

奥曲肽对高脂饲养小鼠血糖、血脂及抗氧化能力的影响

吴聪^{1,2,3}, 施用晖^{2,3}, 乐国伟^{*2,3}

(1. 溧阳市食品药品监督管理局,江苏 溧阳 213300; 2. 食品科学与技术国家重点实验室,江南大学,江苏 无锡 214122; 3. 江南大学 食品学院,江苏 无锡 214122)

摘要: 研究奥曲肽(OCT)对高脂饲养小鼠血糖、血脂及抗氧化能力的影响。正常组(control)、高脂组(HFD)、高脂+奥曲肽组(OCT)、高脂+质量分数0.1%硫辛酸(LA)组雄性C57BL/6小鼠喂养3周,在第3周期间腹腔注射奥曲肽0.1 mL(20 μg/kg),3周后进行葡萄糖耐量试验,测定血TC、TG、HDL-C、LDL-C、AI水平,肝脏、肌肉、脂肪、脑组织ROS、CAT、T-AOC、MDA水平。结果表明:注射OCT能够显著降低高脂饲养小鼠葡萄糖耐量试验血糖曲线下面积及TC、TG、LDL-C、AI水平($p < 0.05$),显著升高HDL-C水平($p < 0.05$),显著降低高脂饲养小鼠肝脏、肌肉、脂肪、脑组织ROS水平($p < 0.05$),显著提高CAT、T-AOC水平($p < 0.05$),表明注射奥曲肽可以改善高脂饲养小鼠的血脂代谢,缓解代谢组织的氧化应激状态。

关键词: 奥曲肽;高脂;血糖;血脂;抗氧化

中图分类号: TS 201.2 文献标志码: A 文章编号: 1673-1689(2012)07-0745-07

Effects of OCT on Blood Glucose, Lipid and Anti-Oxidation Function of Mice Fed with High-Fat Diet

WU Cong^{1,2,3}, SHI Yong-hui^{2,3}, LE Guo-wei^{*2,3}

(1. Liyang Food and Drug Administration, Liyang 213300, China; 2. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 3. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: The objective of this study is to investigate the effects of OCT on blood glucose, lipid and anti-oxidation function of mice fed with high-fat diet. For this, Process and Methods: Three weeks feeding of C57BL/6 mice was divided into normal group(control), high-fat group(HFD), high-fat + octreotide(OCT) group, high-fat + 0.1 wt % lipoic acid(LA) group, and feed 3 weeks. Among them, the OCT group were injected 0.1 mL of OCT(20 μg/kg) during the third week, oral glucose tolerance test(OGTT) was done at the end of the third week. The levels of blood TC, TG, HDL-C, LDL-C, AI, levels ROS, CAT, T-AOC, MDA of liver, muscle, fat and brain were measured. It was found that OCT significantly reduce the curve size of blood glucose in OGTT experiment. Compared with HFD group($p < 0.05$), OCT decreased the levels of TC, TG, LDL-C, AI but increase HDL-C level. OCT injection could significantly reduce the levels of ROS, MDA and increase the levels of CAT, T-AOC in tissues of liver, mus-

收稿日期: 2011-10-14

基金项目: 国家十二五科技支撑计划项目(2006BAD27B06)。

作者简介: 吴聪(1986-),女,湖北随州人,医学硕士,助理实验师,主要从事营养与食品卫生学研究。E-mail: wucong@jiangnan.edu.cn

*通信作者: 乐国伟(1956-),男,浙江宁波人,农学博士,教授,博士研究生导师,主要从事营养与代谢调控。E-mail: lgw@jiangnan.edu.cn

cle, fat and brain compared with HFD group ($p < 0.05$, which indicated that OCT injection can improve lipid metabolism and alleviate oxidative stress in mice fed with high-fat diet.

