



玉竹提取物对大鼠多囊卵巢综合症的疗效研究*

车玄^{1,2)**} 郑标^{1)**} 成迪¹⁾ 谢远杰¹⁾ 曾昭明³⁾ 莫中成^{1,4)***}

⁽¹⁾ 桂林医学院基础医学院组织学与胚胎学教研室, 广西糖尿病系统医学重点实验室, 桂林 541199;

⁽²⁾ 南华大学衡阳医学院组织学与胚胎学教研室, 衡阳 421001; ⁽³⁾ 湖南明舜制药有限公司, 邵东 422800;

⁽⁴⁾ 广西基础医学协同创新研究生联合培养基地(桂林医学院&岳阳市妇幼保健院), 岳阳 414000)

摘要 **目的** 观察玉竹提取物(POD)对多囊卵巢综合征(PCOS)模型大鼠卵巢功能及炎症的影响。**方法** 本研究选择3周龄雌性SD大鼠, 采用来曲唑进行灌胃21 d复制PCOS模型, 造模成功后, 采用不同浓度POD对PCOS模型大鼠进行灌胃处理。记录大鼠每日饮水及摄食量、体重变化情况及时情周期, 检测血液相关指标、测定血清睾酮水平, 检测大鼠糖耐量, 采用苏木素-伊红(HE)染色观察卵巢组织形态学变化, 通过蛋白质免疫印迹法(WB)、实时荧光定量反转录聚合酶链反应(qRT-PCR)及免疫组织化学法(IHC)检测卵巢组织内抗苗勒激素(AMH)、炎症细胞因子白介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)的表达。**结果** 与对照组相比, PCOS模型大鼠动情周期紊乱、卵巢呈多囊肿样改变, 血清睾酮水平显著上升、卵巢AMH表达上调、糖耐量异常($P<0.01$), IL-1 β 和TNF- α 表达增加($P<0.01$); 不同浓度POD处理PCOS模型大鼠后, 大鼠动情周期逐渐恢复正常、卵巢中黄体数量增加、囊性卵泡数量减少、血清睾酮水平下调、糖耐量异常缓解($P<0.01$), 卵巢组织炎症细胞因子IL-1 β 、TNF- α 表达下调。**结论** POD可以改善PCOS模型大鼠卵巢功能并且抑制炎症反应, 对模型大鼠的PCOS有一定的治疗效果。

关键词 玉竹提取物, 多囊卵巢综合征, 卵巢功能, 炎症

中图分类号 R711.75

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0445

多囊卵巢综合征(PCOS)是育龄妇女常见的内分泌代谢综合征, 全球发病率约为8%~13%, 主要临床症状包括高雄激素血症(hyperandrogenism, HA)、少排卵或无排卵以及卵巢多囊肿样改变。PCOS确切病因和发病机制尚不清楚, 目前普遍观点认为是受遗传、代谢和内分泌异常等多种因素共同作用。研究发现, 随着PCOS病程的发展, 患者代谢、血管、生殖等功能会持续受到影响, 进而导致肿瘤产生、情绪障碍等负面影响, 严重影响PCOS患者生理和心理健康^[1-2]。

有研究证实, 炎症反应是PCOS发生发展中重要的病理生理变化之一, 并且在PCOS患者血液中, 淋巴细胞、单核细胞和嗜酸性粒细胞数量显著升高的同时, 炎症细胞因子如C反应蛋白、肿瘤坏

死因子 α (TNF- α)、白介素(IL)-6及IL-1 β 水平也显著升高, PCOS患者卵巢中巨噬细胞数量明显增加, 并且存在着大量炎症细胞浸润, 提示炎症反应与PCOS患者卵巢功能异常密切相关^[3-5]。此外, 单核细胞TNF- α 的产生可能会加剧PCOS代谢和激素水平异常^[6]。在干预因素存在的情况下, TNF- α 、IL-1 β 的水平可以反映颗粒细胞炎症状况^[7]。因此, 研发抑制卵巢炎症水平、改善PCOS患者生活质量

* 横向科研合作项目(2021GLHX01), 广西自然科学基金(2020GXNSFAA238008)和桂林医学院博士科研启动基金(20501019066)资助。

** 并列第一作者。

*** 通讯联系人。

Tel: 0773-3680835, E-mail: zhchmo@hotmail.com

收稿日期: 2022-09-18, 接受日期: 2022-11-17

的药物具有重要意义。

玉竹是百合科多年生草本植物, 广泛分布于中国和欧亚大陆, 玉竹气微、味甘, 具有生津润肺、养阴、润燥、补肾的功效, 作用缓和、不滋腻敛邪^[8]; 此外, 植物化学研究表明, 玉竹作为一种天然药物在抗炎、抗氧化、降血糖、抗肿瘤、调节免疫等方面也发挥着作用^[9-10]。从中医学整体观来讲, PCOS的病位主要在肾、脾、肝, 肾虚痰淤是PCOS最常见的证型。中医治疗PCOS大多以补肾为基础, 具有补肾功效的玉竹可能对预防或治疗PCOS有益^[11]。本课题复制PCOS大鼠模型, 以玉竹提取物(POD)进行干预, 采用免疫组织化学法(IHC)、实时荧光定量反转录聚合酶链反应(qRT-PCR)、蛋白质免疫印迹法(WB)等实验方法, 观察POD对PCOS模型大鼠卵巢功能以及炎症状态的具体影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物及药物

实验鼠为无特定病原体(specific pathogen free, SPF)级SD大鼠(合格证号: 430726210100357456), 由长沙市天勤生物技术有限公司提供。动物实验得到桂林医学院实验动物伦理委员会的批准, 审查编号GLMC-IACUC-2020019。

来曲唑配制: 将来曲唑药片研磨成粉末后, 溶于1%羧甲基纤维素钠, 配制成0.5 g/L来曲唑工作液, 现配现用, 工作浓度为1 mg/kg。

POD配制: 将干燥的POD粉剂(由湖南明舜制药有限公司提供), 参考相关文献^[12]以及本课题组前期预实验结果, 溶于大鼠饮用水中, 配制成200 g/L POD工作液, 现配现用, 工作剂量分别为1、2、3 g/kg。

