

早期营养干预改善 IUGR 大鼠胰岛素抵抗 及其与血清瘦素的关系

丘小汕, 沈振宇, 黄婷婷, 杜敏联, 柯志勇, 赖 峰

(中山大学附属第一医院儿科, 广东 广州 510080)

摘要 【目的】探讨生后早期不同饮食构成喂养对宫内生长迟缓(IUGR)大鼠胰岛素抵抗的远期影响及其与瘦素、腹部内脏脂肪的相关关系。【方法】IUGR 新生雌鼠 48 只和正常新生雌鼠 10 只随机分为 5 组予下述相应饮食饲料喂养母鼠 3 周: ① IUGR 模型组(S/N 组)予常规饮食, ② IUGR 高碳水化合物饮食组(A 组), ③ IUGR 高脂肪饮食组(B 组), ④ IUGR 高蛋白质饮食组(C 组) ⑤ 正常对照组(C/N 组)予常规饮食。第 4 周起各组幼鼠断乳后均予常规饮食饲料喂养至实验结束。各组大鼠于 12 周(成年期)分别测定体质量、肾周脂肪质量(肾脂)、血清瘦素、血糖、胰岛素并计算胰岛素敏感指数(ISI)及胰岛素抵抗指数(IRI)。【结果】12 周时 IUGR 模型组大鼠肾脂增多, 血清瘦素和 IRI 升高, ISI 下降($P < 0.05$)。IUGR 高蛋白饮食组体质量(242.6 ± 17.5)g 虽高于 C/N 组(192.1 ± 37.2)g, 但与 S/N 组(213.4 ± 27.3)g 比较无显著性差异($P > 0.05$), 且不伴肾脂(1.46 ± 0.67)g 增多, 血清瘦素(0.43 ± 0.26) $\mu\text{g/L}$ 、ISI(4.47 ± 0.45) 和 IRI(0.78 ± 0.45) 也与正常对照组(1.41 ± 0.42)g, (0.42 ± 0.34) $\mu\text{g/L}$ 、 4.46 ± 0.42 和 0.77 ± 0.31 比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。【结论】生后哺乳期给予高蛋白饮食早期营养干预然后恢复正常饮食, 可使 IUGR 大鼠既能达到体格追赶生长, 又可避免其成年后胰岛素敏感性下降而产生 IR。

关键词 胎儿宫内发育迟缓, 大鼠; 营养干预, 早期; 胰岛素抵抗; 瘦素

中图分类号: R332

文献标识码: A

文章编号: 1672-3554(2003)06-0568-05

Early Nutrition Intervention Improve Insulin Resistance in Rats Born with IUGR and Their Relation with Serum Leptin

QIU Xiao-shan, SHEN Zheng-yu, HUANG Ting-ting, DU Min-lian, KE Zhi-yong, LAI Fen

(Department of Pediatrics, The First Affiliated Hospital, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract : 【Objective】To study the long-term effects of different diets with the same caloric on body weight, abdominal fat, serum leptin level, insulin sensitive index (ISI), and insulin resistant index (IRI) in rats born with IUGR. 【Methods】IUGR models were built by maternal nutrition restriction. 48 newborn IUGR female pups and 10 normal female pups were randomly divided into 5 groups, the mother rats in each group were given the following diet from the one to three week after birthing respectively: ① IUGR control group (S/N group) fed with normal diet. ② IUGR high-carbohydrate diet group (A group). ③ IUGR high-fatty diet group (B group). ④ IUGR high-protein diet group (C group). ⑤ The normal control group (C/N group) were fed with normal diet. All pups in each groups were fed with normal diet from the 4th week to the end of the experiment after ablactation. At the 12th week of life (adulthood), the body weight, perirenal fat weight, serum leptin level, blood glucose, insulin concentration were measured, and the ISI and IRI were calculated. 【Results】At the 12th week of life, there were higher perirenal fat weight in the IUGR control group, and serum leptin concentra-

