

亚麻籽油对多囊卵巢综合征大鼠胰岛素抵抗和氧化应激的保护作用

汪婷¹, 张晓霞², 李一唯¹, 岳江东¹, 田红艳³, 翁欣³, 刘萍⁴, 董幼平⁴, 王浩¹

(1. 宁夏医科大学基础医学院, 宁夏银川 750004) (2. 宁夏医科大学中医学学院, 宁夏银川 750004)

(3. 宁夏医科大学临床医学院, 宁夏银川 750004) (4. 宁夏医科大学总医院内分泌科, 宁夏银川 750004)

摘要: 本文研究了富含 α -亚麻酸 (ALA) 的亚麻籽油 (FO) 对多囊卵巢综合征 (PCOS) 大鼠胰岛素抵抗和氧化应激水平的影响。采用来曲唑造模法建立 PCOS 大鼠模型, 建模成功后, FO 对照组和 FO 干预模型组灌胃 FO 8 W; 阴性对照组和模型组灌胃等量生理盐水。干预结束后, 检测各组大鼠血液中性激素、血脂、胰岛素抵抗与氧化应激指标含量。结果显示, 膳食 FO 干预后雄激素 (T)、胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、空腹胰岛素 (FINS)、胰岛素抵抗指数 (HOMA-IR) 和丙二醛 (MDA) 水平较模型组显著降低至 3.26 nmol/mL、1.78 mmol/mL、1.45 mmol/mL、5.37 mIU/L、1.22 和 5.33 nmol/mL ($p < 0.05$); 雌二醇 (E2) 和抗氧化指标总抗氧化能力 (T-AOC)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 和总超氧化物歧化酶 (T-SOD) 升高至 26.54 pmol/mL、5.11 U/mL、372.10 酶活力单位和 80.29 U/mL ($p < 0.05$)。本研究表明膳食 FO 能够改善 PCOS 大鼠的胰岛素抵抗和氧化应激状态。

关键词: 多囊卵巢综合征; 亚麻籽油; α -亚麻酸; 氧化应激; 胰岛素抵抗

文章编号: 1673-9078(2020)07-17-24

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.7.1283

Protective Effects of α -linolenic acid Riched Flaxseed Oil on Suppressing Insulin Resistance and Oxidative Stress in Rats with Polycystic Ovary Syndrome

WANG Ting¹, ZHANG Xiao-xia², LI Yi-wei¹, YUE Jiang-dong¹, TIAN Hong-yan³, WENG Xin³, LIU Ping⁴, DONG You-ping⁴, WANG Hao¹

(1. School of Basic Medical Sciences, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China)

(2. College of Traditional Chinese Medicine, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China)

(3. Clinical Medical College, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China)

(4. Endocrine Department, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China)

Abstract: In this study, the effects of flaxseed oil (FO) rich in α -linolenic acid (ALA) on insulin resistance and oxidative stress level in polycystic ovary syndrome (PCOS) rats were investigated. The PCOS rat model was established by the letrozole modeling method. After successful modeling, the FO control group and the FO intervention model group were administered with FO by gavage for 8 W, while the negative control group and the model group were fed the same amount of normal saline. After the intervention, the contents of sex hormones, blood lipids, as well as the contents of insulin resistance and oxidative stress indicators of the different groups of rats were detected. The results

引文格式:

汪婷, 张晓霞, 李一唯, 等. 亚麻籽油对多囊卵巢综合征大鼠胰岛素抵抗和氧化应激的保护作用[J]. 现代食品科技, 2020, 36(7): 17-24

WANG Ting, ZHANG Xiao-xia, LI Yi-wei, et al. Protective effects of α -linolenic acid riched flaxseed oil on suppressing insulin resistance and oxidative stress in rats with polycystic ovary syndrome [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(7): 17-24

收稿日期: 2019-12-28

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81602713); 国家重点研发计划项目 (2016YFD0400605); 宁夏“十三五”重大科技项目 (2016BZ02); 宁夏高等学校一流学科建设 (宁夏医科大学西部一流建设学科基础医学) 资助项目 (NXYLKX2017B07)

作者简介: 汪婷 (1995-), 女, 在读硕士研究生, 初级检验师, 研究方向: 免疫相关疾病基础与临床研究

通讯作者: 王浩 (1982-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 免疫相关疾病基础与临床研究

showed that after the dietary FO intervention, the levels of androgen (T), cholesterol (TC), triglyceride (TG), fasting insulin (FINS), insulin resistance index (HOMA-IR) and malondialdehyde (MDA) decreased to 3.26 nmol/mL, 1.78 mmol/mL, 1.45 mmol/mL, 5.37 mIU/L, 1.22 and 5.33 nmol/mL, respectively, compared with model group, whilst the levels of estradiol (E2), and antioxidant indices total antioxidant capacity (T-AOC), glutathione peroxidase (GSH-Px) and total superoxide dismutase (T-SOD), increased to 26.54 pmol/mL, 5.11 U/mL, 372.10 enzyme activity unit and 80.29 U/mL, respectively, compared with the model group ($p < 0.05$). This study showed that dietary FO ameliorates insulin resistance and oxidative stress in PCOS rats.

