

1 型糖尿病儿童晚期糖基化终末产物、血清抗苗勒管激素和抑制素 B 对儿童生殖器官发育影响的研究

曹顺顺 胡杨杨

摘要 目的 研究 1 型糖尿病(type 1 diabetes mellitus, T1DM)对儿童生殖器官发育的影响。方法 选取 6~10 岁 Tanner I 期 T1DM 患儿 80 例,其中女性患儿 41 例,男性患儿 39 例;健康对照组 85 例,其中女性患儿 40 例,男性患儿 45 例。对所有入组儿童均采集外周血检测血清晚期糖基化终末产物(advanced glycosylation end products, AGEs)、血清抗苗勒管激素(anti müllerian hormone, AMH)、血清抑制素 B(inhibin B, INHB)、性激素 4 项和糖化血红蛋白 A1c(glycosylated hemoglobin A1c, HbA1c)水平,分别比较上述指标在不同性别儿童 T1DM 组与健康对照组之间的差异。**结果** 女性患儿 T1DM 组血清 AGEs、AMH、INHB、HbA1c 水平均较女性患儿健康对照组明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);女性患儿 T1DM 组血清性激素 4 项水平与女性患儿健康对照组比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$);男性患儿 T1DM 组血清 AGEs、AMH、HbA1c 水平均较男性患儿健康对照组明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);男性患儿 T1DM 组血清 INHB 水平较男性患儿健康对照组则明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);男性患儿 T1DM 组血清性激素 4 项水平与男性患儿健康对照组比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** T1DM 可能对儿童生殖器官发育成熟造成一定程度影响。

关键词 1 型糖尿病 晚期糖基化终末产物 抗苗勒管激素 血清抑制素 B

中图分类号 R587.1

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.12.029

Effect of Advanced Glycation End Products, Serum Anti-müllerian Hormone and Serum Inhibin B on Reproductive Organ Maturation in Children with Type 1 Diabetes Mellitus. Cao Shunshun, Hu Yangyang. Department of Endocrinology and Inherited Metabolism, Department of Reproductive Medicine Center, The Second Hospital Affiliated to Wenzhou Medical University, Zhejiang 325000, China

Abstract Objective To investigate the effect of Children with type 1 diabetes mellitus on reproductive organ maturation. **Methods** 80 cases of 6-10 years old patients with type 1 diabetes Tanner stages I were enrolled, including 41 girls and 39 boys; control group 85 cases, including 40 girls and 45 boys. We detected serum AGEs, AMH, INHB, four steroid sex hormones and HbA1c levels respectively. **Results** Compared with the control group, girls with type 1 diabetes had a significant increase of serum AGEs, AMH, INHB and HbA1c level($P < 0.05$). Four steroid sex hormones had no statistically significant differences between girls with type 1 diabetes and control group($P > 0.05$). Compared with the control group, boys with type 1 diabetes have a significant increase of serum AGEs, AMH, HbA1c level and decrease of INHB($P < 0.05$). Four steroid sex hormones had no statistically significant differences between boys with type 1 diabetes and control group($P > 0.05$). **Conclusion** Children with type 1 diabetes mellitus has a negative impact on reproductive organ maturation.

Key words Type 1 diabetes mellitus; Advanced glycation end products; Anti-müllerian hormone; Inhibin B

近年来,儿童 1 型糖尿病(type 1 diabetes mellitus, T1DM)发生率呈逐年上升趋势,在美国,发生率从 2001 年的 0.15% 上升至 2009 年的 0.19%,增长了约 22%;加拿大则由 0.2% 增长到了 0.3%,上升了约 34%^[1]。在浙江省调查发现 0~10 岁儿童糖尿病发生率从 2007 年的 0.9% 上升至 2012 年的 2.39%,

年均增长率为 21.57%^[2]。随着全球儿童糖尿病患者与日俱增,糖尿病对生殖器官成熟方面的影响研究也显得尤为重要。目前,国内外针对儿童 T1DM 的研究主要关注于对靶器官等损害方面,而对儿童生殖系统发育成熟方面的研究尚鲜见报道^[3]。本研究通过观察 T1DM 儿童血清晚期糖基化终末产物(advanced glycosylation end products, AGEs)、抗苗勒管激素(anti müllerian hormone, AMH)、抑制素 B(inhibin B, INHB)、性激素 4 项和糖化血红蛋白 A1c(glycosylated hemoglobin A1c, HbA1c)水平的变化,探讨 T1DM 对

作者单位:325000 温州医科大学附属第二医院儿童内分泌遗传代谢科(曹顺顺),生殖医学中心(胡杨杨)

