

本文引用: 林安盈, 杨璐瑜, 杨正望, 余曦明. 健脾化痰方通过调控 PPAR 信号通路改善 PCOS-IR 大鼠的机制研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2024, 44(12): 2157-2163.

健脾化痰方通过调控 PPAR 信号通路改善 PCOS-IR 大鼠的机制研究

林安盈², 杨璐瑜³, 杨正望⁴, 余曦明^{1*}

1. 湖南中医药大学, 湖南 长沙 410208; 2. 广州市花都区妇幼保健院, 广东 广州 510810; 3. 江西省中西医结合医院, 江西 南昌 330012; 4. 湖南中医药大学第一附属医院, 湖南 长沙 410007

〔摘要〕 **目的** 基于过氧化物酶体增殖物激活受体家族(peroxisome proliferators-activated receptors, PPAR)信号通路研究健脾化痰方对多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome, PCOS)伴胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)大鼠模型的作用机制。**方法** 40 只 SD 大鼠随机分为两组, 空白对照组 10 只和造模组 30 只, 造模组采用来曲唑灌胃及高脂饲料喂养造模 8 周。将造模成功的大鼠随机分为模型对照组、二甲双胍组、健脾化痰方组, 每组 10 只。健脾化痰方组和二甲双胍组分别予以健脾化痰方、二甲双胍干预, 连续 4 周。采用 HE 染色法观察卵巢组织病理学改变; ELISA 法测定卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)、黄体生成素(luteinizing hormone, LH)、雌二醇(estradiol, E2)、总睾酮(testosterone, T)、空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)、空腹胰岛素(fasting serum insulin, FINS)、脂联素的水平并计算胰岛素抵抗指数(homeostatic model assessment of insulin resistance, HOMA-IR); PCR 和 Western blot 分别检测卵巢组织 PPAR α 、PPAR γ 的 mRNA 和蛋白表达水平。**结果** 与空白对照组比较, 模型对照组大鼠体重明显增加, 血清 LH、T、LH/FSH 升高, E2、FSH 降低, 卵巢多囊性改变明显, 糖脂代谢调控失常($P<0.01$); 与模型对照组比较, 健脾化痰方组大鼠可控制体重增速, 调节大鼠血清、血脂、血糖代谢环节, T、LH 水平降低($P<0.05$), FSH、E2、脂联素水平升高($P<0.05$), 卵巢组织多囊样改变改善, 卵泡发育良好, 卵巢组织 PPAR α 、PPAR γ 的 mRNA 及蛋白表达水平上调($P<0.05$)。**结论** 健脾化痰方能有效降低来曲唑联合高脂饲料诱导的 PCOS-IR 大鼠体重, 改善胰岛素抵抗和脂代谢紊乱, 调节性激素分泌, 保护 PCOS-IR 大鼠卵巢生殖功能, 可能是通过激活 PPAR α 、PPAR γ 来发挥作用。

〔关键词〕 多囊卵巢综合征; 健脾化痰方; 来曲唑; 高脂饲料; 胰岛素抵抗; PPAR α 、PPAR γ

〔中图分类号〕 R285.1

〔文献标志码〕 A

〔文章编号〕 doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2024.12.003

Mechanism of Jianpi Huatan Formula in improving PCOS-IR rats by regulating PPAR signaling pathway

LIN Anying², YANG Luyu³, YANG Zhengwang⁴, YU Ximing^{1*}

1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. Maternal and Child Health Hospital in Guangzhou Huadu District, Guangzhou, Guangdong 510810, China; 3. Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital in Jiangxi Province, Nanchang, Jiangxi 330012, China; 4. The First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China

〔Abstract〕 **Objective** To investigate the mechanism of action of Jianpi Huatan Formula (JPHTF) in improving polycystic ovary syndrome (PCOS) with insulin resistance (IR) in a rat model, based on the peroxisome proliferators-activated receptor (PPAR) signaling pathway. **Methods** Forty SD rats were randomized into a blank control group ($n=10$) and a model group ($n=30$). The model

〔收稿日期〕 2024-06-17

〔基金项目〕 湖南省自然科学基金项目(2022JJ40317); 湖南中医药大学中药粉体与创新药物省部共建国家重点实验室培育基地开放基金项目(21PTKF1011); 国家级大学生创新创业训练计划项目(202210541064)。

