论著

文章编号:1000-5404(2012)11-1114-03

回肠转位术对自发性糖尿病大鼠肝脏脂代谢的影响及其意义

邹 洪,闫洪涛,伍 松,唐均成,郑晓博,崔建峰,石 力,陈 涛,汤礼军 (610083 成都,成都军区总医院全军普通外科中心)

[摘要] **目的** 探讨回肠转位术(ileal transposition,IT)对自发性糖尿病(goto-kakizaki, GK)大鼠肝脏脂代谢的影响及意义。**方法** 20只GK大鼠按随机数字表法分为手术组与假手术组,每组10只。手术组行回肠转位术,假手术组行末端回肠离断后原位吻合术。分别于术前,术后1、2、4周动态检测2组大鼠血液中空腹血糖、口服葡萄糖耐量试验(OGTT)2 h血糖,于术前及术后4周测定大鼠血液中空腹胰高血糖素样肽-1(glucagon-like-peptide-1,GLP-1)、游离脂肪酸(free fatty acids,FFA)、胆固醇(total cholesterol, Tch)、甘油三酯(triglyceride, TG),于术中及术后第4周获取大鼠肝脏组织行免疫组化油红O染色,观察肝脏TG沉积情况并用图形图像处理器计算平均灰阶值。**结果** 手术组术后空腹及OGTT 2 h血糖值均呈明显的下降趋势,至术后第2、4周时其血糖值显著低于术前($P<0.05$);假手术组手术前后空腹及OGTT 2 h血糖值无显著变化($P>0.05$)。术后第4周,手术组大鼠血液中GLP-1含量较术前显著增加($P<0.05$),FFA较术前显著降低($P<0.05$),TG及Tch手术前后无明显变化($P>0.05$);假手术组此3个指标无显著差异($P>0.05$)。手术组术后第4周肝脏组织切片内TG沉积现象明显比术前改善($P<0.05$),假手术组变化不明显($P>0.05$)。**结论** 回肠转位术能显著降低GK大鼠的血糖,其可能机制是手术后通过改善肝脏脂质代谢,食物过早刺激末端回肠,引起GLP-1分泌的增加,使胰岛素抵抗得到缓解。

[关键词] 2型糖尿病;回肠转位术;GK大鼠;脂代谢
[中图法分类号] Q591.5; R581; R659.6 [文献标志码] A

Effect of ileal transposition on lipid metabolism in liver of goto-kakizaki rats and its significance

Zou Hong, Yan Hongtao, Wu Song, Tang Juncheng, Zheng Xiaobo, Cui Jianfeng, Shi Li, Chen Tao, Tang Lijun (Center of General Surgery, General Hospital of Chengdu Military Command, Chengdu, Sichuan Province, 610083, China)

[**Abstract**] **Objective** To study the effect of ileal transposition (IT) on lipid metabolism in liver of goto-kakizaki (GK) rats. **Methods** Twenty GK rats were randomly divided into operation group and sham operation group according to the random digital representation method. Rats in operation group underwent IT and those in sham operation group underwent *in situ* anastomosis of the distal ileal after transection. Levels of fasting and 2 h OGTT glucose were measured before and 1, 2, 4 weeks after operation, and levels of fasting glucagon-like-peptide-1 (GLP-1), free fatty acids (FFA), total cholesterol (Tch) and triglyceride(TG) were measured 4 weeks before and after operation. Liver tissue samples were taken 4 weeks before and after operation and stained with oil red O. TG sedimentation in liver was observed and its average gray-scale value was calculated with an image and graphic processor. **Results** The fasting and 2 h OGTT glucose levels were significantly lower in operation group 2 and 4 weeks after operation than before operation ($P<0.05$) with no significant difference observed in sham operation group. The GLP-1 level was significantly higher while the FFA level was significantly lower in operation group in 4 weeks after operation than before operation ($P<0.05$). However, no significant difference was observed in TG and Tch level between the two groups before and after operation ($P>0.05$). The TG sedimentation in liver tissue samples was significantly less in operation group 4 weeks after operation than before operation with no significant change observed in sham operation group ($P>0.05$). **Conclusion** IT can significantly reduce the blood glucose level in GK rats by improving the postoperative lipid metabolism in liver, and increasing GLP-1 secretion and alleviating insulin resistance due to the early arrival of food to the terminal ileum.

