

· 药理 ·

菟丝子总黄酮对来曲唑致多囊卵巢综合征大鼠模型的影响

苗明三^{*}, 彭孟凡, 闫晓丽, 朱正望, 白明, 魏珍珍, 李孟艳
(河南中医药大学, 郑州 450000)

[摘要] **目的:** 探讨菟丝子总黄酮对来曲唑致大鼠多囊卵巢综合征(PCOS)模型的影响。**方法:** 正常组除外,其余大鼠每天灌服来曲唑 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 复制 PCOS 动物模型,连续 21 d。造模第 16 天,阴道涂片检测动物周期,以阴道上皮细胞持续角化者为 PCOS 成模大鼠,并随机分为模型组、达英-35 组 ($0.339 \text{ 2 mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 和菟丝子总黄酮高、中、低剂量组 (200, 100, $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。依据组别给予相应药物,连续 21 d。给药结束后,取材,计算卵巢指数;酶联免疫吸附测定(ELISA)检测血清雌二醇(E_2),睾酮(T),促性腺激素释放激素(GnRH),卵泡刺激素(FSH)和促黄体生成素(LH)水平;取大鼠右侧卵巢,苏木素-伊红(HE)染色光镜观察病理改变;免疫组化法检测下丘脑、垂体、左侧卵巢雄激素受体(AR)表达。**结果:** 与正常组比较,模型组大鼠血清 T, GnRH, LH 水平显著升高,卵巢指数和 LH/FSH 值显著升高,FSH 和 E_2 水平显著降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$),卵巢组织闭锁卵泡增多、卵泡膜细胞层增厚明显,下丘脑、垂体和卵巢组织 AR 表达显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较,菟丝子总黄酮高、中、低剂量组可显著降低 PCOS 模型大鼠血清 T, GnRH 和 LH 水平,降低卵巢指数和 LH/FSH 值 ($P < 0.01$);菟丝子总黄酮高、中剂量组可显著升高 PCOS 模型大鼠血清 E_2 水平 ($P < 0.01$),明显升高 FSH 水平 ($P < 0.05$),菟丝子总黄酮低剂量组可明显升高 PCOS 模型大鼠血清 E_2 水平 ($P < 0.05$)。菟丝子总黄酮高、中、低剂量组可不同程度改善 PCOS 模型大鼠卵巢组织皮质增厚胶原化、闭锁卵泡增多、黄体减少等病理改变。免疫组化结果表明,菟丝子总黄酮高、中、低剂量组可显著降低下丘脑、垂体和卵巢 AR 表达 ($P < 0.01$)。**结论:** 菟丝子总黄酮可能通过调节雌雄激素分泌、影响下丘脑-垂体-卵巢轴途径发挥对 PCOS 模型大鼠的保护作用。

[关键词] 多囊卵巢综合征; 菟丝子总黄酮; 下丘脑-垂体-卵巢轴; 病理改变

[中图分类号] R2-0;R22;R285.5;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)16-0017-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20191607

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190430.1421.007.html>

[网络出版时间] 2019-05-05 10:10

Effect of Dodder Total Flavone on Polycystic Ovary Syndrome Rat Models Induced by Letrozole

MIAO Ming-san^{*}, PENG Meng-fan, YAN Xiao-li, ZHU Zheng-wang, BAI Ming, WEI Zhen-zhen, LI Meng-yan
(Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of dodder total flavone on polycystic ovary syndrome (PCOS) rat models induced by letrozole. **Method:** Except the blank group, the other rats were given letrozole $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ for 21 consecutive days to replicate PCOS animal model. On the 16th day of the modeling, the estrous cycle was detected by vaginal smear, and rat with persistent keratinization of vaginal epithelial cells were selected as the PCOS model rat. The model rats were randomly divided into model group, Dacin-35 group, and high, middle, low-dose dodder total flavonoids groups. The corresponding drugs were given for 21 consecutive days. At the end of the administration, materials were collected to calculate ovary index, and enzyme-linked immunosorbent

[收稿日期] 20190102(002)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81274154);国家国际合作基地项目(2016-65);中原学者项目(162101510003);河南省产学研项目(182107000029)

