

吡格列酮对 2 型糖尿病大鼠胰岛素抵抗和胰岛功能的影响

周忍冬

[摘要] **目的:**建立 2 型糖尿病(T2DM)的大鼠模型,观察吡格列酮(PIO)对胰岛素抵抗和胰岛功能的影响。**方法:**SD 雄性大鼠 40 只,随机分为对照组(10 只)和高脂组(30 只)。高脂组建立 2 型糖尿病大鼠模型,得到 T2DM 大鼠 24 只。将成模的 24 只 T2DM 大鼠随机分为糖尿病组(DM 组)和 PIO 组,每组 12 只。监测 DM 组、PIO 组和对照组大鼠体质量、空腹血糖、空腹胰岛素、糖化血红蛋白、超敏 C 反应蛋白以及血脂,计算胰岛素抵抗指数、胰岛 β 细胞功能指数(HOMA- β)以及胰岛素敏感指数。**结果:**DM 组、PIO 组大鼠的体质量、总胆固醇、三酰甘油、低密度脂蛋白胆固醇、空腹血糖、空腹胰岛素、糖化血红蛋白、超敏 C 反应蛋白、胰岛素抵抗指数均高于对照组($P < 0.05 \sim P < 0.01$),高密度脂蛋白胆固醇、胰岛素敏感指数和 HOMA- β 则均低于对照组($P < 0.05 \sim P < 0.01$);PIO 组的 HOMA- β 高于 DM 组($P < 0.05$)。**结论:**PIO 发挥治疗 T2DM 大鼠糖尿病的作用可能与减轻 T2DM 大鼠的胰岛素抵抗和改善胰岛功能有关。

[关键词] 2 型糖尿病;吡格列酮;胰岛功能;大鼠

[中图分类号] R 587.1 **[文献标志码]** A **DOI:** 10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2018.02.005

Effect of pioglitazone on the insulin resistance and function of pancreatic islet in Type 2 diabetes rat

ZHOU Ren-dong

(Department of Endocrinology, The People's Hospital of Zhongxiang, Zhongxiang Hubei 431900, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the type 2 diabetes mellitus (T2DM) rat model, and observe the effects of pioglitazone on insulin resistance and function of pancreatic islets in T2DM rats. **Methods:** Forty SD male rats were randomly divided into the control group (NC group, 10 rats) and high-fat group (30 rats). Twenty-four T2DM model rats were established, and randomly divided into the diabetes mellitus group (DM group) and PIO group (12 rats in each group). The levels of body mass (BM), fasting blood glucose (FBG), fasting insulin (FINS), glycosylated hemoglobin hemoglobin-A1c (HbA1c), C-reactive protein (CRP), blood lipid, insulin resistance index, islet β -cell function index and insulin sensitivity index (ISI) were measured in two groups. **Results:** The levels of BM, TC, TG, LDL-C, FBG, HbA1c, FINS/CRP and HOMA- β index in DM group and PIO group were higher than those in control group ($P < 0.05$ to $P < 0.01$). The levels of HDL-C, ISI and HOMA- β in DM group and PIO group were lower than those in control group ($P < 0.05$ to $P < 0.01$), and the level of HOMA- β in PIO group was higher than that in DM group ($P < 0.05$). **Conclusions:** Pioglitazone plays a therapeutic role in T2DM rats, which may be involved in reducing insulin resistance and improving islet function.

