

口服补镁对实验性老年 2 型糖尿病大鼠胰岛素受体表达水平的影响

钟文雯, 方福生, 彭丽丽, 李春霖
解放军总医院 南楼内分泌科, 北京 100853

摘要: **目的** 观察口服补镁对老年 2 型糖尿病大鼠胰岛素受体表达水平的影响。**方法** 将老年 2 型糖尿病大鼠模型分为不同剂量的口服补镁组, 测定大鼠空腹血糖、血清胰岛素及胰腺和骨骼肌组织胰岛素受体表达水平。**结果** 高剂量补镁组 (2g/kg) 胰腺中胰岛素受体表达水平 (MOD 值) 由 0.331 ± 0.003 提高至 0.342 ± 0.002 ; 骨骼肌组织胰岛素受体表达水平由 0.345 ± 0.003 提高至 0.355 ± 0.002 , 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。同时, 高剂量补镁组空腹血糖由 $(16.85 \pm 0.76) \text{mmol/L}$ 降至 $(15.49 \pm 0.57) \text{mmol/L}$, 而血清胰岛素水平由 $(20.35 \pm 0.52) \mu \text{IU/ml}$ 降至 $(19.05 \pm 0.62) \mu \text{IU/ml}$ 。**结论** 口服补镁可显著提高老年 2 型糖尿病大鼠胰岛素受体表达水平, 改善胰岛素敏感性。

关键词: 镁; 2 型糖尿病; 胰岛素受体; 大鼠; 老年医学

中图分类号: R 587.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-1139(2012)09-0963-03 **DOI:** 10.3969/j.issn.1005-1139.2012.09.024
网络出版时间: 2012-04-23 11:08 **网络出版地址:** http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3275.R.20120423.1108.001.html

Effect of oral magnesium supplement on expression of insulin receptor in elderly rats with type 2 diabetes mellitus

ZHONG Wen-wen, FANG Fu-sheng, PENG Li-li, LI Chun-lin

Department of Endocrinology in South Building, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Corresponding author: Li Chun-lin. Email: lcl301@yahoo.com.cn

Abstract: Objective To observe the effect of oral magnesium supplement on expression of insulin receptor in elderly rats with type 2 diabetes mellitus (DM). **Methods** Elderly rats with type 2 DM were divided into different oral magnesium dose supplement groups. Fasting glucose, serum insulin, and insulin receptor expression levels in pancreas and skeletal muscles were measured. **Results** The expression level of insulin receptor increased from 0.331 ± 0.003 to 0.342 ± 0.002 and from 0.345 ± 0.003 to 0.355 ± 0.002 , respectively, while the fasting glucose and serum insulin levels decreased from $16.85 \pm 0.76 \text{mmol/L}$ to $15.49 \pm 0.57 \text{mmol/L}$ and from $20.35 \pm 0.52 \mu \text{IU/ml}$ to $19.05 \pm 0.62 \mu \text{IU/ml}$, respectively, in pancreas and skeletal muscles of the high dose (2g/kg) oral magnesium dose group ($P < 0.05$). **Conclusion** Oral magnesium supplement can significantly increase the expression level of insulin receptor and improve the insulin sensitivity in elderly rats with type 2 DM.

Key words: magnesium; type 2 diabetes mellitus; insulin receptor; mice; geriatrics

镁是人体重要的宏量无机盐营养素, 具有多种生理生化功能。有报道显示镁缺乏与糖尿病的发生发展相关^[1-2]。低血镁可导致胰岛素敏感性降低, 增加镁的摄入量可降低机体对胰岛素的需求, 提高糖的利用率, 降低 2 型糖尿病并发症的发病危险^[3-6]。我们之前的研究已证实补镁可显著改善糖尿病动物模型胰岛素抵抗的程度^[7]。然而镁补充改善胰岛素抵抗的机制尚不清楚^[8]。本研究通过给老年 2 型糖尿病大鼠模型补镁的方法, 检测胰腺和骨骼肌组织胰岛素受体表达等指标, 探讨镁对 2 型糖尿病大鼠胰岛素受体表达的影响。

