

2010,362(12):1090

[2] 白青云.蒙医百科全书·蒙医学.赤峰:内蒙古科技出版社, 1986:182

[3] 陈红梅,王秀兰,翠平等.蒙药苏格木勒及其不同提取物对动物肾功能的保护作用.中国民族医药杂志, 2015,21(7):60-63

[4] Szkudelski T.The mechanism of alloxan and streptozotcin action in B cells of the rat pancreas.Physiol Res,2001,50(6):537

[5] 刘明花,汪冀,孙书珍,等.基质金属蛋白酶/基质金属蛋白酶组织抑制因子与糖尿病肾病的研究进展.实用儿科临床杂志, 2005,20(5):475-477

[6] 秦会娟,温玉洁,刘陶文,等.血管紧张素转化酶抑制剂联合血管紧张素II受体拮抗剂应用于糖尿病肾病的研究进展.医学综述,2012,18(1):124-126

[7] 汪建云,印晓星.糖尿病肾病中转化生长因子-β1信号转导与肾纤维化.中国临床药理学与治疗学,2005,10(4):371-376

[8] 冯雪,姜子涛,李荣,等.中国、印度产白豆蔻精油清除自由基能力研究.食品工业科技,2012,33(2):137-139

[9] 萨础拉,呼日乐巴根,阿拉坦敖日格乐,等.白豆蔻-白苕胜挥发油提取工艺及抗失眠药效学研究.亚太传统医药, 2015,11(14):8-10

[10] 李先保,时维静,柯六四,等.三种中草药抑菌效果的观察.肉类工业,2002,254(6):27-31

[11] 内蒙古卫生厅.内蒙古蒙药材标准.赤峰:内蒙古科学技术出版社,1987:417

[12] 中华人民共和国卫生部.中华人民共和国卫生部药品标准(蒙药分册),1998:72-169

(收稿日期:2016年8月16日)

· 研究报告 ·

黄连素对多囊卵巢综合征大鼠高雄激素状态及 StAR蛋白表达的影响

郑慧颖¹, 李庆端¹, 蔡雪红¹, 叶南方¹, 贺颖²

(¹漳州市中医院, 漳州 363000; ²厦门大学实验动物中心, 厦门 361005)

摘要: 目的: 研究黄连素对多囊卵巢综合征(PCOS)大鼠治疗作用及机制。方法: 将48只6周龄SPF级雌性SD大鼠随机分为空白对照组和造模组, 造模组采用来曲唑(1mg·kg⁻¹·d⁻¹)灌胃诱导PCOS模型。造模结束后, 将造模成功的大鼠随机分为模型对照组、二甲双胍组、黄连素组, 每组11只。治疗期间空白对照组、模型对照组均用1%羧甲基纤维素灌胃, 二甲双胍组用1%羧甲基纤维素+二甲双胍(135mg·kg⁻¹·d⁻¹)灌胃, 黄连素组用1%羧甲基纤维素+黄连素(81mg·kg⁻¹·d⁻¹)灌胃。测定大鼠血清睾酮、空腹胰岛素, 光镜下观察大鼠卵巢HE染色病理片和StAR免疫组化病理片。结果: 本实验模型大鼠出现典型的PCOS表现: 卵巢呈多囊样改变; 血清睾酮升高(P<0.05); 空腹胰岛素升高(P<0.01), 提示存在胰岛素抵抗。二甲双胍和黄连素均能改善模型大鼠的胰岛素抵抗, 但黄连素降低睾酮的能力优于二甲双胍(P<0.05)。卵泡膜细胞的细胞膜上StAR密度随睾酮值升高而升高。结论: 黄连素有治疗PCOS的作用, 它不仅能改善胰岛素抵抗, 还能通过降低卵泡膜细胞的细胞膜上StAR密度降低血清睾酮值, 治疗高雄激素血症。

关键词: 黄连素; 多囊卵巢综合征; 睾酮; 胰岛素; StAR

基金资助: 福建省漳州市自然科学基金项目(No.ZZ2014J24)

Influence of berberine on hyperandrogenism of rats with polycystic ovarian syndrome and StAR protein expression

