

多囊卵巢综合征患者血清 Orexin A 水平变化及意义

宣 蓉¹ 胡红琳¹ 方朝晖² 代 芳¹ 丁 璐¹ 杜 娟¹ 王长江¹

摘要 目的 观察多囊卵巢综合征(PCOS)患者空腹血清 Orexin A(OXA)水平的变化,探讨其在PCOS发生和发展中的意义。方法 选取57例PCOS患者(PCOS组)和56例月经正常的健康女性(对照组)作为研究对象,按照身体质量指数(BMI) $\geq 24 \text{ kg/m}^2$ 或 $< 24 \text{ kg/m}^2$ 分别将PCOS组和对照组分为超重/肥胖(PCOS-OW/OB, Control-OW/OB)亚组和正常体重(PCOS-NW, Control-NW)亚组。检测各组血三酰甘油(TG)、胆固醇(TC)、高密度脂蛋白(HDL)、低密度脂蛋白(LDL)、空腹血糖(FBG)、餐后2 h血糖(P2hBG)、空腹胰岛素(FINS)、餐后2 h胰岛素(P2hINS)、黄体生成素(LH)、卵泡刺激素(FSH)、睾酮(T)以及血清OXA水平;测量身高、体重、腰围(WC)、臀围;并计算BMI、腰臀比(WHR)、LH/FSH及稳态模型胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)。结果 PCOS组空腹血清OXA水平明显低于对照组($P < 0.01$);PCOS和对照组中,OW/OB亚组OXA水平均低于NW亚组($P < 0.05$)。PCOS组中血清OXA水平与BMI、WC、WHR、LH、LH/FSH、FBG、P2hBG、FINS、HOMA-IR呈负相关($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。校正年龄和BMI后,血清OXA水平仍与LH、LH/FSH、FBG、P2hBG、HOMA-IR呈负相关($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。多元逐步回归分析显示:HOMA-IR、LH和P2hBG是影响OXA水平的重要因素。二分类Logistic回归分析提示,OXA是PCOS发生的保护因素。结论 OXA可能参与了PCOS的发生和发展。

关键词 多囊卵巢综合征; Orexin A; 肥胖; 胰岛素抵抗

中图分类号 R 711.75

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2014)02-0218-04

多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome, PCOS)是青春期和育龄期女性常见的生殖内分泌疾病,其患病率占生育期妇女的4%~12%,占不孕妇女的15%~20%,占不排卵妇女的75%~80%。PCOS的主要特征是长期无排卵、月经不调、雄激素过高和卵巢多囊样改变,肥胖和胰岛素抵抗也是PCOS的主要临床表现。PCOS患者远期发生2型糖尿病

和心血管疾病风险增高,越来越多的研究关注PCOS患者代谢紊乱相关的并发症。Orexin A(OXA)是下丘脑分泌的具有33个氨基酸的神经肽,具有广泛的生理作用,参与摄食、能量代谢和胰岛素分泌的调节,同时还参与下丘脑-垂体-性腺轴的调节。该研究通过检测PCOS患者血清OXA的水平,初步探讨血清OXA水平与PCOS的发生及发展的关系。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取2012年5月~12月于我院内分泌及生殖中心门诊就诊的PCOS患者作为PCOS组,共57例。选取56例年龄匹配、月经周期正常的健康女性作为对照组。按照身体质量指数(BMI) $\geq 24 \text{ kg/m}^2$ 或 $< 24 \text{ kg/m}^2$ 将PCOS组分为超重/肥胖(PCOS-OW/OB, $n = 39$)亚组和正常体重(PCOS-NW, $n = 18$)亚组,对照组也分为超重/肥胖(Control-OW/OB, $n = 27$)亚组和正常体重(Control-NW, $n = 29$)亚组。所有研究对象纳入研究前未服用影响性激素、血糖、胰岛素和血脂代谢的药物,均排除感染性疾病、库欣综合征、甲状腺疾病、先天性肾上腺增生、高泌乳素血症等疾病。PCOS的诊断标准以2003年10月欧洲人类生殖学会和美国生殖医学学会于荷兰鹿特丹会议上修订的PCOS诊断标准为依据^[1]。

1.2 主要仪器 血糖测定采用葡萄糖氧化酶法(Biosen C-line 葡萄糖分析仪,购自德国EKF公司);采用化学发光法测定胰岛素(ADVIA Centaur XP 全自动免疫分析仪,购自德国西门子公司)及黄体生成素(LH)、卵泡刺激素(FSH)、睾酮(T)(Uni-Cel DXI 800 分析仪,购自美国贝克曼库尔特公司);血脂测定采用酶比色法(全自动生化分析仪,购自德国罗氏诊断公司);空腹血清OXA水平测定采用ELISA法(试剂盒购自美国R&D公司)。

