

补肾化瘀方对肾虚血瘀型 多囊卵巢综合征患者血清性激素水平 及 HIF-1 α 、Beclin-1、BNIP3 的影响*

王懿娴¹, 张瑞瑞¹, 许彩凤^{2△}, 潘文³, 石璇¹

1 兰州市中医医院, 甘肃 兰州 730050; 2 甘肃省中医院, 甘肃 兰州 730050;

3 甘肃省中医药研究院, 甘肃 兰州 730050

[摘要] 目的: 观察补肾化瘀方对肾虚血瘀型多囊卵巢综合征(polycystic ovarian syndrome, PCOS) 患者血清性激素水平及低氧诱导因子1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)、肌球蛋白样BCL2结合蛋白(myosin-like BCL2 interacting protein, Beclin-1)、腺病毒E1B相互作用蛋白3(adenovirus E1B 19 kDa protein-interacting protein 3, BNIP3)的影响。方法: 将肾虚血瘀型PCOS患者100例, 按随机数字表法分为对照组和治疗组各50例。对照组予达英-35治疗, 治疗组予补肾化瘀方治疗, 两组均连续治疗3个月。比较两组患者治疗前后血清卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)、促黄体生成素(luteinizing hormone, LH)、睾酮(testosterone, T)、泌乳素(prolactin, PRL)、雌二醇(estradiol, E₂)、孕酮(progesterone, P)的表达水平及HIF-1 α 、Beclin-1、BNIP3 mRNA表达水平。结果: 治疗后两组患者血清LH、FSH、E₂、T、P表达水平均降低, PRL表达水平升高($P < 0.05$), 治疗组改善程度优于对照组($P < 0.05$); HIF-1 α 、Beclin-1、BNIP3 mRNA表达水平均降低($P < 0.05$), 治疗组降低更明显($P < 0.05$)。结论: 补肾化瘀方能够改善肾虚血瘀型PCOS患者血清性激素表达水平, 其可能在自噬调控中发挥作用, 进而改善PCOS患者临床症状。

[关键词] 多囊卵巢综合征; 肾虚血瘀型; 自噬; 补肾化瘀方

[中图分类号] R271.14 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 2096-9600(2025)02-0129-04

Influence of Kidney-tonifying Stasis-removing Formula on the Levels of Serum Sex Hormone, HIF-1 α , Beclin-1 and BNIP3 in Renal Deficiency and Blood Stasis Type of Polycystic Ovarian Syndrome Patients

WANG Yixian¹, ZHANG Ruirui¹, XU Caifeng^{2△}, PAN Wen³, SHI Xuan¹

1 Lanzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730050, China;

2 Gansu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730050, China;

3 Gansu Provincial Academy of Chinese Medicine, Lanzhou 730050, China

Abstract Objective: To observe the effects of kidney-tonifying stasis-removing formula on the levels of serum sex hormone, HIF-1 α , Beclin-1 and BNIP3 in patients with polycystic ovarian syndrome (PCOS) of kidney deficiency and blood stasis pattern. Methods: All 100 cases of PCOS of kidney deficiency and blood stasis pattern were divided into the control group and the treatment group according to random number table method with 50 cases in each group. The control group was treated with ethinylestradiol and cyproterone acetate tablets, and the treatment group took the formula, and both groups were treated for three months continuously. To compare the expressions of FSH, LH, T, PRL, E₂ and P, as well as the levels of HIF-1 α , Beclin-1 and BNIP3 mRNA before and after the treatment between the two groups. Results: After the treatment, the expressions of LH, FSH, E₂, T and P were lowered, and the levels of PRL were raised ($P < 0.05$), the improvements of the treatment group were better than these of the control group ($P < 0.05$); the expressions of HIF-1 α , Beclin-1 and BNIP3 mRNA were lowered ($P < 0.05$), and the decrease of the treatment group was more apparent ($P < 0.05$). Conclusion: Kidney-tonifying stasis-removing formula could improve the levels of serum sex hormone, which might play the role in regulating the autophagy, thereby mitigating the patients' clinical symptoms.

