

分类号 R271

学校代号 10572

UDC 610 密级 公开

学 号 20157101033



广州中医药大学

Guangzhou University of Chinese Medicine

硕士学位论文

滋肾育胎丸治疗肾气虚型排卵障碍性不孕
排卵作用的研究

学 位 申 请 人	丘 敏
指 导 教 师 姓 名	罗 颂 平
专 业 名 称	中 医 妇 科 学
申 请 学 位 类 型	专 业 学 位
论 文 提 交 日 期	2018 年 4 月

广州中医药大学学位论文原创性声明

本人郑重声明： 所呈交的学位论文，是个人在导师的指导下，独立进行研究工作所取得的成果。除文中已经特别加以注明引用的内容外，本论文不含任何其他个人或集体已经发表或撰写过的作品成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中以明确方式标明并致谢。本人完全意识到本声明的法律结果由本人承担。

学位论文作者签名 丘敏

日期： 2018年 5月 18日

关于学位论文使用授权的声明

本人完全了解广州中医药大学有关保留使用学位论文的规定，同意学校保留或向国家有关部门机构送交论文的复印件和电子版，允许被查阅和借阅。本人授权广州中医药大学可以将本学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或其他复印手段保存和汇编本学位论文。

（保密论文在解密后应遵守此规定）

论文作者签名 丘敏 论文导师签名 

日期： 2018年 5月 18日

摘 要

目的:

通过回顾性研究的方法,观察滋肾育胎丸治疗肾气虚型排卵障碍性不孕症患者的促排卵临床疗效,以灌服羟基脲建立肾气虚型排卵障碍性大鼠模型,观察滋肾育胎丸对其促排卵作用,探讨其作用机制。

方法:

1. 临床研究:治疗组患者口服滋肾育胎丸治疗,对照组口服 CC 治疗,每组各 40 例,均治疗 3 个月经周期。统计分析治疗后两组各周期基础体温 (BBT) 双相率、高温相时长的变化,通过 B 超监测统计分析两组排卵日优势卵泡直径及子宫内膜厚度变化。

2. 实验研究:以灌服羟基脲 (600mg/Kg/d, 连续 15 天) 建立肾气虚型排卵障碍模型大鼠 50 只,随机分为模型组、滋肾育胎丸高、中、低剂量组和 CC 组,每组各 10 只,正常组大鼠 10 只。观察比较各组大鼠体重增长幅度、血清性激素 (FSH、LH、E₂)、卵巢和子宫脏器指数、卵巢卵泡发育情况和子宫内膜的变化,并统计分析。

结果:

1. 临床研究:治疗后,治疗组各周期 BBT 双相率高于对照组,且第三周期两组比较差异有统计学意义 ($P<0.05$); BBT 高温相时长治疗组均优于对照组 ($P<0.05$),尤其第二、第三周期差异显著 ($P<0.01$); 治疗组优势卵泡直径均大于对照组 ($P<0.01$); 治疗组排卵日子宫内膜厚度大于对照组,其中第二、第三周期差异有统计学意义 ($P<0.01$); 治疗组总排卵率为 74.17%, 对照组为 60.83, 两组差异对比有统计学意义 ($P<0.05$), 治疗组 LUFs 发生率为 5%, 对照组为 18.33%, 两组差异对比有统计学意义 ($P<0.05$)。

2. 实验研究:滋肾育胎丸各组大鼠肾气虚症状得到不同程度改善;中、高剂量组体重增长幅度与 CC 组有明显差异 ($P<0.05$); 与模型组相比,滋肾育胎丸组可有效升高卵巢、子宫指数,差异有统计学意义 ($P<0.05$); 滋肾育胎丸高剂量组在卵巢、子宫形态上有较为明显的变化,更接近于正常组;与模型组对比,滋肾育胎丸高剂量组可有效升高血清中 FSH、LH、E₂ 的含量。

结论:

1. 对存在排卵障碍的不孕症患者回顾性临床研究提示,滋肾育胎丸有助于提高排卵率,降低 LUFs 发生率,并具有统计学意义 ($P<0.05$)。滋肾育胎丸组患者 BBT 双相率、高温相时长、优势卵泡直径、排卵期子宫内膜厚度等指标均明显优于克罗米芬对照组,且随治疗周期增加而进一步改善。

2. 以羟基脲建立肾气虚型排卵障碍大鼠模型,表现为动情周期紊乱、体重增长幅度下降、卵巢和子宫指数下降、血清性激素紊乱,各级生长卵泡、黄体减少,闭锁卵

泡数量增加。滋肾育胎丸高剂量组卵巢成熟卵泡显著增加，与 CC 对照组基本一致。滋肾育胎丸中、低剂量组的干预效果不显著。

滋肾育胎丸对肾气虚型排卵障碍性不孕患者具有促进卵泡发育成熟和排出、促进子宫内膜与卵子发育的同步化，从而达到促排卵的疗效。本论文为滋肾育胎丸治疗肾气虚型排卵障碍性不孕提供了临床和实验依据。

关键词： 滋肾育胎丸；排卵障碍性不孕；肾气虚；临床研究；实验研究

The Clinical and Experimental Study of Zishen Yutai Wan in Treating Infertility with Kidney Deficiency

Specialy: Gynecology of Chinese Medicine

Author: Qiu Min

Tutor: Pro.Luo Songping

Abstract

Objective

To observe the clinical efficacy of Zishen Yutai Wan in treating ovulation induced ovulation in patients with kidney deficiency and ovulation disorder by retrospective study. To establish the model of kidney deficiency type ovulation disorder by taking hydroxyurea, Ovulation of fetal pills on its role in exploring its mechanism of action.

Method

1. Clinical study: The treatment group was treated with Zishen Yutai Pills and the control group with oral CC treatment, 40 cases in each group. All of them were treated for 3 menstrual cycles. The change of the biphasic rate and the phase length of high temperature after two cycles of treatment were statistically analyzed. The changes of dominant follicular diameter and endometrial thickness were observed by B-monitoring.

2. Experimental study: Fifty rats with kidney deficiency type ovulation disorder were dosed with hydroxyurea (600mg / Kg / d, continuous for 15 days) and randomly divided into model group, high, medium and low dose Group and CC group, 10 in each group and 10 in normal group, with different drug interventions. The body weight growth rate, serum levels of sex hormones (FSH, LH, E2), ovarian and uterine organ index, morphological changes of ovary and uterus of the rats in each group were compared and statistically analyzed.

Results

1. Clinical study: After treatment, the biphasic rate of BBT in each treatment group was higher than that of the control group, and there was significant difference between the two groups in the third cycle ($P < 0.05$); BBT high temperature treatment group was better than the control group ($P < 0.05$), especially in the second and third cycles ($P < 0.01$). The diameters of the dominant follicles in the treatment group were significantly larger than those in the control group ($P < 0.01$). The thickness of the endometrium

on the ovulation day in the treatment group was larger than that in the control group. The difference between the second and third cycles was statistically significant ($P < 0.01$). The total ovulation rate was 74.17% in the treatment group and 60.83% in the control group, with significant difference between the two groups ($P < 0.05$). LUFs occurred in the treatment group. The rate was 5% in the control group and 18.33% in the treatment group, with significant difference between the two groups ($P < 0.05$).

2. Experimental study: Zishenyukang Wan rats with renal deficiency symptoms improved to varying degrees; body weight gain group and CC group were significantly different ($P < 0.05$); compared with the model group, Zishen Yu Fetus pill group can effectively increase the ovary and uterine index, the difference was statistically significant ($P < 0.05$); Zishen Yutai Pill high-dose group in the ovary and the uterus more obvious changes in morphology, closer to the normal group; and compared with model group, Zishenyutongwan high-dose group can effectively increase the content of FSH, LH and E2 in serum.

Conclusion

Zishenyukao pill can promote ovarian follicle maturation and excretion, and promote the synchronization of endometrium and egg development, so as to achieve the effect of promoting ovulation and improving the pregnancy rate. This study provides the clinical and experimental basis for the treatment of kidney-yi-yu fetal pill-type infertility with kidney deficiency.

Key words: Zishenyukangwan ; Ovulatory dysplasia ; Kidney deficiency ;
Clinical research ; Experimental study

目 录

广州中医药大学学位论文原创性声明.....	
摘 要.....	I
Abstract.....	III
目 录.....	V
引 言.....	1
第一部分 文献研究.....	3
1.1 中医对不孕症的研究.....	3
1.1.1 中医对不孕症的认识.....	3
1.1.2 中医对不孕症病因病机的认识.....	3
1.1.3 中医对不孕症治疗的认识.....	4
1.1.4 中医药治疗排卵障碍性不孕症的研究进展.....	4
1.2 西医对排卵障碍性不孕症的研究.....	5
1.2.1 对排卵障碍性不孕症病因及发病机制的认识.....	5
1.2.2 西医对排卵障碍性不孕症的治疗.....	6
第二章 临床研究.....	7
2.1 临床资料与方法.....	7
2.1.1 病例选择.....	7
2.1.2 诊断标准.....	7
2.1.3 纳入病例标准.....	7
2.1.4 排除病例标准.....	7
2.1.5 试验药物.....	8
2.1.6 试验方法.....	8
2.1.7 观察指标.....	8
2.1.8 统计方法.....	9
2.2 统计结果与分析.....	9
2.2.1 一般情况比较.....	9
2.2.2 临床疗效分析.....	10
第三章 实验研究.....	12
3.1 研究目的.....	12
3.2 研究方法.....	12
3.2.1 实验动物及饲料.....	12
3.2.2 主要药物与试剂.....	12
3.2.3 主要仪器设备.....	12

3.2.4 分组、造模及药物干预.....	12
3.2.5 采集标本.....	14
3.2.6 检测指标.....	14
3.2.7 统计学方法.....	15
3.3 研究结果与分析	15
3.3.1 一般情况的比较.....	15
3.3.2 体重变化的比较.....	15
3.3.3 子宫和卵巢指数的比较.....	16
3.3.4 子宫和卵巢形态学的比较.....	17
3.3.5 血清 FSH、LH、E2 的测定.....	18
第四部分 讨论与分析.....	21
4.1 滋肾育胎丸的药理研究	21
4.1.1 滋肾育胎丸的临床研究.....	21
4.1.2 滋肾育胎丸的药理研究.....	21
4.2 动物模型的选择依据	22
4.3 研究结果分析	22
4.3.1 对动物一般情况的影响.....	22
4.3.2 对动物脏器指数的影响.....	22
4.3.3 对动物脏器形态学的影响.....	23
4.3.4 对动物血清性激素的影响.....	20
4.3.5 临床疗效分析.....	20
结 语.....	21
参考文献.....	22
附 录.....	24
在校发表论文情况.....	29
致 谢.....	30

引 言

在排除男方生殖功能异常后，女性在正常性生活的情况下，连续至少 12 个月未避孕而未孕者，可诊断为女性不孕症。

在我国，不孕症的发病率约为 7%~10%^[1]。多项流行病学研究表明，由女方因素造成者约占 40%~55%^[2]，主要病因包括卵巢储备下降、排卵障碍、输卵管因素、子宫因素、宫颈因素、阴道与外阴因素等。其中以输卵管因素占大多数，高达 25%~50%不等^[3]。单纯性输卵管因素导致的不孕症，随着宫腔腹腔镜的不断普及，已经可很大程度治愈且顺利怀孕。但是，临床观察可见，即使手术纠正了输卵管阻塞或排除了输卵管因素（可由腹腔镜下双侧输卵管高压灌注术或经子宫输卵管造影证实）的不孕症患者，其妊娠率仍不甚理想，其中尤其以合并排卵障碍性不孕患者为著，约占 25%~30%^[4]。随着开放二胎政策的推行，有生育要求的夫妇人群无疑将扩大，相应地，排卵障碍性不孕患者群体亦将扩大。