1.3 标本采集及试验方法 所有研究对象均在月经第2~5天(月经稀发和闭经者时间不限)清晨空腹(禁食12~14 h)行75 g葡萄糖耐量试验,分别抽取0、30、60及120 min静脉血5 ml,离心后收集血清, -80℃冰箱冻存备用。检测指标包括:空腹血糖(FBG)、餐后2 h血糖(P2hBG)、空腹胰岛素

2013-08-02 接收

基金项目 安徽医学院中医药管理局重点学科-中医内分泌学科
开放基金(编号:2011nfmk004)

作者单位:¹安徽医科大学第一附属医院内分泌科,合肥 230022

²安徽中医药大学第一附属医院内分泌科,合肥 230038

作者简介 宣 蓉,女,硕士研究生;

王长江,男,主任医师,硕士生导师,责任作者, E-mail: chjw82@126.com

(FINS)、餐后 2 h 胰岛素(P2hINS)、LH、FSH、T、三酰甘油(TG)、胆固醇(TC)、高密度脂蛋白(HDL)、低密度脂蛋白(LDL)及血清 OXA 水平。所有研究对象于试验日晨空腹进行身高、体重、腰围(WC)及臀围的测定。计算 BMI = 体重(kg)/身高²(m²)。腰臀比(WHR) = 腰围(cm)/臀围(cm)。稳态模型评估的胰岛素抵抗指数(HOMA-IR) = FBG(mmol/L) × FINS(mIU/L)/22.5。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析。正态分布的数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,非正态分布资料以中位数(四分位数间距)表示,且非正态分布资料经 log 转化后进行比较。4 个亚组间比较采用单因素方差分析;指标间的关系判定采用直线相关分析及多元逐步回归分析。二分类 Logistic 回归分析,分析 OXA 水平对 PCOS 患病的影响。

2 结果

2.1 各亚组间一般资料及临床生化指标比较 PCOS-NW 组 LH、LH/FSH、P2hINS、HOMA-IR 水平高于 Control-NW 组($P < 0.05$, $P < 0.01$)。PCOS-OW/OB 组 LH、LH/FSH、T 水平高于 Control-OW/OB 组($P < 0.01$)。PCOS-OW/OB 组 BMI、WC、WHR、LDL、FINS、P2hINS、HOMA-IR 水平高于 PCOS-NW 组($P < 0.05$, $P < 0.01$)。Control-OW/OB 组 BMI、

WC、WHR、TG、LDL、FBG、P2hBG、FINS、P2hINS、HOMA-IR 水平高于 Control-NW 组($P < 0.05$, $P < 0.01$)。HDL 水平低于 Control-NW 组($P < 0.01$)。4 组的年龄、TC、FSH 差异无统计学意义,见表 1。

2.2 各亚组间血清 OXA 水平比较 Control-NW 组和 Control-OW/OB 组均明显高于 PCOS 对应组($P < 0.01$)。PCOS 和对照组中,OW/OB 亚组均低于 NW 亚组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),见表 1。

2.3 相关性分析 Pearson 相关性分析显示,PCOS 组空腹血清 OXA 水平与 BMI、WC、WHR、LH、LH/FSH、FBG、P2hBG、FINS、HOMA-IR 呈负相关($r = -0.388$, $r = -0.346$, $r = -0.267$, $r = -0.283$, $r = -0.298$, $r = -0.418$, $r = -0.404$, $r = -0.380$, $r = -0.421$, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。校正年龄和 BMI 后,血清 OXA 水平仍与 LH、LH/FSH、FBG、P2hBG、HOMA-IR 呈负相关($r = -0.313$, $r = -0.302$, $r = -0.353$, $r = -0.294$, $r = -0.267$, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

2.4 多元逐步回归分析 以血清 OXA 为因变量,以年龄、BMI、WC、LH、FSH、FBG、P2hBG、FINS、HOMA-IR 为自变量进行多元逐步回归分析,结果显示 HOMA-IR、LH 和 P2hBG 是影响 OXA 水平的重要因素。回归方程为 $OXA = 486.095 - 98.898 \times HOMA-IR - 3.625 \times LH - 11.76 \times P2hBG$,见表 2。

表 1 各组临床和实验室资料比较($\bar{x} \pm s$)