[通信作者] *苗明三,博士,教授,从事中药药理教学与研究,E-mail: miaomingsan@163.com

assay (ELISA) was used to measure estrogen (E_2), testosterone (T), gonadotropin-releasing hormone (GnRH), follicle stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH) levels of serum. The right ovary of rats was stained with haematoxylin-eosin (HE), and the pathological changes were observed by optical microscope. Androgen receptor (AR) expressions in hypothalamus, pituitary and ovary were detected by immunohistochemistry. **Result:** Compared with the blank group, serum T, GnRH and LH levels, ovarian index and LH/FSH ratio were significantly increased, while FSH and E_2 levels were significantly decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Ovarian tissue follicular atresia increased, and the cell layers of follicular membrane were thickened significantly. AR expressions in hypothalamus, pituitary and ovarian tissues were significantly increased in the model group ($P < 0.01$). Compared with the model group, serum E_2 , T, GnRH and LH levels, ovarian index and LH/FSH ratio were significantly decreased in high, middle and low-dose dodder total flavonoids groups ($P < 0.01$); Serum E_2 level was significantly increased ($P < 0.01$), and FSH level was obviously increased ($P < 0.05$) in high and middle-dose dodder total flavonoids group. Serum E_2 level in PCOS model rats was obviously increased in low-dose dodder total flavonoids group ($P < 0.05$). The pathological changes of ovarian tissue of cortical thickening and collagenization, atresia follicle increase and corpus luteum decrease of PCOS model rats were alleviated to different degrees in high, middle and low-dose dodder total flavonoids groups. Immunohistochemical results showed that high, middle and low-dose dodder total flavonoids groups could significantly reduce AR expressions in hypothalamus, pituitary and ovary ($P < 0.01$). **Conclusion:** Dodder total flavonoids may play a protective role in PCOS model rats by regulating the secretion of estrogen and androgen and affecting the hypothalamic-pituitary-ovary axis pathway.

[**Key words**] polycystic ovary syndrome (PCOS); dodder total flavone; hypothalamic-pituitary-ovarian axis; pathological changes

多囊卵巢综合征(PCOS)是育龄妇女常见生殖功能障碍^[1]和糖脂代谢异常^[2]并存的内分泌紊乱性疾病,以稀发排卵或无卵、胰岛素抵抗(IR),高雄激素血症(HA)及卵巢多囊样改变为主要病理特征。PCOS发病机制复杂,目前尚无定论,但基本认为下丘脑-垂体-卵巢(HPO)轴内分泌功能的紊乱介导PCOS的发生与发展。依PCOS的临床表现,可归属中医学“闭经”“月经后期”“不孕症”等范畴。中医认为PCOS的病因病机为肾虚为本,继发脾虚肝郁,痰湿血瘀为标,以致“肾-天癸-冲任-胞宫”生殖轴紊乱,导致PCOS发生和发展^[3]。基于肾虚为主的致病因素,中医治疗PCOS以补肾为主,且以补肾中药治疗PCOS符合“调经之法,必先补肾”的治则。菟丝子是常用补肾阳中药,不但常用于阳痿、遗精、少精、早泄等男性疾病的治疗,也常与各种中药配伍用于PCOS,不孕,卵巢早衰,痛经,复发性流产等妇科疾病的治疗^[4]。但中医治疗PCOS以复方为主,有效成分、作用机制不明确。因此,在对PCOS中西医临床病症分析的基础上^[5],结合PCOS中医发病机制,进行补肾中药菟丝子(辛、甘、平,归肝、肾、脾经)活性成分总黄酮对PCOS模型大鼠的预实验研究,结果表明以 $100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的给药剂量药效最佳。

在预实验基础上,进行菟丝子总黄酮不同剂量(200,100,50 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)对脱氢表雄酮联合人绒毛膜促性腺激素致PCOS模型大鼠的研究,结果表明在预实验剂量的基础上进行上下波动所得剂量均具有调节HPO轴内分泌紊乱和抑制卵巢颗粒细胞凋亡的作用^[6]。为进一步探讨菟丝子总黄酮对PCOS的干预特点,本次实验以来曲唑致PCOS模型大鼠为研究对象,基于HPO轴探究菟丝子总黄酮不同剂量(200,100,50 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)对PCOS动物模型的影响,为补肾中药菟丝子治疗PCOS提供实验支撑,明确其作用机制,以期促进补肾中药在妇科疾病中的应用。

1 材料

1.1 动物 SD大鼠,雌性,6周龄,体质量(180 ± 20)g,SPF级,60只,购于济南朋悦实验动物繁育有限公司,合格证号SCXK(鲁)20150005;合格证编号37009200007414;实验伦理编号DWLL16020050;河南中医药大学实验使用许可证号SYXK(豫)2015-0005;动物设施使用证明编号00013517。