材料和方法

1 实验试剂 链脲佐菌素 (streptozocin, STZ) 购自美国 Sigma 公司; 柠檬酸、柠檬酸钠购自上海化工试剂公司; 氧化镁 (分析纯) 购自国药集团化学试剂有限公司; 大鼠胰岛素放免试剂盒购自北京北方生物技术研究所; 镁测定试剂盒购自南京建成生物工程研究所; 胰岛素受体一抗 (BAO499)、二抗 (SA1022) 购自武汉博士德生物工程有限公司。

2 动物模型制备 健康 12 月龄 SD 大鼠适应性喂养 1 周后分为正常对照与造模组。造模动物组 (共 40 只) 给予高糖高脂饲料 (购自协和医科大学动物所), 成分为 10% 糖、26% 猪油、52% L-485 饲料粉、10% 蛋黄粉、0.3% 胆盐、0.05% 纤维素、1% 矿物质。喂养 60d 后腹腔注射链脲佐菌素 25mg/kg, 1 周后断尾取血测空腹血糖, 空腹血糖 $\geq 10.0 \text{mmol/L}$ 为模型成功。正常对照大鼠 (10 只) 给予普通饲料喂

收稿日期: 2011-12-20

修回日期: 2012-02-25

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30901187)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30901187)

作者简介: 钟文雯, 女, 博士, 主治医师。研究方向: 老年 2 型糖尿病的防治。Email: chinazhongww@yahoo.com.cn

通信作者: 李春霖。Email: lcl301@yahoo.com.cn

养及腹腔注射等体积柠檬酸钠缓冲液处理。两组大鼠均自由饮食。

3 实验分组与处理 将造模成功动物随机分为不同剂量补镁组, 每组 10 只, 分别给予氧化镁(以镁计)0、0.2、1、2g/kg, 连续 4 周。处死动物前空腹 12h, 尾尖采血测定血糖含量; 在腹腔注射水合氯醛麻醉条件下, 腹主动脉采血并分离血清, 取胰腺组织和股四头肌标本进行指标检测。

4 指标测定 胰腺和骨骼肌胰岛素受体表达用免疫组化法测定: 将大鼠胰腺和股四头肌标本经 4% 多聚甲醛固定, 石蜡包埋、切片, SABC 免疫组化法反应, DAB 显色脱水、透明、封片, 高倍显微镜观察和 Image-Pro Plus 图像软件进行光密度分析。各组胰岛素受体蛋白表达水平以平均光密度值表示。血清胰岛素含量用放射免疫法测定: 取血清 0.1ml 加入沉淀管中, 经加入标记物抗体、37℃温育、分离剂、离心等处理后测定沉淀管的放射性计数。根据标准管及非特异性管放射性计数绘制 log-logit 标准曲线, 计算血清胰岛素的含量。血糖水平用葡萄糖氧化酶法测定: 取微量尾尖血滴于罗康全活力型血糖仪配套试纸上, 读取全血血糖数值。血清镁离子浓度用络合指示剂法测定: 取血清 0.01ml 加入测定管, 按照试剂盒提供方法操作后, 在波长 540nm 处测各管吸光度值并计算镁离子浓度。

5 统计学处理 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 应用 SPSS17.0 软件进行方差分析及 Tukeys post hoc 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

1 胰腺和骨骼肌组织细胞 IR 的表达水平 胰岛素受体蛋白表达呈棕黄色颗粒, 糖尿病大鼠骨骼肌和胰腺胰岛素受体蛋白阳性表达细胞数量较正常对照少, 染色浅; 高剂量补镁组胰岛素受体阳性表达细胞数较糖尿病组明显增加, 染色亦较深。胰岛素受体表达水平随补镁剂量增加呈升高趋势, 其中高剂量组和糖尿病对照组骨骼肌细胞切片的 MOD 值分别是 0.355 ± 0.004 和 0.345 ± 0.003 , 胰腺组织的 MOD 值分别是 0.342 ± 0.002 和 0.331 ± 0.003 , 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 1。

