

## ·基础研究·

## 一种新的稳定多囊卵巢综合征大鼠模型的建立\*

吴雏燕<sup>1</sup> 江钟立<sup>1,3</sup> 邱树卫<sup>1</sup> 吴亚文<sup>1</sup> 李红卫<sup>1</sup> 陈玲<sup>1</sup>

**摘要** **目的:**建立适合运动疗法研究的多囊卵巢综合征(PCOS)大鼠模型,观察模型建立过程中激素水平及卵巢形态的变化规律。**方法:**实验组(n=25)以丙酸睾酮皮下注射21日龄Wistar雌性大鼠,对照组(n=25)同期皮下注射相同容积茶油,分别在注射第7天、14天、21天、28天观察大鼠肥胖指数、卵巢器官指数、空腹血糖、空腹胰岛素、性激素水平以及卵巢的形态学变化。**结果:**实验组大鼠在完成28天注射后表现出肥胖、雌激素升高、孕酮下降、空腹胰岛素水平显著升高、空腹血糖/空腹胰岛素显著降低等典型PCOS的激素变化特征。卵巢形态呈现显著的颗粒层细胞减少,膜层增多,窦前卵泡大量聚集,闭锁卵泡增多等多囊卵巢特点。各时间点观察可见雌二醇水平第7天即发生显著改变,血糖水平在各时间点均未有显著改变,而胰岛素水平在各时间点没有显著变化直至第28天实验组显著升高。卵巢形态的变化早期表现膜层增厚和颗粒层减少,第21天闭锁卵泡显著增多,第28天出现窦前卵泡大量聚集。**结论:**连续28天丙酸睾酮注射诱导的PCOS大鼠模型具有高胰岛素血症、性激素异常的内分泌特征和卵巢多囊改变的形态学特点,并且激素和形态变化符合生理规律具有相当的稳定性,适合运动干预的研究。

**关键词** 运动干预;多囊卵巢综合征;大鼠

中图分类号:R493 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2008)-04-0334-05

A new stable rat model with polycystic ovary syndrome/WU Chuyan, JIANG Zhongli, QIU Shuwei, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2008, 23(4):334—338

**Abstract** **Objective:**To establish rat model with polycystic ovary syndrome for exercise intervention and to observe the changes of serum hormone and ovarian morphology during this processes. **Method:** Fifty female Wistar rats at 21 days of age were randomly divided into experimental group(n=25) and control group(n=25). The experimental rats were subcutaneously injected daily with testosterone propionate of 1mg/100g body weight dissolved in tea oil, while control rats were injected with tea oil. The body fat index, ovarian weight, fasting blood glucose and serum insulin (FINS), estrogen(E2), progesterone(P), testosterone(T) and ovarian morphology were analyzed respectively at 7, 14, 21, up to 28 days during the experiments. **Result:** On 28th day after injection of testosterone propionate, the levels of INS, E2 and T in serum increased significantly and ratios of FBG/FINS decreased significantly, compared with control group. The pathology of ovarian showed multiple follicular cysts in the ovary and significant increase in the ratios of follicular cysts to normal follicle after injection of testosterone propionate. The levels of serum E2 increased significantly after 7 days with injection of testosterone propionate. There were no remarkably changes in serum insulin until 28 days after injection of testosterone propionate in experimental group. Ovarian morphology showed a relative thinned granulosa cell layer and a thickened theca cell layer at 7 and 14 days after injection of testosterone propionate. The amounts of atretic follicles and preantral follicles significantly increased respectively at 21 and 28 days after injection of testosterone propionate, compared to controls. **Conclusion:**The rat model with PCOS induced by injection of testosterone propionate for 28 days are characteristic of hyperinsulinemia, abnormal sex hormone level and multiple follicular cysts, which keeps stable for long time. The rat model with PCOS can be used to study exercise intervention.

**Author's address** Department of Rehabilitation Medicine, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing, 210029

**Key words** exercise; polycystic ovary syndrome; rat

多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome, PCOS)是一种常见的生殖内分泌疾病,以不排卵、高雄激素血症及胰岛素抵抗为特征。目前国内外已将生活方式改善和运动作为PCOS的首选治疗方式<sup>[1]</sup>,我们前期的研究也证实低热卡饮食加运动治疗有利于改善胰岛素抵抗,降低高睾酮血症<sup>[2]</sup>。目前已有

\* 基金项目:南京医科大学创新基金项目资助课题(CX2004005)

