

# 益肾祛浊方对 PCOS 模型大鼠胰岛素抵抗及性激素的影响

蔡云 许昕

**【摘要】 目的** 建立由来曲唑联合高脂饲料诱导的多囊卵巢综合征 (polycystic ovary syndrome, PCOS)-胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR) 大鼠模型, 观察益肾祛浊方对 PCOS 大鼠胰岛素抵抗及性激素水平的影响。**方法** 将 72 只 6 周龄 SD 雌性大鼠随机分为 6 组: 空白组、模型组、益肾祛浊方高剂量组、益肾祛浊方中剂量组、益肾祛浊方低剂量组及西药二甲双胍组, 每组 12 只。除空白组外, 其余各组采用来曲唑联合高脂饲料法建立 PCOS-IR 大鼠模型。造模成功后, 给予灌服益肾祛浊方, 以西药二甲双胍作为对照, 观察用药后各组大鼠空腹胰岛素、性激素水平及卵巢结构变化。**结果** (1) 体重: 在造模过程中, 除空白组外, 各组大鼠体重均明显增加。造模后, 经过中药或二甲双胍灌药, 各组大鼠与模型组比较体重增长幅度减慢, 甚至较前略有减轻。(2) 性激素: 造模后, 模型组黄体生成素 (luteinizing hormone, LH)、睾酮 (testosterone, T)、黄体生成素/卵泡刺激素 (luteinizing hormone/follicle stimulating hormone, LH/FSH) 水平较空白组升高; 卵泡刺激素 (follicle stimulating hormone, FSH) 方面, 各组无明显差异 ( $P>0.05$ ); 用药后益肾祛浊方各剂量组的 T、LH、LH/FSH 水平较模型组降低, 差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ), 二甲双胍组与模型组比较, T、LH、LH/FSH 水平无明显差异 ( $P>0.05$ )。(3) 代谢指标: 与模型组比较, 益肾祛浊方高、中剂量组及西药二甲双胍组的空腹胰岛素 (fasting insulin, FINS) 水平降低, 差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ); 益肾祛浊方低剂量组与模型组比较 FINS 水平无明显差异 ( $P>0.05$ )。(4) 卵巢组织: 益肾祛浊方各剂量组对卵巢多囊肿样改变

基金项目: 国家自然科学基金 (81674010)

作者单位: 100010 首都医科大学附属北京中医医院妇科 [蔡云 (硕士研究生)、许昕]

作者简介: 蔡云 (1989-), 女, 2014 级在读硕士研究生。研究方向: 中医药治疗多囊卵巢综合征胰岛素抵抗。

E-mail: caiyun0717@126.com

通信作者: 许昕 (1959-), 女, 硕士, 主任医师。研究方向: 中西医结合治疗排卵障碍性疾病。E-mail: xuxin-doudou1959@163.com

均有不同程度改善,使小卵泡数目减少,颗粒细胞层增厚;二甲双胍组改善卵巢组织效果不如益肾祛浊方组明显。**结论** 益肾祛浊方能够有效改善 PCOS-IR 模型大鼠内分泌及代谢紊乱状态,且恢复卵巢内卵泡结构,使颗粒细胞增殖,促进卵泡发育,整体效果优于二甲双胍组。

【关键词】 多囊卵巢综合征; 胰岛素抵抗; 中药; 益肾祛浊方; 二甲双胍

【中图分类号】 R285.5 【文献标识码】 A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2017.06.003

# Effects of *Yishen Quzhuo* decoction on insulin resistance and hormones of rats with PCOS CAI

Yun, XU Xin. Department of gynecology, Beijing Hospital of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing 10010, China

