

# 高糖高脂饮食诱导大鼠胰岛素抵抗模型和评价

王继勇<sup>1</sup> 高云丽<sup>1</sup> 左洛<sup>1</sup> 何敏<sup>1</sup> 陈聪<sup>1</sup> 李小军<sup>2\*</sup>

(1 武汉理工大学 化学工程学院, 武汉 430070; 2 中南民族大学 药学院, 武汉 430074)

**摘要** 为研究高糖高脂结合链脲佐菌素(STZ)诱导大鼠形成胰岛素抵抗动物模型的可行性,将Wistar大鼠分为普通饮食、高糖高脂饮食和高糖高脂饮食+STZ共3组,每周测体重和空腹血糖。第8周对高糖高脂+STZ组注射30 mg/kg的STZ液,检测注射STZ前、注射STZ 48 h和2周后的糖耐量情况。实验后期检测各组空腹胰岛素水平、胰岛素抵抗指数和肝糖原含量。结果表明:注射STZ前,高糖高脂组大鼠体重较正常组明显增加,空腹血糖略有上升,糖耐量略有下降。注射STZ 48 h后,高糖高脂+STZ组120 min与0 min血糖差异显著;糖耐量较正常组和高糖高脂组受损严重,2周后仍有差异。实验后期高糖高脂组与高糖高脂+STZ组胰岛素水平、胰岛素抵抗和肝糖原均有降低,但与正常组相比无显著差异。说明高糖高脂饮食8周,腹腔注射30 mg/kg STZ后,继续高糖高脂2周可形成胰岛素抵抗动物模型。

**关键词** 高糖高脂;空腹血糖;葡萄糖耐量;胰岛素抵抗

中图分类号 R361<sup>+</sup>, 2 文献标识码 A 文章编号 1672-4321(2013)01-0054-04

## High-Glucose and High-Fat Diet Induced Insulin Resistance Rat Model and Its Evaluation

Wang Jiyong<sup>1</sup>, Gao Yunli<sup>1</sup>, Zuo Luo<sup>1</sup>, He Min<sup>1</sup>, Chen Cong<sup>1</sup>, Li Xiaojun<sup>2</sup>

(1 School of Chemical Engineering, Wuhan University of Technology, Wuhan 430070, China;

2 College of Pharmacy, South-Central University for Nationalities, Wuhan 430074, China)

**Abstract** To study the feasibility of the high-glucose and high-fat + STZ on the insulin resistance animal model, Wistar rats were divided into three groups and fed with common, high-glucose and high-fat, high-glucose and high-fat + STZ diet. Body weights and fasting blood-glucose were measured weekly. After 8 weeks, 30 mg/kg STZ was injected intraperitoneally to high-glucose and high-fat + STZ groups and the glucose tolerance before injection, in 48 h and 2 w after infection were observed. Fasting insulin levels, homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) and hepatic glycogen contents were also evaluated. The results indicated that before injecting STZ, compared with the control group, the weight of the rats fed with high-glucose and high-fat increased significantly, fasting blood-glucose increased slightly, glucose tolerance decreased slightly. After injecting STZ for 48 h, there was remarkable difference of blood-glucose in high-glucose and high-fat + STZ group at 120 min and 0 min. Compared with the control group and high-glucose and high-fat group, glucose tolerance of this group was damaged severely after 2 w. Moreover, insulin levels, HOMA-IR and hepatic glycogen contents all declined slightly, though no significant differences. So insulin resistance could be induced by high-glucose and high-fat diet for 8 w, then intraperitoneal injection 30 mg/kg STZ and high-glucose and high-fat diet for two more weeks.

