

·理论探讨·

本文引用: 赵昱璇, 梁启惠, 陈雯, 韩昀芮, 吴海萃. 基于“肾主生殖”理论探讨中医治疗 DOR 型不孕症的生物学机制[J]. 湖南中医药大学学报, 2024, 44(2): 320-326.

基于“肾主生殖”理论探讨中医治疗 DOR 型不孕症的生物学机制

赵昱璇¹, 梁启惠², 陈雯², 韩昀芮¹, 吴海萃^{3*}

1. 山东中医药大学中医学学院, 山东 济南 250013; 2. 山东中医药大学第一临床医学院, 山东 济南 250199;

3. 山东中医药大学附属医院, 山东 济南 250011

[摘要] 在中医学“肾主生殖”的理论指导下, 中医治疗不孕症多以补肾为主。卵巢储备功能下降(diminished ovarian reserve, DOR)是临床导致不孕症的主要病因, DOR型不孕症的发病率逐年增加且发病年龄呈年轻化趋势。中医补肾法在治疗 DOR型不孕症方面具有独特优势, 其生物学机制主要是调节下丘脑-垂体-卵巢轴神经内分泌功能、抑制卵巢颗粒细胞异常程序性死亡、调节免疫功能、改善卵巢过度氧化应激状态、改善线粒体功能、调节子宫内膜容受性, 从而改善卵巢功能, 提高生育能力。对近年来中医补肾法治疗 DOR型不孕症的生物学机制进行总结, 为临床应用“肾主生殖”理论治疗 DOR型不孕症提供新思路。

[关键词] 肾主生殖; 卵巢储备功能下降; 不孕症; 补肾法; 下丘脑-垂体-卵巢轴; 生物学机制

[中图分类号]R271.14

[文献标志码]A

[文章编号]doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2024.02.021

Biological mechanism of Chinese medicine in treating DOR type infertility based on the theory of "kidney governing reproduction"

ZHAO Yuxuan¹, LIANG Qihui², CHEN Wen², HAN Yunrui¹, WU Haicui^{3*}

1. School of Chinese Medicine, Shandong University of Chinese Medicine, Jinan, Shandong 250013, China; 2. The First School of Clinical Medicine, Shandong University of Chinese Medicine, Jinan, Shandong 250199, China; 3. Hospital of Shandong University of Chinese Medicine, Jinan, Shandong 250011, China

[Abstract] Guided by the theory of "kidney governing reproduction", the treatment of infertility in Chinese medicine mainly focuses on tonifying the kidney. Diminished ovarian reserve (DOR) is a common clinical disease leading to infertility. The incidence of DOR type infertility is increasing year by year and the age of onset tends to be younger. The kidney-tonifying method in Chinese medicine has unique advantages in treating DOR type infertility, the biological mechanism of which is mainly related to regulating the neuroendocrine functions of the hypothalamic-pituitary-ovarian axis, inhibiting abnormal programmed death of ovarian granulosa cells, adjusting abnormal immune functions, relieving excessive ovarian oxidative stress, improving the mitochondrial functions, regulating endometrial receptivity to improve ovarian functions, and thus enhancing fertility. This paper has summarized the biological mechanism of the kidney-tonifying method in Chinese medicine for DOR type infertility in recent years, providing new ideas for the clinical application of the "kidney governing reproduction" theory to the treatment of this disease.

[Keywords] kidney governing reproduction; diminished ovarian reserve; infertility; kidney-tonifying method; hypothalamic-pituitary-ovarian axis; biological mechanism

[收稿日期]2023-10-18

[基金项目]国家自然科学基金项目(82274573);山东省自然科学基金项目(ZR2021MH255);山东省泰山学者工程项目(tsqn202103182)。

[通信作者]* 吴海萃, 女, 博士, 主任医师, 硕士研究生导师, E-mail: haicui_w@163.com。

卵巢储备功能下降(diminished ovarian reserve, DOR)指40岁以下的育龄期女性卵巢内卵母细胞数量减少或质量下降,是育龄期女性不孕的重要原因之一。近年来,DOR的发病率不断增加,DOR型不孕症的发病率也随之增加,且患病年龄呈年轻化趋势^[1],为其寻找有效治疗已成为生殖健康领域最突出的研究课题之一。《素问·上古天真论篇》中提出“肾主生殖”的理念,阐释了在肾气充盛条件下,“天癸至,任脉通,太冲脉盛,月事以时下,故有子”的受孕机制,表明肾在女性生殖功能中的主导作用。基于肾主生殖理念,在不孕症治疗中多以补肾为主,中医通过辨证论治,可以从整体上调节和改善卵巢功能。因其疗效明显、不良反应少,故补肾法在DOR型不孕症的治疗中占有独特优势。本文从肾主生殖方面对近年来中医治疗DOR型不孕症的文献进行综述,以期改善卵巢储备功能,治疗DOR型不孕症提供新的启示。

