DOI:10.16016/j.1000-5404.1998.04.026

钒酸盐对STZ糖尿病大鼠OGTT和升糖激素的影响

金文胜* 张忠辉 张 平 (第三军医大学附属西南医院内分泌科)重庆,400038

提 要 **目的**:探讨钒酸盐的降糖机制。**方法**:采用管饲法喂饲共2周,观察口服葡萄糖耐量试验(OGTT)、胰岛素释放曲线、胰高血糖素(Glc)、皮质酮(Cor)、体重的变化。**结果**:Va不影响正常大鼠的OGTT和血浆Glc和Cor水平,而抑制体重的增长。Va显著改善STZ糖尿病(DM)大鼠的OGTT,并使升高的Glc和Cor恢复正常,但体重和胰岛素释放曲线无明显变化。**结论**:该剂量的Va可有效地降血糖,纠正DM糖代谢和升糖激素的紊乱,但有影响体重增长的副作用。

关键词 钒酸盐;糖尿病;胰岛素;升糖激素

中图法分类号 R587.1

钒酸盐(Va)的降糖作用已得到广泛的研究[1]。目前动物实验多采用Va稀释液自由饮用的给药方法,存在定量不准、剂量过大、副作用明显等缺点[2],本实验采用定量管饲Va的方法,观察Va对口服葡萄糖耐量试验(Oral glucose tolerance test,OGTT)以及体重和升糖激素的影响。

1 材料和方法

1.1 分组

Wistar大鼠雌雄各半,随机分成如下4组:①正常对照组(C组);②正常管饲Va组(CV组);③糖尿病组(D组);④糖尿病管饲Va组(DV组),每组动物数7~10只。

1.2 模型建立

链脲菌素[(Streptozocin,STZ)Boehringer Mannheim公司]0.1 mol/L柠檬酸钠(pH4.5)稀释,55 mg/kg体重一次性腹腔注射,两周后空腹血糖>16.7 mmol/L者作为糖尿病模型。

1.3 正钒酸钠管饲

CV组和DV组大鼠每日上午9时以20 mg/kg管饲0.4%正钒酸钠(Na_3VO_4,分析纯,北京化工厂)生理盐水(NS)稀释液,持续两周。在C组和D组同时予等量NS管饲。

1.4 体重观测

C组和CV组在管饲开始前和结束后各测体重1次,D组和DV组在STZ注射前、管饲开始前和结束后各测1次体重。

1.5 OGTT和胰岛素释放试验[3]

准备完毕的动物禁食(不禁水)16 h,以2 g/kg体重的剂量管饲50%葡萄糖液,在0、15、30、60、120、180 min 6个时相点断尾取血200μl肝素抗凝,立即分离血浆(3 000 r/min,5 min),血糖采用葡萄糖氧化酶法测定,由保定长城临床试剂公司提供试剂盒;胰岛素用放免法测定,试剂盒由中国原子能科学研究院提供。

1.6 血浆胰高血糖素(Glucagon,Glc)、皮质酮(Corticosteron,Cor)测定

动物禁食16 h后断尾取血,同前法分离血浆。放免法测定Glc和Cor,试剂盒分别由中国原子能科学研究院和中国3V诊断技术公司提供。

2 结果

2.1 钒对正常和DM大鼠体重的影响

C组加饲生理盐水2周后体重为初始的1.2倍($P<0.05$),CV组加饲钒液2周后体重变化不显著($P>0.05$),可见钒能够抑制正常大鼠的体重增长。D组、DV组在STZ注射后2周体重显著下降($P<0.01$),分别为初始体重的77.8%和81.6%;D组饲生理盐水,DV组饲钒液2周后体重有下降趋势,但差异均不显著($P>0.05$)。

2.2 钒对正常和DM大鼠OGTT的影响

CV组与C组相比较,各时相点血糖值差异都不显著($P>0.05$),故钒对正常大鼠OGTT无明显影响;而D组与C组、CV组比较,各时相点血糖值均显著高于这两组($P<0.01$);DV组与D组比较,各时相点血糖值显著下降($P<0.01$);DV组与C组、CV组比较,除"0"时相点血糖值差异不显著($P>0.05$)外,其余5个时相点血糖值均显著增高($P<0.01\sim0.05$),表明钒可以使DM鼠空腹血糖降至正常,但未能使糖负荷后血糖值恢复正常水平,见表1。

* 金文胜,男,28岁,主治医师,硕士,现在广州军区广州总医院老年病三科,广州,510010

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 1 Va 对正常和糖尿病大鼠 OGTT 的影响(C_B/mmol·L^{-1})

Tab 1 Effects of Va on OGTT in normal and diabetic rats (C_B/mmol·L^{-1})

