

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research金丝桃苷调节 AMPK/GSK3 β 信号通路对
多囊卵巢综合征大鼠胰岛素抵抗影响的研究Research of effects of hyperoside on insulin resistance in polycystic ovary syndrome rats by regulating AMPK/GSK3 β signaling pathway张爱萍¹, 赵得雄², 谢 玲³,
霍春霞³(1. 青海红十字医院 妇产科, 青海 西宁 810000;
2. 青海红十字医院 家庭化分娩区, 青海 西宁
810000; 3. 青海红十字医院 产科, 青海 西宁
810000)ZHANG Ai - ping¹,
ZHAO De - xiong²,
XIE Ling³, HUO Chun - xia³(1. Department of Obstetrics and
Gynecology, Qinghai Red Cross Hospital,
Xining 810000, Qinghai Province,
China; 2. Family Delivery Area, Qinghai
Red Cross Hospital, Xining 810000,
Qinghai, China; 3. Department of
Obstetrics, Qinghai Red Cross Hospital,
Xining 810000, Qinghai Province,
China)基金项目: 青海省科技基金资助项目 (2020 - ZJ
- 783); 青海省科技基金资助项目
(2016 - SF - 127)作者简介: 张爱萍 (1989 -), 女, 主治医师, 从事
妊娠期高血压疾病的临床工作和
研究

通信作者: 谢玲, 主任医师

MP: 18997285541

E - mail: xieling200873@126.com

摘要:目的 探讨金丝桃苷调节腺苷酸活化蛋白激酶 (AMPK)/糖原合酶激酶 3 β (GSK3 β) 信号通路对多囊卵巢综合征大鼠胰岛素抵抗的影响。方法

45 只雌性 SD 大鼠中随机选取 9 只作为正常组, 其余均构建多囊卵巢综合征模型, 并分为模型组 (等量蒸馏水)、低剂量实验组 ($0.7 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 金丝桃苷)、高剂量实验组 ($1.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 金丝桃苷) 和抑制剂组 ($1.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 金丝桃苷 + $0.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 抑制剂 Compound C), 每组 9 只。用血糖仪测量大鼠空腹血糖 (FBG), 用酶联免疫吸附实验 (ELISA) 测量空腹胰岛素 (FINS)、睾酮 (T)、促黄体激素 (LH)、促卵泡激素 (FSH)、雌二醇 (E2)、甘油三酯 (TG)、胆固醇 (CHO)、低密度脂蛋白 (LDL)、白细胞介素 - 6 (IL - 6) 和肿瘤坏死因子 - α (TNF - α) 水平, 并计算胰岛素抵抗指数 (HOMA - IR); 用苏木精 - 伊红 (HE) 染色检测卵巢组织病理变化; 用蛋白质印迹 (Western blot) 检测卵巢组织中 AMPK/GSK3 β 信号通路蛋白表达。结果 正常组、模型组、低剂量实验组、高剂量实验组和抑制剂组大鼠血清 FBG 水平分别为 (5.54 ± 0.69)、(7.32 ± 0.91)、(6.65 ± 0.82)、(5.97 ± 0.72) 和 (6.98 ± 0.85) $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$; 血清 FINS 水平分别为 (9.58 ± 1.39)、(15.87 ± 1.96)、(13.65 ± 1.62)、(11.42 ± 1.57) 和 (15.04 ± 1.85) $\text{mU} \cdot \text{L}^{-1}$; HOMA - IR 指数分别为 2.36 ± 0.43 、 5.16 ± 0.71 、 4.03 ± 0.47 、 3.03 ± 0.52 、 4.67 ± 0.68 ; 血清 TG 水平分别为 (0.68 ± 0.09)、(1.58 ± 0.18)、(1.27 ± 0.17)、(0.98 ± 0.13) 和 (1.46 ± 0.18) $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$; 血清 CHO 水平分别为 (0.76 ± 0.09)、(1.52 ± 0.18)、(1.24 ± 0.16)、(1.01 ± 0.14) 和 (1.41 ± 0.17) $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$; 血清 LDL 水平分别为 (1.62 ± 0.23)、(3.59 ± 0.46)、(3.06 ± 0.42)、(2.54 ± 0.31) 和 (3.38 ± 0.44) $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$; 血清 LH 水平分别为 (4.21 ± 0.57)、(9.48 ± 1.39)、(7.86 ± 0.96)、(6.25 ± 0.74) 和 (8.87 ± 1.18) $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$; 血清 FSH 水平分别为 (19.38 ± 2.52)、(8.27 ± 1.05)、(11.36 ± 1.42)、(14.65 ± 1.76) 和 (9.57 ± 1.48) $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$; 血清 T 水平分别为 (6.82 ± 0.95)、(13.86 ± 1.62)、(11.39 ± 1.48)、(8.98 ± 1.14) 和 (12.64 ± 1.53) $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$; 血清 E2 水平分别为 (1.02 ± 0.14)、(0.48 ± 0.07)、(0.72 ± 0.09)、(0.95 ± 0.13) 和 (0.61 ± 0.08) $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$; 血清 IL - 6 水平分别为 (53.46 ± 7.69)、(123.58 ± 18.32)、(98.39 ± 13.58)、(74.58 ± 9.37) 和 (114.27 ± 14.72) $\text{pg} \cdot \text{mg}^{-1}$; 血清 TNF - α 水平分别为 (43.74 ± 6.82)、(82.19 ± 10.46)、(66.39 ± 8.27)、(51.72 ± 7.24) 和 (73.54 ± 1.02) $\text{pg} \cdot \text{mg}^{-1}$; 卵巢组织中 p - AMPK/AMPK 相对蛋白表达水平分别为 0.79 ± 0.11 、 0.27 ± 0.04 、 0.49 ± 0.07 、 0.71 ± 0.09 和 0.38 ± 0.06 ; p - GSK3 β /GSK3 β 相对蛋白表达水平分别为 0.19 ± 0.04 、 0.68 ± 0.09 、 0.47 ± 0.07 、 0.28 ± 0.04 和 0.59 ± 0.08 。正常组与模型组、模型组与低剂量实验组、低剂量实验组与高剂量实验组、高剂量实验组与抑制剂组上述指标比较, 在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。结论 金丝桃苷通过调节 AMPK/GSK3 β 信号通路改善多囊卵巢综合征大鼠的胰岛素抵抗。

