

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research基于方剂反证策略的多囊卵巢综合征
肾虚血瘀证大鼠模型构建与评价

Construction and evaluation of polycystic ovary syndrome rat model with kidney deficiency and blood stasis based on prescription counter-evidence strategy

李泉洋¹, 郝亚芳¹, 吴国泰^{1,2},
杜丽东^{1,2}, 王瑞琼^{1,2}(1. 甘肃中医药大学药学院, 甘肃 兰州 730000;
2. 甘肃省中药药理与毒理学重点实验室, 甘肃
兰州 730000)LI Quan-yang¹, HAO Ya-fang¹,
WU Guo-tai^{1,2}, DU Li-dong^{1,2},
WANG Rui-qiong^{1,2}(1. College of Pharmacy, Gansu
University of Chinese Medicine, Lanzhou
730000, Gansu Province, China; 2. Key
Laboratory of Pharmacology and
Toxicology for Traditional Chinese
Medicine of Gansu Province, Lanzhou
730000, Gansu Province, China)**基金项目:**国家自然科学基金地区基金资助项目(81660653); 甘肃省自然科学基金资助项目(22JR11RA588); 甘肃省创新基地和人才计划基金资助项目(21JR11RA191); 甘肃省青年博士基金资助项目(2021QB-074); 甘肃省人民医院内科研基金资助项目(21GSSYB-37)**作者简介:**李泉洋(1999-), 男, 硕士研究生, 主要从事中药药理与毒理学的相关研究**通信作者:**王瑞琼, 副教授, 硕士生导师
Tel: (0931) 5161177
E-mail: wrq@gszy.edu.cn

摘要:目的 建立多囊卵巢综合征(PCOS)肾虚血瘀证病证结合动物模型, 并对其评价。方法 将SD大鼠随机分为正常组、PCOS组、模型组和方剂反证组, 每组10只。正常组每日灌胃给予 $1\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的1%羧甲基纤维素钠水溶液; PCOS组每日灌胃给予 $1\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的来曲唑; 模型组在PCOS组的基础上, 自第21天起每日皮下注射 $0.6\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的盐酸肾上腺素溶液, 连续注射2周; 方剂反证组在模型组的基础上, 自第21天起每日灌胃给予 $12.51\text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的朱氏调经汤2周。干预35 d后, 比较各组大鼠的卵巢指数、睾酮、维生素D、全血黏度低切值等指标。结果 正常组、PCOS组、模型组和方剂反证组的卵巢指数分别为 $(6.39 \pm 0.58) \times 10^{-4}$ 、 $(5.32 \pm 0.71) \times 10^{-4}$ 、 $(5.05 \pm 0.29) \times 10^{-4}$ 和 $(8.17 \pm 0.65) \times 10^{-4}$, 睾酮水平分别为 (7.10 ± 0.97) 、 (9.22 ± 0.43) 、 (9.06 ± 1.21) 和 $(7.73 \pm 0.76)\text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 维生素D水平分别为 (1850.98 ± 227.95) 、 (986.10 ± 152.50) 、 (1220.67 ± 64.35) 和 $(1598.20 \pm 294.75)\text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 全血黏度低切值分别为 (13.00 ± 1.79) 、 (13.37 ± 0.54) 、 (16.38 ± 1.51) 和 $(11.43 \pm 2.77)\text{ mPa} \cdot \text{s}$ 。模型组的上述指标与方剂反证组和正常组比较, 在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。结论 用来曲唑联合盐酸肾上腺素的方式可以稳定复制具有肾虚血瘀证候特征的PCOS大鼠模型。

关键词:来曲唑; 盐酸肾上腺素; 多囊卵巢综合征; 肾虚血瘀; 动物模型**DOI:**10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.08.011**中图分类号:**R28 **文献标志码:**A**文章编号:**1001-6821(2025)08-1108-06

