

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.18.003
文章编号: 1005-8982 (2019) 18-0013-07

高脂饮食诱导青春期前雌性大鼠 多囊卵巢综合征的实验研究

古兰·托合提木拉提¹, 叶尔努尔·吐苏甫汗², 马玉兰¹, 玛依努尔·尼亚孜¹

(1. 新疆维吾尔自治区人民医院, 新疆 乌鲁木齐 830001; 2. 新疆医科大学第二附属医院, 新疆 乌鲁木齐 830028)

摘要: **目的** 复制高脂饮食诱导青春期前雌性大鼠的多囊卵巢综合征(PCOS)动物模型, 探讨其生殖和代谢特征。**方法** 将青春期前雌性大鼠随机分成C组和D组, C组接受正常饮食, D组接受高脂饮食, 连续喂养105 d。另将成年雌性大鼠随机分成A组和B组, A组接受1%羧甲基纤维素, B组接受1 mg/kg灌服来曲唑, 连续喂养21 d。观察各组体重、动情周期和卵巢组织学变化, 检测各组空腹血糖、胰岛素、糖耐量、计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)、定量胰岛素敏感性检测指数、血脂水平、性激素水平、促黄体激素受体(LHR)及促卵泡激素受体(FSHR)mRNA的表达。**结果** B组0、7、14及21 d体重低于A组($P < 0.05$); B组观察结束后卵巢重量高于A组($P < 0.05$); B组喂养21 d后糖耐量曲线下面积(AUC)高于A组($P < 0.05$); D组49、77及105 d的糖耐量AUC、空腹胰岛素、HOMA-IR、血清总胆固醇、雌二醇及孕酮高于C组($P < 0.05$), C组定量胰岛素敏感性检测指数、睾酮高于D组($P < 0.05$)。**结论** 高脂饮食可诱导青春期前雌性大鼠PCOS, 并产生代谢紊乱和卵巢改变, 与PCOS患者临床观察相似。

关键词: 多囊卵巢综合征; 大鼠; 模型, 动物

中图分类号: R711.75

文献标识码: A

High fat diet exposure induced polycystic ovarian syndrome in prepuberty rats

Gulan Tuohetimulati¹, Yemur Tusuvhan², Yulan Ma¹, Mnyinuer Niyaz¹

(1. Xinjiang Autonomous Region People's Hospital, Urumqi, Xinjiang 830001, China; 2. The Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830028, China)

Abstract: Objective To establish a polycystic ovary syndrome (PCOS) animal model of prepubertal female rats induced by high-fat diet, and to explore the reproductive and metabolic characteristics of PCOS rats. **Methods** Prepubertal female rats were randomly divided into two groups: the control group which received a normal diet (group C, $n = 9$), and the experimental group which received a high-fat diet (group D, $n = 9$), and both two groups had been fed for 105 days. In addition, the adult female rats were randomly divided into another two groups: the control group which received 1% carboxymethyl cellulose (group A, $n = 9$), and the other group which received 1 mg/kg of letrozole (group B, $n = 9$), and both groups had been fed for 21 days. The body weight, estrus cycle and histology of ovary in the four groups were observed. Fasting glucose, fasting insulin, glucose tolerance, homeostasis model assessment for insulin resistance (HOMA-IR) and quantitative insulin sensitivity check index

(QUICKI), lipid profile, hormonal profile, leutinizing hormone receptor (LHR) and follicle stimulating hormone receptor (FSHR) mRNA expression were also measured. **Results** The body weight and ovarian weight of group B were lighter than that of group A ($P < 0.05$). Compared to group A, the AUC of glucose tolerance increased ($P < 0.05$). The AUC of glucose tolerance, fasting insulin, HOMA-IR, serum total cholesterol, estradiol and progesterone of 49, 77 and 105 days in group D were higher than those in group C ($P < 0.05$), and the quantitative insulin sensitivity index and testosterone in group C were higher than those in group D ($P < 0.05$). **Conclusions** Prepuberty high-fat diets induce PCOS in female rats and produce metabolic disorders and ovarian changes that are similar to those observed in patients with PCOS.

