

## 小檗碱改善多囊卵巢综合征大鼠卵巢功能及其机制

姚琳琳, 杨丽, 王华莉

作者单位: 平煤神马医疗集团总医院生殖医学科, 河南 平顶山 467000

通信作者: 王华莉, 女, 主任医师, 研究方向为妇产科临床医学, E-mail: 1263527708@qq.com

**摘要:**目的 研究小檗碱对多囊卵巢综合征大鼠模型血清胰岛素水平及卵巢组织中胰岛素受体(IR)表达影响。方法 构建多囊卵巢综合征大鼠模型, SD大鼠分为: 正常组、模型组、小檗碱组(终浓度为200 mg/kg的小檗碱灌胃)、二甲双胍组(终浓度为170 mg/kg的二甲双胍灌胃), 每组20只。测定大鼠体质量和卵巢、子宫质量, HE染色法测定卵巢组织中成熟卵泡及黄体数, 酶联免疫吸附法(ELISA)测定血清中黄体生成素(LH)、促卵泡生成素(FSH)、睾酮、瘦素(Leptin)、胰岛素水平, qPCR测定卵巢组织中胰岛素样生长因子I(IGF-I)、瘦素、胰岛素样生长因子I受体(IGF-IR)、IR mRNA相对表达量水平。结果 模型组多囊卵巢综合征大鼠体质量和卵巢质量明显升高, 成熟卵泡数明显降低, 子宫质量和黄体数减少, 同时血清中LH、FSH、睾酮、瘦素水平升高, 胰岛素水平( $4\ 569.81 \pm 528.96$ ) pg/mL也升高, 卵巢组织中IGF-I、瘦素、IGF-IR升高, IR mRNA相对表达量( $1.95 \pm 0.12$ )水平升高, 与正常组大鼠相比, 均差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。小檗碱组灌胃以后, 大鼠体质量和卵巢质量明显降低, 成熟卵泡数明显升高, 子宫质量和黄体数增多, 同时血清中LH、FSH、睾酮、瘦素水平降低, 胰岛素水平[ $(2\ 741.21 \pm 247.68)$  pg/mL]也降低, 卵巢组织中IGF-I、瘦素、IGF-IR、IR mRNA相对表达量( $1.62 \pm 0.10$ )水平降低, 与模型组大鼠相比, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 与二甲双胍组差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论 小檗碱可以改善多囊卵巢综合征大鼠激素分泌, 调节胰岛素水平, 促进排卵, 改善卵巢功能。

**关键词:** 小檗碱; 多囊卵巢综合征; 睾酮; 黄体激素类; 瘦素; 促性腺素类; 胰岛素

## Preliminary study on berberine improving ovarian function and mechanism in rats with polycystic ovary syndrome

YAO Linlin, YANG Li, WANG Huali

Author Affiliation: Department of Reproductive Medicine, Pingmei Shenma Medical Group General Hospital, Pingdingshan, Henan 467000, China

**Abstract: Objective** To explore the effect of berberine on serum insulin level and the expression of insulin receptor (IR) in the ovarian tissue of the rat model with polycystic ovary syndrome. **Methods** A rat model of polycystic ovary syndrome was constructed. SD rats were assigned into normal group, model group, berberine group (intragastric administration of berberine at a final concentration of 200 mg/kg), metformin group (intragastric administration of metformin at a final concentration of 170 mg/kg), with 20 rats in each group. The body mass and quality of ovary and uterus was measured. The number of mature follicles and corpus luteum in ovarian tissue was determined by HE staining. Serum luteinizing hormone (LH), follicle stimulating hormone (FSH), testosterone, leptin (Leptin), insulin levels were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The relative expression level of insulin-like growth factor I (IGF-I), leptin, insulin-like growth factor I receptor (IGF-IR) and IR mRNA in ovarian tissue was determined by qPCR. **Results** In the model group, the body mass and ovarian quality of the rats with polycystic ovary syndrome were significantly increased, the number of mature follicles was significantly decreased, and the uterus mass and the number of corpus luteum were decreased. The levels of serum LH, FSH, testosterone and leptin were elevated, and the insulin level was also increased to ( $4\ 569.81 \pm 528.96$ ) pg/mL. The levels of IGF-I, leptin, IGF-IR, IR mRNA relative expression [ $(1.95 \pm 0.12)$ ] were increased; compared with the normal group, the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). After berberine was administered, in the berberine group, the body mass and ovarian quality of the rats were significantly decreased, the number of mature follicles was significantly increased, the uterus quality and the number of corpus luteum increased. Meanwhile the levels of serum LH, FSH, testosterone and leptin were decreased, and insulin level was also decreased to ( $2\ 741.21 \pm 247.68$ ) pg/mL. The expressions of IGF-I, leptin, IGF-IR and IR mRNA relative expression [ $(1.62 \pm 0.10)$ ] in ovarian tissue were decreased; compared with the model group, the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). Compared with the metformin group, the difference was not statistically significant ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** Berberine can improve the level of hormone, regulate insulin level, promote ovulation, and improve the function of the ovary in rats with polycystic ovary syndrome.