Abstract: Objective To establish an animal model of polycystic ovary syndrome (PCOS) characterized by kidney deficiency and blood stasis, and to evaluate its efficacy. **Methods** SD rats were randomly divided into normal group, PCOS group, model group and formula counter-evidence group, with 10 rats in each group. The normal group was given $1\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 1% sodium carboxymethyl cellulose daily by intragastric administration; PCOS group was given $1\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ letrozole daily by intragastric administration; on the basis of PCOS group, the model group was injected subcutaneously with $0.6\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ epinephrine hydrochloride solution daily for 2 weeks from day 21. On the basis of the model group, the formula counter-evidence group was given $12.51\text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ Zhu's Tiaojing decoction daily for 2 weeks from the 21st day. After 35 days of intervention, the indexes of ovarian index, testosterone, vitamin D and whole blood low shear rate were compared. **Results** The

ovarian indexes of normal, PCOS, model and formula counter-evidence groups were $(6.39 \pm 0.58) \times 10^{-4}$, $(5.32 \pm 0.71) \times 10^{-4}$, $(5.05 \pm 0.29) \times 10^{-4}$ and $(8.17 \pm 0.65) \times 10^{-4}$; testosterone concentrations were (7.10 ± 0.97) , (9.22 ± 0.43) , (9.06 ± 1.21) and $(7.73 \pm 0.76) \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$; vitamin D levels were $(1\ 850.98 \pm 227.95)$, (986.10 ± 152.50) , $(1\ 220.67 \pm 64.35)$ and $(1\ 598.20 \pm 294.75) \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$; whole blood low shear rates were (13.00 ± 1.79) , (13.37 ± 0.54) , (16.38 ± 1.51) and $(11.43 \pm 2.77) \text{ mPa} \cdot \text{s}$, respectively. The above indexes in the model group were statistically significant compared with the formula counter-evidence group and the normal group (all $P < 0.05$). **Conclusion** Letrozole combined with epinephrine hydrochloride can stably replicate the PCOS rat model with kidney deficiency and blood stasis syndrome.

Key words: letrozole; epinephrine hydrochloride; polycystic ovary syndrome; kidney deficiency and blood stasis; animal model

多囊卵巢综合征 (polycystic ovarian syndrome, PCOS) 是一种影响 18~44 岁女性生殖内分泌紊乱的遗传异质性疾病,严重影响生育力^[1]。中医学认为肾虚为 PCOS 的基本证候和原发病机,血瘀是 PCOS 的基本病理环节^[2-3]。临床上发现出现单纯肾虚证候的 PCOS 患者少之又少,常常不同程度地合并有其他兼杂证候。肾虚血瘀证是临床上较常见的 PCOS 证型,但目前尚缺乏理想的 PCOS 肾虚血瘀证病证结合动物模型^[4]。当前 PCOS 相关中医证候模型多以在 PCOS 模型的基础上加以中医病因因素进行构建,本研究用灌胃来曲唑合并皮下注射盐酸肾上腺素的方法构建 PCOS 肾虚血瘀证大鼠模型,并对模型进行评价,以期建立符合临床特征的 PCOS 动物模型。

材料与方法

1 材料

动物 SPF 级 SD 雌性大鼠,鼠龄 8 周,体质量 $(215 \pm 15) \text{ g}$,购自甘肃中医药大学科研中心。动物许可证号:SCXK(甘)-2021-0001。本实验经甘肃中医药大学实验动物伦理委员会批准(伦理批号:2022-604)。

药品与试剂 党参,批号:20230210,产地:甘肃;黄芪,批号:230908,产地:甘肃;当归,批号:20230804,产地:甘肃;丹参,批号:202307003,产地:山东;熟地黄,批号:2301010,产地:河南;巴戟天,批号:230908,产地:广东;淫羊藿,批号:202305006,产地:甘肃;菟丝子,批号:230730,产地:内蒙古;覆盆子,批号:230627,产地:浙江;均购自甘肃中医药大学附属医院中药房,上述中药材均经甘肃中医药大学中药鉴定室强正泽副教授鉴定为正品。来曲唑,规格:每片 2.5 mg,批号:22210122,批准文号:国药准字 H20133109,浙江海正药业股份有限公司生产;盐酸肾

上腺素注射液,规格:每毫升 1 mg,批号:20220409,批准文号:兽药字 070011220,吉林省华牧动物保健品有限公司生产。大鼠睾酮 (testosterone, T)、维生素 D (vitamin D, VD)、抗米勒管激素 (anti-mullerian hormone, AMH) 酶联免疫吸附试验 (enzyme-linked immunoassay, ELISA) 法试剂盒,均购自江苏酶免实业有限公司。