关键词: 金丝桃苷;腺苷酸活化蛋白激酶/糖原合酶激酶 3 β 信号通路;多囊卵巢综合征;胰岛素抵抗

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2026.02.004

中图分类号: R28 **文献标志码:** A

文章编号: 1001-6821(2026)02-0171-07

Abstract: Objective To explore the effect of hyperoside on insulin resistance in polycystic ovary syndrome rats by regulating adenosine monophosphate activated protein kinase (AMPK)/glycogen synthase kinase 3 β (GSK3 β) signaling pathway. **Methods** Nine female SD rats were randomly selected from 45 as the normal (NC) group (equal amount of distilled water), while the rest were used to construct a polycystic ovary syndrome model and grouped into model group (equal amount of distilled water), experimental - L group (0.7 mg $\cdot$ kg $^{-1}$ $\cdot$ d $^{-1}$ hyperoside), experimental - H group (1.5 mg $\cdot$ kg $^{-1}$ $\cdot$ d $^{-1}$ hyperoside), and inhibitor group (1.5 mg $\cdot$ kg $^{-1}$ $\cdot$ d $^{-1}$ hyperoside and 0.2 mg $\cdot$ kg $^{-1}$ $\cdot$ d $^{-1}$ Compound C), with nine rats in each group. The blood glucose meter was used to measure fasting blood glucose (FBG) in rats. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) method was used to measure fasting insulin (FINS), testosterone (T), luteinizing hormone (LH), follicle stimulating hormone (FSH), estradiol (E2), triglycerides (TG), cholesterol (CHO), low-density lipoprotein (LDL), interleukin-6 (IL-6), and tumor necrosis factor- α (TNF- α), and the homeostatic model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) was calculated. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to detect pathological changes in ovarian tissue. Western blot was used to measure AMPK/GSK3 β signaling pathway proteins in ovarian tissue. **Results** The serum FBG levels in NC group, model group, experimental - L group, experimental - H group and inhibitor group were (5.54 $\pm$ 0.69), (7.32 $\pm$ 0.91), (6.65 $\pm$ 0.82), (5.97 $\pm$ 0.72) and (6.98 $\pm$ 0.85) mmol $\cdot$ L $^{-1}$, respectively; the serum FINS levels were (9.58 $\pm$ 1.39), (15.87 $\pm$ 1.96), (13.65 $\pm$ 1.62), (11.42 $\pm$ 1.57) and (15.04 $\pm$ 1.85) mU $\cdot$ L $^{-1}$, respectively; HOMA-IR indexes were 2.36 $\pm$ 0.43, 5.16 $\pm$ 0.71, 4.03 $\pm$ 0.47, 3.03 $\pm$ 0.52 and 4.67 $\pm$ 0.68, respectively; the serum TG levels were (0.68 $\pm$ 0.09), (1.58 $\pm$ 0.18), (1.27 $\pm$ 0.17), (0.98 $\pm$ 0.13) and (1.46 $\pm$ 0.18) mmol $\cdot$ L $^{-1}$, respectively; the serum CHO levels were (0.76 $\pm$ 0.09), (1.52 $\pm$ 0.18), (1.24 $\pm$ 0.16), (1.01 $\pm$ 0.14) and (1.41 $\pm$ 0.17) mmol $\cdot$ L $^{-1}$, respectively; serum LDL levels were (1.62 $\pm$ 0.23), (3.59 $\pm$ 0.46), (3.06 $\pm$ 0.42), (2.54 $\pm$ 0.31) and (3.38 $\pm$ 0.44) mmol $\cdot$ L $^{-1}$, respectively; serum LH levels were (4.21 $\pm$ 0.57), (9.48 $\pm$ 1.39), (7.86 $\pm$ 0.96), (6.25 $\pm$ 0.74) and (8.87 $\pm$ 1.18) ng $\cdot$ mL $^{-1}$, respectively; serum FSH levels were (19.38 $\pm$ 2.52), (8.27 $\pm$ 1.05), (11.36 $\pm$ 1.42), (14.65 $\pm$ 1.76) and (9.57 $\pm$ 1.48) ng $\cdot$ mL $^{-1}$, respectively; the serum T levels were (6.82 $\pm$ 0.95), (13.86 $\pm$ 1.62), (11.39 $\pm$ 1.48), (8.98 $\pm$ 1.14) and (12.64 $\pm$ 1.53) ng $\cdot$ mL $^{-1}$, respectively; serum E2 levels were (1.02 $\pm$ 0.14), (0.48 $\pm$ 0.07), (0.72 $\pm$ 0.09), (0.95 $\pm$ 0.13) and (0.61 $\pm$ 0.08) ng $\cdot$ mL $^{-1}$, respectively; the serum IL-6 levels were (53.46 $\pm$ 7.69), (123.58 $\pm$ 18.32), (98.39 $\pm$ 13.58), (74.58 $\pm$ 9.37) and (114.27 $\pm$ 14.72) pg $\cdot$ mg $^{-1}$, respectively; serum TNF- α levels were (43.74 $\pm$ 6.82), (82.19 $\pm$ 10.46), (66.39 $\pm$ 8.27), (51.72 $\pm$ 7.24) and (73.54 $\pm$ 1.02) pg $\cdot$ mg $^{-1}$, respectively; the relative protein expression levels of p-AMPK/AMPK in ovarian tissues were 0.79 $\pm$ 0.11, 0.27 $\pm$ 0.04, 0.49 $\pm$ 0.07, 0.71 $\pm$ 0.09 and 0.38 $\pm$ 0.06, respectively; the relative protein expression levels of p-GSK3 β /GSK3 β were 0.19 $\pm$ 0.04, 0.68 $\pm$ 0.09, 0.47 $\pm$ 0.07, 0.28 $\pm$ 0.04 and 0.59 $\pm$ 0.08, respectively. Among the above indexes, there were all statistically significant differences between NC group and model group, model group and experimental - L group, experimental - L group and experimental - H group, experimental - H group and inhibitor group (all $P < 0.05$). **Conclusion** Hyperoside improves insulin resistance in polycystic ovary syndrome rats by regulating AMPK/GSK3 β signaling pathway.

