

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.

Xu HY, Du Q, Xu LB, et al. Construction and evaluation of two obese rat models of polycystic ovary syndrome with insulin resistance [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2021, 29(5): 644-650.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2021.05.011

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

徐海燕,杜青*,徐琳本,黄建华,王红梅,丁正香

(湖南省中医药研究院,长沙 410006)

【摘要】 目的 采用两种不同方式联合高脂饮食建立肥胖型多囊卵巢综合征伴胰岛素抵抗(PCOS-IR)大鼠动物模型,比较其内分泌及代谢特征变化。**方法** 将大鼠随机分为3组:对照组,给予普通饲料和纯净水;Letrozole组,采用来曲唑(1 mg/kg)灌胃,HCG+INS组,皮下注射绒毛膜促性腺激素和胰岛素(HCG+INS),两组均采用高脂饲料和5%葡萄糖液饲养。革兰氏染色观察两个动情周期变化;在第23天和第30天,测量子宫和卵巢湿重;苏木素-伊红(HE)染色观察卵巢组织病理学改变;血液生化仪测定空腹血糖(FBG)、血脂(甘油三酯(TG)和总胆固醇(TC)变化;酶联免疫吸附(ELISA)法定性激素(卵泡刺激素FSH、促黄体生成素(LH)、雌二醇(E₂)、总睾酮(T)、血清炎症因子肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白细胞介素-1 β (IL-1 β))水平变化;计算胰岛素抵抗指数HOMA-IR;实时荧光定量PCR测定卵巢TNF- α 和IL-1 β mRNA变化。**结果** 与对照组比,Letrozole组和HCG+INS组两个动情周期皆紊乱,但HCG+INS组存在偶发排卵现象;在第23天,Letrozole组子宫湿重和E₂水平显著减少,卵巢湿重、INS、HOMA-IR、TG、TC水平显著增加,HCG+INS组INS、HOMA-IR、TC、TG、LH水平显著增加,E₂水平显著减少($P < 0.05$, $P < 0.01$)。第30天,两组FBG、INS、HOMA-IR、TG、FSH、LH水平及血清TNF- α 和IL-1 β 水平和卵巢mRNA均明显升高,同时Letrozole组肥胖、无排卵、高雄激素血症、卵巢多囊样改变等特征更明显。**结论** 两种造模方式均可成功诱导PCOS-IR动物模型,第30天时来曲唑造模法在体重、内分泌及代谢指标的改变更符合肥胖型PCOS-IR病理特征。

【关键词】 多囊卵巢综合征;肥胖;胰岛素抵抗;来曲唑;绒毛膜促性腺激素

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2021)05-0644-07

Construction and evaluation of two obese rat models of polycystic ovary syndrome with insulin resistance

XU Haiyan, DU Qing*, XU Linben, HUANG Jianhua, WANG Hongmei, DING Zhengxiang

(Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha 410006, China)

Corresponding author: DU Qing. E-mail: 791166938@qq.com

【Abstract】 Objective To establish an animal model of obese polycystic ovary syndrome combined with insulin resistance (PCOS-IR) using two different method with a high-fat diet, and to compare the changes in endocrine and metabolic characteristics. **Methods** Rats were randomly divided into a control group (ordinary feed and purified water), a letrozole group (intragastric administration of 1 mg/kg), and a human chorionic gonadotropin + insulin (HCG+INS) group (subcutaneous injections). The latter two groups were fed a high-fat diet and 5% glucose solution. Gram staining was used to observe two estrous cycles. On the 23rd and 30th day, ovarian and uterine wet weights were measured. Hematoxylin-eosin

【基金项目】 湖南省自然科学基金(2019JJ50350, 2019JJ50345), 湖南省中医药科研计划项目(201941), 湖南省中医药研究院重点项目(201803)。

Fund by the Natural Science Foundation of Hunan Province(2019JJ50350, 2019JJ50345), Hunan Traditional Chinese Medicine Scientific Research Project(201941), Key Project of Hunan Academy of Traditional Chinese Medicine(201803).