1 西医学对DOR型不孕症的机制认识

1.1 卵母细胞发育异常

拥有成熟健康的卵子是女性能够成功妊娠的首要条件。由于DOR患者下丘脑-垂体-卵巢轴(hypothalamic-pituitary-ovarian axis, HPOA)神经内分泌功能异常,导致体内激素水平紊乱,使卵泡正常发育受阻;加之患者卵巢体内线粒体功能异常、颗粒细胞异常程序性死亡以及氧化应激状态等影响,使得卵母细胞发育异常,未成熟卵泡提前闭锁^[2-5];另外免疫功能的异常对卵巢组织的损伤以及其他病理因素的影响,患者卵巢内卵母细胞数量减少,质量下降^[6]。卵子数量的减少使得排卵率下降,最终导致不孕症的发生。即使有卵子排出,由于卵子质量问题,能够成功妊娠的概率也十分有限。

1.2 子宫内膜容受性下降

子宫内膜容受性是指囊胚被子宫内膜接受并且成功种植的一种重要能力,是女性成功妊娠过程中的重要一环。子宫内膜是HPOA的下游靶点之一,其形态和功能受卵巢激素水平变化的影响。因此,DOR患者卵巢病变会对子宫内膜产生直接影响^[7]。DOR患者促卵泡生成激素(follicle-stimulating hormone, FSH)水平偏高,雌激素异常,使得内膜转化与月经周期不同步,导致子宫内膜容受性降低,使得囊胚在子宫内膜成功种植的难度增大,从而导致不孕症的发生。

2 中医学对DOR型不孕症的认识

2.1 病名认识

中医文献对“不孕症”的病名早有阐释,但并无DOR的记载,根据DOR患者以月经周期异常为主要临床表现,可将其归于中医学“月经愆期”“月经稀发”“经闭”范畴;育龄期DOR患者多表现为生育能力下降,也可将其归于“不孕症”范畴。

2.2 病因病机认识

近年来,刘柳青等^[8]深入挖掘131篇DOR相关文献,总结发现其涉及16个相关证型,其病机以肾虚为本,主要兼有肝郁、血瘀,兼脾虚、心虚者次之。DOR所导致的不孕症的病因病机亦与之类似。中医学认为肾主生殖,为先天之本,主藏精,既藏先天之精,又藏后天水谷之精,是生殖发育的本源。《灵枢·决气》记载“两神相搏,合而成形”,认为胎孕的形成是父母先天之精的结合,表明人体生殖功能的正常运行离不开肾所提供的物质基础。《医学衷中参西录·寿胎丸》提到对于男女正常生育过程的进行“皆赖肾气作强”,认为“肾旺自能荫胎”,表明肾的推动作用在其中的重要性。《素问·上古天真论篇》中“七七理论”阐释了肾与天癸、冲任、月经之间的密切联系,表明肾在调控女性生殖功能中的重要作用^[9]。肾精不足,肾气亏虚,则天癸化生无源。肾精、肾气以及天癸的缺乏致使卵子排出缺乏动力,三者的推动作用下降,致使冲任不充,造成血海空虚,导致卵泡发育以及内膜的生长缺乏物质基础,最终影响卵巢储备以及卵子在胞宫内的着床,造成DOR,导致生殖功能受损。故肾精、肾气以及天癸的缺乏是DOR型不孕症的主要病因病机。肝肾同源,精血互化,若肝失条达,冲任不畅,肝血不盈,化精之血缺乏,可使天癸化生受阻,造成天癸亏虚。再者,DOR是渐进式发展性疾病,瘀血既是疾病发展的病理产物,也是其致病因素,瘀阻胞宫,新血不生,则卵巢血供不足导致不孕。脾虚则气血生化乏源,后天之本无力充养肾之先天,致使冲任亏虚,血海不充,卵泡发育缺乏物质基础,导致本病的发生。心神不宁,心气不能下通于肾,使得心肾失交。肾虚、肝郁、血瘀、脾虚、心虚所影响的肾功能,在不同程度上影响卵子的生成及子宫内膜的发育与转化,最终致使不孕症的发生。

金哲教授认为本病以肾精不足为本,血瘀为其病理状态,兼有心、肝、脾三脏功能失调^[10];夏桂成教授提出“心-肾-胞宫”理论,认为本病病机主要为心肾失于交合,“心-肾-胞宫”轴调节紊乱,体内阴阳

平衡失常^[11];罗颂平教授认为本病病机为脾肾虚弱,冲任不盛^[12]。对于DOR型不孕症,各医家辨证重点各有差异,但肾虚为本是大多数医家的共识,故而补肾法在本病的治疗中占据主导地位。

3 补肾法治疗DOR型不孕症的机制

肾藏精,主生殖,肾精可以促进生殖器官的成熟,同时还可以维持生殖器官的正常功能,生殖之精是肾精的重要组成部分,并且李璇等^[13]认为卵子肾主女性生殖之精的生物学基础之一。当肾中精气充盛,阴阳平衡时,肾精化生肾气,肾气推动天葵的产生;肾气和天葵共同推进生殖之精——卵子的发育和成熟,卵子的排出也有赖于肾气的推动作用;在肾精、肾气和天葵的共同推动作用,任脉和冲脉将气血输送至女子胞,调整子宫内环境,为受精卵在子宫内着床与生长做好准备。对于DOR型不孕症患者,补肾法可以滋补肾精,充盈肾气,平衡肾中阴阳,通过多种机制有效改善患者的临床症状,可能的作用机制如下。