**Key words:** Berberine; Polycystic ovary syndrome; Testosterone; Corpus luteum hormones; Leptin; Gonadotropins; Insulin

多囊卵巢综合征以月经紊乱、排卵障碍、肥胖、不孕等为主要特征,是一种常见的导致女性不孕的综合征之一,其发病率在育龄妇女中约为10%,严重者还可以引起糖尿病、子宫内膜癌、高血压等疾病的发生<sup>[1-2]</sup>。多囊卵巢综合征的发生与雄激素、胰岛素过量分泌等有关,以胰岛素抵抗、肾上腺内分泌功能异常为主要特征<sup>[3]</sup>。小檗碱是分离自黄连中的一种生物碱,又称为黄连素,广泛存在于植物中,其具有抗肿瘤、抗肺结核、消炎等功效<sup>[4]</sup>。研究显示,小檗碱对于多囊卵巢综合征具有一定的治疗效果<sup>[5]</sup>。本实验于2017年3—6月通过构建多囊卵巢综合征大鼠模型,用小檗碱灌胃处理,探讨小檗碱对多囊卵巢综合征大鼠模型胰岛素水平及卵巢功能中的作用,为小檗碱治疗多囊卵巢综合征提供理论基础。

## 1 材料与与方法

**1.1 主要材料** SD雌性大鼠80只,体质量范围为48~58 g,23日龄,购于郑州大学动物实验室(医学实验动物使用许可证号:SCXK(豫)2017-0008,合格证号:豫检证字第2017A023号);胰岛素含量测定试剂盒购自美国Thermo Fisher公司;瘦素(Leptin)含量测定试剂盒购于上海纪宁实业有限公司;黄体生成素(luteinizing hormone, LH)含量测定试剂盒购于瑞士ALEXIS公司;促卵泡生成素(follicle-stimulating hormone, FSH)含量测定试剂盒购于江苏菲亚生物科技有限公司;睾酮(testosterone)含量测定试剂盒购于武汉艾美捷科技有限公司;胰岛素样生长因子1(insulin-like growth factor-1, IGF-1)、瘦素、胰岛素样生长因子1受体(insulin-like growth factor-1R, IGF-1R)、胰岛素受体(insulin receptor, IR)引物均由上海生工生物工程股份有限公司合成;实时荧光定量多聚核苷酸链式反应(Quantitative Real-time PCR, qPCR)试剂盒购自大连宝生物工程有限公司。

**1.2 多囊卵巢综合征大鼠模型构建及分组处理**按照随机数字表法取SD雌性大鼠构建多囊卵巢综合征大鼠模型构建方法参照文献[6],以脱氢表雄酮构建,简述如下。

大鼠在实验前适应性饲养1周,饲养温度为18~23℃,湿度40%~50%,自由饮水和饮食,12 h昼夜交替。在大鼠的颈背部的皮下注射0.06 mg/g的脱氢表雄酮和0.2 mL的甘油(在实验前充分混合),连续注射20 d。SD大鼠分为:正常组、模型组、小檗碱组、二甲双胍组,每组20只。模型组、小檗碱组、二甲双胍组大鼠进行多囊卵巢综合征大鼠模型构建,正常组注射等量的甘油。同时小檗碱组用小檗碱浓度为200 mg/kg进行灌胃处理,每