【作者简介】 徐海燕(1985—),女,医学硕士,主治医师,研究方向:中西医结合防治妇科内分泌疾病。Email:250440397@qq.com

【通信作者】 杜青(1991—),女,助理研究员,研究方向:中药药理与创新药物。Email:791166938@qq.com

staining was used to observe ovarian histopathology. Fasting blood glucose (FBG), and blood levels of triglyceride (TG) and total cholesterol (TC) were measured by a biochemical analyzer. Serum levels of follicle stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), estradiol (E2), total testosterone (T), and inflammatory factors tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-1 β (IL-1 β) were measured by enzyme-linked immunosorbent assays. The homeostatic model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) was calculated. Real-time fluorescence quantitative PCR was used to detect ovarian TNF- α and IL-1 β mRNA levels. **Results** The letrozole and HCG+INS groups both had disordered estrous cycles compared with the control group, but the HCG+INS group had occasional ovulation. On the 23rd day, uterine weight and E2 levels were significantly reduced, and ovarian weight, INS, HOMA-IR, TG, and T levels were significantly increased in the letrozole group compared with controls. In the HCG+INS group, INS, HOMA-IR, TC, TG, and LH levels were significantly increased, and E2 levels were significantly reduced compared with controls. On the 30th day, the levels of FBG, INS, HOMA-IR, TG, FSH, LH, serum TNF- α and IL-1 β , and ovarian TNF- α and IL-1 β mRNA levels were significantly increased in the letrozole and HCG+INS groups versus the control group. The letrozole group exhibited anovulation, hyperandrogenism, and obesity, as well as more obvious pathological changes consistent with polycystic ovaries. **Conclusions** Both approaches successfully induced the PCOS-IR animal model. The changes in body weight, and endocrine and metabolic indexes of the letrozole model on the 30th day were more consistent with the pathological characteristics of obese PCOS-IR.

【Keywords】 polycystic ovary syndrome; obesity; insulin resistance; letrozole; chorionic gonadotropin

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

多囊卵巢综合征 (polycystic ovary syndrome, PCOS) 是一种以慢性无排卵、高雄激素血症 (多毛、痤疮、雄激素性脱发) 以及卵巢多囊样改变为主要特征的内分泌代谢紊乱疾病, 影响着 12% ~ 18% 的女性^[1]。长期的内分泌紊乱可导致不孕、肥胖、糖脂代谢异常, 并带来一系列远期并发症, 严重影响患者的生存质量^[2]。其中, 肥胖是促进 PCOS 病情发生发展的重要因素之一, 肥胖型 PCOS 约占总发病率的一半, 体内还存在明显的胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR)^[3]。胰岛素抵抗和高胰岛素血症是 PCOS 病理生理的主要特征, 约 50% ~ 65% PCOS 患者存在胰岛素抵抗^[4]。IR 不仅是导致 PCOS 患者生殖障碍和代谢异常的主要原因, 还可增加 2 型糖尿病、心脑血管疾病、代谢综合征等风险, 严重影响患者身心健康^[5]。

PCOS-IR 由于发病机制复杂, 临床组织样本获取困难, 已成为目前研究的热点和难点, 现有可供研究的实验动物模型众多, 但与临床 PCOS-IR 特征的符合程度仍存在一定的差异^[6-7], 建立理想的 PCOS-IR 动物模型在实验研究中显得尤为重要。PCOS 的动物造模方法主要包括经典 Poresky 法、雄激素联合 HCG 法、孕激素联合 HCG 法、雌激素法、芳香花酶抑制剂法等^[8-10]。尽管造模方法多样, 但仍有不尽完美之处, 如雄激素大多属于油剂, 长期皮下注射, 药物不易吸收, 容易导致造模不理想; 孕激素法可能会影响促排卵药物的疗效, 不适合促排

卵药物研究; 雌激素法对模型下丘脑-垂体轴有一定的损害, 不适合后期治疗研究^[4]。筛选并建立一种更贴近临床病理生理特征的 PCOS-IR 的实验动物模型对于临床防治具有重要意义。本实验采用两种不同方式分别联合高糖高脂饮食建立肥胖型 PCOS-IR 动物模型, 通过比较两种模型不同时间节点生殖、内分泌和代谢指标差异, 以期筛选出更符合临床特征的动物模型。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

36 只 6 周龄 SPF 级雌性 SD 大鼠, 体重 180 ~ 220 g, 购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司【SCXK(湘)2019-0004】, 在湖南省中医药研究院实验动物中心【SYXK(湘)2020-0008】饲养, 允许大鼠在恒定温度、湿度和光暗循环 ((22±2)℃; 55% ± 10%; 7:00 ~ 19:00 光照循环) 下自由饮水和食物。本研究经湖南省中医药研究院动物伦理委员会批准 (伦理审批号 IACUC2019-0029), 按照与湖南省中医药研究院实验动物中心的有关协议进行, 所有程序均按照中国科学技术部制定的“实验动物护理和使用指导意见”进行。

