

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

胆固醇(total cholesterol ,TC) 、甘油三酯(triglyceride ,TG) 、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein-cholesterol ,LDL-C) 、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein-cholesterol ,HDL-C) 。肝脏通过蛋白质印迹试验测定靶蛋白的表达水平。

动物程序经安徽医科大学科学学院动物护理与使用委员会批准 符合 CIOMS 动物生物医学研究的国际指导原则。

1.3 统计学处理 使用 GraphPad prism 软件进行统计分析并得到图形 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组之间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA) ,两组之间比较用 Q 检验(Student-Newmann-Keuls ,SNK) 。 $P < 0. 05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 妊娠期药物干预改善 GDM 小鼠的血脂水平

检测血清中 HDL-C 浓度 ,N 组为(2. 75 ± 0. 13) mmol/L ,G 组为(1. 12 ± 0. 07) mmol/L ,GI 组为(2. 31 ± 0. 03) mmol/L ,GG 组为(2. 20 ± 0. 07) mmol/L ,GM 组为(2. 22 ± 0. 08) mmol/L; 5 组比较 , $F = 163. 30$, $P < 0. 01$ 。检测血清中 LDL-C 浓度 ,N 组为(1. 64 ± 0. 30) mmol/L ,G 组为(4. 52 ± 0. 34) mmol/L ,GI 组为(3. 28 ± 0. 30) mmol/L ,GG 组为(3. 34 ± 0. 20) mmol/L ,GM 组为(3. 08 ± 0. 12) mmol/L; 5 组比较 , $F = 45. 47$, $P < 0. 01$ 。检测血清

中 TC 浓度 ,N 组为(1. 68 ± 0. 06) mmol/L ,G 组为(5. 34 ± 0. 08) mmol/L ,GI 组为(2. 46 ± 0. 14) mmol/L ,GG 组为(2. 62 ± 0. 05) mmol/L ,GM 组为(2. 50 ± 0. 07) mmol/L; 5 组比较 , $F = 855. 00$, $P < 0. 01$ 。检测血清中 TG 浓度 ,N 组为(1. 33 ± 0. 22) mmol/L ,G 组为(3. 62 ± 0. 28) mmol/L ,GI 组为(1. 85 ± 0. 11) mmol/L ,GG 组为(2. 00 ± 0. 08) mmol/L ,GM 组浓度为(1. 90 ± 0. 04) mmol/L; 5 组比较 , $F = 76. 97$, $P < 0. 01$ 。与 N 组比较 ,G 组的 LDL-C、TC 和 TG 水平升高($P < 0. 01$) ,HDL-C 降低($P < 0. 01$) 。重要的是 ,这些指标值在 GI、GG 和 GM 组中得到改善($P < 0. 05$) 如图 1 所示。

2.2 妊娠期药物干预改善 GDM 小鼠的肝脂水平

检测肝脏中 TC 浓度 ,N 组为(0. 37 ± 0. 03) mmol/g ,G 组为(1. 20 ± 0. 18) mmol/g ,GI 组为(0. 38 ± 0. 04) mmol/g ,GG 组为(0. 49 ± 0. 03) mmol/g ,GM 组为(0. 47 ± 0. 04) mmol/g; 5 组比较 , $F = 94. 86$, $P < 0. 01$ 。检测肝脏中 TG 浓度 ,N 组为(0. 05 ± 0. 02) mmol/g ,G 组为(0. 19 ± 0. 02) mmol/g ,GI 组为(0. 07 ± 0. 01) mmol/g ,GG 组为(0. 07 ± 0. 01) mmol/g ,GM 组为(0. 07 ± 0. 03) mmol/g; 5 组比较 , $F = 64. 56$, $P < 0. 01$ 。其中 GI、GG 和 GM 组与正常对照组相似 ,表明在三种药物干预下 ,TC 和 TG 肝脏积聚受到抑制 如图 2 所示。

