

痰脂消汤调控 PCOS-IR 模型大鼠卵巢 PI3K/Akt 途径探讨

许金榜^{1,2}, 王小云³, 纪峰⁴, 黄黎珊⁴, 郑良朴⁴, 杨娟², 林莺^{4*}

(1. 广州中医药大学, 广州 510006; 2. 福建省妇幼保健院, 福州 350001;
3. 广东省中医院, 广州 440100; 4. 福建中医药大学, 福州 350122)

[摘要] 目的:观察痰脂消汤对来曲唑灌胃联合高脂膳食诱导的多囊卵巢综合征胰岛素抵抗(PCOS-IR)模型大鼠卵巢胰岛素信号转导途径的影响。**方法:**来曲唑灌胃联合高脂膳食喂养SD大鼠建立PCOS-IR模型,大鼠随机分为模型组、痰脂消汤组(35 g·kg⁻¹·d⁻¹)、二甲双胍组(200 mg·kg⁻¹·d⁻¹),连续灌胃20 d;另设正常组。实验结束后,腹主动脉采血,测定血清空腹血糖(FPG)和空腹胰岛素(FINS)浓度,并计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR);实时荧光定量PCR(Real-time PCR)检测大鼠卵巢胰岛素受体(INSR),胰岛素受体底物(IRS)-1,酯酰肌醇-3激酶(PI3K),蛋白激酶B(Akt)mRNA表达;蛋白免疫印迹法(Western blot)检测卵巢组织INSR,IRS-1,PI3K,Akt蛋白及其相应磷酸化水平表达。**结果:**与空白组比较,模型组大鼠空腹胰岛素(FINS),HOMA-IR水平均显著升高($P < 0.01$),FPG无明显升高;模型组大鼠卵巢INSR,IRS,PI3K,Akt mRNA表达水平明显降低($P < 0.05$);INSR,p-INSR,IRS,p-IRS,PI3K,p-PI3K,Akt,p-Akt等蛋白表达水平明显降低($P < 0.05$);INSR,IRS,PI3K及Akt磷酸化比例明显降低($P < 0.05$)。与模型组比较,中药和二甲双胍治疗后大鼠FINS,HOMA-IR均显著降低($P < 0.01$);大鼠卵巢INSR,IRS,PI3K,Akt mRNA表达水平均明显升高($P < 0.05$);INSR,p-INSR,IRS,p-IRS,PI3K,p-PI3K,Akt,p-Akt等蛋白表达水平明显升高($P < 0.05$);INSR,IRS,PI3K及Akt磷酸化比例明显升高($P < 0.05$)。**结论:**PCOS大鼠存在IR,卵巢内PI3K/Akt信号途径转导存在异常。痰脂消汤能够显著改善大鼠胰岛素抵抗,可能与调控胰岛素信号转导通路中关键的蛋白表达有关。

[关键词] 多囊卵巢综合征;胰岛素抵抗;痰脂消汤;PI3K/Akt途径;信号转导

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)24-0156-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016240156

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160920.0949.058.html>

[网络出版时间] 2016-09-20 9:49

Effect of Tanzhixiao Recipe on PI3K/Akt Pathway in PCOS-IR Model Rats

XU Jin-bang^{1,2}, WANG Xiao-yun³, JI Feng⁴, HUANG Li-shan⁴, ZHENG Liang-pu⁴, YANG Juan², LIN Ying^{4*}

(1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China;

2. Fujian Maternity and Children Health Hospital, Fuzhou 350001, China;

3. Guangdong Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 440100, China;

4. Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Tanzhixiao recipe (TZXR) on signal transduction of ovarian insulin in rats with letrozole and high-fat diet induced insulin resistance in polycystic ovary syndrome (PCOS-IR). **Method:** Female SD rats were fed with letrozole by gavage and high-fat diet to induce PCOS-IR models. Then the rats were randomly divided into model group, TZXR group (35 g·kg⁻¹·d⁻¹) and the metformin group (200 mg·kg⁻¹·d⁻¹). The drugs were given by gavage administration for 20 days, and another normal blank group was established. After the end of the experiment, abdominal aortic blood was taken to determine fasting

[收稿日期] 20160503(020)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81302998);福建省科技计划项目(2015Y0002);福建省中医药科研项目(wzf201304);福建省卫生计生委青年科研课题项目(2014-1-20)

