

肉碱在多囊卵巢综合征患者中的表达及意义

邹颖, 李红云, 曾梦君, 王映霞

湖南省妇幼保健院, 湖南 长沙 410008

摘要: **目的** 通过检测游离肉碱及酰基肉碱在多囊卵巢综合征患者血清中的表达水平, 探讨其有多囊卵巢综合征的发生机制及其作用。 **方法** 本研究纳入 40 例多囊卵巢综合征患者作为实验组, 29 例正常女性作为对照组。通过 NeoBase™ Non-derivatized MSMS 试剂盒及串联质谱 (MSMS) 系统进行检测分析实验组和对照组血清样本中游离肉碱及酰基肉碱的表达水平。 **结果** 游离肉碱在两组中的表达水平差异无统计学意义。多囊卵巢综合征患者中甲基巴豆酰基肉碱、戊二酰基肉碱、己二酰基肉碱等 12 种酰基肉碱的表达水平均低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 而乙酰基肉碱在多囊卵巢综合征患者中表达升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。 **结论** 肉碱在多囊卵巢综合征患者血清中存在表达异常, 乙酰基肉碱在多囊卵巢综合征患者血清中表达升高, 酰基肉碱的异常表达可能参与多囊卵巢综合征的发生发展, 且与胰岛素抵抗及内分泌异常相关。

关键词: 多囊卵巢综合征; 游离肉碱; 酰基肉碱

中图分类号: R711.75 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-3110(2017)08-0928-03 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2017.08.010

Expression of carnitine in women with polycystic ovarian syndrome and its significance

ZOU Ying, LI Hong-yun, ZENG Meng-jun, WANG Ying-xia

Maternal and Child Health Care Hospital of Hunan Province, Changsha, Hunan 410008, China

Abstract: **Objective** To determine the expression of free carnitine and acylcarnitines in the sera of patients with polycystic ovary syndrome, and to explore their role in the pathogenesis of polycystic ovary syndrome. **Methods** Forty patients with polycystic ovary syndrome served as the experimental group and 29 healthy women as the control group. The expression of free carnitine and acylcarnitines in the serum samples from the two groups was determined and analyzed using NeoBase™ Non-derivatized tandem mass spectrometry (MSMS) kit and MSMS system. **Results** No statistically significant difference was found in the expression of free carnitine between the two groups. The expression levels of 12 acylcarnitines such as methylcrotonoyl carnitine, glutaryl carnitine and adipoyl carnitine in the patients with polycystic ovary syndrome were all lower than those in the control group, with statistically significant differences (all $P < 0.05$). But the expression of acetyl carnitine was significantly higher in the patients with polycystic ovary syndrome than in the controls ($P < 0.05$). **Conclusions** There exists abnormal expression of carnitine in the sera of patients with polycystic ovary syndrome. The acetyl carnitine in the sera of patients with polycystic ovary syndrome is overexpressed. The abnormal expression of acylcarnitine may be involved in the pathogenesis and development of polycystic ovary syndrome; moreover, it is associated with insulin resistance and endocrine abnormality.

Key words: polycystic ovary syndrome; free carnitine; acylcarnitine

多囊卵巢综合征 (polycystic ovarian syndrome, PCOS) 是女性常见的妇科内分泌疾病。根据美国国家卫生研究院的诊断标准, 人群中多囊卵巢综合征的患病率为 6%~10%。若依据鹿特丹标准, 其人群患病率更高^[1]。本病以持续性稀发排卵或无排卵、高雄激素临床表现或高雄激素血症及卵巢多囊改变为主要特

点。除此以外, 三分之二的患者伴有代谢功能障碍, 从而可增加多种慢性疾病的发病风险, 如肥胖^[2]、糖尿病、代谢综合征^[3]、心血管疾病^[4]、子宫内膜癌^[5]、非酒精性脂肪性肝病^[6-7]等。血清肉碱是反映多囊卵巢综合征患者代谢功能障碍的重要指标, 除了能促进长链脂肪酸的氧化从而为细胞提供能量以外, 在消除酮体及过量酰基、脂肪生成、糖异生、糖酵解以及维持膜的稳定中也发挥着重要的作用^[8]。肉碱在多囊卵巢综合征这一代谢功能障碍疾病中的作用较少, 所以本研究旨在通过检测肉碱在多囊卵巢综合征患者中的表

基金项目: 湖南省科学技术厅科技计划项目 (2014CK4013)