1.2 动物模型

取3周龄雌性SD大鼠, 常规饲料适应性喂养1周, 提供充足的食物和水, 自由饮食, 保持动物房温度为(22±3)℃, 湿度为(55±5)%, 给予12 h光照(6:00 am~18:00 pm)和12 h黑暗(18:00 pm~6:00 am)。

实验分组包括对照组、模型组(Model)、

POD处理组(1、2、3 g/kg)。对照组大鼠正常饮食; 模型组大鼠在28日龄时给予来曲唑灌胃处理, 每日1次, 持续21 d, 观察PCOS模型是否造模成功; POD处理组大鼠在模型组处理的基础上, 分别采用浓度为1、2、3 g/kg POD溶液进行灌胃处理, 每日1次, 持续21 d。

1.3 制作阴道涂片

生理盐水润湿消毒棉签, 插入大鼠阴道内1.5 cm左右, 在阴道内轻轻转动后取出, 将棉签上的细胞均匀涂抹载玻片上并做好标记。待涂片干燥后, 滴加美兰均匀覆盖, 固定10 min后用清水冲掉美兰, 镜下观察拍照。

1.4 糖耐量测试

大鼠禁食12 h后, 尾静脉取血, 使用血糖仪测量血糖值并记录, 为大鼠空腹血糖。大鼠腹腔注射葡萄糖(100 g/L), 工作剂量为2 g/kg。于注射后15、30、60、90、120 min进行尾静脉取血, 使用血糖仪测得血糖值并记录。

1.5 血清睾酮检测及卵巢取材

对大鼠进行腹腔注射2%戊巴比妥钠溶液进行麻醉处理, 工作剂量为0.02 ml/kg; 待大鼠麻醉后, 下腔静脉取血, 室温静置2 h, 4℃, 2 000 r/min, 离心10 min, 取上层淡黄色清亮液体, -80℃低温保存待测。应用自动电化学发光仪检测血清睾酮水平。

充分暴露大鼠腹腔器官, 摘取双侧卵巢, 剥离干净后, 使用生理盐水冲洗并拍照、称重; 将左侧卵巢和肝脏放置-80℃低温保存, 右侧卵巢置于4%多聚甲醛固定。

1.6 苏木素-伊红(HE)染色以及免疫组织化学法

卵巢固定后, 进行石蜡包埋; 在石蜡切片机进行切片, 标记备用; 将组织切片进行苏木素-伊红(HE)染色(北京Solarbio公司), 中性树脂(北京Solarbio公司)进行封片, 使用倒置显微镜(日本奥林巴斯公司)进行观察、拍照保存。

取石蜡切片, 进行脱蜡和水化; 进行抗原修复, 滴加内源性过氧化物酶阻断剂进行阻断内源性过氧化物酶; 一抗4℃孵育过夜; PBST清洗, 反应增强液室温孵育20 min; PBST清洗, 二抗室温

孵育 20 min; PBST 清洗, DAB 显色液, 室温孵育 5~8 min; 反蓝、透明、中性树脂进行封片, 置于倒置显微镜进行观察、拍照保存。

1.7 蛋白质印迹法 (WB)

提取卵巢组织蛋白质, 采用 BCA 蛋白浓度检测试剂盒 (北京康为世纪生物科技有限公司) 测定浓度; 进行 SDS-PAGE 电泳, 依次进行转膜 (湿转, 200 mA, 1 h); 室温封闭 2 h (5% 脱脂奶粉); 一抗 4℃ 孵育过夜 (抗体储存液稀释比列 1 : 1 000); PBST 洗膜, 二抗室温孵育 1 h (抗体储存液稀释比列 1 : 5 000); PBST 洗膜, 显影并保存数据。采用 Image J 软件进行条带灰度值分析, 重复检测 3 次。

1.8 实时荧光定量反转录聚合酶链反应 (qRT-PCR)

TRIzol 法提取卵巢组织 RNA, 使用超微量核酸蛋白浓度分析仪测定浓度和纯度; 使用逆转录试剂盒 (FastKing 一步法 cDNA 合成试剂盒, KR118-02) 合成 cDNA 单链, 置于 -20℃ 保存备用; 根据引物序列 (表 1) 设计引物, 以 GAPDH 作为内参, 采取最佳反应体系进行 qPT-PCR (SYBR-Green 定量 PCR 试剂盒, FP201-02) 扩增反应; 使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算靶基因的 mRNA 表达, 结果显示为标准化 GAPDH 的相对量。

Table 1 Primer sequences

Gene name	Primer
IL-1 β	Forward: CCCTTGTCGAGAATGGGCAG
	Reverse: GACCAGAATGTGCCACGGTT
TNF- α	Forward: AGCACGGAAAGCATGATCCG
	Reverse: ACCGATCACCCGAAGTTCA
GAPDH	Forward: GTCCATGCCATCACTGCCACTC
	Reverse: CGCCTGCTTACCACCTTCTTG

1.9 统计学分析

本实验所有数据均采用 Prism8 软件分析, 所有数据均采用均数 $\pm$ 标准差, 组间比较采取 *t* 检验或单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 表示数据差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 POD对PCOS模型大鼠体重、卵巢体重指数以及动情周期的影响

隔周记录各组大鼠体重情况, 比较体重增长幅度。与模型组相比, POD 处理组体重增长幅度略有降低。记录实验结束前大鼠体重, 结果发现 POD 处理组的体重明显低于模型组 ($P < 0.01$, 图 1a, b)。此外, 分析各组大鼠卵巢体重指数发现, 与模型组比较, POD 处理大鼠的卵巢体重指数降低 (图 1c), 提示 POD 可改善 PCOS 模型大鼠卵巢的功能。

SD 大鼠动情周期一般为 4~5 d^[13], 动情前期 (proestrus) 以膨大, 椭圆形的有核上皮细胞为主 (红色箭头), 动情期 (estrus) 几乎都是不规则的无核角化细胞 (黑色箭头), 动情后期 (metestrus) 有核上皮、角化细胞和白细胞 (绿色箭头) 数量相当; 间期 (diestrus) 则以白细胞为主 (图 1d)。为明确 POD 对 PCOS 模型大鼠动情周期的影响, 连续 14 d 监测各组大鼠动情周期的变化, 依据各阶段阴道细胞形态学变化, 绘制动情周期折线图。分析发现: 与对照组比较, 模型组大鼠动情周期消失, 以间期为主; 而 POD 处理组大鼠的动情周期逐渐恢复, 部分出现了完整的动情周期, 提示 POD 可以改善 PCOS 模型大鼠动情周期紊乱 (图 1e)。

