

归肾丸加减治疗卵巢早衰肾阴虚证的临床分析

张丽梅*, 雷泉

(川北医学院附属医院, 四川南充 637000)

[摘要] **目的:**探讨归肾丸加减治疗卵巢早衰(POF)肾阴虚证的疗效以及对血清生长分化因子-9(GDF-9)和骨形态发生蛋白-15(BMP-15)水平的影响。**方法:**收集POF患者共116例,按数字表法随机分为对照组和综合组各58例。对照组口服结合雌激素片,1片/次,1次/d,连服20d;第16~20天加服安宫黄体酮片,4片/次,1次/d。综合组在对照组治疗的基础上采用归肾丸加减治疗,1剂/d,水煎煮,分早晚2次内服,经期停药。两组均20d为1个疗程,连续治疗3个疗程。比较两组中医症状积分和血清卵泡刺激素(FSH),雌二醇(E₂)和黄体生成素(LH)水平;检测两组血清GDF-9和BMP-15水平。**结果:**综合组治疗后中医症状各指标积分均明显低于对照组($P < 0.01$);综合组临床总有效率为94.83%,对照组为81.03%,综合组明显高于对照组($P < 0.05$);综合组治疗后患者血清FSH和LH水平均明显低于对照组,E₂水平显著高于对照组($P < 0.01$);治疗后综合组血清GDF-9和BMP-15水平均明显高于对照组,比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。**结论:**在西医常规用药基础上,内服归肾丸加减治疗卵巢早衰肾阴虚证可明显改善患者临床症状和激素水平,提高临床疗效,上调患者血清GDF-9和BMP-15水平可能与上述治疗效果密切相关。

[关键词] 归肾丸; 卵巢早衰; 肾阴虚证; 生长分化因子-9; 骨形态发生蛋白-15

[中图分类号] R287 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)11-0170-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016110170

Clinical Analysis of Guishen Pills in Treating Premature Ovarian Failure with Syndrome of Kidney-Yin Deficiency

ZHANG Li-mei*, LEI Xiao

(Affiliated Hospital of Chuanbei Medical College, Nanchong 637000, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the clinical efficacy of Guishen pills for premature ovarian failure (POF) with syndrome of kidney-yin deficiency and observe its effect on levels of growth differentiation factor-9 (GDF-9) in serum and bone morphogenetic protein-15 (BMP-15). **Method:** One hundred and sixteen POF patients were randomly divided into control group (58 cases) and comprehensive group (58 cases) by random number table. The patients of control group received conjugated estrogen tablets for 20 days (1 tablet/time, *qd*); medroxyprogesterone acetate tablets were added from day 16 to day 20 (4 tablets/time, *qd*). Based on the treatment of control group, patients in comprehensive group were also treated with Guishen pills (1 dose/d, *bid*, stop in menstrual period). 20 days were regarded as one treatment course, and the patients in both groups were treated for 3 courses. Traditional Chinese medicine (TCM) symptom scores, follicle-stimulating hormone (FSH), estradiol (E₂) and luteinizing hormone (LH) levels in serum were compared between two groups. The levels of GDF-9 and BMP-15 in serum were detected in two groups. **Result:** TCM symptom scores in comprehensive group were significantly lower than those in control group after treatment ($P < 0.01$). The total clinical effective rate was 94.83% in comprehensive group, significantly higher than 81.03% in control group ($P < 0.05$). The levels of FSH and LH in serum of comprehensive group were significantly lower than those of control group after treatment, while E₂ level was significantly higher than that of control group ($P < 0.01$). The

[收稿日期] 20150908(213)

[基金项目] 四川省卫生计生厅医学基金项目(2014SC10015)

[通讯作者] *张丽梅, 硕士, 副教授, 从事中医妇科临床工作, Tel: 13330778237, E-mail: liuhao141020@126.com

levels of GDF-9 and BMP-15 in serum of comprehensive group were significantly higher than those of control group, with statistically significant differences ($P < 0.01$). **Conclusion:** On the basis of routine western medicine treatment, Guishen pills could obviously improve clinical symptoms, hormonal levels, and clinical efficacy. The mechanism may be associated with increasing GDF-9 and BMP-15 levels in serum.

