

· 论著 ·

维生素 D 缺乏对雌性大鼠糖脂代谢及卵巢形态功能的影响

袁昕 高四书 罗凯明 项守奎 华飞

苏州大学附属第三医院内分泌科, 常州 213003

通信作者: 华飞, Email: czhuafei@vip.sina.com

【摘要】 目的 研究维生素 D 缺乏对雌性大鼠糖、脂代谢及卵巢形态功能的影响。**方法** 48 只 3 周龄 Sprague-Dawley (SD) 雌性大鼠按随机数字法随机分为对照组 ($n=24$) 和维生素 D 缺乏组 ($n=24$), 分别用标准饲料、维生素 D 缺乏饲料饲养。第 6、14、22 周每组按随机数字法选取 8 只, 行阴道涂片观察动情周期 14 d, 于第 8、16、24 周处死并留取血清和卵巢组织。检测血清 25-羟维生素 D、血钙、血磷、空腹血糖、空腹胰岛素、甘油三酯、总胆固醇、睾酮、雌二醇、孕激素、黄体生成素 (LH)、卵泡刺激素 (FSH)、抗苗勒管激素水平, 计算稳态模型评估-胰岛素抵抗指数 (HOMA-IR)、LH/FSH 比值, HE 染色观察卵巢形态学改变。**结果** 第 16、24 周, 与对照组相比, 维生素 D 缺乏组甘油三酯、空腹血糖、空腹胰岛素、HOMA-IR、LH/FSH 比值、抗苗勒管激素升高 ($t = -4.02 \sim 3.87, P$ 均 < 0.05), 第 24 周, 与对照组相比, 维生素 D 缺乏组 FSH 水平降低 ($t = 2.35, P < 0.05$), 卵巢出现多囊性改变。两组总胆固醇、睾酮、雌二醇、孕酮、动情周期差异均没有统计学意义 (P 均 > 0.05)。**结论** 维生素 D 缺乏可能影响雌性大鼠的糖、脂代谢以及卵巢形态和功能。

【关键词】 维生素 D; 大鼠; 甘油三酯; 胰岛素抵抗; 卵巢

基金项目: 常州市应用基础研究项目 (CJ20159019, CJ20160046); 常州市卫生计生委指导性科技项目 (wz201523)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2019.01.002

Effects of vitamin D deficiency on glucolipid metabolism, morphology and function of ovary in female rats Yuan Xin, Gao Sishu, Luo Kaiming, Xiang Shoukui, Hua Fei. Department of Endocrinology, The Third Affiliated Hospital of Soochow University, Changzhou 213000, China
Corresponding author: Hua Fei, Email: czhuafei@vip.sina.com

【Abstract】 Objective To investigate the effects of vitamin D deficiency on glucolipid metabolism, morphology and function of ovary in female rats. **Methods** Forty-eight female Sprague-Dawley (SD) (3-week-old) rats were randomly divided into control group ($n=24$) and vitamin D deficiency group ($n=24$) according to random number method. All rats in control group were fed with standard diet and all rats in vitamin D deficiency group were fed with vitamin D deficient diet. On the 6th, 14th and 22th week 8 rats from each group were selected according to random number method and recieved the estrus cycle by vaginal smears for 14 days, they were sacrificed on the 8th, 16th, 24th week and serum as well as ovary specimens were collected. Serum 25 (OH) D, calcium, phosphorus, fasting blood glucose, fasting insulin, triglyceride, total cholesterol, testosterone, estrogen, progesterone, luteinizing hormone (LH), follicle stimulating hormone (FSH) and anti-Müllerian hormone were measured. Homeostatic model assessment-insulin resistance (HOMA-IR) and LH/FSH ratio were calculated. Ovarian morphologic changes were observed by HE staining. **Results** On the 16th, 24th week, compared with control group, serum triglyceride, fasting blood glucose, fasting insulin, HOMA-IR, LH/FSH ratio, anti-Müllerian hormone levels were increased ($t = -4.02 \sim 3.87$, all $P < 0.05$), while on the 24th week, compared with control group, the FSH level in vitamin D deficiency group was decreased ($t = 2.35, P < 0.05$), and ovarian polycystic alterations were observed in vitamin D deficiency group. No significant difference in serum total cholesterol, testosterone, estrogen, progesterone levels and the estrous cycle were found between the two groups (all $P > 0.05$). **Conclusion**

Vitamin D deficiency may affect glucolipid metabolism, morphology and function of ovary in female rats.