Key words: octreotide, high-fat diet, blood glucose, lipid, anti-oxidation

脂肪是体内储存能量的场所,主要为机体提供热能,保护内脏,维持体温,协助脂溶性维生素的吸收,参与机体各方面的代谢活动等。动物脂肪含饱和脂肪酸较多,由于人们生活水平提高、膳食结构的改变,动物脂肪的摄入越来越多,当能量摄入长期超过人体的消耗时,机体脂肪出现过度堆积,能量代谢失衡,从而导致营养代谢性疾病如血脂代谢紊乱、心血管疾病、肥胖、糖尿病等^[1]。高脂饲料饲养会导致小鼠血糖、血脂代谢紊乱,抗氧化酶活性显著降低,丙二醛含量显著升高,形成氧化应激。而氧化应激被认为是糖尿病、代谢综合征等发生、发展的病因之一^[2]。因此,抗氧化治疗逐渐开始应用于营养代谢性疾病的治疗中。

奥曲肽(Octreotide, OCT)是人工合成的生长抑素类似物,已知其对机体多种内、外分泌功能都有明显的抑制作用,生物学活性较强且持久,在临床上广泛应用于消化系统疾病的诊治及肿瘤的治疗。近年来,奥曲肽抗氧化方面的作用也越来越受到关注。奥曲肽通过对消化系统功能的调节,影响机体对养分的吸收利用,使得营养物质可以缓慢、平和地进入人体循环,有利于进食后机体内环境的相对稳定。基础研究表明,奥曲肽在保护胃粘膜免受氧化应激引起的损伤的同时,也显著地抑制了胃粘膜丙二醛含量的升高,在抗脂质过氧化、细胞保护方面^[3]发挥着重要作用。硫辛酸(LA)是高效抗氧化剂,可以清除自由基和活性氧,改善葡萄糖代谢,减弱氧化应激。

生长抑素是机体自身分泌的抑制类激素,其作

为抗氧化剂作用于高脂饲养小鼠方面的研究报道并不多见,作者以生长抑素类似物奥曲肽为研究对象,研究其对高脂饲养小鼠血糖、血脂及抗氧化能力的影响,以探究奥曲肽应用于抗氧化治疗营养代谢性疾病的可行性。

1 材料与方法

1.1 实验材料

醋酸奥曲肽注射液(善宁, 0.1 mg/mL, 99%): 北京四环制药有限公司产品; 过氧化氢酶(CAT)、总抗氧化能力(T-AOC)、丙二醛(MDA)试剂盒: 南京建成生物公司产品; 硫辛酸: 江苏常熟富士莱医药化工公司产品; 其余试剂均为国产分析纯试剂; 血糖(BG)由快速血糖仪测定; 甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)使用全自动生化分析仪测定。

1.2 实验动物及饲料

清洁级雄性 C57BL/6 小鼠 64 只, 体重 20~22 g, 购于上海西普尔-必凯实验动物公司。随机分为 4 组: 正常组(control) 16 只, 高脂组(HFD) 16 只, 高脂+OCT 组(OCT) 16 只, 高脂+0.1%(质量分数) LA 组(LA) 16 只, 饲料配方见表 1。第 3 周期间 OCT 组腹腔注射奥曲肽 0.1 mL (20 μ g/kg), 其余组注射 0.1 mL 生理盐水作对照, 3 周末断尾取血行葡萄糖耐量试验(OGTT) 然后处死, 取血清测定 TG、TC、HDL-C、LDL-C, 取血、肝脏、肌肉、脂肪组织测定 ROS、CAT、T-AOC、MDA 水平。

表 1 正常和高脂饲料配方

Tab. 1 Compositions of Normal and High-Fat Diet

原料	质量配比/%		原料	质量配比/%	
	正常日粮	高脂日粮		正常日粮	高脂日粮
玉米粉	52.92	29.73	赖氨酸	0.30	0.21
豆粕	25.00	28.00	蛋氨酸	0.21	0.22
小麦粉	9.00	11.32	维生素	0.02	0.02
麦麸	6.50	9.20	氯化胆碱	0.10	0.10
氯化钠	0.20	0.20	蔗糖	0.10	0.10

续表 1

原料	质量配比/%		原料	质量配比/%	
	正常日粮	高脂日粮		正常日粮	高脂日粮
磷酸氢钙	1.15	1.25	矿物质	0.06	0.06
猪油	2.80	18.00	碳酸钙	1.65	1.60
胆固醇	0	0.5			

