

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2021.14.008

优思悦对多囊卵巢综合征模型大鼠卵巢功能的影响及其机制研究*

范可辽¹ 邵迎春² 石晓琳¹ 刘振国¹ 赵璟文^{1Δ}

(1 西北妇女儿童医院药剂科 陕西 西安 710003)

(2 陕西省中医药大学附属医院产科 陕西 咸阳 712000)

摘要 目的:探讨优思悦对硫酸脱氢表雄酮(dehydroepiandrosterone, DHEA)诱导的多囊卵巢综合征模型大鼠体内性激素:睾酮(testosterone, T)、雌二醇(estradiol, E2)、促黄体生成素(luteinizing hormone, LH)及卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)及PI3K/AKT信号通路的影响。**方法:**将60只雌性SD大鼠随机均分为3组,包括空白组、模型组及治疗组。空白组每日颈部皮下注射0.2 mL大豆油,其余各组每日颈部皮下注射DHEA 60 mg/kg+0.2 mL大豆油,持续注射35 d。造模第21 d时,每日上午制备大鼠阴道涂片,将其放置在显微镜下观察,根据细胞形态判定大鼠的动情周期,无动情周期规律视为造模成功。造模第36 d时,连续4 w对大鼠进行灌胃,每天一次。检测大鼠阴道分泌物的细胞形态、大鼠卵巢中卵泡发育的情况。放射免疫法测定大鼠血清中T、E2、LH、FSH的含量;RT-qPCR法检测大鼠卵巢组织中PI3K/AKT信号通路相关因子(IRS-1、AKT-2、CSK-3 β 、GLUT-4 mRNA和PTEN mRNA)的表达变化。**结果:**空白组大鼠的动情周期有规律性,而模型组大鼠的动情周期失去规律性,且模型组大鼠卵巢中的卵泡呈囊状扩张,血清中T、LH水平明显升高($P<0.05$),同时卵巢组织中的IRS-1、AKT-2、CSK-3 β 、GLUT-4 mRNA表达减少($P<0.05$),PTEN mRNA表达增多($P<0.05$)。与模型组比较,优思悦可改善PCOS模型大鼠动情周期,降低血清T、LH水平($P<0.05$),改善卵泡发育,减少囊状扩张卵泡的形成,上调IRS-1、AKT-2、CSK-3 β 、GLUT-4 mRNA表达量,下调PTEN mRNA表达量。**结论:**优思悦可有效治疗DHEA诱导的PCOS模型大鼠,与卵巢中的PI3K/AKT信号通路相关因子的基因表达相关。

关键词:优思悦;多囊卵巢综合征;大鼠;性激素;PI3K/AKT信号通路

中图分类号:R-33; R711.75; R285.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2021)14-2638-05

Study on the Effect and Mechanism of Uxel on Ovarian Function in Rats with Polycystic Ovary Syndrome*