项目	PCOS-NW 组	PCOS-OW/OB 组	Control-NW 组	Control-OW/OB 组	F 值
例数(n)	18	39	29	27	
年龄(岁)	24.89 ± 2.87	24.95 ± 3.52	24.97 ± 2.87	26.59 ± 3.61	1.727
BMI(kg/m ²)	21.35 ± 1.67	27.59 ± 2.86**	20.81 ± 1.73	28.25 ± 2.70 ^{&&}	74.633
WC(cm)	77.67 ± 6.52	91.23 ± 7.09**	72.86 ± 6.28	93.52 ± 7.82 ^{&&}	59.403
WHR	0.85 ± 0.06	0.91 ± 0.04**	0.82 ± 0.05	0.90 ± 0.05 ^{&&}	26.304
TG [△] (mmol/L)	1.01(0.69, 1.51)	1.48(0.96, 2.05)	0.87(0.68, 1.18)	1.63(1.23, 2.09) ^{&&}	8.576
TC(mmol/L)	4.21 ± 0.96	4.73 ± 0.71	4.32 ± 0.66	4.65 ± 0.99	2.522
HDL(mmol/L)	1.38 ± 0.39	1.32 ± 0.34	1.58 ± 0.33	1.25 ± 0.31 ^{&&}	4.964
LDL(mmol/L)	2.27 ± 0.63	2.84 ± 0.64*	2.39 ± 0.58	2.92 ± 0.64 ^{&}	6.682
LH(IU/L)	14.81 ± 6.66	13.30 ± 6.50	5.70 ± 2.80**	5.74 ± 3.35 ^{##}	23.573
FSH(IU/L)	5.74 ± 1.27	5.29 ± 1.14	6.75 ± 2.65	5.73 ± 1.96	3.534
LH/FSH	2.58 ± 1.08	2.49 ± 0.96	0.85 ± 0.25**	0.99 ± 0.42 ^{##}	43.073
T(nmol/L)	1.86 ± 0.93	1.83 ± 0.66	1.26 ± 0.54	1.20 ± 0.50 ^{##}	8.348
FBG(mmol/L)	5.49 ± 0.41	5.80 ± 0.65	5.12 ± 0.47	5.70 ± 0.79 ^{&&}	7.491
P2hBG(mmol/L)	6.65 ± 1.59	7.57 ± 1.76	5.62 ± 1.31	7.63 ± 2.43 ^{&&}	8.089
FINS [△] (mIU/L)	11.36(8.38, 14.98)	22.94(16.66, 33.19)**	8.04(6.21, 10.31)	17.25(11.80, 27.07) ^{&&}	39.321
P2hINS [△] (mIU/L)	60.99(46.26, 80.31)	147.95(62.30, 196.97)*	40.00(20.85, 57.19)**	118.08(70.58, 168.13) ^{&&}	23.488
HOMA-IR [△]	2.78(2.00, 3.75)	6.50(3.95, 8.72)**	1.81(1.28, 2.34)*	3.92(3.10, 6.63) ^{&&}	38.691
OXA(ng/L)	327.13 ± 82.20	264.05 ± 58.71*	412.35 ± 89.78**	341.98 ± 78.37 ^{##&&}	21.313

与 PCOS-NW 组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 PCOS-OW/OB 组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与 Control-NW 组比较: [&] $P < 0.05$, ^{&&} $P < 0.01$; [△]为非正态分布资料,以中位数(四分位数间距)表示,经 log 转换后比较。

表2 PCOS 组多元逐步回归分析

项目	偏回归 系数	标准偏 回归系数	95% CI	t 值	P 值
常量	486.095	-	406.045 ~ 566.144	12.180	<0.001
HOMA-IR [△]	-98.898	-0.364	-163.024 ~ -34.772	-3.093	0.003
LH	-3.625	-0.326	-6.093 ~ -1.157	-2.946	0.005
P2hBG	-11.760	-0.282	-21.516 ~ -2.004	-2.418	0.019

注: △为经 log 转换后分析

2.5 二分类 Logistic 回归分析 以是否患有 PCOS 为因变量,将 OXA 按中位数(322 pg/ml)分为高水平组和低水平组(高水平组赋值为 1,低水平组赋值为 0)作为自变量。通过二分类 Logistic 回归分析,逐步校正年龄、BMI、WC、FBG、P2hBG、FINS、HOMA-IR 后可见,高 OXA 水平的人群与低 OXA 水平的人群相比,其 PCOS 发生率是减低的,见表 3。

表3 二分类 Logistic 回归分析

模型	校正	OR (95% CI)	P 值
1	-	0.170(0.076 ~ 0.383)	<0.001
2	年龄、BMI、WC	0.175(0.072 ~ 0.424)	<0.001
3	年龄、BMI、WC、FBG、 P2hBG、FINS、HOMA-IR	0.242(0.093 ~ 0.630)	0.004