3.1 调节HPOA神经内分泌功能

HPOA是女性生殖内分泌系统的重要组成部分,与女性体内激素水平相互作用、相互影响,对卵泡发育以及排卵发挥着重要的调控作用,从而影响女性正常妊娠,其功能紊乱是导致DOR型不孕症发病的重要机制之一。中医学中的肾-天葵-冲任-子宫轴与HPOA功能极为相似。肾在肾-天葵-冲任-子宫轴功能的正常发挥中占据主导地位,也影响着HPOA的作用。补肾疗法在调节HPOA神经内分泌功能方面在临床效果以及实验研究中得到多方位验证。研究表明,补肾类中药能够直接或间接作用于卵巢,从整体上调节机体的HPOA功能,提高抗米勒管激素(anti-Müllerian hormone, AMH),降低FSH,改善卵巢内分泌环境,增加窦卵泡计数(antral follicle counting, AFC),促进卵泡发育,改善卵巢的储备功能^[14]。补肾活血方可整体调控肾-天葵-冲任-子宫轴,调节HPOA的内分泌功能,使DOR大鼠FSH水平下降,血清AMH水平上升,有效改善DOR型不孕症患者的临床症状^[15]。卵巢体积是卵巢储备的潜在指标,影响女性正常妊娠,HPOA内分泌功能异常导致的激素水平波动可影响卵巢体积。知柏地黄丸联合坤泰胶囊能有效稳定血清内激素水平,改善卵巢平均直径、平均容积以及AFC,提高患者的妊娠率^[16]。除单纯使用方药治疗外,针药结合治疗也是改善HPOA功能紊乱的有效手段。研究表明,通过针刺肾俞、命门等补肾填精、调和冲任的腧穴,联合服用加

减二仙汤可调节HPOA,促进颗粒细胞分泌,提高血清AMH,促进卵巢功能恢复,改善DOR患者的不孕症^[17]。

3.2 改善线粒体功能

线粒体是细胞能量代谢的重要细胞器,参与许多细胞基本功能调节,在卵母细胞发育、卵子排出、受精以及后续胚胎发育过程中发挥着重要的调控作用,线粒体的数量、质量和功能异常与生殖类疾病的发生密切相关^[18]。中医学认为,天葵是维持女性正常生殖能力所必需的精微物质。分析对比天葵与线粒体在调节女性生殖功能中发挥的作用,二者之间存在一定的相似性^[19]。天葵与线粒体在女性生殖功能中充当着提供活力的角色并发挥推动作用。肾中精气充足,天葵充盛,则线粒体功能良好,可促进女性生殖细胞的发育及成熟;当肾气不足,肾精亏虚时,气的推动作用下降,天葵化生无源,则线粒体活性下降,形态受损,造成线粒体功能障碍,从而对卵巢储备以及正常妊娠造成影响。

大量研究表明,当线粒体功能出现障碍时,卵母细胞以及颗粒细胞功能亦会受到严重影响甚至发生凋亡,使卵巢储备下降,影响女性正常妊娠^[20]。补肾类中药可有效改善线粒体功能,促进ATP合成,改善细胞活性^[21]。暖巢煲有补肾填精、暖巢养卵之功,灌胃后,小鼠卵巢颗粒细胞线粒体数量显著增多,线粒体形态异常的情况改善^[22]。线粒体异常凋亡是造成颗粒细胞异常凋亡的重要原因之一,B细胞淋巴瘤蛋白-2(B-cell lymphoma protein-2, Bcl-2)是一种抗凋亡蛋白;而Bcl-2相关X蛋白(Bcl-2 associated X protein, Bax)是一种促凋亡蛋白,以这两种蛋白为代表的Bcl-2家族蛋白在线粒体外膜发挥作用,是调控线粒体凋亡的途径之一。研究表明,补肾生精调和气血法能够调控Bcl-2相关线粒体凋亡信号通路,从而抑制卵巢颗粒细胞凋亡、恢复DOR大鼠卵泡生长^[23]。在哺乳动物的卵泡发育过程中,卵母细胞与颗粒细胞之间形成的缝隙连接发挥着重要作用。通过这些连接,卵母细胞可以获取所需的营养物质和调控信号。缝隙连接的主要成分是间隙连接蛋白(connexin protein, CX)^[24]。补肾调经方可以增加颗粒细胞CX的表达,改善线粒体功能,减少卵丘颗粒细胞的凋亡,从而提高卵母细胞的质量,改善DOR的临床表现,提高患者的妊娠率^[25]。

3.3 抑制颗粒细胞异常程序性死亡

程序性细胞死亡的稳定运行是维持正常细胞更新和组织稳态的必要条件。颗粒细胞围绕卵母细胞,

两者之间关系密切,粒细胞程序性死亡的正常运行在卵泡发育和成熟中起着至关重要的作用^[26]。气血阴阳调和是维持人体稳态的关键,细胞程序性死亡作为维持人体稳态的重要组成部分,其正常运行也有赖于机体内阴阳平衡的保持以及气的调控作用。正常情况下,肾气充足,精气转化,阴平阳秘,在精气阴阳的调控下粒细胞正常程序性死亡,既无太过,亦无不及,以维持机体稳态。但当肾气虚衰,阴阳失衡,粒细胞程序性死亡失于调控,机体稳态被打破,粒细胞发生异常程序性死亡时,可导致卵泡闭锁、卵泡丢失,造成 DOR,导致患者不孕症。中医治病强调“以平为期”,通过补益肾气,滋补肾阴,温补肾阳,平衡肾中阴阳,从而使 DOR 不孕症患者卵巢粒细胞异常程序性死亡重归稳态。