作者简介: 邹颖 (1976-), 女, 湖南岳阳人, 博士在读, 副主任医师, 研究方向: 妇科内分泌疾病。

通信作者: 李红云, E-mail: 33150493@qq.com。

达水平来探讨肉碱在该病发生机制中的作用。

1 对象与方法

1.1 对象 实验组:PCOS 患者 40 名,入选标准:1) 年龄 16~40 岁,初潮超过 2 年;2) 根据鹿特丹标准诊断为多囊卵巢综合征:即①稀发排卵或无排卵(月经周期大于等于 35 d);②高雄激素的临床和/或生化表现;③卵巢多囊样改变(超声提示一侧或双侧卵巢直径 2~9 mm 的卵泡≥12 个,和(或)卵巢体积≥10 ml);④三项中符合两项并排除其他高雄激素病因,如先天性肾上腺皮质增生、库欣综合征和分泌雄激素的肿瘤等;3)入组前 3 个月未接受任何激素治疗。对照组:正常女性 29 名,入选标准:1)年龄 16~40 岁,初潮超过 2 年;2)有规律的月经周期(21~35 d)、基础体温(BBT)双相、卵巢形态正常、雄激素水平正常、且无其他系统性疾病。

收集所有纳入对象的详细信息及病史,测量身高、体重、腰围、臀围,记录有无痤疮、多毛、黑棘皮症。计算体质指数(BMI)=体重/身高的平方(kg/m²),并计算腰臀比(WHR)=腰围/臀围。

所有研究对象均于月经来潮后 3~7 d 由有经验的超声医生行阴道或肛门超声检查,并详细记录子宫大小、内膜厚度、卵巢大小及窦卵泡个数。

本研究由湖南省妇幼保健院伦理委员会批准,所有参与者均签署书面知情同意。

1.2 方法 肉碱测定:采集所有研究对象月经来潮第 2~4 d 或闭经超过 35 d 时的手指血,采用芬兰 Perkin Elmer 生物科技公司的 DELFIA NeoBase™ Non-derivatized MSMS Kit 试剂盒及串联质谱(MSMS)系统检测分析肉碱在所有研究对象血清中的表达水平。性激素测定:采集所有研究对象月经来潮第 2~4 d 或闭经超过 35 d 时空腹静脉血,采用免疫化学发光法测定,测定内容包括:卵泡刺激素(FSH)、黄体生成素(LH)、雌二醇(E2)、催乳素(PRL)、睾酮(T)。

1.3 统计分析 采用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析,计量资料采用($\bar{x}\pm s$)进行描述,对实验结果进行两独立样本 *t* 检验,双侧 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组临床特征比较 实验组共有 40 例符合纳入标准的 PCOS 患者,对照组包括 29 例正常女性,两组研究对象一般特征比较见表 1。实验组与对照组间年龄差异有统计学意义,但均处于 20~30 岁之间。实验组患者的体重、体质指数、臀围明显高于对照组(*P*<

0.05),提示 PCOS 患者存在代谢功能障碍。身高、腰围及腰臀比在两组间差异无统计学意义。两组间女性激素水平见表 2,PCOS 患者血清中 T 水平、LH/FSH、LH/E2 明显高于对照组(*P*<0.05),符合 PCOS 的激素表现。而 FSH 和 PRL 在两组间差异无统计学意义。

表 1 实验组与对照组临床特征比较($\bar{x}\pm s$)

临床特征	实验组(<i>n</i> =40)	对照组(<i>n</i> =29)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
年龄(岁)	24.2±3.4	28.3±3.9	-4.565	<0.001
身高(cm)	159.4±4.0	158.8±5.5	0.531	0.597
体重(kg)	59.6±16.8	51.5±5.9	2.809	0.007
体质指数	23.4±6.5	20.4±2.0	2.771	0.008
腰围(cm)	77.0±10.8	72.7±7.3	1.812	0.076
臀围(cm)	92.9±7.0	89.5±4.9	2.330	0.024
腰臀比值	0.83±0.06	0.81±0.05	0.950	0.346

表 2 实验组与对照组激素特征水平比较($\bar{x}\pm s$)

激素	实验组(<i>n</i> =40)	对照组(<i>n</i> =29)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
LH(IU/L)	13.0±9.0	5.3±1.4	4.454	<0.001
FSH(IU/L)	6.1±1.7	6.5±1.5	-1.179	0.243
LH/FSH	2.0±1.4	0.8±0.2	4.303	<0.001
T(nmol/L)	1.7±0.7	0.7±0.3	7.142	<0.001
E2(pmol/L)	171.6±60.0	122.3±46.6	3.754	<0.001
PRL(mIU/L)	331.0±177.0	355.5±132.6	-0.622	0.536

2.2 肉碱表达水平 本研究采用串联质谱(MSMS)系统共检测了 31 种肉碱在实验组和对照组患者血清中的表达水平,包括游离肉碱和 30 种酰基肉碱。游离肉碱在两组中的表达水平差异无统计学意义,但是多种酰基肉碱存在表达异常。其中 PCOS 患者血清中甲基巴豆酰基肉碱、戊二酰基肉碱、己二酰基肉碱等十二种酰基肉碱的表达水平均低于对照组,差异有统计学意义(*P*<0.05),而乙酰基肉碱在多囊卵巢综合征患者血清中表达升高,差异有统计学意义(*P*<0.05),余酰基肉碱在两组中的表达水平差异无统计学意义,见表 3。

