

基于卵巢颗粒细胞功能探讨调周法 治疗卵巢储备功能减退的临床研究*

李时雨¹, 莫 蕙^{1△}, 许家莹², 陈 赟²

1 澳门科技大学, 澳门特别行政区 999078; 2 南京中医药大学附属医院, 江苏 南京 210000

[摘要] 目的: 基于卵巢颗粒细胞功能探讨中医药调周法对卵巢储备功能减退(diminished ovarian reserve, DOR)患者体内抗穆勒氏管激素(anti-mullerian hormone, AMH)水平的影响及临床疗效。方法: 对60例DOR肾虚证患者给予中医药调周法治疗, 观察治疗前后患者血清性激素各项水平[AMH、雌二醇(estradiol, E₂)、黄体生成素(luteinizing hormone, LH)、卵泡刺激素(follicle stimulating hormone, FSH)]和临床疗效。结果: 治疗前后E₂、LH、FSH水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$); 治疗后AMH水平较治疗前升高($P < 0.05$), 中医证候积分较治疗前减少($P < 0.05$), 总有效率为86.7%(52/60); 治疗期间均无明显不良反应。结论: 中药调周法通过提高AMH、FSH水平来提升DOR肾虚证患者卵巢储备功能, 调整月经周期, 增加月经量, 改善临床症状。

[关键词] 肾虚证; 卵巢储备功能; 卵巢颗粒细胞; 调周法; 抗穆勒氏管激素

[中图分类号] R271.14 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 2096-9600(2024)01-0150-04

Clinical Study on the Treatment of Diminished Ovarian Reserve by Regulating Cycle Based on the Function of Ovarian Granulosa Cells

LI Shiyu¹, MO Hui^{1△}, XU Jiaying², CHEN Yun²

1 Macau University of Science and Technology, Macau 999078, China;

2 Affiliated Hospital of Nanjing University of TCM, Nanjing 210000, China

Abstract Objective: To discuss the influence and clinical effects of TCM cycle-regulating method on the levels of anti-mullerian hormone (AMH) in patients with diminished ovarian reserve (DOR) on the foundation of the function of ovarian granulosa cells. Methods: Sixty DOR patients of renal deficiency pattern were treated by TCM cycle-regulating method, To observe the levels of serum sex hormones (E₂, LH and FSH), clinical effects before and after the treatment. Results: The difference had no statistical meaning in the levels of E₂, LH and FSH before and after the treatment ($P > 0.05$); after the treatment, the levels of AMH were elevated compared with before the treatment ($P < 0.05$), TCM syndrome integrals were reduced than before the treatment ($P < 0.05$), total effective rate was 86.7% (52/60), no obvious adverse reaction occurred during therapeutic period. Conclusion: TCM cycle-regulating method could improve renal deficiency pattern DOR patients' ovarian reserve, regulate the menstrual cycle, increase menstrual flow and improve the patients' clinical symptoms possibly through increasing the levels of AMH and FSH.

Keywords renal deficiency pattern; diminished ovarian reserve; ovarian granulosa cells; cycle-regulating method; anti-mullerian hormone

卵巢储备功能减退(diminished ovarian reserve, DOR)是指卵巢内存留可募集卵泡数量减少、卵母细胞质量下降, 导致生育能力降低或出现过早绝经倾向^[1]。卵巢储备功能反映了女性生育潜能及生殖内分泌功能。近年来, 随着女性生活工作压力的增加, DOR发病率逐年上升。目前, DOR的病因和发病机制尚未明确, 西医治疗引起的不良反应严重, 部分患者难以接受。中医治疗DOR

有毒副作用小, 疗效佳等优势^[2]。基于此, 本研究通过回顾性分析探讨调周法治疗DOR的临床疗效及其作用机理, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 纳入2019年2月至2021年5月于江苏省中医院妇科门诊就诊的60例DOR患者, 年龄20~40岁, 平均年龄31.75岁。

