

基于多囊卵巢综合征大鼠模型分析补肾促排卵汤 对下丘脑-垂体-卵巢轴的调控机制

闫凤乐¹, 刘荣²

1. 杭州市临平区妇幼保健院妇科, 浙江 杭州 311100; 2. 杭州市临平区妇幼保健院产科, 浙江 杭州 311100

[摘要] 目的: 通过多囊卵巢综合征(PCOS)大鼠模型, 探究补肾促排卵汤对下丘脑-垂体-卵巢轴的调控机制。方法: 将150只6周龄的SD大鼠, 随机分为空白对照组(鼠数=30)及PCOS观察组(鼠数=120), 再将观察组随机分为模型组、阳性对照组、中药低剂量组及中药高剂量组4组, 每组30只; 空白对照组正常环境下饲养, 观察组均给予脂多糖(LPS)腹腔注射, 阳性对照组给予达英35溶液, 中药低剂量组给予低剂量补肾促排卵汤, 中药高剂量组给予高剂量补肾促排卵汤。分析各组大鼠卵巢系数、子宫系数及动情周期变化, 分析其血清性激素水平; 观察各组大鼠下丘脑 Kisspeptin、GnRH 蛋白表达及 mRNA 水平。结果: 中药高剂量组各观察指标水平与空白对照组对比差异无统计学意义 ($P>0.05$); 中药高剂量组卵巢系数及动情周期均低于模型组、阳性对照组及中药低剂量组 ($P<0.05$); 空白对照组卵巢系数及动情周期均低于模型组、阳性对照组及中药低剂量组 ($P<0.05$); 垂体促黄体生成素 (LH)、睾酮 (T) 水平中药高剂量组及空白对照组均低于其他各组, 而雌二醇 (E_2) 及孕酮 (P) 均高于其他组 ($P<0.05$); 中药高剂量组 E_2 显著高于阳性对照组 ($P<0.05$); 中药高剂量组及空白对照组下丘脑 Kisspeptin 蛋白表达及 mRNA 水平均高于其他各组, GnRH 蛋白表达及 mRNA 水平均低于其他各组 ($P<0.05$)。结论: 补肾促排卵汤可以调节卵巢功能, 规律性激素水平, 且可以调节垂体 Kisspeptin 及 GnRH 表达, 降低垂体对两者的敏感度, 促进排卵。

[关键词] 多囊卵巢综合征; 补肾促排卵汤; 发病机制; 大鼠模型; 下丘脑-垂体-卵巢轴

[中图分类号] R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2023) 05-0013-05

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2023.05.003

Analysis of the Regulatory Mechanism of Bushen Cupailuan Decoction on Hypothalamus-Pituitary-Ovary Axis Based on the Rat Model of Polycystic Ovary Syndrome

YAN Fengle, LIU Rong

Abstract: **Objective:** To explore the regulatory mechanism of Bushen Cupailuan Decoction on hypothalamus-pituitary-ovary axis through the rat model of polycystic ovary syndrome (PCOS). **Methods:** A total of 150 6-week old SD rats were randomly divided into blank control group ($n=30$) and PCOS observation group ($n=120$). The observation group was randomly divided into four groups: model group, positive control group, low-dose group and high-dose group, with 30 rats in each group. The blank control group was fed in the normal environment. The observation group was given intraperitoneal injection of bacterial lipopolysaccharide (LPS), the positive control group was given Diane 35 solution, the low-dose group of Chinese medicine was given low-dose of Bushen Cupailuan decoction, and the high-dose group of Chinese medicine was given high-dose of Bushen Cupailuan decoction. The changes of ovary coefficient, uterus coefficient and estrous cycle of rats in each group were analyzed, and their serum sex

[收稿日期] 2022-10-10
[修回日期] 2022-01-02
[基金项目] 杭州市医药卫生科技项目 (B20210428)
[作者简介] 闫凤乐 (1983-), 女, 主治医师, E-mail: yanfengle2022@163.com。