[Key words] Guishen pills; premature ovarian failure; syndrome of kidney-yin deficiency; growth differentiation factor-9; bone morphogenetic protein-15

卵巢早衰 (premature ovary failure, POF) 为内分泌功能异常疾病,也是妇科常见病。由于 POF 好发生于 40 岁之前女性,常给患者带来不孕不育、骨质疏松以及围绝经期综合征等临床问题,对女性的身心健康、生活质量等产生了严重影响^[1]。目前,西医临床常采用激素替代疗法,已证实可明显改善 POF 临床症状,恢复排卵等,但单纯长期使用激素,可引起患者产生乳房胀痛、阴道出血等不良反应以及增加罹患子宫内膜癌的风险^[2]。研究表明,采用激素替代疗法联合中药治疗 POF,可发挥两者治疗优势,改善患者症状,促进卵巢功能的康复^[3]。

本研究针对 POF 肾阴虚证患者的具体病机特点,在西医常规治疗的基础上,采取归肾丸加减治疗取得良好疗效;归肾丸出自《景岳全书》卷五十一,功用滋补肾阴。以往研究发现,归肾丸加味或联合其他疗法治疗 POF 疗效较好,且不良反应少^[4-5]。本研究在观察归肾丸加减治疗 POF 肾阴虚证的临床疗效,同时对本治疗作用的可能机制进行了探讨。

1 资料与方法

1.1 一般资料 共收集卵巢早衰 (POF) 患者 116 例,均为川北医学院附属医院妇产科 2013 年 2 月—2015 年 2 月收治的,经中医辨证均为肾阴虚证患者,按数字表法随机分为对照组和综合组各 58 例。对照组年龄 23 ~ 38 岁,平均 (31.79 ± 4.36) 岁;初潮年龄 12.5 ~ 16 岁,平均 (14.57 ± 1.82) 岁;闭经时间 0.6 ~ 2.2 年,平均 (1.58 ± 0.17) 年;原发不孕 8 例,有分娩史 50 例。综合组年龄 24 ~ 39 岁,平均 (32.42 ± 4.49) 岁;初潮年龄 12 ~ 16.5 岁,平均 (14.49 ± 1.77) 岁;闭经时间 0.7 ~ 2.4 年,平均 (1.62 ± 0.19) 年;原发不孕 9 例,有分娩史 49 例。两组病例在年龄、初潮时间、闭经时间等一般情况比较差异均无统计学意义,具有可比性。

1.2 诊断标准

1.2.1 POF 诊断标准 参照《妇产科学》^[6] 制定标准。①临床表现,40 岁以前出现 3 个月以上的闭经,常合并潮热、烦躁易怒、盗汗、睡眠质量差等围绝经期综合征症状;②激素水平测定,卵泡雌激素

(FSH) > 40 U · L⁻¹, 雌二醇 (E₂) < 73.2 pmol · L⁻¹, 黄体生成素 (LH) > 30 U · L⁻¹。

1.2.2 肾阴虚证诊断标准 参照《中药新药临床研究指导原则》标准制定。①主证:腰膝酸软,月经初潮来迟,月经量少渐至闭经;②次证:头晕耳鸣,五心烦热,潮热盗汗,舌红,苔少或无苔,脉细数。确诊需符合主证兼次证 2 项,结合舌、脉者。

1.3 纳入标准 ①符合 POF 诊断标准;②符合肾阴虚证诊断标准;③近期末服用中药相关制剂治疗者;④年龄 20 ~ 40 岁;⑤所有患者均取得知情同意,且签署知情协议书。

1.4 排除标准 ①其他原因 (如双侧卵巢切除、妇科器质性病变等) 引起闭经者;②合并有心脑血管、肝肾以及内分泌系统等严重疾病者;③精神病患者;④同时参与其他临床试验者;⑤疗程期间不配合用药者。

1.5 治疗方法 对照组口服结合雌激素片 (惠氏制药有限公司,国药准字 J20050120), 1 片/次, 1 次/d, 连服 20 d; 第 16 ~ 20 天加服安宫黄体酮片 (浙江仙琚制药股份有限公司, 国药准字 H33020715), 4 片/次, 1 次/d。综合组在对照组治疗的基础上采用归肾丸加减治疗, 方药组成: 熟地黄 25 g, 山药 10 g, 山茱萸 12 g, 菟丝子 10 g, 鹿角胶 12 g, 龟甲胶 12 g, 茯苓 12 g, 当归 9 g, 白芍 10 g, 枸杞子 12 g; 1 剂/d, 常规水煎煮, 分早晚 2 次内服, 月经期停药。两组治疗均 20 d 为 1 个疗程, 连续治疗 3 个疗程。

