

知柏地黄丸对卵巢储备功能低下性激素及妊娠的影响及其作用机制研究

张媛 糜媛媛 何晶

(无锡市中西医结合医院妇产科,无锡,214041)

摘要 目的:评价知柏地黄丸对卵巢储备功能低下性激素水平以及妊娠的影响,同时探讨其相关作用机制。方法:选取2017年1月至2018年1月无锡市中西医结合医院收治的卵巢储备功能低下患者60例纳入研究,按照随机数字表法随机分为对照组和观察组,每组30例,对照组口服戊酸雌二醇片,1 mg/次,1次/d。观察组在对照组基础上加用知柏地黄丸,8丸/次,3次/d。2组均连续治疗3个月经周期,疗程结束后比较2组患者中医证候积分、子宫内膜厚度、子宫动脉血流频谱变化,妊娠率、月经恢复率以及卵泡刺激素(FSH)、雌二醇(E₂)、促黄体生成素(LH)、血清抗苗勒管激素(AMH)基础窦卵泡数(AFC)的差异。结果:1)2组患者治疗后中医症状积分均有所下降,与治疗前比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),2组比较显示观察组分值明显低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);2)经过治疗后观察组妊娠率为50%,月经恢复率为90%,流产率33.33%,与对照组的26.67%、60%及87.5%比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$),观察组疗效优于对照组;3)治疗前2组患者的各激素指标水平差异无统计学意义($P > 0.05$),经过3个月经周期的治疗,2组FSH、E、LH均下降,组间比较显示观察组优于对照组($P < 0.05$),2组AMH表达均增加,观察组增加的幅度较对照组明显,差异有统计学意义($P < 0.05$);4)治疗后2组子宫内膜厚度均明显上调,子宫动脉的阻力指数以及搏动指数均下降,与治疗前比较差异有统计学意义($P < 0.05$),经过3个月经周期的治疗,组间比较显示观察组优于对照组($P < 0.05$)。结论:知柏地黄丸可有效纠正卵巢储备功能低下,其作用机制与调整机体激素水平,增强卵泡敏感度有关,临床建议推广运用。

关键词 卵巢储备功能低下;卵泡刺激素;雌二醇;促黄体生成素;AMH;妊娠率;月经恢复率;知柏地黄丸

Study on the Effects of Zhibai Dihuang Pills on Ovarian Reserve Dysfunction, Sex Hormones and Pregnancy and Its Mechanism

Zhang Yuan, Mi Yuanyuan, He Jing

(Department of Obstetrics and Gynecology, Wuxi Hospital of Integrated Traditional Chinese Medicine and Western Medicine, Wuxi 214041, China)

Abstract Objective: To evaluate the effects of Zhibai Dihuang Pills on hormone levels, and pregnancy, and ovarian reserve dysfunction, and to explore its related mechanism. **Methods:** A total of 60 patients with low ovarian reserve function were enrolled in the study and were randomly divided into control group ($n = 30$) and observation group ($n = 30$) by digital random table method. The control group was given estradiol valerate tablets 1 mg/day. The observation group was added with Zhibai Dihuang Pills 8 pills/time and 3 times/d on the basis of the control group. The two groups were treated continuously for 3 menstrual cycles. After the treatment, the scores of TCM syndrome, the thickness of the endometrium, the spectrum of uterine artery blood flow, the pregnancy rate, the rate of menstrual recovery, follicular stimulating hormone (FSH), estradiol (E), luteinizing hormone (LH) and the basal sinus follicle (AFC), and serum anti-Mullerian hormone (AMH) were compared. **Results:** 1) The scores of TCM syndromes in the two groups were decreased compared with that before treatment, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The two groups showed that the score of the observation group was significantly lower than that of the control group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). 2) After treatment, the pregnancy rate of the observation group was 50%, and the recovery rate of menstruation was 90%. The abortion rate was 33.33%, and the effect of the observation group was better than that of the control group (26.67%, 60% and 87.5%), and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). 3) There was no significant difference in the level of hormone indexes between the two groups before treatment ($P > 0.05$). After 3 menstrual cycles, the FSH, E and LH of the two groups decreased. The comparison between the groups showed that the observation group was superior to the control group ($P < 0.05$). The AMH expressions of the two groups increased, and the increase of the observation group was significantly higher than that of the control group. The difference was statistically significant ($P < 0.05$). 4) After treatment, the thickness of endometrium in the two groups was obviously up-regulated, and the resistance index of the uterine artery and the pulsation index were

all decreased compared with that before the treatment, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). After 3 menstrual cycles, the comparison between the groups showed that the observation group was superior to the control group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Zhibai Dihuang Pills can effectively improve the low ovarian reserve function, and its mechanism relates to adjusting the level of body hormone and enhancing the sensitivity of follicle, and it is recommended in clinical practice.