另外，因生育要求，临床以育龄期女性就诊多，但事实上，像青春期的多囊卵巢综合征患者如若不能对疾病足够重视，规范治疗，日后也会造成排卵障碍，甚至不孕。

女性不孕症的主要证型有肾虚证、肝郁证、瘀滞胞宫证、痰湿内阻证^[5]，还有肾虚夹杂痰湿证、肝郁肾虚等虚实夹杂者，总体而言，以肾虚证最为多见。

西医在排卵障碍性不孕的治疗上，以促排卵为主要方案。克罗米芬是现今一线促排卵药物，其促排卵率可高达 70%~80%，但妊娠率仅为 30%~40%，流产率亦有 10%~33%。多项研究观察，考虑与克罗米芬的抗雌激素作用相关，影响了子宫内膜的同步发育，导致子宫内膜容受性降低，着床率下降。

大量现代研究表明，中医通过辨证论治，整体调节肾—天癸—冲任—胞宫轴，可有效改善卵巢血供，促进排卵，改善卵巢、子宫内分泌微环境，促使卵泡与子宫内膜同步发育，提高妊娠率，且无明显毒副作用。

本论文通过回顾性临床分析，观察滋肾育胎丸治疗肾气虚型排卵障碍性不孕症的临床疗效；以羟基脲造模肾气虚排卵障碍大鼠为研究载体，通过血清学检测及病理学观察，探究滋肾育胎丸对肾气虚排卵障碍模型大鼠的促排卵作用，并探讨其可能的作用机制。

第一部分 文献研究

1.1 中医对不孕症的研究

1.1.1 中医对不孕症的认识

现存中医学古籍中虽无“排卵障碍性不孕”的说法，但“不孕”的病名最早出现在《易经·爻辞》，有“妇三岁不孕”记载。《千金要方》云：“妇人立身已来全不产，及断绪久不产三十年者”，书中将女子不孕分为两类，一者为从未受孕者，称为“全不产”，二者为曾经受孕后又无法受孕者，称为“断绪”。

1.1.2 中医对不孕症病因病机的认识

《素问·上古天真论》指出：“女子七岁，肾气盛……二七而天癸至，任脉通，太冲脉盛，月事以时下，故有子……七七任脉虚，太冲脉衰少，天癸绝，地道不通，故形坏而无子也。”奠定了中医学中肾、天癸、冲任、胞宫与女性月经周期、生育能力密不可分的理论基础。罗元恺教授参阅历代医家相关论述，提出“肾—天癸—冲任—子宫”轴理论^[6]，为与西医之子宫相区别，后来中医妇科学者修改为“肾—天癸—冲任—胞宫”轴。后天水谷精微的不断濡养，激发先天肾气从7岁左右开始充实，积累至14岁左右初步充盈，则天癸应时而至，任脉、太冲脉经气通盛，月经开始来潮，标志着女子初步具备生育繁衍之力。后随年龄增长，先天肾气不断充盈，女子生殖力逐步成熟并达到鼎盛，后又逐步下降。至49岁左右，任脉、太冲脉经气日渐衰少，天癸衰竭，月经后期甚至闭经停止，女子生殖力趋于丧失。在此漫长生长发育过程中，肾占主导地位，是生殖力的重要基础。

《女科正宗·广嗣总论》云：“男精壮而女经调，有子之道也。”指出受孕的基本条件，在女子为月事顺调。《傅青主女科》云：“经水出诸肾”，《妇人规》有“经候不调病皆在肾”之说，指出女子的月事顺调与否，与肾关系甚为密切。故可推断，对于女子生殖力而言，肾气的充沛是必要条件，月经调顺是基本保障。只有肾气充足，精元充沛，月事才能以时下，阴阳和后而有子。若肾气受损，无论是先天禀赋不足抑或后天房事不节抑、久病久劳等所致，均能引起肾不藏精，不能摄精成孕。诚如《圣济总录》云：“妇人所以无子者，冲任不足，肾气虚寒也。”

此外，肝郁、痰湿、血瘀、经络失常等亦是常见导致不孕的病因。傅山在《傅青主女科·种子》中提出，“其郁而能成胎者，以肝木不舒……则胞胎之门必闭”，认为肝郁可致病，肝气不舒，肝失条达，影响全身气机运行，影响胞宫的正常藏泄运行，引起不孕。也有从痰湿不孕方面论述，如《医宗金鉴》：“因体盛痰多，脂膜壅塞胞中不可孕”，如傅青主提出“妇人肥胖，痰涎甚多，不能受孕”，如巢元方提出“妇人挟痰无子”。脾虚则易生痰湿，痰湿反过来又易困碍脾胃，脾虚湿困，痰湿壅滞于体，表现为肥胖，脾胃为后天之本，故痰湿阻碍脾胃摄取精微物质去濡养先天肾气，则又导致肾虚。此外，《针灸甲乙经》提出“女子绝子，坏血在内不下”，指出女子不

孕与瘀血阻滞相关。从经络方面论述者,《医宗金鉴》云:“不子之故伤冲任……或因积血胞寒热”,还有《素问》云:“督脉生病,女子不孕”,《女科经纶》中引朱丹溪言“妇人久无子者,冲任脉中伏热也……内热则荣血枯。”《傅青主女科·种子》云:“况瘦人多火……此阴虚火旺,不能受孕。”

1.1.3 中医对不孕症治疗的认识

罗元恺^[6]认为,首先不孕症以肾气虚者较多,肾阳虚女性可表现为不排卵,而阴阳互生,阳损及阴,所以在治疗时不但要注意温肾阳还要同时滋阴。

夏桂成^[7]提出卵子的排出由心脑-肾-子宫生殖轴调控,与气血阴阳活动协调、脏腑经络之间相互平衡相关。重阴转阳期发生排卵,只有达到重阴水平才能顺利排卵,而阴长至重又有赖于阳气的扶助,所谓独阴不长。因此,在治疗的时候,应于阴中求阳,滋阴的同时兼顾助阳,方能达到滋养卵子的作用。

蔡小荪^[8]提出以育肾调周法治疗排卵障碍性不孕。以补肾为基础,根据月经周期的不同特点顺势顺势而治:经前期以育肾培元之法,以育肾培元方为基础方,因气血充盈,阳盛阴长,肾气实而均衡;月经期以活血养血为法,以四物汤为基础,因为此时胞宫气血由满而溢,当以疏泄为通;经后期以育肾通络、补益肝肾为法,以育肾通络方为基础,此时肾气渐复渐盛,胞宫气血由虚渐盈;经间期为阴精施泄的种子时期,肾气充盛。

1.1.4 中医药治疗排卵障碍性不孕症的研究进展

陈亚蓓^[10]观察针药结合治疗肾虚血瘀型排卵障碍性不孕患者的促排卵效应。将 40 例肾虚血瘀型的排卵障碍性患者随机均分为针药组和中药组,针药组从月经周期第 7 天开始在每日内服补肾活血汤基础上,隔日针刺 1 次,直至下次月经来潮,取穴包括大赫、关元、气穴、太冲、太溪、合谷、三阴交、足三里,总计(13±2)次;中药组仅内服补肾活血汤治疗,具体同针药组。共治疗 3 个月经周期。结果针药组治疗后中医症状积分、子宫内膜情况、排卵率、妊娠率均较治疗前改善($P<0.05$);两组对比排卵率,中药组为 46.7%,针药组为 68.3%,两组差异有统计学意义($P<0.05$);两组对比子宫内膜情况与中医症状积分,差异统计学($P<0.05$);两组对比妊娠率,针药组为 40%,中医组为 10%,两组对比差异有统计意义($P<0.05$)。

苏柏宇^[11]随机均分 66 例肾虚宫寒型排卵障碍性不孕患者为治疗组和对照组。治疗组以腹针结合艾箱灸治疗,对照组以克罗米芬治疗,观察 3 个月经周期。结果,经治疗,两组排卵率对比,治疗组为 86.32%,对照组为 76.4%,两组对比差异有统计意义($P<0.05$);两组妊娠率对比,治疗组为 56.52%,对照组为 46.67%,两组差异有统计意义($P<0.05$)。

卢艺^[12]观察 75 例肾虚肝郁型 PCOS 排卵障碍性不孕症患者,其中治疗组 38 例,对照组 37 例。对照组自月经来潮第 5 天开始,连服 5 天克罗米芬(CC),治疗组在对照组基础上加服归肾丸合逍遥散至排卵期或连服 20 天,均治疗 3 个周期。结果:治

疗组在中医症状量化评分、中医临床症候疗效、临床总疗效上均优于对照组 ($P<0.05$); 在周期排卵率上, 两组无显著差异, 但在 LUFs 周期发生率上, 对照组高于治疗组 ($P<0.05$); 在 OHSS 周期发生率上, 两组无明显差异 ($P>0.05$); 在胚胎丢失率上, 治疗组低于对照组, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); 在排卵日子宫内膜厚度比较上, 治疗组较对照组明显增厚 ($P<0.05$); 在排卵日子宫内膜厚度比较上, 非妊娠组低于妊娠组。

何川^[14]将 60 例肾虚血瘀型排卵障碍性不孕症患者随机均分为治疗组和对照组。对照组予以来曲唑+克罗米芬+人绒毛膜促性腺激素治疗; 治疗组在对照组治疗基础上, 加用补肾活血方周期疗法, 以 3 个月经周期为 1 个疗程, 均治疗 2 个疗程。结果: 比较两组中医证候积分, 治疗组优于对照组 ($P<0.05$); 比较两组子宫内膜的厚度, 治疗组明显优于对照组 ($P<0.05$); 比较两组排卵率, 治疗组为 69.44%, 对照组为 44.44%, 治疗组优于对照组 ($P<0.05$); 比较两组促排卵综合疗效, 治疗组为 83.33%, 对照组为 56.67%, 两组对比差异有统计学意义 ($P<0.05$); 比较两组妊娠率, 治疗组为 36.67%, 对照组为 13.33% ($P<0.05$)。

1.2 西医对排卵障碍性不孕症的研究

1.2.1 对排卵障碍性不孕症病因及发病机制的认识

现代医学认为, 下丘脑—垂体—卵巢轴, 即 HPO 轴, 通过三级调控, 影响女性生长发育、调节卵巢功能、促使卵泡成熟与排出, 同时又受神经调节、激素正负反馈调节。当 HPO 轴中某一环节或多个环节合并功能失常时, 常常可导致卵泡不发育、发育停滞、未成熟卵泡排卵、卵泡黄素化等, 临床上统称为排卵障碍^[15]。具体来说, 引起排卵障碍的主要原因^[1, 15, 16]有: ①下丘脑或垂体的病变, 如下丘脑肿瘤、Kallmann 综合征、Sheehan 综合征、空泡蝶鞍综合征等, 引起的内源性的雌激素、FSH、LH 水平低下, 持续性无排卵, 即低促性腺激素排卵障碍; ②卵巢的病变, 导致卵巢储备功能的下降, 包括卵巢早衰 (POF) 和卵巢功能减退 (DOR), 表现为 FSH、LH 水平升高, E 水平降低, 即高促性腺激素排卵障碍, 约占排卵障碍性不孕的 5%。③多囊卵巢综合征 (PCOS), 由于体内雄激素过多, 导致体内雌激素水平上升, 一方面使下丘脑 GnRH 分泌亢进, 促使垂体分泌更多的 LH, 升高的 LH 可进一步促进雄激素的分泌, 形成恶性循环, 另一方面雌激素通过负反馈调节使 FSH 分泌相对不足, 两者共同形成内源性 FSH、LH 失调, 导致卵泡停留在小卵泡阶段, 无优势卵泡发育, 故无成熟卵泡生成和排出, 即使排卵, 卵子质量、子宫内膜容受性亦受到影响, 导致流产率上升。临床表现为月经稀发甚至闭经或月经紊乱, 多同时伴随高雄激素血症、胰岛素抵抗, 卵巢多囊样改变等。④高泌乳素血症 (HPRL), 血中泌乳素 (PRL) 异常升高, 作用于下丘脑, 抑制其 GnRH 合成、释放, 降低雌激素对下丘脑的正反馈作用; 作用于垂体, 使垂体释放 LH/FSH 比值升高, FSH 的分泌减少, 导致卵泡的发育和成熟障碍, 同时抑制排卵前 LH 峰值的形成; 作用于卵巢, 抑制其 P 的合成, 影响受精与着床。⑤黄体功能不