1.1.2 主要试剂与仪器

来曲唑片 (规格: 每片 2.5 mg, 批号: 190426KF, 江苏恒瑞医药股份有限公司); 胰岛素注射液 (规

格;每支 400 IU,批号:21801204,江苏万邦生化医药集团有限责任公司);注射用绒促性素 HCG(每支 1000 U,批号:190303,丽珠集团丽珠制药厂);快速革兰氏染色液(批号 MA0391-Jun-20E),购于大连美仑生物;卵泡刺激素(FSH,批号 JM-01972R1)、促黄体生成素(LH,批号 JM-02030R1)、雌二醇(E_2 ,批号 JM-01475R1)、总睾酮(T,批号 JM-10537R1)、白细胞介素-1 β (IL-1 β ,批号 JM-01454R1)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α ,批号 JM-10494R1)、胰岛素(INS,批号 JM-01993R1)酶联免疫吸附试剂盒(ELISA),购于江苏晶美生物技术有限公司。IL-1 β 和 TNF- α RT-PCR 上下游引物(上海生物工程技术服务有限公司);逆转录反应试剂盒(TaKaRa)。血糖仪及血糖试纸(艾科,美国);Olympus 生物显微镜(OLYMPUS 公司,日本);TrilogyII 型生化分析仪(Drew Scientific,美国);envision2105 型酶标仪(PerkinElmer,美国);生物组织切片机(Thermo Scientific,美国);水平琼脂糖电泳槽(北京六一,中国);实时荧光定量 PCR 仪(Thermo Scientific,美国)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组与造模

将 36 只 SD 大鼠按体重随机分为 3 组:对照组,每日灌胃 0.5%羧甲基纤维素钠溶液;Letrozole 组,每日灌胃来曲唑溶液(1 mg/kg),HCG+INS 组,颈背部皮下注射逐渐增量的胰岛素注射液,第 1 天(每天 1 次、每次 0.5 U),第 2、3 天(每天 1 次、每次 1.5 U),第 4 天(每天 1 次、每次 2 U),第 5 天(每天 1 次、每次 2.5 U),第 6 天(每天 1 次、每次 3 U),第 7、8 天(每天 1 次、每次 4 U),第 9、10 天(每天 1 次、每次 5 U),第 11~30 天(每天 1 次、每次 6 U),并加用 HCG 每天 1 次、每次 3.0 U。其中对照组给予普通饲料和纯净水,Letrozole 组和 HCG+INS 组皆给予高脂饲料(基础维持饲料 61.5%、猪油 12%、蔗糖 5%、奶粉 5%、花生 5%、鸡蛋 10%、麻油 1%、食盐 0.5%)和 5%葡萄糖溶液饲养,连续 30 d。

1.2.2 一般状态观察

每天观察记录各组动物活动、进食、粪便等,每周进行体质量监测。在造模第 18 天开始进行阴道涂片,连续 10 d,判断大鼠动情周期变化。每天固定时间,抓住大鼠腰背部皮肤,腹部朝上,露出阴道口,将沾有生理盐水的无菌棉棒轻置于阴道内,转动 4~5 圈,将粘液均匀涂在载玻片上、风干、采用

快速革兰氏染色法进行染色,风干后显微镜下观察排卵情况。分别在第 23、30 天挑选各组动物的一半进行以下处理。

1.2.3 样本采集

动物禁食不禁水 12 h,腹腔麻醉后,腹主动脉取血,离心(3000 r/min,15 min),收集上清,-80℃保存待用。实施安乐死后取子宫、卵巢,称取重量。将左侧卵巢保存在 4%多聚甲醛固定液中,右侧卵巢液氮速冻,-80℃保存待用。

1.2.4 代谢指标和性激素检测

取上述保存的血清,采用生化仪检测空腹血糖(FBG)、血清总胆固醇(TC)和甘油三酯(TG)水平;采用酶联免疫吸附法,按照试剂盒说明操作,检测血清胰岛素(INS)、卵泡刺激素(FSH)、促黄体生成素(LH)、雌二醇(E_2)、总睾酮(T)水平变化。并计算胰岛素抵抗指数($HOMA-IR = FBG(\text{mmol/L}) \times INS(\text{mIU/L}) / 22.5$)。

1.2.5 卵巢病理形态学检测

取固定的各组大鼠卵巢组织,使用 70%、90%、95%乙醇,二甲苯进行常规脱水,石蜡包埋、切 4 μm 薄片,以及苏木素-伊红(HE)染色,脱水,封片,显微镜下观察卵巢病理形态学变化。

1.2.6 血清和卵巢炎症因子检测

按照 ELISA 试剂盒说明操作,检测血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白细胞介素-1 β (IL-1 β)水平变化。采用实时荧光定量 PCR 法,检测冻存的卵巢组织中 TNF- α 和 IL-1 β mRNA 表达水平,取约 20 mg 卵巢组织,加入 1 mL TRIzol,充分研磨,裂解 5 min,提取样本总 RNA,核酸蛋白测定仪测定 260/280 nm 处 A 值,进行定量。按照逆转录反应试剂盒说明书将定量的 RNA 逆转录合成 cDNA,反应体系为 2X SYBGreen PCR Master Mix 15 μL ,ddH₂O 11 μL ,上下游引物(10 $\mu\text{mol/L}$)各 1 μL ,cDNA 1 μL 。扩增条件为 95℃预变性 15 min,95℃变性 15 s,60℃退火 30 s,共 40 个循环。以 β -actin 为内参,反应结束后以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算分析目的基因 TNF- α 和 IL-1 β 相对表达水平,以基因/内参吸光度比值的($\bar{x} \pm s$)表示。引物序列见表 1。