1 南京医科大学第一附属医院康复医学科,南京,210029

2 南京医科大学生理学系

3 通讯作者:江钟立(南京医科大学第一附属医院康复医学科,南京,210029)

作者简介:吴雏燕,女,硕士研究生

收稿日期:2007-11-19

种建立 PCOS 模型的方法, 且建立的动物模型各有其特点。本研究旨在建立符合运动干预特征的 PCOS 大鼠, 为后期运动干预及运动治疗机制的分子生物学研究提供模型。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

50 只 Wistar 雌性大鼠 (21 日龄, 体重 51—70g) 购自上海斯莱克动物有限责任公司 [许可证号: SCXK (沪) 2003-0003], 由南京医科大学实验动物中心饲养于无特殊病原菌级屏障系统, 室温 22℃, 照明采用 12h 光照 (7:00—19:00) 和 12h 黑 (19:00—7:00) 周期循环, 常规大鼠颗粒饲料喂养, 自由供水。所有实验过程遵循南京医科大学动物管理委员会规定。

### 1.2 干预方法

将购自天津金耀氨基酸有限公司 [批号 H12020531] 的丙酸睾酮溶解于注射用茶油中制成 1mg/ml 丙酸睾酮溶液。

大鼠随机分为实验组 (n=25) 和对照组 (n=25), 再依据造模时药物注射天数各分为 5 亚组, 即注射前 0d、注射 7d、14d、21d 和 28d, 每个亚组 5 只。每日精确称重, 分别依据体重实验组每日早晨 8 时于皮下注射 1mg/100g 体重的丙酸睾酮溶液; 对照组同期皮下注射 1ml/100g 体重油剂。从大鼠 40 日龄起每日对大鼠进行阴道涂片观察大鼠动情周期变化, 连续观察 10d。

### 1.3 标本采集和血液样本检测

分别在 21 日龄, 注射 7d、14d、21d、28d 晚 8 时禁食, 次晨 8 时称重, 测量鼻肛长度, 计算 Lee 指数评定大鼠的肥胖, 即在每一时间点动物禁食 8h 后分别准确称量体重和测量鼻肛身长, 计算公式:

$$[\text{Lee 指数} = \sqrt[3]{\text{体重(g)} \times 1000 / \text{体长(cm)}}]^{[9]}$$

各组在上述各时点大鼠尾静脉采血测定空腹血糖值, 血糖采用 Surestep Plus 血糖仪 (强生, 美国) 测定。

大鼠腹腔注射 1% 戊巴比妥麻醉后, 行腹主动脉采血, 用于胰岛素、睾酮、雌激素以及孕酮水平测定。同时分离双侧卵巢, 清除卵巢周围邻近组织和脂肪组织, 一侧卵巢迅速放入液氮, 后转入 -80℃ 冰箱中保存。另一侧卵巢称重, 计算器官指数 (= 卵巢重

量/体重  $\times 10^{-3}$ )<sup>[4]</sup>, 置于中性福尔马林溶液中固定 24h 后进行石蜡包埋, 用于卵巢病理检查。血清胰岛素测定采用放免分析试剂盒 (北京北方生物技术研究所, 中国), 性激素测定采用放免分析试剂盒 (北京北方生物技术研究所, 中国)。

### 1.4 动情周期观察

从大鼠 40 日龄阴道全部开口后开始行阴道涂片, 采用钝头吸管吸取生理盐水冲洗阴道, 将含有大鼠阴道脱落细胞的冲洗液滴于玻片上, 烘干, 用亚甲兰快速染色, 进行镜下观察判断周期。动情周期的判断依据: ①动情前期, 涂片大量有核上皮细胞; ②动情期, 大量角化细胞, 没有白细胞; ③动情后期, 可见上皮细胞, 角化细胞, 白细胞各占三分之一; ④动情间期, 几乎全为白细胞<sup>[5]</sup>。

### 1.5 卵巢形态学观察

由江苏省人民医院病理科制作, 常规石蜡包埋后, 经最大截面连续切片厚 4μm, 二甲苯, 酒精依次脱蜡, 苏木素、伊红染色, 烘干, 封片。采用 Olympus BX51 拍照系统 (日本) 采集照片, 运用图像分析软件 Image-Pro Plus 6.0 分析各组卵巢切片最大截面中卵巢面积、黄体面积、窦前卵泡数、窦状卵泡数、闭锁卵泡数、卵泡颗粒层细胞厚度, 以及卵泡膜层厚度。其中颗粒层厚度和膜层厚度的测量均采用每张切片随机取 3 个视野 ( $\times 200$ ) 测量后取平均值<sup>[6]</sup>。

