DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20250905.002
网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/46.1089.R.20250905.1044.004

补肾化瘀颗粒对多囊卵巢综合征大鼠肠道菌群的影响

曹健楠[1,2],程标标[1,2],孙雪婷[1,2],李娜娜[1,2],郭 敏[1,2],李晓东[1,2],康开彪[1]✉
(1.甘肃省中医药研究院,甘肃 兰州 730050;2.甘肃中医药大学药学院,甘肃 兰州 730000)

[摘要] **目的**:基于肠道菌群视角探究补肾化瘀颗粒(Bushen Huayu Granules,BSHYKL)对多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome,PCOS)的治疗作用。**方法**:48只雌性SD大鼠随机分为6组,正常组、来曲唑模型组、炔雌醇环丙孕酮片组(0.2 mg/kg)、BSHYKL低剂量组(1.25 g/kg)、BSHYKL中剂量组(2.5 g/kg)、BSHYKL高剂量组(5 g/kg)(n=8)。药物干预14 d后,末次给药24 h后收集各组大鼠血清及粪便,采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定血清雌二醇(E2)、促黄体生成素(LH)、睾酮(T)、孕酮(PROG)水平;苏木素-伊红(H&E)染色观察卵巢组织病理形态;采用16S rRNA测序技术分析肠道菌群的物种组成、丰度及多样性。结合斯皮尔曼(Spearman)相关分析确定大鼠血清激素水平与肠道菌群的相关性。**结果**:经BSHYKL干预后,血清激素水平得到改善;卵巢颗粒层厚度增加,改善卵巢异常形态;肠道菌群结构发生明显改变,乳杆菌科、双歧杆菌科等有益菌的相对丰度明显恢复,有效提升肠道微生物多样性和丰富度,菌群紊乱得到缓解,肠道菌群的变化与大鼠血清激素水平密切相关。**结论**:BSHYKL可调节血清激素水平、改善卵巢异常形态、调节肠道菌群结构,为BSHYKL改善PCOS提供研究基础。

[关键词] 补肾化瘀颗粒;多囊卵巢综合征;肠道菌群
[中图分类号] R285.5 [文献标志码] A [文章编号] 2097-5953(2026)19-1469-09

The effect of Bushen Huayu Granules on the intestinal flora of rats with polycystic ovary syndrome

CAO Jiannan[1,2], CHENG Biaobiao[1,2], SUN Xueting[1,2], LI Nana[1,2], GUO Min[1,2], LI Xiaodong[1,2], KANG Kaibiao[1]✉
(1. *Gansu Academy of Chinese Medicine, Lanzhou* 730050, *China*; 2. *School of Pharmacy, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou* 730000, *China*)

[*Foundation Project*]:*This study was supported by the Natural Science Foundation of Gansu Province* (22*JR*5*RA*639)
[*Author*]:*CAO Jiannan, E-mail: Caojn*168@163.*com.*
[*Correspondence to*]:*KANG Kaibiao, Chief Physician, E-mail:* 523530921@*qq.com.*
Received: 2025-07-11 *Revised*: 2025-08-05 *JHMU*, 2026;32(19):1469-1477

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[Abstract] **Objective**: To explore the therapeutic effect of Bushen Huayu Granules(BSHYKL) on polycystic ovary syndrome (PCOS) from the perspective of intestinal flora. **Methods**: 48 female SD rats were randomly divided into 6 groups. That is, the normal group, the letrozole model group, the ethinylestradiol and cyproterone acetate tablet group (0.2 mg/kg), the low-dose BSHYKL group (1.25 g/kg), the medium-dose BSHYKL group (2.5 g/kg), and the high-dose BSHYKL group (5 g/kg) (n=8). After 14 days of drug intervention, the serum and feces of rats in each group were collected 24 h after the last administration. The levels of serum estradiol (E2), luteinizing hormone (LH), testosterone (T), and progesterone (PROG) were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Hematoxylin-eosin (H&E) staining was used to observe the pathological morphology of ovarian tissues; The species composition, abundance and diversity of the intestinal flora were analyzed by 16S rRNA sequencing technology. The correlation between serum hormone levels and intestinal flora in rats was determined by combining Spearman correlation analysis. **Results**: After the intervention of BSHYKL, the serum hormone levels were improved; The thickness of the granulosa layer of the ovary increases, altering the abnormal morphology of the ovary. The structure of the intestinal mi-

[基金项目] 甘肃省自然科学基金项目(22JR5RA639)
[作者简介] 曹健楠,E-mail:Caojn168@163.com。
[通讯作者] 康开彪,主任医师,E-mail:523530921@qq.com。
[收稿日期] 2025-07-11 [修回日期] 2025-08-05 网络出版时间:2025-09-05 11:36:34

crobiota has undergone significant changes. The relative abundance of beneficial bacteria such as *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* has significantly recovered, effectively enhancing the diversity and richness of intestinal microorganisms. The disorder of the microbiota has been alleviated. The changes in the intestinal microbiota are closely related to the serum hormone levels of rats. **Conclusion**: BSHYKL can regulate serum hormone levels, improve abnormal ovarian morphology, and regulate the structure of intestinal flora, providing a research basis for BSHYKL to improve PCOS.