仪器 MVIS-2035 血液流变仪,重庆天海医疗设备有限公司产品;BS-240VET 全自动生化分析仪、BC-5000VET 全自动血细胞分析仪,均为江苏迈瑞医疗设备有限公司产品;SPetraMax190 酶标仪,美谷分子仪器有限公司产品;TECNAI G2 20 TWIN 透射电子显微镜,美国 FEI 公司产品。

2 实验方法

2.1 溶液配制

朱氏调经汤的配制^[5] 取党参 20 g、黄芪 20 g、当归 12 g、丹参 15 g、熟地黄 15 g、巴戟天 10 g、淫羊藿 10 g、菟丝子 12 g、覆盆子 12 g,加入 10 倍量超纯水浸泡 30 min,煮沸后继续煎煮 30 min,过滤得一煎液,二煎加入 8 倍量超纯水,煮沸后继续煎煮 25 min,过滤得二煎液,2 次煎煮液合并后过滤,浓缩至每毫升含原药材 1 g,置于 4℃ 冰箱存储,备用。

来曲唑溶液的配制 来曲唑研磨后以 1% 羧甲基纤维素钠水溶液稀释为 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混悬液,置于 4℃ 保存,备用,使用前超声处理。

2.2 动物分组与给药方法^[6]

大鼠适应性喂养 1 周后,随机分为正常组、PCOS 组、模型组和方剂反证组,每组 10 只。正常组每日灌胃给予 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 1% 羧甲基纤维素钠水溶液,连续给药 35 d;PCOS 组每日灌胃给予 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的来曲唑;模型组在 PCOS 组的基础上,自第 21 天起每日皮下注射 $0.6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的盐酸肾上腺素溶液,连续给药 2 周;方剂反证组在模型组的基础上,自第 21 天起

每日灌胃给予 $12.51 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的朱氏调经汤,连续给药2周。

2.3 Lee's 指数与脏器指数的测定^[7]

对所有大鼠进行称重,测量大鼠体长(鼻尖至肛门的距离),计算其 Lee's 指数。用3%戊巴比妥钠对大鼠腹腔麻醉后,观察其皮毛、爪甲、舌质、舌下静脉的状态,并拍照记录。然后固定于手术台上,将大鼠处死,取出子宫、卵巢、肝等组织。分别将左右卵巢称重,计算脏器指数,分别用4%多聚甲醛与2.5%戊二醛固定,置于4℃保存,用于组织病理学检测。

2.4 ELISA 法检测血清中 T、AMH 和 VD 水平^[8]

采血5~7 mL,其中3 mL移至肝素抗凝管,用于血液流变学和血常规检测。剩余血液注于无添加剂管,全血静置2 h后,以 $3500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心15 min,收集血清。用ELISA试剂盒测定大鼠血清中T、AMH和VD的含量。

2.5 全自动生化分析仪检测血生化指标^[9]

按照仪器及试剂说明书操作,用全自动生化分析仪检测大鼠血清中谷草转氨酶(glutamic-oxaloacetic transaminase, GOT)、谷丙转氨酶(glutamic-pyruvic transaminase, GPT)、三酰甘油(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、血糖(glucose, Glu)、钙(calcium, Ca)和磷(phosphorus, P)含量。

2.6 全自动血细胞分析仪检测血常规指标^[10]

采集血液100 μL 于肝素真空采血管中,用全自动血细胞分析仪检测血小板数(platelet number, PLT)、平均血小板体积(mean platelet volume, MPV)、血红蛋白(hemoglobin, HGB)和平均红细胞血红蛋白浓度(mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC)等血常规指标。

2.7 血流变测试仪检测血液流变学指标^[11]

用全自动血流变测试仪进行全血黏度与血浆黏度检测。

2.8 苏木精-伊红染色法和马松染色法检测组织病理学变化^[12]

将4%多聚甲醛固定后的卵巢组织经梯度乙醇脱水、二甲苯透明后,石蜡包埋后切片,进行苏木精-伊红染色与马松染色,观察大鼠卵巢组织病理变化,并用Image J软件计算胶原纤维沉积面积。将2.5%戊二醛固定后的卵巢组织,固定、漂洗、脱水、染色后,用透射电镜观察卵巢组织超微结构。

3 统计学处理

用SPSS 26.0软件进行统计分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较用 One-way ANOVA 分析。