### 1.6 统计学分析

用 SPSS13.0 统计软件进行数据分析, 计量资料采用均数  $\pm$  标准差进行统计描述。不同时间点上多组总体均数的比较采用单因素方差分析, 组间差异经方差齐性检验后, 方差齐时采用 LSD 法进行两两比较, 方差不齐时采用 Tamhane's 法两两比较。

## 2 结果

### 2.1 实验组和对照组大鼠 Lee 指数的变化

大鼠肥胖评定指数 Lee 指数在注射 7 天时实验组显著低于对照组, 而到注射 28 天实验组显著高于对照组 (见表 1)。

### 2.2 实验组和对照组大鼠血糖、胰岛素、雌二醇、孕酮的变化

空腹血糖在实验组和对照组从第 21 天起开始显著升高, 第 28 天血糖值在两组间无显著差异。空

表 1 实验组和对照组大鼠 Lee 指数变化趋势

( $\bar{x} \pm s$ )

| 项目     | 第 0 天           |                 | 第 7 天                        |                 | 第 14 天           |                 | 第 21 天          |                 | 第 28 天                       |                  |
|--------|-----------------|-----------------|------------------------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------------------|------------------|
|        | 实验组             | 对照组             | 实验组                          | 对照组             | 实验组              | 对照组             | 实验组             | 对照组             | 实验组                          | 对照组              |
| 体重(g)  | 54.7 $\pm$ 4.7  | 57.5 $\pm$ 2.4  | 77.0 $\pm$ 7.3               | 77.6 $\pm$ 2.9  | 107.6 $\pm$ 13.0 | 108.2 $\pm$ 1.8 | 135.6 $\pm$ 5.9 | 130.0 $\pm$ 6.0 | 139.7 $\pm$ 7.0              | 142.3 $\pm$ 11.2 |
| 体长(cm) | 11.8 $\pm$ 0.3  | 12.1 $\pm$ 0.20 | 14.6 $\pm$ 0.6               | 14.2 $\pm$ 0.4  | 15.4 $\pm$ 0.4   | 15.3 $\pm$ 0.30 | 16.5 $\pm$ 0.2  | 16.6 $\pm$ 0.33 | 17.8 $\pm$ 0.3 <sup>①</sup>  | 18.5 $\pm$ 0.4   |
| Lee 指数 | 320.1 $\pm$ 3.4 | 318.1 $\pm$ 2.0 | 292.1 $\pm$ 6.0 <sup>①</sup> | 301.4 $\pm$ 8.0 | 308.0 $\pm$ 9.6  | 310.7 $\pm$ 4.7 | 310.6 $\pm$ 5.2 | 305.5 $\pm$ 2.8 | 291.0 $\pm$ 8.0 <sup>①</sup> | 282.5 $\pm$ 3.0  |

①与对照组相比  $P < 0.05$

胰岛素值在实验组第 28 天显著高于注射前和注射后 7 天、14 天,并且显著高于同期对照组,而对照组造模期间空腹胰岛素无显著变化。

血清雌二醇在实验组从第 7 天开始显著升高,第 28 天显著高于对照组,对照组在造模期间无显著变化。血清孕酮在对照组第 28 天显著高于造模前,与实验组比较无显著差异。

### 2.3 注射 28 天后实验组、对照组以及基线水平血糖、胰岛素以及性激素的比较

空腹血糖(FBG)在实验组和对照组均显著高于基线水平,实验组和对照组两组之间无显著差异;空腹胰岛素(FINS)以及 FBG/FINS 比值在实验组和对照组均显著高于基线水平,并且实验组显著高于对照组;T 和 E2 在实验组显著高于对照组和基线水平;P 在对照组显著高于基线水平,与实验组比较无显著差异。

### 2.4 大鼠动情周期的观察

大鼠 40 日龄阴道全部开口后对实验组和对照组大鼠进行阴道涂片观察大鼠排卵情况,对照组大

鼠均为 4—5 天规律动情周期(图 1,见前置彩色插页 6)。实验组大鼠阴道涂片为大量白细胞,偶见有核上皮细胞和角化细胞,提示实验组大鼠始终处于动情间期,无动情周期变化、无排卵。

图 1 中:动情前期:可见大量圆形深染的有核上皮细胞;B:动情期:可见大量片状角化上皮细胞;C:动情后期:可见涂片中既有少量有核深染圆形细胞,又有片状角化上皮细胞,同时还有散在的形态相对较小,染色较浅的白细胞;D:动情间期:大量白细胞散在分布。

