

血清及卵泡液内脂素水平与多囊卵巢综合征的关系

杨学敏, 古 健*, 沈慧敏, 李 田, 邹先翔, 苏淑军, 张添松
(中山大学附属第三医院妇科, 广东 广州 510630)

摘要:【目的】探讨多囊卵巢综合征(PCOS)患者血清内脂素(S visfatin)、卵泡液内脂素(FF visfatin)水平及其与PCOS的关系。【方法】选择同期因PCOS、输卵管等因素导致不孕行手术治疗的育龄女性,PCOS组20例,对照组20例。两组患者均于卵泡早期抽取静脉血检测性激素、血糖指标,测量身高、体质量、腰围、臀围以计算体质量指数BMI、腰臀比WHR;留取血清、卵泡液检测visfatin水平。【结果】(1)PCOS组S visfatin(20.03 ± 3.07)ng/mL、FF visfatin(19.17 ± 4.91)ng/mL水平分别高于对照组S visfatin(14.47 ± 3.81)ng/mL、FF visfatin(13.20 ± 4.12)ng/mL水平,差异均有统计学意义($P < 0.001$);(2)PCOS组S visfatin、FF visfatin水平呈正相关($r = 0.67, P = 0.004$);对照组S visfatin、FF visfatin水平呈正相关($r = 0.87, P < 0.001$);(3)研究对象总体多因素线性逐步回归分析结果显示,胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)、WHR、LH/FSH可以解释S visfatin水平的80%;血清visfatin可以解释卵泡液visfatin水平的85%。【结论】PCOS患者存在高内脂素血症,其S visfatin、FF visfatin水平升高,且两者呈正相关;FF visfatin可能主要受到S visfatin的影响;HOMA-IR、WHR、LH/FSH与S visfatin呈正相关,提示visfatin可能参与了PCOS的发病机制。

关键词:多囊卵巢综合征;卵泡液;内脂素;胰岛素抵抗指数

中图分类号:R711.51 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-3554(2013)02-0266-05

Relationship between Visfatin Levels in Serum and Follicular Fluid in Polycystic Ovary Syndrome

YANG Xue-min¹, GU Jian*, SHEN Hui-min, LI Tian, ZOU Xian-xiang, SU Shu-jun, ZHANG Tian-song
(Department of Gynecology, The Third Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China)

Abstract: 【Objective】 To explore the relationship between visfatin levels in serum, follicular fluid and its relationship with PCOS. 【Methods】 Samples from PCOS group ($n = 20$) and control group ($n = 20$) were collected. All subjects were women of reproductive age. Sex hormone, glycometabolic indexes were detected in early follicular period. Height, weight, waist circumference, and hip circumference were collected to calculate BMI (body mass index) and WHR (waist to hip ratio). Serum and follicular fluid were preserved to detect visfatin levels. 【Results】 (1) S visfatin levels, FF visfatin levels in PCOS group were higher than that in the control group, respectively ($P < 0.001$). (2) In the two groups, S visfatin levels positively correlated with FF visfatin levels ($r = 0.67, P < 0.05$; $r = 0.87, P < 0.05$). (3) In multiple regression analysis, S visfatin levels can be explained by HOMA-IR, WHR, and LH/FSH to some extent by 80%; FF visfatin levels can be explained by S visfatin levels to some extent by 85%. 【Conclusion】 Hypervisfatinemia was evident in the women with PCOS. S visfatin levels and FF visfatin levels in PCOS group elevated, and they correlated positively. FF visfatin may be affected mainly by S visfatin. Visfatin may participate in the pathogenesis of PCOS.

