

妊娠期糖尿病产妇胎盘与血清脂联素水平的相关性

李华珍¹,袁俏奇¹,罗 利¹,黄 薇¹,许金华^{2*}

(1.广州医科大学附属第四医院妇产科,广东 广州 511447;2.南华大学护理学院)

摘要: **目的** 探讨妊娠期糖尿病(GDM)产妇胎盘脂联素(APN)表达水平与血清脂联素、胰岛素抵抗的关系。**方法** 选择2014年10月至2015年9月在本院分娩的30例GDM产妇作为研究组,随机抽取同时段分娩的正常产妇30例作为对照组。免疫组化法检测胎盘滋养层细胞APN表达水平,分析胎盘APN水平与胰岛素抵抗、血清APN水平、产前体重指数(BMI)、新生儿体重和身长的相关性。**结果** 对照组胎盘滋养层细胞中可见细胞质、胞核或胞膜被染成棕黄色的阳性反应物,研究组阳性反应物的表达弱于对照组。定量分析显示,对照组APN的表达量为 62.54 ± 3.36 ,研究组APN的表达量为 37.12 ± 2.79 ,两组比较,差异有显著性($t = 8.496, P = 0.000$)。胎盘滋养层APN水平与产前BMI、产前HOMA-IR、新生儿出生体重呈负相关($P < 0.01$),胎盘滋养层APN水平与产前血清APN水平呈正相关($P < 0.01$),而与新生儿出生身长无相关性($P > 0.05$)。**结论** 胎盘APN表达水平降低和孕妇血清APN水平、胰岛素抵抗与胎儿生长发育均有显著相关,对胎盘APN表达及作用机制的进一步研究可为GDM的防治提供新的思路。

关键词: 妊娠期糖尿病; 脂联素; 胎盘

中图分类号:R71 文献标识码:A

The Relationship Between the Placenta and Serum Adiponectin Level in Patients with Gestational Diabetes Mellitus

LI Huazhen, YUAN Qiaoqi, LUO Li, et al

(The Fourth Affiliated Hospital of Obstetrics and Gynecology, Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong 511447, China)

Abstract: **Objective** To study the relationship of placenta adiponectin level with insulin resistance and serum adiponectin level in patients with gestational diabetes mellitus. **Methods** 30 patients in our hospital from October 2014 to September 2015 were selected as study group, and pregnant woman in childbirth at the same time were selected as control group. Immunohistochemistry was used to detect the expression level of APN in trophoblast cells. The relationship of placenta adiponectin level with insulin resistance, serum adiponectin level, prenatal body mass index, weight and length of newborn was analyzed. **Results** Positive reaction in placental trophoblast cells could be observed in the control group, and the expression of the positive reaction in the study group was weaker than that in the control group. The expression amount of APN in control group and study group were (62.54 ± 3.36) and (37.12 ± 2.79) respectively ($t = 8.496, P = 0.000$). The trophoblast APN level was negatively correlated with BMI in placenta, prenatal HOMA-IR and neonatal birth weight. The trophoblast APN level was positively correlated with prenatal blood APN level ($P < 0.01$). The trophoblast APN level was not correlated with neonatal birth length ($P > 0.05$). **Conclusion** The trophoblast APN level was correlated with prenatal blood APN level, insulin resistance and fetal growth and development, further studies on expression and mechanism of APN in placenta can provide a new way of thinking for the prevention and treatment of GDM.

Key words: adiponectin; placenta; gestational diabetes mellitus

妊娠期糖尿病(gestational diabetes mellitus, GDM)指孕前无糖尿病,妊娠期首次识别或发生的糖尿病或糖耐量异常^[1],妊娠期糖尿病可能导致羊

水过多、早产、死胎等多种并发症,对围产期母婴安全危害较大。脂联素(adiponectin, APN)是由脂肪细胞分泌的多肽类激素,与胰岛素抵抗和2型糖尿病的发生有着明显的相关^[2]。研究显示,GDM和糖耐量受损孕妇血清APN水平明显低于正常孕妇^[3]。目前对胎盘脂联素表达与GDM关系报道较少,本文对GDM和正常孕妇胎盘脂联素蛋白水平的表达进行研究,探讨胎盘脂联素水平与血清脂联素水平的相关性,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2014年10月~2015年9月在本院分娩的30例GDM产妇作为研究组,妊娠期糖尿病诊断标准参照(IAPNSG2010)妇产科第八版教材标准^[1],75 g葡萄糖行口服葡萄糖耐量试验(OGTT):空腹血糖 ≥ 5.1 mmol/L,1 h ≥ 10.0 mmol/L,2 h ≥ 8.5 mmol/L,任意一点血糖值异常即可诊断为妊娠期糖尿病。随机抽取同时段分娩的正常产妇30例作为对照组。两组患者均排除孕前糖尿病、高血压、甲功异常、妊娠期肝内胆汁淤积症、肝肾功能障碍等内外科病史,排除前置胎盘、胎盘早剥、羊水过少或过多等妊娠期并发症。研究组和对照组的一般情况:观察组(GDM组)产妇年龄20~42岁,平均 28.87 ± 2.21 岁,孕周37~41周,平均 38.14 ± 1.73 周,BMI 19.31~39.48,平均 31.02 ± 2.21 ,孕次1~5次,平均 2.81 ± 0.21 次,产次1~5次,平均 1.82 ± 0.31 次,对照组(正常组)产妇年龄20~41岁,平均 27.76 ± 3.21 岁,孕周37~41周,平均 39.14 ± 1.53 周,BMI 19.01~36.08,平均 26.14 ± 1.21 ,孕次1~5次,平均 2.73 ± 0.32 次,产次1~5次,平均 1.72 ± 0.23 次,对两组年龄、孕周、孕次及产次进行比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),BMI差异有统计学意义($P=0.004$)。

