

Ⅱ型糖尿病患者血清糖基化胰岛素水平及与胰岛素抵抗的关系

冯波 李艳*

(湖北省宜昌市中心医院内分泌科, 湖北省宜昌市 443003)

Serum Glycosylated Insulin Level in Type Ⅱ Diabetics and its Relationship with Insulin Resistance

FENG Bo and LI Yan

(Department of Endocrinology, Yichang City Central Hospital, 443003 Hubei, China)

ABSTRACT 75 g oral glucose tolerant test and insulin releasing test were performed in 33 patients with type Ⅱ diabetes mellitus. Glycosylated insulin (GI) was determined with nitroblue tetrazolium (NBT) colorreaction using anti-insulin antibody for precipitation of serum insulin. GI level was increased significantly in diabetics and correlated positive with fasting blood glucose concentration, negative with the ratio of fasting serum insulin/glucose concentration and the ratio of the area under the insulin curve over the area under the glucose curve. The results indicate that GI level depends on the condition of the blood glucose control and is involved in the development of insulin resistance.

KEY WORDS Diabetes mellitus; Insulin, glycosylated; Insulin resistance

摘要 33例Ⅱ型糖尿病患者行葡萄糖耐量试验和胰岛素释放试验。利用胰岛素抗体分离血清胰岛素, 比色法测定血清糖基化胰岛素水平。糖尿病患者血清糖基化胰岛素水平显著升高, 且与血糖水平呈显著正相关, 与胰岛素抵抗的有关指标呈显著负相关, 提示血清糖基化胰岛素水平取决于血糖水平, 且可能与胰岛素

抵抗的形成有关。

关键词 Ⅱ型糖尿病; 糖基化胰岛素; 胰岛素抵抗

血清糖基化蛋白质作为糖尿病控制指标以及在糖尿病并发症和动脉粥样硬化发病中所起的作用是近年来糖尿病研究的热点之一。糖尿病患者存在有胰岛素相对不足及/或靶细胞的胰岛素敏感性降低, 二者均可能与胰岛素的糖基化有关。本文的目的在于定量测定糖尿病患者血清糖基化胰岛素水平, 并与胰岛素抵抗有关的指标进行相关分析, 以探讨胰岛素糖基化在胰岛素抵抗形成中的意义。

1 对象和方法

1.1 对象

1.1.1 **正常对照组** 选择11例健康人, 其中男性6例, 女性5例, 年龄 56 ± 11.4 岁。

1.1.2 **糖尿病组** 根据1985年世界卫生组织糖尿病诊断标准选择33例Ⅱ型糖尿病(non-insulin dependent diabetes mellitus, NIDDM)患者, 其中男性21例, 女性12例, 年龄 54.1 ± 8.6 岁。

1.2 方法

1.2.1 所有受检者均行75克葡萄糖耐量试验和胰岛素释放试验, 留取血清检测血糖、胰岛素和糖基化胰岛素水平, 并计算血糖曲线下面积(Area under the glucose curve, AGC)和胰岛素曲线下面积(Area under the insulin curve, AIC)。

1.2.2 空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)按邻甲苯胺法测定。

1.2.3 空腹血清胰岛素(fasting serum insulin, FSI)水平按双抗体放射免疫法测定, 由上海生物制品研究所提供试剂盒。

* 湖北省宜昌医学高等专科学校

1.2.4 血清糖基化胰岛素水平测定 200 μL 血清和抗胰岛素抗体(效价 1:40 000, 购自上海生物制品研究所)共同在 4℃ 孵育 24 h, 以 4 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 20 min, 移去上清液, 沉淀物用 20 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris-HCl 缓冲液 (pH 8.6) 溶解后, 加入 25 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氯化硝基四氮唑蓝 (Fluka 产品, pH 10.5) 在 37℃ 水浴 15 min 后显色, 以 1-脱氧-1-吗啡果糖 (1-deoxy-1-morpholino fructose, DMF) 为参照物, 在波长 530 nm 比色, 计算糖基化胰岛素含量。

1.2.5 分别计算空腹血清胰岛素与血糖的比值 (FSI/ FBG)、血清胰岛素曲线下面积和血糖曲线下面积的比

Table 1. Parameters in control and NIDDM ($\bar{x} \pm s$).

Group	n	FST ($\text{mU} \cdot \text{L}^{-1}$)	FBG ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	FSI/ FBG	AIc ($\text{mU/L} \cdot \text{h}$)	AGc ($\text{mmol/L} \cdot \text{h}$)	AIc/ AGc
control	11	19.8 $\pm$ 7.3	6.0 $\pm$ 0.8	3.1 $\pm$ 1.5	188 $\pm$ 59	24.3 $\pm$ 2.4	7.6 $\pm$ 1.9
NIDDM	33	22.1 $\pm$ 9.6	12.2 $\pm$ 4.3*	2.1 $\pm$ 1.4*	117 $\pm$ 76*	54.7 $\pm$ 13.5*	2.4 $\pm$ 1.9*

* $P < 0.01$, compared with control group.

2.2 正常对照组和 I 型糖尿病患者空腹和糖负荷后 2 h 血清糖基化胰岛素水平 见 Table 2。可见无论是空腹, 还是糖负荷后 2 h, I 型糖尿病患者血清糖基化胰岛素水平都高于正常对照组 ($P < 0.05$); 糖负荷对两组都没有影响。

Table 2. Serum glycosylated insulin level ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $\bar{x} \pm s$).

