

格列本脲、二甲双胍对 GDM 小鼠糖代谢的影响

余 婷 汪 洋 陈可洋

摘要 目的 探讨格列本脲和二甲双胍对妊娠期糖尿病 (GDM) 小鼠产前、产后在葡萄糖代谢方面的影响。方法 采用链脲佐菌素诱导 C57BL/6J 孕鼠建立 GDM 模型。除 GDM 对照外,分别给予长效胰岛素、格列本脲和二甲双胍治疗。怀孕的第 1 天定义为妊娠日 (GD0),自 GD0 起,每 2 d 测定体质量和空腹血糖。在 GD18,每组各取 8 只安乐死,然后收集肝脏,另 8 只孕鼠继续饲养等待自然分娩。产后 1 周,测定所有小鼠葡萄糖耐量实验 (GTT)、胰岛素耐量实验 (ITT)。产后 5 周,再测定所有小鼠 GTT、ITT。然后将小鼠安乐死收集肝脏。分别检测肝脏中磷酸化蛋白激酶 B (p-AKT)、磷酸化叉头转录因子 O1 (p-FoxO1)、葡萄糖-6-磷酸酶 (G6Pase)、磷酸烯醇式丙酮酸激酶 (PEPCK) 等蛋白的水平。结果 格列本脲和二甲双胍可分别降低 GDM 小鼠产前及产后 1 周空腹血糖 ($P < 0.05$)。与 GDM 对照相比,格列本脲和二甲双胍干预组肝脏中的 p-AKT、p-FoxO1 水平升高 ($P < 0.05$),而 G6Pase、PEPCK 分别降低 ($P < 0.05$)。然而,在产后 5 周 2 种干预对 GDM 小鼠的影响消失。结论 格列本脲或二甲双胍可改善 GDM 小鼠产前及产后 1 周葡萄糖耐量、胰岛素抵抗,但对产后 5 周小鼠的作用消失。

关键词 妊娠期糖尿病; 格列本脲; 二甲双胍; 葡萄糖代谢

中图分类号 R 587.1

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2020)01-0027-07
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.01.006

妊娠期糖尿病 (gestational diabetes mellitus, GDM) 被定义为在妊娠期间发生或首先被识别葡萄糖调节受损,是妊娠期的一种很常见并发症^[1]。临床上除胰岛素之外,GDM 的药物选择十分有限^[2]。格列本脲和二甲双胍治疗 2 型糖尿病均有很好的降糖效果,但它们应用于 GDM 的作用效果和后续影响仍知之甚少^[3]。格列本脲的主要作用是增加胰岛素分泌,从而减少肝脏葡萄糖的产生,间接改善胰岛素敏感性^[4]。而二甲双胍是双胍类药物,

是胰岛素增敏剂^[5]。据报道,二甲双胍可降低肝脏葡萄糖输出并改善胰岛素敏感性^[6]。该研究在孕期对 GDM 小鼠分别使用胰岛素、格列本脲和二甲双胍进行干预,旨在探讨格列本脲、二甲双胍对 GDM 小鼠的治疗效果以及对小鼠产后 1 周和产后 5 周糖代谢的影响。

1 材料与方法

1.1 试剂和仪器 链脲佐菌素 (streptozotocin, STZ)、小鼠抗 β -actin 购自美国 Sigma 公司,STZ 用柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液溶解,配成浓度为 1% 的 STZ 溶液; 盐酸二甲双胍肠溶片购自贵州圣济堂制药有限公司; 格列本脲片购自天津太平洋制药有限公司; 地特胰岛素注射液购自丹麦诺和诺德公司; 兔 Anti-AKT 抗体、兔 Anti-p-AKT (Thr308)、兔 Anti-p-AKT (Ser473)、兔 Anti-FoxO1、兔 Anti-p-FoxO1、兔 Anti-PEPCK 购自 CST 公司; 兔 Anti-G6Pase 购自 Thermo Scientific 公司; 辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG 抗体、辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠 IgG 抗体购自北京中杉金桥生物有限公司。血糖仪、血糖试纸购自美国罗氏公司; 凝胶扫描成像系统 (Fine-do X6 显影仪) 购自上海天能科技有限公司。

1.2 实验动物及其处理 从南京模式动物公司购买 SPF 级 8 周龄 C57BL/6 小鼠并按雌雄分类分别标记,其中雌鼠共 100 只,体质量为 17~20 g,雄鼠共 50 只,体质量为 20~24 g。试验前动物自由进食饮水。小鼠生活环境为 12 h 白/12 h 黑暗的昼夜节律,动物房温度为 $(23 \pm 2)^\circ\text{C}$,相对湿度为 $(50 \pm 5)\%$ 。在上述环境适应 1 周后,按 2:1 雌雄合笼,第 2 天 7:00 对雌鼠进行阴栓检查。查到阴栓的那天定为 GD0,认为小鼠怀孕。怀孕后雌鼠改喂繁殖饲料 (江苏协同生物有限公司),雄鼠依然进食基础饲料。在 GD6、GD7、GD8,怀孕雌鼠禁食 8 h 后,按 40 mg/kg 每天 1 次腹腔内注射配制好的 STZ 溶液,隔 1 d 后,使用尾针刺法测量小鼠空腹血糖, ≥ 11.1 mmol/L 则认为 GDM 模型成功。选取 GDM 模型小鼠 64 只,按照随机数字法分成 4 组 (每组 16 只): 糖尿病对照组 (G)、糖尿病胰岛素组 (GI)、糖尿病格

