

## 妇产科疾病多学科研究专题

## 褪黑素对早发性卵巢功能不全的临床疗效及机制研究

杨婷, 王晓红, 李怡

(中国人民解放军空军军医大学第二附属医院 妇产科, 陕西 西安, 710038)

**摘要:** **目的** 探讨褪黑素在早发性卵巢功能不全(POI)治疗中的应用效果及相关机制。**方法** 前瞻性选取妇科门诊治疗的100例POI患者作为研究对象,随机分为对照组与试验组,每组50例。对照组采用传统激素替代疗法,试验组在对照组基础上联用褪黑素治疗。比较2组患者的基本资料、血清性激素[卵泡刺激素(FSH)、黄体生成素(LH)、雌二醇( $E_2$ )和抗米勒管激素(AMH)]水平和血清氧化应激指标[活性氧(ROS)、总抗氧化能力(T-AOC)]水平,随访2组患者的月经改善情况和不良反应发生率。**结果** 2组患者的年龄、体质指数、月经周期和生育要求比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );治疗3、6个月后,试验组FSH、ROS水平低于对照组, $E_2$ 和AMH水平高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );治疗1、3、6个月后,试验组T-AOC水平高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。治疗后,2组患者月经改善情况、不良反应发生率比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。**结论** 激素替代疗法联合褪黑素治疗POI安全且有效,可降低患者氧化应激水平,改善血清性激素水平和月经情况,且不会增加不良反应发生风险。

**关键词:** 早发性卵巢功能不全; 活性氧; 氧化应激; 褪黑素; 抗氧化

中图分类号: R 711.5; R 459.1 文献标志码: A 文章编号: 1672-2353(2023)16-075-04 DOI: 10.7619/jcmp.20230708

## The clinical efficacy and mechanism of melatonin in the treatment of premature ovarian insufficiency

YANG Ting, WANG Xiaohong, LI Yi

(Department of Obstetrics and Gynecology, the Second Affiliated Hospital of Air Force Military Medical University of Chinese People's Liberation Army, Xi'an, Shaanxi, 710038)

**Abstract: Objective** To investigate the clinical efficacy and related mechanism of melatonin in the treatment of premature ovarian insufficiency (POI). **Methods** A total of 100 POI patients in gynecological department were retrospectively selected and were randomly divided into control group (treated by traditional hormone replacement method,  $n = 50$ ) and test group (additionally treated by melatonin on basis of the control group,  $n = 50$ ). The basic data, serum hormone levels including follicle stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), estradiol ( $E_2$ ) and anti-Mullerian hormone (AMH), the levels of oxidative stress including reactive oxygen species (ROS) and total antioxidant capacity assay kit (T-AOC) were recorded. Meanwhile, the improvement of menstruation and the incidence of adverse effects in both groups were compared during follow-up. **Results** There were no significant differences in age, body mass index, menstrual cycle and fertility requirements between the two groups ( $P > 0.05$ ). Compared with the control group, serum FSH and ROS levels were significantly decreased, while  $E_2$  and AMH increased after 3 and 6 months in the test group ( $P < 0.05$ ). After 1 month, 3 and 6 months of treatment, T-AOC level in test group was higher than that in control group ( $P < 0.05$ ). After treatment, there were no statistical significance differences in the improvement of menstruation and the incidence of adverse reactions between two groups ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** The combination of hormone replacement therapy and melatonin can reduce the level of oxidative stress and improve serum sex hormone levels and menstruation, without increasing the risk of adverse reactions. Therefore, this regimen is a safe and effective method.