表 3 肉碱在多囊卵巢综合征患者及正常女性中的表达水平(μmol/L, $\bar{x}\pm s$)

肉碱种类	实验组	对照组	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
游离肉碱	27.79±6.94	26.87±5.95	0.600	0.550
酰基肉碱				
乙酰基肉碱	9.39±3.03	6.88±2.90	3.655	<0.001
丙酰基肉碱	1.24±0.46	1.16±0.43	0.823	0.413
丙二酰基肉碱	0.09±0.03	0.09±0.01	0.102	0.919
丁酰基肉碱	0.21±0.05	0.22±0.05	-1.359	0.178
甲基丙二酰基肉碱	0.33±0.11	0.30±0.08	1.248	0.216
异戊酰基肉碱	0.13±0.04	0.15±0.06	-1.745	0.085
甲基巴豆酰基肉碱	0.037±0.01	0.044±0.01	-3.224	0.002
戊二酰基肉碱	0.16±0.04	0.17±0.02	-2.521	0.014
己酰基肉碱	0.06±0.02	0.06±0.01	-1.322	0.19
己二酰基肉碱	0.14±0.03	0.16±0.02	-3.731	<0.001
辛酰基肉碱	0.08±0.04	0.10±0.05	-2.007	0.048
辛烯酰基肉碱	0.24±0.08	0.23±0.06	0.999	0.321
癸酰基肉碱	0.099±0.06	0.128±0.04	-2.077	0.041
癸烯酰基肉碱	0.10±0.04	0.10±0.04	-0.340	0.734

续表 3

肉碱种类	实验组	对照组	t 值	P 值
癸二酰基肉碱	0.08±0.04	0.04±0.01	0.661	0.511
十二酰基肉碱	0.05±0.02	0.06±0.02	-2.298	0.024
十二烯酰基肉碱	0.05±0.01	0.06±0.02	-1.757	0.083
十四酰基肉碱	0.05±0.02	0.06±0.01	-2.075	0.042
十四烯酰基肉碱	0.06±0.02	0.06±0.02	-0.703	0.484
十四二烯酰基肉碱	0.029±0.01	0.034±0.01	-2.039	0.045
3-羟基十四酰基肉碱	0.019 5±0.005	0.022 8±0.004	-2.870	0.005
十六酰基肉碱	0.68±0.23	0.75±0.24	-1.331	0.187
十六烯酰基肉碱	0.05±0.02	0.05±0.01	-0.302	0.764
3-羟基十六酰基肉碱	0.03±0.01	0.04±0.01	-4.949	<0.001
3-羟基十六烯酰基肉碱	0.02±0.01	0.02±0.00	-0.910	0.366
十八酰基肉碱	0.43±0.12	0.49±0.15	-2.141	0.035
十八烯酰基肉碱	0.77±0.21	0.79±0.25	-0.215	0.831
十八二烯酰基肉碱	0.33±0.08	0.30±0.08	1.748	0.084
3-羟基十八酰基肉碱	0.02±0.01	0.03±0.01	-1.987	0.050
3-羟基十八烯酰基肉碱	0.01±0.01	0.02±0.00	-3.862	<0.001

3 讨 论

肉碱是存在于大多数组织中的一种中间代谢的重要化合物,由一系列的酶反应合成,主要以游离形式(左旋肉碱)和酯化形式(酰基肉碱)存在。游离肉碱是一种特殊氨基酸,是构成细胞的基本成分,在肉碱酰基转移酶 I 和 II 的作用下,以乙酰基左旋肉碱为载体的形式促进活化的长链脂肪酸跨线粒体膜传输,并促进其在线粒体基质内氧化产生能量,并且可促进乙酰基和酰基从线粒体内转运进入细胞质使游离肉碱成为酰基肉碱。酰基肉碱可以穿过细胞质膜,但详细机制尚不明确。肉碱作为一种中间代谢的重要化合物,除了能促进长链脂肪酸的氧化从而为细胞提供能量以外,在消除酮体及过量酰基、脂肪生成、糖异生、糖酵解、支链氨基酸代谢以及维持膜的稳定等有关。其新功能还包括抑制细胞凋亡,抗氧化和免疫调节^[9]。肉碱缺乏将使脂类聚集于细胞浆,同时使乙酰辅酶 A 聚集于线粒体,从而对细胞产生毒性作用。