2019-10-08 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 81570786)

作者单位: 安徽医科大学公共卫生学院,合肥 230032

作者简介: 余 婷,女,硕士研究生;

陈可洋,男,教授,博士生导师,责任作者, E-mail: chenkey-ang@ahmu.edu.cn

列本豚组(GG)、糖尿病二甲双胍组(GM),另选16只正常健康的孕鼠做正常对照组(N)。在GD0、GD2、GD4、GD6、GD8、GD10、GD12、GD14、GD16、GD18(分娩前)检测小鼠体质量和空腹血糖水平。

1.3 药物干预 对于GI组的动物,从GD11至GD18(分娩前)治疗,其由最初皮下注射7~10 U/kg地特胰岛素注射液,并根据需要增加剂量,以确保血糖控制在11.1 mmol/L以下。对GM组的小鼠,使用盐酸二甲双胍肠溶片,剂量为300 mg/kg,用生理盐水溶解,使用前用迷你振荡器混匀后,给小鼠灌胃。从GD11至GD18(分娩前)治疗,并且必要时每天增加剂量以确保血糖控制在11.1 mmol/L以下。对GG组的小鼠,使用格列本脲片,剂量为20 mg/kg,用生理盐水配制成混悬液(格列本脲不易溶于生理盐水),使用前用迷你振荡器混匀后,给小鼠灌胃。从GD11至GD18(分娩前)治疗,并根据需要增加剂量,以确保血糖控制在11.1 mmol/L以下。

1.4 实验动物干预后处理 在GD18时,通过腹腔内注射戊巴比妥钠,每组随机选取8只孕鼠实施安乐死,立即收集肝组织,用液氮快速冷冻固定后储存于-80℃冰箱待用。每组剩余的8只孕鼠继续饲养,直到自然分娩。每周测量1次小鼠体质量和空腹血糖水平。在产后1周和5周,对自然分娩的母鼠施行葡萄糖耐量实验(glucose tolerance test, GTT)、胰岛素耐量实验(insulin tolerance test, ITT)。具体而言,禁食8 h后,通过向腹腔内注射葡萄糖(2 mg/g)进行GTT,并使用血糖仪在注射之前和0.5、1、1.5、2、2.5 h之后通过尾部血液测量血糖浓度。通过将人胰岛素(0.65 mU/g)注射到腹腔内,对禁食4 h的小鼠进行ITT,并在注射之前和20、40、60、80、100、120 min之后通过尾部血液测量血糖浓度。然后在产后5周将母鼠安乐死,立即收集肝组织。肝组织用液氮快速冷冻固定后储存于-80℃冰箱待用。本研究经安徽医科大学动物伦理委员会批准,按照安徽医科大学动物实验规范进行。

1.5 Western blot 检测肝脏组织 AKT、FoxO1、p-AKT、p-FoxO1、G6Pase、PEPCK 的表达 准确称取50 mg肝脏组织,裂解后匀浆取上清液,BCA法进行蛋白定量。SDS-PAGE凝胶电泳分离目的蛋白,使用PVDF膜转膜,一抗(小鼠抗 β -actin、兔Anti-AKT抗体、兔Anti-p-AKT(Thr308)、兔Anti-p-AKT(Ser473)、兔Anti-FoxO1、兔Anti-p-FoxO1、兔Anti-PEPCK、兔Anti-G6Pase)室温孵育2 h或者4℃孵育过夜,二抗室温孵育50 min。显影A、B液1:1配

置后滴至PVDF膜,放入显影仪中进行显影。各条带进行灰度扫描,对各灰度值进行统计分析。

1.6 统计学处理 用SPSS 16.0软件进行统计分析,结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示组间差异有统计学意义。作图软件采用graphpad prism 6。

2 结果

2.1 格列本脲和二甲双胍对GDM小鼠体质量、血糖的影响 GDM造模成功的4组小鼠均表现出各种GDM症状,多食多尿(表现在食物、饮水消耗较快,垫料浸湿也较快)且体质量较轻。而N组则生长状态良好。由图1A可见A组GDM模型小鼠的体质量均比N组小鼠的体质量低($F = 18.65, P < 0.01$)。与G组相比,GI、GG、GM组小鼠的体质量均有增加。如图1B所示,GDM造模成功的4组小鼠的空腹血糖水平在GD10左右达到最大值,在G11开始使用胰岛素、格列本脲和二甲双胍药物干预后,GI、GG、GM组小鼠的空腹血糖水平都表现出了不同程度的下降。与N组相比,G组小鼠的空腹血糖水平从GD8开始升高,为(8.58 ± 0.48) mmol/L,在GD18达到高峰,为(29.60 ± 0.71) mmol/L。与G组比较,GI组、GG组、GM组小鼠的血糖水平在用药后均有降低,差异有统计学意义($F = 419.20, P < 0.01$)。