**Key words:** premature ovarian insufficiency; reactive oxygen species; oxidative stress; melatonin; antioxidant

收稿日期: 2023-03-08 修回日期: 2023-07-26

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(82071717); 陕西省自然科学基金基础研究计划项目(2015JQ8316)

通信作者: 李怡, E-mail: 609105435@qq.com

早发性卵巢功能不全(POI)是指女性 40 岁之前由于卵巢中的卵泡破坏或耗尽而发生卵巢功能衰竭,可表现出一系列症状,例如月经紊乱和性欲减退<sup>[1-2]</sup>。当年龄小于 40 岁的女性出现停经或稀发月经 4 个月,且间隔 4 周连续 2 次卵泡刺激素(FSH)水平高于 25 U/L,即可诊断为 POI<sup>[3]</sup>。POI 发病机制复杂,可能与遗传因素、免疫疾病、医源性因素(放疗、化疗等)、不良生活习惯和特发性因素有关<sup>[4-5]</sup>。既往研究<sup>[6]</sup>显示,POI 在普通女性人群中的发病率为 1%~2%,近年来呈上升趋势。褪黑素是一种主要由大脑松果体合成的神经激素,但生殖腺器官(如睾丸和卵巢)也能合成褪黑素<sup>[7]</sup>。研究<sup>[8]</sup>显示,褪黑素可以延缓卵巢衰老,调节卵巢生物节律,促进卵泡形成,提高卵细胞质量和受精率。作为卵巢卵泡中的自由基清除剂,褪黑素有助于卵母细胞成熟、胚胎发育和颗粒细胞黄体化<sup>[9-10]</sup>。本研究基于前瞻性随机对照研究方法探讨褪黑素对 POI 的临床疗效及其相关机制,现报告如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2021 年 1 月—2022 年 6 月中国人民解放军空军军医大学第二附属医院妇科门诊收治的 100 例 POI 患者作为研究对象,POI 的诊断参照 2016 年欧洲人类生殖和胚胎学学会发布的指南<sup>[3]</sup>。纳入标准:①首次诊断时年龄 < 40 岁者;②月经过少或闭经至少 4 个月者;③间隔 4 周以上的 2 次测量中,FSH > 25 U/L 者。排除标准:①已知或怀疑妊娠女性,哺乳期女性;②合并自身免疫性疾病者;③合并慢性疾病(肾脏疾病、肝脏疾病、高血压病、充血性心力衰竭、脑血管或心血管疾病)者;④患有乳腺癌或性激素依赖性恶性肿瘤者;⑤先天性生殖器官发育异常者,治疗史包括卵巢切除术、子宫切除术、放疗、化疗等;⑥正在接受可能影响月经周期或卵巢功能的药物治疗或针灸治疗等,或过去 3 个月内参加过可能影响生殖系统的其他临床试验者;⑦对研究药物过敏者;⑧抽烟或饮酒者。根据随机对照原则将入选患者分为对照组和试验组,每组 50 例。本研究经医院伦理委员会审核批准,所有患者已签署知情同意书。

### 1.2 治疗方法

对照组采用常规激素替代疗法:患者于月经

第 5 天(月经未来潮者于彩超监测子宫内膜厚度 < 5 mm 时)开始口服戊酸雌二醇片(Bayer 拜耳),2 mg/d,连续 21 d,并于服用戊酸雌二醇片的第 12 天开始加服地屈孕酮片(Abbott 雅培),10 mg/d,连续 10 d。试验组在对照组治疗基础上联合应用褪黑素,患者每晚睡前口服褪黑素片(汤臣倍健),2 mg/d。2 组患者均连续用药 3 个月经周期,为 1 个疗程。

### 1.3 采血和血清性激素、氧化应激指标水平检测方法

治疗前的采血日为患者月经后 2~4 d(自然月经周期或药物辅助月经来潮周期),治疗后的采血日要求子宫内膜厚度 < 5 mm,卵泡直径 < 10 mm,不符合要求者将被剔除。对照组有 5 例患者不符合要求被剔除,试验组有 3 例患者不符合要求被剔除。早晨 9 点前采集患者空腹肘部静脉血 5 mL,室温静置 1 h 或 4 ℃ 过夜,之后将样品 4 ℃ 下离心分离血清,通过罗氏自动化模块分析系统检测血清中 FSH、黄体生成素(LH)、雌二醇(E<sub>2</sub>)和抗米勒管激素(AMH)的基础水平。若不能当天上机检测,血清应保存于 -20 ℃(不超过 30 d)或 -80 ℃(不超过 60 d)环境,禁止反复冻融。分别使用活性氧(ROS)检测试剂盒(化学荧光法)、总抗氧化能力(T-AOC)检测试剂盒(比色法)检测血清 ROS、T-AOC 水平,试剂盒均购自南京建成生物工程研究所,检测时严格按照说明书要求进行操作。