FAN Ke-liao¹, TAI Ying-chun², SHI Xiao-lin¹, LIU Zhen-guo¹, ZHAO Jing-wen^{1Δ}

(1 Department of Pharmacy, Northwest Women and Children's Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710003, China; 2 Department of Obstetrics, Affiliated Hospital of Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xianyang, Shaanxi, 712000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effects of Yousiyue on sex hormones (T, E2, LH, FSH) and PI3K/AKT signaling pathways in rats with polycystic ovary syndrome induced by dehydroepiandrosterone sulfate. **Methods:** 60 female SD rats were randomly divided into three groups, including blank group, model group and treatment group. In the blank group, 0.2 ml soybean oil was injected subcutaneously to the neck every day, while in the other groups, DHEA 60 mg/kg + 0.2 mL soybean oil was injected subcutaneously to the neck every day for 35 days. On the 21st day of modeling, rat vaginal smears were prepared every morning and observed under a microscope. The estrous cycle of the rats was determined according to the cell morphology, and the absence of estrous cycle rule was deemed as the success of modeling. At the 36th day of modeling, the rats were given gavage once a day for 4 weeks. The cell morphology of vaginal secretions and follicular development in ovaries of rats were detected. The contents of T, E2, LH and FSH in rat serum were determined by radioimmunoassay. The expression of PI3K/AKT signaling pathway related factors (IRS-1, Akt-2, CSK-3, Glut-4 mRNA and PTEN mRNA) in the ovarian tissue of rats were detected by RT-QPCR. **Results:** Compared with the blank group, the rats in the model group lost the regular estrus cycle, the follicles in the ovary showed cystic expansion, the serum T and LH levels were significantly increased ($P<0.05$), and the expressions of IRS-1, Akt-2, CSK-3, glut-4 mRNA were decreased ($P<0.05$), and the expressions of PTEN mRNA were increased ($P<0.05$). In the blank rats, the estrus cycle was regular, while in the model rats, the follicles in the ovary of the model rats showed cystic expansion, and the serum T and LH levels were significantly increased ($P<0.05$). Meanwhile, the expressions of IRS-1, Akt-2, CSK-3, glut-4 mRNA in the ovary tissues were decreased ($P<0.05$), and the expressions of PTEN mRNA were increased ($P<0.01$). Compared with the model group, Yousiyue can improve the oestrogen cycle of PCOS model rats, reduce serum T and LH levels ($P<0.05$), improve follicular development, reduce the formation of cystic expansion follicles, up-regulate the expression of IRS-1,

* 基金项目:陕西省重点研发计划项目(2019SF-219)

作者简介:范可辽(1980-),女,本科,主管药师,研究方向:合理用药,电话:15319484296, E-mail: fan882878@163.com

Δ 通讯作者:赵璟文(1982-),女,本科,主管药师,研究方向:合理用药,电话:13891885902, E-mail: 370315749@qq.com

(收稿日期:2021-01-07 接受日期:2021-01-30)

Akt-2, CSK-3, glut-4 mRNA, and down-regulate the expression of PTEN mRNA. **Conclusion:** Yousiyue can effectively treat DHEA-induced PCOS model rats, which is related to the gene expression of PI3K /AKT signaling pathway related factors in the ovary.

Key words: Yousiyue; Polycystic ovary syndrome; Rats; Sex hormones; The PI3K /AKT signaling pathway

Chinese Library Classification(CLC):R-33; R711.75; R285.5 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2021)14-2638-05

前言

多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome, PCOS)是一种内分泌紊乱性疾病,发病对象为育龄女性,该疾病的发生率为15%^[1],临床表现为月经稀少、雄激素和胰岛素过高等^[2-3],并伴随心血管、高血压、糖尿病等风险较高的并发症^[4-7]。PCOS极大可能引发育龄女性出现不孕症,给患者带来沉重的心理压力,因此寻找有效的治疗方法是临床医师需解决的首要任务^[8-10]。

目前,PCOS的治疗方法以药物治疗为主,药物类型可分为四大类,分别是调整月经周期的药物、抑制雄激素的药物、胰岛素增敏剂及促排卵的药物。调整月经周期的药物诸如去氧孕烯炔雌醇片、炔雌醇环丙孕酮等^[11],该类药物可直接作用于子宫内膜,减少游离睾酮的生成^[12],长期服用会引起血脂异常,增加心血管和肿瘤等风险。抑制雄激素的药物有螺内酯、安体舒通、氟他胺、非那雄胺,该类药物使用剂量受限制,安全性不高^[13,14]。胰岛素增敏剂包括二甲双胍、肌醇、噻唑烷二酮类等,具有众多副作用和不良反应^[15,16]。促排卵的药物有枸橼酸氯米芬、来曲唑和促性腺激素,这三个药物在使用时受剂量限制,长期使用存在很多不良风险^[17]。