通讯作者:胡杨杨,电子信箱:huyangyang0577@126.com

儿童生殖器官发育成熟的影响。

对象与方法

1. 研究对象:收集 2013 年 5 月~2016 年 7 月期间来笔者医院儿童内分泌遗传代谢科就诊的 T1DM 患儿 80 例,其中女性患儿 41 例,男性患儿 39 例;诊断标准^[4]:有典型糖尿病症状,随机血糖 $\geq 11.1\text{mmol/L}$,或者不仅一次空腹血糖 $\geq 7.0\text{mmol/L}$,和(或)餐后 2h 血糖 $\geq 11.1\text{mmol/L}$ 者。纳入标准:诊断为 T1DM 儿童,年龄 6~10 周岁,Tanner 分期 I 期。排除标准:患有其他代谢类疾病患者。另随机选择来笔者医院健康体检儿童 85 例,其中女性患儿 40 例,男性患儿 45 例,纳入标准:排除 T1DM,无其他代谢性疾病,年龄 6~10 岁,Tanner 分期 I 期。以上儿童均经充分沟通后由监护人签署知情同意。

2. 观察指标:入组 T1DM 儿童于血糖稳定期及健康对照组儿童随机抽血分别检测血清 AGEs、AMH、INHB、性激素 4 项和 HbA1c 水平。

3. 主要试剂和仪器:血清 AGEs 检测试剂盒购自上海品都生物技术有限公司;AMH 测定试剂盒购自深圳市亚辉龙生物科技股份有限公司;INHB 检测试剂盒购自深圳市亚辉龙生物科技股份有限公司;RT-6100 型酶标分析仪购自美国 Rayto 公司;if-lash3000 型化学发光测定仪购自深圳市亚辉龙生物科技股份有限公司。

4. AGEs 检测(酶联免疫法):应用双抗体夹心法测定血清标本中人 AGEs 水平,在辣根过氧化物酶的催化下并在酸的作用下转化成最终的黄色。颜色的深浅和样品中的 AGEs 呈正相关。用酶标仪在 450nm 波长下测定吸光度(A 值),通过标准曲线计算样品中 AGEs 浓度。

5. 血清 AMH 检测(化学发光法):采用直接化学发光技术的夹心免疫测试法,具体通过:孵育、清洗、激发和读数,通过相对光单位数测定化学发光反应,样本中的 AMH 的量和分析仪光学系统测定到的相对光单位数(relative light units, RLU)有直接关系。测试结果通过校准曲线确定。

6. 血清 INHB 检测(化学发光法):INHB 是采用直接化学发光技术的夹心免疫测试法,具体实验步骤同血清 AMH 检测。

7. 统计学方法:采用 SPSS 17.0 统计学软件进行统计分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间数据分析采用独立样本 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

女性患儿 T1DM 组的平均血清 AGEs、AMH、INHB、HbA1c 均比健康对照组明显增高,差异有统计学意义($P < 0.05$);女性患儿 T1DM 组的平均血清 LH、血清 FSH、血清 E_2 、血清 T 与健康对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$,表 1)。

表 1 女性患儿 T1DM 组与女性患儿健康对照组检测结果比较

各项指标	女性患儿健康对照组 (<i>n</i> = 40)	女性患儿 T1DM 组 (<i>n</i> = 41)
AGEs (ng/L)	193.22 $\pm$ 41.20	322.14 $\pm$ 52.45 **
AMH (ng/ml)	6.29 $\pm$ 1.16	9.17 $\pm$ 1.25 *
INHB (pg/ml)	39.45 $\pm$ 10.07	45.35 $\pm$ 9.27 *
HbA1c (%)	5.23 $\pm$ 1.04	7.32 $\pm$ 3.22 *
LH (IU/L)	0.91 $\pm$ 0.17	0.89 $\pm$ 0.21
FSH (IU/L)	3.56 $\pm$ 1.14	3.71 $\pm$ 1.03
E_2 (pg/ml)	26.38 $\pm$ 4.85	25.27 $\pm$ 5.24
T (ng/ml)	0.20 $\pm$ 0.15	0.23 $\pm$ 0.17

与健康对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

男性患儿 T1DM 组的平均血清 AGEs、AMH、HbA1c 均比健康对照组明显增高,差异有统计学意义($P < 0.05$),而男性患儿 T1DM 组的平均血清 INHB 明显低于健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);男性患儿 T1DM 组和健康对照组的平均血清 LH、血清 FSH、血清 E_2 、血清 T,两组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$,表 2)。