ZHENG Hui-ying¹, LI Qing-duan¹, CAI Xue-hong¹, YE Nan-fang¹, HE Ying²

(¹Zhangzhou Hospital of TCM, Zhangzhou 363000, China; ²Experimental Animal Center of Xiamen University, Xiamen 361005, China)

通讯作者: 郑慧颖, 福建省漳州市新浦路2号漳州市中医院, 邮编: 363000, 电话(传真): 0596-2898547, E-mail: 896810863@qq.com

Abstract: Objective: To study the therapeutic effect and mechanism of berberine on rats with polycystic ovarian syndrome. Methods: Forty-eight six-week SPF female SD rats were randomly divided into blank control group and model group. The model group received letrozole to induce PCOS model, then the successful modeling rats undergone were divided into model control group, melbine group and berberine group. During the treatment, 1% carboxymethylcellulose was used on the blank control group and model control group, 1% carboxymethylcellulose plus melbine were used on the melbine group while 1% carboxymethylcellulose plus berberine were used on the berberine group. The testosterone and fasting insulin of rats were detected, the ovarian pathological slices of HE staining and the StAR immunohistochemical pathological slices of rats were observed under light microscopes. Results: In this experiment, the model rats have typical PCOS manifestations: the ovary has polycystic changes; the testosterone rises ($P<0.05$); the fasting insulin rises ($P<0.01$), which indicate that insulin resistance exists. Both melbine and berberine can improve the insulin resistance of model rats, but the performance of berberine in lowering androgen is better than melbine. The testosterone of PCOS hyperandrogenism is positively related to the StAR density on the cytomembrane of theca cells. Conclusion: Berberine has effect on PCOS. It can not only improve insulin resistance but also treat hyperandrogenism by lowering the StAR density on the cytomembrane of theca cells to decrease the testosterone.

Key words: Berberine; Polycystic ovarian syndrome; Testosterone; Insulin; Steroid generated acute regulatory proteins

Funding: Natural Science Foundation of Zhangzhou (No.ZZ2014J24)

多囊卵巢综合征(polycysticovariansyndrome, PCOS)是以持续性排卵障碍、高雄激素血症、卵巢多囊样变和胰岛素抵抗(insulinresistance, IR)为特征的内分泌症候群^[1]。育龄期妇女中PCOS的患病率为5%~10%,占无排卵性不孕的50%~70%^[2]。近年来大量研究表明IR与PCOS关系密切,可能是PCOS的发病原因之一^[3-4]。目前临床上常用胰岛素增敏剂二甲双胍治疗PCOS。二甲双胍不仅可以改善PCOS患者的IR,同时还能纠正与IR有关的某些代谢性紊乱,治疗代谢综合征^[5]。即然胰岛素增敏剂可用于治疗PCOS,那么能够改善IR的中药也应具有治疗PCOS的作用。现代医学研究发现黄连素有改善IR、调脂和治疗代谢综合征等功效^[6-9]。我国学者对黄连素治疗代谢综合征进行了大量研究,曾在世界权威杂志《Nature Communications》^[10]和《Nature Medicine》^[11]上发表论文,证实黄连素能够改善胰岛素抵抗、降血脂、治疗肥胖等。本课题以黄连素改善胰岛素抵抗为切入点,研究黄连素治疗PCOS的作用及其机制。

材料

1. 动物 6周龄SPF级雌性SD大鼠48只,上海斯莱克实验动物有限责任公司提供,动物许可证号:SCXK(沪)2012-0002,合格证号:2013001805081。动物饲养及实验地点设在厦门大学实验动物中心。

2. 药品与试剂 来曲唑(江苏恒瑞医药股份有限公司生产,2.5mg/片,批号:15120958);二甲双胍(天方药业有限公司,0.5g/片,批号:151209092);黄连素(东北制药集团沈阳第一制药有限公司,0.1g/片,批号:201500505)。血糖试剂盒(北京利德曼生化股份有限公司,货号:GL7210,批号:412101L);大鼠胰岛素试剂盒(上海迈巨实业有限公司,ELISA法,货号:DRE20500,批号:23029720);血睾酮试剂盒[雅

培贸易(上海)有限公司,化学发光法,货号:2P13-25,批号:10478UP00];StAR一抗试剂盒(美国Santa Cruz公司生产,货号:SC-25806,批号:C0615)。