Keyword: polycystic ovary syndrome; rats; models, animal

多囊卵巢综合征 (polycystic ovary syndrome, PCOS) 是女性不育不孕的主要病因之一^[1]。为研究 PCOS 病因及其发病机制, 目前已经复制了多种 PCOS 动物模型, 但这些模型均未能全面反映 PCOS 患者常见的卵巢形态、功能及代谢特征变化^[2-4]。本研究拟探讨高脂饮食 (high-fat diet, HFD) 对青春期前大鼠卵巢形态、功能、胰岛素敏感性和激素水平的影响。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF 级 SD 雌性大鼠 18 只, 8 ~ 10 周龄, 体重 200 ~ 250 g; SPF 级 SD 雌性大鼠 18 只, 3 ~ 4 周龄, 体重 45 ~ 55 g, 均购于新疆医科大学实验动物中心 [许可证号: SYXK (新) 2013-0002]。饲养温度 (22 ± 2) °C, 相对湿度 (55 ± 5) %, 12 h 昼夜交替, 清洁饲养, 自由饮水, 环境安静, 饲养环境符合 SPF 要求。

1.2 试剂与仪器

普通颗粒饲料 (100% 基础饲料, 含 65% 碳水化合物、21.5% 蛋白质、4% 脂肪及 9.5% 其他) 和高脂肪饲料 (50% 基础饲料、17% 猪油、19% 豆油、6% 蔗糖、6% 酪蛋白及 2% 其他, 含 36% 碳水化合物、20% 蛋白质、40% 脂肪及 4% 其他) 购自新疆医科大学实验动物中心。来曲唑购自江苏恒瑞医药股份有限公司 (批号: 15011956, 国药准字 H19991001), 羧甲基纤维素钠购自美国 Sigma 公司 (批号 1002004856), Trizol 试剂购自美国英杰生命技术有限公司, ACS-151A 电子秤购自上海友声衡器有限公司, XS205 分析天平购自瑞士梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司, 血糖仪购自德国罗氏诊断有限公司, 全自动生化分析仪购自美国 Beckman 公司, ABI-7900 实时荧光定量 PCR 仪购自美国 ABI Biosystem 公司。

1.3 方法

1.3.1 动物分组及模型复制 PCOS 阳性对照: 将 8 ~ 10 周龄 SD 大鼠随机分为 A 组和 B 组, 各 9 例。A 组作为 B 组的对照, A 组和 B 组采用普通颗粒饲料喂养 21 d, A 组每日同时灌胃 1% 羧甲基纤维素 (LET 溶解剂), B 组每日同时灌胃 1% 羧甲基纤维素 + 来曲唑 [$1 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$]^[5]。

PCOS 实验对照: 将 3 ~ 4 周龄 SD 大鼠随机分为 C 组和 D 组, 各 9 例。C 组为 D 组的对照, 采用普通颗粒饲料连续喂养 105 d; D 组则采用高脂饲料连续喂养 105 d^[6]。

1.3.2 大鼠体重及动情周期监测 每日称 4 组大鼠体重并记录。A 组和 B 组于第 14 ~ 21 天, C 组和 D 组于第 42 ~ 49 天、第 70 ~ 77 天及第 98 ~ 105 天每只大鼠进行阴道涂片检查, 用生理盐水 (0.9% 氯化钠 NaCl) 清洗阴道, 收集阴道壁上的细胞并涂抹在玻片上。在显微镜下检查玻片上的有核上皮细胞、角化上皮细胞和白细胞的相对丰度, 观察大鼠动情周期变化。

1.3.3 糖耐量试验、胰岛素抵抗指数 (homeostasis model assessment for insulin resistance, HOMA-IR) 及胰岛素敏感检测指数 ①糖耐量试验: 禁食过夜后, 次日空腹采尾静脉血, 测定空腹血糖 (fasting blood glucose, FBG), 随后以葡萄糖 2 g/kg 灌胃大鼠, 在 0、30、60 和 120 min 后通过尾静脉取血, 测定血糖值。采用 Med Calc 11.4.1.0 统计软件分析曲线下面积 (area under the curve, AUC)^[7]。② HOMA-IR: 采用放射免疫法检测空腹胰岛素 (fasting insulin, FINS), $\text{HOMA-IR} = \text{FINS} \times \text{FBG} / 22.5$ 。③定量胰岛素敏感性检测指数 = $1/[\log(\text{FBG}) + \log(\text{FINS})]$ ^[7]。