表 2 男性患儿 T1DM 组与男性患儿健康对照组检测结果比较

指标	男性患儿健康对照组 (<i>n</i> = 45)	男性患儿 T1DM 组 (<i>n</i> = 39)
AGEs (ng/L)	201.50 $\pm$ 38.14	351.42 $\pm$ 47.36 **
AMH (ng/ml)	67.37 $\pm$ 15.17	78.76 $\pm$ 13.56 *
INHB (pg/ml)	112.25 $\pm$ 20.03	91.31 $\pm$ 17.21 *
HbA1c (%)	5.36 $\pm$ 1.17	7.42 $\pm$ 2.34 *
LH (IU/L)	1.91 $\pm$ 0.81	1.89 $\pm$ 0.76
FSH (IU/L)	2.28 $\pm$ 1.15	2.37 $\pm$ 1.02
E_2 (pg/ml)	21.79 $\pm$ 8.32	20.25 $\pm$ 6.54
T (ng/ml)	0.30 $\pm$ 0.32	0.36 $\pm$ 0.21

与健康对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

讨 论

AGEs 是还原糖的羰基和蛋白质的游离氨基通过 Maillard 反应形成的,正常情况下体内 AGEs 的浓度会维持在一个动态平衡,当机体发生糖尿病时体内糖代谢发生紊乱,导致 AGEs 生成过多或排出障碍从而打破 AGEs 的动态平衡状态,从而导致机体产生一系

列病理生理变化^[5]。朱晓庆等^[6]认为1型糖尿病对机体的影响与晚期糖基化终末产物在体内大量积聚有关。HbA1c是血液中红细胞内血红蛋白与血糖结合的产物,血红蛋白和血糖结合生成HbA1c是不可逆反应,并与血糖浓度呈正比,并且可保持120天左右。因此,临床常检测HbA1c水平来反映糖尿病患者近8~12周的血糖控制情况。AMH是男女性腺功能的重要标志物之一,在男性AMH主要由睾丸间质细胞产生,始于胚胎形成期并贯穿生命始终。在男性胎儿的发育过程中,AMH使苗勒管退化,形成正常发育的男性生殖道;在女性AMH主要由卵巢的颗粒细胞产生,从青春期开始,血清AMH水平随着年龄的推移缓慢降低,并在更年期降低到检测不到的水平。

INHB是由生殖系统细胞分泌产生,与生殖能力有密切关系,目前已证实INHB是卵巢储备功能和睾丸曲细精管功能的主要标志物,可以用于卵巢因素引起的女性不孕和曲细精管功能障碍引起的男性不育检测。Chen等^[7]研究认为,血清AMH和INHB可衡量儿童生殖器官的发育情况,且是一种潜在的评价儿童中枢性性早熟的标志物。本研究结果显示,AGEs在T1DM女性患儿组及T1DM男性患儿组均显著增高,AGEs是指一类在体内糖的醛基与蛋白质的氨基之间发生非酶糖基化反应形成的不稳定Schiff碱,经自发重排等一系列反应异构而成的终末产物的总称,AGEs有内源性和外源性两种来源^[8]。T1DM患儿主要是体内胰岛素缺乏导致血糖升高、糖代谢紊乱,而高血糖的重要代谢产物AGEs不仅会直接影响细胞代谢和组织功能,引起疾病的发生;也可以通过其相应的受体系统来发挥生物学作用,从而诱导氧化应激、炎性反应等一系列病理反应,造成组织、器官损伤^[9]。叶斐等^[10]研究认为AGEs主要通过直接修饰蛋白质、核酸、脂质以改变其结构及功能以及与其受体结合,激活一系列信号转导通路以促进糖尿病、动脉粥样硬化及其并发症的发生、发展,且后者是其主要的致病途径。

近年来,国外研究发现糖尿病患者的生育人数明显较正常人少,且终身不孕的患者明显增加,糖尿病对人类生殖健康的不利影响引起了生殖专家的广泛关注^[11]。儿童期的生殖器官发育尚不成熟,T1DM儿童由于胰岛素缺乏或胰岛素抵抗常常会导致尚未成熟的下丘脑-垂体-性腺轴功能紊乱进而影响生殖系统发育及功能障碍,这在正处于生长发育阶段的

