355)

[摘要] 目的: 探讨全国名老中医郑惠芳补肾健脾法对高龄体外受精-胚胎移植(IVF-ET)患者胚胎发育潜能的影响。方法: 选取 2019 年 8 月至 2020 年 8 月于山东中医药大学生殖与遗传中心数据库中接受 IVF-ET 助孕治疗的 100 例高龄不孕患者(≥ 35 岁)为研究对象, 按照随机数字表法分为观察组和对照组各 50 例, 两组患者均使用拮抗剂方案促排卵, 观察组在对照组的基础上, 加以郑惠芳补肾健脾经验方序贯治疗, 共治疗 3 个月经周期。统计分析两组患者的年龄、不孕年限、获卵数、双原核受精率、可用胚胎数、优质胚胎数等资料, 统计分析两组患者基础内分泌值及胚胎指标情况。结果: 两组患者基础内分泌值比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。治疗后, 观察组在卵子获得数、双原核受精数、可用胚胎数均高于对照组($P < 0.05$); 两组优质胚胎数比较差异无统计学意义($P > 0.05$), 但观察组呈上升趋势。结论: 补肾健脾法可促进不孕患者排卵, 增加获卵数, 改善胚胎发育潜能, 提升高龄妇女 IVF-ET 过程可用胚胎数和优质胚胎数, 可获取良好的妊娠结局。

[关键词] 郑惠芳; 补肾健脾; 高龄不孕; 不孕症; 体外受精-胚胎移植

[中图分类号] R271.14

[文献标志码] A

[文章编号] 0257-358X(2022)06-0595-05

DOI: 10.16295/j.cnki.0257-358x.2022.06.002

Effect of ZHENG Huifang's Tonifying Kidney and Invigorating Spleen on Embryonic Development Potential of Elderly in Vitro Fertilization-Embryo Transfer Patients

GUO Ying¹, LIAN Fang¹, JIA Zhicheng²

(1. The Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China; 2. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China)

[收稿日期] 2021-10-22

[基金项目] 国家青年自然科学基金项目(编号: 81804130); 中医药传承与创新“百千万”人才工程岐黄学者建设项目(批文号: 国中医药人教函[2018]284 号)

[作者简介] 郭颖(1983-), 女, 山东济南人, 医学博士, 副主任医师, 主要从事中医药在辅助生殖领域的应用研究。电话: 13864138647, 邮箱: js1228gigi@128.com。

[通信作者] 连方(1957-), 女, 山东荣成人, 医学博士, 主任医师, 博士研究生导师, 主要从事中西医结合生殖与内分泌研究。电话: 13706403122, 邮箱: lianfangbangong@163.com。

Abstract Objective: To investigate the effect of ZHENG Huifang's Tonifying Kidney and Invigorating Spleen on the embryonic development potential of elderly in vitro fertilization-embryo transfer(IVF-ET) patients. **Method:** A retrospective analysis was made on 100 elderly infertile patients (≥ 35 years old) who received IVF-ET in the database of the Re-

productive and Genetic Center of Shandong University of Traditional Chinese Medicine from August 2019 to August 2020. The subjects were divided into the observation group and the control group with 50 cases in each according to the random number table method. Both groups received an antagonist program for ovulation induction, and the observation group received ZHENG Huifang's Tonifying Kidney and Invigorating Spleen Formula for sequential treatment on the basis of the treatment of the control group, the treatment lasted a total of 3 menstrual cycles. The age, infertility years, number of eggs obtained, the number of double pronuclear fertilized embryos (2PN), number of available embryos, number of high-quality embryos, other data of the two groups of patients were counted. **Results:** There was no significant difference in the baseline endocrine values between the two groups of patients ($P > 0.05$). After treatment, the number of eggs obtained, the number of 2PN fertilization, and the number of available embryos in the observation group were higher than those of the control group ($P < 0.05$); there was no significant difference in the number of high-quality embryos between the two groups ($P > 0.05$), but the observation group showed an upward trend. **Conclusions:** Tonifying Kidney and Invigorating Spleen method can promote ovulation in infertile patients, increase the number of eggs obtained, improve the potential of embryonic development, and increase the number of embryos available and high-quality embryos in the IVF-ET process of elderly women, thereby obtaining a good pregnancy outcome.