〔通信作者〕 * 余曦明, 女, 硕士, 高级实验师, E-mail: 63175725@qq.com。

group was induced with letrozole by gavage and fed with a high-fat diet for eight weeks. The successfully modeled rats were then randomly subdivided into a model control group, a metformin group, and a JPHTF group, with 10 rats in each group. The JPHTF and metformin groups were treated with JPHTF and metformin, respectively, for four consecutive weeks. HE staining was used to observe the histopathological changes in ovarian tissues; ELISA was performed to measure the levels of follicle-stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), estradiol (E₂), testosterone (T), fasting blood glucose (FBG), fasting serum insulin (FINS), and adiponectin, and to calculate the homeostatic model assessment of insulin resistance (HOMA-IR); PCR and Western blot were used to examine the mRNA and protein expression levels of PPAR α and PPAR γ in ovarian tissues, respectively. **Results** Compared with the blank control group, the model control group showed significantly increased body weight, serum levels of LH and T, as well as LH/FSH ratio, decreased levels of E₂ and FSH, evident ovarian polycystic changes, and dysregulation of glucose and lipid metabolism ($P<0.01$); compared with the model control group, the rats in the JPHTF group showed a slower body weight gain, improved serum, glucose, and lipid metabolism, and reduced T and LH levels ($P<0.05$). The group also demonstrated elevated FSH, E₂, and adiponectin levels ($P<0.05$), alleviated ovarian polycystic changes, enhanced follicular development, and upregulated mRNA and protein expression levels of PPAR α and PPAR γ in ovarian tissues ($P<0.05$). **Conclusion** JPHTF can effectively reduce body weight, improve insulin resistance and lipid metabolism disorders, regulate sex hormone secretion, and protect ovarian reproductive function in PCOS-IR rats induced by letrozole combined with a high-fat diet. It may exert its effects through activating PPAR α and PPAR γ .

[**Keywords**] polycystic ovary syndrome; Jianpi Huatan Formula; letrozole; high-fat diet; insulin resistance; PPAR α , PPAR γ

多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome, PCOS)作为育龄期女性常见内分泌性疾病和代谢紊乱疾病,据流行病学调查显示,全球有 8%~13% 的育龄妇女深受此病困扰,该病严重影响患者生活质量^[1]。全球约有一半的 PCOS 患者存在肥胖甚至超重的困扰,肥胖型 PCOS 患者血脂代谢异常、血清睾酮水平也更高。胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)作为 PCOS 的核心发病机制之一,可通过激活脂肪动员,影响体内脂质代谢而造成体内脂质堆积。葡萄糖-脂肪酸循环假说表明脂代谢紊乱可影响葡萄糖代谢,葡萄糖受损与 IR 状态密不可分^[2]。IR 与脂代谢异常互相促进,形成恶性循环,造成排卵障碍、月经失调、不孕及糖尿病、冠心病、代谢综合征等不良影响^[3]。近年来越来越多研究表明,PCOS-IR 与脂代谢异常及高脂血症密切相关,过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferators-activated receptor, PPAR)主要包括 PPAR α 、PPAR γ ,作为脂质内源性配体激活的转录因子,故 PPAR 是代谢紊乱的重要药物靶点^[4]。

西医以双胍类药物作为治疗 PCOS-IR 临床首选药物,可有效缓解 PCOS 患者胰岛素抵抗症状,但该类药物存在禁忌证及胃肠道不适、肝功能损害等不良反应。中医学者通过归纳 PCOS-IR 患者的症状、体征,认为该病病机多以脾虚为本,痰湿为标,脾虚痰湿是该病所致气血津液代谢失常之本^[5]。健脾化痰方为杨正望教授临床经验方,本团队前期临床研究发现健脾化痰方可有效缓解患者的肥胖、糖脂代谢紊乱等代谢异常症状,且可有效改善患者卵泡发育及排卵障碍等问题^[6-7],但健脾化痰方治疗 PCOS-

IR 的研究以临床观察为主,相关分子水平及干预机制仍在探索阶段。因此,本研究通过构建 PCOS-IR 大鼠模型,探讨该方治疗 PCOS-IR 大鼠的作用机理,以为日后临床治疗该病提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康雌性 SPF 级 21 日龄 SD 大鼠 40 只,体重(53 $\pm$ 6) g,购自湖南斯莱克景实验动物有限公司实验动物生产许可证号:SCXK(湘)2019-0004。实验全程于湖南中医药大学实验动物中心进行,予以 12 h 光照/黑暗循环,环境为室温,湿度 40%~60%,大鼠可自由饮水采食,分笼饲养。适应性喂养至 23 日龄。实验动物使用许可证号:SYXK(湘)2019-0009。本实验伦理审批号:LL2022020801,符合实验动物的 3R 原则。

1.2 实验药物

健脾化痰方由柴胡 10 g,茯苓、黄芪各 15 g,枳壳 10 g,苍术 10 g,川芎 5 g,浙贝母 10 g,法半夏、当归各 10 g,黄连 5 g,甘草 3 g(均购自湖南中医药大学第一附属医院)组成。羧甲基纤维素钠(批号:9004-32-4,国药集团化学试剂有限公司)。戊巴比妥钠(批号:P3761,Merck KGaA)。

1.3 主要试剂

胰岛素 ELISA 试剂盒(江苏菲亚生物科技有限公司,批号:2205R42);脂联素 ELISA 试剂盒(江苏菲亚生物科技有限公司,批号:FY3462-B);卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)、黄体生成素(luteinizing hormone, LH)、雌二醇(estradiol, E₂)、总

睾酮(testosterone, T)ELISA试剂盒(批号分别为: FY3441-B、FY3676-B、FY3452-B、FY3450-B,江苏酶免实业有限公司);PPAR α 抗体、PPAR γ 抗体(货号分别为PAB45809、PAB47899,武汉贝茵莱生物科技)。