优思悦是一种长期避孕药,可控制血液中游离睾酮的活性,抑制LH的异常分泌,达到治疗PCOS的目的。与其他治疗PCOS的药物相比,优思悦可长期使用,安全性高。目前,优思悦治疗PCOS的作用机制尚未明确,研究其对PCOS模型大鼠体内性激素(T、E₂、LH、FSH)及PI3K /AKT信号通路的影响,为临床治疗PCOS提供更多的参考依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

选择选择清洁级的雌性SD大鼠60只,平均体重为(180±20)g,由南京医科大学提供,生产许可证号:SCXK(苏)2019-0002。

1.2 药物与试剂

优思悦(拜耳医药保健有限公司,批号:H20140972);脱氢表雄酮(每瓶0.1g,天津希恩思生化科技有限公司);注射用大豆油(陕西圣瑞医药科技有限公司);T、E₂、LH及FSH试剂盒,购自于上海酶联生物科技有限公司;RNA提取试剂盒、逆转录试剂盒及PCR引物,购自于上海生物工程有限公司。

1.3 主要仪器

冷冻高速离心机(艾本德中国有限公司);酶标检测仪(美谷分子仪器有限公司);JJ-12J脱水机、JB-P5包埋机(中国武汉俊杰电子有限公司);RM2016病理切片机(上海徕卡仪器有限公司);NanoDrop2000型超微量分光光度计(美国Thermo公司);Stepone plus荧光定量PCR仪(美国ABI公司);电泳仪(深圳市粤辉煌自动化设备有限公司)。

1.4 实验方法

将60只雌性SD大鼠随机均分为三组,分别是空白组、模型组和治疗组,其中空白组大鼠每天于颈部皮下注射大豆油0.2mL,模型组和治疗组每天注射DHEA 60mg/kg+0.2mL大豆油,连续给药35d^[18],在造模的第21d开始于每日9:00-10:00,取大鼠阴道分泌物,制备大鼠阴道涂片,观察细胞形态及比例,根据其判定大鼠的动情周期,无规律的动情周期视为造模成功。

1.5 实验给药

造模第36d,治疗组大鼠连续4w灌胃优思悦(10mg/kg/d),其余两组给予等体积的生理盐水(1次/d)。

1.6 观察指标

1.6.1 大鼠动情周期的检测 造模第21d起,对各组大鼠行阴道涂片检测,并予甲苯胺蓝染色。根据大鼠阴道上皮细胞的类型及比例来判断大鼠的动情周期,动情周期分为动情期(E)、动情后期(M)、动情间期(D)与动情前期(P)。

1.6.2 大鼠血清性激素水平的检测 取材前1d20:00就开始对大鼠进行禁食,戊巴比妥钠进行大鼠腹腔注射,将大鼠麻醉,在腹主动脉取血2mL,在4℃1000r/min,离心20min,使用放射免疫法测定血清T、E₂、LH、FSH水平。

1.6.3 大鼠组织病理学检测 处死大鼠,摘取大鼠的卵巢组织,用4%多聚甲醛固定,脱水,石蜡包埋,制作成5μm的切片,随后用苏木精和伊红染色,在普通光学显微镜下观察卵泡的形态改变。

1.6.4 大鼠卵巢的PI3K / AKT信号通路相关因子表达 大鼠卵巢组织中的PI3K / AKT信号通路相关因子的含量采取RT-PCR法测定。

1.7 统计学方法

用SPSS 22.0统计数据,采用($\bar{x} \pm s$)表示计量数据,单因素方差分析进行组间比较,两组对比用t检验, $P < 0.05$ 有统计学差异。

2 结果

2.1 大鼠动情周期的变化

空白组大鼠的动情周期规律,模型组的大鼠动情周期不规律,经优思悦治疗之后,大鼠的动情周期变得规律,如图1和图2所示。

2.2 各组大鼠血清性激素水平的变化

各组大鼠血清中性激素的含量如表1所示,表中数据显示:相比于空白组,模型组和治疗组大鼠血清中的T、LH的水平显著升高($P < 0.05$),E₂、FSH的水平无明显差异($P > 0.05$),与模型组对比,优思悦治疗组大鼠血清的LH水平显著降低($P < 0.05$)。

