维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2004)04-0429-04

羟氯喹增加胰岛素抵抗大鼠模型胰岛素敏感性的实验研究

汪志红[1], 张素华[1], 倪银星[2], 吴 静[3], 王继旺[1], 龚俐琳[1]

(1.重庆医科大学临床学院内分泌科 2.第三军医大学大坪医院高血压内分泌科 3.北京大学人民医院内分泌科)

【摘 要】目的:观察羟氯喹对高脂饮食大鼠胰岛素敏感性的影响。方法:高脂大鼠灌服羟氯喹后用正常葡萄糖钳夹试验测定胰岛素敏感性(GIR60-120),并测量血糖、血脂和胰岛素等。结果:(1)高脂喂养4周,大鼠的空腹血糖、胰岛素、血脂、体重均显著增高,胰岛素敏感性下降。(2)服用羟氯喹、罗格列酮和二甲双胍2周后,高脂大鼠的胰岛素敏感性显著改善,GIR60-120值分别为9.3±1.2、11.6±1.4、9.8±1.3、mg·kg-1min-1,服用羟氯喹大鼠的血糖、血脂显著低于服安慰剂的高脂大鼠。结论:(1)高脂喂养法成功地制备了胰岛素抵抗大鼠模型。(2)羟氯喹能增加胰岛素敏感性,其作用与二甲双胍相似,但不及罗格列酮;羟氯喹对血糖、血脂也有一定的改善作用。

【关键词】羟氯喹;罗格列酮;二甲双胍;胰岛素敏感性;胰岛素抵抗

【中国图书分类法分类号】R587.6 【文献标识码】A 【收稿日期】2003-10-24

Experimental study on hydroxychloroquine raised insulin sensitivity in insulin resistance rat models

WANG Zhihong, et al

(*Department of Endocrinology, College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To observe the effects of hydroxychloroquine on insulin sensitivity in high-fat feeding rats. *Methods*: After administrating hydroxychloroquine, the glucose infusion rate (GIR) determined by euglycemic clamp was used to measure the insulin sensitivity, and determining fasting plasma glucose, lipid and insulin. *Results*: (1) In high-fat feeding rats, the GIR60-120 was lower and the fasting plasma glucose, insulin, lipid levels were higher than those in normal feeding rats. (2) Hydroxychloroquine, rosiglitazone and metformin increased insulin sensitivity (the value of GIR60-120 was 9.3±1.2, 11.6±1.4 and 9.8±1.3 mg. kg/min, respectively) in insulin resistance (IR) models. Moreover, the fasting glucose and some plasma lipid indices were improved in the IR rats with hydroxychloroquine administration. *Conclusion*: It is indicated that hydroxychloroquine could raise insulin sensitivity of IR rats with high-fat feeding, which was similar to metfomin but lower than rosiglitazone. In addition, hydroxychloroquine also could improve the glucose and blood lipid of the IR rats in some extent.

【Key words】Hydroxychloroquine; Rosiglitazone; Metformin; Insulin sensitivity; Insulin resistance

研究表明,胰岛素抵抗(IR)是糖尿病、高血压、肥胖症及脂代谢紊乱等心血管高危因素的共同发病基础。因此,缓解IR,提高机体的胰岛素敏感性对这些疾病的治疗和发病前的预防具有极为重要的意义。近年来研究表明羟氯喹可以改善糖尿病患者的血糖、血脂及血浆胰岛素水平[1~4]。为此,我们以高脂饮食喂养法复制的IR大鼠为研究对象,观察羟氯喹是否有改善机体IR的作用,并与目前公认的胰岛素增敏剂罗格列酮、二甲双胍作比较,以进一步探讨该药作为胰岛素增敏剂的可能性。

1 材料和方法

1.1 实验动物

雄性Wistar大鼠50只(重庆医科大学实验动物中心提供),鼠龄21~28天,体重60~100g,随机分成5组。A组:服安慰剂的正常对照大鼠;B组:服安慰剂的IR大鼠;C组:服羟氯喹的IR大鼠;D组:服罗格列酮的IR大鼠;E组:服二甲双胍的IR大鼠。每只大鼠每天摄入热量均为310kJ。正常对照大鼠给予大鼠食用的标准饲料(碳水化合物热卡约占60%,脂肪热卡占11%);其他4组均采用高脂饮食喂养法,所用饲料热卡的59%由脂肪(主要是猪油)提供。大鼠

