

文章编号:1005-6947(2008)09-0887-05

· 基础研究 ·

不同剂量胰升血糖素样肽-1对大鼠肝切除术后糖代谢的影响

贾乾斌, 刘自明, 彭兵, 李双庆, 吴言涛

(四川大学华西医院 普通外科, 四川 成都 610041)

摘要:目的 探讨不同剂量胰升血糖素样肽-1 (GLP-1)对大鼠肝切除术后早期糖代谢紊乱的影响。方法 方法通过大鼠肝切除术观察手术后1 d葡萄糖耐量的改变与GLP-1,胰岛素(I)和胰升血糖素(G)的关系,以及静脉输注不同剂量GLP-1的影响。结果 大鼠肝切除术后第1天静脉葡萄糖耐量实验的峰值血糖及30 min血糖均明显高于正常对照组(均 $P < 0.01$),且曲线下面积(AUC 0-30)也明显高于正常对照组($P < 0.01$);GLP-1低剂量组术后1 d峰值血糖与肝切除手术组间的差异无显著性($P > 0.05$);GLP-1高剂量组术后1 d峰值血糖明显低于肝切除手术组和GLP-1低剂量组($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$),30 min血糖明显低于肝切除手术组($P < 0.01$),AUC 0-30明显低于肝切除手术组和GLP-1低剂量组(均为 $P < 0.01$)。肝切除手术组术后1 d胰岛素明显下降,胰升血糖素明显升高($P < 0.05$),致I/G值下降。GLP-1低剂量组术后1 d胰岛素明显低于高剂量组($P < 0.05$),胰升血糖素则明显升高($P < 0.05$),致I/G值明显低于高剂量组($P < 0.01$)。结论 大鼠肝切除术后早期,GLP-1的促进胰岛素分泌和抑制胰升血糖素释放的作用减弱,增加剂量后仍可增强其效应,进一步改善机体对葡萄糖的利用。 [中国普通外科杂志,2008,17(9):887-891]

关键词: 肝切除术; 胰升血糖素样肽-1; 糖代谢; 大鼠

中图分类号:R 657.3

文献标识码:A

The effect of glucagon-like peptide-1 in a dose related manner on glucose metabolism after hepatectomy in rats

JIA Qianbin, LIU Ziming, PENG Bing, Li Shuangqing, WU Yantao

(Department of General Surgery, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effect of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) in a dose related manner on glucose metabolism after 65% hepatectomy in rats. **Methods** We determined the serum glucose levels of hepatomized rats at 0, 5, 10, 20, and 30 minutes after an intravenous glucose load (IVGTT, 0.5 g/kg glucose) on the first postoperative day, and the changes of blood glucose, serum insulin and glucagon concentrations of hepatomized rats that received the volum load with normal saline or 0.3 nmol/kg GLP-1, 0.45 nmol/kg GLP-1 respectively. Blood was drawn for determination of glucose (glucose oxidase), insulin, glucagon, and GLP-1 (radioimmunoassay). **Results** The peak glucose and 30-minute glucose levels and the area under the curve (AUC 0-30) were significantly higher in the hepatomized rats compared to the control rats, which had not undergone any operation and received a same intravenous glucose load (0.5 g/kg glucose with normal saline) ($P < 0.05$), but were not significantly different compared to the rats that received the same volum load with 0.3 nmol/kg GLP-1 after liver resection ($P > 0.05$). Nevertheless

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39600143)。

收稿日期:2008-04-07; **修订日期:**2008-08-19。

作者简介:贾乾斌,男,四川大学华西医院主任医师,主要从事肝胆外科基础与临床方面的研究。

通讯作者:贾乾斌 E-mail:qb_jia@msn.com

the peak glucose and 30-minute glucose levels and AUC 0 – 30 of the hepatomized rats that received with 0.45 nmol/kg GLP-1 were significantly lower compared to the rats that received the same volum load with normal saline or 0.3 nmol/kg GLP-1 respectively after liver resection. There was an increasing postoperative serum concentration of glucose, insulin, glucagon on the first day, then, the serum glucose concentration was significantly lowered after infusion of GLP-1 in rats undergoing hepatectomy ($P < 0.01$), which might reach the glucose range in controls in a dose-dependent manner. Lowering of blood glucose was achieved by a significant rise of insulin secretion ($P < 0.05$) and a suppression of glucagon release ($P < 0.05$), with a potent stimulation of insulin secretion with infusion of 0.45 nmol/kg GLP-1 on the first postoperative day.