1.2 诊断标准

1.2.1 西医诊断标准 参考2010年欧洲人类生殖与胚胎学会在意大利博洛尼亚明确的卵巢低反应定义^[3],以及临床研究中常用的检测方法拟定:1)年龄≤40周岁;2)月经量少或月经周期不规则;3)月经2~4天空腹性激素水平检验,10 mIU/L<血清卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)<40 mIU/L,或血清抗穆勒氏管激素(anti-mullerian hormone, AMH)<1.1 ng/mL。同时满足以上3项,即可确诊为DOR。

1.2.2 中医肾虚证辨证标准 参考《中药新药临床研究指导原则(试行)》中肾虚证标准^[4],主症:月经周期不规则或月经量少。次症:1)失眠;2)多梦;3)潮热盗汗;4)腰膝酸软;5)情绪烦躁焦虑。舌脉:舌红少苔或舌淡黯苔薄白,脉细弱或脉沉弱。符合上述主症,同时符合次症2项或以上,结合舌脉即可辨证为肾虚证。

1.3 纳入标准 1)符合上述DOR西医诊断标准及中医肾虚证诊断标准;2)年龄20~40周岁;3)对本研究治疗方案知情同意。

1.4 排除标准 1)合并多囊卵巢综合征、高泌乳素血症或甲状腺功能减退者;2)合并肝脏与肾脏疾病者;3)依从性差,不愿意按照本治疗方案进行治疗者;4)对本治疗方案所用中药过敏者。

1.5 治疗方法 根据患者月经周期予中药调周

法:1)行经期:新加促经汤加减,当归、醋香附、醋三棱、醋莪术、川芎、红花、泽兰、川牛膝、赤白芍、木香、续断、杜仲、醋龟甲各10 g;2)经后期:滋肾生肝饮加减,当归、丹参、赤白芍、怀山药、熟地黄、炒白术、麸炒苍术、山萸肉各10 g,牡丹皮、茯苓、川续断各12 g,柴胡、陈皮各6g,生薏苡仁20 g;3)经间期:补肾促排卵汤加减,当归、赤白芍、怀山药、熟地黄、牡丹皮、茯苓、川断、菟丝子、鹿角片、醋鳖甲、木香各10 g,山萸肉、红花各6 g,生薏苡仁20 g;4)经前期:毓麟珠加减,丹参、赤白芍、怀山药、牡丹皮、茯苓、麸炒苍术、木香、醋香附各10 g,太子参、炒白术、杜仲、菟丝子各9 g,梅花5 g。根据患者中医临床证候,调整中药配伍,进行药物及剂量加减。以上药材水煎,每日1剂,每次200 mL,早晚各1次温服,3个月为1个疗程,治疗1个疗程或2个疗程。

1.6 观察指标

1.6.1 血清性激素 治疗前后于月经周期第2~4天早晨采集患者空腹静脉血,分离血清,测血清AMH、雌二醇(estradiol, E₂)、黄体生成素(luteinizing hormone, LH)及FSH表达水平。

1.6.2 中医证候评分 根据《中药新药临床研究指导原则(试行)》^[4]制定,统计患者治疗前后各项中医证候,根据各中医证候程度分别计0、1、2、3分。见表1。

表1 中医证候评分标准

证候	评分(0)	评分(1)	评分(2)	评分(3)
腰膝酸软	无	偶尔有	经常发作	反复发作
潮热盗汗	无	偶尔有	经常发作	反复发作
情绪烦躁焦虑	无	偶尔有	经常发作	反复发作
失眠	无	偶尔有	经常发作	反复发作
多梦	无	偶尔有	经常发作	反复发作
月经周期	正常	40~60天或提前7~10天	60~90天或提前10~15天	>90天或提前>15天
月经量	正常	减少1/3	减少1/2	极少量,点滴即净

1.6.3 疗效标准^[4] 痊愈:月经周期、月经量及血清性激素水平恢复正常,临床症状基本消失,或不孕患者成功妊娠, $n \geq 95\%$; 显效:月经周期、月经量与血清性激素水平接近正常,临床症状较治疗前显著好转, $70\% \leq n < 95\%$; 有效:月经周期、月经量及血清性激素水平较治疗前改善,临床症状有所改善, $30\% \leq n < 70\%$; 无效:月经周期、月经量、血清性激素水平及临床症状无改善, $n < 30\%$ 。

