

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2020.17.005

文章编号: 1005-8982 (2020) 17-0025-05

妊娠糖尿病患者糖负荷前后血清氨基酸与胰岛素抵抗和胰岛 β 细胞功能的相关性研究

王忠德¹, 岳欣², 牟凯³

(淄博市妇幼保健院 1. 内科, 2. 检验科, 3. 遗传实验室, 山东 淄博 255029)

摘要: **目的** 探讨糖负荷前后妊娠糖尿病 (GDM) 患者血清氨基酸与胰岛素抵抗和胰岛 β 细胞功能的关系。**方法** 63 例 GDM 孕妇 (GDM 组) 和 58 例年龄和孕周相匹配的正常孕妇 (正常组) 均来自淄博市妇幼保健院产科门诊, 于孕 24 ~ 28 周收集行口服葡萄糖耐量试验 (OGTT) 过程中 0、1 及 2 h 血样本。采用电化学发光法测定空腹胰岛素水平, 高效液相色谱-串联质谱法 (HPLC-MS/MS) 检测血清氨基酸水平。**结果** GDM 组糖负荷前后血清丙氨酸 (ALA)、精氨酸 (ARG)、甘氨酸 (GLY)、蛋氨酸 (MET) 水平高于正常组 ($P < 0.05$), 而亮氨酸 (LEU)、苯丙氨酸 (PHE)、脯氨酸 (PRO)、酪氨酸 (TYR) 和缬氨酸 (VAL) 水平仅在糖负荷后高于正常组 ($P < 0.05$)。Spearman 相关分析显示, 糖负荷前后血清 ALA ($r_s = 0.657$ 和 0.534 , $P < 0.05$)、ARG ($r_s = 0.382$ 和 0.278 , $P < 0.05$)、LEU ($r_s = 0.467$ 和 0.389 , $P < 0.05$)、PHE ($r_s = 0.506$ 和 0.398 , $P < 0.05$)、PRO ($r_s = 0.454$ 和 0.448 , $P < 0.05$)、TYR ($r_s = 0.474$ 和 0.438 , $P < 0.05$)、VAL ($r_s = 0.464$ 和 0.399 , $P < 0.05$) 水平均与胰岛素抵抗指数 (HOMA-IR) 呈正相关, 而与胰岛 β 细胞功能 (HOMA- β) 无相关性 ($P > 0.05$); 糖负荷前血清 ALA ($r_s = 0.343$, $P < 0.05$)、LEU ($r_s = 0.275$, $P < 0.05$)、PHE ($r_s = 0.293$, $P < 0.05$)、PRO ($r_s = 0.387$, $P < 0.05$) 水平与胰岛素浓度时间图像的曲线下面积呈正相关。**结论** 糖负荷前后 GDM 患者存在某些氨基酸水平的改变, 且与胰岛素抵抗密切相关。

关键词: 糖尿病, 妊娠; 氨基酸; 胰岛素抵抗

中图分类号: R714.256

文献标识码: A

Correlation analysis between serum amino acids and insulin resistance with islet beta cell function in patients with gestational diabetes mellitus after glucose loading

Zhong-de Wang¹, Xin Yue², Kai Mou³

(1. Department of Internal Medicine, 2. Clinical Lab, 3. Genetic Neonatal Screening Center, Zibo Maternal and Child Health Hospital, Zibo, Shandong 255029, China)

Abstract: **Objective** To investigate the relationship between serum amino acid levels and insulin resistance and pancreatic beta cell function in patients with gestational diabetes mellitus (GDM) before and after glucose loading. **Methods** A total of 63 GDM patients and 58 normal pregnant women matched in age and gestational weeks were all from the obstetric clinic of our hospital. Serum samples were collected at 0 h, 1 h and 2 h during 75 g oral glucose tolerance test (OGTT) from 24 to 28 weeks of gestation. Serum insulin levels were determined by chemiluminescence method, and serum amino acid levels were determined by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Results** Compared with normal pregnant women, GDM patients