1.4 主要仪器

TGL16M台式高速冷冻离心机(上海卢湘仪离心机仪器有限公司);PIKOREAL 96 荧光定量 PCR 仪(Thermo Fisher Scientific 公司);Chemray240 全自动生化分析仪、Rayto RT-6100 酶标仪(深圳雷杜生命科学股份有限公司)。

2 方法

2.1 造模

将 40 只 SPF 级雌性 SD 大鼠随机分为空白对照组(10 只)及造模组(30 只)。空白对照组大鼠予普通饲料喂养和 0.5%羧甲基纤维素钠溶液(carboxymethylcellulose, CMC-Na)灌胃,CMC-Na 给药体积为 10 mL $\cdot$ kg $^{-1}$ 。造模组大鼠依据文献报道^[8-10]进行历时 8 周的 PCOS-IR 大鼠模型制备;给予 45%高脂饲料喂养 8 周,自第 4 周起将曲唑溶于 0.5% CMC-Na 进行灌胃,灌胃体积为 10 mL $\cdot$ kg $^{-1}$ 。脾虚痰湿证模型采用饮食不节、劳倦过度的多因素造模法。造模结束后连续 4 日取大鼠阴道涂片,显微镜下观察并判断动情周期,出现动情周期紊乱、血清 HOMA-IR 显著升高表示造模成功。

2.2 分组及给药

从造模成功的大鼠中随机抽取 30 只大鼠按随机数字表法分为模型对照组、健脾化痰方组及二甲双胍组,每组 10 只。分组后分别予以健脾化痰方及二甲双胍干预,给药剂量按体表面积换算^[11-12];二甲双胍组每日灌服等效剂量二甲双胍溶液(每日用量为 200 mg $\cdot$ kg $^{-1}$);健脾化痰方每日灌服等效用量为 11.07 g $\cdot$ kg $^{-1}$ 。各组每日灌胃 1 次,干预时间为 4 周。

2.3 脾虚痰湿证大鼠行为学等指标的观察

每日观察并记录各组大鼠进食量、体型、体态精神状态、活动状况、皮毛色泽、粪便质地等外观行为学指标,参考文献[13-14]进行中医证候评估。脾虚模型评估从有无异味(无异味、淡臭、臭、恶臭)、精神状况(良好、倦怠、朦胧欲睡、多怒撕咬)、活动状况(自如、蜷缩、畏寒喜暖、拱背发抖)、呼吸(平顺、气喘、喘急、呼吸微弱)、皮毛色泽(光滑、无光泽、竖毛蓬松、枯黄稀少)、大便质地(正常、偏湿、湿烂、黏液便)分项计算脾虚积分,其中各项正常为 1 分,根据严重程度逐分递增,最终总分 ≤ 6 为无脾虚,7 $\leq$ 总

分 ≤ 12 为轻度脾虚,13 $\leq$ 总分 ≤ 18 为典型脾虚,19 $\leq$ 总分 ≤ 24 为重度脾虚。痰湿证证候根据大鼠是否形体肥胖、毛发油腻及血清血脂水平升高进行评估。

2.4 样本采集与处理

每周定时(上午 9:00—9:30)检测 2 次称取各组大鼠体质量并记录,末次给药后禁食不禁水 12 h,次日上午 7:00 称取并记录大鼠体质量,各组大鼠分别予戊巴比妥钠腹腔注射麻醉,确定大鼠无反应后,暴露腹主动脉用采血针采血,取血 4~5 mL 室温下静置凝固后 3 000 r $\cdot$ min $^{-1}$ 离心(离心半径 10 cm)15 min 取其上清液。眼科剪钝性分离大鼠卵巢组织,分别置于-80℃下保存备用及 4%多聚甲醛溶液固定。

2.5 HE 染色观察大鼠卵巢组织切片

待卵巢组织经固定 24 h 后,依次用 75%、90%、95%、100%乙醇脱水、石蜡包埋后切片,脱蜡后苏木精染液染色处理,待切片干燥后使用数目显微镜摄像系统观察卵巢组织形态变化并拍照。

2.6 ELISA 法检测大鼠血清性激素、脂联素及胰岛素浓度

将存于-80℃冰箱的血清解冻后再次离心,严格按照 ELISA 试剂盒说明书测定大鼠血清 FSH、LH、E2、T、脂联素及胰岛素水平。

2.7 生化法检测大鼠血清中血脂水平

全自动生化分析仪自动检测大鼠血清中血脂四项甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein-cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein-cholesterol, HDL-C)的浓度。

2.8 PCR 法检测大鼠卵巢组织 PPAR α 、PPAR γ mRNA 的表达

取卵巢组织并经 Trizol 法提取总 RNA,进入 NCBI 找到目的基因的序列信息,由北京擎科合成引物,进行 RT-qPCR 实验检测 PPAR α 、PPAR γ 的 mRNA 相对表达水平。引物序列详见表 1。

2.9 Western blot 检测卵巢组织 PPAR α 、PPAR γ 蛋白的表达水平

将取出保存完好的卵巢组织按照实验试剂说明书进行研磨、室温孵育后得到组织总蛋白产物,按照要求配制分离胶与浓缩胶后完成电泳。接着将蛋白条带与 PVDF 膜及滤纸一同放入转膜缓冲液完成转膜,用含 5%脱脂奶粉的封闭液浸泡 PVDF 膜,室温摇床封闭 2 h,孵育一抗、二抗,用化学发光成像系统曝光 30/60 s,观察结果并保存图片。

