

论 著

(临床研究)

早产及胎膜早破孕妇血清晚期糖基化终末产物水平分析

包 芳, 杨林东, 吴元赓

【摘要】 目的 探讨晚期糖基化终末产物 (AGEs) 在早产及胎膜早破 (PROM) 孕妇血清中的水平变化及意义。**方法** 回顾性分析 2018 年 1 月-12 月在东部战区总医院产科建卡按期产检且发生早产的孕妇 20 例 (早产组) 的临床资料, 并匹配同期足月分娩的孕妇 43 例作为对照 (足月组)。统计所有孕妇 24 周、32 周和足月产孕妇 37 周时检测的血清 AGEs 水平, 比较不同孕周同一人群和同一孕周不同人员的 AGEs 水平。并按是否发生胎膜早破, 比较 2 组中胎膜早破孕妇和非胎膜早破孕妇不同孕周的 AGEs 水平。**结果** 早产组孕妇年龄较足月组大 [(32.05±4.75) 岁 vs (29.35±4.34) 岁, $P<0.05$]。早产组和足月组孕妇 24 周时的血清 AGEs 水平 [(14.53±2.13) $\mu\text{g/mL}$ 、(8.65±2.94) $\mu\text{g/mL}$] 均高于 32 周 [(10.83±2.03) $\mu\text{g/mL}$ 、(5.54±2.17) $\mu\text{g/mL}$], 差异有统计学意义 ($P<0.01$)。足月组 37 周血清 AGEs 水平 [(7.91±2.97) $\mu\text{g/mL}$] 明显高于 32 周 ($P<0.01$), 与 24 周比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。早产组孕妇 24 周和 32 周时血清 AGEs 水平较足月组均明显增高 ($P<0.01$)。早产组中胎膜早破孕妇 24 周及 32 周血清 AGEs 水平与非胎膜早破孕妇比较差异均无统计学意义 ($P>0.05$); 足月组中胎膜早破孕妇 24 周、32 周、37 周血清 AGEs 水平 [(12.07±3.28) $\mu\text{g/mL}$ 、(7.49±2.20) $\mu\text{g/mL}$ 、(10.77±3.16) $\mu\text{g/mL}$] 较非胎膜早破孕妇 [(8.10±2.51) $\mu\text{g/mL}$ 、(5.22±2.02) $\mu\text{g/mL}$ 、(5.22±2.02) $\mu\text{g/mL}$] 均显著增高 ($P<0.05$)。**结论** 孕妇血清 AGEs 水平随着孕周的增长呈下降趋势, 在 37 周时又升高达一高峰, 可能与足月分娩发动相关。血清 AGEs 水平的升高可能与早产及胎膜早破的发生有关。

【关键词】 晚期糖基化终末产物; 早产; 胎膜早破**【中图分类号】** R714.7**【文献标志码】** A**【文章编号】** 1672-271X(2020)04-0372-04**【DOI】** 10.3969/j.issn.1672-271X.2020.04.008

Analysis of serum advanced glycation end products in pregnancies complicated by premature birth and premature rupture of membranes

BAO Fang, YANG Lin-dong, WU Yuan-zhe

(Department of Obstetrics and Gynecology, Jingling Hospital, Nanjing Medical University/General Hospital of Eastern Theater Command, PLA, Nanjing 210002, Jiangsu, China)

【Abstract】 Objective To investigate the change and significance of advanced glycation end products (AGEs) in serum of pregnant women with premature delivery and premature rupture of membranes (PROM). **Methods** Twenty pregnant women with premature birth and regular check-ups (preterm group) and 43 pregnant women who were born at term during the same period as controls (full-term group) at the Eastern Military Theater General Hospital from January 2018 to December 2018 were included in the study. Serum AGEs were measured in all pregnant women at 24 weeks, 32 weeks, and 37 weeks of full-term pregnant women. The levels of AGEs in the same population at different gestation weeks and different persons in the same gestation week were compared. The preterm group and the term group were divided into two subgroups according to items whether premature rupture of membranes occurred, and the levels of AGEs in different gestational weeks were compared between two groups of pregnant women. **Results** The

pregnant women in the preterm group were significantly older than the full-term group (32.05±4.75 vs 29.35±4.34, $P<0.05$). The serum AGEs of preterm and full-term pregnant women at 24 weeks [(14.53±2.13) $\mu\text{g/mL}$, (8.65±2.94)

作者单位: 210002 南京, 南京医科大学金陵临床医学院 (东部战区总医院) 妇产科 (包 芳, 杨林东, 吴元赓)