2.3 各组大鼠卵巢卵泡发育的变化

各组大鼠的卵巢卵泡发育情况见图 3,结果显示:空白组大鼠的卵巢中呈现多个黄体 and 不同发育阶段的卵泡,无囊状扩张卵泡出现;模型组大鼠的卵巢具有囊状扩张的卵泡。与空白

组大鼠的黄体数目相比,模型组大鼠的黄体数目明显减少,且卵泡中的颗粒细胞层也明显减少;经优思悦治疗后治疗组的卵巢组织中囊状扩张的卵泡减少,黄体数目增多,颗粒细胞层增厚。

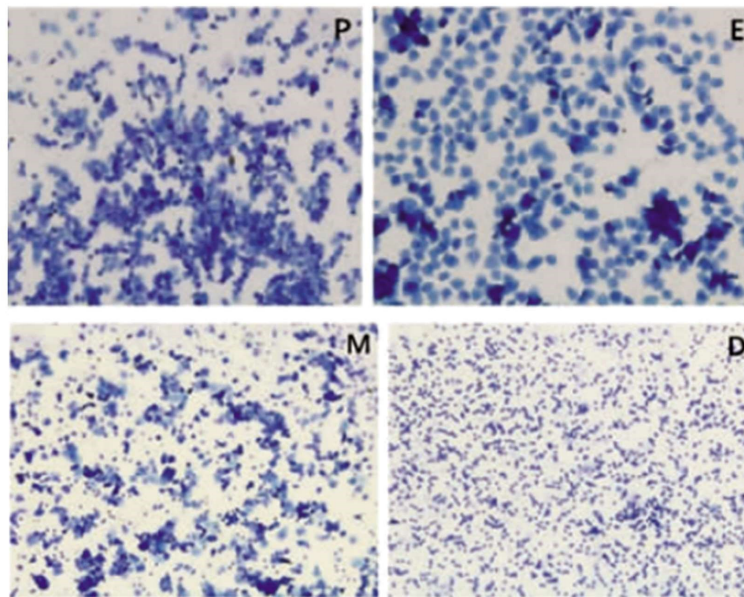


图 1 大鼠各动情期的阴道涂片

Fig.1 Vaginal smears of rats in each estrus

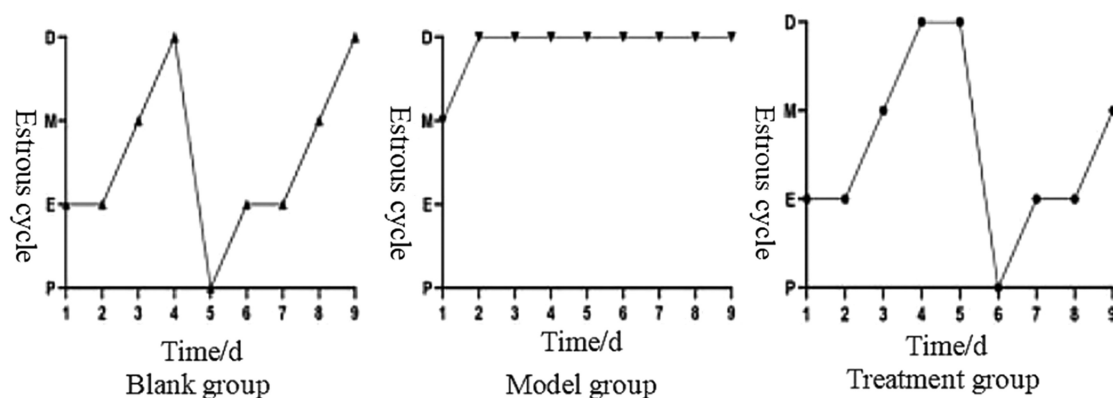


图 2 各组大鼠动情周期的变化

Fig. 2 Changes of estrous cycle of rats in each group

表 1 各组大鼠血清性激素水平($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Serum sex hormone levels of rats in each group ($\bar{x} \pm s$)