hormone levels were analyzed. The protein expressions and mRNA levels of Kisspeptin and GnRH in hypothalamus of rats in each group were observed. **Results:** There was no significant difference between the high-dose group and the blank control group ($P > 0.05$). The ovarian coefficient and estrous cycle in the Chinese medicine high-dose group were lower than those in the model group, the positive control group and the Chinese medicine low-dose group ($P < 0.05$). The ovarian coefficient and estrous cycle of the blank control group were lower than those of the model group, the positive control group and the Chinese medicine low-dose group ($P < 0.05$). The levels of luteinizing hormone (LH) and testosterone (T) in the pituitary gland of the Chinese medicine high-dose group and the blank control group were lower than those of the other groups, while estradiol (E_2) and progesterone (P) were higher than those of the other groups ($P < 0.05$). The level of E_2 in Chinese medicine high-dose group was significantly higher than that in positive control group ($P < 0.05$). The expressions of kisspeptin protein and mRNA in hypothalamus of Chinese medicine high-dose group and blank control group were higher than those of other groups, while the protein and mRNA expressions of GnRH were lower than those of other groups ($P < 0.05$). **Conclusion:** Bushen Cupailuan Decoction can regulate ovarian function, regular hormone level, and regulate the expressions of Kisspeptin and GnRH in pituitary, reduce the sensitivity of pituitary to Kisspeptin and GnRH, and promote ovulation.

Keywords: Polycystic ovary syndrome; Bushen Cupailuan Decoction; Pathogenesis; Rat model; Hypothalamus-pituitary-ovary axis

多囊卵巢综合征(PCOS)是女性无排卵性不孕的主要因素,属于常见的育龄期妇女内分泌疾病^[1-2]。PCOS 主要特征为持续无排卵、高雄激素血症、胰岛素抵抗等,其发病率约占生育期妇女疾病的 10%,在无排卵性不孕疾病中占比高达 60%^[3-4]。对于该疾病的发病机制医学界尚未得出统一结论,其在神经、内分泌、卵巢局部的调控均有所涉及,并且还与脂肪、糖及蛋白质的代谢有关^[5-6]。有文献报道称,补肾促排卵汤在 PCOS 治疗方面具有一定疗效,可以显著恢复卵泡质量、调节下丘脑-垂体-卵巢轴作用机制,改善妊娠结局^[7]。故本研究通过 PCOS 大鼠模型的建立,观察补肾促排卵汤对下丘脑-垂体-卵巢轴的干预机制,现报道如下。

1 动物来源与方法

1.1 动物来源及分组 150 只 6 周龄 SD 大鼠,体质量 180~200 g,平均体质量(189.23 ± 23.54)g,首先采用进行为期 5 d 的分笼喂养,给予正常饲料和水。随机分为空白对照组及观察组,空白对照组共 30 只,观察组共 120 只;依据大鼠动情周期进行模型评估,模型鉴定成功后,将观察组随机分为模型组、

阳性对照组、中药低剂量组及中药高剂量组各 30 只。本研究经杭州市余杭区妇幼保健院伦理委员会批准(伦理审批号:LLSC-KYKT-2021-0036-A)。

1.2 给药方法 空白对照组予以正常条件饲养,观察组均持续灌胃 3 周溶解在羧甲基纤维素水溶液中的来曲唑。同时每周 2 次进行脂多糖(LPS)(规格:2.5 mg/kg)腹腔注射,维持 4 周;129 g 补肾促排卵汤依据成人 70 kg 体质量折算至大鼠,中药低剂量组和中药高剂量组大鼠的给药剂量分别为 5.68 g/kg、21.56 g/kg。达英 35 溶液:成人每天 1 片,折合到大鼠,每只每天 1/96 片,将该剂量达英 35 于 100 mL 纯净水中稀释,每克大鼠每天需 0.009 mL。用药完成后各组大鼠还需连续检测 3 个动情周期。

1.3 动情周期检测 大鼠体质量在造模后 21~79 d 内进行每周称重,时间为上午 9 点左右,大鼠阴道采用 0.9%氯化钠溶液进行重复冲洗,在载玻片上滴取少量液体,在 37℃条件下于烤箱中烘干,后在甲苯胺蓝溶液中浸泡 5 s,以缓慢干净水流冲洗,最后风干封片,观察。

1.4 标本采集及血清激素水平检测 阴道涂片完成

后,对大鼠进行麻醉,采集腹主动脉血液,随后将完整的脑组织及双侧卵巢经解剖拿出,去除卵巢多余脂肪组织,称取湿重(精密电子天平),选取多聚甲醛固定液对一侧卵巢进行固定,浓度为4%,剩余一侧卵巢于液氮内固定。在4℃下以离心机进行血清分离,置于-80℃中保存待检,血清中促黄体生成素(LH)、卵泡刺激素(FSH)、雌二醇(E₂)、睾酮(T)、孕酮(P)水平采用酶联免疫吸附法(ELISA)试剂盒检测。