[Key words] type 2 diabetes; pioglitazone; islet function; rats

胰岛功能的缺失是造成所有类型糖尿病的关键性原因。吡格列酮(PIO)作为一种噻唑烷二酮类药物,在机体内与过氧化物酶增殖物激活受体(PPAR- γ)结合^[1],可促进细胞内转录和翻译过程,促进细胞器中葡萄糖运载体 4 向细胞膜转位,加速组织细胞对外周血葡萄糖的摄取,同时在机体内产生胰岛素样作用,降低血糖浓度。故该药物被广泛应用于纠正代谢综合征、改善胰岛素抵抗等多种疾病的治疗。我们建立 2 型糖尿病(T2DM)大鼠模型,通过实验对胰岛素的敏感性进行评价,观察 PIO 是否能恢复胰岛功能,减轻胰岛素抵抗。现作报道。

1 材料与方法

1.1 材料 动物来源:40 只雄性 SD 大鼠来自于我院实验动物中心。环境温度保持 22 ℃,相对湿度控制在 70% 左右,接受光照时间为 12 h,正常食用标准颗粒型动物饲料,喂养时间为 1 周,大鼠体质量超过 170 g 即可开始实验。

主要实验仪器和设备:超净工作台, Heraeus, 德国;普通光学显微镜,倒置像差显微镜, Olympus, 日本;28RS 型冷冻离心机, Heraeus, 德国;MA26S0 型电子天平,上海第二天平仪器厂,中国;紫外分光光度计, PekinElmer, 美国;PCR 扩增仪, Eppendorf, 德国;ZF 型紫外透射反射分析仪,上海嘉定康华升华仪器厂,中国;MultiTemBZ 多用恒温循环仪,

BIO-RAD, 德国。

主要试剂: 乙二胺四乙酸二钠 (EDTA), $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, 广州化学试剂厂, 中国; 碱性纤维生长因子, TRIzol, 双硫脲, Sigma, 美国; RT-PCR 试剂盒, Fermentas, 乌克兰; 琼脂糖, Promega, 美国; 溴酚蓝, 上海试剂厂, 中国; 胰岛素抗体, Millipore, 美国; DAB, 迈新, 中国; 其余试剂均为国产分析纯。

1.2 方法

1.2.1 高脂喂养, 建立胰岛素抵抗大鼠模型 将 40 只大鼠随机分组, 分别为对照组 (10 只) 和高脂组 (30 只)。高脂组: 每天上午经胃灌注脂肪乳剂 10 mL/kg; 对照组经胃灌注等体积的蒸馏水。2 组同时食用标准颗粒饲料 (含 21.5% 的蛋白质, 3.2% 的脂肪以及 58% 的碳水化合物), 喂养 4 周。4 周后将大鼠进行 12 h 空腹处理, 并在腹腔内注射链脲佐菌素 (STZ) 60 mg/kg, 选择性破坏胰岛 β 细胞, 第 2 天注射完全弗氏佐剂 (CFA) 0.5 mL/kg, 等到第 3 天采集尾静脉的血进行血糖检测, 并随机选择 2 次血糖值, 若 >16.7 mmol/L 则满足 T2DM 成模标准, 剔除 1 周内仍然有不满足者, 对照组只注射枸橼酸缓冲液。本研究中高脂组 30 只大鼠喂养过程中死亡 2 只, 4 只随机血糖值未满足 >16.7 mmol/L 条件, 予以剔除, 成模的 24 只大鼠进行后续实验。

1.2.2 动物分组 将成模的 24 只 T2DM 大鼠进行随机分组, 分别为 PIO 组和糖尿病 (DM) 组, 每组各 12 只。PIO 组每天下午经胃灌注 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 的 PIO; DM 组向胃内灌注等量 5 g/L 羧甲基纤维素钠。对照组食用普通的饲料, 并饮用自来水; 而 DM 组和 PIO 组则经胃灌注高脂乳剂, 饮二级水。

1.2.3 血生化指标检测 空腹眶静脉取血备测三酰甘油 (TG)、总胆固醇 (TC)、空腹血糖 (FBG)、空腹胰岛素 (FINS)、超敏 C 反应蛋白 (hs-CRP)。生化法测血 TG、FBG, 化学发光法测血 FINS。乳胶增强免疫散射法测血清中 hs-CRP。高效液相色谱法测糖化血红蛋白 (HbA1c)。