1.3.4 血清血脂及性激素检测 禁食过夜后, 次日空腹采尾静脉血检测血清总胆固醇 (total cholesterol, TC) 和甘油三酯 (Triglycerides, TG)。采用放射免疫法测定促黄体生成激素 (Luteinizing hormone, LH)、

卵泡刺激素 (follicle stimulating hormone, FSH)、雌二醇 (Estradiol, E2)、孕酮 (Progesterone, P) 及睾酮 (Testosterone, T)。

1.3.5 LH 受体 (luteinizing hormone receptor, LHR) 及 FSH 受体 (follicle stimulating hormone receptor, FSHR) mRNA 表达 处死大鼠并分离卵巢。采用 Trizol 试剂提取卵巢细胞总 RNA。逆转录聚合酶链反应将总 RNA 逆转录成 cDNA。采用实时荧光定量 PCR 反应检测 LHR 和 FSHR mRNA 表达。LHR 正向引物: 5'-TCCGTGGACTCCCAAACA-3', 反向引物: 5'-ATCGTGGCGATCAGCGTA-3'。FSHR 正向引物: 5'-ACTGTGCATTCAACGGAA-3', 反向引物: 5'-GCCTCCATGAGGGTGACA-3'。 β -actin 正向引物: 5'-CTGGAGAAGAGCTATGAGCTGCCTG-3', 反向引物: 5'-AGGAAGGAAGGCTGGAAGAGAGCCT-3'。以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算。

1.3.6 卵巢重量及组织学检查 A 组和 B 组于第 21 天, C 组和 D 组于第 105 天, 处死大鼠并分离卵巢, 称取卵巢重量后, 以卵巢最大平面作为待检面, 将其包埋在石蜡中, 切成 4 ~ 5 μ m 厚的切片, 用苏木精-伊红染色后观察。

1.4 统计学方法

数据分析采用 Graph pad Prism 6 和 Med Calc 11.4.1.0 统计软件。计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$)

表示, 比较用配对 t 检验或重复测量设计的方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组体重增长情况

A 组和 B 组 0、7、14 及 21 d 体重比较, 采用重复测量设计的方差分析, 结果: ①不同时间点体重比较, 差异有统计学意义 ($F = 201.542, P = 0.000$); ②两组体重比较, 差异有统计学意义 ($F = 23.863, P = 0.000$), B 组低于 A 组; ③两组体重变化趋势比较, 差异有统计学意义 ($F = 16.021, P = 0.000$)。见表 1 和图 1A。

C 组和 D 组 0、7、14、21、28、35、42、49、56、63、70、77、84、91、98 及 105 d 体重比较, 采用重复测量设计的方差分析, 结果: ①不同时间点体重比较, 差异有统计学意义 ($F = 30.560, P = 0.000$); ②两组体重比较, 差异无统计学意义 ($F = 2.432, P = 0.051$); ③两组体重变化趋势比较, 差异无统计学意义 ($F = 0.739, P = 0.744$)。见表 2 和图 1B。

表 1 A、B 组不同时间点体重比较 ($n = 9, g, \bar{x} \pm s$)

组别	0 d	7 d	14 d	21 d
A 组	219.43 \pm 6.21	235.76 \pm 7.87	252.13 \pm 8.34	261.65 \pm 8.65
B 组	211.21 \pm 6.87	242.23 \pm 8.35	261.41 \pm 9.81	288.53 \pm 7.62

表 2 C、D 组不同时间点体重比较 ($n = 9, g, \bar{x} \pm s$)

组别	0 d	7 d	14 d	21 d	28 d	35 d	42 d	49 d
C 组	51.03 \pm 4.21	58.43 \pm 6.32	77.54 \pm 7.65	122.33 \pm 8.39	137.41 \pm 7.43	151.21 \pm 8.86	168.48 \pm 6.54	181.43 \pm 8.27
D 组	52.23 \pm 5.42	62.34 \pm 6.14	80.12 \pm 8.41	118.3 \pm 7.54	144.44 \pm 7.21	156.45 \pm 8.42	172.32 \pm 7.61	183.95 \pm 8.63
组别	56 d	63 d	70 d	77 d	84 d	91 d	98 d	105 d
C 组	194.54 \pm 9.65	201.32 \pm 7.52	210.53 \pm 8.45	218.01 \pm 8.01	220.43 \pm 7.98	225.54 \pm 7.34	234.53 \pm 8.32	245.43 \pm 8.63
D 组	196.19 \pm 8.18	209.71 \pm 8.76	212.43 \pm 9.87	219.21 \pm 7.42	225.81 \pm 7.65	234.32 \pm 8.87	245.36 \pm 8.42	252.32 \pm 7.51