1.3 口服葡萄糖耐量(OGTT)试验

小鼠禁食不禁水 12 h 过夜,质量分数 30% 葡萄糖 0.1 mL 灌胃,小鼠断尾取血测定灌胃后 0、0.5、1.0、1.5、2.0 h 时血糖水平。

1.4 血脂及抗氧化能力的测定

小鼠眼球取血入肝素钠抗凝管,取 25 μ L 参照 luminol 化学发光法^[4-5]测定自由基水平,其余全血低速冷冻离心(4 $^{\circ}$ C, 3 000 r/min, 10 min),取上层血浆分装,测定血脂水平。迅速取小鼠肝脏、肌肉、脂肪、脑组织加入预冷的生理盐水匀浆制 10 g/dL 组织匀浆液,测定自由基水平,以发光强度表示自由基的高低,之后低速冷冻离心,取上清分装测定 CAT、T-AOC 和 MDA 水平,采用考马斯亮蓝法测定组织匀浆中的蛋白质质量分数。

1.5 数据统计

使用 SPSS17.0 进行数据分析,结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,显著水平为 $p < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 OGTT 试验

2.1.1 OCT 对高脂饲养小鼠葡萄糖耐量的影响

图 2 显示 OCT 对高脂饲养小鼠葡萄糖耐量的影响。

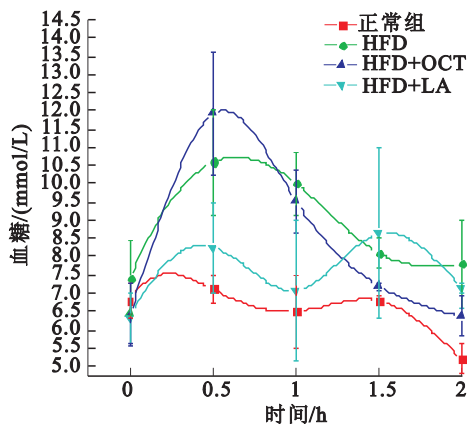


图 1 OCT 对高脂饲养小鼠葡萄糖耐量的影响 (mmol/L, $n=8, \bar{x} \pm s$)

Fig. 1 Effect of OCT on Glucose intolerance of mice fed with high fat diet (mmol/L, $n=8, \bar{x} \pm s$)

由图 1 可以看出:添加 LA 后小鼠糖耐量曲线变的平缓,质量分数 30% 的葡萄糖 0.1 mL 灌胃后在 0.5 h 和 1.5 h 时,高脂组小鼠 BG 与正常组相比显著升高 ($p < 0.05$),在 0.5 h 时 OCT 组小鼠 BG 显著升高 ($p < 0.05$),但是在 1.5 h 时又急剧下降 ($p > 0.05$)。表明注射 OCT 可以显著降低高脂饲养小鼠 OGTT 试验 1.5 h 时血糖,在 0.5 h 时其血糖显著升高可能与 OCT 抑制胰岛素分泌的作用有关,研究表明注射 OCT 可以降低胰岛 B 细胞对糖的敏感性,对胰岛素的抑制作用大于对胰高血糖素的抑制作用,导致高血糖反应。

2.1.2 OCT 对高脂饲养小鼠 OGTT 曲线下面积的影响

糖耐量曲线下面积这一指标反映胰岛素的作用,可以在临床上作为评价胰岛素抵抗是否发生的指标,判断有无糖耐量的受损。正常人在服葡萄糖后,几乎全被肠道吸收,使血糖升高,刺激胰岛素分泌、肝糖元合成增加,分解受到抑制,肝糖输出减少,体内组织对葡萄糖利用增加,因此进食后 BG 都保持在一个比较稳定的范围内。这说明正常人对葡萄糖有很强的耐受能力,即葡萄糖耐量正常。但若机体的平衡状态被打破,则可出现葡萄糖耐量的降低。图 2 为 OCT 对高脂饲养小鼠 OGTT 曲线下面积的影响。