2.2 POD对PCOS模型大鼠血清睾酮、葡萄糖耐量的影响

HA 作为 PCOS 患者最显著的临床指标之一, 雄激素在颗粒细胞功能和卵泡发育过程中扮演着十分重要的角色^[14]。本研究检测各组大鼠血清中睾酮的含量, 发现 POD 处理后 PCOS 模型大鼠血清睾酮水平明显降低 ($P < 0.01$, 图 2a)。

检测各组大鼠葡萄糖耐量情况, 以大鼠血糖变化曲线下面积衡量大鼠糖耐量水平。结果表明, 与对照组相比, 模型组曲线下面积明显增多, 提示大鼠糖耐量异常。经过 POD 处理后, PCOS 模型大鼠曲线下面积减少, 提示糖耐量异常得到改善 (图 2b~d)。

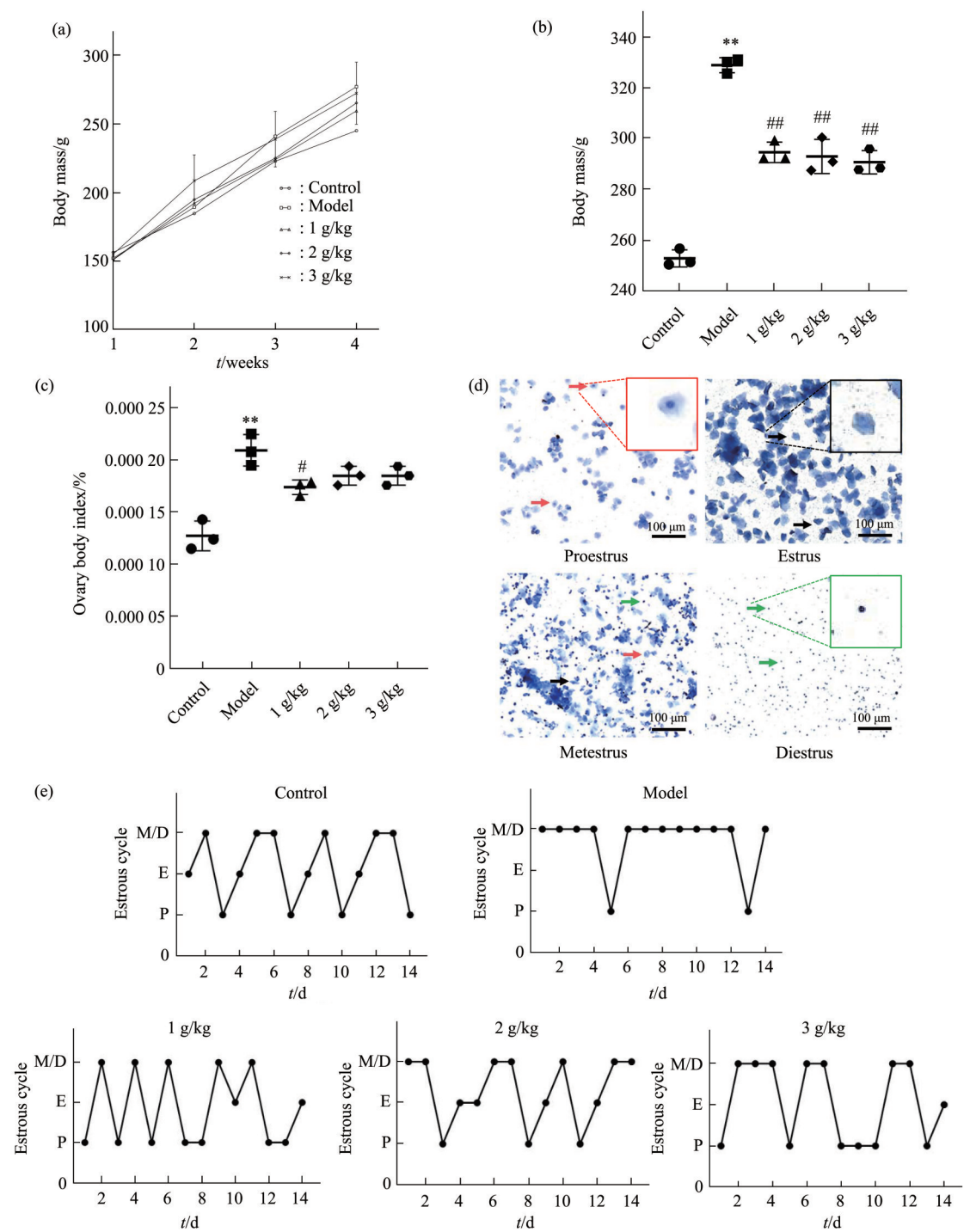


Fig. 1 Effects of POD on body mass, ovarian body index and estrous cycle of PCOS rats

(a) Changes in body mass gain during model replication; (b) the difference in body mass gain before and after replication; (c) ovary body index (ratio of ovaries to body mass); (d) typical estrous cycles; (e) changes of estrous cycle of rats in each group were detected by vaginal images for 14 consecutive days (P: Proestrus, E: Estrus, M: Metestrus, D: Diestrus.). ** $P < 0.01$ vs Control, # $P < 0.05$ vs Model, ## $P < 0.01$ vs Model. $n = 3$.