**Keywords** high-glucose and high-fat; fasting blood-glucose; glucose tolerance; insulin resistance

目前糖尿病的发病率呈持续上升状态,且多以 II 型糖尿病为主,而胰岛素抵抗(insulin resistance),

收稿日期 2013-01-22 通讯作者 李小军(1981-)男,讲师,研究方向:糖尿病的胰岛素抵抗, E-mail: xiaojunlixiaojun@yahoo.com.cn

作者简介 王继勇(1966-)男,副教授,研究方向:中药的化学修饰、材料腐蚀与防护, E-mail: wangjiyong66@sina.com

基金项目 湖北省自然科学基金资助项目(2012FFC13501),中南民族大学基本科研业务资助项目(CZQ11037, XTZ10001)

IR) 是 II 型糖尿病的重要病理生理基础<sup>[1]</sup>。胰岛素抵抗是机体在外围组织对胰岛素摄取和清除葡萄糖能力受损<sup>[2,3]</sup>, 导致代偿性胰岛素分泌增多。目前, 国内外对于胰岛素抵抗模型建立的方法有自发型<sup>[4]</sup>, 诱导型、转基因型<sup>[5]</sup>等, 其中诱导型动物模型又分为高糖饮食诱导<sup>[6]</sup>、高脂饮食诱导<sup>[7]</sup>、药物与饮食联合诱导<sup>[4]</sup>。据链脲佐菌素(STZ)致糖尿病机理<sup>[8]</sup>和 STZ 造模的特点<sup>[9]</sup>, 本文采用高糖高脂饮食结合小剂量 STZ 诱导 II 型糖尿病胰岛素抵抗, 通过体重、空腹血糖、葡萄糖耐量、胰岛素水平、胰岛素抵抗、肝糖原含量等指标评价高糖高脂饮食及 STZ 对胰岛素抵抗大鼠的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料和仪器

SPF 级雄性 Wistar 大鼠, 120 ~ 150 g, 5 ~ 6 周(湖北省实验动物研究中心, 00070294)。按照质量比: 普通饲料 50.0%, 淀粉 22.5%, 蛋白质 11.5%, 脂肪 10.0%, 纤维 2.5%, 维生素 0.75%, 矿物质 2.75%, 高温焙干<sup>[10]</sup>配制高脂高糖饲料。三诺安稳血糖仪与血糖试纸(长沙三诺生物传感技术股份有限公司), NAVIGATOR TMXL 电子天平(奥豪斯仪器常州有限公司), 胰岛素测定试剂盒(北京北方生物技术研究所), 肝糖原测定试剂盒(南京建成生物技术研究所), Eppendorf AG Centrifuge 5804R 22331 Hamburg(德国 Eppendorf 公司), GAMMA-5 射线仪(South Korea SHINJIN MEDICS. INS), 低温大容量多管离心机(上海安亭科学仪器厂), STZ(美国 Sigma 公司), 葡萄糖、水合柠檬酸、二水合柠檬酸三钠(国药集团化学试剂有限公司)。

### 1.2 实验动物分组

饲养环境温度 22 ~ 25℃, 湿度 30% ~ 40%。大鼠适应性饲养 3 d 后, 随机分为 3 组, 每组 8 只: ①正常组, 普通饮食; ②高糖高脂组, 20% 果糖水结合高糖高脂饮食; ③高糖高脂 + STZ 组, 20% 果糖水结合高糖高脂饮食。

### 1.3 大鼠空腹血糖(FBG)测定和口服葡萄糖耐量试验(OGTT)

大鼠饲养 6 周后, 禁食不禁水 14 ~ 16 h, 尾部采血, 测定空腹血糖, 记为 OGTT 实验 0 min 的血糖值, 随后各组大鼠口服 2g/kg 的葡萄糖溶液, 测 30, 60, 120 min 的血糖值, 作 OGTT 的时间-血糖关系图。