通信作者: 吴元赓, E-mail: wuzhe860103@sina.com

$\mu\text{g}/\text{mL}$] were higher than that at 32 weeks [(10.83±2.03) $\mu\text{g}/\text{mL}$, (5.54±2.17) $\mu\text{g}/\text{mL}$] ($P<0.01$). The serum AGEs level in the full-term group at 37 weeks [(7.91±2.97) $\mu\text{g}/\text{mL}$] was significantly higher than that at 32 weeks ($P<0.01$), and there was no significant difference compared with 24 weeks ($P>0.05$). At 24 and 32 weeks of gestation, serum AGEs in the preterm group were significantly higher than those in the full-term group ($P<0.01$). There was no significant difference in AGEs levels between the PROM subgroup and the non-PROM subgroup in the preterm group ($P>0.05$). The serum AGEs levels of the pregnant women in the PROM subgroup [(12.07±3.28) $\mu\text{g}/\text{mL}$, (7.49±2.20) $\mu\text{g}/\text{mL}$, (10.77±3.16) $\mu\text{g}/\text{mL}$] in the term group were significantly higher than that in the non-PROM subgroup [(8.10±2.51) $\mu\text{g}/\text{mL}$, (5.22±2.02) $\mu\text{g}/\text{mL}$, (5.22±2.02) $\mu\text{g}/\text{mL}$] ($P<0.05$). **Conclusion** The levels of serum AGEs of pregnant women showed a downward trend with the increase of gestational week with a peak at 37 weeks, which may be related to the initiation of full-term delivery. Increased serum AGEs may lead to the occurrence of preterm birth and premature rupture of membranes.

[Key words] advanced glycation end products; premature delivery; premature rupture of membranes

0 引言

早产是十分常见的产科并发症之一。在我国,早产为妊娠满 28 周但不足 37 周生产者,国外的标准为妊娠满 20 周但不足 37 周生产者^[1]。根据世界卫生组织 2018 年的数据显示,每年大约有 1500 万例早产儿出生,且这一数字仍在上升。胎膜早破是指在临产前胎膜自然破裂。胎膜早破是围产期最常见的并发症,可引起早产率升高,围产儿病死率增加,宫内感染及产褥感染风险均升高。晚期糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGEs)是还原糖与蛋白质、脂质或核酸之间的非酶促反应的产物^[2]。AGEs 可通过多种机制促进氧化应激和炎症反应^[3]。氧化应激和炎症已被证实和多种不良妊娠结局相关^[4-7]。早产的发生机制尚不明确,但炎症与其密切相关已得到公认。感染是发生胎膜早破最主要的原因。目前文献报道中,急性炎症和早产及胎膜早破关系的研究很普遍,但是尚缺乏慢性、隐性的炎症反应对早产影响的研究资料。AGEs 作为非常重要的慢性炎症标志物,它的产生和代谢可能与早产和胎膜早破的发生有关。本研究通过检测早产孕妇和足月产的孕妇不同孕周血清中 AGEs 的水平,探讨 AGEs 与早产及胎膜早破发生之间的关系。

1 资料与方法

1.1 研究对象 回顾性分析 2018 年 1 月-12 月在东部战区总医院建卡按期产检且发生早产的孕妇 20 例(早产组)的临床资料,并匹配同期足月分娩的孕妇 43 例作为对照(足月组)。纳入标准:①自然受孕;②单胎妊娠;③孕期唐氏筛查、颈后透明带检查、超声排畸均无异常;④无孕期并发症及合并症。排除标准:①有不良生育史;②宫颈机能不全;③孕期有感染疾病史;④孕妇患有先天性或遗传性