[**Key words**] type 2 diabetes mellitus; ileal transposition; GK rat; lipid metabolism

Supported by the Key Project of High and New Technology in Clinical Medicine of PLA (2010gxjs040). Corresponding author: Tang Lijun, E-mail: whjtlj@yahoo.com.cn

[基金项目] 全军临床高新技术重大项目(2010gxjs040)
[通信作者] 汤礼军,E-mail: whjtlj@yahoo.com.cn

胃转流术从20世纪80年代开始应用于合并肥胖症的糖尿病患者。研究表明,胃转流术不仅能降低2型糖尿病(T2DM)患者血糖水平,还能够阻止肥胖症和糖耐量受损患者进展为T2DM,并能降低T2DM患者并发症发生率和病死率。随着手术治疗糖尿病研究的逐渐深入,越来越多的新术式不断出现,其中回肠转位术(ileal transposition, IT)和十二指肠空肠短路术(duodenum-jejunal bypass, DJB)治疗T2DM取得了良好的效果[1-4],但对于其机制的认识尚不充分。本研究通过对GK大鼠施行回肠转位术,观察该术式对其肝脏脂代谢的影响及其意义。

1 材料与方法

1.1 动物分组及模型制备

采用8~10周龄的GK大鼠20只(由上海斯莱克实验动物有限公司提供),体质量290~310 g,按随机数字表法分为手术组和假手术组,每组10只。手术组大鼠分离盲肠,距回盲瓣5~15 cm处横断回肠,并取长约10 cm的一节末段回肠,保留其完整的神经及血管;在距Treiz韧带远端5~10 cm处横断空肠,将所选取的回肠节段按顺蠕动方向与空肠两断端分别行对端吻合,残端回肠行端端吻合,缝合系膜裂孔。假手术组分离盲肠,取与手术组相同部位横断肠管,再行原位吻合[3]。

1.2 检测方法

1.2.1 血糖测定 分别于术前及术后1、2、4周获取大鼠眼眶后静脉血,采用血糖仪(OneTouch@ SureStep™美国罗氏公司)动态测定2组大鼠血液中空腹及口服葡萄糖耐量试验(OGTT)2 h后血糖水平。

1.2.2 大鼠Tch、TG、FFA、GLP-1测定 分别于术前及术后4周获取大鼠眼眶后静脉血,采用全自动生化分析仪(Olympus 2AU2700)测定胆固醇(total cholesterol, Tch)、甘油三酯(triglyceride, TG),试剂盒购自北京中生北控生物科技股份有限公司;胰高血糖素样肽-1(Glucagon-like-peptide-1, GLP-1)、游离脂肪酸(free fatty acids, FFA)测定采用ELISA法,试剂盒由上海西唐生物科技有限公司提供。

1.2.3 肝脏组织病理学观察 于术中取其单叶肝脏组织根部结扎及术后4周处死动物剖腹获取大鼠肝脏组织,滤纸吸干后,10%多聚甲醛固定,石蜡包埋,油红O染色,显微镜下观察肝脏组织内TG的沉积情况并用图形图像处理器(MediaCybernetics, Silver Spring, USA. Image-Pro Plus 6.0)计算平均灰阶值。

1.3 统计学分析

应用SPSS 16.0统计软件,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,不同组别不同时相点比较采用重复测量的方差分析,组间两两比较采用LSD检验;组内比较采用配对 t 检验;计数资料比较采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 大鼠手术前后血糖的变化

手术组大鼠术后空腹及OGTT 2 h血糖均呈明显下降的趋势。术后第2、4周空腹血糖值较术前显著下降($t=2.4$、2.7, $P<0.05$),术后第4周OGTT 2 h血糖也较术前显著降低($t=2.6$, $P<0.05$);假手术组各时相的空腹及OGTT 2 h血糖值均无显著变化($P>0.05$)。见表1。

2.2 大鼠手术前后GLP-1、FFA、TG和Tch的变化

手术组大鼠术后4周GLP-1的含量较术前明显增加($t=-5.5$, $P<0.05$),FFA的含量较术前明显降低($t=2.4$, $P<0.05$),TG及Tch的含量较术前均无显著改变($t=0.4$、0.3, $P>0.05$);假手术组术前及术后4周这4个指标均无显著变化($P>0.05$)。见表2。

2.3 肝脏TG沉积情况

免疫组化油红O染色显示手术组术后4周肝脏组织切片内TG沉积现象明显比术前改善[(6.97±1.07) *vs* (23.22±3.98), $t=3.95$, $P<0.05$],假手术组变化不显著[(19.84±3.21) *vs* (22.56±2.38), $t=2.43$, $P>0.05$],见图1。