### 1.4 观察指标

①主要观察指标:治疗前和治疗 1、3、6 个月后血清 FSH 水平。②次要观察指标:治疗前和治疗 1、3、6 个月后血清 LH、E<sub>2</sub>、AMH、ROS、T-AOC 水平,月经改善情况。③安全性指标:血常规、尿常规、肝肾功能,不良反应发生率。④月经改善情况:治疗 6 个月后(从开始服药治疗时计算),对患者月经情况进行电话随访或当面沟通。参照既往研究<sup>[11]</sup>制订月经改善的评估标准:无效,指月经量、持续时间、月经周期均无改善;有效,指月经量、持续时间、月经周期有所改善;显效,指月经量、持续时间基本正常,月经周期恢复正常;痊愈,指月经量、持续时间、月经周期均正常。有效率 = (有效 + 显效 + 痊愈) / 总例数 × 100%。

### 1.5 统计学分析

采用 SPSS 20.0 统计学软件分析数据,有无

生育要求、月经改善情况等计数资料以 $[n(\%)]$ 表示,比较行 $\chi^2$ 检验,年龄、体质量指数(BMI)、月经周期、性激素水平、氧化应激指标水平等计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,比较行独立样本 $t$ 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 基本资料比较

2组患者年龄、BMI、月经周期和生育要求比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),具有可比性,见表1。

### 2.2 治疗前后血清性激素水平比较

治疗前、治疗1个月后,2组FSH、LH、 $E_2$ 、

AMH水平比较,差异无统计学意义( $P < 0.05$ );治疗3、6个月后,试验组FSH水平低于对照组, $E_2$ 和AMH水平高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );治疗后,2组患者FSH、LH、 $E_2$ 、AMH水平均表现为时间依赖性改善,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表2。

表1 2组患者基线资料比较 $(\bar{x} \pm s)[n(\%)]$

指标	对照组( $n=50$ )	试验组( $n=50$ )	$t/\chi^2$	$P$
年龄/岁	32.18 ± 4.17	32.89 ± 4.34	0.155	0.694
BMI/(kg/m <sup>2</sup> )	22.20 ± 3.69	22.59 ± 3.46	0.296	0.588
月经周期/d	53.06 ± 5.43	54.86 ± 7.53	1.201	0.276
有生育要求	10(20.00)	11(22.00)	0.060	0.985

BMI: 体质量指数。

表2 2组患者治疗前后性激素水平比较 $(\bar{x} \pm s)$

指标	组别	治疗前	治疗1个月后	治疗3个月后	治疗6个月后	$F$	$P$
FSH/(IU/L)	对照组( $n=45$ )	42.53 ± 5.15	39.55 ± 4.42	34.91 ± 4.03	25.04 ± 5.85	16.342	0.008
	试验组( $n=47$ )	43.32 ± 5.69	38.02 ± 4.55	31.18 ± 4.07	23.11 ± 4.36		
	$t$	0.011	0.114	3.747	5.005		
	$P$	0.918	0.736	0.046	0.028		
LH/(IU/L)	对照组( $n=45$ )	17.07 ± 2.93	16.15 ± 3.51	15.28 ± 2.27	14.71 ± 2.55	5.325	0.042
	试验组( $n=47$ )	17.83 ± 3.55	15.71 ± 2.45	14.74 ± 2.52	12.55 ± 2.05		
	$t$	2.196	4.132	0.420	2.280		
	$P$	0.142	0.054	0.519	0.135		
$E_2$ /(pmol/L)	对照组( $n=45$ )	71.18 ± 10.43	77.37 ± 10.86	81.69 ± 9.43	91.06 ± 12.57	5.673	0.035
	试验组( $n=47$ )	72.23 ± 11.28	85.55 ± 11.37	94.97 ± 12.09	114.28 ± 15.03		
	$t$	0.004	1.964	4.595	9.672		
	$P$	0.983	0.165	0.035	0.003		
AMH/(ng/mL)	对照组( $n=45$ )	0.47 ± 0.07	0.61 ± 0.10	0.72 ± 0.17	0.85 ± 0.27	10.423	0.012
	试验组( $n=47$ )	0.46 ± 0.06	0.67 ± 0.13	0.85 ± 0.28	1.01 ± 0.31		
	$t$	2.402	0.106	9.625	5.053		
	$P$	0.125	0.746	0.003	0.027		