Corresponding author: XU Xin, E-mail: xuxindoudou1959@163.com

【Abstract】 **Objective** The PCOS-IR rat model was induced by letrozole combined with high fat diet, and the effect of *Yishen Quzhuo* decoction on insulin resistance and hormones were observed in PCOS rats. **Methods** 72 6-week-old SD female rats were randomly divided into 6 groups: blank group, model group, *Yishen Quzhuo* decoction high dose group, *Yishen Quzhuo* decoction middle dose group, *Yishen Quzhuo* decoction low dose group, western medicine group, 12 rats in each group. After the rat model was successfully established, the *Yishen Quzhuo* decoction and western medicine metformin (Metformin Hydrochloride) was used to treat. The levels of insulin and hormones were observed, and the change of ovary structure was observed. **Results** (1) Effect on the weight of rats: model group was significantly elevated, body weight of rats in each treatment group was decreased after treatment. (2) The influence on testosterone (T), luteinizing hormone (LH), luteinizing hormone/ follicle stimulating hormone (LH / FSH): the levels of T and LH / FSH in model group was significantly increased, the levels of T, LH and LH / FSH in all *Yishen Quzhuo* decoction groups were reduced. (3) On serum insulin (FINS) in rats: compared with the blank group, the level of FINS of model group was significantly increased, the level of FINS in all treatment groups was decreased except the *Yishen Quzhuo* decoction low dose group. (4) Ovarian tissue: *Yishen Quzhuo* decoction groups have different degrees of improvement on polycystic ovary in rats, the number of small follicles was reduced, granular cell layer was thickened; the effect of metformin group was not as obvious as the Chinese medicine group. **Conclusion** *Yishen Quzhuo* decoction can effectively improve the endocrine and metabolism of PCOS-IR rats, and can restore the structure of ovarian follicles, can promote the proliferation of granulosa cells and follicular development, the overall effect is better than metformin group.

【Key words】 Polycystic ovary syndrome; Insulin resistance; Traditional Chinese medicine; *Yishen Quzhuo* decoction; Metformin Hydrochloride

多囊卵巢综合征 (polycystic ovary syndrome, PCOS) 是妇科常见的内分泌与代谢功能异常的复杂性疾病,以持续无排卵或稀发排卵、高雄激素和/或高胰岛素血症、胰岛素抵抗为特征,主要表现为月经稀发、闭经、不孕、肥胖、多毛、痤疮等<sup>[1-2]</sup>。胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR) 指机体生理水平胰岛素 (insulin, INS) 促进器官组织和细胞吸收利用葡萄糖的效能下降时的代谢状态,是机体靶细胞对正常水平的 INS 反应低下的一种病理改变,具有空腹胰岛素 (fasting insulin, FINS) 水平增高,而空腹血糖 (fasting plasma glucose, FPG) 正常,胰岛素抵抗指数 (homeostasis model of assessment for insulin resistance index, HOMA-IR)  $\geq 2.69$  等特征。姚元庆等<sup>[3]</sup> 根据

Carmiona 的研究结果估计 PCOS 患者广泛存在 IR, 其发生率高达 50% ~ 70%, IR 已成为 PCOS 的基本病理特征。PCOS-IR 是目前妇科内分泌领域研究的热点之一,也是较为棘手的难题。本研究基于“肾主生殖”“冲脉隶于阳明”的中医理论,在前期临床研究<sup>[2]</sup> 基础上进行动物实验,旨在研究益肾祛浊方对 PCOS-IR 大鼠空腹胰岛素、性激素水平及卵巢组织形态等方面的影响。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

选取 6 周龄 SPF 级 SD 雌性大鼠 72 只,体重 150 ~ 160 g,由北京华阜康生物科技股份有限公司

提供,许可证号:SCXK(京)2014-0004。

## 1.2 实验用药

来曲唑(江苏恒瑞医药股份有限公司,批号:HI9991001);羧甲基纤维素钠(安徽山河药用辅料股份有限公司,批号:160301);盐酸二甲双胍肠溶片(北京利龄恒泰药业有限公司,批号:H11021560)。

益肾祛浊方由菟丝子 15 g、桑寄生 24 g、续断 24 g、败酱草 15 g、生薏苡仁 24 g、生石膏 15 g、茯苓 20 g、太子参 24 g、泽兰 9 g、桃仁 9 g、枳壳 9 g、炙甘草 6 g 组成。制备成中药水煎剂,按成人服用剂量折算成大鼠用量,设定为中剂量<sup>[4]</sup>。高剂量浓度为中剂量的 2 倍,中剂量浓度为低剂量的 2 倍。