Groups	T (ng/mL)	E ₂ (pg/mL)	LH (mIU/mL)	FSH (ng/mL)
Blank group	0.92 ± 0.10	62.03 ± 6.33	9.55 ± 1.23	13.33 ± 2.22
Model group	4.32 ± 0.33*	72.12 ± 6.32	33.25 ± 5.36*	13.23 ± 2.12
Treatment group	1.30 ± 0.55**	63.21 ± 10.22	18.32 ± 4.21**	12.02 ± 2.11

Note: Compared with the blank group, * $P < 0.05$; Compared with the model group, ** $P < 0.05$.

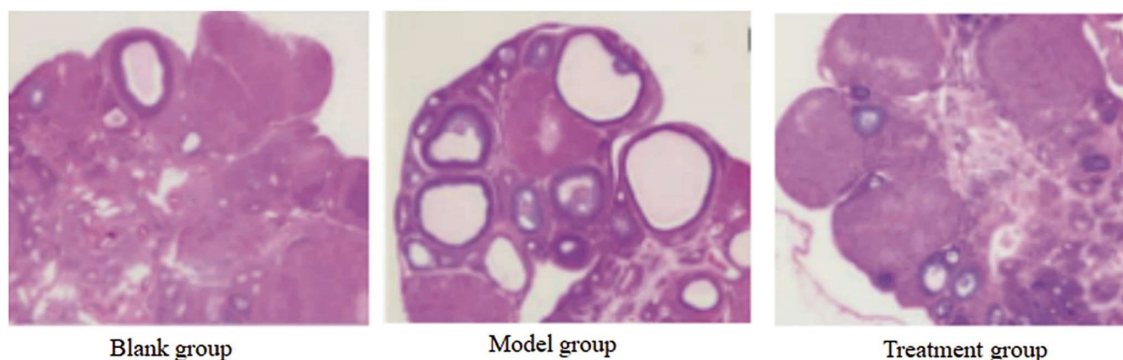
2.4 各组大鼠卵巢组织中相关 mRNA 相对表达量比较

各组大鼠卵巢组织中相关 mRNA 相对表达量见表 2,结果显示:与空白组比较,模型组和治疗组大鼠卵巢组织中的 4 个 PI3K/AKT 信号通路相关因子(IRS-1、AKT-2、CSK-3 β 、GLUT-4 mRNA)表达显著降低($P < 0.05$),剩余的 PTEN mRNA 的表达显著升高($P < 0.05$);与模型组对比,优思悦治疗组大鼠卵巢组织中的 IRS-1、AKT-2、CSK-3 β 、GLUT-4 mRNA 表达显著增加

($P < 0.05$),PTEN mRNA 表达显著减少($P < 0.05$)。

3 讨论

本研究采用 DHEA 诱导的方法制备 PCOS 模型大鼠,根据大鼠的动情周期变化结果,可知 PCOS 模型大鼠无规律性的动情周期,说明 PCOS 模型大鼠制备成功。而经过优思悦的治疗,PCOS 模型大鼠又具备了规律性的动情周期,说明优思悦

图3 各组大鼠卵巢组织切片 HE 染色($\times 100$)Fig. 3 HE staining of ovarian tissue sections of rats in each group ($\times 100$)表2 各组大鼠卵巢组织中相关 mRNA 的相对表达量($\bar{x} \pm s$)Table 2 Relative expression levels of related mrnas in ovarian tissues of rats in each group ($\bar{x} \pm s$)

Groups	IRS-1	AKT-2	CKS-3 β	GLUT-4	PTEN
Blank group	4.12 $\pm$ 0.23	0.66 $\pm$ 0.01	2.33 $\pm$ 0.23	0.66 $\pm$ 0.21	0.32 $\pm$ 0.01
Model group	1.55 $\pm$ 0.11*	0.42 $\pm$ 0.02*	0.88 $\pm$ 0.36*	0.32 $\pm$ 0.14*	0.66 $\pm$ 0.02*
Treatment group	2.56 $\pm$ 0.15**	0.55 $\pm$ 0.01**	1.25 $\pm$ 0.12**	0.55 $\pm$ 0.05**	0.45 $\pm$ 0.03**
F	485.231	22.361	115.233	12.362	49.123
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

Note: Compared with the normal group, * $P < 0.05$; Compared with the model group, ** $P < 0.05$.