Conclusions In the early stage after hepatectomy in rats, the effect of GLP-1 in increasing insulin secretion and suppressing glucagon release were decreased, and increase of its dosage can augment these effects and further improve utilization of glucose.

[Chinese Journal of General Surgery, 2008, 17(9): 887 – 891]

Key words: Hepatectomy; Glucagon-like Peptide-1; Glucose Metabolism; Rats

CLC number: R 657.3

Document code: A

创伤手术可导致机体产生应激反应,临床上常表现为血糖增高,葡萄糖耐量下降,是胰岛素抵抗的结果。持续而过度的应激反应所引起的强烈内分泌代谢紊乱对机体是有害的,可导致感染等并发症增加,住院时间延长,病死率提高^[1-2]。近来的研究发现,胰升血糖素样肽-1 (glucagon-like peptide-1, GLP-1) 可使 2 型糖尿病患者的血糖正常化^[3],但 GLP-1 对肝切除术后早期糖代谢紊乱有何影响目前还不明了,本研究对此进行了初步探讨。

1 材料与方 法

1.1 材 料

SD 大鼠 48 只,雌雄不论,体重 220 ~ 250 g,由四川大学实验动物中心提供,符合一级实验动物标准。GLP-1 购于 Sigma 公司,胰岛素(I)、胰升血糖素(G)放免药盒为解放军总医院科技开发中心产品,GLP-1 放免药盒购于 Peninsula Laboratories 公司。One Touch Basic 血糖仪为美国强生公司产品。

1.2 实 验 方 法

1.2.1 GLP-1 对肝切除术后葡萄糖耐量影响的实验 将 24 只大鼠随机分 4 组,每组 6 只。(1) 正常对照组(1 组):实验前禁食 12 h,用 5% 氯醛[按 300 mg/kg(体重)]腹腔注射麻醉后行右颈外静脉插管,注射 50% 葡萄糖[按 0.5 g/kg(体重)] + 生理盐水,2 min 内完成。于 0, 5, 10, 20, 30 min 5 个时点分别从左颈外静脉采血 1 滴,用 One Touch Basic 血糖仪测定血糖值。(2) 肝切除手术组(2 组):按 Higgins 等^[4]法切除肝左外叶、左中叶及中叶(约 65%)。术后自由饮水并摄食

标准饲料。术后 1 d 上午完全按 1 组方法进行葡萄糖耐量实验。(3) GLP-1 低剂量组(3 组):按肝切除手术组方法切肝及摄食标准饲料,术后 1 d 上午按 1 组方法进行葡萄糖耐量实验,但注射 50% 葡萄糖 + GLP-1 [按 0.3 nmol/kg(体重)], 2 min 内注射完。(4) GLP-1 高剂量组(4 组):按肝切除手术组方法切肝及摄食标准饲料,术后 1 d 上午按 1 组方法进行葡萄糖耐量实验,但 GLP-1 按 0.45 nmol/kg(体重)给予,2 min 内注射完。

1.2.2 GLP-1 对肝切除术后胰岛素和胰升血糖素影响的实验 将另 24 只大鼠随机分 4 组,每组 6 只。(1) 正常对照组(5 组):禁食及麻醉方法同前,经腹主动脉放血处死动物并收集血标本;处死前 5 min 从右颈外静脉插管并注射 50% 葡萄糖[按 0.5 g/kg(体重)] + 生理盐水,2 min 内注射完。(2) 肝切除手术组(6 组):同 2 组方法切肝,术后自由饮水并摄食标准饲料。术后 1 d 上午按 5 组方法处理后处死大鼠并收集血标本。(3) GLP-1 低剂量组(7 组):同 2 组切肝及摄食标准饲料,术后 1 d 上午处死并收集血标本;处死前 5 min 从右颈外静脉插管并注射 50% 葡萄糖 + GLP-1 [按 0.3 nmol/kg(体重)], 2 min 内注射完。(4) GLP-1 高剂量组(8 组):同 2 组切肝及摄食标准饲料。术后 1 d 处死动物并收集血标本;处死前 5 min 从右颈外静脉插管并注射 50% 葡萄糖 + GLP-1 [按 0.45 nmol/kg(体重)], 2 min 内注射完。

