

丹参酮胶囊对多囊卵巢综合征大鼠糖脂代谢及性激素的影响[△]

虎亚光^{1*}, 岳嘉^{2#}, 李金娟², 刘建鸿², 陈丽², 张书楠²(1.甘肃省妇幼保健院药事管理科, 兰州 730050; 2.甘肃中医药大学公共卫生学院, 兰州 730000)

中图分类号 R965;R977.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)19-2632-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.19.13

摘要 目的:研究丹参酮胶囊对多囊卵巢综合征(PCOS)大鼠糖脂代谢及血清性激素水平的影响。方法:选取90只雌性SD大鼠,随机分为正常组(蒸馏水)、模型组(蒸馏水)、阳性对照组(二甲双胍200 mg/kg)和丹参酮胶囊低、中、高剂量组(30、60、90 mg/kg),每组15只。除正常组外其余各组大鼠复制PCOS模型,建模后各组大鼠ig相应药物,每天1次,连续给药28 d。比较干预前、干预28 d后各组大鼠的排卵率,检测干预后各组大鼠体质量、脂肪湿质量、空腹胰岛素(FINS)、空腹血糖(FPG)、葡萄糖曲线下面积(AUC)、胰岛素敏感指数(HOMA-IR、ISI)和血清中促卵泡生成素(FSH)、促黄体生成素(LH)、睾酮(T)变化。结果:与正常组比较,模型组大鼠停止排卵,体质量、脂肪湿质量、FINS、FPG、葡萄糖AUC、HOMA-IR、FSH、LH、T均明显升高,ISI明显降低($P < 0.05$)。与模型组比较,阳性对照组和丹参酮胶囊各剂量组大鼠干预后排卵率明显升高,体质量(丹参酮胶囊低剂量组除外)、脂肪湿质量(丹参酮胶囊低剂量组除外)、FINS、FPG、葡萄糖AUC、HOMA-IR、FSH、LH、T均明显降低,ISI明显升高($P < 0.05$),其中丹参酮胶囊高剂量组和阳性对照组效果最明显。结论:丹参酮胶囊能调节PCOS大鼠的糖脂代谢和血清性激素分泌紊乱。

关键词 丹参酮胶囊;多囊卵巢综合征;大鼠;糖脂代谢;性激素

Effects of Tanshinone Capsules on Glucose and Lipid Metabolism and Serum Sex Hormone in PCOS Rats

HU Yaguang¹, YUE Jia², LI Jinjuan², LIU Jianhong², CHEN Li², ZHANG Shunan²(1.Dept. of Pharmaceutical Administration, Gansu Maternal and Child Health Care Hospital, Lanzhou 730050, China; 2.College of Public Health, Gansu University of TCM, Lanzhou 730000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effects of Tanshinone capsules on glucose and lipid metabolism and serum sex hormone level in rats with polycystic ovary syndrome (PCOS). METHODS: 90 female SD rats were randomly divided into normal group (distilled water), model group (distilled water), positive control group (metformin 200 mg/kg) and Tanshinone capsules low-dose, medium-dose and high-dose groups (30, 60, 90 mg/kg), with 15 rats in each group. Those groups were induced PCOS model except for normal group; after modeling, those groups were given relevant medicine intragastrically for consecutive 28 d, once a day. The ovulation rate was compared before intervention and 28 d after intervention. Body weight, fat wet weight, fasting insulin (FINS), fasting blood-glucose (FPG), AUC of glucose, HOMA-IR, ISI, serum levels of FSH, LH and T were detected. RESULTS: Compared with normal group, anovulation, body weight, fat wet weight, FINS, FPG, AUC of glucose, HOMA-IR, FSH, LH and T were all increased significantly in model group, while ISI decreased significantly ($P < 0.05$). Compared with model group, ovulation rate and ISI of positive control group and Tanshinone capsules groups were increased significantly after intervention, while body weight (except for Tanshinone capsules low-dose group), fat wet weight (except for Tanshinone capsules low-dose group), FINS, FPG, AUC of glucose, HOMA-IR, FSH, LH and T were all decreased significantly ($P < 0.05$), especially in Tanshinone capsules high-dose group and positive control group. CONCLUSIONS: Tanshinone capsules can regulate glucose and lipid metabolism and serum sex hormone secretion disorder in PCOS rats.