FSH: 卵泡刺激素; LH: 黄体生成素;  $E_2$ : 雌二醇; AMH: 抗米勒管激素。

### 2.3 治疗前后血清氧化应激指标水平比较

治疗3、6个月后,试验组ROS水平低于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );治疗1、3、6个月后,试验组T-AOC水平高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );治疗后,试验组ROS、T-AOC

水平均表现为时间依赖性改善,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );治疗后不同时点,对照组ROS、T-AOC水平比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表3。

表3 2组患者治疗前后血清氧化应激指标水平比较 $(\bar{x} \pm s)$

指标	组别	治疗前	治疗1个月后	治疗3个月后	治疗6个月后	$F$	$P$
ROS/(ng/mL)	对照组( $n=45$ )	213.54 ± 31.29	207.30 ± 22.82	194.15 ± 21.68	186.72 ± 20.30	1.563	0.786
	试验组( $n=47$ )	217.42 ± 33.95	174.35 ± 23.04	123.47 ± 15.78	97.22 ± 14.15		
	$t$	0.001	2.526	6.904	12.142		
	$P$	0.972	0.115	0.010	0.001		
T-AOC/(IU/mL)	对照组( $n=45$ )	23.22 ± 3.08	25.79 ± 3.62	27.35 ± 4.32	30.80 ± 5.21	4.423	0.532
	试验组( $n=47$ )	23.27 ± 3.13	32.90 ± 4.37	36.95 ± 5.34	44.59 ± 6.49		
	$t$	2.436	7.472	6.476	6.696		
	$P$	0.122	0.008	0.013	0.011		

ROS: 活性氧; T-AOC: 总抗氧化能力。

## 2.4 治疗后月经改善情况比较

治疗 6 个月后,对照组、试验组患者月经改善有效率分别高达 96.00%、98.00%,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 4。

表 4 2 组患者治疗 6 个月后月经改善情况比较[n(%)]

月经改善情况	对照组(n=50)	试验组(n=50)	$\chi^2$	P
无效	2(4.00)	1(2.00)	0.344	0.500
有效	28(56.00)	21(42.00)	1.961	0.115
显著有效	19(38.00)	24(48.00)	1.020	0.210
痊愈	1(2.00)	4(8.00)	1.895	0.181
月经改善有效	48(96.00)	49(98.00)	0.344	0.500

## 2.5 安全性评价

与治疗前比较,2 组患者治疗 6 个月后的血常规、尿常规、肝肾功能检测结果均无明显改变。治疗过程中,2 例患者出现服药后乳房胀痛(对照组和试验组各 1 例),停药后症状均可逐渐缓解。2 组不良反应发生率比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

## 3 讨论

POI 是一种少见的妇科疾病,其特征是卵巢卵泡减少,激素分泌过多<sup>[2]</sup>。相关研究<sup>[12]</sup>称 POI 的患病率为 0.9%~1.2%,而瑞典一项全国性登记研究<sup>[13]</sup>显示 POI 的总患病率约为 1.9%。一项荟萃分析<sup>[14]</sup>估计,全球有 3.7% 的女性受到该疾病的影响。POI 患者往往伴随长期并发症,如骨质疏松、骨折、心血管疾病和抑郁<sup>[15]</sup>。POI 是一种由遗传因素、自身免疫性疾病、线粒体异常、医源性因素(包括化疗、放疗、外科手术)和环境因素引起的异质性疾病<sup>[16]</sup>,且另有一些是特发性的,病因不明。长期以来,激素替代疗法均是 POI 的首选治疗方法,但并不能恢复卵巢功能,目前可选用的新治疗策略有体外激活、线粒体激活、干细胞和外泌体治疗等<sup>[17]</sup>。研究<sup>[18]</sup>发现,POI 患者的 ROS 水平明显更高。ROS 的过度产生可能会抑制细胞的抗氧化防御系统,导致氧化应激和线粒体功能障碍,进而诱发卵巢过早衰老<sup>[19]</sup>。