1.2 药物与试剂 菟丝子总黄酮(南京泽朗生物科技有限公司提供,经UV测定,质量分数为51.25%);达英-35(德国拜耳医药保健有限公司,批

号 333A); 来曲唑片(江苏恒瑞医药股份有限公司, 批号 16113058); 抗雄激素受体(AR)多克隆抗体(美国 Abcam 公司, 批号 GR310012-4); 过氧化物酶标记羊抗兔免疫球蛋白(Ig)G 二抗(武汉博士德生物工程有限公司, 批号 BST12E27C55); 大鼠促性腺激素释放激素(GnRH), 卵泡刺激素(FSH), 黄体生成素(LH), 雌激素(E₂)和睾酮(T)酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(苏州卡尔文生物科技有限公司, 批号均为 20171023SR)。

1.3 仪器 BX61 型电动显微镜(日本 Olympus 公司); Forma 900 型超低温冰箱(美国 Thermo Fisher 公司); 680 型酶标仪(美国 Bio-Rad 公司); TGL-168 型高速台式离心机(上海安亭科学仪器厂)。

2 方法

2.1 造模方法与给药^[7] 60 只 6 周龄 SD 雌性大鼠, 随机选取 10 只为正常组。余下大鼠灌服来曲唑 1 mg·kg⁻¹·d⁻¹, 连续 21 d 进行造模处理, 正常组灌服等体积溶剂。造模第 16 天起, 进行 1 个周期的阴道涂片, 以阴道上皮细胞持续角化者为成模大鼠。将成模大鼠随机均分为模型组, 达英-35 组(0.339 2 mg·kg⁻¹, 临床用量的 10 倍), 菟丝子总黄酮高、中、低剂量组(200, 100, 50 mg·kg⁻¹), 每组 10 只。正常组与模型组给予等量溶剂, 各给药组分别灌胃给予相应药物, 连续 3 周。

2.2 检测指标及方法

2.2.1 卵巢指数 末次给药 2 h 后, 摘取两侧卵巢, 精密镊剥离脂肪组织, 称质量, 计算卵巢指数。卵巢指数 = 两侧卵巢总质量(mg)/大鼠体重(g)。

2.2.2 ELISA 检测血清指标 腹主动脉取血, 4 ℃ 3 500 r·min⁻¹ 离心 15 min, 按说明书测定血清 T, E₂, LH, FSH 和 GnRH 水平。

2.2.3 苏木素-伊红(HE)染色观察卵巢组织病理变化 剪取大鼠右侧卵巢(同一部位), 生理盐水冲洗表面血渍后, 10% 多聚甲醛固定。从 10% 多聚甲醛中取卵巢组织, 由低到高采用不同浓度的乙醇脱水, 脱水后采用二甲苯置换组织中的乙醇, 石蜡包埋, 冷却凝固成块后切片, 脱蜡, HE 染色, 显微镜下观察。病理分级标准为“-”镜下可见卵巢中含有不同发育阶段的卵泡, 颗粒细胞发育良好, 镜下呈多层结构, 可见多个黄体, 卵巢总体结构正常, 未见无卵丘囊性卵泡; “+”在光镜下仍可见到各个发育阶段卵泡, 但颗粒细胞层稍微减少, 且卵巢中可见少量的囊状卵泡, 偶然可见黄体。“++”光镜下可见卵巢的次级卵泡数量减少, 颗粒细胞萎缩, 导致细胞层数

明显减少, 卵巢中囊状卵泡增多, 极少见黄体出现。“+++”光镜下大鼠卵巢闭锁卵泡增多, 并可见多个黄素化的无卵丘之囊性滤泡, 在卵泡内, 未见卵母细胞或放射冠, 亦可观察到颗粒细胞出现严重凋亡现象, 仅为数层, 未见黄体迹象。

2.2.4 免疫组化检测下丘脑、垂体和卵巢中 AR 表达 剪取大鼠下丘脑、垂体和左侧卵巢(同一部位)作为待测样本, 生理盐水冲洗表面血渍后, 10% 多聚甲醛固定。具体操作步骤: 分别取下丘脑、垂体、卵巢组织的待测样本逐步进行切片、脱蜡、水化处理; PBS 缓冲液洗涤 3 次, 每次 5 min。洗涤结束后, 3% 过氧化氢的甲醇溶液于室温条件下封闭 10 min, 以阻断内源性过氧化物酶; 封闭结束, PBS 再次洗涤 3 次, 每次 5 min; 洗涤结束后, 滴加抗 AR 多克隆抗体, 4 ℃ 孵育过夜; 第 2 天, 滴加过氧化物酶标记羊抗兔 IgG 二抗, 37 ℃ 孵育 4 h; DAB 显影, 显微镜下观察下丘脑、垂体和卵巢组织 AR 表达, 使用 Image J 软件半定量分析, 结果以平均积分吸光度表示。

