

[药 理]

南山楂总黄酮对多囊卵巢综合征大鼠的改善作用

闫传智¹, 宋子纯^{1#}, 徐婕径¹, 刘智强¹, 黄春想², 王可盈², 宋家乐^{2,3,4,5*}, 周燕园^{1,6*}

(1. 桂林医学院药学院, 广西 桂林 541199; 2. 桂林医学院公共卫生学院, 广西 桂林 541199; 3. 广西环境暴露组学与全生命周期健康重点实验室, 广西 桂林 541101; 4. 桂林理工大学国家母婴乳品健康工程技术研究中心南亚分中心, 广西 桂林 541004; 5. 桂林医学院第二附属医院产科, 广西 桂林 541199; 6. 广西药物分子发现与成药性优化重点实验室, 广西药物分子筛选与成药性评价工程研究中心, 广西 桂林 541199)

摘要: 目的 探究南山楂总黄酮(TFCC)对来曲唑诱导的多囊卵巢综合征(PCOS)大鼠的改善作用。方法 雌性SD大鼠随机分为对照组、模型组(来曲唑, 1 mg/kg)、二甲双胍组(265 mg/kg)和TFCC低、高剂量组(140、280 mg/kg), 每组8只。巴氏染色法检测大鼠动情周期; HE染色观察卵巢病理学变化; Masson染色检测卵巢纤维化面积; 微板法检测血清TG、TC、LDL-C、HDL-C、MDA水平和SOD、GSH-Px、CAT活性; ELISA法检测血清T、E₂、AMH、LH、FSH水平, 并计算LH/FSH比值; RT-qPCR法检测卵巢组织SOD1、SOD2、CAT、GPX3、GSR、PRDX3、GSTA4、MGST1 mRNA表达; Western blot法检测卵巢组织α-SMA、CTGF、Collagen I蛋白表达。结果 与模型组比较, 各给药组大鼠动情周期节律恢复, 卵巢多囊样改变减缓, 血清TG、TC、LDL-C、T、AMH、LH水平、LH/FSH比值和卵巢组织α-SMA、CTGF、Collagen I蛋白表达降低(P<0.01), 血清HDL-C、E₂、FSH水平、SOD、GSH-Px、CAT活性和卵巢组织SOD1、SOD2、CAT、GPX3、GSR、PRDX3、GSTA4、MGST1 mRNA表达升高(P<0.05, P<0.01)。结论 TFCC通过调节性激素水平、脂质代谢异常, 降低氧化应激损伤以及减缓纤维化进程, 发挥对PCOS大鼠症状的改善作用。

关键词: 南山楂总黄酮; 多囊卵巢综合征; 性激素紊乱; 脂质代谢异常; 氧化应激; 卵巢纤维化

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2025)12-3934-09

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.12.008

Effects of total flavonoids from *Crataegus cuneata* on improving polycystic ovary syndrome in rats

YAN Chuan-zhi¹, SONG Zi-chun^{1#}, XU Jie-jing¹, LIU Zhi-qiang¹, HUANG Chun-xiang²,
WANG Ke-ying², SONG Jia-le^{2,3,4,5*}, ZHOU Yan-yuan^{1,6*}

(1. School of Pharmacy, Guilin Medical University, Guilin 541199, China; 2. School of Public Health, Guilin Medical University, Guilin 541199, China; 3. Guangxi Key Laboratory of Environmental Exposomics and Entire Lifecycle Health, Guilin 541101, China; 4. South Asia Branch of National Engineering Research Center of Dairy Health for Maternal and Child Health, Guilin University of Technology, Guilin 541004, China; 5. Department of Obstetrics, The Second Hospital Affiliated to Guilin Medical University, Guilin 541199, China; 6. Guangxi Key Laboratory of Pharmaceutical Molecular

收稿日期: 2024-07-21

基金项目: 国家自然科学基金(82360854); 广西自然科学基金(2018JJA140103, 2022GXNSFAA035603); 中央引导地方科技发展资金专项项目(桂科ZY22096025); 桂林市科技计划项目(20220139-8-2, 20230127-2, 20230135-4-1); 广西药物分子发现与成药性优化重点实验室开放课题资助项目(GKLPMDDO-2022-C01)

作者简介: 闫传智(1998—), 男, 硕士生, 研究方向为药物研发与转化。Tel: 17712081802, E-mail: yanchuanzhi@stu.glmc.edu.cn

#共同第一作者: 宋子纯(2000—), 女, 硕士生, 研究方向为药物分析。Tel: 13077673061, E-mail: Songchun@stu.glmc.edu.cn

***通信作者:** 周燕园(1978—), 女(回族), 硕士, 教授, 研究方向为天然药物质量控制及药理活性。Tel: 18178366065, E-mail: zyy@glmc.edu.cn

宋家乐(1983—), 男, 博士, 教授, 研究方向为临床营养与慢性代谢性疾病的分子防治机制。Tel: 18178360021, E-mail: songjiale@glmc.edu.cn

网络出版日期: 2024-12-27

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20241226.1034.002.html>

Discovery and Optimization, Guangxi Engineering Research Center for Pharmaceutical Molecular Screening and Druggability Assessment, School of Pharmacy, Guilin 541199, China)

ABSTRACT: **AIM** To investigate the effects of total flavonoids from *Crataegus cuneata* (TFCC) on improving letrozole-induced polycystic ovary syndrome (PCOS) in rats. **METHODS** The female SD rats were randomly divided into the control group, the model (1 mg/kg) group, the metformin (265 mg/kg) group, and the low-dose and high-dose TFCC groups (140, 280 mg/kg), with 8 rats in each group. The rats had their estrous cycle detected by Papanicolaou staining assay; their ovarian histopathological changes observed by HE staining; their fibrotic area determined by Masson staining; their serum levels of TG, TC, LDL-C, HDL-C, MDA, and activities of SOD, GSH-Px and CAT measured using microplate method; their serum levels of T, E₂, AMH, LH, FSH, and LH/FSH ratio determined by enzyme-linked immunosorbent assay; their ovarian mRNA levels of *SOD1*, *SOD2*, *CAT*, *GPX3*, *GSR*, *PRDX3*, *GSTA4*, *MGST1* assessed by RT-qPCR; and their ovarian protein expressions of α -SMA, CTGF, Collagen I measured by Western blot. **RESULTS** Compared with the rats of the model group, the rats in each administration group displayed restored estrous cycle rhythm, slowed down ovarian polycystic progression, decreased serum levels of TG, TC, LDL-C, T, AMH, LH, LH/FSH ratio and ovarian protein expressions of α -SMA, CTGF, Collagen I ($P < 0.01$); increased serum HDL-C, E₂ and FSH levels, and activities of SOD, GSH-Px and CAT as well ($P < 0.05$, $P < 0.01$); and elevated ovarian mRNA expressions of *SOD1*, *SOD2*, *CAT*, *GPX3*, *GSR*, *PRDX3*, *GSTA4*, *MGST1* ($P < 0.01$). **CONCLUSION** TFCC may exert a therapeutic effect of attenuating ovarian fibrosis on PCOS rats by ameliorating their hormonal imbalance and abnormal lipid metabolism, and reducing their oxidative stress.