表 1 各基因 PCR 引物序列

Table 1 PCR primer sequences for each gene

引物名称	上游引物	下游引物	长度/bp
PPAR α	GGCTCTGAACATTGGCGTTC	CAAGGGGACAACCAGAGGAC	96
PPAR γ	GCAGAAACTGGGAGTAGCCTG	ATGGCATCTCTGTGTCAACCA	223
GAPDH	ACAGCAACAGGCTGGTGGAC	TTTGAGGGTGACGCGAACTT	252

2.10 统计与分析

运用 SPSS 29.0 及 GraphPad Prism 8.0 软件处理,所有计量资料均以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,组间采用单因素方差分析,两两比较采用 $LSD-t$ 检验,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 PCOS-IR 模型制备过程中大鼠体质量的变化

各组大鼠造模前体质量无明显差异($P>0.05$);第 4 周起,造模组大鼠体质量显著高于空白对照组($P<0.05$);健脾化痰方干预结束后,与模型对照组相比,第 12 周起健脾化痰方组大鼠体质量增速得到控制($P<0.01$)。详见图 1。

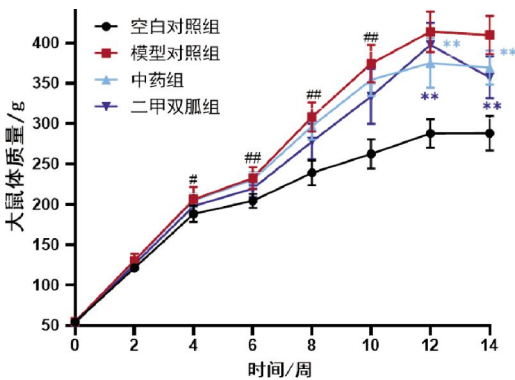


图 1 健脾化痰方对 PCOS-IR 模型大鼠体质量的影响

Fig.1 Effects of JPHTF on the body weight of rats with PCOS-IR model

注:与空白对照组比较, $^{\#}P<0.05$, $^{\#\#}P<0.01$;与模型对照组比较, $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$ 。

3.2 各组大鼠一般情况及证候积分情况

空白对照组精神状态良好,活动自如,呼吸平顺,毛发顺滑有光泽,大便成型,质地正常。与空白对照组相比,模型对照组大鼠形体肥胖,毛发蓬松,易激惹,大便次数多且质地湿烂,脾虚痰湿证候积分显著升高($P<0.01$),健脾化痰方干预后大鼠体质量得以控制,活动自如,大便次数减少且成形,脾虚证候积分明显下降($P<0.01$)。详见图 2。

3.3 各组大鼠卵巢组织形态的变化

空白对照组大鼠卵巢组织内处于不同发育阶段

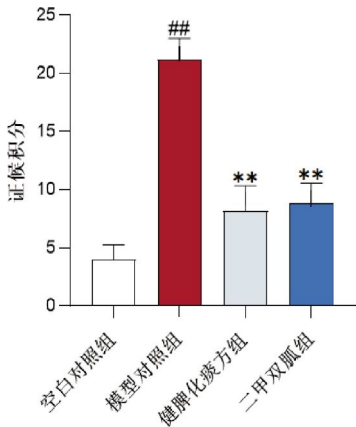


图 2 各组大鼠一般情况及证候积分情况

Fig.2 The general condition and pattern score in each group of rats

注:与空白对照组比较, $^{\#}P<0.05$, $^{\#\#}P<0.01$;与模型对照组比较, $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$ 。

的卵泡,颗粒细胞排列厚实紧密,生长活跃,发育良好,可见成熟黄体。模型对照组大鼠卵巢组织中闭锁卵泡数量增多,内可见较多囊性扩张卵泡,并伴有间质纤维组织增生情况。与模型对照组比较,健脾化痰方干预后大鼠卵巢组织内黄体数量增多,囊性扩张卵泡及闭锁卵泡数量明显减少,颗粒细胞层数增多,未见间质纤维组织增生。详见图 3。

3.4 各组大鼠血清性激素水平的变化

与空白对照组相比,模型对照组大鼠血清中 LH、T、LH/FSH 水平显著升高($P<0.01$),E2 水平显著降低($P<0.01$),大鼠血清性激素紊乱。与模型对照组相比,予以健脾化痰方干预后大鼠血清 LH、T、LH/FSH 水平降低($P<0.01$),E2、FSH 升高($P<0.01$)。详见表 2。

3.5 各组大鼠血清脂代谢及脂联素水平的变化

与空白对照组比较,模型对照组大鼠血清 TC、TG 及 LDL-C 水平显著升高, HDL-C、脂联素水平显著降低($P<0.01$, $P<0.05$)。与模型对照组相比,健脾化痰方及二甲双胍组大鼠血清中 TC、TG 及 LDL-C 的含量显著降低($P<0.01$),血清中脂联素含量升高($P<0.01$, $P<0.05$),可升高 HDL-C 水平,但组间差别无统计学意义($P>0.05$)。详见表 3。

