

雌激素对雌性大鼠糖脂代谢和心脏结构的影响

刘梦兰,黄琼,薛一,张媛媛,李璐,刘云*

(南京医科大学第一附属医院老年医学科,江苏 南京 210029)

[摘要] 目的:探讨高脂饮食和雌激素对雌性大鼠糖脂代谢和心脏结构的影响。方法:测定高脂饮食、去势后高脂饮食及去势后注射雌激素并高脂饮食 3 组雌性大鼠的体重变化、腹腔内脂肪重量、血糖及胰岛胰岛素水平、血清雌二醇及血脂水平。心脏彩超检测大鼠心脏结构相关指标,心脏组织 HE 染色后显微镜下观察组织变化。结果:雌激素水平与肥胖程度呈负相关,雌激素可降低大鼠空腹血糖,改善胰岛素抵抗,降低血清总胆固醇含量,保护心肌细胞减轻变性坏死。结论:雌激素可有效改善由肥胖所致的胰岛素抵抗和脂代谢异常,保护心脏的结构。

[关键词] 雌激素;肥胖;心脏彩超;HE 染色

[中图分类号] R589

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2014)07-894-04

doi:10.7655/NYDXBNS20140708

Effects of estrogen on glucolipid metabolism and cardiac structure of female rats

Liu Menglan, Huang Qiong, Xue Yi, Zhang Yuanyuan, Li Lu, Liu Yun*

(Department of Geratology, the First Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of high fat diet and estrogen on cardiac structure and glucolipid metabolism. **Methods:** The rats were divided into 3 groups, the high-fat diet group, the ovariectomy and high-fat diet group and the ovariectomy and estrogen injection group. The change of body weight, visceral fat weight, blood glucose and blood insulin levels, serum estradiol and serum lipid levels were measured. Echocardiography was performed to evaluate the related indexes of cardiac structure. The histomorphological changes in hearts were observed under microscope by using hematoxylin-eosin (HE) staining. **Results:** Estrogen was negatively correlated with the degree of obesity; it can reduce fasting blood glucose and improve insulin resistance; it also decreased serum total cholesterol, protected myocardial cells by mitigating the degeneration and necrosis. **Conclusion:** Estrogen can effectively improve obesity-induced insulin resistance and abnormal lipid metabolism and protect heart structure.

[Key words] estrogen; obesity; echocardiography; hematoxylin-eosin (HE) staining

[Acta Univ Med Nanjing, 2014, 34(07): 894-897, 903]

国内外研究证实,绝经前妇女心血管事件发生率明显低于男性,绝经后妇女心血管事件发生率明显增高,雌激素替代治疗可明显减少绝经后妇女心血管事件发生率^[1]。雌激素能在短期内降低绝经后妇女空腹血清葡萄糖和胰岛素水平,提高胰岛素敏感性,缓解胰岛素抵抗综合征,并使绝经后妇女的心血管疾病发生率减少 35%~50%^[2-3]。雌激素替代治

疗不仅能预防绝经后妇女冠心病的发生,而且可以明显改善冠心病、心力衰竭妇女(绝经后)的心血管功能,降低病死率^[4-5]。另外,肥胖也与多种心血管疾病密切相关;体质指数(BMI)每增加一个标准差,心血管事件在男女性别分别增加 15%和 22%^[6]。由此可见雌激素和肥胖与心脏功能密切相关。本文就肥胖及雌激素对心脏结构功能的影响进行研究与探讨。

1 材料和方法

1.1 材料

6 周龄健康雌性 SPF 级 SD 大鼠购于江苏省医药动物实验基地[许可证号 SYXK(苏)2008-0007]。高脂饮食购自加拿大 New Brunswick 饮食研究所

[基金项目] 国家自然科学基金(81070684);江苏省科技支撑项目(BE2011802);上海市糖尿病重点实验室开放课题(SHKLD-KF-1105);南京医科大学第一附属医院创新团队工程

*通信作者(Corresponding author), E-mail: liuyun@njmu.edu.cn

(蛋白质占 20%、碳水化合物 35%、脂肪 45%)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及处理

