

血糖变化对糖尿病大鼠胃排空功能与leptin表达的影响

卢静, 魏良洲, 田字彬, 杨振中

卢静, 魏良洲, 田字彬, 青岛大学医学院附属医院消化内科
山东省青岛市 266003
杨振中, 中国航天员科研训练中心 北京市 100094
通讯作者: 魏良洲, 266003, 山东省青岛市, 青岛大学医学院附
属医院消化内科. weiliangzhou62@126.com
电话: 0532-82911302
收稿日期: 2007-08-11 修回日期: 2007-10-22

Effect of blood glucose variation on gastric emptying and leptin expression in diabetic rats

Jing Lu, Liang-Zhou Wei, Zi-Bin Tian,
Zhen-Zhong Yang

Jing Lu, Liang-Zhou Wei, Zi-Bin Tian, Department of
Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Medical Col-
lege, Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong
Province, China
Zhen-Zhong Yang, Astronaut Research and Training Cen-
ter of China, Beijing 100094, China
Correspondence to: Liang-Zhou Wei, Department of
Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Medical Col-
lege, Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong
Province, China. weiliangzhou62@126.com
Received: 2007-08-11 Revised: 2007-10-22

Abstract

AIM: To investigate the relationship between delayed gastric emptying and gastric leptin expression at different stages of diabetes.

METHODS: Forty Wistar rats were randomly divided into four groups: 1-wk normal control group (NC1 group, $n = 6$), 4-wk normal control group (NC2 group, $n = 6$), 1-wk diabetes mellitus group (DM1 group, $n = 14$), and 4-wk diabetes mellitus group (DM2 group, $n = 14$). Diabetes was induced by intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ). One and 4 wk after STZ injection, gastric emptying was measured by intragastric administration of phenol red, and expression of serum and gastric leptin was detected by radioimmunoassay.

RESULTS: One week after STZ injection, body weight did not differ between the DM1 and NC1 groups. The level of serum leptin in the DM1 group decreased compared with that in the NC1

group ($0.6 \pm 0.40 \mu\text{g/L}$ vs $2.9 \pm 0.32 \mu\text{g/L}$), but gastric emptying ($72.07\% \pm 9.67\%$ vs $33.04\% \pm 4.07\%$) and gastric leptin level ($11.041 \pm 1.422 \mu\text{g/L}$ vs $8.529 \pm 1.450 \mu\text{g/L}$) in the DM1 group increased significantly compared with the NC1 group. Four weeks after STZ injection, body weight, gastric emptying rate, serum and gastric leptin levels in the DM2 group decreased significantly compared with those in the NC2 group ($162.25 \pm 19.74 \text{ g}$, $15.81\% \pm 3.55\%$, $0.4 \pm 0.22 \mu\text{g/L}$, $7.772 \pm 1.751 \mu\text{g/L}$ vs $329.42 \pm 11.06 \text{ g}$, $31.87\% \pm 2.87\%$, $3.3 \pm 0.25 \mu\text{g/L}$, $11.433 \pm 1.799 \mu\text{g/L}$; $P < 0.05$).

CONCLUSION: The decreased serum leptin levels in short-term hyperglycemia may participate in rapid gastric emptying and increase ingestion, which can maintain energy balance in the body. Long-term hyperglycemia may inhibit the expression and release of serum and gastric leptin, to stimulate food intake to maintain energy balance.

Key Words: Diabetes mellitus; Gastroparesis; Gastric emptying; Leptin

Lu J, Wei LZ, Tian ZB, Yang ZZ. Effect of blood glucose variation on gastric emptying and leptin expression in diabetic rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15(32): 3435-3438

摘要

目的: 探讨不同病期糖尿病胃排空延迟与leptin表达的关系。

方法: 将40只Wistar大鼠随机分为对照饲养1 wk组(NC1组, $n = 6$)、对照饲养4 wk组(NC2组; $n = 6$)、糖尿病造模1 wk组(DM1组, $n = 14$)和糖尿病造模4 wk组(DM2组, $n = 14$)。腹腔注射链脲佐菌素(STZ)制备糖尿病大鼠模型, 分别于给药1 wk和4 wk后用酚红灌胃法检测胃排空, 采用放射免疫法检测大鼠血清及胃组织leptin表达。

结果: 注射STZ 1 wk后, 与NC1组相比, DM1组大鼠的体质量无显著变化, 胃排空率显著加快($72.07\% \pm 9.67\%$ vs $33.04\% \pm 4.07\%$), 血清leptin含量减少($0.6 \pm 0.40 \mu\text{g/L}$ vs $2.9 \pm 0.32 \mu\text{g/L}$), 胃组织leptin含量显著增加($11.041 \pm$