1.3 统计学分析

数据分析采用统计软件 SPSS 17.0,所有计量资料以平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间采用单因素方差分析(One-way-ANOVA),不服从正态分布用非参数检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

表 1 TNF- α 和 IL-1 β 引物序列

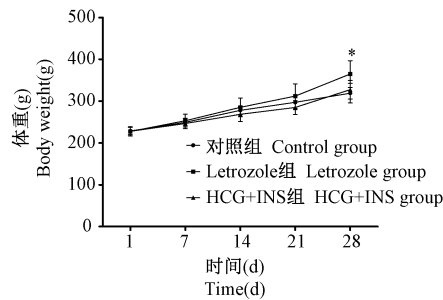
Table 1 TNF- α and IL-1 β primer sequences

引物名称 Primer name	上游引物(5'-3') Upstream primer(5'-3')	下游引物(5'-3') Downstream primer(5'-3')
TNF- α	GTCCCAACAAGGAGGAGAAGT	CTGGTATGAAATGGCAAATCG
IL-1 β	CCCTTGTCGAGAATGGGCAG	GACCAGAATGTGCCACGGTT
β -actin	ACATCCGTAAAGACCTCTATGCC	TACTCCTGCTTGCTGATCCAC

2 结果

2.1 体重变化

每周体重监测发现,各组大鼠体重逐渐增长,与对照组比,Letrozole 组大鼠在第 4 周,体重显著增加($P < 0.05$),HCG+INS 组无显著性差异(见图 1)。



注:与对照组比较,* $P < 0.05$ 。

图 1 各组大鼠体重增长曲线

Note. Compared with control group, * $P < 0.05$.

Figure 1 Growth curve of rat body mass in each group

2.2 阴道涂片观察

于造模第 18 天,开始进行阴道涂片,共 10 d,每 5 d 为一个动情周期,一共两个动情周期,观察大鼠动情周期的变化。对照组大鼠的阴道涂片显微镜下观察可见规律的排卵周期,在动情期可见大量的角质化鳞状上皮细胞(见图 2);Letrozole 组大鼠阴

道涂片未观察到规律性周期,在第二个动情周期多数表现为大量的白细胞和有核上皮细胞,未见角质化细胞;HCG+INS 组偶见大片不规则角质化鳞状上皮细胞,大部分表现为白细胞和有核上皮细胞共存,提示有偶发排卵的情况存在(见图 2)。

2.3 脏器湿重比较

称量各组大鼠子宫和双侧卵巢重量,与对照组大鼠比较,在第 23 天和第 30 天,Letrozole 组来曲唑给药大鼠子宫湿重皆显著性降低,卵巢湿重明显增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);第 30 天,HCG+INS 组注射给药大鼠在卵巢湿重明显增加($P < 0.05$),子宫湿重增加但无显著性差异(见图 3)。

2.4 卵巢形态学变化

光镜下观察发现,对照组大鼠卵巢皮质区卵泡数目较多,处于不同发育阶段,黄体清晰,可见卵丘和卵母细胞,颗粒细胞层大多呈现 8 ~ 9 层,紧密排列,成熟卵泡结构完整,无充血、水肿等现象;Letrozole 组大鼠卵巢囊性改变,卵泡囊性扩张明显,闭锁较多,颗粒细胞层数量减少,黄体数量减少;HCG+INS 组大鼠各级未发育成熟的小卵泡数较 Letrozole 组稍少,黄体较大,颗粒细胞层减少,排列疏松(见图 4)。其中,在实验第 23 天和第 30 天各组大鼠卵巢形态学差异不明显。