Key words: polycystic ovary syndrome (PCOS); flaxseed oil (FO); α -linolenic acid (ALA); oxidative stress; Insulin resistance

多囊卵巢综合征 (Polycystic ovary syndrome, PCOS) 是女性常见的与生殖和代谢紊乱有关的内分泌疾病,也是导致育龄期妇女不孕不育的重要原因,全球发病率为 4%~21%^[1]。患者主要表现为高雄激素血症,月经稀发,无排卵和卵巢多囊样改变,部分患者还伴有胰岛素抵抗和血脂异常,严重影响女性的身心健康和生活方式^[2,3]。如果 PCOS 未得到及时纠正,还会增加患 2 型糖尿病 (Type 2 diabetes mellitus, T2DM)、心血管疾病、代谢综合征、子宫内膜癌等疾病的风险^[4,5]。PCOS 临床表现多样化,病因复杂化,发病机制尚不清楚^[6]。因此,迫切需要新的思路和方案防治 PCOS。

大量研究表明高雄激素血症、胰岛素抵抗和血脂异常与 PCOS 的发生发展密切相关^[7,8]。氧化应激能够抑制卵泡发育、卵母细胞成熟及排出,提示氧化应激损伤可能是影响 PCOS 的发病机制之一^[9]。对于 PCOS 患者,临床推荐治疗方法是调整生活方式、减肥以及饮食干预^[10]。亚麻籽油 (Flaxseed oil, FO) 作为 Omega-3 多不饱和脂肪酸 (Polyunsaturated fatty acids, PUFAs) 主要的植物来源,具有降血压、降血脂、抗炎、改善脂质过氧化等多种生物学作用^[11]。最近几十年的研究发现, Omega-3 系 PUFAs 中的 α -亚麻酸 (α -linolenic acid, ALA) 是一种生命核心物质,其进入人体后在脱氢酶和碳链延长酶的催化下,可以转化成二十二碳六烯酸 (Docosahexenoic acid, DHA) 和二十碳五烯酸 (Eicosapentaenoic acid, EPA)。本团队前期研究发现膳食 FO 中 PUFAs 含量高达 77.51%~92.39%,其中 ALA 含量高达 53%~65%^[12]。动物实验研究表明,富含 ALA 的 FO 能够有效改善糖尿病肾病 (Diabetic nephropathy, DN) 和代谢综合征大鼠的炎症和氧化应激水平^[13,14],尤其适合素食主义者。但富含 ALA 的 FO 对 PCOS 胰岛素抵抗与氧化应激的作用尚不清楚。

因此,本研究采用经典的来曲唑造模法建立 PCOS 大鼠模型,给予 FO 灌胃干预,探讨其对 PCOS 大鼠胰岛素抵抗和氧化应激的作用,为临床 PCOS 的治疗提供新的思路和理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 主要仪器设备

日立 7180 型全自动生化分析仪;赛默飞 (Multiskan GO) 全自动酶标仪。

1.1.2 试剂

胆固醇 (Total cholesterol, TC) 和甘油三酯 (Triglyceride, TG) 试剂盒,迈克生物;大鼠睾酮 (Testosterone, T)、雌二醇 (Estradiol, E2)、空腹血糖 (Fast plasma glucose, FPG) 和空腹胰岛素 (Fasting insulin, FINS) 酶联免疫分析 (Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒,上海江莱;丙二醛 (Malondialdehyde, MDA)、一氧化氮 (Nitric oxide, NO)、总抗氧化能力 (Total antioxidant activity, T-AOC)、谷胱甘肽过氧化物酶 (Glutathione peroxidase, GSH-Px) 和总超氧化物歧化酶 (Total superoxide dismutase, T-SOD) 的试剂盒,南京建成。

1.1.3 实验材料

来曲唑,江苏恒瑞;1%羧甲基纤维素 (Carboxymethyl cellulose, CMC) 溶液,上海源叶;FO (ALA 含量 > 56%),宁夏六盘珍坊;大鼠饲料,北京科澳;一次性负压真空采血管,山东君诺。

1.2 实验设计及模型建立

32 只 SPF 级雌性 SD 大鼠 (193±10 g) 购买于宁夏医科大学,许可证号: SCXK (宁) 2015-0001,饲养于宁夏医科大学实验动物中心,相关研究通过了宁夏医科大学伦理委员会的批准 (批准号: 2016-017)。大鼠适应性饲养 1 W 后,按体重随机分为 4 组 (8 只/组): 阴性对照组、FO 对照组、模型组和 FO 干预模型组 (表 1)。参照文献报道,采用来曲唑造模法建立 PCOS 大鼠模型^[15]。首先,模型组和 FO 干预模型组灌胃摄入来曲唑 1 mg/(kg·d) (溶于 1% CMC 溶液),连续灌胃给药 21 d;阴性对照组和 FO 对照组灌胃等量 1% CMC 溶液。随后,FO 对照组和 FO 干预模型

组灌胃摄入 FO 1 mL/kg/d; 阴性对照组和模型组灌胃等量 0.9%生理盐水, 期间记录大鼠体重, 持续灌胃干预 8 W。末次灌胃后禁食 12 h, 称重并麻醉大鼠, 采用腹主动脉负压采血法取血约 5 mL, 乙二胺四乙酸二

钾 (Ethylenediamine tetraacetate dipotassium salt, EDTA-K2) 抗凝管和促凝管各 2.5 mL, 1500 g/min 离心 10 min, 分别收集血浆和血清, 用于各项指标检测。

表 1 PCOS 大鼠模型建立方法及干预

Table 1 Modeling methods of PCOS and intervention in rats

组别	3 W (造模)	8 W (干预)
阴性对照组	1% CMC [1 mL/(kg·d)]	0.9%生理盐水[1 mL/(kg·d)]
FO 对照组	1% CMC [1 mL/(kg·d)]	亚麻籽油[1 mL/(kg·d)]
模型组	来曲唑[1 mg/(kg·d)]	0.9%生理盐水[1 mL/(kg·d)]
FO 干预模型组	来曲唑[1 mg/(kg·d)]	亚麻籽油[1 mL/(kg·d)]