KEY WORDS: total flavonoids from *Crataegus cuneata*; polycystic ovary syndrome; sexual hormone disturbance; abnormal lipid metabolism; oxidative stress; ovarian fibrosis

多囊卵巢综合征 (polycystic ovary syndrome, PCOS) 是育龄期妇女常见的一种内分泌代谢性疾病。在世界范围内, 其发病率约为 8% ~ 13%^[1]。PCOS 的临床症状主要表现为高雄激素血症、排卵功能障碍、胰岛素抵抗、血脂异常、慢性炎症、肥胖等, 其病理生理学基础主要与激素失衡、慢性低度炎症、胰岛素抵抗和高雄激素水平有关^[2]。有研究提示, PCOS 患者卵泡液和血清中氧化应激水平过高是导致 PCOS 的潜在原因之一^[3]。

南山楂, 又称“野山楂”, 为蔷薇科植物野山楂 *Crataegus cuneata* Sieb. & Zucc. 的干燥成熟果实, 是广西民间广泛使用的药食同源类壮药材。北山楂果大, 味酸甜; 而南山楂果小, 味酸涩。现代研究结果提示, 南山楂富含黄酮类化合物, 且较北山楂含量高, 具有抗炎、抗氧化、抗菌、抗肿瘤、抗病毒、免疫调节等活性^[4]。南山楂因具有较强的抗心肌缺血及降血脂功效, 被认为是防治心血管疾病的天然药材^[5]。此外, 南山楂还有改善心脑血管、糖尿病及其并发症、促进肝细胞修复等生物学活性^[6]。目前, 对于山楂的研究主要以北山楂为主, 而对南山楂的研究较少。本研究旨在探索南山楂总黄酮 (total flavonoids from *Crataegus cuneata*,

TFCC) 对 PCOS 大鼠性激素、脂代谢、氧化应激及纤维化水平的改善作用, 以期为 PCOS 的防治提供一定的理论依据。

1 材料

1.1 动物 SPF 级雌性 SD 大鼠 40 只, 体质量 190~220 g, 5 周龄, 购自河南斯克贝斯生物科技股份有限公司 [实验动物生产许可证号 SCXK (豫) 2020-0005], 饲养于桂林医学院实验动物中心 SPF 级动物房 [实验动物使用许可证号 SYXK (桂) 2020-0005], 12 h/12 h 明暗循环, 温度 (24±2)℃, 相对湿度 50% ~ 60%, 自由进食、饮水, 本动物实验通过桂林医学院动物伦理委员会审查批准 (伦理号 GLMC-IACUC-20241030)。

1.2 试剂与药物 南山楂采购于广西壮族自治区玉林市药材市场, 经广西中医药大学廖月葵高级实验师鉴定为正品。二甲双胍 (metformin, Met)、来曲唑 (货号 S30880、S25071, 上海源叶生物科技有限公司); 羧甲基纤维素 (货号 1010670204600, 西陇科学股份有限公司); 巴氏染色液 (货号 L25063103, 南昌雨露实验器材有限公司); Masson 三色染色试剂盒 (货号 BP-DL021, 南京森贝伽生物科技有限公司); cDNA 逆转录试剂盒 (货号

MR05101M, 上海创未生物技术有限公司); TRIzol 试剂 (货号 15596018CN, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 荧光定量试剂盒、 α -SMA、CTGF、Collagen I、GAPDH 抗体 (货号 D7262、AF0048、AF6582、AF1840, 上海碧云天生物技术股份有限公司); 睾酮 (testosterone, T)、雌二醇 (estradiol, E_2)、抗缪勒管激素 (anti-müllerian hormone, AMH)、黄体生成素 (luteinizing hormone, LH)、卵泡刺激素 (follicle stimulating hormone, FSH) 试剂盒 (货号 MM-0577R1、MM-0575R1、MM-0219R1、MM-0624R1、MM-70867R1, 江苏酶免实业有限公司); 甘油三酯 (triglyceride, TG)、总胆固醇 (total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白胆固醇 (low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇 (high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、丙二醛 (malonaldehyde, MDA)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px)、过氧化氢酶 (catalase from micrococcus lysodeikticus, CAT) 试剂盒 (货号 ADS-W-ZF013、ADS-W-ZF014、ADS-W-D012、ADS-W-D011、ADS-W-YH002、ADS-W-KY011、ADS-W-G003、ADS-W-KY002, 江苏艾迪生生物科技有限公司)。

1.3 仪器 YZ-360DB 超声波仪器发生器 (上海越众仪器设备有限公司); N-1300 旋转蒸发仪 (上海爱朗仪器有限公司); FreeZone 冷冻干燥机 (美国 Labconco 公司); Allegra 64R 高速冷冻离心机 (美国 Beckman Coulter 公司); Leica DM4B 正置荧光显微镜 (德国 Leica 公司); KZ-III-F 研磨仪、SCG-W2000 化学发光成像系统 (武汉赛维尔生物科技有限公司); Varioskan LUX 全波长扫描式多功能微孔板读数仪、Nanodrop 2000 微量核酸蛋白测定仪、MiniAmp 热循环仪、QuantStudioTM 6 Flex 实时荧光定量 PCR 系统和 StepOnePlus 实时荧光定量 PCR 仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司)。

2 方法

2.1 TFCC 制备及含量检测 将南山楂果实置于 70 °C 烘箱中烘干后粉碎, 过 60 目网筛, 保存备用。取适量粉末, 按料液比 1 : 25 加入 50% 乙醇, 在 60 °C 下超声提取 40 min (功率 250 W), 减压抽滤。滤液 50 °C 下真空减压蒸发, 冷冻干燥, 即得 TFCC, 于 -20 °C 冰箱保存备用^[7]。以芦丁质量浓

度为横坐标 (X), 吸光度为纵坐标 (Y), 得方程为 $Y=7.056X+0.0015$ ($R^2=0.9998$), 计算得到 TFCC 含量为 (73.2±4.88) mg/g。