18 只 SD 大鼠随机分为 3 组,每组 6 只。I 组:假手术高脂饮食组,手术切开皮肤,暴露但保留卵巢,术后 2 周给予高脂饮食;II 组:双侧卵巢切除加高脂饮食组,手术摘除双侧卵巢,术后 2 周给予高脂饮食;III 组:双侧卵巢切除加高脂饮食并给予雌激素组,手术摘除双侧卵巢,术后 2 周给予高脂饮食,并于颈部皮下注射苯甲酸雌二醇注射液(1 ml:1 mg)80 ng/(g·d),术后 2 周给予高脂饮食。所有动物在 SPF 级条件下饲养。实验进行的 12 周内每周称重 2 次,12 周后处死,处死前 2 周进行糖耐量试验。处死后取大鼠各组织,分别以 10%福尔马林固定制作蜡块用于 HE 染色或免疫组化,或保存于-80℃备用。

1.2.2 大鼠心脏超声心动仪检测

所有大鼠在处死前麻醉后采用 VisualSonics Vevo2100 小动物专用高频彩色超声显像仪,由专业人员操作,测量左室舒张末期和收缩末期内径(LVIDd、LVIDs),左心室后壁舒张末期和收缩末期厚度(LVPWd、LVPWs)和心室间隔舒张末期和收缩末期厚度(IVSd、IVSs),取 3 个心动周期平均值。

1.2.3 大鼠葡萄糖耐量试验

所有大鼠禁食 12 h 后在清晨空腹取内眦静脉血 0.5 ml。于腹腔注射 5%葡萄糖(2 g/kg 大鼠体重)后分别于 15、30、60、120 min 取鼠尾血,采用血糖仪测量血糖,同时取内眦静脉血 0.5 ml,采用放免法测定胰岛素水平。

1.2.4 血脂和雌二醇检测

大鼠饲养 12 周后处死,收集血液,分离血清,存于-20℃冰箱中,1 周内测量其生化指标。采用 Olympus AU5400 全自动生化分析仪检测其生化指标如血清总胆固醇(TC)、血清甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C);用天津市协和医药科技有限公司雌二醇放免药盒测定雌二醇水平。

1.2.5 大鼠心脏 HE 染色

摘取心脏,用生理盐水洗净血液后,取大鼠心肌切成小块,迅速放入 10%福尔马林固定 24~48 h,在全自动染色机上进行常规 HE 染色。中性树胶封片,在显微照像系统下观察拍照。

1.3 统计学方法

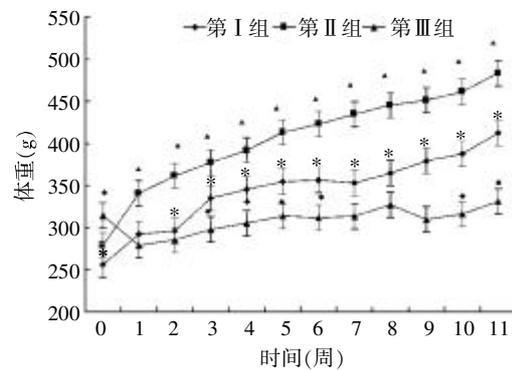
所得数据用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,应用 SPSS 软件包进行 *t* 检验及方差分析。 $P \leq 0.05$ 被认

为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠体重变化和腹腔内脂肪重量比较

术前,III 组大鼠体重略高于其他两组(图 1)。手术后,I 组体重明显增加,证明高脂喂养诱导肥胖模型建立成功;II 组组体重逐渐增加,增加幅度明显高于其他两组;III 组体重则趋于稳定,体重明显低于 I 组。大鼠内脏脂肪重量与体重正相关,即 II 组明显高于其他两组,而 III 组最低(表 1)。



I 组和 II 组比较,* $P < 0.05$; II 组和 III 组比较,# $P < 0.05$; I 组和 III 组比较,◆ $P < 0.05$ ($n = 6$)。