Key Words Low ovarian reserve function; Follicle stimulating hormone; Estradiol; Luteinizing hormone; AMH; Pregnancy rate; Menstrual recovery rate; Zhibai Dihuang Pills

中图分类号: R271.41 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2018.10.009

卵巢储备能力低下是导致女性不孕不育的重要原因,其发病率有逐年上升的趋势。虽然辅助生殖技术对病情有所帮助,但患者获卵率及妊娠率仍不尽人意^[1-2]。因此从根本上提高患者的卵巢功能,实现自然受孕或者提高辅助技术受孕率是生殖医学研究领域的所应关注的话题。中医古籍并无卵巢储备能力低下的病名记载,其属于“不孕”“月经不调”“闭经”等范畴,肾虚是其诸药病因,与肝脾两脏亦关系密切。肾乃先天之本,藏精主生殖之功,先天不足致肾气亏虚,在中医“肾-天癸-冲任-胞宫调节体系理论的指导下,肾虚导致冲任虚寒无以温煦胞宫,致其无法摄精受孕,从而出现不孕不育之症^[3-4],肝肾同源,肾水亏虚无以滋养肝木,脾乃后天之本,肝肾亏虚则精血不足,反之影响清阳运化,致脾气受损^[5-6]。因此补肝肾脾三脏,调冲任是治疗本病的核心。知柏地黄丸是六味地黄丸基础上加用知母、黄柏二味中药,在补益肝肾的基础上施予清热滋阴,本团队将知柏地黄丸运用于临床治疗卵巢储备能力低下患者,获得了较为理想的疗效,但其作用机制尚属未知,本团队为进一步探讨知柏地黄丸治疗卵巢功能低下的作用机制,将 60 例患者纳入研究,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 1 月至 2018 年 1 月本院收治的卵巢储备功能低下患者 60 例纳入研究,按照随机数字表法随机分为对照组和观察组,每组 30 例,年龄 26~40 岁,平均年龄(32 ± 2.42)岁,月经不调时间 8~11 个月,平均时间(9 ± 0.28)个月,有孕堕史 21 例,无孕堕史 9 例。观察组 30 例,年龄 27~42 岁,平均年龄(33 ± 3.01)岁,月经不调时间 8.5~12 个月,平均时间(9 ± 0.37)个月,有孕堕史 20 例,无孕堕史 10 例。2 组患者一般情况资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。本研究经医院伦理委员会批准(伦理审批号 201728392)。

1.2 诊断标准 所有患者西医诊断均符合 2010 年曹泽毅主编的《中华妇产科学》中关于卵巢功能低

下的诊断标准。中医诊断标准参照 2002 年郑筱英等编撰的《中药新药临床研究指导原则(试行)》中的相关标准^[7-8]。

1.3 纳入标准 符合中西医诊断标准者;年龄 18~40 岁;近 3 个月内未使用激素类药物治疗者;对本研究治疗过程知情同意并签署同意书者。

1.4 排除标准 1) 治疗期间同时使用其他与克罗米芬同类的促排卵药物者;2) 既往用促排卵无效,已无生育需求者;3) 其他器质性生殖器官病变引起的月经不调者

1.5 脱落与剔除标准 1) 未严格按试验方案规定用药坚持治疗者;2) 临床试验过程中自然脱落、失访;3) 患者发生并发症或严重不良反应者。

1.6 治疗方法 对照组口服戊酸雌二醇片(Jenapharm GmbH & Co. KG, 国药准字 J20171038), 1 mg/次, 1 次/d, 按周期序贯疗法, 每经过 21 d 的治疗后, 须停药至少 1 周。观察组在对照组基础上加用知柏地黄丸(河南省宛西制药股份有限公司, 国药准字 Z41021904), 8 丸/次, 3 次/d。主要成分: 主要成分为熟地黄、山茱萸(制)、山药、牡丹皮、茯苓、泽泻、知母、黄柏。2 组均连续治疗 3 个月经周期。