2.2 分组与模型建立 将 40 只雌性 SD 大鼠随机分为对照组、模型组、二甲双胍组和 TFCC 低、高剂量组, 每组 8 只。适应性饲养 1 周后, 对照组大鼠灌胃给予生理盐水, 模型组大鼠灌胃给予来曲唑-CMC 混悬液 (1% CMC+来曲唑 1 mg/kg), 二甲双胍组大鼠分别灌胃给予来曲唑-CMC 混悬液和二甲双胍 (265 mg/kg)^[8], TFCC 低、高剂量组大鼠每天分别灌胃给予来曲唑-CMC 混悬液和 TFCC (140、280 mg/kg)^[9], 连续 28 d。

2.3 大鼠动情周期检测 实验结束前 10 d, 每天对各组大鼠进行阴道涂片检查, 观察其动情周期^[10]。用生理盐水浸润的无菌棉签插入大鼠阴道壁内, 顺时针旋转 1 周后取出, 沿同一方向将细胞涂抹于载玻片上, 晾至半干, 95% 乙醇固定 15 min, 通过巴氏染色判断动情周期。

2.4 大鼠体长、脂肪质量检测和卵巢组织病理学观察 末次给药后, 禁水禁食 12 h, 2% 三溴乙醇 (10 mL/kg) 麻醉大鼠, 量取体长, 计算 Lee's 指数, 公式为 Lee's 指数 = [(体质量 × 1 000) / 体长]^{1/3}。腹主动脉取血, 静置 30 min, 4 °C、1 000 × g 离心 10 min, 收集血清。分离左右侧卵巢和内脏脂肪, 计算内脏脂肪相对质量, 公式为内脏脂肪相对质量 = (内脏脂肪质量 / 大鼠体质量) × 100%。4% 多聚甲醛固定一侧卵巢和子宫周围脂肪, 石蜡包埋, 切片后进行 HE 和 Masson 染色, 显微镜下观察卵巢、脂肪组织病理学变化, 并使用 Image J 软件分析纤维化和脂肪细胞面积。

2.5 血清生化指标检测 按照相关 ELISA 试剂盒说明书检测血清 T、 E_2 、AMH、LH、FSH 水平, 并计算 LH/FSH 比值; 使用微板法检测血清 TG、TC、LDL-C、HDL-C、MDA 水平和 SOD、GSH-Px、CAT 活性。

2.6 RT-qPCR 法检测卵巢组织 SOD1、SOD2、CAT、GPX3、GSR、PRDX3、GSTA4、MGST1 mRNA 表达 用 TRIzol 试剂提取 20 mg 大鼠卵巢组织总 RNA, 检测总 RNA 浓度; 按照反转录试剂盒进行逆转录反应; 使用 SYBR® Green 预混型 qPCR 试剂盒进行扩增反应, 引物序列见表 1, 反应条件为 95 °C 预变性 2 min, 95 °C 变性 15 s, 60 °C 退火 30 s, 共 40 个循环, 以 GAPDH 为内参, 使用 2^{- $\Delta\Delta$ CT}法进行相对定量处理。

表1 引物序列
Tab. 1 Primer sequences

| 基因 | 正向序列(5'→3') | 反向序列(5'→3') |
|-------|----------------------|----------------------|
| SOD1 | CGCTCATTCACTTCGAGCAG | TGGACCGCCATGTTTCTTA |
| SOD2 | TCACAGCATTTTCTGGACA | CAGCCTGAACCTTGGACTC |
| CAT | GTTTTACCGACGAGATG | ACCTTTGCCTTGGAGTAT |
| GPX3 | CTGGTCATTCTGGGCTTCC | GCTCTTTCTCCCGTTCA |
| GSR | GGAAACTCGCCCATAGACT | TGATACATCGGGGTGAAGG |
| PRDX3 | CCCTTTGGATTTACATTT | TCTTTCTTGGCGTGTGAT |
| GSTA4 | AGACGGGATGCTACTGACA | TTTTCTGAGGGGCTTTAA |
| MGST1 | TGAACGACCTTGAAAAAT | ACAAAGTAACTCCGTAGCC |
| GAPDH | ACAGCAACAGGGTGGTGGAC | TTTGAGGGTGCAGCGAACTT |

2.7 Western blot 法检测卵巢组织 α -SMA、CTGF、Collagen I 蛋白表达 取大鼠卵巢组织 30 mg, 用含蛋白酶和磷酸酶抑制剂的 RIPA 裂解液裂解, 提取蛋白, BCA 法检测蛋白含量, 取等质量蛋白, 加入蛋白上样缓冲液后进行变性, 冷冻保存备用。制备 SDS-PAGE 凝胶, 上样, 电泳, 湿转法转移至 PVDF 膜, 5% 脱脂奶粉溶液封闭 2 h, 分别加入

α -SMA (1 : 7 000)、CTGF (1 : 500)、Collagen I (1 : 2 000)、GAPDH (1 : 1 000) 抗体, 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, 次日加入二抗 (1 : 20 000) 室温孵育 1 h, ECL 发光液显影, 以 GAPDH 为内参, 通过 Image J 软件分析蛋白灰度值。

2.8 统计学分析 通过 SPSS 26.0、Graphpad Prism 8.3.0 软件进行处理, 计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD 检验, 方差不齐采用 Tamhane's T2 检验。P < 0.05 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 TFCC 对 PCOS 大鼠动情周期规律的影响 发情前期主要为有核上皮细胞; 发情期角质化上皮细胞较多, 白细胞和有核上皮细胞较少; 发情后期白细胞、有核上皮细胞和角化上皮细胞比例基本相同; 发情间期以大量白细胞为主。模型组大鼠动情周期不规律, 长期处于动情间期; 与模型组比较, 各给药组大鼠动情周期逐渐恢复节律性, 见图 1。