Keywords ZHENG Huifang; tonifying kidney and invigorating spleen; infertility in elderly women; infertility; in vitro fertilization-embryo transfer

郑惠芳(1926-),女,全国名老中医,博士研究生导师,早年随父郑晋卿学习中医,重视理论探讨又着力于临床实践,对经带胎产等妇科杂病有独到的见解,尤其在治疗不孕症方面造诣颇深。郑惠芳教授主张运用补肾健脾法治疗不孕症,是其多年临证经验的结晶,临床效果显著。

随着婚育年龄的不断推后和二胎政策的全面开放,我国高龄孕妇随之增多,年龄作为独立因素,影响着妊娠结局^[1]。高龄孕妇卵巢储备功能下降,子宫内膜容受性下降,胚胎质量下降,自然流产率升高,活产率下降等问题是目前辅助生殖和妇产科关注的重点难点^[2]。即使现代体外受精-胚胎移植(IVF-ET)技术很大程度上改善了高龄不孕患者的配子问题,但在促排卵周期中雌激素预处理、改变降调方案、口服避孕药、增大促性腺激素(Gn)用量等较为繁琐,临床效果有待提高^[3]。《黄帝内经》中的“七七理论”认为女子过“五七”则生殖能力下降,与现代医学将 ≥ 35 岁女性定义为高龄产妇相吻合^[4]。补肾健脾法是郑惠芳教授总结前人之理论,综合各大医家

之观点,并验之于临床而总结出来的经验,能有效改善卵巢功能,提高胚胎质量,改善妊娠结局^[5]。本研究将补肾健脾法运用于高龄女性IVF-ET周期中,分析其对胚胎发育潜能的影响,为临床提供参考。

1 资料

1.1 一般资料

选取2019年8月至2020年8月于山东中医药大学附属医院生殖与遗传中心接受IVF-ET助孕治疗的100例高龄不孕患者(≥ 35 岁)为研究对象。根据随机数字表法分为对照组和观察组各50例。观察组年龄35~50岁,平均 (40.46 ± 3.03) 岁,不孕年限 (3.76 ± 3.26) 年;对照组年龄35~50岁,平均 (39.28 ± 3.66) 岁,不孕年限 (4.76 ± 3.92) 年。两组患者一般资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。本研究通过山东中医药大学附属医院中西医结合生殖与遗传中心医学伦理委员会批准(审批号SDUTCM-E2019080543)。

1.2 纳入标准

①年龄 ≥ 35 岁,夫妻同居,性生活正常;②符合

《高龄女性不孕诊治指南》不孕症的诊断标准^[2];③于本生殖中心行 IVF-ET 助孕治疗史;④促排卵方案使用拮抗剂方案;⑤患者均签署知情同意书。

1.3 排除标准

①年龄 < 35 岁或 > 50 岁;②因输卵管因素、生殖器畸形或发育异常、卵巢功能丧失而导致的不孕;③患有基础内分泌疾病,如下丘脑垂体发育异常、甲状腺功能亢进或衰退、高泌乳素血症等;④因男方因素而导致的不孕;⑤因遗传因素、染色体问题导致的不孕;⑥对本临床试验所用的药物过敏或过敏体质者;⑦近 3 个月参与其他临床试验者,或依从性较差者。

2 方法

2.1 治疗方案

对照组使用拮抗剂方案,待月经 2~3 d 时开始促排卵,使用 Gn, 一般情况用药 10 d 左右,优势卵泡发育至 ≥ 12 mm 时,使用 GnRH 拮抗剂,直到卵泡直径在 18~20 mm 左右,注射人绒毛膜促性腺激素(HCG)“扳机”,于 36 h 前后取卵^[6]。观察组除使用拮抗剂方案外,同时给予郑惠芳教授拟定的补肾健脾经验方:党参、桑寄生、菟丝子各 18 g,熟地黄、白术、川续断各 15 g,山药 30 g,山萸肉 12 g,阿胶(烊化)10 g,炙甘草 6 g。日 1 剂,煎取 400 mL,早晚各服 200 mL。服药至 HCG“扳机”日。