青春前期儿童显得尤为重要^[12]。由于缺乏胰岛素的持续刺激,会造成男患儿睾丸的Leydig细胞的发育延迟且睾酮水平较正常降低,对于女患儿来说则影响其卵巢组织颗粒细胞的生长发育^[13]。在男性,AMH最初表达在8周胎儿睾丸支持细胞中主要抑制苗勒管的发育,在女性,AMH最初表达在36周胎儿的卵巢中,由卵巢颗粒细胞分泌,儿童期血清AMH水平提早下降可提示性早熟,而持续性的血清AMH水平延缓下降则提示生殖器官发育延迟^[14]。男性体内INHB占绝对主导地位,主要由男性睾丸支持细胞产生,是男性生精和生殖能力的直接标志物,INHB在人体内参与下丘脑-垂体-性腺轴的负反馈调节机制,受促卵泡激素调节,同时对垂体分泌FSH有负反馈调节作用。在女性INHB参与了窦卵泡发育、颗粒细胞的成熟,INHB对生殖系统具有内分泌、自分泌和旁分泌作用。

笔者的研究结果显示,T1DM女患儿组由于糖代谢异常其体内AGEs明显升高,而血清AMH和INHB也明显高于健康女患儿组,而4项性激素水平两组间差异无统计学意义,但其生殖激素尚未构成明显影响,这与Codner等^[15]的研究结论相似,且该作者还认为青春前期女性患儿患T1DM与成人后患多囊卵巢综合征和不孕症存在一定的相关性,这可能和卵巢及肾上腺存在胰岛素样受体有关。而T1DM男性患儿的血清AMH明显高于健康男患儿组,但INHB却明显低于健康男患儿组,Jeffery等^[14]的研究也表达了类似的结论。笔者的研究结果显示,T1DM男性患儿的性激素4项指标和健康对照男童组比较差异无统计学意义,这说明了T1DM并没有影响到男性患儿的性腺功能,Meyer等^[16]也有相同的结论。

综上所述,T1DM可显著影响儿童体内糖代谢紊乱,并在一定程度上影响儿童生殖器官的发育成熟,对于其性腺功能方面的影响尚无足够的证据证明,目前本研究的样本量较小,仍需进一步开展多中心、大样本的RCT研究来证实。

参考文献

- 1 Kaiser SV, Sundaram V, Cohen E, *et al.* Health care for children with diabetes mellitus from low-income families in Ontario and California: a population-based cohort study [J]. *CMAJ Open*, 2016, 4(4): E729-E736
- 2 潘劲, 胡如英, 龚巍巍, 等. 浙江省2007至2012年糖尿病流行特征的描述性分析[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2015, 31(10): 846-850

(下转第128页)

Res, 2017, 207:22-26

- 8 Lenschow C, Gassmann P, Wenning C, *et al.* Preoperative (1) c - methionine pet/ct enables focused parathyroidectomy in mibi - spect negative parathyroid adenoma [J]. World J Surg, 2015, 39(7):1750-1757
- 9 Garcia - Talavera P, Diaz - Soto G, Montes AA, *et al.* Contribution of early spect/ct to 99mtc - mibi double phase scintigraphy in primary hyperparathyroidism: Diagnostic value and correlation between uptake and biological parameters [J]. Revista espanola de medicina nuclear e imagen molecular, 2016, 35(6):351-357
- 10 Carneiro DM, Solorzano CC, Nader MC, *et al.* Comparison of intraoperative ipth assay (qpth) criteria in guiding parathyroidectomy: which criterion is the most accurate? [J]. Surgery, 2003, 134(6):973-979, discussion 979-981
- 11 Gill MT, Dean M, Karr J, *et al.* Intraoperative parathyroid hormone assay: a necessary tool for multiglandular disease [J]. Otolaryngol Head Neck Surg, 2011, 144(5):691-697
- 12 Riss P, Kaczirek K, Bieglmayer C, *et al.* Pth spikes during parathyroid exploration - a possible pitfall during pth monitoring? [J]. Langenbecks Arch Surg, 2007, 392(4):427-430
- 13 Lee S, Ryu H, Morris LF, *et al.* Operative failure in minimally invasive parathyroidectomy utilizing an intraoperative parathyroid hormone

