

金硫葡萄糖和谷氨酸-钠所引起的 实验性肥胖

秦正誉 王孟锋 王复周

(中国人民解放军第四军医大学生理教研室)

下丘脑腹内侧核(传统上称为饱中枢)受损后,可以发生丧失饱感,摄食过度,形成增剧性肥胖。它在制作实验性肥胖动物模型中占有一定位置。本文是用金硫葡萄糖(一种特异损伤下丘脑腹内侧核的药物)和谷氨酸-钠(一种特异损伤下丘脑弓状核的药物)分别制做实验性肥胖动物模型的结果。

一、实验方法

体重 21—26 克同批同种和雄性小白鼠分为四组。

(一) 金硫葡萄糖(1 毫克/克体重)组。

(二) 汞硫葡萄糖逾量(0.5—1 毫克/克体重)组。

(三) 金硫葡萄糖(0.5 毫克/克体重)与钠硫葡萄糖(0.5 毫克/克体重)联合用药组。

(四) 正常对照组。另外我们在 90 克左右

雌性大白鼠作了注射谷氨酸-钠(1—3 毫克/克体重)和汞硫葡萄糖(0.5 毫克/克体重)的实验。为分析机制我们还做了体重 120 克左右(± 15 克)的四氧嘧啶(15 毫克/克体重)糖尿病及正常大白鼠在体内及离体小肠对葡萄糖吸收能力的测定试验。

所用制剂谷氨酸-钠系英国 B. D. H. Ltdco. 出品。胰岛素系上海生化制药厂出品,金硫和汞硫葡萄糖均为陕西师范大学化学系合成。投药途径均为腹腔内注射。各小鼠均用陶瓷罐分罐饲养,充分供给水。各组饲养条件相同。小白鼠食用的特制乾饼成分如下: 1. 白面粉 34%、2. 玉米粉 10%、3. 大麦粉 10%、4. 黄豆 15%、5. 鱼粉 3%、6. 骨粉 3%、7. 鱼肝油 1%、8. 菜油 1%、9. 多种维生素片 9.5%、10. 食盐 0.5%、11. 牛奶 8%、12. 酵母粉 2.5%、13. 麸皮 2.5%。

二、实验结果

(一) 体重变化

各组实验前与6周后体重相比均有明显增长(图1、表1)。各组间比较见表2。金硫葡萄糖、汞硫葡萄糖注射组,成活雄性小白鼠第6、7、8、9周体重增长均超过对照组,差别显著。但自第10周起,因鼠已渐成熟,体重则不再增长,故渐趋与正常对照组接近。而钠硫与金硫葡萄糖联合注射组则可能是由于钠硫葡萄糖具有对抗金硫葡萄糖对下丘脑腹内侧核的破坏作用。与正常对照组相比较差别不显著。

(二) 平均进食量的变化(表3)

表3说明各药注射后第一、二周小白鼠每天平均进食量均不如正常组多。但从第3周开始,注药各组进食量均超过正常对照组,但经统计学分析,除金硫葡萄糖(第4周)汞硫葡萄糖(11周)、金硫与钠硫葡萄糖合并注射(第4周)与正常对照组相比较有显著差异外,其余各组每天平均进食量与正常组相比较,虽略有增多,