1.5 组织病理学观察 固定卵巢组织后,将其放入梯度乙醇中,进行脱水处理,后采用石蜡包埋。连续切片位置自卵巢中心开始,顺最长轴面积最大处,每片5μm,石蜡脱去后采用苏木精-伊红染色法进行染色,进而对卵巢大体形态和颗粒细胞排列进行观测,统计各类卵泡数据。

1.6 Kisspeptin 及 GnRH 表达水平检测 将在动情前期或动情期间的大鼠进行麻醉,对其进行固定,固定液选取4%的多聚甲醛灌注,将脑组织完整取出后再次放入固定液中过夜,后通过不同浓度蔗糖溶液进行脱水,视前区(POA)、前腹侧视旁核(AVPV)及弓状核(ARC)通过冰冻切片机切成30μm的切片。采用0.1%Triton进行脑片破膜,内源性氧化物的消耗采用3%H₂O₂,随后,进行1h正常胎羊血清封闭,清洗干净后,进行Kisspeptin和GnRH多克隆抗体孵育,在4℃条件下存放一夜,随后在37℃下孵育60min,出现DAB显色。对AVPV、ARC中Kisspeptin和POA中GnRH出现的阳性细胞进行计数,随后对AVPV、ARC中Kisspeptin免疫反应的光密度进行Image J测量,计算每组平均值,平均值选用每5只大鼠的值。

1.7 蛋白提取及 Western blot 检测 将下丘脑中的AVPV、ARC在冰冻切片机中进行剥离,通过RIPA蛋白裂解液对AVPV、ARC中脑组织及卵巢组织进行组织匀浆,裂解完毕后,将蛋白上清收集,同时测定蛋白浓度。随后采用凝胶电泳将同质量的蛋白进行分离,置于PVDF膜上,封闭完成后将Kisspeptin、FSHR等蛋白一抗及相对应蛋白二抗孵育,滴入ECL发光液,仪器(化学成像仪)检验印记强度,记录灰度值。

1.8 目的基因 mRNA 水平检测 RNA提取选用Trizol试剂盒,纯度选择紫外分光光度计检测OD260及OD280,通过逆转录试剂盒将RNA合成Kiss-1、

GnRH,表达水平采用SYBR Green检测,引物序列如下:Kiss-1,5'-GAATGATCTCAATGGCTTCTTGG-3'(正向),5'-TTTCCCAGGCATTAACGAGTT-3'(反向);GnRH,5'-GGGAAAGAGAAACACTGAACA-3'(正向),5'-GGACAGTACATTTCGAAGTGCT-3'(反向)。

2 观察指标与统计学方法

2.1 观察指标 分析各组大鼠卵巢系数(卵巢质量/大鼠体质量)、子宫系数(子宫质量/大鼠体质量)及动情周期;分析各组大鼠垂体性激素水平;观察各组大鼠下丘脑Kisspeptin、GnRH蛋白表达及mRNA水平。

2.2 统计学方法 在本次研究中,将所有数据整理,并为其建立相应的数据库,将所有数据库录入SPSS26.0中行数据处理,其中将计量数据行正态检验,表示方法为均数±标准差($\bar{x} \pm s$),组间数据使用独立样本 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠卵巢系数、子宫系数及动情周期比较 见表1。中药高剂量组与空白对照组卵巢系数及动情周期对比差异无统计学意义($P > 0.05$),但中药高剂量组与其他3组相比,卵巢系数及动情周期低($P < 0.05$);其他3组高于空白对照组($P < 0.05$);子宫系数各组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表1 各组大鼠卵巢系数、子宫系数及动情周期比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	卵巢系数	子宫系数	动情周期(d)
空白对照组	30	55.87±8.35	153.05±20.54	34.32±1.23
模型组	30	85.02±12.04 ^{①②}	148.57±25.42	37.86±1.92 ^{①②}
阳性对照组	30	74.23±8.56 ^{①②}	147.32±20.81	36.77±1.75 ^{①②}
中药高剂量组	30	58.66±14.62	156.62±22.46	35.14±1.59
中药低剂量组	30	63.42±13.11 ^{①②}	155.43±21.02	36.47±1.46 ^{①②}