[第一作者] 许金榜,在读博士,副主任医师,从事中西医结合生殖内分泌疾病研究,Tel:0591-88563873,E-mail:75157335@qq.com

[通讯作者] *林莺,在读博士,讲师,从事针灸调节生殖内分泌的基础与应用研究,Tel:0591-22861653,E-mail:910574748@qq.com

plasma glucose (FPG), and fasting insulin (FINS), and insulin resistance index was calculated by homeostasis model of assessment for insulin resistance index (HOMA-IR). The mRNA expression levels of insulin receptor (INSR), insulin receptor substrate-1 (IRS-1), phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K), and protein kinase B (Akt) were detected by Real-time PCR. In addition, the expression levels of INSR, IRS, PI3K, Akt protein and their corresponding phosphorylated forms were detected by Western blot. **Result:** As compared with the blank group, the levels of FINS and HOMA-IR were increased in model group ($P < 0.01$), but there was no significant increase in FPG level, mRNA expression levels of INSR, IRS, PI3K and Akt were significantly decreased ($P < 0.05$), protein expression levels of INSR, p-INSR, IRS, p-IRS, PI3K, p-PI3K, Akt and p-AKT were significantly decreased ($P < 0.05$), the phosphorylation ratios of INSR, IRS, PI3K, and Akt were significantly decreased in the model group ($P < 0.05$). As compared with the model group, the levels of FINS and HOMA-IR were significantly decreased ($P < 0.01$), mRNA expression levels of INSR, IRS, PI3K and Akt were significantly increased ($P < 0.05$), protein expression levels of INSR, p-INSR, IRS, p-IRS, PI3K, p-PI3K, Akt and p-Akt were significantly increased ($P < 0.05$), and phosphorylation ratios of INSR, IRS, PI3K, and Akt were significantly increased ($P < 0.05$) in the TZXR group and metformin group. **Conclusion:** IR and abnormal signal transduction of PI3K/Akt pathway existed in PCOS model rats. TZXR could improve IR of PCOS rats, and the mechanism may be associated with regulating key protein expression levels of insulin signal transduction pathway.

[Key words] polycystic ovary syndrome; insulin resistance; Tanzhixiao recipe; phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K) /protein kinase B (Akt) pathway; signal transduction

多囊卵巢综合征(PCOS)是妇女常见的内分泌紊乱性疾病,患病率高达 15% ~ 20%^[1]。胰岛素抵抗(IR)是 PCOS 的核心病理机制,PCOS 不仅影响女性的生殖功能,循证医学研究表明,PCOS 患者 2 型糖尿病、代谢综合征及心脑血管疾病等远期并发症的发病风险明显高于一般人群,并可持续到绝经后,这些均与 PCOS 的 IR,肥胖和血脂异常等有关^[2-3]。中医药疗法改善 PCOS 胰岛素抵抗已成为近年来的研究热点。二甲双胍是目前最常用的改善 PCOS 胰岛素抵抗的药物,通过增加外周组织对葡萄糖的摄取及利用,纠正糖代谢异常,增加周围组织对胰岛素的敏感性,增加胰岛素介导的葡萄糖利用。近来有研究证实中药联合二甲双胍治疗 PCOS 胰岛素抵抗疗效显著。潘丽等^[4]应用补肾祛痰化癥方联合二甲双胍治疗 PCOS 患者,治疗 3 个月后稳态胰岛素评价指数(HOMA-IR)降低,IR 明显改善。刘声乐^[5]应用补肾祛痰法联合二甲双胍治疗痰湿型 PCOS 胰岛素抵抗患者,结果证实补肾祛痰法能够显著改善 PCOS 患者的 IR 状态。本课题前期的临床研究也证实中药与二甲双胍治疗后各代谢指标和各胰岛素抵抗指标均显著改善^[6]。前期研究通过来曲唑灌胃配合高脂饲料喂养大鼠成功诱导多囊卵巢综合征胰岛素抵抗动物(PCOS-IR)模型,该模型既有 PCOS 的生殖内分泌紊乱的表现,又具有 IR 的代谢表型^[7]。在成功构建上述 PCOS-IR 模型基础

上,本实验主要研究痰脂消汤对 PCOS-IR 模型大鼠卵巢内胰岛素信号通路酯酰肌醇-3 激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)途径中关键分子的基因、蛋白表达及磷酸化水平的影响,并探讨其作用机制。