Keywords polycystic ovarian syndrome; kidney deficiency and blood stasis pattern; autophagy; kidney-tonifying stasis-removing formula

多囊卵巢综合征(polycystic ovarian syndrome, PCOS)是内分泌生殖系统疾病,主要特征包括月经不规律、少排卵或无排卵、多囊卵巢、高雄激素血症以及胰岛素抵抗(insulin resistant, IR)。相关研究表明,复杂病因的PCOS影响约6%~15%的育龄女性,约75%的患者因无排卵而面临不孕问题^[1]。PCOS的发病机制主要与IR及其引发的高胰岛素血症相关的代谢紊乱有关,若不加以控制,可能随着时间发展引发子宫内膜癌、心血管疾病、2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)等疾病,对女性身心健康产生不良影响。

二甲双胍被认为是一种有效的胰岛素增敏剂,能够通过增强胰岛素受体信号降低IR,但患者对此药物的满意度普遍不高,主要原因是其容易引起恶心、腹泻等胃肠道副作用^[2]。近年来,越来越多的PCOS患者开始寻求补充及替代药物治疗,其中中医药在调节女性内分泌功能、激素水平及月经方面^[3]疗效确切。基于此,本研究计划开展一项标准化的临床试验,通过观察补肾化瘀方对PCOS患者干预前后自噬因子的影响,应用mRNA技术及酶联免疫法检测血清中自噬信号通路表达,并通过差异mRNA分析,识别影响PCOS患者性激素水平的关键分子及信号通路。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取2019年1月至2020年1月在甘肃省中医院妇产科就诊的肾虚血瘀型PCOS患者100例,按随机数字表法分为对照组和治疗组各50例。对照组患者年龄21~47岁,平均 (28.6 ± 4.7) 岁;病程2~35个月,平均 (12.13 ± 4.13) 个月。治疗组患者年龄20~48岁,平均 (27.3 ± 4.7) 岁;病程3~26个月,平均 (12.32 ± 3.48) 个月。两组患者基线资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 诊断标准

1.2.1 西医诊断标准 PCOS西医诊断标准参考《多囊卵巢综合征诊断的金标准:鹿特丹标准》^[4]制定:1)较少排卵及无排卵;2)具有高雄激素血症临床指征;3)多囊卵巢单侧最少具有12个直径为2~9 mm的卵泡,或卵巢体积不少于10 mL。具有2项及以上可诊断为PCOS。

1.2.2 中医辨证标准 参考《中药新药临床研究指导原则(试行)》^[5]中肾虚血瘀证诊断标准,主症:月经周期延长或闭经,月经量较少,月经色泽紫暗,质稀薄,常伴经行血块及腹痛;次症:腰膝酸软,头晕耳鸣或耳聋,性欲减退,尿频或尿有余沥,经前乳房胀痛;舌脉:舌黯淡或有瘀斑瘀点,舌下

脉络青紫,苔薄白,脉沉弱或涩。

1.3 纳入标准 1)符合上述中医及西医诊断标准;2)年龄20~50岁;3)患者知情并签署同意书。

1.4 排除标准 1)年龄 ≥ 50 岁,且在近3个月内服用其他治疗PCOS药物;2)患有精神类疾病;3)合并心血管疾病或T2DM;4)其他导致高雄激素的疾病,如先天性肾上腺皮质增生症、高泌乳素血症、雄激素分泌肿瘤、库欣综合征;5)病情危重,难以准确评估药物有效性和安全性;6)有炎症、慢性肝肾疾病及肿瘤等既往病史;7)对试验药物敏感。

1.5 治疗方法

1.5.1 对照组 对照组予达英-35(广州拜耳先灵药业有限公司,国药准字J20100003,规格:2 mg/片)每日1片,自月经周期第5天开始服用,连服21天后停药7天,待月经来潮。服药方式为每日3次,餐中或餐后服用。