作者介绍:汪志红(1969-),女,主治医师,硕士,
主要研究方向:糖尿病的病因及发病机制。

基金项目:重庆市卫生局资助(00-2032)

维普资讯 http://www.cqvip.com

采用单笼单只喂养，自由取食和饮水，每天投放足量的新鲜饲料并记录饲料的摄入量，同时观察大便的性状。各组大鼠喂养 42 天，在最后 14 天每天给予羟氯喹(54mg/kg/d)、罗格列酮(0.36mg/kg/d)、二甲双胍(134mg/kg/d)或安慰剂。前 3 种药物碾成粉末并用生理盐水充分溶解，安慰剂组给予相当量的生理盐水。给药方式为强制灌胃，每天 1 次。

1.2 药物

硫酸羟氯喹，上海中西药股份有限公司产品；罗格列酮，葛兰素史克生产；二甲双胍，北京天安制药股份有限公司生产。

1.3 观察指标、检测方法和计算

1.3.1 体重、大便与摄食量。

1.3.2 空腹血糖(FBG)、空腹胰岛素(FINS)和血脂。血糖用强生公司的 One Touch Ⅱ 血糖仪和血糖试纸测定。胰岛素(INS)的测定用放射免疫法(药盒购自中国原子能科学研究院同位素研究所)，血脂的测定用酶学方法，药盒购自北京中生生物工程高技术公司。

1.3.3 胰岛素敏感性的测定 采用高胰岛素－正常血糖钳夹技术[7]测定胰岛素敏感性。各组大鼠喂养 42 天后，禁食、停药 12h 于次晨进行实验。大鼠于空腹称重，戊巴比妥钠(美国 Sigma 公司进口分装)按 60mg/kg 行腹腔麻醉，然后作股静脉、股动脉插管。平衡 20min 后开始输注 INS。INS 浓度为 40mU/ml，输注速度为 1.67mU/(kg·min)，10% 葡萄糖一般从 4～6mg/(kg·min)开始输注。输注开始后，每 5min 经右股动脉取血 1 滴，用血糖仪迅速测出血糖值，并根据血糖值调整葡萄糖输注速度(即葡萄糖输注率，GIR)，使大鼠血糖保持在实验前 FBG ± 0.5mmol/L 的范围内。持续上述过程 120min(从开始输注胰岛素计算)，共采血测定血糖 24 次。并计算 60min 到 120min 的平均葡萄糖输注率(GIR60－120)来反应大鼠胰岛素的敏感性。

1.4 统计学处理

结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间比较用 t 检验，多组间比较采用方差分析和 q 检验。

2 结 果

2.1 各组大鼠摄食量、大便的变化

表 1 各组体重及 GIR60－120 比较

组别	n	基础体重	给药前体重	给药后体重	GIR60－120
A	10	78.50 ± 12.48	167.10 ± 23.56	249.20 ± 32.54☆	12.5 ± 1.5
B	10	76.38 ± 15.96	232.40 ± 32.43*	305.50 ± 37.17*☆	6.7 ± 1.3**
C	10	80.41 ± 13.06	227.98 ± 20.56*	302.40 ± 14.31*☆	9.3 ± 1.2*△
D	10	75.68 ± 18.29	235.68 ± 29.37*	315.89 ± 31.14*☆	11.6 ± 1.4△△▲
E	10	77.56 ± 13.42	229.15 ± 27.72*	247.78 ± 29.86△	9.8 ± 1.3*△

注：与 A 组比较，* $P<0.05$，** $P<0.01$；与 B 组比较，△ $P<0.05$，△△ $P<0.01$；
与 C 组比较，▲ $P<0.05$，▲▲ $P<0.01$；与给药前比较，☆ $P<0.05$，☆☆ $P<0.01$；

表 2 各组血脂浓度的比较(mmol/L，$\bar{x} \pm s$)