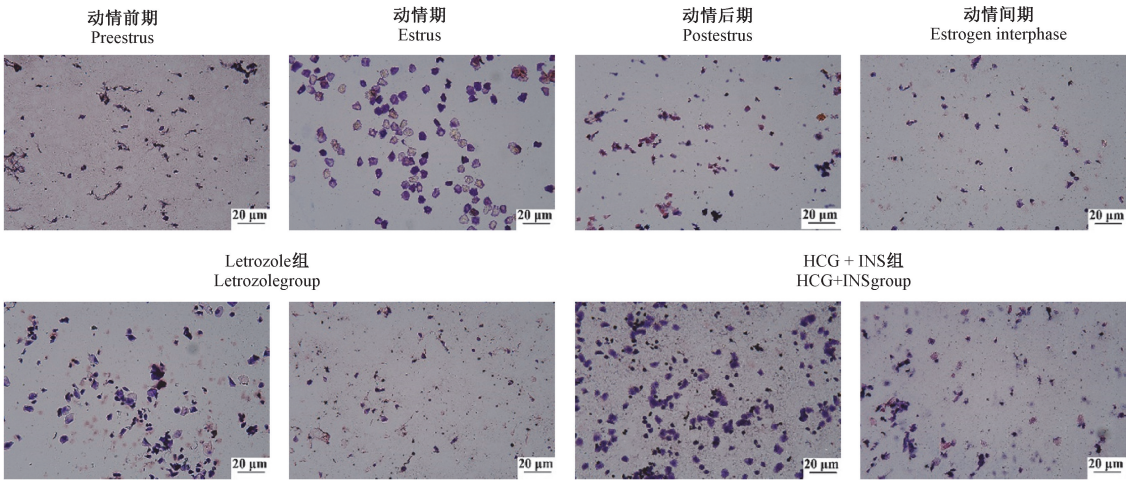
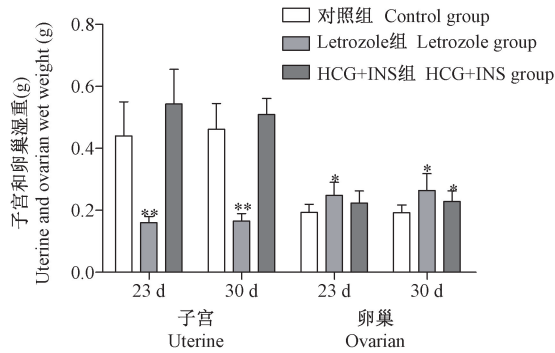


图 2 各组大鼠阴道脱落细胞涂片观察

Figure 2 Smears observation of vaginal exfoliated cell of rats in each group



注:与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。(下同)

图3 各组大鼠子宫和卵巢的湿重比较

Note. Compared with control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

(The same in the following figures)

Figure 3 Comparison of wet weight of uterus and ovary of rats in each group

2.5 空腹血糖、胰岛素和血清总胆固醇、甘油三酯变化

与对照组比较,第23天,Letrozole组和HCG+INS组空腹胰岛素和胰岛素抵抗指数升高,TG水平

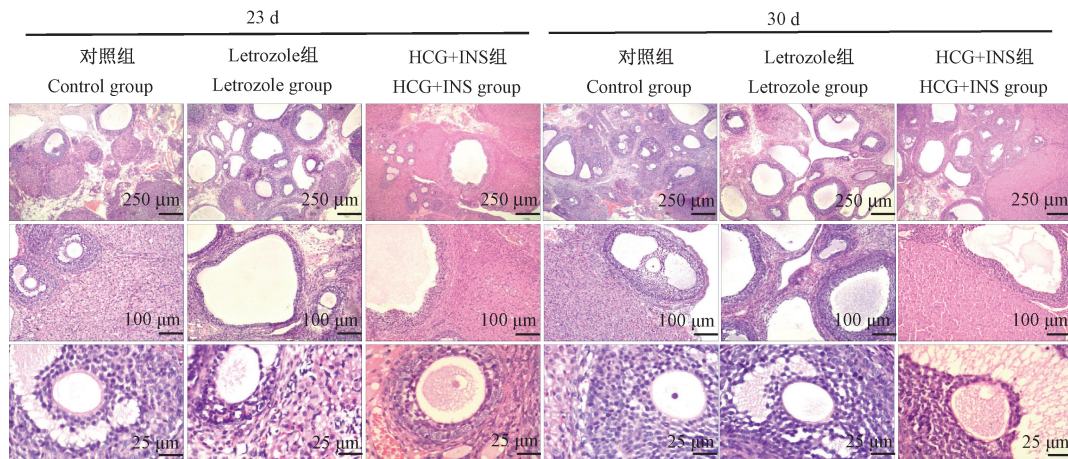


图4 各组大鼠不同时间节点卵巢 HE 染色

Figure 4 Hematoxylin-eosin staining of the ovary of rats at different time points in each group

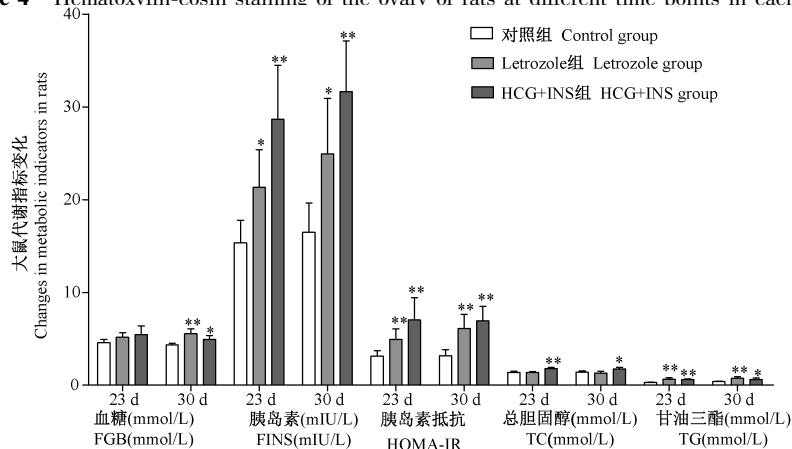


图5 各组大鼠空腹血糖、胰岛素含量、胰岛素抵抗、血清总胆固醇、甘油三酯比较

Figure 5 Comparison of fasting blood glucose, insulin content, insulin resistance, serum total cholesterol and triglyceride of rats in each group