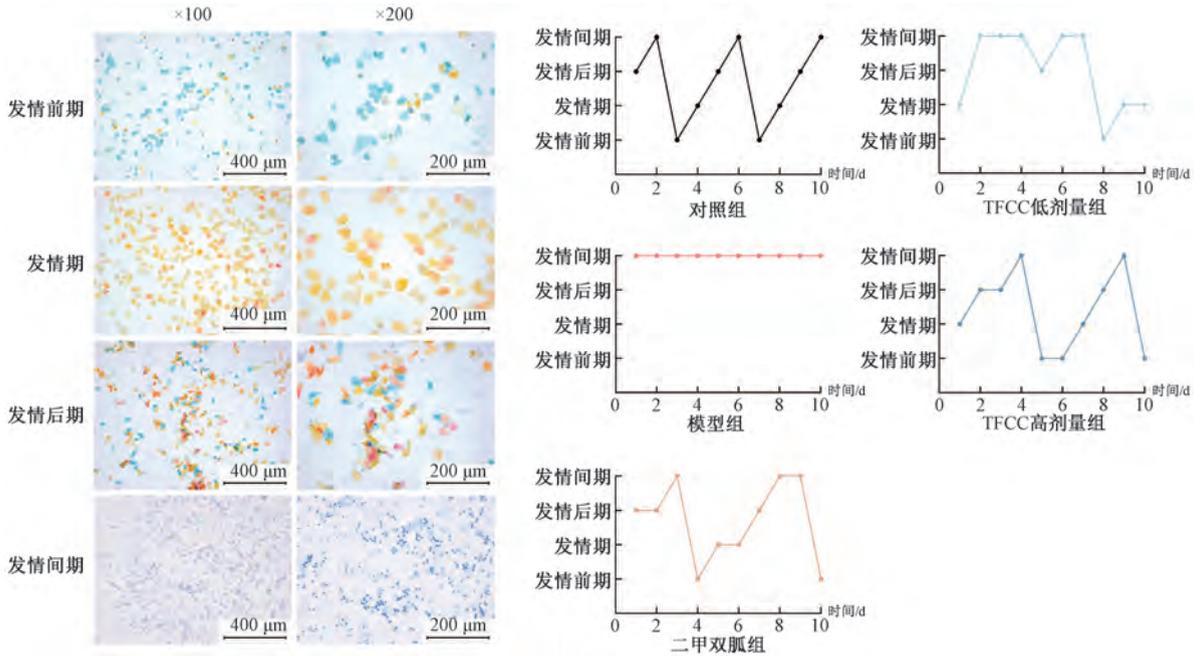


图1 TFCC对PCOS大鼠动情周期的影响

Fig. 1 Effects of TFCC on the cell motility in stages of the estrous cycle of PCOS rats

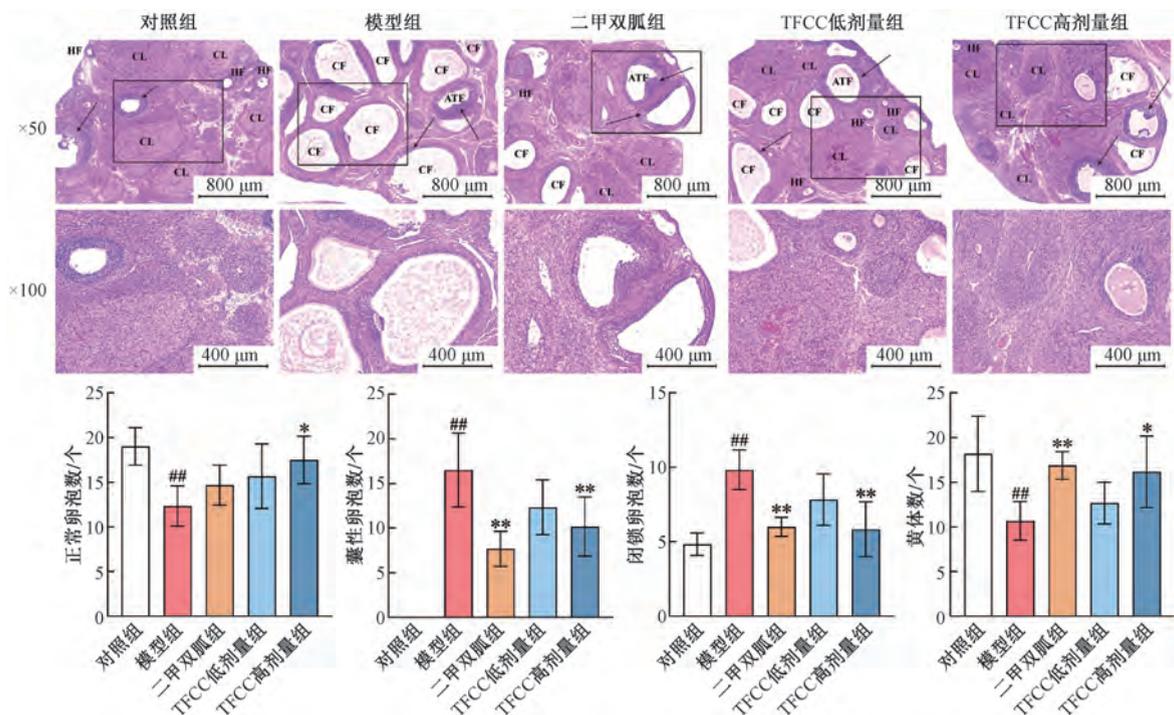
3.2 TFCC 对 PCOS 大鼠卵巢组织结构的影响 对照组大鼠卵巢卵泡、黄体发育正常, 无囊性卵泡; 与对照组比较, 模型组大鼠卵巢组织卵泡出现囊性扩张, 正常卵泡、黄体组织数量减少 ($P < 0.01$), 囊性卵泡、闭锁卵泡数量增加 ($P < 0.01$), 颗粒细胞层厚度减少; 与模型组比较, 二甲双胍和 TFCC 高剂量组大鼠囊性卵泡和闭锁卵泡减少 ($P < 0.01$),

黄体数量增加 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 颗粒细胞层厚度增加, 见图 2。提示 TFCC 和二甲双胍可以有效改善 PCOS 大鼠卵巢形态, 促进卵泡发育及排卵。

3.3 TFCC 对 PCOS 大鼠体质量、体长、内脏脂肪及脂质水平的影响 与对照组比较, 模型组大鼠子宫周围脂肪细胞明显增大, 排列不规则, 体质量、Lee's 指数、内脏脂肪相对质量、子宫周围脂肪细

胞面积升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 与模型组比较, 各给药组大鼠体质量、Lee's 指数、内脏脂肪相对

质量、子宫周围脂肪细胞面积降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 见表2、图3。



注: HF 表示健康的卵泡数目, CF 表示囊性卵泡, ATF 表示闭锁卵泡, CL 表示黄体, 箭头指示颗粒细胞层。与对照组比较, ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$ 。