### 2.5 卵巢大体形态改变

卵巢大体形态可见对照组卵巢色泽红,实验组卵巢经丙酸睾酮注射后多色泽苍白。卵巢器官指数在 0,7,14 天实验组 ( $0.09 \pm 0.01, 0.15 \pm 0.04, 0.12 \pm 0.02$ ) 和对照组 ( $0.09 \pm 0.01, 0.13 \pm 0.03, 0.16 \pm 0.04$ ) 之间没有显著差异,第 21 天、28 天对照组 ( $0.16 \pm 0.02, 0.16 \pm 0.03$ ) 均显著高于实验组 ( $0.11 \pm 0.02, 0.09 \pm 0.03$ ),差异有显著性意义( $P < 0.05$ )。见图 2(见前置彩色插页 6)。

表 2 大鼠血糖、胰岛素、雌二醇、孕酮变化趋势

( $\bar{x} \pm s$ )

| 项目          | 第 0 天     |           | 第 7 天                |          | 第 14 天               |          | 第 21 天               |                      | 第 28 天                 |                       |
|-------------|-----------|-----------|----------------------|----------|----------------------|----------|----------------------|----------------------|------------------------|-----------------------|
|             | 实验组       | 对照组       | 实验组                  | 对照组      | 实验组                  | 对照组      | 实验组                  | 对照组                  | 实验组                    | 对照组                   |
| 血糖(mmol/L)  | 3.0±0.2   | 3.1±0.8   | 3.8±0.2              | 4.0±0.2  | 3.1±0.5              | 2.8±0.5  | 4.2±0.4 <sup>②</sup> | 4.5±0.1 <sup>②</sup> | 4.9±0.4 <sup>③</sup>   | 5.3±0.4 <sup>⑤</sup>  |
| 胰岛素(μIU/ml) | 14.5±3.3  | 14.5±2.5  | 21.5±4.1             | 13.4±5.1 | 17.3±4.7             | 16.7±2.7 | 15.3±4.0             | 16.4±3.1             | 26.5±3.2 <sup>④⑤</sup> | 20.5±2.9              |
| 雌二醇(ng/ml)  | 0.8±0.6   | 1.4±0.2   | 1.8±0.7 <sup>①</sup> | 2.2±0.5  | 2.4±0.6 <sup>①</sup> | 1.9±0.3  | 2.1±0.1 <sup>①</sup> | 2.0±0.3              | 2.5±0.6 <sup>①⑤</sup>  | 1.8±0.7               |
| 孕酮(ng/ml)   | 0.04±0.03 | 0.04±0.02 | 0.36±0.1             | 0.31±0.1 | 0.33±0.3             | 0.43±0.2 | 0.42±0.3             | 0.48±0.4             | 0.31±0.2               | 0.68±0.7 <sup>①</sup> |

①与注射第 0 天比较  $P < 0.05$ ;②与注射第 0 天、第 14 天比较  $P < 0.05$ ;③与注射 0 天、第 7 天、第 14 天相比较  $P < 0.05$ ;④与注射 0 天、第 14 天、第 21 天相比较  $P < 0.05$ ;⑤与注射 0 天、第 7 天、第 14 天、第 21 天比较  $P < 0.05$ ;⑤与对照组相比  $P < 0.05$

表 3 造模前后及对照组间血糖、胰岛素、性激素的比较

( $\bar{x} \pm s$ )

|              | 基线水平注射前(0 天) | 实验组注射第 28 天             | 对照组注射第 28 天              |
|--------------|--------------|-------------------------|--------------------------|
|              |              |                         |                          |
| FBG(mmol/L)  | 3.42±0.53    | 4.88±0.46 <sup>①</sup>  | 5.27±0.48 <sup>①</sup>   |
| FINS(μIU/ml) | 14.51±3.25   | 26.52±3.55 <sup>①</sup> | 20.51±3.29 <sup>①②</sup> |
| FBG/FINS     | 0.10±0.03    | 0.19±0.02 <sup>①</sup>  | 0.25±0.05 <sup>①②</sup>  |
| T(ng/ml)     | 0.09±0.11    | 28.32±7.24 <sup>①</sup> | 0.16±0.08 <sup>②</sup>   |
| E2(ng/ml)    | 1.08±0.51    | 2.41±0.56 <sup>①</sup>  | 1.77±0.67 <sup>②</sup>   |
| P(ng/ml)     | 0.04±0.21    | 0.31±0.16               | 0.68±0.72 <sup>①</sup>   |