1.7 观察指标

1.7.1 中医证候学积分 参照 2002 年郑筱英等编撰的《中药新药临床研究指导原则》关于疗效评定方法, 采用积分的方式对月经积分及症状积分进行计算, 共 13 个相关症状: 小腹胀痛、腰骶酸痛、精神不振、乳房胀痛、神疲乏力、少气懒言、面色、头晕眼花、心肌、痛经、畏寒肢冷、五心烦热, 每个症状按照严重程度分为轻中重 3 级, 轻度为 1 分, 中度为 2 分, 重度为 3 分。

1.7.2 生化指标 2 组患者治疗前后清晨空腹状态下抽取肘静脉血 10 mL, 用于检测卵泡刺激素(FSH)、雌二醇(E_2)、促黄体生成素(LH)、血清抗苗勒管激素(AMH)的水平。所有患者中若有月经来潮则生化指标检测于月经周期第 3~5 天进行, 若无行经, 则根据超声检查未见优势卵泡时进行检测。

1.7.3 基础窦卵泡数(AFC)、子宫内膜厚度、子宫

动脉血流频谱变化 用阴道彩色多普勒超声度上述指标进行检查。其中 AFC 与月经第 10 天进行检测,子宫内膜厚度、子宫动脉血流频谱于月经周期第 4 天进行。嘱患者行膀胱截石位,将套有避孕套的超声探头缓慢插入阴道,记录测量子宫内膜厚度,并对子宫动脉血阻力指数及搏动指数数值进行统计,共记录 3 次,取平均值。

1.7.4 其他 记录 2 组治疗后妊娠率、月经恢复率。

1.8 统计学方法 采用 SPSS 20.0 统计软件进行所有数据分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验进行数据比较;计数资料以率或者构成比表示,数据处理采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组还治疗前后中医证候学积分比较 2 组患者治疗后中医证候学积分均有所下降,与治疗前比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),2 组比较显示观察组分值明显低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 2 组症候学积分比较($\bar{x} \pm s$,分)

组别	积分
对照组($n = 30$)	
治疗前	23.44 ± 3.18
治疗后	18.28 ± 2.78*
观察组($n = 30$)	
治疗前	23.58 ± 3.01
治疗后	11.26 ± 1.78* [△]

注:与治疗前比较,* $P < 0.05$,治疗后与对照组比较,[△] $P < 0.05$

2.2 2 组妊娠率及月经恢复率比较 经过治疗后观察组妊娠率为 50%,月经恢复率为 90%,流产率 33.33%,与对照组的 26.67%、60% 及 87.5% 比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$),观察组疗效优于对照组。见表 2。

表 2 2 组治疗后月经恢复正常、及妊娠情况的比较[例(%)]

组别	月经恢复率	妊娠率	流产率
对照组($n = 30$)	18(60.00)	8(26.67)	7(87.50)
观察组($n = 30$)	27(90.00)	15(50.00)	5(33.33)
χ^2	5.25	4.26	3.28
P	0.021	0.032	0.025

2.3 2 组生化指标差异 治疗前 2 组患者的各激素指标水平差异无统计学意义($P > 0.05$),经过 3 个月经周期的治疗,2 组 FSH、E、LH 均下降,组间比较显示观察组优于对照组($P < 0.05$),2 组 AMH 表

达均增加,观察组增加的幅度较对照组明显,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 2 组生化指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	FSH(mIU/mL)	E ₂ (pg/mL)	LH(mIU/mL)	AMH(pg/mL)
对照组($n = 30$)				
治疗前	4.82 ± 1.02	72.38 ± 22.19	15.01 ± 0.78	12.89 ± 0.48
治疗后	3.79 ± 0.73*	60.28 ± 10.22*	8.39 ± 0.46*	8.22 ± 0.21*
观察组($n = 30$)				
治疗前	4.83 ± 0.98	71.98 ± 23.02	14.98 ± 0.66	13.01 ± 0.37
治疗后	3.18 ± 0.46* [△]	51.25 ± 4.23* [△]	5.01 ± 0.21* [△]	5.11 ± 0.14* [△]

注:与治疗前比较,* $P < 0.05$,治疗后与对照组比较,[△] $P < 0.05$

2.4 2 组子宫内膜及子宫动脉血流频谱变化 治疗后 2 组子宫内膜厚度均明显上调,子宫动脉的阻力指数以及搏动指数均下降,与治疗前比较差异有统计学意义($P < 0.05$),经过 3 个月经周期的治疗,组间比较显示观察组优于对照组($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 2 组子宫内膜及子宫动脉血流频谱变化($\bar{x} \pm s$)