3. 仪器 电子天平(FZ-10002,上海凡展衡器有限公司);超低温冰箱(DW-40L288,杭州硕联仪器有限公司);台式低速自动平衡离心机(TDZ4-WS/TDZ4WS,湖南湘仪离心机厂);全自动化学发光仪(I2000,美国雅培);全自动生化分析仪(7600,日本日立);光学显微镜(BX951,奥林巴斯);冷冻切片仪(HM525,德国MICROM);电热保温箱(LC系列,上海阳光实验仪器有限公司);全封闭自动脱水机(MTM, SLEE);隔水式电热恒温培养箱(GHP-9270,上海贺德实验设备有限公司);图像分析软件(Image J, NIH)。

方法

1. 建立动物模型 将6周龄SPF级雌性SD大鼠48只,喂以颗粒饲料,自由饮水,适应性喂养3d。之后将48只大鼠随机分成两组:空白对照组(12只)和造模组(36只)。空白对照组大鼠用1%羧甲基纤维素4mL·kg⁻¹·d⁻¹灌胃,连续灌胃21d;造模组大鼠用来曲唑1mg·kg⁻¹·d⁻¹、1%羧甲基纤维素4mL·kg⁻¹·d⁻¹灌胃,连续灌胃21d,以建立来曲唑诱导的PCOS大鼠模型。

2. 分组及治疗方法 将造模组造模成功的大鼠随机等分为模型对照组、二甲双胍组、黄连素组,造模结束后开始灌胃给药,给药方案如下:A组(空白对照组,11只):不造模,按4mL·kg⁻¹·d⁻¹灌服1%羧甲基纤维素,连续3周;B组(模型对照组,11只):造模后,按4mL·kg⁻¹·d⁻¹灌服1%羧甲基纤维素,连续3周;C组(二甲双胍组,11只):造模后,给予二甲双胍加入4mL·kg⁻¹·d⁻¹的1%羧甲基纤维素中灌服。按人和动物间体表面积折算的等效剂量比值表^[12];根据二甲双胍治疗PCOS常用剂量^[13]为每次口服500mg,每日3次;换算后大鼠给药量为

135mg·kg⁻¹·d⁻¹,连续用药3周;D组(黄连素组,11只):造模后,给予黄连素加入4mL·kg⁻¹·d⁻¹的0.9%氯化钠溶液中灌服。按人和动物间体表面积折算的等效剂量比值表;黄连素人的常用剂量为每次0.3g,每日3次;换算后大鼠黄连素给药量为81mg·kg⁻¹·d⁻¹,连续用药3周。

3. 检测指标及方法 ①血清睾酮、空腹胰岛素:大鼠于抽血前一晚20:00禁食不禁水,翌日乙醚麻醉,眼眶静脉取血2mL,送检测血清睾酮、空腹胰岛素。②卵巢形态学:末次给药结束后,取血完毕,将各组大鼠颈椎脱臼处死,剖腹,摘取双侧卵巢,将大鼠的卵巢组织放入10%富尔马林溶液中固定,脱水并石蜡包埋,制作HE染色病理片,光镜下组织学分析。③甾体类生成快速调节蛋白(steroidogenic acute regulatory protein, StAR):制作StAR蛋白的免疫组化病理片,光镜下观察,以卵泡膜细胞的细胞膜上棕黄色颗粒为阳性结果,用ImageJ软件分析相应图片。

4. 统计学方法 采用统计软件SPSS 22.0,计量资料采用t检验,以P<0.05为差异有统计学意义。

结果

1. 血清睾酮值 见表1。治疗前来曲唑造模的大鼠(即B、C、D 3组)与空白对照组睾酮有显著性差异(P<0.05),而B、C、D 3组之间无显著性差异;说明来曲唑诱导的PCOS大鼠模型比正常大鼠血清睾酮升高。治疗后来曲唑造模的大鼠(B、C、D组)仍与空白对照组睾酮有显著性差异(P<0.05),B、C组与D组有显著性差异(P<0.01, P<0.05),但B、C组之间无显著性差异,B、C、D 3组治疗前后睾酮有显著差异(P<0.05)。

表1 治疗前后各组大鼠睾酮水平比较($\bar{x} \pm s$, nmol/L)

