维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253－3626(2004)05－0615－03

高胰岛素－正葡萄糖钳夹技术的建立

汪志红[1]，李启富[1]，张素华[1]，刘秀容[1]，刘智萍[1]，罗四川[2]，黄健康[1]，何　军[1]

(1.重庆医科大学临床学院内分泌科，重庆　400016；2.重庆市急救中心内科，重庆　400012)

【摘　要】目的：建立高胰岛素－正常葡萄糖钳夹技术。方法：应用高胰岛素－正常葡萄糖钳夹技术对 8 例正常体重、正常糖耐量者进行了方法学的研究。结果：在优势胰岛素浓度、血浆葡萄糖浓度稳定在正常空腹水平状态下，内源性胰岛素释放和肝糖产生被抑制，升糖激素(皮质醇、生长激素、胰高糖素)无明显增高。(2)在高胰岛素－正常葡萄糖钳夹稳态期，葡萄糖利用率为 9.25±0.25mg/(kg.min)。结论：高胰岛素－正常葡萄糖钳夹技术已成功建立。在外源性胰岛素－葡萄糖代谢的稳定状态下，机体葡萄糖利用率显著增加。

【关键词】高胰岛素－正葡萄糖钳夹技术；胰岛素抵抗；胰岛素敏感性

【中国图书分类法分类号】R587.1　　【文献标识码】A　　【收稿日期】2003－10－24

Establishment of hyperinsulinemic euglycemic clamp technique

WANG Zhihong, et al

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

【Abstract】*Objective*: To establish a hyperinsulinemic euglycemic clamp technique for the study of insulin sensitivity in Chinese. *Methods*: A hyperinsulinemic euglycemic clamp technique was used to the study of methodology in 8 normal weight subjects with normal glucose tolerance. *Results*: (1)When a higher level of insulin was created during maintaining fasting euglycemia, the secretion of endogenous insulin and hepatic glucose production were completely inhibited. The secretion of counter－regulatory hormones(cortisol, growth hormone and glucagon) was not significantly stimulated.. (2)During the steady－state of hyperinsulinemic euglycemic clamp, the glucose disposal rate was 9.25±0.25mg/(kg.min) *Conclusion*: The hyperinsulinemic euglycemic clamp technique was established successfully in Chinese. During the steady－state of exogenous insulin and glucose metabolism, glucose utilization increased.

【Key words】Hyperinsulinemic euglycemic clamp technique; Insulin resistance; Insulin sensitivity

众多研究表明，胰岛素抵抗(IR)和胰岛 B 细胞功能缺陷是 2 型糖尿病发病和病程中的两个重要环节。此外，IR 还是代谢综合征的基础障碍，与高血压、肥胖症、血脂紊乱和动脉粥样硬化等均有密切联系。因此 IR 及相关机制的研究成为学者们研究的热点问题。在众多评估 IR 的方法和指标中，高胰岛素－正葡萄糖钳夹技术是目前国内外公认的评价胰岛素抵抗(IR)的金标准[1~3]，这种测定技术具有准确定量和重复性好等优点。但由于方法复杂、价格昂贵且费时，对操作人员要求较高，国内开展此技术者甚少。因此建立和开展高胰岛素－正葡萄糖钳夹技术对于研究中国人不同病理生理状态下的 IR 程度和防治措施的机制具有重要意义。

1　对象和方法

1.1　研究对象

8 例正常人。其中男性 4 例，女性 4 例，平均年龄 45±3.4 岁。所有研究对象体重指数正常，无糖尿病家族史，也无糖尿病、糖耐量减退及肝、肾疾病，未使用影响胰岛素敏感性的药物。试验前 3 天，受试对象每日至少进食 200g 以上碳水化合物饮食，维持体重正常。试验前将试验的性质、目的以及可能产生的不良反应告知受试对象，同时填写知情同意书。

1.2　研究方法

所有受试对象空腹 12h，早晨 8 点到实验室，测定身高、体重、腰围及臀围，并排空小便后仰卧。分别在双前臂静脉或正中静脉穿刺并留置导管，以 0.9% NaCl 液维持通道，以备抽血及输注胰岛素、葡萄糖。整个试验是在受试对象清醒

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(03－2080)

维普资讯 http://www.cqvip.com

安静状态下进行,共 3h。

1.2.1 高胰岛素－正常葡萄糖钳夹(共 150min)技术 在－30、－15、0min 分别抽取基础血样,并将一侧前臂置于恒温仪中(温度 50℃)以保证静脉血动脉化[4]。钳夹试验开始 10min 内输入人胰岛素溶液(美国礼来公司常规优泌林 40U/ml)使血中胰岛素水平迅速提高。随后 140min 内以 40mU/(m^2.min)速率持续输注。在此期间每 5min 测定一次动脉化的静脉血浆葡萄糖(葡萄糖氧化酶法,德国内卡公司的快速血糖检测仪),输注并调整 20% 葡萄糖液输注率,使钳夹血糖接近正常空腹血糖值,通常设置在 80～100mg/dl(4.4～5.5mmol),并记录调整时间。钳夹期间每 10min 取血测定胰岛素(放免法,药盒购自中国原子能科学研究院同位素研究所),每 30min 取血测定 C 肽、皮质醇、生长激素和胰升糖素(放免法,美国 DPC 产品)。所有血样均经离心分离血清或血浆,－80℃保存至测定。