明显增加 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);第30天,两组空腹血糖、空腹胰岛素和胰岛素抵抗指数皆明显高于对照组,TC、TG水平皆显著升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$) (见图5)。

2.6 血清性激素浓度变化

在第23天,与对照组比较,Letrozole组T水平升高, E_2 水平降低 ($P < 0.05$),HCG+INS组LH增加, E_2 降低 ($P < 0.05$);在第30天,两组FSH、LH水平均显著上调, E_2 水平下调,且Letrozole组T水平最高,具有统计学意义 ($P < 0.05$) (见图6)。

2.7 各组大鼠血清 TNF- α 和 IL-1 β 水平和卵巢 TNF- α 和 IL-1 β mRNA 比较

在第23天,与对照组比,Letrozole组血清TNF- α 水平和卵巢TNF- α 和IL-1 β mRNA表达显著上调 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),HCG+INS组血清TNF- α 、IL-1 β 水平和卵巢IL-1 β mRNA表达显著增加 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);在第30天,两组血清TNF- α 和IL-1 β 水平皆显著增加 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$) (见图7)。

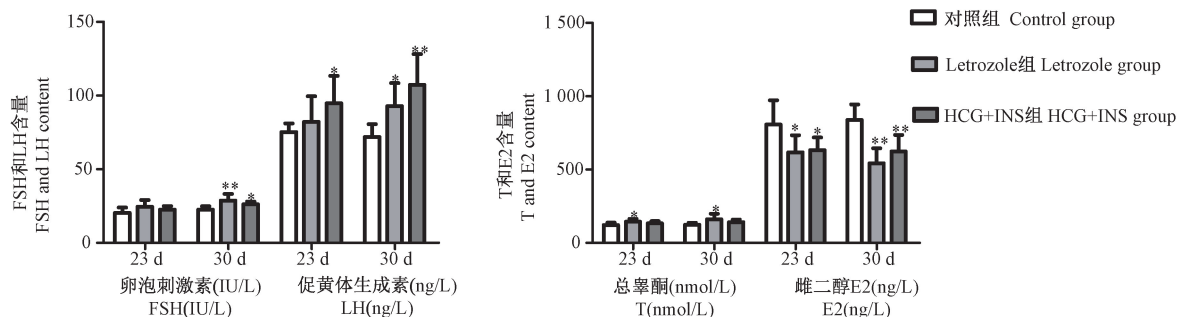
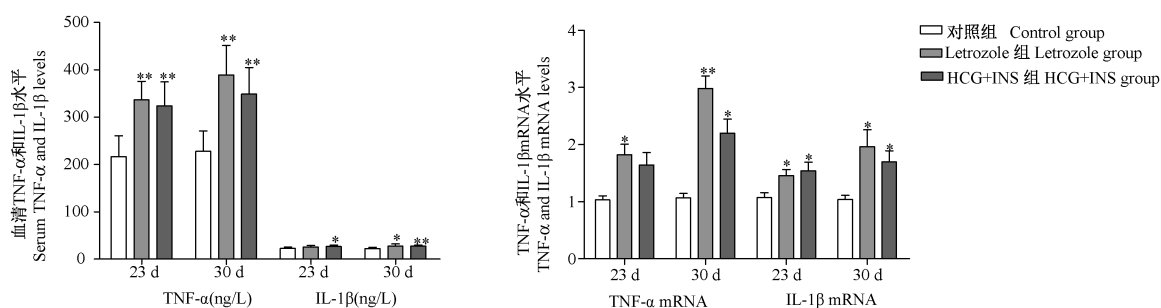


图6 各组大鼠血清性激素水平比较

Figure 6 Comparison of serum sex hormone levels in rats in each group

图7 各组大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 水平和卵巢 TNF- α 、IL-1 β mRNA 表达变化Figure 7 Changes of serum TNF- α and IL-1 β levels and ovarian TNF- α and IL-1 β mRNA expression in rats in each group