assay [J]. Ann Surg Oncol, 2014, 21(6):1878-1883

- 14 Calo PG, Pisano G, Loi G, *et al.* Intraoperative parathyroid hormone assay during focused parathyroidectomy: the importance of 20 minutes measurement [J]. BMC Surg, 2013, 13:36
- 15 Calo PG, Medas F, Loi G, *et al.* Feasibility of unilateral parathyroidectomy in patients with primary hyperparathyroidism and negative or discordant localization studies [J]. Updates Surg, 2016, 68(2):155-161
- 16 Noureldine SI, Gooi Z, Tufano RP. Minimally invasive parathyroid Surg [J]. Gland surgery, 2015, 4(5):410-419
- 17 Fui SL, Bonnichon P, Bonni N, *et al.* Hyperparathyroidism in octogenarians: a plea for ambulatory minimally invasive surgery under local anesthesia [J]. Ann Endocrinol:Paris, 2016, 77(5):600-605
- 18 Grant CS, Thompson G, Farley D, *et al.* Primary hyperparathyroidism surgical management since the introduction of minimally invasive parathyroidectomy: mayo clinic experience [J]. Arch Surg, 2005, 140(5):472-478, discussion 478-479
- 19 姚京, 臧红, 郭晓东, 等. 颈前小切口与改良 miccoli 腔镜甲状腺肿瘤手术临床研究 [J]. 现代生物医学进展, 2013, 8:1478-1480-1497

(收稿日期:2017-03-08)

(修回日期:2017-03-24)

(上接第 118 页)

- 3 M AAF, Abdelghaffar S, M HE, *et al.* Evaluation of Cardiac Functions in Children and Adolescents with Type 1 Diabetes [J]. Journal of cardiovascular ultrasound, 2017, 25(1):12-19
- 4 Kumar R, Nandhini LP, Kamalanathan S, *et al.* Evidence for current diagnostic criteria of diabetes mellitus [J]. World J Diabetes, 2016, 7(17):396-405
- 5 Lv X, Lv GH, Dai GY, *et al.* Food - advanced glycation end products aggravate the diabetic vascular complications via modulating the AGEs/RAGE pathway [J]. Chin J Nat Med, 2016, 14(11):844-855
- 6 朱晓庆, 金悦, 梁军波, 等. Wnt/ β - catenin 信号通路与糖尿病骨质疏松的关系 [J]. 医学研究杂志, 2011, 40(8):17-19
- 7 Chen T, Wu H, Xie R, *et al.* Serum anti - müllerian hormone and inhibin B as potential markers for progressive central precocious puberty in girls [J]. J Pediatr Adolesc Gynecol, 2017, 37(1):70-73
- 8 Thieme K, Da SKS, Fabre NT, *et al.* N - acetyl cysteine attenuated the deleterious effects of advanced glycation end - products on the kidney of non - diabetic rats [J]. Cell Physiol Biochem, 2016, 40(3-4):608-620
- 9 Yamagishi S. Role of advanced glycation end products (AGEs) and receptor for AGEs (RAGE) in vascular damage in diabetes [J]. Exp Gerontol, 2011, 46(4):217-224
- 10 叶斐, 严金川, 袁国跃, 等. 糖基化终末产物及其受体在血管钙化中的作用研究新进展 [J]. 中华内分泌代谢杂志, 2016, 32(10):872-875

- 11 Tavakolian AA, Nouri M, Tavakolian AS. Surprisingly low infertility rate in married type 2 diabetic women: A rather curious paradox to the current opinion of insulin resistance as the joint pathogenesis of polycystic ovary syndrome and type 2 diabetes mellitus [J]. Diabetes Metab Syndr, 2015, 9(4):201-204
- 12 Wiebe JC, Santana A, Medina - Rodríguez N, *et al.* Fertility is reduced in women and in men with type 1 diabetes: results from the Type 1 Diabetes Genetics Consortium (T1DGC) [J]. Diabetologia, 2014, 57(12):2501-2504
- 13 Rocha A, Iñiguez G, Godoy C, *et al.* Testicular function during adolescence in boys with type 1 diabetes mellitus (T1D): absence of hypogonadism and differences in endocrine profile at the beginning and end of puberty [J]. Pediatr Diabetes, 2014, 15(3):198-205
- 14 Jeffery A, Streeter AJ, Hosking J, *et al.* Anti - Müllerian hormone in children: a ten - year prospective longitudinal study (EarlyBird 39) [J]. J Pediatr Endocrinol Metab, 2015, 28(9-10):1153-1162
- 15 Codner E, Iñiguez G, Hernández IM, *et al.* Elevated anti - Müllerian hormone (AMH) and inhibin B levels in prepubertal girls with type 1 diabetes mellitus [J]. Clin Endocrinol:Oxf, 2011, 74(1):73-78
- 16 Meyer K, Deutscher J, Anil M, *et al.* Serum androgen levels in adolescents with type 1 diabetes: relationship to pubertal stage and metabolic control [J]. J Endocrinol Invest, 2000, 23(6):362-368

(收稿日期:2017-03-04)

(修回日期:2017-04-17)