①与基线水平比较  $P < 0.05$ ;②与实验组比较  $P < 0.05$

### 2.6 卵巢形态各参数的变化

卵巢膜层厚实验组自第 7 天开始高于对照组,颗粒层细胞厚度实验组第 14 天开始低于对照组,窦前卵泡实验组第 28 天显著多于对照组,而窦状卵泡实验组在第 7 天升高,第 21 天开始显著下降,闭锁卵泡实验组第 7 天开始显著增多,闭锁卵泡占总卵泡数目比在实验组第 21 天开始显著增高(见表 4)。

表 4 卵巢各形态参数的变化

( $\bar{x} \pm s$ )

| 项目        | 第 0 天    |          | 第 7 天                 |          | 第 14 天                |          | 第 21 天                |          | 第 28 天                |          |
|-----------|----------|----------|-----------------------|----------|-----------------------|----------|-----------------------|----------|-----------------------|----------|
|           | 实验组      | 对照组      | 实验组                   | 对照组      | 实验组                   | 对照组      | 实验组                   | 对照组      | 实验组                   | 对照组      |
| 膜层厚度(μm)  | 9.3±2.7  | 9.3±3.1  | 14.5±3.8 <sup>①</sup> | 10.0±1.8 | 14.1±1.5 <sup>①</sup> | 9.8±1.8  | 15.5±2.2 <sup>①</sup> | 8.8±2.1  | 17.3±3.1 <sup>①</sup> | 7.3±0.6  |
| 颗粒层厚度(μm) | 40.5±6.2 | 42.7±8.6 | 47.0±8.2              | 50.4±6.4 | 32.4±6.0 <sup>①</sup> | 55.5±7.9 | 31.5±5.5 <sup>①</sup> | 45.5±4.0 | 31.2±4.2 <sup>①</sup> | 39.7±3.6 |
| 窦前卵泡      | 8.5±2.9  | 9.5±2.6  | 14.2±7.2              | 4.6±1.1  | 5.2±1.6               | 4.0±1.7  | 7.2±6.0               | 1.4±1.1  | 8.3±2.4 <sup>①</sup>  | 1.2±0.8  |
| 窦状卵泡      | 5.0±2.2  | 5.0±2.8  | 8.8±2.4 <sup>①</sup>  | 4.6±1.8  | 5.8±3.5               | 4.2±2.5  | 2.2±1.8 <sup>①</sup>  | 6.2±2.6  | 2.2±0.8 <sup>①</sup>  | 5.3±3.1  |
| 闭锁卵泡      | 5.0±1.7  | 4.3±0.5  | 4.8±0.8 <sup>①</sup>  | 1.2±1.1  | 4.6±1.5 <sup>①</sup>  | 2.2±1.3  | 5.6±0.9 <sup>①</sup>  | 1.4±1.5  | 7.0±1.9 <sup>①</sup>  | 1.2±1.2  |
| 闭锁总卵泡数目比  | 0.3±0.1  | 0.2±0.1  | 0.2±0.1               | 0.1±0.1  | 0.3±0.1               | 0.2±0.1  | 0.4±0.2 <sup>①</sup>  | 0.1±0.1  | 0.4±0.1 <sup>①</sup>  | 0.1±0.1  |

①与对照组比较  $P < 0.05$

## 3 讨论

PCOS 为育龄女性常见的内分泌疾病之一,临床表现多种多样,主要特征为高雄激素血症、高胰岛素血症、不孕<sup>[1]</sup>。目前 PCOS 的建模方法有很多种,临

床常可根据不同的研究目的选择相应的模型。已有文献报道采用 6 日龄大鼠皮下一次性注射丙酸睾酮,56 天后连续观察阴道涂片两周<sup>[7]</sup>,因 PCOS 是一个长期的形成过程,此种一次性注射造模方法与人类 PCOS 的形成不相符合。还有文献采用 9 日龄大