组别	子宫内膜厚(mm)	子宫动脉阻力指数	子宫动脉搏动指数
对照组($n = 30$)			
治疗前	4.01 ± 1.12	2.88 ± 0.41	0.89 ± 0.16
治疗后	6.38 ± 1.28*	2.57 ± 0.37*	0.81 ± 0.09*
观察组($n = 30$)			
治疗前	3.99 ± 1.25	2.87 ± 0.45	0.87 ± 0.17
治疗后	8.35 ± 1.34* [△]	2.42 ± 0.19* [△]	0.71 ± 0.08* [△]

注:与治疗前比较,* $P < 0.05$,治疗后与对照组比较,[△] $P < 0.05$

3 讨论

卵巢功能低下是妇科临床常见疾病,近年来因卵巢功能下降而纠正的患者逐年增加,由于卵巢产卵能力下降,导致卵母细胞质量受损,由此引发患者生育能力下降,临床主要以月经不调、经量稀少、闭经、不孕为主^[9-10]。随着卵巢储备能力的逐渐下降,由卵巢分泌的卵巢抑制素生成减少,使之对垂体的作用减弱,由此导致内源性 FSH 分泌上调,加速了卵泡消耗的速度,如若未进行相应的措施干预,则可最终卵子耗竭,卵巢早衰,导致丧失治疗机会。因此,调节激素水平,减少 FSH 对卵泡的消耗,挽救机体残存的卵泡的治疗本病的关键^[11]。激素序贯治疗是目前西医治疗本病的主要手段,虽可在一定程度上改善卵巢功能,但极易产生受孕率低、流产率高的现象,本研究利用戊酸雌二醇进行治疗,虽有 60% 的患者恢复月经,26.67% 患者妊娠,确有高达 87.5% 患者流产,这说明激素治疗对卵巢功能低下的妊娠结局仍差强人意。

中医古籍并无卵巢功能低下的相关病名记载,但根据其临床表现,可归属于“不孕”“月经不调”

“闭经”等范畴。中医学认为,肾乃先天之本,主宰机体生殖能力,冲任之本天葵之源。《素问》中记载:“女子七岁,肾气盛,齿更发长;二七而天癸至,任脉通,太冲脉盛,月事以时下,故有子”,清代医家傅山在其《傅青主女科》写到“经水出诸肾”,由此看来,因此女子肾气-天癸-冲任-胞宫生殖轴在调节月经水平、生育能力等发挥核心作用。故中医治疗卵巢功能低下亦应从肾着手。多数卵巢功能低下患者因先天不足、精神压力等因素导致肾气虚弱,天葵水失充,冲任失调,胞宫濡养不足,从而导致肾-天癸-冲任-胞宫生殖轴功能减弱。女子以血为用,自古有“肝乃女子先天之本”之训,病久则多肝郁,长期肝郁耗伤精血,肝失濡养,冲任失调,阴不制阳,最终形成肝肾不足之势;此外,脾气虚弱亦是导致本病发生发展的关键^[12-13],脾胃亏虚,升散清气能力受损,肝火不守其位,上炎为患,肝脾肾三脏受损而发本病,因此调节肝脾肾是治疗本病的关键。

知柏地黄丸首载于《医方考》,是治疗肝肾阴虚、虚火上炎之经典方。方中由六味地黄丸加黄柏、知母而成,在其滋补肝肾基础上,清热降火。方中熟地黄生精填髓,补肾益阴,为君药;以“肝肾同源”为理念,取山茱萸为臣药,可补养肝肾;山药有健运脾气、滋补脾阴之功,亦有固肾之势,与山茱萸合用共为臣药;熟地黄山茱萸及山药三药共用,共同调节肝脾肾三脏,直击卵巢功能低下的病机。泽泻有泻浊利湿之功,可制约熟地黄的滋腻之性,茯苓是健运脾气的要药,可健脾渗湿,助山药健脾之功,与泽泻合用共奏泻肾浊、滋真阴;方中牡丹皮发挥清泄虚热的作用,可制约山茱萸温涩之性,泽泻、茯苓、牡丹皮三药共为“三泻”,行使佐药之功^[14-16]。知柏地黄丸是以补为主,实现补肝肾脾三阴共调。本研究结果显示,加用知柏地黄丸的观察组患者不论是在改善中医证候积分、临床表现,还是调节激素水平等方面均明显优于对照组,这提示知柏地黄丸的确是治疗卵巢功能低下的有效药物,而且研究还发现经过治疗后患者子宫动脉血的阻力指数以及波动指数均明显下降,这说明了子宫的容受性明显提升,提高了妊娠成功率,降低了流产率。