## 1.3 实验试剂

血清卵泡刺激素(follicle stimulating hormone, FSH)、黄体生成素(luteinizing hormone, LH)、睾酮(testosterone, T)、雌二醇(estradiol, E<sub>2</sub>)、FINS 和甘油三酯(triglyceride, TG)等放免试剂盒,均由北京北方生物技术研究有限公司提供;罗氏活力型血糖仪(德国罗氏诊断有限公司)。

## 1.4 造模方法

参考 Kafali 等<sup>[5]</sup>的来曲唑造模法,在来曲唑灌胃基础上,加用高脂饲料,建立多囊卵巢综合征胰岛素抵抗大鼠模型。之前笔者已采用此法成功诱导出 PCOS-IR 大鼠模型,此大鼠同时具有卵巢多囊样改变、高雄激素血症、肥胖及胰岛素抵抗等典型病理特征,证实此造模方法是适用于研究 PCOS-IR 的动物模型。

具体方法:所有实验大鼠适应性喂养 2 天,空白组给予普通饲料喂养,每日灌胃 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液;其他各组每日灌胃来曲唑溶液[来曲唑 1 mg/(kg·d)溶于 0.5% 羧甲基纤维素钠],同时给予高脂饲料喂养(配方:普通饲料 61.5%、猪油 12%、蔗糖 5%、奶粉 5%、花生 5%、鸡蛋 10%、麻油 1%、食盐 0.5%),连续灌胃 30 天。

## 1.5 治疗方式

30 天造模结束后,除空白组外的 60 只大鼠完全随机分为:模型组、益肾祛浊方高剂量组、益肾祛浊方中剂量组、益肾祛浊方低剂量组及西药二甲双胍组,每组 12 只。中、西药治疗组大鼠给予相应组别药物灌胃,具体如下:益肾祛浊方高剂量组按益肾祛浊方 40 g/kg 灌胃,每日 1 次,连续 15 天;中剂量组按益肾祛浊方 20 g/kg 灌胃,每日 1 次,连续 15 天。低剂量组按益肾祛浊方 10 g/kg 灌胃,每日 1

次,连续 15 天。模型组及空白组给予等量生理盐水,每日 1 次,连续灌服 15 天。期间空白组继续普通饲料喂养,其他各组继续采用高脂饲料喂养。

## 1.6 检测指标

1.6.1 大鼠体重变化 每周定时测量大鼠体重并记录数据,绘制大鼠体重变化曲线。

1.6.2 性激素与代谢指标 各组大鼠灌胃结束后,禁食 24 小时,于次日以 2% 戊巴比妥钠(0.2 mL/100 g)腹腔注射麻醉后,腹主动脉取血,离心后收集血清。血清性激素(T、FSH、LH、E<sub>2</sub>)及相关代谢指标(FINS、TG 等)均采用放免法测定,严格按照试剂盒说明书操作。计算 LH/FSH 比值和胰岛素抵抗指数 HOMA-IR,计算公式:  $HOMA-IR = FPG (mmol/L) \times FINS (mIU/L) / 22.5$ 。

1.6.3 卵巢组织学观察 卵巢组织以 4% 多聚甲醛固定,常规脱水,石蜡包埋;以 4 μm 厚度切片,常规脱蜡、水化后苏木素染色 5~10 分钟;1% 盐酸酒精分化,1% 伊红溶液染色,脱水,透明中性树胶封片,显微镜下观察各组大鼠卵巢组织学变化。

## 1.7 统计学处理

实验数据采用 SPSS 16.0 统计软件进行分析,所有计量资料用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。两样本均数比较采用 *t* 检验,组间比较用单因素方差分析。各组性激素指标均经正态检验及方差齐性检验,方差不齐用 Dunnett T3 法作组间多重比较。相关代谢指标经正态检验及方差齐性检验,符合正态分布及具备方差齐性,故采用 Tukey 法作组间多重比较。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