2.3 妊娠期药物干预改善 GDM 小鼠肝脏脂代谢

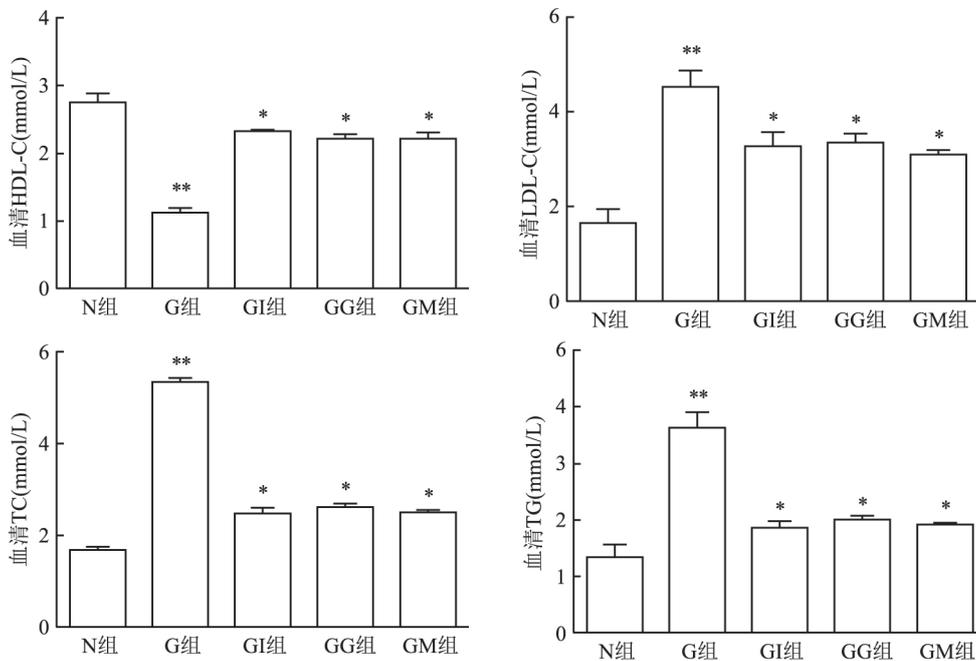


图 1 妊娠期药物干预改善产前 GDM 小鼠的血脂水平

与 N 组比较: * $P < 0. 05$, ** $P < 0. 01$

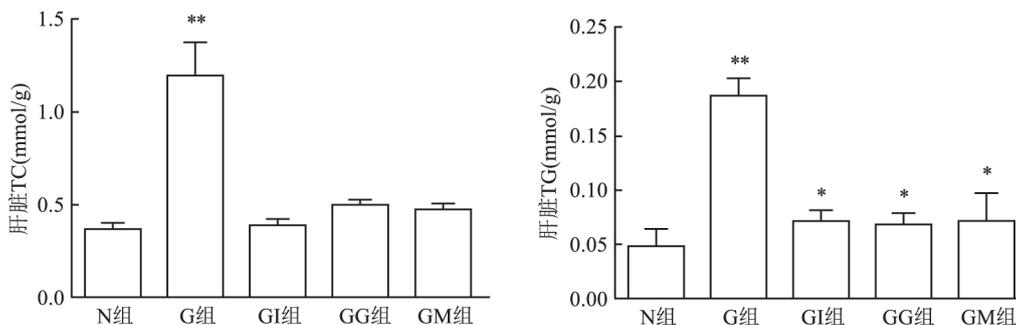


图2 妊娠期药物干预改善产前 GDM 小鼠的肝脂水平
与 N 组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