1 材料

1.1 动物 3 周龄 SPF 级雌性 SD 大鼠,购自上海斯莱克实验动物责任有限公司,合格证号 SCXK(沪)2007-0005,饲养在福建中医药大学实验动物中心。

1.2 药物和试剂 来曲唑片(江苏恒瑞医药股份有限公司,批号 15011956);羧甲基纤维素钠(美国 Sigma-Aldrich 公司,批号 1002004956);高脂饲料(蛋白 20%,碳水化合物 20%,脂肪 60%),对照饲料(蛋白 20%,碳水化合物 70%,脂肪 10%),由广东省医学实验动物中心加工配送;盐酸二甲双胍片(中美上海施贵宝制药有限公司,国药准字 H20023370,0.5 g/片);痰脂消汤由苍术 15 g,茯苓 15 g,泽泻 25 g,菟丝子 30 g,淫羊藿 15 g 等组成,取方中各味药材饮片,加 10 倍量水煎煮 2 次,每次 1 h,合并滤液,减压浓缩至含生药 1 g·mL⁻¹的溶液(由福建中医药大学药学院制备);胰岛素(INS)放免试剂盒(北京北方生物研究所,批号 150920);兔抗鼠胰岛素受体(INSR),磷酸化胰岛素受体(p-INSR),胰岛素受体底物(IRS)-1,磷酸化胰岛素受体底物(p-IRS-1),酯酰肌醇-3 激酶(PI3K),磷酸化

酯酰肌醇-3 激酶(p-PI3K)多克隆抗体(美国 Abcam 公司,批号分别为 GR184321-1, GR137893-3, GR986325-2, GR57963-3, GR129115-1, GR1063547-8); β -肌动蛋白(β -actin)抗体(北京中杉金桥生物技术有限公司,批号 16AF0207);兔抗鼠蛋白激酶 B (Akt),磷酸化蛋白激酶 B(p-Akt)多克隆抗体(美国 CST 公司,批号分别为 9272S-12,13038S-5);实时荧光定量 PCR(Real-time PCR)试剂盒(日本 Takara 公司,批号 V201510Da)。引物序列由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,INSR(142 bp):上游 5'-CAGTTTGTGGAACGGTGCTG-3',下游 5'-TGGT AGGGTCATCGGGTTCT-3';IRS(152 bp):上游 5'-CC TGACATTGGAGTGGGCTC-3',下游 5'-TTACCA CCACCGCTCTCAAC-3';PI3K(146 bp):上游 5'-ATTTCCAGTGGGTGAGGCAG-3',下游 5'-CTCAT GGTAGCCGGTACTC-3';Akt(130 bp):上游 5'-TA CCGTGCGGAGATTGTGTC-3',下游 5'-ACAGCCCG AAGTCCGTTATC-3'; β -actin(155 bp):上游 5'-ACT CTGTGTGGATTGCTGGC-3',下游 5'-AGAAAGGG TGAAAACGCAGC-3'。

1.3 仪器 ABI7500 型 Real-time PCR 仪(美国 Applied Biosystems 公司),NANODROP 2000 型分光光度计(美国 Thermo Scientific 公司),BX51T-PHD-J11 型显微镜(日本奥林巴斯公司),DYCZ-20C 型垂直电泳槽(北京六一仪器厂),TS-8 型转移脱色摇床(海门其林贝尔仪器制造公司),Image-Pro Plus 型多功能真彩色细胞图象分析管理系统(美国 Media Cybernetics 公司)。

2 方法

2.1 PCOS-IR 大鼠模型制备^[7] 21 日龄大鼠适应性喂养 3 d,给予高脂饲料喂养 12 周,第 6 周龄时开始每日 *ig* 来曲唑溶液($1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,药物溶于羧甲基纤维素钠中),连续 9 周,制备 PCOS-IR 动物模型。模型建立成功标准:模型组大鼠体重比正常组平均体重增加 15%,Lee's 指数比正常组平均水平增加 1.5%,胰岛素指数比正常组均数增加 1.96 个标准差,阴道涂片染色镜检显示持续处于动情间期时相。

2.2 分组 PCOS-IR 模型大鼠 18 只随机分为模型组、痰脂消汤组和二甲双胍组,每组 6 只,另设同期喂养 15 周龄雌性 SD 大鼠 6 只作为空白组。