2.2 观察指标

2.2.1 基础内分泌指标 包括促卵泡素、促黄体

素、雌二醇、孕酮等。具体性激素检测步骤:于月经期第 3 日采集静脉血以测基础血值,所有性激素均统一由本生殖中心试验科检测。

2.2.2 胚胎发育相关指标 包括获卵数、双原核受精数、可用胚胎数、优质胚胎数^[7]。由本院生殖中心医护人员按照胚胎实验室相关指标观察检测,其中优质胚胎指的是具有 6~8 个细胞、无多核现象、碎片率少于 10%、卵裂球大小均匀^[8]。

2.3 统计学方法

采用 SPSS 24.0 软件进行统计学分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表达,采用 *t* 检验(如不符合正态分布,则用秩和检验),取 $\alpha=0.05$ 为检验水准。

3 结果

3.1 基础内分泌值比较

两组患者基础内分泌值比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

3.2 胚胎发育指标比较

观察组在卵子获得数、双原核受精数、可用胚胎数均高于对照组($P<0.05$);两组优质胚胎数比较差异无统计学意义($P>0.05$),但观察组呈上升趋势。见表 2。

4 讨论

高龄生育女性卵巢储备功能下降,很难募集到优质的卵母细胞,使得高龄女性不孕症的发病率显著增加。虽然辅助生殖技术的发展给高龄不孕患者带来了新的希望,但相对于育龄期妇女,接受 IVE-ET

表 1 两组高龄不孕患者基础内分泌值比较($\bar{x} \pm s$)

观察指标	例数	促卵泡素(mIU/mL)	促黄体素(mIU/mL)	雌二醇(Pg/mL)	孕酮(ng/mL)
观察组	50	10.43 ± 5.80	5.82 ± 2.07	54.15 ± 36.42	0.65 ± 0.52
对照组	50	9.62 ± 4.10	5.35 ± 3.40	63.30 ± 42.60	0.64 ± 0.43
<i>t</i> 值		1.97	0.83	1.15	0.148
<i>P</i> 值		0.07	0.40	0.25	0.88

表 2 两组高龄不孕患者胚胎发育指标比较($\bar{x} \pm s$, 个)

观察指标	例数	获卵数	双原核受精数	可用胚胎数	优质胚胎数
观察组	50	6.20 ± 1.03	4.04 ± 0.69	2.52 ± 0.58	1.40 ± 0.60
对照组	50	4.10 ± 0.73	2.72 ± 0.70	1.70 ± 0.61	1.10 ± 0.46
<i>t</i> 值		11.73	9.43	6.86	2.78
<i>P</i> 值		0.00	0.00	0.00	0.06

治疗的 35 岁以上女性,仍因其年龄因素使累积妊娠率和活产率降低,流产率增加^[9]。有研究发现年龄显著影响体外受精(IVF)或卵胞浆内单精子显微注射(ICSI)治疗的女性患者,高龄女性胚胎染色体异常率高于育龄期女性,高龄孕妇在进行 IVF-ET 时 1 个周期往往要形成多个胚胎^[10],所以选择最具有胚胎发育潜能的胚胎进行移植对妊娠结局有重要的影响。胚胎发育潜能的评估以快速、无创、简单等为特点的形态学评估方法为主^[11]。本研究中的获卵数、双原核受精数、可用胚胎数、优质胚胎数均是对胚胎发育潜能进行评估的重要指标。

《黄帝内经·素问》提出经典的“七七理论”,阐述了女性生长壮老已的生理变化过程,表明女性在“五七”之后身体功能逐渐衰退,肾气由盛转衰,生殖能力下降,肾气亏虚,天癸乏源,五脏衰疲,精血不足,“种子”枯竭,现代医学将 35 岁以后的生育女性定义为高龄孕妇,而“五七”后也是高龄生育女性因不孕不育行“试管婴儿”的集中阶段。

