基础研究 文章编号:0253-3626( 2011 )06-0693-03

# 雌激素对卵巢切除大鼠血脂和血清瘦素、抵抗素表达的影响

龚华芳,张亚兴,王晓东,曾耀英
(暨南大学组织移植与免疫实验中心,广州 510630)

【摘 要】目的:探讨雌激素对卵巢切除大鼠血脂和血清瘦素、抵抗素表达的影响。方法:12 周 SD 大鼠分成 3 组,假手术(Sham)组、卵巢切除(OVX)组和雌激素(OVX+$E_2$)组,每组 7 只,术后 10 d,Sham 组和 OVX 组大鼠每天腹腔注射生理盐水 0.1 ml/只,OVX+$E_2$ 组每天注射苯甲酸雌二醇 0.2 mg/只,连续注射 30 d 后处死取血,全自动生化分析仪检测血脂,ELISA 检测血清瘦素、抵抗素含量。结果:卵巢切除术后 10 d,手术组体重增加明显,术后 40 d,卵巢切除组大鼠总胆固醇和 LDL 均增加,OVX+$E_2$ 组体重较 OVX 组下降,血清甘油三酯升高,LDL 降低,总胆固醇含量降低。OVX 组和 OVX+$E_2$ 组血清瘦素、抵抗素水平均无明显变化($P>0.05$)。结论:卵巢切除可引起体重增加,脂质代谢紊乱,补充雌激素可降低体重,部分纠正血脂紊乱,卵巢切除和雌激素补充对血清瘦素和抵抗素水平影响不大。

【关键词】卵巢切除;血脂;瘦素;抵抗素
【中国图书分类法分类号】R711 【文献标志码】A 【收稿日期】2011-04-08

# Effects of estrogen on blood lipids and the expression of serum leptin and resistin in ovariectomized female SD rats

*GONG Hua-fang, ZHANG Ya-xing, WANG Xiao-dong, ZENG Yao-ying*
(*Laboratory of Tissue Transplantation and Immunology, Ji'nan University*)

【Abstract】*Objective*: To explore the effects of ovariectomy (OVX) and estrogen replace treatment on total cholesterol, LDL, HDL, triglycerides, serum leptin and resist levels. *Methods*: Female SD rats (12 weeks) were divided into three groups: control Sham, OVX and OVX treated with estrogen (OVX +$E_2$) ($n$=7, each group). 10 days post operating, rats had been treated with estradiol benzoate (0.2 mg ip per day) (OVX + $E_2$) and vehicle (Sham and OVX rats) for 30 days respectively. Total cholesterol, LDL, HDL, triglycerides were analyzed by chemistry analyzer, and ELISA kits were employed to analyze serum leptin and resistin levels. *Results*: Body mass was increased by OVX and significantly decreased by estrogen treatment. Total cholesterol and LDL level were upregulated after OVX. Estrogen treatment increase triglyceride level, while decreased total cholesterol and LDL level of OVX rats. No affect was found in serum leptin and resistin level of OVX or estrogen treatment groups. *Conclusion*: OVX led to body mass increase and lipid metabolism disturbance. Treated with E2, the body mass of the ovariectomized rats were decreased and the disturbance of lipid metabolism was partially improved. OVX and estrogen replacement can not affect serum leptin and resistin levels.

【Key words】ovariectomy; lipid; leptin; resistin

内脏肥胖,又称中心性肥胖,是指过多的脂肪储存和堆积在人的腹部。内脏肥胖与胰岛素抵抗、2 型糖尿病、动脉粥样硬化和缺血性心脏病紧密相关,是肥胖相关的代谢异常性疾病发生的主要原因。绝经后,因为雌激素缺乏,女性内脏肥胖的发生率增高,胰岛素敏感性下降[1]。

脂肪组织不仅是能源储存器官,还是重要的内分泌器官,可分泌多种脂肪细胞因子,包括瘦素(Leptin)、抵抗素(resistin)、脂联素、TNF-α 和 IL-6 等,这些因子对全身新陈代谢起着关键作用,调节机体脂肪及能量代谢。目前还不十分清楚围绝经期性激素的变化对循环脂肪因子的影响[2,3],本实验采用卵巢切除大鼠雌激素缺乏模型,并通过补充外源性雌激素,观察血清脂肪细胞因子变化,探讨雌激素影响代谢的可能机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 实验动物 12 周 Spragne-Dawley(SD)雌性大鼠,南方医科大学动物中心提供,合格证号:0067868。

1.1.2 主要试剂与仪器 苯甲酸雌二醇注射液(2 mg/ml,批号 090502),上海通用药业股份有限公司;全自动生化仪,美

作者介绍:龚华芳(1971-),女,助理研究员,博士,研究方向:妇产科病理学。
通信作者:曾耀英,男,研究员,Email:tzengyy@jnu.edu.cn。
基金项目:"973"国家重点基础研究资助项目(编号:2006CB504201;2004CB720100)。