天1次,连续灌胃21 d。二甲双胍组用二甲双胍浓度为170 mg/kg进行灌胃处理,每天1次,连续灌胃21 d。模型组和正常组用等量的生理盐水灌胃。

本研究符合一般动物实验伦理学原则。

**1.3 标本采集** 分别在最后一次给药后1 h,测定大鼠的体质量。用10%的水合氯醛麻醉各组大鼠,按照100 g体质量0.3 mL剂量麻醉,以腹主动脉穿刺法采集全血,在室温中静置约60 min后,1 500 g离心10 min,收集上清液,保存于-80℃。同时收集卵巢组织及子宫组织,测定卵巢组织及子宫组织的质量。

**1.4 成熟卵泡数目和黄体数目统计** 取卵巢组织,切成4 μm厚的组织切片,进行苏木精-伊红(HE)染色。用二甲苯常规脱蜡以后用浓度梯度乙醇水化,置于苏木素中染色10 min后,用自来水洗涤,以1%的盐酸乙醇分化2 s,自来水冲洗以后,氨水洗2 s,将浮色洗去,伊红染色液染色2 min,放在无水乙醇中孵育2 s,常规方法透明,中兴树脂封片。再按照随机数字表法选取5个切片,在显微镜下计数成熟卵泡数目和黄体数。成熟卵泡:卵丘明显,卵泡腔很大,卵泡内膜细胞紧靠卵泡颗粒层,与颗粒层之间有一层基膜相隔,胞质清亮,胞核圆形,细胞间有很多毛细血管,外膜细胞位于外层,与周围结缔组织界限不明显。黄体:近似于球体,排卵后残留的卵泡壁塌陷,卵泡膜结缔组织、毛细血管伸入到颗粒层,体积较大。

**1.5 血清中LH、FSH、睾酮、瘦素、胰岛素水平检测**取各组大鼠血清,用酶联免疫吸附法(ELISA)测定血清中LH、FSH、睾酮、瘦素、胰岛素水平,步骤参照试剂盒说明书。

**1.6 qPCR测定卵巢组织中IGF-1、瘦素、IGF-1R、IR表达** 取各组大鼠卵巢组织,按照每100 mg组织中添加2 mL的Trizol试剂提取组织中的总RNA, RNA溶解于DEPC水中,测定OD260/OD280的比值在1.8~2.0之间。取RNA,逆转录合成cDNA,参数为:37℃,40 min;70℃,10 min。取cDNA,进行qPCR,用β-肌动蛋白(β-actin)为内参,计算各组IGF-1、瘦素、IGF-1R、IR mRNA相对表达量。引物序列见表1。

**1.7 统计学方法** 实验数据用SPSS 21.0软件分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间均数比较采用单因素方差分析,多组之间两两比较采用SNK-*q*检验的方法,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 小檗碱对多囊卵巢综合征大鼠模型体质量、卵巢质量、子宫质量、成熟卵泡数、黄体数影响** 模型组多囊卵巢综合征大鼠较正常组体质量和卵巢质

**表1** 瘦素、IGF-I、 $\beta$ -actin、IGF-IR、IR引物序列

| 引物名称           | 引物序列                             | 片段长度/bp |
|----------------|----------------------------------|---------|
| 瘦素             | F 5'-GAGTCCCAACAATACTTCGTCTT-3'  | 370     |
|                | R 5'-GGCAGAGGCAAATCATCTATAAC-3'  |         |
| IGF-I          | F 5'-CACACCCAGGAGGGGAACAG-3v     | 321     |
|                | R 5'-GTGTTGTTGATGCTCCGTCC-3'     |         |
| $\beta$ -actin | F 5'-CTATCGGCAATGAGCGGTTTC-3'    | 762     |
|                | R 5'-CTTAGGAGTTGGGGGTGGCT-3'     |         |
| IGF-IR         | F 5'-TCCACATCCTGCTCATCTCC-3'     | 490     |
|                | R 5'-TGCCTTCCCACACACTTG-3'       |         |
| IR             | F 5'-GGAGGGCTAACTGTGAACCTAGA-3'  | 581     |
|                | R 5'-GAGCCAAGTCACCAAGCATCAATC-3' |         |