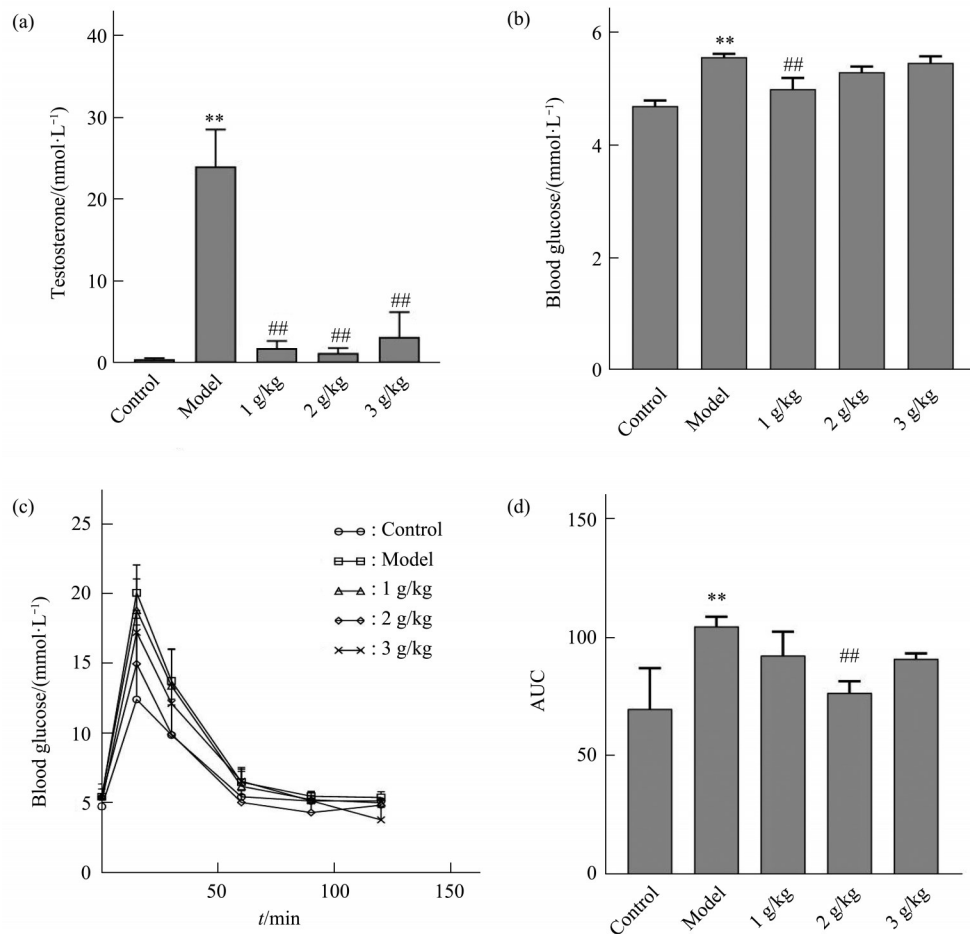


Fig. 2 Effects of POD on serum testosterone, blood lipids and glucose tolerance in PCOS rats

(a) Serum testosterone level in rats; (b) fasting blood glucose level of rats; (c) glucose tolerance test was used to detect blood glucose level of rats in each group; (d) area under the curve of glucose tolerance test. ** $P < 0.01$ vs Control, ## $P < 0.01$ vs Model. $n = 3$.

2.3 POD对PCOS模型大鼠卵巢组织形态以及抗苗勒激素 (AMH) 表达的影响

通过比较各组大鼠卵巢大体形态发现: 模型组大鼠卵巢的体积明显大于对照组; 与模型组比较, POD处理组大鼠的卵巢体积无明显变化 (图3a)。但是, 卵巢切片HE染色结果显示, POD处理后, PCOS模型大鼠卵巢中黄体数量明显增加, 囊性卵泡数量减少, 表明POD可以改善PCOS模型大鼠卵巢的多囊样变以及排卵异常 (图3b~d)。

PCOS患者中抗苗勒激素 (AMH) 水平与患者窦状卵泡数目成正比, 是卵巢储备功能最可靠的评价指标之一^[15-16]。检测卵巢中AMH的表达, 发现POD处理可以显著下调PCOS模型大鼠卵巢组织中

AMH的表达 (图3e, f), 提示POD可以改善PCOS模型大鼠的卵巢储备功能。

2.4 POD对PCOS模型大鼠卵巢炎症的影响

检测大鼠卵巢炎症细胞因子IL-1 β 和TNF- α 的水平 (图4a~e)。结果表明, 与对照组相比, 模型组大鼠卵巢组织中IL-1 β 和TNF- α 表达明显上调, 但在POD处理之后, PCOS模型大鼠卵巢组织中IL-1 β 、TNF- α 表达明显下调。

IHC检测大鼠卵巢组织IL-1 β (图4f, g) 和TNF- α (图4h, i) 的水平, 结果与WB、qRT-PCR结果一致, 提示POD处理可以减轻PCOS模型大鼠卵巢中的局部炎症反应。