收稿日期: 2003-05-30

基金项目: 广东省科委重点攻关基金资助项目(99M04815G)

作者简介: 丘小汕(1954-), 男, 广东梅州人, 硕士, 副教授, 硕士生导师; 黄婷婷, 硕士生, 现在广州市儿童医院消化内科. E-mail: xshqiu@

gzsums.edu.cn

tion and IRI were higher. ISI was lower than that in the normal control group ($P < 0.05$). The body weight (242.6 ± 17.5) g of IUGR high-protein diet group was higher than that of the normal control group (192.1 ± 37.2) g, but no significant difference compared with IUGR control group (213.4 ± 27.3) g, $P > 0.05$. Perirenal fat (1.46 ± 0.67) g, serum leptin concentration (0.43 ± 0.26) $\mu\text{g/L}$, ISI (4.47 ± 0.45) and IRI (0.78 ± 0.45) were no significant differences between the IUGR high-protein diet group and the normal control group [1.41 ± 0.42) g, (0.42 ± 0.34) $\mu\text{g/L}$, 4.46 ± 0.42 and 0.77 ± 0.31], $P > 0.05$. 【Conclusion】 By the effect of "nutritional programming", the high-protein diet during lactation is the reasonable approach of early nutritional intervention, which not only meet the catch-up growth but also avoid insulin resistance in rats born with IUGR.

Key words: intrauterine growth retardation(IUGR), rat; nutrition intervention, early; insulin resistance; leptin

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2003, 24(6) 568 ~ 572]

近年来实施成人期疾病在儿童早期的防治已成为世界范围的趋势及研究热点。宫内生长迟缓(IUGR)胎儿在我国其发生率约为7.5%~8.7%。研究表明由于胎儿代谢的适应性改变可致IUGR出现胰岛素抵抗(IR),其远期影响可使IUGR成年后发生代谢综合征的易患性明显增加^[1]。IUGR演变为胰岛素抵抗的病理生理过程及分子机理尚不明确,瘦素是否也是一个重要的协病因素,目前尚无定论。早期营养干预后IUGR的IR及瘦素水平将出现何种变化亦未见报道。本研究观察在新生至哺乳期(3周)给予热卡均等的不同饮食构成(高蛋白质、高脂肪、高碳水化合物、)喂养对成年期(12周)IUGR大鼠体格生长、腹部内脏脂肪、血清瘦素和胰岛素敏感指数(ISI)、胰岛素抵抗指数(IRI)的远期影响及其相关关系,以求探寻对IUGR进行合理的早期营养干预措施,为IUGR这一群体的儿童保健工作提供动物实验依据,对改善IUGR群体的远期生存质量具有重要的社会意义。

1 材料与方 法

1.1 研究对象

健康SD二级雌鼠(体质量220~260g)与雄鼠交配后,采用母鼠全程饥饿法建立IUGR动物模型^[2]。所生新生鼠仔出生体质量在正常新生鼠仔平均体质量-2SD以下者为IUGR新生鼠。IUGR新生雌鼠48只和正常母鼠所生正常新生雌鼠10只随机分为五组予下述相应饮食饲料喂养母鼠3周:①IUGR模型组(S/N组)给予常规饮食,②IUGR高碳水化合物饮食组(A组),③IUGR高脂肪饮食组(B组),④IUGR高蛋白饮食组(C组),⑤正常对照组(C/N组)予常规饮食。各组幼鼠头3周母鼠乳喂养,第4周起断乳后均予常规饮食饲料喂养至实验结束。

1.2 饲料构成

本实验所需的饲料由广东省实验动物场提供。各组饲料热卡均与常规饮食饲料相近,饲料原材料包括:面粉、玉米粉、大麦粉、籼米粉、麦麸皮、黄豆粉、鱼粉、酵母粉、植物油、鱼肝油、食盐、维生素B2和少量钙、磷、粗灰粉、粗纤维、水份、水溶性氯化物等。各组饲料成分含量比及占总热卡百分比见表1。