KEYWORDS Tanshinone capsules; Polycystic ovarian syndrome; Rats; Glucose and lipid metabolism; Sex hormone

多囊卵巢综合征(Polycystic ovarian syndrome, PCOS)是妇产科临床常见的内分泌综合征,患者长期无排卵、高雄激素血症,也是育龄期女性月经紊乱、不孕的常见病因,给患者造成了巨大的身心痛苦。PCOS患者多存在糖脂代谢紊乱,具体表现为胰岛素抵抗、高胰岛素血症、血脂异常等。针对上述病理特点,通过改善胰岛素抵抗、降低雄激素水平等对症治疗可以帮助患者恢复规律的月经周期和排卵^[1]。因此寻找一种既能改善胰岛素抵抗,又能降低雄激素,并具有价廉、易得优势的药物是目前临床研究的热点之一。近年来,随着对中药研

究的不断深入,大量活性成分被提取、分离、精制而得。丹参酮是从活血化瘀类中药丹参中提取出的有效成分,具有降低雄激素、预防糖尿病等药理作用^[2]。本研究在PCOS模型大鼠上应用丹参酮胶囊观察其对糖脂代谢、内分泌的调节作用,以期对丹参酮的临床应用提供基础研究证据。

1 材料

1.1 仪器

罗康全活力型血糖仪(德国罗氏公司)。

1.2 药品与试剂

丹参酮胶囊(河北兴隆希力药业有限公司,批号:Z13020110,规格:0.25 g/粒);盐酸二甲双胍片(澳大利亚APL公司,批号:H20140534,规格:0.5 g/片);脱氢表雄酮(美国MRM公司,批号:20140810,规格:50 mg/片);大鼠胰岛素(INS)、促卵泡生成素(FSH)、促黄体生成素(LH)、睾酮(T)酶

[△] 基金项目:兰州市科技计划项目(No.2014-1-18)

* 主管药师。研究方向:临床药学。电话:0931-2329176。E-mail:huyaguang_hr@126.com

通信作者:讲师,硕士。研究方向:营养与代谢性疾病。电话:0931-8750618。E-mail:yuejia@gszy.edu.cn

联免疫吸附(ELISA)法检测试剂盒(美国RD公司)。

1.3 动物与细胞

90只SPF级SD大鼠,♀,23日龄,体质量45~55g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号:SCXK(京)2012-0001,大鼠均喂养标准饲料。本实验通过医院医学伦理委员会审批。

2 方法

2.1 分组与建模

将大鼠采用随机数字表法分为正常组(蒸馏水)、模型组(蒸馏水)、阳性对照组(二甲双胍200mg/kg)和丹参酮胶囊低、中、高剂量组(30、60、90mg/kg),每组15只。正常组大鼠颈背部sc大豆油0.2ml;其余各组大鼠颈背部sc大豆油0.2ml+ig脱氢表雄酮6mg/100g,每天1次,连续20d,复制PCOS模型。建模结束后连续2个性周期阴道上皮细胞涂片,如发生阴道上皮细胞持续角化,提示无排卵,证明大鼠PCOS模型复制成功。

2.2 给药

每天早上8:00开始,正常组大鼠ig蒸馏水10ml/kg;模型组大鼠建模后ig蒸馏水10ml/kg;阳性对照组大鼠根据成人临床常用剂量换算,建模后ig二甲双胍200mg/kg;丹参酮胶囊各剂量组大鼠根据长期毒性试验结果确定丹参酮给药剂量,低、中、高剂量组大鼠建模后ig丹参酮胶囊30、60、90mg/kg。每天1次,连续给药28d。

2.3 观察指标

2.3.1 排卵情况 采用阴道脱落苏木精-伊红(HE)染色观察各组大鼠的动情周期情况,比较建模后、干预28d后各组大鼠的排卵情况。

2.3.2 体质量和脂肪湿质量 测量各组大鼠给药后体质量和脂肪湿质量(脂肪湿质量=卵巢周围脂肪+肾周围脂肪+肠系膜周围脂肪)。

2.3.3 糖代谢和胰岛素指标 各组大鼠尾尖取血,采用ELISA法或血糖仪检测大鼠血清中空腹INS(FINS)、空腹血糖(FPG)、葡萄糖曲线下面积(AUC,大鼠禁食12h后,ig3g/kg的50%葡萄糖溶液,分别测定ig后0、30、60、120min时的AUC, $AUC = A/2 + B + C + D/2$, A、B、C、D分别对应上述各时间点的血糖值),计算大鼠稳态模型下胰岛素敏感指数HOMA-IR、ISI。 $HOMA-IR = FPG \times FINS / 22.5$, $ISI = 1 / (FPG \times FINS)$ 。