注: IGF-I为胰岛素样生长因子I,  $\beta$ -actin为 $\beta$ -肌动蛋白, IGF-IR为胰岛素样生长因子I受体, IR为胰岛素受体

量明显升高, 子宫质量明显降低, 成熟卵泡数和黄体数减少, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。经小檗碱灌胃治疗后的大鼠较模型组体质量和卵巢质量降低, 成熟卵泡数和黄体数明显增加, 子宫质量升高, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 与二甲双胍组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表2。

**2.2 小檗碱对多囊卵巢综合征大鼠模型血清中LH、FSH、睾酮、瘦素水平影响** 模型组多囊卵巢综合征大鼠血清中LH、FSH、睾酮、瘦素较正常组均明显升高, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。经小檗碱治疗后的大鼠血清中LH、FSH、睾酮、瘦素水平较模型组降低, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 与二甲双胍组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表3。

**2.3 小檗碱对多囊卵巢综合征大鼠模型血清中胰**

**岛素水平影响** 模型组多囊卵巢综合征大鼠血清中胰岛素水平较正常组明显升高, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。经小檗碱治疗后的大鼠血清胰岛素水平较模型组明显降低, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 与二甲双胍组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表4。

**表4** 小檗碱对多囊卵巢综合征大鼠血清中胰岛素水平影响

| 组别    | 鼠数 | 胰岛素/(pg/mL, $\bar{x} \pm s$ )      |
|-------|----|------------------------------------|
| 正常组   | 20 | 1 028.64 $\pm$ 112.35              |
| 模型组   | 20 | 4 569.81 $\pm$ 528.96 <sup>a</sup> |
| 小檗碱组  | 20 | 2 741.21 $\pm$ 247.68 <sup>b</sup> |
| 二甲双胍组 | 20 | 2 769.52 $\pm$ 224.89 <sup>b</sup> |
| F值    |    | 413.661                            |
| P值    |    | 0.000                              |

注: 与正常组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$

**2.4 小檗碱对多囊卵巢综合征大鼠模型卵巢组织中IGF-I、瘦素、IGF-IR、IR mRNA相对表达量影响** 模型组多囊卵巢综合征大鼠卵巢组织中IGF-I、瘦素、IGF-IR、IR mRNA相对表达量水平较正常组明显升高, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。经小檗碱治疗后的大鼠卵巢组织中IGF-I、瘦素、IGF-IR、IR mRNA相对表达量水平较模型组明显降低, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 与二甲双胍组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表5。

**3 讨论**

多囊卵巢综合征的发病机制较为复杂, 其中下丘脑-垂体-卵巢轴功能异常、胰岛素抵抗是胰岛素及雄激素分泌过多等内分泌特征发生的重要原因<sup>[7-8]</sup>。

**表2** 小檗碱对多囊卵巢综合征大鼠模型体质量、卵巢质量、子宫质量、成熟卵泡数、黄体数影响/ $\bar{x} \pm s$

| 组别    | 鼠数 | 体质量/g                           | 卵巢质量/mg                         | 子宫质量/mg                         | 成熟卵泡数                        | 黄体数                          |
|-------|----|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| 正常组   | 20 | 147.25 $\pm$ 12.36              | 217.32 $\pm$ 10.47              | 322.61 $\pm$ 21.65              | 4.36 $\pm$ 0.69              | 4.12 $\pm$ 0.42              |
| 模型组   | 20 | 174.32 $\pm$ 11.23 <sup>a</sup> | 328.93 $\pm$ 12.52 <sup>a</sup> | 224.17 $\pm$ 18.62 <sup>a</sup> | 1.32 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup> | 0.92 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup> |
| 小檗碱组  | 20 | 162.17 $\pm$ 11.25 <sup>b</sup> | 289.64 $\pm$ 18.59 <sup>b</sup> | 267.16 $\pm$ 20.33 <sup>b</sup> | 2.84 $\pm$ 0.24 <sup>b</sup> | 2.64 $\pm$ 0.22 <sup>b</sup> |
| 二甲双胍组 | 20 | 160.25 $\pm$ 12.34 <sup>b</sup> | 286.45 $\pm$ 23.68 <sup>b</sup> | 269.68 $\pm$ 10.63 <sup>b</sup> | 2.92 $\pm$ 0.26 <sup>b</sup> | 2.62 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup> |
| F值    |    | 17.615                          | 146.808                         | 96.852                          | 200.340                      | 543.748                      |
| P值    |    | 0.000                           | 0.000                           | 0.000                           | 0.000                        | 0.000                        |