3 讨论

糖尿病是遍及全球的非传染性慢性疾病之一。据WHO资料统计,目前我国成人糖尿病患者高达9 240万,其中T2DM患者约占93.7%。糖尿病传统的治疗方法包括饮食控制、运动锻炼、口服降糖药及注射胰岛素等,但这些治疗方法很难从本质上治愈糖尿病及阻止其各种并发疾病的发生和发展[5-8]。目前,关于减肥手术治疗T2DM的机制较为一致的认识是肠道神经内分泌学说,并由此产生两种理论:①前肠学说:即胃转流术后减少了"胰岛素抵抗因子"的释放,使患者的

表1 各组大鼠手术前后血糖的变化(mmol/L, $n=10$, $\bar{x} \pm s$)

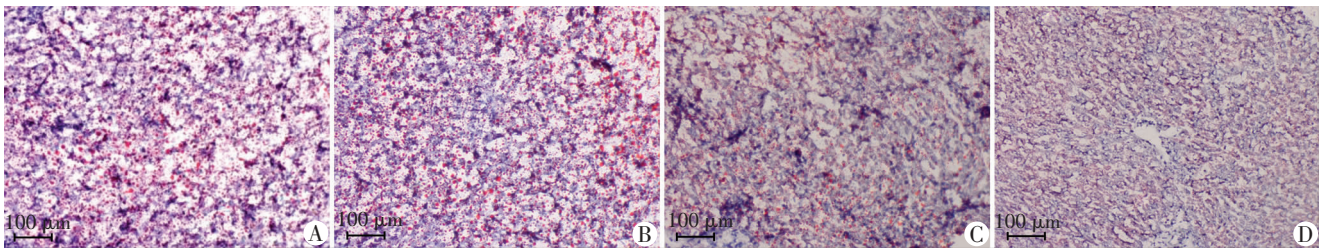
组别	术前		术后1周		术后2周		术后4周	
	空腹	OGTT 2 h	空腹	OGTT 2 h	空腹	OGTT 2 h	空腹	OGTT 2 h
手术组	9.8±2.6	27.3±3.1	9.4±1.6	25.7±3.6	8.7±1.3[a]	26.1±2.8	7.3±2.2[a]	23.6±3.4[a]
假手术组	10.7±2.2	29.0±3.2	9.7±1.7	26.8±2.9	10.1±1.2	26.1±3.1	10.7±2.2	29.1±3.3

a: $P<0.05$,与术前比较

表2 各组大鼠手术前后脂代谢指标的变化($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

组别	GLP-1(pmol/L)		FFA(μmol/L)		TG(mmol/L)		Tch(mmol/L)	
	术前	术后4周	术前	术后4周	术前	术后4周	术前	术后4周
手术组	0.9±0.1	1.1±0.1[a]	204.2±55.6	179.4±32.5[a]	1.0±0.4	0.8±0.3	3.1±0.7	2.3±0.8
假手术组	0.9±0.1	0.8±0.1	211.5±55.7	208.8±42.3	1.3±0.4	1.1±0.3	2.3±0.2	2.3±0.7

a: $P<0.05$,与术前比较



A:假手术组术前;B:假手术组术后第4周;C:手术组术前;D:手术组术后第4周

图1 2组大鼠术前及术后第4周肝脏TG沉积情况 (油红O染色)

胰岛素抵抗减轻或消失;②后肠学说:胃转流手术使未消化或未完全消化的食物提前进入回肠,在回肠内诱导肠源性内分泌激素合成及分泌增加,这些激素通过肠道-胰岛轴调控胰岛内分泌功能,增加胰岛素的合成及分泌,改善外周组织对胰岛素的敏感性,达到控制血糖的作用[8]。IT术作为一种新的手术方式,将一定长度的末端回肠前移至上段空肠,虽然没有进行胃十二指肠空肠的切除、短路或是旷置,但由于回肠的转位,使得未完全消化或未消化的食物过早到达回、结肠,刺激L细胞分泌GLP-1增加,本实验研究已证实。目前GLP-1是T2DM肠-胰岛素轴中最核心的介导因子已达成共识。在肠黏膜的L细胞中,由前激素转换酶将胰高血糖素原羧基端的肽链序列剪切掉,即形成GLP-1,能促进胰岛素基因的转录、胰岛素的合成和分泌,并可刺激胰岛β细胞的增殖和分化,抑制胰岛β细胞凋亡,增加胰岛β细胞数量。因此,IT术后通过血清中GLP-1水平的增高来促进胰岛素分泌,降低糖脂毒性来促进胰岛素的敏感性,增加胰岛功能和胰岛素的敏感性,降低肝糖异生,增加脂肪组织的氧化,从而达到控制血糖的目的[9-11]。