中医证候疗效指数(n)=[(治疗前积分-治疗后积分)/治疗前积分]×100%

总有效率(%)=(治愈+显效+有效)例数/总例

数×100%

1.7 统计学方法 计量资料若符合正态分布以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用配对 t 检验;若不服从正态分布,则以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,采用配对样本的Wilcoxon秩和检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 临床疗效 治疗后痊愈10例,显效15例,有效27例,无效8例,总有效率为86.67%(52/60)。

2.2 性激素水平 治疗后患者血清AMH水平较治疗前升高($P < 0.05$);治疗前后血清E₂、LH和FSH水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见

表2。

2.3 AMH<1.1 ng/mL且10 mIU/L<FSH<40 mIU/L的DOR患者性激素水平 34例DOR患者血清AMH、FSH水平较治疗前升高($P<0.05$),血清 E_2 和LH水

平比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表3。

2.4 中医证候评分 治疗后6例DOR患者因妊娠未予评分,54例患者中医证候评分较治疗前降低($P<0.05$)。见表4。

表2 治疗前后患者血清性激素水平[$M(P_{25}, P_{75})$]

时间	例数	AMH(ng/mL)	E_2 (ng/L)	LH(mIU/L)	FSH(mIU/mL)
治疗前	60	0.51(0.18, 0.97)	52.50(34.00, 90.59)	5.61(3.32, 7.80)	12.66(9.18, 18.28)
治疗后	60	0.64(0.32, 1.62)	53.24(37.00, 84.50)	4.65(2.89, 7.23)	11.42(7.41, 17.14)
Z		-3.816	-0.102	-1.159	-1.439
P		0.000	0.919	0.246	0.150

表3 治疗前后AMH<1.1 ng/mL且10 mIU/L<FSH<40 mIU/L的DOR患者血清性激素水平比较[$M(P_{25}, P_{75})$]

时间	例数	AMH(ng/mL)	E_2 (ng/L)	LH(mIU/L)	FSH(mIU/mL)
治疗前	34	0.32(0.11, 0.55)	40.38(32.25, 85.28)	6.69(3.80, 8.78)	16.37(12.21, 23.75)
治疗后	34	0.46(0.25, 0.73)	64.49(35.00, 95.25)	5.07(3.25, 8.02)	13.80(8.55, 20.82)
Z		-3.199	-0.920	-0.675	-2.111
P		0.001	0.357	0.499	0.035

表4 治疗前后患者中医证候评分比较

中医证候	治疗前[分, $M(P_{25}, P_{75})$]	治疗后[分, $M(P_{25}, P_{75})$]	Z	P
腰膝酸软	0.50(0.00, 1.00)	0.00(0.00, 1.00)	-3.928	0.000
潮热盗汗	0.00(0.00, 1.00)	0.00(0.00, 0.00)	-3.827	0.000
情绪抑郁烦躁	0.00(0.00, 1.00)	0.00(0.00, 0.25)	-2.959	0.003
失眠	1.00(0.00, 1.00)	0.00(0.00, 0.00)	-5.027	0.000
多梦	1.00(0.00, 2.00)	0.00(0.00, 1.00)	-4.513	0.000
月经周期	1.00(0.00, 2.00)	0.00(0.00, 0.00)	-4.183	0.000
月经量	2.00(0.00, 2.00)	1.00(0.00, 1.00)	-4.000	0.000
总评分	6.50(4.00, 8.00)	2.00(1.00, 3.00)	-6.111	0.000