3 讨论

PCOS 虽然是育龄期女性常见的内分泌疾病,但其具体病因仍不明确。胰岛素抵抗可能是 PCOS 发病的关键。OXA 首次于大鼠下丘脑腹外侧被发现^[2],主要分布于下丘脑外侧区和穹窿周围核,OXA 及其受体在外周组织也有少量表达。动物实验^[3]表明,将 OXA 分别注入脑室、室旁核、背侧内核、外侧下丘脑和穹窿周区,均可呈剂量依赖性增加进食。Szekely et al^[4]也发现脑室内注射 OXA 可增加摄食,但这种作用是暂时的,不可能导致肥胖。Novak et al^[5]发现予下丘脑室旁核注射 OXA 可使 SD 大鼠摄食增加,体力活动增加,体温升高,能量消耗显著增加,体质量较对照组明显降低。这说明 OXA 通过能量消耗而非能摄入来影响能量平衡。Adam et al^[6]发现肥胖个体中 OXA 的水平是下降的,血浆 OXA 水平与 BMI 呈负相关。Yilmaz et al^[7]发现,PCOS 患者 OXA 水平较健康对照者减少。该研究与其结果基本一致,虽然血清 OXA 水平的降低导致摄食能力下降,但能量代谢率也降低,从而参与肥胖的发生。Bronsky et al^[8]对接受减肥治疗的肥胖儿童检测血浆 OXA 水平,发现随着体重的下降,

其血 OXA 水平明显增加。

Tsuneki et al^[9]发现,OXA 缺乏可以导致小鼠糖耐量异常和胰岛素抵抗的发生。胰岛素抵抗的小鼠其血清 OXA 水平是下降的,OXA 受体激动剂可以阻止胰岛素抵抗的发生^[5]。这些结果表明 OXA 是维持下丘脑和外周胰岛素敏感性的重要因素。该研究中,PCOS 组胰岛素水平及 HOMA-IR 明显高于对照组,而 PCOS 组 OXA 水平明显低于对照组,这说明随着胰岛素水平和 HOMA-IR 的增加,血清 OXA 水平是减少的。过高的胰岛素水平反馈性抑制 OXA 的产生,从而导致 PCOS 患者及肥胖患者血清 OXA 水平的下降。OXA 水平的下降可促进肥胖的发生,而肥胖可导致胰岛素抵抗的加重,从而进一步导致 OXA 水平的下降。

研究^[10]表明,OXA 可减少细胞内 cAMP 和 Ca^{2+} 的浓度,增加 AKT/PDK-1 的磷酸化,从而抑制胰高血糖素原的分泌。实验^[11]证明予脑室内注入 OXA 可降低糖尿病小鼠的高血糖水平。将 OXA 注入下丘脑的腹内侧核,可以通过刺激交感神经系统,从而增加骨骼肌胰岛素刺激的血糖摄取。PCOS 组 FBG 及 P2hBG 均高于对照组,且 OXA 水平与 FBG 及 P2hBG 呈负相关,除了胰岛素抵抗外,OXA 水平的降低可能是导致 PCOS 患者血糖升高的另一原因。

有研究^[12]显示 OXA 抑制卵巢切除雌鼠的 LH 分泌,结果表明 OXA 在下丘脑水平抑制性腺激素释放激素的分泌。后 Irahara et al^[13]发现,OXA 通过 β 内啡肽抑制 LH 的分泌。多元逐步回归分析提示,LH 是影响 OXA 水平的重要因素且 OXA 与 LH 呈负相关。PCOS 组血清 OXA 水平较对照组明显减少,导致其血清 LH 水平升高,LH/FSH 比值明显增高。卵巢中的雄激素合成主要受 LH 调节,PCOS 患者中 LH 分泌增加,过高的 LH 可直接刺激卵泡膜细胞,导致雄激素水平增高,从而导致排卵障碍。这说明 OXA 水平的下降可能参与了 PCOS 患者性激素水平的紊乱。

二分类 Logistic 回归分析显示,高 OXA 水平的人群与低 OXA 水平的人群相比,其 PCOS 发生率是减低的。这提示 OXA 是 PCOS 发生的保护因素。

综上所述,OXA 的减少参与了 PCOS 患者肥胖、胰岛素抵抗、糖代谢和性激素水平紊乱等的发生与发展。OXA 是 PCOS 发生的保护因素,可能为 PCOS 的治疗提供新的思路。但仍需要更大样本、更进一步研究的证实。