2.2 各组动情周期变化

阴道涂片评估动情周期发现, A、C 组动情周期规律, 均为 4 ~ 5 d。B 组在第 14 ~ 21 天阴道涂片仅观察到白细胞, 提示 B 组失去了规律的动情周期。D 组第 42 ~ 49、70 ~ 77 及 98 ~ 105 天发情周期持续时间逐渐延长, 表明发情周期不规律。

2.3 各组卵巢重量和卵巢组织形态学比较

A 组观察结束后卵巢重量为 (54.26 \pm 4.51) mg, B 组为 (70.91 \pm 5.23) mg, 经 t 检验, 差异有统计学

意义 ($t = 7.233, P = 0.000$), B 组高于 A 组。

C 组观察结束后卵巢重量为 (41.84 \pm 5.98) mg, D 组为 (46.62 \pm 5.32) mg, 经 t 检验, 差异无统计学意义 ($t = 1.792, P = 0.092$)。

B 组和 D 组均观察到多个囊状扩张卵泡、小卵泡及闭锁卵泡, 黄体数量下降, 颗粒细胞层数减少。B 组卵泡直径为 (865.32 \pm 32.25) μ m, D 组为 (475.32 \pm 26.54) μ m, 经 t 检验, 差异有统计学意义 ($t = 28.013, P = 0.000$), B 组大于 D 组。见图 2。

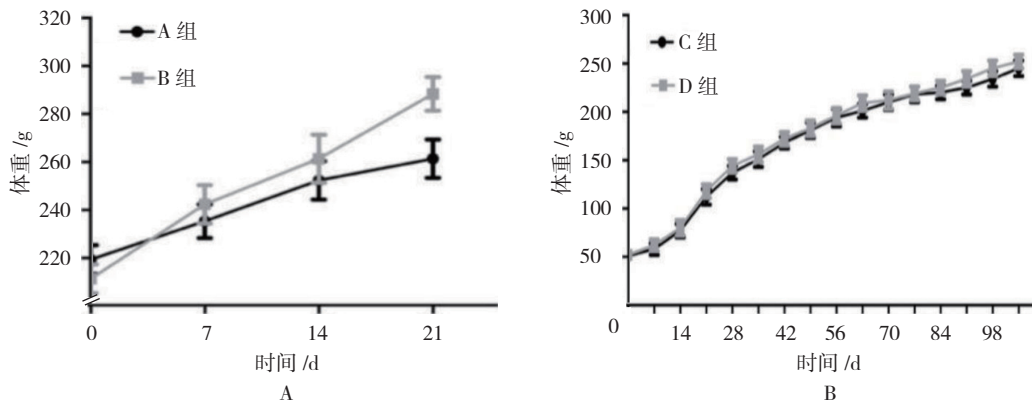


图 1 各组体重增长曲线 (n=9, $\bar{x} \pm s$)

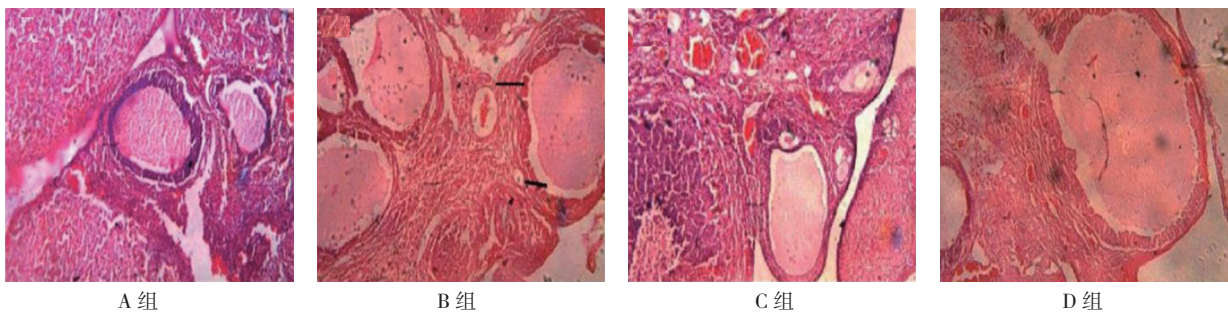


图 2 各组卵巢组织形态变化 (HE 染色 $\times 100$)