组别	n	治疗前	治疗后
A组(空白对照组)	11	0.61±0.12	0.79±0.07
B组(模型对照组)	11	22.15±4.61 [△]	15.19±1.86 ^{*△△▲▲}
C组(二甲双胍组)	10	21.53±3.37 [△]	13.96±1.63 ^{*△△▲}
D组(黄连素组)	11	23.59±2.90 [△]	5.90±1.63 ^{*△△}

注:与本组治疗前比较,*P<0.05;与A组同期比较,△P<0.05,△△P<0.01;与D组同期比较,▲P<0.05,▲▲P<0.01。

2. 血清空腹胰岛素 见表2。治疗后大鼠空腹胰岛素:模型对照组与其他3组均有显著差异(P<0.01),而A、C、D 3组之间两两比较无显著性差异。

表2 治疗后各组大鼠空腹胰岛素水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	INS (mU/L)
A组(空白对照组)	11	0.43±0.05**
B组(模型对照组)	11	1.79±0.27
C组(二甲双胍组)	10	0.42±0.80**
D组(黄连素组)	11	0.48±0.14**

注:与B组比较,**P<0.01。

3. 卵巢大小及多囊样变 见图1。空白对照组卵巢体积最小,其他3组卵巢均增大。空白对照组可见成堆的黄体聚集,卵泡无囊性扩张,提示有排卵;模型对照组和二甲双胍组可见卵泡囊性扩张,未见黄体,提示无排卵;黄连素组可见个别卵泡囊性扩张,但周围仍可见黄体及窦状卵泡,提示有稀发排卵。

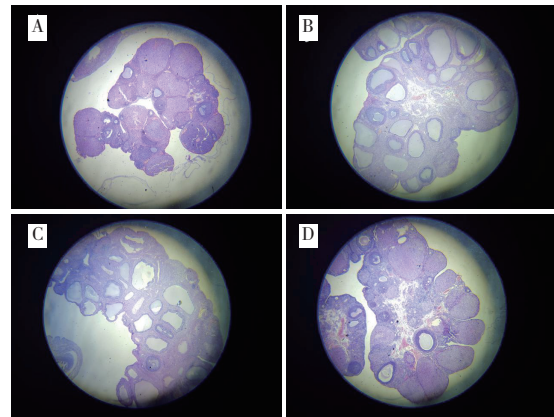


图1 治疗后卵巢大小及多囊样变(HE×40)

注:A.空白对照组;B.模型对照组;C.二甲双胍组;D.黄连素组。下图同。

4. 卵泡膜细胞层 见图2。空白对照组卵泡膜细胞层无增厚,卵泡膜细胞体积较小呈梭形;模型对照组和二甲双胍组卵泡膜细胞层均明显增厚,卵泡膜细胞体积明显增大呈圆球形;黄连素组卵泡膜细胞层亦增厚,但比模型对照组及二甲双胍组薄,卵泡膜细胞体积也界于空白对照组二甲双胍组之间。

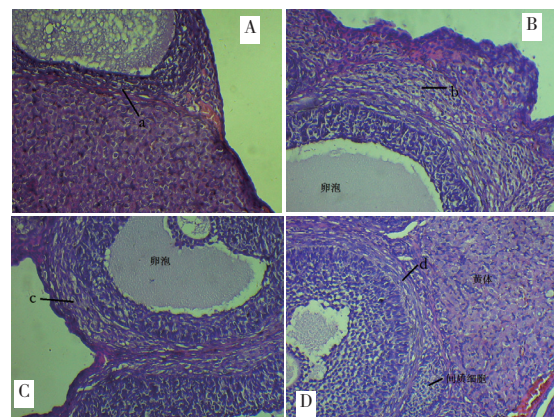


图2 治疗后卵泡膜细胞层(HE×150)

注:图中字母箭头所指为各组卵泡膜细胞层,下图同。

5. 治疗后StAR的免疫组化结果 见图3、表3。空白对照组卵泡膜细胞(theccells)层较薄,theccells体积较小呈梭形;来曲唑造模的大鼠(B、C、D 3组) theccells层均增厚,theccells体积明显增大呈圆球形,且theccells的细胞膜呈褐色深染(S-P免疫组化法将目的蛋白StAR染为深褐色),提示PCOS大鼠theccells增生、功能亢进,细胞膜上的StAR数量增多、功能活跃。模型对照组和二甲双胍组theccells层比黄连素组theccells层更厚,模型对照组和二甲双胍组的细胞膜比黄连素