3.3.1 改善粒细胞异常凋亡 研究表明,粒细胞过度凋亡是导致卵泡闭锁,引起卵巢功能提前下降的主要原因^[27]。若肾气不足,对粒细胞失于调控,则凋亡发生异常。肾为一身阴阳之本,肾阴不足或肾阳虚衰均会导致阴阳失衡。凋亡相关物质属阴,若肾阴不足,阴性物质失于调控收敛,导致异常凋亡;而凋亡抵抗相关物质属阳,肾阳不足则阳性物质触发无力,导致异常凋亡^[28]。因此,补肾法可有效抑制卵巢粒细胞的异常凋亡。补肾养精颗粒中用淫羊藿以温煦肾阳,发挥其阳中求阴的功用,该方可降低凋亡相关因子半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(cysteiny l aspartate specific proteinase 3, Caspase-3)的表达,减少粒细胞异常凋亡,进而改善血清 FSH、黄体生成素(luteinizing hormone, LH)水平,促进卵泡的发育,改善卵巢储备功能,改善不孕症状^[29]。磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B(protein kinase B, Akt)是能够调控原始卵泡募集以及生长的重要信号通路。益肾养卵方由左归丸加减而成,该方在补肾阴、助肾阳、益肾气的同时,还可健脾疏肝养血。研究表明,益肾养卵方可以通过调节 PI3K/Akt 信号通路,抑制卵巢粒细胞凋亡,提高患者卵巢储备功能,提高患者生育能力^[30]。叉头框蛋白 O3a(forkhead box O3a, FoxO3a)是 FoxO 转录因子的家族成员,主要在早期闭锁卵泡的粒细胞中表达并诱导细胞凋亡^[31]。六味地黄丸是滋肾阴的经典方,在临床治疗中发现,其可提高 PI3K、Akt 的表达水平,降低 FoxO3a 转录因子的表达,从而抑制粒细胞异常凋亡,减少卵泡闭锁,改善患者体外受精结局,提高患者妊娠率^[32]。

3.3.2 抑制粒细胞异常自噬 卵泡闭锁被认为完全由粒细胞凋亡引起,但据近几年研究报道,

粒细胞异常自噬通过影响凋亡性细胞死亡也在卵泡闭锁中发挥重要作用^[33-34]。白俊等^[35]认为,卵巢粒细胞自噬的正常运行离不开肾中精气阴阳的共同调控。粒细胞自噬的正常运行有赖于肾中气的调控,其正常进行既是肾中阴阳平衡的表现,也是维持肾阴阳平衡的条件。Beclin-1 是细胞自噬的启动蛋白;微管相关蛋白轻链 3(microtubule-associated protein 1 light chain 3, LC3)是自噬体膜形成的标记蛋白,LC3 最终转化为 LC3 II;p62 是自噬底物蛋白。故细胞自噬水平常用 Beclin-1、LC3 II 和 p62 的表达衡量。补肾养精汤阴阳并补,益气填精,可以通过调节 Beclin-1 和 Lc3 II mRNA 的表达,提高 p62 mRNA 的表达水平,从而抑制粒细胞的自噬作用,降低血清 FSH 和 LH 的含量,增加雌二醇(estradiol, E₂)和 AMH 的含量,进而促进各级卵泡的发育,改善卵巢储备功能,增加患者妊娠率^[36]。左归丸是滋补肾阴的代表方,在环磷酰胺诱导的 DOR 小鼠中发现,左归丸可以通过降低 Beclin-1、LC3B 蛋白及 mRNA 表达和提高 p62 蛋白及 mRNA 表达来抑制卵巢内粒细胞的过度自噬,促进卵巢储备功能的恢复,缓解与环磷酰胺相类似的细胞毒性药物带来的生殖损伤^[37]。

3.3.3 减少粒细胞异常焦亡 细胞焦亡是一种依赖于焦孔素(Gasdermin, GSDM)家族蛋白形成的以细胞肿胀、质膜穿孔及炎性小分子释放为特征的裂解性、促炎性、程序性细胞死亡。慢性炎症可导致卵泡丢失,进而导致卵巢储备减少,而炎症小体是导致慢性炎症的重要因素,由炎症小体核苷酸结合寡聚化结构域(nucleotide binding oligomerization domain, NOD)样受体热蛋白结构域相关蛋白 3(NOD-like receptor domain-containing protein 3, NLRP3)激活触发的粒细胞焦亡是 DOR 病理状态下的另一种程序性细胞死亡^[38]。在粒细胞所在的卵巢微环境中,肾气发挥着传导中介的作用,其不仅调控着细胞焦亡中相关蛋白的触发,还发挥着类似中介作用的炎症小体。若肾气不足,失于调控,肾阴抑制宁静作用以及肾阳激发兴奋作用失常,则粒细胞发生异常焦亡。GUO 等^[39]认为,Caspase-1 的激活,并催化前体细胞因子白细胞介素-1 β 前体(pro-interleukin-1 β , pro-IL-1 β)和 pro-IL-18 分裂成为成熟和活跃的形式,与细胞焦亡密切相关。而消皮素 D(Gasdermin D, GSDMD)是一种中枢效应蛋白和执行蛋白,通过诱导质膜形成膜孔来实现焦亡^[40]。补肾促孕方可明显降低腹腔注射环磷酰胺诱导 DOR 大鼠卵巢内 GSDMD、Caspase-1 和 IL-18 的表达,抑制粒细胞焦亡情况,