图2 TFCC对PCOS大鼠卵巢组织形态的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

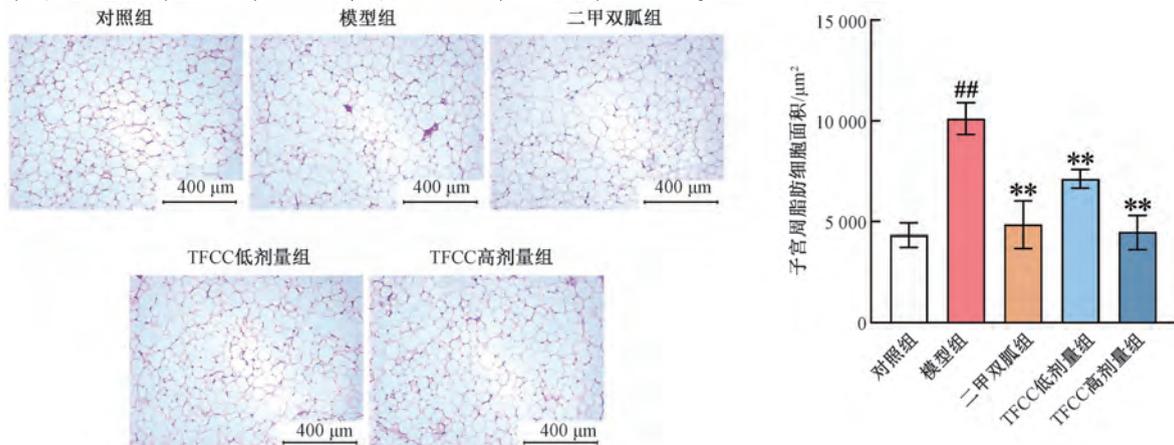
Fig. 2 Effects of TFCC on ovarian morphology in PCOS rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

表2 TFCC对PCOS大鼠体质量、体长及内脏脂肪相对质量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Tab. 2 Effects of TFCC on levels of body weight, Lee index and visceral fat index in PCOS rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

| 组别 | 初始体质量/g | 最终体质量/g | Lee's 指数 | 内脏脂肪相对质量/% |
|----------|-----------------|--------------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| 对照组 | 175.505 ± 3.541 | 281.122 ± 8.337 | 23.728 ± 0.072 | 1.646 ± 0.321 |
| 模型组 | 175.480 ± 8.936 | 350.293 ± 14.491 ^{##} | 25.013 ± 0.483 ^{##} | 2.041 ± 0.127 [#] |
| 二甲双胍组 | 176.315 ± 4.781 | 288.117 ± 11.817 ^{**} | 23.677 ± 0.198 ^{**} | 1.443 ± 0.146 ^{**} |
| TFCC低剂量组 | 176.032 ± 6.843 | 299.877 ± 13.921 ^{**} | 23.800 ± 0.349 ^{**} | 1.586 ± 0.261 [*] |
| TFCC高剂量组 | 175.672 ± 3.998 | 292.080 ± 5.988 ^{**} | 23.726 ± 0.113 ^{**} | 1.450 ± 0.166 ^{**} |

注: 与对照组比较, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$ 。



注: 与对照组比较, ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较, ^{**} $P < 0.01$ 。

图3 TFCC对PCOS大鼠子宫周围脂肪组织形态的影响 ($\times 100$, $\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Fig. 3 Effects of TFCC on periuterine adipocytes morphology in PCOS rats ($\times 100$, $\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

3.4 TFCC对PCOS大鼠血清TG、TC、LDL-C、HDL-C水平的影响 与对照组比较,模型组大鼠血清TG、TC、LDL-C水平升高($P<0.01$),HDL-C水平降低($P<0.01$);与模型组比较,各给药组

大鼠血清TG、TC、LDL-C水平降低($P<0.05$, $P<0.01$),HDL-C水平升高($P<0.05$, $P<0.01$),见表3。

表3 TFCC对PCOS大鼠血清TG、TC、LDL-C、HDL-C水平的影响 (mmol/L, $\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Tab. 3 Effects of TFCC on serum TG, TC, LDL-C, HDL-C levels in PCOS rats (mmol/L, $\bar{x}\pm s$, $n=6$)

| 组别 | TG | TC | LDL-C | HDL-C |
|----------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 对照组 | 0.970±0.192 | 1.481±0.151 | 0.824±0.162 | 1.300±0.203 |
| 模型组 | 1.793±0.051 ^{##} | 2.805±0.341 ^{##} | 1.427±0.113 ^{##} | 0.818±0.053 ^{##} |
| 二甲双胍组 | 1.210±0.296 ^{**} | 1.804±0.102 ^{**} | 0.875±0.185 ^{**} | 1.341±0.113 ^{**} |
| TFCC低剂量组 | 1.412±0.186 [*] | 2.013±0.073 ^{**} | 1.044±0.107 ^{**} | 1.093±0.076 [*] |
| TFCC高剂量组 | 0.930±0.213 ^{**} | 1.579±0.132 ^{**} | 0.807±0.056 ^{**} | 1.292±0.245 ^{**} |

注:与对照组比较,^{##} $P<0.01$;与模型组比较,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$ 。

3.5 TFCC对PCOS大鼠血清T、E₂、AMH、LH、FSH水平及LH/FSH比值的影响 与对照组比较,模型组大鼠血清T、AMH、LH水平和LH/FSH比值升高($P<0.01$),E₂、FSH水平降低($P<0.01$);

与模型组比较,各给药组大鼠血清T、AMH、LH水平和LH/FSH比值降低($P<0.01$),E₂、FSH水平升高($P<0.05$, $P<0.01$),见表4。

表4 TFCC对PCOS大鼠血清T、E₂、AMH、LH、FSH水平及LH/FSH比值的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Tab. 4 Effects of TFCC on serum T, E₂, AMH, LH, FSH levels and LH/FSH ratio in PCOS rats ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

| 组别 | T/(nmol·L ⁻¹) | E ₂ /(ng·L ⁻¹) | AMH/(pg·mL ⁻¹) | LH/(ng·L ⁻¹) | FSH/(IU·L ⁻¹) | LH/FSH |
|----------|---------------------------|---------------------------------------|------------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|
| 对照组 | 5.696±0.533 | 61.934±3.163 | 114.256±2.526 | 27.370±3.581 | 15.663±0.846 | 1.742±0.147 |
| 模型组 | 7.342±0.694 ^{##} | 51.012±1.464 ^{##} | 182.720±9.408 ^{##} | 36.766±1.469 ^{##} | 10.687±0.426 ^{##} | 3.441±0.081 ^{##} |
| 二甲双胍组 | 6.001±0.474 ^{**} | 58.451±1.163 ^{**} | 131.369±3.139 ^{**} | 28.508±1.930 ^{**} | 14.993±0.412 ^{**} | 1.900±0.085 ^{**} |
| TFCC低剂量组 | 7.009±0.572 | 55.112±1.968 [*] | 144.238±14.005 ^{**} | 31.563±1.565 ^{**} | 12.860±1.315 ^{**} | 2.467±0.150 ^{**} |
| TFCC高剂量组 | 6.072±0.599 ^{**} | 60.902±2.142 ^{**} | 123.471±10.548 ^{**} | 26.405±2.839 ^{**} | 14.012±1.443 ^{**} | 1.884±0.054 ^{**} |