国 BECKMAN LX20；全自动化学发光免疫分析仪，美国 Beckman 公司；胰岛素放射免疫分析药盒，原子高科股份有限公司；大鼠瘦素、抵抗素 ELISA 试剂盒，上海江莱生物科技有限公司。

1.2 动物分组和模型

术前禁食禁水 12 h，称重。随机将大鼠分为 3 组，假手术（Sham）组、卵巢切除（OVX）组和雌激素（OVX+$E_2$）组。卵巢切除手术，开腹后，找到“Y”型双子宫，沿其末端找到双侧卵巢，分别结扎后将其完整切除，切除组织进行病理检查。确定切除断端无出血后放回腹腔。假手术大鼠在找到双侧卵巢后不切除，放回腹腔，缝合腹肌和皮肤。术后 10 d，选取伤口Ⅰ期愈合大鼠，Sham 组和 OVX 组大鼠每天腹腔注射生理盐水 0.1 ml/只，OVX+$E_2$ 组每天注射苯甲酸雌二醇 0.2 mg/只，连续注射 30 d 后处死取血，离心后取血清分装，置-20℃保存待测。

1.3 方法

1.3.1 血脂含量、雌激素、雄激素和空腹胰岛素水平的检测

利用全自动生化分析仪检测血清中血脂含量；化学发光免疫分析系统检测血清雌激素、雄激素水平；放射免疫分析法检测血清空腹胰岛素水平。

1.3.2 血浆瘦素、抵抗素水平的检测　按 ELISA 试剂盒要求处理样品，并设不同浓度的标准品，酶标仪检测血清瘦素、抵抗素水平。根据标准品分析数据作出标准曲线，并根据标准曲线计算每个样品中血清瘦素、抵抗素的含量。

1.3.3 统计学分析　数据结果应用 SPSS13.0 软件包进行统计学处理，各变量以$\bar{x}\pm s$表示，雄激素、胰岛素、LDL、瘦素和抵抗素的结果分析采用 One-way ANOVA 方差分析，$P<0.05$ 差异有统计学意义，雌激素、甘油三酯、TG、HDL 采用 Kruskal-Wallis 秩和检验，组间采用两独立样本比较的秩和检验，对检验水准进行校正，$\alpha'=0.05/3=0.017$，$P<0.017$ 差异有统计学意义，体重分析采用重复测量设计的统计资料分析。

## 2 结　果

2.1 雌激素对卵巢切除大鼠血清雌激素、雄激素、胰岛素水平的影响

经 Kruskal-Wallis H 秩和检验，3 组间雌激素有统计学差异（$\chi^2=17.83$，$P=0.000$），组间两两比较，OVX 组较 Sham 组雌激素水平下降，差异有统计学意义（$P<0.017$）。补充雌激素后（OVX+$E_2$ 组），血清雌激素水平较 OVX 组升高（$P<0.017$）。3 组间雄激素水平、胰岛素水平无明显差异（$P>0.05$）（表 1）。

2.2 雌激素对卵巢切除大鼠体重的影响

经重复测量设计统计资料的方差分析，不同时间的体重有差别（$F=216.5$，$P<0.001$），时间与组间的交互作用有统计学意义（$F=11.89$，$P<0.001$），3 组间体重随时间变化的趋势不同，OVX 组较 Sham 组体重增加，补充雌激素（OVX+$E_2$ 组）能抑制体重的增加（$F=9.16$，$P=0.002$）（表 2 和图 1 示）。

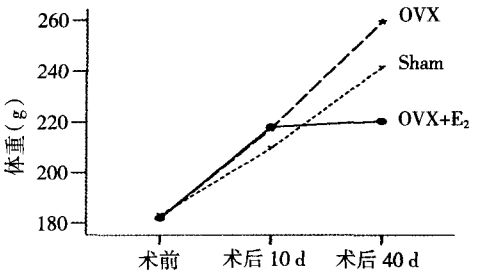



图 1　雌激素对卵巢切除大鼠体重的影响

2.3 雌激素对卵巢切除大鼠血脂的影响

卵巢切除后总胆固醇（$P<0.017$）、LDL 升高（$P<0.05$），甘油三酯变化不明显（$P>0.05$）；补充雌激素，甘油三酯升高（$P<0.017$），总胆固醇降低（$P<0.017$），LDL 降低（$P<0.05$）；3 组间 HDL 差异无统计学意义（$P>0.05$）（表 3）。