3 讨论

血清AMH作为有效反映女性卵巢储备功能的指标之一,被认为是最能直接反映卵巢功能的血清性激素,其主要由卵巢窦前卵泡和小窦状卵泡内颗粒细胞分泌,接近最原始卵泡群。在由卵巢分泌的所有性激素中,AMH与原始卵泡数量最具相关性^[5]。原始卵泡数量越多,颗粒细胞越多,AMH水平越高,若原始卵泡数量减少,则颗粒细胞减少,AMH水平降低。AMH可抑制原始卵泡募集,减少卵泡消耗,降低原始卵泡对FSH的敏感性,减缓卵泡衰竭^[6]。付靖波等^[7]认为卵泡的生长发育受卵巢内颗粒细胞功能调控,卵泡的成熟与闭锁受颗粒细胞凋亡影响。BUTTS等^[8]认为卵巢储备功能下降的女性存在卵巢颗粒细胞端粒长度缩短,而颗粒细胞凋亡受细胞端粒调控。蔡鹏飞^[9]研究表明AMH水平与端粒长度呈负相关,且可预

测卵母细胞成熟度与质量。因AMH不受 E_2 、FSH、LH水平及月经周期影响,具有独特的稳定性,被广泛应用于DOR的临床诊断中。西医治疗DOR多以激素替代疗法、促排卵治疗等为主。蔡静等^[10]认为激素替代疗法虽然能改善患者临床症状,但长期用药会增加罹患子宫内膜癌、乳腺癌的风险。宁琼等^[11]认为使用外源性促性腺激素诱发排卵,可导致卵巢过度刺激综合征。

DOR属中医学“经水过少”“闭经”“不孕症”“血枯”等范畴,并且认为肾虚是其基本病机。《医学正传》载:“月水全赖肾水施化。”《傅青主女科》载:“经水出诸肾……肾水本虚,何能盈满而化经水外泄。”肾气是女子生长发育的基础与动力,月经来潮或闭经、无子或有子都与肾之间存在紧密联系。肾精充盛,冲任畅通,血海按时盈满,满溢于子宫,化为经血,月经按时来潮。肾气不足,肾

精亏虚,“肾气-天癸-冲任-胞宫”轴功能受到影响,气血化生无力,胞宫失养,经水量少甚则闭经。近几年中医学者以卵巢颗粒细胞为切入点探寻改善卵巢储备功能的方法。钱颖仪^[12]为改善大鼠卵巢储备功能,抑制大鼠卵巢体内颗粒细胞凋亡,采用DOR大鼠服用补肾中药汤剂方法,阻止卵泡消耗,提高卵泡质量和AMH水平。蔡竞等^[13]研究表明,给予大鼠补肾中药可以激活大鼠体内mTOR信号通路颗粒细胞增殖,改善卵泡发育。赵粉琴等^[14]研究发现,当归黄芪超滤膜提取物有促进卵巢颗粒细胞增殖的作用,能促进卵泡发育,其机制可能与上调smad4和cyclin A蛋白表达有关。

调周法是以不同时间段女性身体气血阴阳发生转化作为治疗切入点,以月经周期变化为基础,采用不同的中药配伍进行周期性治疗。本研究采用补肾调周法治疗DOR。行经期重阳必阴,月经来潮,排除经血,代表新旧交替。此阶段治疗用新加促经汤加减,以活血调经、祛瘀生新。肾司固藏,方加川牛膝、续断、杜仲补肾助阳以固本,龟甲通心入肾以滋阴,守而不走,有助子宫之藏,可防止因活血调经带来的经血过多,泄中有藏。经后期阴长阳消,是消长期,此时处在月经排泄后,子宫内膜脱落,血海空虚,是新周期演变的物质基础时期,此阶段用滋肾生肝饮加减,以滋阴养血,滋养卵子,促进卵泡发育成熟,充盈血海,为孕育排经奠定基础。肾阴癸水虽来源于先天,但培养于后天,依赖于水谷之精,脾为后天之本,主水谷运化,故加山药、白术、陈皮、茯苓、薏苡仁、苍术健脾燥湿以促进脾胃运化。经间期是重阴必阳转化时期,重阴下泄让位于阳,开始阳长运动,阳长则升,故排卵期基础体温会升高,排出卵子。此阶段治疗用补肾促排卵汤,以促进气血运行及排卵,调复阴阳。因为“重阴”的影响,水湿偏盛,易于腹胀便溏,故加山药、木香、薏苡仁以健脾利湿,方加醋鳖甲滋阴潜阳,走而不守,有助于排卵。经前期阳长阴消,阳长可温暖子宫,疏利子宫内膜,输化排除由阴长时期带来的过多水湿和瘀浊。此阶段治疗用毓麟珠加减,以补肾助阳,为行经期排泄月经打好基础,方加苍术、梅花、木香和醋香附理气疏肝解郁且促进脾胃运化,助阳与理气并重。