全 (LPD), 即卵巢排卵后没有形成成熟的黄体, 导致黄体期孕激素分泌不足, 临床表现为基础体温高温相时长减短或体温双相幅度差值偏低, 或子宫内膜对孕酮敏感性降低, 导致分泌期子宫内膜基质和腺体发育稀疏, 卵子与内膜发育不同步。⑥卵泡黄素化不破裂综合征 (LUFs), 即卵泡生长至一定时期迟迟不排, 内部发生黄素化, 临床观察 B 超监测卵泡发育至成熟大小后逐渐减小, 而基础体温双相, 血浆孕酮水平增高及分泌期子宫内膜、宫颈粘液变稠等黄素化表现。⑦先天性性腺发育不良, 如特纳氏综合征等。

1.2.2 西医对排卵障碍性不孕症的治疗

治疗上, 首选药物诱发排卵。目前临床上常用药物如下^[1,2,17]: ①克罗米芬 (CC), 作为目前国内一线促排卵药物, 适用于性腺轴基本完整、体内有一定量雌激素的无排卵或稀发排卵患者, 促排卵率可高达 70%~80%。但 CC 不能改善卵母细胞的质量, 妊娠率只有 30%~40%, 且自然流产率高达 10%~33%。另外低雌激素患者对 CC 治疗无效。②来曲唑 (LE), 芳香化酶抑制剂, 临床耐受性好, 主要副作用是胃肠道反应, 其他副作用包括潮热、头痛、背痛等。③尿促性腺激素 (HMG), 含等量 FSH 与 LH, 适用于内源性促性腺激素不足或缺乏者, 如 Sheehan 综合征、CC 治疗无排卵或有排卵但未妊娠者, 可单独使用或与 CC 联用。其排卵率为 60%~95%, 妊娠率为 58%~72%, 但卵巢过度刺激综合征 (OHSS) 发生率为 10%~50%。④绒促性素 (HCG), 可模拟 LH 高峰, 使用于卵泡发育成熟而不排卵者, 如 LUFs 患者, 或与其他促排卵药物联用 (如 CC、HMG 等) 促进排卵, 但 HCG 无明显促卵泡发育作用。⑤促性腺激素释放激素类似物 (GnRHa), 包括 GnRH 激动剂 (GnRH-a) 和 GnRH 拮抗剂 (GnRH-A) 两种。前者目前多用于试管婴儿的超促排卵的前期治疗, 分为长方案、短方案和超短方案; 后者尤其适用于控制性超促排。

此外, 手术治疗, 如腹腔镜下卵巢打孔术和 B 超下行卵泡穿刺术, 但为创伤性操作, 费用相对昂贵, 存在较高 OHSS 风险, 为患者带来较大心理及经济负担。

第二章 临床研究

2.1 临床资料与方法

2.1.1 病例选择

2010年3月1日—2015年3月1日就诊于广州中医药大学第一附属医院妇儿中心门诊部和住院部的不孕患者，筛选出符合以下诊断标准者，按实际用药情况分为治疗组和对照组，各40例。

2.1.2 诊断标准

2.1.2.1 西医诊断标准

参照2002年卫生部颁发的《中药新药临床研究指导原则》（试行）及第8版谢幸主编的《妇产科学》的有关标准拟定。

不孕症：在配偶生殖功能正常的情况下，女性正常性生活连续至少12个月未避孕而未孕者，称为不孕症。

排卵障碍符合以下情况之一即可：①连续两个周期或以上，基础体温（BBT）呈单相；②连续两个周期或以上，B超监测无优势卵泡排出。

2.1.2.2 中医诊断标准

参照《中药新药临床研究指导原则》（试行）及罗颂平主编《中医妇科学》中相关标准拟定。

不孕症：女子与配偶同居1年，性生活正常，未避孕而未孕者；或曾有过妊娠，未避孕而又1年未再受孕者，称为不孕症。

2.1.2.3 中医辨证标准

参照《中药新药临床研究指导原则》（试行）及罗颂平主编《中医妇科学》中相关标准拟定。

肾气虚证：主证见：①月经后期甚至停闭，②经质稀薄，③经色淡黯；次证见：①初潮延迟，②腰膝酸软，③性欲淡漠，④头晕耳鸣，⑤小便清长或频，⑥夜尿，⑦神疲肢倦，⑧舌淡暗，苔白，⑧尺脉沉。

以上主症满足其中任意2项，次症满足其中任意3项者即可诊断。

2.1.3 纳入病例标准

- （1）年龄22—40岁，无吸烟史，丈夫生殖功能正常者；
- （2）符合以上西医诊断标准、中医诊断标准、中医辨证标准者；
- （3）经子宫输卵管造影或宫腔腹腔镜术后诊断双侧输卵管通畅者；
- （4）可配合追踪观察者。

2.1.4 排除病例标准

（1）合并输卵管堵塞（经双侧输卵管造影或腹腔镜诊断）、中重度宫腔粘连者（经腹腔镜诊断）、中重度子宫内膜异位症者（经腹腔镜诊断）且未行手术治疗或治疗无

效者；

(2) 合并垂体肿瘤、生殖系统肿瘤、生殖系统畸形、乳腺肿瘤等器质性病变的患者；

(3) 合并有染色体异常者；

(4) 卵巢早衰、有甲状腺、肾上腺等其他内分泌功能异常者；

(5) 3 个月内曾经服用或使用过激素类制剂者，如人工周期、促排卵药、避孕药等；

(6) 合并有心、脑、肾等严重基础疾病者或精神疾病者；

(7) 同时接受多项其他治疗者，或对多种药物过敏者。

(8) 数据记录不全，影响诊断疗效判断者。

2.1.5 试验药物

2.1.5.1 滋肾育胎丸

广州白云山中一药业有限公司生产，批准文号：国药准字 Z44020008，60g/盒，主要由菟丝子、桑寄生、阿胶、续断、熟地黄、何首乌、杜仲、巴戟天、白术、人参、党参、砂仁、艾叶等 15 味中药组成，经提炼浓缩制成水蜜丸。

2.1.5.2 枸橼酸氯米芬片 (CC)

商品名：法地兰，高特制药有限公司生产，批准文号：注册证号 H20040352，50mg/片。

2.1.6 试验方法

①对照组：有月经来潮者，于月经第 5 天开始，闭经患者于孕激素或雌激素撤退性出血第 5 天起，口服 CC 50mg qd，连服 5 天。如果疗效不佳，CC 剂量可逐渐增加至 200mg/天。连续 3 个月经周期

②治疗组：自就诊经净后第 1 天，开始服用滋肾育胎丸 5g，tid，经期停药，连续治疗 3 个月经周期。

注意：治疗期间停经者，查血 HCG，妊娠者，改安胎。

2.1.7 观察指标

2.1.7.1 一般项目

记录患者的年龄、不孕年限、不孕类型，年龄以周岁记录。

2.1.7.2 疗效性指标

2.1.7.2.1 基础体温测定 (BBT)

常规方法测量了解排卵情况。高温相与低温相温差超过 0.3℃，高温相持续时间 ≥ 12 天为典型双相体温。

2.1.7.2.2 排卵及子宫内膜监测

观察并记录每周期最大卵泡直径及排卵率。月经周期第 8 天开始以 B 超监测卵泡发育，卵泡 $\geq 12\text{mm}$ ，每两日一次；卵泡直径 $\geq 15\text{mm}$ ，每日一次，直至排卵。排卵征象：

A. 连续观察的大于 18mm 的卵泡 2 天内消失; B. 大于 18mm 的卵泡 2 天内缩小, 皱襞及泡内回声增强; 以上可伴有盆腔积液。监测至周期 C20 仍未见优势卵泡后连续三次监测优势卵泡直径增长不足 1mm 者停止监测。

2.1.8 统计方法

结果采用 SPSS22.0 统计软件进行统计分析, 计量资料用均数±标准差表示。组间比较, 先进行正态和方差齐性检验, 样本符合正态分布者采用 t 检验, 不符合者采用 Mann-Whitney 秩和检验。计数资料用百分比表示者, 采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 即为有统计学意义。

2.2 统计结果与分析

2.2.1 一般情况比较

2.2.1.1 两组年龄比较

两组方差齐性检验示方差齐, 由于不满足正态分布, 所以采用非参数检验中的 Mann-Whitney 检验。经统计, 两组患者年龄比较无显著性差异 ($P > 0.05$), 具有可比性。(见表 1)

表 1 两组年龄比较

组别	例数(例)	年龄(岁)	平均年龄(岁)	<i>P</i>
治疗组	40	24-36	29.53±3.12	0.709
对照组	40	25-35	29.77±2.34	

2.2.1.2 两组不孕年限比较

两组均不服从正态分布, 方差齐性检验示方差齐, 采用非参数检验中的 Mann-Whitney 检验。经统计, 两组患者年龄比较无显著性差异 ($P > 0.05$), 具有可比性。(见表 2)

表 2 两组不孕年限比较

组别	例数(例)	不孕年限(年)	平均不孕年限(年)	<i>P</i>
治疗组	40	2-6	3.73±1.26	0.078
对照组	40	2-5	3.67±0.92	

2.2.1.3 两组患者孕产史比较

经卡方检验, 两组患者孕产史比较差异无统计学差异 ($\chi^2 = 0.073, P = 0.787$)。(见表 3)

表 3 两组患者孕产史比较

组别	例数(例)	原发性不孕(例)	继发性不孕(例)	χ^2	<i>P</i>
治疗组	40	20	10	0.073	0.787
对照组	40	19	11		

2.2.2 临床疗效分析

2.2.2.1 治疗后各周期 BBT 双相率比较

三个周期均采用卡方检验。经统计，三个周期治疗组患者 BBT 双相率均高于同周期对照组，但第一、二个周期两组差异性不具有统计学意义（均 $P>0.05$ ），第三个周期两组差异性比较具有统计学意义（ $P<0.05$ ）。（见表 4、表 5、表 6）

表 4 第一周期 BBT 双相率比较

组别	例数（例）	典型双相	非典型双相	χ^2	P
治疗组	40	26（65%）	14（35%）	0.213	0.644
对照组	40	24（60%）	16（40%）		

表 5 第二周期 BBT 双相率比较

组别	例数（例）	典型双相	非典型双相	χ^2	P
治疗组	40	30（75%）	10（25%）	1.455	0.228
对照组	40	25（62.5%）	15（37.5%）		

表 6 第三周期 BBT 双相率比较

组别	例数（例）	典型双相	非典型双相	χ^2	P
治疗组	40	33（82.5%）	7（17.5%）	4.943	0.026
对照组	40	24（60%）	16（40%）		

2.2.2.2 治疗后 BBT 高温相持续时长比较

三周期均采用独立样本 t 检验。经统计，三个刺激周期治疗组 BBT 高温相时长均较对照组长，差异均具有统计学意义（ $P<0.05$ ），尤其第二、第三周期差异显著（ $P<0.01$ ）。（见表 7）

表 7 治疗后各周期 BBT 高温相时长（天）比较（ $\bar{x}\pm s$ ）

组别	第一周期（天）	第二周期（天）	第三周期（天）
治疗组	10.77±1.21	12.27±1.46	12.97±0.73
对照组	9.75±0.99	10.17±1.58	9.92±0.83
P	0.023	0.000	0.000

2.2.2.3 治疗后各周期优势卵泡直径比较

三周期均采用独立样本 t 检验。经统计，三个刺激周期治疗组优势卵泡直径均较对照组长，但第一周期两者差异无统计学意义（ $P>0.05$ ），第二、第三周期差异有统计学意义（ $P<0.01$ ）。（见表 8）

表 8 治疗后各周期优势卵泡直径（mm）比较（ $\bar{x}\pm s$ ）

组别	第一周期（mm）	第二周期（mm）	第三周期（mm）
治疗组	16.08±1.26	19.53±1.31	20.03±0.95
对照组	15.54±0.83	16.68±1.14	15.67±0.70
P	0.086	0.000	0.000

2.2.2.4 治疗后各周期排卵期子宫内膜厚度比较

三周期均采用独立样本 t 检验。经统计，三个刺激周期治疗组子宫内膜厚度均较对照组厚，但第一周期两者差异无统计学意义 ($P>0.05$)，第二、第三周期差异有统计学意义 ($P<0.01$)。(见表 9)