1.2 主要试剂 多聚赖氨酸,购自北京北方同正生物发展有限公司;SABC染色试剂盒,购自武汉博士德生物工程有限公司;DAB显色试剂盒,购自北京索莱宝科技有限公司;羊抗人脂联素单克隆抗体,购自北京西美杰科技有限公司。

1.3 研究方法

1.3.1 产前抽取产妇空腹静脉血,采用葡萄糖氧化酶法测定空腹血浆葡萄糖(FPG),采用化学发光法测定血清空腹胰岛素水平(Fins),采用ELISA法测

血清APN水平。胰岛素抵抗计算公式(HOMA-IR)为 $FBG\times(Fins\times 22.5)^{-1}$ 。

1.3.2 免疫组化法测定胎盘APN蛋白 所有产妇胎盘娩出后,用手术刀自胎盘母体面取 $0.5\text{ cm}\times 1.0\text{ cm}\times 1.0\text{ cm}$ 的胎盘组织,采用0.9%氯化钠溶液冲洗后,置入10%中性福尔马林溶液中固定24 h,脱水、透明、浸蜡包埋、切片,恒温箱60℃烤片1 h,脱蜡并采用梯度酒精水化,0.3%过氧化氢室温孵育30 min,0.01 mol/L磷酸缓冲盐溶液(PBS)洗涤5 min $\times 3$ 次,微波修复抗原,复温,0.01 mol/L PBS洗涤5 min $\times 3$ 次,滴加正常山羊血清封闭液,室温下20 min,1:100稀释羊抗人脂联素抗体,PBS代替羊抗人脂联素抗体作为对照组,4℃温度过夜,0.01 mol/L PBS洗涤5 min $\times 3$ 次,加生物素化兔抗山羊IgG,孵育30 min,0.01 mol/L PBS洗涤5 min,重复3次,滴加SABC(Strept Avidin-Biotin Complex,链霉亲和素-生物素-酶复合物),孵育30 min,0.01 mol/L PBS洗涤5 min $\times 4$ 次,DAB(3,3-二氨基苯联胺),显色、苏木素复染,盐酸分色,自来水冲洗,梯度脱水,二甲苯透明,中性树脂封片。采用显微图像自动分析系统对进行半定量分析,随机选取5个视野/张切片,测定阳性反应部位的平均吸光度。

1.4 统计学处理 所有数据均采用SPSS 20.0进行统计学处理,计量资料采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)的方式表示,采用 t 检验,胎盘脂联素与各指标间的相关性采用直线相关,计数资料采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胎盘APN表达 对照组胎盘滋养层细胞中可见细胞质、胞核或胞膜被染成棕黄色的阳性反应物,研究组阳性反应物的表达弱于对照组,见图1。定量分析显示,对照组APN的表达量为 62.54 ± 3.36 ,研究组APN的表达量为 37.12 ± 2.79 ,两组比较,差异有显著性($t=8.496, P=0.000$)。

2.2 胎盘滋养层APN表达水平与产妇临床资料相关性 胎盘滋养层APN水平与产前BMI、产前HOMA-IR、新生儿出生体重呈负相关($P<0.01$),胎盘滋养层APN水平与产前血APN水平呈正相关($P<0.01$),胎盘滋养层APN水平与新生儿出生身长无相关性($P>0.05$)。见表1。

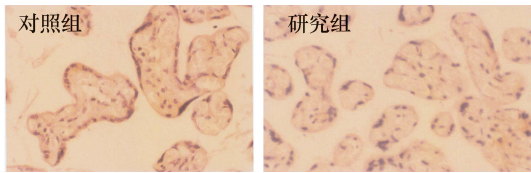


图 1 两组胎盘滋养层中 APN 的表达对比 (400×)

