

◆实验研究论著◆

补肾化痰方对多囊卵巢综合征伴胰岛素抵抗大鼠激素水平及血糖的影响

潘文, 李明明, 王晓萍

甘肃省中医药研究院, 甘肃 兰州 730050

[摘要] 目的: 研究补肾化痰方加减对多囊卵巢综合征(PCOS)伴胰岛素抵抗(IR)大鼠性激素水平及血糖、胰岛素的影响。方法: 雌性SD大鼠随机分成6组, 每组大鼠20只。采用芳香化酶抑制剂-来曲唑诱导建立PCOS伴IR大鼠病理模型; 模型组: 予1 mL/100 g生理盐水灌胃; 中药高剂量组: 造模结束后给予补肾化痰方2.2 g/mL中药煎剂1 mL/100 g灌胃; 中药中剂量组: 造模结束后给予补肾化痰方1.1 g/mL中药煎剂1 mL/100 g灌胃; 中药低剂量组给予补肾化痰方0.55 g/mL中药煎剂1 mL/100 g灌胃; 二甲双胍组: 造模结束后, 给予16 mg/mL二甲双胍溶液1 mL/100 g灌胃。空白对照组: 未造模大鼠予1 mL/100 g生理盐水灌胃。38天后光镜观察卵巢大体形态变化, 卵泡发育情况, 测定血清卵泡刺激素(FSH)、雄激素(T)、雌二醇(E₂)、促黄体生成素(LH)水平、空腹血糖(FPG)、空腹胰岛素(FINS)及性激素结合球蛋白(SHBG), 并计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)。结果: 中药中剂量组能显著降低大鼠血清中T、LH及E₂水平, 增加SHBG水平(P<0.05)。结论: 补肾化痰方对芳香化酶抑制剂-来曲唑建立的PCOS伴IR大鼠有一定的治疗作用, 可改善激素水平及血糖、胰岛素的异常。

[关键词] 多囊卵巢综合征(PCOS); 胰岛素抵抗(IR); 补肾化痰方; 激素水平

[中图分类号] R711.75 [文献标志码] A [文章编号] 0256-7415(2015)12-0222-03

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2015.12.100

多囊卵巢综合征(Polycystic ovarian syndrome, PCOS)是育龄期妇女最常见的生殖功能障碍及糖脂代谢异常并存的内分泌紊乱综合征, 在无排卵女性不孕中占70%, 在育龄期女性中患病率为5%~10%^[1]。目前尚无治疗该综合征的特效药。肾虚血瘀是PCOS发病的基本病机, PCOS患者多见肾虚血瘀证, 补肾祛瘀方为临床经验方, 使用补肾活血方治疗疗效确切^[2]。本实验通过研究补肾化痰方对PCOS伴胰岛素抵抗(IR)激素水平及血糖、胰岛素的影响, 评估和验证补肾化痰方对PCOS伴IR的治疗作用, 深入探讨其作用机理。

1 材料与方法

1.1 动物分组及处理 动物: 6周龄SD清洁级雌性大鼠120只(平均体重为180g), 由甘肃中医学院动物实验中心提供, 批号: SCXK(甘)2000-0001-62001000000012。PCOS大鼠模型的建立: 使用芳香化酶抑制剂-来曲唑建立PCOS病理模型, 于大鼠6周龄时每天灌胃服用来曲唑1 mg/kg剂量, 溶于1%羧甲基纤维素(CMC)中, 连续定时灌服24天, 每天用

显微镜观察阴道涂片。造模成功后将大鼠随机分成5组, 每组大鼠20只。模型组: 予1 mL/100 g生理盐水灌胃; 中药高剂量组: 造模结束后给予补肾祛瘀方2.2 g/mL中药煎剂1 mL/100 g灌胃; 中药中剂量组: 造模结束后给予补肾祛瘀方1.1 g/mL中药煎剂1 mL/100 g灌胃; 中药低剂量组给予补肾祛瘀方0.55 g/mL中药煎剂1 mL/100 g灌胃; 二甲双胍组: 造模结束后, 给予16 mg/mL二甲双胍溶液1 mL/100 g灌胃。空白对照组: 未造模同龄大鼠予1 mL/100 g生理盐水灌胃。38天后在最后1次用药24 h、并禁食12 h后血糖仪测定空腹血糖(FPG)水平, 操作按说明书要求进行。后于腹腔注入0.24 mol/L水合氯醛(400 mg/kg)麻醉后取腹主动脉血, 取血后用生理盐水冲洗卵巢至渗液清亮, 摘取双侧卵巢, 在解剖显微镜下去除卵巢表面的脂肪组织, 观察卵巢大体解剖情况并分别测量双侧卵巢的长、宽、高, 称双侧卵巢质量, 用40 g/L多聚甲醛固定, 常规石蜡包埋。血液标本经3000 r/min离心10 min后, 收集血清, -20℃保存, 酶联免疫法测定血清卵泡刺激素