表 9 治疗后各周期子宫内膜厚度 (mm) 比较 ($\bar{x}\pm S$)

组别	第一周期 (mm)	第二周期 (mm)	第三周期 (mm)
治疗组	8.19±1.13	9.60±1.13	10.48±0.97
对照组	7.95±0.86	8.00±0.76	8.04±0.86
<i>P</i>	0.417	0.000	0.000

2.2.2.5 两组治疗后促排卵情况总比较

治疗组共 40 例，治疗期间共促排 120 个周期，排卵 89 个周期，发生 LUFs 6 个周期；对照组共 40 例，治疗期间共促排 120 个周期，排卵 73 个周期，发生 LUFs 22 个周期。经卡方检验，两组排卵率差异比较有统计学意义 ($P<0.05$)，治疗组高于对照组；两组 LUFs 发生率差异比较有统计学意义 ($P<0.05$)，对照组高于治疗组。提示滋肾育胎丸有助于提高排卵率，降低 LUFs 发生率。(见表 10)

表 10 两组治疗后促排卵情况总比较

组别	例数 (例)	促卵周期	排卵率 (%)	LUFs (%)
治疗组	40	120	74.17%(89/120)	5%(6/120)
对照组	40	120	60.83%(73/120)	18.33%(22/120)
χ^2			4.86	10.35
<i>P</i>			0.027	0.01

上述临床研究提示，滋肾育胎丸有助于提高排卵率，降低 LUFs 发生率，并具有统计学意义 ($P<0.05$)。滋肾育胎丸组患者 BBT 双相率、高温相时长、优势卵泡直径、排卵期子宫内膜厚度等指标均明显优于克罗米芬对照组，且随治疗周期增加而进一步改善。

第三章 实验研究

3.1 研究目的

通过对羟基脲造模肾气虚—排卵障碍大鼠模型,进行灌胃滋肾育胎丸,观察用药前后大鼠的毛色等一般状态、血清性激素(FSH、LH、E₂等)、子宫和卵巢的湿重及卵巢组织的改变,研究滋肾育胎丸对肾虚排卵障碍模型的促排卵作用。

3.2 研究方法

3.2.1 实验动物及饲料

SPF级未交配健康雌性SD大鼠60只,8-9周龄,体重200-220g,购自广东省实验动物中心,许可证号:SYXK(粤)2013-0092,合格证号:44007200041708。

SPF级鼠灭菌饲料,购自广东省实验动物中心,许可证号:SCXK(粤)2013-0002,合格证号:44200300014221。

3.2.2 主要药物与试剂

羟基脲,0.5g/片,齐鲁制药有限公司,批准文号:国药准字H37021289,批号:20170108,配置成90g/L的混悬液,4℃冷藏保存;

滋肾育胎丸,60g/瓶,广州白云山中一药业有限公司,批准文号:国药准字Z44020008,批号:20170302,配置成浓度分别为156.25g/L、312.5g/L、625g/L的混悬液,4℃冷藏保存;

枸橼酸氯米芬,50mg/片,高特制药有限公司,批准文号:《进口药品注册证》证号:H20140688,批号:170127,配置成1mg/ml的混悬液,,4℃冷藏保存;

快速瑞氏—姬姆萨染液,南京建成科技有限公司,编号:YZB/苏(宁)0115-2012,批号:20170203;

FSH的ELISA试剂盒,上海晨易生物科技有限公司,编号:CK-E30597R;

LH的ELISA试剂盒,上海晨易生物科技有限公司,编号:CK-E30623R;

E₂的ELISA试剂盒,上海晨易生物科技有限公司,编号:CK-E30580R;

HE染色粉剂,中杉金桥公司,批号:13914V10。

3.2.3 主要仪器设备

奥林巴斯公司IX71—F22FL型倒置显微镜;

Labogene公司Scanspeed 1730R型低温离心机;

上海一恒有限公司DZF-6030A型恒温箱;

上海永创医疗器械有限公司SM800型全自动酶标仪。

3.2.4 分组、造模及药物干预

3.2.4.1 分组:

将60只大鼠按随机数字表法分为两大组,分别为正常组10只、实验组50只。饲养于广州中医药大学第一附属医院实验动物中心,采用昼夜间断照明,室温18-20℃,

相对湿度 40%–70%，自由进食、饮水，适应性喂养 1 周，每日晨 10 时行阴道上皮脱落细胞涂片观察，明确各大鼠均有规律的动情周期。

3.2.4.2 造模：

造模方法：根据预实验结果，正常组以生理盐水（2ml/d）灌胃，实验组大鼠以羟基脲（生理盐水配制，600mg/Kg/d）灌胃，连续 15 天，每日晨 9 时统一灌胃，并行阴道上皮脱落细胞涂片以观察各大鼠动情周期。造模第 15 天，将动情周期紊乱的大鼠随机均分为 5 组：即模型组，滋肾育胎丸低、中、高剂量组，CC 组，各 10 只。

阴道上皮脱落细胞涂片的制备及观察：

将无菌棉签用生理盐水蘸湿后，轻轻插入大鼠阴道内，顺时针缓慢转动 3 圈，抽出，将所得阴道分泌物均匀涂抹于玻片上，行快速瑞氏—姬姆萨染色，光镜下观察，记录。

快速瑞氏—姬姆萨染色具体步骤如下：

(1) 将玻片平置于染色架上，滴加试剂一 3~5 滴，使其迅速盖满涂片，染色 1min 左右，以固定涂片。

(2) 不要倒丢试剂一，直接滴加试剂二 6~10 滴，用洗耳球对准涂片吹气，或轻摇玻片，充分混合试剂一和二，染色 5~8min。

(3) 水洗 30s，自然风干，置于显微镜 40×10 倍镜下观察。

大鼠动情周期的具体判定方法：

查阅文献，大鼠动情周期一般为 4–5 天。动情前期：持续约 20 小时，阴道分泌物主要为有核上皮细胞，伴有少量角化细胞；动情期：持续约 10 小时，阴道分泌物绝大多数为角化上皮细胞、伴有少量有核上皮细胞；动情后期：持续约 12 小时，仍有大量角化上皮细胞，伴有白细胞；动情间期：持续约 60 小时，以白细胞为主，可伴有少量粘液。（见附录 1）

造模成功的标准：①每日进行阴道脱落细胞涂片检查，持续无周期性变化者；②病理改变提示为排卵抑制（大鼠卵巢组织切片以原始卵泡为主，各级生长卵泡与成熟卵泡的比例减少或囊性扩张，极少黄体）；③观察大鼠的一般情况：出现体重增长缓慢甚至体重减轻，进食量减少，倦缩蜷缩，活动减少，易受惊吓，体毛疏松不光亮等肾虚表现，则造模成功。

3.2.4.3 药物干预：

大鼠药物的用量根据大鼠体重换算公式计算而得，公式： $M_A/W_A \times K = M_B/W_B$ ，K 代表比重系数，K=6.25； M_A 代表成人剂量，即 15g/日（根据滋肾育胎丸说明书，5g/次，日三次）； W_A 代表成人体重，取 $W_A=60\text{kg}$ ； M_B 代表大鼠等效剂量； W_B 代表大鼠体重。经计算，大鼠灌胃滋肾育胎丸等效剂量 $M_B=1.5625\text{g/kg} \cdot \text{d}$ 。

造模后第 16 天开始灌服药物干预，正常组、模型组大鼠灌服纯水 0.5ml/100g，滋肾育胎丸低、中、高剂量组分别灌服滋肾育胎丸低、中、高浓度混悬液 0.5ml/100g，

CC 组灌服 CC 混悬液 0.5ml/100g, 每日一次, 连续药物干预 15 天。

3.2.5 采集标本

药物干预的第 15 天晚 9 点开始禁食禁饮, 第 16 天以 10%水合氯醛, 按 0.3ml/100g 剂量麻醉大鼠后, 腹主动脉取血 5ml, 室温静置 30min 后, 取上层血清, 3000r/min 离心 10min 后, 取上清液, 冻存于-20℃保存待检 (血清 FSH、LH、E₂)。剪开腹腔, 剪取双侧卵巢、子宫, 剔除周围脂肪, 分析天平称其湿重, 4%多聚甲醛固定待病检。颈椎脱臼法处死大鼠。

3.2.6 检测指标

3.2.6.1 一般情况观察

记录大鼠每日体重, 观察各组大鼠进食情况、自主活动情况、皮毛光泽度、是否喜欢拥挤在一起、反应灵敏度、大小便情况等。

3.2.6.2 子宫、卵巢的脏器湿重

将剥离干净的卵巢、子宫组织用生理盐水洗净血污, 分析天平称取湿重, 统计其脏器指数。子宫指数=子宫湿重 (mg) / 体重 (g) × 100% 卵巢指数=卵巢湿重 (mg) / 体重 (g) × 100%

3.2.6.3 HE 染色观察子宫、卵巢的形态学改变

具体步骤如下:

- (1) 4%多聚甲醛中固定所取子宫、卵巢;
- (2) 乙醇梯度脱水, 二甲苯透明;
- (3) 56℃石蜡浸蜡、包埋, 石蜡切片机连续切片, 切片厚度为 5μm, 卵巢取最大直径面、子宫取最大横截面;
- (4) 石蜡切片放入二甲苯中脱蜡 2 次, 多梯度乙醇脱水;
- (5) 浸入苏木素溶液约 5min, 盐酸乙醇分化 30s, 流水冲洗 10min, 蒸馏水冲洗 5min, 加酸化伊红乙醇溶液约 3min;
- (6) 各级乙醇脱水, 二甲苯透明, 树脂胶封片;
- (7) 显微镜下观察其形态学改变。

3.2.6.4 酶联免疫法检测血清 FSH、LH、E₂ 含量

具体步骤如下:

- (1) 将锡箔袋放置室温平衡 20min 后, 取出所需包被抗体的板条。
- (2) 设置样品孔和标准品孔, 标准品孔内各加 50μl 不同浓度的标准品;
- (3) 各个样本孔先加入 10μl 相应的待测样本, 再加入 40μl 样品稀释液; 空白孔不需要加。
- (4) 除空白孔外, 样本孔和标准品孔中每个孔均加入已经被过氧化物酶 (HRP) 标记的 100μl 检测抗体, 反应孔用封板膜封住, 放如恒温箱, 37℃恒温, 60min 孵育。
- (5) 弃去各孔中液体, 并用吸水纸拍干, 再在每孔中加满洗涤液, 静置 1min 后,

弃去洗涤液，同样用吸水纸上拍干，如此重复彻底洗板 5 次。

(6) 每孔加入底物 A、B 各 $50\mu\text{l}$, 37°C 避光孵育 15min。

(7) 每孔加入 $50\mu\text{l}$ 终止液, 反应 15min 内, 测定各孔的 OD 值 (450nm 波长处)。

(8) 结果计算: 以标准品浓度作横坐标, 对应 OD 值作纵坐标, 绘制标准品回归曲线, 根据样品的 OD 值, 由标准曲线查出其应浓度, 再乘以稀释倍数, 计算出样品的浓度。

3.2.7 统计学方法

所有数据用均数 \pm 标准差($\bar{X}\pm S$)表示, 应用 SPSS22.0 统计软件进行统计分析, 具体同临床研究部分。

3.3 研究结果与分析

3.3.1 一般情况的比较

未造模前, 各大鼠活动频繁, 对外界刺激反应灵敏, 皮毛润泽。经羟基脲造模后, 与正常组大鼠相比, 实验组大鼠出现不同程度倦怠、活动减少、拱背竖毛、皮毛疏松、欠光泽、饮食减少、体重增长速度缓慢等一系列“肾气虚”的表现。予药物治疗后, 滋肾育胎丸高中低剂量组大鼠肾气虚症状出现有不同程度好转, 活动增加、精神状态好转, 其中以中高剂量组改善较为明显, CC 组未见明显改善。说明滋肾育胎丸各剂量组均能改善大鼠全身虚弱症状, 疗效优于 CC 组。

3.3.2 体重变化的比较

治疗前体重为未造模前各组体重。经方差齐性检验 (Levene 检验), $F=0.471$, $P=0.796$, $P>0.05$, 即各组方差齐。各组体重比较采用单因素方差分析, 相比无统计学意义 (均 $P>0.05$)。