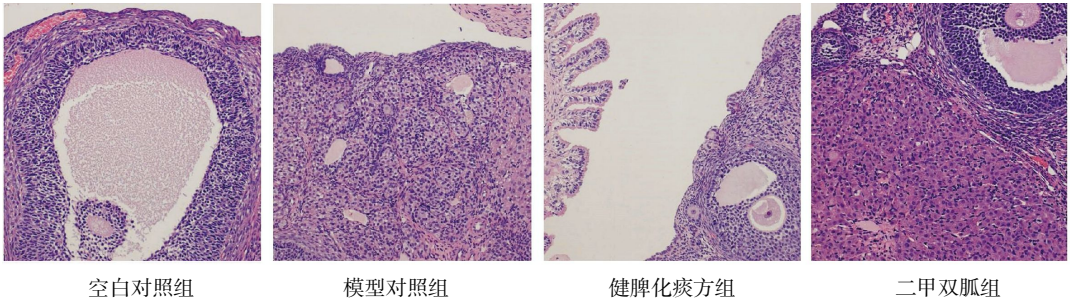


图3 各组大鼠卵巢组织形态的改变(HE,×100)

Fig.3 Morphological changes in ovarian tissues in each group of rats (HE staining, ×100)

表2 各组大鼠血清性激素水平的改变($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 2 Changes in serum levels of sex hormones in each group of rats ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	LH/(mIU/L)	FSH/(IU/L)	LH/FSH	T/(pg/mL)	E2/(pmol/L)
空白对照组	15.92±2.14	8.49±1.00	1.90±0.37	224.90±11.86	40.03±5.97
模型对照组	37.12±4.14**	4.84±0.58**	7.72±0.91**	301.28±14.77**	28.78±5.24**
健脾化痰方组	25.01±4.68 [#]	7.09±1.08 [#]	3.56±0.64 [#]	225.45±26.66 [#]	39.12±4.60 [#]
二甲双胍组	28.36±5.15 [#]	6.09±0.95 [#]	4.79±1.27 [#]	229.55±18.18 [#]	40.33±6.68 [#]

注:与空白对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型对照组比较,[#] $P<0.05$,[#] $P<0.01$ 。

表3 各组大鼠血清脂代谢及脂联素水平的改变($\bar{x}\pm s, n=6, \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)

Table 3 Changes in serum levels of lipid metabolism indicators and adiponectin in each group of rats ($\bar{x}\pm s, n=6, \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)

组别	TG/(mmol/L)	TC/(mmol/L)	HDL-C/(mmol/L)	LDL-C/(mmol/L)	脂联素($\mu\text{g/mL}$)
空白对照组	1.69±0.26	2.71±0.17	1.88±0.39	0.54±0.13	15.91±0.93
模型对照组	2.59±0.42**	3.16±0.44*	1.42±0.27*	0.92±0.09**	10.71±0.98**
健脾化痰方组	1.64±0.28 [#]	2.72±0.23 [#]	1.66±0.16	0.64±0.16 [#]	14.83±1.31 [#]
二甲双胍组	1.82±0.28 [#]	2.73±0.36 [#]	1.53±0.13	0.61±0.09 [#]	15.60±1.52 [#]

注:与空白对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型对照组比较,[#] $P<0.05$,[#] $P<0.01$ 。

3.6 各组大鼠卵巢组织 PPAR α 、PPAR γ 的 mRNA 表达水平的变化

与空白对照组比较,模型对照组 PPAR α 、PPAR γ 的 mRNA 表达下调($P<0.05, P<0.01$);与模型对照组相比,两给药组 PPAR α 、PPAR γ 的 mRNA 表达增加($P<0.05, P<0.01$)。详见图 4。

3.7 各组大鼠卵巢 PPAR α 、PPAR γ 蛋白表达水平的变化

与空白对照组比较,模型对照组 PPAR α 、PPAR γ 蛋白表达水平下调($P<0.05, P<0.01$);与模型对照组相比,两给药组 PPAR α 、PPAR γ 蛋白表达水平增加($P<0.05, P<0.01$)。详见图 5。

4 讨论

PCOS 病程较长,病情复杂,影响卵泡的生长发育而出现稀发排卵;影响子宫内膜发育致使子宫内膜容受性缺陷,出现着床困难,甚至导致不孕或不良妊娠,对女性的生殖、代谢产生严重影响。脾虚痰湿

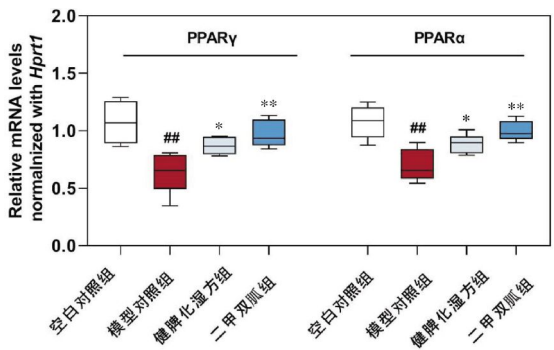


图4 各组大鼠卵巢组织中 PPAR α 、PPAR γ 的 mRNA 表达的改变($\bar{x}\pm s, n=6$)