郑惠芳教授认为高龄女性不孕症的病位在卵巢,且受《傅青主女科》“妊娠小腹作痛,胎动不安如下坠之状,人知带脉无力也,谁知脾肾之亏乎”的启发,认为该病病机首推肾脾两虚,以肾虚为主。在此基础上,提出了补肾健脾法治疗高龄女性不孕症^[12]。郑惠芳教授认为卵巢为奇恒之脏,具有藏与泄的多重功能。一方面能藏而不泄,兼具五脏的特性,蓄养经血,提供给始基卵泡气血精华,使其能够发育成熟卵泡,而有“种子”储备;另一方面又能泄而不藏,具有六腑特点,在肾气充盈而天癸至,形成规律的月经周期过程中,藏泄有期地排出“种子”。卵巢为女性的生殖器官,亦是排出“种子”的来源,高龄女性肾气不足,肾不藏精,往往导致卵巢藏泄失司而经期不定、“种子”乏源。郑惠芳教授的补肾思想源自《傅青主女科》:“妇人之妊……肾旺是以摄精”,肾主生殖,为先天之本,是生长生殖发育的根本,高龄女性肾气虚衰,难以摄精成孕,或胎成难系。健脾法思想来自《脾胃论》“土为万物之母,善治病者……滋其化源”的观点,脾为后天之本,主运化,脾气健则气血充盈,后天之精得以不断充养,则水谷之精才能源源

不断化生为气血,而女性生殖之“经、孕、产、乳”无不以气为用,以血为本。在对高龄不孕的论治中,补肾健脾法从先后天两方面出发,一补先天以安胎元,一补后天以健胎体。肾气充盈,脾气健盛,从先后天互相补充,则气血满溢,任通冲盛,故能有子。

郑惠芳教授对于高龄不孕肾脾两虚证患者,在补肾健脾基础上,结合多年的临床经验,拟定了补肾健脾方^[13],由《傅青主女科》中“脾肾双亏之证,自非大用参、术、熟地补阴补阳之品,断不能挽回于顷刻”之安奠二天汤和《医学衷中参西录》之寿胎丸加减化裁而来。方中菟丝子为君,温补肾阳,补肾益精,肾旺自能荫胎;桑寄生、川续断补肝肾,固冲任,使胎气强壮;阿胶滋养阴血,使冲任血旺,则胎气自固,固摄冲任,使肾旺以摄精成孕而胎有所系;党参、山药、白术补气健脾,其中白术为“补气健脾第一要药”,脾气健则气血充盈,后天之精得以不断充养;熟地黄入肝肾经,善益肝肾之阴,与菟丝子配伍,取阴中求阳、阳中求阴之意,共奏阴平阳秘之功;山茱萸性温而不燥,补而不峻,善补益肝肾,为平补阴阳之要药;甘草不仅起到调和诸药的作用,更有补脾益气之妙用^[14]。实验研究表明,寿胎丸能够抑制子宫收缩、加强垂体-卵巢促黄体功能,具有雌激素样活性,促进子宫发育^[15],可调节复发性流产小鼠蜕膜组织多种蛋白的表达^[16],并能改善先兆流产患者体内 Th1/Th2 细胞因子的失衡,下调血管内皮生长因子(VEGF)的表达,改善生殖内分泌-免疫功能^[17]。安奠二天汤加味可有效增加子宫内膜厚度,促进卵泡发育^[18],亦可纠正不明原因复发性流产患者 Th1/Th2 型细胞因子平衡的病理偏移^[19],以上研究均证明郑惠芳教授拟定的补肾健脾方从不同方面可提高胚胎质量和妊娠率,优化妊娠结局^[20]。

本研究中应用补肾健脾法,给予郑惠芳补肾健脾经验方干预高龄不孕患者,其在获卵数、双原核受精数、可用胚胎数方面,均得到了良好的改善。但两组患者优质胚胎数量均不理想,究其原因,一方面与高龄不孕患者的年龄有关,随着年龄的增长,高龄女性基础窦状卵泡数(AFC)减少,获卵数降低,优质胚胎数量少,即使通过超促排卵方案募集到相对多的

卵泡数,在接受 IVF-ET 时,其临床妊娠率以及活产率也不会随获卵数增多而增加^[21];另一方面,高龄男性配偶的精子 DNA 碎片率(DFI)升高,正常形态精子率低,对优质胚胎的形成有重要影响。