Key words: hyperoside; adenosine monophosphate activated protein kinase/glycogen synthase kinase 3 β signaling pathway; polycystic ovary syndrome; insulin resistance

多囊卵巢综合征属于多基因调控的内分泌疾病,临床表现为高雄激素血症、排卵功能障碍、多囊卵巢

形态^[1],主要特征是卵泡生长停滞,形成了直径不超过10 mm的多发性皮质下卵泡“囊肿”的经典卵巢形

态学^[2]。在多囊卵巢综合征中,高雄激素血症和胰岛素抵抗很常见。越来越多的研究已经充分证明胰岛素抵抗和高胰岛素血症会导致患者雄激素分泌过多,而外周胰岛素抵抗(肌肉组织和脂肪组织均存在胰岛素抵抗)不仅是肥胖多囊卵巢综合征患者的一个特征,非肥胖的多囊卵巢综合征患者也可能存在胰岛素抵抗^[3]。金丝桃苷作为一种活性化合物,广泛存在于许多中草药中,属于黄酮醇苷类,具有抗炎、软化血管、利尿等生理活性^[4]。花椒叶中的金丝桃苷通过调节糖尿病小鼠胰腺细胞氧化还原状态恢复胰岛素分泌和线粒体功能^[5]。腺苷酸活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)在多囊卵巢综合征的发展中起着重要作用,当多囊卵巢中 AMPK 表达减少,AMPK 在人颗粒细胞中沉默时,类固醇生成酶的表达增加,从而导致雌二醇和孕酮的产生增加。此外,在小鼠模型中,抑制 AMPK 会加剧卵巢的多囊外观并损害排卵过程,AMPK 激活剂(如二甲双胍和白藜芦醇)可改善多囊卵巢综合征相关体征和症状^[6]。糖原合酶激酶 3 β (glycogen synthase kinase 3 beta, GSK3 β)基因在多囊卵巢综合征患者的卵母细胞中表现出高表达,GSK3 β 的异常表达与多囊卵巢综合征的发病机制有关^[7]。已有研究表明,木犀草素能够显著改善多囊卵巢综合征大鼠激素水平,调节胰岛素抵抗,改善卵巢氧化损伤及病理改变,其机制可能与调节 AMPK/GSK3 β 通路有关^[8]。因此,本研究旨在探究金丝桃苷是否能够调节多囊卵巢综合征大鼠的胰岛素抵抗,并验证 AMPK/GSK3 β 信号通路在其中的作用。

材料与方法

1 材料

实验动物 3 周龄雌性 SD 大鼠,体质量 40~80 g,购自湖北贝恩特生物科技有限公司,动物生产许可证号:SCXK(鄂)2021-0027,动物使用许可证号为:SYXK(鄂)2021-0119。大鼠在室温(25 $\pm$ 2 $^{\circ}$ C)下适应性饲养 1 周,控制光照/黑暗周期,分别在 06:00 和 18:00 开启和关闭,可自由进食和饮水。本研究获青海红十字医院实验动物伦理委员会批准,伦理批号:2024-09-0280。

试剂 金丝桃苷,规格:500 mg,纯度:HPLC $\geq$ 98%,批号:WKQ-0000309,四川省维克奇生物科技有限公司生产;来曲唑,规格:500 mg,纯度:99.95%,批号:HY-14248、Compound C,规格:500 mg,纯度:

99.28%,批号:HY-13418A,均由美国 Med Chem Express 公司生产;大鼠甘油三酯(triglyceride, TG)酶联免疫吸附实验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒、大鼠胆固醇(total cholesterol, CHO)ELISA 试剂盒、大鼠低密度脂蛋白(low-density lipoprotein cholesterol, LDL)ELISA 试剂盒、大鼠白介素 6(interleukin-6, IL-6)ELISA 试剂盒、大鼠肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)ELISA 试剂盒,均由湖北武汉赛培生物科技有限公司生产;大鼠胰岛素(insulin, INS)ELISA 检测试剂盒,上海将来实业股份有限公司生产;大鼠睾酮(testosterone, T)ELISA 试剂盒、大鼠黄体生成素(luteinizing hormone, LH)ELISA 试剂盒,均由湖北武汉菲恩生物科技有限公司生产;大鼠雌二醇(estradiol, E2)ELISA 试剂盒,湖北科鹿(武汉)生物科技有限责任公司生产;大鼠促卵泡激素(follicle-stimulating hormone, FSH)ELISA 试剂盒,生工生物工程(上海)股份有限公司生产;苏木素伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色液,北京雷根生物技术有限公司生产;快速瑞氏-姬姆萨复合染色液,江苏南京建成生物工程研究所有限公司生产;增强型化学发光试剂(enhanced chemiluminescence, ECL)发光液,批号:MI00607B,购自米鼠(西安)生物科技有限公司;AMPK 抗体、GSK3 β 抗体、磷酸化(phosphorylation, p)-AMPK 抗体、 β -actin 抗体及辣根过氧化物酶(Horseradish Peroxidase, HRP)羊抗兔免疫球蛋白 G(Immunoglobulin G, IgG)二抗(ab205718),均由美国 abcam 公司生产;p-GSK3 β 抗体(5558T),美国 Cell Signaling Technology 公司生产。