【Key words】 Vitamin D; Rat; Triglyceride; Insulin resistance; Ovary

Fund program: Applied Basic Research Programs of Changzhou (CJ20159019, CJ20160046); Guiding Science and Technology Projects of Changzhou Health and Family Planning Commission (wz201523)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2019.01.002

维生素 D 是一种类固醇激素,通过与靶细胞维生素 D 受体(VDR)结合发挥生物学作用,经典作用是调节钙、磷代谢^[1]。近年来全世界人群维生素 D 缺乏越来越普遍,随着研究的深入,已发现维生素 D 与肿瘤、心血管疾病、自身免疫性疾病、糖尿病等的发生和发展密切相关,还有研究表明维生素 D 可调节女性生殖过程^[2-5]。

研究发现,敲除 VDR 基因或维生素 D 活化所需的 1α -羟化酶基因的小鼠,除有低钙、低磷及佝偻病样表现外,还出现性激素紊乱、卵泡生成受损、子宫发育不全、不育等,而补充钙、磷后可纠正生殖异常,因此认为,维生素 D 对雌鼠生育系统的影响是通过调节钙、磷水平实现的^[6]。本研究拟建立正常钙、磷水平的维生素 D 缺乏大鼠模型,观察维生素 D 对雌性大鼠代谢、性激素、卵巢形态及功能的直接影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物 48 只健康 SPF 级 3 周龄 Sprague-Dawley (SD) 雌性大鼠,体重 (59.0 ± 7.1) g,由江苏常州卡文斯实验动物有限公司提供[许可证号:SCXK(苏)2016-0010,合格证编号:201821081]。饲养环境:12 h 白炽灯光照/12 h 夜晚,温度 22℃,湿度 50%~60%,大鼠自由饮食、饮水。适应性喂养 1 周后,将大鼠按随机数字法随机分为对照组($n=24$)和维生素 D 缺乏组($n=24$),分别予标准饲料、维生素 D 缺乏饲料喂养。标准饲料(按 AIN-93 标准配方生产,维生素 D 1 000 IU/kg,0.5% 钙,0.3% 磷)和维生素 D 缺乏饲料(几乎不含维生素 D,2% 钙,1.2% 磷)由江苏南通特洛菲饲料公司提供。

1.2 试剂 25-羟维生素 D [$25(\text{OH})\text{D}$] 检测试剂盒购自上海罗氏诊断产品公司。睾酮、雌二醇、孕酮、黄体生成素(LH)、卵泡刺激素(FSH)检测试剂盒购自南京建成生物科技公司。抗苗勒管激素(AMH)检测试剂盒购自 Cusabio 公司。大鼠胰岛素 ELISA 试剂盒购自美国 Millipore 公司。

1.3 实验方法 每周检测摄食量及体重变化。第 6、14、22 周两组分别按随机数字法取 8 只大鼠,每日行阴道涂片,在显微镜下观察,记录涂片中的细胞类型,判断动情周期的阶段,共 14 d。第 8、16、24 周,将已观察动情周期的大鼠禁食 12 h,戊巴比妥钠

麻醉后打开腹腔,腹主动脉取血,摘取双侧卵巢。血标本离心后收集血清,于 -80°C 保存。卵巢组织用 4% 甲醛溶液固定,常规石蜡包埋,沿卵巢长轴最大截面切片,HE 染色后光镜下观察病理学结构。大鼠血清室温复溶后用全自动生化分析仪检测空腹血糖、甘油三酯、总胆固醇、血钙、血磷,ELISA 法检测空腹胰岛素、睾酮、雌二醇、孕酮、LH、FSH、AMH,电化学发光法检测 $25(\text{OH})\text{D}$ 水平。计算稳态模型评估-胰岛素抵抗指数(HOMA-IR) = 空腹血糖 \times 空腹胰岛素/22.5。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 23.0 软件进行统计分析,正态分布的计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,若实验数据符合正态分布及方差齐性,两组间比较采用 t 检验,不符合正态分布与方差齐性的两组间比较采用秩和检验,双变量正态分布资料采用 Pearson 相关分析,双变量非正态分布资料采用 Spearman 相关分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠血清 $25(\text{OH})\text{D}$ 、血钙、磷的比较 第 8、16、24 周维生素 D 缺乏组血清 $25(\text{OH})\text{D}$ 水平均显著低于对照组($t=9.69, 3.69, 4.04, P$ 均 < 0.05)。3 个时间点两组血钙、磷水平差异无统计学意义,见图 1。

2.2 大鼠体重及血脂、血糖、胰岛素、HOMA-IR 的比较 维生素 D 缺乏组与对照组的体重差异无统计学意义。第 8 周时两组甘油三酯、空腹血糖、空腹胰岛素、HOMA-IR 差异无统计学意义,第 16、24 周维生素 D 缺乏组血清甘油三酯、空腹血糖、空腹胰岛素、HOMA-IR 均较对照组升高($t=-2.45, -2.50, -3.08, 2.93, -4.02, -3.94, 3.87, 3.86, P$ 均 < 0.05)。3 个时间点两组血清总胆固醇水平差异无统计学意义,见图 2。