1.6 观察指标 ①两组治疗前后中医症状积分比较, 参照《中药新药临床研究指导原则》中肾阴虚证分级量表, 评价指标包括: 腰膝酸软, 五心烦热, 头晕, 耳鸣, 潮热盗汗 5 个方面, 按症状分级记分为, 无 (0 分), 轻度 (1 分), 中度 (2 分) 和重度 (3 分)。②两组治疗前后血清 FSH, E₂ 和 LH 测定, 晨起空腹抽取静脉血约 3 mL, 采用酶联免疫吸附 (ELISA) 法于治疗前后检测, 月经周期者均在周期 1 ~ 3 d 检测, FSH 试剂盒 (上海江莱生物科技有限公司, 批号 A20985); E₂ 试剂盒 (上海高创化学科技有限公司,

批号 CSB-E05108 h); LH 试剂盒(上海樊克生物科技有限公司,批号 FK-F8250)。③两组血清生长分化因子-9(GDF-9)和骨形态发生蛋白-15(BMP-15)水平测定,取 ELISA 法于治疗前后测定,GDF-9 试剂盒(上海远慕生物科技有限公司,批号 YM-Y9626);BMP-15 试剂盒(南京赛泓瑞生物科技有限公司,批号 E92107Hu)。

1.7 疗效评判标准 参照《中医病证诊断疗效标准》^[7]制定标准。临床治愈:治疗后月经来潮,维持 3 个周期以上正常行经,临床症状完全消失。好转:治疗后月经恢复来潮,但月经周期未正常,临床症状

有所减轻。无效:治疗后月经未见来潮,且或临床症状无任何改善。

1.8 统计学处理 数据分析采用 SPSS 17.0 统计学分析软件,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验,以 χ^2 检验分析计数资料,以 $P < 0.05$ 为比较差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者中医症状积分比较 治疗后两组患者中医症状各指标积分均明显降低($P < 0.01$);综合组治疗后中医症状各指标积分均明显低于对照组,比较差异有统计学意义($P < 0.01$),见表 1。

表 1 两组患者中医症状积分比较 ($\bar{x} \pm s, n = 58$)

Table 1 Comparison of TCM symptom scores between two groups ($\bar{x} \pm s, n = 58$)

组别	时间	腰膝酸软	五心烦热	头晕	耳鸣	潮热盗汗
对照	治疗前	2.87 ± 0.31	2.83 ± 0.30	2.94 ± 0.33	2.88 ± 0.30	2.81 ± 0.32
	治疗后	1.59 ± 0.17 ¹⁾	1.52 ± 0.16 ¹⁾	1.49 ± 0.17 ¹⁾	1.47 ± 0.16 ¹⁾	1.45 ± 0.17 ¹⁾
综合	治疗前	2.91 ± 0.32	2.85 ± 0.31	2.97 ± 0.32	2.91 ± 0.31	2.83 ± 0.31
	治疗后	0.71 ± 0.09 ^{1,2)}	0.73 ± 0.08 ^{1,2)}	0.69 ± 0.09 ^{1,2)}	0.66 ± 0.08 ^{1,2)}	0.62 ± 0.07 ^{1,2)}

注:与本组治疗前比较¹⁾ $P < 0.01$;与对照组治疗后比较²⁾ $P < 0.01$ (表 3,4 同)。

2.2 两组患者临床疗效比较 综合组临床总有效率为 94.83%,对照组为 81.03%,综合组明显高于对照组,比较差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

表 2 两组患者临床疗效比较

Table 2 Comparison of clinical efficacy between two groups

组别	临床治愈 /例	好转 /例	无效 /例	总有效率 /%
对照	17	30	11	81.03
综合	24	31	3	94.83 ¹⁾

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

2.3 两组患者血清 FSH, E₂ 和 LH 水平检测比较 两组患者治疗后血清 FSH 和 LH 检测水平均明显降低, E₂ 水平升高($P < 0.01$);治疗后综合组血清 FSH 和 LH 水平检测低于对照组, E₂ 水平高于对照组,比较差异有统计学意义($P < 0.01$),见表 3。