showed higher plasma concentrations of alanine (ALA), arginine (ARG), glycine (GLY), methionine (MET) before and after glucose loading ($P < 0.05$), while higher plasma concentrations of leucine (LEU), phenylalanine (PHE), proline, tyrosine (TYR) and valine (VAL) only after glucose loading ($P < 0.05$). Spearman correlation analysis showed that serum levels of alanine ($r_s = 0.657$ and 0.534), arginine ($r_s = 0.382$ and 0.278), leucine ($r_s = 0.467$ and 0.389), phenylalanine ($r_s = 0.506$ and 0.398), proline ($r_s = 0.454$ and 0.448), tyrosine ($r_s = 0.474$ and 0.438) and valine ($r_s = 0.464$ and 0.399) were positively correlated with HOMA insulin resistance index (HOMA-IR) ($P < 0.05$), but not with HOMA- β ($P > 0.05$); serum levels of ALA ($r_s = 0.343$), LEU ($r_s = 0.275$), PHE ($r_s = 0.293$) and PRO ($r_s = 0.387$) were positively correlated with area under the curve of blood insulin (AUCI) before glucose loading ($P < 0.05$).

Conclusions There are some changes of amino acid levels in GDM patients before and after glucose loading, which are closely related to insulin resistance.

Keywords: diabetes, gestational; amino acids, insulin resistance

妊娠糖尿病 (gestational diabetes mellitus, GDM) 是指妊娠期发生的糖代谢异常。目前全球 GDM 的患病率迅速攀升, 据国际糖尿病联盟 (International Diabetes Federation, IDF) 估计, 全球约有 14% 的妊娠受到 GDM 的影响^[1], 而 GDM 与诸多妊娠不良结局有关, 严重影响母婴安全。已有研究显示体内氨基酸代谢异常与 GDM 发病密切相关^[2]。本研究观察 GDM 患者糖负荷前后血清 11 种氨基酸水平的变化及其与胰岛素抵抗、胰岛 β 细胞功能的关系, 以期阐明氨基酸代谢异常在 GDM 发病机制中的作用。

1 资料与方法

1.1 临床资料

在 2016 年 1 月—2017 年 1 月淄博市妇幼保健院产科门诊孕 24 ~ 28 周的孕妇中, 随机选取 63 例 GDM 孕妇 (GDM 组) 和 58 例正常产检孕妇 (正常组)。其中, GDM 组平均年龄 (30.7 ± 4.2) 岁, 平均孕周 (26.0 ± 1.2) 周; 正常组平均年龄 (29.3 ± 3.6) 岁, 平均孕周 (26.0 ± 1.6) 周, 两组年龄和孕周相匹配。GDM 的诊断依据妊娠合并糖尿病诊治指南 (2014 年) 的诊断标准^[3], 即口服葡萄糖耐量试验 (oral glucose tolerance test, OGTT) 的诊断标准: 服糖前血糖值及服糖后 1、2 h 血糖值应分别低于 5.1、10.0 和 8.5 mmol/L。任何一项血糖值达到或超过上述标准即诊断为 GDM。并排除以下情况: 妊娠合并高血压疾病、妊娠合并感染、妊娠合并风湿免疫性疾病、妊娠合并甲状腺疾病等。研究经本院医学伦理委员会批准, 患者家属签署知情同意书。

1.2 标本收集

所有研究对象均测量体重、身高、血压, 空腹抽取静脉血 3 ml, 同时严格按照指南标准行 OGTT, 于

服糖后 1、2 h 分别抽取静脉血 3 ml, 离心分离血清备用, 并采集微量血滴于型号为 S & S 903 滤纸上, 悬空平置自然晾干, 置于密封袋中, 2 ~ 8℃ 冰箱冷冻保存备用。酶法测定空腹血糖 (FBG), 电化学发光法检测空腹胰岛素 (FINS)。

1.3 胰岛素抵抗和胰岛 β 细胞功能指数计算

胰岛素抵抗指数 (HOMA-IR) = $FINS \times FBG / 22.5$, 胰岛 β 细胞功能 (HOMA- β) = $20 \times FINS / (FBG - 3.5)$, 胰岛素浓度时间图像的曲线下面积 (area under the curve of blood insulin, AUCI) = $FINS / 2 + OGTT$ 1 h 胰岛素 + $OGTT$ 2 h 胰岛素 / 2。

1.4 血清氨基酸的检测

1.4.1 试剂 非衍生化多种氨基酸、肉碱检测试剂盒购于美国 PerkinElmer 公司。其内含有用于测量 11 种氨基酸的全套内标准品和质控品, 包括丙氨酸 (ALA)、瓜氨酸 (CIT)、精氨酸 (ARG)、甘氨酸 (LY)、亮氨酸 (LEU) / 异亮氨酸 (LLE) / 羟基脯氨酸 (PRO-OH)、蛋氨酸 (MET)、鸟氨酸 (ORN)、苯丙氨酸 (PHE)、脯氨酸 (PRO)、酪氨酸 (TYR)、缬氨酸 (VAL)。