2.3 统计学分析 采用 SPSS 21.0 软件统计数据, 统计数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析, 组间比较采用 LSD 法检验, 等级资料用 Ridit 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对来曲唑致 PCOS 模型大鼠卵巢指数的影响 与正常组比较, 模型组大鼠卵巢指数显著升高($P < 0.01$); 与模型组比较, 达英-35 组与菟丝子总黄酮高、中、低剂量组大鼠的卵巢指数均显著降低($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 菟丝子总黄酮对来曲唑致 PCOS 模型大鼠卵巢指数的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of dodder total flavone on ovary index of PCOS model rats induced by letrozole($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	卵巢指数/mg·g ⁻¹
正常	-	0.61 ± 0.07
模型	-	0.70 ± 0.05 ²⁾
达英-35	0.339 2	0.62 ± 0.04 ⁴⁾
菟丝子总黄酮	200	0.61 ± 0.04 ⁴⁾
	100	0.62 ± 0.03 ⁴⁾
	50	0.65 ± 0.04 ⁴⁾

注: 与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2~4 同)。

3.2 对来曲唑致 PCOS 模型大鼠血清 T 和 E₂ 水平的影响 与正常组比较, 模型组大鼠血清 T 水平显

著升高, E_2 水平显著降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 达英-35 组与菟丝子总黄酮高、中剂量组可显著降低模型大鼠血清 T 水平, 升高 E_2 水平 ($P < 0.01$); 菟丝子总黄酮低剂量组可显著降低模型大鼠血清 T 水平 ($P < 0.01$), 明显升高血清 E_2 水平 ($P < 0.05$)。见表 2。

3.3 对来曲唑致 PCOS 模型大鼠血清 GnRH, LH 和 FSH 水平的影响 与正常组比较, 模型组大鼠血清 GnRH, LH 和 LH/FSH 水平显著升高 ($P < 0.01$), FSH 水平明显降低 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 达英-35 组与菟丝子总黄酮高、中、低剂量组均可显著降低模型大鼠血清 GnRH, LH 和 LH/FSH 水平 ($P < 0.01$), 菟丝子总黄酮高、中剂量组可明显升高模型

表 2 菟丝子总黄酮对来曲唑致 PCOS 模型大鼠血清中 T 和 E_2 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of dodder total flavone on serum T and E_2 of PCOS model rats induced by letrozole ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	T/nmol·L ⁻¹	E_2 /pmol·L ⁻¹
正常	-	145.63 ± 10.53	36.73 ± 2.33
模型	-	155.63 ± 4.31 ²⁾	30.21 ± 7.70 ²⁾
达英-35	0.339 2	146.25 ± 9.42 ⁴⁾	34.09 ± 1.01 ⁴⁾
菟丝子总黄酮	200	146.04 ± 7.38 ⁴⁾	33.61 ± 0.71 ⁴⁾
	100	148.54 ± 6.47 ⁴⁾	33.42 ± 0.95 ⁴⁾
	50	148.33 ± 7.80 ⁴⁾	32.64 ± 1.12 ³⁾

大鼠血清 FSH 水平 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 菟丝子总黄酮对来曲唑致 PCOS 模型大鼠血清 GnRH, LH, FSH 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of dodder total flavone on serum GnRH, LH, FSH of PCOS model rats induced by letrozole ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	GnRH/U·L ⁻¹	LH/U·L ⁻¹	FSH/U·L ⁻¹	LH/FSH
正常	-	42.87 ± 1.70	24.47 ± 2.56	7.84 ± 0.32	3.12 ± 0.33
模型	-	45.75 ± 1.65 ²⁾	30.82 ± 1.80 ²⁾	7.40 ± 0.48 ¹⁾	4.17 ± 0.24 ²⁾
达英-35	0.339 2	43.25 ± 1.79 ⁴⁾	25.67 ± 1.39 ⁴⁾	7.87 ± 0.68 ³⁾	3.29 ± 0.25 ⁴⁾
菟丝子总黄酮	200	43.35 ± 1.20 ⁴⁾	25.70 ± 1.94 ⁴⁾	7.86 ± 0.57 ³⁾	3.28 ± 0.29 ⁴⁾
	100	43.35 ± 1.60 ⁴⁾	25.93 ± 2.26 ⁴⁾	7.83 ± 0.53 ³⁾	3.31 ± 0.20 ⁴⁾
	50	43.68 ± 1.90 ⁴⁾	26.69 ± 1.42 ⁴⁾	7.97 ± 0.52 ³⁾	3.36 ± 0.24 ⁴⁾