表 3 两组患者血清 FSH, E₂ 和 LH 水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 58$)

Table 3 Comparison of FSH, E₂ and LH levels in serum of two groups ($\bar{x} \pm s, n = 58$)

组别	时间	FSH/U·L ⁻¹	E ₂ /ng·L ⁻¹	LH/U·L ⁻¹
对照	治疗前	71.55 ± 7.27	13.48 ± 1.56	44.17 ± 4.72
	治疗后	33.41 ± 3.68 ¹⁾	27.63 ± 2.90 ¹⁾	18.79 ± 2.03 ¹⁾
综合	治疗前	70.97 ± 7.21	13.94 ± 1.75	43.76 ± 4.58
	治疗后	24.82 ± 2.68 ^{1,2)}	33.81 ± 3.62 ^{1,2)}	14.25 ± 1.65 ^{1,2)}

2.4 两组患者血清 GDF-9 和 BMP-15 水平比较 两组患者治疗后血清 GDF-9 和 BMP-15 水平比治疗前

均显著升高($P < 0.01$);治疗后综合组血清 GDF-9 和 BMP-15 水平明显高于对照组,比较差异有统计学意义($P < 0.01$),见表 4。

表 4 两组患者血清 GDF-9 和 BMP-15 水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 58$)

Table 4 Comparison of GDF-9 and BMP-15 levels in serum of two groups ($\bar{x} \pm s, n = 58$)

组别	时间	GDF-9/ng·L ⁻¹	BMP-15/μg·L ⁻¹
对照	治疗前	281.82 ± 28.73	20.68 ± 2.27
	治疗后	329.90 ± 33.85 ¹⁾	52.49 ± 5.45 ¹⁾
综合	治疗前	284.03 ± 29.15	21.02 ± 2.34
	治疗后	395.35 ± 40.67 ^{1,2)}	70.14 ± 7.26 ^{1,2)}

3 讨论

POF 的病因病机较为复杂,至今尚未完全阐明;现代医学认为,POF 的发生发展与感染、代谢、免疫遗传等密切相关;同时,卵巢的生理功能还受到生活习惯、环境因素以及精神情绪等因素影响^[8]。西医临床常采取对症治疗,如激素替代疗法;本研究在对照组患者中给予结合雌激素片和安宫黄体酮片治疗,结果与以往研究报道基本一致^[9]。

POF 在中医学归为“闭经”、“血枯”、“不孕”等范畴,一般认为,肾藏精,主生殖,肾气盛衰在月经周期中起主导作用。《傅青主女科》记载:“经水出诸肾,经水早断,似乎肾水衰涸”;故肾虚是 POF 发病的根本病机。其中肾阴虚是其常见证型,肾阴不足,则肾-天癸-冲任-胞宫生理轴物质基础亏虚,致天癸不足,冲任失调,胞宫胞脉失充,最后引起经水渐断。

因此,治疗 POF 肾阴虚证当以滋补肾阴为主。

归肾丸源于《景岳全书》,由右归丸和左归丸加减化裁而定,方中熟地黄、山药、山茱萸补益肝肾阴血;龟甲胶、鹿角胶为血肉有情之品,二者合用,峻补精血,调合阴阳;当归、白芍养血调经,当归养血活血与补肾之品相配,补养精血;菟丝子、枸杞子补肝肾,强腰膝,健筋骨;山药、茯苓合用健脾以助生化之源。全药配伍,滋先天、补后天,使肾中精血旺盛,则冲任充盈,经水有源,经水可复来。

本组结果显示,在常规西药治疗的基础上给予归肾丸加减治疗 POF 肾阴虚证能够限制改善患者症状积分和激素水平;治疗 3 个疗程后,综合组临床总有效率为 94.83%,对照组为 81.03%,综合组明显高于对照组,比较差异有统计学意义;以上结果均表明在常规西药治疗的基础上采用归肾丸加减治疗 POF 肾阴虚证疗效良好。