Fig.4 Changes in the mRNA expressions of PPAR α and PPAR γ in rat ovarian tissues of each group ($\bar{x}\pm s, n=6$)

注:与空白对照组比较,[#] $P<0.05$,[#] $P<0.01$;与模型对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

为临床 PCOS 患者常见证型之一,脾主运化气血津液,若脾虚失运,水湿痰饮阻于经络胞宫,则见月经失调、肥胖、卵巢多囊样改变等。中医通过四诊合参

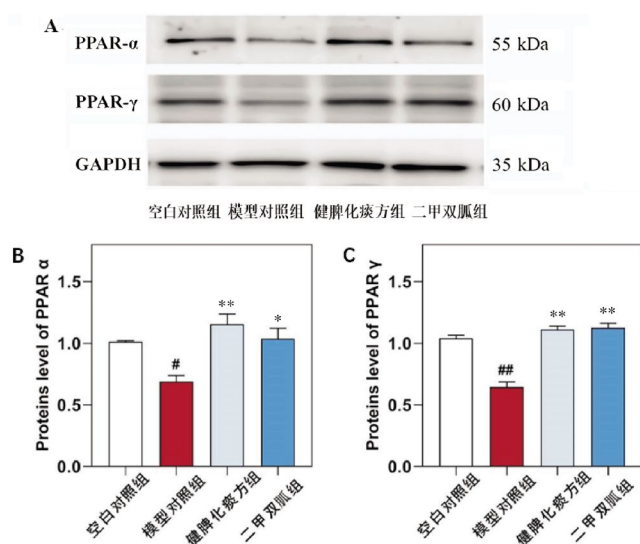


图5 各组大鼠卵巢组织 PPAR α 、PPAR γ 蛋白表达的影响 (n=6)

Fig.5 Effects on PPAR α and PPAR γ protein expressions in rat ovarian tissues of each group (n=6)

注:与空白对照组比较,[#]P<0.05,^{##}P<0.01;与模型对照组比较,^{*}P<0.05,^{**}P<0.01。

辨证论治,多以醒脾祛湿、行气化痰为其治法。

本次实验首先通过来曲唑联合高脂饲料构建 PCOS-IR 大鼠模型,发现大鼠体质量明显增加,血清性激素水平紊乱,卵巢多囊样改变明显,脂代谢紊乱明显,卵巢组织中 PPAR α 、PPAR γ 表达水平显著下降,在用健脾化痰方干预后,PCOS 大鼠体质量增速有所减缓甚至下降,卵泡发育情况见好,血清脂代谢异常改善,改善大鼠性激素紊乱、脂联素降低,提示健脾化痰方可能基于 PPAR α 、PPAR γ 信号通路促进大鼠卵泡生长发育、改善排卵障碍、调节大鼠内分泌水平及改善糖脂代谢紊乱。

尽管 PCOS 病因复杂,目前尚未有明确发病机制,但研究发现 PCOS 发生发展中脂代谢异常和 IR 亦会互相促进,形成恶性循环^[15-16]。过高的胰岛素浓度激活脂肪动员,从而影响低密度脂蛋白代谢、加速高密度脂蛋白清除,造成脂质累积^[17]。临床统计研究发现其常伴随 IR 及高脂血症^[18-19]。葡萄糖-脂肪酸循环假说表明脂代谢紊乱可影响葡萄糖代谢,葡萄糖受损与 IR 状态密不可分。脂代谢紊乱影响葡萄糖代谢,继而出现肥胖、胰岛素抵抗和性激素紊乱等^[20]。PPAR 作为核受体蛋白的家族中的一员,由调节参与葡萄糖和脂质代谢等多种过程的转录因子组成^[21],在机体的新陈代谢、生长发育及体内许多生理过程中扮演重要角色,PPAR 表达异常可能与血脂异常、肥胖、代谢综合征和 2 型糖尿病等疾病相关^[22]。PPAR α 配体是影响脂质合成、分解和代谢的脂肪酸衍生

物^[23]。PPAR α 在肝脂蛋白代谢中起重要作用^[24]。SUN 等^[25]证明通过 PPAR α 可促进脂质分解代谢和胰岛素敏感性,缺乏脂肪酸氧化会增加肝脏脂肪变性和胰岛素抵抗,从而导致脂质积聚。PPAR γ 与脂肪生成、糖脂代谢密不可分,主要在脂肪组织、巨噬细胞和卵巢中表达。PPAR γ 通过调节脂肪组织中脂肪酸的合成和储存及影响胞内胰岛素信号转导,卵巢组织中的 PPAR γ 主要表达于卵泡颗粒细胞中,与卵巢激素合成与代谢、颗粒细胞周期调控密切相关^[26-27],在各级卵泡生长发育中发挥重要作用,影响排卵和卵子质量,从而在代谢与生殖中发挥重要作用。