Key words: polycystic ovary syndrome; follicular fluid; visfatin; HOMA-IR

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2013, 34(2):266-270]

多囊卵巢综合征 PCOS (polycystic ovary syndrome)是一种发病多因性、临床表现呈多态性的内分泌综合征,是导致生育期妇女月经紊乱和

无排卵性不育的主要原因^[1]。迄今 PCOS 病因不明,目前仍处于对症治疗阶段,PCOS 的病因及发病机制研究是妇科内分泌的研究热点之一。脂肪

收稿日期:2012-09-25

基金项目:广东省科技计划项目(2007B060401018)

作者简介:杨学敏,硕士,医师,现任职于东莞市妇幼保健院, E-mail: yangxueminzd@qq.com; * 通信作者:古健, E-mail: doctorgujian@tom.com

组织分泌的多种脂肪因子如脂联素、瘦素(leptin)、抵抗素等,这些细胞因子与糖脂代谢密切相关^[2]。内脏脂肪素(visfatin)简称内脂素,是一种新发现的脂肪因子,主要由内脏脂肪产生,有类胰岛素(insulin, INS)样作用^[3]。Ching等^[4]通过对16例接受试管受精的女性的研究发现FF visfatin水平与获取的卵母细胞数量呈正比,由于样本数量有限并未发现S visfatin与FF visfatin之间存在明显相关关系。我们拟研究PCOS患者S visfatin与FF visfatin水平是否升高、S visfatin (serum visfatin,)与FF visfatin (follicular fluid visfatin)的关系、以及visfatin在PCOS中的作用。

1 材料与方 法

1.1 临床资料

研究对象源自2008年11月至2010年1月因PCOS、输卵管等原因所致不孕于我院行手术治疗的育龄女性。研究对象分为两组,第一组为PCOS组,共20例,第二组为对照组,共20例。PCOS诊断标准采用2003年欧洲人类生殖和胚胎学会与美国生殖医学会(ESHRE/ASRM)在鹿特丹召开的PCOS专题研讨会上提出的PCOS诊断标准^[5]:①稀发排卵或无排卵;②高雄激素的临床和(或)生物化学征象;③超声表现为多囊卵巢(至少一侧卵巢可见12个以上直径为2~8mm的卵泡,和(或)卵巢体积大于10mL)。符合以上三项标准中的两项者,排除柯兴氏综合征和先天性肾上腺增生症、分泌雄激素的肿瘤等。每个研究对象均测量身高、体质量、腰围、臀围以计算BMI (body mass index)、WHR(waist to hip ratio)。BMI = 体质量(kg)/身高²(m²)。WHR=腰围(cm)/臀围(cm),腰围取经两侧髂嵴最高点经脐水平的周径,臀围取两股骨大转子外面最突出点经臀部的周径。

1.2 实验室资料

两组研究对象均于月经周期第3~5天(PCOS组闭经者于卵泡早期)晨抽取空腹静脉血检测睾酮(testosterone, T)、黄体生成素(luteinizing hormone, LH)、卵泡刺激素(follicle stimulating hormone, FSH);留取空腹静脉血2mL,离心后取上清液置于-70℃冰箱保存;手术时留取卵泡液,转移至EP管中于-70℃冰箱保存,血清与卵泡液均用于visfatin的检测。口服葡萄糖耐量试验(oral

glucose tolerance test, OGTT)检查方法:晨起抽取空腹血测空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)、C肽(C-peptides, Cps)、空腹胰岛素(fasting insulin, FINS)。将葡萄糖粉75g溶于250mL水中,5min内饮完,服糖水后1h、2h抽静脉血测OGTT 1h血糖(1 hour plasma glucose, 1hPG)、OGTT 2h血糖(2 hour plasma glucose, 2hPG)。用稳态模型胰岛素抵抗(homeostasis model assessment-insulin resistance, HOMA-IR)评估IR程度, HOMA-IR=FINS(mU/L)×FPG(mmol/L)/22.5。性激素、INS测定采用化学发光法;血糖检测采用氧化酶法。Visfatin检测用ELISA方法(美国R&D公司试剂盒),批内、批间变异系数均小于10%。

1.3 统计学处理

采用SPSS17.0统计软件进行统计学处理,计量资料以均数±标准差(Mean±SD)描述,两组间各项指标比较首先采用正态性检验和方差齐性检验,若方差齐则用两独立样本 t 检验,方差不齐则采用校正的 t 检验,非正态分布的指标采用非参数检验。Visfatin与各变量关系采用Pearson积距相关、Spearman积矩秩相关和多重线性回归分析的方法,按 $\alpha=0.05$ 的检验水准,以 $P<0.05$ 为有统计学意义。

