

氧化应激在糖代谢紊乱中的作用

叶于薇 仲伟鉴 董妙珠 张荣泉

(上海市卫生防疫站, 上海 200336)

摘要: 为探讨氧化应激和糖尿病发生/发展的相互关系, 由四氧嘧啶诱导建立糖尿病大鼠模型, 进行抗氧化干预。动物经此化学诱导剂处理后, 血糖/血脂和硫代巴比妥酸反应产物(TBARs)升高, SOD降低, 再经抗氧化干预, 即可发生逆转恢复。试验结果表明糖/脂代谢调节和氧化应激密切相关。

关键词: 糖尿病, 实验性; 自由基; 氧化性应激

中图分类号: O621.25⁺4.1 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2000)01-0008-03

一般认为糖尿病是由于绝对或相对胰岛素分泌不足引起的糖、蛋白质、脂肪等代谢紊乱, 特征为血糖过高、糖尿、葡萄糖耐量减低及胰岛素释放异常。旷日持久的高血糖又将成为一些慢性并发症的病理、生理基础。事实上, 糖尿病及其并发症的发病机理十分复杂, 至今尚未完全阐明。近年来, 将氧化应激(Oxidative stress)和糖尿病及其并发症的复杂病理机制联系在一起,^[1,2] 颇受注意。本文试图通过用含有复合抗氧化组份的保健食品对四氧嘧啶诱导的糖尿病大鼠进行干预试验, 探讨其氧化应激和糖尿病发生/发展的相互关系。

1 材料和方法

动物 Wistar 大白鼠, 雄性, 体重 120~150 g。

试剂 四氧嘧啶(Alloxan)、黄嘌呤氧化酶, 均为 Sigma 公司产品; TBA, Merck 公司产品; 其余均为国产试剂。

TSP 全复合抗氧化组份的某保健食品。

造模及抗氧化干预 大鼠空腹 8 h 后, 按 Alloxan 200 mg/kg BW(ip)造模, 模型造成后, 选择 FBG(空腹血糖) > 10 mmol/L 者分组进行试验, 干预组分设低、中、高 3 个 TSP 剂量, 分别为 30、300、900 mg/kg BW。连续喂饲 2 周后, 内眦取血, 分离血清, 测定以下指标。

血糖测定 采用 Johnson 微型血糖仪(II型)测定。

血脂测定 甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)和高密度脂蛋白(HDL)均采用 Meric Alize 型自动生化仪及其 kit 测定。

SOD 测定 按 Yanagni 法测定。^[3]

TBARs 测定 按 Yagi K 法测定,^[4] 反应产物以 MDA(丙二醛)定量。

统计分析 数据用 $\bar{x} \pm SD$ 表示, 统计分析用 SAS 软件包处理。

表 1 TSP 对糖尿病大鼠 FBG 的影响

组别	动物数 只	FBG mmol/L
模型对照	10	27.6 ± 2.6
正常对照	10	5.6 ± 0.9
低剂量	10	25.2 ± 4.2
中剂量	10	23.9 ± 4.1 ⁽¹⁾
高剂量	10	21.4 ± 2.4 ⁽¹⁾

注: (1) 与模型对照组比较 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 TSP 对于实验性糖尿病大鼠 FBG 的影响(表 1) 大鼠经四氧嘧啶诱导后, 空腹血糖(FBG)值显著高于正常对照组(高血糖模型对照组 FBG 几乎为正常对照组的 5 倍)。但经 TSP 喂饲 2 周后, 各实验组 FBG 值均有不同程度的下降, 并显示一定剂量的剂量-效应关系; 中、高二剂量组与模型对照组相比, 具有显著性差异 ($P < 0.05$)。

2.2 TSP 对于实验性糖尿病大鼠血脂的影响(表 2) 高血糖模型对照组甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)和动脉粥样硬化指数(AI) 3 项指标均显著高于正常对照组; 经喂饲 TSP 2 周后, 各实验组上述 3 项指标均随剂量增加而降低, 并接近恢复至正常水平, 与高血糖模型对照组比较, 具有显著性差异。