鼠皮下注射丙酸睾酮近 100 天, 其卵巢形态有多囊表现, 但激素变化不明显, 多用于 PCOS 大鼠脂代谢的研究<sup>[8]</sup>。其他较常见有给青春前期大鼠外源性连续注射脱氢表雄酮 6mg/100g 体重 20 天, 此种方法制作成的 PCOS 大鼠模型优点在于具有高睾酮血症、胰岛素抵抗特征且卵巢形态变化与人类相似, 但持续时间较短, 一般 10 天左右模型自行恢复, 不稳定<sup>[9]</sup>, 只适合进行病因学和形态学研究, 不适用于长期治疗研究。最近有人提出青春前期大鼠外源性注射双氢睾酮 11—3 周的造模方法, 卵巢形态、胰岛素敏感性下降、孕激素产生减少, 这些改变均与 PCOS 患者临床表现相一致, 被认为激素和形态两方面均与多囊卵巢综合征相一致, 但其没有形成典型的高睾酮血症特征<sup>[10]</sup>, 而目前雄激素水平升高已被认为是 PCOS 患者的主要生化特征。其他的造模方法还有芳香酶抑制剂、雌激素以及持续光照造模等等, 虽卵巢形态符合多囊改变, 雄激素水平升高, 雌激素水平升高, 孕酮水平降低, 但模型不具备胰岛素抵抗特点。而胰岛素抵抗是 PCOS 患者的重要特征, 在 PCOS 患者中, 胰岛素敏感性降低可达 35%—40%, 并且已经成为独立于肥胖之外的一个因素, 虽然肥胖会进一步的加重胰岛素抵抗<sup>[11]</sup>。PCOS 的发生和发展与不健康的生活方式有关, 有一个较长的疾病形成时期, 目前临床 PCOS 的治疗越来越倾向于纠正胰岛素抵抗, 康复医学更侧重于通过以运动为主的生活方式干预来改善胰岛素敏感性<sup>[2]</sup>, 但健康生活方式的调整需要有一个时间过程, 因此寻找能够维持较长时间激素和病理变化特征的 PCOS 动物模型对研究康复干预的方法学及其疗效分析来说至关重要。本研究目的就在于建立具有高雄激素血症、高胰岛素血症、胰岛素抵抗以及不排卵的稳定的 PCOS 大鼠模型, 便于实施运动干预的研究。

从本研究结果可见外源性注射 28 天丙酸睾酮后实验组大鼠胰岛素水平显著增高, 空腹血糖/空腹胰岛素比值显著降低, 肥胖指数增加, 显示有胰岛素抵抗, 与国外同类实验研究结果相一致。有研究表明雄激素可以通过以下途径造成胰岛素抵抗: ①减少肝脏对胰岛素的降解; ②减少外周组织对胰岛素的结合与降解; ③高浓度的睾酮可明显降低胰岛素介导的葡萄糖转运和肌肉内糖原的合成; ④可引起肌肉对胰岛素敏感性的 1 型纤维减少, 而对胰岛素抵抗的 2 型纤维增加, 肌纤维内长链肌球蛋白减少而短链肌球蛋白增加。但在多囊卵巢综合征, 胰岛素抵抗与高雄激素血症之间的因果关系尚未清楚。此外, 睾酮还参与体内脂肪分布的调节, 增加儿茶酚胺介

导的脂肪动员<sup>[12]</sup>。雌二醇在 PCOS 患者中常可升高或者保持不变, 本研究中实验组大鼠在外源睾酮注射后雌激素升高可能是由于高雄激素血症刺激卵巢颗粒细胞黄素化, 使雌二醇分泌增多; 或高胰岛素血症刺激颗粒细胞生成雌二醇所致。和人类 PCOS 一样, 孕酮水平的降低与阴道细胞涂片结果相一致, 均表明实验组大鼠在整个实验周期始终处于动情间期, 不排卵, 这与各种方法造模所得结果均一致。大鼠的卵巢形态学符合窦前卵泡大量聚集、窦状卵泡减少、颗粒细胞层减少、膜层增厚、闭锁卵泡比例增加等特征, 与 Beloosesky R 等的研究结果一致<sup>[13]</sup>, 有研究认为卵巢多囊的形成可能与雄激素外周组织转化成雌酮增加有关, 雌激素的持续升高对下丘脑垂体具有正反馈作用, 促进黄体生成素的大量合成和分泌, 从而使卵泡膜细胞和间质细胞增生, 并抑制卵泡的发育<sup>[12]</sup>。另外也有研究认为卵巢多囊的形成与雄激素升高直接相关<sup>[14—15]</sup>。