1.3 测定指标及方法

1.3.1 卵巢组织病理学观察

实验结束后, 卵巢组织用 4%多聚甲醛固定, 经酒精梯度脱水、二甲苯透明后嵌入石蜡。苏木素-伊红 (Hematoxylin-eosin, HE) 染色卵巢切片, 在光学显微镜下观察各组大鼠卵巢组织形态的变化。

1.3.2 光比色法检测血清血脂指标 TC 和 TG 水平

采用日立 7180 型全自动生化仪测定大鼠血清 TC 和 TG 的变化。

1.3.3 ELISA 法检测血浆性激素指标 T 和 E2 水平

按照 ELISA 试剂盒说明书的操作步骤, 检测大鼠血浆 T 和 E2 的含量。

1.3.4 ELISA 法检测血浆胰岛素抵抗指标 FPG 和 FINS 水平

按照 ELISA 试剂盒说明书的操作步骤, 检测大鼠血浆 FPG 和 FINS 的含量, 根据公式 $FPG (mmol/L) \times FINS (mIU/L) / 22.5$ 计算胰岛素抵抗指数 (Homeostasis model assessment of insulin resistance, HOMA-IR)。

1.3.5 检测血清氧化应激相关指标 MDA、NO、T-AOC、GSH-Px 和 T-SOD 水平

按照南京建成生物工程研究所试剂盒说明书的要求, 检测大鼠血清中氧化应激指标。采用硫代巴比妥酸法 (Thiobarbituric acid, TBA)、硝酸还原酶法、 Fe^{3+} 还原法、二硫代硝基苯甲酸缩合法和黄嘌呤氧化酶法分别检测血清中 MDA、NO、T-AOC、GSH-Px 和 T-SOD 的含量。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 21.0 和 GraphPad Prism 6.01 软件处理实验数据。实验数据以均数±标准差 ($\bar{x} \pm SD$) 表示,

多组间差异比较采用单因素方差分析 (One way analysis of variance, ANOVA), 两两比较采用 SNK-q 检验法; 各指标之间的相关性采用 Pearson 相关分析。以 $p < 0.05$ 认为差异有统计学意义, $p < 0.01$ 认为差异有显著统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 卵巢病理组织形态学

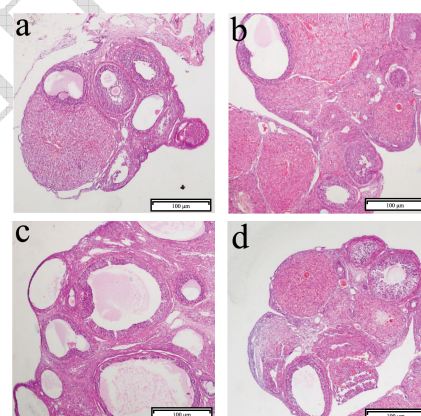


图 1 光镜下大鼠卵巢组织切片图 (HE×40)

Fig.1 Tissue section of rats ovarian under light microscope

注: a: 阴性对照组; b: FO 对照组; c: 模型组; d: FO 干预模型组。

本研究参考来曲唑造模法建立 PCOS 大鼠模型。来曲唑属于新一代芳香化酶抑制剂, 通过抑制 T 向 E2 转化的限速酶-芳香化酶的活性, 导致体内雄激素增高, 从而引起高雄激素血症^[15,16]。该药物诱导的 PCOS 大鼠模型卵巢组织明显增大; 出现较多闭锁卵泡, 颗粒细胞层变薄, 黄体数量减少; T 显著增高, E2 显著降低; HOMA-IR 明显增高, 很大程度上具备了临床 PCOS 患者的病理生理学特点^[17]。

图 1 是各组大鼠卵巢组织 HE 染色后的光镜图片: 阴性对照组卵巢组织体积正常, 可见黄体和各期卵泡, 卵巢颗粒层次多且胞质丰富 (图 1a); FO 对照组卵巢

与阴性对照组相似,可见多个黄体 and 胞质丰富的卵巢颗粒层(图 1b);模型组卵巢组织有较多闭锁卵泡,囊泡扩张明显增加,颗粒细胞层减少,黄体数量明显下降(图 1c)。PCOS 模型组的病理改变与以往研究造模结果相符^[15],说明来曲唑诱导的 PCOS 大鼠模型是成功的。FO 干预 8 W 后,卵巢组织较模型组有明显改善,表现为囊性卵泡减少、黄体个数增加和颗粒细胞层增厚(图 1d),说明富含 ALA 的 FO 对 PCOS 大鼠的卵巢损伤有一定改善作用。以往有研究表明,同样为亚麻酸(Linolenic acid, LA)的 EPA 通过胆固醇调节元件结合蛋白 1 (Sterol-regulatory element binding

proteins 1, SREBP1) /Toll 样受体 4 (Toll-like receptor, TLR4) 途径改善了 PCOS 大鼠的卵巢病理损伤^[18]。据此推测富含 ALA 的 FO 可能在体内通过与 EPA、DHA 之间的相互转化,实现 Omega-3 系 PUFAs 对 PCOS 大鼠卵巢损伤的改善作用。相比于鱼油,植物来源的富含 ALA 的 FO 更适合素食主义者,并且价格相对低廉,具有独特的推广优势。

2.2 FO 对 PCOS 大鼠性激素和脂质代谢水平的影响

表 2 FO 对 PCOS 大鼠性激素和脂质代谢水平的影响

Table 2 Effects of FO on sex steroid hormones and lipid metabolism in PCOS rats

组别	阴性对照组	FO 对照组	模型组	FO 干预模型组
T/(nmol/mL)	2.82±0.64	3.17±0.36	4.76±0.65**	3.26±0.33##
E2/(pmol/L)	26.26±2.51	25.05±1.77	18.41±0.70**	26.54±3.53##
TC/(mmol/mL)	1.75±0.07	1.76±0.06	2.30±0.14**	1.78±0.28#
TG/(mmol/mL)	1.25±0.15	1.33±0.12	1.99±0.31**	1.45±0.21#