改善DOR大鼠临床症状^[41]。硫氧还原蛋白互作蛋白(thioredoxin interacting protein, TXNIP)是体内的关键抗氧化剂,是通过与NLRP3的直接相互作用激活NLRP3炎症小体的必需物质。在环磷酸腺苷注射诱导的DOR大鼠中发现,艾灸可以直接抑制TXNIP/NLRP3/Caspase-1信号转导的细胞焦亡,有效改善大鼠卵巢损伤状况^[38]。关于中医补肾法治疗DOR不孕症患者细胞异常焦亡的相关机制的研究,目前相对较少,仍需进一步探索。

3.4 调节免疫功能异常

免疫功能异常导致大量抗体产生以及细胞激活,阻碍卵泡发育甚至损伤自体组织,加快卵巢储备耗尽的速度,是导致DOR型不孕症的重要原因之一^[42]。冯建华^[43]认为,免疫功能异常应属于中医学“先天不足”的范畴。肾为先天之本,先天不足,肾中气血阴阳亏虚,对机体维系自身抗御外邪的功能失于调控,相关免疫因子作用紊乱,从而导致免疫功能的紊乱。因此,补益先天之肾在调节免疫功能中发挥着重要作用。T淋巴细胞分为白细胞分化抗原4⁺(cluster of differentiation 4⁺, CD4⁺)和CD8⁺亚群,CD4⁺T细胞有辅助性T细胞1(T helper cell 1,Th1)和Th2两个亚群,两者共同调控着机体的免疫反应,Th1/Th2处于平衡状态,在机体正常免疫功能的维持中发挥着至关重要的作用。通过电针刺激补肾固精、调理冲任的相关穴位可以平衡Th1/Th2,促进DOR大鼠性激素水平恢复稳态,调节卵巢免疫异常,减轻卵巢免疫损伤,抑制卵巢功能减退的进程,促进卵巢储备功能以及妊娠能力的恢复^[44]。T盒子转录因子(T-box transcription factor, T-bet)、维甲酸相关核孤儿受体C/γt(retinoid-related orphan nuclear receptor C/γt, RORC/RORγt)、叉头/翅膀状螺旋转录因子3(fork-head/winged helix family transcription factor 3,Foxp3)不仅是Th1、Th17和调节性T细胞(regulatory T cells, Treg)的特定转录因子,还在T细胞的分化和增殖过程中发挥着重要作用。在环磷酸腺苷诱导的DOR小鼠治疗中发现,补肾活血方可以提升外周血中CD4⁺T细胞、Th1、Th17、Treg细胞亚群比例,降低血清中干扰素-γ、IL-17A、IL-6、IL-10等炎症细胞因子水平,降低T-bet、RORγt、Foxp3 mRNA表达水平,显著减弱卵泡损失,有利于DOR患者正常生育的实现^[45]。细胞因子Toll样受体(Toll-like receptors, TLR)是免疫系统的重要受体,能够识别病原相关分子模式。研究表明,TLR相关受体TLR1、TLR2介导的信号通路能够上调炎症因子表达,是诱导炎症因子表达的主要途径^[46],DOR患者治疗前TLR1、TLR2高表达,

而滋肾温阳汤可有效下调其表达,抑制炎症因子分泌,改善卵巢储备情况,提高患者妊娠率^[47]。

3.5 改善卵巢过度氧化应激状态

氧化应激是指体内氧化与抗氧化失衡的状态,当卵巢处于氧化应激状态时,持续过量的自由基刺激会影响卵泡发育以及卵子排出,并使卵母细胞和颗粒细胞发生异常凋亡,导致女性卵巢储备功能下降,影响女性正常生育功能^[48]。正常人体内活性氧物种和抗氧化物酶水平维持平衡,若机体正气不足,抗氧化能力减弱,活性氧物种和抗氧化物酶之间的平衡被打破,可导致产生活性氧过多,从而引起人体内氧化应激反应的发生。基于中医“肾主生殖”理论,抗氧化治疗可归于扶正补虚的范畴^[49]。腹腔注射环磷酸腺苷诱导的DOR大鼠在经补肾生精调和气血方治疗后,血清FSH、LH、脂质过氧化丙二醛水平明显降低,血清E₂、卵巢超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)、还原型谷胱甘肽以及总抗氧化能力水平显著升高,从而调节机体内自由基和过氧化物的代谢平衡,缓解氧化应激对卵巢的损伤,减少闭锁卵泡数量^[50]。补肾调经方可通过保护线粒体结构与功能,上调SOD及谷胱甘肽过氧化物酶活性及表达,以提高卵母细胞抗氧化能力,进而提高卵母细胞质量^[51]。补肾类中药——枸杞子的主要成分是枸杞多糖,可通过下调8-羟基脱氧鸟苷和脂质过氧化产物表达水平,提高AMH表达,修复重复控制性超促排卵引起的卵巢氧化损伤,进而促进卵巢储备功能以及生殖潜力的恢复与提高^[52]。