### 1.4 胰岛素抵抗模型

将 0.1 mol/L 的柠檬酸溶液与 0.1 mol/L 的柠檬酸钠溶液按 1 : 1.32 比例混合, 调节 pH 至 4.4, 配成 0.1 mol/L 柠檬酸缓冲液, 高温灭菌 4℃ 保存。将 STZ 溶解于 0.1 mol/L 的柠檬酸钠缓冲液, 配制浓度为 1.2% 的 STZ 溶液。大鼠饲养 8 周后, 禁食不禁水 16 h, 高糖高脂 + STZ 组腹腔注射 30 mg/kg 的 STZ 溶液, 正常组和高糖高脂组注射等剂量的柠檬酸缓冲液。糖尿病大鼠模型的标准为: 禁食不禁水 14 ~ 16 h, 检测各组大鼠空腹血糖和葡萄糖耐量, 空腹血糖 > 7.0 mmol/L 或 120 min 血糖值 > 11.1 mmol/L。故确定胰岛素抵抗模型标准为空腹血糖 < 7.0 mmol/L 或 120 min 血糖值 < 11.1 mmol/L, 但高于正常值。

### 1.5 大鼠实验末期 FBG 测定及 OGTT

大鼠饲养 10 周后, 各组大鼠禁食不禁水 14 ~ 16 h, 尾部采血, 测定空腹血糖。由于腹腔注射 30 mg/kg STZ 的正常大鼠与正常大鼠 120 min 血糖无显著性差异<sup>[11]</sup>。故本实验中仅分析正常组、高糖高脂组和高糖高脂 + STZ 组的葡萄糖耐量情况, 具体测定方法同上 1.3。

### 1.6 大鼠胰岛素水平及胰岛素抵抗指数评价

大鼠饲养 10 周后, 各组大鼠禁食不禁水 14 ~ 16 h, 尾部采血 1 ~ 1.5 mL 于含有 EDTA 抗凝剂的离心管, 放于冰水浴中, 4℃ 静置 30 min, 3500 r/min 离心 15 min, 分离上清, -20℃ 保存。按照碘<sup>[125I]</sup>胰岛素放射免疫分析药盒说明书测定各组大鼠血浆胰岛素水平, 按照公式<sup>[12]</sup>胰岛素抵抗指数(HOMA-IR) = 空腹血浆胰岛素 × 空腹血糖 / 22.5, 计算胰岛素抵抗指数。

### 1.7 大鼠肝糖原含量测定

大鼠饲养 10 周后, 各组大鼠禁食不禁水 14 ~ 16 h, 颈椎脱臼处死, 解剖取肝脏, 计算肝脏指数。取各组大鼠部分肝脏(weight ≤ 100 mg), 迅速放入冰冷的生理盐水漂洗, 吸干水分称重, 按样本重量: 碱液体积 = 1 : 3 加入试管, 沸水浴 20 min, 冷却, 加蒸馏水(蒸馏水体积 = 96 × 肝脏重量), 混匀, 沸水浴 5 min, 冷却, 于 620 nm 波长下, 空白管调零, 测各管吸光度(OD)。按照公式: 肝糖原含量(mg/g 组织) = 测定管 OD 值 / 标准管 OD 值 × 标准管含量 × 100 × 10 × 1.11, 计算大鼠肝糖原含量。

### 1.8 统计分析

数据以( $\bar{x} \pm s$ )表示, 采用 SPSS 17.0 统计软件处理, 组间采用单因素方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 造模结果

按 1.4 对高糖高脂 + STZ 组注射 STZ 48 h 后 8 只大鼠中 7 只造模成功, 1 只死亡, 2 周后造模成功大鼠均处于胰岛素抵抗状态。

### 2.2 大鼠体重变化

各组大鼠造模前皮毛有光泽, 精神良好, 造模后高糖高脂 + STZ 组毛发暗黄, 精神萎靡, 摄食量加大, 饮水增多, 排尿增多, 体重下降, 体重变化情况见图 1。由图 1 可见, 注射 STZ 前(1~8 周), 各组大鼠体重增加较快。高糖高脂组和高糖高脂 + STZ 组与正常组相比, 均有显著性差异( $p < 0.01$ )。故高脂饲料饮食可使大鼠体重增加, 导致肥胖。注射 STZ 后, 高糖高脂 + STZ 组体重较高糖高脂和正常组增加缓慢, 说明 STZ 在一定程度上阻碍大鼠体重增加。