[收稿日期] 2015-05-11

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81360604); 甘肃省技术与开发专项计划项目(1305TCYA029)

[作者简介] 潘文(1963-), 女, 硕士研究生导师, 主任医师, 研究方向: 不孕症的中西医结合治疗。

(FSH)、雄激素(T)、雌二醇(E₂)、促黄体生成素(LH)水平、空腹胰岛素(FINS)及性激素结合球蛋白(SHBG), 计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)=FPG×FINS/22.5。

1.2 药品与试剂 来曲唑: 大连美仑生物技术有限公司生产, 批号: M B 1137。临用时用 1% 羧甲基纤维素溶液配成所需浓度, 羧甲基纤维素钠: 北京生物试剂公司生产, 批号: Sigm aC4888; 补肾祛瘀方由女贞子、墨旱莲、山茱萸、菟丝子、赤芍、川芎、丹参、红花、桃仁等中药组成, 由甘肃省中医院制剂室按比例制备, 配成高、中、低 3 种剂量。FSH、T、E₂、LH、FINS 及 SHBG 测定试剂盒, 均购自上海丰翔生物技术有限公司, 批号为: 20140425; FPG 检测使用 ACCU-CHEK Active 血糖仪, 购自德国 Roche Diagnostics GmbH 公司。

1.3 仪器 BS-124S 型电子分析天平(赛多利斯科学仪器北京有限公司)、EPOCH 酶标仪(基因有限公司)。

1.4 统计学方法 采用统计分析软件进行单因素方差分析检验, 数据以($\bar{x} \pm s$)表示。

2 结果

2.1 光镜结果 见图 1、图 2。空白对照组大鼠局部形态正常, 有发育成熟的卵泡, 颗粒细胞呈多层, 形态完整, 排列整齐, 卵泡膜细胞呈梭形排列, 泡膜细胞及间质细胞无明显增生现象; 模型组见卵泡囊性扩张, 少量的生长卵泡黄体、颗粒细胞层数减少, 仅为 2~3 层, 排列疏松, 泡膜细胞层增生。中药中剂量组和中药低剂量组镜下见颗粒细胞层数增加, 约为 5~6 层, 形态完整, 排列整齐, 卵泡膜细胞呈梭形排列, 泡膜细胞层变薄, 黄体组织数量较模型组增多, 扩张卵泡较模型组明显减少; 中药高剂量组及二甲双胍组镜下见囊性卵泡数量及闭锁卵泡均有不同程度的减少, 黄体增多。

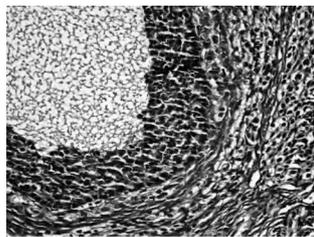
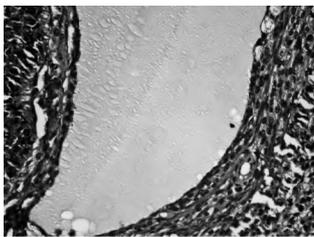


图 1 模型组光镜结果 (×400)

图 2 中药中剂量组光镜结果 (×400)

2.2 各组大鼠性激素变化比较 见表 1。模型组 PCOS 大鼠 LH、FSH、E₂ 及 T 均显著高于空白对照组(P<0.05), SHBG 水平则降低; 二甲双胍组能明显改善 LH、FSH 及 T 水平(P<0.05), 但对 E₂ 及 SHBG 无明显改善(P>0.05); 中药高剂量组对 FSH、T 及 SHBG 有改善(P<0.05); 中药中剂量组及中药低剂量组均能显著改善 PCOS 大鼠的 LH、FSH 及 E₂ 水平(P<0.05), 中药中剂量组还对 SHBG 有改善, 但对 T 无改善, 中药低剂量组则相反; 总之, 以中药中剂量组及中药低剂量组对