3.4 对来曲唑致 PCOS 模型大鼠下丘脑、垂体及卵巢中 AR 的影响 与正常组比较, 模型组大鼠下丘脑、垂体及卵巢中 AR 平均光密度显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 达英-35 组与菟丝子总黄酮高、中、低剂量组可显著降低模型大鼠下丘脑、垂体及卵巢中 AR 的平均光密度 ($P < 0.01$)。见表 4, 图 1。

表 4 菟丝子总黄酮对来曲唑致 PCOS 模型大鼠下丘脑、垂体及卵巢中 AR 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effect of dodder total flavone on AR expression in hypothalamus, pituitary and ovary of PCOS rat models induced by letrozole ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	下丘脑 AR	垂体 AR	卵巢 AR
正常	-	0.281 ± 0.013	0.263 ± 0.006	0.227 ± 0.013
模型	-	0.327 ± 0.026 ²⁾	0.312 ± 0.018 ²⁾	0.261 ± 0.013 ²⁾
达英-35	0.339 2	0.295 ± 0.009 ⁴⁾	0.263 ± 0.010 ⁴⁾	0.223 ± 0.006 ⁴⁾
菟丝子总黄酮	200	0.296 ± 0.009 ⁴⁾	0.274 ± 0.006 ⁴⁾	0.225 ± 0.014 ⁴⁾
	100	0.297 ± 0.005 ⁴⁾	0.277 ± 0.018 ⁴⁾	0.228 ± 0.009 ⁴⁾
	50	0.296 ± 0.006 ⁴⁾	0.287 ± 0.012 ⁴⁾	0.227 ± 0.013 ⁴⁾

3.5 对来曲唑致 PCOS 模型大鼠卵巢组织病理变化的影响 菟丝子总黄酮对来曲唑致 PCOS 模型大鼠卵巢组织的影响 光镜下观察卵巢形态, 正常组, 卵巢结构完整, 皮质部位含不同发育阶段的卵泡, 有黄体及白体; 模型组, 卵巢皮质增厚胶原化, 形成一层宽带状, 闭锁的卵泡增多 (卵巢内闭锁卵泡, 中心为纤维组织, 围绕着增生的、黄素化的内泡膜细胞), 并可见多个黄素化的无卵丘之囊性滤泡, 黄体减少; 达英-35 组, 卵巢内可见形态完好的各级卵泡, 且未见囊性改变, 卵巢结构基本正常, 分布少量黄体和白体; 菟丝子总黄酮高剂量组, 镜下可见发育完好的各级卵泡, 未见囊性改变的卵泡, 颗粒细胞层稍微减少; 菟丝子总黄酮中剂量组, 各级卵泡比例正常, 有少量无卵丘囊性卵泡, 且在上述卵泡内未见卵母细胞或放射冠, 卵巢颗粒细胞的层数相对减少, 黄体减少; 菟丝子总黄酮低剂量组, 镜下可见大量无卵丘囊性卵泡, 卵巢颗粒细胞的层数和黄体较正常组明显减少, 闭锁卵泡增多。按照半定量标准对实验各组卵巢组织进行测定。见图 2, 见表 5。