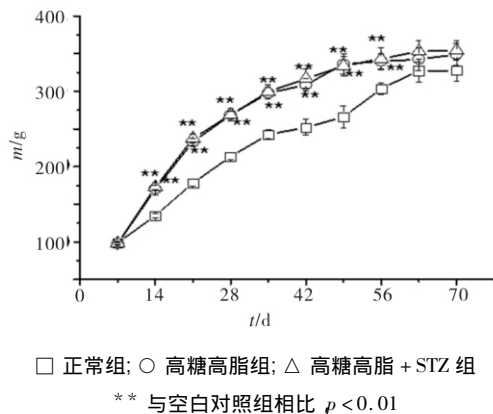


图 1 大鼠体重变化图

Fig. 1 Body weight changes of rats

### 2.3 大鼠空腹血糖变化

大鼠空腹血糖变化见图 2。由图 2 可见, 注射 STZ 前(1~8 周), 各组大鼠空腹血糖均维持在正常范围(3.2~8.1 mmol/L), 无显著性差异, 但高糖高脂组和高糖高脂 + STZ 组 FBG 略高于正常组。故高糖高脂饮食虽不能造成严重的空腹血糖受损, 但在一定程度上使胰岛代偿功能低下, 有糖尿病病症的倾向。第 9 周注射 STZ 48 h 后, 高糖高脂 + STZ 组中 FBG 均在 10.0 mmol/L 以上, 高糖高脂 + STZ 组较正常组和高糖高脂组有显著性差异( $p < 0.01$ ); 注射 STZ 2 周后, 大鼠 FBG 虽降至 6.4 mmol/L, 但较正常组和高糖高脂组仍有显著性差异( $p < 0.01$ ), 可见, 小剂量的 STZ 2 周后大鼠糖调节失常, 处于高血糖状态。

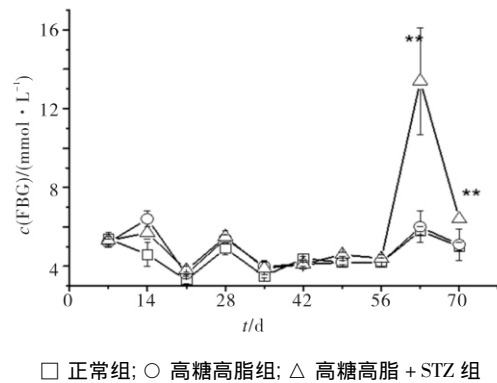


图 2 动物空腹血糖变化

Fig. 2 Fasting blood glucose changes of rats

### 2.4 大鼠口服葡萄糖耐量测定

注射 STZ 前, 注射 STZ 48 h 和 2 周后, 大鼠口服葡萄糖耐量测定结果见图 3。

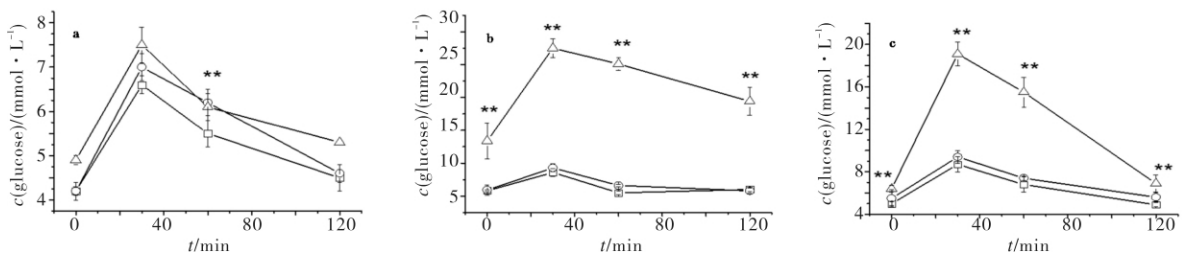


图 3 不同时间大鼠注射口服葡萄糖耐量结果

Fig. 3 OGTT results in rats at different time

由图 3 可见, 整个过程中高糖高脂组的葡萄糖耐量较正常组受损, 但无显著性差异。注射 STZ 前(图 3a) 各组大鼠在口服葡萄糖 30 min 后, 血糖均明显升高, 较 0 min 有显著性差异( $p < 0.01$ ); 60