仪器 NB-IoT 5G 动物血糖仪,浙江杭州微策生物科技股份有限公司产品;XF101 一体式化学发光成像系统,上海雅酶生物医药科技有限公司产品;CX33 正置金相显微镜,日本奥林巴斯株式会社产品;HM-96A 全自动酶标仪,山东恒美电子科技有限公司产品。

2 实验方法

2.1 多囊卵巢综合征大鼠模型的构建及分组

45 只大鼠随机取 9 只作为正常对照组,剩余 36 只大鼠进行多囊卵巢综合征模型构建,除高脂饮食(含有 61.5% 普通饲料、12% 猪油、5% 蔗糖、5% 奶粉、5% 花生、10% 鸡蛋、1% 芝麻油、0.5% 盐)外,每天上午 10 点口服来曲唑(1 mg $\cdot$ kg $^{-1}$,溶于 0.5% 羧甲基纤维素钠),正常对照组大鼠,饲喂标准饮食,每天上午 10 点用 0.5% 羧甲基纤维素钠灌胃,连续 21 d^[9]。21 d 后收集大鼠阴道细胞,涂片,用瑞氏-姬姆萨复合

染色液染色,连续两个发情周期发现阴道脱落角质化细胞,则造模成功。造模成功的大鼠分为4组:模型组、低剂量实验组、高剂量实验组、抑制剂组,每组9只。将金丝桃苷溶于蒸馏水中,低剂量实验组、高剂量实验组和抑制剂组分别以 $0.7 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 、 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 、 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 的剂量灌胃给药^[10],抑制剂组同时尾静脉注射 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ AMPK 抑制剂 Compound C^[11],正常对照组和模型组灌胃等量蒸馏水,给药4周。

2.2 胰岛素抵抗指数测定^[9]

大鼠末次给药后禁食12 h,从尾静脉采血,用血糖仪测量空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)水平,ELISA试剂盒测量空腹胰岛素(fasting insulin, FINS)水平。胰岛素抵抗指数(homeostatic model assessment of insulin resistance, HOMA-IR)按以下公式计算: $\text{FBG}(\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}) \times \text{FINS}(\text{mU} \cdot \text{L}^{-1}) / 22.5$ 。

2.3 ELISA 法分析血清生化指标^[9]

大鼠腹主动脉收集血液,并在室温下凝结4 h。然后将血样在 4°C 下以 $3\,500 \text{ rpm}$ 离心15 min,然后将血清小心地转移到新鲜的离心管中进行进一步分析。按照制造商的说明,使用ELISA试剂盒测量血清中脂质代谢指标TG、CHO、LDL及性激素T、LH、FSH、E2水平进行定量分析。保留剩余血清样品,在 -80°C 下储存以备进一步实验。

2.4 ELISA 法测定 IL-6 和 TNF- α 水平^[11]

使用市售的ELISA试剂盒并按照试剂盒说明书的要求对大鼠血清进行IL-6和TNF- α 水平的测定。

2.5 HE 染色法检测卵巢组织病理变化^[8]

对所有大鼠实施安乐死,并每组取3只大鼠卵巢组织进行石蜡包埋,切成 $4 \mu\text{m}$ 的切片,在二甲苯中脱蜡,用乙醇复水,并用苏木素染色液染色5 min,自来水冲洗两次,蓝化并脱水,伊红染色液染色1 min,脱水,透明,封片。通过显微镜观察和分析每个样本的组织学特征。

2.6 蛋白质印迹实验(Western blot)法检测 AMPK 和 GSK3 β 蛋白表达^[4]

将每组剩余6只大鼠卵巢组织在放射免疫沉淀法裂解缓冲液中以 1 mg 组织对 $100 \mu\text{L}$ 缓冲液的比例进行均质处理,通过二喹啉甲酸法测量提取物中的蛋白质水平,将等份试样在10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳并转印到聚偏二氟乙烯膜上。将膜与5%脱脂牛奶在含有0.1% Tween-20的Tris缓冲盐水中孵育以封闭,然后在 4°C 下与一抗(AMPK、

GSK3 β 、p-AMPK、p-GSK3 β 、 β -actin)孵育过夜。洗涤后,将印迹膜与二抗在室温下孵育2 h。通过ECL增强化学发光可视化蛋白质,并用化学发光成像系统进行检测。用Image-Pro Plus 6.0软件定量,计算蛋白质的相对表达量。

3 统计学处理

用SPSS 25.0软件分析实验数据,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间的比较用单因素方差分析,进一步两组间比较采用Tukey检验。