1.3 检 测 指 标 与 方 法

计算每个时点葡萄糖浓度的均数,曲线下面积(area under the curve, AUC 0 – 30)按梯形原理^[5]计算。血糖用自动生化分析仪测定;GLP-1, I, G 用放射免疫分析法测定,并计算 I/G 值。

1.4 统计学处理

资料结果用表示。统计方法采用 SPSS 11.0 软件进行方差分析和 t 检验。

2 结果

2.1 手术对葡萄糖耐量的影响

肝切除手术组(2组)术后1d峰值血糖及30 min血糖均明显高于正常对照组(1组)($F = 5.357$ 及 9.437 , $P < 0.01$);且AUC 0-30也明显高于1组($F = 6.925$, $P < 0.01$)(表1)(图1)。提示手术后机体对葡萄糖的处理能力下降。

2.2 不同剂量 GLP-1 对手术后葡萄糖耐量的影响

影响

GLP-1 低剂量组(3组)术后1d峰值血糖与肝切除手术组(2组)间的差异无显著性($t = -0.664$, $P > 0.05$);高剂量组(4组)术后1d峰值血糖明显低于2组和3组($t = -3.155$, $P < 0.05$; $t = -3.376$, $P < 0.01$),30 min血糖明显低于2组($F = 9.437$, $P < 0.01$),且AUC 0-30也明显低于2和3组($F = 6.925$, $P < 0.01$)。2组和3组间AUC 0-30差异无显著性($t = 0.074$, $P > 0.05$)(表1)。提示手术后早期GLP-1促进机体葡萄糖利用的能力减弱,增加GLP-1剂量仍可改善机体对葡萄糖的利用。

表1 不同剂量 GLP-1 对大鼠肝切除术后葡萄糖耐量的影响

分组	n	血糖 (mmol/L)					AUC 0-30 (mmol/L)
		0 min	5 min	10 min	20 min	30 min	
正常对照组(1组)	6	4.40 ± 0.67	13.60 ± 0.92	12.05 ± 0.53	10.50 ± 0.74	10.22 ± 0.88	25.86 ± 2.93
肝切除手术组(2组)	6	4.83 ± 0.58	14.78 ± 1.92 ²⁾	13.53 ± 1.28 ¹⁾	13.05 ± 1.28 ²⁾	12.28 ± 1.49 ²⁾	30.59 ± 4.61 ²⁾
GLP-1 低剂量组(3组)	6	4.57 ± 0.59	15.63 ± 2.48	14.05 ± 1.89	11.68 ± 1.91	9.92 ± 2.04 ³⁾	30.34 ± 6.87
GLP-1 高剂量组(4组)	6	4.35 ± 0.85	11.65 ± 1.49 ^{3),6)}	10.62 ± 1.59 ^{4),6)}	10.43 ± 1.61 ³⁾	9.46 ± 1.41 ⁴⁾	22.20 ± 5.48 ^{3),5)}

注:与正常对照组比较,1) $P < 0.05$, 2) $P < 0.01$;与肝切除手术组比较,3) $P < 0.05$, 4) $P < 0.01$;与GLP-1低剂量组比较,5) $P < 0.05$, 6) $P < 0.01$