2.3 大鼠性激素水平的比较 维生素 D 缺乏组血清睾酮、雌二醇、孕酮、LH 与对照组相比均无明显差异。第 8、16 周两组大鼠 FSH 水平无显著差异,第 24 周维生素 D 缺乏组 FSH 水平较对照组显著降低($t=2.35, P < 0.05$)。3 个时间点维生素 D 缺乏组 LH/FSH 比值均高于对照组($t=-2.29, -2.45, -3.12, P$ 均 < 0.05),见图 3。

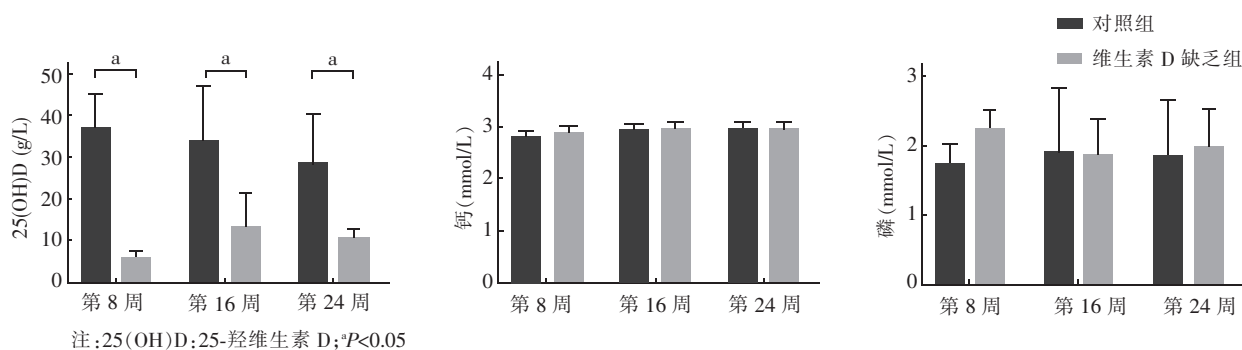


图 1 对照组和維生素 D 缺乏組大鼠血清 25(OH)D、鈣、磷水平的比較

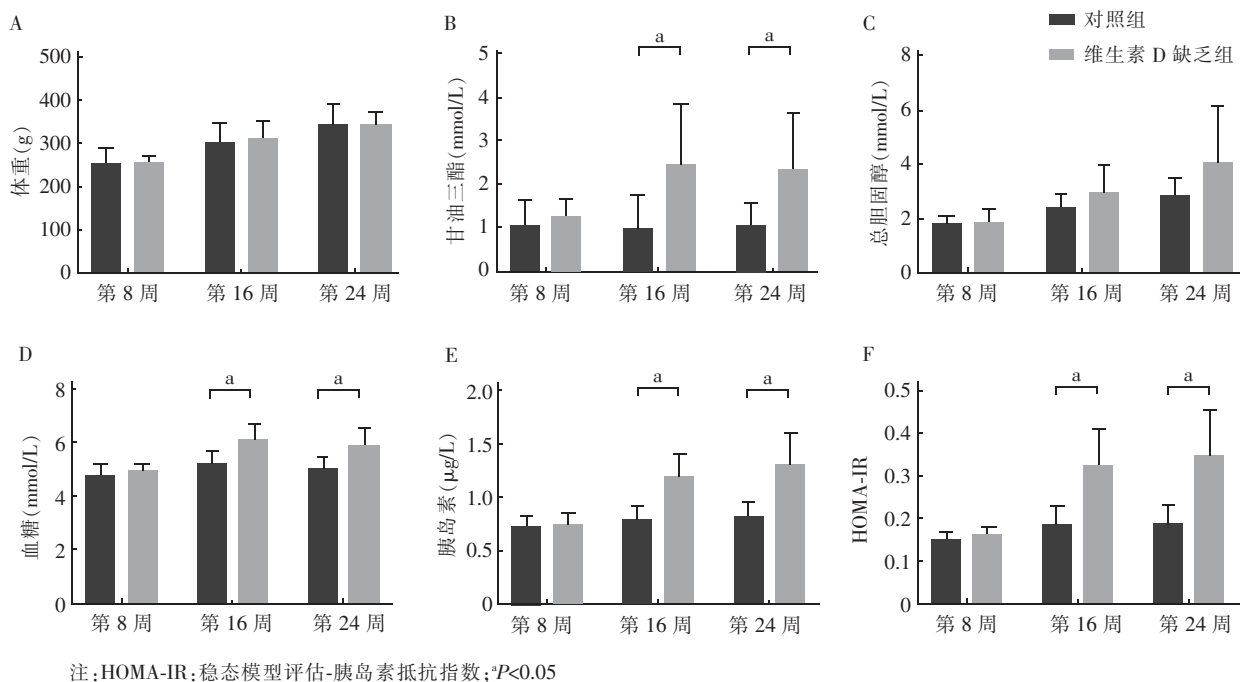


圖 2 維生素 D 缺乏對大鼠體重、血脂、血糖、胰島素、HOMA-IR 的影響

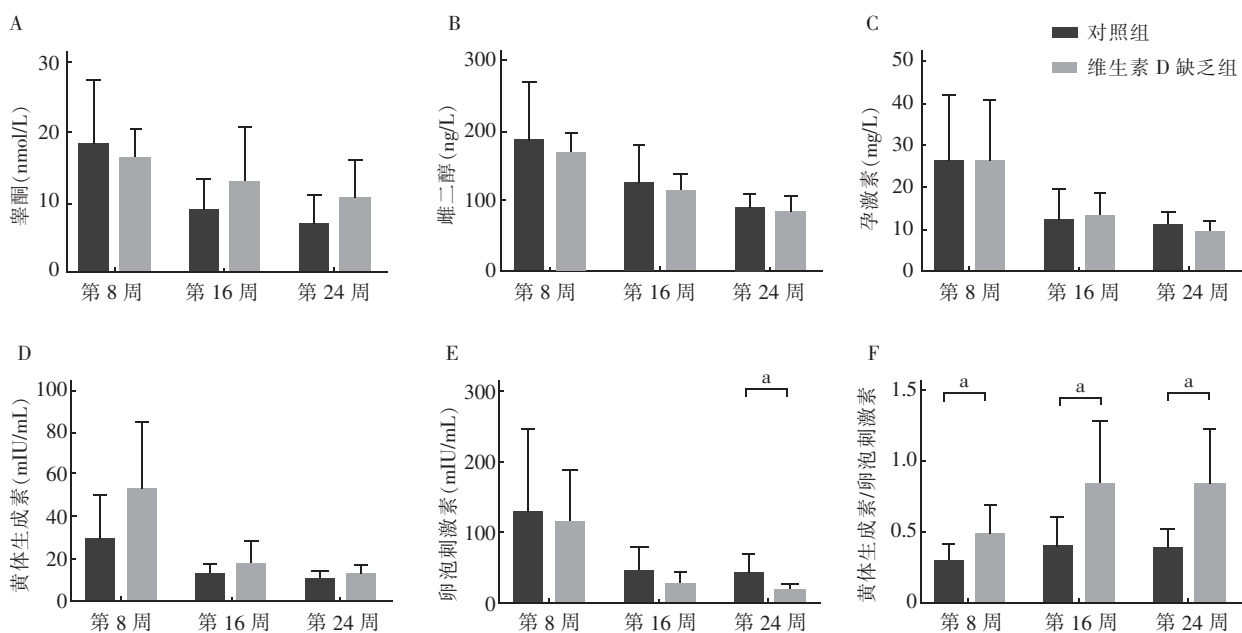
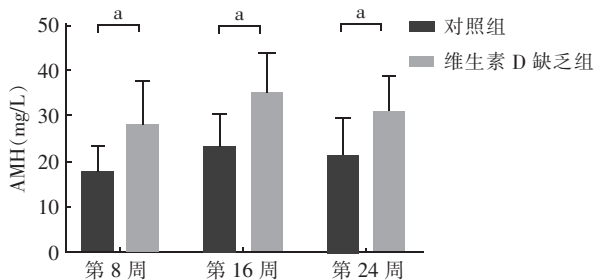


圖 3 維生素 D 缺乏對大鼠性激素水平的影響

表 1 大鼠动情周期各阶段持续时间的比较(d, $\bar{x} \pm s$)

| 动情周期 | 第 8 周 | | | | 第 16 周 | | | | 第 24 周 | | | |
|------|--------------|--------------------|-------|------|--------------|--------------------|-------|------|--------------|--------------------|-------|------|