疾病;⑤因意外因素提前终止妊娠。早产的诊断参照《早产临床诊断与治疗指南(2014)》^[1]。

1.2 基本信息采集 通过停经史及早期超声检查评估核实孕周。查阅孕妇孕期产检记录及入院分娩病案资料记录孕妇信息,包括年龄、生育史、体质指数(BMI)、分娩孕周。

1.3 孕妇静脉血清采集及 AGEs 水平检测 在孕妇 24 周、32 周、37 周产检血液常规检查时,留取检验科剩余血样,以 3000 r/min 离心 20 min 后,取血清置于-80℃冰箱保存。确认入组研究对象后选取其相应血样行检测。AGEs 水平检测采用 ELISA 法。血清复温后再次离心,取上清,2 h 内进行检测。AGEs 酶联免疫反应试剂盒购于武汉华美生物工程公司。操作步骤严格参照试剂盒使用说明书。用酶标仪在 450 nm 波长下测定吸光度(A 值),建立标准曲线,计算样本浓度。比较不同孕周同一人群和同一孕周不同人员的 AGEs 水平。并按是否发生胎膜早破,比较 2 组中胎膜早破孕妇和非胎膜早破孕妇不同孕周的 AGEs 水平。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 24.0 进行统计分析,计数资料比较采用 χ^2 检验,计量资料采用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较应用 t 检验,以 $P\leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 孕妇一般情况比较 早产组孕妇的年龄较足月组大,差异有统计学意义($P<0.05$)。2 组孕妇在 BMI、分娩史、流产史比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

2.2 血清 AGEs 水平与孕周 早产组孕妇 24 周血清 AGEs 水平明显高于 32 周($P<0.01$);足月组孕妇 24 周和 37 周血清 AGEs 水平均明显高于 32 周($P<0.01$),24 周和 37 周之间比较差异无统计学

意义 ($P>0.05$)。早产组孕妇 24 周和 32 周时血清 AGEs 水平均明显高于足月组 ($P<0.01$)。见表 2。

表 1 入组孕妇一般情况比较

项目	早产组 (n=20)	足月组 (n=43)	χ^2/t 值	P 值
年龄(岁)	32.05±4.75	29.35±4.34	2.231	0.029
24 周 BMI(kg/m ²)	23.34±3.68	24.00±3.27	-0.726	0.471
32 周 BMI(kg/m ²)	25.00±3.73	25.65±3.29	-0.691	0.492
初产妇(n)	11	27	0.346	0.556
有流产史(n)	16	28	1.436	0.231

表 2 入组不同孕周孕妇血清中 AGEs 水平比较($\bar{x}\pm s, \mu\text{g/mL}$)

组别	n	24 周	32 周	37 周
早产组	20	14.53±2.13*	10.83±2.03	—
足月组	43	8.65±2.94**	5.54±2.17#	7.91±2.97*

与同组 32 周比较, * $P<0.01$; 与早产组比较, # $P<0.01$

2.3 血清 AGEs 水平与胎膜早破 早产组中胎膜早破孕妇 24 周及 32 周血清 AGEs 水平与非胎膜早破孕妇比较差异均无统计学意义 ($P>0.05$); 足月组中胎膜早破孕妇 24 周、32 周、37 周血清 AGEs 水平均显著高于非胎膜早破孕妇 ($P<0.05$), 见表 3。

表 3 胎膜早破与孕妇血清中 AGEs 水平关系($\bar{x}\pm s, \mu\text{g/mL}$)

组别	n	24 周	32 周	37 周
早产组				
胎膜早破	6	15.40±1.51	11.65±2.31	—
非胎膜早破	14	14.15±2.29	10.47±1.87	—
足月组				
胎膜早破	6	12.07±3.28	7.49±2.20	10.77±3.16
非胎膜早破	37	8.10±2.51**	5.22±2.02*	7.44±2.70**

与足月组胎膜早破者比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$

3 讨 论

早产儿的出生比例在各个国家有非常大的差异, 从 5%~18% 不等。我国作为人口大国, 每年的早产儿出生数都在世界前列。随着我国二胎政策的开放、辅助生育技术的发展, 早产的比例在逐年增长。本研究发现, 早产组孕妇与足月组相比, 分娩年龄明显偏长, 这也与公认的高龄为发生早产的高危因素之一的观点相符合。早产并发症是造成 5 岁以下儿童死亡的第二大原因, 仅次于肺炎, 2015 年有大约 100 万名儿童死于早产并发症^[8]。早产儿各器官发育不成熟, 呼吸窘迫综合征、新生儿黄疸、颅内出血、脑瘫等的发病率均明显高于足月儿。此外, 在怀疑可能早产的孕妇中, 不必要的入院治疗也不少见。因此, 能够早期准确的识别早产高危

人群, 及时干预降低风险很有必要。

虽然早产的发生机制尚不明确, 但是感染及炎症与早产发生密切相关已成公认事实。炎症是机体防御机制之一, 在内源性或外源性因素引起的紊乱中被激活以控制体内稳态。炎症的发生机制分为两大类: 病原相关分子模式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) 和损伤相关分子模式 (damage-associated molecular patterns, DAMPs)^[9]。外源性因素引起的 PAMPs 如今已广为人知, 临床常用的监测指标为白细胞计数及分类、C 反应蛋白等, 内源性因素相关的 DAMPs 引起的免疫反应一般无急性改变, 而是随着时间推移, 其影响会呈现出累积效应, 而 AGEs 就是 DAMPs 非常重要的参与者。