[**Key words**] Bushen Huayu Granules; Polycystic ovary syndrome; Intestinal flora

多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome, PCOS)是常见于育龄少女的内分泌疾病,其病因和发病机制非常复杂[1]。PCOS的患病率在育龄妇女中高达5%～10%[2],其临床表现为雄激素分泌过多、多囊卵巢改变和持续无排卵,并可能与腹部肥胖、胰岛素抵抗、糖代谢受损有关[3]。此外,PCOS还会增加糖尿病、冠心病、子宫内膜癌等疾病的风险[4]。目前,大多数学者认为PCOS是一种多基因控制、多因素触发的疾病[5],其病因和发病机制通常涉及遗传、炎症因素、肠道菌群、内分泌激素和胰岛素抵抗(IR)[6-8]。近年来,对PCOS患者肠道菌群的研究引起了广泛关注,研究发现肠道菌群在PCOS的发展中起着关键作用[9,10]。

肠道菌群参与宿主的免疫功能的调节、物质能量代谢、胃肠道稳态的维持、炎症反应的抑制等,被称作人体后天形成的"器官"与"第二基因组",其变化受遗传、年龄、性别、药物、生活环境及健康状况等因素影响[11,12]。肠道菌群稳态失衡后,可参与介导内分泌功能紊乱、IR、性激素分泌失调、炎症及肥胖的发生、发展,进而增加PCOS及其远期并发症的风险。提示肠道菌群的改变可能是治疗PCOS的一种新方法。肠道微生物组的改变,对生殖内分泌系统有特定的影响,纠正异常的微生物组可能会改善生殖结果[13]。

补肾化瘀颗粒(Bushen Huayu Granules,BSHYKL)是甘肃省中医院基于潘文教授治疗PCOS的经验方开发的一款复方颗粒,由菟丝子10 g、酒女贞子8 g、墨旱莲8 g、山萸肉8 g、丹参8 g、赤芍8 g、红花5 g、桃仁5 g、川芎8 g组成,其具有补肾、活血、散瘀的作用。临床上研究表明,BSHYKL能明显改善PCOS患者痤疮和多毛症状,促进卵泡发育、成熟、排出,减轻子宫内膜厚度,缩小卵巢体积等[14]。然而,BSHYKL对PCOS模型肠内微生态的调控仍需进一步阐明。因此,本研究拟以肠道菌群调节为切入口,探讨BSHYKL对PCOS大鼠肠道菌群的调节作用,揭示BSHYKL治疗PCOS的潜在科学内涵。

1 材料与方法

1.1 实验动物

雌性SD大鼠48只(体质量160～180 g,4周龄)购自兰州大学实验动物中心(实验动物生产许可证编号:SCXK(甘)2023-0003),自由摄食饮水。动物实验经兰州肽谷研究院实验动物中心动物实验伦理委员会批准(编号:TGYJY-2024-0030)。

1.2 实验药品

BSHYKL(广东一方制药有限公司,菟丝子:AB410983、酒女贞子:A3121353、墨旱莲:A3051503、山萸肉:AB420543、丹参:AB43B273、赤芍:AB430163、红花:A3123503、桃仁:AB41A93、川芎:A3121603)购自甘肃省中医院配方颗粒药房,BSHYKL(每盒12 g)相当于饮片68 g,每日2次;来曲唑片(浙江海正药业股份有限公司,批号22303172)、炔雌醇环丙孕酮片(拜尔医药保健有限公司,批号:KT0T1KC)购自西成药房。

1.3 实验试剂

羧甲基纤维素钠、大鼠促黄体生成激素(LH)、孕酮(PROG)ELISA试剂盒(北京迈瑞达科技有限公司,批号:02103071、02404450、02404449)。大鼠雌二醇(E2)、睾酮(T)ELISA试剂盒(孟成化学(上海)有限公司,批号:202403、202403)。

1.4 实验仪器

Nikon光学显微镜(日本Nikon公司);3-18KS高速冷冻离心机(美国Sigma公司);KZ-5F-3D三维冷冻研磨仪(武汉赛维尔生物科技有限公司);酶标仪(BioTek Instruments,Inc.)。

1.5 造模与分组、给药

按照随机数字表将8只大鼠作为正常对照组(negative control,NC),其余40只大鼠通过每天灌胃溶解在0.5%羧甲基纤维素(CMC)中的1 mg/kg剂量的来曲唑,持续21 d,构建PCOS模型[15]。自第11天起,连续10 d各组于每日上午观察动情周期,以阴道涂片始终维持间期及血清T水平升高、E2水平降低视为造模成功[16]。造模成功后,将40只大鼠随机分为5组(n=8):(1)PCOS组,来曲唑诱导PCOS大鼠模型;(2)阳性(positive control,PC)组,来曲唑诱导PCOS大鼠模型加0.2 mg/kg炔雌醇环丙孕酮片治疗;(3)补肾化瘀颗粒低剂量(BSHYKL-L)组,来曲唑诱导PCOS大鼠模型加1.25 g/kg BSHYKL治疗;(4)补肾化瘀颗粒中剂量(BSHYKL-M)

组，来曲唑诱导PCOS大鼠模型加2.5 g/kg BSHYKL治疗；(5)补肾化瘀颗粒高剂量(BSHYKL-H)组，来曲唑诱导PCOS大鼠模型加5 g/kg BSHYKL治疗。NC组和PCOS组给予等量蒸馏水灌胃。给药结束后，分别采集新鲜粪便、血液及卵巢组织样本用于后续实验。

1.6 激素水平检测

血液样品以3 500 r/min离心10 min，收集血清并储存在－80 ℃冰箱用于生化测定。根据试剂盒使用说明检测大鼠血清中E2、LH、T、PROG水平。操作步骤：标准曲线的绘制，加样，温育，洗涤，加酶标试剂，显色，加入终止液终止酶联免疫反应并测定。