注: 与正常组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$

**表3** 小檗碱对多囊卵巢综合征大鼠血清中激素水平影响/ $\bar{x} \pm s$

| 组别    | 鼠数 | LH/(pg/mL)                         | FSH/(ng/mL)                   | 睾酮/(pg/mL)                         | 瘦素/(ng/mL)                   |
|-------|----|------------------------------------|-------------------------------|------------------------------------|------------------------------|
| 正常组   | 20 | 2 504.31 $\pm$ 214.31              | 15.24 $\pm$ 1.64              | 1 241.85 $\pm$ 112.64              | 0.92 $\pm$ 0.08              |
| 模型组   | 20 | 8 932.47 $\pm$ 654.81 <sup>a</sup> | 42.17 $\pm$ 3.28 <sup>a</sup> | 3 057.69 $\pm$ 217.34 <sup>a</sup> | 2.35 $\pm$ 0.21 <sup>a</sup> |
| 小檗碱组  | 20 | 4 172.58 $\pm$ 345.18 <sup>b</sup> | 20.84 $\pm$ 1.51 <sup>b</sup> | 1 467.92 $\pm$ 112.36 <sup>b</sup> | 1.14 $\pm$ 0.11 <sup>b</sup> |
| 二甲双胍组 | 20 | 4 146.21 $\pm$ 417.65 <sup>b</sup> | 20.10 $\pm$ 1.32 <sup>b</sup> | 1 442.38 $\pm$ 117.48 <sup>b</sup> | 1.10 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup> |
| F值    |    | 801.488                            | 657.415                       | 658.233                            | 473.269                      |
| P值    |    | 0.000                              | 0.000                         | 0.000                              | 0.000                        |

注: LH为黄体生成素, FSH为促卵泡生成素。与正常组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$

表5 小檗碱对多囊卵巢综合征大鼠卵巢组织中IGF-I、瘦素、IGF-IR、IR mRNA相对表达量影响/ $\bar{x} \pm s$

| 组别    | 鼠数 | IGF-I mRNA             | 瘦素 mRNA                | IGF-IR mRNA            | IR mRNA                |
|-------|----|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| 正常组   | 20 | 1.00±0.09              | 1.00±0.10              | 1.00±0.07              | 1.00±0.12              |
| 模型组   | 20 | 2.64±0.26 <sup>a</sup> | 1.87±0.16 <sup>a</sup> | 2.36±0.22 <sup>a</sup> | 1.95±0.12 <sup>a</sup> |
| 小檗碱组  | 20 | 1.84±0.15 <sup>b</sup> | 1.40±0.11 <sup>b</sup> | 1.72±0.13 <sup>b</sup> | 1.47±0.13 <sup>b</sup> |
| 二甲双胍组 | 20 | 1.85±0.13 <sup>b</sup> | 1.43±0.10 <sup>b</sup> | 1.73±0.14 <sup>b</sup> | 1.42±0.10 <sup>b</sup> |
| F值    |    | 311.723                | 175.298                | 275.241                | 217.068                |
| P值    |    | 0.000                  | 0.000                  | 0.000                  | 0.000                  |

注:IGF-I为胰岛素样生长因子I,IGF-IR为胰岛素样生长因子I受体,IR为胰岛素受体。与正常组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$