Groups	n	0 min	15 min	30 min	60 min	120 min	180 min
C	7	6.26±0.93	8.39±1.87	8.63±1.87	8.70±1.45	7.50±1.77	6.59±1.75
CV	7	7.11±1.44	9.63±1.34	10.76±1.13	11.00±1.57	7.97±0.94	7.04±0.83
D	7	24.14±4.89△△	35.96±1.45△△	37.53±4.89△△	37.80±13.58△△	26.41±4.54△△	20.17±2.73△△
DV	7	7.3±1.32※※	16.63±6.24※※△△	18.76±5.07※※△△	18.50±5.36※※	14.00±5.09※※△△	9.66±4.32※※△△

△: $P<0.05$, △△: $P<0.01$ *vs* C and CV group; ※※: $P<0.01$ *vs* D group

2.3 钒对正常和 DM 大鼠胰岛素释放的影响

CV 组与 C 组比较,除 15 min 时相点外,其余各点胰岛素释放值差异不明显,表明钒只能降低正常鼠胰岛素释放峰值。DV 组与 D 组比较各时相点值差异不显著,D 组、DV 组与 C 组、CV 组比较各时相点明显降低($P<0.01$);D 组、DV 组胰岛素释放曲线低平,缺乏峰值,钒对其无明显影响,见表 2。

表 2 Va 对正常和糖尿病大鼠胰岛素释放的影响(mU·L^{-1})

Tab 2 Effects of Va on insulin level in normal and diabetic rats (mU·L^{-1})

Groups	n	0 min	15 min	30 min	60 min	120 min	180 min
C	7	14.30±3.47	29.43±9.11	22.58±8.20	19.06±7.67	16.58±5.18	14.75±4.01
CV	7	15.94±6.75	20.22±4.24△△	22.26±4.68	19.54±7.64	13.54±4.15	12.48±2.60
D	7	8.73±2.51※※	8.03±1.83※※	8.00±1.91※※	8.16±1.93※※	7.93±1.83※※	7.65±1.89※※
DV	7	8.91±2.62※※	9.06±3.09※※	8.04±2.92※※	8.17±2.46※※	7.47±0.75※※	7.16±1.65※※

△△: $P<0.01$ *vs* C group; ※※: $P<0.01$ *vs* C and CV groups

2.4 钒对正常和 DM 大鼠血浆 Glc 和 Cor 的影响

CV 组与 C 组的血浆 Glc 和 Cor 水平差异不显著($P>0.05$),表明钒对正常大鼠的 Glc 和 Cor 无明显影响。D 组的 Glc 和 Cor 显著高于 C 组、CV 组($P<0.01$~0.05);DV 组的 Glc 显著低于 D 组($P<0.01$),降低至 C 组水平;而 DV 组 Cor 与 D 组比较虽见降低,但差异不显著($P>0.05$),与 C 组比较亦差异不显著($P>0.05$),结果表明糖尿病大鼠血浆 Glc 和 Cor 均增高,使用钒后使两者均降至正常水平,见表 3。

表 3 钒对大鼠血浆皮质酮和胰高血糖素的影响

Tab 3 Effects of Va on the plasma level of corticosterone and glucagon in rats

Groups	n	Cor(ρ_B/μg·L^{-1})	Glc(ρ_B/ng·L^{-1})
C	7	9.02±3.04	136.95±46.14
CV	7	10.52±1.92	140.54±19.14
D	7	14.69±6.18※	282.05±86.53※※
DV	7	11.70±2.76	135.99±33.54△△

※: $P<0.05$, ※※: $P<0.01$ *vs* C and CV groups; △△: $P<0.01$ *vs* D group

3 讨论

目前研究 Va 降血糖作用多采用 Va 稀释液自由饮用给药,存在剂量不准、偏大、副作用较多等缺点[2],本实验采用管饲法克服了这一缺点。每只鼠每天给药量约(4~5) mg,发现 Va 不改变正常大鼠的 OGTT,而显著地改善糖尿病大鼠的 OGTT,尤其是使空腹血糖达正常水平。

文献[4,5]报道 Va 降低正常动物血浆胰岛素水平,本实验发现 Va 对空腹胰岛素水平无明显影响,但显著抑制糖刺激引起的胰岛素释放峰值。原因可能为 Va 增进了靶组织对胰岛素的敏感性[6],仅需分泌较少的胰岛素就能维持血糖在正常范围;胰岛素释放主要受血糖刺激调节,故糖刺激的胰岛素释放峰值减低。

糖尿病组 OGTT 中各时相点血糖值明显升高,相对应的胰岛素释放值均低,且缺乏峰值分泌,符合 STZ 致 DM 大鼠的特点。糖尿病饲钒(DV)组各时相点胰岛素释放值与 D 组无明显变化,显然 Va 不能刺激糖尿病大鼠的胰岛素分泌,同时表明 DV 组糖代谢的改善不是直接通过胰岛素所介导的。

本实验发现 Va 不改变正常动物血浆胰高血糖素和皮质酮的水平。胰高血糖素和皮质醇是对抗胰岛素的升糖激素,皮质醇为激素的活性形式,然而其半衰期短(皮质醇为 30 min,皮质酮为 100 min)血浆中两种皮质激素的比值为 3∶1,皮质酮亦可转化为皮质醇,故本试验以皮质酮来代表血浆皮质激素的水平。