参考文献

- [1] The Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS consensus workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome [J]. *Hum Reprod*, 2004, 19: 41–7.
- [2] Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, et al. Orexins and orexin receptors: A family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior [J]. *Cell*, 1998, 92(4): 573–85.
- [3] Yi C X, Serlie M J, Ackermans M T, et al. A major role for perifornical orexin neurons in the control of glucose metabolism in rats [J]. *Diabetes*, 2009, 58(9): 1998–2005.
- [4] Szekely M, Petervari E, Balasko M, et al. Effects of orexins on energy balance and thermoregulation [J]. *Regul Pept*, 2002, 104(1–3): 47–53.
- [5] Novak C M, Levine J A. Daily intraparenchymal orexin-A treatment induces weight loss in rats [J]. *Obesity (Silver Spring)*, 2009, 17(8): 1493–8.
- [6] Adam J A, Menheere P P, van Dielen F M, et al. Decreased plasma orexin-A levels in obese individuals [J]. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 2002, 26(2): 274–6.
- [7] Yilmaz E, Celik O, Celik N, et al. Serum orexin-A (OXA) level decreases in polycystic ovarian syndrome [J]. *Gynecol Endocrinol*, 2013, 29(4): 388–90.
- [8] Bronsky J, Nedvickova J, Zamrazilova H, et al. Dynamic changes of orexin A and leptin in obese children during body weight reduction [J]. *Physiol Res*, 2007, 56(1): 89–96.
- [9] Tsuneki H, Murata S, Anzawa Y, et al. Age-related insulin resistance in hypothalamus and peripheral tissues of orexin knockout mice [J]. *Diabetologia*, 2008, 51(4): 657–67.
- [10] Göncü E, Strowski M Z, Grötzinger C, et al. Orexin-A inhibits glucagon secretion and gene expression through a Foxo1-dependent pathway [J]. *Endocrinology*, 2008, 149(4): 1618–26.
- [11] Karnani M, Burdakov D. Multiple hypothalamic circuits sense and regulate glucose levels [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2011, 300(1): R47–55.
- [12] Tamura T, Irahara M, Tezuka M, et al. Orexins, orexigenic hypothalamic neuropeptides, suppress the pulsatile secretion of luteinizing hormone in ovariectomized female rats [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 264(3): 759–62.
- [13] Irahara M, Tamura T, Matuzaki T, et al. Orexin-A suppresses the pulsatile secretion of luteinizing hormone *via* beta-endorphin [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 281(1): 232–6.

Changes and significance of fasting serum Orexin A levels in patients with polycystic ovarian syndrome

Xuan Rong¹, Hu Honglin¹, Fang Zhaohui², et al

(¹Dept of Endocrinology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022;

²Dept of Endocrinology, The First Affiliated Hospital of Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230038)

Abstract Objective To investigate the variation of fasting serum Orexin A (OXA) levels and their roles in patients with polycystic ovarian syndrome (PCOS). **Methods** The subjects were divided into two groups: PCOS group ($n=57$) and healthy control group ($n=56$). According to the body mass index (BMI) ≥ 24 kg/m² or < 24 kg/m², both groups were divided into overweight/obese subgroup (PCOS-OW/OB, Control-OW/OB) and normal weight subgroup (PCOS-NW, Control-NW). Serum triglyceride (TG), total cholesterol (TC), high-density lipoprotein (HDL), low-density lipoprotein (LDL), fasting blood glucose (FBG), fasting insulin (FINS), postprandial 2 h insulin (P2hINS), luteinizing hormone (LH), follicle stimulating hormone (FSH), testosterone (T) and OXA level were measured. Height, body mass, waist circumference (WC) and hip circumference were also measured. BMI, waist-hip ratio (WHR), LH/FSH and HOMA-IR (homeostasis model assessment of insulin resistance) were calculated. **Results** Fasting serum OXA levels in PCOS group were significantly lower than those in controls ($P < 0.01$); Fasting serum OXA levels in PCOS-OW/OB were lower than those in PCOS-NW ($P < 0.05$); Fasting serum OXA levels in Control-OW/OB were significantly lower than those in Control-NW ($P < 0.01$). After age and BMI adjustment, fasting serum OXA was correlated negatively with LH, LH/FSH, FBG, P2hBG and HOMA-IR ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Multiple stepwise regression analysis showed that HOMA-IR, LH and P2hBG were the influencing factors of serum OXA level. Binary logistic regression demonstrated that OXA was the protective factor of PCOS. **Conclusion** The decreased serum OXA level may play a very important role in the development of PCOS.

Key words polycystic ovarian syndrome; Orexin A; obesity; insulin resistance