| | 对照组 (n=8) | 维生素 D 缺乏组 (n=8) | t 值 | P 值 | 对照组 (n=8) | 维生素 D 缺乏组 (n=8) | t 值 | P 值 | 对照组 (n=8) | 维生素 D 缺乏组 (n=8) | t 值 | P 值 |
| 动情前期 | 3.5 ± 0.6 | 3.5 ± 1.7 | 0 | 1.00 | 3.3 ± 1.0 | 3.0 ± 0.8 | 0.61 | 0.56 | 4.8 ± 0.5 | 3.8 ± 1.3 | 2.26 | 0.05 |
| 动情期 | 4.0 ± 2.2 | 4.0 ± 2.2 | 0 | 1.00 | 4.3 ± 0.5 | 3.8 ± 1.0 | -0.24 | 0.81 | 5.3 ± 3.0 | 5.5 ± 1.7 | -0.34 | 0.74 |
| 动情后期 | 3.0 ± 1.8 | 3.5 ± 1.0 | -0.74 | 0.48 | 2.8 ± 1.5 | 3.5 ± 2.5 | -0.78 | 0.45 | 2.0 ± 1.2 | 2.5 ± 1.3 | -0.88 | 0.40 |
| 动情间期 | 3.5 ± 1.7 | 3.0 ± 2.0 | 0.60 | 0.57 | 3.8 ± 1.0 | 3.8 ± 2.2 | 0.51 | 0.64 | 2.0 ± 2.8 | 2.3 ± 2.2 | 0.69 | 0.84 |