# 2 结果

## 2.1 一般情况

所有实验大鼠经灌胃后,无震颤、惊厥、流涕、呼吸困难等异常生命特征,试验周期内无一只大鼠死亡,其饮食、活动等均无显著异常状况。

## 2.2 大鼠体重

6 组大鼠实验开始前的体重无明显差异。造模过程中(至第 28 天),除空白组外,其余各组大鼠体重增长明显。造模后,经过中药或二甲双胍治疗(第 35 天至禁食处死当天),各组大鼠与模型组比较体重增长幅度减缓,甚至较前略有减轻。见表 1 和图 1。

## 2.3 性激素水平

模型组 LH、T、LH/FSH 水平较空白组升高;

FSH 水平在各组间无明显差异( $P>0.05$ )。灌药结束后,空白组及益肾祛浊方各剂量组的 LH、T、LH/FSH 比值均低于模型组,差异具有统计学意义( $P<0.05$ ),二甲双胍组与模型组比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 2。

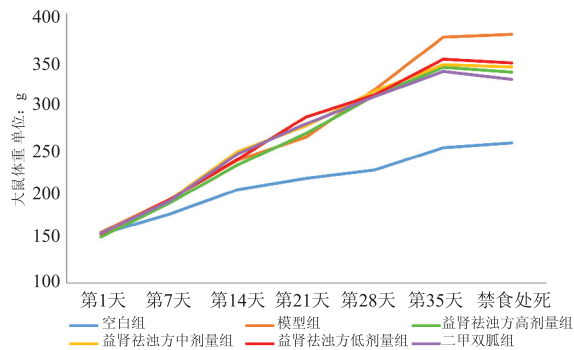


图 1 各组大鼠体重增长趋势图

2.4 代谢指标

2.4.1 FINS 与模型组比较,益肾祛浊方高、中剂

量组及西药二甲双胍组的空腹胰岛素水平明显降低,差异有统计学意义( $P<0.05$ );益肾祛浊方低剂量组同模型组相比, FINS 水平无明显差异( $P>0.05$ )。二甲双胍组与益肾祛浊方高、中剂量组相比, FINS 水平无明显差异( $P>0.05$ )。

2.4.2 FPG 各组间空腹血糖水平无明显差异,亦无统计学意义( $P>0.05$ )。

2.4.3 TG 各组间甘油三酯水平无明显差异,无统计学意义( $P>0.05$ )。

2.4.4 HOMA-IR 空白组、益肾祛浊方高剂量组、中剂量组和二甲双胍组的胰岛素抵抗指数低于模型组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );中药低剂量组与模型组比较, HOMA-IR 水平无明显差异( $P>0.05$ )。见表 3。

2.5 卵巢组织学改变

光学镜下,空白组大鼠卵巢内有多个黄体,颗粒细胞呈多层,形态完整,排列整齐,颗粒细胞层较厚。模型组可见较多早期发育的小卵泡及闭锁卵泡,

表 1 各组大鼠体重比较( $\bar{x}\pm s, g$ )

组别	n	第 1 天	第 7 天	第 14 天	第 21 天	第 28 天	第 35 天	禁食处死
空白组	12	154.2±4.9	176.5±4.6	203.8±2.7	216.4±3.8	225.7±4.6	250.4±4.3	255.8±4.6
模型组	12	156.2±4.8	192.7±3.0	236.6±3.5	262.2±4.3	315.2±6.0	373.4±5.8	376.5±5.6
高剂量组	12	151.0±4.1	188.7±2.9	231.3±3.0	266.3±2.6	308.6±4.7	339.8±4.5	334.5±5.2
中剂量组	12	154.5±3.7	191.9±4.1	246.1±4.4	274.7±4.9	313.5±3.1	342.7±4.7	340.2±4.9
低剂量组	12	154.5±4.5	192.3±3.7	237.6±4.7	284.7±3.9	309.2±4.8	348.8±5.2	344.6±5.3
二甲双胍组	12	155.2±5.8	190.9±2.7	243.5±4.5	277.0±5.0	307.3±5.9	335.3±5.1	326.5±5.0