1.2.2 收集试验期间的尿标本,测定尿糖(葡萄糖氧化酶法,德国内卡公司快速血糖检测仪),以监测尿糖浓度。

1.3 计算方法

1.3.1 计算钳夹过程每 10min 的平均葡萄糖利用率、机体总葡萄糖利用率(钳夹开始 40～150min 的平均葡萄糖利用率)和机体最大的葡萄糖利用率(钳夹稳态期:一般指钳夹 120～150min)。

1.3.2 计算血糖的变异系数 先求出每个受试对象 33 次血糖值的均数($\bar{x}$)和标准差(s),再按 X/SD 计算变异系数,单位%。

1.4 统计学处理

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。基础状态与钳夹稳态期比较采用配对 t 检验。如数据不呈正态分布,则进行对数转换后再计算。

2 结 果

2.1 高胰岛素－正常葡萄糖钳夹技术的建立

2.1.1 外源性胰岛素－葡萄糖代谢平衡状态形成(图 1)

2.1.1.1 血清胰岛素水平 基础胰岛素水平为 11.47±2.09mIU/L。高胰岛素－正常葡萄糖钳夹开始后,血清胰岛素水平迅速升高,在 10min 达到高峰,为 131.13±12.13mIU/L,随后维持在 88.5±8.07mIU/L 水平至钳夹结束。

2.1.1.2 血浆葡萄糖水平 基础状态为 5.28±0.09mmol/L,在高胰岛素－正常葡萄糖钳夹的整个过程中,血糖始线稳定在 5.21±0.06mmol/L,与基础状态无显著性差异。

2.1.1.3 内源性胰岛素分泌 基础 C 肽 2.26±0.29μg/L,在整个钳夹过程中 C 肽为 2.06±0.16μg/L,并且各个时点的 C 肽值与基础状态相比,无显著性差异,且有下降趋势。

2.1.1.4 升糖激素水平的变化 钳夹稳态期与基础状态相比较,血皮质醇、生长激素、胰高糖素的水平无显著性差异。

2.2 高胰岛素－正常葡萄糖钳夹状态下的葡萄糖代谢变化(图 2)

2.2.1 高胰岛素－正常葡萄糖钳夹 40min 内,葡萄糖输注率上升较快,达到 7.32±0.53mg/(kg.min),此后上升趋于平缓,在 120min 达到稳定状态。

2.2.2 40～150min 平均葡萄糖输注率约 8.05±0.27mg/(kg.min)。

2.2.3 稳态期葡萄糖输注率为 9.25±0.25mg/(kg.min)。

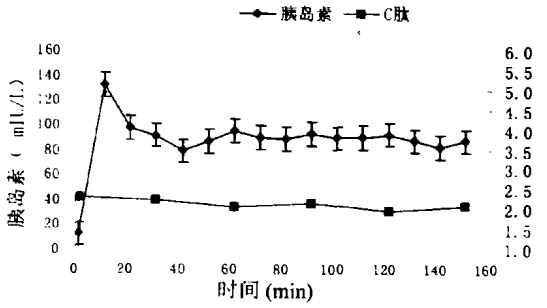


图 1 血胰岛素,C 肽曲线

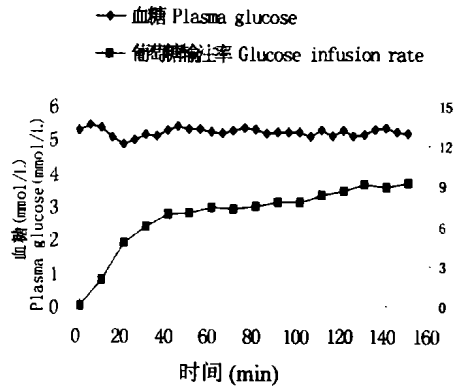


图 2 血浆葡萄糖水平及葡萄糖输注率曲线

3 讨 论

IR 是指正常剂量的胰岛素与特异性受体结合后产生低于正常生物学效应的一种状态。目前,评价胰岛素敏感性的指标和方法有:空腹血浆胰岛素;空腹血浆胰岛素的倒数;空腹血糖与空腹胰岛素的比值;空腹血糖;空腹胰岛素与空腹血糖乘积的倒数;口服葡萄糖耐量试验中葡萄糖、胰岛素曲线下的