PCOS 的病理改变是一个长期的过程, PCOS 女性患者一般在青春初期就具有肥胖、多毛等特征<sup>[16]</sup>, 直到育龄期表现出不排卵。现有的造模文献均立足于对完成 PCOS 大鼠模型的那个时点进行观察, 研究其致病机制和卵巢形态的变化。Beloosesky 等采用 21 日龄大鼠皮下注射丙酸睾酮 1mg/100g 体重 35 天, 分别取第 7、14、21、28、35 天观察, 主要针对研究 PCOS 大鼠卵巢细胞的凋亡<sup>[13]</sup>。而本研究着眼于 PCOS 的临床胰岛素特征及其运动干预研究出发, 观察造模过程中不同时间点大鼠的卵巢形态以及激素水平的变化, 目的在于更好的捕捉其形态和激素随时间变化的规律, 对模型的变化特征能够充分了解, 为后期临床干预实施作准备。在本研究中, 我们观察了外源性注射丙酸睾酮第 0、7、14、21、28 天 5 个时间点的各项观察指标的变化及其整体变化趋势。Lee 指数在注射 7 天后实验组显著低于对照组, 提示生长早期丙酸睾酮具有促进骨骼生长发育的作用<sup>[12]</sup>, 此后注射第 14、21 天实验组和对照组没有显著差异, 直到第 28 天实验组大鼠逐渐表现出肥胖特征。空腹血糖值随时间变化实验组和对照组均有所增高, 但两组间没有差异, 因而可见实验组大鼠血糖并无异常, 尚未形成高血糖状态。胰岛素的变化趋势在实验组注射第 7 天时有短暂的升高, 随后降低, 直到注射第 28 天形成高胰岛素血症, 而对照组在各时间点均没有显著变化, 这说明虽有报道短期丙酸睾酮注射也能形成 PCOS 模型<sup>[7, 17]</sup>, 但所形成的高胰岛素血症不稳定, 短期雄激素注射的造模方法不能用于 PCOS 治疗方面的研究。雌二醇的增高

在注射第7天后就出现,而孕酮的降低则在第28天才较明显,这与激素在体内的转化过程相符<sup>[18]</sup>。器官指数在注射第21天后实验组显著降低,虽有类似报道<sup>[15]</sup>,但这是丙睾造模与人类PCOS不相符合之处,但与本研究的目的不矛盾,并不影响此模型在康复医学领域的应用。

#### 4 结论

本研究建立的PCOS大鼠模型符合多囊卵巢综合征卵巢多囊形态改变,且内分泌特征与PCOS患者相似,具有典型的高胰岛素血症以及胰岛素抵抗特征。从各时间点进行激素水平和卵巢形态的观察可进一步理解PCOS大鼠模型建立过程中所出现的这一系列的生理变化规律,为后期临床干预提供依据。在我们后续的两周运动干预实验研究中,也已证实该模型具有一定的稳定性,非运动组43d后多囊卵巢形态、胰岛素抵抗以及高雄激素血症持续存在,并较28d时有所加重,因此我们认为该模型较为适合于康复医学领域运动治疗机制的研究。

#### 参考文献

- [1] Norman RJ, Wu R, Stankiewicz MT. 4: Polycystic ovary syndrome[J]. Med J Aust, 2004,180(3):132—137.
- [2] 江钟立,刘嘉茵,张勤,等.运动对多囊卵巢综合征患者的胰岛素抵抗和性激素的影响[J].中国康复医学杂志,2004,19(4):246—248.
- [3] 石凤英,何晓焯.有氧运动与饮食控制对高脂喂养大鼠脂质代谢的影响[J].中国康复医学杂志,2002,17(5):273—276.
- [4] 程湘,徐辉,艾国平,等.慢性情绪应激对大鼠卵巢功能影响的初步观察[J].第三军医大学学报,2007,29(14):1368—1370.
- [5] Montes GS, Luque EH. Effects of ovarian steroids on vaginal smears in the rat[J]. Acta Anat, 1988,133: 192—199.
- [6] Liu G, Shi F, Blas-Machado U. Ovarian effects of a high lactose diet in the female rat[J]. Reprod Nutr Dev, 2005, 45(2): 185—192.
- [7] Liu X, Andoh K, Mizunuma H, et al. Effects of recombinant human FSH(rhFSH), urinary purified FSH(uFSH), and hMG on small preantral follicles and tertiary follicles from normal adult and androgen-sterilized female mice [J]. Fertil Steril, 2000, 73(2):372—380.
- [8] Tamura N, Kurabayashi T, Nagata H, et al. Effects of testosterone on cancellous bone, marrow adipocytes, and ovarian phenotype in a young female rat model of polycystic ovary syndrome. [J]. Fertil Steril, 2005, 84(Suppl 2):1277—1284.
- [9] Szukiewicz D, Uilenbroek JT. Polycystic ovary syndrome: searching for an animal model[J]. J Med, 1998, 29(5—6):259—257.
- [10] Manneras L, Cajander S, Holmang A, et al. A new rat model exhibiting both ovarian and metabolic characteristics of polycystic ovary syndrome [J]. Endocrinology, 2007, 148(8): 3781—3791.
- [11] Dunaif A, Thomas A. Current concepts in the polycystic ovary syndrome[J]. Annu Rev Med, 2001, 52:401—419.
- [12] Arner P. Effects of testosterone on fat cell lipolysis. Species differences and possible role in polycystic ovarian syndrome[J]. Biochimie. 2005, 87(1):39—43.
- [13] Beloosesky R, Gold R, Almog B, et al. Induction of polycystic ovary by testosterone in immature female rats: Modulation of apoptosis and attenuation of glucose/insulin ratio [J]. Int J Mol Med, 2004, 14(2):207—215.
- [14] Sam S, Dunaif A. Polycystic ovary syndrome: syndrome XX[J]? Trends Endocrine Metab, 2003 OCT, 14(8):365—370.
- [15] Legro RS, Driscoll D, Strauss JF, et al. Evidence for genetic basis for hyperandrogenemia in polycystic ovary syndrome [J]. Pcoc Natl Acad Sci USA, 1998, 95(25):14956—14960.
- [16] Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis[J]. Endocr Rev, 1997, 18(6):774—800.
- [17] 桂文武,陈静,丘彦,等.类多囊卵巢综合征大鼠模型的比较研究[J].中国比较医学杂志,2006, 6(16): 330—332.
- [18] Abbott DH, Dumesic DA, Franks S. Developmental origin of polycystic ovary syndrome: a hypothesis [J]. J Endocrinol, 2002, 174(1):1—5.