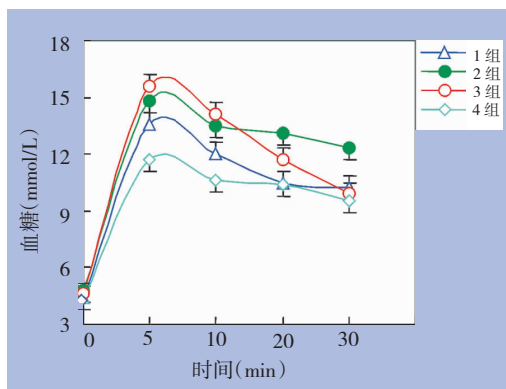


图1 不同剂量 GLP-1 对术后1d大鼠葡萄糖耐量的影响

2.3 GLP-1 对大鼠肝切除术后血糖、胰岛素与胰升血糖素的影响

2.3.1 肝切除术对血糖、胰岛素与胰升血糖素的影响 肝切除手术组(6组)大鼠术后1d胰岛素较正常对照组(5组)明显下降,胰升血糖素明

显升高($P < 0.01$),致I/G值明显下降(表2)。提示大鼠肝切除后机体对葡萄糖的利用减弱。

2.3.2 不同剂量 GLP-1 对肝切除术后血糖、胰岛素与胰升血糖素的影响 GLP-1 低剂量组(7组)术后1d胰岛素明显低于高剂量组(8组)($P < 0.05$),胰升血糖素则明显高于8组($P < 0.05$),致I/G值明显低于8组($P < 0.01$)(表2)。提示大鼠肝切除后早期,外源性GLP-1促进胰岛素分泌和抑制胰升血糖素释放的作用减弱,而增加剂量仍可增强其效应,改善机体对葡萄糖的利用。

肝切除(6组)后静脉输注葡萄糖可使血浆GLP-1(内源性)明显升高,而同时输注外源性GLP-1(7组),特别是输注大剂量GLP-1(0.45 nmol/kg)后(8组)血浆GLP-1则明显下降($P < 0.01$)。说明输注外源性GLP-1不仅可以改善机体对葡萄糖的利用,还可诱导内源性GLP-1的代谢清除。

表 2 不同剂量 GLP-1 对大鼠肝切除术后血糖、胰岛素与胰升血糖素的影响

分组	n	血糖 (mmol/L)	I (nmol/L)	G (nmol/L)	I/G 值	GLP-1 (pmol/L)
正常对照组 (5 组)	6	12.90 ± 1.17	11.01 ± 4.40	94.11 ± 25.17	0.13 ± 0.07	5.05 ± 2.40
肝切除手术组 (6 组)	6	13.20 ± 1.27	10.82 ± 3.43	146.29 ± 26.63 ¹⁾	0.07 ± 0.03	85.20 ± 40.02 ¹⁾
GLP-1 低剂量组 (7 组)	6	13.52 ± 2.26	6.37 ± 2.60 ²⁾	132.39 ± 24.77	0.05 ± 0.01	69.49 ± 13.88
GLP-1 高剂量组 (8 组)	6	11.05 ± 0.92 ^{3),4)}	13.36 ± 4.68 ⁴⁾	113.65 ± 19.32 ²⁾	0.11 ± 0.02 ²⁾⁵⁾	40.39 ± 13.27 ²⁾⁵⁾

注:与正常对照组比较, 1) $P < 0.01$; 与肝切除手术组比较, 2) $P < 0.05$, 3) $P < 0.01$; 与 GLP-1 低剂量组比较, 4) $P < 0.05$, 5) $P < 0.01$

3 讨论

创伤手术后的“应激性糖尿病”是机体的应激反应之一,表现为葡萄糖耐量下降^[6],伴有高胰升血糖素及高胰岛素血症^[7]。本实验观察结果基本符合这些规律。为了改善应激性糖代谢紊乱,有些学者^[1-2]主张采用强化胰岛素治疗,将血糖控制在正常范围内,可以降低重症患者的病死率。但由于临床可操作性差和有发生低血糖综合征的危险,其临床应用受到很大限制。GLP-1 的降糖作用具有葡萄糖依赖的特性,可避免低血糖症的发生^[8],可能更适合应激性高血糖症的控制。

Meier 等^[3]给 2 型糖尿病患者静脉输注 GLP-1,可使其血糖正常化;以同法给接受外科手术的 2 型糖尿病患者予 GLP-1,血糖水平明显降低,胰岛素分泌明显增加,胰升血糖素分泌明显受到抑制^[9]。Hvidberg 等^[10]研究发现,肠道 L 细胞分泌的 GLP-1 通过胰岛细胞膜上 G 蛋白偶联的特异性受体结合,引起 cAMP 依赖性胞浆钙浓度增加,刺激胰岛素分泌增加,抑制胰升血糖素释放,以此方式参与血糖的调节。GLP-1 还可直接影响周围组织对葡萄糖的摄取,增加脂肪细胞对胰岛素的介导的葡萄糖的摄取^[11],促进肝糖元和肌糖原的合成^[12],从而达到降低血糖、促进机体对葡萄糖利用的目的。