组别	n	给药前 TC	给药后 TC	给药前 TG	给药后 TG	给药前 HDL－c	给药后 HDL－c	给药前 LDL－c	给药后 LDL－c
A	10	1.96 ± 0.21	2.02 ± 0.19	0.42 ± 0.11	0.39 ± 0.09	0.95 ± 0.12	0.94 ± 0.11	0.86 ± 0.42	0.91 ± 0.56
B	10	2.65 ± 0.24*	2.58 ± 0.27*	0.81 ± 0.28*	0.95 ± 0.35**	0.62 ± 0.18*	0.57 ± 0.15*	1.59 ± 0.54*	1.68 ± 0.43*
C	10	2.66 ± 0.25**	2.15 ± 0.27☆	0.79 ± 0.27*	0.85 ± 0.26**	0.59 ± 0.16*	0.65 ± 0.14*	1.68 ± 0.46*	1.15 ± 0.61△☆
D	10	2.59 ± 0.30*	2.65 ± 0.32*	0.84 ± 0.30**	0.71 ± 0.31*	0.60 ± 0.14*	0.67 ± 0.16*	1.71 ± 0.39*	1.04 ± 0.43△☆
E	10	2.69 ± 0.59*	2.58 ± 0.28	0.88 ± 0.35**	0.53 ± 0.35*△△▲	0.61 ± 0.12*	0.75 ± 0.20	1.80 ± 0.58*	1.23 ± 0.70☆

注：与 A 组比较，* $P<0.05$，** $P<0.01$；与 B 组比较，△ $P<0.05$，△△ $P<0.01$；
与 C 组比较，▲ $P<0.05$，▲▲ $P<0.01$；与给药前比较，☆ $P<0.05$，☆☆ $P<0.01$；

表 3 各组葡萄糖和胰岛素浓度的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	给药前 FBG(mmol/L)	给药后 FBG(mmol/L)	给药前 FINS(μU/ml)	给药后 FINS(μU/ml)
A	10	4.37 ± 0.43	4.67 ± 0.60	15.68 ± 7.32	16.71 ± 6.04
B	10	5.20 ± 0.44*	5.51 ± 0.53**	34.85 ± 9.12**	32.87 ± 9.68**
C	10	5.39 ± 0.48*	5.13 ± 0.28*△	32.58 ± 6.98**	26.96 ± 7.23*
D	10	5.35 ± 0.61*	5.19 ± 0.36*△	36.13 ± 9.65**	21.08 ± 8.93△☆
E	10	5.29 ± 0.45*	4.80 ± 0.41△△☆	35.72 ± 8.76**	29.36 ± 10.11*

注：与 A 组比较，* $P<0.05$，** $P<0.01$；与 B 组比较，△ $P<0.05$，△△ $P<0.01$；
与 C 组比较，▲ $P<0.05$，▲▲ $P<0.01$；与给药前比较，☆ $P<0.05$，☆☆ $P<0.01$；

维普资讯 http://www.cqvip.com

实验期间,服二甲双胍的 E 组摄食量较其他 4 组明显减少。高脂喂养的 4 组大鼠,其大便较正常对照 A 组稍稀,以 E 组为甚。

2.2 各组大鼠体重及胰岛素敏感性比较(见表 1)

各组大鼠的基础体重均无差异,高脂喂养的 4 组大鼠体重在给药前显著高于 A 组,但 4 组之间无显著性差异。给药后:与正常对照 A 组比较,B、C、D 组的体重明显增加,仅服二甲双胍的 E 组有减少,但无统计学差异;与高脂对照 B 组相比,C、D 组的体重无差异,E 组明显减少;与给药前比较,A、B、C、D 组的体重均显著增加,仅 E 组无明显改变。B、C、E 组的 GIR60 - 120 显著低于 A 组,服罗格列酮的 D 组和 A 组相近。与高脂对照 B 组比较,C、D、E 组的 GIR60 - 120 显著增加,而且 D 组的 GIR60 - 120 较服羟氯喹的 C 组明显增加,C 组和 E 组的 GIR60 - 120 相似。

2.3 各组血脂浓度的变化(见表 2)

高脂喂养的 4 组大鼠在给药前它们的胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL - c)显著高于正常喂养的 A 组,高密度脂蛋白胆固醇(HDL - c)显著低于 A 组,且 4 组之间无显著性差异。给药后:与高脂对照的 B 组相比,C、D 组的 LDL - c,E 组的 TG 显著降低;与服羟氯喹的 C 组比较,E 组的 TG 明显降低;与给药前比较,C 组的 TC、LDL,D 组的 LDL,E 组 TG、LDL 明显降低,A、B 组的血脂指标与治疗前无差异。

2.4 各组血糖和胰岛素的变化(见表 3)