2.2 格列本脲和二甲双胍对GDM小鼠肝脏中相关蛋白的影响 与G组相比,GI、GG和GM组分别采用胰岛素、格列本脲和二甲双胍3种干预措施,AKT活性增强(p-AKT473和p-AKT308),达到N组水平,差异有统计学意义($F = 42.66, P < 0.01; F = 27.53, P < 0.01$)。见图2A。与G组相比,GI、GG和GM组p-FoxO1与FoxO1的比值升高,差异有统计学意义($F = 105.60, P < 0.01$)。见图2B。Western blot显示,GDM模型小鼠的肝脏中G6Pase和PEPCK蛋白水平增加。而与G组相比,GI、GG和GM组均显示G6Pase和PEPCK蛋白含量降低,差异有统计学意义($F = 57.40, P < 0.01; F = 21.91, P < 0.01$)。见图2C。

2.3 格列本脲和二甲双胍对产后0~5周母鼠体质量、血糖的影响 与N组相比,G组的小鼠体质量降低,而GI、GG和GM组的小鼠体质量减轻得到了缓解($F = 19.73, P < 0.05$)。见图3A。与N组相比,GDM模型小鼠的空腹血糖水平增加($F = 630.10, P < 0.01$)。见图3B。表明经过干预GDM

模型小鼠从产后1周开始血糖水平急剧上升,最终在产后4~5周之后达到与未处理的G组小鼠相同的水平。

2.4 格列本脲和二甲双胍对产后1周母鼠GTT、ITT的影响 GTT和ITT中,GDM小鼠表现出了葡萄糖耐受不良和胰岛素抵抗。见图4A、B。与N组

小鼠相比,在G组中观察到GTT和ITT中更高的血浆葡萄糖浓度-时间曲线(曲线下面积,area under the curve AUC)。随后的胰岛素、格列本脲和二甲双胍治疗分别使GI、GG、GM组中的GTT和ITT的AUC值降低($F = 278.40, P < 0.01$; $F = 642.10, P < 0.01$)。见图4A、B。