近年来,研究人员专注于应用药理学方法恢复线粒体的活力,目前可用的线粒体营养素包括辅酶 Q<sub>10</sub>、白藜芦醇、褪黑素和雷帕霉素等<sup>[12]</sup>。褪黑素是一种针对线粒体的抗氧化剂,研究<sup>[20]</sup>表明,褪黑激素可通过增强抗氧化能力、维持端粒酶活性和激活 sirtuin1 而延迟小鼠的卵巢衰老。一项研究<sup>[21]</sup>探讨了褪黑素预处理的自体脂肪来源

性干细胞在 POI 小鼠治疗中的优越性,发现褪黑素预处理组 POI 小鼠的血清激素水平和生殖功能明显恢复,原始卵泡平均计数增加,治疗效果更加显著。另有研究<sup>[22-23]</sup>显示,褪黑素可以激活 PI3K/Akt/mTOR 通路,进而抑制 POI 患者颗粒细胞的自噬作用,有效减轻卵巢损伤。此外,褪黑素以多种方式参与调控 Hippo 信号通路,并与卵巢功能恢复相关<sup>[10]</sup>。

本研究发现,激素替代疗法与褪黑素联合治疗 3 个月,可以有效改善 POI 患者的血清性激素水平和生殖功能,FSH 水平显著降低,E<sub>2</sub> 和 AMH 水平则显著升高,且治疗效果表现为时间依赖性改善。本研究还发现,激素替代疗法与褪黑素联合治疗 3 个月后患者血清 ROS 水平显著降低,治疗 1 个月后 T-AOC 水平显著升高,但对照组治疗前后 ROS、T-AOC 水平无显著差异,提示褪黑素治疗可以提升 POI 患者的抗氧化能力。本研究结果显示,治疗后,2 组患者月经情况均显著改善,且联合使用褪黑素对血常规、尿常规、肝肾功能均无显著影响,提示褪黑素治疗是安全的。

综上所述,激素替代疗法联合褪黑素治疗 POI 安全且有效,可降低患者氧化应激水平,改善血清性激素水平和月经情况,且不会增加不良反应发生风险。但本研究为单中心随机对照研究,观察时间有效,样本量较小,且未分析褪黑素治疗 POI 的具体分子机制,故未来还需开展多中心的大样本量临床试验进一步深入探讨。

## 参考文献

- [1] 段卉妍,高琳英,张易葳.褪黑素在早发性卵巢功能不全中的应用及研究进展[J].中国医院药学杂志,2023,43(10):1165-1169.
- [2] DHANUSHI F W, VINCENT A, MAGRAITH K. Premature ovarian insufficiency and infertility [J]. Aust J Gen Pract, 2023, 52(1/2): 32-38.
- [3] European Society for Human Reproduction and Embryology (ESHRE) Guideline Group on POI, WEBBER L, DAVIES M, et al. ESHRE Guideline: management of women with premature ovarian insufficiency [J]. Hum Reprod, 2016, 31(5): 926-937.
- [4] SULLIVAN S D, SARREL P M, NELSON L M. Hormone replacement therapy in young women with primary ovarian insufficiency and early menopause [J]. Fertil Steril, 2016, 106(7): 1588-1599.
- [5] GHahremani-Nasab M, Ghanbari E, Jahanbani Y, et al. Premature ovarian failure and tissue engineering [J]. J Cell Physiol, 2020, 235(5): 4217-4226.