2.4 各组 FBG、FINS、糖耐量、HOMA-IR 及定量胰岛素敏感性检测指数比较

A 组与 B 组喂养 21 d 后糖耐量比较, 差异有统计学意义 ($t=14.723, P=0.000$); 两组 FBG、FINS、HOMA-IR 和定量胰岛素敏感性检测指数比较, 差异无统计学意义 ($t=0.643、0.843、0.752$ 和 $0.154, P=0.423、0.132、0.298$ 和 0.638)。见表 3。

C 组与 D 组 49、77 及 105 d 检测的 FBG、FINS、糖耐量、HOMA-IR 及定量胰岛素敏感性检测指数比较, 采用重复测量设计的方差分析, 结果: ①不同时间点 FBG 比较, 差异无统计学意义 ($F=0.422, P=0.654$), 不同时间点 FINS、糖耐量、HOMA-IR 及定量胰岛素敏感性检测指数比较, 差异有统计学意义 ($F=2.943、3.131、3.452$ 和 $3.354, P=0.042、0.034、0.031$ 和 0.038); ②两组 FBG 比较, 差异无统计学意义 ($F=0.436, P=0.543$), 两组 FINS、糖耐量、HOMA-IR 及定量胰岛素敏感性检测指数比较, 差异有统计

学意义 ($F=13.541、12.321、18.496$ 和 $10.321, P=0.001$), D 组 FINS、糖耐量、HOMA-IR 高于 C 组, C 组定量胰岛素敏感性检测指数高于 D 组; ③两组 FBG 变化趋势比较, 差异无统计学意义 ($F=0.651, P=0.342$), 两组 FINS、糖耐量、HOMA-IR 及定量胰岛素敏感性检测指数变化趋势比较, 差异有统计学意义 ($F=9.433、7.769、8.762$ 和 $3.354, P=0.002、0.008、0.003$ 和 0.038)。见表 4。

2.5 各组 TG、TC 水平比较

A 组和 B 组第 21 天 TG 分别为 (96.42 ± 4.36) 和 (136.91 ± 7.65) mg/dl, 经 t 检验, 差异有统计学意义 ($t=13.80, P=0.000$)。A 组和 B 组第 21 天 TC 分别为 (94.35 ± 5.85) 和 (95.68 ± 4.98) mg/dl, 经 t 检验, 差异无统计学意义 ($t=0.801, P=0.107$)。

C 组与 D 组 49、77 及 105 d 的 TG、TC 比较, 采用重复测量设计的方差分析, 结果: ①不同时间点 TG、TC 比较, 差异无统计学意义 ($F=0.324$ 和

表 3 A、B 组检测 21 d 后 FBG、FINS、糖耐量、HOMA-IR 及定量胰岛素敏感性检测指数比较 (n=9, $\bar{x} \pm s$)

组别	FBG/ (mg/dl)	FINS/ (mU/L)	糖耐量	HOMA-IR	定量胰岛素敏感性检测指数
A 组	132.54 ± 4.25	2.58 ± 0.52	321 ± 3.53	0.89 ± 0.11	0.41 ± 0.009
B 组	129.27 ± 5.36	4.15 ± 0.78	348 ± 4.22	1.54 ± 0.13	0.35 ± 0.007

表 4 C、D 组不同时间点的 FBG、FINS、糖耐量、HOMA-IR 及定量胰岛素敏感性检测指数比较 ($n=9, \bar{x} \pm s$)

组别	FBG/ (mg/dl)	FINS/ (mU/L)	糖耐量	HOMA-IR	定量胰岛素敏感性检测指数
C 组					
49 d	128.67 ± 3.21	1.86 ± 0.49	336.43 ± 5.21	0.68 ± 0.06	0.43 ± 0.01
77 d	109.75 ± 3.45	2.05 ± 0.64	300.56 ± 7.25	0.59 ± 0.06	0.44 ± 0.01
105 d	132.45 ± 2.54	1.98 ± 0.75	292.08 ± 5.45	0.71 ± 0.05	0.42 ± 0.01
D 组					
49 d	130.44 ± 2.14	3.02 ± 0.35	318.12 ± 5.57	1.10 ± 0.09	0.39 ± 0.01
77 d	115.61 ± 2.98	10.22 ± 0.86 [†]	335.39 ± 6.98 [†]	3.25 ± 0.16 [†]	0.31 ± 0.01 [†]
105 d	133.24 ± 3.24	12.21 ± 0.99 [†]	338.18 ± 5.67 [†]	4.39 ± 0.26 [†]	0.30 ± 0.01 [†]