本研究发现,在肝切除后(5 组)早期(24 h)静脉注射葡萄糖,血 GLP-1 明显升高,而胰岛素分泌并未见升高;此时输注常规剂量(0.3 nmol/kg)的外源性 GLP-1(6 组),其刺激胰岛素分泌,抑制胰升血糖素释放的作用减弱,因而机体利用葡萄糖的效能降低;但增加剂量(0.45 nmol/kg)后(8 组)仍可明显刺激胰岛素分泌,抑制胰升血糖素的释放,使血糖水平明显下降,葡萄糖耐量增加。肝硬化患者常有葡萄糖耐量下降,同时伴有血清胰岛素水平升高 6 倍,而 GLP-1 也明显高于正常人;肝硬化患者口服葡萄糖后血糖明显升

高,GLP-1 分泌增加 2 倍,而胰岛素分泌(由 C 肽测定计算)峰值延迟至 50 ~ 55 min(正常人为 20 ~ 25 min)。提示胰岛素早期分泌反应受损^[13],其原因可能是 GLP-1 的作用受到抵抗,也可能是胰岛 B 细胞反应性下降的结果。Siegel 等^[14]通过体外实验发现,GLP-1 以剂量依赖方式促进肝硬化大鼠之胰岛释放胰岛素,但与对照组相比较,其作用明显减弱。说明肝硬化时胰腺内分泌功能受损,表现为胰岛素分泌释放减少,而 GLP-1 可以明显改善胰岛的胰岛素分泌。Ding 等^[15]研究发现给 ob/ob 小鼠注射 Exendin-4 (GLP-1 受体激动剂),可以改善胰岛素敏感性,逆转脂肪肝。

本实验提示肝切除术后早期也可能伴有 GLP-1 抵抗,还可能存在胰岛分泌功能损害和胰岛素敏感性下降,此时运用外源性 GLP-1 可刺激胰岛素分泌,改善周围组织对胰岛素的敏感性,抑制胰升血糖素释放,从而促进了机体对葡萄糖的利用,血糖水平下降,且其作用呈剂量依赖性。

参考文献:

- [1] Van den Berghe G. How does blood glucose control with insulin save lives in intensive care? [J]. *J Clin Invest*, 2004, 114(9): 1187 - 1195.
- [2] Van den Berghe G, Wouters P, Weekers F, et al. Intensive insulin therapy in critically ill patients [J]. *New Engl J Med*, 2001, 345(19): 1359 - 1367.
- [3] Meier JJ, Gallwitz B, Salmen S, et al. Normalization of glucose concentrations and deceleration of gastric emptying after solid meals during intravenous glucagon-like peptide 1 in patients with type 2 diabetes [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, 88(6): 2719 - 2725.
- [4] Higgins GM, Anderson RM. Experimental pathology of the liver. I. Restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal [J]. *Arch Pathol*, 1931, 12(2): 186 - 202.
- [5] Mori K, Ozawa K, Yamamoto Y, et al. Response of hepatic mitochondrial redox state to oral glucose load. Redox tolerance test as a new predictor of surgical risk in hepatectomy [J]. *Ann Surg*, 1990, 211(4): 438 - 446.
- [6] 贾乾斌,汪静,赵纪春,等. 胰升血糖素样肽-1 对肝切除术后葡萄糖耐量的影响 [J]. *中国普外基础与临*

- 床杂志,2001,8(4):215-217.
- [7] 李晓武,吴言涛. 应激状态下胰岛素抵抗机理的探讨[J]. 中华实验外科杂志,1992,9(增刊):61-62.
- [8] Meier JJ, Gallwitz B, Nauck MA. Glucagon-like peptide 1 and gastric inhibitory polypeptide: potential applications in type 2 diabetes mellitus[J]. *Bio Drugs*, 2003, 17(2): 93-102.
- [9] Meier JJ, Weyhe D, Michaely M, *et al.* Intravenous glucagon-like peptide 1 normalizes blood glucose after major surgery in patients with type 2 diabetes [J]. *Crit Care Med*, 2004, 32(3): 848-851.
- [10] Hvidberg A, Nielsen MT, Hilsted J, *et al.* Effect of glucagons-like peptide-1 (proglucagon 78-107 amide) on hepatic glucose production in healthy man [J]. *Metabolism*, 1994, 43(1): 104-108.
- [11] Miki H, Namba M, Nishimura T, *et al.* Glucagon-like peptide-1 (7-36) amide enhances insulin stimulated glucose uptake and decreases intracellular cAMP content in isolated rat adipocytes [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1996, 1312(2): 132-136.
- [12] Villanueva-Penacarrillo ML, Alcantara AI, Clemente F, *et al.* Potent glycogenic effect of GLP-1 (7-36) amide in rat skeletal muscle [J]. *Diabetologia*, 1994, 37(11): 1163-1166.
- [13] Kruszynska YT, Ghatei MA, Bloom SR, *et al.* Insulin secretion and plasma levels of glucose-dependent insulinotropic peptide and glucagon-like peptide 1 [7-36 amide] after oral glucose in cirrhosis [J]. *Hepatology*, 1995, 21(4): 933-941.
- [14] Siegel EG, Seidenstücker A, Gallwitz B, *et al.* Insulin secretion defects in liver cirrhosis can be reversed by glucagon-like peptide-1 [J]. *J Endocrinol*, 2000, 164(1): 13-19.
- [15] Ding X, Saxena NK, Lin S, *et al.* Exendin-4, a Glucagon-Like Protein-1 (GLP-1) Receptor Agonist, Reverses Hepatic Steatosis in ob/ob Mice [J]. *Hepatology*, 2006, 43(1): 173-181.