综上所述,在高龄不孕女性的诊疗中,郑惠芳教授运用补肾健脾经验方干预治疗,使得肾气充而天癸源源不断,脾气健而先后天相互滋养,使月事如期、气血充沛、任通冲盛,摄精成孕,提升 IVF-ET 过程各个环节的指标,改善了妊娠结局。

[参考文献]

- [1] 涂莹花,黄水玉. 年龄对剖宫产后阴道分娩孕产妇不良妊娠结局影响[J]. 中国计划生育学杂志,2020,28(7):1114-1117.
- [2] 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.
- [3] 汤惠霞. 补肾调周法与生长激素对卵巢储备功能减退高龄女性体外受精-胚胎移植结局的效果观察[J]. 护理实践与研究,2021,18(14):2151-2154.
- [4] 孙振高,张兴兴,宋景艳,等. 基于卵泡液代谢组学的《黄帝内经》“七七理论”临床研究[J]. 中国中西医结合杂志,2018,38(10):1168-1173.
- [5] 连方,庞聪慧,相珊. 基于郑惠芳健脾补肾法再论“卵巢为奇恒之脏”[J]. 山东中医杂志,2021,40(7):669-673.
- [6] 陈巧莉,帅俊,裴莉,等. 不同年龄不孕症患者促性腺激素释放激素拮抗剂方案触发时机的探讨[J]. 中华妇产科杂志,2021,56(7):474-481.
- [7] 胡琳莉,黄国宁,孙海翔,等. 辅助生殖技术临床关键指标质控专家共识[J]. 生殖医学杂志,2018,27(9):828-835.
- [8] 张合龙,崔趁趁,李蕾,等. 邻苯二甲酸二丁酯暴露对不孕女性助孕结局及小鼠早期胚胎发育影响的研究[J]. 中华生殖与避孕杂志,2021,41(9):805-811.
- [9] 蒋励,陈耀龙,罗旭飞,等. 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.
- [10] 马会平,周晓航,梁悦,等. 不同年龄组女性胚胎的非整倍性分析[J]. 中国医科大学学报,2018,47(12):1098-1101.
- [11] 李楠,黎靖宇,唐永梅,等. 早期胚胎质量评估:提高预测胚胎发育潜能的敏感性和特异性[J]. 中国组织工程研究,2014,18(42):6849-6855.
- [12] 张建伟. 郑惠芳老中医健脾法治疗妇科病经验撷菁[J]. 光明中医,2013,28(5):900-901.
- [13] 侯晓,叶青. 寿胎二天汤配合西药治疗脾肾两虚型滑胎 30 例[J]. 陕西中医学院学报,2009,32(1):31,34.
- [14] 李凤兰. 郑惠芳妇科肝脾用药经验[J]. 山东中医杂志,1996,15(11):513-514.
- [15] 朱争艳,郭静秋,陈雪梅,等. 寿胎丸提高子宫树突状细胞的表达改善超促排卵大鼠子宫内膜容受性[J]. 现代生物医学进展,2021,21(17):3207-3211.
- [16] 谭展望,雷磊,罗蕾,等. 寿胎丸对复发性流产小鼠蜕膜蛋白质组的影响[J]. 中国中药杂志,2013,38(4):591-596.
- [17] 李艳青,赵方,吉萌萌,等. 加味寿胎丸治疗先兆流产的疗效及对生殖免疫-内分泌功能的影响[J]. 时珍国医国药,2020,31(12):2971-2973.
- [18] 袁春意,胡倩倩. 安奠二天汤加味治疗肾阳虚型无排卵性不孕症 34 例临床观察[J]. 湖南中医杂志,2020,36(12):43-45.
- [19] 王革新. 加味安奠二天汤对原因不明复发性流产患者细胞免疫因子的影响[J]. 中华中医药学刊,2010,28(11):2378-2380.
- [20] 吴敏,陆启滨. 补肾健脾法治疗复发性流产的机理研究[J]. 中国中西医结合杂志,2014,34(1):106-108.
- [21] 彭玲,储亚平,魏兆莲,等. 40 岁以上高龄妇女获卵数对体外受精-胚胎移植助孕结局的影响[J]. 安徽医科大学学报,2017,52(1):105-108.