注: *: 与阴性对照组比较, $p < 0.05$; **: 与阴性对照组比较, $p < 0.01$; #: 与模型组比较, $p < 0.05$; ##: 与模型组比较, $p < 0.01$ 。

多囊卵巢综合征的核心病理生理特征之一是 T 升高引起的高雄激素血症,进一步抑制 E2 的产生,导致性激素紊乱^[7]。如表 2 所示,阴性对照组血浆 T 和 E2 水平分别为 2.82 和 26.26,模型组大鼠血浆 T 水平升高至 4.76 ($p < 0.01$),而 E2 水平则降低至 18.41 ($p < 0.01$),说明大鼠在来曲唑的诱导下出现了高雄激素血症和性激素紊乱。通过灌胃 FO 干预 8 W 后,大鼠血浆中 T 水平显著降低至 3.26 ($p < 0.01$),而 E2 水平升高至 26.54 ($p < 0.01$),说明膳食 FO 能够降低 PCOS 大鼠的 T 水平,进而促进 E2 的产生。该结果与以往的研究结果一致,研究发现 Omega-3 PUFAs 能够显著降低 PCOS 大鼠 T 和促黄体生成素(Luteinizing hormone, LH)的水平,从而缓解 PCOS 症状^[19]。

PCOS 是一种异质性疾病,患者还常常伴有血脂异常^[20]。TC 具有形成胆汁酸、构成生物膜和合成类固醇激素的作用,但 TC 摄入过多,会引起高胆固醇

血症;TG 为人类生命活动提供能量物质,其分解产物是人体细胞脂质成分中不可缺少的组成部分,但血液中 TG 含量过高会导致血液粘稠,引发高血压、动脉粥样硬化等疾病。阴性对照组血清 TC 和 TG 水平分别为 1.75 和 1.25,模型组较阴性对照组显著升高至 2.30 和 1.99,两组差异有统计学意义 ($p < 0.01$),说明 PCOS 大鼠出现了高脂血症。Meta 分析表明, Omega-3 PUFAs 能够降低 PCOS 患者的血清 TC 和 TG 水平,增加脂联素水平^[21]。本研究发现 FO 干预 8 W 后,血清 TC 和 TG 水平显著降低至 1.78 和 1.45,差异有统计学意义 ($p < 0.05$)。说明膳食 FO 能够降低 PCOS 大鼠的血脂水平,其机制可能是富含 ALA 的 FO 通过抑制内源性胆固醇的合成以及增加胆固醇排泄从而达到很好地降低血清 TC 的效果^[22]。

2.3 FO 对 PCOS 大鼠胰岛素抵抗的影响

表 3 FO 对 PCOS 大鼠胰岛素抵抗的影响

Table 3 Effects of FO on insulin resistance in PCOS rats

组别	阴性对照组	FO 对照组	模型组	FO 干预模型组
FPG (mmol/L)	4.98±0.30	4.85±0.47	6.48±0.82*	5.08±0.61
FINS (mIU/L)	4.98±0.51	5.92±0.40	7.17±1.21*	5.37±0.61#
HOMA-IR	1.11±0.18	1.28±0.11	2.11±0.33**	1.22±0.26##

注: *: 与阴性对照组比较, $p < 0.05$; **: 与阴性对照组比较, $p < 0.01$; #: 与模型组比较, $p < 0.05$; ##: 与模型组比较, $p < 0.01$ 。

胰岛素抵抗和代偿性高胰岛素血症是 PCOS 的主要代谢紊乱表现。当外周组织对胰岛素的敏感性降低,对糖代谢的调节作用减弱,机体会代偿性的分泌过多

胰岛素形成高胰岛素血症,以维持血糖的稳定^[7]。HOMA-IR 常用于评价机体的胰岛素抵抗水平。表 3 结果显示,阴性对照组血浆 FPG、FINS 和 HOMA-IR

水平分别为 4.98、4.98 和 1.11，模型组较阴性对照组显著升高至 6.48、7.17 和 2.11，差异有统计学意义 ($p < 0.05$)。HOMA-IR > 2 说明模型组大鼠出现了胰岛素抵抗，胰岛素代偿性增加，与 PCOS 患者症状接近^[23]。临床研究发现 Omega-3 PUFAs 和维生素 E 共同补充 12 W 能够显著降低 PCOS 妇女的 FPG 和 HOMA-IR^[24]。与上述临床研究结果类似，膳食 FO 干预后的 FINS 和 HOMA-IR 水平显著降低至 5.37 和 1.22，差异有统计学意义 ($p < 0.05$)；而 FPG 水平有下降趋势，但无显著性差异 ($p > 0.05$)。上述结果表明，FO 饮食干预 PCOS 能够改善胰岛素抵抗和代偿性高胰岛素血症，但是对血糖的影响有限，具体机制需要后续研究进一步探讨。