多囊卵巢综合征病人垂体对促性腺激素释放激素的敏感性大大增加,病人分泌的LH过多,而持续高水平的LH可以诱导卵泡膜细胞产生大量的雄激素,雄激素过多可以阻碍卵泡的成熟<sup>[9]</sup>。多囊卵巢综合征还与胰岛素抵抗有关,胰岛素抵抗是指组织对胰岛素的敏感性异常下降,导致胰岛素的生物学功能下降<sup>[10]</sup>。机体内过多的胰岛素可以通过作用于垂体上的IR,诱导垂体释放大量的LH,促进卵巢分泌雄激素,影响卵巢功能的发挥,LH可以促进闭锁卵泡素分泌雄激素,这些雄激素在皮下脂肪组织中被芳香化生成雌激素,而高水平的雌激素可以进一步诱导LH的分泌,闭锁卵泡素可以促进FSH抑制素的分泌,导致卵泡发育受阻,形成恶性循环,在多囊卵巢综合征病人中存在LH异常升高和LH/FSH升高现象<sup>[11]</sup>。本实验表明,多囊卵巢综合征大鼠模型大鼠体质量明显增加,并且其卵巢质量也明显升高,黄体数和成熟的卵泡数目减少,大鼠血清中LH、睾酮水平升高,胰岛素水平也升高,说明成功构建了多囊卵巢综合征大鼠模型。

小檗碱具有抗菌、消炎、增加免疫力、改善窦房结功能,对于多囊卵巢综合征也具有一定的治疗作用<sup>[12-14]</sup>。在多囊卵巢综合征病人中,肥胖的发生率高于40%,在经过小檗碱调节以后,病人的血脂、腰围、胰岛素敏感性等均有不同程度的改善<sup>[15]</sup>。临床的研究表明,小檗碱可以有效提高多囊卵巢综合征病人的妊娠率,对于月经周期及排卵具有一定的改善作用<sup>[16]</sup>。本实验结果表明,经小檗碱灌胃治疗后的大鼠体质量和卵巢质量降低,成熟卵泡数和黄体数明显增加,子宫质量升高。同时我们的研究还发现,小檗碱组与二甲双胍组对多囊卵巢综合征大鼠的多种指标影响差异不大,提示小檗碱治疗多囊卵巢综合征可达到与二甲双胍相似的结果。但有研究表明二甲双胍作为胰岛素增敏剂治疗多囊卵巢综合征,病人胃肠道反应较大<sup>[17]</sup>。

IGF-I在胰岛素和卵巢的相互作用中发挥关键的纽带作用,其主要存在于卵巢中,可以影响卵巢间质和卵泡的功能,IGF-I能够独立或者协同促性腺激素调节性激素的合成、排卵后的黄体期维持、卵巢周期性优势卵泡选择,IGF-I高表达可以诱导卵巢间质血流增多,诱导蛋白和血管内皮生长因子的表达,高水平的IGF-I可以诱导多囊卵巢发生,高水平的胰岛素可以刺激卵巢组织上的IR或者通过IGF-IR诱导雄性激素的产生,放大促性腺激素的作用,引起卵巢多囊改变<sup>[18]</sup>。脱氢表雄酮由肾上腺皮质合成,是合成睾酮过程中的一个产物,其可以经过相关蛋白酶的作用后生成睾酮,在多囊卵巢综合征病人中表达升高,睾酮是女性体内较为重要的雄性激素,在正常女性中水平较低,在多囊卵巢综合征女性中水平明显升高,其可能与雄激素受体或LH受体作用影响子宫内膜增生和黄体期子宫内膜的分泌,影响胚胎的着床,引发流产<sup>[19]</sup>。瘦素是由肥胖基因编码产生的蛋白,在白色的脂肪组织中广泛表达,不仅参与肥胖的发生,还与不孕等有关<sup>[20]</sup>。近年来的研究显示,瘦素与排卵障碍有关<sup>[21]</sup>。本实验的研究表明,小檗碱下调多囊卵巢综合征大鼠卵巢组织IGF-I、Leptin、IGF-IR、Insulin R mRNA表达,小檗碱可以通过抑制胰岛素从而改善多囊卵巢综合征大鼠雄性激素睾酮的产生,作用机制可能与下丘脑-垂体-卵巢轴,以后尚需检测这些受体的蛋白表达水平加以证实。