近年研究发现,机体 GDF-9 和 BMP-15 均属于转化生长因子- β (TGF- β)家族,主要由卵母细胞分泌,可促进卵母细胞生长,参与 POF 的发病过程^[10]。人 BMP-15 基因位于 X 染色体,大量研究证实其与卵巢功能密切相关。BMP-15 在人体卵泡的发育过程以及早期胚胎体中持续表达,经旁分泌或内分泌方式到达卵巢作用位点,对优势卵泡的选择以及闭锁卵泡的形成进行调控,进而影响卵泡的生长、退化过程^[11]。此外,对不同种族 POF 患者的 BMP-15 基因突变检测发现,其错义突变率可高达 12%,目前 BMP-15 已成为 POF 的候选基因之一^[12]。本研究结果显示,归肾丸加减治疗组患者血清 BMP-15 的表达水平明显高于对照组,比较差异有统计学意义;因此,在常规西药基础上归肾丸加减治疗通过上调体内 BMP-15 水平,达到维持卵巢正常生理功能的作用。

GDF-9 为卵源性生长因子,在结构和功能上与 BMP-15 高度一致;GDF-9 是卵泡发育、排出过程中的重要调节因子,经旁分泌途径促进颗粒细胞增殖,同时调控卵巢功能性激素分泌,在维持卵巢微环境方面起到重要作用^[13]。研究表明,多种因素抑制卵巢 GDF-9 释放,可打乱卵泡发育正常进行,进而引起 POF 发生^[14];本研究结果显示,归肾丸加减治疗组患者血清 GDF-9 的表达水平明显高于对照组,比较差异有统计学意义;因此,在常规西药基础上归肾丸加减治疗通过上调体内 GDF-9 水平,达到维持卵巢正常生理功能的作用。

综上所述,在常规西药基础上给予归肾丸加减治疗 POF 肾阴虚证可显著改善临床症状和激素水平,提高治疗效果,上调患者血清 GDF-9 和 BMP-15 水平是上述治疗作用的可能机制。

[参考文献]

- [1] 肖莘妹,徐漾漾,施余环. 克龄蒙联合坤泰胶囊治疗卵巢早衰疗效观察[J]. 中华全科医学,2015,13(5): 774-775,778.
- [2] 华方方,夏永华,杨君,等. 补水柔木方加安宫黄体酮治疗肾虚肝郁型卵巢早衰的临床观察[J]. 中国中西医结合杂志,2012,32(8):1028-1031.
- [3] 徐碧红,李茂清,骆宇戟. 补肾调经方配合激素替代疗法治疗卵巢早衰患者的临床观察[J]. 中国中西医结合杂志,2013,33(10):1332-1335.
- [4] 蒋贵林,王转丽,刘晓燕,等. 归肾丸合热敏灸治疗卵巢早衰 32 例[J]. 江西中医药,2007,12(38):45-46.
- [5] 林燕,马建峰. 归肾丸加味治疗卵巢早衰[J]. 湖北中医杂志,2011,33(1):48.
- [6] 乐杰. 妇产科学[M]. 7 版. 北京:人民卫生出版社,2008:321.
- [7] 国家中医药管理局. 中医病证诊断疗效标准[S]. 南京:南京大学出版社,1994:233-234.
- [8] 唐邹颖,马艳萍,武泽,等. 卵巢早衰的相关因素与预防[J]. 中华临床医师杂志,2014,8(24):4485-4488.
- [9] 金志春,黄晓桃,杨雅琴,等. 补肾活血方联合雌孕激素治疗卵巢早衰的临床研究[J]. 中国中西医结合杂志,2013,33(5):586-589.
- [10] Sun R Z, Lei L, Cheng L, et al. Expression of GDF-9, BMP-15 and their receptors in mammalian ovary follicles [J]. J Mol Histol,2010,41(6):325-332.
- [11] Akiyama I, Yoshino O, Osuga Y, et al. The localization and regulation of proprotein convertase subtilisin/kexin (PCSK) 6 in human ovary[J]. Am J Reprod Immunol, 2012,68(6):491-498.
- [12] Persani L, Rossetti R, Cacciatore C. Genes involved in human premature ovarian failure [J]. J Mol Endocrinol,2010,45(6):257-279.
- [13] Daoud N M, Mahrous K F, Ezzo O H. Feed restriction as a biostimulant of the production of oocyte, their quality and GDF-9 gene expression in rabbit oocytes [J]. Anim Reprod Sci,2012,136(1-2):121-127.
- [14] Liang L L, Liu Y Q, Li H S, et al. Study on ovary development in vitrification of embryos born mice and expression of growth differentiation factor 9 [J]. Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi,2012,47(9):676-680.