3.6 调节子宫内膜容受性

中医学认为,子宫内膜容受性受肾-天癸-冲任-子宫轴调控,肾与胞宫紧密联系,DOR型不孕症患者以肾虚为本,肾虚则天癸生化乏源,冲任亏虚,血海不充,从而缺乏滋养胞宫的物质基础,致使子宫内膜容受性低下,造成本病的发生。同时,因气虚推动无力,胞宫血行受阻,所以临床上子宫内膜容受性低下的DOR患者多有肾虚血瘀的表现。补肾活血中药能补益肾气,调节胞宫及冲任气血,增加子宫内膜的厚度以及血流量,促进子宫内膜的生长^[53]。补肾化瘀方是滋补肾阴肾阳、活血化瘀的代表方,可调节血清性激素及AMH水平,提升子宫内膜厚度,降低子宫动脉、卵巢动脉阻力指数及搏动指数,改善子宫内膜容受性,提升DOR型不孕症患者的胚胎着床率^[54]。在研究中发现,资癸女贞胶囊可增加患者排卵期子宫内膜厚度,为妊娠提供更适宜的条件,提高妊娠率及活产率^[55]。除方药治疗外,取益气健脾补肾、活血通络之腧穴进行电针疗法,也可以有效促进

DOR 患者的子宫内膜向更利于妊娠的方向转化,提高临床妊娠率、胚胎种植率及活产率^[56]。

4 总结与展望

基于“肾主生殖”理论的指导,中医补肾法在治疗 DOR 型不孕症中取得了显著疗效,体内外实验以及动物实验证实了补肾法主要通过调节 HPOA 神经内分泌功能、抑制卵巢颗粒细胞异常程序性死亡、调节免疫功能异常、改善卵巢过度氧化应激状态、改善线粒体功能、调节子宫内膜容受性等治疗 DOR 型不孕症的生物学机制,证明了中医补肾法治疗本病的独特优势。但通过文献总结及分析发现,中医治疗 DOR 型不孕症的研究仍存在一些问题。第一,当前在补肾法治疗本病的研究中,对其作用通路以及靶点的研究较为单一,缺乏各通路以及各靶点间联动机制的探索,补肾法发挥作用的调控网络尚不明确;第二,补肾类方剂的中药成分复杂,补肾外治法作用机制研究不充分,二者具体作用部位、作用途径以及中药起效成分尚待进一步探究。

综上,围绕基于肾主生殖理论,补肾法治疗本病的诸多问题,在今后临床上应充分应用中医“治未病”思想,运用“未病先防”“既病防变”的理念,在中医辨证论治的同时,结合西医实验室检查以及超声检测,早预防、早发现、早治疗,及时遏制 DOR 型不孕症的产生。在研究上可应用基因组学、转录组学、蛋白质组学、代谢组学等学科,从微环境维度对 DOR 型不孕症的生物学机制进行更深入的探究,改善卵巢储备功能,以期更好地阐明中医治疗本病的作用机制及科学内涵。