■背景资料

糖尿病胃轻瘫可严重影响患者的生活质量。leptin与糖尿病关系密切, 并有资料表明leptin可通过中枢和外周作用抑制胃排空。本文通过研究血糖变化对糖尿病大鼠胃排空功能与leptin表达的影响来探讨不同病期糖尿病胃排空延迟与leptin表达的关系。

■研究前沿

leptin是近年来新发现的一种主要由脂肪分泌的脑肠肽,广泛分布于全身各组织器官,具有调节能量平衡和代谢水平等多种生物学作用。目前关于糖尿病时leptin受体的变化尚不完全清楚,对其进一步研究有助于更好的了解leptin在糖尿病胃轻瘫发病机制中的作用。

1.422 $\mu\text{g/L}$ vs 8.529 \pm 1.450 $\mu\text{g/L}$). 注射STZ 4 wk后,与NC2组相比,DM2组大鼠的体质量(162.25 \pm 19.74 g vs 329.42 \pm 11.06 g)和胃排空率显著下降(15.81% \pm 3.55% vs 31.87% \pm 2.87%),血清leptin含量(0.4 \pm 0.22 $\mu\text{g/L}$ vs 3.3 \pm 0.25 $\mu\text{g/L}$)和胃组织leptin的表达显著减少(7.772 \pm 1.751 $\mu\text{g/L}$ vs 11.433 \pm 1.799 $\mu\text{g/L}$)。

结论:短期血糖升高可能通过降低血清瘦素水平来增加摄食,加快胃排空以补充热量摄入,维持能量平衡,而胃组织leptin的增加可能是机体反馈性的作用。长期高血糖可能通过抑制血清及胃组织leptin的表达和释放以增加摄食,维持能量平衡。

关键词:糖尿病;胃轻瘫;胃排空;瘦素

卢静,魏良洲,田宇彬,杨振中.血糖变化对糖尿病大鼠胃排空功能与leptin表达的影响.世界华人消化杂志.2007;15(32):3435-3438

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/3435.asp>

0 引言

糖尿病胃轻瘫(diabetic gastroparesis, DGP)是指糖尿病患者无机械性梗阻存在时并发的胃动力障碍和胃排空延迟,临床上出现恶心、呕吐、早饱、腹胀、腹痛、食欲不振等症状^[1]。据报道,糖尿病胃轻瘫的发病率高达30%-50%^[2],严重影响患者的生活质量。其病理生理机制相当复杂,大多学者认为糖尿病胃轻瘫与多种因素有关,如高血糖、自主神经病变、胃肠激素分泌异常、胃肠平滑肌变性等,至今尚未完全阐明。瘦素(leptin)是近年来新发现的一种主要由脂肪分泌的脑肠肽,广泛分布于全身各组织器官,具有调节能量平衡和代谢水平等多种生物学作用。目前,众多学者认为leptin与糖尿病关系密切^[3],并有资料表明leptin可通过中枢和外周作用抑制胃排空^[4]。本文通过研究血糖变化对糖尿病大鼠胃排空功能与leptin表达的影响来探讨不同病期糖尿病胃排空延迟与leptin表达的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 SPF级♂Wistar大鼠40只,体质量160-180 g,购自青岛市动物实验中心,随机分为对照饲养1 wk组(NC1组, $n=6$)、对照饲养4 wk组(NC2组, $n=6$)、糖尿病造模1 wk组(DM1组, $n=14$)和糖尿病造模4 wk组(DM2组, $n=14$)。大鼠适应性饲养1 wk后,禁食8 h。DM组大鼠以60 mg/kg的剂量一次性ip 10 g/L链脲佐菌素(streptozotocin, STZ; 购自美国Sigma公司,用

0.1 mmol/L、pH4.4的柠檬酸缓冲液配制而成),NC组大鼠注射相同体积的柠檬酸缓冲液。注射72 h后剪尾取血,用血糖仪测随机血糖,血糖值 ≥ 16.7 mmol/L确定为糖尿病模型建立。注射STZ 1 wk后取NC1组和DM1组大鼠进行实验,NC2组和DM2组大鼠继续喂养3 wk。