2.3 干预方法 痰脂消汤组 *ig* 痰脂消汤($35 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,根据临床剂量换算所得^[6]),每日 1 次。二甲双胍组 *ig* 二甲双胍片($200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,捣碎溶解于双蒸水中,给药前摇匀,剂量参照文献^[8])。

模型组 *ig* 生理盐水,每日 1 次。3 组均连续治疗 20 d。空白组不做任何治疗。实验期间,空白组大鼠常规饲料喂养,其余 3 组大鼠继续给予高脂饲料喂养,自由摄食、饮水。

2.4 标本采集与储存 大鼠干预结束后禁食,2%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉后,腹主动脉采血,以 $3\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min,分离血清, $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。取血后大鼠断头处死,剪开腹部,一侧卵巢置入多聚甲醛中固定,另一侧液氮冷冻后至 $-70 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。

2.5 检测指标

2.5.1 胰岛素抵抗指数(HOMA-IR) 干预结束次日晨 8:00 大鼠尾采血,利用拜耳 1455 型血糖仪测空腹血糖(FPG);放射免疫法检测空腹胰岛素(FINS),计算 HOMA-IR 指数, $\text{HOMA-IR} = \text{FINS} \times \text{FPG} / 22.5$ 。

2.5.2 卵巢 PI3K/Akt 途径信号分子 mRNA 表达

应用 Real-time PCR 检测 INSR,IRS-1,PI3K 及 Akt mRNA 表达。卵巢组织匀浆,提取总 RNA,逆转录为 cDNA,进行 PCR 反应,反应条件:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 30 s,95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 5 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s,循环 40 次。采用相对定量分析法对结果进行分析。

2.5.3 卵巢 PI3K/Akt 途径信号分子蛋白表达

采用蛋白免疫印迹法(Western blot)检测卵巢组织 INSR,IRS-1,PI3K,Akt 蛋白及其相应磷酸化形式的表达。提取卵巢组织蛋白质,考马斯亮蓝法测定蛋白浓度。样品进行凝胶电泳,转膜,封闭,加入一抗兔抗大鼠 INSR(1:1 000),IRS-1(1:800),PI3K(1:1000),Akt(1:1 000),p-INSR(1:1 000),p-IRS-1(1:1 000),p-PI3K(1:500),p-Akt(1:1 000)多克隆抗体孵育,4 $^{\circ}\text{C}$ 静置过夜。洗涤后加入辣根过氧化物酶标记的羊抗兔二抗,孵育,充分洗涤,化学发光,显影,定影,蒸馏水冲洗终止。以 β -actin 为内参。ECL 发光显色后胶片经扫描,利用 Image J 软件进行分析。

2.6 统计学处理 采用 SPSS 20.0 统计软件,计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间比较采用单因素方差分析,方差齐时采用 LSD 法检验,方差不齐时采用 Dunnett's T3 检验。当数据不符合正态分布时采用非参数检验。以 $P < 0.05$ 为有统计学差异。

3 结果

3.1 痰脂消汤对各组大鼠胰岛素抵抗情况的影响 与空白组比较,模型组大鼠 FINS,HOMA-IR 水平均显著升高($P < 0.01$),FPG 无明显升高;与模型组

比较, 中药和二甲双胍治疗后大鼠 FINS, HOMA-IR 均显著降低 ($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 痰脂消汤对大鼠胰岛素抵抗的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Effect of TZXR on insulin resistance in rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	FINS /mU·L ⁻¹	FPG /mmol·L ⁻¹	HOMA-IR
空白	-	13.08 ± 4.44	4.40 ± 0.92	2.56 ± 1.09
模型	-	24.75 ± 7.20 ¹⁾	4.67 ± 0.54	5.20 ± 1.74 ¹⁾
痰脂消汤	35	7.29 ± 2.22 ²⁾	5.10 ± 0.45	1.66 ± 0.58 ²⁾
二甲双胍	0.2	10.95 ± 4.55 ²⁾	3.95 ± 0.53	1.95 ± 0.97 ²⁾

注: 与空白组比较¹⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较²⁾ $P < 0.01$ 。

3.2 痰脂消汤对各组大鼠卵巢 PI3K/Akt 途径信号分子 mRNA 表达的影响 与空白组比较, 模型组大鼠卵巢 INSR, IRS, PI3K, Akt mRNA 表达水平明显降低 ($P < 0.05$); 痰脂消汤组和二甲双胍组治疗后大鼠卵巢 PI3K, Akt mRNA 表达水平明显升高 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 痰脂消汤组及二甲双胍组治疗后大鼠卵巢 INSR, IRS, PI3K, Akt mRNA 表达水平均明显升高 ($P < 0.05$)。见图 1。