可改善大鼠的动情周期。

PCOS 发病机制复杂,目前还未有确切统一的发病机制述评。中医学认为,"痰"是 PCOS 的致病因素^[19,21],调和肾脏治疗 PCOS 疗效显著^[22]。西医认为,下丘脑促性腺激素释放激素调节功能异常,会导致 LH 水平升高,FSH 水平降低,卵泡分泌 T、E₂、DHEA 增多,胰岛素抵抗、代谢表型异常及卵巢纤维化等^[23-28],而 LH 及 FSH 发生协同作用,可促进女性卵泡正常发育^[29,30]。本研究结果显示,治疗组大鼠血清中的 T 和 E₂ 水平显著降低,且与正常大鼠的水平接近,而 LH 和 FSH 水平变化不大,同时,治疗组大鼠卵巢组织中囊状扩张的卵泡减少,黄体数目增多,颗粒细胞层增厚,与郭琴^[31]的研究类似,该学者探讨屈螺酮炔雌醇(II)(优思悦)对 PCOS 模型大鼠卵巢功能的影响及其机制,实验结束时空白对照组大鼠血清 T 水平较模型组,优思悦组和达英 35 组均显著降低;优思悦组,达英 35 组大鼠血清 T 水平较模型组均显著降低,说明优思悦可升高 PCOS 模型大鼠血清性激素 T、E₂ 水平,促进卵泡的发育,减少囊状卵泡,与以往西医对 PCOS 的认知一致。

胰岛素抵抗是 PCOS 重要的临床症状,PCOS 卵巢局部胰岛素抵抗与 PI3K/AKT 信号通路传导障碍紧密相关^[32]。研究表明,IRS-1 通过激活转录因子,促进蛋白合成和细胞增殖^[33]。磷酸化的 IRSs 激活并活化 PI3K,形成 PIP3,PIP3 与蛋白激酶 B 和重组人丙酮酸脱氢酶激酶同工酶 -1 结合,最终活化 AKT-2,使得 GSK-3 β 发生磷酸化而失活。另外,在胰岛素刺激下,靶细胞内的 GLUT-4 会发生移位;PTEN 是 PI3K 信号通路的负调节因子,可控制颗粒细胞的增殖,控制卵巢的正常排卵功能,抑制蛋白激酶 AKT 的表达,阻断下游信号通路^[34,35]。本研究结果

显示,与正常组相比,模型组大鼠的 IRS-1、AKT-2、CKS-3 β 、GLUT-4 mRNA 表达量均明显降低,PTEN mRNA 的表达量显著增加;经过优思悦治疗组大鼠卵巢组织中的 IRS-1、AKT-2、CKS-3 β 、GLUT-4 mRNA 表达量均显著增加,PTEN mRNA 的表达量显著减少,该结果说明,PCOS 模型大鼠体内的 IRS-1、AKT-2、CKS-3 β 、GLUT-4 mRNA 表达量会减少,PTEN mRNA 的表达量会增多,用优思悦治疗后,大鼠体内 IRS-1、AKT-2、CKS-3 β 、GLUT-4 mRNA 及 PTEN mRNA 表达量与接近正常大鼠,各因子水平逐渐恢复正常。目前国内外对优思悦治疗组大鼠卵巢的调控 PI3K/AKT 信号通路的相关因子 IRS-1、AKT-2、CKS-3 β 、GLUT-4 mRNA 及 PTEN mRNA 还没有报道,本研究的结果可以为优思悦治疗 PCOS 的机制提供研究方向。