1.7 卵巢组织染色

用4%多聚甲醛固定各组大鼠卵巢组织24 h以上，按照如下操作制备石蜡切片：石蜡切片脱蜡至水、冰冻切片复温固定，高清恒染预处理，分别进行苏木素染色、伊红染色，脱水封片，置于光学显微镜观察组织形态。

1.8 肠道菌群16S rRNA测序分析

采用CTAB/SDS法从粪便样品中提取总基因组DNA。提取的DNA用nanodrop 2000超微紫外可见光度计检测纯度，合格的DNA样品稀释至1 ng/mL。采用PCR扩增16S rRNA基因的V4区。PCR产物按等比例混合，1%琼脂糖凝胶电泳检测。最后，在PacBio Sequel平台上进行测序。所有分析在诺禾云平台(https://magic.novogene.com)进行。

1.9 统计学处理

采用GraphPad Prism10.1.2和IBM SPSS Statistics 27软件进行绘图和统计处理分析。所有数据以$\bar{x} \pm s$表示。数据分析采用单因素方差分析，采用Spearman分析确定大鼠血清激素水平与肠道菌群的相关性。$P<0.05$为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 激素水平

与NC组比较，PCOS组血清T、LH水平升高($P<0.01$)，E2、PROG水平降低($P<0.05$)。经炔雌醇环丙孕酮片和BSHYKL治疗后，性激素异常明显改善。与PCOS组比较，PC、BSHYKL-L、BSHYKL-M、BSHYKL-H组血清T、LH水平降低($P<0.05$)，PC、BSHYKL-H组血清E2、PROG水平升高($P<0.05$)，BSHYKL-M组PROG水平升高($P<0.05$)，见表1。

表1 各组激素水平比较(n=6,$\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Comparison of hormone levels among groups (n=6,$\bar{x} \pm s$)

组别	T(nmol/L)	LH(ng/L)	E2(ng/L)	PROG(pmol/L)
NC组	6.08±0.47	25.60±5.54	54.98±10.47	189.56±19.90
PCOS组	10.28±1.70***	36.25±5.03**	39.40±5.13*	125.76±18.65**
PC组	7.39±1.74$^{\#\#\#}$	28.31±4.66$^{\#}$	50.13±6.01$^{\#}$	173.38±31.90$^{\#}$
BSHYKL-L组	8.62±1.43$^{\#}$	29.72±7.07$^{\#}$	45.97±7.01	152.84±48.89
BSHYKL-M组	7.64±0.94$^{\#\#}$	26.51±4.91$^{\#\#}$	46.89±8.47	171.51±29.14$^{\#}$
BSHYKL-H组	7.40±1.46$^{\#\#\#}$	26.16±4.49$^{\#\#}$	50.01±10.69$^{\#}$	177.42±53.87$^{\#}$
F	6.485	3.311	2.150	2.330
P	<0.001	0.017	0.088	0.067

注：与NC组比较，$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$，$^{***}P<0.001$；与PCOS组比较，$^{\#}P<0.05$，$^{\#\#}P<0.01$，$^{\#\#\#}P<0.001$。

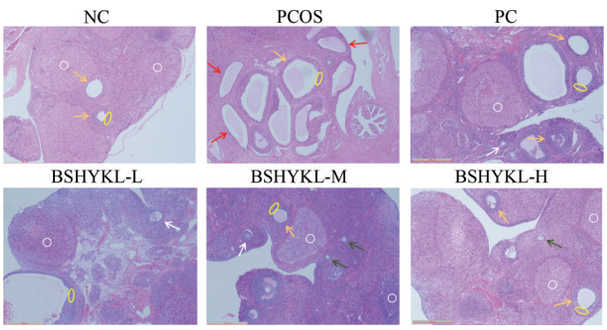
2.2 卵巢组织染色结果

NC组卵巢组织可见不同发育阶段的卵泡及黄体，颗粒细胞层数清晰、排列紧密且均匀；PCOS组大鼠可见多个囊肿，黄体细胞减少，颗粒层减少，排列松散；炔雌醇环丙孕酮片和BSHYKL治疗后明显增加了卵巢颗粒层厚度，恢复了黄体细胞数量，改变了卵巢异常形态，见图1。

2.3 BSHYKL对PCOS大鼠肠道菌群的调节作用

2.3.1 群落组成分析 在门水平中，厚壁菌门(Firmicutes)和放线菌门(Actinobacteria)是所有组别大鼠肠道的主要组成(图2A)。PCOS组明显降低拟杆菌门(Bacteroidota)的相对丰度，而变形菌门(Proteobacteria)、蓝菌门(Cyanobacteria)的丰度明显增加。经BSHYKL治疗后，BSHYKL-H组拟杆菌门丰度明显增加，BSHYKL-M、BSHYKL-H组变形菌门、蓝菌门的丰度明显下降，BSHYKL-L组蓝菌门的丰度明显下降。

在科水平中，NC组乳杆菌科(Lactobacillaceae)、梭菌科(Clostridiaceae)、双歧杆菌科(Bifidobacteriaceae)、葡萄球菌科(Staphylococcaceae)、气球菌科(Aerococcaceae)的相对丰度分别为24.36%、6.67%、3.63%、1.90%、1.80%，PCOS组相对丰度