图 1 手术后各组大鼠体重变化

Figure 1 Change of weight in three groups of rats after surgery

2.2 各组大鼠雌激素含量的比较

II 组的雌激素含量明显低于 I 组,而 III 组的雌激素含量远高于 I 组,可见去势手术建模成功(表 1)。

2.3 各组大鼠血糖和胰岛素含量的变化

注射葡萄糖之前 III 组大鼠空腹血糖明显低于 I 组和 II 组($P < 0.05$,表 1),注射葡萄糖 15 min 后 3 组大鼠血糖均明显升高(图 2),升幅为 I 组 > II 组 > III 组,3 组均于 30 min 达到最高值后开始下降,I 组降幅最大,III 组降幅平缓,2 h 后 I 组和 II 组血糖水平低于 III 组。注射葡萄糖之前 III 组大鼠胰岛素水平低于 I 组和 II 组,III 组大鼠在注射葡萄糖 2 h 内胰岛素稳定释放,未有较大波动。I 组大鼠胰岛素的释放则呈上升的趋势,且胰岛素水平远高于 III 组。II 组大鼠胰岛素的释放在 30 min 内与 I 组平行,而在 1 h 时明显升高,于 2 h 时下降但仍高于 I 组(图 3)。

2.4 各组大鼠血脂的比较

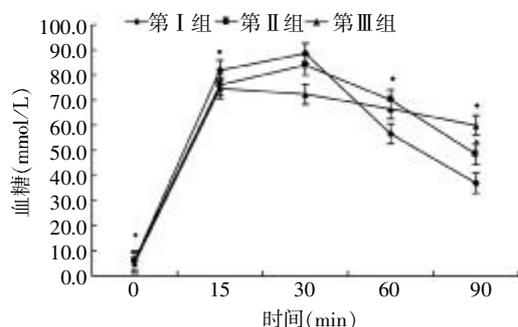
3 组大鼠总胆固醇无明显差异(表 1);I 组大鼠 LDL-C 含量明显低于 II 组和 III 组($P < 0.05$),而 III 组则略低于 II 组;I 组大鼠 HDL-C 及甘油三酯含量略

表1 3组大鼠生化指标的比较

Table 1 Comparison of biochemical indexes among three groups of rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)

指标	I组	II组	III组
脂肪重量(g)	28.4 ± 8.7	46.6 ± 10.7*	12.6 ± 7.2* [▲]
雌二醇(pg/ml)	100.8 ± 44.5	33.9 ± 11.8*	1 266.5 ± 357.6* [▲]
空腹血糖(mmol/L)	6.2 ± 0.5	6.4 ± 0.7	5.2 ± 0.5* [▲]
总胆固醇(mmol/L)	2.23 ± 0.41	2.29 ± 0.30	2.23 ± 0.42
甘油三酯(mmol/L)	1.41 ± 0.90	1.11 ± 0.58	0.92 ± 0.43
高密度脂蛋白胆固醇(mmol/L)	1.44 ± 0.26	1.39 ± 0.21	1.32 ± 0.27
低密度脂蛋白胆固醇(mmol/L)	0.17 ± 0.06	0.31 ± 0.13*	0.30 ± 0.18*

与I组比较,* $P < 0.05$;与II组比较,[▲] $P < 0.05$ 。



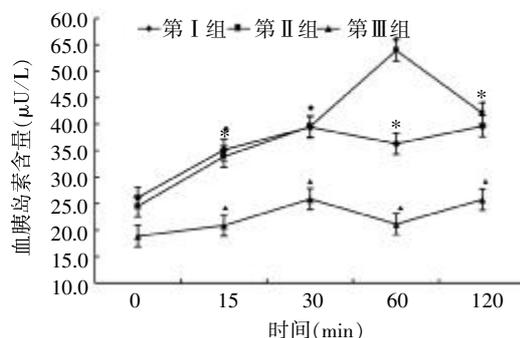
I组和II组比较,* $P < 0.05$;II组和III组比较,[▲] $P < 0.05$;I组和III组比较,[◆] $P < 0.05(n = 6)$ 。

图2 腹腔注射葡萄糖耐量试验后各组雌鼠血糖含量的变化
Figure 2 Change of blood glucose levels among three groups of rats after IGTT

高于II组,II组又略高于III组。

2.5 各组大鼠心脏彩超结果的比较

3组雌性大鼠心脏LVIDd、LVIDs、LVPWd、LVPWs、IVSd、IVSs数值如表2所见,经统计学处理



I组和II组比较,* $P < 0.05$;II组和III组比较,[▲] $P < 0.05$;I组和III组比较,[◆] $P < 0.05(n = 6)$ 。