注:①与中药高剂量组比较, $P < 0.05$;②与空白对照组比较, $P < 0.05$

3.2 各组大鼠垂体性激素水平比较 见表2。中药高剂量组、中药低剂量组、阳性对照组与空白对照组LH、T水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),模型组与空白对照组及中药高剂量LH、T水平差异较大,模型组LH、T水平均高于空白对照组及中药高剂量组($P < 0.05$);且E₂、P水平空白对照组及中药高剂量显著高于模型组($P < 0.05$)。中药高剂量组E₂显著高于阳性对照组($P < 0.05$)。

3.3 各组大鼠下丘脑 Kisspeptin 及 GnRH 蛋白表达水平比较 见表 3。中药高剂量组与空白对照组 Kisspeptin 及 GnRH 蛋白表达水平差异无统计学意义($P>0.05$), 而空白对照组均高于模型组、阳性对照组、中药低剂量组($P<0.05$)。中药高剂量组 Kisspeptin 及 GnRH 蛋白表达水平与除空白对照组外的其余造模组比较, 差异有统计学意义($P<0.05$)。

表 2 各组大鼠垂体性激素水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	LH(mIU/mL)	E ₂ (pg/mL)	T(mIU/mL)	P(ng/mL)
空白对照组	30	4.54±1.12	46.03±5.27	0.148±0.031	14.59±6.79
模型组	30	7.78±2.83 ^{①②}	39.12±6.21 ^{①②}	0.178±0.038 ^{①②}	10.82±5.98 ^{①②}
阳性对照组	30	4.98±1.81	43.30±1.68 ^{①②}	0.165±0.022	10.76±2.94 ^②
中药高剂量组	30	4.13±1.85	45.04±3.75 ^②	0.143±0.035	12.37±4.34 ^②
中药低剂量组	30	5.76±0.72	44.21±2.32 ^②	0.151±0.024	11.87±2.32 ^②

注: ①与中药高剂量组比较, $P<0.05$; ②与空白对照组比较, $P<0.05$

表 3 各组大鼠下丘脑 Kisspeptin 及 GnRH 蛋白表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	Kisspeptin 蛋白	GnRH 蛋白
空白对照组	30	11.31±3.45	6.98±1.93
模型组	30	5.38±1.56 ^{①②}	24.75±3.67 ^{①②}
阳性对照组	30	7.14±2.26 ^{①②}	15.36±2.43 ^{①②}
中药高剂量组	30	10.24±3.17	7.24±1.68
中药低剂量组	30	8.97±3.02 ^{①②}	11.32±2.02 ^{①②}

注: ①与中药高剂量组比较, $P<0.05$; ②与空白对照组比较, $P<0.05$

3.4 各组大鼠下丘脑 Kisspeptin 及 GnRH mRNA 表达比较 见表 4。Kisspeptin mRNA 空白对照组显著高于模型组、阳性对照组及中药低剂量组, GnRH mRNA 显著低于各组($P<0.05$), 而与中药高剂量组比较, 空白对照组 Kisspeptin mRNA、GnRH mRNA 差异无统计学意义($P>0.05$)。中药高剂量组 Kisspeptin 及 GnRH mRNA 表达水平与除空白对照组的其余造模组比较, 差异有统计学意义($P<0.05$)。

4 讨论

PCOS 相关发病机制不明确, 可能与遗传、基因表达异常、青春期生理特点及环境影响有关^[8-9]。现阶段, 人们生活方式及饮食结构的变化也使得该疾病发病率持续上升, 同时增加患者并发心血管疾病、子宫内膜疾病及心理疾病的风险^[10-11]。目前, 该疾病主要通过西药进行干预, 该药物服用方便, 可

表 4 各组大鼠下丘脑 Kisspeptin 及 GnRH mRNA 表达比较($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	Kisspeptin mRNA	GnRH mRNA
空白对照组	30	14.51±1.03	11.92±2.24
模型组	30	12.35±0.89 ^{①②}	17.57±3.87 ^{①②}
阳性对照组	30	13.47±0.79 ^{①②}	15.48±3.21 ^{①②}
中药高剂量组	30	14.23±1.02	12.32±2.17
中药低剂量组	30	13.99±0.78 ^{①②}	13.98±3.01 ^{①②}