白色箭头：次级卵泡；绿色箭头：初级卵泡；黄色箭头：囊状卵泡；红色箭头：囊肿；黄色圆圈：颗粒细胞；白色圆圈：黄体

图1　卵巢组织HE染色结果（×100）

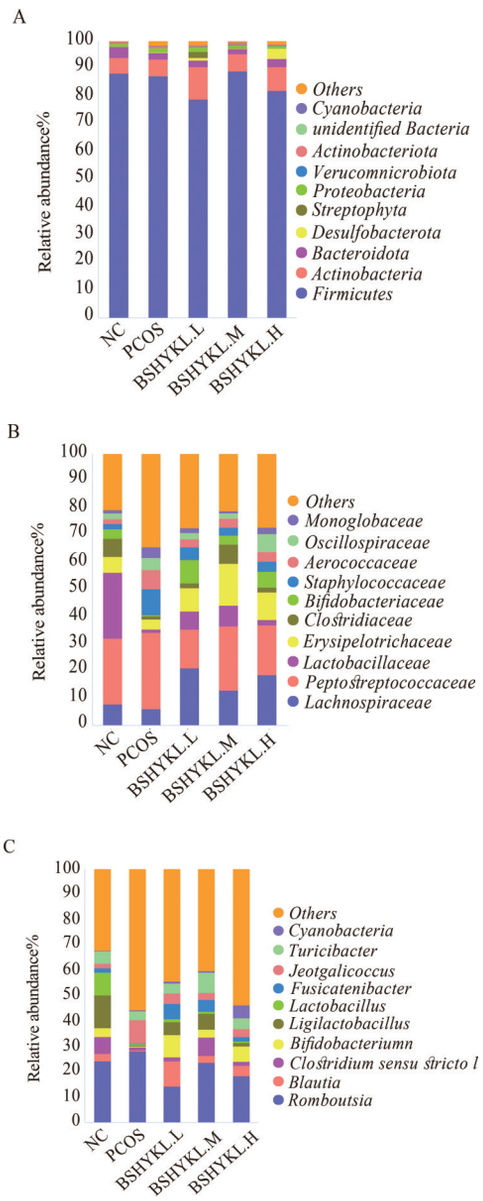
Fig 1　Results of HE staining of ovarian tissue (×100)

分别为1.07%、1.03%、0.41%、9.55%、7.14%（图2B）。经BSHYKL治疗后，葡萄球菌科、气球菌科的相对丰度明显降低，乳杆菌科、梭菌科、双歧杆菌科的相对丰度不同程度的增加，其中BSHYKL-M组梭菌科的相对丰度恢复的最明显。

在属水平中，NC组布劳特氏菌属（*Blautia*）、双歧杆菌属（*Bifidobacterium*）、*Ligilactobacillus*、乳酸杆菌属（*Lactobacillus*）、*Fusicatenibacter*、海鲜球菌属（*Jeotgalicoccus*）的相对丰度分别为2.80%、3.62%、12.95%、8.96%、1.69%、1.78%，PCOS组相对丰度分别为0.56%、0.41%、0.43%、0.59%、0.21%、9.15%（图2C）。经BSHYKL治疗后，海鲜球菌属的相对丰度明显降低，布劳特氏菌属、双歧杆菌属、*Ligilactobacillus*、乳酸杆菌属、*Fusicatenibacter*的相对丰度有不同程度增加，其中BSHYKL-L组乳酸杆菌属的相对丰度增加最明显。

2.3.2　BSHYKL对肠道微生物多样性和丰富度的影响　在肠道微生物α多样性指标中，通过ACE、Chao1、Shannon和Simpson指数同时反映肠道菌群的丰富度和均匀度。与NC组比较，PCOS组ACE、Chao1指数明显升高（$P<0.01$），Shannon指数明显降低（$P<0.001$）；与PCOS组比较，BSHYKL-M、BSHYKL-H组ACE、Chao1指数明显降低（$P<0.05$），Shannon、Simpson指数明显升高（$P<0.001$），BSHYKL-L组Simpson指数明显升高（$P<0.05$）。说明BSHYKL治疗对大鼠肠道微生物的多样性有明显影响，见表2。

为了更好地理解每个组之间共享的丰富度，通过维恩图发现5组共有437个OUTs数目在所有组之间共享，见图3A。为了衡量微生物群落之间的差异程度，采用主坐标分析法（unweighted principal coordinate analysis，PCoA）评估肠道微生物Beta多样性，5组之间可以明显的分离，见图3B。



A：门水平菌群相对丰度；B：科水平菌群相对丰度；C：属水平菌群相对丰度

图2　群落组成分析结果

Fig 2　Analysis results of community composition

2.3.3　显著性差异分析　为了进一步确定BSHYKL对肠道菌群具体物种的影响，本研究用LEfSe分析结合差异检测方法进行特异物种的筛选。不同颜色表示不同的组，黄色、紫色、绿色、蓝色和红色条分别表示NC组、PCOS组、BSHYKL-L组、BSHYKL-M组和BSHYKL-H组，主要描述LDA score＞4的差异菌群。