结 果

1 4组大鼠 Lee's 指数与脏器指数的比较

PCOS组给予 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的来曲唑;模型组在PCOS组的基础上,给予 $0.6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的盐酸肾上腺素溶液;方剂反证组在模型组的基础上,给予 $12.51 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的朱氏调经汤;正常组给予1%羧甲基纤维素钠水溶液。

正常组毛发致密柔顺,爪色微红、舌色淡红,苔薄白,舌下静脉无瘀点;PCOS组毛色萎黄粗糙,舌色暗红;模型组出现毛发脱落现象,爪色淡紫,舌色暗紫,舌下静脉明显且有瘀斑瘀点;方剂反证组状态明显改善。

正常组、PCOS组、模型组和方剂反证组的 Lee's 指数分别为 3.48 ± 0.15 、 4.61 ± 0.27 、 3.97 ± 0.27 和 4.23 ± 0.34 , 卵巢指数分别为 $(6.39 \pm 0.58) \times 10^{-4}$ 、 $(5.32 \pm 0.71) \times 10^{-4}$ 、 $(5.05 \pm 0.29) \times 10^{-4}$ 和 $(8.17 \pm 0.65) \times 10^{-4}$, 子宫指数分别为 $(21.63 \pm 3.99) \times 10^{-4}$ 、 $(11.01 \pm 2.01) \times 10^{-4}$ 、 $(7.07 \pm 1.23) \times 10^{-4}$ 和 $(14.09 \pm 1.72) \times 10^{-4}$, 肝指数分别为 $(2.46 \pm 0.11) \times 10^{-2}$ 、 $(3.11 \pm 0.23) \times 10^{-2}$ 、 $(2.86 \pm 0.15) \times 10^{-2}$ 和 $(2.94 \pm 0.16) \times 10^{-2}$ 。PCOS组与模型组的上述指标与正常组比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。模型组的上述指标与PCOS组和方剂反证组比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。

2 4组大鼠血清内分泌和血生化的比较

正常组的T、AMH、GOT、GPT、TG、TC、Glu、P、VD、Ca水平与PCOS组和模型组比较,在统计学上差异均有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。模型组与PCOS组比较,AMH水平显著下降,VD和GOT水平均显著升高,在统计学上差异均有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。方剂反证组与模型组比较,T、AMH、GOT、TG、Glu和P水平均显著降低,VD和Ca水平均显著升高,在统计学上差异均有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结果见表1。

3 4组大鼠血液流变学与血常规的比较

模型组的全血黏度高切、中切、低切和血浆黏度值、PLT和MCHC值均较正常组显著升高,PCOS组的全血黏度中切和PLT均较正常组显著升高,在统计学上差异均有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。模型组的全血黏度低切和血浆黏度值均较PCOS组显著升高,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)。

表 1 4 组大鼠血清中内分泌和血生化的比较($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 1 Comparison of endocrine and blood biochemistry in serum of 4 groups of rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Item	Normal	PCOS	Model	Formula counter – evidence
T (nmol · L ⁻¹)	7.10 ± 0.97	9.22 ± 0.43 **	9.06 ± 1.21 **	7.73 ± 0.76 ^{##}
AMH (μg · L ⁻¹)	241.02 ± 38.34	358.52 ± 20.02 **	320.91 ± 39.88 **▲	287.72 ± 21.90 [#]
VD (pg · mL ⁻¹)	1 850.98 ± 227.95	986.10 ± 152.50 **	1 220.67 ± 64.35 **▲	1 598.20 ± 294.75 ^{##}
GOT (U · L ⁻¹)	130.11 ± 25.22	232.82 ± 28.70 **	266.26 ± 20.50 **▲▲	231.77 ± 27.76 ^{##}
GPT (U · L ⁻¹)	37.09 ± 13.55	74.83 ± 10.55 **	74.33 ± 10.51 **	65.78 ± 8.03
TG (mmol · L ⁻¹)	0.47 ± 0.11	0.79 ± 0.10 **	0.83 ± 0.22 **	0.67 ± 0.12 [#]
TC (U · L ⁻¹)	1.37 ± 0.40	1.81 ± 0.36 *	1.82 ± 0.41 *	1.73 ± 0.42
Glu (mmol · L ⁻¹)	5.28 ± 0.33	8.08 ± 0.93 **	8.08 ± 0.24 **	6.06 ± 0.88 ^{##}
Ca (g · L ⁻¹)	2.55 ± 0.66	1.73 ± 0.62 **	1.31 ± 0.40 **	2.10 ± 0.51 ^{##}
P (U · L ⁻¹)	2.83 ± 0.91	5.05 ± 1.15 **	5.78 ± 1.08 **	4.19 ± 0.66 ^{##}