2 结 果

2.1 临床、生化指标及visfatin水平的比较

PCOS组WHR、T、LH、LH/FSH、FINS、HOMA-IR及S visfatin、FF visfatin水平均高于对照组,两组比较,差异均具有统计学意义($P<0.05$)。两组AGE、BMI、FSH、Cps、FPG、1hPG、2hPG无明显差异,两组比较,差异无统计学意义($P>0.05$,表1)。

2.2 S visfatin、FF visfatin水平相关性分析

PCOS组血清、卵泡液visfatin水平呈正相关($r=0.67$, $P=0.004$)。对照组血清、卵泡液visfatin水平呈正相关($r=0.87$, $P<0.001$,图1、2)。

2.3 S visfatin与各因素回归分析

以研究对象总体S visfatin为因变量,其它各因素为自变量进行多重线性逐步回归分析(自变量中不包含FF visfatin),结果显示,HOMA-IR、WHR、LH/FSH比值进入了回归方程,整个回归方程复相关系数 $R=0.89$,决定系数 $R^2=0.80$,说明逐步拟合的多元线性回归方程的因变量能被自变

表 1 两组临床、生化资料比较

Table 1 Comparison of general data and biochemical data among the two groups

Variable	PCOS group (n = 20)	Control group (n = 20)	P
AGE/year	29.3 ± 3.4	30.2 ± 3.6	0.449
BMI/(kg/m ²)	22.1 ± 3.2	20.3 ± 2.6	0.056
WHR	0.84 ± 0.07	0.79 ± 0.06	0.033
T/(nmol/L)	2.6 ± 0.7	2.0 ± 0.4	0.002
FSH/(mIU/mL)	5.2 ± 1.7	4.6 ± 0.9	0.168
LH(mIU/mL)	15.6 ± 6.6	4.8 ± 1.5	< 0.001
LH/FSH	3.0 ± 1.4	1.2 ± 0.4	< 0.001
FINS/(mU/L)	11.8 ± 6.5	7.3 ± 4.3	0.016
Cps/nmol/L	0.52 ± 0.29	0.47 ± 0.16	0.268
FPG/(mmol/L)	4.6 ± 0.4	4.6 ± 0.2	0.618
1hPG/(mmol/L)	7.9 ± 1.1	8.3 ± 1.9	0.436
2hPG/(mmol/L)	7.6 ± 1.9	7.0 ± 1.8	0.281
HOMA-IR	2.6 ± 1.3	1.7 ± 1.0	0.016
S visfatin/(ng/mL)	20.0 ± 3.1	14.5 ± 3.8	< 0.001
FF visfatin/(ng/mL)	19.2 ± 4.9	13.2 ± 4.1	< 0.001

BMI: body mass index; WHR: waist to hip ratio; T: testosterone; FSH: follicle stimulating hormone; H: luteinizing hormone; LH/FSH: luteinizing hormone to follicle stimulating hormone ratio; FINS: fasting insulin; Cps: C-peptides; FPG: fasting plasma glucose; 1hPG: 1 hour plasma glucose; 2hPG: 2 hour plasma glucose; HOMA-IR: homeostasis model assessment-insulin resistance; S visfatin: serum visfatin; FF visfatin: follicular fluid visfatin.

量 HOMA-IR、WHR、LH/FSH 解释的部分占 80%，其它因素及偶然因素占 20% (表 2)。以研究对象总体 FF visfatin 为因变量，其它各因素为自变量进行多重线性逐步回归分析，结果显示，S visfatin 进入了回归方程，复相关系数 $R = 0.92$ ，决定系数 $R^2 = 0.85$ ，说明逐步拟合的多重线性回归方程的因变量能被自变量 S visfatin 解释的部分占 85%，其他因素及偶然因素原因占 15%。S visfatin 每变化一个单位，FF visfatin 水平将正向变化 1.07 个单位 (表 3)。

2.4 S visfatin 与各因素相关分析

研究对象总体 S visfatin 与进入回归方程的各变量的线性相关分析表明，S visfatin 与 HOMA-IR、WHR、LH/FSH 均呈正相关 ($r = 0.81, P < 0.001$; $r = 0.67, P < 0.001$; $r = 0.52, P < 0.001$; 表 4)。