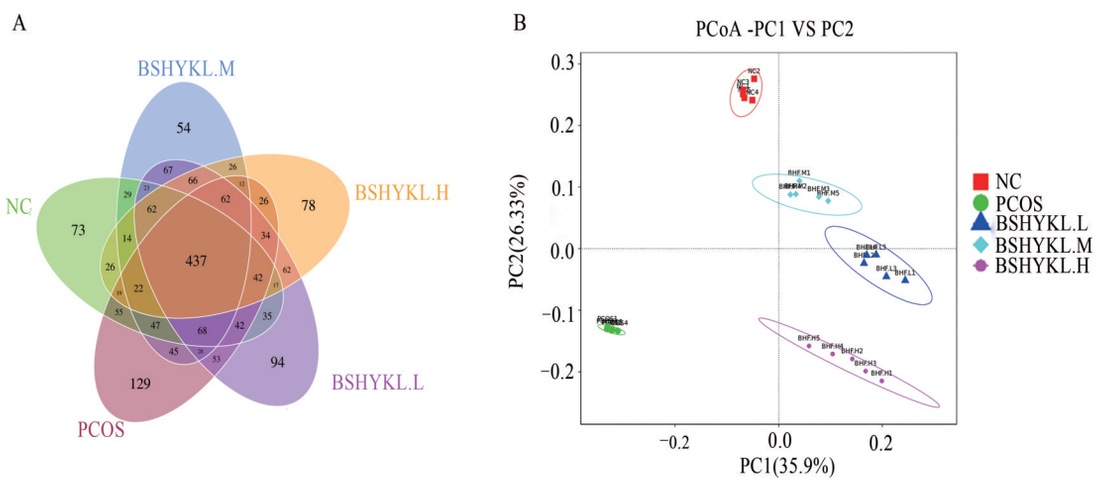
NC组中乳杆菌科（Lactobacillaceae）、鼠乳杆菌（*Lactobacillus murinus*）、*Ligilactobacillus*菌属、乳酸杆菌属、肠乳杆菌（*Lactobacillus intestinalis*）、约

表2　肠道菌群α多样性分析(n=5,$\bar{x}\pm s$)

Tab 2　Analysis of α -diversity of gut microbiota(n=5,$\bar{x}\pm s$)

组别	ACE	Chao1	Shannon	Simpson
NC组	572.87±87.91	548.29±91.39	5.96±0.15	0.92±0.01
PCOS组	729.76±57.88**	716.97±57.61**	5.54±0.13***	0.91±0.01
BSHYKL-L组	753.60±131.90	713.28±124.33	5.60±0.20	0.93±0.01$^{\#}$
BSHYKL-M组	601.29±75.79$^{\#}$	573.54±91.11$^{\#}$	6.29±0.07$^{\#\#\#}$	0.95±0.01$^{\#\#\#}$
BSHYKL-H组	579.55±34.88$^{\#}$	545.38±30.16$^{\#\#}$	6.30±0.19$^{\#\#\#}$	0.96±0.00$^{\#\#\#}$
F	5.352	5.327	27.478	42.281
P	0.004	0.004	<0.001	<0.001

注：与NC组比较，$^{**}P$<0.01，$^{***}P$<0.001；与PCOS组比较，$^{\#}P$<0.05，$^{\#\#}P$<0.01，$^{\#\#\#}P$<0.001。