注:与对照组比较,^{##} $P<0.01$;与模型组比较,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$ 。

3.6 TFCC对PCOS大鼠血清MDA水平和SOD、GSH-Px、CAT活性的影响 与对照组比较,模型组大鼠血清MDA水平升高($P<0.01$),SOD、GSH-Px、CAT活性降低($P<0.01$);与模型组比

较,各给药组大鼠MDA水平降低($P<0.01$),SOD、GSH-Px、CAT活性升高($P<0.05$, $P<0.01$),见表5。

表5 TFCC对PCOS大鼠血清MDA水平和SOD、GSH-Px、CAT活性的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

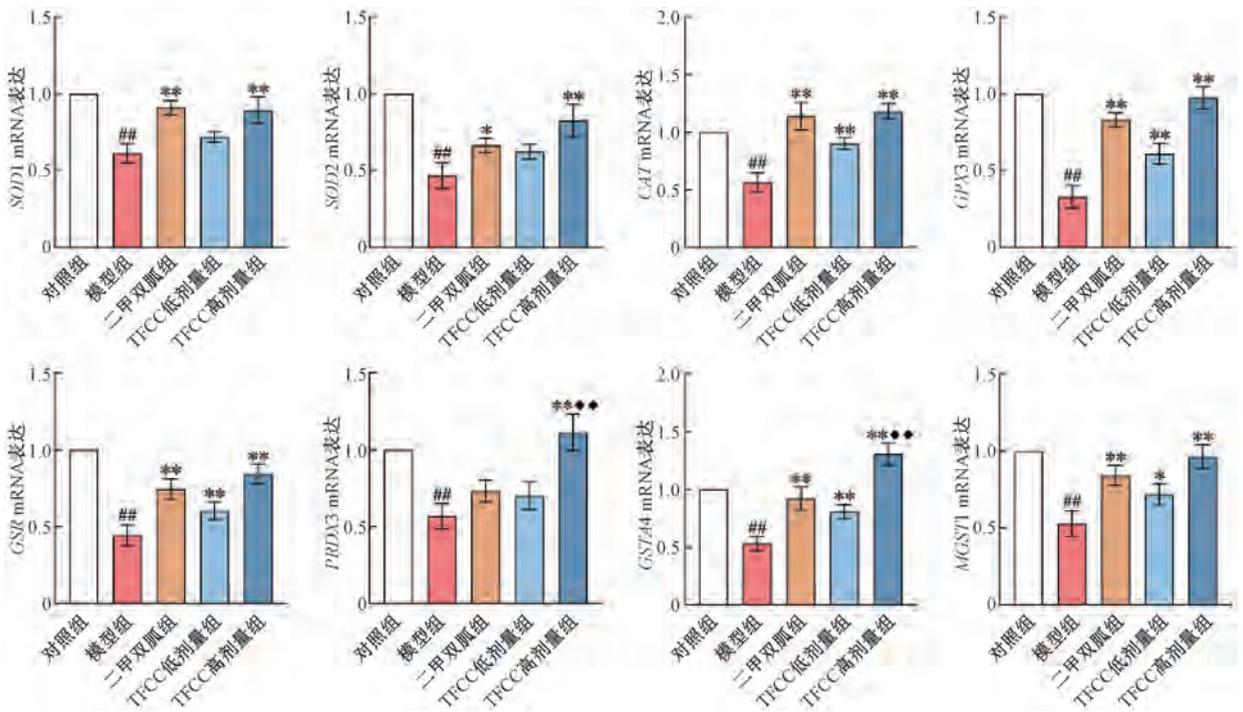
Tab. 5 Effects of TFCC on serum MDA level and SOD, GSH-Px and CAT activities in PCOS rats ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

| 组别 | MDA/(nmol·mL ⁻¹) | SOD/(U·mL ⁻¹) | GSH-Px/(nmol·min ⁻¹ ·mL ⁻¹) | CAT/(μmol·min ⁻¹ ·mL ⁻¹) |
|----------|------------------------------|----------------------------|--|---|
| 对照组 | 0.323±0.050 | 49.298±3.583 | 429.911±21.633 | 86.810±17.925 |
| 模型组 | 0.756±0.136 ^{##} | 37.597±2.930 ^{##} | 353.302±27.260 ^{##} | 40.302±7.515 ^{##} |
| 二甲双胍组 | 0.489±0.038 ^{**} | 46.063±3.134 [*] | 429.045±21.595 ^{**} | 75.391±13.993 ^{**} |
| TFCC低剂量组 | 0.570±0.096 [*] | 45.120±3.210 | 383.943±41.895 | 54.077±15.514 |
| TFCC高剂量组 | 0.443±0.121 ^{**} | 50.216±7.715 ^{**} | 427.062±21.094 ^{**} | 69.354±15.562 [*] |

注:与对照组比较,^{##} $P<0.01$;与模型组比较,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$ 。

3.7 TFCC对PCOS大鼠卵巢组织SOD1、SOD2、CAT、GPX3、GSR、PRDX3、GSTA4、MGST1 mRNA表达的影响 与对照组比较,模型组大鼠卵巢组织SOD1、SOD2、CAT、GPX3、GSR、PRDX3、GSTA4、MGST1 mRNA表达降低($P<0.01$);与模型组比较,各给药组大鼠卵巢组织SOD1、SOD2、CAT、GPX3、GSR、PRDX3、GSTA4、MGST1 mRNA表达升高($P<0.05$, $P<0.01$),见图4。

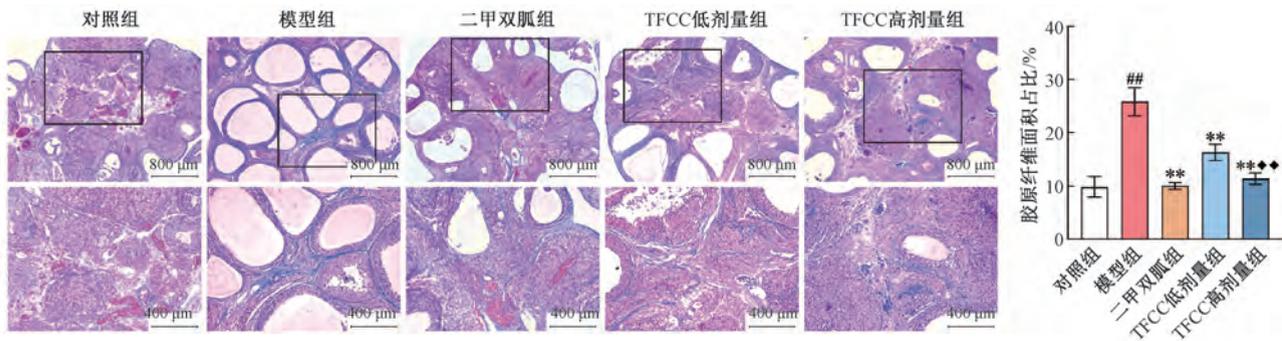
3.8 TFCC对PCOS大鼠卵巢组织中纤维化因子的影响 与对照组比较,模型组大鼠卵巢组织胶原纤维面积升高($P<0.01$);与模型组比较,各给药组大鼠卵巢组织胶原纤维面积降低($P<0.01$),见图5。与对照组比较,模型组大鼠卵巢组织α-SMA、CTGF、Collagen I蛋白表达升高($P<0.01$);与模型组比较,各给药组大鼠卵巢组织α-SMA、CTGF、Collagen I蛋白表达降低($P<0.01$),见图6。