T: Testosterone; AMH: Anti – mullerian hormone; VD: Vitamin D; GOT: Glutamic – oxaloacetic transaminase; GPT: Glutamic – pyruvic transaminase; TG: Tri-glyceride; TC: Total cholesterol; Glu: Glucose; Ca: Calcium; P: Phosphorus; Normal group: 1% sodium carboxymethyl cellulose; PCOS group: 1 mg · kg⁻¹ letrozole; Model group: 1 mg · kg⁻¹ letrozole + 0.6 mg · kg⁻¹ epinephrine hydrochloride; Formula counter – evidence group: 1 mg · kg⁻¹ letrozole + 0.6 mg · kg⁻¹ epinephrine hydrochloride + 12.51 g · kg⁻¹ Zhu's Tiaojing decoction; Compared with normal group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; Compared with PCOS group, ▲ $P < 0.05$, ▲▲ $P < 0.01$; Compared with model group, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$.

方剂反证组的全血黏度低切值与血浆黏度均较模型组显著降低,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)。结果见表 2。

4 4 组大鼠卵巢病理形态学与胶原纤维分布

苏木精 – 伊红染色结果显示:正常组卵巢结构正常;PCOS 组与模型组卵巢可见大量闭锁卵泡,存在多个囊性窦卵泡,窦腔扩大,发育形态异常,颗粒细胞层(箭头相对间区域距离)数明显减少且排列松散、紊乱,黄体减少;方剂反证组囊性窦卵泡及闭锁卵泡减少,颗粒细胞层数增加且排列较为紧密。结果见图 1 I。

马松染色结果显示:PCOS 组与模型组胶原纤维部分渗入卵巢颗粒细胞层,卵泡膜周围呈高度胶原纤维沉积。正常组、PCOS 组、模型组和方剂反证组的卵巢胶原纤维沉积面积分别为 (1.20 ± 0.11)%、

(8.45 ± 3.34)%、(13.31 ± 2.54)% 和 (12.23 ± 4.77)%。PCOS 组与模型组的卵巢胶原纤维分布面积均较正常组显著增加,模型组的卵巢胶原纤维面积较 PCOS 组显著增加,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。结果见图 1 II。

透射电镜结果显示:正常组细胞核形态规则,双核膜结构清晰,核周隙未见明显增宽,染色质分布均匀,线粒体数量正常,分布均匀,双层膜结构清晰,可见管泡状嵴,内质网结构清晰,未见异常,胞质内还可见大小不等、电子密度中等的均质性无界膜的脂滴空泡;PCOS 组与模型组细胞核形态不规则,凹凸不平,核内染色质浓缩边集,线粒体水肿,基质电子密度降低,呈空泡化,嵴结构减少或消失,内质网轻度扩张,可见少量自噬体;方剂反证组可见细胞核形态、线粒体结构逐步恢复。结果见图 1 III。

表 2 4 组大鼠血液流变学与血常规的比较($\bar{x} \pm s$)Table 2 Comparison of heamorheology and blood routine examination in 4 groups of rats ($\bar{x} \pm s$)

Item	Normal	PCOS	Model	Formula counter – evidence
Whole Blood high shear rate (mPa · s)	4.97 ± 1.39	5.81 ± 1.46	6.87 ± 1.00 **	6.00 ± 1.12
Whole Blood middle shear rate (mPa · s)	6.00 ± 1.68	7.49 ± 0.97 *	7.37 ± 1.25 *	6.50 ± 1.07
Whole blood low shear rate (mPa · s)	13.00 ± 1.79	13.37 ± 0.54	16.38 ± 1.51 **▲▲	11.43 ± 2.77 ^{##}
Plasma viscosity (mPa · s)	1.28 ± 0.14	1.36 ± 0.23	2.03 ± 0.33 **▲▲	1.87 ± 0.16 ^{##}
PLT (× 10 ⁹ · L ⁻¹)	768.40 ± 46.58	860.90 ± 93.20 **	916.90 ± 50.11 **	908.80 ± 71.22
MPV (fL)	5.86 ± 0.35	5.94 ± 0.93	6.36 ± 0.49	6.09 ± 0.65
HGB (g · L ⁻¹)	165.80 ± 8.88	173.50 ± 8.20	170.50 ± 14.89	167.10 ± 15.04
MCHC (g · L ⁻¹)	368.10 ± 21.33	375.60 ± 17.78	386.50 ± 8.45 *	382.60 ± 18.82