但统计学分析相差不显著。

(三) 病理变化

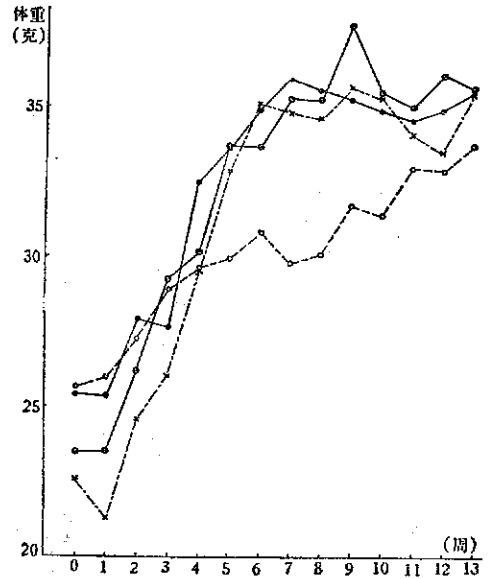


图1 实验性肥胖小白鼠体重变化曲线

○---○正常对照 ⊖---⊖金硫葡萄糖组
 ×---×汞硫葡萄糖组 ●---●金硫葡萄糖、钠硫葡萄糖联合组

表1 各组生长情况

组别	例数	体重平均值(克)			S _x	t	机率	显著性
		实验前	注药后6周	相差				
金硫葡萄糖	6	23.44	35.28	11.84	1.857	6.639	P<0.01	非常显著
汞硫葡萄糖	6	22.56	34.75	12.19	1.064	11.982	P<0.01	非常显著
金硫葡萄糖+钠硫葡萄糖	9	25.44	34.90	9.46	0.91	8.100	P<0.01	非常显著
正常对照	9	25.67	30.80	5.13	2.064	2.515	P<0.05	显著

表2 上表之显著性测验

比较组别	合并变异数	S _{x1-x2}	t	机率	显著性
金硫葡萄糖与正常组之比较	31.5815	2.9610	2.4113	P<0.05	显著
汞硫葡萄糖与正常组之比较	26.2700	2.7000	2.8000	P<0.05	显著
金硫葡萄糖+钠硫葡萄糖与正常组之比较	9.5487	1.4560	1.4347	P>0.05	不显著

表3 实验动物的每天平均进食量变化

组别	例数	平均进食量的变化(克/天)							
		第一周	第二周	第三周	第四周	第五周	第六周	第七周	第八周
金硫葡萄糖	9	4.78	7.52	6.98	8.18	7.91	8.00	7.50	7.30
汞硫葡萄糖	8	3.79	6.01	6.93	7.50	7.47	8.43	7.70	8.10
金硫葡萄糖+钠硫葡萄糖	9	5.41	6.66	7.09	8.21	7.54	7.72	7.40	7.60
正常对照	9	5.53	6.84	7.19	7.14	6.91	7.29	7.20	7.10

表4 于十二周后各组小白鼠体重均不再明显增长情况下下述指标的测定

组别	例数	体长(鼻到肛门)(厘米)	Lec 指数*	股骨长度(厘米)	胫骨长度(厘米)	腹股沟脂肪垫(毫克)	左肾(毫克)	右肾(毫克)	肝(克)	心(毫克)	肺(毫克)	小肠全长(厘米)
金硫葡萄糖	6	9.9	3.3710	1.80	2.48	125±47	328	330	2.55	243	308.5	57.7
汞硫葡萄糖	7	10.0	3.2600	1.76	2.46	128±24	286	288	2.10	241	285	55
金硫葡萄糖+钠硫葡萄糖	6	9.9	3.2321	1.73	2.47	100±11	296	308	2.03	239	276	54
正常对照	7	9.7	3.2310	1.70	2.40	85±30	276	264	1.97	244	281	58.6

* Lec 指数 = $\sqrt[3]{\text{体重}/\text{鼻到肛门长度}} \times 10$

表5 金硫葡萄糖、汞硫葡萄糖与正常组腹股沟脂肪垫重量比较的显著性测验

比较组别	合并变异数 S ²	S _{x₁-x₂}	t	机率	显著性
金硫葡萄糖与正常组之比较	1565.00	22.01	3.090	P<0.05	显著
汞硫葡萄糖与正常组之比较	766.66	14.80	2.898	P<0.05	显著

注药第13周后,动物已不再明显增长,此时处死动物,进行解剖测定动物的内脏和骨骼等重量和大小见表4及表5。

在注射金硫和汞硫葡萄糖肥胖小白鼠腹股沟脂肪垫的重量较正常成熟鼠增加显著。腹内盆腔及肩胛区皮下和胸内脂肪均见不同程度的增长,肝轻或中度肿大,心、肺生殖器官等组织重量无明显增长。骨骼的大小,形状密度也未见明显改变。在一些动物,脑组织用10%福尔马林固定后,做了组织切片检查。注射金硫葡萄糖小白鼠脑切片特点是全片明显血管扩张充血,神经胶质细胞轻度增生,尤以中央导水管周围明显;下丘脑腹内侧核细胞变性、肿胀,结构模糊,轻度弥漫增生,核腹侧区呈缺血性病(细胞形状变长带尾状);微小血管扩张(内有微小血栓及血浆蛋白),其范围波及较长。