治疗后体重为药物干预后各组体重。开始造模后, 实验组大鼠体重增加较正常组缓慢。造模第 16 天按体重梯度随机均分实验组大鼠为模型组、滋肾育胎丸低剂量组、滋肾育胎丸中剂量组、滋肾育胎丸高剂量组、CC 组, 各 10 只, 使各组大鼠体重分布无明显差异。药物干预后, 滋肾育胎丸低剂量组、滋肾育胎丸中剂量组、滋肾育胎丸高剂量组大鼠体重增加逐渐恢复。经方差齐性检验 (Levene 检验), $F=0.508$, $P=0.769$, $P>0.05$, 即各组方差齐。各组体重比较采用单因素方差分析, 正常组体重最重, 与其余各组体重比较差异有统计学意义 ($P<0.01$); 模型组体重最低, 滋肾育胎丸高、中、低剂量组和 CC 组体重较模型组增加, 但各组组间比较差异无统计学意义 (均 $P>0.05$)。

体重差=治疗后体重-治疗前体重。经方差齐性检验 (Levene 检验), $F=1.84$, $P=0.121$, $P>0.05$, 即各组方差齐。各组体重差比较采用单因素方差分析, 正常组体重差最大, 与其余各组差值比较有统计学意义 ($P<0.01$); 模型组体重差值最小, 与其余各组差值比较有统计学意义 ($P<0.01$); CC 组体重差值低于滋肾育胎丸各剂量组, 其中与滋肾育胎丸高剂量组、滋肾育胎丸中剂量组比较, 差异有统计学意义 (P

<0.05)。说明滋肾育胎丸各剂量组均能改善造模后大鼠体重增长减缓情况，疗效优于 CC 组。（见表 11）

表 11 大鼠用药前后体重变化差值 ($\bar{x} \pm s$)

组别	N	治疗前 (g)	治疗后 (g)	体重差 (后-前) (g)
正常组	10	192.7 ± 4.87	250.0 ± 5.92 ^{###}	57.32 ± 3.65 ^{###*}
模型组	10	188.7 ± 7.61	233.5 ± 6.34 ^{**}	44.81 ± 2.06 ^{***}
滋肾育胎丸低剂量组	10	187.3 ± 5.27	238.2 ± 5.07 ^{**}	50.72 ± 2.44 ^{**##}
滋肾育胎丸中剂量组	10	187.4 ± 7.02	238.9 ± 7.34 ^{**}	51.43 ± 2.55 ^{**###*}
滋肾育胎丸高剂量组	10	187.2 ± 7.15	238.9 ± 7.75 ^{**}	51.90 ± 2.56 ^{**###*}
CC 组	10	189.8 ± 6.39	237.0 ± 7.83 ^{**}	48.3 ± 5.02 ^{**##}

注：单因素方差分析 (LSD 法)：同正常组比较 * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$
 同模型组比较 # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$
 同 CC 组比较 ※ $P < 0.05$ ※※ $P < 0.01$

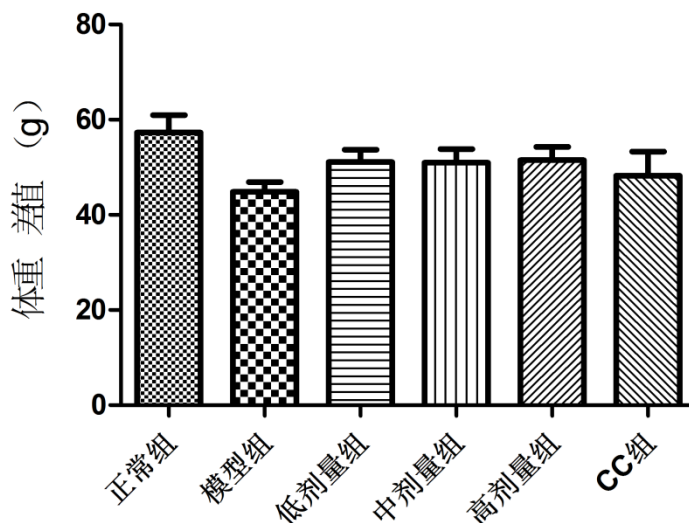


图 1 大鼠用药前后体重变化差值

3.3.3 卵巢和子宫指数的比较

卵巢指数的比较：经方差齐性检验 (Levene 检验), $F=1.343, P=0.261, P > 0.05$, 即各组方差齐。由表 3-3 可知，正常组卵巢指数最高，与其余各组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)；模型组卵巢指数最低，与滋肾育胎丸低剂量组相比，差异无统计学意义 ($P > 0.05$)，与滋肾育胎丸中、高剂量组和 CC 组相比，差异有统计学意义 ($P < 0.01$)；CC 组卵巢指数低于滋肾育胎丸中、高剂量组，但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)，但高于滋肾育胎丸低剂量组，两组差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。说明滋肾育胎丸能有效升高肾虚排卵障碍大鼠卵巢指数，与 CC 组比较差异不显著，与正常组卵巢指数接近。

子宫指数的比较：经方差齐性检验 (Levene 检验), $F=8.083, P < 0.01$, 即各组

方差不齐。采用 Kruskal-Wallis 检验, $H=42.911$, $P<0.001$, 各组大鼠子宫指数有差别。经过两两比较, 正常组与模型组之间子宫指数有差别 (调整后 $P=0.001$), 其余各组子宫指数差别无统计学意义 (均 $P>0.05$)。说明滋肾育胎丸能有效升高肾虚排卵障碍大鼠子宫指数, 与 CC 比较差异不显著。(见表 12)

表 12 各组大鼠卵巢指数和子宫指数的比较 ($\bar{x} \pm S$)

组别	N	卵巢指数	子宫指数
正常组	10	0.3807±0.0206 ^{###*}	1.8052±0.2912
模型组	10	0.2908±0.0116 ^{***}	1.1855±0.1260 ^{##}
滋肾育胎丸低剂量组	10	0.3045±0.0145 ^{***}	1.2629±0.0988
滋肾育胎丸中剂量组	10	0.3554±0.0161 ^{****}	1.5504±0.0804
滋肾育胎丸高剂量组	10	0.3513±0.0136 ^{****}	1.2667±0.1248
CC 组	10	0.3409±0.0360 ^{###}	1.5300±0.1612

注: 单因素方差分析 (LSD 法): 同正常组比较 * $P<0.05$ ** $P<0.01$
 同模型组比较 # $P<0.05$ ## $P<0.01$
 同 CC 组比较 ※ $P<0.05$ ※※ $P<0.01$

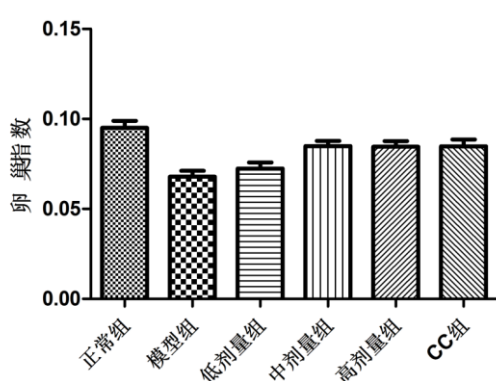


图 2 各组大鼠卵巢指数

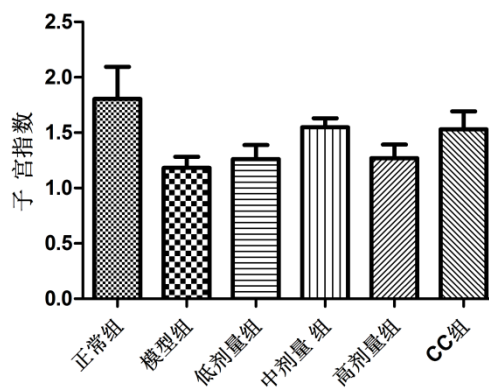


图 3 各组大鼠子宫指数

3.3.4 卵巢和子宫形态学的比较

卵巢的形态学比较

正常组: 镜下可见较多成熟卵泡, 其内见卵母细胞和放射冠, 其卵泡膜细胞是呈梭形排列的, 其颗粒细胞是呈多层的、形态相对完整、排列相对整齐, 黄体较多, 各级生长卵泡发育良好。

模型组: 镜下可见大量原始卵泡, 部分卵泡囊性扩张, 内含大量浆液性物质, 生长卵泡少, 卵细胞结构不清, 个别卵巢见少量成熟卵泡, 颗粒细胞层数明显减少、排列疏松, 卵泡膜细胞层明显增厚, 黄体极少, 闭锁卵泡增加。

滋肾育胎丸低剂量组和模型组差异不明显。

滋肾育胎丸高剂量组、CC 组: 镜下见较多成熟卵泡和次级卵泡, 其数量接近正常组, 有较多处于不同发育阶段的生长卵泡, 较多的黄体组织, 颗粒细胞层数是较模型组明显增多的, 而且形态相对完整、排列相对整齐, 同时黄体较多。

滋肾育胎丸中剂量组：镜下可见次级卵泡数量增加，各级生长卵泡数量较模型组增多，成熟卵泡数量较滋肾育胎丸高剂量组和克罗米芬组均减少。

说明在与模型组的比较中，滋肾育胎丸治疗组可改善卵巢病理改变，促进卵泡发育和成熟，并表现出明显的量效依赖关系，其中又以滋肾育胎丸高剂量组疗效最佳。

（见附录 2、附录 3）

子宫的形态学比较：

正常组大鼠子宫内膜及子宫基层厚度均匀适中，模型组子宫内膜明显萎缩，子宫壁肌层明显变薄，滋肾育胎丸治疗组及克罗米芬组子宫内膜、子宫壁肌层较模型组增厚，提示滋肾育胎丸可改善肾虚模型病理状态下的子宫微环境。（见附录 4、附录 5）

3.3.5 血清 FSH、LH、E₂ 的测定

FSH 的比较：经方差齐性检验（Levene 检验）， $F=0.865$ ， $P=0.511$ ， $P>0.05$ ，即各组方差齐。由表 3-3 可知，正常组 FSH 含量最高，与其余各组比较差异有统计学意义（ $P<0.01$ ）；模型组和滋肾育胎丸低剂量组 FSH 含量最低，两者相比差异无统计学意义（ $P>0.05$ ）；模型组与滋肾育胎丸中、高剂量组、克罗米芬组相比，差异均有统计学意义（ $P<0.01$ ）；克罗米芬组 FSH 含量高于滋肾育胎丸中、高剂量组，差异有统计学意义（ $P<0.05$ ）。说明滋肾育胎丸能有效提高肾虚排卵障碍大鼠体内 FSH 含量，促进卵泡生长发育。

LH 的比较：经方差齐性检验（Levene 检验）， $F=0.618$ ， $P=0.687$ ， $P>0.05$ ，即各组方差齐。由表 3-3 可知，正常组 LH 含量最高，与其余各组比较差异有统计学意义（ $P<0.01$ ）；模型组 LH 含量最低，与滋肾育胎丸低剂量组相比差异无统计学意义（ $P>0.05$ ），与其余各组相比，差异均有统计学意义（ $P<0.01$ ）；滋肾育胎丸低、中、高剂量组 LH 含量呈递增变化，两两比较差异均有统计学意义（ $P<0.05$ ）；克罗米芬组 LH 含量高于滋肾育胎丸高剂量组，差异有统计学意义（ $P<0.05$ ）。说明滋肾育胎丸能有效提高肾虚排卵障碍大鼠体内 LH 含量，促进卵泡生长发育。

E₂ 的比较：经方差齐性检验（Levene 检验）， $F=1.905$ ， $P=0.109$ ， $P>0.05$ ，即各组方差齐。正常组 E₂ 含量最高，与其余各组比较差异有统计学意义（ $P<0.05$ ）；模型组 E₂ 含量最低，与滋肾育胎丸低剂量组相比，差异无统计学意义（ $P>0.05$ ），与滋肾育胎丸中、高剂量组和克罗米芬组相比，差异有统计学意义（ $P<0.01$ ）；克罗米芬组 E₂ 含量低于滋肾育胎丸中、高剂量组，差异有统计学意义（ $P<0.05$ ），但高于滋肾育胎丸低剂量组，两组差异有统计学意义（ $P<0.01$ ）。说明滋肾育胎丸能有效提高肾虚排卵障碍大鼠体内 E₂ 含量，并表现出明显的量效关系，以滋肾育胎丸中、高剂量组疗效最佳。（见表 13）