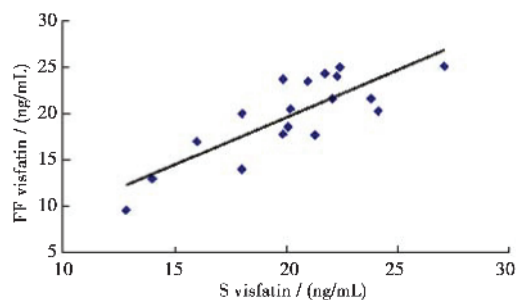


图 1 PCOS 组血清、卵泡液 visfatin 水平相关分析
Fig.1 Correlation analysis of S visfatin and FF visfatin in PCOS group

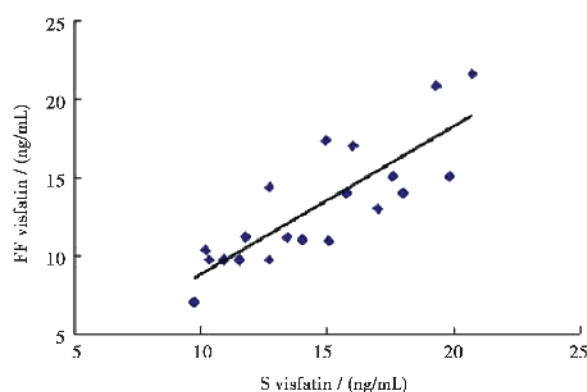


图 2 对照组血清、卵泡液 visfatin 水平相关分析
Fig.2 Correlation analysis of S visfatin FF and visfatin in control group

表 2 S visfatin 水平与各因素回归分析

Table 2 Regression analysis of S visfatin and other indicators

Variable	b	Sb	b'	t	P
Constant	-25.84	8.39	-	-3.08	0.004
HOMA-IR	10.17	2.69	2.75	3.78	0.001
WHR	45.70	10.66	0.67	4.29	< 0.001
LH/FSH	1.137	0.29	0.33	3.87	< 0.001
HOMA-IR * WHR	-10.156	3.2	-2.58	-3.17	0.003

HOMA-IR: homeostasis model assessment-insulin resistance; WHR: waist to hip ratio; LH/FSH: luteinizing hormone to follicle stimulating hormone ratio.

3 讨论

Visfatin 是 2005 年日本学者在人体内脏脂肪组织中发现的脂肪细胞因子，又称前 B 细胞集落

表 3 FF visfatin 水平与各因素回归分析

Table 3 Regression analysis of FF visfatin and other indicators

variable	<i>b</i>	<i>Sb</i>	<i>b'</i>	<i>t</i>	<i>P</i>
Constant	-2.13	1.31	-	-1.77	0.084
S visfatin	1.07	0.07	0.92	14.67	< 0.001

表 4 S visfatin 与各因素相关分析

Table 4 Correlation analysis of S visfatin and other indicators

Variable	<i>r</i>	<i>P</i>
HOMA-IR	0.81	< 0.001
WHR	0.67	< 0.001
LH/FSH	0.52	0.001

HOMA-IR: homeostasis model assessment-insulin resistance; WHR: waist to hip ratio; LH/FSH: luteinizing hormone to follicle stimulating hormone ratio

促进因子(pre-B-colony-enhancing factor, PBEF)。研究表明,visfatin 在人和小鼠的内脏脂肪中呈高表达,visfatin 可以与 INS 受体结合,引起血糖水平的下降,而且并不与 INS 产生竞争性抑制^[3]。