1.2.4 胰岛素抵抗和胰岛 β 细胞功能判定 稳态模型胰岛素抵抗指数 (HOMA-IR) 的计算公式: $\text{HOMA-IR} = \text{FBG} \times \text{FINS} / 22.5$; 而胰岛 β 细胞功能指数 (HOMA- β) 的计算公式是: $\text{HOMA-}\beta = 20 \times \text{FINS} / (\text{FBG} - 3.5)$; 胰岛素敏感指数 (ISI) 的计算公式为: $\text{ISI} = 1 / (\text{FPG} \times \text{FINS})$ 。

1.3 统计学方法 采用方差分析和 q 检验。

2 结果

2.1 PIO 治疗对 T2DM 大鼠体质量的影响 DM 组、PIO 组大鼠的体质量均较对照组明显增加 ($P < 0.01$), PIO 组大鼠的体质量与 DM 组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$) (见表 1)。

表 1 PIO 治疗对 T2DM 大鼠体质量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

分组	<i>n</i>	体质量/g
对照组	10	343.41 ± 38.39
DM 组	12	527.62 ± 65.58 **
PIO 组	12	554.59 ± 62.67 **
<i>F</i>	—	40.85
<i>P</i>	—	<0.01
<i>MS</i> _{组内}	—	3234.019

q 检验: 与对照组比较 ** $P < 0.01$

2.2 PIO 治疗对 T2DM 大鼠血脂的影响 3 组 TG 水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$); DM 组、PIO 组大鼠的 TC、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 水平均明显高于对照组 ($P < 0.01$), 高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 水平则明显低于对照组 ($P < 0.01$) (见表 2)。

表 2 PIO 治疗对 T2DM 大鼠血脂的影响 ($\bar{x} \pm s$; mmol/L)

分组	<i>n</i>	TG	TC	HDL-C	LDL-C
对照组	10	0.59 ± 0.65	19.1 ± 2.65	0.70 ± 0.10	0.35 ± 0.07
DM 组	12	0.94 ± 0.26	28.4 ± 4.16 **	0.49 ± 0.07 **	0.51 ± 0.17 **
PIO 组	12	0.96 ± 0.66	26.0 ± 5.66 **	0.48 ± 0.18 **	0.51 ± 0.06 **
<i>F</i>	—	1.40	12.41	9.79	6.84 [△]
<i>P</i>	—	>0.05	<0.01	<0.01	<0.01
<i>MS</i> _{组内}	—	0.309	18.788	0.016	0.013

q 检验: 与对照组比较 ** $P < 0.01$; Δ 示 t' 值

2.3 PIO 治疗对 T2DM 大鼠 FBG、HbA1c、FINS 和 hs-CRP 水平的影响 治疗 6 周后, DM 组和 PIO 组的 FBG、HbA1c、FINS 以及 hs-CRP 水平较对照组均明显升高 ($P < 0.05 \sim P < 0.01$), DM 组和 PIO 组上述 4 个指标之间差异均无统计学意义 ($P > 0.05$) (见表 3)。

2.4 PIO 治疗对 T2DM 大鼠胰岛素抵抗及胰岛功能的影响 PIO 组和 DM 组的 HOMA-IR 均较对照组增高 ($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$), 而 ISI 和 HOMA- β 均较对照组降低 ($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$); PIO 组与 DM 组的 HOMA-IR、ISI 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 而 PIO 组 HOMA- β 高于 DM 组 ($P < 0.05$) (见表 4)。

表3 PIO 治疗对 T2DM 大鼠 FBG、HbA1c、FINS 和超敏 CRP 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

分组	n	FBG/(mmol/L)	HbA1c/%	FINS/(mU/L)	hs-CRP/(mg/L)
对照组	10	6.51 ± 1.92	9.1 ± 2.65	13.52 ± 8.32	0.54 ± 0.32
DM 组	12	14.13 ± 3.77 **	18.4 ± 4.16 **	33.82 ± 16.08 *	0.87 ± 0.28 *
PIO 组	12	12.12 ± 2.98 **	16.0 ± 5.66 **	32.98 ± 17.23 **	0.68 ± 0.23
F	—	17.47	12.41	6.34	3.52
P	—	<0.01	<0.01	<0.01	<0.05
MS _{组内}	—	8.927	18.788	208.221	0.078

q 检验:与对照组比较 *P<0.05, **P<0.01

表4 PIO 治疗对 T2DM 大鼠胰岛素抵抗及胰岛功能的影响 ($\bar{x} \pm s$)