(上接 333 页)

- [J]. Br J Nutr, 2006, 96(3):469.
- [3] 石凤英,何晓焯.有氧运动与饮食控制对高脂喂养大鼠脂质代谢的影响[J].中国康复医学杂志,2002, 17(5): 273—276.
- [4] 程湘,徐辉,艾国平,等.慢性情绪应激对大鼠卵巢功能影响的初步观察[J].第三军医大学学报,2007, 29(14):1368—1370.
- [5] Liu G, Shi F, Blas-Machado U, et al. Ovarian effects of a high lactose diet in the female rat [J]. Reprod Nutr Dev, 2005, 45(2):185.
- [6] Norman RJ, Wu RJ, Stankiewicz MT. 4: Polycystic ovary syndrome [J]. MJA, 2004, 180(3):132.
- [7] 江钟立,刘嘉茵,张勤,等.运动对多囊卵巢综合征患者的胰岛素抵抗和性激素的影响 [J]. 中国康复医学杂志,2004,19(4):246—248.
- [8] Szukiewicz D, Uilenbroek JT. Polycystic ovary syndrome — searching for an animal model[J]. J Med, 1998, 29(5—6):259.
- [9] Moghetti P. Insulin resistance: What is its role in the polycystic ovary syndrome? [J]. Current Opinion in Endocrinology and Diabetes, 2002, 9(6):444—450.
- [10] Livingstone C, Collison M. Sex steroids and insulin resistance [J]. Clin Sci, 2002, 102(2):151.
- [11] Moran C, Huerta R, Conway-Myers BA, et al. Altered autophosphorylation of the insulin receptor in the ovary of a woman with polycystic ovary syndrome [J]. Fertil Steril, 2001, 75(3):625.
- [12] Holmäng A, Larsson BM, Brzezinska Z, et al. Effects of short-term testosterone exposure on insulin sensitivity of muscles in female rats[J]. Am J Physiol, 1992, 262(6 Pt 1):E851.
- [13] Khorram O, Helliwell JP, Katz S, et al. Two weeks of metformin improves clomiphene citrate-induced ovulation and metabolic profiles in women with polycystic ovary syndrome[J]. Fertil Steril, 2006, 85(5):1448.
- [14] Pirwany IR, Yates RW, Cameron IT, et al. Effects of the insulin sensitizing drug metformin on ovarian function, follicular growth and ovulation rate in obese women with oligomenorrhea[J]. Hum Reprod, 1999, 14(12):2963.
- [15] Manni L, Cajander S, Lundberg T, et al. Effect of exercise on ovarian morphology and expression of nerve growth factor and alpha (1)- and beta (2)-adrenergic receptors in rats with steroid-induced polycystic ovaries [J]. J Neuroendocrinol, 2005, 17(12):846.
- [16] Misugi T, Ozaki K, El Beltagy K, et al. Insulin-lowering agents inhibit synthesis of testosterone in ovaries of DHEA-induced PCOS rats[J]. Gynecol Obstet Invest, 2006, 61(4):208.