综上,小檗碱具有改善大鼠多囊卵巢综合征的作用,能够促进卵巢卵泡生长及排卵,下调卵巢组织中IGF-I、瘦素、IGF-IR、IR mRNA相对表达量水平。多囊卵巢综合征发病机制尚不清楚,其中激素水平异常、胰岛素抵抗等是目前认为治疗多囊卵巢综合征的重点,本实验存在一定的不足之处,没有探讨小檗碱对大鼠的毒性作用,在以后的实验中,会对小檗碱上述作用的具体机制及毒性作用深入研究。

### 参考文献

- [1] VÁZQUEZ MJ, ROMERO-RUIZ A, TENA-SEMPERE M. Roles of leptin in reproduction, pregnancy and polycystic ovary syndrome: consensus knowledge and recent developments [J]. *Metabolism - clinical & Experimental*, 2015, 64(1): 79-91.
- [2] CHEN ZJ, SHI Y, SUN Y, et al. Fresh versus frozen embryos for infertility in the polycystic ovary syndrome [J]. *New England Journal of Medicine*, 2016, 375(6): 523-533.
- [3] BROWER MA, JONES MR, ROTTER JL, et al. Further investigation in Europeans of susceptibility variants for polycystic ovary syndrome discovered in genome-wide association studies of Chinese individuals [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2015, 100(1): E182-186.

- [4] CHEN Q, QIN R, FANG Y, et al. Berberine sensitizes human ovarian cancer cells to cisplatin through miR-93/PTEN/Akt signaling pathway[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 36(3):956-965.
- [5] YAN L, KUANG H, SHEN W, et al. Letrozole, berberine, or their combination for anovulatory infertility in women with polycystic ovary syndrome: study design of a double-blind randomised controlled trial[J]. *BMJ Open*, 2013, 3(11):e003934-e003944. DOI: 10.1136/bmjopen-2013-003934.
- [6] 田璐. 补肾化痰方对多囊卵巢综合征大鼠的影响及作用机制研究[D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2016.
- [7] 陈琍琍, 李文艺, 刘安诺. 多囊卵巢综合征伴不孕临床治疗方法探讨[J]. *安徽医药*, 2014, 18(4):681-683.
- [8] 杨志平. 达英-35联合二甲双胍治疗多囊卵巢综合征对激素、胰岛素抵抗的影响[J]. *中国妇幼保健*, 2016, 31(5):1015-1017.
- [9] 程小林, 郭伟伟, 解菁. 瘦素及胰岛素拮抗与多囊卵巢综合征不孕症相关性研究[J]. *中华流行病学杂志*, 2014, 35(12):1389-1391.
- [10] DING Y, ZHUO G, ZHANG C, et al. Point mutation in mitochondrial tRNA gene is associated with polycystic ovary syndrome and insulin resistance[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2016, 13(4):3169-3172.
- [11] GREENWOOD EA, PASCH LA, SHINKAI K, et al. Putative role for insulin resistance in depression risk in polycystic ovary syndrome[J]. *Fertility & Sterility*, 2015, 104(3):707-714.
- [12] WU XK, WANG YY, LIU JP, et al. Randomized controlled trial of letrozole, berberine, or a combination for infertility in the polycystic ovary syndrome[J]. *Fertility & Sterility*, 2016, 106(3):757-765.
- [13] LI Y, ZHANG C, ZHANG H, et al. Application of metabolomics in treating polycystic ovary syndrome with berberine based on ultra high performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *Se Pu*, 2014, 32(5):464-471.
- [14] KIM S, LEE J, YOU D, et al. Berberine suppresses cell motility through downregulation of TGF- $\beta$ 1 in triple negative breast cancer cells[J]. *Cellular Physiology & Biochemistry*, 2018, 45(2):795-807.
- [15] LI Y, MA H, ZHANG Y, et al. Effect of berberine on insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome: study protocol for a randomized multicenter controlled trial[J]. *Trials*, 2013, 14(5):226-230.
- [16] 李慕白, 刘畅, 匡洪影, 等. 小檗碱对多囊卵巢综合征病人子宫内胰岛素信号分子的调节作用[J]. *中医药学报*, 2016, 44(2):30-32.
- [17] 安媛, 张雅娟, 吕荟明, 等. 小檗碱对行体外受精-胚胎移植的多囊卵巢综合征患者临床、内分泌、代谢指标及妊娠结局的影响[J]. *现代中西医结合杂志*, 2016, 25(5):459-462.
- [18] SKANDALIS SS, AFRATIS N, SMIRLAKI G, et al. Cross-talk between estradiol receptor and EGFR/IGF-IR signaling pathways in estrogen-responsive breast cancers: focus on the role and impact of proteoglycans [J]. *Matrix Biology*, 2014, 35(4):182-193.
- [19] BERNUCI MP, LEITE CM, BARROS P, et al. Transitory activation of the central and ovarian norepinephrine systems during cold stress-induced polycystic ovary in rats [J]. *Journal of Neuroendocrinology*, 2013, 25(1):23-33.
- [20] CHEN CI, HSU MI, LIN SH, et al. Adiponectin and leptin in overweight/obese and lean women with polycystic ovary syndrome [J]. *Gynecol Endocrinol*, 2015, 31(4):264-268.
- [21] RIZK NM, SHARIF E. Leptin as well as free leptin receptor is associated with polycystic ovary syndrome in young women [J]. *International Journal of Endocrinology*, 2015, 2015:927805-927815. DOI: 10.1155/2015/927805.