分组	n	HOMA-IR	ISI	HOMA-β
对照组	10	0.93 ± 0.14	0.052 ± 0.026	173.75 ± 32.1
DM 组	12	1.22 ± 0.21 **	0.023 ± 0.018 *	87.6 ± 25.1 **
PIO 组	12	1.12 ± 0.20 *	0.029 ± 0.017 *	126.46 ± 34.2 ** Δ
F	—	6.28	5.45	19.73
P	—	<0.01	<0.05	<0.01
MS _{组内}	—	0.035	0.001	943.353

q 检验:与对照组比较 *P<0.05, **P<0.01;与 DM 组比较 ΔP<0.05

3 讨论

随着人们生活方式的改变和寿命的延长,糖尿病发病率呈现出逐年上升趋势。2015 年我国糖尿病发病率约为 3.6%,糖耐量受损的发病率约为 4.8%。持续的高血糖可引起全身微小血管及大血管发生病变,病人心血管、视网膜、肢端神经、肾脏等部位相关并发症发生率将大大增加^[1-4]。T2DM 是糖尿病中最主要的类型,其发病主要是由于早期的外周胰岛素抵抗进而发展为合并 β 细胞功能受损联合造成^[5]。T2DM 病人用药后可以维持低血糖水平,但是无法逆转 β 细胞功能受到的损害^[6-7]。研究^[8-12]表明,胰岛功能受损是多种因素互相作用的结果,葡萄糖、脂毒性和淀粉样蛋白累积都可以导致内质网的应激并且每个单独的途径最终都可以导致 β 细胞去分化。

盐酸 PIO 是一种新型的胰岛素增敏剂,它能够结合 PPAR γ ,而 PPAR γ 是转录因子的重要组成部分,不仅促进转录翻译过程,还能推动 GLUT-4 转运因子的合成,促进葡萄糖的摄入和利用,使血糖水平下降,同时 PIO 的胰岛素样作用,可协同胰岛素降低血糖。另外,PIO 还能够加强脂质代谢,降低 TG 和游离脂肪酸水平,增加 HDL-C 含量,有利于维持体内血脂的正常水平。

本实验中我们观察到 DM 组、PIO 组大鼠的体质量均较对照组增加,但是 PIO 组大鼠的体质量与 DM 组比较差异无统计学意义。DM 组、PIO 组大鼠的 TC、TG、LDL-C 水平与对照组比较均增加, HDL-C 水平则降低,但是 PIO 组大鼠的上述指标水平与 DM 组比较差异无统计学意义。DM 组、PIO 组 FBG、HbA1c、FINS 水平较对照组均增高;这些结果表明我们成功地复制了 T2DM 模型,通过高脂灌胃后,给予 STZ 注射,可以使大鼠的体质量明显增加, TG、TC、LDL 明显升高;FBG、HbA1c、FINS 水平均显著性增高。但是单独使用 PIO 治疗后没有明显降低血糖的作用。进而我们分别计算了 T2DM 大鼠经过 PIO 治疗后的 HOMA-β、ISI、HOMA-IR,结果发现 PIO 组、DM 组的 HOMA-IR 较对照组增高,而 ISI 和 HOMA-β 较对照组降低,由此说明 DM 组大鼠的胰岛素敏感性呈现出下降的趋势,也就是说存在一定的胰岛素抵抗,而且和对照组相比较, FINS 也逐渐升高,该结果表明 DM 组大鼠患有胰岛素血症,同时机体内胰岛素敏感性较低。同时,PIO 组的 HOMA-IR 与 DM 组比较差异无统计学意义,而 PIO 组 HOMA-β、ISI 均高于 DM 组。说明 PIO 治疗后可有效减轻胰岛素抵抗,增加胰岛素的敏感性,可能会恢复部分胰岛功能。