2.4 雌激素对卵巢切除大鼠血清瘦素、抵抗素表达的影响

卵巢切除术后 40 d，OVX 组、OVX+$E_2$ 组与 Sham 组大鼠血清瘦素和抵抗素水平无明显变化（$P>0.05$）（表 4）。

## 3 讨　论

雌激素通过其受体 ER、ERα 和 ERβ 调节食物摄取、体重和脂肪分布，影响机体脂质代谢[4,5]。内脏脂肪与雌激素水平成反比，在女性当雌激素水平降低，食欲增加，内脏脂肪堆积，导致肥胖[4]。卵巢切除大鼠，体重增加，血脂代谢出现异常，总胆固醇增高，LDL 增高[6]。Pantaleão 等[6]研究报道，补充生理剂量雌激素能逆转体重变化，降至正常；而给予超生理剂量的雌激素后，抑制大鼠食欲，体重较正常组降低，这与我们观

表 1　雌激素对卵巢切除大鼠血清雌激素、雄激素、胰岛素水平的影响（$\bar{x}\pm s$）

| 组别 | n | 雌激素（pg/ml） | 雄激素（ng/ml） | 胰岛素（mIU/L） |
|---|---|---|---|---|
| Sham | 7 | 57.857 ± 11.562 | 2.603 ± 0.808 | 19.320 ± 6.192 |
| OVX | 7 | 35.439 ± 3.309* | 2.216 ± 0.470 | 14.020 ± 5.202 |
| OVX+$E_2$ | 7 | 270.429 ± 34.568** | 2.410 ± 0.488 | 18.390 ± 9.029 |

注：与 sham 组相比较，*，$P<0.017$；与 OVX 组相比较，**，$P<0.017$

表 2　雌激素对卵巢切除大鼠体重的影响（单位：g）（$\bar{x}\pm s$）

| 组别 | n | 术前 | 手术后 10 d（用药前） | 手术后 40 d（用药后） |
|---|---|---|---|---|
| Sham | 7 | 183.30 ± 6.45 | 209.70 ± 5.40 | 241.60 ± 5.77 |
| OVX | 7 | 182.00 ± 4.65 | 217.40 ± 7.59* | 259.60 ± 13.87* |
| OVX+$E_2$ | 7 | 182.10 ± 4.99 | 218.10 ± 7.86** | 220.56 ± 17.57** |

注：与 sham 组相比较，*，$P<0.01$；与 OVX 组相比较，**，$P<0.01$

表 3 雌激素对卵巢切除大鼠血脂的影响（单位：nmol/L）（$n$=7，$\bar{x}\pm s$）

| 组别 | 甘油三脂 | TC | HDL | LDL |
|---|---|---|---|---|
| Sham | 0.714 ± 0.107 | 1.640 ± 0.203 | 1.070 ± 0.084 | 0.267 ± 0.043 |
| OVX | 0.666 ± 0.072 | 2.343 ± 0.131* | 1.337 ± 0.299 | 0.416 ± 0.030# |
| OVX+$E_2$ | 1.643 ± 0.598** | 1.327 ± 0.500** | 0.961 ± 0.510 | 0.214 ± 0.057## |

注：与 *sham* 组相比较，*，$P<0.017$；与 OVX 组相比较，** ，$P<0.017$；与 *sham* 组相比较，#，$P<0.05$；与 OVX 组相比较，**，$P<0.05$

表 4 雌激素对卵巢切除大鼠血清瘦素、抵抗素的影响（$n$=7，$\bar{x}\pm s$）

| 组别 | $n$ | 瘦素（pg/mL） | 抵抗素（ng/mL） |
|---|---|---|---|
| Sham | 7 | 274.66 ± 26.31 | 4.51 ± 0.937 |
| OVX | 7 | 273.84 ± 29.20 | 4.28 ± 0.518 |
| OVX+E2 | 7 | 256.94 ± 15.98 | 4.27 ± 0.339 |

察到的结果一致。

瘦素主要由白色脂肪组织分泌，能调节摄食和能量消耗，通过瘦素受体 b(obRb)抑制脂类的合成。Oral 等[7]证实瘦素能有效改善脂肪代谢障碍或先天性瘦素缺乏患者的代谢紊乱。在体外，雌激素能诱导脂肪细胞瘦素 mRNA 表达增高[8]，促进脂肪细胞合成和分泌瘦素。体内实验的结果存在一定差异。有研究发现，绝经后妇女[9]和卵巢切除大鼠[6]血清瘦素水平升高，但卵巢切除大鼠补充雌激素虽然能降低体重，但瘦素水平仍高，认为瘦素可能受雌激素影响；而 Shimizu 等[10]研究发现，卵巢切除大鼠瘦素水平降低，补充雌激素能逆转这种现象；Bednarek 等[11]研究发现，绝经前和绝经后女性血清瘦素水平相差不大，即使补充雌激素也无明显改变，认为雌激素与瘦素水平无关。