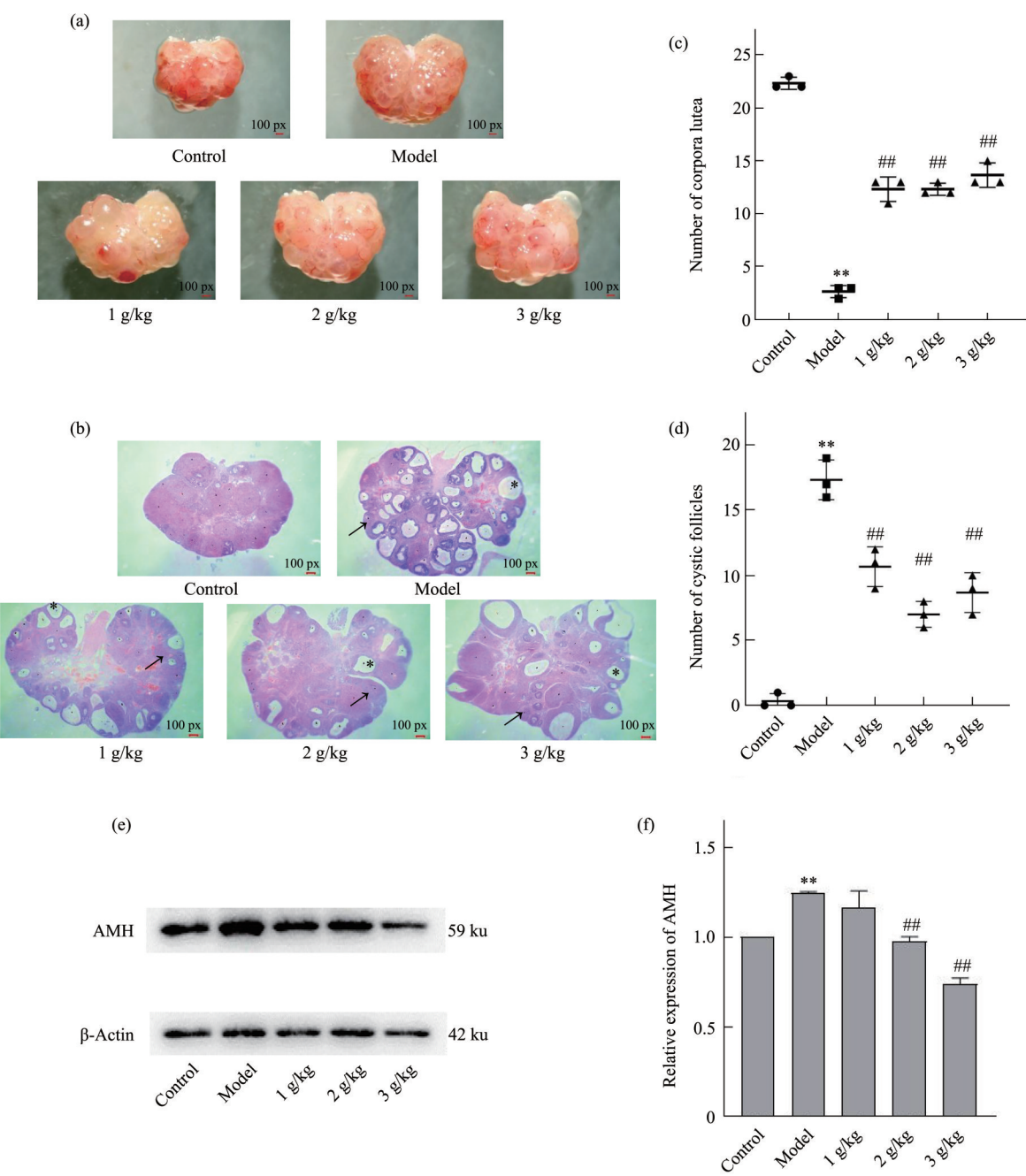


Fig. 3 Effects of POD on ovarian morphology and expression of AMH in PCOS rats

(a) Ovarian morphology in rats; (b) ovarian HE staining, *: cystic follicles, arrowhead: corpus luteum. (c) number of corpus luteum; (d) number of cystic follicles; (e) Western blot assays of AMH in ovarian tissues, with β -actin served as a loading control; (f) the relative expression of AMH. ** P < 0.01 vs Control, ## P <0.01 vs Model. n =3.

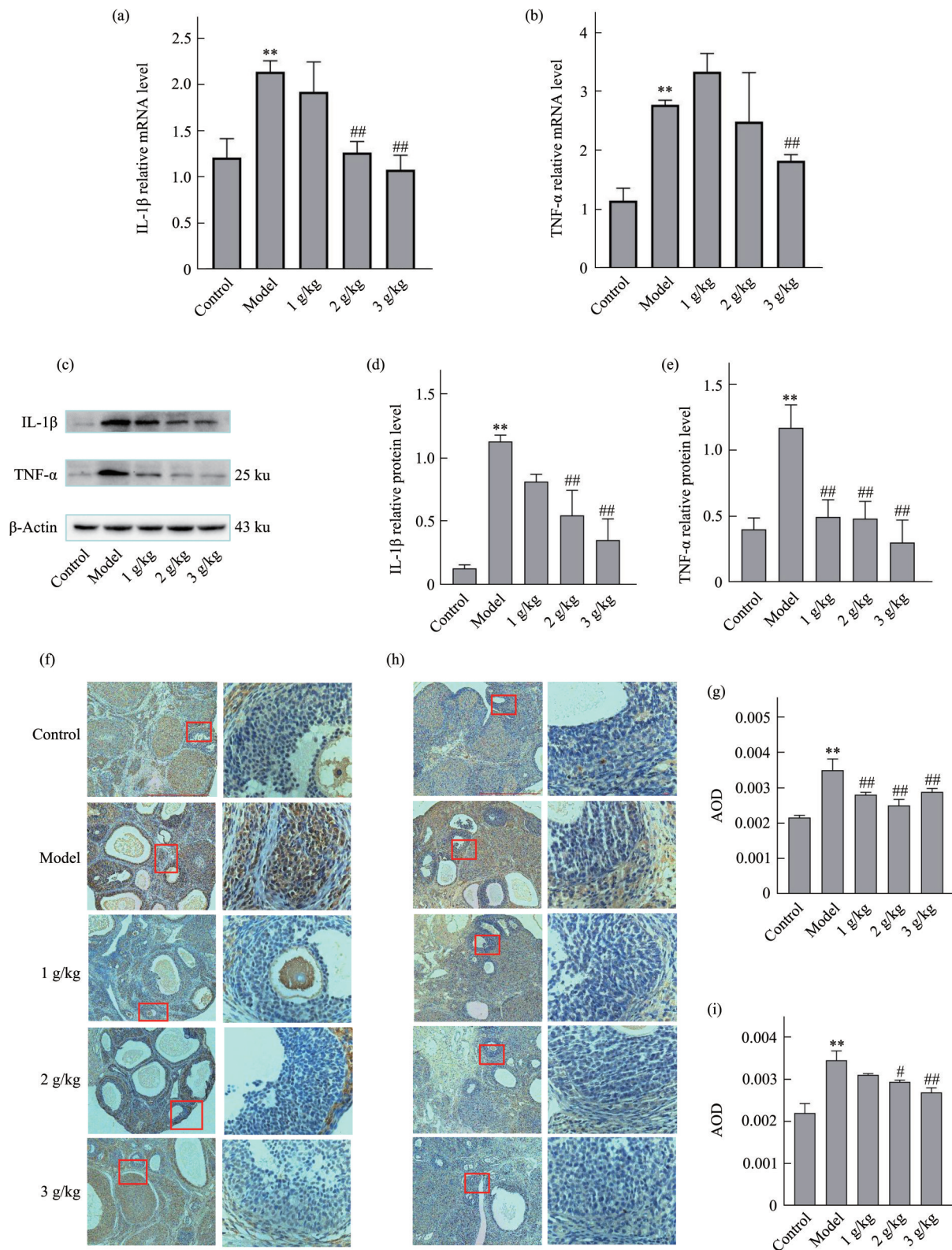


Fig. 4 Effect of POD on ovarian inflammation in PCOS rats

(a) qRT-PCR assays of IL-1β mRNA level in ovaries; (b) qRT-PCR assays of TNF-α mRNA level in ovaries; (c) Western blot assays of IL-1β and TNF-α in ovarian tissues, with β-actin served as a loading control; (d) the relative expression of IL-1β; (e) the relative expression of TNF-α; (f, g) immunohistochemistry assays of IL-1β in ovarian tissues; AOD: average optical density. (h, i) immunohistochemistry assays of TNF-α in ovarian tissues. Left figures in (f) and (h) are 4×, right figures in (f) and (h) are 40×. ** $P < 0.01$ vs Control, # $P < 0.05$ vs Model, ### $P < 0.01$ vs Model. $n = 3$.