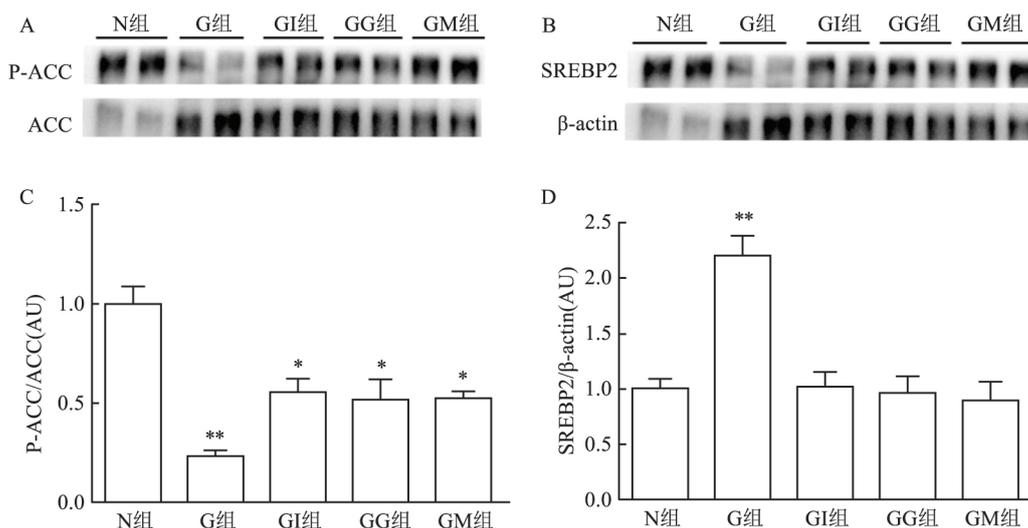


图3 妊娠期药物干预改善 GDM 小鼠肝脏脂代谢

A: p-ACC 与 ACC 蛋白的表达; B: SREBP2 蛋白的表达; C: p-ACC 与 ACC 的比值; D: SREBP2 与 β-actin 的比值; 与 N 组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

乙酰辅酶 A 羧化酶(acetyl-CoA carboxylase , ACC) 是脂肪酸合成所需关键酶,肝脏蛋白表达磷酸化乙酰辅酶 A 羧化酶(phosphorylation acetyl-CoA carboxylase , p-ACC) 与 ACC 的比值, N 组为(1.00 ± 0.09), G 组为(0.23 ± 0.03), GI 组为(0.55 ± 0.07), GG 组为(0.52 ± 0.10), GM 组为(0.52 ± 0.03); 5 组比较, $F = 91.99$ $P < 0.01$ 。与 GDM 对照组相比,干预组用胰岛素或格列本脲或二甲双胍后 p-ACC 与 ACC 的比值升高,但低于正常对照组。胆固醇调节元件结合蛋白 2(sterol regulatory element binding protein 2 , SREBP2) 是肝脏胆固醇合成的重要关键酶,肝脏蛋白表达 SREBP2 与 β-actin 的比值, N 组为(1.00 ± 0.09), G 组为(2.20 ± 0.18), GI 组为(1.01 ± 0.14), GG 组为(0.96 ± 0.14), GM 组为(0.89 ± 0.17); 5 组比较, $F = 83.39$ $P < 0.01$ 。与正常对照组相比, GDM 组的肝组织中 SREBP2 的蛋

白水平升高,但这种升高分别被胰岛素或格列本脲或二甲双胍完全抑制,与正常对照组无差别。如图 3 所示。

3 讨论

药物对 GDM 女性长期影响仍存在很多不确定性,包括这些药物干预引起的积极的和和不良的影响^[4-5]。Huang et al^[3] 研究发现二甲双胍干预能有效改善 GDM 母鼠的高血糖水平以及胰岛素抵抗。GDM 导致高血糖和胰岛素抵抗,同时也伴随脂代谢紊乱。

人群流行病学显示糖尿病妊娠期血糖控制不良会影响脂质代谢^[6]。糖代谢紊乱,导致的血糖水平升高,肝糖原合成受损,糖异生增强可能增强脂质在血液、肝脏中的代谢沉积。另外胰岛素抵抗导致血浆中胰岛素水平升高。而较高的血浆胰岛素可抑制