表 2 各组大鼠性激素指标比较( $\bar{x}\pm s, n=12$ )

组别	FSH (mIU/mL)	LH (mIU/mL)	T (ng/mL)	LH/FSH
空白组	3.77±0.64	4.36±0.59 <sup>a</sup>	0.18±0.12 <sup>a</sup>	1.16±0.11 <sup>a</sup>
模型组	2.59±0.24	5.02±1.02	2.25±0.73	2.21±0.62
高剂量组	3.11±0.25	2.88±0.66 <sup>a</sup>	0.14±0.07 <sup>a</sup>	0.93±0.15 <sup>a</sup>
中剂量组	3.21±0.31	2.93±0.42 <sup>a</sup>	0.24±0.17 <sup>a</sup>	0.91±0.15 <sup>a</sup>
低剂量组	2.90±0.09	3.43±0.30 <sup>a</sup>	0.16±0.06 <sup>a</sup>	1.18±0.13 <sup>a</sup>
二甲双胍组	2.76±0.28	4.92±0.14	1.06±0.30	1.78±0.17

注:与模型组比较, <sup>a</sup> $P<0.05$ 。

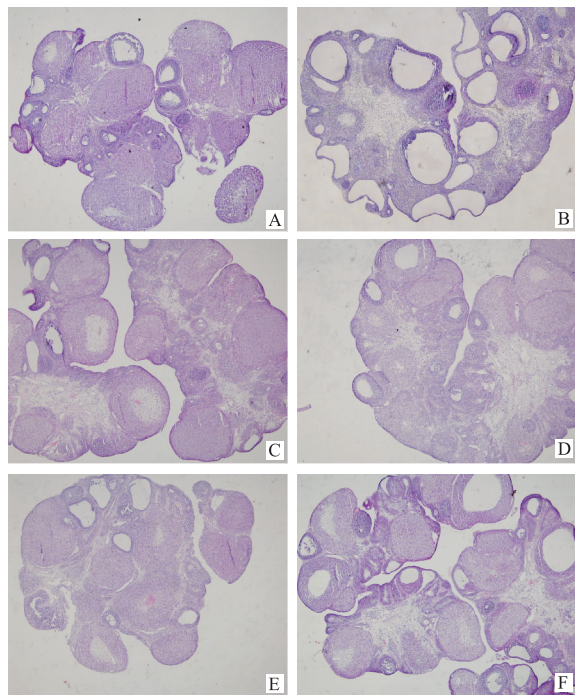
表 3 各组大鼠代谢指标比较( $\bar{x}\pm s, n=12$ )

组别	FINS (uIU/mL)	FPG (mmol/L)	TG (mmol/L)	HOMA-IR
空白组	4.18±1.56 <sup>a</sup>	5.27±0.47	0.13±0.06	0.99±0.39 <sup>a</sup>
模型组	13.86±3.54	5.69±0.74	0.14±0.06	3.52±1.06
高剂量组	3.75±1.72 <sup>a</sup>	5.00±0.29	0.12±0.05	0.83±0.15 <sup>a</sup>
中剂量组	6.77±2.90 <sup>a</sup>	5.32±0.36	0.10±0.07	1.58±0.64 <sup>a</sup>
低剂量组	10.32±1.60	6.13±0.51	0.17±0.08	2.83±0.62
二甲双胍组	5.73±2.40 <sup>a</sup>	6.06±0.25	0.19±0.04	1.79±0.73 <sup>a</sup>

注:与模型组比较, <sup>a</sup> $P<0.05$ 。



囊状扩张显著,颗粒细胞层减少,甚至消失,黄体较少,卵巢呈典型多囊样改变。益肾祛浊方各剂量组对卵巢多囊样改变均有不同程度的改善,小卵泡数目减少,颗粒细胞层增厚等。二甲双胍组对改善卵巢组织多囊样改变有一定影响,但效果不如中药组明显。见图 2。