表2 TSP 对于实验性糖尿病大鼠血脂的影响

组别	动物数 只	TG mmol/L	TC mmol/L	HDL mmol/L	HDL/TC	AI ⁽²⁾
正常对照	10	1.12 ± 0.22	2.85 ± 0.61	1.31 ± 0.19	0.48 ± 0.11	1.19 ± 0.46
高血糖模型	10	2.02 ± 0.83	3.98 ± 1.13	1.24 ± 0.08	0.33 ± 0.09	2.22 ± 0.95
低剂量	10	1.20 ± 0.18 ⁽¹⁾	3.02 ± 0.23 ⁽¹⁾	1.14 ± 0.08	0.38 ± 0.05	1.66 ± 0.32 ⁽¹⁾
中剂量	10	1.18 ± 0.25 ⁽¹⁾	3.18 ± 0.50 ⁽¹⁾	1.32 ± 0.25	0.43 ± 0.12	1.48 ± 0.55 ⁽¹⁾
高剂量	10	1.00 ± 0.22 ⁽¹⁾	2.80 ± 0.57 ⁽¹⁾	1.22 ± 0.11	0.45 ± 0.08	1.29 ± 0.39 ⁽¹⁾

注(1)与高血糖模型组相比 $P < 0.05$ (2) AI(动脉粥样硬化指数) = $\frac{TC-HDL}{HDL}$

2.3 TSP 对于实验性糖尿病大鼠自由基代谢的影响(表3) 由表3可见,与正常对照组比较,高血糖模型对照组血清SOD显著降低,巴比妥酸反应产物(MDA)显著增高。但经TSP喂饲2周后,各实验组SOD随剂量增加而升高;而MDA值随剂量增加而降低。

表3 TSP 对于实验性糖尿病大鼠自由基代谢的影响

组别	动物数 只	SOD $\mu\text{g}/\text{mL}$	MDA nmol/mL
正常对照	10	30.74 ± 1.66	3.49 ± 1.15
高血糖模型	10	19.43 ± 1.83	12.24 ± 3.08
低剂量	10	24.06 ± 1.70 ⁽¹⁾	5.29 ± 1.37 ⁽¹⁾
中剂量	10	25.99 ± 2.71 ⁽¹⁾	4.23 ± 0.71 ⁽¹⁾
高剂量	10	26.62 ± 3.25 ⁽¹⁾	4.16 ± 1.27 ⁽¹⁾

注:(1)与高血糖模型组相比 $P < 0.05$

3 讨论

四氧嘧啶现已广泛用于糖尿病动物模型的建立。这种模型具有以下优点:1、近似人类糖尿病,2、胰岛外分泌部不受损伤影响,3、 β 细胞功能仅是不同程度的降低,不是丧失,有利于胰岛组织再生和功能修复。

本实验结果说明,大鼠经四氧嘧啶诱导后,胰岛 β 细胞损伤,分泌功能降低,因而糖元合成和脂类生成作用受阻,血糖、血脂和动脉粥样硬化指数升高,同时,主要抗氧化酶类——血清SOD降低,外周组织膜脂蛋白代谢末端产物——TBARs(或脂质过氧

表4 参数相关性分析

	AI	HDL/TC	MDA	SOD	TC	TG
GLU	r 0.3449	- 0.36605	0.50510	- 0.66793	0.29178	0.36605
	P 0.0142	0.0089	0.0002	0.0001	0.0398	0.0381
TG	r 0.67306	- 0.50314	0.60094	- 0.52391	0.62257	
	P 0.0001	0.0002	0.0001	0.0001	0.0001	
TC	r 0.91305	- 0.78109	0.51334	- 0.45337	-	
	P 0.0001	0.0001	0.0001	0.0009		
AI	r -	- 0.92229	0.46306	- 0.48476	0.91305	
	P	0.0001	0.0007	0.0004	0.0001	

化产物)升高,MDA/SOD比值增加。说明糖尿病大鼠抗氧化防御体系受抑制,自由基产生率大于清除率,氧化应激增强,^[5]这与糖尿病患者体内变化相一致。^[2,6]

动物I型糖尿病可由化学剂或免疫剂轰击胰 β 细胞中建立,在这二种情况下,都产生活性氧,并在杀伤 β 细胞中起到重要作用。四氧嘧啶易于还原成dialuric acid(5-羟巴比妥酸)。用ESR(电子自旋共振)和化学发光方法证明在还原剂、过渡金属存在下,无细胞或 β 细胞的离体实验中,^[6,7]通过5-羟巴比妥酸的自氧化,产生 O_2^- 、 H_2O_2 ,继而由Haber-Weiss反应转化成 $\cdot OH$,攻击损伤 β 细胞。 β 细胞之所以易受 $\cdot OH$ 攻击损伤,是由于这种细胞总抗氧化能力特别低下。氧化应激在糖尿病发病中的作用是肯定的。由自由基介导的四氧嘧啶致糖尿病发生发展过程中,体内自由基总产生率高于其清除率,加重了氧化应激。