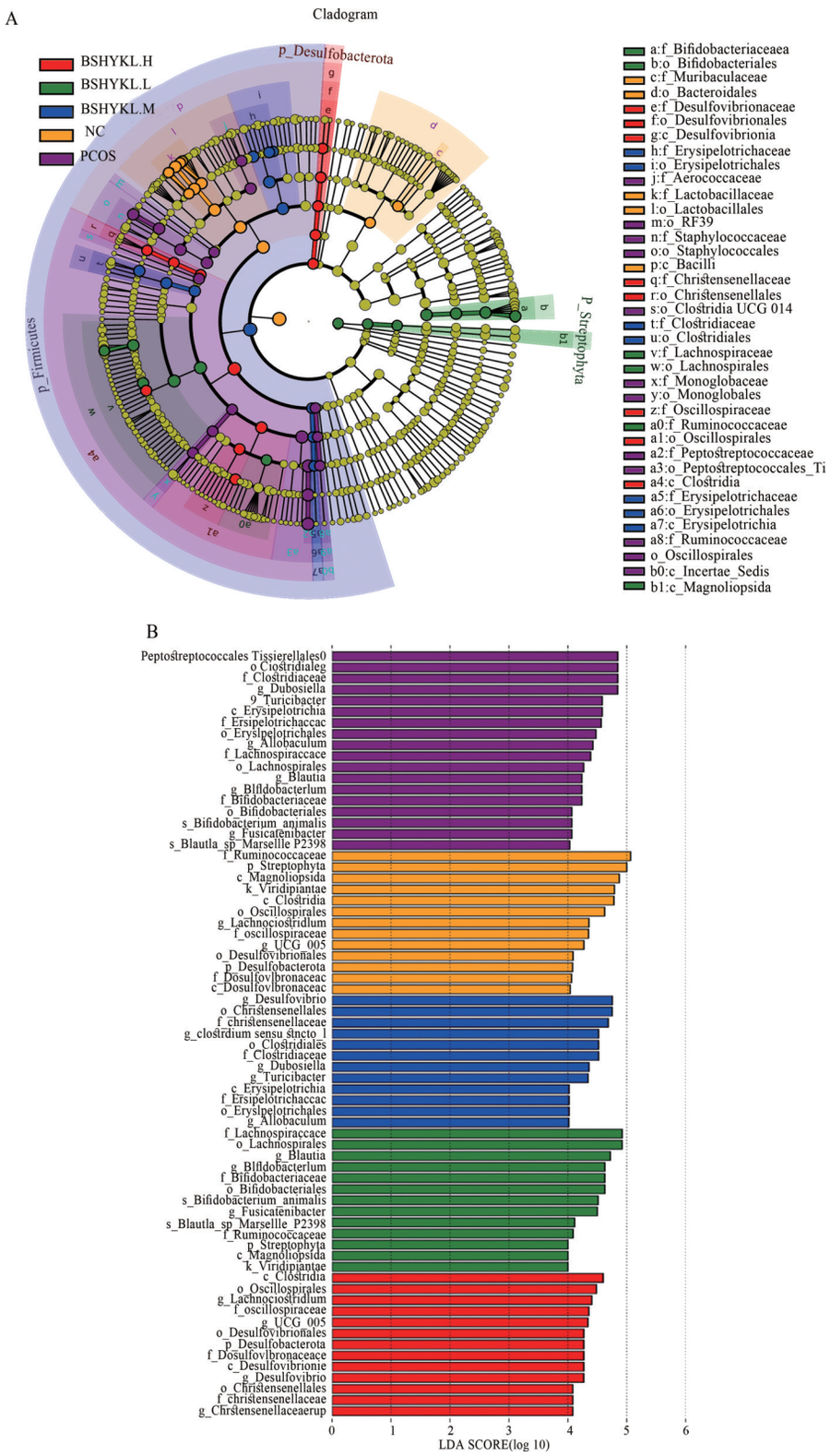
A：各组肠道菌群种类韦恩图；B：Beta多样性比较PCoA图

图3　大鼠肠道菌群丰度及Beta多样性比较

Fig 3　Comparison of intestinal flora abundance and Beta diversity in rats

氏乳杆菌(*Lactobacillus johnsonii*)、*Limosilactobacillus*菌属、Muribaculaceae菌科、罗伊氏乳杆菌(*Lactobacillus reuteri*)富集；PCOS组消化链球菌科(Peptostreptococcaceae)、*Romboutsia*菌属、葡萄球菌科、海鲜球菌属、*Jeotgalicoccus*_sp__M3T9B12菌、气球菌科、费克蓝姆菌属(*Facklamia*)、Monoglobaceae菌科、*Monoglobus*菌属、瘤胃菌科(Ruminococcaceae)富集；BSHYKL-L组中毛螺菌科(Lachnospiraceae)、布劳特氏菌属、双歧杆菌属、双歧杆菌科、动物双歧杆菌(*Bifidobacterium animalis*)、*Fusicatenibacter*菌属、*Blautia_sp__Marseille*_P2398菌、瘤胃菌科、Streptophyta菌门富集；BSHYKL-M组中丹毒丝菌科(Erysipelotrichaceae)、厚壁菌门、*Clostridium_sensu_stricto*_1菌属、梭菌科、*Dubosiella*菌属、*Turicibacter*菌属、*Allobaculum*菌属富集；BSHYKL-H组中*Lachnoclostridium*菌属、颤螺旋菌科(Oscillospiraceae)、*UCG*_005菌属、Desulfobacterota菌门、脱硫弧菌科(Desulfovibrionaceae)、脱硫弧菌属(*Desulfovibrio*)、Christensenellaceae菌科、*Christensenellaceae*_R_7_group菌属富集。与NC组比较，PCOS大鼠肠道内富集有益菌减少，致病菌增多，导致肠道菌群紊乱；BSHYKL治疗后改善PCOS大鼠微生物的群落结构，使菌群紊乱得到缓解，见图4(n=5)。

2.3.4　属水平肠道菌群丰度与激素水平的相关性分析　肠道菌群的组成差异与大鼠血清激素水平明显相关，其中*Romboutsia*、*Ligilactobacillus*与血清T水平呈明显正相关(P<0.05)，*Bifidobacterium*、*Lachnoclostridium*与血清T水平呈明显负相关(P<0.05)；*Romboutsia*、*Ligilactobacillus*与血清LH水平呈明显正相关(P<0.05)，*Bifidobacterium*、*Lachnoclostridium*与血清LH水平呈明显负相关(P<0.05)；*Jeotgalicoccus*与血清E2水平呈明显正相关(P<0.05)，*Clostridium_sensu_stricto*_1、*Bifido-*



A:进化分支图;B:LDA值分布柱状图

图4　肠道菌群的LEfSe分析

Fig 4　LEfSe analysis of intestinal microbiota

*bacterium*与血清E2水平呈明显负相关($P<0.05$)；*Bifidobacterium*、*Lachnoclostridium*与血清PROG水平呈明显正相关($P<0.05$)，*Ligilactobacillus*与血清PROG水平呈明显负相关($P<0.05$)，见图5。

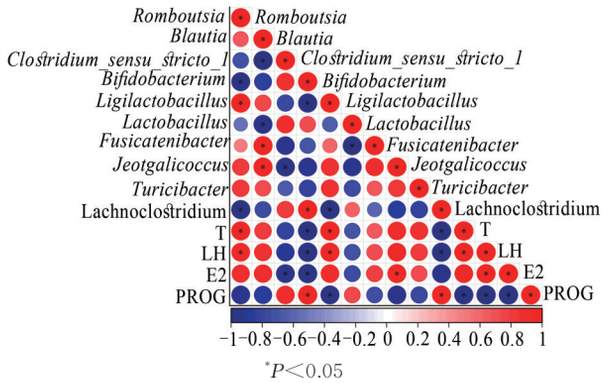


图5　属水平肠道菌群丰度与激素水平的相关性分析

Fig 5　shows the correlation analysis between the abundance of intestinal flora at the genus level and hormone levels