注:A 空白组; B 模型组; C 益肾祛浊方高剂量组;  
D 益肾祛浊方中剂量组; E 益肾祛浊方低剂量组;  
F 二甲双胍组

图 2 各组大鼠卵巢组织学改变 HE 染色图( $\times 40$ )

### 3 讨论

自 1980 年 Burghen 首次报道 PCOS 患者存在高胰岛素血症以来,越来越多的临床证据表明 IR 是 PCOS 的显著特征<sup>[6]</sup>,PCOS-IR 具有高发性、异质性、终身性和难治性等特点,且存在糖尿病、代谢综合征等远期并发症风险,严重威胁患者身心健康。目前,西医常首选双胍类药物进行治疗本病,二甲双胍是胰岛素增敏剂,可增加外周组织对葡萄糖的摄取和利用,抑制肝糖原异生和糖原分解,改善外周组织对胰岛素的敏感性<sup>[7]</sup>。二甲双胍治疗 PCOS-IR 不仅改善胰岛素抵抗状态,还可促进排卵和受孕,但远期效果并不理想,并且口服二甲双胍常出现腹泻、恶心、腹胀、胃部不适等不良反应,部分患者难

以坚持服药。中药治疗 PCOS-IR,同样可使患者恢复排卵功能,调整月经周期,提高生殖能力,不良反应相对较少,具有良好的疗效。

中医学无与 PCOS-IR 相对应的病名,根据其临床特征,将本病归属于“闭经”“月经稀发”“月经过少”“经期延长”及“不孕”等范畴。多数学者认为,本病与脏腑功能失调及痰湿、血瘀关系密切。本实验以补肾健脾,祛浊调经为治疗法则,结果证实益肾祛浊方能显著降低 PCOS-IR 大鼠空腹胰岛素水平,改善高雄激素血症、LH 升高、LH/FSH 比值异常等内分泌紊乱状态,亦能一定程度纠正卵巢多囊样病变。实验数据表明,该方既能通过补益肾气恢复卵巢局部卵泡质量,使体内性激素水平趋向正常周期性变化,又能通过祛浊清除胃肠积滞,抑制过多雄激素的产生,增强脾运而逆转胰岛素抵抗,最终遏制高雄激素血症与高胰岛素血症之间此增彼涨的恶性循环,改善卵巢排卵功效,恢复月经与生殖能力。西药二甲双胍组虽能有效降低大鼠 FINS 水平,但异常激素指标改善并不明显。本研究证明益肾祛浊方在改善 PCOS 大鼠胰岛素抵抗及性激素水平方面,较西药二甲双胍组更具有优势。

### 参考文献

- [1] 乔杰,尹太郎. 多囊卵巢综合征认知与对策[J]. 中国实用妇科与产科杂志,2013,29(11):841-844.
- [2] 高征,许昕,梁婧翹. 益肾助阳活血化浊法对多囊卵巢综合征患者激素及排卵功能影响[J]. 环球中医药,2015,8(6):675-678.
- [3] 姚元庆,陈春玲. 多囊卵巢综合征的胰岛素抵抗[J]. 中国实用妇科与产科杂志,2002,18(11):645-647.
- [4] 张宏,王旭昀,刘美奇,等. 中药含药血清实验动物灌胃给药剂量探讨[J]. 吉林中医药,2015,(6):623-625.
- [5] Kafali H, Iriadam M, Ozardall I, et al. Letrozole-induced polycystic ovaries in the rat: a new model for cystic ovarian disease[J]. Archives of medical research, 2004,35(2):103-108.
- [6] March WA, Moore VM, Willson KJ, et al. The prevalence of polycystic ovary syndrome in a community sample assessed under contrasting diagnostic criteria [J]. Hum Reprod, 2010, 25: 544-551.
- [7] 朱敏. 针药并用改善多囊卵巢综合征患者胰岛素抵抗的临床研究[D]. 广州:广州中医药大学,2012.

(收稿日期:2016-07-08)

(本文编辑:韩虹娟)