结 果

1 各组大鼠 FBG 和 FINS 水平、HOMA-IR 比较

与正常对照相比,模型组大鼠FBG和FINS水平、HOMA-IR均显著升高(均 $P < 0.05$);与模型相比,高剂量实验组大鼠FBG水平显著降低,低、高剂量实验组大鼠FINS水平、HOMA-IR均显著降低(均 $P < 0.05$);与低剂量实验组相比,高剂量实验组FINS水平、HOMA-IR均显著降低(均 $P < 0.05$);与高剂量实验组相比,抑制剂组大鼠FINS水平、HOMA-IR均显著升高(均 $P < 0.05$),见表1。

表1 各组大鼠FBG和FINS水平、HOMA-IR的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of FBG, FINS levels and HOMA-IR of rats in each group($\bar{x} \pm s$)

Group	n	FBG ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	FINS ($\text{mU} \cdot \text{L}^{-1}$)	HOMA-IR
NC	9	5.54 ± 0.69	9.58 ± 1.39	2.36 ± 0.43
Model	9	$7.32 \pm 0.91^*$	$15.87 \pm 1.96^*$	$5.16 \pm 0.71^*$
Experimental-L	9	6.65 ± 0.82	$13.65 \pm 1.62^\#$	$4.03 \pm 0.47^\#$
Experimental-H	9	$5.97 \pm 0.72^\#$	$11.42 \pm 1.57^\#$	$3.03 \pm 0.52^\#$
Inhibitor group	9	6.98 ± 0.85	$15.04 \pm 1.85^\oplus$	$4.67 \pm 0.68^\oplus$

NC group: No special treatment; Model group: Constructing a polycystic ovary syndrome (PCOS) model; Experimental-L group: Modeling and $0.7 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ hyperoside; Experimental-H group: Modeling and $1.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ hyperoside; Inhibitor group: Modeling, $1.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ hyperoside and $0.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ Compound C; Compared with NC group, $^*P < 0.05$; Compared with model group, $^\#P < 0.05$; Compared with experimental-L group, $^\oplus P < 0.05$; Compared with experimental-H group, $^\oplus P < 0.05$.

2 各组大鼠血清脂质代谢指标检测的比较

与正常对照组比较,模型组大鼠TG、CHO和LDL水平均显著升高(均 $P < 0.05$);与模型组比较,低、高剂量实验组大鼠TG、CHO和LDL水平均显著降低(均 $P < 0.05$);与低剂量实验组比较,高剂量实验组大鼠TG、CHO和LDL水平均显著降低(均 $P < 0.05$);

与高剂量实验组比较,抑制剂组大鼠 TG、CHO 和 LDL 水平均显著升高(均 $P < 0.05$),见表 2。

3 各组大鼠血清激素水平的比较

与正常对照组相比,模型组大鼠 LH 和 T 水平均显著升高,E2 和 FSH 水平均显著降低(均 $P < 0.05$);与模型组相比,低、高剂量实验组大鼠 LH 和 T 水平均显著降低,E2 和 FSH 水平均显著升高(均 $P < 0.05$);与低剂量实验组相比,高剂量实验组大鼠 LH 和 T 水平均显著降低,E2 和 FSH 水平均显著升高(均 $P < 0.05$);与高剂量实验组相比,抑制剂组大鼠血清 LH 和 T 水平均显著升高,E2 和 FSH 水平均显著降低(均 $P < 0.05$),见表 3。

表 3 各组大鼠黄体生成素(LH)、促卵泡激素(FSH)、睾酮(T)和雌二醇(E2)水平的比较($\bar{x} \pm s$, $n = 9$)

Table 3 Comparison of serum luteinizing hormone (LH), follicle-stimulating hormone (FSH), testosterone (T) and estradiol (E2) levels of rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 9$)

Group	LH (ng · mL ⁻¹)	FSH (ng · mL ⁻¹)	T (ng · mL ⁻¹)	E2 (ng · mL ⁻¹)
NC	4.21 ± 0.57	19.38 ± 2.52	6.82 ± 0.95	1.02 ± 0.14
Model	9.48 ± 1.39 [*]	8.27 ± 1.05 [*]	13.86 ± 1.62 [*]	0.48 ± 0.07 [*]
Experimental - L	7.86 ± 0.96 [#]	11.36 ± 1.42 [#]	11.39 ± 1.48 [#]	0.72 ± 0.09 [#]
Experimental - H	6.25 ± 0.74 ^{#&}	14.65 ± 1.76 ^{#&}	8.98 ± 1.14 ^{#&}	0.95 ± 0.13 ^{#&}
Inhibitor	8.87 ± 1.18 [@]	9.57 ± 1.48 [@]	12.64 ± 1.53 [@]	0.61 ± 0.08 [@]

Dose and n refer to table 1. Compared with NC group, ^{*} $P < 0.05$; Compared with model group, [#] $P < 0.05$; Compared with experimental - L group, [&] $P < 0.05$; Compared with experimental - H group, [@] $P < 0.05$.

4 各组大鼠血清 IL-6 和 TNF-α 水平的比较

与正常对照组相比,模型组大鼠 IL-6 和 TNF-α 水平均显著升高(均 $P < 0.05$);与模型组比较,低、高剂量实验组大鼠 IL-6 和 TNF-α 水平均显著降低(均 $P < 0.05$);与低剂量实验组比较,高剂量实验组大鼠 IL-6 和 TNF-α 水平均显著降低(均 $P < 0.05$);与高剂量实验组比较,抑制剂组大鼠 IL-6 和 TNF-α 水平均显著升高(均 $P < 0.05$),见表 4。

表 4 各组大鼠血清白细胞介素 6 (IL-6) 和肿瘤坏死因子 α (TNF-α) 水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of serum interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor-α (TNF-α) levels in rats in each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	IL-6 (pg · mg ⁻¹)	TNF-α (pg · mg ⁻¹)
NC	53.46 ± 7.69	43.74 ± 6.82
Model	123.58 ± 18.32 [*]	82.19 ± 10.46 [*]
Experimental - L	98.39 ± 13.58 [#]	66.39 ± 8.27 [#]
Experimental - H	74.58 ± 9.37 ^{#&}	51.72 ± 7.24 ^{#&}
Inhibitor	114.27 ± 14.72 [@]	73.54 ± 1.02 [@]

Dose and n refer to table 1. Compared with NC group, ^{*} $P < 0.05$; Compared with model group, [#] $P < 0.05$; Compared with experimental - L group, [&] $P < 0.05$; Compared with experimental - H group, [@] $P < 0.05$.