表 13 各组大鼠血清中 FSH、LH、E2 的含量 ($\bar{x} \pm s$)

组别	N	FSH (IU/L)	LH (IU/L)	E ₂ (pg/L)
正常组	10	3.55 ± 0.09 ^{##▲▲※※}	4.74 ± 0.35 ^{##▲▲※※}	27.05 ± 2.82 ^{##▲▲※※}
模型组	10	3.05 ± 0.10 ^{**▲▲※※}	2.59 ± 0.27 ^{**▲▲※※}	21.70 ± 3.29 ^{**▲▲※※}
滋肾育胎丸低剂量组	10	3.01 ± 0.07 ^{**▲▲※※}	2.62 ± 0.42 ^{**▲▲※※}	21.71 ± 2.88 ^{**▲▲※※}
滋肾育胎丸中剂量组	10	3.21 ± 0.11 ^{***#※※}	3.32 ± 0.30 ^{***#※※}	24.39 ± 5.35 ^{***#※※}
滋肾育胎丸高剂量组	10	3.23 ± 0.08 ^{***#※}	3.78 ± 0.45 ^{***#▲}	24.18 ± 6.17 ^{***#※※}
克罗米芬组	10	3.33 ± 0.56 ^{***#▲▲}	4.01 ± 0.46 ^{***#▲▲}	23.37 ± 2.40 ^{***#▲▲}

注：单因素方差分析 (LSD 法)：同正常组比较 **P*<0.05 ***P*<0.01
 同模型组比较 #*P*<0.05 ##*P*<0.01
 同滋肾育胎丸中剂量组比较 ▲*P*<0.05 ▲▲*P*<0.01
 同克罗米芬组比较 ※*P*<0.05 ※※*P*<0.01

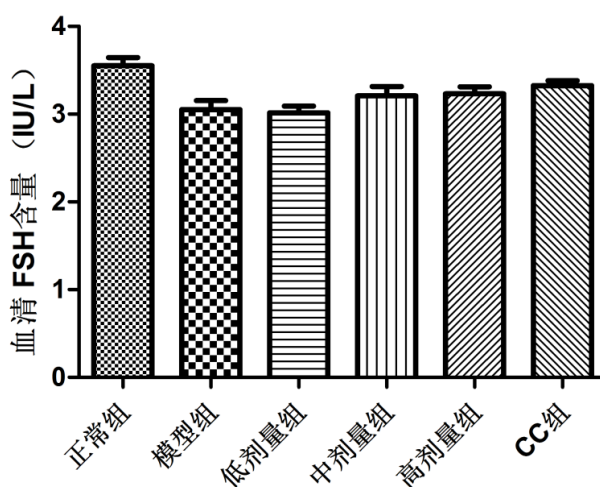


图 4 各组大鼠血清 FSH 含量

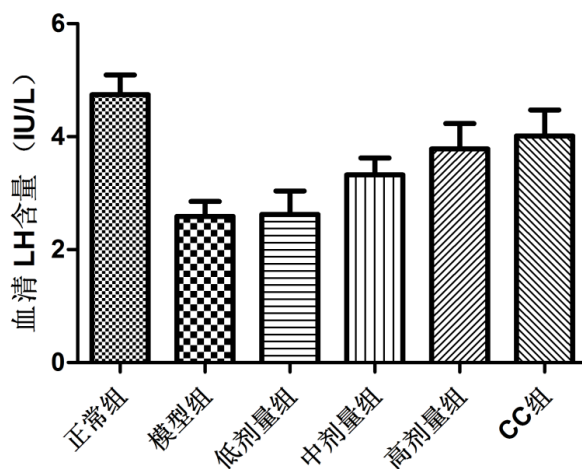


图 5 各组大鼠血清 LH 含量

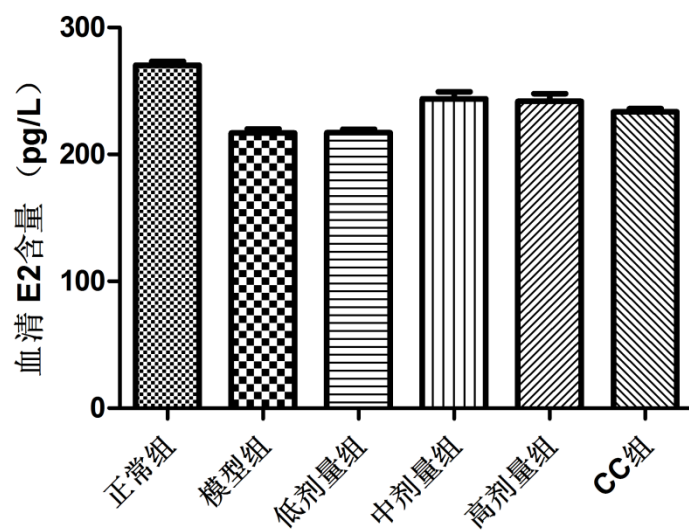


图 6 各组大鼠血清 E2 含量

第四部分 讨论与分析

4.1 滋肾育胎丸的药理研究

滋肾育胎丸是我国名老中医罗元恺教授以清代名医张锡纯名方寿胎丸为基础化裁,自拟的安胎名方—补肾固冲丸。其成分包括有菟丝子、续断、桑寄生、人参、党参、砂仁、白术、枸杞子、杜仲、巴戟天、鹿角霜、何首乌、熟地黄、阿胶(炒)、艾叶共 15 味中药,浓缩制成水蜜丸,具有良好的滋补肾阴肾阳、益气培元、健脾养血之功效,集调经、助孕、安胎于一体,是用于治疗肾虚不孕症的验方。

4.1.1 滋肾育胎丸的治疗排卵障碍的研究

余丽容等^[18]随机均分 98 例排卵障碍性不孕症患者。对照组给予氯米芬治疗,观察组患者在对照组基础上加服滋肾育胎丸,均治疗 4 个月经周期。结果,在卵泡大小及子宫内膜厚度的比较上,观察组优于对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$);就总体疗效而已,观察组为 91.8%,对照组为 75.5%,两组差异有统计学意义($P < 0.05$);在不良反应发生率上,观察组为 4.1%,对照组为 16.3%,两组差异有统计学意义($P < 0.05$)。

现代医学认为,排卵障碍是引起女性不孕的主要原因之一,临床常用 CC 作为一线促排药物,但 CC 存在“高促排、低妊娠”的缺点;中医辨证论治,认为女子不孕主要责之于肾,滋肾育胎丸具有良好的滋补肾阴肾阳、益气培元、健脾养血之功效,是罗元恺教授用于治疗肾虚不孕症的验方。

4.1.2 滋肾育胎丸的药理研究

早期动物研究^[19]表明滋肾育胎丸能使实验兔的内膜腺体的数目明显增多,并有相应的分泌期改变,轻度增厚子宫内膜。而且随着喂药天数的递增,其内膜分泌现象有越超明显的倾向,提示滋肾育胎丸可能有促进卵巢的雌、孕激素的分泌作用;个别实验兔的卵巢病理切片见红体和白体,提示可能有促进排卵的作用。

高琦等^[20]推测滋肾育胎丸可通过上调子宫内膜中同源框异型基因 HOXA10 及其下游靶基因整合素 β_3 mRNA 和蛋白的表达,使子宫内膜腺细胞和腺腔增大,从而使子宫内膜增厚,改善促排卵后子宫内膜的容受性,促进妊娠发生。

马惠荣等^[21]通过模拟手机电磁波对雌性大鼠动情期激素水平及卵巢毛细血管扩张-共济失调突变基因(ATM)蛋白表达情况的影响,提出滋肾育胎丸可能通过提高颗粒细胞 DNA 损伤的修复功能,从而改善卵巢功能。

方家^[22]以滋肾育胎丸全方组对大鼠先兆流产模型进行干预,推测其可通过一方面增加 E_2 、P 含量,另一方面降低 TXB₂、升高 6-Keto-PGF_{1 α} 的含量,并改善全身血液高黏高凝状态,从而起到多途径防治先兆流产的目的,其止血安胎疗效与西药地屈孕酮比较差异无显著性。

离体实验中,张嵩卉等^[23]推测滋肾育胎丸可通过下调滋养细胞 FasL 蛋白表达,

呈剂量依赖性抑制低氧环境诱导的滋养细胞凋亡。

4.2 动物模型的选择依据

鼠类在实验动物中受控性好,其他因素影响少,故肾虚型动物多选用鼠类。且与狗、兔等实验动物相比,无明显模型上差异,且经济费用较低^[24]。

在现代实验对肾虚证的研究中,下丘脑细胞损害和功能紊乱是肾虚证主要病理基础,下丘脑—垂体—肾上腺轴、甲状腺轴、性腺轴、代谢器官、免疫系统不同程度功能紊乱是其主要临床表现^[25]。

羟基脲(Hydroxyurea,简称HU)是一种核苷酸还原酶抑制剂,是治疗肿瘤的化疗药物,主要用于治疗恶性黑色素瘤、头颈部癌、胃癌、肠癌、急慢性粒细胞白血病等恶性肿瘤疾病。其临床毒性包括骨髓抑制、肝肾功能障碍、胃肠道毒性、生殖毒性等,是已知的动物致畸原^[26]。

以羟基脲造成肾虚动物模型已被广泛承认及使用^[27, 28, 29, 30]。周英^[31]以羟基脲300mg/kg/d,连续10天灌胃大鼠,可明显降低大鼠血清促卵泡生成素和雌激素,使卵巢萎缩,明显减少各级生长卵泡数目。

本实验选用羟基脲建立成熟雌性大鼠肾虚排卵障碍模型(600mg/Kg/d灌胃,连续15天),可表现出体重增长下降、体毛疏松不光亮,倦缩少动等典型的肾虚症状,卵巢病理切片提示,模型组大鼠卵巢组织中以原始卵泡与闭锁卵泡为主,各级生长卵泡比例明显减少,黄体极少,提示造模成功。

4.3 研究结果分析

4.3.1 临床疗效分析

在临床研究中,滋肾育胎丸患者经治疗后,BBT双相率、高温相时长、优势卵泡直径、排卵期子宫内膜厚度明显较克罗米芬组增多,且随治疗周期增加而进一步改善。由此可说明,滋肾育胎丸可通过改善体内内分泌的微环境,整体改善排卵情况,对治疗肾虚排卵障碍性不孕症有明确作用。

4.3.2 对动物一般情况的影响

症状和体征是反映疗效的重要指标。在本实验中,经羟基脲造模后,实验组大鼠明显较空白组活动减少、皮毛疏松欠光泽、饮食减少、体重增长缓慢,呈现一派“肾虚”表现。经药物干预后,滋肾育胎丸各组大鼠一般情况均有不同程度好转,而克罗米芬组未见明显改善;体重增幅上,滋肾育胎丸中、高剂量组明显优于克罗米芬组,更接近空白组,提示滋肾育胎丸改善肾虚一般情况确有疗效。

4.3.3 对动物脏器指数的影响

在本实验中,滋肾育胎丸高、中剂量组和克罗米芬组卵巢指数明显较模型组升高,提示滋肾育胎丸可改善卵巢萎缩,功能下降的情况。在子宫指数的影响上,各组比较,空白组明显高于模型组,滋肾育胎丸各剂量组和克罗米芬组均高于模型组,但差异无统计学意义,提示滋肾育胎丸对子宫整体质量无明显影响。

4.3.4 对模型动物卵泡发育与内膜形态的影响

通过对子宫、卵巢形态学改变的观察，可客观反映肾虚状态。本研究表明，肾虚雌鼠子宫内膜出现不同程度的萎缩，卵泡囊性扩张，各级生长卵泡、黄体及颗粒细胞层数明显减少，提示其生殖抑制。滋肾育胎丸可有效保护羟基脲对子宫和卵巢功能的抑制，改善、修复脏器病理形态，促进卵泡的发育成熟，子宫内膜增厚。高剂量组的作用与 CC 基本一致。