参考文献

- [1] 孔珏莹, 万怡婷, 陈静, 等. 朱氏调经促孕方加减治疗卵巢储备功能下降的临床观察[J]. 云南中医中药杂志, 2023, 44(4): 26-30.
- [2] GENG X Y, HE Z H, BAO Z Z, et al. Aberrant HPO axis alterations and autoimmune abnormalities in PCOS patients with DOR: A retrospective analysis[J]. Journal of Clinical Medicine, 2023, 12(16): 5212.
- [3] LU X M, LIU Y B, XU J, et al. Mitochondrial dysfunction in cumulus cells is related to decreased reproductive capacity in advanced-age women[J]. Fertility and Sterility, 2022, 118(2): 393-404.
- [4] ZHANG Y Y, YAN Z Q, QIN Q Y, et al. Transcriptome landscape of human folliculogenesis reveals oocyte and granulosa cell interactions[J]. Molecular Cell, 2018, 72(6): 1021-1034. e4.
- [5] KALTSAS A, ZIKOPOULOS A, MOUSTAKLI E, et al. The silent threat to women's fertility: Uncovering the devastating effects of oxidative stress[J]. Antioxidants, 2023, 12(8): 1490.
- [6] WINSHIP A L, ALESI L R, SANT S, et al. Checkpoint inhibitor immunotherapy diminishes oocyte number and quality in mice[J]. Nature Cancer, 2022, 3(8): 1-13.
- [7] 张亚萍, 游琛, 张静, 等. 当归芍药散对卵巢储备功能下降模型大鼠子宫内膜容受性影响研究[J]. 时珍国医国药, 2023, 34(5): 1036-1040.
- [8] 刘柳青, 刘雁峰, 王悦竹, 等. 卵巢储备功能下降中医证型特点及用药规律文献挖掘研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2021, 28(6): 33-38.
- [9] 张弛, 张伟, 传鹏, 等. 马烈光教授论《黄帝内经》生殖健康观[J]. 成都中医药大学学报, 2022, 45(4): 67-70.
- [10] 刘小月, 黄海涛, 卜晓玲, 等. 金哲诊治卵巢储备功能下降经验[J]. 山东中医杂志, 2021, 40(12): 1356-1359.
- [11] 张莉, 周丽, 唐艳, 等. 基于“心-肾-胞宫”学说理论下的养心清肝育麟方对卵巢储备功能低下性不孕症患者促排卵效果及性激素水平的影响[J]. 中国性科学, 2023, 32(1): 105-109.
- [12] 吕孝丽, 郜洁, 周月希, 等. 罗颂平治疗卵巢储备功能下降不孕症经验[J]. 中医杂志, 2020, 61(13): 1139-1141.
- [13] 李璇, 张启明, 梁素萍, 等. 肾主生殖的生物学基础[J]. 中医学报, 2020, 35(1): 14-18.
- [14] 李善霞, 何东云, 张艳红, 等. 补肾养血方治疗肾阴虚型卵巢储备功能下降的临床观察[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(2): 361-364.
- [15] 赵井苓, 王娟, 萧冈, 等. 补肾活血方调节卵巢储备功能下降大鼠生殖激素水平的实验研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2021, 41(7): 1031-1036.
- [16] 卢君, 何玉婷. 知柏地黄丸联合坤泰胶囊治疗卵巢储备功能低下患者的临床观察[J]. 中国临床药理学杂志, 2022, 38(20): 2401-2405.
- [17] 刘玉莹, 凌娜, 白云. 针灸联合加减二仙汤对卵巢储备功能减退大鼠血清中 AMH 的影响[J]. 时珍国医国药, 2022, 33(2): 329-332.
- [18] JIANG Z X, SHEN H. Mitochondria: Emerging therapeutic strategies for oocyte rescue[J]. Reproductive Sciences, 2022, 29(3): 711-722.
- [19] 赖昊, 连方, 郭颖, 等. 卵母细胞中线粒体参与调节女性生殖功能的研究进展[J]. 中国性科学, 2021, 30(5): 56-58.
- [20] LABARTA E, DE LOS SANTOS M J, ESCRIBÁ M J, et al. Mitochondria as a tool for oocyte rejuvenation[J]. Fertility and Sterility, 2019, 111(2): 219-226.
- [21] 杨珍, 冯逊逊, 董晓英. 毓麟珠通过改善小鼠卵巢微环境防治早发性卵巢功能不全的作用机制研究[J]. 生殖医学杂志, 2020, 29(2): 231-237.
- [22] 周虹, 李兰, 刘文娥, 等. 暖巢煲调控线粒体功能改善早发性卵巢功能不全的实验研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2023, 43(6): 1014-1020.
- [23] 黄佳梅, 蔡紫璐, 张花, 等. 补肾生精调和气血法调控 Bel-2 相关线粒体凋亡信号通路改善大鼠卵巢储备功能的研究[J]. 广州中医药大学学报, 2023, 40(1): 155-162.
- [24] 毛晓燕, 丘瑾. 人卵母细胞成熟过程中卵丘细胞与卵母细胞关系的研究进展[J]. 同济大学学报(医学版), 2018, 39(5): 123-127.