表1 各组每百克饲料成分含量比和占总热量百分比

Table 1 Content ratio of each feed component in per-hundred gram feed and percentage of amount of heat/100 g feed

Feed component	in sign of parentheses			Amount of heat
	Protein(%)	Fat(%)	Carbohydrate(%)	
Routine diet	22.5(25.1)	3.9(9.3)	57.8(64.4)	1 583
High-sugar diet	18.3(18.7)	4.2(9.7)	68.7(70.6)	1 633
High-fatty diet	22.0(23.7)	15.4(35.5)	37.0(39.8)	1 638
High-protein diet	28.6(29.6)	3.9(9.1)	56.8(60.3)	1 625

1.3 实验方法

1.3.1 标本收集及检测 5组动物在12周龄时禁食10~12h,每只大鼠由专人摘除眼球取血,血样立即低温离心,取血清分置3管,其中1管立即测定空腹血糖值,另2管置-30℃冰箱冻存,备测胰岛素(INS)、瘦素。①血糖:葡萄糖氧化酶-过氧化物酶法,批内、批间CV为2%及3%,河北保定长城临床试剂公司提供。②胰岛素:放免法(碘¹²⁵标记固相“包被-抗体-计数”法),灵敏度为1.5 mIU/L,批内、批间差异分别为6.4%和9.7%,美国DPU总公司生产,天津德普生物技术和医学产品有限公司提供。③瘦素:ELISA法,美国Diagnostic Systems Laboratories公司生产的抗鼠抗体,100 μL样本最低可测浓度为0.04 μg/L,批内、批间CV分别为4.2%和5.6%。以上血糖、胰岛素和瘦素浓度每标本均测定双管取其平均值。每只大鼠取血后处死,然后迅速打开腹腔,分离双肾周全部脂肪置分析天平称取肾周脂肪质量。

1.3.2 计算指标 胰岛素敏感指数(insulin sensi-

tivity index, ISI):用李氏法^[3]计算。公式:ISI = Ln [1/(空腹血糖 × 空腹胰岛素)](Ln:自然对数)。胰岛素抵抗指数(insulin resistance index, IRI):用HOMA MODLE的胰岛素抵抗指数(IRI)公式^[4]: IRI = (FPG × FINS) / 22.5。

1.4 统计学方法

所有数据用均数 ± 标准差表示,结果分析多组均数的比较采用方差分析,组间比较用两个样本的*t*检验,相关分析用Spearman法。

2 结果

2.1 IUGR模型组与正常对照组比较

各组IUGR新生鼠出生体质量均显著低于正常对照组,有显著性差异。至12周龄时IUGR模型组体质量与对照组比较差异无显著性,但其肾周脂肪质量、瘦素水平和IRI均高于对照组,ISI则低于对照组,差异有显著性(表2)。

表2 各组出生和12周龄体质量、肾周脂肪质量、血清瘦素、ISI和IRI比较

Table 2 Birth weight and body weight, Perirenal fats, leptin concentrations, ISI, IRI in each groups at 12 week of life ($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	Birth weight(g)	12w Body weight(g)	Perirenal fats(g)	Leptin(ng/ml)	ISI	IRI
Control	10	6.08 ± 0.58	192.1 ± 37.2	1.41 ± 0.42	0.42 ± 0.34	4.46 ± 0.42	0.77 ± 0.31
IUGR control	12	4.53 ± 0.46 ²⁾	213.4 ± 27.3	2.65 ± 0.83 ¹⁾	0.80 ± 0.56 ¹⁾	3.51 ± 0.55 ¹⁾	1.44 ± 0.67 ¹⁾
Group A	12	4.64 ± 0.30 ²⁾	206.5 ± 33.4	2.70 ± 1.53 ¹⁾	1.23 ± 0.76 ^{2),3)}	3.42 ± 0.24 ¹⁾	4.87 ± 1.32 ^{2),4)}
Group B	12	4.60 ± 0.31 ²⁾	230.8 ± 25.6 ¹⁾	3.00 ± 1.24 ²⁾	0.92 ± 0.44 ²⁾	3.67 ± 0.27 ¹⁾	3.64 ± 2.43 ^{2),3)}
Group C	12	4.46 ± 0.57 ²⁾	242.6 ± 17.5 ¹⁾	1.46 ± 0.67 ³⁾	0.43 ± 0.26 ³⁾	4.47 ± 0.45 ³⁾	0.78 ± 0.45 ³⁾
F		34.92	7.79	12.49	4.32	11.66	12.89
P		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