注: †与 C 组比较, $P < 0.05$ 。

0.662, $P = 0.931$ 和 0.322); ②两组 TG 比较, 差异无统计学意义 ($F = 0.962, P = 0.121$); 两组 TC 比较, 差异有统计学意义 ($F = 3.232, P = 0.039$), D 组 TC 高于 C 组; ③两组 TG 变化趋势比较, 差异无统计学意义 ($F = 0.931, P = 0.152$), 两组 TC 变化趋势比较, 差异有统计学意义 ($F = 2.419, P = 0.042$)。见表 5。

2.6 各组血清性激素水平比较

A 组与 B 组 21 d 的 E2、T 水平比较, 差异有统计学意义 ($t = 7.420$ 和 14.200, 均 $P = 0.000$), 两组 LH、FSH、LH/FSH 及 P 水平比较, 差异无统计学意义 ($t = 0.109, 0.073, 0.433$ 和 0.773, $P = 0.759, 0.859, 0.532$ 和 0.299)。见表 6。

表 5 C、D 组不同时间点的 TG、TC 水平比较 ($n=9, \text{mg/dl}, \bar{x} \pm s$)

组别	TG	TC
C 组		
49 d	87.96 ± 6.69	96.87 ± 7.59
77 d	95.87 ± 7.58	97.58 ± 6.58
105 d	97.58 ± 6.27	98.41 ± 4.59
D 组		
49 d	84.54 ± 5.98	102.68 ± 5.74
77 d	89.54 ± 6.54	98.57 ± 5.66
105 d	91.24 ± 7.56	119.54 ± 6.27

表 6 A、B 组 21 d 的血清性激素水平比较 ($n=9, \bar{x} \pm s$)

组别	LH/ (mIU/L)	FSH/ (mIU/L)	LH/FSH	E2/ (ng/L)	P/ (ng/ml)	T/ (mIU/L)
A 组	8.13 ± 0.39	10.36 ± 0.58	0.81 ± 0.05	60.87 ± 4.98	126.98 ± 5.36	4.89 ± 0.54
B 组	9.18 ± 0.88	9.69 ± 0.85	0.88 ± 0.04	42.36 ± 5.58 [†]	130.12 ± 6.95	8.89 ± 0.65 [†]

注: †与 A 组比较, $P < 0.05$ 。

C 组与 D 组 49、77 及 105 d 的 LH、FSH、LH/FSH、E2、P 及 T 比较, 采用重复测量设计的方差分析, 结果: ①不同时间点 LH、FSH 及 LH/FSH 比较, 差异无统计学意义 ($F = 0.834, 0.932$ 和 0.822, $P = 0.721, 0.432$ 和 0.651); 不同时间点 E2、P 和 T 水平比较, 差异有统计学意义 ($F = 32.321, 14.543$ 和 25.363, 均 $P = 0.001$); ②两组 LH、FSH 和 LH/FSH 比较, 差异无统计学意义 ($F = 0.883, 0.793$ 和 0.812, $P = 0.552, 0.871$ 和 0.512); 两组 E2、P 和 T 比较, 差异有统计学意义 ($F = 23.654, 32.654$ 和 12.343, 均 $P = 0.001$), D 组

E2、P 水平低于 C 组, D 组 T 水平高于 C 组; ③两组 LH、FSH、LH/FSH、E2、P 及 T 变化趋势比较, 差异有统计学意义 ($F = 3.212, 2.121, 1.987, 21.235, 7.643$ 和 25.439, $P = 0.022, 0.038, 0.041, 0.001, 0.001$ 和 0.001)。见表 7。

2.7 各组 LHR 和 FSHR mRNA 相对表达量比较

A、B、C 及 D 组患者 LHR mRNA 相对表达量分别为 (1.02 ± 0.12)、(1.25 ± 0.63)、(1.08 ± 0.14) 和 (2.68 ± 0.64), FSHR mRNA 相对表达量分别为 (1.01 ± 0.11)、(0.82 ± 0.36)、(1.02 ± 0.12) 和