2.3.4 性激素指标 采用ELISA法检测大鼠血清中FSH、LH、T的含量,具体按试剂盒说明书操作。

2.4 统计学方法

采用SAS 9.0软件进行统计分析。计量指标采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素分析,组间两两比较采用LSD-t检验,百分率或构成比比较采用卡方检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 大鼠排卵情况

除正常组大鼠全部正常排卵外,其余各组大鼠建模后均无排卵。给药干预28d后,与正常组比较,其余各组大鼠排卵率均明显降低($P < 0.05$);与模型组比较,阳性对照组和丹参酮胶囊各剂量组大鼠排卵率均明显增加($P < 0.05$);与阳性对照组比较,丹参酮胶囊低、中剂量组大鼠排卵率明显减少($P < 0.05$),丹参酮胶囊高剂量组大鼠排卵率差异无统计学意义($P > 0.05$)。各组大鼠排卵率测定结果见表1。

表1 各组大鼠排卵率测定结果

Tab 1 The ovulation rate of rats in each group

组别	建模后排卵,只(率,%)	干预28d后排卵,只(率,%)
正常组	15(100)	15(100)
模型组	0(0)*	0(0)*
丹参酮胶囊低剂量组	0(0)*	6(40.00)** ^Δ
丹参酮胶囊中剂量组	0(0)*	7(46.67)** ^Δ
丹参酮胶囊高剂量组	0(0)*	11(69.33)**
阳性对照组	0(0)*	10(66.67)**

注:与正常组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,** $P < 0.05$;与阳性对照组比较,^Δ $P < 0.05$

Note: vs. normal group, * $P < 0.05$; vs. model group, ** $P < 0.05$; vs. positive control group, ^Δ $P < 0.05$

3.2 大鼠体质量、脂肪湿质量情况

给药干预28d后,与正常组比较,模型组和丹参酮胶囊低剂量组大鼠的体质量、脂肪湿质量均明显增加($P < 0.05$);与模型组比较,阳性对照组和丹参酮胶囊中、高剂量组大鼠的体质量、脂肪湿质量均明显降低($P < 0.05$);与阳性对照组比较,丹参酮胶囊低剂量组大鼠的体质量、脂肪湿质量明显增加($P < 0.05$);其余各组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。各组大鼠的体质量、脂肪湿质量测定结果见表2。

表2 各组大鼠体质量、脂肪湿质量测定结果($\bar{x} \pm s, n = 15$)

Tab 2 Body weight and fat wet weight of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 15$)

组别	体质量,g	脂肪湿质量,g
正常组	270.3 ± 19.6	2.5 ± 0.4
模型组	288.9 ± 17.0*	3.2 ± 0.6*
丹参酮胶囊低剂量组	285.6 ± 18.3* ^Δ	3.0 ± 0.4* ^Δ
丹参酮胶囊中剂量组	275.2 ± 15.9*	2.7 ± 0.4*
丹参酮胶囊高剂量组	274.6 ± 18.8*	2.7 ± 0.5*
阳性对照组	272.5 ± 16.4*	2.6 ± 0.5*

注:与正常组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,** $P < 0.05$;与阳性对照组比较,^Δ $P < 0.05$

Note: vs. normal group, * $P < 0.05$; vs. model group, ** $P < 0.05$; vs. positive control group, ^Δ $P < 0.05$

3.3 大鼠糖代谢和胰岛素指标情况

给药干预28d后,与正常组比较,模型组和丹参酮胶囊低、中剂量组大鼠的FINS、FPG、葡萄糖AUC、HOMA-IR明显升高,ISI明显降低($P < 0.05$);与模型组比较,阳性对照组和丹参酮胶囊各剂量组大鼠的FINS、FPG、葡萄糖AUC、HOMA-IR均明显降低,ISI明显升高($P < 0.05$);与阳性对照组比较,丹参酮低、中剂量组大鼠的FINS、FPG、AUC、HOMA-IR均明显升高,ISI明显降低($P < 0.05$);其余各组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。各组大鼠糖代谢和胰岛素指标测定结果见表3。

表3 各组大鼠糖代谢和胰岛素指标测定结果($\bar{x} \pm s, n = 15$)

Tab 3 Glucose metabolism of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 15$)