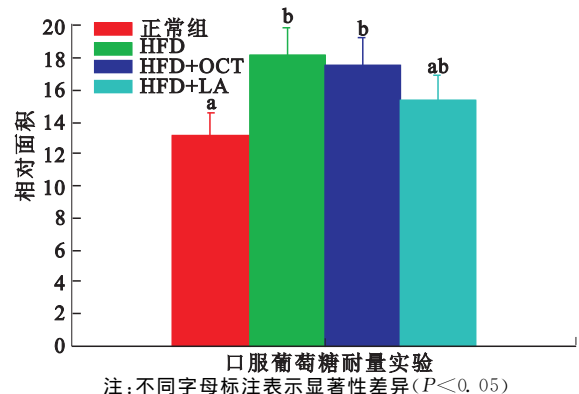


图 2 OCT 对高脂饲养小鼠 OGTT 曲线下面积的影响 (unit: mmol/L, $n=8, \bar{x} \pm s$)

Fig. 2 Effect of OCT on OGTT curve size of mice fed with high fat diet (mmol/L, $n=8, \bar{x} \pm s$)

由图 2 可以看出:高脂饲养小鼠 OGTT 曲线下面积较正常组显著升高,表明其葡萄糖耐量受损。注射 OCT 之后较高脂饲养组有所降低,添加 LA 之后部分恢复至正常水平。表明注射 OCT 或者添加 LA 可以改善高脂饲养小鼠的糖耐量受损状态。

2.2 OCT 对高脂饲养小鼠糖脂代谢的影响

肝脏是脂类物质进行代谢的重要场所,若脂肪在代谢或者转运过程中出现异常,则会出现脂质代

谢紊乱,进而出现高血脂、心血管疾病、糖尿病等代谢综合症。动脉粥样硬化是临床上常见的心血管病变,是导致血脂异常和代谢综合症的主要因素。添加质量分数 0.1%LA 显著提高小鼠肝脏 Cpt1 表达、降低 ApoE 表达,加速脂肪酸 B 氧化,缓解氧化应激小鼠的脂质代谢紊乱。表 2 示出 OCT 对高脂饲养小鼠糖脂代谢的影响。

表 2 OCT 对高脂饲养小鼠血脂的影响 (mmol/L, n=16, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Effect of OCT on blood lipid of mice fed with high fat diet (mmol/L, n=16, $\bar{x} \pm s$)

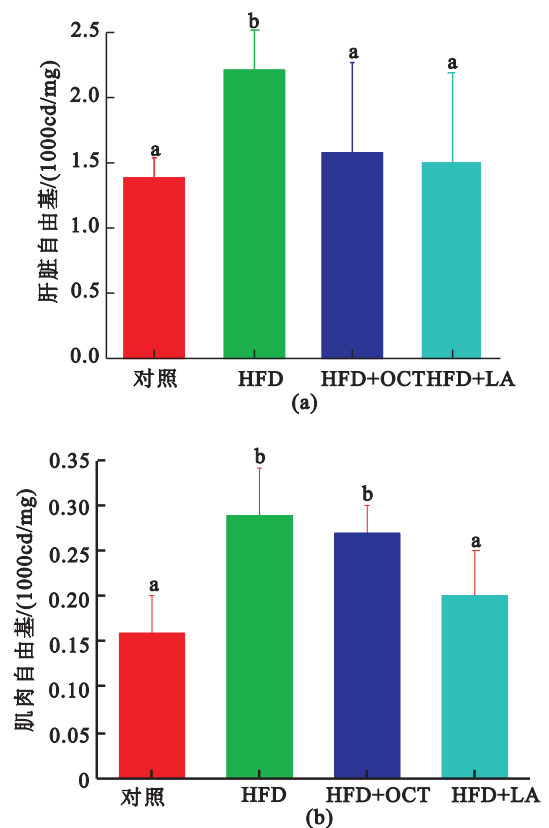
指标	正常组	高脂组	OCT 组	LA 组
TC	4.28±0.25 ^a	5.06±0.77 ^b	4.50±0.57 ^a	4.70±0.49 ^{ab}
TG	0.94±0.15 ^{ab}	1.26±0.16 ^c	0.83±0.12 ^a	0.98±0.22 ^b
HDL-C	2.76±0.50 ^b	2.15±0.33 ^a	2.98±0.32 ^{bc}	3.18±0.22 ^c
LDL-C	2.17±0.43 ^a	2.62±0.58 ^b	2.58±0.36 ^b	2.69±0.29 ^b
AI	0.61±0.16 ^b	1.49±0.35 ^a	0.51±0.05 ^b	0.48±0.11 ^b