汞硫葡萄糖注射鼠,下丘脑腹内侧核细胞密集细胞数少,其腹侧区域细胞变性,也呈缺血性改变(细胞不规则,蝌蚪状),微小血管也见扩张充血。

以上二组切片病变损伤程度均较钠硫、金硫葡萄糖合并注射鼠程度严重,后者切片只见腹内侧核细胞轻度变性,神经胶质细胞轻度增生,脑实质血管轻度增生,有少量红血球。

(四) 小肠对葡萄糖的吸收

注射金硫葡萄糖等药后与正常对照组相比

较,小白鼠体重增长较多,而每天平均进食量并未明显增多。考虑到二组对葡萄糖的吸收利用可能存在差别,于是我们对肥胖小鼠小肠对葡萄糖的吸收率做了测定¹⁾,实验结果见表6。

表6 小白鼠在体小肠对葡萄糖的吸收

组别	例数	葡萄糖吸收率(毫克/厘米小肠/30分)
金硫葡萄糖	6	0.7319±0.0772
汞硫葡萄糖	6	0.6856±0.0400
金硫葡萄糖+钠硫葡萄糖	6	0.6796±0.1489
正常对照组	7	0.6168±0.0922

结果表明,金硫葡萄糖组小肠对葡萄糖吸收率与正常比较增加显著(P<0.05)外,其余二组与正常组相比较差别不显著。

由于实验性肥胖动物常伴有血糖水平变化及胰岛素含量增多,这些又会影响小肠对葡萄糖的吸收。我们检验了实验性血糖水平增高(四氧嘧啶糖尿病)对大鼠小肠糖吸收的影响。结果见表7和表8。

由表7可知糖尿病鼠在体小肠对葡萄糖吸收率降低与正常组比较有明显差异(P<0.01)。

由表8可知四氧嘧啶糖尿病大白鼠离体小

1) 秦正誉、王复周,1976。烧伤对小肠葡萄糖吸收的影响原理——特别与肾上腺切除实验的对比。科学通报 12: 553-555。

表7 大白鼠小肠对葡萄糖吸收率(整体实验)

组别	例数	血糖(毫克%)	葡萄糖吸收率(毫克/厘米小肠/30分)
四氧嘧啶糖尿病	8	161.27±33.81	0.9664±0.2278
正常对照	5	68.88±10.51	1.2888±0.1029

表8 大白鼠离体小肠对葡萄糖吸收率的测定

组别	例数	浆膜侧G浓度(S)		葡萄糖吸收率微克/100毫克小肠湿重/40分		小肠组织含糖量毫克/100毫克组织湿重	
		粘膜侧G浓度(M)		平均值	标准差	平均值	标准差
		平均值	标准差				
正常对照	10	1.2117	±0.1428	41.53	±16.04	0.1232	±0.0398
四氧嘧啶糖尿病(第五天)	8	1.1482	±0.0812	38.40	±22.49	0.1179	±0.0809
四氧嘧啶糖尿病第五天离体小肠直接加入0.4单位胰岛素/ml	8	1.1297	±0.1476	38.75	±19.0682	0.1683	±0.0386

肠对葡萄糖吸收能力与正常组相比较未见明显差异。将0.4单位/毫升的胰岛素直接加入于糖尿病鼠离体小肠中时,除小肠组织内可能因分解受抑制而致糖含量增加与正常组相比较差别显著外,葡萄糖吸收率及浆膜葡萄糖浓度(S)与粘膜侧葡萄糖浓度(M)比值均与正常相差不显著。