Fukuhara 等学者的动物实验研究发现,随着 2 型糖尿病鼠体质量增加,血浆 visfatin 水平和内脏脂肪细胞 visfatin 基因表达水平均相应增高^[3]。Tan 等^[6]研究表明,PCOS 患者皮下、大网膜脂肪组织和脂肪细胞内脂素 mRNA 表达均上调,同时血清内脂素水平也明显升高。我们的研究结果与上述研究结果一致。本研究表明,PCOS 患者 S visfatin 水平高于对照组,且 S visfatin 与 BMI、WHR 均呈正相关,这可能与 visfatin 主要由内脏脂肪组织分泌有关。我们的研究显示,虽然两组 BMI 无明显差异,但是 PCOS 组 WHR 明显高于对照组,同时回归分析显示 WHR 是血清 visfatin 水平的预测因子之一。由于 PCOS 患者肥胖倾向以及躯体上部脂肪分布增多、蛋白激酶 A-激素敏感脂肪酶复合物作用的选择性增高,导致 PCOS 患者内脏脂肪细胞的脂解作用上调^[6];同时 PCOS 患者去甲肾上腺素脂解作用也加强,脂解作用过程中 visfatin 从脂肪细胞释放^[7],这可能是 PCOS 患者 S visfatin 水平升高的原因之一。

体内和体外研究表明葡萄糖以剂量依赖方式引起 visfatin 水平升高^[8]。Visfatin 和 INS 不同之处

在于空腹状态下血清 visfatin 浓度仅为 INS 的 10%,而在进食后浓度只有 INS 水平的 3%;空腹和进食状态下 S visfatin 水平并没有明显差异,而 INS 则在进食前后随血糖浓度有显著变化。这可能反映了 visfatin 的内分泌作用并不占优势,而其对脂肪组织的自分泌和旁分泌作用——促进脂肪细胞形成的作用可能更为重要。另外,循环中的 visfatin 可能反映的是一个长期的代谢变化而非短期变化。有研究者认为,短期的血糖升高,例如进餐对 visfatin 影响不大,但是长期的血糖升高,如糖尿病可能引起 visfatin 的代偿性升高,推测可能是 INS 或者 visfatin 的信号转导通路受损引起的反馈调节^[9]。PCOS 患者血清 HOMA-IR、FINS 均高于对照组,血清 visfatin 与 FINS、HOMA-IR 呈正相关,回归分析显示 HOMA-IR 对血清 visfatin 水平有一定的预测价值,提示 visfatin 与 PCOS 患者 IR 可能存在一定关系。推测 PCOS 患者血清 visfatin 水平升高的另一原因是由于 IR 的存在,IR 使 INS 在靶器官不能发挥正常的生理作用,导致血糖升高,而血糖升高刺激内脏脂肪分泌 visfatin 增加,visfatin 通过发挥类 INS 作用而起到降低血糖作用。

Ekaterina 等的研究首次揭示了 IVF 女性卵泡液中存在 visfatin,PCOS 患者 S visfatin 水平高于对照组^[10]。另有学者研究发现 IVF PCOS 患者卵泡局部 leptin 水平与妊娠率呈负相关,PCOS 患者卵泡液 visfatin 水平和对照组并没有差别,并提出 leptin 对 IVF 妊娠率有一定的预测价值^[11]。Ching 的研究并未发现 S visfatin 与 FF visfatin 之间存在统计学相关关系^[4]。而我们的研究首次揭示,在非 IVF 的 PCOS 患者及对照组女性,其卵泡液存在 visfatin,FF visfatin 水平与 S visfatin 水平呈高度正相关。对研究对象总体回归分析结果显示,S visfatin 水平可以解释卵泡液局部 visfatin 水平变化的 85%,血清 visfatin 水平每变化一个单位,卵泡液 visfatin 水平将正向变化 1.07 个单位;在一定程度上,血清 visfatin 可以作为卵泡液 visfatin 水平预测指标。卵巢及肾上腺组织均存在高浓度和高亲和力的 INSR^[12-13]。在 IR 情况下,INSR 丝氨酸磷酸化增加及酪氨酸磷酸化下降不但导致外周组织糖代谢受限,而且会增加肾上腺和卵巢组织细胞色素酶 P450c17 α 的表达,导致肾上腺雄激素生成增加,在卵巢会引起雄激素的累积^[14]。Fukuhara

等人的研究显示 visfatin 可以通过与 INSR 不同位点结合引起 INSR-1、INSR-2 及其底物的磷酸化发挥类胰岛素作用,我们推测 visfatin 的类胰岛素作用可能是通过与肾上腺及卵巢局部 INSR 受体结合,抑制细胞色素酶 P450c17 α 表达,降低雄激素水平,从而起到改善 PCOS 内分泌及临床症状的作用。但是 visfatin 在 PCOS 患者卵巢局部所起作用,仍有待于对 visfatin 分子作用机制的深入研究。