综上,优思悦通过调控 PI3K/AKT 信号通路的相关因子,改善大鼠的激素分泌水平和卵巢组织形态,从而实现对 PCOS 的治疗效果。

参考文献(References)

- [1] Olga, Papalou, Evanthia, et al. The role of stress in PCOS [J]. Expert review of endocrinology & metabolism, 2017, 12(1): 87-95
- [2] Morgante G, Massaro MG, Di Sabatino A, et al. Therapeutic approach for metabolic disorders and infertility in women with PCOS [J]. Gynecological Endocrinology, 2018, 34(1): 4-9
- [3] Ganie MA, Vasudevan V, Wani IA, et al. Epidemiology, pathogenesis, genetics & management of polycystic ovary syndrome in India[J].The Indian Journal of Medical Research, 2019, 150(4): 333-344
- [4] 赵晓苗,杨冬梓.多囊卵巢综合征的临床症状及远期影响[J].实用妇产科杂志, 2018, 34(8): 566-570
- [5] 金婧,阮祥燕,华琳,等.多囊卵巢综合征卵巢储备功能降低患者肥胖

- 及糖脂代谢特征[J].首都医科大学学报, 2018, 39(4): 505-511
- [6] 安俊丽,王京,丁先娥,等. 针刺加中药对多囊卵巢综合征卵泡发育情况及临床疗效分析 [J]. 世界科学技术 - 中医药现代化, 2018, 20(2): 229-232
- [7] 杜启巨, 米香琴, 徐宏伟, 等. 实时超声弹性成像在多囊卵巢综合征诊断中的应用[J]. 中国超声医学杂志, 2018, 34(8): 732-735
- [8] Wang D, Wang W, Liang Q, et al. DHEA-induced ovarian hyperfibrosis is mediated by TGF- β signaling pathway [J]. J Ovarian Res, 2018, 11(1): e6
- [9] Sacha, Robert, Thomas, et al. Involvement of matrix metalloproteinases (MMPs) and inflammasome pathway in molecular mechanisms of fibrosis[J]. Biosci Rep, 2016, 36(4): e00360
- [10] Xu R, Chen MY, Liang W, et al. Zinc Deficiency Aggravation of ROS and Inflammatory Injury Leading to Renal Fibrosis in Mice[J]. Biol Trace Elem Res, 2020, 2: 1-11
- [11] 李妍, 侯丽辉, 张美微, 等. 青春期多囊卵巢综合征诊断及治疗策略研究进展[J]. 中国医药导报, 2018, 15(34): 41-44
- [12] 谢幸, 孔北华, 段涛. 妇产科学 [M]. 9 版. 北京: 人民卫生出版社, 2018: 349-351
- [13] Bellver J, Rodr Guez-tabernero L, Roblesa, et al. Polycystic ovary syndrome through out a woman's life [J]. J Assist Reprod, 2018, 35(1): 25-39
- [14] Witchel Sf, Oberfield Se, Pea. As. Polycystic ovary syndrome: pathophysiology, presentation, and treatment with emphasis on adolescent girls[J]. J Endocr Society, 2019, 3(8): 1545-1573
- [15] Li Y, Chen C, Ma Y, et al. Multi-system reproductive metabolic disorder: significance for the pathogenesis and therapy of polycystic ovary syndrome (PCOS)[J]. Life Sci, 2019, 228: 167-175
- [16] Saleem F, Rizvisw. New therapeutic approaches in obesity and metabolic syndrome associated with polycystic ovary syndrome associated[J]. Cureus, 2017, 9(11): e1844
- [17] 要慧萍, 姚广. 多囊卵巢综合征中医药治疗进展 [J]. 西部中医药, 2019, 32(12): 150-153
- [18] Xinlin Z, Chengwei Z, Shanmei S, et al. Dehydroepiandrosterone induces ovarian and uterine hyperfibrosis in female rats [J]. Human Reproduction, 2013, 28(11): 3074-3085
- [19] Wang B, Wu XK. Relationship between phlegm-dampness pattern and metabolic syndrome in polycystic ovary syndrome [J]. World Journal of Integrated Traditional and Western Medicine, 2010, 5(5): 457-460
- [20] Xiong HP, Li CD. Study on relation between phlegm symptom-complex pathology of polycystic ovarian syndrome and insulin resistance and sex hormone [J]. Journal of Modern Integrated Traditional and Western Medicine, 2009, 18(1): 13-14