3　讨论

来曲唑是一种非甾体芳香化酶抑制剂，可诱导PCOS的许多特征。来曲唑分别通过延缓睾酮和雄激素向E2和雌酮的转化而诱导PCOS[17,18]。雌激素水平的降低减少了对LH产生的负面反馈，导致LH水平升高，刺激卵泡膜细胞分泌T[19]。此外，来曲唑诱导的PCOS模型大鼠血清E2和PROG水平降低，T和LH水平呈剂量依赖性升高，卵巢颗粒细胞层变薄。这些观测结果与之前对来曲唑的研究一致，由于芳香酶的抑制，导致雄激素的产生增加，诱导PCOS[20,1]。此外，Rodriguez Paris等[21]研究发现，移植肠道菌群能够改变PCOS患者肠道细菌组成，进而导致多种性激素水平明显波动。提示肠道菌群的改变会影响大鼠血清性激素水平，间接参与PCOS的发展。同时肠道菌群失调可干扰性激素的合成代谢，其失调程度与T、LH呈正相关[22]，且激素水平异常会损害卵巢的正常功能，造成卵泡发育障碍。本研究结果显示，经来曲唑诱导后，大鼠血清T、LH水平升高，E2、PROG水平降低，卵巢可见多个囊肿，黄体细胞减少，颗粒层减少、排列松散，提示PCOS模型复制成功；经不同剂量BSHYKL干预后，血清T、LH水平降低，E2、PROG水平升高，并改变了卵巢异常形态。表明BSHYKL能够改善PCOS大鼠性激素水平、卵巢的病理改变。

研究表明，PCOS患者肠道菌群结构紊乱，与健康女性的肠道菌群组成存在明显差异[23]。PCOS患者的肠道菌群多样性降低，有益菌（如乳酸菌和双歧杆菌）数量减少，潜在致病菌数量增多。这种菌群变化可能与PCOS的发病机制密切相关，是后续研究的重要方向。本研究结果显示，PCOS组ACE、Chao1指数增高，Shannon、Simpson指数降低，拟杆菌门、乳杆菌科、双歧杆菌科丰度降低，变形菌门、蓝菌门、葡萄球菌科、气球菌科丰度增加；经不同剂量BSHYKL干预后，ACE、Chao1指数降低，Shannon、Simpson指数增高，拟杆菌门、乳杆菌科、双歧杆菌科丰度增高，变形菌门、蓝菌门、葡萄球菌科、气球菌科丰度降低。通常认为肠道微生物群的高α多样性总是有益的[24]，但肠道菌群的多样性与其稳定性和功能之间存在着非常复杂的相关性，需要考虑肠道微生物群的组成和功能[25]。当机体营养缺乏，拟杆菌门下菌株可通过觅食黏蛋白型O-聚糖以维持肠道菌群稳态[26]。乳杆菌科的有益影响包括通过提供抗性来降低感染风险、改善肠道屏障功能、减少炎症、改变胆汁酸代谢和胆固醇代谢、调节与情绪和行为有关的神经递质的水平[27,28]。双歧杆菌科对宿主具有益生菌或促进健康的作用[29]。葡萄球菌科、气球菌科属于厚壁菌门，其丰度变化表明PCOS组肠道微生物可能出现异常。因此，表明BSHYKL能够改善PCOS大鼠肠道菌群结构紊乱情况，表现为有益菌丰度增加而致病菌丰度降低。

通过LEfSe分析发现PCOS大鼠肠道内富集有益菌减少，致病菌增多；BSHYKL治疗后改善PCOS大鼠微生物的群落结构，使菌群紊乱得到缓解。此外，将PCOS大鼠性激素水平与属水平肠道菌群丰度进行相关性分析，进一步检验出PCOS大鼠性激素水平与肠道菌群具有明显相关性，说明肠道菌群在BSHYKL改善PCOS方面具有关键的作用。

综上所述，本研究证明了BSHYKL对PCOS的保护作用，是通过调节激素水平、改善卵巢的病理改变、增加肠道有益菌的丰度去改善PCOS。这些结果表明，BSHYKL可能是PCOS潜在的治疗措施。

作者贡献度说明：

康开彪、李晓东、郭敏：负责研究选题、论文修改和定稿；曹健楠：负责实验操作及撰写文章；程标标：负责数据统计分析与校稿；孙雪婷、李娜娜：负责实验操作。

所有作者声明不存在利益冲突关系。

参考文献

1　Gadhave PV, Sutar GV, Sajane SJ, et al. Protective effects of vanillic acid on letrozole-induced polycystic ovarian syndrome: A comprehensive study in female wistar rats[J]. Saudi Pharm J, 2024,32(2):101953.

2　Deswal R, Narwal V, Dang A, et al. The prevalence of

polycystic ovary syndrome: A brief systematic review [J]. J Human Reproduct Sci, 2020,13(4):261-271.

3 Morgante G, Massaro MG, Di Sabatino A, et al. Therapeutic approach for metabolic disorders and infertility in women with PCOS[J]. Gynecol Endocrinol, 2018, 34(1):4-9.

4 Froment P, Plotton I, Giulivi C, et al. At the crossroads of fertility and metabolism: The importance of Ampk-dependent signaling in female infertility associated with hyperandrogenism[J]. Human Reproduct, 2022,37(6):1207-1228.

5 Escobar-Morreale HF. Polycystic ovary syndrome: Definition, aetiology, diagnosis and treatment[J]. Nat Rev Endocrinol, 2018,14(5):270-284.

6 Giampaolino P, Foreste V, Di Filippo C, et al. Microbiome and PCOS: State-of-art and future aspects[J]. Int J Mol Sci, 2021,22(4):2048.

7 Sadeghi HM, Adeli I, Calina D, et al. Polycystic ovary syndrome: A comprehensive review of pathogenesis, management, and drug repurposing[J]. Int J Mol Sci, 2022,23(2):583.