1.4.2 实验步骤 采用高效液相色谱-串联质谱法 (HPLC-MS/MS) 检测血清氨基酸水平。用直径 3.2 mm 打孔器在有血斑的滤纸片上打孔, 从滤纸血片上取样, 置于 96 孔 U 型板中, 每孔加入 100 μ l 由氨基酸内标与萃取剂按比例配制成的内标工作液, 45℃ 密封孵育震荡 (650 ~ 750 r/min) 45 min, 提取 75 μ l 萃取液转移至 V 型底检测板内, 铝膜覆盖, 上机检测。

1.5 统计学方法

数据分析采用 SPSS 18.0 统计软件, 计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 或中位数和四分位数 [M (P_{25} , P_{75})] 表示, 比较做 t 检验或秩和检验, 相关分析用 Spearman 法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组孕妇临床资料 and 各项指标的比较

GDM 组和正常组身高和 AUCI 比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$); GDM 组孕前体重、FBG、FINS、HOMA-IR 高于正常组, 而 HOMA- β 低于正常组 ($P<0.05$)。见表 1。

2.2 糖负荷对两组孕妇血清氨基酸水平的影响

GDM 组糖负荷前后血清 ALA、ARG、GLY、

MET 水平高于正常组 ($P<0.05$); LEU、PHE、PRO、TYR 和 VAL 水平仅在糖负荷后高于正常组 ($P<0.05$), 而糖负荷前两组比较差异无统计学意义 ($P>0.05$); 两组糖负荷前后血清 CIT、ORN 水平比较, 差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 2。

2.3 糖负荷前后氨基酸水平与 HOMA-IR、HOMA- β 、AUCI 的相关性

Spearman 相关分析显示, 糖负荷前后血清 ALA、ARG、LEU、PHE、PRO、TYR、VAL 水平均与

表 1 两组孕妇临床资料及各项指标的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	身高 /cm	孕前体重 /kg	FBG/ (mmol/L)	FINS/ (mu/L)	AUCI	HOMA-IR	HOMA- β
正常组	58	162.1 $\pm$ 5.5	58.3 $\pm$ 9.2	4.34 $\pm$ 0.38	8.24 $\pm$ 4.07	101.8 $\pm$ 45.7	1.585 $\pm$ 0.843	2.641 $\pm$ 1.423
GDM 组	63	162.1 $\pm$ 4.8	64.7 $\pm$ 10.6	5.09 $\pm$ 0.70	11.63 $\pm$ 6.54	137.3 $\pm$ 81.9	2.633 $\pm$ 1.624	1.708 $\pm$ 1.122
<i>t</i> 值		0.001	3.554	7.403	2.475	1.676	3.718	4.026
<i>P</i> 值		0.999	0.001	0.000	0.013	0.094	0.000	0.000

表 2 糖负荷前后两组孕妇不同血清氨基酸水平的比较 [M (P₂₅, P₇₅), μ mol/L]

组别	<i>n</i>	ALA		ARG		CIT	
		负荷前	负荷后	负荷前	负荷后	负荷前	负荷后
正常组	58	246.38 (233.12, 257.29)	233.29 (222.07, 245.30)	17.20 (16.82, 17.61)	13.36 (13.18, 13.50)	14.34 (13.78, 14.81)	11.04 (10.62, 11.71)
GDM 组	63	269.76 (256.65, 280.87)	262.65 (253.19, 278.33)	21.76 (21.59, 21.94)	17.68 (16.93, 18.01)	14.54 (13.89, 14.95)	11.93 (11.29, 12.34)
<i>Z</i> 值		2.232	4.061	2.439	4.271	0.431	1.913
<i>P</i> 值		0.026	0.000	0.015	0.000	0.667	0.056

组别	GLY		LEU		MET		ORN	
	负荷前	负荷后	负荷前	负荷后	负荷前	负荷后	负荷前	负荷后
正常组	146.76 (139.82, 154.19)	141.35 (133.65, 151.08)	104.96 (95.28, 111.29)	70.84 (65.39, 81.37)	11.40 (10.35, 12.19)	9.25 (8.74, 9.85)	38.70 (33.63, 42.58)	34.04 (32.71, 36.53)
GDM 组	163.98 (155.27, 169.23)	155.87 (147.19, 163.35)	108.51 (93.73, 118.52)	83.18 (74.02, 91.59)	13.27 (12.20, 14.09)	11.39 (10.67, 12.02)	35.23 (33.92, 37.10)	32.92 (32.05, 34.03)
<i>Z</i> 值	2.109	3.463	1.726	4.324	3.930	5.286	1.099	0.400
<i>P</i> 值	0.035	0.001	0.084	0.000	0.000	0.000	0.272	0.689