2.4 大鼠血清 AMH 水平的比较 第 8、16、24 周维生素 D 缺乏组 AMH 水平均较对照组升高 ($t = -2.54$ 、 -2.99 、 -2.39 , P 均 < 0.05), 见图 4。



注: AMH: 抗苗勒管激素; * $P < 0.05$

图 4 维生素 D 缺乏对大鼠 AMH 水平的影响

2.5 动情周期 第 8、16、24 周两组的动情前期、动情期、动情后期、动情间期持续的时间差异没有统计学意义, 见表 1。

2.6 卵巢形态 对照组和维生素 D 缺乏组的卵巢切片均可见处于各个发育阶段的卵泡和黄体, 还可见囊状扩张的卵泡, 见图 5(封 3)。通过对各阶段卵泡计数并比较, 发现第 24 周维生素 D 缺乏组卵巢的囊状卵泡数量显著高于对照组 ($P < 0.05$), 见表 2。

表 2 大鼠囊状卵泡数量的比较(个, $\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 例数 | 第 8 周囊状卵泡 | 第 16 周囊状卵泡 | 第 24 周囊状卵泡 |
|-----------|----|-----------|------------|------------|
| 对照组 | 8 | 1.0 ± 0.7 | 2.0 ± 1.9 | 1.5 ± 1.9 |
| 维生素 D 缺乏组 | 8 | 0.8 ± 1.4 | 2.3 ± 1.8 | 4.2 ± 2.5 |
| t 值 | | 0.45 | -0.28 | -2.81 |
| P 值 | | 0.67 | 0.79 | 0.01 |

2.7 相关性分析 相关性分析的结果显示, 血清 25(OH)D 水平与甘油三酯水平和 LH/FSH 比值呈负相关($r = -0.378$ 、 -0.362 , P 均 < 0.05); 但与总胆固醇、睾酮、雌二醇、孕酮、LH、FSH 及 AMH 没有显著相关性(P 均 > 0.05)。

3 讨论

维生素 D 缺乏往往合并钙、磷水平降低, 既往有研究对敲除 VDR 基因或 1 α -羟化酶基因的小鼠补充钙、磷后, 小鼠出现的生殖功能异常得到纠正, 维生素 D 对雌鼠生育的影响是通过调节钙、磷水平

实现的^[6]。还有研究发现, 增加钙摄入可改善多囊卵巢综合征(PCOS)患者的高雄激素血症, 增加高密度脂蛋白-胆固醇(HDL-C)水平^[7]。这些研究结果均表明, 血钙、磷可影响代谢、性激素水平及生殖功能。

维生素 D 缺乏的饲料喂养联合不含紫外线光照环境是建立维生素 D 缺乏动物模型较为常用的方法之一, 且符合现代人由于饮食结构不平衡及户外光照时间减少所致维生素 D 水平降低的特征^[6]。Stavenuiter 等^[8]通过增加大鼠维生素 D 缺乏饲料中钙、磷的含量, 在引起维生素 D 缺乏的同时, 维持了血清钙、磷水平的稳定。Sun 等^[6]给予 1 α -羟化酶基因敲除大鼠高钙、高磷饮食, 使大鼠维持正常的钙、磷水平。本实验结合既往文献, 在不含紫外线的白炽灯光照环境下, 给予维生素 D 缺乏组几乎不含维生素 D 的饲料, 其中钙和磷的含量较对照组标准饲料均升高 4 倍。喂养 8、16、24 周后, 维生素 D 缺乏组维生素 D 水平显著降低, 钙、磷水平较对照组差异无统计学意义。

临床观察性研究表明, 维生素 D 水平与代谢综合征的发生风险及严重程度呈负相关^[9-10]。研究发现, PCOS 女性血清 25(OH)D 水平与 HOMA-IR 呈负相关, 补充维生素 D 则可以降低 PCOS 女性甘油三酯水平, 改善糖代谢^[11-12]。笔者研究发现, 与对照组相比, 维生素 D 缺乏组甘油三酯、空腹血糖、HOMA-IR 增加, 且血清 25(OH)D 水平与甘油三酯水平呈负相关, 提示维生素 D 缺乏会影响糖、脂代谢。关于维生素 D 作用机制的研究发现, 维生素 D 缺乏会加重细胞氧化应激、炎症反应, 损害肝脏和胰腺对糖、脂代谢的调节功能^[4, 13]。