考虑到胰岛功能降低可能与炎症反应有一定联系,CRP 又是衡量炎症严重程度的敏感指标。且许多研究显示,血清 CRP 水平和胰岛素抵抗程度存在密切联系^[13-14]。徐华良等^[15]研究显示糖尿病病人血清 CRP 水平相比健康人群显著升高。本研究结果发现,DM 组 hs-CRP 较对照组升高,经过 PIO 治疗后,hs-CRP 水平有所降低但差异无统计学意义。文献^[16]报道,PIO 不但能够改善糖脂代谢,而且具有明显的抗炎作用,可以降低 CRP 水平,进而确保胰岛 β 细胞稳定。如果 CRP 水平出现明显下降,有可能对延缓 T2DM 的大血管并发症的发展有重要影响。

[参 考 文 献]

- [1] 刘璠,冯红云,杜丽娜,等. 噻唑烷二酮类药物对糖调节受损病人红细胞流变行为的影响研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2014,23(13):1378.
- [2] 相聪坤. 他汀类药物治疗与新发糖尿病[J]. 国际脑血管病杂志,2015,23(4):281.
- [3] 强化降糖可降低 T2DM 心血管事件风险[J]. 中国循证心血管医学杂志,2015,7(4):467.
- [4] 常红,高海霞,常英,等. 1 型糖尿病与卒中[J]. 国际脑血管病杂志,2015,23(4):286.

- [5] 庞伯健,常艳华. 胰岛素强化方法治疗成人隐匿性自身免疫性糖尿病老年病人的疗效及其对胰岛 β 细胞功能的影响[J]. 中国老年学杂志,2015,35(15):4247.
- [6] 罗惠金,陈谷平,杨锐,等. 对比沙格列汀、二甲双胍联合罗格列酮的三联方案与胰岛素强化方案治疗初诊断 2 型糖尿病病人的有效性及对 α 、 β 细胞功能的影响[J]. 中华内分泌代谢杂志,2015,31(6):515.
- [7] WONG J, TABET E. 2 型糖尿病病人的胰岛素治疗[J]. 中国全科医学,2015,18(20):2365.
- [8] 张甜,苏悦,孙丽荣,等. 不同体质指数 2 型糖尿病病人胰高血糖素水平的变化研究[J]. 中国全科医学,2015,18(26):3158.
- [9] 沈赞,孙睿,丁波,等. 动态血糖在妊娠期糖尿病病人胰岛素强化治疗期间的临床应用价值[J]. 重庆医学,2015,44(36):5152.
- [10] 王薪宁,徐斌,周金培,等. 基于新靶点的抗糖尿病药物研究进展[J]. 中国药科大学学报,2015,46(2):141.
- [11] 吴日,马超,李晓丹,等. 长效促胰岛素降糖酵母的构建及其对糖尿病模型小鼠的治疗效果[J]. 遗传,2015,37(2):183.
- [12] 胡琳,权莉,张莉,等. 新诊断酮症倾向 2 型糖尿病病人临床特点及胰岛素抵抗分析[J]. 中国全科医学,2015,18(27):3347.
- [13] 陈春莲,易玉芳,王志成,等. 2 型糖尿病病人血清 chemerin 和 C 反应蛋白水平及胰岛素抵抗与大血管病变的相关性研究[J]. 中国全科医学,2013,16(21):2438.
- [14] 张梅珍,罗义,吴岸晶,等. 老年代谢综合征病人血清炎症因子水平与胰岛素抵抗的关系[J]. 广东医学,2013,34(24):3741.
- [15] 徐华良,徐仁荣. RA 病人血清 FFA、hs-CRP 及 TNF- α 的水平变化与胰岛素抵抗的关系[J]. 放射免疫学杂志,2012,25(5):569.
- [16] 朱亨,邓月珍. 吡格列酮对肥胖 2 型糖尿病病人血清脂联素及 CRP 的影响[J]. 临床和实验医学杂志,2012,11(18):1465.