组别	PHE		PRO		TYP		VAL	
	负荷前	负荷后	负荷前	负荷后	负荷前	负荷后	负荷前	负荷后
正常组	41.24 (40.15, 42.08)	34.81 (30.72, 37.88)	81.35 (79.82, 82.06)	71.16 (70.35, 71.97)	35.58 (30.73, 35.58)	28.44 (27.65, 29.17)	128.38 (126.26, 131.05)	102.85 (100.97, 104.73)
GDM 组	44.34 (43.59, 45.01)	38.20 (37.16, 38.93)	85.05 (84.11, 86.04)	81.15 (80.63, 82.07)	36.15 (35.29, 36.98)	30.71 (30.03, 31.75)	134.83 (132.07, 136.53)	114.68 (112.79, 116.92)
<i>Z</i> 值	1.790	3.658	1.846	3.362	0.492	2.651	1.480	3.368
<i>P</i> 值	0.073	0.000	0.065	0.001	0.623	0.008	0.139	0.001

HOMA-IR 呈正相关 ($P < 0.05$), 而与 HOMA- β 无相关性 ($P < 0.05$); 糖负荷前血清 ALA、LEU、PHE、

PRO 与 AUCI 水平呈正相关 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 HOMA-IR、HOMA- β 和 AUCI 与不同血清氨基酸的相关分析结果

项目	ALA		ARG		LEU		PHE		PRO		TYR		VAL	
	0 h	2 h	0 h	2 h	0 h	2 h	0 h	2 h	0 h	2 h	0 h	2 h	0 h	2 h
HOMA-IR														
r_s 值	0.657	0.534	0.382	0.278	0.467	0.389	0.506	0.398	0.454	0.448	0.474	0.438	0.464	0.399
P 值	0.000	0.000	0.004	0.049	0.001	0.002	0.000	0.003	0.001	0.001	0.000	0.001	0.001	0.001
HOMA- β														
r_s 值	0.164	0.195	0.143	0.254	0.252	0.272	0.226	0.197	0.092	0.143	0.164	0.194	0.176	0.245
P 值	0.243	0.165	0.339	0.126	0.068	0.054	0.121	0.157	0.541	0.303	0.224	0.204	0.206	0.101
AUCI														
r_s 值	0.343	0.253	0.175	0.198	0.275	0.169	0.293	0.096	0.387	0.243	0.267	0.199	0.229	0.187
P 值	0.014	0.067	0.205	0.157	0.045	0.186	0.037	0.537	0.007	0.071	0.067	0.157	0.147	0.173

3 讨论

GDM 与 2 型糖尿病具有共同的发病机制, 慢性胰岛素抵抗是其发生的重要环节^[4]。研究表明, 妊娠过程存在进行性生理性的胰岛素抵抗, 进而造成胰岛 β 细胞代偿性胰岛素分泌增多, 赖以维持孕期血糖正常, 而胰岛素分泌受限的孕妇, 妊娠期不能代偿这一生理变化, 进而使血糖升高^[5]。因此, GDM 的发生是由孕期进行性胰岛素抵抗与胰岛 β 细胞代偿性胰岛素分泌能力两者之间失平衡的结果所致。GDM 患者孕期 HOMA-IR 较正常孕妇显著升高^[6]。本研究观察到 GDM 组 AUCI 和 HOMA-IR 升高, 而 HOMA- β 降低, 提示 GDM 存在高胰岛素血症和胰岛素抵抗状态。

胰岛素不仅在糖脂代谢中发挥重要作用, 而且与蛋白质代谢密切相关。严重胰岛素抵抗可改变机体多种氨基酸的水平, 而氨基酸代谢异常与胰岛素分泌、胰岛素敏感性密切相关。国内王风华等^[7]研究发现血浆支链氨基酸、芳香族氨基酸水平升高与糖尿病的新发风险显著相关。RAHIMI 等^[8]研究发现, GDM 妇女血清 ARG、GLY 和 MET 显著升高, 而患有 2 型糖尿病的孕妇血清天冬酰胺、TYR、VAL、PHE、谷氨酸和 LLE 显著升高。也有研究发现, GDM 患者脐动静脉血中 VAL、MET、PHE、LLE、LEU、ORN、谷氨酸、PRO 和 ALA 的含量增加, 而谷氨酰胺的含量降低^[9]。BENTLEY 等^[10]采用巢式病例对照研究的方法发现,