表 7 C、D 组不同时间点的血清性激素水平比较 ($n=9, \bar{x} \pm s$)

组别	LH/ (mIU/L)	FSH/ (mIU/L)	LH/FSH	E2/ (ng/L)	P/ (ng/ml)	T/ (mIU/L)
C 组						
49 d	11.24 ± 0.77	13.34 ± 0.67	0.85 ± 0.05	55.68 ± 6.26	312.32 ± 8.54	17.81 ± 0.59
77 d	12.13 ± 0.85	14.65 ± 0.89	0.82 ± 0.08	57.68 ± 4.26	332.13 ± 8.45	19.41 ± 0.89
105 d	11.86 ± 0.98	13.75 ± 0.74	0.81 ± 0.05	59.57 ± 4.32	325.25 ± 12.36	17.94 ± 0.95
D 组						
49 d	10.89 ± 0.81	12.56 ± 0.54	0.79 ± 0.04	45.53 ± 7.34	159.55 ± 10.35	18.35 ± 0.34
77 d	11.19 ± 0.68	13.98 ± 0.69	0.78 ± 0.06	43.53 ± 3.34 [†]	179.35 ± 12.24 [†]	21.03 ± 1.24 [†]
105 d	13.02 ± 0.94	14.34 ± 0.96	0.94 ± 0.11	42.64 ± 3.96 [†]	206.36 ± 11.24 [†]	27.59 ± 1.26 [†]

注: † 与 C 组比较, $P < 0.05$ 。

(1.17 ± 0.35)。各组患者 LHR mRNA 比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 26.580, P = 0.001$); D 组高于 C 组 ($P < 0.05$); 各组 FSHR 比较, 经方差分析, 差异无统计学意义 ($F = 2.648, P = 0.065$)。见图 3。

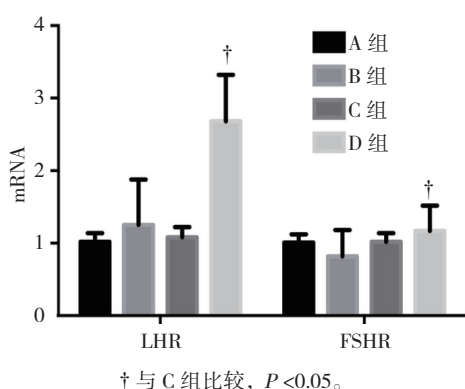


图 3 各组 LHR 和 FSHR mRNA 相对表达量的变化 ($n=9, \bar{x} \pm s$)

3 讨论

临床 PCOS 患者常见高雄激素血症和高胰岛素血症^[8]。本研究发现 HFD 可诱导青春期前大鼠 PCOS, 其特征与临床 PCOS 患者症状相似。目前 PCOS 动物模型复制主要是通过给予啮齿类动物雌激素、抗孕酮、雄激素及来曲唑来诱导^[9]。为观察 PCOS 的卵巢形态特征和代谢功能变化, 本研究同时让一组成年大鼠服用来曲唑以作为对照, 结果显示 D、B 组均出现 PCOS 卵巢特征, 提示 HFD 喂养青春期前大鼠与来曲唑诱导一样均可复制 PCOS 模型。

本研究中 HFD 喂养的大鼠动情期阶段的持续时间逐渐延长, 表明改大鼠发情周期中断。来曲唑喂养

大鼠也出现发情不规律。在这 2 种情况下, 生育力都显著受损。性激素水平的不平衡也造成了卵巢的结构改变。囊肿卵泡数增加, 囊壁增厚, 颗粒细胞层减少或消失, B、D 组大鼠颗粒细胞层减少, 卵巢也显示闭锁卵泡增加和黄体减少。大鼠卵巢的这些组织病理学变化与 PCOS 相似。

本研究连续 HFD 喂养 49 d 后逐渐观察到大鼠糖耐量、FINS 及 TG 异常。有学者临床观察到 PCOS 患者伴随胰岛素抵抗会引起脂肪酶活性下降并导致 TG 异常^[10]。HFD 喂养逐渐增加 TC 而非 TG 水平。在脱氢表雄酮联合 HFD 处理的 C57BL/6 小鼠中也有报道 TC 水平升高^[11]。本研究中, HFD 喂养大鼠的激素变化可能是胰岛素抵抗和高胰岛素血症的结果。来曲唑可减少雄激素在卵巢向雌激素的转化, 因此观察到来曲唑喂养的大鼠中雌激素水平较低、睾酮水平较高。另有研究发现孕酮水平也降低^[12], 与本研究观察结果相似。