Compared with the control group, 1) $P < 0.05$; 2) $P < 0.01$; The A, B, C groups compared with the IUGR control group; 3) $P < 0.05$; 4) $P < 0.01$

2.2 12周龄时IUGR大鼠A、B、C组与正常对照组或IUGR模型组比较

①体质量: B组和C组高于对照组,而与IUGR模型组无显著性差异。②肾周脂肪质量: A、B组高于对照组, C组则与对照组相近,而低于IUGR模型组,有显著性差异。③瘦素: A、B组与对照组比较显著升高, A组高于IUGR模型组,均有显著性差异; C组则比IUGR模型组显著降低,而与对照组比较无显著性差异。④ISI和IRI: A、B组与对照组比较均ISI降低, IRI升高,有显著性差异。C组的ISI高于和IRI则低于IUGR模型组,有显著性差异;而与正常对照组比较均无显著性差异。

2.3 血清瘦素水平与体质量、肾周脂肪质量、ISI及IRI的相关关系

血清瘦素与肾周脂肪质量呈正相关($r = 0.866, P < 0.01$),与ISI呈负相关($r = -0.922, P < 0.01$),与IRI呈正相关($r = 0.944, P < 0.01$),而与体质量无相关。

3 讨论

3.1 早期营养程序化与IUGR成年后胰岛素抵抗的关系

IR是联系代谢综合征多种疾病(糖耐量减低、

2型糖尿病、中心型肥胖、脂类代谢紊乱、高血压、冠心病等)的中心环节^[1]。IUGR产生IR是否经由类似单纯性肥胖成人发生IR始于中心性肥胖、腹脂增多所致的瘦素合成增多的病理生理过程?早期营养干预对IUGR大鼠IR的影响及其与血清瘦素水平和内脏脂肪含量有何关系?鉴于早期营养对生长发育具有重要的生物学作用,1998年Lucas^[5]提出了“营养程序化(nutritional programming)”的概念,即在发育的关键或敏感时期的营养状况,将对机体或各器官功能产生长期乃至终生的影响,其机制是由于早期营养环境刺激机体产生适应性的克隆选择或者分化母细胞增殖,从而使组织细胞数量或比例永久性地得到改变。人类胎儿期至生后1岁内的生长主要是受营养物质—胰岛素—IGF代谢轴的调控^[1],其启动因素是营养物质,尤其是蛋白质和氨基酸对生长起主导作用。胰腺的发育从胎儿期持续至整个婴儿期,但断乳后不久即停止。因此,生后早期给予足量的蛋白质可以促进胰岛 β 细胞的发育,使其数量增加和功能增强。本研究基于“营养程序化”的考虑,选择在生后初3周(相当于人类婴儿哺乳期)这个发育的关键和敏感时期进行早期营养干预。国外研究报道母乳分泌量和营养成分可受乳母妊娠期及哺乳期营养状态的影响,若妊娠期及哺乳期营养状态均较差,泌乳量可减少至正常的1/6~2/6^[6]。