2.4 FO 对 PCOS 大鼠氧化指标的影响

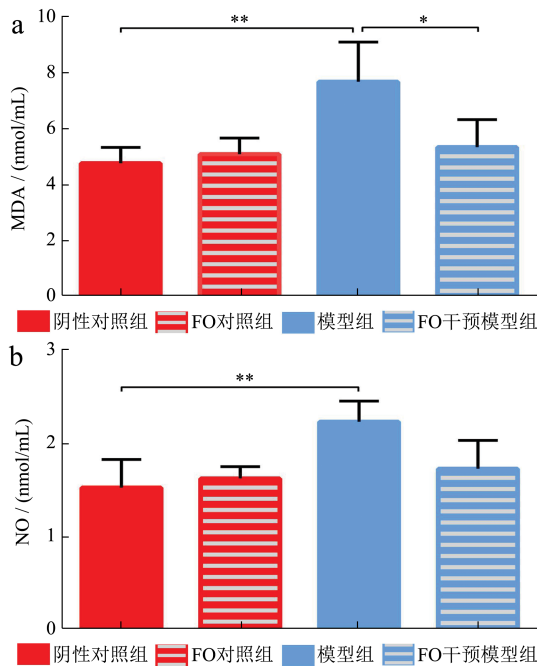


图 2 各组大鼠的氧化应激水平

Fig.2 Oxidative stress level of rats in diverse groups

注: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ 。

氧化应激是指体内氧化与抗氧化作用失衡，抗氧化状态降低，ROS 产生增加，从而破坏细胞膜脂质，促进 MDA 形成所导致的脂质过氧化^[25]。MDA 是 ROS 生成脂质过氧化的终末产物，可加速生物膜损伤，其含量能间接反映膜系统受损程度和细胞受自由基攻击的程度，被认为是评估氧化应激的良好标记物^[26]。如图 2a 所示，与阴性对照组血清 MDA 4.75 nmol/mL 相比，模型组血清 MDA 7.67 nmol/mL 显著升高 ($p < 0.01$)；而膳食 FO 干预 8 W 后血清 MDA 5.33 nmol/mL 较模型组显著下降 ($p < 0.05$)。该研究结果表明，膳食 FO 能够改善大鼠 PCOS 的氧化应激水平，

与以往临床结果一致。临床研究发现，PCOS 患者服用 Omega-3 PUFAs 12 W 后，超敏 C 反应蛋白 (Hypersensitive C-reactive protein, hs-CRP) 和 MDA 显著降低^[27,28]。这种 FO 的氧化应激改善作用可能涉及减少线粒体 ROS 的产生和改善抗氧化防御系统，相关机制需要进一步研究阐明。

NO 是一种重要的细胞信号分子，参与多种生理和病理过程，但过量 NO 与其它自由基结合会形成毒性更强的自由基复合物，造成氧化损伤^[29]。如图 2b 所示，阴性对照组血清 NO 为 1.52 nmol/mL，模型组 NO 显著升高至 2.23 nmol/mL，差异有统计学意义 ($p < 0.01$)；膳食 FO 干预 8 W 后 NO 较模型组有所下降至 1.72 nmol/mL，但差异无统计学意义 ($p > 0.05$)，提示膳食 FO 对于 PCOS 异常的 NO 水平仅能产生有限的作用。

2.5 FO 对 PCOS 大鼠抗氧化酶的影响

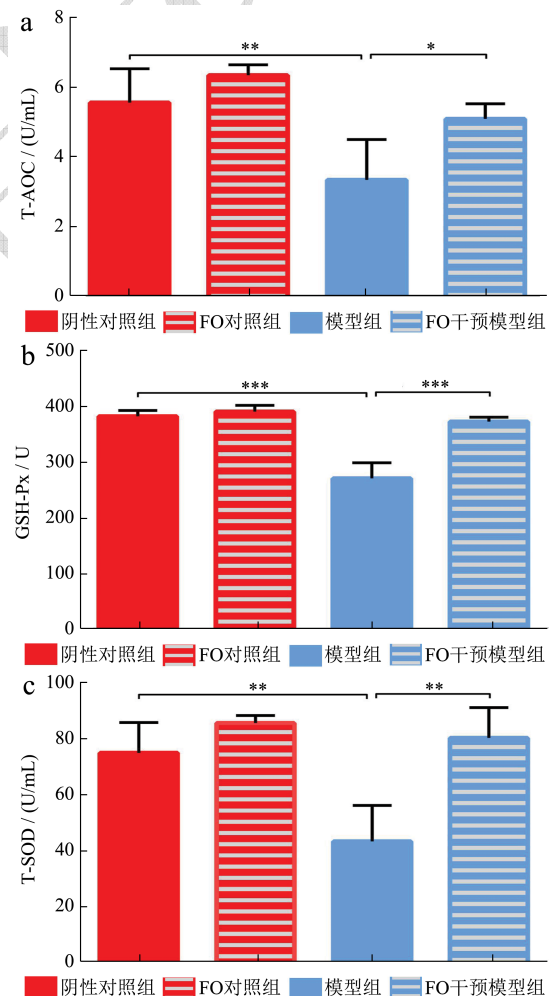


图 3 各组大鼠的抗氧化酶水平

Fig.3 Antioxidant enzyme level of rats in diverse groups

注: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ 。

T-AOC 是衡量机体抗氧化酶系统和非酶促系统

功能状况的综合性指标,可反映机体对外来刺激的代偿能力以及机体自由基代谢的状态^[30]。如图 3a 所示,与阴性对照组血清 T-AOC 5.58 U/mL 相比,模型组 T-AOC 含量显著降低至 3.36 U/mL,差异有统计学意义 ($p<0.01$);膳食 FO 干预 8 W 后 T-AOC 水平较之模型组显著增加至 5.11 U/mL,差异有统计学意义 ($p<0.05$),与以往动物实验结论一致。大鼠研究表明,摄入 Omega-3 PUFAs 能够提高 T-AOC 和 GSH 水平进而缓解腺嘌呤诱发的慢性肾功能衰竭^[31]。

GSH-Px 是机体内广泛存在的一种重要的过氧化物分解酶,通过将脂质过氧化氢还原为相应的醇,并将 H_2O_2 还原为水来保护机体免受氧化损伤^[32]。本研究结果显示,与阴性对照组血清 GSH-Px 为 381.80 U 相比,模型组 GSH-Px 水平显著降低至 270.70 U,差异有统计学意义 ($p<0.001$);而给予膳食 FO 干预 8 W 后,能够显著升高血清 GSH-Px 水平 (372.10 ± 8.12),差异有统计学意义 ($p<0.001$)。