由表 2 可以看出:与正常组相比,高脂组小鼠 TC、TG、LDL-C、AI 水平显著升高, HDL-C 水平显著降低,注射 OCT 或者添加 LA 之后,与高脂组相比,小鼠的 TC、TG、LDL-C、AI 水平出现不同程度的降低, HDL-C 水平显著升高,表明注射 OCT 或添加 LA 可以降低高脂饲养小鼠的 TC、TG、LDL-C、AI 水平,提高其 HDL-C 水平。其中 AI=(TC-HDL-C)/HDL-C,是动脉粥样硬化的促发因子与防御因子之间的比值,是动脉粥样硬化指数和临床预测动脉粥样硬化的指标,其值越高表明动脉粥样硬化的发生率越高,相比较单个的血脂指标而言具有更重要的临床意义,综上所述可以看出注射 OCT 可以改善高脂饲养小鼠血脂代谢。

2.3 OCT 对高脂饲养小鼠 ROS 的影响

在应激状态下,糖皮质激素和胰岛素是刺激骨骼肌葡萄糖代谢的两个主要生理因素。肌肉组织在葡萄糖代谢过程中也会产生大量 ROS,使机体产生氧化应激。脂类是食物不可缺少的成分之一,脂肪是储存能量的主要形式,脂肪组织是储存脂肪的主要场所,当脂肪组织储存到一定程度时即可形成肥胖。葡萄糖是脑组织唯一可以利用的糖,当糖、脂代谢紊乱时,容易发生大血管和微血管病变,给