3 讨论

PCOS 是育龄期女性最常见的内分泌疾病之一,也是累及全身多系统的疾病。其诊断通常基于临床指标月经失调、Ferriman-Gallwey 得分、超声检查、肥胖症(BMI)及生化相关指标,如性激素六项、空腹血糖、空腹胰岛素等^[11]。目前,可以用来制备 PCOS 的动物模型主要有大鼠、小鼠、家兔和猴,根据模型的经济性、稳定性、标准性以及重复性原则,大鼠被选为常用动物^[4]。PCOS 模型建立以无排卵或偶发性排卵、性激素分泌紊乱、糖脂代谢异常、胰岛素抵抗、卵巢多囊性病理改变等为主要评价指标。本研究以近年来研究发现的胰岛素抵抗致 PCOS 代谢异常特征为主要关注点,并比较众多 PCOS 造模方法的实施难易程度、可复制性及与临床症状的吻合程度,从中优选了比较常用和适合的 PCOS-IR 造模方法:来曲唑法和经典的 Poresky 法。

来曲唑是一种新型芳香化酶抑制剂,其通过抑制体内雄激素向雌激素转化,导致体内雄激素增加,高雄激素血症不仅可以导致 IR,更是形成 PCOS 的基础^[12]。经典的 Poresky 法是胰岛素联合 HCG 法,利用外源性胰岛素刺激卵泡膜细胞和间质细胞合成雄激素,造成高雄激素血症;同时 HCG 是一种 LH 的类似物,能促使 LH 水平增加,阻碍卵泡颗粒细胞的正常有丝分裂,并且与胰岛素有协同作用,

共同加重高雄激素血症,导致排卵障碍,卵巢多囊样改变^[13]。因 PCOS-IR 患者大多表现为肥胖,相较于非肥胖型 PCOS 患者,肥胖型 PCOS 患者胰岛素抵抗表现更为严重^[14]。但是,单纯的来曲唑灌胃给药和胰岛素联合 HCG 注射给药难以造成动物肥胖,因此,本研究采用 5%葡萄糖液和高脂饲料饲养,促使动物肥胖,形成了更符合临床肥胖型 PCOS 特征的动物模型。文献调研发现,PCOS-IR 动物模型造模时长难以选择,蔡云等^[12]发现,30 d 来曲唑联合高脂饲料喂养可成功诱导出 PCOS-IR 大鼠模型;魏巍等^[15]研究表明,21 d 胰岛素联合 HCG 法和来曲唑法均可成功诱导大鼠 PCOS-IR 模型,且大鼠模型其生殖及代谢指标的变化前者更具优势;王丽珍等^[13]发现,8 周胰岛素联合 HCG 法联合高脂饲料才可成功诱导大鼠 PCOS-IR 模型。因造模时间长短不一,PCOS-IR 动物模型与临床特征吻合程度也存在差异,故本实验对两种不同方法和不同时间 PCOS-IR 动物模型各主要评价指标进行比较探讨。

研究结果显示,在造模第 23 天,来曲唑联合高脂饮食法和经典 Poresky 法联合高脂饮食基本能够诱导出 PCOS-IR 动物模型。在造模第 30 天,两种综合评价指标诱导 PCOS-IR 动物模型更接近 PCOS 临床特征,出现排卵障碍、LH、FSH 升高。与经典 Poresky 法相比,虽然来曲唑组大鼠血脂 TC 水平无显著变化,但体重明显增加,并出现显著的排卵障

碍,无偶发排卵现象,卵巢多囊性改变明显,性激素分泌更加紊乱,伴高雄激素血症。因此,来曲唑造模联合高脂饲料法在第 30 天更加符合临床肥胖型 PCOS-IR 特征。相比前人的研究,进一步丰富了肥胖型 PCOS-IR 动物造模方法的评价及选择,为后续药物研究模型的选择上提供更加有效的参考。

由于 PCOS 患者处于长期的慢性低度炎症状态,炎症反应目前被认为是 PCOS 性激素失衡和胰岛素抵抗的关键环节,体内升高的促炎性因子(TNF- α 和 IL-1 β 等)可进一步加剧胰岛素抵抗,加重代谢紊乱和卵巢功能障碍,形成恶性循环^[16-17]。临床研究显示,相比非肥胖型 PCOS-IR 患者,肥胖型 PCOS-IR 患者体内炎症因子 TNF- α 和 IL-1 β 等显著升高^[18-19]。因此,本实验对各组大鼠血清中 TNF- α 和 IL-1 β 的含量和卵巢中 TNF- α 和 IL-1 β mRNA 表达进行了检测,发现这些炎症因子水平均明显升高,这与临床报道一致。该实验通过对不同 PCOS-IR 动物模型的筛选与炎症机制的初探,为后续临床诊断和药物开发奠定良好的实验基础。

参 考 文 献(References)