在研究中我们进一步检测了2组患者治疗前后AMH的浓度,结果显示观察组患者外周血清AMH在治疗后明显下降。AMH属于中药的技术转化因子,分泌水平主要受控于下丘脑-垂体-性腺轴,是卵巢储备能力的直观体现^[17]。本研究2组患者治疗前AMH的浓度均高于正常水平,而过度分泌的

AMH可减弱了卵泡对促卵泡生成素的应答能力,从而不利于卵泡的发育、排出,因此降低异常增高的AMH是实现提升卵巢能力、促进卵子发育的关键^[18-19]。由此,我们认为知柏地黄丸有效治疗了卵巢功能低下,提高了患者子宫的容受性,而实现这一效应的药物作用机制与调节机体AMH密不可分。

参考文献

- [1] Creus M, Penarrubia J, Fabregues F, et al. Day 3 serum inhibin B and FSH and age as predictors of assisted reproduction treatment outcome [J]. Hum Reprod, 2000, 15(11): 2341-2346.
- [2] 陈文俊, 李慧芳, 周蓓蓓, 等. 卵巢储备功能低下评估及治疗方法研究进展[J]. 实用医学杂志, 2016, 32(1): 19-22.
- [3] 陈映辉. 补肾方治疗卵巢储备能力下降疗效评估报道[J]. 母婴世界, 2015, 15(10): 37-37.
- [4] 周笑梅, 陈颖昇. 补肾活血中药治疗卵巢储备功能低下的机制概述[J]. 中国中医药科技, 2014, 21(3): 345-346.
- [5] 彭玉清, 刘洋, 葛辛. 卵巢功能储备功能不足的中医调治[Z]. 深圳: 2015383-385.
- [6] 翁晓晨, 张勤华, 张琦, 等. 滋补肝肾法治疗卵巢储备功能低下型不孕的案例分析[Z]. 昆明: 201668-69.
- [7] 丁岩, 刘新莲. 卵巢早衰的临床诊治[J]. 中国计划生育和妇产科, 2014, 33(2): 10-13, 21.
- [8] 崔晓萍, 陈蕊, 张勤, 等. 循期阴阳序贯疗法改善卵巢早衰前期卵巢储备功能的临床研究思路探讨[J]. 陕西中医, 2010, 31(2): 198-199.
- [9] Kitajima M, Khan K N, Harada A, et al. Association between ovarian endometrioma and ovarian reserve[J]. Front Biosci (Elite Ed), 2018, 10: 92-102.
- [10] 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.
- [11] Gleicher N, Darmon S K, Kushnir V A, et al. How FSH and AMH reflect probabilities of oocyte numbers in poor prognosis patients with small oocyte yields[J]. Endocrine, 2016, 54(2): 476-483.
- [12] 惠雪莲, 丁红卫, 舒瑾. 补肾方治疗卵巢储备能力下降100例[J]. 陕西中医, 2014, 35(11): 1443-1444.
- [13] 来玉芹. 卵巢储备功能下降的中医药研究进展[J]. 光明中医, 2011, 26(8): 1739-1740.
- [14] 彭连双, 张志强, 孙建辉, 等. 知柏地黄丸加减治疗女性更年期综合征108例疗效观察[J]. 中医临床研究, 2015, 7(16): 124-125.
- [15] 闫军红. 知柏地黄丸联合雌激素补充治疗更年期综合征的疗效评价[J]. 实用妇科内分泌电子杂志, 2015, 2(11): 118-119.
- [16] 刘惠玉. 知柏地黄丸治疗女性更年期综合征105例[J]. 中医临床研究, 2015, 7(17): 118.
- [17] Maculan R, Pinto T, Moreira G M, et al. Anti-Mullerian Hormone (AMH), antral follicle count (AFC), external morphometrics and fertility in Tabapua cows[J]. Anim Reprod Sci, 2018, 189: 84-92.
- [18] 王馥新, 孟庆霞, 邹琴燕, 等. 多囊卵巢综合征患者显著升高的抗苗勒管激素水平对超促排卵的影响[J]. 中华生殖与避孕杂志, 2017, 37(1): 22-26.
- [19] 李莹, 杨晓庆, 杨晓葵. 抗苗勒管激素和抑制素B预测卵巢储备功能的临床研究[J]. 实用妇产科杂志, 2014, 30(1): 26-29.