3.3 痰脂消汤对各组大鼠卵巢 PI3K/Akt 途径信号分子蛋白表达的影响 与空白组比较, 模型组大鼠卵巢 INSR, p-INSR, IRS, p-IRS, PI3K, p-PI3K, Akt, p-Akt 蛋白表达水平明显降低 ($P < 0.05$); INSR, IRS, PI3K 及 Akt 磷酸化水平明显降低 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 痰脂消汤组及二甲双胍组治疗后大鼠卵巢 INSR, p-INSR, IRS, p-IRS, PI3K, p-PI3K, Akt, p-Akt 蛋白表达水平明显升高 ($P < 0.05$); INSR, IRS, PI3K 以及 Akt 磷酸化水平明显升高 ($P < 0.05$)。见图 2, 表 2。

表 2 痰脂消汤对大鼠卵巢 INSR, IRS, PI3K, Akt 蛋白及其磷酸化表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

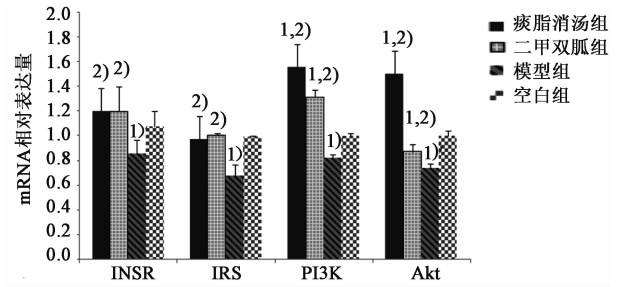
Table 2 Effect of TZXR on expression levels of protein and phosphorylation of ovary INSR, IRS, PI3K and Akt in rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	INSR	p-INSR	p-INSR/INSR	IRS	p-IRS	p-IRS/IRS
空白	-	0.67 ± 0.10	0.46 ± 0.13	0.70 ± 0.16	0.71 ± 0.03	0.49 ± 0.14	0.69 ± 0.18
模型	-	0.51 ± 0.11 ²⁾	0.25 ± 0.04 ¹⁾	0.49 ± 0.04 ¹⁾	0.51 ± 0.09 ¹⁾	0.24 ± 0.04 ¹⁾	0.47 ± 0.08 ¹⁾
痰脂消汤	35	0.69 ± 0.06 ⁴⁾	0.46 ± 0.04 ⁴⁾	0.67 ± 0.01 ³⁾	0.70 ± 0.04 ³⁾	0.46 ± 0.09 ⁴⁾	0.66 ± 0.15 ³⁾
二甲双胍	0.2	0.70 ± 0.07 ⁴⁾	0.49 ± 0.17	0.69 ± 0.22 ³⁾	0.69 ± 0.04 ³⁾	0.49 ± 0.14 ³⁾	0.70 ± 0.18 ³⁾
组别	剂量/g·kg ⁻¹	PI3K	p-PI3K	p-PI3K/PI3K	Akt	p-Akt	p-Akt/Akt
空白	-	0.71 ± 0.06	0.40 ± 0.07	0.56 ± 0.09	0.75 ± 0.05	0.50 ± 0.12	0.67 ± 0.12
模型	-	0.61 ± 0.04 ²⁾	0.25 ± 0.01 ¹⁾	0.41 ± 0.03 ²⁾	0.57 ± 0.09 ²⁾	0.29 ± 0.04 ¹⁾	0.51 ± 0.08 ²⁾
痰脂消汤	35	0.70 ± 0.08 ³⁾	0.43 ± 0.03 ⁴⁾	0.61 ± 0.05 ⁴⁾	0.72 ± 0.08 ³⁾	0.54 ± 0.12 ⁴⁾	0.75 ± 0.11 ⁴⁾
二甲双胍	0.2	0.73 ± 0.04 ⁴⁾	0.38 ± 0.04 ⁴⁾	0.52 ± 0.06 ⁴⁾	0.74 ± 0.03 ⁴⁾	0.47 ± 0.06 ⁴⁾	0.63 ± 0.08 ⁴⁾