min 时血糖明显降低, 120 min 时, 虽血糖值稍高于 0 min(0.4 mmol/L), 但已降至正常范围, 且无显著性差异。注射 STZ 48 h 后(图 3b), 高糖高脂 + STZ 组较正常组和高糖高脂组在两组 OGTT 实验中血糖明

显增高,葡萄糖耐量异常显著( $p < 0.01$ )。注射 STZ 2 周后(图 3c),高糖高脂 + STZ 组在各个时间点血糖值均明显下降约( $50 \pm 10$ )%,糖耐量异常有所恢复,因为小剂量的 STZ 未完全摧毁胰岛  $\beta$  细胞,仍具有分泌能力,随着  $\beta$  细胞功能的逐渐恢复,糖耐量能力也逐渐恢复,保持在胰岛素抵抗状态。

## 2.5 大鼠肝糖原含量和血浆胰岛素测试

大鼠肝糖原含量和血浆胰岛素测试结果见表

表 1 各组肝糖原含量、空腹血浆胰岛素水平、胰岛素抵抗指数的测定

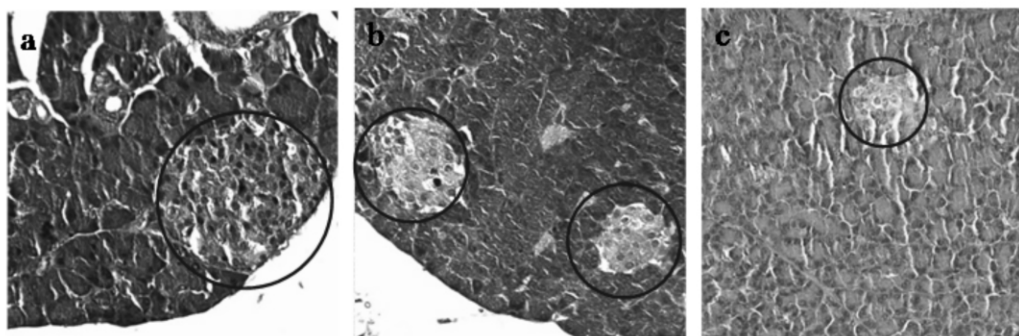
Tab. 1 Determination of the hepatic glycogen contents, fasting plasma insulin level, insulin resistance in each group

组别	肝糖原含量/( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	血浆胰岛素水平/( $\mu\text{IU} \cdot \text{L}^{-1}$ )	HOMA-IR
正常组	$6.9 \pm 0.2$	$1.4 \pm 0.5$	$0.3 \pm 0.1$
高糖高脂组	$6.8 \pm 0.3$	$1.4 \pm 0.4$	$0.3 \pm 0.1$
高糖高脂 + STZ 组	$6.7 \pm 0.1$	$1.1 \pm 0.3$	$0.2 \pm 0.1$

正常组、高糖高脂组和高糖高脂 + STZ 组的胰腺病理切片(20 $\times$ )见图 4。由图 4 可见模型组的胰

1. 由表 1 可见,正常组、高糖高脂组和高糖高脂 + STZ 组的肝糖原含量无显著性差异。故高糖高脂和 STZ 对大鼠肝糖原的合成无太大影响。3 组的胰岛素水平和胰岛素抵抗指数亦无统计学差异。可见高糖高脂饮食对大鼠胰岛  $\beta$  细胞分泌胰岛素的功能影响较小,小剂量 STZ 在一定程度上使该功能略有降低。