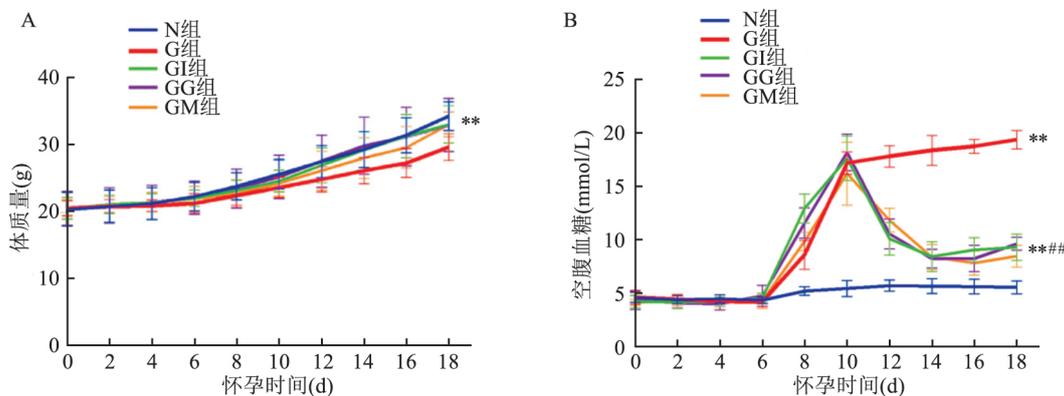


图1 GDM小鼠体质量和血糖的变化

A: GDM小鼠体质量的变化; B: GDM小鼠血糖的变化; 与N组比较: ** $P < 0.01$; 与G组比较: ## $P < 0.01$

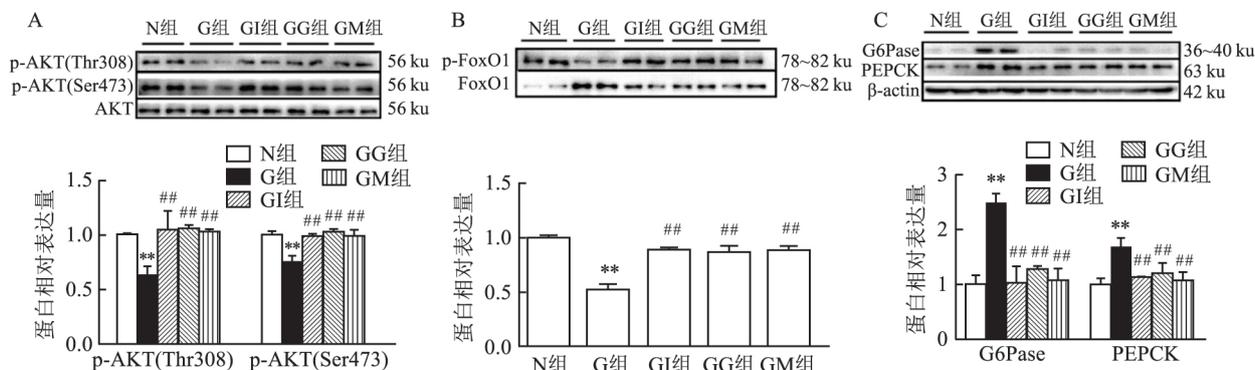


图2 格列本脲和二甲双胍分别干预后GDM小鼠肝脏中各蛋白的水平

A: p-AKT308/AKT和p-AKT473/AKT; B: p-FoxO1/FoxO1; C: G6Pase/β-actin和PEPCK/β-actin; 与N组比较: ** $P < 0.01$; 与G组比较: ## $P < 0.01$

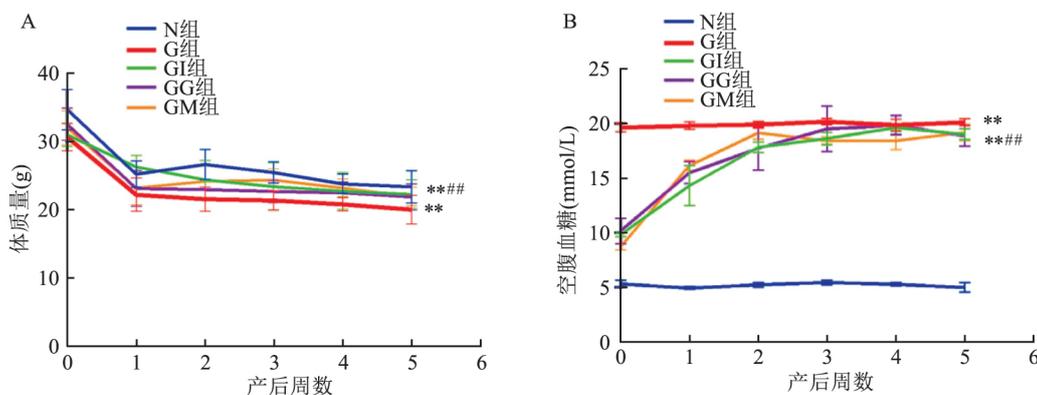


图3 产后母鼠体质量和血糖的变化

A: 产后0~5周母鼠体质量的变化; B: 产后0~5周母鼠血糖的变化; 与N组比较: ** $P < 0.01$; 与G组比较: ## $P < 0.01$

2.5 格列本脲和二甲双胍对产后5周母鼠GTT、ITT的影响 在GTT中,与N组小鼠相比,G、GI、GG、GM组中均观察到更高的AUC,差异有统计学意义($F =$

339.30 $P < 0.01$)。见图5A。与N组小鼠相比,在G、GI、GG、GM组中均观察到ITT中更高的AUC,差异有统计学意义($F = 105.90 P < 0.01$)。见图5B。