自第8周停止注射,进食量又复降低。

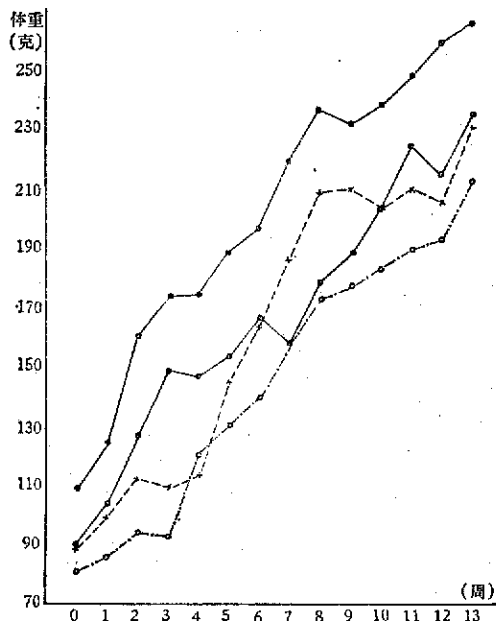


图2 实验性肥胖大白鼠体重变化曲线

●——胰岛素 ○——谷氨酸-钠
○——正常对照 ×——汞硫葡萄糖

三、谷氨酸-钠等药在大白鼠的实验

(一) 体重变化 各组体重变化如图2。由图2可见注射谷氨酸-钠第3周,汞硫葡萄糖第8周,体重较对照组明显增加。每天微量0.0025单位/100克体重注射胰岛素鼠体重明显地超过对照组。

(二) 平均进食量的变化 平均进食量的变化见表9。由表9可知谷氨酸-钠注射后1—3周末进食量增多。但统计学分析相差不显著。汞硫葡萄糖组注射后于第7周进食明显增多。而胰岛素微量注射鼠则1—7周进食均明显增多,

表9 注射谷氨酸-钠等药后大白鼠平均每天进食量的变化(克)

组别	例数	1周	2周	3周	4周	5周	6周	7周	8周	9周	10周	11周	12周	13周	14周
谷氨酸-钠	6	14.2	14.3	15.5	10.9	12.6	12.6	13.5	16.2	11.8	12.7	13.6	13.1	12.4	12.8
汞硫葡萄糖	4	10.9	12.1	10.1	10.2	15.1	17.3	18.5	17.6	17.9	15.5	12.6	12.8	15.5	13.6
正常对照	6	11.3	14.1	11.2	12.0	10.5	10.9	8.7	12.9	13.5	14.9	10.8	13.2	13.4	14.9
胰岛素微量注射	2	16.5	17.8	19.6	10.3	16.7	16.7	20.4	9.6	15.3	15.7	13.5	8.4	13.1	8.0

表 10 实验性烫伤大白鼠小肠对葡萄糖的吸收(在体试验)

组	别	例数	血糖(毫克%)	葡萄糖吸收率(毫克/厘米小肠/30分)
实验性背区烫伤(占全身总面积50%)		7	106.14±14.47	0.5385±0.2220
实验性烫伤后用胰岛素0.005单位/0治疗		9	41.57±17.52	0.9643±0.1367
正常对照		5	68.88±10.51	1.2888±0.1029

(三) 尸体解剖 于第 14 周末处死鼠, 测量了大鼠内脏和骨骼的重量大小。谷氨酸-钠注射后大白鼠腹股沟脂肪垫重量明显增加和正常组相差显著。其它各项指标测量与正常对照组无显著差别。

(四) 小肠对葡萄糖的吸收¹⁾ 谷氨酸-钠注射大鼠在体小肠对葡萄糖吸收率与正常对照组相比较未见明显差别。

四、其它

胰岛素对实验性烫伤鼠小肠对葡萄糖吸收障碍的部分治疗作用见表 10。

表 10 说明胰岛素可使实验性烫伤鼠小肠对葡萄糖吸收障碍部分地改善。

五、讨论

用金硫葡萄糖在制作实验性肥胖动物模型时腹腔内注射一般剂量为 0.8—1.2 毫克/克体重, 由于动物种属不一, 制剂不一, 故剂量差异颇大。在小白鼠用量 0.8 毫克/克体重已足够。汞硫葡萄糖剂量应比金硫者小得多, 否则易致汞中毒。另外从实验对象来看, 似宜用大白鼠较好, 因为: (1) 小白鼠抗力低, 易致死, (2) 小白鼠一旦体重成长至 40 多克即减缓。故肥胖模型体重增长不如大白鼠者明显。

关于金硫葡萄糖的作用机制目前还有争论。我们的实验倾向于支持这样一种意见, 即金硫葡萄糖的原发性作用主要在下丘脑腹内侧核区与毛细血管相邻接的神经成分, 该区对葡萄糖有特殊亲和力, 是葡萄糖感受细胞。金硫葡萄糖分子中的葡萄糖部分对保证金硫葡萄糖易于透过血脑屏障缺损区, 进入下丘脑腹内侧核区葡萄糖感受细胞, 发挥金的毒性作用, 造成下丘脑腹内侧核神经细胞和血管损害性病变。