- [25] 吕金梦, 耿静然, 张拴成, 等. 补肾调经方对体外培养小鼠卵母细胞线粒体功能及其与卵丘颗粒细胞间隙连接的影响[J]. 中华中医药杂志, 2023, 38(1): 131-135.
- [26] ZANJIRBAND M, HODAYI R, SAFAEINEJAD Z, et al. Evaluation of the p53 pathway in polycystic ovarian syndrome pathogenesis and apoptosis enhancement in human granulosa cells through transcriptome data analysis[J]. Scientific Reports, 2023, 13(1): 11648.
- [27] 肖 潇, 刘艳霞, 危一飞, 等. 基于 PI3K/Akt/mTOR 信号通路探讨益肾疏肝汤对卵巢储备功能减退大鼠下丘脑-垂体-卵巢轴及卵巢颗粒细胞凋亡的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2023, 32(8): 1023-1029.
- [28] 陆乾人, 周庆华, 顾翔华, 等. 用阴阳理论来探析细胞凋亡中医药调控机制的实质[J]. 陕西中医, 2011, 32(5): 574-578.
- [29] 张 芳, 师 伟, 刘 震, 等. 基于 Rho/ROCK 信号通路探讨补肾养精颗粒改善早发性卵巢功能不全模型大鼠卵巢功能的机制[J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(5): 2678-2683.
- [30] 张 慧, 李雯雯, 张建涛. 益肾养卵方对早发性卵巢功能不全患者卵巢储备功能、卵巢颗粒细胞 Bcl-2/Bax 的表达及 PI3K/AKT 信号通路的影响[J]. 中医药导报, 2021, 27(9): 108-111, 116.
- [31] MATSUDA F, INOUE N, MAEDA A, et al. Expression and function of apoptosis initiator FOXO3 in granulosa cells during follicular atresia in pig ovaries[J]. The Journal of Reproduction and Development, 2011, 57(1): 151-158.
- [32] 吴海萃, 张建伟, 冯 帅, 等. 六味地黄颗粒对肾虚高龄不孕患者 IVF 结局及卵巢颗粒细胞的影响[J]. 山东中医杂志, 2019, 38(6): 523-529.
- [33] CHOI J, JO M, LEE E, et al. Induction of apoptotic cell death via accumulation of autophagosomes in rat granulosa cells[J]. Fertility and Sterility, 2011, 95(4): 1482-1486.
- [34] CHENG D, ZHENG B, SHENG Y, et al. The roles of autophagy in the genesis and development of polycystic ovary syndrome[J]. Reproductive Sciences, 2023, 30(10): 2920-2931.
- [35] 白 俊, 吴克明, 邵然然. 基于“肾主生殖”探赜细胞自噬机制与卵泡发育的微观联系[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(5): 921-925.
- [36] 王 昭, 赵晓旻, 刘鹏飞, 等. 基于颗粒细胞自噬探讨补肾养精汤对卵巢储备功能降低模型大鼠卵巢储备功能的影响[J]. 中药药理与临床, 2022, 38(2): 169-173.
- [37] 黄欣怡, 曾文卓, 徐数理, 等. 左归丸对卵巢早衰小鼠卵巢超微结构及自噬相关基因表达的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2023, 32(2): 147-153, 235.
- [38] ZHANG C R, ZHU W N, TAO W, et al. Moxibustion against cyclophosphamide-induced premature ovarian failure in rats through inhibiting NLRP3-caspase-1/GSDMD-dependent pyroptosis[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine: ECAM, 2021, 2021: 8874757.
- [39] GUO Q L, WU Y, HOU Y Y, et al. Cytokine secretion and pyroptosis of thyroid follicular cells mediated by enhanced NLRP3, NLRP1, NLRC4, and AIM2 inflammasomes are associated with autoimmune thyroiditis[J]. Frontiers in Immunology, 2018, 9: 1197.
- [40] RUI W J, LI S, XIAO H, et al. Baicalein attenuates neuroinflammation by inhibiting NLRP3/caspase-1/GSDMD pathway in MPTP induced mice model of Parkinson's disease[J]. The International Journal of Neuropsychopharmacology, 2020, 23(11): 762-773.
- [41] JIANG M, WANG W L, ZHANG J X, et al. Protective effects and possible mechanisms of actions of Bushen cuyun recipe on diminished ovarian reserve induced by cyclophosphamide in rats[J]. Frontiers in Pharmacology, 2020, 11: 546.
- [42] SUN Y, FANG Y Y, XU M Y, et al. Relationship between thyroid antibody levels and ovarian reserve function in infertile Chinese women with normal thyroid-stimulating hormone[J]. Journal of Ovarian Research, 2023, 16(1): 100.
- [43] 冯建华. 中医药治疗不孕不育症经验介绍[J]. 中国医药科学, 2022, 12(9): 98-102, 130.
- [44] 朱瑶瑶, 秦彦桐, 李红晓, 等. 基于“治未病”理论探讨电针对 DOR 大鼠 Th1/Th2 免疫平衡的影响[J]. 南京中医药大学学报, 2023, 39(4): 328-336.
- [45] HUANG C, SONG K K, MA W W, et al. Immunomodulatory mechanism of Bushen Huoxue Recipe alleviates cyclophosphamide-induced diminished ovarian reserve in mouse model[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2017, 208: 44-56.
- [46] 徐 娟, 娄鉴芳, 史新惠, 等. PBMC 中 TLR1、TLR2、TLR6 在卵巢癌微环境中的作用研究[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(5): 537-542.
- [47] 徐 珊, 张小菜, 袁宁霞. 滋肾温阳汤联合克龄蒙治疗卵巢储备功能下降 45 例[J]. 山东中医杂志, 2021, 40(1): 48-52, 64.
- [48] WANG L, TANG J H, WANG L, et al. Oxidative stress in oocyte aging and female reproduction[J]. Journal of Cellular Physiology, 2021, 236(12): 7966-7983.
- [49] 张雅栋, 朱鸿秋. 基于“肾主生殖”理论探讨中医药改善高龄女性生育力策略研究[J]. 云南中医中药杂志, 2022, 43(11): 13-16.
- [50] 黄佳梅, 蔡紫琛, 张 花, 等. 补肾生精调和气血法对卵巢储备功能低下大鼠氧化应激的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2022, 31(23): 3224-3231.
- [51] 管凤丽, 杜惠兰. 补肾调经方对体外培养氧化应激模型小鼠卵母细胞质量及抗氧化能力的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2022, 45(4): 407-413.
- [52] LIU B, WANG J L, WANG X M, et al. Reparative effects of Lycium barbarum polysaccharide on mouse ovarian injuries induced by repeated superovulation[J]. Theriogenology, 2020, 145: 115-125.
- [53] 宋丽娜, 周 琦, 唐丹艺. 中医补肾活血法在体外受精-胚胎移植技术中的应用研究进展[J]. 中国计划生育和妇产科, 2020, 12(7): 10-12, 21.
- [54] 贺晓霞, 游 方. 补肾化痰方对卵巢储备功能低下不孕患者子宫内膜容受性的影响[J]. 辽宁中医杂志, 2023, 50(1): 94-97.
- [55] 马 郡, 阮祥燕, 许仲婷, 等. 资瓷女贞胶囊对卵巢储备功能减退女性妊娠结局的影响[J]. 首都医科大学学报, 2023, 44(4): 540-543.
- [56] 沈 洁, 高友玲, 卢 鸽, 等. 电针对卵巢储备功能下降患者子宫内膜容受性和 IVF-ET 妊娠结局的影响[J]. 中国针灸, 2022, 42(8): 879-883.