糖尿病大鼠血浆 Glc 和 Cor 水平明显增高,临床

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

糖尿病也有 Glc 升高的表现，并被归因于胰岛素抵抗(IR)的一个原因或一类型。本实验 Glc 升高可能与胰岛素偏低有关。正常情况下，胰岛素抑制 Glc 的分泌(旁分泌作用)，同时，血糖也是 Glc 释放的强有力的抑制因素，但是葡萄糖抑制 Glc 的分泌是依赖于胰岛素的，当胰岛素缺乏时，α 细胞就不再受葡萄糖的影响[7]。所以糖尿病鼠血浆 Glc 升高可能是由于 α 细胞逃逸了胰岛素和葡萄糖的抑制作用。皮质激素升高的原因可能与 Glc 的变化以及糖代谢的紊乱有关。

本实验在糖尿病大鼠 Va 使高水平 Glc 降低到正常水平，这种效应在正常鼠并不存在，提示 Va 降 Glc 的效应不是对 α 细胞的直接作用[8]。Glc 的正常化与糖代谢紊乱的好转有关，当胰岛素缺乏或 IR 时，周围组织尤其是胰岛素敏感组织出现"糖饥饿"现象，释放一些代谢因子(脂肪酸或其他分子)刺激 Glc 的释放。由此，当 Va 促进周围组织的糖利用，改善"糖饥饿"状态，代谢因子分泌减少，糖供应好转，Glc 的分泌就转归正常。

本实验用钒的剂量能明显阻止正常和 DM 大鼠的体重增长，可能与以下因素有关：①Va 抑制小肠上皮 Na^+-K^+-ATP 酶[4]，从而抑制肠道糖吸收；②通过抑制下丘脑神经肽 Y 的分泌而限制食欲[5]；③降低胰岛素水平使合成代谢减低；④腹泻等副作用减少糖的吸收。有报道用小剂量钒(每天 0.5 mg/鼠)能促合成代谢并增加体重[5]，但其类胰岛素样作用太弱，不能使高血糖得以有效控制，由此进一步研究寻求高效低副作用的钒制剂，才有可能使钒成为临床希望的新药物。

参考文献

1 Shechter Y, Shisheva A. Vanadium salt and the future treatment of diabetes. Endeavour, 1993; 17(1): 27

2 Shechter Y. Insulin-mimetic effect of vanadate: possible implications for future treatment of diabetes. Diabetes, 1990; 39(1): 1

3 Henquin J C, Carton F, Ongemba L N *et al*. Improvement of mild hypoinsulinaemic diabetes in the rat by low non-toxic doses of vanadate. J Endocrinol, 1994; 142(3): 555

4 Madsen K L, Porter V M, Fedorak R N. Oral vanadate reduces Na^+ dependent glucose transport in rat small intestine. Diabetes, 1993; 42(8): 1126

5 Malabu U H, Rryden S, MoCarthy H D *et al*. Effect of chronic vanadate administration in the STZ-induced diabetic rat: The antihyperglycemic action of vanadate is attributable entirely to its supression of feeding. Diabetes, 1994; 43(1): 9

6 Challiss R A, Leighton B, Lozeman F T *et al*. Effect of chronic administration of vanadate to the rat on the sensitivity of glycolysis and glycogen synthesis in skeletal muscle to insulin. Biochem pharmacol, 1987; 36(3): 357

7 池芝盛. 血糖的调节. 见 钟学礼主编. 中华医学百科全书(内分泌代谢病学). 上海：上海科技出版社，1986: 104～105

8 Brichard S M, Ongemba L N, Kolanowski J *et al*. The influence of vanadate on insulin counter-regulatory hormones in obese fa/fa rats. J Endocrinol, 1991; 131(2): 185

(收稿：1997-09-16；修回：1998-06-08)

(编辑　刘　鹏)

The effect of vanadate on OGTT and glucotropic hormones in STZ-diabetic rats

Jin Wensheng, Zhang Zhonghui, Zhang Ping (Department of Endocrinology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038)

Abstract Objective: To investigate the antihyperglycemic effect of vanadate (Va). Methods: We employed tube feeding to introduce sodium vanadate (20 $mg \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$, 2 weeks) into Wistar rats and observed the result of oral glucose tolerance test (OGTT). Insulin secreting curve, body weight and serum levels of glucagon (Glc) and corticosterone (Cor) were determined. Results: This dosage of Va did not exerts significantly influence on OGTT and the serum levels of Glc and Cor but it inhibited body weight increase in normal rats. In diabetic rats, in the contrast, OGTT was improved significantly and the elevated levels of Glc and Cor were normalized, but body weight and insulin secreting curve did not significantly change. Conclusion: Va in the dosage of 20 $mg \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$ for 2 weeks lowers glycemia effectively, normalizes the disorders of glucose homeostasis and hormones, but there is inhibition on body weight increase.

Key words vanadate; diabetes mellitus; insulin; glucotropic hormone

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net