抵抗素是脂肪组织生成的反馈调节因子，有抵抗胰岛素的作用，可使脂肪细胞对胰岛素刺激的葡萄糖摄取能力下降[12]。雌激素对抵抗素的影响研究结果也存在差异。Huang 等[13]研究发现，雌激素在体内体外都抑制抵抗素 mRNA 的表达，认为雌激素是抵抗素的负调节子。而最近研究发现，在整个月经周期，抵抗素水平没有出现明显变化[14]，卵巢切除女性手术前后，以及手术后补充雌激素，都没有发现血清抵抗素的改变[15]。我们观察到大鼠卵巢切除后 40 d，无论卵巢切除组还是补充外源性雌激素组，血清瘦素、抵抗素水平没有明显改变。

研究结果的差异可能与研究时所取样本的时间有关。Chu 等[16]对卵巢切除大鼠进行了动态观察，研究发现，大鼠卵巢切除后血清瘦素浓度逐渐下降，至第 7 周下降到几乎检测不到的水平。随后，其浓度开始升高，至 13 周已高于术前。脂肪细胞分泌的细胞因子的变化可能与雌激素缺乏时间的长短、体内脂肪含量的变化有关。

我们研究发现，由于雌激素的缺乏，卵巢切除大鼠体重增加，血脂代谢紊乱，补充雌激素可以部分改善这种状况，但雌激素缺乏或补充外源性雌激素都不影响血清瘦素和抵抗素水平。提示，雌激素可能不是通过影响血清瘦素、抵抗素表达来调节代谢。

## 参 考 文 献


[1] Lee G G, Carr M C, Murdoch S J, et al. Adipokines, inflammation, and visceral adiposity across the menopausal transition: a prospective study[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2009, 94(4): 1104–1110.

[2] Tamakoshi K, Yatsuya H, Wada K, et al. The transition to menopause reinforces adiponectin production and its contribution to improvement of insulin-resistant state[J]. Clin Endocrinol, 2007, 66(1): 65–71.

[3] Chu M C, Cosper P, Orio F, et al. Insulin resistance in postmenopausal women with metabolic syndrome and the measurements of adiponectin, leptin, and ghrelin[J]. Am J Obstet Gynecol, 2006, 194(1): 100–104.

[4] Clegg D J, Brown L M, Woods S C, et al. Gonadal hormones determine sensitivity to central leptin and insulin[J]. Diabetes, 2006, 55(4): 978–987.

[5] Misso M L, Jang C, Adams J, et al. Differential expression of factors involved in fat metabolism with age and the menopause transition[J]. Maturitas, 2005, 51(3): 299–306.

[6] Pantaleão T U, Mousovich F, Rosenthal D, et al. Effect of serum estradiol and leptin levels on thyroid function, food intake and body weight gain in female Wistar rats[J]. Steroids, 2010, 75(10): 638–642.

[7] Oral E A. Leptin-replacement therapy for lipodystrophy[J]. N Engl J Med, 2002, 346(8): 570–578.

[8] Tanaka M, Nakaya S, Kumai T, et al. Effects of estrogen on serum leptin levels and leptin mRNA expression in adipose tissue in rats[J]. Horm Res, 2001, 56(3–4): 98–104.

[9] Matvienko O A, Alekel D L, Genschel U, et al. Appetitive hormones, but not isoflavone tablets, influence overall and central adiposity in healthy postmenopausal woman[J]. Menopause, 2010, 17(3): 1–8.

[10] Shimizu H, Shimomura Y, Nakanishi Y, et al. Estrogen increases in vivo leptin production in rats and human subjects[J]. Journal of Endocrinology, 1997, 154(2): 285–292.

[11] Bednarek T G, Filus A, Kuliczkowska P J, et al. Serum leptin concentrations in pre- and postmenopausal women on sex hormone therapy[J]. Gynecol Endocrinol, 2006, 22(4): 207–212.

[12] Steppan C M, Bailey S T, Bhat S, et al. The hormone resistin links obesity to diabetes[J]. Nature, 2001, 409(6818): 307–312.

[13] Huang S W, Seow K M, Ho L T, et al. Resistin mRNA levels are downregulated by estrogen in vivo and in vitro[J]. FEBS Letters, 2005, 579: 449–454.

[14] Chalvatzas N, Dafopoulos K, Kosmas G, et al. Effect of ovarian hormones on serum adiponectin and resistin concentrations[J]. Fertil Steril, 2009, 91(4): 1189–1194.

[15] Dafopoulos K, Sourlas D, Kallitsaris A, et al. Blood ghrelin, resistin, and adiponectin concentrations during the normal menstrual cycle[J]. Fertil Steril, 2009, 92(4): 1389–1394.

[16] Chu S C, Chou V C, Liu J V, et al. Fluctuation of serum leptin level in rats after ovariectomy and the influence of estrogen supplement[J]. Life Sci, 1999, 64(24): 2299–2306.


（责任编辑：张学颖）