VDR 不仅存在于下丘脑、垂体, 也存在于卵巢、子宫、胎盘等外周生殖器官^[5]。提示维生素 D 可能作用于靶组织 VDR, 影响生殖功能。敲除 VDR 基因或 1 α -羟化酶的大鼠, 性腺功能低下, 卵泡形成受损, 子宫发育不良^[5-6]。卵巢颗粒细胞体外实验发现, 维生素 D 在细胞氧化应激和细胞周期调控相关基因的表达中起作用, 影响颗粒细胞的增殖与凋亡^[14]。与性激素合成密切相关的类固醇合成酶的

表达也受维生素 D 影响,如维生素 D 可上调 3β -羟基类固醇激素脱氢酶、类固醇合成快速调节因子、细胞色素 P450 羟化酶 mRNA 表达,增加孕酮、雌二醇的合成^[14-15]。本研究中,维生素 D 缺乏大鼠雌二醇水平有降低的趋势,可能是维生素 D 缺乏后导致类固醇合成酶相关基因表达降低的结果。但两组之间雌二醇、孕酮、睾酮差异没有统计学意义,可能是因为:(1)大鼠体内存在复杂的反馈机制及其他可能影响类固醇激素合成的因素,与单独颗粒细胞培养时维生素 D 对类固醇激素的调节作用可能有差异。(2)本实验维持了正常的钙、磷水平,与既往一些研究的条件有所不同。

PCOS 是育龄期女性最常见的生殖内分泌疾病,也是无排卵性不孕最常见的原因^[12]。临床特点包括高雄激素血症、月经异常、不孕、卵巢多囊样改变等,可伴有肥胖、胰岛素抵抗、血脂紊乱等代谢异常^[16]。研究发现,与健康育龄期女性相比,PCOS 患者合并维生素 D 缺乏的比例更高^[17]。且维生素 D 水平与 PCOS 患者的代谢及生殖异常具有相关性^[17-18]。PCOS 患者常存在高 LH 伴正常或低水平的 FSH, LH/FSH 比值升高,影响卵泡发育,出现生殖功能障碍^[19]。本研究发现,维生素 D 缺乏大鼠 LH 水平有升高趋势,FSH 水平降低, LH/FSH 比值升高,这与 PCOS 患者垂体促性腺激素的变化特点一致,且大鼠 LH/FSH 比值与 $25(\text{OH})\text{D}$ 水平呈负相关。既往也有研究发现,PCOS 女性 LH/FSH 比值与 $25(\text{OH})\text{D}$ 水平具有相关性^[20]。笔者推测维生素 D 缺乏与性激素水平失调有关,可能影响性激素分泌的中枢机制。

本研究还发现,大鼠维生素 D 缺乏的同时伴有 AMH 水平升高,卵巢囊状卵泡数量增加。既往研究发现,维生素 D 与 AMH 水平密切相关^[21]。维生素 D 通过抑制 AMH 水平,降低 AMH 受体、FSH 受体的基因表达,调节 AMH 信号通路,参与卵泡的发育成熟过程^[22]。维生素 D 缺乏后 AMH 与性激素的异常,可能共同参与了多囊卵巢卵泡异常的发生。