中医学中并无 PCOS 这一病名,但通过归纳 PCOS-IR 患者的证型、体质可将该病归属于“月经后期”“闭经”“不孕症”范畴。运用中医多思路辨证论治 PCOS-IR 具有一定优势,且中医药治疗该病具有安全、不良反应少且适用性广的优势。前期临床实验发现,脾虚痰湿证在肥胖型 PCOS-IR 患者中尤为常见^[6-7]。清代《傅青主女科》:“妇人素体肥胖,兼恣膏粱厚味,以致痰湿内生,流注冲任胞脉,或因体脂过盛,壅塞胞脉和胞宫而致不孕。”脾虚失健,气血津液代谢失常是肥胖之源泉,也是 PCOS-IR 所致代谢异常之根本原因。“女子以血为用”,中医认为气血是月经的物质基础,气血调和则月经正常。若素体脾虚,或因过食肥甘厚腻,或劳倦思虑过度,耗伤脾气,中州失运,脾胃升降枢纽失常,一则脾胃见化源不足,二则不能运化水湿,聚而成痰化饮,痰湿作为病理产物,又可成为继发性病理因素。痰浊浸渍四肢、肌肉,表现为肥胖等症;痰湿阻滞,经络壅塞,冲任受损,则胞宫失职,以致月经逾期不至、月经过少,甚则不孕等症;痰湿与气血互结为秽浊之物壅滞于胞宫,胞宫气血运行不畅日久则发为癥积,故卵巢呈多囊样改变。故 PCOS-IR 患者的治疗以健脾化痰为宗旨,治痰当先复脾之健运,而痰可自化。健脾化痰方为杨正望临床有效经验方,可有效改善患者肥胖、排卵障碍、月经失调、不孕等症状、提高妊娠率^[4-5],有健脾化痰除湿、行气理血调经之效。现代药理研究表明,健脾化痰方中茯苓具有降血糖,增强胰岛素敏感性的作用^[28],黄芪则可双向调节血糖、调控血脂^[29],半夏、陈皮可降血脂、抗糖尿病、改善胰岛素抵抗^[30-31],柴胡具有抑制脂肪酸合成的功效^[32],枳壳、当归、川芎可调控血脂水平^[33-35]。

综上所述,本实验基于 PCOS 与 IR 的重要关联,以来曲唑联合高脂饲料构建的 PCOS-IR 大鼠为模型,探讨健脾化痰方对 PCOS-IR 大鼠的内分泌、卵巢形态学及糖脂代谢的作用机制,推测健脾化痰