本文结果显示用复合抗氧化剂TSP干预后,上述观察指标产生逆转缓解。这些变化经相关性分析后发现,血糖与血脂、AI和TBARs正相关;血糖和SOD是负相关(表4)。由此可见糖/脂代谢调节和氧化应激密切相关。

参考文献:

- [1] Kowluru, RA, et al. Abnormalities of retinal metabolism in diabetes[J]. Free Radical Biol& Med, 1997, 22(4): 587~ 592
- [2] Baynes, JW. Perspectives in diabetes[J]. Diabetes, 1991, 40: 405~ 411
- [3] Yanagui Y. Preevaluation of assay methods for superoxides dismutase activity[J]. Anal Biochem, 1986, 146: 290~ 296
- [4] Kunio Yagi. Assay for blood plasma or serum[J]. Methods in Enzymology V, 1984, 105: 328~ 331
- [5] Pigeolet E. et al. GSHPx, SOD and CAT inactivation by peroxides and oxygen derived free radicals[J]. Mech Ageing Dev. 1990, 50: 283~ 297
- [6] Oberley, LW. Free radicals and diabetes[J]. Free Radical Biol and Med. 1988, 5: 13~ 24
- [7] Dulin, WI, et al. Experimental and spontaneous diabetes in animals[J]. In: Ellenbeig M eds, Diabetes Mellitus, Theory and Practice, New Hyde Park; Medical Examinations Publ, 1983, 361
- [8] Jenmings, PE. The relationship of oxidative stress to thrombotic tendency in type I diabetic patients with diabetic retinopathy[J]. Diabetic Med. 1992, 87: 860~ 865

Effect of oxidative stress on saccharometabolism disorder/ Ye Yuwei Zhong Weijian Dong Miao Zhu et al// Chinese Journal of Food Hygiene. – 2000, 12(1): 8~ 10

In the study on the relationship between oxidative stress and development of diabetes mellitus, the diabetes mellitus model of mice was provided. The sugar, fat and thiobarbituric acid reactants in blood of wistar rats were increased, and superoxide dismutase decreased, after given alloxan. The results of intervention of TSP on diabetes mellitus model of mice presents the recovering action. It indicated that oxidative stress was closely related with saccharometabolism and lipometabolism.

Author's address Ye Yuwei, Shanghai Health and Anti- epidemic Station, 200336 PRC.

Key words Diabetes Mellitus, Experimental Free Radicals Oxidative Stress Rats, Wistar

摘要撰写要求

摘要一般包括 4 项内容: 1. 所报道的工作的目的。2. 为达到该目的所应用的理论、原理、条件、对象、材料、手段、方法。3. 通过这种方法所得的结果、效果。4. 根据结果进行分析、研究、比较, 做出结论以及今后的设想、建议、预测。尽管如此, 并不是要求每篇摘要都对以上内容面面俱到。要排除在本学科领域已成为常识的内容。作者应能使读者通过读摘要就能掌握该文的主要思想或数据, 以便让读者判断是否需要仔细阅读该文。

对于研究报告、试验报告一般采用报道性摘要形式, 如果目的显而易见, 或从文章标题上就能看出, 可以不写目的。如果试验时间、地点反映结果的可靠性, 在摘要中要注明时间、地点。要写出试验中起重要作用的有关材料或辅助材料。对常用的方法可以一笔带过甚至不提, 但如是关于方法的文章要对重要的、关键的、有独创性的部分摘其重点或关键简要论述。结果要选择最重要、最能说明试验研究目的的结果。如有数据要包括进去。如果结果太多不能全部选入, 首先要选择那些新的、经过验证的或有长久价值的结果、重要的发现和以前的理论相矛盾的结果、作者了解的与实际问题有关的部分。

管理方面的文章最好使用报道—指示性摘要: 将文章的主要方面写成报道性的, 将文章的次要部分写成指示性的, 概括地说明即可。

应采用“对……进行了研究”、“报告……”、“进行了……调查”等记述方法, 不要用“本文……”、“作者……”等主语。

摘要中一般不用引文。

要采用规范化的名词术语(包括地名、机构名和人名)。商品名需要时应加注学名。缩略语、简称、代号, 除了相邻专业的读者也能清楚理解的外, 在首次出现处必须加以说明。应采用国家颁布的法定计量单位。

摘要的长度一般应是文章长度的 1/10, 如确实需要较长的篇幅, 也不可超过 400 字。