岛较正常组均出现不同程度萎缩(蓝圈标记为胰岛所在位置)。



a) 正常组; b) 高糖高脂组; c) 高糖高脂 + STZ 组

图 4 各组胰腺病理切片图

Fig. 3 Pathological section diagrams from rat pancreas of different groups

## 3 讨论

本研究表明:注射 STZ 前,高糖高脂组和高糖高脂 + STZ 组大鼠的体重明显升高( $p < 0.05$ );空腹血糖有不同程度的升高,但无显著性差异;糖耐量略有异常;故短期高糖高脂饮食使大鼠体重增加,血糖升高,由于高糖高脂对胰岛  $\beta$  细胞分泌胰岛素的功能有阻碍,使其分泌胰岛素能力下降。

注射 STZ 48 h 后,高糖高脂 + STZ 组的大鼠体重较高糖高脂组增加缓慢,空腹血糖急速上升,糖耐量异常改变,可见 STZ 可在短时间内破坏胰岛  $\beta$  细胞,使其分泌胰岛素能力骤降,引起血糖骤升。注射 STZ 2 周后,高糖高脂 + STZ 组大鼠血糖值较注射 STZ 48 h 虽均大幅度降低,但较正常组仍有差异( $p$

$< 0.05$ );糖耐量异常程度好转。实验后期,高糖高脂 + STZ 组大鼠的肝糖原、胰岛素水平和胰岛素抵抗指数与高糖高脂组相比无太大差异,与正常组相比虽略有下降,但无显著性差异。可见短时间内高糖高脂饮食可使空腹血糖升高,但对胰岛  $\beta$  细胞影响不大,小剂量的 STZ 可在短时间内抑制胰岛  $\beta$  细胞分泌胰岛素的能力,作用迅速但可自行修复,胰岛素敏感性指数虽然降低,但并未影响到肝脏糖代谢功能。

综上所述,高糖高脂饮食虽对大鼠血糖、糖耐量、肝糖原及胰岛素无显著影响,但它可使血糖升高,糖耐量异常,胰岛素减少,肝糖原合成减少。高糖高脂饮食 8 周,腹腔注射 30 mg/kg STZ 后,继续高糖高脂 2 周可形成胰岛素抵抗动物模型。

(下转第 64 页)

- target [J]. *Thin Solid Films*, 2002, 418 (1): 156-162.
- [34] Hong R, Shao J, He H, et al. ZnO: Zn phosphor thin films prepared by face-to-face annealing [J]. *J Cryst Growth*, 2005, 284 (3-4): 347-352.
- [35] Kale R B, Lokhande C D. Influence of air annealing on the structural, optical and electrical properties of chemically deposited CdSe nano-crystallites [J]. *Appl Surf Sci*, 2004, 223 (4): 343-351.
- [36] Yadav H K, Sreenivas K, Gupta V. Influence of postdeposition annealing on the structural and optical properties of cosputtered Mn doped ZnO thin films [J]. *J Appl Phys*, 2006, 99 (8): 083507-1-083507-8.
- [37] Zhong Z-Y, Gu J-H, Sun F-L, et al. Preparation and properties of gallium-doped zinc oxide transparent conductive thin films [J]. *J Synth Cryst*, 2012, 41 (5): 1337-1344.
- [38] Haacke G. New figure of merit for transparent conductors [J]. *J Appl Phys*, 1976, 47 (9): 4086-4089.
- [39] Zhou J, Zhong Z Y. Structural and optoelectrical properties of Ga-doped ZnO semiconductor thin films grown by magnetron sputtering [J]. *Cryst Res Technol*, 2012, 47 (9): 944-952.
- [40] 顾锦华, 钟志有, 何翔, 等. 真空退火处理对光敏薄膜及聚合物太阳能电池性能的影响 [J]. *中南民族大学学报: 自然科学版*, 2009, 28 (3): 30-33.
- [41] 李桂锋, 张群, 王颖华, 等. 高迁移率 IWO 透明导电氧化物薄膜制备及其退火处理研究 [J]. *真空科学与技术学报*, 2008, 28 (2): 95-98.
- [42] Ratana T, Amornpitoksuk P, Suwanboon S, et al. The wide band gap of highly oriented nanocrystalline Al doped ZnO thin films from sol-gel dip coating [J]. *J Alloy Compd*, 2009, 470 (3): 408-412.
- [43] 孙奉葵, 惠述伟. 衬底温度对射频溅射沉积 ZAO 透明导电薄膜性能的影响 [J]. *中南民族大学学报: 自然科学版*, 2009, 28 (2): 10-13.
- [44] Prepelita P, Medianu R, Sbarcea B, et al. The influence of using different substrates on the structural and optical characteristics of ZnO thin films [J]. *Appl Surf Sci*, 2010, 256 (9): 1807-1811.
- [45] Fallah H R, Ghasemi M, Hassanzadeh A, et al. The effect of deposition rate on electrical, optical and structural properties of tin-doped indium oxide (ITO) films on glass at low substrate temperature [J]. *Phys B*, 2006, 373 (1): 274-279.