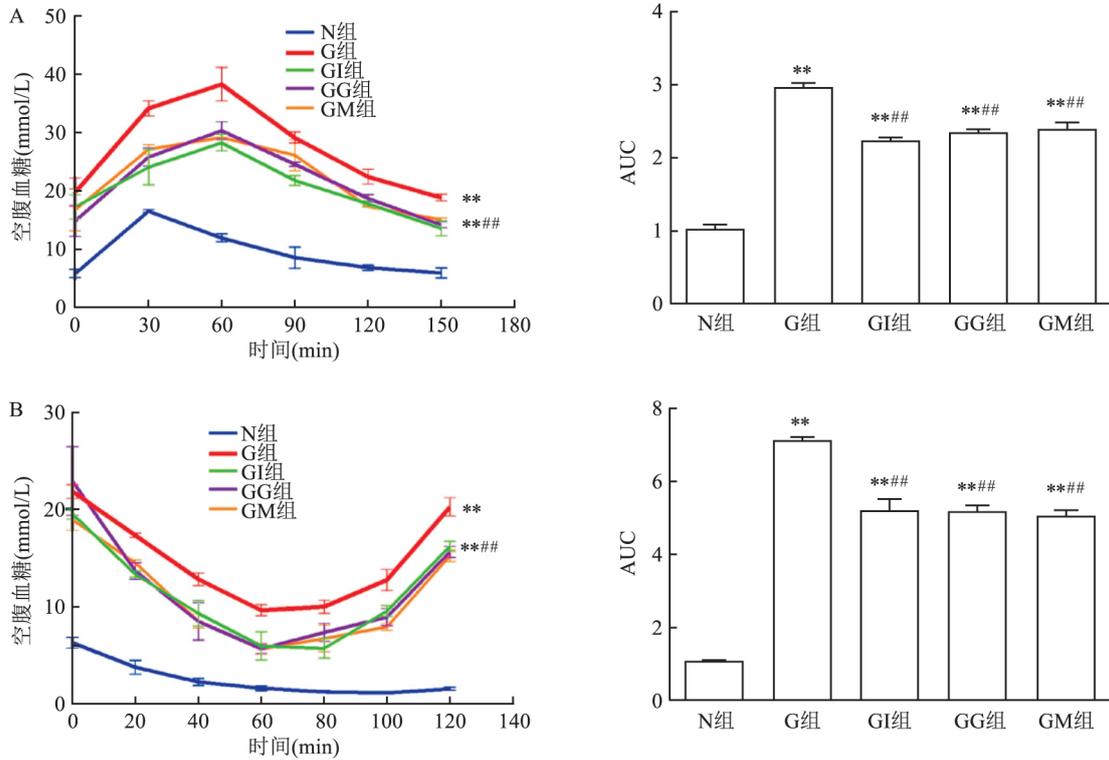


图4 孕期格列本脲和二甲双胍分别干预对产后1周母鼠GTT、ITT的影响 A: GTT; B: ITT; 与N组比较: ** $P < 0.01$; 与G组比较: ## $P < 0.01$