注：与对照组比较，^{##} $P < 0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P < 0.05$ ，^{**} $P < 0.01$ ；与二甲双胍组比较，^{◆◆} $P < 0.01$ 。

图4 TFCC对PCOS大鼠卵巢组织SOD1、SOD2、CAT、GPX3、GSR、PRDX3、GSTA4、MGST1 mRNA表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 4 Effects of TFCC on ovarian mRNA expressions of SOD1, SOD2, CAT, GPX3, GSR, PRDX3, GSTA4, MGST1 in PCOS rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)



注：与对照组比较，^{##} $P < 0.01$ ；与模型组比较，^{**} $P < 0.01$ ；与二甲双胍组比较，^{◆◆} $P < 0.01$ 。

图5 TFCC对PCOS大鼠卵巢纤维化的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

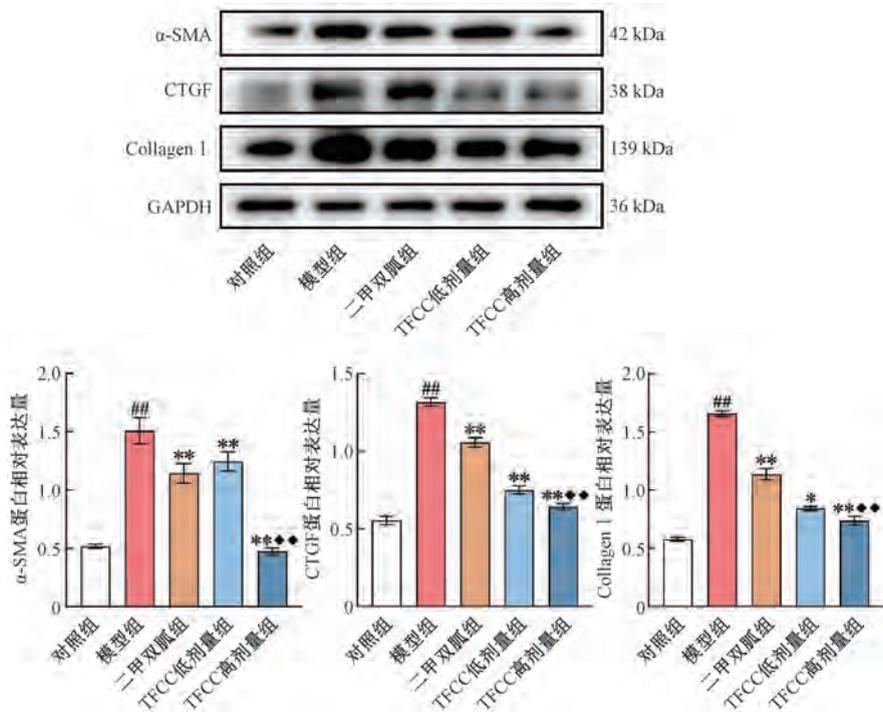
Fig. 5 Effects of TFCC on ovarian fibrosis in PCOS rats ($\bar{x} \pm s, n=3$)

4 讨论

黄酮类是南、北山楂的主要活性成分^[11]。南山楂降血脂和抗心肌缺血作用明显优于北山楂^[12]，可能与其较高的总黄酮含量有关^[13]。本研究发现，南山楂提取物中的总黄酮含量为 (73.2 ± 4.88) mg/g，高于张威峰^[14]所报道的结果 (54.2 mg/g) 。壮医将南山楂用于治疗隆白呆（带下病）、血压嗓（高血压）、高脂血等疾病^[15]，中医也将其应用于瘀血经闭、产后瘀阻、高脂血症等^[16]，这为南山楂防治PCOS提供了有力的理论支撑。

PCOS患者长期暴露于高雄激素水平环境，腹部脂肪沉积严重^[17]。临床研究表明，PCOS患者减轻5%~10%的体质量可以改善雄激素水平和代谢异常^[18-19]。本研究发现，TFCC和二甲双胍均能降低PCOS大鼠体质量，改善血脂水平，且高剂量TFCC在改善血脂代谢方面优于二甲双胍组。祁静等^[13,20]研究也提示，富含高黄酮成分的南山楂水提取物可抑制胰脂肪酶活性，提高淀粉酶活性，降低脂肪消化吸收率，发挥降血脂功效。

性激素水平与卵泡发育障碍在PCOS中起着至



注：与对照组比较，## $P < 0.01$ ；与模型组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ；与二甲双胍组比较，◆◆ $P < 0.01$ 。

图 6 TFCC 对 PCOS 大鼠卵巢组织 α -SMA、CTGF、Collagen I 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 6 Effects of TFCC on α -SMA, CTGF, and Collagen I protein expressions in ovarian tissue of PCOS rats ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

关重要的作用，雄激素分泌过多被认为是 PCOS 的主要临床症状^[21]。黄酮类物质对 PCOS 展现出潜在的治疗作用，如青天葵总黄酮显著提高 PCOS-IR 大鼠血清 FSH 水平，降低 LH、T 水平并呈剂量依赖性^[22]。本研究发现，TFCC 干预降低了 PCOS 大鼠血清 T、AMH、LH 水平及 LH/FSH 比值，促进 FSH 和 E_2 合成，恢复卵巢组织形态，进一步提示了 TFCC 能有效改善 PCOS 症状。

PCOS 患者体内活性氧过量产生，抗氧化能力降低，氧化应激生物标志物升高^[23-24]。给予 TFCC 干预后，PCOS 大鼠的氧化应激状态得到改善，抗氧化酶活性提高。南山楂不同药用部位及其黄酮提取物均表现出较强的 DPPH 清除能力^[6,25]，说明南山楂在抗氧化相关方面具有良好的应用前景。活性氧水平升高和氧化应激能够诱导卵巢成纤维细胞过度增殖和细胞外基质沉积，引发卵巢纤维化^[26-27]。 α -SMA、CTGF 和 Collagen I 是评估纤维化过程的重要标志物。本研究发现，TFCC 降低了 PCOS 大鼠卵巢胶原纤维面积，减少纤维组织沉积，抑制了 α -SMA、CTGF、Collagen I 蛋白表达，表明其能够减缓卵巢组织纤维化的进展，且效果优于二甲双胍。