(上接第 57 页)

### 参 考 文 献

- [1] Stren M P. Diabetes and cardiovascular disease: the "common" hypothesis [J]. *Diabetes*, 1995, 44: 369-374.
- [2] Sowers J R, Frohlich E D. Insulin and insulin resistance: impact on blood pressure and cardiovascular disease [J]. *Med Clin North Am*, 2004, 88 (1): 63-82.
- [3] 李蕾, 李之俊, 魏安奎, 等. 胰岛素抵抗动物模型和运动干预模型的建立和评价 [J]. *武汉体育学院学报*, 2009, 43 (8): 51-54.
- [4] 刘微, 李冀, 谢田, 等. 胰岛素抵抗动物模型的研究进展 [J]. *中医药信息*, 2008, 25 (6): 9-11.
- [5] 喻嵘, 成细华, 胡伟, 等. 骨骼肌特异性胰岛素样生长因子 1 及胰岛素双受体功能缺失鼠糖尿病发病及其相关炎症因子的变化 [J]. *中国临床康复*, 2007, 11 (45): 9075-9078.
- [6] 张闽, 杨晔, 刘敏, 等. 果糖诱导的高血压伴胰岛素抵抗大鼠血清脂联素肿瘤坏死因子  $\alpha$  浓度的变化 [J]. *心肺血管病杂志*, 2007, 26 (1): 48-50.
- [7] 赵永松, 李玉光, 赵晓云. 高脂饮食对大鼠胰岛素抵抗及氧化损伤指标的影响及意义 [J]. *山西医药杂志*, 2007, 36 (8): 675-677.
- [8] Elsner M, Guldbakke B, Tiedge M, et al. Relative importance of transport and alkylation for pancreatic beta-cell toxicity of streptozotocin [J]. *Diabetologia*, 2000, 43 (12): 1528-1533.
- [9] Saini K S, Thompson C, Winterford C M, et al. Streptozotocin at low doses induces apoptosis and at high doses causes necrosis in a murine pancreatic beta cell line [J]. *J Biochem Mol Biol Int*, 1996, 39 (6): 1229-1236.
- [10] 王俊贤, 李小军, 刘跃辉, 等. 高糖、高脂诱导大鼠肝脏胰岛素抵抗评价 [J]. *中国药师*, 2012, 15 (6): 747-751.
- [11] 文晓红. 链脲佐菌素致胰岛破坏及其与高血糖关系的实验研究 [D]. 重庆: 重庆医科大学, 2008: 25.
- [12] Gannon M C, Niewoehner C B, Nuttall F Q. Effect of insulin administration on cardiac glycogen synthase and synthase phosphatase activity in rats fed diets high in protein, fat or carbohydrate [J]. *J Nutr*, 1985, 115 (2): 243-251.