组别	FINS, μu/L	FPG, mmol/L	葡萄糖AUC	HOMA-IR	ISI
正常组	9.60 ± 2.18	5.14 ± 0.43	23.61 ± 2.57	2.20 ± 0.68	0.021 ± 0.005
模型组	32.98 ± 3.94*	9.82 ± 1.57*	30.85 ± 5.61*	12.35 ± 1.74*	0.006 ± 0.002*
丹参酮胶囊低剂量组	19.61 ± 2.88** ^Δ	7.42 ± 0.88** ^Δ	27.75 ± 3.71** ^Δ	7.05 ± 1.55** ^Δ	0.012 ± 0.006** ^Δ
丹参酮胶囊中剂量组	13.42 ± 2.81** ^Δ	6.28 ± 0.77** ^Δ	25.30 ± 3.11** ^Δ	3.51 ± 0.89** ^Δ	0.015 ± 0.006** ^Δ
丹参酮胶囊高剂量组	10.42 ± 2.73*	5.20 ± 0.61*	22.89 ± 2.60*	2.34 ± 0.73*	0.019 ± 0.006*
阳性对照组	10.18 ± 2.56*	5.19 ± 0.59*	24.01 ± 2.75*	2.39 ± 0.77*	0.019 ± 0.005*

注:与正常组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,** $P < 0.05$;与阳性对照组比较,^Δ $P < 0.05$

Note: vs. normal group, * $P < 0.05$; vs. model group, ** $P < 0.05$; vs. positive control group, ^Δ $P < 0.05$

3.4 各组大鼠血清性激素情况

给药干预28 d后,与正常组比较,其余各组大鼠的FSH、LH、T均明显升高($P<0.05$);与模型组比较,阳性对照组和丹参酮胶囊各剂量组大鼠的FSH、LH、T均明显降低($P<0.05$);与阳性对照组比较,丹参酮胶囊低、中剂量组大鼠的FSH、LH、T均明显升高($P<0.05$);其余各组间差异无统计学意义($P>0.05$)。各组大鼠血清性激素水平测定结果见表4。

表4 各组大鼠血清性激素水平测定结果($\bar{x}\pm s, n=15$)

Tab 4 Serum sex hormone level of rats($\bar{x}\pm s, n=15$)

组别	FSH, mu/L	LH, mu/L	T, pg/ml
正常组	5.71±0.92	19.38±2.14	157.46±18.15
模型组	9.29±1.04 [*]	38.05±4.16 [*]	298.95±33.76 [*]
丹参酮胶囊低剂量组	8.14±0.80 ^{**}	32.15±3.14 ^{**}	265.37±23.58 ^{**}
丹参酮胶囊中剂量组	7.66±0.76 ^{**}	29.67±3.20 ^{**}	247.60±21.36 ^{**}
丹参酮胶囊高剂量组	7.33±0.89 ^{**}	27.03±3.26 ^{**}	226.69±27.83 ^{**}
阳性对照组	7.14±0.82 ^{**}	26.28±3.51 ^{**}	228.75±28.63 ^{**}

注:与正常组比较, * $P<0.05$;与模型组比较, # $P<0.05$;与阳性对照组比较, $\Delta P<0.05$

Note: vs. normal group, * $P<0.05$; vs. model group, # $P<0.05$; vs. positive control group, $\Delta P<0.05$

4 讨论

PCOS是一种生殖功能障碍、糖脂代谢异常并存的内分泌疾病,严重影响育龄期女性的生殖健康,其中生殖功能障碍主要表现为无排卵、雄激素分泌过多;代谢异常主要表现为胰岛素抵抗、高胰岛素血症^[3]。患者常出现月经稀发、闭经、不孕、肥胖、多毛等典型的临床症状,对其身心均造成极大的痛苦。对PCOS的治疗应从促进排卵、抑制雄性激素、改善胰岛素抵抗等方面入手^[4]。

目前对于PCOS的发病机制尚未完全明确,已有的临床研究认为其可能是在遗传、环境、免疫等诸多因素共同作用下的结果^[5]。胰岛素抵抗是目前已知的、公认的PCOS发病原因。研究发现,通过给予胰岛素增敏剂改善PCOS患者的胰岛素抵抗状态后,进而使雄激素水平明显下降,可使月经周期好转甚至恢复正常^[6]。二甲双胍作为一种胰岛素增敏剂,可有效改善PCOS患者糖耐量异常、减轻胰岛素抵抗^[7]。因此本研究中选择二甲双胍作为阳性对照药物。