大脑带来一定伤害。图 3 示出 OCT 对高脂饲养小鼠 ROS 的影响。



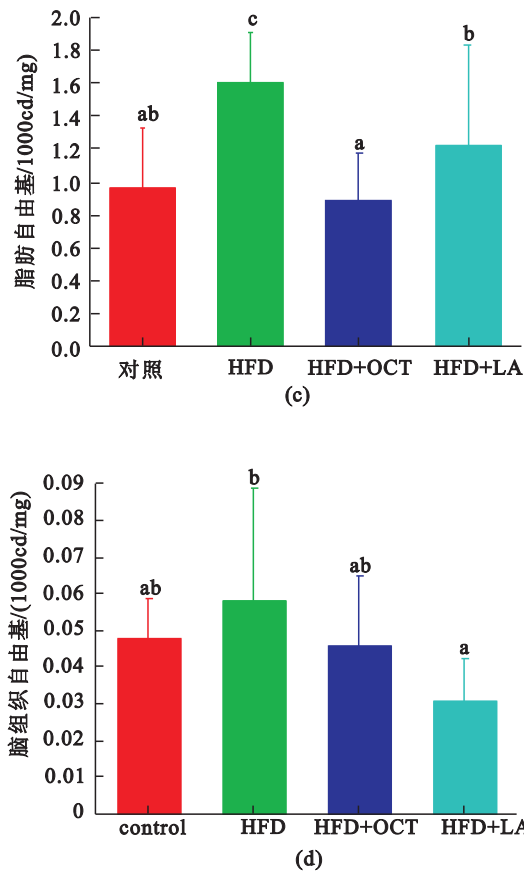


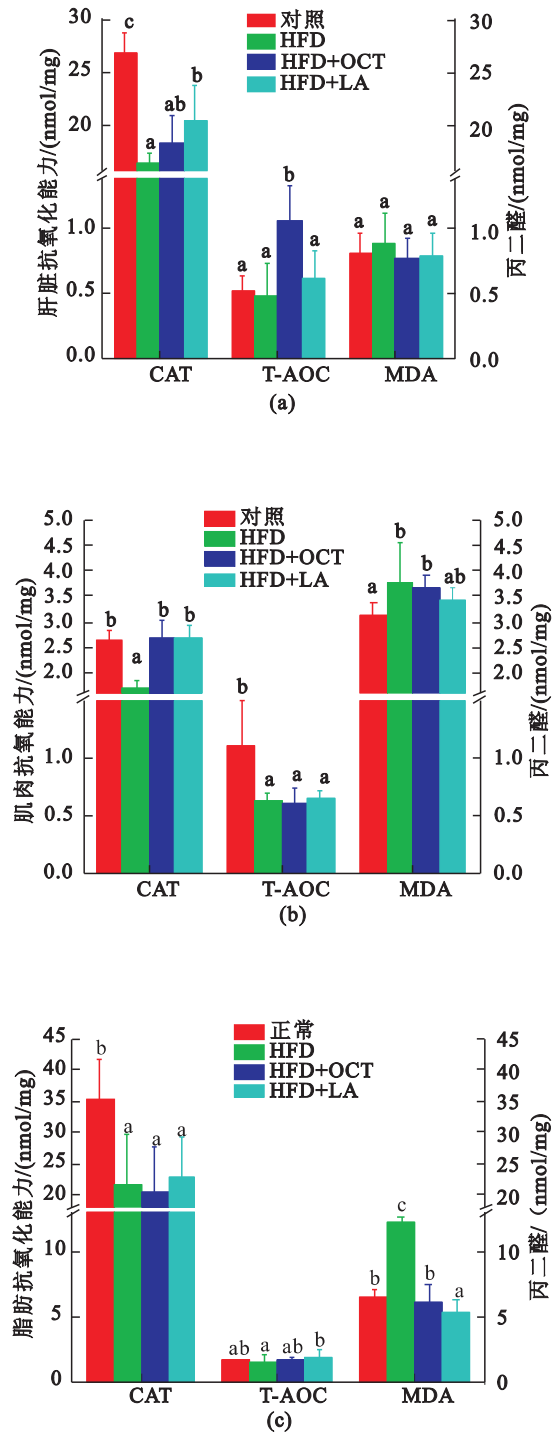
图3 OCT对高脂饲养小鼠ROS的影响 ($n=16, \bar{x} \pm s$)
Fig. 3 Effect of OCT on ROS of mice fed with high fat diet ($n=16, \bar{x} \pm s$)

由图3可以看出:经过3周的高脂饲养后,与正常组相比,高脂组小鼠肝脏、肌肉、脂肪、脑组织ROS水平显著升高,注射OCT或者添加LA之后,与高脂组相比,小鼠代谢组织ROS水平出现不同程度的降低。表明注射OCT或者添加LA可以降低高脂饲养小鼠肝脏、肌肉、脂肪、脑组织的ROS水平,缓解氧化应激。LA脂溶的特性使其能以相当高的浓度存在于细胞内外,发挥清除脂溶性自由基的作用,从而保护脂蛋白和细胞膜,提高组织抗氧化能力,缓解机体营养性氧化应激。而注射OCT能够降低高脂饲养小鼠代谢组织ROS水平可能与OCT延缓营养物质的消化、吸收有关。

2.4 OCT对高脂饲养小鼠肝脏CAT、T-AOC、MDA的影响

CAT可以降低生物体内有毒害的过氧化氢水平,减少自由基和过氧化脂质的生成;T-AOC的大小反映机体抗氧化酶系统和非酶系统对外来刺激

的代偿能力以及机体自由基代谢的状态,是反映机体防御体系抗氧化能力的良好指标。MDA是自由基与不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应的主要代谢产物,常被用来间接反应机体的自由基代谢的变化,对细胞具有严重的损伤作用。图4为OCT对高脂饲养小鼠肝脏CAT、T-AOC、MDA的影响。