1.5.2 治疗组 治疗组予补肾化瘀方,药物组成:菟丝子20 g,山茱萸15 g,川芎10 g,丹参15 g,红花9 g,女贞子10 g,墨旱莲10 g。由兰州市中医医院制剂室制成颗粒,自月经第5天开始服用,每日1剂,早晚分服,至下次月经来潮停止。

两组患者均按方案连续治疗3个月经周期,治疗期间如发生妊娠则停止用药。

1.6 观察指标

1.6.1 性激素水平 治疗前后采用放射免疫法测定患者血清卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)、促黄体生成素(luteinizing hormone, LH)、睾酮(testosterone, T)、泌乳素(prolactin, PRL)、雌二醇(estradiol, E_2)以及孕酮(progesterone, P)表达水平。

1.6.2 低氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)、肌球蛋白样BCL2结合蛋白(myosin-like BCL2 interacting protein, Beclin-1)、腺病毒E1B相互作用蛋白3(adenovirus E1B 19 kDa protein-interacting protein 3, BNIP3)mRNA表达水平 治疗前后通过Real-time PCR检测患者血清中HIF-1 α 、Beclin-1、BNIP3 mRNA表达水平。

1.7 统计学方法 采用SPSS 22.0统计软件分析数据,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清性激素水平 治疗后两组患者血清LH、FSH、 E_2 、T、P水平均降低,PRL水平升高($P < 0.05$),治疗组改善程度优于对照组($P < 0.05$)。见表1。

2.2 HIF-1 α 、Beclin-1、BNIP3 mRNA水平 治疗

后两组患者 HIF-1α、Beclin-1、BNIP3 mRNA 水平均降低($P<0.05$),治疗组低于对照组($P<0.05$)。见表2。

表1 两组患者治疗前后血清性激素水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	LH(mIU/mL)		FSH(mIU/mL)		T(ng/mL)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
治疗组	50	11.35±4.61	7.83±2.54**	6.52±1.29	4.85±2.51**	14.85±3.92	11.48±5.15**
对照组	50	13.05±3.54	10.79±2.41*	6.76±2.2	5.51±1.18*	14.15±3.57	12.95±3.01*

组别	例数	E ₂ (pg/mL)		PRL(ng/mL)		P(ng/dL)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
治疗组	50	123.81±18.41	101.84±17.28**	14.85±3.92	19.48±5.15**	105.58±14.14	23.84±4.51**
对照组	50	122.45±24.52	113.21±19.48*	14.15±3.57	17.95±3.01*	104.59±15.41	37.56±1.38*

注:*表示与本组治疗前比较, $P<0.05$;#表示与对照组治疗后比较, $P<0.05$

表2 两组患者治疗前后 HIF-1α、Beclin-1、BNIP3 mRNA 表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	时间	HIF-1α	Beclin-1	BNIP3
治疗组	50	治疗前	1.123±0.416	1.286±0.237	1.170±0.143
		治疗后	0.645±0.582**	0.564±0.544**	0.797±0.259**
对照组	50	治疗前	1.1047±0.474	1.206±0.279	1.173±0.148
		治疗后	0.979±0.160*	1.016±0.129*	0.959±0.290*

注:*表示与本组治疗前比较, $P<0.05$;#表示与对照组治疗后比较, $P<0.05$

3 讨论

PCOS 是一种生殖内分泌及代谢疾病,对患者的生育能力、生活质量及长期健康产生了显著影响^[6]。PCOS 患者的临床表现多样,导致其诊断和治疗存在一定争议。针对这一疾病,存在多种治疗策略。由于 PCOS 患者在临床表现、年龄、健康需求方面的差异,需根据患者症状情况、主诉、生育需求及代谢系统情况,采取个性化治疗方案,从而减轻临床症状、解决生育问题并提升生活质量。