表 1 胎盘滋养层 APN 表达水平与产妇临床资料相关性

妊娠结局各指标	脂联素	
	<i>r</i>	<i>P</i>
产前 BMI	-0.84	0.000
产前 HOMA-IR	-0.92	0.000
产前血脂联素水平	0.94	0.000
新生儿出生体重	-0.61	0.000
新生儿出生身长	-0.15	0.414

3 讨 论

APN 是由脂肪组织细胞分泌的特异性激素,可调节炎症反应、增强胰岛素敏感性,APN 水平下降或功能不全将会增加胰岛素抵抗,增加妊娠期糖尿病的发生几率^[4]。研究显示,胰岛素抵抗的糖尿病患者中血清 APN 水平明显低于正常对照组,提高 APN 水平可减轻糖尿病患者的胰岛素抵抗^[5-6]。胎盘的主要细胞类型为滋养层细胞,除了参与母胎之间的物质交换外,还可分泌多种因子,调节母体的能量代谢,调控胎儿的生长发育^[7]。目前有研究显示,胎盘分泌的瘦素、TNF- α 等与 GDM 患者胰岛素抵抗有关^[8-9]。但脂联素在胎盘组织中的表达及表达水平与 GDM 是否有关目前研究较少。

本文采用免疫组化对胎盘组织脂联素表达进行定位和定量研究,结果显示,滋养层细胞浆内有 APN 蛋白的明显表达,定量研究显示,GDM 产妇滋养层 APN 的表达量明显低于对照组,该结果提示胎盘滋养层细胞可能是孕期 APN 的来源之一。直线相关显示,滋养层 APN 表达水平与产妇产前 BMI、HOMA-IR 均呈明显负相关,与产妇血清脂联素水平呈明显正相关,结果提示 GDM 发病过程中,除脂肪细胞分泌 APN 减少外,胎盘分泌水平下降也是孕妇血清 APN 水平下降的重要原因,在孕妇体脂增加和高血糖、高胰岛素血症等因素的共同作用下,脂肪组织和胎盘的 APN 分泌均被抑制,导致血清 APN 水平下降,胰岛素抵抗增加。本研究结果还显示,滋养层 APN 表达水平与新生儿体重呈负相关,但和新生儿身长无明显相关,说明 GDM 孕妇胎盘 APN 水平

表达降低可影响胎儿的生长发育,增加巨大儿的发生率,其详细作用机制尚有待进一步探讨。

综上所述,胎盘是孕妇 APN 的来源,胎盘 APN 表达水平降低和孕妇血清 APN 水平、胰岛素抵抗与胎儿生长发育均有显著相关,对胎盘 APN 表达及作用机制的进一步研究可为 GDM 的防治提供新的思路。

参考文献:

[1] 谢幸,苟文丽.妇产科学[M].8版.北京:人民卫生出版,2013:75-79.

[2] Chakraborti CK.Role of adiponectin and some other factors linking type 2 diabetes mellitus and obesity[J].World J Diabetes,2015,6(15):1296-1308.

[3] Hedderson MM,Darbinian J,Havel PJ,et al.Low prepregnancy adiponectin concentrations are associated with a marked increase in risk for development of gestational diabetes mellitus [J].Diabetes Care.2013,36(12):3930-3937.

[4] Miczke A,Suliburska J,Pupek-Musialik D,et al.Effect of L-arginine supplementation on insulin resistance and serum adiponectin concentration in rats with fat diet[J].Int J Clin Exp Med,2015,8(7):10358-10366.

[5] Lacroix M,Battista MC,Doyon M,et al.Lower adiponectin levels at first trimester of pregnancy are associated with increased insulin resistance and higher risk of developing gestational diabetes mellitus.[J].Diabetes Care.2013,36(6):1577-1583.

[6] Yadav A,Kataria MA,Saini V,et al.Role of leptin and adiponectin in insulin resistance. [J].Clin Chim Acta.2013; 417:80-84.

[7] Gunderson EP,Kim C,Quesenberry CP Jr,et al.Lactation intensity and fasting plasma lipids, lipoproteins, non-esterified free fatty acids, leptin and adiponectin in postpartum women with recent gestational diabetes mellitus: the SWIFT cohort. [J].Metabolism.2014,63(7):941-950.

[8] Xu J,Zhao YH,Chen YP,et al.Maternal circulating concentrations of tumor necrosis factor- α , leptin, and adiponectin in gestational diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis [J].ScientificWorldJournal. 2014, 2014:926932.

[9] Kim SY,Sy V,Araki T,et al.Total adiponectin, but not inflammatory markers C-reactive protein, tumor necrosis factor- α , interleukin-6 and monocyte chemoattractant protein-1, correlates with increasing glucose intolerance in pregnant Chinese-Americans[J].J Diabetes.2014,6(4):360-368.

(本文编辑:秦旭平)