- [1] Jeanes YM, Reeves S. Metabolic consequences of obesity and insulin resistance in polycystic ovary syndrome: diagnostic and methodological challenges [J]. *Nutr Res Rev*, 2017, 30(1): 97-105.
- [2] Barber TM, Dimitriadis GK, Andreou A, et al. Polycystic ovary syndrome: insight into pathogenesis and a common association with insulin resistance [J]. *Clin Med (Lond)*, 2016, 16(3): 262-266.
- [3] 王瑞杰,李晖,王自闯.补肾活血化痰方对多囊卵巢综合征模型大鼠的治疗作用机制研究[J].*中国药房*, 2017, 28(7): 899-902.
Wang RJ, Li H, Wang ZC. Study on the curative mechanism of Bushen Huoxue Huatan formula on polycystic ovarian syndrome model rats [J]. *Chin Pharm*, 2017, 28(7): 899-902.
- [4] 苗明三,闫晓丽,方晓艳,等.多囊卵巢综合征动物模型制备规范(草案)[J].*中华中医药杂志*, 2019, 34(6): 2576-2579.
Miao MS, Yan XL, Fang XY, et al. Specification for preparation of animal polycystic ovary syndrome models (draft) [J]. *Chin J Tradit Chin Med Pharm*, 2019, 34(6): 2576-2579.
- [5] Rosenfield RL, Ehrmann DA. The pathogenesis of polycystic ovary syndrome (PCOS): the hypothesis of PCOS as functional ovarian hyperandrogenism revisited [J]. *Endocr Rev*, 2016, 37(5): 467-520.
- [6] Wang Z, Zhai D, Zhang D, et al. Quercetin decreases insulin resistance in a polycystic ovary syndrome rat model by improving inflammatory microenvironment [J]. *Reprod Sci*, 2016, 24(5): 682-690.
- [7] Wang MX, Yin Q, Xu X. A rat model of polycystic ovary syndrome with insulin resistance induced by letrozole combined with high fat diet [J]. *Med Sci Monit*, 2020, 26: e922136.
- [8] Seow KM, Ting CH, Huang SW, et al. The use of dehydroepiandrosterone-treated rats is not a good animal model for the study of metabolic abnormalities in polycystic ovary syndrome [J]. *Taiwan J Obstet Gynecol*, 2018, 57(5): 696-704.
- [9] Zhang Y, Hu M, Meng F, et al. Metformin ameliorates uterine defects in a rat model of polycystic ovary syndrome [J]. *Ebiomedicine*, 2017, 18: 157-170.
- [10] Fu LL, Xu Y, Li DD, et al. Expression profiles of mRNA and long noncoding RNA in the ovaries of letrozole-induced polycystic ovary syndrome rat model through deep sequencing [J]. *Gene*, 2018, 657: 19-29.
- [11] Moghetti P. Insulin resistance and polycystic ovary syndrome [J]. *Curr Pharm Des*, 2016, 22(36): 5526-5534.
- [12] 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.
Cai Y, Xu X. Experimental study on establishment of rat model of polycystic ovary syndrome with insulin resistance by letrozole combined with high fat diet [J]. *J Capit Med Univ*, 2017, 38(2): 244-248.
- [13] 王丽珍,祝鸿发,朱妹妹,等.两种 PCOS 伴胰岛素抵抗大鼠动物模型构建与评价[J].*辽宁中医药大学学报*, 2017, 19(10): 139-143.
Wang LZ, Zhu HF, Zhu MM, et al. Construction and evaluation of two kinds of PCOS rats-IR animal model [J]. *J Liaoning Univ Tradit Chin Med*, 2017, 19(10): 139-143.
- [14] Behboudi GS, Ramezani TF, Rostami DM, et al. Insulin resistance in obesity and polycystic ovary syndrome: systematic review and meta-analysis of observational studies [J]. *Gynecol Endocrinol*, 2016, 32(5): 343-353.
- [15] 魏巍,徐泰安,王秋实,等.两种多囊卵巢综合征伴胰岛素抵抗大鼠模型比较研究[J].*哈尔滨医科大学学报*, 2019, 53(1): 12-16.
Wei W, Xu TA, Wang QS, et al. Comparison study of polycystic ovarian syndrome and insulin resistance rat models [J]. *J Harbin Med Univ*, 2019, 53(1): 12-16.
- [16] Patel S. Polycystic ovary syndrome (PCOS), an inflammatory, systemic, lifestyle endocrinopathy [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2018, 182: 27-36.
- [17] González F. Inflammation in polycystic ovary syndrome: Underpinning of insulin resistance and ovarian dysfunction [J]. *Steroids*, 2012, 77(4): 300-305.
- [18] Saray S, Almawi WY. Levels of CD40L and other inflammatory biomarkers in obese and non-obesewomen with polycystic ovary syndrome [J]. *Am J Reprod Immunol*, 2016, 76(4): 285-291.
- [19] Rey-Roldan E, Perez Lana MB, Galluzzo L, et al. Is the polycystic ovary syndrome the causative of the increase in inflammatory markers and metabolic risk? [J]. *Gynecol Endocrinol*, 2013, 29(2): 141-144.

[收稿日期] 2021-03-01