PCOS 大鼠激素水平的改变最为明显。

表 1 各组大鼠血清性激素变化比较($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	LH(mIU/mL)	FSH(mIU/mL)	E ₂ (pg/mL)	T(ng/dL)	SHBG(nmol/L)
空白对照组	19	10.95±2.29 ^①	4.16±1.14 ^①	20.69±1.57 ^①	4.49±1.16 ^①	54.86±6.75 ^①
模型组	20	20.43±5.32	6.43±2.73	27.19±8.39	9.46±2.82	43.27±6.98
二甲双胍组	19	16.32±4.06 ^①	4.89±1.85 ^{①②}	24.05±6.26 ^②	6.87±1.89 ^①	47.80±7.23 ^②
中药高剂量组	20	16.82±5.28	4.84±1.92 ^{①②}	22.53±5.93 ^②	6.97±2.52 ^①	52.71±11.91 ^{①②}
中药中剂量组	20	15.72±6.02 ^①	4.62±1.92 ^{①②}	20.14±3.76 ^{①②}	8.36±2.28 ^②	51.63±12.02 ^{①②}
中药低剂量组	20	14.57±5.09 ^{①②}	4.97±1.94 ^{①②}	21.83±5.55 ^{①②}	6.42±2.23 ^②	49.69±11.72 ^②

与模型组比较, ①P<0.05; 与空白对照组比较, ②P<0.05

2.3 各组大鼠 FPG、FINS 及 HOMA-IR 变化比较 见表 2。模型组 FPG、FINS 及 HOMA-IR 均分别显著高于空白对照组(P<0.05); 二甲双胍组及中药高剂量组均能明显改善 PCOS 伴 IR 大鼠的 FPG(P<0.05), 但对 FINS 及 HOMA-IR 无明显改善(P>0.05); 中药中剂量组及中药低剂量组均能显著改善 PCOS 伴 IR 大鼠的 FPG、FINS 及 HOMA-IR 水平(P<0.05), 以中药中剂量组最为明显。

表 2 各组大鼠 FPG、FINS 及 HOMA-IR 变化比较($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	FPG(mmol/L)	FINS(μU/mL)	HOMA-IR
空白对照组	19	4.78±0.36 ^①	16.93±4.11 ^①	3.56±0.79 ^①
模型组	20	5.65±0.37	23.83±5.80	5.74±1.00
二甲双胍组	19	5.23±0.49 ^①	26.35±7.24	5.54±1.03
中药高剂量组	20	5.21±0.54 ^①	24.18±4.96	5.60±1.34
中药中剂量组	20	5.08±0.47 ^{①②}	19.64±3.58 ^{①②}	4.26±0.56 ^{①②}
中药低剂量组	20	5.16±0.52 ^{①②}	21.61±5.93 ^{①②}	4.50±0.94 ^①

与模型组比较, ①P<0.05; 与空白对照组比较, ②P<0.05

3 讨论

PCOS 的典型临床特征为持续性无排卵和高雄激素血症。而 IR 或高胰岛素血症导致的高雄激素血症为 PCOS 患者卵巢功能异常的主要发病机制之一^[1]。IR 和代偿性高胰岛素血症已被认为是 PCOS 患者糖代谢异常及生殖功能障碍的病理基础, 改善 IR 有利于卵泡的发育和排卵功能的恢复, 这不仅为 PCOS 伴 IR 患者的治疗提供理论依据, 也为 PCOS 的治疗开辟了新的领域^[4]。

补肾化瘀方由女贞子、墨旱莲、山茱萸、菟丝子、赤芍、川芎、丹参、红花、桃仁等药物组成, 不仅可以促进卵泡发育成熟及排出, 而且可逆转卵巢的多囊样改变。方中二至丸补益肝肾, 滋阴止血祛瘀; 菟丝子的主要有效成分菟丝子黄酮, 具有雌激素样作用, 可促进下丘脑-垂体-性腺轴功能, 提高垂体对促性腺激素释放激素的反应性, 促进卵泡发育, 提高应激 E₂、黄体酮的水平, 同时亦能提高垂体 LH 以及下丘脑 β-