本研究结果显示,采用中医药调周法治疗DOR疗效确切,不仅可以有效调整女性月经周期,增加月经量,减轻DOR患者临床症状,而且可能改善DOR患者AMH水平和卵巢储备功能。本研究基于卵巢颗粒细胞功能和AMH水平之间的关系,进一步推测调周法可提高血清AMH水平和卵巢储备

功能。但是,关于中医药调周法影响卵巢颗粒细胞功能的临床作用机制仍需要进一步研究探讨。

参考文献

- [1] 李健美,夏桂成. 夏桂成教授治疗卵巢储备功能低下病案举隅[J]. 辽宁中医药大学学报,2016,18(5):16-19.
- [2] 葛任洁,胡荣魁,陈昊,等. 卵巢储备功能下降的中医药诊治进展[J]. 中华中医药杂志,2020,35(1):322-325.
- [3] 古芳,徐艳文. 博洛尼亚标准——卵巢反应不良共识的解读[J]. 中国实用妇科与产科杂志,2015,31(8):699-702.
- [4] 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.
- [5] JOSSO N. WOMEN IN REPRODUCTIVE SCIENCE:Anti-müllerian hormone:a look back and ahead[J]. Reproduction,2019,158(6):81-89.
- [6] VAN HELDEN J,EVLIIYAAGLU O,WEISKIRCHEN R. Has GnRH a direct role in AMH regulation?[J]. Clin Endocrinol,2019,90(6):827-833.
- [7] 付靖波,张红霞,朱海英. 颗粒细胞凋亡调控机制及其在卵泡发育中的作用[J]. 中国临床医学,2020,27(5):857-860.
- [8] BUTTS S,RIETHMAN H,RATCLIFFE S,et al. Correlation of telomere length and telomerase activity with occult ovarian insufficiency[J]. J Clin Endocrinol Metab,2009,94(12):4835-4843.
- [9] 蔡鹏飞. 卵泡液中AMH和颗粒细胞端粒长度与卵母细胞成熟度及IVF-ET结局关系的探究[D]. 郑州:郑州大学,2016.
- [10] 蔡静,王帅. 芬吗通治疗卵巢功能下降及卵巢早衰41例临床观察[J]. 中外女性健康研究,2017(1):169-170.
- [11] 宁琼,张蒙夏,曾海涛. 卵巢过度刺激综合征发病机制及预防[J]. 中南医学科学杂志,2017,45(2):189-192.
- [12] 钱颖仪. 七子益肾理冲汤对卵巢储备功能的影响及miR-29a的调控作用[D]. 北京:北京中医药大学,2018.
- [13] 蔡竞,李楠,朱虹丽,等. 新加补肾丸通过调节mTOR信号通路促进体外培养大鼠卵巢颗粒细胞增殖[J]. 陕西中医,2020,41(9):1179-1183.
- [14] 赵粉琴,袁爱倩,李娜娜,等. Smad4和Cyclin A蛋白在大鼠卵巢颗粒细胞中的表达及当归黄芪超滤膜提取物对其的增殖作用[J]. 西部中医药,2018,31(1):19-22.

收稿日期:2023-09-12

*基金项目:国家自然科学基金(81574009);江苏省卫生计生委科研课题(Q201602);第三批江苏省名老中医傅友丰工作室项目;南京中医药大学中医学优势学科教育教改研究课题(Q201602)。

作者简介:李时雨(1993—),女,硕士学位,医师。研究方向:妇科疾病的中医药防治。

△通讯作者:莫蕙(1958—),女,博士学位,教授,主任医师。研究方向:妇科疾病的诊治。E-mail:hmo@must.edu.mo。