3 讨 论

PCOS是卵巢排卵功能障碍主要原因之一,患者临床症状主要表现在HA、因卵泡生长停止和多囊卵巢改变引起少排卵或无排卵,此外,PCOS患者常表现为不孕症、多毛症、痤疮等症状^[17-19]。患者患肥胖症、代谢功能障碍、血管功能障碍、恶性肿瘤^[20]、生殖并发症和情绪障碍的风险增加^[21],严重影响患者生活质量。针对PCOS患者,目前临床治疗主要以饮食、运动及二甲双胍、胰高血糖素样肽(GLP-1)受体激动剂等方法来改善PCOS患者情绪健康及卵巢功能^[22-23]。但上述临床治疗方式只是针对PCOS患者相关症状进行治疗,具有一定的时效性。因此,在对PCOS的临床治疗及研究过程中迫切需要副作用小、效果显著的治疗方式。

中药作为中国传统的治疗方式之一,在许多疾病治疗过程中发挥着调节代谢、提高免疫功能、改善心血管功能、抗炎消炎等作用。文献记载,玉竹作为传统的中草药和食用植物,其化学成分丰富,在食品保健及药用存在着巨大的使用价值。文献表明,玉竹多糖在免疫和抗菌活性方面以及高血糖和高甘油三酯血症预防中发挥着重要的作用^[24-26]。在本研究中发现,POD可以降低PCOS模型大鼠的卵巢体重指数。并且,连续14 d的阴道脱落细胞形态学结果表明,与对照组相比,PCOS模型组大鼠动情周期紊乱明显,而POD处理之后,PCOS模型组大鼠可依然存在着完整的动情周期。以上结果提示,POD在代谢性疾病PCOS中发挥着积极作用。

雄激素水平升高作为PCOS的重要现象^[27],可促进PCOS患者卵巢炎症发生、卵泡排卵异常等。本研究结果提示,经POD处理的PCOS模型大鼠中血清睾酮显著降低,表明POD可以改善PCOS模型大鼠的HA。PCOS作为一种内分泌代谢性疾病^[28],同时也伴随着胰岛素抵抗^[29]。糖耐量受损是PCOS常见的代谢异常现象之一,糖尿病也是PCOS常见的并发症,提示胰岛功能损伤可能与PCOS的发生密切相关^[30]。本研究结果显示,PCOS模型大鼠出现了糖耐量异常,但POD处理后显著改善了PCOS模型大鼠糖耐量异常。虽然本课题实验未测量大鼠胰岛素水平,但糖耐量试验结果也一定程度上反映机体胰岛功能受损情况。

PCOS患者卵巢内黄体计数减少以及囊性卵泡计数增加,并且患者体内雌激素水平、月经周期及其他卵巢功能受到影响。本研究结果表明,POD

可以增加PCOS模型大鼠卵巢内黄体数量并大幅度减少囊性卵泡的数量,提示POD可以改善PCOS模型大鼠卵巢相关功能的异常。AMH水平较高作为PCOS卵泡发育障碍的标志^[31],在PCOS患者体内血清中的水平较正常女性高100%~200%^[19]。本研究结果表明,在POD作用下PCOS大鼠模型中AMH表达显著下调,提示POD对PCOS模型大鼠卵泡发育障碍具有改善作用。

在卵巢功能紊乱评价中,炎症标志物水平评估是必不可少的。TNF- α 、IL-1 β 是可以由巨噬细胞、卵巢组织内皮细胞等部位产生的多效性信号分子,在PCOS发生发展中发挥着重要的作用^[32]。研究表明,TNF- α 参与调节卵巢发育、排卵、血管生成、癌变等过程并发挥作用直接影响着PCOS的发生发展^[33-34]。为探究PCOS模型大鼠卵巢组织内的炎症反应水平,本研究检测了PCOS模型大鼠中IL-1 β 和TNF- α 的表达。结果显示,与对照组相比,模型组IL-1 β 和TNF- α 表达显著增加。而POD处理之后,PCOS模型大鼠卵巢内TNF- α 、IL-1 β 表达显著下调。提示POD可以抑制PCOS模型大鼠中卵巢炎性细胞因子的表达。此外,有研究表明,炎性细胞因子TNF- α 可以影响胰岛素信号传导,通过相关通路刺激相关细胞产生更多炎性细胞因子^[35]。结合糖耐量结果,提示POD可能对胰岛素发挥作用产生影响,且该种影响很可能与其显著的抗炎功效相关,但具体的联系仍不清楚。

综上所述,在本课题研究了药食两用的POD对来曲唑复制的PCOS模型大鼠的影响。结果表明,POD可以有效抑制PCOS模型大鼠的卵巢炎症,降低血清睾酮水平,改善卵巢功能,影响PCOS的发生发展,提示POD在PCOS模型大鼠病情转归中发挥着重要的作用。该研究结论的发现,可以为天然药物预防PCOS的产生和治疗提供新的基础理论及研究方向。但是,本实验选用的POD粉剂为初步提取阶段提取物,未经过相关程序进行深层加工,在本课题中发挥作用的具体成分不够明确,因此,在本课题组接下来的研究中,将继续对玉竹影响PCOS的具体作用成分及作用机制进行探究。