本研究中 HFD 喂养大鼠的 LH 和 FSH 水平及其比例均未改变, 但 LHR 表达上调, 对 FSHR 表达影响不大。HFD 喂养的大鼠 LH 水平未改变, 可能是因为 LH 处于动态变化过程中, 清晨采血样 LH 可能并不是其变化区间。虽然相当比例的 PCOS 患者有 LH/FSH 改变, 但 LH/FSH 并不能作为 PCOS 诊断指标。高胰岛素血症可增加 LHR 的表达, 继而可增强促性腺激素的卵巢类固醇的生成反应, 使其过早的颗粒分化, 阻止卵泡生长并导致排卵^[13]。由于 LHR 表达未改变, 所以单独来曲唑治疗的大鼠通常不存在高胰岛素血症。

综上所述, 大鼠青春期前开始的 HFD 诱导代谢功能紊乱和卵巢形态改变进展缓慢, 与临床 PCOS 患者观察到的变化相似。与来曲唑诱导 PCOS 模型相比, 青春前期 HFD 可能是通过产生高胰岛素血症诱导雄激素增多, 诱导大鼠 PCOS。该模型研究对于进一步阐明 PCOS 的发病机制具有重要意义。

参 考 文 献:

- [1] ESCOBAR-MORREALE H F. Polycystic ovary syndrome: definition, aetiology, diagnosis and treatment[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2018, 14(5): 270-284.
- [2] GRIGORYAN O R, ZHEMAITE N S, VOLEVODZ N N, et al. Long-term consequences of polycystic ovary syndrome[J]. *Ter Arkh*, 2017, 89(10): 75-79.
- [3] NOROOZZADEH M, BEHBOUDI-GANDEVANI S, ZADEH-VAKILI A, et al. Hormone-induced rat model of polycystic ovary syndrome: a systematic review[J]. *Life Sci*, 2017, 191: 259-272.
- [4] LEGRO R S. Ovulation induction in polycystic ovary syndrome: current options[J]. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2016, 37: 152-159.
- [5] KAFALI H, IRIADAM M, OZARDALI I, et al. Letrozole-induced polycystic ovaries in the rat: a new model for cystic ovarian disease[J]. *Arch Med Res*, 2004, 35(2): 103-108.
- [6] WU C, LIN F, QIU S, et al. The characterization of obese polycystic ovary syndrome rat model suitable for exercise intervention[J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): DOI: 10.1007/s11695-013-1153-2.
- [7] WEI D, ZHANG B, SHI Y, et al. Effect of preconception impaired glucose tolerance on pregnancy outcomes in women with polycystic ovary syndrome[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2017, 102(10): 3822-3829.
- [8] ROTHENBERG S S, BEVERLEY R, BARNARD E, et al. Polycystic ovary syndrome in adolescents[J]. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2018, 48: 103-114.
- [9] PAIXÃO L, RAMOS R B, LAVARDA A, et al. Animal models of hyperandrogenism and ovarian morphology changes as features of polycystic ovary syndrome: a systematic review[J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2017, 15(1): 12-23.
- [10] MASER R E, LENHARD M J, POHLIG R T, et al. Pre-heparin lipoprotein lipase mass as a potential mediator in the association between adiponectin and HDL-cholesterol in type 2 diabetes[J]. *J Clin Transl Endocrinol*, 2016, 7: 7-11.
- [11] ANGELIS-PEREIRA M C, BARCELOS M F P, PEREIRA J A R, et al. Effect of different commercial fat sources on brain, liver and blood lipid profiles of rats in growth phase[J]. *Acta Cir Bras*, 2017, 32(12): 1013-1025.
- [12] JAHAN S, MUNIR F, RAZAK S, et al. Ameliorative effects of rutin against metabolic, biochemical and hormonal disturbances in polycystic ovary syndrome in rats[J]. *J Ovarian Res*, 2016, 9(1): 86.
- [13] CHEN L, HU L M, WANG Y F, et al. Effect of sodium aescinate treatment on PCOS rat model with insulin resistance[J]. *Bratisl Lek Listy*, 2017, 118(4): 223-227.

(李科 编辑)