此外, T-SOD 作为生物体内另外一个重要的抗氧化酶,是生物体内清除自由基的首要物质,可对抗和阻断因氧自由基对细胞造成的损害,并及时修复受损细胞,减轻自由基造成的细胞损伤^[26]。本研究分析发现,阴性对照组血清 T-SOD 含量为 74.95 U/mL,而较模型组 T-SOD 43.37 U/mL 显著降低,差异有统计学意义 ($p<0.01$);膳食 FO 干预后 T-SOD 显著升高至 80.29 U/mL,差异有统计学意义 ($p<0.01$)。结合上述结果表明,膳食 FO 能够显著改善 PCOS 的氧化与抗氧化之间的失衡。以往研究亦发现 FO 和亚麻木酚素 (Secoisolariciresinol diglucoside, SDG) 对代谢综合征大鼠的 SOD 和 GSH-Px 水平具有显著改善作用,与本部分的结果相一致^[33]。

2.6 相关性分析

以往研究表明 PCOS 是一种慢性代谢性疾病,是由多种因素包括激素、脂质代谢、胰岛素抵抗、氧化应激等共同作用导致的,这些因素之间密切相关^[34]。胰岛素抵抗可导致高血糖,触发单个核细胞释放活性氧物种,从而诱导 PCOS 的氧化应激状态;氧化应激又能通过损害胰岛素信号转导,加重代偿性高胰岛素血症^[34]。研究证实 ROS 的产生与睾酮和雄烯二酮直接相关,ROS 诱导发生氧化应激,并引发 PCOS 患者高雄激素血症。可能的机制是氧化应激状态能够提高卵巢类固醇合成酶的活性,刺激卵巢产生雄激素,同时卵巢组织中的卵泡膜细胞也可产生过量雄激素和胰岛素受体,进一步导致高雄激素血症的发生^[34]。通过相关性分析发现,氧化指标 MDA 水平与 T($r=0.6548$)、

TC ($r=0.6738$)、FPG ($r=0.8772$) 及 HOMA-IR ($r=0.7455$) 呈显著正相关 ($p<0.05$),而与 E2 ($r=-0.6724$) 呈显著负相关 ($p<0.05$);而 NO 则与 T ($r=0.6973$)、TC ($r=0.7742$)、TG ($r=0.666$)、FINS ($r=0.7175$)、HOMA-IR ($r=0.6758$) 呈显著正相关 ($p<0.05$)。该部分相关性分析表明,PCOS 的氧化水平上升与血脂异常、胰岛素抵抗和性激素紊乱密切相关,共同促进疾病的发生发展,而膳食 FO 对于 PCOS 的改善作用体现在同时纠正了这些异常指标。

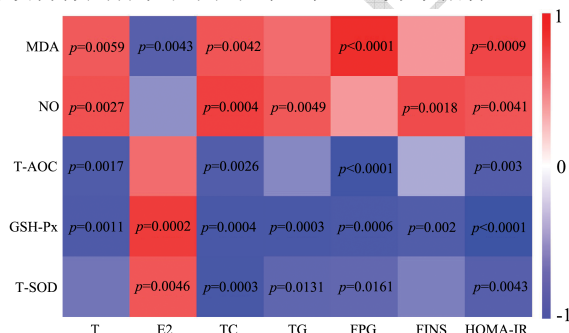


图4 氧化应激指标与雄激素、脂质代谢、胰岛素抵抗指标的相关性分析

Fig.4 Correlation analysis of oxidative stress index with sex steroid hormones, lipid metabolism and insulin resistance

注: $r=1$ 表示完全正相关; $r=-1$ 表示完全负相关, $r=0$ 表明不存在线性相关。在 $p<0.05$ 的基础上,当 r 的绝对值 ≥ 0.6 时,认为两变量之间存在较强的线性相关性 ($p>0.05$ 或 r 的绝对值 < 0.6 的数据无意义未给出)。

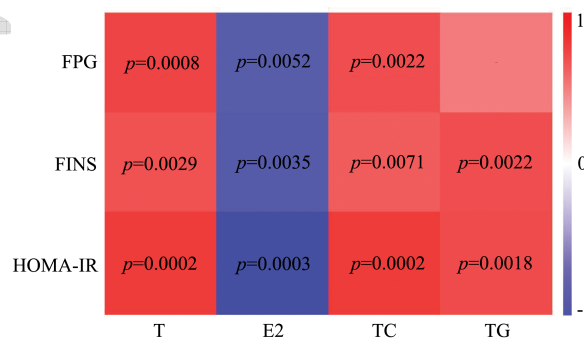


图5 胰岛素抵抗指标与激素、脂质代谢的相关性分析

Fig.5 Correlation analysis of insulin resistance with sex steroid hormones and lipid metabolism

注: $r=1$ 表示完全正相关; $r=-1$ 表示完全负相关, $r=0$ 表明不存在线性相关。在 $p<0.05$ 的基础上,当 r 的绝对值 ≥ 0.6 时,认为两变量之间存在较强的线性相关性 ($p>0.05$ 或 r 的绝对值 < 0.6 的数据无意义未给出)。

抗氧化指标 T-AOC 与 T ($r=-0.7181$)、TC ($r=-0.6993$)、FPG ($r=-0.8503$)、HOMA-IR ($r=-0.6915$) 呈显著负相关 ($p<0.05$); GSH-Px 与 T ($r=-0.739$)、TC ($r=-0.7998$)、TG ($r=-0.7767$)、FPG ($r=-0.7828$)、FINS ($r=-0.7118$)、HOMA-IR ($r=-0.9129$) 呈显著负