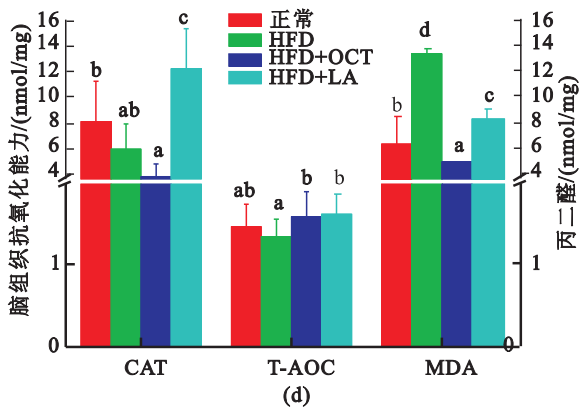


图 4 OCT 对高脂饲养小鼠肝脏 (a)、肌肉 (b)、脂肪 (c)、脑组织 (d) 抗氧化能力的影响 (U/mgprot, nmol/mgprot, n=16, $\bar{x} \pm s$)

Fig. 4 Effect of OCT on antioxidant capacity of liver (a), muscle (b), adipose (c) and brain (d) of mice fed with high fat diet (U/mgprot, nmol/mgprot, n=16, $\bar{x} \pm s$)

由图 4 可以看出:与正常组相比,高脂组小鼠代谢组织 CAT 和 T-AOC 水平均有不同程度的降低,MDA 水平出现升高,注射 OCT 或者添加 LA 之后,与高脂组相比,小鼠 CAT 和 T-AOC 水平出

现一定程度的升高,MDA 水平出现一定程度的降低,表明注射 OCT 可以不同程度的提高高脂饲养小鼠代谢组织的 CAT 和 T-AOC 水平,降低其 MDA 水平,缓解氧化应激。

2.5 小鼠肝脏、肌肉、脂肪组织 ROS 水平与抗氧化能力的相关性分析

自由基作为机体的正常代谢产物,在平衡状态下,其在抗菌、消炎和抑制肿瘤等方面具有重要作用和意义,一旦平衡被打破,如机体受到疾病或某些外源性药物和毒物的侵害,自由基便会产生强大的伤害作用,造成生物膜的脂质过氧化损伤,引起酶、氨基酸、蛋白质的氧化破坏,对内脏器官、免疫系统的形态功能产生影响,从而引起机体疾病,甚至死亡^[6,7]。表 3 示出小鼠肝脏、肌肉、脂肪组织 ROS 水平与抗氧化能力的相关性分析。

由表 3 可以看出:代谢组织 CAT、T-AOC 水平与 ROS 水平呈显著负相关,MDA 水平与 ROS 呈显著正相关,表明过多的 ROS 造成机体抗氧化酶活力降低,脂质过氧化产物增加,使机体出现氧化应激。

表 3 小鼠肝脏、肌肉、脂肪组织 ROS 水平与抗氧化能力的相关性分析

Tab. 3 Correlation analysis of ROS of liver, muscle, adipose and antioxidant capacity in mice

肌肉 ROS	肌肉 CAT	肌肉 T-AOC	肌肉 MDA
	$r = -0.386^*, p = 0.002$	$r = -0.417^*, p = 0.001$	$r = 0.352^{**}, p = 0.004$
肌肉 ROS	脂肪 T-AOC	脂肪 MDA	
	$r = -0.386^*, p = 0.002$	$r = 0.384^{**}, p = 0.002$	
肝脏 ROS	肝脏 CAT		
	$r = -0.307^*, p = 0.014$		

3 结语

奥曲肽对高脂饲养小鼠血糖、血脂影响的研究显示,与高脂组相比,注射 OCT 之后,小鼠 OGTT 试验 1.5 h 时血糖显著下降,血糖曲线下面积降低,TC、TG、LDL-C、AI 水平出现不同程度的下降,LDL-C 水平显著升高。结果表明,注射 OCT 可以改善高脂饲养小鼠血糖、血脂代谢,降低高脂血症发生的危险。

奥曲肽对高脂饲养小鼠抗氧化能力影响的研究显示,与高脂组相比,注射 OCT 之后,小鼠肝脏、肌肉、脂肪、脑组织 ROS 水平下降,CAT、T-AOC 水平升高,MDA 水平下降,ROS 与 CAT、T-AOC 水平呈显著负相关,与 MDA 水平呈显著正相关,结果表明,高脂饲料饲养会导致小鼠代谢组织出现氧化应激,注射 OCT 可以降低高脂饲养小鼠代谢组织 ROS 水平,提高 CAT、T-AOC 水平,降低 MDA 水平,缓解氧化应激。作者为探究奥曲肽应用于抗氧化治疗营养代谢行疾病的可行性,提供了一定的实验依据。

参考文献(References):

[1] Martin L, Dolores C. Metabolic syndrome pathophysiology: The role of adipose tissue[J]. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, 2007, 17: 125—139.