2 补镁对大鼠胰岛素敏感性指标的影响 糖尿病对照组血清镁离子浓度较正常大鼠明显偏低, 空腹血糖及空腹胰岛素水平偏高 ($P < 0.05$); 2g/kg 补镁组空腹血糖和胰岛素水平较糖尿病组显著降

低而血清镁离子浓度升高。随补镁剂量增加呈现血糖水平下降和血镁水平升高趋势。见表 1。

讨论

以胰岛素抵抗为主要特征的 2 型糖尿病是中老年人群中常见的代谢异常性疾病。组织对胰岛素敏感性下降导致胰岛素分泌量虽有升高但不足以将血糖控制在正常范围。胰岛素受体的表达受多种外界因素影响, 如吸烟、过量饮酒、茶色素及 17- β 雌二醇等^[9]。胰腺是胰岛素的分泌器官, 与糖代谢关系最为密切; 而骨骼肌则是机体利用葡萄糖的主要外周组织, 有报告显示骨骼肌承担了 80% 以上的胰岛素介导的葡萄糖摄取^[10]。

本实验采用高脂高糖饲料喂饲加腹腔注射链脲佐菌素 (STZ) 的方法制备糖尿病动物模型, 造模成功时大鼠为 14 月龄, 相当于人类 50 岁左右年龄段, 适宜模拟老年人糖尿病的病理生理过程, 为多项增龄相关研究所采用^[11-12]。高脂高糖饲料喂饲 2 月后大鼠的空腹血糖及胰岛素水平均有升高, 出现胰岛素抵抗, 给予腹腔注射 STZ 后空腹血糖进一步升高, 达到 10mmol/L 以上, 提示伴有

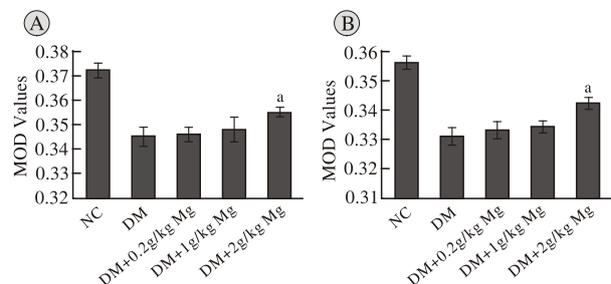


图 1 各组大鼠骨骼肌和胰腺胰岛素受体的表达

A: Skeletal muscle; B: Pancreas

Fig 1 Expression of insulin receptor in skeletal muscle (A) and pancreas (B) of different groups

Insulin receptor expression in skeletal muscle (A) and pancreas (B) was expressed as MOD values and brown stains. Insulin receptor expression was reduced in diabetes control group (DM), but significantly elevated by 2g/kg Mg supplementation. NC, normal control group, ^a $P < 0.05$, vs diabetes control group

表 1 各实验组血镁及胰岛素敏感性相关指标的比较

Tab1 Serum magnesium and insulin sensitivity-related parameters in different groups ($\bar{x} \pm s$)

Group	FBG(mmol/L)	FIns(μ IU/ml)	Mg(mmol/L)
Normal control	5.02 \pm 0.49	15.10 \pm 0.44	0.762 \pm 0.025
Diabetes control	16.85 \pm 0.76 ^a	20.35 \pm 0.52 ^a	0.635 \pm 0.032 ^a
DM+0.2g/kg Mg	16.36 \pm 0.72 ^a	20.00 \pm 0.46 ^a	0.662 \pm 0.026 ^a
DM+1g/kg Mg	16.25 \pm 0.66 ^a	19.96 \pm 0.54 ^a	0.680 \pm 0.035 ^a
DM+2g/kg Mg	15.49 \pm 0.57 ^{ab}	19.05 \pm 0.62 ^{ab}	0.712 \pm 0.020 ^{ab}