Dose and n refer to table 1; PLT: Platelet number; MPV: Mean platelet volume; HGB: Hemoglobin; MCHC: Mean corpuscular hemoglobin concentration; Compared with normal group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; Compared with PCOS group, ▲▲ $P < 0.01$; Compared with model group, ^{##} $P < 0.01$.

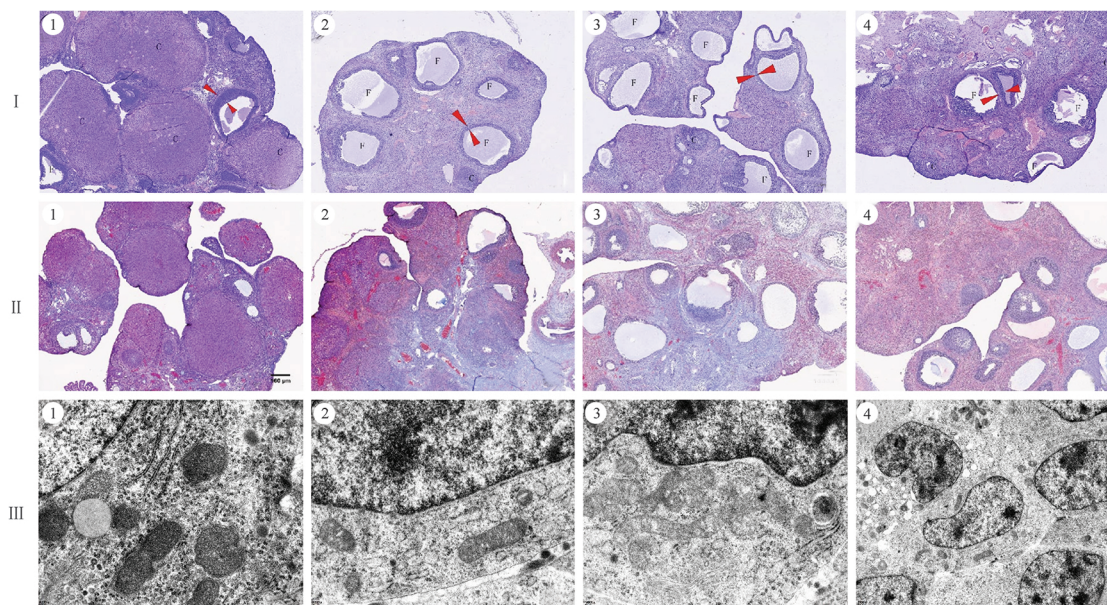


图1 4组大鼠卵巢组织的病理变化和超微结构

Figure 1 Pathological changes and ultrastructural characteristics of ovarian tissue in 4 groups of rats

I: Hematoxylin-eosin staining ($\times 40$); II: Masson staining ($\times 40$); III: Transmission electron microscope ($\times 4.0 \times 10^4$); 1: Normal group; 2: PCOS group; 3: Model group; 4: Formula counter-evidence group.

讨 论

中医学认为肾阴亏损,虚热内生,煎熬血液而为瘀。肾阳不足,虚寒内生,寒独留则血凝泣,且百病日久,多有血瘀。血瘀则化精乏源,阻滞脉络,使肾中阴阳失衡,从而加重肾虚,形成恶性循环。由此可知肾虚日久是血瘀的重要诱因^[13],故为进一步贴近中医病理理论,应在肾虚模型的基础上加以血瘀模型的构建。