8 Stener-Victorin E, Padmanabhan V, Walters KA, et al. Animal models to understand the etiology and pathophysiology of polycystic ovary syndrome[J]. Endocr Rev, 2020,41(4):bnaa010.

9 Wang L, Zhou J, Gober HJ, et al. Alterations in the intestinal microbiome associated with PCOS affect the clinical phenotype[J]. Biomed Pharmacother, 2021, 133: 110958.

10 He FF, Li YM. Role of gut microbiota in the development of insulin resistance and the mechanism underlying polycystic ovary syndrome: A review[J]. J Ovarian Res, 2020,13(1):73.

11 Zambrano AK, Cadena-Ullauri S, Ruiz-Pozo VA, et al. Impact of fundamental components of the mediterranean diet on the microbiota composition in blood pressure regulation[J]. J Translational Med, 2024,22(1):417.

12 Paudel D, Nair DVT, Joseph G, et al. Gastrointestinal microbiota-directed nutritional and therapeutic interventions for inflammatory bowel disease: Opportunities and challenges[J]. Gastroenterol Rep, 2024, 12: goae033.

13 Franasiak JM, Scott RT. Introduction: Microbiome in human reproduction[J]. Fertility Sterility, 2015, 104(6):1341-1343.

14 张瑞瑞, 武权生, 潘文, 等. 补肾化瘀方治疗肾虚血瘀型多囊卵巢综合征的临床疗效及对Ampk、Lkb1mRNA水平的影响[J]. 中国民间疗法, 2023,31(21):61-64.
Zhang RR, Wu QS, Pan W, et al. The clinical efficacy of the bushen huayu formula in the treatment of kidney deficiency and blood stasis type polycystic ovary syndrome and its influence on the mrna levels of Ampk and Lkb1[J]. Chin Naturopathy, 2023,31(21):61-64.

15 Islam R, Ghosh AJ, Ghosh S, et al. Oral administration of the methanolic extract of *Abutilon indicum* (L.) sweet seed proves effective in reducing cystic follicles and restoring the metabolic profile of wistar albino rats with letrozole-induced polycystic ovarian syndrome[J]. Pharmacological Res Mod Chin Med, 2024,10:100389.

16 李金金, 殷秀琴, 陈怡, 等. 益肾调经丸对PCOS大鼠的血清性激素水平及卵巢的影响[J]. 时珍国医国药, 2023,34(8):1868-1870.
Li JJ, Yin XQ, Chen Y, et al. The effect of yishen tiaojing pills on serum sex hormone levels and ovaries in PCOS rats [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2023, 34(8):1868-1870.

17 Liyanage GSG, Inoue R, Fujitani M, et al. Effects of soy isoflavones, resistant starch and antibiotics on polycystic ovary syndrome (PCOS)-like features in letrozole-treated rats[J]. Nutrients, 2021,13(11):3759.

18 Wu YX, Yang XY, Han BS, et al. Naringenin regulates gut microbiota and Sirt1/ Pgc-1α signaling pathway in rats with letrozole-induced polycystic ovary syndrome [J]. Biomed Pharmacother, 2022,153:113286.

19 Esparza LA, Schafer D, Ho BS, et al. Hyperactive LH pulses and elevated kisspeptin and NKB gene expression in the arcuate nucleus of a PCOS mouse model[J]. Endocrinology, 2020,161(4):bqaa018.

20 Franik S, Eltrop SM, Kremer JA, et al. Aromatase inhibitors (letrozole) for subfertile women with polycystic ovary syndrome[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2018, 5(5):CD010287.

21 Rodriguez Paris V, Wong XYD, Solon-Biet SM, et al. The interplay between PCOS pathology and diet on gut microbiota in a mouse model[J]. Gut Microbes, 2022,14(1):2085961.

22 陈春燕, 黄润生, 商晶. 多囊卵巢综合征患者糖脂代谢和性激素水平与肠道菌群失调的关系[J]. 中国微生态学杂志, 2024,36(6):718-722.
Chen CY, Huang RS, Shang J. Relationship between glucolipid metabolism, sex hormones and gut microbiota disturbance in patients with polycystic ovary syndrome [J]. Chin J Microecol, 2024,36(6):718-722.

23 Sun J, Wang M, Kan Z. Causal relationship between gut microbiota and polycystic ovary syndrome: A literature review and mendelian randomization study [J]. Front Endocrinol, 2024,15:1280983.

24 Worsley SF, Davies CS, Mannarelli ME, et al. Gut microbiome composition, not alpha diversity, is associated

with survival in a natural vertebrate population[J]. Anim Microbiome, 2021,3(1):84.

25 Shade A. Diversity is the question, not the answer[J]. Isme J, 2017,11(1):1-6.

26 Zafar H, Saier MH. Gut bacteroides species in health and disease[J]. Gut Microbes, 2021,13(1):1-20.

27 Campos-Martinez AM, Expósito-Herrera J, Gonzalez-Bolívar M, et al. Evaluation of risk and preventive factors for necrotizing enterocolitis in premature newborns. A systematic review of the literature[J]. Front Pediatr, 2022,10:874976.

28 Walter J, O'Toole PW. Microbe profile: The *lactobacillaceae*[J]. Microbiology, 2023,169(12):001414.

29 Hanifi GR, Samadi Kafil H, Tayebi Khosroshahi H, et al. Bifidobacteriaceae family diversity in gut microbiota of patients with renal failure[J]. Arch Razi Inst, 2021,76(3):521-528.

[本文编辑] 朱 昊