^a $P < 0.05$, vs normal control group; ^b $P < 0.05$, vs diabetes control group

胰岛素抵抗的老年 2 型糖尿病大鼠模型造模成功。该模型血清镁水平降低,与文献报道的 2 型糖尿病患者体内镁含量明显减低^[13]相吻合。

本研究采用国际上相关研究中常用的补镁剂量进行补镁处理,结果可见高剂量补镁组(2g/kg)血清镁水平较糖尿病对照组升高,而空腹血糖和胰岛素水平均有所下降,说明口服补镁可提高老年 2 型糖尿病大鼠血镁水平,降低大鼠空腹血糖,改善胰岛素抵抗程度。本实验结果与文献报道相吻合^[14]。胰岛素受体表达水平的检测结果显示,糖尿病对照组胰腺和骨骼肌组织细胞中胰岛素表达水平均较正常对照组显著降低,而高剂量补镁组胰岛素受体表达水平则较糖尿病对照组显著升高,三个剂量组也呈现随补镁剂量增加胰岛素受体表达水平逐渐升高的趋势,说明给老年 2 型糖尿病大鼠补充镁可提高其胰岛素受体表达水平,改善胰岛素抵抗可能是通过上调胰岛素受体表达水平而实现的。

参考文献

- 1 Sharma A, Dabla S, Agrawal RP, et al. Serum magnesium : an early predictor of course and complications of diabetes mellitus [J]. J Indian Med Assoc, 2007, 105 (1): 16, 18, 20.
- 2 Seyoum B, Siraj ES, Saenz C, et al. Hypomagnesemia in ethiopians with diabetes mellitus [J]. Ethn Dis, 2008, 18 (2): 147-151.
- 3 Bo S, Pisu E. Role of dietary magnesium in cardiovascular disease prevention, insulin sensitivity and diabetes [J]. Curr Opin Lipidol, 2008, 19 (1): 50-56.
- 4 Barbagallo M, Dominguez LJ, Resnick LM. Magnesium metabolism in hypertension and type 2 diabetes mellitus [J]. Am J Ther, 2007, 14 (4): 375-385.
- 5 Whang R, Sims G. Magnesium and potassium supplementation in the prevention of diabetic vascular disease [J]. Med Hypotheses, 2000, 55 (3): 263-265.
- 6 Rumawas ME, Mckeown NM, Rogers G, et al. Magnesium intake is related to improved insulin homeostasis in the framingham offspring cohort [J]. J Am Coll Nutr, 2006, 25 (6): 486-492.
- 7 钟文雯,谷昭艳,方福生,等.口服补镁对老年 2 型糖尿病大鼠胰岛素敏感性的影响 [J]. 军医进修学院学报,2011,32 (8): 858-859.
- 8 Anetor JI, Senjobi A, Ajose OA, et al. Decreased serum magnesium and zinc levels : atherogenic implications in type-2 diabetes mellitus in nigerians [J]. Nutr Health, 2002, 16 (4): 291-300.
- 9 唐东华,姚起新,亓竹青,等.17 β -雌二醇上调去卵巢胰岛素抵抗大鼠骨骼肌中胰岛素受体的表达 [J]. 中华内分泌代谢杂志, 2010, 26 (8): 695-698.
- 10 曲巍,郝丽萍,陈轶英,等.长期酒精摄入对大鼠骨骼肌组织 IR, IRS-1 和 PI-3K 基因表达的影响 [J]. 卫生研究, 2007, 36 (2): 172-175.
- 11 崔美芝,刘浩,李春艳.衰老动物模型的建立及评价 [J]. 中国比较医学杂志, 2006, 16 (2): 118-121.
- 12 杜英臻,谷昭艳,李春霖,等.用高胰岛素-正葡萄糖钳夹实验探讨增龄对 Wistar 大鼠胰岛素敏感性的影响 [J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2009, 11 (5): 369-372.
- 13 Barbagallo M, Gupta RK, Dominguez LJ, et al. Cellular ionic alterations with age : relation to hypertension and diabetes [J]. J Am Geriatr Soc, 2000, 48 (9): 1111-1116.
- 14 李金荣,牛静秀,范乐平.糖尿病镁代谢与胰岛素抵抗的关系 [J]. 山东医药, 2005, 45 (13): 52.