相关 ($p < 0.05$), 与E2 ($r = 0.7998$) 呈显著正相关 ($p < 0.05$); T-SOD与TC($r = -0.7912$)、TG ($r = -0.6049$)、FPG ($r = -0.6001$)、HOMA-IR ($r = -0.6732$) 呈显著负相关 ($p < 0.05$), 与E2 ($r = 0.6695$) 呈显著正相关 ($p < 0.05$)。上述相关性分析结果表明, 机体抗氧化水平的增强与血脂异常、胰岛素抵抗和性激素紊乱的显著改善密切相关, 解释了PCOS氧化应激状态中的氧化与抗氧化之间的失衡; 而膳食FO可能通过增强抗氧化能力改善PCOS相关血脂、胰岛素和性激素水平, 进而改善PCOS疾病^[34]。

此外, 胰岛素抵抗与血脂、性激素水平密切相关。血清TG的升高, 会导致脂质的堆积, 代谢过程中会生成大量的中间产物如甘油二酯(Diacylglycerol, DG)。DG的大量生成会直接抑制胰岛素受体底物-1 (Insulin receptor substrate-1, IRS-1) 的酪氨酸磷酸, 影响胰岛素信号分子的正常传递, 造成胰岛素信号转导功能障碍, 导致胰岛素抵抗^[23]。而且, 高胰岛素血症通过下丘脑-垂体-卵巢轴直接作用于卵泡细胞膜, 刺激雄性激素分泌; 胰岛素增高还能促进类固醇生成, 进一步导致高雄激素血症, 加重PCOS^[35]。如图5所示, FPG与T ($r = 0.7508$) 和TC ($r = 0.7077$) 呈显著正相关, 与E2 ($r = -0.6623$) 呈显著负相关; FINS与T ($r = 0.6932$)、TC ($r = 0.6439$)、TG ($r = 0.7066$) 呈显著正相关, 与E2 ($r = -0.6839$) 呈显著负相关; HOMA-IR与T ($r = 0.7991$)、TC ($r = 0.7945$)、TG ($r = 0.7166$) 呈显著正相关, 与E2 ($r = -0.7865$) 呈显著负相关。该相关性分析结果与之前文献报道类似^[35], 说明胰岛素代谢紊乱与性激素紊乱和血脂异常互为因果, 共同促进PCOS的发生发展。

3 结论

PCOS是女性常见的与生殖和代谢紊乱有关的内分泌疾病, 患者常常伴随高雄激素血症、血脂异常、胰岛素抵抗和氧化应激。本研究证实富含ALA的FO能够减轻PCOS大鼠的卵巢损伤, 改善高雄激素血症、胰岛素抵抗、血脂异常和氧化应激水平; 通过相关性分析发现FO缓解的上述相关指标之间密切相关, 具体机制将进一步研究阐明。本研究为FO临床干预PCOS提供了新的实验依据与防治思路。

参考文献

[1] Nestler J E. Polycystic ovary syndrome [J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(14): 1398
[2] Artimani T, Karimi J, Mehdizadeh M, et al. Evaluation of pro-oxidant-antioxidant balance (PAB) and its association

with inflammatory cytokines in polycystic ovary syndrome (PCOS) [J]. *Gynecol Endocrinol*, 2018, 34(2): 148-152
[3] Walters K A, Gilchrist R B, Ledger W L, et al. New perspectives on the pathogenesis of PCOS: neuroendocrine origins [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2018, 29(12): 841-852
[4] Rodgers R J, Avery J C, Moore V M, et al. Complex diseases and co-morbidities: polycystic ovary syndrome and type 2 diabetes mellitus [J]. *Endocrine Connections*, 2019, 8(3): 71-75
[5] Grigoryan O R, Zhemaite N S, Volevodz N N, et al. Long-term consequences of polycystic ovary syndrome [J]. *Ter Arkh*, 2017, 89(10): 75-79
[6] Escobar-Morreale H F. Polycystic ovary syndrome: definition, aetiology, diagnosis and treatment [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2018, 14(5): 270-284
[7] Wang J, Wu D, Guo H, et al. Hyperandrogenemia and insulin resistance: the chief culprit of polycystic ovary syndrome [J]. *Life Sci*, 2019, 236: 116940
[8] Macut D, Bjekic-Macut J, Savic-Radojevic A. Dyslipidemia and oxidative stress in PCOS [J]. *Front Horm Res*, 2013, 40: 51-63
[9] Papalou O, Victor V M, Diamanti-Kandarakis E. Oxidative stress in polycystic ovary syndrome [J]. *Curr Pharm Des*, 2016, 22(18): 2709-2722
[10] Phelan N, O'Connor A, Kyaw T T, et al. Hormonal and metabolic effects of polyunsaturated fatty acids in young women with polycystic ovary syndrome: results from a cross-sectional analysis and a randomized, placebo-controlled, crossover trial [J]. *Am J Clin Nutr*, 2011, 93(3): 652-662
[11] Goyal A, Sharma V, Upadhyay N, et al. Flax and flaxseed oil: an ancient medicine [J]. *J Food Sci Technol*, 2014, 51(9): 1633-1653
[12] 张晓霞,尹培培,杨灵光,等.不同产地亚麻籽含油率及亚麻籽油脂脂肪酸组成的研究[J].*中国油脂*,2017,42(11):142-146
ZHANG Xiao-xia, YIN Pei-pei, YANG Ling-guang, et al. Study on oil content and fatty acid composition of flaxseed oil from different areas [J]. *China Fats and Oils*, 2017, 42(11): 142-146
[13] Pilar B, Gullich A, Oliveira P, et al. Protective role of flaxseed oil and flaxseed lignan secoisolariciresinol diglucoside against oxidative stress in rats with metabolic syndrome [J]. *J Food Sci*, 2017, 82(12): 3029-3036
[14] Jangale N M, Devarshi P P, Bansode S B, et al. Dietary flaxseed oil and fish oil ameliorates renal oxidative stress, protein glycation, and inflammation in streptozotocin