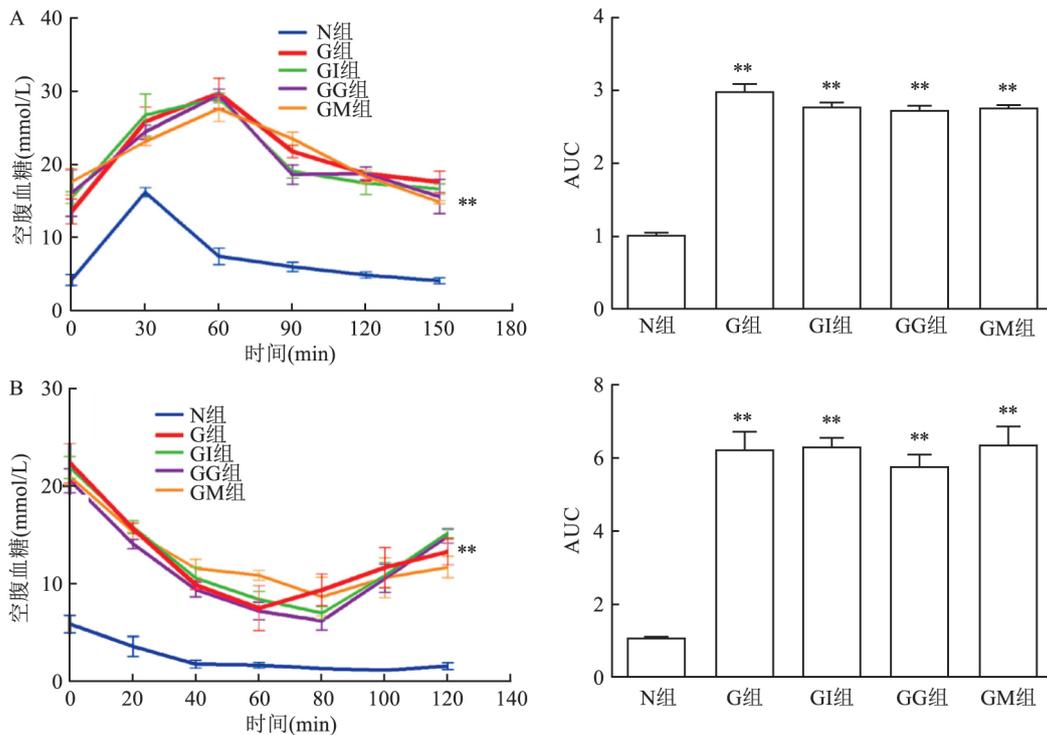


图5 孕期格列本脲和二甲双胍分别干预对产后5周母鼠GTT、ITT的影响 A: GTT; B: ITT; 与N组比较: ** $P < 0.01$

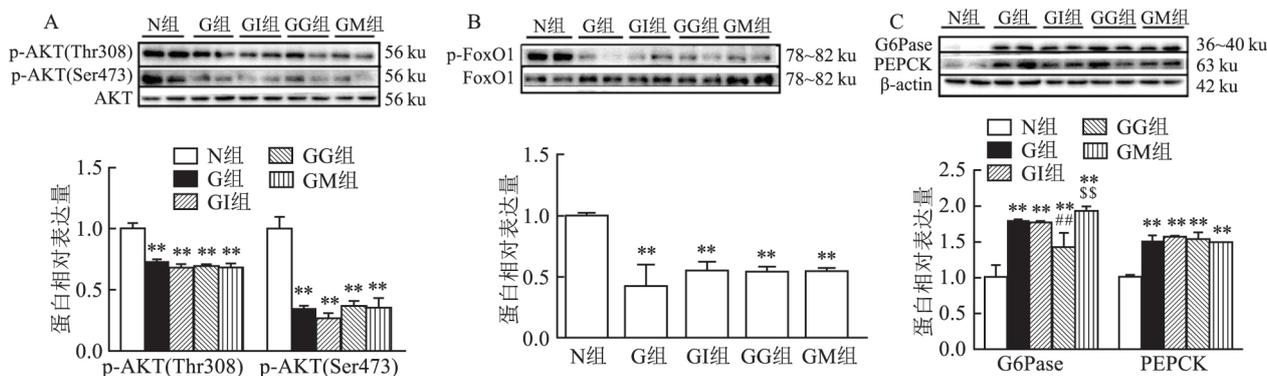


图6 格列本脲和二甲双胍分别干预后产后5周母鼠肝脏中各蛋白的水平

A: p-AKT308/AKT 和 p-AKT473/AKT; B: p-FoxO1/FoxO1; C: G6Pase/ β -actin 和 PEPCK/ β -actin; 与 N 组比较: ** $P < 0.01$; 与 G 组比较: # $P < 0.01$; 与 GG 组比较: \$ $P < 0.01$

2.6 格列本脲和二甲双胍对产后5周母鼠肝脏中相关蛋白的影响 与G组相比,产后5周的GI、GG和GM组AKT活性(p-AKT473和p-AKT308)没有变化,低于N组,差异有统计学意义($F = 135.20, P < 0.01$; $F = 109.60, P < 0.01$)。见图6A。另外,FoxO1的活性没有变化,低于N组,差异有统计学意义($F = 37.79, P < 0.01$)。见图6B。这些结果与图2A、2B中显示的改善完全相反。与图2C相比,GI、GG和GM组分别在产后5周时,G6Pase和PEPCK回到与未干预的GDM对照小鼠相同的水平,高于N组,差异有统计学意义($F = 55.80, P < 0.01$; $F = 100.60, P < 0.01$)。见图6C。

3 讨论

在本研究中,GDM小鼠模型是从GD8开始表现出血糖浓度的升高,模拟了在怀孕期间,人类从妊娠中期开始发生的GDM。此外,虽然本研究的GDM模型是由低剂量STZ诱导的,一些学者认为它对胰腺 β 细胞有毒性^[7],但是本研究中GDM小鼠的高血糖症可以被格列本脲(胰岛素分泌增强剂)改善,这表明GDM小鼠模型的胰岛素分泌功能良好,未被破坏。

本研究显示格列本脲和二甲双胍在维持怀孕期间小鼠的空腹血糖稳定方面与胰岛素一样有效,这些结果与人群研究是一致的^[8-9]。研究表明,在怀孕期间,经二甲双胍、格列本脲分别干预的GDM小鼠的肝组织中的蛋白质水平恢复到正常水平,例如p-AKT308(Thr308)、p-AKT473(Ser473)、p-FoxO1、G6Pase和PEPCK。AKT磷酸化变为p-AKT即为AKT的激活,AKT的激活是调节肌肉、脂肪细胞、肝脏中糖原合成和抑制糖异生所必需的^[10]。本

研究中干预组小鼠p-AKT308(Thr308)、p-AKT473(Ser473)的增加,证实了格列本脲或二甲双胍可以通过增加AKT的激活,进而抑制糖原合成酶。高血糖是肝脏葡萄糖输出增加和糖尿病患者外周葡萄糖利用率降低的结果,PEPCK和G6Pase是参与调节肝脏糖异生的两种关键酶^[11],而FoxO1可以调节PEPCK和G6Pase的活性^[12]。用格列本脲或二甲双胍治疗减弱了GDM小鼠肝脏中PEPCK和G6Pase的表达的异常升高,这说明格列本脲或二甲双胍的干预抑制了PEPCK和G6Pase的表达,进而抑制糖异生。

葡萄糖刺激胰腺分泌胰岛素,从而提高血糖的利用率。然而,GDM小鼠对胰岛素不敏感,导致了对葡萄糖的利用下降,因此它们的血糖水平仍然较高。糖尿病小鼠葡萄糖耐量降低可能导致GTT血糖水平较高,胰岛素敏感性降低可能导致ITT血糖水平较高^[13]。因此,GTT广泛应用于评估葡萄糖耐量,而ITT则广泛应用于评估胰岛素敏感性^[14]。母鼠产后1周,观察到格列本脲和二甲双胍干预组GTT和ITT中的AUC比G组低,这说明在产后1周格列本脲和二甲双胍对母鼠葡萄糖耐受、胰岛素抵抗的改善仍持续存在;对于产后5周的小鼠,格列本脲和二甲双胍对GDM小鼠的干预效果消失,GTT和ITT的曲线趋势与GDM对照组一致,这说明母鼠发生了葡萄糖耐量降低和胰岛素敏感性降低。并且与G组相比,GDM治疗组产后5周母鼠肝组织中p-AKT473、p-AKT308、p-FoxO1、G6Pase和PEPCK蛋白水平均没有变化。以上指标均显示,干预组的小鼠在产后5周都表现出2型糖尿病小鼠所具有的糖代谢特征。这表明虽然格列本脲或二甲双胍可以改善GDM小鼠在妊娠期和产后短期的糖代谢异常,