组褐色着色更深,提示模型对照组和二甲基胍组thecacells功能更加亢进,细胞膜上的StAR数量更多,功能更加活跃。

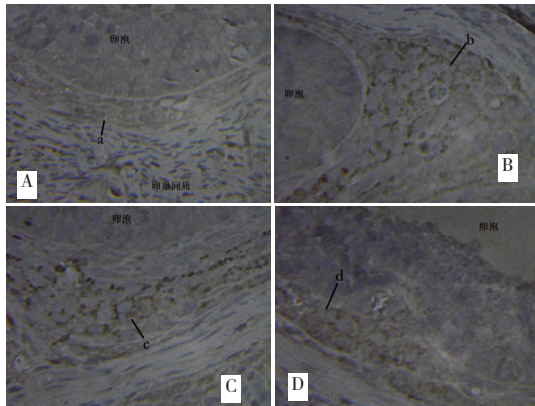


图3 治疗后StAR的免疫组化结果($\times 600$)

表3 各组大鼠卵泡膜细胞StAR表达的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	密度(个/mm ²)
A组(空白对照组)	11	1.32 \pm 0.27
B组(模型对照组)	11	6.68 \pm 1.68 ^{*△}
C组(二甲双胍组)	10	7.33 \pm 1.71 ^{*△}
D组(黄连素组)	11	5.34 \pm 0.64 [*]

注:与A组比较,^{*} $P < 0.05$;与D组比较,[△] $P < 0.05$ 。

治疗后大鼠StAR蛋白相对表达量:与空白对照组比较,其他3组均显著升高($P < 0.05$),B、C组与D组比较有显著差异($P < 0.05$),而B、C组之间差异不明显。

讨论

迄今为止,国内外学者对黄连素治疗PCOS进行了大量研究。An Y等^[14]让接受试管婴儿治疗的PCOS患者口服黄连素,发现与空白对照组相比黄连素组体外受精成功率上升。张爱萍^[15]发现黄连素在降低PCOS患者胰岛素抵抗指数、腰臀比、身体质量指数、低密度脂蛋白、胆固醇、甘油三酯、睾酮、促黄体生成素方面有显著疗效。本课题通过研究雄激素合成过程中的关键蛋白质因子StAR探索黄连素治疗PCOS的机制,具有一定的创新性。

文献报道采用来曲唑造模可使大鼠出现血清睾酮升高、胰岛素抵抗、卵巢多囊样变,大鼠病理生理特征极度接近人类PCOS特征,是研究该病较为理想的动物模型,且该造模方法与其他注射药物或皮下埋埋的方法比较,对大鼠创伤性更小,操作更简便^[16-17]。根据PCOS鹿特丹诊断标准^[1],本实验来曲唑造模大鼠出现典型的PCOS表现:①卵巢呈多囊样改变;②血清睾酮升高;③空腹胰岛素升高,提示存在胰岛素抵抗。说明本实验选用来曲唑成功地制造了PCOS大鼠模型,造模方法可行。

本研究睾酮值的结果说明来曲唑造模的PCOS大鼠睾酮值在来曲唑停药后会慢慢衰减,但本实验治疗结束时造模组大鼠睾酮仍明显高于正常大鼠,证明治疗期间PCOS模型是稳定的;

二甲双胍对降低血清睾酮值无效,而黄连素可以降低睾酮值却无法使睾酮值恢复正常水平。空腹胰岛素值的结果说明来曲唑诱导的PCOS大鼠空腹胰岛素升高,存在胰岛素抵抗;二甲双胍和黄连素均能将该模型大鼠空腹胰岛素降至正常水平,治疗PCOS大鼠胰岛素抵抗。StAR免疫组化结果说明来曲唑诱导的PCOS大鼠StAR蛋白相对表达量升高,StAR较为活跃;二甲双胍对降低StAR蛋白相对表达量无效,而黄连素可以降低StAR蛋白相对表达量却无法使之恢复正常水平。