注: ①与中药高剂量组比较, $P<0.05$; ②与空白对照组比较, $P<0.05$

以有效提升排卵率, 但该药物存在一定局限性, 妊娠率较低, 容易流产, 可能引发一系列不良反应(多胎妊娠、卵巢过度刺激综合征等), 故寻找高效安全的治疗药物对改善 PCOS 疾病具有重要价值^[12-13]。

夏桂成教授所提倡的“补肾调周法”为治疗女性疑难杂症提供了新思路^[14]。有文献报道称, 夏教授的补肾促排卵汤可以缓解肾虚血瘀, 促进血液循环, 活血排卵^[15]。笔者也研究发现, 补肾促排卵汤可以有效恢复卵巢功能, 改善动情周期, 调节下丘脑-垂体-卵巢轴功能。究其原因, 补肾促排卵汤由丹参、赤芍、白芍、淮山药、山萸肉、炒牡丹皮、茯苓、红花、菟丝子等中药材组合而成, 丹参可以促进血液循环, 改善 PCOS 患者体内高雄激素血症的病理状态; 赤芍和白芍中的活性成分芍药苷可以有效补血; 菟丝子具有滋阴补阳功效, 其中提取的黄酮类化合物可以对下丘脑、垂体、卵巢中雌激素受体的表达及卵巢中 LH 的表达产生一定调理作用; 具有较强滋补肾阴肾阳、补血及促排卵作用。PCOS 病理特点之一便是双侧卵巢均匀增大, 补肾促排卵汤则可以有效促进颗粒细胞的增生、分化, 使卵泡膜细胞层及卵巢包膜有效变薄。同时, 雄激素由卵巢泡膜和卵巢间质合成, 雌激素由卵泡膜细胞和颗粒细胞与 FSH 及 LH 联合作用合成^[16], 卵泡膜上 LH 受体结合后, 通过细胞内胆固醇产生 T, 该物质可以进入颗粒细胞内作为雌激素前身; 此外, FSH 受体结合后可有效促进芳香化酶活性, 促进 T 转化为 E₂, 随后参与血液循环, 说明补肾促排卵汤可以在改善卵巢结构的同时调节雌激素水平^[17]。本研究结果与上述结论一致。

PCOS 病理机制还伴随下丘脑-垂体-卵巢轴功能失调, 本研究结果显示, 中药高剂量组及空白对照

组 GnRH 蛋白表达均低于模型组,刘嵩平^[18]学者得出相似结论,说明补肾促排卵汤可以进一步降低 GnRH 蛋白表达水平,分析该机制可能为 GnRH 分泌异常表现为 FSH 及 LH 分泌异常,影响下丘脑-垂体-卵巢轴功能,而补肾促排卵汤可以改善 FSH 及 LH 分泌,导致 PCOS 大鼠对 GnRH 敏感度降低,促进卵泡及卵子的生长发育,进一步改善下丘脑-垂体-卵巢轴机制。既往文献研究显示,生殖功能成熟及完善的信息传递者主要是 Kisspeptin,其可以有效调节下丘脑-垂体-卵巢轴功能^[19],笔者研究显示,空白对照组及中药高剂量组 Kisspeptin 蛋白表达较其他 3 组水平更高,说明补肾促排卵汤对 Kisspeptin 蛋白表达具有一定促进作用,且高剂量补肾促排卵汤具有更强的促进作用。此外,本研究证实补肾促排卵汤高剂量对 Kisspeptin mRNA 表达具有一定的促进作用,对 GnRH mRNA 表达具有一定抑制作用,分析其原因可能为:下丘脑 ARC Kisspeptin 的表达与 PCOS 神经内分泌关联性较大,可能与 PCOS 大鼠雄激素水平反馈作用于 Kisspeptin 有关,GnRH 可以调节垂体促性腺激素合成与分泌,Kisspeptin、GnRH 异常表达不仅会影响下丘脑-垂体-卵巢轴功能,还会影响动情周期规律,补肾促排卵汤可以补肾祛瘀,调节卵巢功能,促进排卵率的提高,有效改善不良妊娠结局,且补肾促排卵汤均为天然草本材料具有较高安全性。

综上所述,补肾促排卵汤可以直接或间接调节下丘脑-垂体-卵巢轴机制,恢复卵巢功能,促进排卵,恢复排卵周期规律,改善疾病。但中药治疗存在疗程长进度缓慢等特征,因此后续研究需加大对中西医结合治疗的探索,为 PCOS 治疗奠定基础。

[参考文献]