PCOS 作为一种具有多重病因和临床特征多样化的综合征,其病理生理学特征涉及内分泌失衡、神经功能异常、糖及蛋白质代谢紊乱、脂肪代谢失调以及卵巢局部调节机制偏差^[7]。PCOS 患者的主要症状与中医学“月经周期延迟”“月经量少”“闭经”“不孕”“腹部肿块”等疾病症状描述相似。肾脏在调节人体阴阳方面起基础作用,女性的生殖功能正常与否主要取决于肾脏功能^[8]。

补肾化瘀方是基于多年临床经验总结而成的针对肾虚血瘀型 PCOS 的有效方剂,其临床疗效显著^[9]。该方由山茱萸、菟丝子、丹参、红花、川芎、墨旱莲及女贞子等药物组成。其中,山茱萸、菟丝子补肾益精;女贞子和墨旱莲共用养肝肾、益精血;丹参活血养血;红花活血而不留瘀血。诸药合用能够使气血畅通,进而调节月经。菟丝子主要

成分为菟丝子黄酮,菟丝子黄酮功能与黄体酮激素相似,可通过调节下丘脑-垂体-卵巢轴的功能,促进下丘脑分泌促性腺激素并提升垂体 LH、FSH 水平,进而增加雌激素释放,促进卵泡生长与发育^[10];山茱萸的主要成分为山茱萸甙,具有增强免疫及滋补肝肾的药理作用,对女性月经调理及助孕均有积极效果^[11];川芎含有藁本内酯,能够有效抗血小板聚集、扩张小动脉血管并改善 PCOS 患者微循环,降低血液黏稠度,改善 PCOS 患者血流变状态,预防心血管并发症的发生^[12];丹参的主要成分为丹参酮,其作用与激素相似,具备抗雄激素、抗皮脂腺分泌及抗菌消炎作用,同时丹参酮也含有类雌激素样物质,能够调节体内激素水平,并对抑制 PCOS 患者的体毛生长及痤疮有一定帮助;红花中的主要成分为红花甙,具有活血化瘀作用,主要促进卵巢功能恢复,刺激子宫平滑肌,促进卵巢激素分泌,诱导排卵功能,使增大的卵巢恢复正常,还可以增强子宫收缩力;女贞子和墨旱莲中均含有双向调节的激素成分,具有抗衰老及调节内分泌作用^[13]。上述药物的综合应用能够增强免疫机制,改善下丘脑-垂体-性腺轴功能,增加卵巢血流量、改善局部血液循环,从而改善患者局部及整体病理状态,诱导排卵并提高受孕率。

补肾化瘀方能够调节自噬相关蛋白表达,从

而影响自噬过程,因此自噬与PCOS之间存在密切联系。在卵巢中,自噬在卵母细胞的形成、卵泡的成长及衰退过程中扮演着重要角色^[14]。其对于卵母细胞的正常发展和生殖周期的维持至关重要,影响着卵泡的发育、分化和最终的闭锁^[15]。低质量的卵母细胞是导致女性不孕的原因,其根源在于卵巢卵泡细胞自噬缺陷。自噬过程受自噬相关基因控制,并伴随自噬相关蛋白表达的增加。Beclin-1是自噬启动及其他生物过程所需的核蛋白。在缺氧条件下,HIF-1 α 参与多种信号转导途径。作为HIF-1 α 直接调控的靶基因,BNIP3是缺氧诱导线粒体自噬的重要信号分子,在各种疾病的恢复过程中发挥重要作用^[16-18]。然而,目前尚无法确切确定补肾化痰方中哪些活性成分对PCOS具有治疗效果,哪些成分对PCOS的自噬过程具有调节作用,这些问题是未来相关研究的方向。

本研究观察补肾化痰方对PCOS患者的影响,发现其能够降低HIF-1 α 、Beclin-1、BNIP3 mRNA表达,降低FSH、LH、T、E₂、P等激素水平,其机制可能与补肾化痰方对HIF-1 α /BNIP3/Beclin1信号通路的抑制作用相关。