1.2 方法 大鼠禁食不禁水16 h,称体质量,断尾测空腹血糖。胃排空的测定:给予大鼠50 mg/dL的酚红溶液2 mL ig, 15 min后将其处死,剖腹,结扎贲门和幽门,取出整个鼠胃,沿胃大弯切开,以蒸馏水冲洗胃内容物,定容为20 mL。而后加入0.5 mol/L NaOH 20 mL搅拌混匀,静置1 h,取5 mL上清液加入200 mL/L三氯乙酸0.5 mL去蛋白,3500 r/min 4℃离心10 min。取上清液用分光光度计在560 nm波长下测定吸光度值,另取酚红溶液2 mL,先后加入蒸馏水18 mL、0.5 mol/L NaOH 20 mL、20 mL/L三氯乙酸4 mL搅拌混匀,测定吸光度值。大鼠胃排空率=(1-实测酚红吸光度值/标准酚红吸光度值) \times 100%。

血清和胃组织leptin测定,处死大鼠,剖胸,心脏取血5 mL,不抗凝,在4℃环境下静置2 h,3000 r/min 4℃离心10 min,留取上清液,-20℃冰箱保存待测。取约100 mg的胃组织,称质量后立即置于煮沸的生理盐水1 mL中煮沸3 min,加入0.1 mol/L冰醋酸0.5 mL于匀浆器中进行匀浆,用0.1 mol/L NaOH 0.5 mL中和,3500 r/min 4℃离心20 min,取上清液贮于-20℃待测。采用放射免疫法测定血清和胃组织leptin含量(leptin测定试剂盒由北京华英生物技术研究提供)。

统计学处理 数据均以mean \pm SD表示,应用SPSS11.5统计软件进行分析,组间比较采用 t 检验法,显著性水平取 $P<0.05$ 。

2 结果

2.1 大鼠一般状况 大鼠ip STZ 3 d后开始出现多饮、多食、多尿症状。与NC1组大鼠相比,DM2组大鼠出现明显精神紧张、躁动不安、体质量下降,至4 wk时DM2组大鼠出现精神萎靡、活动迟缓、明显消瘦、懒动、毛色干枯无光泽,仍有多饮、多食、多尿,且有2只出现白内障。实验期间DM2组大鼠死亡1只,DM1组造糖尿病模型不成功3只。

2.2 各组大鼠体质量、空腹血糖及胃排空率的比较 注射STZ 1 wk后,与NC1组相比,DM1组大鼠空腹血糖显著升高($P<0.01$),体质量无明显改变($P>0.05$),胃排空率显著加快($P<0.01$)。注射

表 1 各组大鼠体质量、空腹血糖及胃排空率的比较(mean ± SD)

分组	样本量 <i>n</i>	体质量 (g)	空腹血糖 (mmol/L)	胃排空率 (%)	血清leptin (μg/L)	胃组织leptin (μg/L)
NC1	6	168.85 ± 19.91	5.90 ± 0.94	33.04 ± 4.07	2.9 ± 0.32	8.529 ± 1.450
DM1	11	161.63 ± 17.18	22.99 ± 4.15 ^b	72.07 ± 9.67 ^b	0.6 ± 0.40 ^a	11.041 ± 1.422 ^b
NC2	6	329.42 ± 11.06	6.38 ± 1.50	31.87 ± 2.87	3.3 ± 0.25	11.433 ± 1.799
DM2	13	162.25 ± 19.74 ^c	25.51 ± 4.08 ^d	15.81 ± 3.55 ^d	0.4 ± 0.22 ^d	7.772 ± 1.751 ^d

^a*P*<0.05, ^b*P*<0.01与NC1相比; ^c*P*<0.05, ^d*P*<0.01与NC2组相比。

STZ 4 wk后, 与NC2组相比, DM2组大鼠空腹血糖显著升高(*P*<0.01), 体质量明显下降(*P*<0.05), 胃排空率显著下降(*P*<0.01)(表1)。

2.3 各组大鼠血清瘦素及胃组织瘦素表达的变化 如表1所示, 注射STZ 1 wk后, 与NC1组大鼠比较, DM1组大鼠血清leptin表达减少(*P*<0.05), 胃组织leptin的表达明显增加(*P*<0.01)。注射STZ 4 wk后, 与NC2组大鼠比较, DM2组大鼠血清leptin及胃组织leptin的表达均明显减少(*P*<0.01)。