高脂喂养的 4 组大鼠在给药前其 FBG、FINS 值均显著高于正常喂养的 A 组,且 4 组之间无统计学差异。给药后:B、C、D 组的 FBG,B、D、E 组的 FINS 仍显著高于 A 组;与 B 组相比,C、D、E 组的 FBG,D 组的 FINS 明显降低;与给药前比较,E 组的 FBG,D 组的 FINS 明显减少,尽管 C、D 组的 FBG,C、E 组的 FINS 较给药前降低,但无统计学差异。

3 讨 论

IR 是指胰岛素靶组织对胰岛素敏感性和反应性下降,从而导致正常剂量的胰岛素与特异性受体结合以后产生低于正常生物学效应一种状态。引起 IR 的原因有遗传因素和环境因素,据此,用于研究的 IR 大鼠模型主要有三类:即遗传型模型、药物诱导型模型和喂养型模型。其中用高脂肪饮食喂养法制备 IR 大鼠模型具有可靠性高,简便、易行,价格相对较低等优点,被研究者广泛采用[5~7]。本研究中高脂喂养的 B 组、C 组、D 组和 E 组,其给药前的空腹血糖、胰岛素水平、TC、TG、LDL - c、体重、均较正常饲料喂养的 A 组显著增高,HDL - c 显著降低,服用安慰剂的高脂喂养 B 组给药后的 GIR60 - 120 较正常对照组显著降低,提示高脂喂养的大鼠存在肥胖、高血糖、血脂紊乱、高胰岛素血症和胰岛素的敏感性减低,说明用高脂肪喂养法成功地制备了 IR 大鼠模型,与李晨钟等[7]的结果一致。

羟氯喹是一种 4 - 氨基喹啉化合物,主要用于治疗疟疾、类风湿及红斑狼疮的药物,在临床已广泛应用。近年发现伴 DM 的多关节炎或狼疮患者使用羟氯喹后,其血糖、血脂及血浆胰岛素水平明显改善[1~4];有学者对使用胰岛素疗效差的 DM 患者使用该药后,发现血糖及血脂水平明显降低,并且 DM 患者的胰岛素用量减少约 30%;羟氯喹改善机体 IR 的原因尚不明确,多数认为与其抑制胰岛素降解有关[8]。研究显示服用羟氯喹的 IR 大鼠(C 组)的 GIR60 - 120 显著高于服安慰剂的 IR 大鼠,但低于正常对照组。提示羟氯喹对大鼠的 IR 有一定的缓解作用。此外,本研究中,服用羟氯喹的 C 组:给药后的血糖、TC、LDL - c 与给药前相比显著降低,且显著低于服安慰剂的 IR 大鼠;胰岛素水平、体重较给药前及服安慰剂的 IR 大鼠有下降趋势,但无统计学差异,说明羟氯喹对血糖、血脂也有改善作用,同时不影响胰岛素水平和体重。进一步提示羟氯喹能在一定程度上纠正 IR 及 IR 导致的糖、脂代谢紊乱。

二甲双胍改善 IR 的机制主要是通过抑制肝脏的糖异生和糖原分解,促进骨骼肌、脂肪等外周组织对葡萄糖的摄取和利用[9]。体外试验还表明,二甲双胍能促进胰岛素与受体的结合、磷酸化以及酪氨酸激酶的活化;提高糖原合成酶的活性,促进 Glu - 4 及 Glu - 1 的转位[10]。罗格列酮主要通过激活脂肪细胞上的核受体 - 过氧化酶体增殖子活化受体 γ(PPARγ),参与前脂肪细胞的分化以及外周组织胰岛素介导的葡萄糖摄取有关的数种基因的转录调节,从而提高肝脏、骨骼肌和脂肪等靶组织对胰岛素的敏感性,缓解 IR[11]。本研究显示服用二甲双胍和罗格列酮的大鼠,与给药前相比,它们的 GIR60 - 120 显著增加,血糖和 LDL - c 显著降低。此外,服用二甲双胍大鼠的 TG、服用罗格列酮大鼠的胰岛