但不能降低 GDM 小鼠在产后发展为 2 型糖尿病的风险。

综上所述, GDM 不仅会引起小鼠孕期的葡萄糖耐量降低和胰岛素抵抗, 而且会对小鼠产后的葡萄糖代谢产生强烈影响。而妊娠期间格列本脲或二甲双胍的干预可通过改善妊娠期和产后 1 周的 GDM 小鼠肝脏中的胰岛素敏感性来改善葡萄糖代谢, 但不能改善产后 5 周小鼠的胰岛素抵抗和葡萄糖代谢。

参考文献

- [1] Agarwal M M. Gestational diabetes mellitus: An update on the current international diagnostic criteria [J]. *World J Diabetes*, 2015, 6(6): 782–91.
- [2] 张国军. 妊娠期糖尿病研究进展 [J]. *河北医科大学学报*, 2015, 36(7): 862–6.
- [3] 廖敏, 李春亮. 妊娠期糖尿病口服药物治疗进展 [J]. *现代诊断与治疗*, 2016, 27(8): 1427–9.
- [4] Ryu R J, Hays K E, Hebert M F. Gestational diabetes mellitus management with oral hypoglycemic agents [J]. *Semin Perinatol*, 2014, 38(8): 508–15.
- [5] Ahn M Y, Kim B J, Yoon H J, et al. Anti-diabetic effects of dung beetle glycosaminoglycan on db mice and gene expression profiling [J]. *Toxicol Res*, 2018, 34(2): 151–62.
- [6] Gao Y, Wang C, Pan T, et al. Impact of metformin treatment and swimming exercise on visfatin levels in high-fat-induced obesity rats [J]. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, 2014, 58(1): 42–7.
- [7] Furman B L. Streptozotocin-induced diabetic models in mice and rats [J]. *Curr Protoc Pharmacol*, 2015, 70: 1–20.
- [8] Filozof C, Gautier J F. A comparison of efficacy and safety of vildagliptin and gliclazide in combination with metformin in patients with Type 2 diabetes inadequately controlled with metformin alone: a 52-week, randomized study [J]. *Diabet Med*, 2010, 27(3): 318–26.
- [9] Ekpebegh C O, Coetzee E J, Van Der Merwe L, et al. A 10-year retrospective analysis of pregnancy outcome in pregestational Type 2 diabetes: comparison of insulin and oral glucose-lowering agents [J]. *Diabet Med*, 2007, 24(3): 253–8.
- [10] Li T, Chen K, Liu G, et al. Calorie restriction prevents the development of insulin resistance and impaired lipid metabolism in gestational diabetes offspring [J]. *Pediatr Res*, 2017, 81(4): 663–71.
- [11] Huang L, Yue P, Wu X, et al. Combined intervention of swimming plus metformin ameliorates the insulin resistance and impaired lipid metabolism in murine gestational diabetes mellitus [J]. *PLoS One*, 2018, 13(4): e0195609.
- [12] Kousteni S. FoxO1, the transcriptional chief of staff of energy metabolism [J]. *Bone*, 2012, 50(2): 437–43.
- [13] Nath S, Ghosh S K, Choudhury Y. A murine model of type 2 diabetes mellitus developed using a combination of high fat diet and multiple low doses of streptozotocin treatment mimics the metabolic characteristics of type 2 diabetes mellitus in humans [J]. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 2017, 84: 20–30.
- [14] Niu H S, Chao P C, Ku P M, et al. Amarogentin ameliorates diabetic disorders in animal models [J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2016, 389(11): 1215–23.

Impact of glibenclamide and metformin on glucose metabolism for mice with gestational diabetes mellitus

Yu Ting, Wang Yang, Chen Keyang

(School of Public Health, Anhui Medical University, Hefei 230032)

Abstract Objective To investigate the respective effects of glibenclamide and metformin on antenatal and post-partum glucose metabolism for gestational diabetes mellitus (GDM) mice. **Methods** Streptozotocin was used to stimulate C57BL/6J mice to develop GDM. In addition to GDM control, treatment was respectively given with long-acting insulin, glibenclamide and metformin. The first day of pregnancy was defined as gestational day (GDO), body weight and fasting blood glucose were measured every 2 days from GD0. On GD18, 8 dams in each group were euthanized to collect livers. The remaining 8 dams in each group were housed for natural delivery. After 1 week of post-partum, glucose tolerance test (GTT) and insulin tolerance test (ITT) were measured for all mice. After 5 weeks of post-partum, the GTT and ITT were measured for all mice. The mice were then euthanized to collect livers. The hepatic levels of phospho-protein kinase B (p-AKT), phospho-Forkhead box transcription factor O1 (p-FoxO1), glucose-6-phosphatase (G6Pase), phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) were measured respectively. **Results** Glibenclamide and metformin could decrease fasting blood glucose respectively in GDM mice with antenatal and 1 week postpartum ($P < 0.05$). Compared with the GDM control, p-AKT and p-FoxO1 levels increased ($P < 0.05$) while G6Pase and PEPCK reduced ($P < 0.05$) respectively in livers from the glibenclamide