中医古籍中并无PCOS的病名,根据其临床表现特点将其归纳于“月经不调”“闭经”“不孕”“癥瘕”等范畴,与肾、肝、脾关系密切。肾虚则冲任乏源,痰瘀内生而致病,肾虚血瘀是PCOS的基本病机,以活血化瘀法论治比较对症^[8]。丹参是临床常用的活血化瘀类中药,来源于唇形科植物丹参的干燥根、根茎,其性微寒,味苦,功擅活血祛瘀、养血安神、调经止痛、凉血消痈。近年来对丹参的药理研究不断深入,其在心血管内科、妇科等疾病的治疗中应用较广泛^[9-10]。丹参酮是从丹参中提取的有效成分,现代药理学研究发现,丹参酮具有降糖作用,可促使人工诱导的猪卵巢颗粒细胞葡萄糖摄取增加,在对抗糖尿病、肥胖等方面具有一定的作用^[11-12]。丹参酮可通过激活腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)途径调节糖脂代谢。

激素造模法、人绒毛膜促性腺激素(HCG)造模法均可对PCOS进行造模,但是其各有侧重,不能完全模拟患者特征。本研究在前人研究的基础上采用ig脱氢表雄酮复制PCOS大

鼠模型并获得了成功^[13]。给药干预28 d后,对比了各组糖脂代谢指标、内分泌指标及排卵情况。

本文研究结果表明,各剂量的丹参酮和二甲双胍均可有效地恢复PCOS模型大鼠的排卵功能,但尚不能使其排卵功能完全恢复正常。丹参酮、二甲双胍均有助于调节PCOS模型大鼠体内的糖脂代谢紊乱和胰岛素抵抗状态,有助于控制体质量和血清中雌激素紊乱。

参考文献

- [1] Legro RS, Kunesman AR, Brzyski RG, et al. The pregnancy in polycystic ovary syndrome II (PPCOS II) trial: rationale and design of a double-blind randomized trial of clomiphene citrate and letrozole for the treatment of infertility in women with polycystic ovary syndrome[J]. *Contemporary Clinical Trials*, 2012, 33(3):470.
- [2] 魏礼玲. 益肾通经汤治疗多囊卵巢综合征排卵障碍30例临床疗效观察[J]. 长春中医药大学学报, 2012, 28(3):508.
- [3] 曹姗姗. CTGF、HGF及Cx43在PCOS大鼠卵巢中的表达及二甲双胍的干预作用[D]. 太原:山西医科大学, 2013.
- [4] 骆倩倩, 刘冉冉, 张冬梅, 等. Kisspeptin/Kiss1r系统在多囊卵巢综合症大鼠下丘脑弓状核的表达[J]. 中国计划生育学杂志, 2014, 22(5):304.
- [5] 俞瑾. 中药单体复方治疗多囊卵巢综合征模型大鼠的药效观察及机制研究[D]. 上海:上海中医药大学, 2013.
- [6] 谢乐, 齐巧霞. 中药外敷结合达英-35治疗多囊卵巢综合征并发痤疮的疗效观察[J]. 广西中医药, 2014, 37(5):34.
- [7] 鲁艳红. 二甲双胍对多囊卵巢模型大鼠血清激素含量及卵巢AQP8、AQP9表达的影响[D]. 石家庄:河北医科大学, 2014.
- [8] 张婷, 郭建友. 地骨皮煎煮液对多囊卵巢大鼠胰岛素信号传导途径中PI3K/PKB分子表达的影响[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(10):2004.
- [9] 俞瑾, 王针织, 周丽虹, 等. 隐丹参酮通过下调CYP17基因及AR的表达改善多囊卵巢综合征高雄激素血症[C]//第五届全国中医药博士生学术论坛论文集. 长沙:第五届全国中医药博士生学术论坛, 2014:1699-1705.
- [10] 赵璐, 吴效科. 丹参酮对地塞米松诱导体外胰岛素抵抗细胞的影响[C]//第八届全国中西医结合妇产科学术大会论文集. 重庆:中国中西医结合学会, 2012:183-185.
- [11] 马丙祥, 董宠凯. 丹参的药理作用研究新进展[J]. 中国药房, 2014, 25(7):663.
- [12] 赵杨, 陆茵, 郑仕中, 等. 隐丹参酮的药理作用研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2010, 37(11):1839.
- [13] 王峰, 李振武, 尹瑞峰, 等. 脱氢表雄酮联合美洛昔康片对骨关节炎患者的疗效及实验室指标的影响[J]. 中国药房, 2015, 26(35):4965.

(收稿日期:2016-01-20 修回日期:2016-05-12)

(编辑:邹丽娟)