本研究结果提示,维生素 D 缺乏可影响雌性大鼠糖、脂代谢、性激素及 AMH 水平,卵巢出现多囊样改变。维生素 D 缺乏可能参与 PCOS 代谢、生殖功能异常的发生,具体机制有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Fischer V, Haffner-Luntzer M, Amling M, et al. Calcium and vitamin D in bone fracture healing and post-traumatic bone turnover [J]. *Eur Cell Mater*, 2018, 35: 365-385. DOI: 10. 22203/eCM. v035a25.
- [2] Altieri B, Grant WB, Della Casa S, et al. Vitamin D and pancreas: the role of sunshine vitamin in the pathogenesis of diabetes mellitus and pancreatic cancer [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2017, 57 (16) : 3472-3488. DOI: 10. 1080/10408398. 2015. 1136922.
- [3] Degerud E, Nygård O, de Vogel S, et al. Plasma 25-hydroxyvitamin D and mortality in patients with suspected stable angina pectoris [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2018, 103 (3) : 1161-1170. DOI: 10. 1210/je. 2017-02328.
- [4] Wei Z, Yoshihara E, He N, et al. Vitamin D switches BAF complexes to protect β cells [J]. *Cell*, 2018, 173 (5) : 1135-1149. e15. DOI: 10. 1016/j. cell. 2018. 04. 013.
- [5] Nandi A, Sinha N, Ong E, et al. Is there a role for vitamin D in human reproduction? [J]. *Horm Mol Biol Clin Investig*, 2016, 25 (1) : 15-28. DOI: 10. 1515/hmbci-2015-0051.
- [6] Sun W, Xie H, Ji J, et al. Defective female reproductive function in $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ -deficient mice results from indirect effect mediated by extracellular calcium and/or phosphorus [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2010, 299 (6) : E928-E935. DOI: 10. 1152/ajpendo. 00378. 2010.
- [7] Lerchbaum E, Giuliani A, Gruber HJ, et al. Adult-type hypolactasia and calcium intake in polycystic ovary syndrome [J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2012, 77 (6) : 834-843. DOI: 10. 1111/j. 1365-2265. 2012. 04334. x.
- [8] Stavenhagen AW, Arcidiacono MV, Ferrantelli E, et al. A novel rat model of vitamin D deficiency: safe and rapid induction of vitamin D and calcitriol deficiency without hyperparathyroidism [J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 604275. DOI: 10. 1155/2015/604275.
- [9] Al-Dabhani K, Tsilidis KK, Murphy N, et al. Prevalence of vitamin D deficiency and association with metabolic syndrome in a Qatari population [J]. *Nutr Diabetes*, 2017, 7 (4) : e263. DOI: 10. 1038/nutd. 2017. 14.
- [10] Lu Y, Liu M, Pei Y, et al. Low levels of serum 25-hydroxyvitamin D and risk of metabolic syndrome in China [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8 (8) : 13790-13796.
- [11] Xue Y, Xu P, Xue K, et al. Effect of vitamin D on biochemical parameters in polycystic ovary syndrome women: a meta-analysis [J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2017, 295 (2) : 487-496. DOI: 10. 1007/s00404-016-4247-y.
- [12] Wehr E, Pieber TR, Obermayer-Pietsch B. Effect of vitamin D_3 treatment on glucose metabolism and menstrual frequency in polycystic ovary syndrome women: a pilot study [J]. *J Endocrinol Invest*, 2011, 34 (10) : 757-763. DOI: 10. 3275/7748.
- [13] Tao S, Yuan Q, Mao L, et al. Vitamin D deficiency causes insulin resistance by provoking oxidative stress in hepatocytes [J]. *Oncotarget*, 2017, 8 (40) : 67605-67613. DOI: 10. 18632/oncotarget. 18754.

[1] Fischer V, Haffner-Luntzer M, Amling M, et al. Calcium and vitamin D in bone fracture healing and post-traumatic bone turnover

- [2] Levav I, Rutz W. The WHO World Health Report 2001 new understanding--new hope[J]. *Isr J Psychiatry Relat Sci*, 2002, 39 (1): 50-56.
- [3] 张磊阳, 贺敏, 李玥, 等. 抑郁症动物模型的研究进展[J]. *中国比较医学杂志*, 2017, 27 (9): 92-97. DOI: 10. 3969. j. issn. 1671-7856. 2017. 09. 018.
- [4] Wimalawansa SM, Wimalawansa SJ. Simulated weightlessness-induced attenuation of testosterone production may be responsible for bone loss[J]. *Endocrine*, 1999, 10 (3): 253-260. DOI: 10. 1007/BF02738624.
- [5] Wise KC, Manna SK, Yamauchi K, et al. Activation of nuclear transcription factor-kappaB in mouse brain induced by a simulated microgravity environment[J]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2005, 41 (3-4): 118-123. DOI: 10. 1290/0501006. 1.
- [6] Martinez EM, Yoshida MC, Candelario TL, et al. Spaceflight and simulated microgravity cause a significant reduction of key gene expression in early T-cell activation[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2015, 308 (6): R480-R488. DOI: 10. 1152/ajpregu. 00449. 2014.
- [7] 陈怡西, 王琼, 张永亮, 等. 模拟失重大鼠的抑郁样行为学表现[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2014, 20 (17): 141-145. DOI: 10. 13422/j. cnki. syfx. 2014170141.
- [8] 李广权, 周卫东, 贺勇, 等. 抑郁症患者甲状腺功能变化的研究[J]. *国际检验医学杂志*, 2017, 38 (18): 2556-2558. DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2017. 18. 021.
- [9] 刘玉娇, 周洪海, 王承敏, 等. 甲状腺激素及抗体与抑郁症的相关性[J]. *神经疾病与精神卫生*, 2015, 15 (4): 368-371. DOI: 10. 3969/j. issn. 1009-6574. 2015. 04. 013.
- [10] Demartini B, Masu A, Scarone S, et al. Prevalence of depression in patients affected by subclinical hypothyroidism[J]. *Panminerva Med*, 2010, 52 (4): 277-282.
- [11] Joffe RT, Sullivan TB. The significance of an isolated elevated TSH level in a depressed patient: a clinical commentary[J]. *Int J Psychiatry Med*, 2014, 48 (3): 167-173. DOI: 10. 2190/PM. 48. 3. b.
- [12] 陈杰, 马进, 丁兆平, 等. 一种模拟长期失重影响的大鼠尾部悬吊模型[J]. *空间科学学报*, 1993, 13 (2): 159-162.
- [13] 张辉, 王军锋, 邢博, 等. 不同实验条件对昆明和 BALB/C 小鼠强迫游泳实验的影响[J]. *中华行为医学与脑科学杂志*, 2011, 20 (4): 306-308. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1674-6554. 2011. 04. 006.
- [14] 赵岩. 高脂膳食及有氧运动对雄性大鼠 HPT 轴结构和功能的影响[D]. 北京体育大学, 2013.
- [15] Song J, Hou X, Hu X, et al. Not only serotonergic system, but also dopaminergic system involved in al biflorin against chronic unpredictable mild stress-induced depression-like behavior in rats[J]. *Chem Biol Interact*, 2015, 242: 211-217. DOI: 10. 1016/j. cbi. 2015. 10. 001.
- [16] Shulman KI, Herrmann N, Walker SE. Current place of monoamine oxidase inhibitors in the treatment of depression[J]. *CNS Drugs*, 2013, 27 (10): 789-797. DOI: 10. 1007/s40263-013-0097-3.
- [17] Guo TY, Liu LJ, Xu LZ, et al. Alterations of the daily rhythms of HPT axis induced by chronic unpredicted mild stress in rats[J]. *Endocrine*, 2015, 48 (2): 637-643. DOI: 10. 1007/s12020-014-0314-y.
- [18] 佟海英, 乌吉斯古冷, 白亮凤, 等. 蒙药槟榔十三味丸对抑郁模型大鼠神经-内分泌-免疫功能的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2014, 20 (09): 194-198. DOI: 10. 13422/j. cnki. syfx. 2014090194.
- [19] 何贵平, 包祖晓, 周威, 等. 助阳舒心方对抑郁模型大鼠生物表征及血清甲状腺激素、睾酮的影响[J]. *中医药学报*, 2013, 41 (2): 18-20. DOI: 10. 19664/j. cnki. 1002-2392. 2013. 02. 007.
- [20] Dayan CM, Panicker V. Hypothyroidism and depression[J]. *Eur Thyroid J*, 2013, 2 (3): 168-179. DOI: 10. 1159/000353777.