- [1] 马堃,宫林娟,陈燕霞,等.基于网络药理学和分子对接研究补肾促卵方治疗多囊卵巢综合征不孕的分子机制[J].中国中药杂志,2021,46(11):2650-2659.
- [2] 孟依临,郭霞珍,王彤.补肾疏肝法治疗多囊卵巢综合征心得[J].国际中医中药杂志,2022,44(1):1-3.
- [3] 潘惠兰,史佳.益肾消痰方对痰湿型多囊卵巢综合征患者的治疗效果及对血清性激素结合球蛋白,单核细胞趋化蛋白-1影响[J].世界临床药物,2020,41(5):364-369.
- [4] GADALLA M A, NORMAN R J, TAY C T, et al. Medical and Surgical Treatment of Reproductive Outcomes in Polycystic Ovary Syndrome: An Overview of Systematic Reviews[J]. International Journal of Fertility & Sterility, 2020, 13(4): 257-270.
- [5] 连一凯,周卫东.外泌体及其携带的非编码 RNA 在卵巢综合征发病机制及诊疗中的研究进展[J].药学报,2020,55(10):2256-2263.
- [6] ZOU J, LI Y, LIAO N, et al. Identification of key genes associated with polycystic ovary syndrome (PCOS) and ovarian cancer using an integrated bioinformatics analysis[J]. J Ovarian Res, 2022, 15(1): 30.
- [7] 周洁,王旭东,谈勇,等.补肾促排卵汤对多囊卵巢综合征模型大鼠卵巢 MMP-2, α -SMA 的影响[J].中医药导报,2020,26(15):44-48.
- [8] HE Z, WANG Y, LI Z, et al. MIF-mediated NF- κ B signaling pathway regulates the pathogenesis of polycystic ovary syndrome in rats[J]. Cytokine, 2021, 146(5): 155632-155633.
- [9] HU M, ZHANG Y, MA S, et al. Suppression of uterine and placental ferroptosis by N-acetylcysteine in a rat model of polycystic ovary syndrome[J]. Mol Hum Reprod, 2021, 27(12): 67.
- [10] 郑克琼.炔雌醇环丙孕酮联合二甲双胍治疗多囊卵巢综合征的疗效及对性激素和胰岛素水平的影响[J].中国药物与临床,2020,20(8):1293-1295.
- [11] 翟志瑾,翟志鹏.炔雌醇环丙孕酮联合二甲双胍治疗多囊卵巢综合征效果评价研究[J].山西医药杂志,2020,49(9):1137-1139.
- [12] 江书碧,魏薇,封玲,等.分析彩色多普勒超声在评价中医治疗多囊卵巢综合征中的应用[J].现代消化及介入诊疗,2020,25(1):290-291.
- [13] CINCIONE R I, LOSAVIO F, CIOLLI F, et al. Effects of Mixed of a Ketogenic Diet in Overweight and Obese Women with Polycystic Ovary Syndrome[J]. Int J Environ Res Public Health, 2021, 18(23): 12490.
- [14] 唐星冉,周惠芳,钟秋喜,等.国医大师夏桂成基于“心(脑)-肾-子宫生殖轴”理论治疗高催乳素血症性不孕症[J].中医药信息,2021,38(12):62-65.
- [15] 马文霞.补肾促排卵汤对多囊卵巢综合征患者性激素水平及卵巢功能的影响[J].中医临床研究,2020,12(3):126-127.
- [16] 谢源,董莉.补肾活血方干预多囊卵巢综合征患者 INH-ACT-FS 系统的临床研究[J].上海中医药大学学报,2019,33(2):41-45.
- [17] 朱小娟,郭海莲,徐文婷,等.补肾促排卵汤联合针刺通过调控卵巢血流动力在治疗未破裂卵泡黄素化综合征中的应用[J].四川中医,2018,36(9):159-162.
- [18] 刘嵩平.补肾促排卵汤辅助多囊卵巢综合征排卵功能障碍性不孕症对卵巢功能及妊娠结局的影响[J].实用中医药杂志,2020,36(11):1437-1438.
- [19] 康燕,黄华民,李海鹏,等.下丘脑弓状核 Kisspeptin, Kiss1r 和 GnRH 蛋白和 mRNA 在 PCOS 大鼠模型中的表达水平及相互作用的实验研究[J].临床和实验医学杂志,2019,18(21):2259-2262.

(责任编辑:吴凌,李海霞)