众所周知,多囊卵巢综合征患者存在糖代谢、脂代谢和蛋白质代谢等多种物质代谢异常,从本研究的临床资料可看出多囊卵巢综合征患者体重及体质指数较高,虽然患者组体质指数平均值未达肥胖标准,但明显高于对照组,提示存在代谢异常,可能机制主要为胰岛素抵抗;激素水平提示患者组 T、LH/FSH、LH、E2 均明显高于对照组,提示存在内分泌异常。众所周知,P-COS 的病理生理变化主要是内分泌和代谢的异常,两者存在相互作用。胰岛素与 LH 的共同作用可导致间质细胞和卵泡膜细胞的过度增殖,生成更多的雄激素,高胰岛素血症还可加重高雄激素血症的生物作用^[10]。而肉碱作为一种中间代谢的重要化合物,参与糖代谢及脂代谢,目前研究认为,高胰岛素血症可促进肉碱进

入肌肉组织。类固醇性激素及其前体在肉碱循环的调控中也发挥着重要的作用^[11]。既往研究证实雌激素和游离肉碱水平存在负相关关系。一项临床实验表明瘦型 PCOS 患者与对照组相比,其游离肉碱的水平明显降低,性激素结合球蛋白(SHBG)和肉碱水平之间有显著的关联^[12]。沈树娜等^[13]曾经采用高效液相色谱法检测观察对象的游离肉碱水平,发现 PCOS 组游离肉碱水平低于对照组,提示游离肉碱可能参与 P-COS 的发生发展。但至今为止,少有研究检测酰基肉碱在 PCOS 患者中的表达状况。本研究首次通过 Neo-Base™ Non-derivatized MSMS 试剂盒及串联质谱(MSMS)系统检测了 PCOS 患者血清中游离肉碱及 30 种酰基肉碱的表达水平,结果显示多囊卵巢综合征患者中甲基巴豆酰基肉碱、戊二酰基肉碱、己二酰基肉碱等 12 种酰基肉碱的表达水平低于对照组,而乙酰基肉碱在多囊卵巢综合征患者中表达升高,提示肉碱可能在多囊卵巢综合征患者代谢功能障碍中发挥着一定的作用,但是其在 PCOS 患者病理生理中的具体作用机制尚不明确,需进一步研究证实。

参考文献

[1] Goodarzi MO, Dumesic DA, Chazenbalk G, et al. Polycystic ovary syndrome:etiology, pathogenesis and diagnosis[J]. Nat Rev Endocrinol, 2011, 7(4):219-231.

[2] Naderpoor N, Shorakae S, Joham A, et al. Obesity and polycystic ovary syndrome[J]. Minerva Endocrinol, 2015, 40(1):37-51.

[3] Moran LJ, Misso ML, Wild RA, et al. Impaired glucose tolerance, type 2 diabetes and metabolic syndrome in polycystic ovary syndrome:a systematic review and meta-analysis[J]. Hum Reprod Update, 2010, 16(4):347-363.

[4] Atkin SL. Cardiovascular disease in polycystic ovary syndrome[J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2013, 78(6):823-824.

[5] Rizzo M, Berneis K, Spinass G, et al. Long-term consequences of polycystic ovary syndrome on cardiovascular risk[J]. Fertil Steril, 2009, 91(4 Suppl):1563-1567.

[6] Targher G, Rossini M, Lonardo A. Evidence that non-alcoholic fatty liver disease and polycystic ovary syndrome are associated by necessity rather than chance:a novel hepato-ovarian axis[J]. Endocrine, 2016, 51(2):211-221.

[7] Vassilatou E. Nonalcoholic fatty liver disease and polycystic ovary syndrome[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(26):8351-8363.

[8] Abdelkarem HM, Fadda LH, Hassan AA. Potential intervention of alpha-lipoic acid and carnitine on insulin sensitivity and anti-inflammatory cytokines levels in fructose-fed rats, a model of metabolic syndrome[J]. J Diet Suppl, 2016;1-11.

[9] Tousson E, Hafez E, Zaki S, et al. The cardioprotective effects of L-carnitine on rat cardiac injury, apoptosis, and oxidative stress caused by amethopterin[J]. Environ Sci Pollut Res Int, 2016,23(10):20600-20608.

[10] De Leo V, Musacchio MC, Cappelli V, et al. Genetic, hormonal and metabolic aspects of PCOS:an update[J]. Reprod Biol Endocrinol, 2016, 14(1):38.

[11] Stephens FB, Constantin-Teodosiu D, Laithwaite D, et al. A threshold exists for the stimulatory effect of insulin on plasma L-carnitine clearance in humans[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2007, 292(2):E637-641.

[12] Fenkci SM, Fenkci V, Oztekin O, et al. Serum total L-carnitine levels in non-obese women with polycystic ovary syndrome[J]. Hum Reprod, 2008, 23(7):1602-1606.

[13] 沈树娜,芦胜群,王辉. 左旋肉碱在多囊卵巢综合征发病机制中的作用[J]. 中国计划生育学杂志,2013,21(9):611-613.