本研究发现,手术组大鼠术后第1周起空腹和OGTT 2 h血糖水平开始下降,且成一种稳定逐渐下降的趋势,与假手术组比具有显著的差异,说明IT术对T2DM的治疗具有显著的效果。手术组术后第4周血液中GLP-1较术前显著增加,FFA水平较术前显著降低,肝脏组织TG沉积现象与假手术组对比明显改善,表明末段回肠及其黏膜上皮L细胞对于手术治疗糖尿病起着至关重要的作用,并进一步验证了"后肠假说"。本实验还发现,2组大鼠手术前、术后第4周TG及Tch无明显改变,这可能与糖脂毒性有关,即由于长期高水平的TG与葡萄糖竞争,干扰胰岛素在周围组织中与受体结合,在短时间内葡萄糖的氧化及利用障碍未能充分解决[12],所以变化不显著。由此,我们不难推测,IT术可显著改变机体内脂肪组织代谢,也正是由于这些改变,使胰岛素敏感性增加、胰岛细胞功能改善、胰岛素抵抗现象得到缓解,从而使血糖水平逐渐下降,乃是该手术治疗糖尿病的可能机制之一。然而,这些新术式的有效性、安全性、性价比及应用前景仍需进一步研究论证。

参考文献:

[1] Ramos A C, Galvao-Neto M P, de-Souza Y M, *et al*. Laparoscopic duodenal-jejunal exclusion in the treatment of type 2 diabetes mellitus in patients with BMI < 30 kg/m^2 (LBMI)[J]. Obes Surg, 2009, 19(3): 307-312.

[2] DePaula A L, Macedo A L, Mota B R, *et al*. Laparoscopic ileal interposition associated to a diverted sleeve gastrectomy is an effective operation for the treatment of type 2 diabetes mellitus patients with BMI 21-29[J]. Surg Endosc, 2009, 23(6): 1313-1320.

[3] Cummings B P, Strader A D, Stanhope K L, *et al*. Ileal interposition surgery improves glucose and lipid metabolism and delays diabetes onset in the UCD-T2DM rat[J]. Gastroenterology, 2010, 138(7): 2437-2446.

[4] Sloan R C 3rd. Effect of Duodenal-Jejunal Bypass on Skeletal Muscle Insulin Signaling in Goto-Kakizaki Rats[D]. Greenville: East Carolina University, 2009.

[5] Yang W, Lu J, Weng J, *et al*. Prevalence of diabetes among men and women in China[J]. N Engl J Med, 2010, 362(12): 1090-1101.

[6] 谢娜, 张朝军, 兰丁, 等. 2型糖尿病患者行腹腔镜胃转流术后的饮食指导[J]. 第三军医大学学报, 2011, 33(18): 1990, 1994.

[7] Boden G. Obesity, insulin resistance and free fatty acids[J]. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes, 2011, 18(2): 139-143.

[8] 汤礼军, 陈涛, 崔建峰, 等. 胃转流术治疗非肥胖型2型糖尿病的近期疗效[J]. 中华消化外科杂志, 2011, 10(3): 214-216.

[9] 石力, 汤礼军, 陈涛, 等. 胃转流术后2型糖尿病患者氧化应激状态的改变及其意义[J]. 解放军医学杂志, 2011, 36(8): 858-859, 862.

[10] 石力, 汤礼军, 陈涛, 等. 2型糖尿病患者胃转流术后游离脂肪酸的改变及其意义[J]. 中国普通外科杂志, 2011, 20(9): 960-962.

[11] 郑伟, 武波, 白军伟, 等. 回肠间置术对Ⅱ型糖尿病大鼠血糖影响的实验研究[J]. 中国实验诊断学, 2011, 15(9): 1463-1465.

[12] Pories W J, Swanson M S, MacDonald K G, *et al*. Who would have thought it? An operation proves to be the most effective therapy for adult-onset diabetes mellitus[J]. Ann Surg, 1995, 222(3): 339-352.

(**收稿**:2012-01-08;**修回**:2012-02-17)

(编辑 龙 亮)