注: 与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ 。

4 讨论

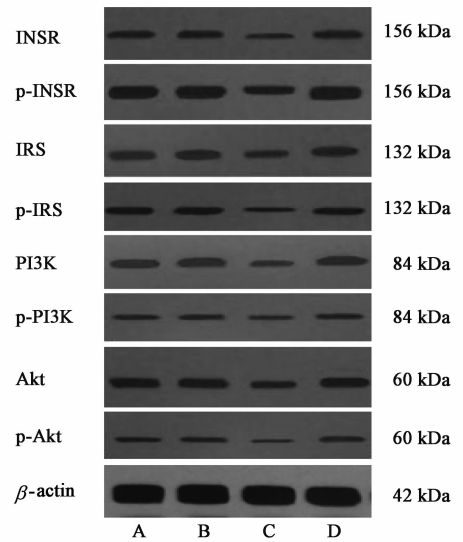
胰岛素与机体细胞膜上的 INSR 结合是信号传导的第一步。INSR 是由 2 个 α 亚单位和 2 个 β 亚单位构成的跨膜糖蛋白, 当 α 亚单位与胰岛素结合



与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$, 与模型组比较²⁾ $P < 0.05$

图 1 痰脂消汤对大鼠卵巢 INSR, IRS, PI3K, Akt mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 1 Effect of TZXR on mRNA expression levels of ovary INSR, IRS, PI3K and Akt in rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)



A. 痰脂消汤组; B. 二甲双胍组; C. 模型组; D. 空白组

图 2 痰脂消汤对大鼠 PI3K/Akt 信号途径相关蛋白及磷酸化表达电泳

Fig. 2 Electrophoresis of TZXR on expression levels of protein and phosphorylation of key molecules in PI3K/Akt signaling pathway

后, β 亚单位的酪氨酸蛋白激酶活化, IRS 的酪氨酸残基随之磷酸化, 进而为下游通路的信号蛋白提供了一个高亲和力的结合位点。IRS 分子是胰岛素信号系统关键的介导者^[9], 其 N 端是保守的板影蛋白

同源区,可与 INSR 紧密结合,C 端是很多的酪氨酸磷酸化位点,可与含肉瘤同源区段 2 (SH2) 结构域的信号分子结合,进而使下游通路信号转导中起关键作用的多个分子活化,激活胰岛素信号转导的两个经典途径:PI3K/Akt 途径和有丝分裂激活蛋白激酶/细胞外信号调节激酶 (MAPK/ERK) 途径。卵巢能量代谢异常活跃,对 PCOS 卵巢组织的研究发现,调节糖代谢的胰岛素信号蛋白的表达量和分布有明显异常。Mehmet 等^[10],Montagnani 等^[11] 研究表明 PCOS 胰岛素抵抗在受体后信号转导通路中主要表现为 PI3K/Akt 代谢途径作用的缺陷。Shulman 等^[12] 研究发现 PCOS 患者胰岛素受体底物 IRS-1 水平下降及胰岛素受体底物 IRS-2 水平上升,IRS-1 和 IRS-2 的异常导致 PI3K 的活性降低而诱发 IR。张婷^[13] 研究发现清热养阴方能增加 PCOS 模型大鼠子宫卵巢旁脂肪组织中 PI3K,PKB mRNA 的表达,从而改善大鼠胰岛素抵抗。周晖等^[14] 研究发现糖脂平通过促进胰岛素抵抗大鼠 IRS-1 的酪氨酸磷酸化,激活其下游 PI3K,增加磷酸化 Akt 含量,进而使细胞质内 GLUT4 膜转位增加,从而改善胰岛素抵抗。高春华^[15] 研究发现二甲双胍通过调节高脂饲养 IR 大鼠骨骼肌胰岛素信号传导即增加骨骼肌胰岛素信号通路中磷酸化 Akt 的表达,降低骨骼肌磷酸化 AS160 的表达而改善胰岛素的敏感性。