AGEs 是非酶糖基化反应 (Maillard 反应) 的终末产物, 是指蛋白质、脂质或核酸等大分子在没有酶参与的情况下, 与葡萄糖或其他还原单糖反应生成的 Schiff 碱进一步重排并形成 Amadori 产物后, 再经过一系列的脱水和重排反应而产生的化合物^[10]。AGEs 的主要致病途径有两方面: 一是与蛋白质或核酸等大分子共价交联, 影响蛋白质等大分子的生物学活性, 从而影响组织功能; 二是与 AGEs 特异性受体相结合, 激活一系列信号通路, 增加炎症因子的释放, 增强氧化应激反应, 最终损伤组织结构, 进而影响功能。后者是 AGEs 产生作用的主要途径。晚期糖基化终末产物受体 (receptor for advanced glycation end products, RAGE) 属于跨膜多配体受体, 属于免疫球蛋白超家族, 其激活对于诱导和维持炎症反应尤其重要。RAGE 在巨噬细胞、单核细胞、星形细胞均有表达。正常情况下 RAGE 在人体的表达很少, 但是在炎症和应激等情况下, 表达增加^[11]。AGEs 与 RAGE 结合后, 激活了 NADPH 氧化酶, 增加了活性氧的产生, 促进了氧化自由基和其代谢产物的生成。另一方面, AGEs 与其受体结合后, 会激活一些转录活性因子, 如核因子 κB (nuclear factor kappa-B, NF- κB) 和丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK), NF- κB 激活后, 会激活白细胞介素-1 (IL-1)、IL-6、IL-8 等细胞因子, 参与炎症反应。有研究表明, 在孕妇外周血中, NF- κB 的水平与 IL-6 正相关, 且这两者的水平在早产临产组孕妇血清中的水平明显高于先兆早产组和足月临产组^[12]。细胞因子释放的增加, 导致了花生四烯酸级联反应的激活, 导致大量前列腺素的产生。前列腺素负责子宫收缩和宫颈成熟的发生, 是分娩发动机制的最后途径。本研究发现, 无论是 24 周还是 32 周, 早产组的血清 AGEs 水平均明显高于足月组。

国外有文献报道,在 11~13 周,早产孕妇血清中的 AGEs 就已经与足月产组存在明显差异^[10]。我们认为早产组孕妇体内 AGEs 的高水平与其早产的发生相关。

有研究表明,女性在妊娠早期,体内 AGEs 水平会高于非妊娠期,且随着妊娠时间的增长,呈现下降趋势^[13]。但本研究发现,妊娠 32 周的血清 AGEs 水平确实低于妊娠 24 周,但在足月妊娠的产妇中,37 周时血清 AGEs 含量又达到了一个峰值,我们认为 37 周发生的 AGEs 水平的增高可能与足月后的分娩发动相关,可能需要更大样本量的研究来证实。

AGEs 与 RAGE 结合后最终不仅会导致前列腺素分泌的增加,还会促进不同类型蛋白酶的产生,尤其是基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMPs),有研究发现,发生胎膜早破的孕妇的胎膜及胎盘组织中 MMP-9 的表达明显增高,MMPs 是引起胎膜早破的主要病因^[9,14]。本研究发现足月孕妇中胎膜早破者的血清 AGEs 水平明显增高,而早产孕妇中,这一特点并不突出,可能与早产孕妇血清 AGEs 水平普遍偏高以及本研究样本量较局限有关,还需要更多的研究。

正常情况下,AGEs 的生成和代谢是个非常缓慢的过程,最终经肾清除出体外^[15]。但在氧化应激和炎症发生的时候 AGEs 的产生速度会加快,而 AGEs 浓度的增加会激活细胞应答,诱导 RAGE 基因的表达。AGEs 除内源性产生外,还存在于日常饮食中。AGEs 自然存在于动物来源的食物中,而高温烹饪方式,如烘烤、油炸等,会促进新的 AGEs 的生成^[16],也有报道提出 AGEs 的生成增加与吸烟相关,且吸烟会降低 AGEs 的保护性受体游离型晚期糖基化终末产物受体的血液含量^[17]。