(本文编辑 刘畅)

(上接第 155 页)

AQP 是一类选择性介导水分子高效转运的膜蛋白,可通过改变局部水通道蛋白分布来调节细胞的水液代谢,其在胃肠道的异常表达与胃肠道疾病的发生密切相关^[8]。研究^[9]显示,AQP 可通过影响肠道水液代谢、黏液合成和分泌以及调节肠神经系统和肠道微血管等作用于病人肠道内环境,对脾虚泄泻起一定调控作用。本研究中,免疫组织化学结果显示,AQP3、AQP4 蛋白阳性表达分布于细胞质中,模型组和醇提物各组小鼠 AQP3、AQP4 蛋白表达均较正常组降低,而醇提物中、高剂量组和参苓白术散组小鼠 AQP3、AQP4 蛋白表达均较模型组和醇提物低剂量组明显升高。与文献^[10]报道结果一致,提示补骨脂-肉豆蔻醇提物可上调结肠黏膜 AQP3 和 AQP4 的表达,增强结肠黏膜对水的重吸收,从而改善脾虚泄泻。

综上,补骨脂-肉豆蔻醇提物可上调 AQP 表达,降低肠道炎性因子水平,对脾虚泄泻小鼠胃肠道功能有一定的改善作用,以中、高剂量效果为佳。而泄泻为临床常见症,中药复方制剂靶点多,可整体调节机体肠道功能,在治疗慢性腹泻方面疗效较好,具有良好的临床前景。

[参 考 文 献]

- [1] 韩海荣. 参苓白术散对大黄引起的脾虚泄泻小鼠免疫机能的影响[D]. 哈尔滨:黑龙江中医药大学,2006.

- [2] 刘海涛,施家希,黄张杰,等. 补中益气汤不同配伍对脾虚大鼠免疫器官及小肠黏膜转运体蛋白表达的影响[J]. 中药材,2017,40(2):466.
- [3] 王友多,陈华. 双歧杆菌四联活菌片对肠易激综合征患者血清白介素-8 和肿瘤坏死因子- α 水平的的影响及疗效观察[J]. 药物流行病学杂志,2014,23(6):353.
- [4] 赵娅,刘飞,古远云,等. 类胰蛋白酶与 2 型糖尿病心肌病发病机制[J]. 重庆医科大学学报,2015,40(7):997.
- [5] 陈晓,王启之,梁冰,等. Toll 样受体 4、肿瘤坏死因子- α 在溃疡性结肠炎大鼠结肠组织中的表达及意义[J]. 蚌埠医学院学报,2013,38(2):134.
- [6] 杜薇薇,李冀,王玉来,等. 五味子散与四神丸对脾虚泄泻大鼠分泌型 IgA 白介素-2 含量影响的配伍比较研究[J]. 中华中医药学刊,2009,27(10):2189.
- [7] 黄逸婷,张梅. 白介素-2 和白介素-2 受体的调控在自身免疫性疾病和器官移植中的作用[J]. 免疫学杂志,2017,33(10):911.
- [8] 赵凯科,郑立,毛智斌,等. 水通道蛋白与胃肠道疾病关系研究进展[J]. 动物医学进展,2016,37(1):77.
- [9] GOODWIN L, WHITE PD, HOTOPF M, et al. Life course study of the etiology of self-reported irritable bowel syndrome in the 1958 British birth cohort[J]. Psychosom Med,2013,75(2):202.
- [10] 李姿慧. 健脾化湿法对脾虚湿困型溃疡性结肠炎大鼠水通道蛋白 3、4 表达的影响及机制研究[D]. 北京:北京中医药大学,2012.

(本文编辑 卢玉清)