本刊启用远程稿件处理系统

为了提高办公效率,《中国普通外科杂志》编辑部将于2008年1月1日起正式启用“网络编辑管理系统”。请作者登陆网站 <http://www.zpwz.net> 按照以下步骤进行在线投稿。

投稿步骤

1. 选择“作者投稿”一栏,进入“作者投稿”界面。

如果是第一次投稿,需要先注册本系统:点“注册”进入注册流程,按照系统提示进行注册,请注意,“*”选项为用户必填项!

2. 点“作者投稿”,选择左边的“我要投稿”一栏,按照投稿向导的提示进行。

(1) 输入稿件中文文题和英文文题。

(2) 输入作者。若所投稿件为多人撰写,在作者信息下添加该文的合作作者,合作作者可以只添加姓名即可。此处需注意,如该文为n位作者撰写,需在填写完n位作者后,再点一下“继续添加作者”后方可点“下一步”,否则最后一个作者本系统将不会显示。

(3) 第三步“学科类型”、“专业类型”、“创作类型”、“投稿栏目”、“文章分类号/PACS码”可以不选。

如果该文有基金支持,请在“基金类型”下的长条框中输入(包括基金号);如果有多个,请用分号分开。输完以后点“下一步”。

(4) 输入关键词。请注意各词之间一定要用分号隔开。然后点击“添加”。再点“下一步”。

(5) 输入中英文摘要后再单击“下一步”

(6) 根据系统提示在相应的栏目中输入你要回避或推荐的专家,也可以不写。单击“下一步”,检查稿件的基本信息,如有需要修改的地方,点击“修改”;再确认无误后,单击“下一步”进入稿件上传步骤。

(7) 在“稿件上传操作区”点“浏览”,选中要上传的稿件后,点击右边的“上传稿件”。待弹出“稿件上传完毕,请继续下一步”的对话框时,点“确定”,再点“下一步”继续投稿。请注意,这一步可能因您的网速和稿件的大小,所需时间略有不同,请耐心等待,如果长时间仍没有弹出“稿件上传完毕,请继续下一步”的对话框,可重新尝试,确保稿件上传方可进行下一步。

(8) 核对完所投稿件的信息后请点“下一步”。如果您对编辑部有什么特别的要求或说明,请在“给编辑部留言”框中留下您的意见,点“立即提交”,系统会提示“***同志:非常感谢您对本刊物的支持!您的来稿《***》我们已经收到,请等待编辑部通知。查询请登录编辑部网站 <http://www.zpwz.net> 或咨询编辑部邮箱:pw4327400@126.com”。

友情提示

网上投稿后,请邮寄1份纸质稿(题名页与正文页均需用A4纸4号字隔行打印)、单位介绍信(注明材料真实可靠,无一稿多投和无科研机密资料泄密)及60元稿件处理费至本编辑部。

为防作者上传稿件不成功,请作者E-mail致本编辑部,信中请注明投稿时间、文题、作者姓名,并将稿件以附件形式发过来。

编辑部地址:湖南省长沙市湘雅路87号中国普通外科杂志编辑部

E-mail: pw4327400@126.com; jcgxxyh@126.com. 联系电话 0731-4327400。