- nicotinamide induced diabetic rats [J]. *J Physiol Biochem*, 2016, 72(2): 327-336
- [15] Kafali H, Iriadam M, Ozardali I, et al. Letrozole-induced polycystic ovaries in the rat: a new model for cystic ovarian disease [J]. *Arch Med Res*, 2004, 35(2): 103-108
- [16] Shi D, Vine D F. Animal models of polycystic ovary syndrome: a focused review of rodent models in relationship to clinical phenotypes and cardiometabolic risk [J]. *Fertil Steril*, 2012, 98(1): 185-193
- [17] 闫晓丽,张志强,苗明三.基于中西医临床特征的多囊卵巢综合征模型分析[J].*中医学报*,2017,32(4):598-601
YAN Xiao-li, ZhANG Zhi-qiang, MIAO Ming-san. Analysis of polycystic ovary syndrome model based on clinical characteristics of traditional Chinese and western medicine [J]. *Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2017, 32(4): 598-601
- [18] Wang Y, He J, Yang J. Eicosapentaenoic acid improves polycystic ovary syndrome in rats *via* sterol regulatory element-binding protein 1 (SREBP-1)/toll-like receptor 4 (TLR4) pathway [J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 2091-2097
- [19] Komal F, Mahr-Un-Nisa, Khan M K, et al. Evaluation of the efficacy of different sources of omega-3 fatty acids in polycystic ovarian syndrome (PCOS) induced rats [J]. *Pak J Pharm Sci*, 2019, 32[4(Supplementary)]: 1781-1788
- [20] Blagojevic I P, Ignjatovic S, Macut D, et al. Evaluation of a summary score for dyslipidemia, oxidative stress and inflammation in women with polycystic ovary syndrome and its relationship with obesity [J]. *J Med Biochem*, 2018, 37(4): 476-485
- [21] Yang K, Zeng L, Bao T, et al. Effectiveness of omega-3 fatty acid for polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis [J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2018, 16(1): 27
- [22] Makni M, Fetoui H, Garoui E M, et al. Hypolipidemic and hepatoprotective seeds mixture diet rich in omega-3 and omega-6 fatty acids [J]. *Food Chem Toxicol*, 2010, 48(8-9): 2239-2246
- [23] Rojas J, Chavez M, Olivar L, et al. Polycystic ovary syndrome, insulin resistance, and obesity: navigating the pathophysiologic labyrinth [J]. *Int J Reprod Med*, 2014: 719050
- [24] Ebrahimi F A, Samimi M, Foroozanfard F, et al. The effects of omega-3 fatty acids and vitamin E co-supplementation on indices of insulin resistance and hormonal parameters in patients with polycystic ovary syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial [J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2017, 125(6): 353-359
- [25] Mullen L, Mengozzi M, Hanschmann E M, et al. How the redox state regulates immunity [J]. *Free Radic Biol Med*, 2019
- [26] Wang H, Ruan X, Li Y, et al. Oxidative stress indicators in Chinese women with PCOS and correlation with features of metabolic syndrome and dependency on lipid patterns [J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2019, 300(5): 1413-1421
- [27] Capo X, Martorell M, Sureda A, et al. Diet supplementation with DHA-enriched food in football players during training season enhances the mitochondrial antioxidant capabilities in blood mononuclear cells [J]. *Eur J Nutr*, 2015, 54(1): 35-49
- [28] Phelan N, O'Connor A, Kyaw T T, et al. Hormonal and metabolic effects of polyunsaturated fatty acids in young women with polycystic ovary syndrome: results from a cross-sectional analysis and a randomized, placebo-controlled, crossover trial [J]. *Am J Clin Nutr*, 2011, 93(3): 652-662
- [29] Mohammadi M. Oxidative stress and polycystic ovary syndrome: a brief review [J]. *Int J Prev Med*, 2019, 10: 86
- [30] Zhou C, Na L, Shan R, et al. Dietary vitamin C intake reduces the risk of type 2 diabetes in chinese adults: HOMA-IR and T-AOC as potential mediators [J]. *Plos One*, 2016, 11(9): e163571
- [31] Xu J, Feng Z P, Peng H Y, et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acids alleviate adenine-induced chronic renal failure via regulating ROS production and TGF-beta/SMAD pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(15): 5024-5032
- [32] Lan R, Chang Q, An L, et al. Dietary supplementation with chitosan oligosaccharides alleviates oxidative stress in rats challenged with hydrogen peroxide [J]. *Animals (Basel)*, 2019, 10(1): 55
- [33] Pilar B, Gullich A, Oliveira P, et al. Protective role of flaxseed oil and flaxseed lignan secoisolariciresinol diglucoside against oxidative stress in rats with metabolic syndrom [J]. *J Food Sci*, 2017, 82(12): 3029-3036
- [34] Gonzalez F, Considine R V, Abdelhadi O A, et al. Oxidative stress in response to saturated fat ingestion is linked to insulin resistance and hyperandrogenism in polycystic ovary syndrome [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2019, 104(11): 5360-5371
- [35] Tola E N, Koroglu N, Ergin M, et al. The role of follicular fluid thiol/disulphide homeostasis in polycystic ovary syndrome [J]. *Balkan Med J*, 2018, 35(4): 306-310