参考文献

- [1] 张瑞瑞,刘双萍,雍志强,等.肾虚血瘀型多囊卵巢综合征研究进展[J].新中医,2016,48(8):282-283.
- [2] 白煜君,靳凡钰,王韶华,等.王氏养卵汤联合来曲唑治疗多囊卵巢综合征伴不孕症疗效观察[J].西部中医药,2024,37(10):124-129.
- [3] LIU M, ZHU H, HU X, et al. Efficacy of different forms of *Guizhi Fuling Wan* on reproduction and metabolism in women with polycystic ovary syndrome: A protocol for a Meta-analysis of randomized controlled trials[J]. *Medicine(Baltimore)*, 2020, 99(44): 22954.
- [4] 李美芝,李蓉.多囊卵巢综合征诊断的金标准:鹿特丹标准[J].中国实用妇科与产科杂志,2007,(9):657-659.
- [5] 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,2002:239-241.
- [6] ZHAO X, JIANG Y, XI H, et al. Exploration of the relationship between gut microbiota and polycystic ovary syndrome (PCOS): a review [J]. *Geburtshilfe Frauenheilkd*, 2020, 80(2):161-171.
- [7] 刘新敏,徐信,郑冬雪,等.加减知柏地黄汤治疗肾阴虚火旺证多囊卵巢综合征高雄激素血症的临床观察[J].中国中西医结合杂志,2018,38(1):29-32.
- [8] 陈君,孙融融.中西医结合治疗多囊卵巢综合征不孕45例临床观察[J].新中医,2016,48(9):96-98.
- [9] 张瑞瑞,武权生,潘文,等.补肾化痰方治疗肾虚血瘀型多囊卵巢综合征的临床疗效及对AMPK、LKB1mRNA水平的影响[J].中国民间疗法,2023,31(21):61-64.
- [10] DIAMANTI-KANDARAKIS E, CHRISTAKOU C, MARINAKIS E. Phenotypes and environmental factors: their influence in PCOS[J]. *Curr Pharm Des*, 2012, 18(3):270-282.
- [11] 郭静,朱宝菊.多囊卵巢综合征的病因、诊断及治疗研究进展[J].医药论坛杂志,2013,34(12):161-162.
- [12] 杨星,黄睿,梁晓燕. PCOS患者卵泡液微环境中的亚急性炎症反应[J].中国病理生理杂志,2015,31(9):1652-1656.
- [13] HAIDER S, KNOFLER M. Human tumour necrosis factor: physiological and pathological roles in placenta and endometrium[J]. *Placenta*, 2009, 30(2):111-123.
- [14] ROJAS J, CHÁVEZ M, OLIVAR L, et al. Polycystic ovary syndrome, insulin resistance, and obesity: navigating the pathophysiological labyrinth[J]. *Int J Reprod Med*, 2014, 2014:719050.
- [15] DABRAVOLSKI S A, NIKIFOROV N G, EID A H, et al. Mitochondrial dysfunction and chronic inflammation in polycystic ovary syndrome[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(8):3923.
- [16] XU X, SONG X, XU X, et al. Inhibition of sestrin 1 alleviates polycystic ovary syndrome by decreasing autophagy [J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(8): 11774-11785.
- [17] ZHANG Y, LIU D, HU H, et al. HIF-1 α /BNIP3 signaling pathway-induced-autophagy plays protective role during myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 120:109464.
- [18] ZHANG J, NEY P A. Role of BNIP3 and NIX in cell death, autophagy, and mitophagy[J]. *Cell Death Differ*, 2009, 16(7):939-946.

收稿日期:2024-06-12

*基金项目:甘肃省自然科学基金(22JR5RA639);甘肃省中医药管理局科研课题(GZK-2019-68);兰州市卫生健康科技发展项目(2019-028);兰州市人才创新创业项目(2019-RC-74)。

作者简介:王懿娴(1980—),女,主治医师。研究方向:不孕症的中西医结合诊治。

△通讯作者:许彩凤(1970—),女,主任医师。研究方向:生殖内分泌及妇科炎症疾病的中医药防治。Email:1468977887@qq.com。