对下丘脑其它部位损伤仅说明葡萄糖感受细胞并不仅存在于腹内侧核而已。

关于金硫葡萄糖实验性肥胖鼠小肠对葡萄糖吸收问题, Soulairac 认为下丘脑损伤所致过食和肥胖, 其代谢紊乱首先在于小肠对葡萄糖吸收的增加。Mayer Yannoni 的实验也认为调节性肥胖(下丘脑损伤性、金硫葡萄糖性肥胖)以及代谢性肥胖(肥胖血糖改变综合症)鼠小肠对葡萄糖吸收的增多, 其机制是由于长时迁延性过食所引起的适应性机制改变的缘故。

我们的实验证明, 金硫葡萄糖注射鼠小肠对葡萄糖的吸收明显增多, 但其进食量并未长期显著增多。故小肠对葡萄糖吸收的增多不完全是由于对过食的适应现象。Wrenshall 和 Mayer 证明, 肥胖鼠血糖改变的同时有胰岛素的分泌增多。我们的实验证明将胰岛素直接加入糖尿病鼠离体小肠温育糖液中时未发现葡萄糖吸收率有明显变化。四氧嘧啶糖尿病鼠在体小肠葡萄糖吸收能力比正常组明显降低, 但是该组鼠的离体小肠对葡萄糖吸收率也无变化。所以看来胰岛素对小肠葡萄糖吸收的影响主要是通过改变血糖水平的间接作用来影响小肠糖的吸收。

Debons 等认为下丘脑腹内侧核细胞摄取葡萄糖可能有赖于胰岛素的存在, 四氧嘧啶糖尿病所致胰岛素缺乏可以防止金硫葡萄糖对腹内侧核的坏死性损害, 而投用胰岛素后, 则可恢复腹内侧核对金硫葡萄糖的感受性, 于是又复发生坏死性损害。

至于可造成下丘脑弓状核损害而引起肥胖的谷氨酸-钠。它固然可以缓慢地增加脂肪沉

1) 秦正誉、王复周 1979 肾上腺切除后大白鼠对葡萄糖吸收障碍作用的机制。动物学报 25②86—94。

积,但常伴随活动过度及生长发育障碍。剂量大时易痉挛致死和引起视网膜损害。其致肥胖原因尚有待进一步研究。

我们的实验表明胰岛素可部分地改善实验性烫伤后一周大鼠小肠对葡萄糖吸收障碍。临床上用氨基酸、高渗葡萄糖溶液治疗烧伤患者时为促进葡萄糖的利用,防止明显的糖尿及合伴的渗透压性利尿也常加用胰岛素以降低高渗透压且也能使机体对静脉注入的氮予以更较有效的利用。因之用胰岛素¹⁾小量多次注射是可以刺激食欲、过食而用于制作肥胖动物模型的。

六、结 论

(一) 金硫葡萄糖、汞硫葡萄糖均可用于制作下丘脑损伤性实验性肥胖动物模型。而钠硫葡萄糖则可对抗金硫葡萄糖对下丘脑腹内侧核破坏,故不宜使用金硫与钠硫葡萄糖络合液于

制作实验性肥胖模型。

(二) 金硫葡萄糖实验肥胖鼠,小肠对葡萄糖吸收率加快。其原因可能与肥胖动物常伴有血糖水平改变及胰岛素含量增多有关。在整体实验观察到的四氧嘧啶糖尿病鼠小肠对葡萄糖吸收率降低与注射胰岛素引起葡萄糖吸收增加的现象。在离体小肠实验中未观察到。因此,肥胖高胰岛素可能通过改变血糖水平继发性影响小肠对葡萄糖的吸收。

(三) 注射谷氨酸-钠同样可引起大白鼠腹股沟脂肪垫增长但此种动物常伴活动过度及视网膜损害,故一般似不宜用于制作肥胖动物模型。

(四) 胰岛素小量注射可以部分地改善实验性烫伤鼠小肠对葡萄糖吸收障碍。小量多次给正常动物注射胰岛素可刺激食欲,进食量增加,体重增长。