(收稿日期:2018-03-07, 修回日期:2018-09-14)

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2019.10.007

◇ 药学研究 ◇

## 梓醇对阿尔茨海默病大鼠模型大脑皮质保护作用

刘倩倩<sup>a</sup>, 刘倩<sup>a</sup>, 李文涛<sup>b</sup>, 王金红<sup>a</sup>, 曲梅花<sup>a</sup>作者单位: 潍坊医学院, <sup>a</sup>应用药理学重点实验室, <sup>b</sup>机能学实验室, 山东 潍坊 261053

通信作者: 王金红, 女, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为神经药理学, E-mail: lwtwfm@sina.com

基金项目: 山东省自然科学基金项目(ZR2014HL106)

**摘要:** **目的** 观察梓醇对阿尔茨海默病(AD)大鼠模型大脑皮质的保护作用。**方法** 健康雄性Wistar大鼠36只, 体质量范围为250~300 g, 随机数字表法分为4组, 每组9只: 健康对照组、模型组、梓醇小剂量组、梓醇大剂量组。除健康对照组大鼠外, 其余组大鼠均行右侧脑室定位注射 $\beta$ -淀粉样蛋白片段25-35( $A\beta_{25-35}$ )和腹腔注射D-半乳糖结合制备AD模型, 然后梓醇小剂量组大鼠注射梓醇 $5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ , 梓醇大剂量组大鼠注射梓醇 $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ , 健康对照组和模型组大鼠注射等容积0.9%氯化钠水溶液, 连续腹腔注射给药7 d。Y-迷宫检测大鼠的学习指数, 苏木精-伊红(HE)染色和透射电镜观察AD大鼠皮层结构, 免疫组织化学染色观察大脑皮质胆碱能毒蕈碱受体 $M_1$ 亚型( $M_1$ 受体)的表达, 蛋白质印迹法(Western Blot)检测 $M_1$ 受体蛋白的含量。**结果** 实验过程中模型组大鼠死亡1只, 最终模型组 $n=8$ , 其余组均 $n=9$ 。与模型组比较, 从造模后第14天开始, 梓醇显著提高了大鼠的学习指数(第14天: 小剂量组 $t=3.267, P=0.0309$ , 大剂量组 $t=4.648, P=0.0097$ ; 第21天: 小剂量组 $t=5.010, P=0.0074$ , 大剂量组 $t=4.614, P=0.0099$ ), 第14天4组大鼠的学习指数分别为 $(5.6\pm 0.2)$ ,  $(2.6\pm 0.3)$ ,  $(3.7\pm 0.5)$ ,  $(4.4\pm 0.6)$ ; 第21天4组大鼠的学习指数各组分别为 $(6.3\pm 0.8)$ ,  $(4.1\pm 0.5)$ ,  $(5.3\pm 0.4)$ ,  $(5.8\pm 0.8)$ 。HE染色可见模型组大鼠大脑皮质结构有损伤性表现, 透射电镜检查见大脑皮质神经元细胞内线粒体、粗面内质网、核染色质等异常改变, 梓醇干预组神经元的结构显著