4 结 论

本研究探究了不同浓度POD在PCOS模型大鼠中的作用,研究结果提示POD在PCOS发生发展中发挥着积极作用。POD可以改善来曲唑诱导的

PCOS大鼠模型中卵巢功能状态,抑制PCOS卵巢炎症反应。为PCOS患者治疗提供新的理论基础和治疗策略。

参 考 文 献

- [1] Azziz R. Polycystic ovary syndrome. *Obstet Gynecol*, 2018, **132**(2):321-336
- [2] Kaur I, Suri V, Rana S V, *et al.* Treatment pathways traversed by polycystic ovary syndrome (PCOS) patients: a mixed-method study. *PLoS One*, 2021, **16**(8): e255830
- [3] Rudnicka E, Suchta K, Grymowicz M, *et al.* Chronic low grade inflammation in pathogenesis of PCOS. *Int J Mol Sci*, 2021, **22**(7): 3789
- [4] Zhai Y, Pang Y. Systemic and ovarian inflammation in women with polycystic ovary syndrome. *J Reprod Immunol*, 2022, **151**: 103628
- [5] Dokras A, Stener-Victorin E, Yildiz B O, *et al.* Androgen excess-polycystic ovary syndrome society: position statement on depression, anxiety, quality of life, and eating disorders in polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*, 2018, **109**(5): 888-899
- [6] Armanini D, Boscaro M, Bordin L, *et al.* Controversies in the pathogenesis, diagnosis and treatment of PCOS: focus on insulin resistance, inflammation, and hyperandrogenism. *Int J Mol Sci*, 2022, **23**(8): 4110
- [7] Yuan B, Luo S, Feng L, *et al.* Resveratrol regulates the inflammation and oxidative stress of granulosa cells in PCOS via targeting TLR2. *J Bioenerg Biomembr*, 2022, **54**(4): 191-201
- [8] Yau T T, Ng N Y, Cheung L P, *et al.* Polycystic ovary syndrome: a common reproductive syndrome with long-term metabolic consequences. *Hong Kong Med J*, 2017, **23**(6): 622-634
- [9] Kakoly N S, Khomami M B, Joham A E, *et al.* Ethnicity, obesity and the prevalence of impaired glucose tolerance and type 2 diabetes in PCOS: a systematic review and meta-regression. *Hum Reprod Update*, 2018, **24**(4): 455-467
- [10] Szczuko M, Sankowska P, Zapalowska-Chwyc M, *et al.* Studies on the quality nutrition in women with polycystic ovary syndrome (PCOS). *Rocz Panstw Zakl Hig*, 2017, **68**(1): 61-67
- [11] Xue Z, Li J, Feng J, *et al.* Research progress on the mechanism between polycystic ovary syndrome and abnormal endometrium. *Front Physiol*, 2021, **12**: 788772
- [12] 王晓彤,林海雄,郭爱琳,等.玉竹及其多糖对2型糖尿病大鼠血糖血脂及坐骨神经 NGF mRNA 表达的影响. *中华中医药学刊*, 2017, **35**(5): 1177-1180,1351
Wang X T, LIN H X, Guo A L, *et al.* Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2017, **35**(5): 1177-1180,1351
- [13] Zhang S, Tu H, Yao J, *et al.* Combined use of Diane-35 and metformin improves the ovulation in the PCOS rat model possibly via regulating glycolysis pathway. *Reprod Biol Endocrinol*, 2020, **18**(1): 58
- [14] Zeng X, Xie Y J, Liu Y T, *et al.* Polycystic ovary syndrome: correlation between hyperandrogenism, insulin resistance and obesity. *Clin Chim Acta*, 2020, **502**: 214-221
- [15] 林初希,祝悦,王慧燕.血清抗缪勒管激素在多囊卵巢综合征诊断中的应用价值. *中国卫生检验杂志*, 2022, **32**(16): 2027-2031
Lin C X, Zhu Y, Wang H Y. *Chin J Health Lab Tec*, 2022, **32**(16): 2027-2031
- [16] Moolhuijsen L, Visser J A. Anti-mullerian hormone and ovarian reserve: update on assessing ovarian function. *J Clin Endocrinol Metab*, 2020, **105**(11): 3361-3373
- [17] Liao B, Qiao J, Pang Y. Central regulation of PCOS: abnormal neuronal-reproductive-metabolic circuits in PCOS pathophysiology. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2021, **12**: 667422
- [18] Kandasamy V, Balasundaram U. *Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb. as a promising source of pharmacological compounds to treat polycystic ovary syndrome (PCOS): a review. *J Ethnopharmacol*, 2021, **279**: 114375
- [19] Hoeger K M, Dokras A, Piltonen T. Update on PCOS: consequences, challenges, and guiding treatment. *J Clin Endocrinol Metab*, 2021, **106**(3): e1071-e1083
- [20] Barry J A, Azizia M M, Hardiman P J. Risk of endometrial, ovarian and breast cancer in women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*, 2014, **20**(5): 748-758
- [21] Che X, Chen Z, Liu M, *et al.* Dietary interventions: a promising treatment for polycystic ovary syndrome. *Ann Nutr Metab*, 2021, **77**(6): 313-323
- [22] Ortiz-Flores A E, Luque-Ramirez M, Escobar-Morreale H F. Pharmacotherapeutic management of comorbid polycystic ovary syndrome and diabetes. *Expert Opin Pharmacother*, 2018, **19**(17): 1915-1926
- [23] Sharpe A, Morley L C, Tang T, *et al.* Metformin for ovulation induction (excluding gonadotrophins) in women with polycystic ovary syndrome. *Cochrane Database Syst Rev*, 2019, **12**: D13505
- [24] 王乐乐,姜丽蕊,柴金萱,等.玉竹的化学成分与药理活性综述. *齐齐哈尔医学院学报*, 2021, **42**(17): 1522-1528
Wang L L, Jiang L R, Chai J X, *et al.* *Journal of Qiqihar Medical University*, 2021, **42**(17): 1522-1528
- [25] 霍达.水溶性玉竹多糖的分离纯化、结构表征、硫酸化修饰及活性研究[D].广州:华南理工大学, 2020
Huo D. Purification, Structure Characterization, Sulfated Modification and Activities of Water-soluble Polysaccharides from *Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2020
- [26] 柳婷.基于甜味受体的玉竹多糖降血糖作用机理研究[D].南昌:江西中医药大学, 2022
Liu T. Research on the Hypoglycemic Mechanism of *Polygonatum Odoratum* Polysaccharide based on the Sweet Taste Receptors[D]. Nanchang: Jiangxi University of Chinese Medicine, 2020
- [27] Ye W, Xie T, Song Y, *et al.* The role of androgen and its related signals in PCOS. *J Cell Mol Med*, 2021, **25**(4): 1825-1837
- [28] Abraham G S, Divakar P Y, Valsala G A. Association of metabolic and inflammatory markers with polycystic ovarian syndrome (PCOS): an update. *Arch Gynecol Obstet*, 2021, **303**(3): 631-643