- [21] Hou LH, Yu FJ. Monitoring of sex hormones in 16 cases of polycystic ovary syndrome treated with Chinese and western medicine[J]. China Medicine Guide, 2013, 11(35): 519-520
- [22] 夏波, 孙红. 多囊卵巢综合征的中药治疗研究进展[J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(28): 82-83
- [23] Wang MJ. Relationship between the TCM syndrome elements and abnormal menstruation in polycystic ovary syndrome [D]. Fuzhou: Fujian University of Traditional Chinese Medicine, 2018
- [24] Cooney LG, Lee I, Sammel MD, et al. High prevalence of moderate and severe depressive and anxiety symptoms in polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis [J]. Human Reproduction, 2017, 32(5): 1075-1091
- [25] Juan Zhao, Shan Liu, Yidan Wang, et al. Vitamin D improves in-vitro fertilization outcomes in infertile women with polycystic ovary syndrome and insulin resistance[J]. Minerva Med, 2019, 110(3): 199-208
- [26] Taranto DODL, Guimares TCM, Couto CA, et al. Nonalcoholic fatty liver disease in women with polycystic ovary syndrome: associated factors and noninvasive fibrosis staging in a single Brazilian center[J]. Archives of Endocrinology and Metabolism, 2020, 64(3): 235-242
- [27] Kempegowda P, Melson E, Manolopoulos KN, et al. Implicating androgen excess in propagating metabolic disease in polycystic ovary syndrome[J]. Therapeutic advances in endocrinology and metabolism, 2020, 11: e204201882093431
- [28] Polak K, Czyzyk A, Simoncini T, et al. New markers of insulin resistance in polycystic ovary syndrome [J]. Journal of Endocrinological Investigation, 2017, 40(1): 1-8
- [29] SHIN JJ, PARK KE, CHOI YM, et al. Early gonadotropin-releasing hormone antagonist protocol in women with polycystic ovary syndrome: a preliminary randomized trial[J]. Clin Exp Reproductive Med, 2018, 45(3): 135-142
- [30] VITEK W, HOEGER K, LEGRORS. Treatment strategies for infertile women with polycystic ovary syndrome[J]. Minerva Ginecologica, 2016, 68(4): 450-457
- [31] 郭琴, 骆婕, 荆永萍. 屈螺酮炔雌醇(II)对多囊卵巢综合征模型大鼠卵巢功能的影响及其机制研究 [J]. 中华生物医学工程杂志, 2020, 26(4): 314-318
- [32] 周道成, 赵恒侠, 陈叶. 基于 miRNA 介导 PI3K/AKT 通路防治 PCOS 卵巢局部胰岛素抵抗的中西医研究进展[J]. 现代中西医结合杂志, 2016, 25(29): 3300-3303
- [33] Liu Y, Zuo H, Wang Y, et al. Ethanol promotes apoptosis in rat ovarian granulosa cells via the Bcl-2 family dependent intrinsic apoptotic pathway [J]. Cellular and molecular biology (Noisy-le-Grand, France), 2018, 64(1): e118
- [34] Wang J, Wu D, Guo H, et al. Hyperandrogenemia and insulin resistance: The chief culprit of polycystic ovary syndrome [J]. Life Sciences, 2019, 236: e116940
- [35] Abuelezz NZ, Shabana ME, Abdel-Mageed HM, et al. Nanocurcumin alleviates insulin resistance and pancreatic deficits in polycystic ovary syndrome rats: Insights on PI3K/Akt/mTOR and TNF- α modulations [J]. Life Sciences, 2020, 256: e118003