GDM 患者邻氨基苯甲酸、ALA、谷氨酸、尿囊素和丝氨酸水平升高, 而支链氨基酸水平在两组间无差异。本研究也观察到 GDM 组糖负荷前后血清 ALA、ARG、GLY、MET 水平升高, 而 LEU、PHE、PRO、TYR 和 VAL 水平的升高仅表现在糖负荷后 2 h。尽管上述研究结果不尽相同, 但均提示 GDM 患者存在氨基酸代谢的异常, 本研究还发现某些氨基酸水平的变化与 AUCI 和 HOMA-IR 密切相关, 提示这些氨基酸代谢异常进一步加剧胰岛素抵抗, 促进 GDM 的发生。但具体机制尚不清楚。有研究显示^[11], 高水平氨基酸尤其是支链氨基酸, 如 LEU、LLE 和 VAL 可激活 TORC1 通路, 诱导胰岛素抵抗, 而 ALA 可抑制肝组织丙酮酸激酶, 调控糖异生和糖酵解。

综上所述, GDM 患者存在氨基酸代谢异常, 并且这些代谢异常与胰岛素抵抗、GDM 的发生密切相关。对这些指标的进一步研究, 有助于阐明 GDM 的发病机制, 并为 GDM 防治提供新的策略。

参考文献:

- [1] ZHU Y, ZHANG C. Prevalence of gestational diabetes and risk of progression to type 2 diabetes: a global perspective[J]. Current Diabetes Reports, 2016, 16(1): 7.
- [2] 王敏, 辛精, 李真. 妊娠期糖尿病患者糖、脂类和氨基酸代谢研究进展 [J]. 中华围产医学杂志, 2012, 15(9): 569-573.
- [3] 中华医学会围产医学分会妊娠合并糖尿病协作组. 妊娠合并糖尿病诊治指南 (2014)[J]. 中华妇产科杂志, 2014, 49(8): 561-569.

- [4] SOKUP A, RUSZKOWSKA-CIASTEK B, GÓRALCZYK K, et al. Insulin resistance as estimated by the homeostatic method at diagnosis of gestational diabetes: estimation of disease severity and therapeutic needs in a population-based study[J]. *MC Endocr Disord*, 2013, 2(13): 21-30.
- [5] SATHYAPALAN T, MELLOR D, ATKIN S L, et al. Obesity and gestational diabetes[J]. *Semin Fetal Neonatal Med*, 2010, 15(2): 89-93.
- [6] WANG Y H, WU H H, DING H, et al. Changes of insulin resistance and β -cell function in women with gestational diabetes mellitus and normal pregnant women during mid- and late pregnant period: a case-control study[J]. *J Obstet Gynaecol Res*, 2013, 39(3): 647-652.
- [7] 王风华, 刘静, 邓秋菊, 等. 血浆 20 种氨基酸水平与糖尿病风险的关联研究 [J]. *中华内科杂志*, 2019, 58(4): 270-277.
- [8] RAHIMI N, RAZI F, NASLI ESFAHANI E, et al. Amino acid profiling in the gestational diabetes mellitus[J]. *J Diabetes Metab Disord*, 2017, 31(16): 13-18.
- [9] CETIN I, de SANTIS M S, TARICCO E, et al. Maternal and fetal amino acid concentrations in normal pregnancies and in pregnancies with gestational diabetes mellitus[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2005, 192(2): 610-617.
- [10] BENTLEY L R, HUYNH J, XIONG G, et al. Metabolomic profiling in the prediction of gestational diabetes mellitus[J]. *Diabetologia*, 2015, 58(6): 1329-1332.
- [11] YOON M S. The emerging role of branched-chain amino acids in insulin resistance and metabolism[J]. *Nutrients*, 2016, 8(7): 405.

(张蕾 编辑)

本文引用格式: 王忠德, 岳欣, 牟凯. 妊娠糖尿病患者糖负荷前后血清氨基酸与胰岛素抵抗和胰岛 β 细胞功能的相关性研究 [J]. *中国现代医学杂志*, 2020, 30(17): 25-29.