可见二甲双胍和黄连素均能改善胰岛素抵抗,但黄连素降低睾酮的能力优于二甲双胍。宋菊香等^[18]报道二甲双胍治疗PCOS疗程一般为6个月,尚有长达26个月^[19-22],有两项研究剂量为850mg,2次/d^[23]和850mg,3次/d^[24]。PCOS患者胰岛素抵抗属于代谢综合征,是长期存在的,而二甲双胍治疗PCOS疗程一般在6个月以上。人28d为1个月经周期,大鼠5d为1个性周期。那么大鼠6个性周期是30d,本课题二甲双胍和黄连素疗程均为21d,可见二甲双胍不能降低睾酮的原因可能与疗程不足和(或)剂量不足有关。但在疗程相同的情况下,普通剂量的黄连素就能够改善胰岛素抵抗并能治疗高雄激素血症,说明黄连素还存在其他抗雄激素的途径。

黄连素能减轻卵巢多囊样变的程度,促进排卵。来曲唑诱导的PCOS大鼠卵巢增大,卵巢内卵泡呈多囊样改变,卵泡膜细胞层增厚,卵巢内未见黄体,提示无排卵,与临床PCOS患者病理表现相符。经过治疗后,二甲双胍组仍存在上述病理表现,且与模型对照组无明显差异,说明本实验二甲双胍治疗PCOS无法使多囊样变的卵巢恢复正常形态,无促排卵作用;黄连素组在治疗后卵巢体积缩小,囊性变卵泡数量减少,未见囊性变卵泡聚集的现象,且卵巢内可见多个黄体,提示有稀发排卵,说明黄连素能够减轻卵巢多囊样变的程度,能够促进排卵,有治疗PCOS的作用。

人类的StAR是由285个氨基酸组成的蛋白质,存在于产生甾体激素细胞的线粒体外膜上,它促进胆固醇从线粒体外膜向内膜移动,这个重要过程建立了两层膜之间的联系位点,允许胆固醇流向低一级的浓度梯度中。在卵泡膜细胞内胆固醇从线粒体外膜向甾醇相对较少的内膜转运是甾体激素产生的关键步骤^[25],决定了雄激素产生的速度和数量。从本实验的免疫组化结果可以看出来曲唑诱导的PCOS大鼠卵泡膜细胞的细胞膜上StAR密度明显升高,表达活跃。大量的StAR将更多胆固醇转运进卵泡膜细胞去合成雄激素,从而导致高雄激素血症,正好可以解释本实验睾酮升高的机制。本实验二甲双胍组StAR的密度与模型对照组无统计学差异,同时两组睾酮亦无统计学差异。黄连素组StAR密度小于二甲双胍组和模型对照组,但大于空白对照组,这与黄连素组睾酮小于二甲双胍组及模型对照组而大

于空白对照组的现象一致。可见StAR蛋白表达量与睾酮成正相关。这正好可以解释为什么同样能够改善胰岛素抵抗的二甲双胍和黄连素并不同样具有治疗高雄激素血症的作用。说明黄连素治疗高雄激素血症还存在其他途径。文献报道黄连素也具有调节血脂的作用^[26], 会不会是黄连素通过影响血脂代谢的某个环节, 从而影响StAR表达来降低睾酮值的呢? 这有待进一步研究。