表 2 各组大鼠脂质代谢指标水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of lipid metabolism index levels in rats in each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	TG (mmol · L ⁻¹)	CHO (mmol · L ⁻¹)	LDL (mmol · L ⁻¹)
NC	0.68 ± 0.09	0.76 ± 0.09	1.62 ± 0.23
Model	1.58 ± 0.18 [*]	1.52 ± 0.18 [*]	3.59 ± 0.46 [*]
Experimental - L	1.27 ± 0.17 [#]	1.24 ± 0.16 [#]	3.06 ± 0.42 [#]
Experimental - H	0.98 ± 0.13 ^{#&}	1.01 ± 0.14 ^{#&}	2.54 ± 0.31 ^{#&}
Inhibitor group	1.46 ± 0.18 [@]	1.41 ± 0.17 [@]	3.38 ± 0.44 [@]

Dose and n refer to table 1. TG: Triglyceride; CHO: Total cholesterol; LDL: Low-density lipoprotein cholesterol; Compared with NC group, ^{*} $P < 0.05$; Compared with model group, [#] $P < 0.05$; Compared with experimental - L group, [&] $P < 0.05$; Compared with experimental - H group, [@] $P < 0.05$.

5 各组大鼠卵巢组织病理变化

正常对照组卵巢显示正常卵泡细胞、成熟卵泡和黄体;模型组卵巢囊泡变性、颗粒细胞层减少、卵母细胞丢失、黄体减少;与模型组相比,低剂量实验组和高剂量实验组卵巢囊泡变性减少、颗粒细胞层增多、卵母细胞增多、黄体增多;与高剂量实验组相比,抑制剂组卵巢囊泡增加,颗粒细胞和黄体减少,见图 1。

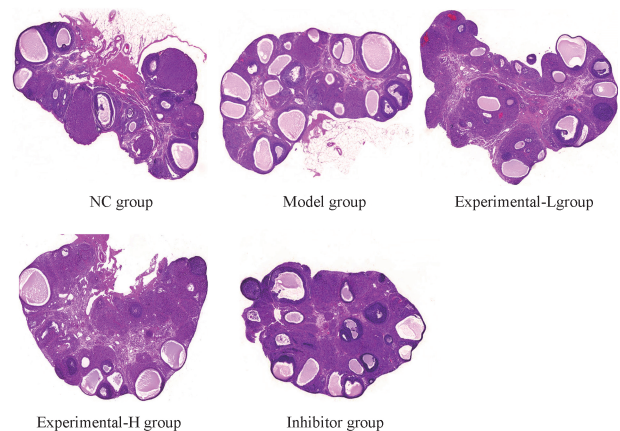


图 1 苏木精伊红(HE)染色检测大鼠卵巢组织(×10)

Figure 1 Detection of rat ovarian tissue by hematoxylin-eosin (HE) staining (×10)

6 各组大鼠卵巢组织 AMPK 和 GSK3 β 蛋白表达比较

与正常对照组相比,模型组大鼠卵巢组中 p-AMPK 蛋白表达降低、p-GSK3 β 蛋白表达提高(均 $P < 0.05$);与模型组相比,低剂量实验组大鼠卵巢组织 p-AMPK 蛋白表达提高、p-GSK3 β 蛋白表达降低(均 $P < 0.05$);与模型组和低剂量实验组相比,高剂量实验组大鼠卵巢组织 p-AMPK 蛋白表达提高、p-GSK3 β 蛋白表达降低(均 $P < 0.05$);与高剂量实验组相比,抑制剂组大鼠卵巢组织 p-AMPK 蛋白表达降低、p-GSK3 β 蛋白表达提高(均 $P < 0.05$),见图 2 和表 5。

表 5 各组大鼠卵巢组织中腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)、糖原合酶激酶 3 β (GSK3 β)、磷酸化(p)-AMPK、p-GSK3 β 蛋白表达比较($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Comparison of adenosine monophosphate activated protein kinase (AMPK), glycogen synthase kinase 3 β (GSK3 β), phosphorylated (p)-AMPK, and p-GSK3 β protein expression in rat ovarian tissues in each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	p-AMPK/AMPK	p-GSK3 β /GSK3 β
NC	6	0.79 $\pm$ 0.11	0.19 $\pm$ 0.04
PCOS	6	0.27 $\pm$ 0.04 *	0.68 $\pm$ 0.09 *
Experimental - L	6	0.49 $\pm$ 0.07 #	0.47 $\pm$ 0.07 #
Experimental - H	6	0.71 $\pm$ 0.09 #&	0.28 $\pm$ 0.04 #&
Inhibitor	6	0.38 $\pm$ 0.06 @	0.59 $\pm$ 0.08 @

Dose refer to table 1. Compared with NC group, * $P < 0.05$; Compared with model group, # $P < 0.05$; Compared with experimental - L group, & $P < 0.05$; Compared with experimental - H group, @ $P < 0.05$.