3 讨论

大鼠ip STZ可选择性破坏胰腺β细胞, 制备的模型具有高血糖、体质量减轻、多饮、多食、多尿的特点, 可用于糖尿病慢性并发症的研究。本实验制备的模型表现与此完全相符。相关研究显示, 约半数糖尿病患者存在胃排空障碍^[2]。高血糖是胃排空障碍的一个重要发病因素。高血糖可抑制消化间期移行性复合运动(migrating motor complex, MMC)的产生, 并通过抑制迷走-迷走反射减慢固体及液体的胃排空速度, 其减慢程度与血糖水平有关^[5]。

leptin是近年来新发现的一种由肥胖基因编码, 主要由白色脂肪组织分泌的蛋白类激素。leptin及其受体广泛存在于全身各组织器官, 如脂肪组织、心脏、胰腺等。近年来研究发现leptin及其受体也存在于胃黏膜中^[6-7]。leptin可能主要通过两条途径抑制胃排空, 一是分泌到血液及通过血脑屏障主要作用于下丘脑的OB-Rb, 进而抑制下丘脑弓状核表达和分泌神经肽Y(NPY)从而抑制食欲, 延缓胃排空。二是通过内外分泌作用到消化道与其受体OB-Rb结合, 与胆囊收缩素(CCK)协同作用及刺激CCK分泌来抑制胃排空, 他们通过激活迷走神经从而延缓信号向脑的传导。胃组织leptin的这种途径可能为食物摄取后CCK介导的早期胃排空作用有密切关系^[4,9]。Martinez *et al*^[10]将3 mg leptin注入大鼠

脑室, 可使5 h累积食物摄入量减少39%, 胃转运减少50%, 提示leptin对胃排空有一定的抑制作用。一些研究表明, 向大鼠右侧脑室及胃内注入leptin后, 胃排空均延缓, 且证实leptin对胃运动的外周作用可能是通过与胆囊收缩素(CCK)协同作用并刺激CCK分泌, 进而激活迷走神经, 延缓信号向脑的传导, 共同抑制胃排空和短时间的摄食^[4,9]。leptin除了抑制胃肠动力和摄食外, 还可以调节能量代谢, 并与长期高血糖引起的高胰岛素水平具有密切相关性, 表现为高胰岛素血症常常伴有瘦素水平的升高^[11-12]。

在我们的实验中, 注射STZ 1 wk后, 与NC1组大鼠相比, DM1组大鼠胃排空速率明显加快, 血清leptin减少而胃组织leptin明显增加。由于leptin可抑制胃肠运动、延缓胃排空, 因此在糖尿病早期血清leptin表达减少将直接减弱瘦素在中枢对POMC/CORT神经元和NPY/AgRP神经元的效用, 引起近端胃舒张功能和远端胃运动收缩功能减弱, 最终可导致胃对液体的胃排空加快^[13]。推测血清leptin表达的减少可能是引起急性高血糖期胃排空加快的原因之一。此外胃组织leptin明显增加可能为机体的一种保护机制, 对明显加快的胃排空起一定的抑制作用, 从而减少摄食的过度增加, 防止血糖进一步升高。

注射STZ 4 wk后, 与NC2组大鼠相比, DM2组大鼠胃排空率显著减慢, 血清leptin及胃组织leptin含量显著减少, 说明长期高血糖可抑制leptin的表达和释放。血清及胃组织leptin表达的减少将可能直接减弱瘦素中枢及外周对胃排空的影响, 因此糖尿病晚期胃排空延缓可能与leptin无显著相关性。糖尿病晚期胃排空减慢, 其影响因素可能与长期高血糖及其导致的一系列并发症相关, 内脏植物神经病变、胃肠平滑肌病变及其他胃肠激素的紊乱等相关^[5,12]。

此外, 在糖尿病早期胃组织leptin的增加可能与机体的自我保护机制密切相关, 代偿性地

■ 相关报道

Martinez *et al*研究表明, leptin对胃排空有一定的抑制作用。另外一些研究表明, 向大鼠右侧脑室及胃内注入leptin后, 胃排空均延缓, 且证实leptin对胃运动的外周作用可能是通过与CCK协同作用并刺激CCK分泌, 进而激活迷走神经, 延缓信号向脑的传导, 共同抑制胃排空和短时间的摄食。

■同行评议

本文选题新颖,层次清楚,内容一般,建议作进一步的研究.