检测IR的方法有多种,基础状态法包括胰岛素敏感指数(ISI)和自我平衡模型分析法(HOMA)较可靠且适于动物实验应用^[7]。本实验采用的评价IR的指标是胰岛素敏感指数(ISI)和HOMA模型的胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)。由国内李光伟在1993年提出的ISI其实际应用结果与公认的测定ISI的金标准正常血糖胰岛素钳夹技术(Clamp)高度相关,是简便、实用的评估IR的方法^[3,8]。本研究结果表明IUGR模型组大鼠宫内营养不良,即使生后即给予正常饮食喂养至12周时已出现胰岛素敏感性降低,产生IR。这与我们先前的动物实验观察结果一致^[9],亦与国内外学者进行流行病学调查发现IUGR儿在成年期产生胰岛素抵抗和发生代谢综合症的易患性增加的结果相一致^[10,11]。

3.2 早期营养干预对IUGR成年后胰岛素抵抗的影响

本实验结果IUGR高碳水化合物组和高脂肪组虽然体格生长追赶迅速,但均在成年期肾周脂肪

增多,瘦素升高,ISI下降,IRI升高,呈现IR。以上两种饮食均不是IUGR生后早期营养干预的理想模式。IUGR高蛋白组IUGR大鼠虽然宫内营养不良,但生后早期即给予3周的高蛋白饮食喂养其体格生长追赶迅速,恢复正常饮食后在12周成年期肾周(内脏)脂肪并不增多,瘦素水平及ISI、IRI也与正常对照组相近,不出现IR。提示在机体发育的关键或敏感时期通过“营养程序化”的作用,于哺乳期给予高蛋白饮食然后恢复正常饮食喂养是早期营养干预IUGR较理想的时机和饮食模式,可使IUGR既能达到体格追赶生长,又可避免或降低其成年后胰岛素敏感性下降而产生IR的易患性。

3.3 血清瘦素和内脏脂肪与IUGR大鼠胰岛素抵抗的关系

瘦素由成熟的脂肪细胞表达并分泌入血中,它在皮下脂肪组织及腹腔内的大网膜、腹膜后和肠系膜中表达最丰富。由于内脏脂肪对瘦素的脂解作用较皮下脂肪更为敏感,故一般认为内脏脂肪对胰岛素抵抗的形成作用更大^[12]。大鼠腹腔的内脏脂肪组织主要较集中分布于双肾周及子宫旁与腹膜后,因此本实验选取定位明确,分离容易的肾周脂肪作为内脏脂肪的代表。本研究结果显示各组大鼠生后12周瘦素水平与肾周脂肪质量、IRI呈正相关,与ISI呈负相关,而与体质量无关。有研究认为IUGR为适应宫内营养不良的环境,胎儿减少对葡萄糖的能量依赖,提高其他底物的氧化,并最优化的利用有限的营养供给以保证生存,导致外周组织胰岛素抵抗,而胰岛素的作用之一就是使能量以最经济的脂肪形式储存起来,从而抵消胰岛素的作用使营养重新分配,满足重要生命器官的发育^[13]。IUGR模型组大鼠成年后腹部内脏脂肪的增多可能是由于宫内和新生儿期特定的脂肪发育的“程序化”导致成年期脂肪组织异常持续增长的结果,并影响脂肪组织瘦素合成和分泌调节系统的敏感性。高瘦素血清浓度反映了脂肪组织功能的缺陷,并使胰岛素的活性受损。上述结果表明IUGR模型组大鼠成年后产生IR的过程中,腹部内脏脂肪增多和瘦素水平升高是IR的重要协同因素。提示IUGR致IR可能经由类似于肥胖成人致IR乃始于中心型肥胖、腹脂增多所导致的高瘦素水平的病生过程。

参考文献:

- [1] Gluckman P D. The physiology and pathophysiology of

- intrauterine growth retardation[J]. *Horm Res*, 1997, 48 (suppl 1): 11.
- [2] 张庆, 黎海芪, 郑惠连. 宫内生长迟缓对新生幼鼠胃肠发育的影响[J]. *中华儿科杂志*, 1997, 35(11): 567.
- [3] 李光伟, 潘孝仁, Lillioja S, 等. 检测人群胰岛素敏感性的一项新指数[J]. *中华内科杂志*, 1993, 32(10): 656.
- [4] Haffner S M, Miettinen H, Stern M P. The homeostasis model in the San Antonio heart study[J]. *Diabetes Care*, 1997, 20: 1087.
- [5] Lucas A. Programming by early nutrition: an experimental approach[J]. *J Nutr*, 1998 128(2suppl): 401S.
- [6] Jelliffe D B. The volume and composition of human milk in poorly nourished communities[J]. *Am J Clin Nutr*, 1978, 31: 492.
- [7] 李芳萍, 程桦, 傅祖植. 胰岛素抵抗体内检测方法[J]. *国外医学内科学分册*, 1998, 23(3): 108.
- [8] 赵晓华, 杨燕, 宋征, 等. 优化复合纤维对糖尿病大鼠胰岛素敏感指数及血脂的影响[J]. *中华预防医学杂志*, 2002, 36(3): 184.
- [9] 丘小汕, 刘军, 张怡坚, 等. 早期营养对 IUGR 大鼠糖耐量和胰岛素敏感性的远期影响[J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2003, 24(3): 238.
- [10] Jaquet D, Gaboriau A, Czernichow P, *et al.* Insulin resistance early in adulthood in subjects born with intrauterine growth retardation[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000, 85(4): 1401.
- [11] 米杰, Law C M, 张孔来, 等. 北京市 41~47 岁人群出生时发育指标与成年期糖耐量减低的关系[J]. *中华预防医学杂志*, 1999, 33(4): 209.
- [12] 殷峻, 陈名道, 陈家伦. 瘦素, 肥胖与胰岛素抵抗[J]. *国外医学内分泌分册*, 1999, 19(5): 213.
- [13] Osmond C, Barker D J P. Fetal, infant and childhood growth are predictors of coronary heart disease, diabetes and Hypertension in adult man and women[J]. *Environ Health Persp*, 2000, 108(Suppl 3): 545.

(编辑 张恩健)

(上接第 567 页 from page 567)

- [6] Kung M P, Stevenson D A, Plossl K, *et al.* [^{99m}Tc] TRODAT-1: A novel technetium-99m complex as a dopamine transporter imaging agent[J]. *Eur J Nucl Med*, 1997, 24(4): 372.
- [7] Guttman M, Stewart D, Hussey D, *et al.* Influence of L-dopa and Pramipexole on striatal dopamine transporter in early PD[J]. *Neurology*, 2001, 56(11): 1559.
- [8] Innis R B, Marek K L, Sheff K, *et al.* Effect of treatment with L-dopa/carbidopa or L-selegiline on striatal dopamine transporter SPECT imaging with [^{123}I] beta-CIT[J]. *Mov Disord*, 1999, 14(3): 436.
- [9] Nurmi E, Bergman J, Eskola O, *et al.* Reproducibility and effect of Levodopa on dopamine transporter function measurements: a [^{18}F] CFT PET study[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2000, 20(11): 1604.
- [10] Dresel S H J, Kung M P, Plossl K, *et al.* Pharmacological effects of dopaminergic drugs on *in vivo* binding of [^{99m}Tc]TRODAT-1 to the central dopamine transporters in rats[J]. *Eur J Nucl Med*, 1998, 25: 31.
- [11] 胡平, 陈玲, 张海琴, 等. ^{99m}Tc -TRODAT-1 人脑多巴胺转运体显像初步研究[J]. *中国神经精神疾病杂志*, 2000, 26(4): 196.
- [12] 陈玲, 胡平, 吴克宁, 等. 帕金森病猴模型脑多巴胺转运体 SPECT 显像[J]. *中山医科大学学报*, 2002, 23(3): 183.
- [13] Ovidia A, Zhang Z M, Gash D M. Increased susceptibility to MPTP toxicity in middle-aged rhesus monkeys[J]. *Neurobiol Aging*, 1995, 16(6): 931.

(编辑 刘清海)