维普资讯 http://www.cqvip.com

面积比;稳态模型(HOMA－IR);胰岛素耐量试验;静脉葡萄糖耐量试验;胰岛素抑制试验;微小模型等[5]。但得到公认的是 DeFronzo 于 1979 年建立的高胰岛素－正常血糖钳夹技术。该方法是在胰岛素－葡萄糖代谢平衡状态下精确测定组织对胰岛素的敏感性。其原理是在空腹状态下,葡萄糖的产生率等于葡萄糖的利用率。给予胰岛素后,葡萄糖的利用率大于葡萄糖的产生率使血糖下降。为了使血糖恒定,应输注葡萄糖,其数量等于增大的葡萄糖利用率和下降的葡萄糖产生率。有研究发现[6,7],正常人群在正糖钳夹过程中,血浆胰岛素浓度达到 50mIU/L 以上,几乎能完全抑制肝糖的产生,此时葡萄糖输注率等于葡萄糖的利用率,即葡萄糖输注率可作为评价外周组织对胰岛素敏感性的指标。

评价高胰岛素－正葡萄糖钳夹技术是否成功建立的指标包括[1]:(1)当血胰岛素达到优势浓度时,血糖钳夹在正常血糖状态并保持稳定。(2)内源性胰岛素完全被抑制。(3)升糖激素无明显释放。(4)肝糖产生被抑制。

研究严格按照 DeFronzo 的经典钳夹技术[1]进行,结果显示:(1)胰岛素的高峰浓度在 10min,达 131.13±12.13mIU/L;随后维持在 88.5±8.07mIU/L,形成了稳定的优势胰岛素状态。而且与 DeFronzo 的结果相似。(2)血糖钳夹在 5.21±0.06mmol/L,与空腹血糖无差异,且葡萄糖的变异系数为 5.03±0.12%。(3)血 C 肽低于空腹值,提示内源性胰岛素完全被抑制,即血胰岛素浓度完全由外源性胰岛素提供。(4)血皮质醇、生长激素、胰高糖素等升糖激素无升高,表明钳夹过程中无低血糖发生。国内贾伟平等[8]通过扩展高胰岛素－正葡萄糖钳夹的研究发现:当胰岛素高峰浓度为 93.14±12.45mIU/L,维持浓度在 63.00±4.86mIU/L 时,肝糖的产生完全被抑制。本研究胰岛素的高峰浓度及维持浓度均高于前者,因此我们认为本研究中肝糖产生已完全被抑制,在钳夹过程中能排除内源性葡萄糖的影响。上述结果表明高胰岛素－正葡萄糖钳夹钳夹技术已经成功建立,外源性葡萄糖输注率能够评估外周组织对胰岛素的敏感性。

本研究应用高胰岛素－正葡萄糖钳夹技术发现:在高浓度胰岛素作用下,机体的葡萄糖利用率显著增加,40min 时达到 7.32±0.53mg/(kg.min);在 120min 达到稳定状态,稳态期葡萄糖输注率为 9.25±0.25mg/(kg.min),略高于贾伟平等[8]的研究结果(稳态期约为 8.24±0.71mg/(kg.min),可能与本研究胰岛素浓度较高有关。

本研究建立的钳夹技术是通过葡萄糖的输注率来总体评估机体的胰岛素敏感性。如需进一步了解肝脏、骨骼肌、脂肪等靶组织对胰岛素的敏感性,则可以采用正糖钳夹联合放射性同位素示踪技术、间接测热技术以及局部插管法和局部组织活检术[3,9]来测定葡萄糖代谢率、肝糖输出率,同时还可研究胰岛素作用缺陷的发生部位。但由于后者需要特殊的仪器,并且对身体有一定的损伤,故其应用受到极大的限制。高胰岛素－正葡萄糖钳夹技术仍将在 IR 的相关研究中发挥重要作用。

参 考 文 献

[1] DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance [J]. Am J Physiol, 1979; 237(3): E214－223.

[2] Scheen AJ, Lefebvre PJ. Assessment of insulin resistance in vivo: application to the study of type 2 Diabetes[J]. Horm Res, 1992; 38: 19－27.

[3] Seheen AJ, Paquot N, Casfillo MJ, et al. How to measure insulin action in vivo[J]. Diabetes Metab Rev, 1994; 10(2): 151－188.

[4] Abumrad NN, Use of a heated superficial hand vein as an alterlative site for the measurement of amino acid concentration and for the study of glucose and alanine kinetics in man[J]. Metabolism, 1981; 30: 936.

[5] 李秀钧,主编.胰岛素抵抗综合征[M].北京:人民卫生出版社,2001;(1):44－54.

[6] Rizza RA, Mandrino IJ, Gerich JE. Dose－Response characteristics for effects of insulin on production and utilization of glucose in man[J]. Am J Physiol, 1981; 240: E630－639.

[7] DeFronzo RA, Hendler R, Simonson D. Insulin resistance in a prominent feature of insulin－dependent diabetes[J]. Diabetes, 1928; 31: 795－800.

[8] 贾伟平,陈 蕾,项坤三,等.扩展高胰岛素－正葡萄糖钳夹技术的建立[J].中华内分泌代谢杂志,2001·17(10):268－271.

[9] DeFronzo RA, Jacot E, Maeder E, et al. The effect of insulin on the disposal of intraveneous glucose, results from indirect calorimetry and hepatic and femoral venous catheterization [J]. Diabetes, 1981; 30: 1000－1007.