- [29] Lee B C, Lee J. Cellular and molecular players in adipose tissue inflammation in the development of obesity-induced insulin resistance. *Biochim Biophys Acta*, 2014, **1842**(3): 446-462
- [30] Kakoly N S, Khomami M B, Joham A E, *et al.* Ethnicity, obesity and the prevalence of impaired glucose tolerance and type 2 diabetes in PCOS: a systematic review and meta-regression. *Hum Reprod Update*, 2018, **24**(4): 455-467
- [31] Rudnicka E, Kunicki M, Calik-Ksepka A, *et al.* Anti-mullerian hormone in pathogenesis, diagnostic and treatment of PCOS. *Int J Mol Sci*, 2021, **22**(22): 12507
- [32] Abraham G S, Divakar P Y, Valsala G A. Association of metabolic and inflammatory markers with polycystic ovarian syndrome (PCOS): an update. *Arch Gynecol Obstet*, 2021, **303**(3): 631-643
- [33] Zhai Y, Pang Y. Systemic and ovarian inflammation in women with polycystic ovary syndrome. *J Reprod Immunol*, 2022, **151**: 103628
- [34] Rashid N, Nigam A, Saxena P, *et al.* Association of IL-1beta, IL-1Ra and FABP1 gene polymorphisms with the metabolic features of polycystic ovary syndrome. *Inflamm Res*, 2017, **66**(7): 621-636
- [35] Solinas G, Becattini B. JNK at the crossroad of obesity, insulin resistance, and cell stress response. *Mol Metab*, 2017, **6**(2): 174-184

Therapeutic Efficacy of Extract From *Polygonatum odoratum* Druce on Polycystic Ovary Syndrome in Rats*

CHE Xuan^{1,2)**}, ZHENG Biao^{1)**}, CHENG Di¹⁾, XIE Yuan-Jie¹⁾, ZENG Zhao-Ming³⁾,
MO Zhong-Cheng^{1,4)***}

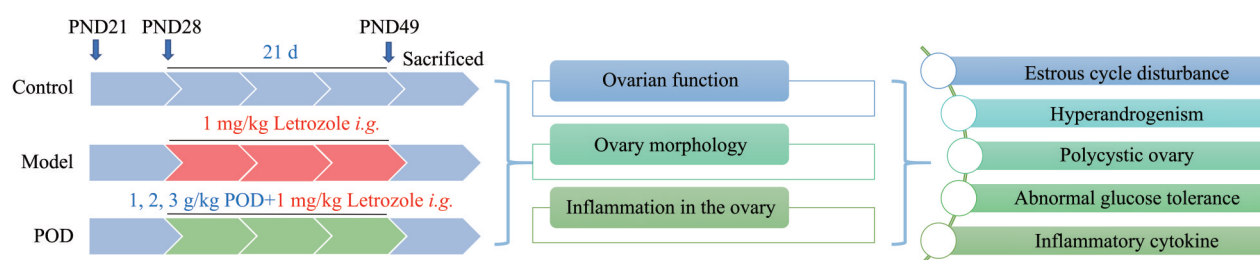
¹⁾Department of Histology and Embryology, Guangxi Key Laboratory of Diabetic Systems Medicine, Institute of Basic Medical Sciences, Guilin Medical University, Guilin 541199, China;

²⁾Department of Histology and Embryology, Hengyang Medical School, University of South China, Hengyang 421001, China;

³⁾Hunan Mingshun Pharmaceutical Co, Ltd, Shaodong 422800, China;

⁴⁾Guangxi Province Postgraduate Co-training Base for Cooperative Innovation in Basic Medicine (Guilin Medical University & Yueyang Maternal and Child Health-care Hospital), Yueyang 414000, China)

Graphical abstract



Abstract Objective To investigate the effects of *Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce extract (POD) on ovarian function and inflammation of rats with polycystic ovary syndrome (PCOS). **Methods** Three-week-old female SD rats were used in this study. PCOS model was established by gavage of letrozole for 21 d. Then PCOS model rats were treated with different concentrations of POD by gavage. The changes of water and food intake, body mass and estrous cycle were recorded, blood related indicators were detected, serum testosterone level was measured, glucose tolerance was detected, and the morphological changes of ovarian tissue were observed by HE staining. Western blot (WB), fluorescent quantitative real-time reverse transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR) and immunohistochemistry were used to detect the expression of anti-Mullerian hormone (AMH), inflammatory cytokines interleukin-1 β (IL-1 β) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in ovarian tissues. **Results** Compared with the control group, the PCOS model rats had disordered estrous cycle, polycystic ovarian changes, significantly increased serum testosterone level, up-regulated ovarian AMH expression, and impaired glucose tolerance ($P<0.01$). The expression of IL-1 β and TNF- α was increased ($P<0.01$). After the PCOS model rats were treated with different concentrations of POD, the estrous cycle gradually returned to normal, the number of corpus luteum in the ovary increased, the number of cystic follicles decreased, the serum testosterone level decreased, and the impaired glucose tolerance was alleviated ($P<0.01$). The expression of inflammatory cytokines IL-1 β and TNF- α in ovarian tissue was down-regulated. **Conclusion** POD can improve the ovarian function of PCOS model rats and inhibit inflammatory response, and has a certain therapeutic effect on PCOS model rats.

Key words *Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce, polycystic ovary syndrome, ovarian function, inflammation

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0445

* This work was supported by grants from Horizontal Co-operation Project (2021GLHX01), the Guangxi Natural Science Foundation (2020GXNSFAA238008), and the Scientific Research Foundation for PhD of Guilin Medical University (20501019066).

** These authors contributed equally to this work.

*** Corresponding author.

Tel: 86-773-3680835, E-mail: zhchmo@hotmail.com

Received: September 18, 2022 Accepted: November 17, 2022