综上所述, PCOS高雄激素血症睾酮值与卵泡膜细胞的细胞膜上StAR密度有关。黄连素能通过降低卵泡膜细胞的细胞膜上StAR密度来降低血清睾酮。黄连素治疗PCOS不仅能改善胰岛素抵抗, 还能治疗高雄激素血症。本实验黄连素组睾酮未降到正常水平、卵巢未完全恢复正常排卵, 是否与黄连素疗程过短有关, 而黄连素治疗高雄激素血症是否与脂代谢途径有关, 尚有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 郁琦. 妇科内分泌诊治指南. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 93
- [2] Vink J M, Sadrzadeh S, Lambik C B, et al. Heritability of polycystic ovary syndrome in a dutch twin-family study. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006, 91(6): 2100-2104
- [3] Marx Tn L, Mehta A E. Polycystic ovary syndrome Pathogenesis and treatment over the short and long term. *Clever Clin J Med*, 2003, 70(1): 31-33, 36-41, 45
- [4] Martens J W, Geller D H, Arlt W. Enzymatic activities of P450c17 stably expressed in fibroblasts from patients with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000, 85(11): 4338-4346
- [5] Glinborg D. Endocrine and metabolic characteristics in polycystic ovary syndrome. *Dan Med J*, 2016, 63(4): B5232
- [6] 王小逸, 史亦丽, 曾衍钧. 小檗碱的研究进展. *中国新药杂志*, 2003, 12(7): 523-525
- [7] 王静, 张艳军. 小檗碱对中枢神经系统相关疾病治疗研究进展. *天津中医药*, 2011, 28(2): 173-174
- [8] 李琳, 赵海南, 李佳伟. 盐酸小檗碱离子型眼用原位凝胶的研究. *天津中医药大学学报*, 2011, 30(4): 229-231
- [9] 高艳, 崔广智, 李慧颖, 姜黄素、小檗碱及其配伍对db/db小鼠糖脂代谢相关基因mRNA表达的影响. *天津中医药大学学报*, 2011, 30(1): 30-32
- [10] Zhang Z, Zhang H, Li B, et al. Berberine activates thermogenesis in white and brown adipose tissue. *Nature Communications*, 2014, 25(5): 5493
- [11] Kong W, Wei J, Abidi P, et al. Berberine is a novel cholesterol-lowering drug working through a unique mechanism distinct from statins. *Nature Medicine*, 2004, 10(12): 1344-1351
- [12] 尤昭玲. 妇产科实验动物学. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 7
- [13] 谢幸. 妇产科学. 8版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 362
- [14] An Y, Sun Z, Zhang Y, et al. The use of berberine for women with polycystic ovary syndrome undergoing IVF treatment. *Clin Endocrinol(Oxf)*, 2014 Mar; 80(3): 425-31
- [15] 张爱萍. 黄连素对多囊卵巢综合征胰岛素抵抗的影响. *中国中医药信息杂志*, 2013, 12(20): 70-71
- [16] 李进, 胡平, 段迎春, 张冬霞, 任青. 两种多囊卵巢综合征大鼠模型比较. *湖北医药学院学报*, 2010, 29(5): 413-416+491
- [17] 李明明, 潘文, 康开彪. 不同造模方法对大鼠多囊卵巢综合征伴胰岛素抵抗模型的影响. *西部中医药*, 2015, 28(4): 11-14
- [18] 宋菊香, 沈鸿敏. 二甲双胍治疗多囊卵巢综合征的研究进展. *中华妇产科杂志*, 2002, 37(1): 58-60
- [19] Moghetti P, Castello R, Negri C, et al. Metformin effects on clinical features, endocrine and metabolic profiles, and insulin sensitivity in polycystic ovary syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled 6-month trial, followed by open, long-term clinical evaluation. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000, 85: 139-146
- [20] Velazquez E, Acosta A, Mendoza S G. M enstrual cyclicity after metformin therapy in polycystic ovary syndrome. *Obstet Gynecol*, 1997, 90: 392-395
- [21] Glueck C J, Wang P, Fontaine R, et al. Metformin-induced resumption of normal menses in 39 of 43 (91%) previously amenorrheic women with the polycystic ovary syndrome. *Metabolism*, 1999, 48: 511-519
- [22] Glueck C J. Pregnancy failure and preservation in women with polycystic ovary syndrome: safety and efficacy of metformin therapy continued through pregnancy. *Experimental Biology*, 2000(4): 16-18
- [23] Acbay O, Gundogdu S. Can metformin reduce insulin resistance in polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*, 1996, 65: 946-949
- [24] Ehrmann D A, Cavaghan M, Imperial J, et al. Effects of metformin on insulin secretion, insulin action and ovarian steroidogenesis in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997, 82: 524-530
- [25] 斯特劳斯. Yen & Jaffe 生殖内分泌学. 5版. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 129-131
- [26] Cicero A F, Reggi A, Parini A, et al. Berberine and Monacolin Effects on the Cardiovascular Risk Profile of Women with Oestrogen-Induced Hypercholesterolemia. *High Blood Press Cardiovasc Prev*, 2014, 21(3): 211-226

(收稿日期: 2016年7月13日)