综上所述,PCOS 患者血清、卵泡液 visfatin 水平明显升高,血清 visfatin 与 HOMA-IR、WHR 呈正相关,提示它们可能存在内在联系。回归分析结果显示,血清 visfatin、卵泡液 visfatin 两者高度相关,血清 visfatin 对卵泡液 visfatin 水平有一定的预测价值。由于本研究病例数较少,有待于大样本资料、更详细分组的研究。目前对 visfatin 作用的理解尚处于探索阶段,各家的报道结果不一,尚有待于对 visfatin 的信号转导途径、生物功能、调控机制的深入研究,为进一步探讨 visfatin 作用及 visfatin 在 PCOS 中作用研究提供更多的理论依据。

参考文献:

- [1] 曹泽毅. 中华妇产科学[M]. 北京: 人民卫生出版, 2005, 2449.
Cao ZY. Chinses of Obstetrics and Gynecology [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2005: 2449.
- [2] Antuna -Puentes B, Fève B, Fellahi S, et al. Adipokines: The missing link between insulin resistance and obesity[J]. Diabetes & Metabolism, 2008, 34(8): 2-11.
- [3] Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, et al. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin[J]. Science, 2005, 307(99): 426-430.
- [4] Ching JS, Eing MT, Jau -Nan L, et al. The concentrations of visfatin in the follicular fluids of women undergoing controlled ovarian stimulation are correlated to the number of oocytes retrieved [J]. Ferti Steril, 2010, 93(6): 1844-1850.
- [5] Rotterdam ESHRE/ASRM -sponsored PCOS consensus Work -shop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long term health risks related to polycystic ovary syndrome [J]. Fertil Steril, 2004, 81(1): 19-22.
- [6] Ekl, Amer P, Rydén M, et al. A unique Defect in the regulation of visceral fat cell lipolysis in the Polycystic ovary syndrome as an early link to insulin resistance[J]. Diabetes, 2002, 51(8): 484-492.
- [7] Rongvaux A, Shea RJ, Mulks MH, et al. Pre-B-cell colony -enhancing factor, whose expression is up-regulated in activated lymphocytes is a nicotinamide phosphoribosyl transferase, a cytosolic enzyme involved in NAD biosynthesis[J]. Eur J Immunol, 2002, 32(9): 3225-3234.
- [8] Haider DG, Schaller G, Kapiotis S, et al. The release of the adipocytokine visfatin is regulated by glucose and insulin[J]. Diabetologia, 2006, 49(9): 1909 - 1914.
- [9] 阮希成. Visfatin 与糖脂代谢的关系[J]. 医学综述, 2008, 14(10): 1540-15421.
Ruan XC. Relationship between Visfatin and Glycolipin Metabolism [J]. Med Recapitul, 2008, 14(10): 1540-15421.
- [10] Ekaterina P, Evangelia K, Ariadne MP, et al. Visfatin and leptin levels in women with ovaries undergoing ovarian stimulation [J]. Platy, 2010, 94(2): 1451 - 1456.
- [11] Choi CY, Kim SM, Kim S, et al. Identification of overexpressed proteins by proteo -mic analysis using human follicular fluids derive from polycystic ovary syndrome patients [J]. Fertil Steril, 2007, 88(9): 218-220.
- [12] Ginsberg BH. In biochemical action of hormones (G. Litwack) [M]. New York: Academic Press, 1977, 313.
- [13] 李桂玲, 归按琪, 莫月华, 等. 大鼠肝脏、卵巢及肾上腺 INS 受体结合性质的比较 [J]. 中国糖尿病杂志, 2000, 8(6): 345-347.
Li QL, Gui AQ, Mo Y W, et al. Comparison of the binding characteristics of insulin receptors on ovary, adrenal and hepatic plasma membrane from rats [J]. Chin J Diabetes, 2000, 8(6): 345-347.
- [14] JP Vignesh, V Mohan Dr. Polycystie ovary syndrome: A metabolic syndrome? [J]. Rev Article, 2007, 53(8): 128-134.

(编辑 张恩健)