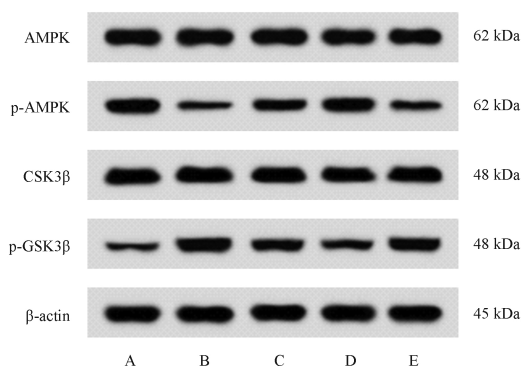


图 2 Western blot 检测大鼠卵巢组织中 AMPK、GSK3 β 、p-AMPK、p-GSK3 β 蛋白表达

Figure 2 Detection of AMPK, GSK3 β , p-AMPK, and p-GSK3 β protein expression in rat ovarian tissue by Western blot A: NC group; B: Model group; C: Experimental - L group; D: Experimental - H group; E: Inhibitor group

讨 论

多囊卵巢综合征发病率约 10%, 诊断依据是至少存在以下三个标准中的两个特征: 高雄激素血症、排卵稀少或无排卵以及多囊卵巢^[12]。胰岛素抵抗和代偿性高胰岛素血症在多囊卵巢综合征的发生发展中起重要作用, 导致患者病情持续加重。多囊卵巢综合征通常发生于青春期, 是女性不孕的主要原因, 近年来发病率逐年升高, 是严重危害妇女身心健康的常见疾病之一^[13]。除了生殖功能障碍外, 多囊卵巢综合征常常与糖脂代谢紊乱和慢性低度炎症有关, 尤其是患者炎症细胞因子 IL-6 水平较高^[14]。

金丝桃苷又称槲皮素-3-O- β -D-半乳糖苷, 具有抗炎、抗氧化、降血糖、抗抑郁、抗肿瘤、抗癌、改善心血管功能、保护肝脏、调节免疫系统等生物活性^[15]。已有研究表明, 金丝桃苷是许多抗肥胖植物的主要成分, 是一种混合型脂肪酶抑制剂, 改变脂肪酶的二级构象, 增加 α -螺旋含量, 改变脂肪酶的微环境, 可保护高脂饮食诱导的大鼠肝脏脂质蓄积和脂肪组织肥大, 并降低炎症因子的表达, 且金丝桃苷对血清脂肪酶活性有良好的抑制作用, 减少脂质的吸收^[16]。金丝桃属中的黄酮类化合物可增强胰岛素抵抗的肝癌细胞的葡萄糖消耗并减轻脂质积累, 其中, 槲皮素-3-O-(4"-甲氧基)- α -L-氨基吡喃糖苷和金丝桃苷对糖脂代谢疾病具有潜在的治疗作用^[17]。本研究中, 模型组大鼠 FBG、FINS 水平和 HOMA-IR 升高, 脂质代谢指标 TG、CHO、LDL 以及性激素 LH、T 水平均升高, E2 和 FSH 水平降低, 炎症因子 IL-6 和 TNF- α 水平也升高, 卵巢囊泡变性、颗粒细胞层减少、卵母细胞丢失、黄体减少; 而金丝桃苷给药后可降低多囊卵巢综合征大鼠的 FINS 水平和 HOMA-IR, 改善胰岛素抵抗和脂质代谢紊乱, 减轻卵巢组织囊性症状和性激素变化, 且高剂量优于低剂量; 提示金丝桃苷可能有望作为多囊卵巢综合征的治疗药物。

在葡萄糖代谢的调节中, 有多种信号分子参与, Wnt3a 配体与 Frizzled 受体结合抑制 GSK-3 β 活性, 从而激活 AMPK, 增强能量效应^[18]。此外, AMPK 通过调节蛋白激酶 B 活性或抑制 GSK-3 β 的去磷酸化在控制 GSK-3 β 磷酸化方面起着至关重要的作用^[19]。苦苣提取物通过 AMPK/Akt/GSK-3 β 信号通路增强糖尿病肝脏和 HepG2 细胞培养中的葡萄糖稳态^[20]。萝卜硫素预防 2 型糖尿病引起的肾病可能是

通过调控 AMPK α 2 介导的脂质代谢和 Nrf2 通过 AMPK/AKT/GSK-3 β /Src 家族酪氨酸激酶途径的激活^[21]。因此本研究通过检测 p-AMPK 和 p-GSK3 β 蛋白表达,探究 AMPK/GSK3 β 信号通路是否参与介导金丝桃苷的作用机制,结果表明,模型组大鼠卵巢组织中 p-AMPK 蛋白表达降低、GSK3 β 蛋白表达升高;金丝桃苷能够提高 p-AMPK 蛋白表达、降低 GSK3 β 蛋白表达;AMPK 抑制剂降低 p-AMPK 蛋白表达后,金丝桃苷对 PCOS 大鼠的治疗作用被消除,提示金丝桃苷对多囊卵巢综合征大鼠的治疗作用需要调节 AMPK/GSK3 β 通路。

综上所述,金丝桃苷通过调节 AMPK/GSK3 β 信号通路改善多囊卵巢综合征大鼠胰岛素抵抗。本研究表明金丝桃苷可调控机体代谢并对多囊卵巢综合征发挥治疗作用,其效应依赖 AMPK/GSK3 β 通路介导。然而,AMPK 与 GSK-3 β 的相互调节作用在很大程度上仍然未知,仍然需要进一步探究。