脂肪酸氧化,胰岛素使脂肪酸氧化降低 55%,脂肪分解降低 71%,完全抑制细胞外脂肪酸再酯化。而改善的脂代谢可能与改善糖代谢紊乱及降低胰岛素抵抗有关。

在本研究中发现胰岛素、格列本脲和二甲双胍可以改善产前 GDM 母鼠的高血脂、高肝脂水平。从脂代谢的分子水平来看,ACC 是脂肪酸合成所需关键酶。三种药物分别干预可以有效抑制 ACC 活性,从而抑制 GDM 小鼠肝脏中 ACC 调节性脂肪合成。SREBP2 调控胆固醇合成,三种药物分别干预抑制 GDM 鼠肝脏中 SREBP2 水平升高($P < 0.05$)。肝脏脂质合成的机制检测表明药物干预的 GDM 小鼠的血液和肝脏中的生化特征的一致性。三种降糖药物对 GDM 小鼠妊娠期的分别干预能有效改善脂代谢。

三种药物的作用机制是不同的,但结果显示的作用区别不大,可能是研究所涉及蛋白表达的种类有限,应作进一步的研究来深化药物作用效果之间的差别。

参考文献

- [1] 杨慧霞. 妊娠期糖尿病的诊断变迁和血糖管理[J]. 中华糖尿病杂志, 2014, 6(12): 919-21.
- [2] 李小娟, 于祥远, 张 军. 妊娠期糖尿病相关基因多态性研究进展[J]. 中国糖尿病杂志, 2014, 25(4): 371-5.
- [3] 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.
- [4] Ijas H, Vaarasmaki M, Saarela T, et al. A follow-up of a randomised study of metformin and insulin in gestational diabetes mellitus: growth and development of the children at the age of 18 months[J]. *BJOG* 2015, 122: 994-1000.
- [5] Malek R, Davis S N. Pharmacokinetics, efficacy and safety of glyburide for treatment of gestational diabetes mellitus [J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2016, 12: 691-9.
- [6] Teliga-Czajkowska J, Sienko J, Zareba-Szczudlik J, et al. Influence of glycemic control on coagulation and lipid metabolism in pregnancies complicated by pregestational and gestational diabetes mellitus [J]. *Adv Exp Med Biol* 2019, 1176: 81-8.

Respective interventions of insulin, glibenclamide and metformin in mice with GDM improved the lipid metabolism

Wang Yang, Chen Keyang

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

Abstract Objective The study was carried out to investigate the respective effects of insulin, glibenclamide and metformin on antenatal and postpartum lipid metabolism for GDM mice. **Methods** C57BL/6J mice were kept under observation for one week to acclimatize the new conditions, then mating. The pregnant mice were grouped as normal control group (N), GDM control group (G), GDM treated with insulin group (GI), GDM treated with glibenclamide group (GG), GDM treated with metformin group (GM). The mild amount of streptozotocin was used to stimulate C57BL/6J mice to develop GDM. For animals in the treated groups, treatment was initiated from GD11 to GD18. **Results** Three interventions respectively in gestational diabetes mellitus (GDM) maternal mice during pregnancy, and decrease total cholesterol (TC), triglyceride (TG), and low density lipoprotein-cholesterol (LDL-C) levels ($P < 0.05$) while the high density lipoprotein-cholesterol (HDL-C) levels were increased significantly ($P < 0.05$). Specifically, p-ACC levels were increased ($P < 0.05$), while sterol regulatory element binding protein 2 (SREBP2) were still reduced ($P < 0.05$) respectively in murine livers from all the intervened groups compared with the GDM control. **Conclusions** Respective interventions of insulin, glibenclamide and metformin may significantly reduce blood lipid levels for maternal GDM mice during pregnancy.

Key words gestational diabetes mellitus; lipid metabolism; insulin; glibenclamide; metformin