来曲唑作为一种选择性的、非甾体类的芳香化酶抑制药,其能够竞争性地与细胞色素 P450 酶的亚单位的血红素结合,阻断体内雌激素的合成,降低雌激素水平,进而通过下丘脑-垂体-卵巢轴负反馈调节使 T 和促黄体生成素水平升高,促卵泡激素水平降低^[14]。AMH 水平反映卵巢内窦卵泡数量,同时也是控制性促排卵时卵巢反应性的标志物。AMH 在诊断多囊卵巢的价值被广为认可,其与血清性激素、维生素 D 联合检测能够大大提高 PCOS 的诊断效能^[15]。本研究发现,PCOS 组与模型组的 AMH 水平均较正常组显著升高,结合大鼠血清 T 水平、卵巢病理形态学与动情周期变化等指标,提示大鼠 PCOS 模型构建成功。

病证结合动物模型具有现代医学“病”与传统医学“证候”的优势,其较为符合患者中医临床特征。

回顾早期雌性肾虚模型构建的文献报道,雌二醇与促卵泡激素水平的下降与肾虚证候关系密切,来曲唑限制雌二醇水平的降低可能会引起雄烯二酮和睾酮等雄激素升高^[16-17]。本研究发现,PCOS 组与模型组的 T 水平均显著高于正常组,提示该造模方法能够再现肾虚证候的性激素异常。同时,本研究观察卵巢组织病变时发现,在常见的造模浓度下大鼠均出现闭锁卵泡显著增多的现象并伴有子宫萎缩,提示该造模方式对雌性生育力产生负面影响。VD 是肾精的物质基础之一,其水平下降时,机体表现出肾虚的证候特征^[18]。本研究证实,PCOS 组与模型组血清中 VD 水平显著偏低。此外,有文献报道,PCOS 伴 VD 缺陷患者的转化生长因子- β 生物利用度异常增加^[19],考虑到转化生长因子- β 作为器官纤维化的重要效应分子,补肾活血类中药能够调节体内纤维化因子表达,本课题组推测 VD 的缺乏可能是引起卵巢纤维化加剧的重要原因之一^[20]。本研究的病理染色结果证实,造模后卵泡膜周围呈胶原纤维沉积,由此可知卵巢组织胶原纤维沉积与 PCOS 肾虚证候之间关系密切。现代研究认为,肾精与钙磷代谢调节具有一定的内在联系^[21],卵巢功能下降的患者血清雌二醇水平与钙代谢呈正相关性,与磷代谢呈负相关性^[22]。本研究证实,模型组大鼠血清中 Ca 水平显著降低, P 水平显著升高,这提示该造模方法符合肾虚证候的钙磷代谢变化趋势。盐酸肾上腺素干预是当前研究血瘀证的重

要造模方法之一,用小剂量连续皮下注射肾上腺素的方法,构建慢性血瘀证模型具有广泛的证据支持,长期小剂量注射肾上腺素所致的慢性血瘀证模型具有稳定、可重复性高、复制简单的优势^[23-25]。本研究发现,模型大鼠的毛色暗淡无光、舌质暗红或淡紫、爪甲紫暗,全血黏度高、中、低切及血浆黏度、PLT、MCHC水平均显著升高,这提示模型大鼠出现了较为明显的血瘀特征。同时,肝功能指标(GOT、GPT)与糖脂代谢指标(TG、TC、Glu)水平的显著升高既符合肾上腺素构建血瘀模型的特征,又与PCOS后期糖脂代谢紊乱的病理特性密切相关。

本研究提示:用来曲唑联合盐酸肾上腺素造模的方式可以稳定复制具有肾虚血瘀证候特征的PCOS大鼠模型。

参考文献:

- [1] 袁莹莹,赵君利. 多囊卵巢综合征流行病学特点[J]. 中国实用妇科与产科杂志,2019,35(3):261—264.
- [2] 丁楠,周惠芳. 周惠芳诊治多囊卵巢综合征经验拾萃[J]. 中国中医基础医学杂志,2018,24(6):846—848.
- [3] 彭孟凡,刘保松,苗明三. 补肾法治疗多囊卵巢综合征的理论探讨[J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(6):204—209.
- [4] 杨新鸣,付冬雪,于慧佳,等. 来曲唑联合细菌内毒素法建立PCOS肾虚血瘀大鼠模型评价[J]. 中医药导报,2017,23(23):37—40.
- [5] 林倍倍,黄宏丽,夏艳秋,等. 朱氏调经方治疗肾虚血瘀型多囊卵巢综合征的临床观察及对性激素、炎症因子的影响[J]. 中华中医药学刊,2023,41(1):246—250.
- [6] 杨程,李玉生,焦泓焯,等. 肾虚血瘀型SD大鼠膝关节关节炎模型的建立与验证[J]. 中国组织工程研究,2024,28(27):4273—4280.
- [7] 田真,王紫玉,渠鹏霞,等. 连翘叶改善肥胖大鼠炎症因子水平及肠道菌群结构的作用[J]. 海南医学院学报,2024,30(13):970—981.
- [8] 何淑霞,俞峭拔,何淑敏,等. 黄连素对伴胰岛素抵抗的多囊卵巢综合征大鼠卵巢状态的影响[J]. 中国临床药理学杂志,2020,36(14):2045—2048.
- [9] 安冬,梁永林,高艳奎,等. 大黄糖络丸对2型糖尿病大鼠肝损伤的影响及机制[J]. 中国临床药理学杂志,2024,40(9):1282—1286.
- [10] 郑彩杏,周小青,李玲,等. 中药活血化瘀复方剂对SD大鼠的毒性研究[J]. 中国临床药理学杂志,2022,38(17):2023—2027.
- [11] 杨秀娟,邓毅,杨志军,等. 当归不同药用部位对急性血瘀模型大鼠的活血作用[J]. 中国临床药理学杂志,2018,34(18):2187—2190.
- [12] HUANG L, LIANG A, LI T, et al. Mogroside V improves follicular development and ovulation in young - adult PCOS rats induced by letrozole and high - fat diet through promoting glycolysis [J/OL]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2022, 13: 838204. 2022 - 03 - 28 [2024 - 07 - 04]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35418943/>.
- [13] 王懿娴,张瑞瑞,武权生,等. 补肾化痰方治疗多囊卵巢综合征肾虚血瘀证50例临床观察[J]. 甘肃中医药大学学报,2023,40(4):44—48.
- [14] 杨宏,张振,付旭峰. 来曲唑诱导大鼠多囊卵巢综合征模型的肠道菌群分析[J]. 中国实验动物学报,2024,32(5):585—591.
- [15] 李丽丽. 血清AMH、性激素及维生素D联合检测在多囊卵巢综合征中的应用价值[J]. 检验医学与临床,2023,20(11):1550—1552.
- [16] 孙森,王玉艳,孟小钰,等. 基于“肾虚、痰湿、血瘀”的现代生物学基础探讨PCOS中医病机的科学内涵[J]. 时珍国医国药,2022,33(6):1412—1415.
- [17] 康学智,贾丽娜,张栩,等. 多囊卵巢综合征肾虚证量化评分与血清维生素D水平相关性研究[J]. 中华中医药学刊,2016,34(11):2609—2612.
- [18] 管连城,张孟之,王宗陵,等. 基于维生素D缺乏与肾虚证的相关性探讨补肾抗衰老机理[J]. 中国中医基础医学杂志,2019,25(6):766—768,837.
- [19] MORGANTE G, DARINO I, SPANÒ A, et al. PCOS physiopathology and vitamin D deficiency: Biological insights and perspectives for treatment [J]. *J Clin Med*, 2022, 11(15):4509.
- [20] 马本玲,张晓红,李琳,等. 补肾活血汤治疗中重度宫腔粘连TCRA术后患者及对纤维化因子的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2021,27(6):62—68.
- [21] 朱红霞,赵丹,孔谊娜. 围绝经期维持性透析女性钙磷代谢与雌激素水平分析[J]. 中国妇幼保健,2023,38(7):1315—1318.
- [22] 刘鲁明,鞠远秀,高季珍,等. 试从钙磷代谢角度探讨肾虚耳鸣的物质基础——56例肾虚患者临床观察[J]. 中西医结合杂志,1986,6(9):538—539,516.
- [23] 杨会珍,胡广,苗兰,等. 肾上腺素致慢性血瘀证大鼠模型的血浆代谢组学研究[J]. 中国中医基础医学杂志,2022,28(2):205—209.
- [24] 于嘉莹,张会永,王凤,等. 九种血瘀证动物模型造模方法研究进展与评述[J]. 世界科学技术 - 中医药现代化,2022,24(12):4855—4864.
- [25] 贾涪琳,张治芬,金雪静,等. 高雄激素型多囊卵巢综合征与糖脂代谢及甲状腺功能的关系[J]. 浙江医学,2020,42(13):1404—1408.

(收稿日期 2024 - 10 - 14)