(收稿日期: 2018-09-04)

(本文编辑: 刘欣)

(上接第 11 页)

- [14] Yao X, Zhang G, Guo Y, et al. Vitamin D receptor expression and potential role of vitamin D on cell proliferation and steroidogenesis in goat ovarian granulosa cells[J]. *Theriogenology*, 2017, 102: 162-173. DOI: 10. 1016/j. theriogenology. 2017. 08. 002.
- [15] Hong SH, Lee JE, An SM, et al. Effect of vitamin D₃ on biosynthesis of estrogen in porcine granulosa cells via modulation of steroidogenic enzymes[J]. *Toxicol Res*, 2017, 33 (1): 49-54. DOI: 10. 5487/TR. 2017. 33. 1. 049.
- [16] 中国医师协会内分泌代谢科医师分会. 多囊卵巢综合征诊治内分泌专家共识[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2018, 34 (1): 1-7. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1000-6699. 2018. 01. 001.
- [17] Bacopoulou F, Kolias E, Efthymiou V, et al. Vitamin D predictors in polycystic ovary syndrome: a meta-analysis[J]. *Eur J Clin Invest*, 2017, 47 (10): 746-755. DOI: 10. 1111/eci. 12800.
- [18] Pal L, Zhang H, Williams J, et al. Vitamin D status relates to reproductive outcome in women with polycystic ovary syndrome: secondary analysis of a multicenter randomized controlled trial[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2016, 101 (8): 3027-3035. DOI: 10. 1210/jc. 2015-4352.
- [19] 何淑莹, 中玉华, 尤昭玲. 多囊卵巢综合征 LH 及 FSH 的研究现状[J]. *中医药导报*, 2005, 11 (8): 82-84. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-951X. 2005. 08. 042.
- [20] Kozakowski J, Kapuścińska R, Zgliczyński W. Associations of vitamin D concentration with metabolic and hormonal indices in women with polycystic ovary syndrome presenting abdominal and gynoidal type of obesity[J]. *Ginekol Pol*, 2014, 85 (10): 765-770.
- [21] Irani M, Merhi Z. Role of vitamin D in ovarian physiology and its implication in reproduction: a systematic review[J]. *Fertil Steril*, 2014, 102 (2): 460-468. e3. DOI: 10. 1016/j. fertnstert. 2014. 04. 046.
- [22] Merhi Z, Doswell A, Krebs K, et al. Vitamin D alters genes involved in follicular development and steroidogenesis in human cumulus granulosa cells[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014, 99 (6): E1137-E1145. DOI: 10. 1210/jc. 2013-4161.

(收稿日期: 2018-09-01)

(本文编辑: 饶颖)