方可通过激活 PPAR α 、PPAR γ 信号通路调控脂代谢,改善胰岛素抵抗,为临床治疗提供实验依据。

参考文献

- [1] BAHRI KHOMAMI M, TEEDE H J, JOHAM A E, et al. Clinical management of pregnancy in women with polycystic ovary syndrome: An expert opinion[J]. *Clinical Endocrinology*, 2022, 97(2): 227–236.
- [2] MOGHETTI P. Insulin resistance and polycystic ovary syndrome[J]. *Current Pharmaceutical Design*, 2016, 22(36): 5526–5534.
- [3] WANDERLEY M D S, PEREIRA L C R, SANTOS C B, et al. Association between insulin resistance and cardiovascular risk factors in polycystic ovary syndrome patients[J]. *Revista Brasileira De Ginecologia e Obstetricia: Revista Da Federacao Brasileira Das Sociedades De Ginecologia e Obstetricia*, 2018, 40(4): 188–195.
- [4] HERMAN R, SIKONJA J, JENSTERLE M, et al. Insulin metabolism in polycystic ovary syndrome: Secretion, signaling, and clearance[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(4): 3140.
- [5] YILDIZHAN B, ANIK ILHAN G, PEKIN T. The impact of insulin resistance on clinical, hormonal and metabolic parameters in lean women with polycystic ovary syndrome[J]. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 2016, 36(7): 893–896.
- [6] 周彤艺, 杨正望, 周芳, 等. 健脾化痰方结合二甲双胍治疗脾虚痰湿证多囊卵巢综合征合并胰岛素抵抗的临床研究[J]. *中医药导报*, 2021, 27(11): 95–99.
- [7] 林安盈, 杨璐瑜, 孔倩, 等. 健脾化痰方通过 PI3K/AKT/mTOR 和 PI3K/AKT/GLUT4 通路干预 PCOS-IR 大鼠的作用机制研究[J]. *时珍国医国药*, 2023, 34(10): 2362–2365.
- [8] 丛培玮, 张丽娜, 赵丹玉, 等. 二陈汤通过增强自噬改善痰湿型 PCOS 大鼠子宫葡萄糖转运功能的研究[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2021, 27(8): 1270–1274.
- [9] 蔡云, 许昕. 来曲唑联合高脂饲料建立 PCOS-IR 大鼠模型实验研究[J]. *首都医科大学学报*, 2017, 38(2): 244–248.
- [10] 徐海燕, 杜青, 徐琳本, 等. 两种肥胖型多囊卵巢综合征伴胰岛素抵抗大鼠模型的构建及评价[J]. *中国实验动物学报*, 2021, 29(5): 644–650.
- [11] 徐叔云, 卞如镰, 陈修. 药理实验方法学[M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 1861.
- [12] 贺石林, 王健, 王净净. 中医科研设计与统计学[M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 2007: 48–49.
- [13] 吴蓓, 申梦园, 陈鸿平, 等. 基于代谢组学的广陈皮治疗脾虚痰湿证大鼠模型的研究[J]. *中国中药杂志*, 2022, 47(15): 4136–4147.
- [14] 游翕, 张林, 姚俊鹏, 等. 肥胖中医证候动物模型研究进展[J]. *世界科学技术: 中医药现代化*, 2022, 24(9): 3332–3338.
- [15] 潘雪. 多囊卵巢综合征与心理应激相关性及补肾解郁调冲法干预的实验研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2020.
- [16] ALEBIĆ M Š, BULUM T, STOJANOVIĆ N, et al. Definition of insulin resistance using the homeostasis model assessment (HOMA-IR) in IVF patients diagnosed with polycystic ovary syndrome (PCOS) according to the rotterdam criteria[J]. *Endocrine*, 20149(2), 47: 625–630.
- [17] 郭胜男, 刘弘毅, 吴深涛. “化浊解毒方”对二噁英暴露 2 型糖尿病大鼠脂代谢及胰岛素抵抗的影响[J]. *江苏中医药*, 2020, 52(6): 83–86.
- [18] 杨璐瑜, 林安盈, 杨正望, 等. 健脾化痰方通过调控 FOXO1/PDK4 信号通路干预 PCOS-IR 大鼠脂代谢的作用机制研究[J]. *中国实验动物学报*, 2024, 32(4): 451–460.
- [19] 中国医师协会内分泌代谢科医师分会. 多囊卵巢综合征诊治内分泌专家共识[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2018, 34(1): 1–7.
- [20] PICARD F, KURTEV M, CHUNG N, et al. Sirt1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPAR- γ [J]. *Nature*, 2004, 429(6993): 771–776.
- [21] TANG Q Q, LU M J, XU B, et al. Electroacupuncture regulates inguinal white adipose tissue browning by promoting sirtuin-1-dependent PPAR γ deacetylation and mitochondrial biogenesis[J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2020, 11: 607113.
- [22] YOUSEFNIA S, MOMENZADEH S, SEYED FOROOTAN F, et al. The influence of peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) ligands on cancer cell tumorigenicity[J]. *Gene*, 2018, 649: 14–22.
- [23] POLVANI S, TAROCCHI M, TEMPESTI S, et al. Peroxisome proliferator activated receptors at the crossroad of obesity, diabetes, and pancreatic cancer[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2016, 22(8): 2441–2459.
- [24] SINHA R A, RAJAK S, SINGH B K, et al. Hepatic lipid catabolism via PPAR α -lysosomal crosstalk[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(7): 2391.
- [25] SUN N N, SHEN C P, ZHANG L, et al. Hepatic Krüppel-like factor 16 (KLF16) targets PPAR α to improve steatohepatitis and insulin resistance[J]. *Gut*, 2021, 70(11): 2183–2195.
- [26] DEROSA G, SAHEBKAR A, MAFFIOLI P. The role of various peroxisome proliferator-activated receptors and their ligands in clinical practice[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2018, 233(1): 153–161.
- [27] ANGELA M, ENDO Y, ASOU H K, et al. Fatty acid metabolic reprogramming via mTOR-mediated inductions of PPAR γ directs early activation of T cells[J]. *Nature Communications*, 2016, 7: 13683.
- [28] FU X P, XU L, FU B B, et al. Pachymic acid protects oocyte by improving the ovarian microenvironment in polycystic ovary syndrome mice[J]. *Biology of Reproduction*, 2020, 103(5): 1085–1098.
- [29] 张梅霞, 刘海龙, 王瑞琼, 等. 黄芪化学成分和药理作用及 Q-marker 预测分析[J]. *中国新药杂志*, 2023, 32(4): 410–419.
- [30] 杨丽, 周易, 王晓明, 等. 炮制对半夏化学成分及药理作用研究进展[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2022, 24(2): 49–53.
- [31] RIVOIRA M A, RODRIGUEZ V, TALAMONI G, et al. New perspectives in the pharmacological potential of naringin in medicine[J]. *Curr Med Chem*, 2021, 28(10): 1987–2007.
- [32] 李力恒, 陈丽萍, 胡晓阳, 等. 柴胡的化学成分及药理作用研究进展[J]. *中医药学报*, 2023, 51(2): 109–112.
- [33] 王慧, 钟国跃, 张寿文, 等. 枳壳化学成分、药理作用的研究进展及其质量标志物的预测分析[J]. *中华中医药学刊*, 2022, 40(9): 184–192.
- [34] 李伟霞, 泥文娟, 王晓艳, 等. 当归化学成分、药理作用及其质量标志物(Q-marker)的预测分析[J]. *中华中医药学刊*, 2022, 40(6): 40–47.
- [35] 周知, 涂志华, 黎业娟, 等. 川芎嗪对多囊卵巢综合征大鼠卵巢功能及 PPAR- γ /NF- κ B 通路的影响[J]. *中成药*, 2023, 45(1): 251–254.