4.3.5 对动物血清性激素的影响

在本实验中，模型组 FSH、LH、E₂ 明显较空白组降低，提示模型组大鼠生殖抑制状态，滋肾育胎丸高、中剂量组和克罗米芬组大鼠血清 FSH、LH、E₂ 明显较模型组升高，提示滋肾育胎丸可有效逆转生殖抑制状态。

综合实验室研究和临床研究结果，考虑到性腺轴任何环境受药物保护后均可使整体功能得到改善，可以推论滋肾育胎丸改善羟基脲法诱发大鼠肾虚排卵障碍性不孕的作用机理：整体调节体内内分泌及卵巢、子宫微环境，促进卵泡的生长发育，子宫内膜增厚，改善卵巢、子宫血流供应，提高排卵功能。综上所述，滋肾育胎丸在治疗肾虚排卵障碍性不孕患者疗效肯定，值得进一步研究、推广、应用。

结 语

一、结论

1. 对存在排卵障碍的不孕症患者回顾性临床研究提示，滋肾育胎丸有助于提高排卵率，降低 LUFs 发生率，并具有统计学意义 ($P < 0.05$)。滋肾育胎丸组患者 BBT 双相率、高温相时长、优势卵泡直径、排卵期子宫内膜厚度等指标均明显优于克罗米芬对照组，且随治疗周期增加而进一步改善。

2. 以羟基脲建立肾虚型排卵障碍大鼠模型，表现为动情周期紊乱、体重增长幅度下降、卵巢和子宫指数下降、血清性激素紊乱，各级生长卵泡、黄体减少，闭锁卵泡数量增加。滋肾育胎丸高剂量组卵巢成熟卵泡显著增加，与 CC 对照组基本一致。滋肾育胎丸中、低剂量组的干预效果不显著。

本研究表明滋肾育胎丸通过健脾补肾、活血养血，促进卵泡的生长发育，提高排卵率，降低卵泡黄素化可能，提高优势卵泡的质量，促进优势卵泡与子宫内膜发育同步化，为良好妊娠打下坚实的基础。

二、存在问题

本论文临床部分为单中心、回顾性研究，覆盖率较低，病例数较少，研究周期仅为 3 个月经周期，未进行进一步的妊娠相关如妊娠率、流产率等相关长期疗效的研究，有待进一步完善和更正。

实验研究部分，各组大鼠病理观察未进行量化比较，子宫内膜厚度、肌层厚度未进行统计，亦未对各组大鼠治疗后妊娠率、流产率等进行观察，滋肾育胎丸通过何种机制具体起到促排卵作用未明确，在日后的研究中需进一步完善。

参考文献

- [1] 谢幸, 苟文丽. 妇产科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2014. 369.
- [2] 丰有吉, 沈铿. 妇产科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012. 408-410.
- [3] 庞富梅. X光碘油子宫输卵管造影和B超下子宫输卵管造影对比分析[J]. 安徽医药. 2014, 18(1):106-108.
- [4] 韩延华, 王海霞, 乔靖, 等. 排卵障碍性不孕中西医结合治疗近况[J]. 辽宁中医药大学学报. 2011, (02):5-7.
- [5] 罗颂平. 中医妇科学[M]. 北京. 人民卫生出版社, 2013: 259-261.
- [6] 罗元恺. 罗元恺论医集 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012:21-23, 127.
- [7] 夏桂成. 中医妇科理论与实践[M]. 北京. 人民卫生出版社, 2003: 71-72.
- [8] 徐梅, 谭丽, 翁学松, 等. 蔡小荪教授治疗排卵障碍性不孕症临床经验[A]. 第十次全国中医妇科学术大会论文集[C]. 2010
- [9] 况华进, 陈琳. 复方阿胶浆联合克罗米芬治疗排卵障碍性不孕患者[J]. 中国性科学, 2017, 26(2): 122-125.
- [10] 陈亚蓓. 针药结合治疗肾虚血瘀型排卵障碍性不孕促排卵效应. 硕士论文. 广西中医药大学, 2016.
- [11] 苏柏宇. 腹针结合艾箱灸治疗排卵障碍性不孕(肾虚宫寒型)的临床观察. 硕士论文. 广州中医药大学, 4, 2016.
- [12] 卢艺. 归肾丸合逍遥散联合克罗米芬对肾虚肝郁型 PCOS 排卵障碍性不孕的临床观察. 硕士论文. 浙江中医药大学, 4, 2016.
- [13] 许英, 王霞灵, 陈苗. 补肾益冲丸优化方案治疗肾虚型排卵障碍性不孕的临床研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2014, 9(7): 736-739.
- [14] 何川. 补肾活血方周期疗法联合来曲唑及克罗米芬治疗肾虚血瘀型排卵障碍性不孕的临床观察. 硕士论文. 浙江中医药大学, 5, 2014.
- [15] 徐颖, 许小凤. 卵泡发育障碍的中西医研究进展[J]. 实用医学杂志, 2013, 29(6): 1009-1011.
- [16] 郑聪聪. 补肾填精法对肾虚型排卵障碍性不孕症的临床疗效研究. 硕士论文. 广州中医药大学, 3, 2015.
- [17] 康伟娜. 补肾调周法对肾虚型排卵障碍性不孕症的临床疗效研究. 硕士论文. 南京中医药大学, 3, 2010.
- [18] 乔杰, 马彩虹, 刘嘉茵, 等. 辅助生殖促排卵药物治疗专家共识[J]. 生殖与避孕, 2015, 35(4): 211-223.
- [19] 余丽容, 罗新武. 氯米芬联合滋肾育胎丸治疗排卵障碍性不孕患者的临床疗效[J]. 药物与临床, 2015, 7: 57-58.
- [20] 邹琪, 王如萍. 滋肾育胎丸[J]. 广东药学, 2002(12): 56
- [21] 高琦, 王春华, 蔡霞. 滋肾育胎丸对促排卵小鼠着床期子宫内膜 HOXA10 及下游基因整合素 β_3 表达的影响[J]. 生殖医学杂志, 2015, 24(7): 578-582.
- [22] 马惠荣, 陈景伟, 罗亚萍, 等. 滋肾育胎丸对手术辐射大鼠卵巢功能和 ATM 蛋白表达的影响

- [J]. 广州中医药大学学报, 2014, 31 (2): 252-255, 324.
- [23] 方家. 滋肾育胎丸对先兆流产止血安胎作用的机理研究. 博士论文. 广州中医药大学, IV, 2014.
- [24] 张嵩卉, 张兰珍, 赵赫, 等. 滋肾育胎丸对滋养细胞凋亡的影响及其作用机制研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2014, 23 (14): 1486-1487.
- [25] 魏明久, 王红波, 周梅玲, 等. 中西医结合促排卵疗效观察[J]. 中级医刊, 1998, 33(9):54.
- [26] 刘福春. 羟基脲所致小鼠阳虚及补阳药作用的初步研究[J]. 中医杂志, 1985, 2:65-67.
- [27] 韩宁, 杨建一, 李莉. 羟基脲生殖毒性的研究进展[J]. 中医优生与遗传杂志, 2008, 12(16):5-6.
- [28] 周鸣, 谢湘林, 邓毅峰等. 健骨宝胶囊对羟基脲肾虚小鼠动物模型的影响[J]. 中国实验方剂学杂志. 2004;10:43 — 45.
- [29] 彭蕴茹, 沈明勤, 罗宇慧等. 金匱肾气丸防治小鼠肾阳虚的实验研究[J]. 中成药. 2004;26:395 — 397.
- [30] 肖崇厚, 孙奕, 骆永珍等. 川产淫羊藿对羟基脲阳虚小鼠 IL-2 活性的影响[J]. 中国免疫学杂志. 1995;11:373 — 379.
- [31] 宁艳, 罗颂平, 梁国珍. 补肾健脾中药复方对肾虚黄体抑制妊娠大鼠流产模型的实验研究. 中国医药学报. 2000;15(6):28-30.)
- [32] 周英. 脾虚和肾虚雌性大鼠生育能力的实验观察[J]. 广州中医药大学学报, 1998, 15(3): 195-199.)