[2] E Hopps, D Noto, G Caimi, et al. A novel component of the metabolic syndrome: The oxidative stress[J]. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, 2010, 20: 72—77.

[3] Mitsuyoshi Suzuki, Toshiaki Shimizu, Takahiro Kudo, et al. Octreotide prevents L-asparaginase-induced pancreatic injury in rats[J]. **Experimental Hematology**, 2008, 36: 172—180.

[4] Esfandiari N. Utility of the nitroblue tetrazolium reduction test for assessment of free radical production by seminal leukocytes and spermatozoa[J]. **Andrology**, 2003, 24: 862—869.

[5] Li Yunbo, Zhu Hong, Michael A. Detection of mitochondria-derived free radical production by the chemilumigenic probes lucigenin and luminol [J]. **Biochim Biophys Acta**, 1999, 14, 28: 1—12.

[6] D. Allan, Christopher M. Lipid peroxidation and protein oxidation in AD brain[J]. **Free Radical Biology & Medicine**, 2002, 32, 11: 1050—1060.

[7] Wu Li, Yong-Hui Shi, Rui-li Yang, et al. Effect of somatostatin analog on high-fat diet-induced metabolic syndrome: Involvement of reactive oxygen species[J]. **Peptides**, 2010, 31: 625—629.

科技信息

美国医学会(AMA)提议对含糖饮料征税

近日,美国医学会(AMA)提议对含糖饮料征税,为应对肥胖问题。

AMA称,越来越多的研究证明,添加到饮料中的糖分会导致肥胖、糖尿病等一系列健康问题,而这些糖分约占美国民众所摄入添加糖分的一半。

AMA认为,对含糖饮料征税不仅可以使得消费者在购买饮料时“三思”,而且还有助肥胖治疗,以及对消费者教育。

AMA的 Science and Public Health 委员会指出,对含糖饮料按照每盎司征收 1 美分的税率来征税,那么肥胖率可降低 5%,10 年内可节省 170 亿美元的医疗费用。

AMA 指出它也将继续支持研究长期饮用零卡路里的糖替代品的潜在负面影响。

[信息来源] food safety news. Doctors Promote Tax on Sugar—Sweetened Drinks[EB/OL]. (2012—6—21). <http://www.foodsafetynews.com/2012/06/doctors-promote-tax-on-sugar-sweetened-drinks>.

科学家开发出可食用抗菌薄膜

近日《食品科学》杂志(Journal of Food Science)刊登一项研究显示,科学家将抗菌素应用到可食用薄膜中,成功开发出了可食用的抗菌薄膜。

可食用薄膜作为食品包装材料,可减少食品表面的污染,而在其中加入抗菌物质后,它可起到防止致病菌和腐败菌污染食品表面的作用。该研究所采用的可食薄膜由苹果、胡萝卜和木槿为原料制成,研究人员将香芹酚、肉桂醛两种抗菌素应用于可食薄膜中,研究了两种抗菌膜对火腿和腊肠中李斯特菌的抗菌效果。研究显示,香芹酚抗菌膜的抗菌性优于肉桂醛薄膜。与不含抗菌素的对照组薄膜相比较,抗菌薄膜使得食品中的李斯特菌数量大大减少。研究还显示,这种抗菌薄膜在火腿上的效果要优于腊肠。

研究人员称,食品企业和消费者可以利用这种薄膜,控制食品表面的微生物污染。

[信息来源] 食品伙伴网. 科学家开发出可食用抗菌薄膜 [EB/OL]. (2012—6—21). <http://www.foodmate.net/news/keji/2012/06/208512.html>.