4 讨论

PCOS 以痤疮、多毛、肥胖、不孕等为主要临床

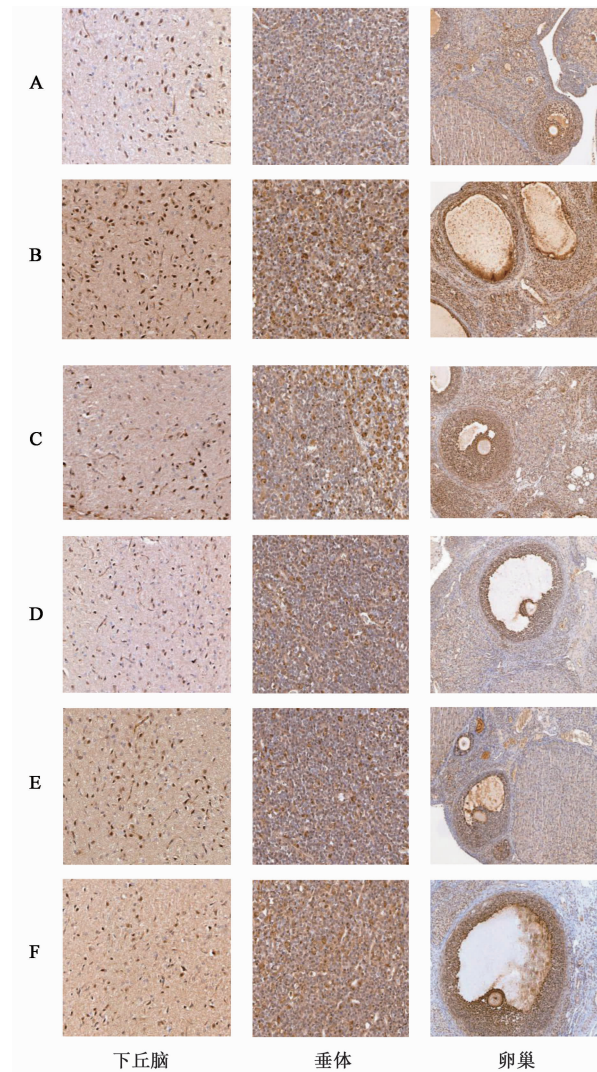


图 1 菟丝子总黄酮对来曲唑致 PCOS 模型大鼠下丘脑、垂体及卵巢组织 AR 表达的影响(免疫组化, ×200)

Fig. 1 Effect of dodder total flavone on AR expression in hypothalamus, pituitary and ovary of PCOS rat models induced by letrozole (IHC, ×200)

表现, 发病率占育龄妇女的 8.7% ~ 17.8% [8-9], 可导致闭经不孕、糖脂代谢紊乱、子宫内膜增生或癌等远期并发症, 危及机体远期健康 [10]。西医多采用促排卵和降血雄激素药物进行治疗, 以恢复月经与排卵。中医认为, 月经紊乱及子嗣之病多与肾脏有关, “肾-天癸-冲任-胞宫”生殖轴中的肾具有和下丘脑相似的调节功能, 参与调控月经、排卵和性激素的分泌 [11]。治病求本是疾病诊疗的关键, 基于“肾主生殖”的中医理论指导和 PCOS 的中医发病机制, 中医主要选择补肾中药进行治疗。菟丝子具有类雌激素样作用 [12]、抗生殖损伤作用 [13]、保护和修复受损卵巢等作用 [14], 是临床治疗 PCOS 的常用中药, 出现

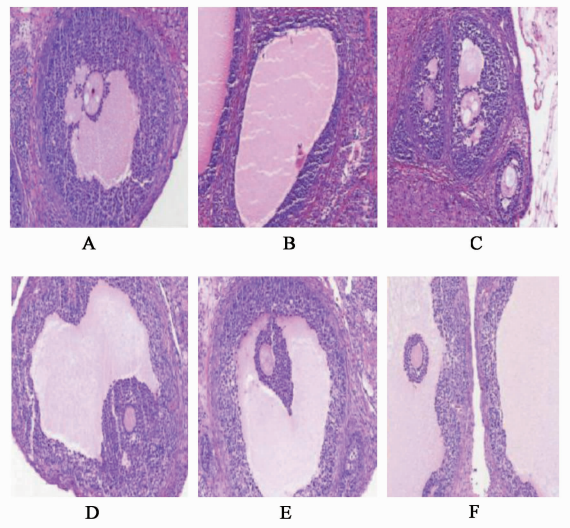


图 2 菟丝子总黄酮对来曲唑致 PCOS 模型大鼠卵巢组织的影响 (HE, ×200)

Fig. 2 Effect of dodder total flavone on ovarian tissue of PCOS rat models induced by letrozole (HE, ×200)

表 5 菟丝子总黄酮对来曲唑致 PCOS 模型大鼠卵巢组织的影响
Table 5 Effect of dodder total flavone on ovarian tissue of PCOS rat models induced by letrozole

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	-	+	++	+++
正常	-	10	0	0	0
模型	-	0	1	2	7
达英-35	0.339 2	6	4	0	0
菟丝子总黄酮	200	6	3	1	0
	100	5	3	2	0
	50	4	3	2	1

于各种经验方、自拟方中, 是中医治疗 PCOS 使用频率最高的补肾中药 [15]。基于此, 有必要进一步明确补肾中药菟丝子总黄酮干预 PCOS 的作用机制。实验所用受试药总黄酮的含量为 51.25%, 因菟丝子的主要活性成分为黄酮和酚酸两大类, 酚酸类主要药效为增强免疫、抗病毒、抗菌, 而黄酮类主要药效为激素样作用、抗凋亡、调节内分泌、保护生精细胞 [16-18]。除黄酮和酚酸类, 菟丝子还含有少量淀粉、淀粉酶和氨基酸等成分, 而本次实验受试药黄酮含量为 51.25%, 且黄酮类功效与 PCOS 生化和病理改变相接近, 其他成分对 PCOS 的影响较低, 可基本认为是黄酮的作用。基于此, 实验以来曲唑致 PCOS 模型大鼠为研究对象, 基于 HPO 轴内分泌功能的紊乱和下丘脑、垂体、卵巢中 AR 的表达探究菟丝子总黄酮对 PCOS 模型大鼠的干预作用, 进一步揭示其