内啡肽的水平；茺菀水提物、醇提物皆有不同程度降血糖作用，升高进食后胰岛素水平；川芎可抗血小板聚集、扩张小动脉、改善微循环；桃仁中含苦杏仁苷及挥发油，对子宫平滑肌有兴奋作用，可使其收缩力加强，二者调节卵巢酶系统作用于卵巢包膜，通过活血化瘀作用，使增大的卵巢恢复正常，还有降低血脂作用；赤芍能扩张冠状动脉、增加冠脉血流量；赤芍与甘草配伍应用，可使 SHBG 合成增加，使游离睾酮减少，致血睾酮活性降低。补肾中药被认为具有类激素样作用，可对女性性腺轴双向调节；补肾基础上加活血药物又能改善卵巢局部的血液循环，增加卵巢血流量，从而促进卵泡发育、诱发排卵及促黄体形成。本研究结果显示，补肾化痰方能使 PCOS 大鼠 T、LH、INS 明显下降，SHBG 升高，与前研究一致，且该方可以使 PCOS 大鼠的卵巢黄体组织数量增加，卵巢颗粒细胞层增厚，卵泡膜细胞变薄，减少囊状卵泡量，改善 PCOS 大鼠的卵巢形态学异常，从而调整其激素水平^[6]。本研究提示补肾化痰方对 PCOS 伴 IR 有一定的治疗作用，为补肾祛瘀方治疗 PCOS 伴 IR 提供一定的科学依据，但其确切的机理仍待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 彭敏, 郑少珍, 陈燕桢. 妈富隆联合罗格列酮治疗多囊卵巢综合征伴不孕的临床疗效观察[J]. 中国实用医刊, 2012, 39(12): 24-26.
- [2] 马晓玲. 补肾化痰调周法治疗高原地区多囊卵巢综合征 120 例疗效观察[J]. 中国药房, 2010, 24(3): 12-14.
- [3] Diamanti-Kandarakis E, Xyrafis X, Boutzios G, et al. Pancreatic beta cells dysfunction in polycystic ovary syndrome [J]. Panminerva Med, 2008, 50(4): 315-325.
- [4] Christopoulos P, Mastorakos G, Gazouli M, et al. Genetic variants in TCF7L2 and KCNJ11 genes in a Greek population with polycystic ovary Syndrome [J]. GynecolEndocrinol, 2008, 24(9): 486-490.
- [5] 杨正望, 张曾玲, 文炯. 补肾化痰方对 PCOS 大鼠卵巢颗粒细胞 FSHR、LHR 蛋白表达的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2009, 29(2): 17-19.

(责任编辑: 骆欢欢)

槐耳颗粒对乳腺癌动物模型 Ki67、p53、CerbB-2 蛋白表达的影响

周大为

杭州市中医院病理科, 浙江 杭州 310007

[摘要] 目的: 探讨槐耳颗粒对乳腺癌动物模型 Ki67、p53、CerbB-2 蛋白表达的影响。方法: 通过接种 MCF-7、ER⁺PR⁺乳腺癌细胞系构建乳腺癌裸鼠模型 40 只, 随机分为空白对照组 (安慰剂, 10 只)、槐耳颗粒组 (30 只), 肿瘤 0.5~1.0 cm 后开始给药, 均干预 21 天, 用药期间间隔 2 天测量肿瘤体积 1 次。处死裸鼠通过免疫组化方法测定 Ki67、p53、CerbB-2 等蛋白表达。结果: 槐耳颗粒组给药 7 天、14 天、21 天 PR、Ki67、p53、CerbB-2 蛋白表达明显低于空白对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论: 槐耳颗粒能明显降低 Ki67、p53、CerbB-2 蛋白表达, 对乳腺癌肿瘤生长有一定的抑制作用。

[关键词] 乳腺癌; 槐耳颗粒; 动物模型; 蛋白表达

[中图分类号] R737.9 [文献标志码] A [文章编号] 0256-7415(2015)12-0224-03

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2015.12.101

研究证明, Ki67、p53、CerbB-2 蛋白参与肿瘤生长、增殖、分化、转移, 为此可将上述蛋白表达作为乳腺癌发生、发展评估的重要指标^[1]。槐耳颗粒从槐耳菌质中提取, 不仅可直接抗肿瘤, 而且能增强机体免疫能力。目前, 临床关于 Ki67

等蛋白在恶性肿瘤中表达、槐耳颗粒治疗乳腺癌效果研究较多, 但关于槐耳颗粒对乳腺癌 Ki67、p53、CerbB-2 等蛋白表达影响研究甚少。基于此, 本研究通过动物模型对照实验分析槐耳颗粒对 Ki67、p53、CerbB-2 蛋白表达的影响, 以为槐耳

[收稿日期] 2015-08-12

[作者简介] 周大为 (1973-), 男, 主管技师, 研究方向: 病理学。