图3 腹腔注射葡萄糖耐量试验后各组雌鼠胰岛素含量变化
Figure 3 Change of insulin levels among three groups of rats after IGTT

后II组LVPWd、IVIDs较I组明显降低($P < 0.05$),III组较II组LVSs明显降低($P < 0.05$)、IVIDs明显升高($P < 0.05$),III组LVSd、LVPWd、LVSs较I组明显降低($P < 0.05$)。

表2 3组大鼠心脏超声心动图比较

Table 2 Comparison of echocardiography among three groups of rats (mm, $\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	IVSd	LVIDd	LVPWd	IVSs	LVIDs	LVPWs
I组	2.13 ± 0.24	6.70 ± 0.50	2.43 ± 0.26	3.17 ± 0.76	4.12 ± 0.18	3.04 ± 0.26
II组	1.99 ± 0.29	6.33 ± 0.68	2.10 ± 0.16*	3.17 ± 0.61	3.50 ± 0.58*	2.91 ± 0.10
III组	1.82 ± 0.27*	6.42 ± 0.68	2.09 ± 0.18*	2.76 ± 0.43* [▲]	3.96 ± 0.82 [▲]	2.82 ± 0.44

与I组比较,* $P < 0.05$;与II组比较,[▲] $P < 0.05$ 。

2.6 各组大鼠心脏HE染色病理检查结果

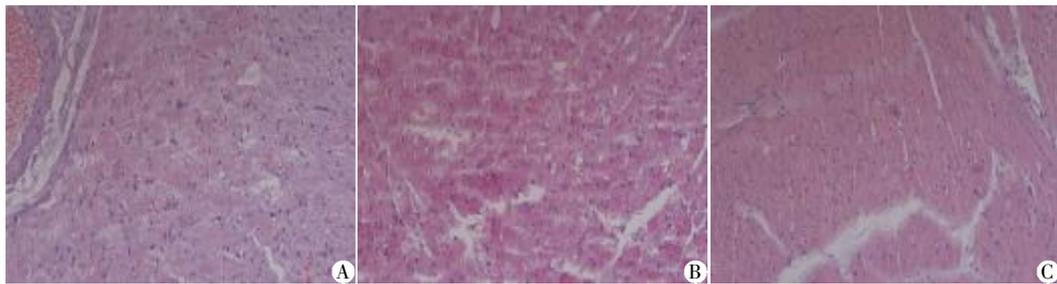
I组心肌细胞有明显轻到中度的脂肪变性;II组心肌细胞的脂肪变性更加明显,为中到重度,肌原纤维走向不规则,结构紊乱,心肌细胞有断裂,部分肌丝甚至局部溶解,心肌结构模糊,并且局部有坏死;III组心肌细胞脂肪变性不明显,心肌细胞肌原纤维较II组排列整齐(图4)。

3 讨论

肥胖是由能量摄入和支出不平衡所引起的,由

多种因素如基因、行为和环境等互相作用而致^[7-8]。大量文献证实雌激素对于女性体重的维持起着至关重要的作用。雌激素大幅降低的绝经期是女性心血管病变、代谢综合征和阿尔兹海默症等疾病高发的年龄段^[9]。心血管系统作为雌激素的靶器官之一,受到雌激素多方面影响,雌激素可以直接作用于心肌,调节心肌细胞代谢,增强心肌功能^[10],此外雌激素还通过参与全身脂代谢、糖代谢等途径影响心血管功能^[11]。

本研究结果显示在相同高脂饮食条件下,去势



A: I 组高脂饮食大鼠心肌细胞有轻度的脂肪变性;B: II 组高脂饮食切除卵巢大鼠心肌细胞的脂肪变性更加明显,心肌细胞有断裂,心肌结构模糊,并且局部有坏死;C: III 组高脂饮食切除卵巢并注射雌激素大鼠心肌细胞脂肪变性不明显。

图 4 各组大鼠心脏 HE 染色病理检查结果(HE 染色,×200)

Figure 4 The pathological results of heart (HE staining,×200)