维普资讯 http://www.cqvip.com

素水平显著降低。提示二甲双胍和罗格列酮均能增加胰岛素的敏感性，改善 IR，与文献报道一致[9~11]。

研究不但显示羟氯喹、二甲双胍和罗格列酮能改善高脂饮食大鼠的 IR，而且还显示出它们对胰岛素敏感性、血糖和血脂紊乱的改善程度和其它作用是不尽相同的。在增加胰岛素敏感性方面，羟氯喹与二甲双胍相似，罗格列酮作用最强(GIR60－120 分别为 9.3±1.2、9.8±1.3、11.6±1.4mg/kg/min)，与服安慰剂的 IR 大鼠(GIR60－120 为 6.7±1.3mg/kg/min)相比，它们的 GIR60－120 均显著增加；但与正常对照大鼠(GIR60－120 为 12.5±1.3mg/kg/min)相比，仅服罗格列酮组的胰岛素敏感性正常对照组接近。在降血糖方面，羟氯喹与罗格列酮相似，二甲双胍最强(给药后血糖分别为 5.13±0.28、5.19±0.36、4.80±0.40mmol/L)，与服安慰剂的 IR 大鼠(血糖 5.51±0.40mmol/L)相比，它们的血糖显著降低，但与正常对照大鼠(血糖 4.67±0.60mmol/L)相比，仅二甲双胍组降低且无统计学差异。在改善脂代谢紊乱方面，羟氯喹、罗格列酮和二甲双胍均有相似的降低 LDL 的作用，只有二甲双胍有显著的降 TG 的作用。对胰岛素的影响方面，只有罗格列酮能显著降低胰岛素水平，羟氯喹和二甲双胍虽然使胰岛素水平有所下降，但缺乏统计学意义。对体重的影响，只有二甲双胍显著降低体重，这可能与二甲双胍使大鼠摄食量减少、大便稀等胃肠道反应有关。

总之，研究显示羟氯喹能增加胰岛素敏感性，其作用与二甲双胍相似，但不及罗格列酮；羟氯喹对血糖、血脂也有一定的改善作用；对体重和胰岛素水平无显著影响，且无明显的胃肠道反应。这表明羟氯喹有缓解 IR 及 IR 导致的糖、脂代谢紊乱的作用，而且与现有的胰岛素增敏剂二甲双胍和罗格列酮有相似的效果，提示羟氯喹有望作为新的胰岛素增敏剂来开发。但其具体的增敏机制不明，与二甲双胍、罗格列酮有何异同，还有待于进一步研究阐明。

参 考 文 献

[1] Shojania K, Koehler BE, Elliott T. Hypoglycemia induced by hydroxychloroquine in a type Ⅱ diabetic treated for polyarthritis[J]. J Rheumatol, 1999; 26(1): 195－196.

[2] Petri M. Hydroxychloroquine used in the Baltimore Lupus Cohort: effects on lipids glucose and thrombosis[J]. Lupus, 1996; 5(1): S16－22.

[3] Powrie JK, Smith GD, Shojaee－Moradie F, et al. Mode of action of chloroquine in patients with non－insulin－dependent diabetes mellitus[J]. Am J Physiol, 1991; 260(6 Pt 1): E897－904.

[4] Quatraro A, Consoli G, Magno M, et al. Hydroxychloroquine in Decompensated, Treatment－Refractory Noninsulin－Dependent Diabetes Mellitus[J]. Ann Intern Med, 1990; 112(9): 678－681.

[5] Pederson O, Kahn CR, Flier JS, et al. High fat feeding cause insulin resistance and a marked decrease in the expression of glucose transporters (Glut－4) in fat cells of rats[J]. Endocrinology, 1991; 129: 771－777.

[6] Storlien LH, Oakes ND, Pan D, et al. Syndromes of insulin resistance in the rat. Inducement by diet and the amelioration with benfluorex[J]. Diabetes, 1993; 42: 457－460.

[7] 李晨钟，张素华，舒昌达，等. 用高脂肪膳食复制胰岛素抵抗大鼠模型[J]. 基础医学与临床，2000; 20(3): 93－95.

[8] Emani J, Pasutto FM, Mercer JR, et al. Inhibition of insulin of metabolism by hydroxychloroquine and its enantiomers in cytosolic fraction of liver homogenates from healthy and diabetic rats[J]. Life Sci, 1999; 64(5): 325－35.

[9] Jeppsen J, Zhou MY, Chen YD, et al. Effect of metformin on postprandial lipidemia in patients with fairly to poorly controlled NIDDM[J]. Diabetes care. 1994; 17(10): 1093－1099.

[10] Bailey CJ, Turner RC. Metformin[J]. N Enl J Med. 1996; 334(9): 574－579.

[11] Saltiel AR, Olefsky J. Thiazolidinediones in the treatment of insulin resistance and type 2 diabetes[J]. Diabetes. 1996; 45(12): 1661－1669.