本实验采用来曲唑灌胃联合高脂饲料喂养的方式成功地诱导 PCOS-IR 模型^[7],该模型大鼠 FINS, HOMA-IR 均显著升高;大鼠卵巢 INSR, IRS, PI3K, Akt mRNA 表达水平均降低。INSR, p-INSR, IRS, p-IRS, PI3K, p-PI3K, Akt, p-Akt 蛋白表达水平均降低; INSR, IRS, PI3K, Akt 磷酸化比例均显著降低。证实了 PCOS 模型大鼠确实存在 IR,卵巢内 PI3K/Akt 信号途径转导异常是 PCOS-IR 发生的部分病理基础。本实验研究还发现经二甲双胍和痰脂消汤治疗后,大鼠 FINS, HOMA-IR 均降低;大鼠卵巢 INSR, IRS, PI3K, Akt mRNA 表达水平均升高, INSR, p-INSR, IRS, p-IRS, PI3K, p-PI3K, Akt, p-Akt 蛋白表达水平升高; INSR, IRS, PI3K 及 Akt 磷酸化比例也升高,说明二甲双胍和痰脂消汤均能促进大鼠卵巢 INSR, IRS, PI3K, Akt 等蛋白的表达及磷酸化,提高 PI3K/Akt 途径的活性,从而改善 PCOS 的胰岛素抵抗状态。

综上,PCOS 大鼠存在 IR,卵巢内 PI3K/Akt 信号途径转导存在异常。痰脂消汤能够显著改善大鼠胰岛素抵抗,可能与调控胰岛素信号转导通路中关键的蛋白表达有关,其机制有待进一步深入研究。

[参考文献]

- [1] Suvarna Y, Maity N, Kalra P, et al. Comparison of efficacy of metformin and oral contraceptive combination of ethinyl estradiol and drospirenone in polycystic ovary syndrome [J]. J Turk Ger Gynecol Assoc, 2016, 17(1): 6-9.
- [2] Victor V M, Rovira-Llopis S, Bañuls C, et al. Insulin resistance in PCOS patients enhances oxidative stress and leukocyte adhesion: role of myeloperoxidase [J]. PLoS One, 2016, 11(3): e0151960.
- [3] Sathyapalan T, Atkin S L. Recent advances in cardiovascular aspects of polycystic ovary syndrome [J]. Eur J Endocrinol, 2012, 166(4): 575-583.
- [4] 潘丽,卢晔,庞丽萍. 补肾祛痰化痰方联合二甲双胍治疗多囊卵巢综合征 40 例疗效观察 [J]. 甘肃中医学院学报, 2014, 31(6): 47-48.
- [5] 刘声乐. 补肾祛痰法结合二甲双胍治疗痰湿型多囊卵巢综合征伴胰岛素抵抗的临床研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2009.
- [6] 许金榜,吕绍光,林元,等. 中医药治疗多囊卵巢综合征胰岛素抵抗 30 例临床观察 [J]. 福建医药杂志, 2007, 29(5): 145-146.
- [7] 林莺,张宏,黄鸣清,等. 来曲唑配合高脂膳食诱导胰岛素抵抗多囊卵巢综合征大鼠代谢表型的实验研究 [J]. 中国现代医学杂志, 2016, 26(3): 9-11
- [8] Duca F A, Côté C D, Rasmussen B A, et al. Metformin activates a duodenal Ampk-dependent pathway to lower hepatic glucose production in rats [J]. Nat Med, 2015, 21(5): 506-511.
- [9] Taniguchi C M, Emanuelli B, Kahn C R, et al. Critical nodes in signalling pathways: insights into insulin action [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2006, 7(2): 85-96.
- [10] Mehmet K, Selim K, Mustafa K, et al. Homeostasis model assessment is more liable than the fasting glucose/insulin ratio and quantitative insulin sensitivity check index for assessing insulin resistance among obese children and adolescents [J]. Pediatrics, 2005, 115(4): e500-e503.
- [11] Montagnani M, Golovchenko I, Kim I, et al. Inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase enhances mitogenic actions of insulin in endothelial cells [J]. J Biol Chem, 2002, 277(3): 1794-1799.
- [12] Shulman G I. Cellular mechanisms of insulin resistance [J]. J Clin Invest, 2000, 106(2): 171-176.
- [13] 张婷. 清热养阴方对多囊卵巢综合征 (PCOS) 模型大鼠卵巢激素及局部胰岛素抵抗的影响 [J]. 浙江中医药大学学报, 2015, 39(5): 361-365.
- [14] 周晖,高彦彬,李丽,等. 糖脂平对胰岛素抵抗大鼠骨骼肌 IRS-1 磷酸化及 GLUT4 分布的影响 [J]. 世界中医药, 2016, 11(5): 868-871.
- [15] 高春华. 高脂饲养对大鼠骨骼肌胰岛素信号系统和胰岛素敏感性的影响及其机制探讨 [D]. 太原: 山西医科大学, 2007.

[责任编辑 张丰丰]