组大鼠与对照组大鼠相比体重显著升高,而去势组大鼠在给予雌激素替代后体重大幅度下降甚至低于正常组。这说明肥胖和雌激素的缺失是密切相关的,且雌激素可以有效逆转高脂饮食诱导的肥胖。由图 1 和表 1 可以看出雌激素和肥胖呈负相关。另外,有研究证明雌激素可通过过氧化物酶体增殖物激活受体(PPARs)间接调节、逆转胰岛素抵抗,稳定葡萄糖水平^[12]。本实验的 IPGTT 结果显示,去势组大鼠腹腔注射葡萄糖后胰岛素释放高峰延迟且水平降低,证明补充雌激素可以改善大鼠胰岛功能,逆转可能与肥胖相关的胰岛素抵抗。实验结果支持文献观点。雌激素还可作用于雌激素受体抑制脂蛋白酶转录,减少脂肪酸的吸收,降低血清总胆固醇和低密度脂蛋白,具有保护心脏功能的作用^[13]。心血管疾病的主要高危因素为低密度脂蛋白水平的升高^[14],而由表 1 可见雌激素则可以明显降低雌性大鼠的总胆固醇水平及低密度脂蛋白水平。雌激素降低导致的血脂代谢紊乱既可引起肥胖,又导致心血管疾病的发生。另外,雌激素对血管壁有保护作用,促进血管内皮细胞释放一氧化氮或通过乙酰胆碱的作用调节内皮细胞,使血管壁产生内皮依赖性舒张,缓解冠状动脉痉挛,同时降低血压及心率^[15]。更有意义的是通过超声心动图观察心室内径、室壁厚度等左室形态指标,本研究发现雌激素可以抑制肥胖大鼠发生心脏重构。在一定程度内心肌肥大是维持心室功能的重要代偿机制,但过度的心肌肥大最终可导致心力衰竭,雌激素可通过雌激素受体抑制心肌肥大从而改善心血管功能^[16]。从本研究的 HE 染色可见长期缺乏雌激素能导致心肌细胞结构紊乱,而雌激素替代能逆转心肌细胞的脂肪变性及坏死,具有明显改善心脏结构的功能。

综上所述,雌激素可有效改善由肥胖所致的胰

岛素抵抗和脂代谢异常,保护心脏结构。

[参考文献]

- [1] 贾真,孙明,顾复生. 绝经后冠心病患者及正常妇女尼尔雌醇替代治疗的观察[J]. 中华心血管病杂志, 1999,27(5):346-348
- [2] Munoz J, Derstine A, Gower BA. Fat distribution and insulin sensitivity in postmenopausal women: influence of hormone replacement[J]. *Obes Res*, 2002,10(6):424-431
- [3] Limacher MC. Hormones and heart disease: what we thought, what we have learned, what we still need to know [J]. *Trans Am Clin Climatol Assoc*, 2002,113(1):31-40
- [4] Blümel JE, Castelo-Branco C, Leal T, et al. Effects of transdermal estrogens on endothelial function in postmenopausal women with coronary disease [J]. *Climacteric*, 2003,6(1):38-44
- [5] Knopp RH, Aikawa K, Knopp EA. Estrogen therapies, lipids, and the heart disease prevention controversy [J]. *Curr Cardiol Rep*, 2003,5(6):477-482
- [6] Kim KS, Owen WL, Williams D, et al. A comparison between BMI and Conicity index on predicting coronary heart disease: the Framingham Heart Study [J]. *Ann Epidemiol*, 2000,10(7):424-431
- [7] Newbold RR, Padilla-Banks E, Jefferson WN. Environmental estrogens and obesity [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2009,304(1-2):84-89
- [8] Goulart AC, Zee RYL, Rexrode KM. Estrogen receptor 1 gene polymorphisms and decreased risk of obesity in women [J]. *Metabolism*, 2009,58(6):759-764
- [9] Saunier EF, Vivar OI, Rubenstein A, et al. Estrogenic plant extracts reverse weight gain and fat accumulation without causing mammary gland or uterine proliferation [J]. *PLoS One*, 2011,6(12):e28333
- [10] Yildirim A, Yarali H, Aybar F, et al. Hormone replacement therapy to improve left ventricular diastolic functions in

(下转第 903 页)