刺激leptin分泌增加. 晚期leptin显著减少的影响因素可能为: (1)DM2组大鼠较NC2组大鼠体质量明显下降, 体内脂肪含量可能相应减少, 而脂肪组织是分泌leptin的主要场所, 故相应的leptin含量减少. (2)1型糖尿病大鼠模型其正常胰腺遭到破坏不能代偿或代偿不良, 因此高血糖不能刺激胰岛分泌大量胰岛素, 胰岛素水平下降, 不能有效地刺激脂肪组织分泌leptin^[11-12]. (3)糖尿病晚期大鼠明显消瘦, 机体处于能量负平衡状态, 机体可能代偿性的下调leptin的表达, 进而增加摄食, 维持能量平衡. (4)糖尿病大鼠模型出现明显的血清leptin水平的下降, 循环leptin的减少使得外部到达胃组织的leptin减少.

通过以上研究我们认为, 1型糖尿病早期可能通过降低血清leptin水平来增加摄食, 加快胃排空以补充热量摄入, 维持能量平衡. 而胃组织leptin的增加可能是机体的一种反馈性的保护机制. 长期高血糖可能通过抑制血清及胃组织leptin的表达、释放来增加摄食, 维持能量平衡. 目前关于糖尿病时瘦素受体的变化尚不完全清楚, 对其进一步研究有助于更好的了解leptin在糖尿病胃轻瘫发病机制中的作用.

4 参考文献

- 1 Kong MF, Horowitz M. Diabetic gastroparesis. *Diabet Med* 2005; 22: 13-18
- 2 Bhatia M. Apoptosis of pancreatic acinar cells in acute pancreatitis: is it good or bad? *J Cell Mol Med* 2004; 8: 402-409
- 3 Toyoshima Y, Gavrilova O, Yakar S, Jou W, Pack S, Asghar Z, Wheeler MB, LeRoith D. leptin improves insulin resistance and hyperglycemia in a mouse model of type 2 diabetes. *Endocrinology* 2005; 146: 4024-4035
- 4 Cakir B, Kasimay O, Devseren E, Yegen BC. leptin inhibits gastric emptying in rats: role of CCK receptors and vagal afferent fibers. *Physiol Res* 2007; 56: 315-322
- 5 Rayner CK, Samsom M, Jones KL, Horowitz M. Relationships of upper gastrointestinal motor and sensory function with glycemic control. *Diabetes Care* 2001; 24: 371-381
- 6 Cammisotto PG, Renaud C, Gingras D, Delvin E, Levy E, Bendayan M. Endocrine and exocrine secretion of leptin by the gastric mucosa. *J Histochem Cytochem* 2005; 53: 851-860
- 7 Cammisotto PG, Gingras D, Renaud C, Levy E, Bendayan M. Secretion of soluble leptin receptors by exocrine and endocrine cells of the gastric mucosa. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 290: G242-G249
- 8 Sainsbury A, Cooney GJ, Hemog H. Hypothalamic regulation of energy homeostasis. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2002; 16: 623-637
- 9 Sanchez J, Oliver P, Miralles O, Ceresi E, Pico C, Palou A. leptin orally supplied to neonate rats is directly uptaken by the immature stomach and may regulate short-term feeding. *Endocrinology* 2005; 146: 2575-2582
- 10 Martinez V, Barrachina MD, Wang L, Tache Y. Intracerebroventricular leptin inhibits gastric emptying of a solid nutrient meal in rats. *Neuroreport* 1999; 10: 3217-3221
- 11 Cong L, Chen K, Li J, Gao P, Li Q, Mi S, Wu X, Zhao AZ. Regulation of adiponectin and leptin secretion and expression by insulin through a PI3K-PDE3B dependent mechanism in rat primary adipocytes. *Biochem J* 2007; 403: 519-525
- 12 Cakir M, Sari R, Tosun O, Karayalcin U. leptin response to oral glucose tolerance test in obese and nonobese premenopausal women. *Endocr Res* 2005; 31: 1-8
- 13 周吕, 王礼建, 袁勃, 王玲. 下丘脑瘦素对大鼠胃运动的作用. *诊断学理论与实践* 2006; 5: 20-23

编辑 程剑侠 电编 李海寅

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志关于作者署名的声明

本刊讯 世界华人消化杂志要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 第一方面是直接参与, 包括: (1)酝酿和设计实验, (2)采集数据, (3)分析/解释数据. 第二方面是文章撰写, 包括: (1)起草文章, (2)对文章的知识性内容作批评性审阅. 第三方面是工作支持, 包括: (1)统计分析, (2)获取研究经费, (3)行政、技术或材料支持, (4)指导, (5)支持性贡献. 每个人必须在第一至第三方面至少具备一条, 才能成为文章的署名作者. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.