参考文献:

- [1] MA C, XIANG Q, SONG G, *et al.* Quercetin and polycystic ovary syndrome [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13(1):1006678.
- [2] HENRÍQUEZ S, KOHEN P, XU X, *et al.* Significance of pro-angiogenic estrogen metabolites in normal follicular development and follicular growth arrest in polycystic ovary syndrome [J]. *Hum Reprod*, 2020, 35(7):1655—1665.
- [3] GU Y, ZHOU G, ZHOU F, *et al.* Life Modifications and PCOS: Old Story But New Tales [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2022, 13(1):808898.
- [4] XU T, WU X, ZHOU Z, *et al.* Hyperoside ameliorates periodontitis in rats by promoting osteogenic differentiation of BMSCs via activation of the NF- κ B pathway [J]. *FEBS Open Bio*, 2020, (9):1843—1855.
- [5] ZHANG Y, YU X, WANG M, *et al.* Hyperoside from *Z. bungeanum* leaves restores insulin secretion and mitochondrial function by regulating pancreatic cellular redox status in diabetic mice [J]. *Free Radic Biol Med*, 2021, 162(1):412—422.
- [6] JALIL AT, ZAIR MA, HANTHAL ZR, *et al.* Role of the AMP-Activated Protein Kinase in the Pathogenesis of Polycystic Ovary Syndrome [J]. *Indian J Clin Biochem*, 2024, 39(4):450—458.
- [7] ISMAIL AB, NAJI M'S, NEBIH I, *et al.* The expression profile of WNT/ β -catenin signalling genes in human oocytes obtained from polycystic ovarian syndrome (PCOS) patients [J]. *Zygote*, 2022, 30(4):536—542.
- [8] 路璐, 冯晓玲, 马堃. 木犀草素通过 AMPK/GSK3 β 通路调节多囊卵巢综合征大鼠内分泌的研究 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2024, 40(23):3424—3428.
- [9] WANG J, HUANG Z, CAO Z, *et al.* Loureirin B Reduces Insulin Resistance and Chronic Inflammation in a Rat Model of Polycystic Ovary Syndrome by Upregulating GPR120 and Activating the LKB1/AMPK Signaling Pathway [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(20):11146.
- [10] WANG S, SHENG F, ZOU L, *et al.* Hyperoside attenuates non-alcoholic fatty liver disease in rats via cholesterol metabolism and bile acid metabolism [J]. *J Adv Res*, 2021, 34(1):109—122.
- [11] ZHOU B, ZHANG J, CHEN Y, *et al.* Puerarin protects against sepsis-induced myocardial injury through AMPK-mediated ferroptosis signaling [J]. *Aging (Albany NY)*, 2022, 14(8):3617—3632.
- [12] RECKELHOFF J F, SHAWKY N M, ROMERO D G, *et al.* Polycystic Ovary Syndrome: Insights from Preclinical Research [J]. *Kidney360*, 2022, 3(8):1449—1457.
- [13] MA N, ZHOU J, ZHOU Z, *et al.* Effects of UBE3A on the insulin resistance in polycystic ovary syndrome through the ubiquitination of AMPK [J]. *BMC Endocr Disord*, 2023, 23(1):152.
- [14] ZUO L, HAI Y, ZHANG R, *et al.* Therapeutic potential of icariin in rats with letrozole and high-fat diet-induced polycystic ovary syndrome [J]. *Eur J Pharmacol*, 2023, 953:175825. 2023-06-01 [2025-08-07]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37269973/>.
- [15] JI L, SHI W, LI Y, *et al.* Systematic identification, fragmentation pattern, and metabolic pathways of hyperoside in rat plasma, urine, and feces by UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS [J]. *J Anal Methods Chem*, 2022, 22:2623018. 2022-09-13 [2025-08-07]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36147195/>.
- [16] ZHANG X, LI D, WANG K, *et al.* Hyperoside inhibits pancreatic lipase activity *in vitro* and reduces fat accumulation *in vivo* [J]. *Food Funct*, 2023, 14(10):4763—4776.
- [17] DUAN J Y, CHEN W, ZHAO Y Q, *et al.* Flavonoids from *Hypericum patulum* enhance glucose consumption and attenuate lipid accumulation in HepG2 cells [J]. *J Food Biochem*, 2021, 45(9):e13898. 2021-08-11 [2025-08-07]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34378802/>.
- [18] ZHANG S, LACHANCE B B, MATTSON M P, *et al.* Glucose metabolic crosstalk and regulation in brain function and diseases [J]. *Prog Neurobiol*, 2021, 204(1):102089.
- [19] ZHU P, ZHANG JJ, CEN Y, *et al.* High Endogenously Synthesized N-3 Polyunsaturated Fatty Acids in Fat-1 Mice Attenuate High-Fat Diet-Induced Insulin Resistance by Inhibiting NLRP3 Inflammasome Activation via Akt/GSK-3 β /TXNIP Pathway [J]. *Molecules*, 2022, 27(19):6384.
- [20] CHEN L, LIN X, FAN X, *et al.* Sonchus oleraceus Linn extract enhanced glucose homeostasis through the AMPK/Akt/GSK-3 β signaling pathway in diabetic liver and HepG2 cell culture [J]. *Food Chem Toxicol*, 2020, 136(1):111072.
- [21] LI Z, GUO H, LI J, *et al.* Sulforaphane prevents type 2 diabetes-induced nephropathy via AMPK-mediated activation of lipid metabolic pathways and Nrf2 antioxidative function [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2020, 134(18):2469—2487.

(本文编辑:崔兰卿 收稿日期 2025-08-07)