综上所述，TFCC 能够恢复 PCOS 大鼠动情周期，改善卵巢组织学变化，调节血清性激素水平，纠正血脂紊乱，减轻氧化应激水平，减缓纤维化进程，逆转 PCOS 的相关症状，其作用机制可能与调控脂质代谢和改善氧化应激所致组织损伤相关。本研究为 TFCC 用于 PCOS 的辅助治疗提供了更多的理论依据，也为南山楂的开发和应用提供了重要的参考作用。

参考文献：

- [1] Zhang X W, Miao H Z, Zhou J H, et al. Association between preconception anti-androgen therapy and pregnancy outcomes of patients with PCOS: a prospective cohort study[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023, 14: 1109861.
- [2] Singh S, Pal N, Shubham S, et al. Polycystic ovary syndrome: etiology, current management, and future therapeutics[J]. *J Clin Med*, 2023, 12(4): 1454.
- [3] Siddiqui S, Mateen S, Ahmad R, et al. A brief insight into the etiology, genetics, and immunology of polycystic ovarian syndrome (PCOS) [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2022, 39(11): 2439-2473.
- [4] 王文越, 吕琴, 李珩玉, 等. 山楂与野山楂的化学成分对比研究[J]. *山东中医药大学学报*, 2021, 45(5): 672-679.
- [5] 罗集鹏. 粤桂港澳中药材习用品[M]. 北京: 中国医药科

- 技出版社, 2016: 140-141.
- [6] 王嘉欢, 高 洁, 李伟鑫, 等. 南北山楂不同药用部位抗氧化、抗炎作用研究[J]. 武警后勤学院学报 (医学版), 2018, 27(2): 111-115.
- [7] 郭文娟, 王 娜, 王娜娜, 等. 山楂核总黄酮的超声提取及抗氧化活性[J]. 精细化工, 2016, 33(2): 152-156.
- [8] Zhou Y Y, Lan H, Dong Z W, *et al.* Rhamnocitrin attenuates ovarian fibrosis in rats with letrozole-induced experimental polycystic ovary syndrome[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 5558599.
- [9] 魏 伟, 吴希美, 李元建, 等. 药理实验方法学[M]. 4版. 北京: 人民卫生出版社, 2018: 1698.
- [10] Zhou Y Y, Wu Y Q, Chong C J, *et al.* *Irpex lacteus* polysaccharide exhibits therapeutic potential for ovarian fibrosis in PCOS rats *via* the TGF- β 1/smad pathway[J]. *Heliyon*, 2023, 9(8): e18741.
- [11] 何心亮. 北山楂与南山楂化学成分的比较[J]. 中草药, 1990, 21(4): 4-6; 46.
- [12] 陈 平. 四种山楂药材的主要区别[J]. 广西中医药, 2001, 24(3): 50-51.
- [13] 祁 静, 汪启珍, 杨 娟, 等. 南、北山楂水提液对人体内源脂肪酶的作用研究[J]. 中国食物与营养, 2020, 26(10): 54-59.
- [14] 张威峰. 南山楂总黄酮提取工艺优化研究[J]. 安徽医药, 2010, 14(8): 890-891.
- [15] 广西壮族自治区食品药品监督管理局. 广西壮族自治区壮药质量标准: 2018年版(第三卷)[S]. 南宁: 广西科学技术出版社, 2018: 119.
- [16] 邓家刚. 桂本草[M]. 北京: 北京科学技术出版社, 2013: 899-901.
- [17] Dumesic D A, Winnett C, Lu G, *et al.* Randomized clinical trial: effect of low-dose flutamide on abdominal adipogenic function in normal-weight women with polycystic ovary syndrome[J]. *Fertil Steril*, 2023, 119(1): 116-126.
- [18] Barber T M, Hanson P, Weickert M O, *et al.* Obesity and polycystic ovary syndrome: implications for pathogenesis and novel management strategies[J]. *Clin Med Insights Reprod Health*, 2019, 13: 1179558119874042.
- [19] Elkind-Hirsch K E, Chappell N, Shaler D, *et al.* Liraglutide 3 mg on weight, body composition, and hormonal and metabolic parameters in women with obesity and polycystic ovary syndrome: a randomized placebo-controlled-phase 3 study[J]. *Fertil Steril*, 2022, 118(2): 371-381.
- [20] 祁 静, 杨 娟, 汪启珍, 等. 南、北山楂提取液分别对人体内源淀粉酶作用研究[J]. 食品科学技术学报, 2020, 38(1): 80-87.
- [21] Xu Y L, Qiao J. Association of insulin resistance and elevated androgen levels with polycystic ovarian syndrome (PCOS): a review of literature[J]. *J Healthc Eng*, 2022, 2022: 9240569.
- [22] Zhou Y Y, Lv L, Liu Q H, *et al.* Total flavonoids extracted from *Nervilia fordii* function in polycystic ovary syndrome through IL-6 mediated JAK2/STAT3 signaling pathway[J]. *Biosci Rep*, 2019, 39(1): BSR20181380.
- [23] Li T H, Zhang T T, Gao H M, *et al.* Tempol ameliorates polycystic ovary syndrome through attenuating intestinal oxidative stress and modulating of gut microbiota composition-serum metabolites interaction[J]. *Redox Biol*, 2021, 41: 101886.
- [24] Zhao J, Tan Y, Feng Z, *et al.* Catalpol attenuates polycystic ovarian syndrome by regulating sirtuin 1 mediated NF- κ B signaling pathway[J]. *Reprod Biol*, 2022, 22(3): 100671.
- [25] 董华强, 甄畅迪, 张 毅, 等. 南山楂叶黄酮抑制 α -葡萄糖苷酶和清除 DPPH 自由基的作用[J]. 食品科学, 2010, 31(19): 179-181.
- [26] Orisaka M, Mizutani T, Miyazaki Y, *et al.* Chronic low-grade inflammation and ovarian dysfunction in women with polycystic ovarian syndrome, endometriosis, and aging[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023, 14: 1324429.
- [27] Lan H, Dong Z W, Zhang M Y, *et al.* Sinapic acid modulates oxidative stress and metabolic disturbances to attenuate ovarian fibrosis in letrozole-induced polycystic ovary syndrome SD rats[J]. *Food Sci Nutr*, 2024, 12(4): 2917-2931.