作用机制。

PCOS 患者存在一定卵泡排出障碍,在一定程度上可导致卵巢增生^[19-20],菟丝子总黄酮可以降低 PCOS 模型大鼠卵巢指数,缓解其增生程度。HPO 轴是一个完整而协调的神经内分泌系统,与多种妇科疾病的发生和发展密切相关。GnRH 是下丘脑分泌的肽类激素,GnRH 脉冲性释放的增加是青春期启动的始动因素^[21]。GnRH 对生殖功能的调控须以垂体分泌的 GnRH-R 为介导,GnRH 与 GnRH-R 结合后作用于垂体调控 LH,FSH 的分泌,LH 和 FSH 再协同作用于卵巢,调控雌孕激素的分泌,进而调控雌性的发情、排卵等生殖过程^[22-23]。但 PCOS 患者,HPO 轴功能异常,GnRH 呈高频分泌状态,长期以往导致垂体 GnRH-R 敏感性降低,表达下降,调控 LH,FSH 分泌失衡。超生理量的 LH 会刺激卵泡膜细胞合成睾酮增多,而低水平 FSH 会导致卵巢颗粒细胞中芳香化酶活性下降,睾酮转化为雌激素受阻,营造卵巢高雄激素环境。而卵巢高雄激素环境可致卵泡募集过多、优势卵泡发育障碍,排出受阻,造成卵巢多囊样改变^[24]。雄激素发挥作用需要以 AR 为介导,AR 不但介导 PCOS 患者糖脂代谢紊乱和肥胖的发生,还调控其卵泡生长、卵母细胞的成熟以及排卵等生理过程^[25-26]。菟丝子是常用补肾中药,其活性成分总黄酮对去卵巢骨质疏松症^[27]、少弱精子症^[28]、肾虚排卵障碍^[29-30]等生殖系统病变动动物模型均具有较好的干预作用,表明菟丝子总黄酮对 HPO 轴、性激素分泌、生殖器官病变等具有调节作用。而实验结果也表明,菟丝子总黄酮可以下调来曲唑致 PCOS 模型大鼠血清 GnRH,T,LH 的含量,升高血清 E₂ 和 FSH 的含量;降低下丘脑、垂体和卵巢组织 AR 的表达。

综上所述,菟丝子总黄酮能有效改善来曲唑致 PCOS 模型大鼠症状,调节 HPO 轴内分泌紊乱状态,缓解卵巢增生程度和病理改变,从而发挥对 PCOS 模型大鼠的保护和调节作用。

[参考文献]

[1] Yau T T, Ng N Y, Cheung L P, et al. Polycystic ovary syndrome: a common reproductive syndrome with longterm metabolic consequences [J]. Hong Kong Med J, 2017, 23 (6) :622-634.
[2] Nasri K, Hantoushzadeh S, Aghadavod E, et al. The effects of omega-3fatty acids supplementation on gene expression involved in the insulin and lipid signaling pathway in patients with polycystic ovary syndrome [J].

Horm Metab Res, 2017, 49 (6) :446-451.