早产仍然是全球性的重要围产医学难题,早产儿的出生缺陷和新生儿疾病的发病率均明显高于足月儿,及早识别早产高风险孕妇加以生活指导干预,可能会改善母婴预后,减轻家庭及社会负担。胎膜早破会明显提高早产率及感染风险。AGEs 作为普遍存在的慢性炎症指标,孕中期就在早产孕妇中表现出了显著增高,且检测方法较简便,对早产具有较高预测价值。且通过抑制 AGEs 的生成或其与 RAGE 的结合,或可改善妊娠结局及母婴预后。

【参考文献】

- [1] 中华医学会妇产科学分会产科学组. 早产临床诊断与治疗指南(2014)[J]. 中华妇产科杂志,2014,49(7):481-485.
- [2] Zeng C, Li Y, Ma J, et al. Clinical/Translational Aspects of Advanced Glycation End-Products [J]. Trends Endocrinol Metab, 2019,30(12):959-973.
- [3] 李 棣,杨慧霞. 晚期糖基化终末产物与妊娠期糖尿病关系的研究进展[J]. 中华妇产科杂志,2015,50(11):865-867.
- [4] Sultana Z, Maiti K, Aitken J, et al. Oxidative stress, placental ageing-related pathologies and adverse pregnancy outcomes [J]. Am J Reprod Immunol, 2017,77(5). doi: 10.1111/aji.12653.
- [5] Jamilian M, Hashemi Dizaji S, Bahmani F, et al. A Randomized Controlled Clinical Trial Investigating the Effects of Omega-3 Fatty Acids and Vitamin E Co-Supplementation on Biomarkers of Oxidative Stress, Inflammation and Pregnancy Outcomes in Gestational Diabetes [J]. Can J Diabetes, 2017,41(2):143-149.
- [6] Dutta EH, Behnia F, Boldogh I, et al. Oxidative stress damage-associated molecular signaling pathways differentiate spontaneous preterm birth and preterm premature rupture of the membranes [J]. Mol Hum Reprod, 2016,22(2):143-157.
- [7] Wu F, Tian FJ, Lin Y. Oxidative Stress: Placenta Function and Dysfunction [J]. Am J Reprod Immunol, 2016,76(4):258-271.
- [8] Liu L, Oza S, Hogan D, et al. Global, regional, and national causes of under-5 mortality in 2000-15: an updated systematic analysis with implications for the Sustainable Development Goals [J]. Lancet, 2016,388(10063):3027-3035.
- [9] Rzepka R, Dołęgowska B, Rajewska A, et al. On the significance of new biochemical markers for the diagnosis of premature labour [J]. Mediators Inflamm, 2014. doi: 10.1155/2014/251451.
- [10] Kansu-Celik H, Tasci Y, Karakaya BK, et al. Maternal serum advanced glycation end products level as an early marker for predicting preterm labor/PPROM: a prospective preliminary study [J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2019,32(16):2758-2762.
- [11] 庄 微,刘挺松. 晚期糖基化终末产物受体在心血管疾病中的研究概况[J]. 东南国防医药,2014,16(6):629-631.
- [12] 马 薇,朱天垣,关慧敏,等. NF-κBp65、Lin28B 和 IL-6 在不同临产状态孕妇外周血中的表达 [J]. 实用妇产科杂志,2017,33(12):906-909.
- [13] de Ranitz-Greven WL, Kaasenbrood L, Poucki WK, et al. Advanced glycation end products, measured as skin autofluorescence, during normal pregnancy and pregnancy complicated by diabetes mellitus [J]. Diabetes Technol Ther, 2012, 14(12):1134-1139.
- [14] 陈晓庆,姜子燕,孙丽洲. 基质金属蛋白酶-9 与转化生长因子-β1 在胎膜早破患者胎盘胎膜中的表达 [J]. 医学研究生学报,2010,23(7):700-705.
- [15] 叶成松,王贻坤,叶山东. 晚期糖基化终末产物的特性及其检测 [J]. 国际病理科学与临床杂志,2013,33(2):175-178.
- [16] Gill V, Kumar V, Singh K, et al. Advanced Glycation End Products (AGEs) May Be a Striking Link Between Modern Diet and Health [J]. Biomolecules, 2019,9(12):888.
- [17] Pouwels SD, Klont F, Kwiatkowski M, et al. Cigarette Smoking Acutely Decreases Serum Levels of the Chronic Obstructive Pulmonary Disease Biomarker sRAGE [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2018,198(11):1456-1458.

(收稿日期:2020-03-31; 修回日期:2020-05-25)

(责任编辑:叶华珍; 英文编辑:朱一超)