- kinase (ROCK) leads to increased cerebral blood flow and stroke protection [J]. *Stroke*, 2005, 36 (10): 2251-2257
- [7] Hara M, Takayasu M, Watanabe K, et al. Protein kinase inhibition by fasudil hydrochloride promotes neurological recovery after spinal cord injury in rats [J]. *J Neurosurg*, 2000, 93(1 Suppl): 94-101
- [8] Mikawa K, Nishina K, Takao Y, et al. ONO-1714, a nitric oxide synthase inhibitor, attenuates endotoxin-induced acute lung injury in rabbits [J]. *Anesth Analg*, 2003, 97 (6): 1751-1755
- [9] Duan Y, Learoyd J, Meliton AY, et al. Inhibition of Pyk2 blocks lung inflammation and injury in a mouse model of acute lung injury [J]. *Res Rese*, 2012, 13(1): 4
- [10] Bokoch GM. Regulation of innate immunity by Rho GTPases [J]. *Trends Cell Biol*, 2005, 15(3): 163-171
- [11] Kunkel SL, Standiford T, Kasahara K, et al. Interleukin-8 (IL-8): the major neutrophil chemotactic factor in the lung [J]. *Exp Lung Res*, 1991, 17(1): 17-23
- [12] Ding RY, Zhao DM, Zhang ZD, et al. Pretreatment of Rho kinase inhibitor inhibits systemic inflammation and prevents endotoxin-induced acute lung injury in mice [J]. *J Surg Res*, 2011, 171(2): e209-214
- [13] Bao W, Hu E, Tao L, et al. Inhibition of Rho-kinase protects the heart against ischemia/reperfusion injury [J]. *Cardiovasc Res*, 2004, 61(3): 548-558
- [14] Shiotani S, Shimada M, Suehiro T, et al. Involvement of Rho-kinase in cold ischemia-reperfusion injury after liver transplantation in rats [J]. *Transplantation*, 2004, 78(3): 375-382
- [15] Bourgie C, Haydont V, Milliat F, et al. Inhibition of Rho kinase modulates radiation induced fibrogenic phenotype in intestinal smooth muscle cells through alteration of the cytoskeleton and connective tissue growth factor expression [J]. *Gut*, 2005, 54(3): 336-343
- [16] Satoh S, Utsunomiya T, Tsurui K, et al. Pharmacological profile of hydroxy fasudil as a selective rho kinase inhibitor on ischemic brain damage [J]. *Life Sci*, 2001, 69 (12): 1441-1453
- [17] Abe K, Shimokawa H, Morikawa K, et al. Long-term treatment with a Rho-kinase inhibitor improves monocrotaline-induced fatal pulmonary hypertension in rats [J]. *Circ Res*, 2004, 94(3): 385-393
- [收稿日期] 2013-10-31

(上接第 897 页)

- healthy postmenopausal women [J]. *Int J Gynaecol Obstet*, 2001, 75(3): 273-278
- [11] 王美莲, 钟华绣, 孙丽洲, 等. 两种结合雌激素对改善绝经期综合征的临床观察 [J]. *南京医科大学学报: 自然科学版*, 2007, 27(9): 989-1004
- [12] 丁 昉, 石凤英, 刘邦忠, 等. 卵巢切除对大鼠肥胖评定指数与血糖的影响 [J]. *复旦学报: 医学版*, 2005, 32 (4): 495-496
- [13] 王 懿, 刘彩玲. 雌激素和雌激素受体在脂肪组织中的作用 [J]. *国外医学妇幼保健分册*, 2003, 14(2): 94-95
- [14] Erhardt LR, Hobbs FD. A global survey of physicians' perceptions on cholesterol management: the From The Heart study [J]. *Int J Clin Pract*, 2007, 61(7): 1078-1085
- [15] Ceballos C, Ribes C, Amado JA, et al. Venous endothelial function in postmenopausal women who are receiving long-term estrogen and progestagen therapy [J]. *Fertil Steril*, 2000, 74(2): 268-273
- [16] 刁爱芹, 阙伶俐, 任丹阳, 等. 17 β -雌二醇对体外机械牵张诱导心肌细胞肥大的影响 [J]. *南京医科大学学报: 自然科学版*, 2011, 31(7): 976-980
- [收稿日期] 2013-06-21