胰岛素、格列本脲、二甲双胍改善 GDM 鼠脂代谢

汪 洋 陈可洋

摘要 目的 该研究旨在说明胰岛素、格列本脲和二甲双胍对妊娠期糖尿病(GDM)小鼠脂代谢的影响。方法 C57BL/6J 小鼠适应性喂养 1 周后,合笼。将 8 周龄孕鼠随机分成 5 组:正常对照组(N 组)、GDM 组(G 组)、GDM 胰岛素干预组(GI 组)、GDM 格列本脲干预组(GG 组)、GDM 二甲双胍干预组(GM 组)。使用小剂量的链脲佐菌素诱导 C57BL/6J 小鼠造 GDM 模型。从妊娠的第 11 天分别应用 3 种药物干预直至妊娠第 18 天(分娩)。结果 胰岛素、格列本脲和二甲双胍在妊娠期分别干预改善 GDM 鼠的总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平($P < 0.05$),同时高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平增加($P < 0.05$)。与 G 组比较 药物干预组鼠肝中磷酸化乙酰辅酶 A 羧化酶(p-ACC)水平升高($P < 0.05$),胆固醇调节元件结合蛋白 2(SREBP2)水平降低($P < 0.05$)。结论 药物干预降低 GDM 小鼠血脂水平及改善肝脏脂代谢。

关键词 妊娠期糖尿病;脂代谢;胰岛素;二甲双胍;格列本脲

中图分类号 R 33

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2020)01-0033-04

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.01.007

妊娠期糖尿病(gestational diabetes mellitu, GDM)是指妊娠期首次发生或发现的不同程度葡萄糖耐量降低或异常,已经成为妊娠期普遍的并发症^[1]。GDM 是糖尿病的一种特殊类型,全球发病率为 1%~14%,国内 GDM 发生率为 6.8%~10.4%,并呈逐年上升趋势^[2]。胰岛素、格列本脲和二甲双

胍对 GDM 的应用在国外较为广泛,而国内格列本脲和二甲双胍对 GDM 的临床治疗尚未得到推广。该研究拟探讨胰岛素、格列本脲和二甲双胍对 GDM 小鼠脂代谢的影响。

1 材料与方法

1.1 材料 C57BL/6J 小鼠(8 周龄,雄性小鼠体质量:20~24 g;雌性小鼠体质量:17~20 g)购自南京大学模型动物研究中心。试验前动物自由进食标准饲料,维持 12 h 光照和 12 h 黑暗的昼夜节律。实验室温度:20~25 °C,湿度:(50±5)%。适应 1 周后,合笼。查阴栓确认交配,记为妊娠日(GD0)。

随机选取 8 只孕鼠作为正常对照组(N 组)。剩下的孕鼠在 GD6、GD7 和 GD8 分别以 40 mg/kg 每只单次注射链脲佐菌素,空腹血糖浓度超过 11.1 mmol/L^[3]确立为 GDM 鼠。GDM 鼠 32 只,随机分为 4 组(8 只/组):GDM 对照组(G 组)、胰岛素干预组(GI 组)、格列本脲干预组(GG 组)和二甲双胍干预组(GM 组)。

GI 组由最初皮下注射 7~10 U/kg,从 GD11 至 GD18 用胰岛素注射液(人生物合成长效胰岛素,Novo Nordisk A/S,丹麦)干预。GG 组以每只小鼠从 GD 11 至 GD 18 用格列本脲片剂 20 mg/kg/d(批号:2716065,天津太平洋制药有限公司)研磨成粉,溶于生理盐水灌胃。GM 组以每只小鼠从 GD11 到 GD18 用盐酸二甲双胍肠溶片 300 mg/kg/d(批号:20160117,贵州圣济堂制药有限公司)研磨成粉,溶于生理盐水灌胃。

1.2 生化指标检测以及蛋白质印迹试验 每组 8 只孕鼠在 GD18 剖杀,收集血液、肝组织。全血凝固后在 4 °C 以 3 000 r/min 离心 20 min 获得血清,测总

2019-09-23 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81570786)

作者单位:安徽医科大学公共卫生学院,合肥 230032

作者简介:汪 洋,女,硕士研究生;

陈可洋,男,教授,博士生导师,责任作者,E-mail:chenkeyang@ahmu.edu.cn

and metformin intervened groups. However, after 5 weeks of post-partum, the effects of two interventions on the GDM mice disappeared. **Conclusions** Glibenclamide and metformin may improve the glucose tolerance and insulin resistance for GDM mice with antenatal and 1 week postpartum, but have poor effects on those with 5 weeks postpartum.

Key words gestational diabetes mellitus; glibenclamide; metformin; glucose metabolism