附 录 1

阴道上皮脱落细胞快速—姬姆萨染色×100 倍

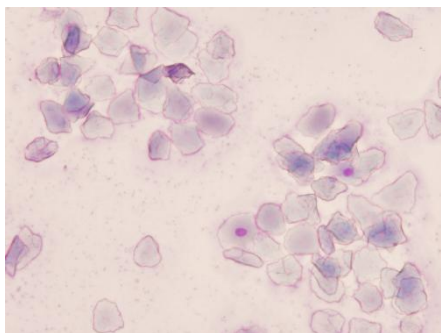


图 1 动情期

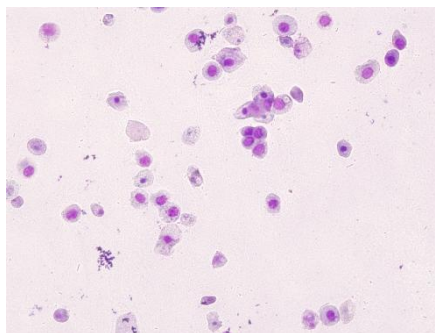


图 2 动情后期

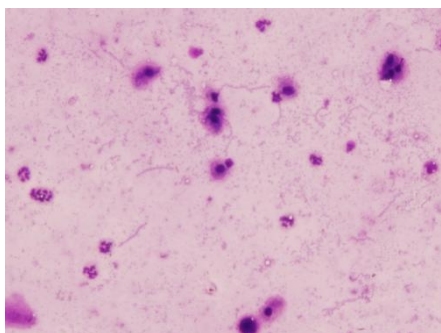


图 3 动情间期

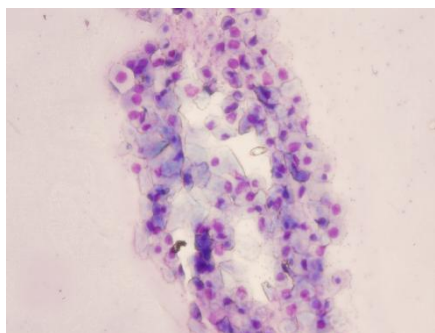


图 4 动情前期

附 录 2

卵巢最大面切片 HE 染色×100 倍

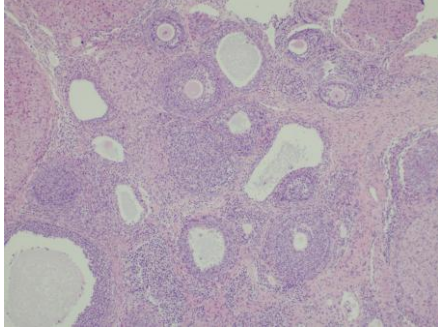


图 1 正常组

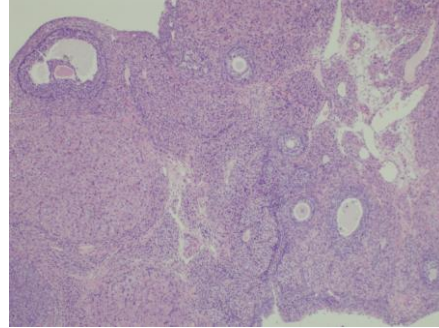


图 2 模型组

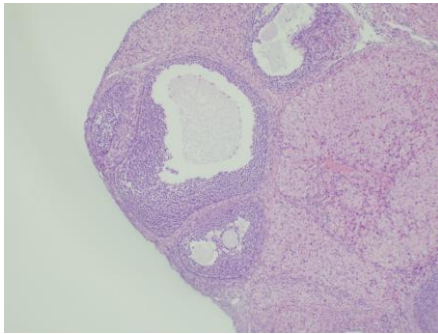


图 3 低剂量组

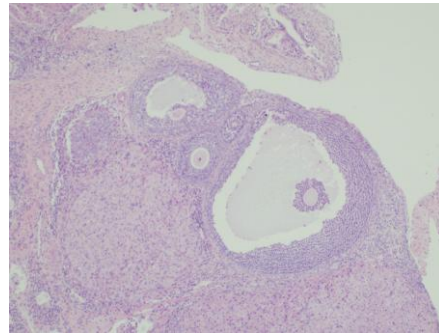


图 4 中剂量组

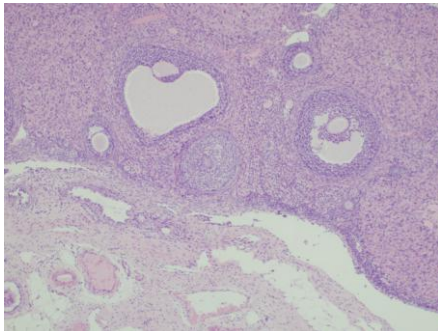


图 5 高剂量组

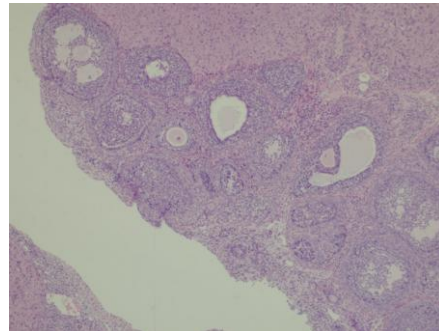


图 6 CC 组

附录 3

卵巢最大面切片 HE 染色×200 倍

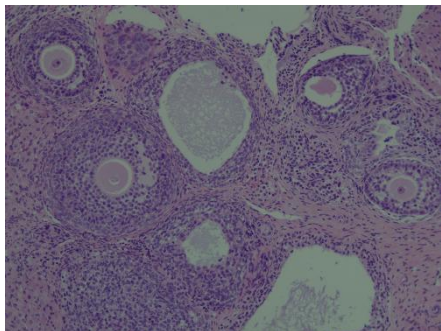


图 1 正常组

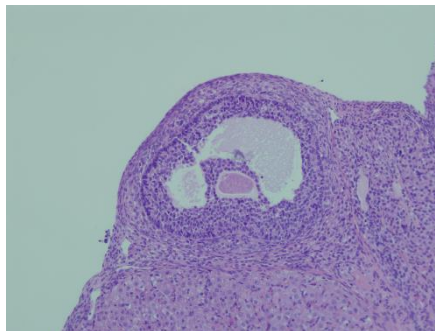


图 2 模型组

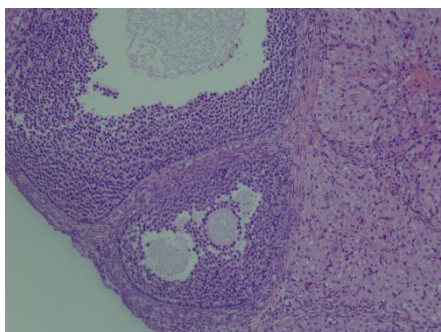


图 3 低剂量组

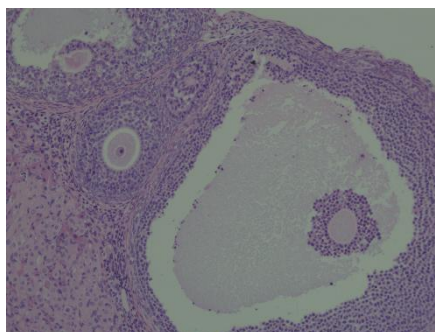


图 4 中剂量组

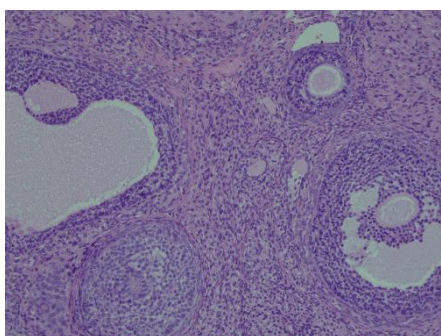


图 5 高剂量组

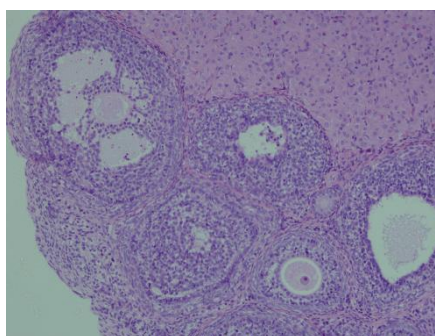


图 6 CC 组

附 录 4

子宫横切面 HE 染色×100 倍

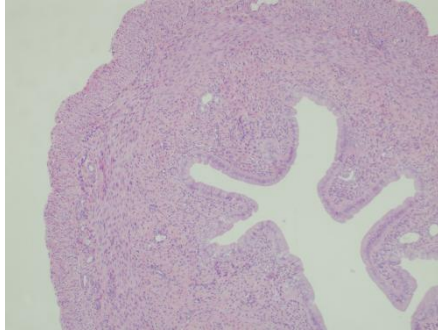


图 1 正常组

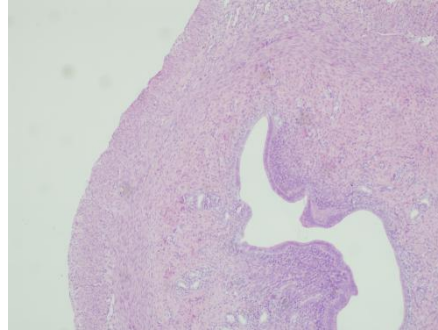


图 2 模型组

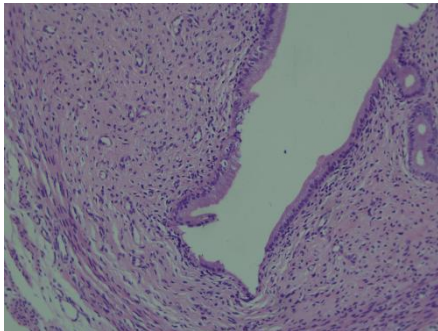


图 3 低剂量组

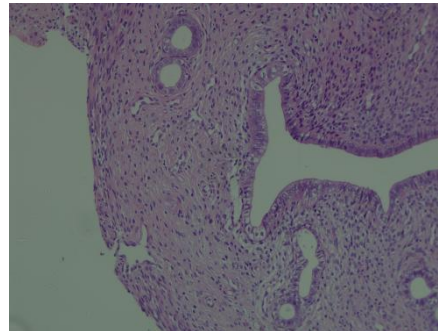


图 4 中剂量组

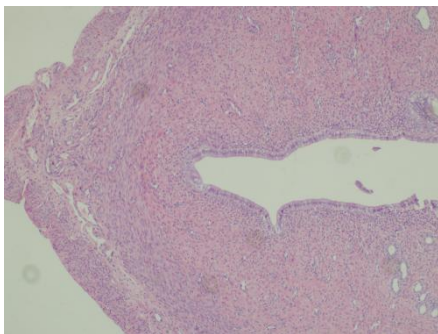


图 5 高剂量组

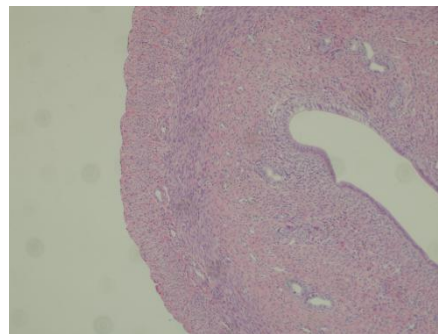


图 6 CC 组

附录 5

子宫横切面 HE 染色×200 倍

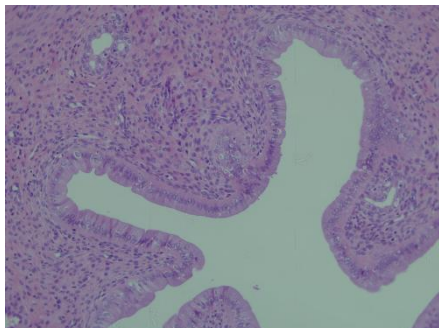


图 1 正常组

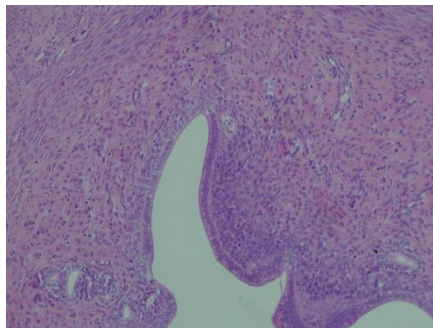


图 2 模型组

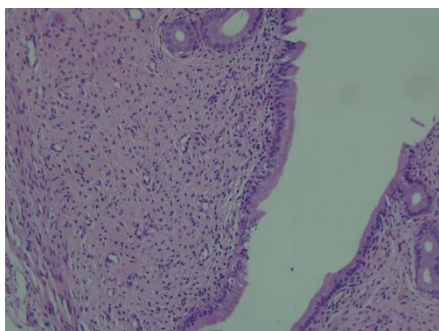


图 3 低剂量组

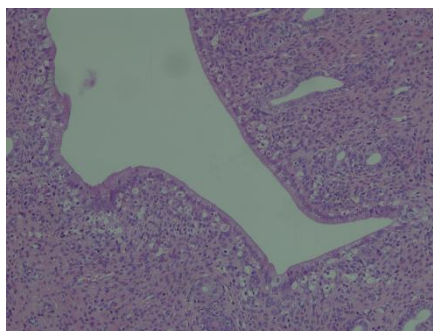


图 4 中剂量组

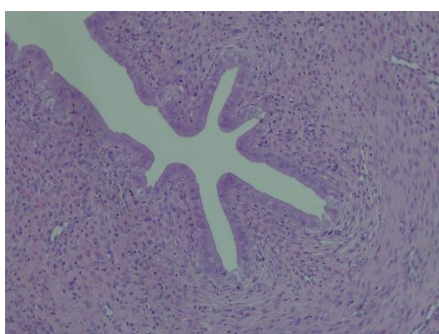


图 5 高剂量组

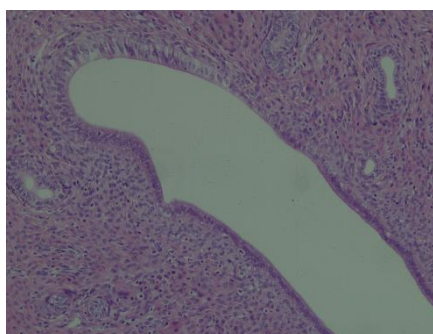


图 6 CC 组

在校发表论文情况

发表论文:

- [1] 高飞霞, 郜洁, 巫海旺, 丘维钰, 丘敏, 罗颂平, 月经过少中西医病因的相关性及致病因素研究[J] 辽宁中医杂志, 2016, 43 (6): 919—922.
- [2] 丘敏, 郜洁, 曹蕾, 从脾肾两虚论治复发性流产验案 1 则[J], 环球中医药杂志, 待发表.

致 谢

首先要衷心感谢我的导师罗颂平老师！老师在我研究生三年的学习生涯中，言传身教，教会我何为学者风范，治学严谨，而又学无止境；在生活上，老师以身作则，让我学习了如何严于律己，宽以待人。我会时刻铭记老师的教诲，在今后的人生道路上脚踏实地地走下去。感恩老师的指导与鼓励！

其次要感谢李亚迪师姐、郜洁师姐，本论文的设计、实施、完善等等，离不开师姐的耐心指导和鼓励。感谢雷婷、邓韞洁、曾媛媛、李俊波师姐、郭淑敏，谢谢你们在实验中对我无私地帮助与支持。感谢实验中心林柳青老师在动物实验中的指导。

感谢高飞霞师姐、刘方师姐，谢谢你们在我困难、脆弱的时候给予我温暖的怀抱和关心。

感谢全体妇科老师对我临床技能的培养。

感谢我的父母多年来的养育之恩，感谢兄长一如既往的保护。

感谢我的朋友们，一路的陪伴与鼓励。

谢谢你们！


统计学审核证明

学号：20157101033

广州中医药大学研究生学位论文统计学审核证明

兹有硕士研究生丘敏（导师罗颂平）的学位论文《滋肾育胎丸治疗肾虚型排卵障碍性不孕症的临床与实验研究》中有关统计学方面的内容，经我部门审定合格，特此证明。

广州中医药大学临床药理研究所

负责人：

二〇一八年 五 月 四 日