[3] 彭孟凡,刘保松,苗明三. 补肾法治疗多囊卵巢综合征的理论探讨 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25 (6) :204-209.
[4] 邵建柱,郭杏林,张婧,等. 菟丝子临床应用及其用量 [J]. 吉林中医药, 2019, 39 (1) :36-39.
[5] 闫晓丽,张志强,苗明三. 基于中西医临床特征的多囊卵巢综合征模型分析 [J]. 中医学报, 2017, 32 (4) :598-601.
[6] 苗明三,彭孟凡,闫晓丽. 菟丝子总黄酮对多囊卵巢综合征大鼠模型的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25 (5) :143-150.
[7] 王施元,李肖肖,于彩虹,等. 生长激素调控 PCOS 大鼠血清与卵巢组织中血管因子表达的研究 [J]. 生殖医学杂志, 2018, 27 (5) :444-450.
[8] Andrade V H, Mata A M, Borges R S, et al. Current aspects of polycystic ovary syndrome: a literature review [J]. Rev Assoc Med Bras, 2016, 62 (9) :867.
[9] 周娴颖,周莉,孙祖越. 用于治疗多囊卵巢综合征的中药药理学作用机制研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41 (20) :3715-3720.
[10] 唐爱军. 雌激素联合常规疗法治疗多囊卵巢综合征的临床效果 [J]. 河南医学研究, 2018, 27 (22) :4154-4155.
[11] Mehta R, Kaur M, Gandhi P, et al. Auditory and visual reaction time in polycystic ovarian syndrome [J]. J Clin Diagn Res, 2018, 12 (6) :CC11-CC13.
[12] 王靖雅,李文兰,孙向明,等. 菟丝子拟雌激素部位在大鼠血清和粪便中的代谢成分分析 [J]. 中国药学杂志, 2018, 53 (11) :854-861.
[13] 夏卉芳,王毓. 菟丝子水提液对环磷酰胺致雄性小鼠生殖损伤的保护作用研究 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2017 (21) :200-203, 297.
[14] 刘芝,李振彬,刘乐. 雷公藤多苷对大鼠卵巢功能耗损的影响与菟丝子总提取物干预作用的实验研究 [J]. 湖南中医杂志, 2017, 33 (4) :153-155.
[15] 彭孟凡,乔靖怡,白莉,等. 基于关联规则和因子分析探讨中药治疗多囊卵巢综合征用药规律 [J]. 时珍国医国药, 2019, 30 (1) :253-255.
[16] 陈蕾,赵陆华,谭喜堂. HPLC 法同时测定菟丝子药材中酚酸和黄酮类成分含量 [J]. 药学与临床研究, 2018, 26 (2) :101-103.
[17] 赵素霞,刘会丽,江红. 菟丝子黄酮通过调节 Wnt/ β -catenin 信号通路干预去卵巢大鼠骨代谢的机制研究 [J]. 临床和实验医学杂志, 2018, 17 (1) :25-28.
[18] 任献青,郑贵珍,苏杭,等. 菟丝子黄酮对雷公藤多苷片致生精细胞周期阻滞、凋亡及相关蛋白表达降低的影响 [J]. 药物评价研究, 2018, 41 (1) :55-60.

- [19] 张翌蕾,潘文,汪永娟. 多囊卵巢综合征病因病机中西医研究进展[J]. 中国中医基础医学杂志,2016,22(7):1004-1006.
- [20] WANG Q, Kim J Y, XUE K, et al. Chemerin, a novel regulator of follicular steroidogenesis and its potential involvement in polycystic ovarian syndrome [J]. Endocrinology, 2012, 153(11):5600-5611.
- [21] Shin J J, Park K E, Choi Y M, et al. Early gonadotropin-releasing hormone antagonist protocol in women with polycystic ovarysyndrome: a preliminary randomized trial [J]. Clin Exp Reprod Med, 2018, 45(3): 135-142.
- [22] Luque-Ramírez M, Escobar-Morreale H F. Targets to treat androgen excess in polycystic ovary syndrome[J]. Expert Opin Ther Targets, 2015, 19(11):1545-1560.
- [23] Vitek W, Hoeger K, Legro R S. Treatment strategies for infertile women with polycystic ovary syndrome [J]. Minerva Ginecol, 2016, 68(4):450-457.
- [24] 张旭帆,郝玲,黄睿臻,等. 多囊卵巢综合征患者抗苗勒管激素与 LH/FSH 相关性分析[J]. 临床检验杂志, 2018, 7(4):652-653.
- [25] 尹利军,王晓慧. 雄激素及其受体在肥胖、肥胖相关疾病及糖脂代谢紊乱中的作用[J]. 生理学报, 2018, 70(3):319-328.
- [26] Walters K A. Role of androgens in normal and pathological ovarian function [J]. Reproduction, 2015, 149(4):R193-R218.
- [27] 郭晓东. 菟丝子黄酮对大鼠激素型骨质疏松症防护作用及机制研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2018, 27(23):2525-2528.
- [28] 孙晶晶,吴秀娟,鲍军,等. 菟丝子总黄酮对氢化可的松致大鼠少弱精子症的治疗作用及其机制[J]. 华西药理学杂志, 2016, 31(1):14-17.
- [29] 佟雅婧,张会仙,陈燕霞,等. 马堃教授治疗排卵障碍性不孕用药特点[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(23):4459-4463.
- [30] 罗克燕,杨丹莉,徐敏. 菟丝子总黄酮对排卵障碍大鼠下丘脑-垂体-卵巢轴性激素水平的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(13):258-260.

[责任编辑 周冰冰]