Groups	n	fasting	postoral glucose
control	11	399 $\pm$ 49	381 $\pm$ 115
NIDDM	33	504 $\pm$ 97*	505 $\pm$ 106*

* $P < 0.05$, compared with control group.

2.3 8 例正常人的血清标本经抗胰岛素抗体处理后的上清液未检出胰岛素。

2.4 相关分析

在糖尿病组, 病人血清糖基化胰岛素水平与 FBG 呈显著正相关 ($r = 0.386, P < 0.05$), 与 AGc 也有正相关关系 ($r = 0.301, P = 0.05$); 与 FSI/FBG 值和 AIc/AGc 值呈显著负相关 ($r = -0.335, r = -0.341, P < 0.05$); 与 FSI 无相关性。

3 讨论

血糖持续增高时, 葡萄糖能与各种蛋白质

值 (AIc/AGc)。

1.2.6 8 例正常人的血清标本经胰岛素抗体处理后的上清液进行胰岛素测定。

1.3 所有数据经统计学处理后行显著性检验和相关分析。

2 结果

2.1 正常对照组和 I 型糖尿病患者组空腹血糖和血清胰岛素测定结果 见 Table 1。可见除空腹血清胰岛素外, 其它指标两组间均有显著性差异 ($P < 0.01$)。

发生非酶糖化反应形成糖基化蛋白质, 它能较好地反映血糖的控制状况。糖基化血浆蛋白在碱性条件下其酰胺键能还原氯化硝基四氮唑蓝形成甲腈, 以 DMF 为参照标准, 可比色测定糖基化蛋白质的含量^[1]。由于糖基化蛋白质的标准品获得不易, 直接测定各种糖基化蛋白质含量较困难, 因此目前多采用糖基化蛋白质所占比例来反映糖基化蛋白质的水平。通常测定的糖基化血浆蛋白水平是血浆内各种糖基化蛋白质的总和, 因此, 可根据血浆内各种蛋白质的理化性质及免疫学特征进行逐个分离而测定每种糖基化蛋白质的含量。我们利用抗胰岛素抗体结合血清胰岛素达到免疫分离的目的, 从而避免其它糖基化血浆蛋白质对检测结果的干扰。本文结果显示经抗胰岛素抗体处理过的血清标本, 离心后的上清液中未检测出胰岛素, 说明抗胰岛素抗体效价足够, 免疫分离效果充分。本文资料表明 I 型糖尿病患者血清糖基化胰岛素水平明显高于正常对照组, 且与空腹血糖呈显著正相关, 与血清胰岛素水平无明显相关, 表明血清糖基化胰岛素水平取决于血糖的浓度, 而与空腹基础胰岛素水平无关。糖基化胰岛素水平在空腹基础状态及糖负荷后 2 小时之间无明显

差异,说明胰岛素糖基化主要发生在基础分泌,而与糖负荷后刺激B细胞分泌的胰岛素无关。

胰岛素抵抗是I型糖尿病的一个基本特征,表现为胰岛素介导的葡萄糖利用率下降,其发生原因多种多样。空腹血清胰岛素/血糖比值和糖负荷后血清胰岛素/血糖曲线下面积比值分别被认为能反映肝脏及外周组织对胰岛素的敏感性的较好指标,与葡萄糖钳夹技术测定结果高度相关^[2]。本资料表明I型糖尿病患者这两个比值均较正常对照组明显低下,提示患者存在胰岛素抵抗。相关分析发现血清胰岛素/血糖比值和两者曲线下面积比值与糖基化胰岛素水平呈显著负相关,说明胰岛素抵抗与体内糖基化胰岛素水平有密切关系。胰岛素糖基化后其分子空间构象发生改变,致使其生物活性降低^[3],导致B细胞代偿性产生过多的胰岛素,而出现继发性高胰岛素血症,另外可通过靶细胞膜上糖基化终产物受体介导产生细胞因子如肿瘤坏死因子、白细胞介素-1和胰岛素样生长因

子-1而影响靶细胞糖代谢^[4,5],这些均可促使和加重靶组织对胰岛素不敏感。胰岛素糖基化可能是胰岛素抵抗发生的重要原因之一。

参考文献

- 1 Roger NJ. Fructosamine: A new approach of diabetic control. *Clin Chim Acta*, 1983, **127**:87
- 2 Caro JF. Insulin resistance in obese and nonobese man. *J Clin Endocrinol Metab*, 1991, **73**:691
- 3 Dolhofer R, Wieland OH. Preparation and biological properties of glycosylated insulin. *FEBS Lett*, 1979, **100**:133
- 4 Vlassara H, Brownlee M, Cerami A. High-affinity receptor-mediated uptake and degradation of glucose-modified proteins: A potential mechanism for the removal of senescent macromolecules. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1985, **82**:5588
- 5 Vlassara H, Esposito C, Gerlach H, et al. Receptor-mediated binding of glycosylated albumin to endothelium induces tissue factor and acts synergistically with TNF procoagulant activity. *Diabetes*, 1989, **38**(suppl 2):329

(本文 1994-09-07 收到)

关于召开第四届全国动脉粥样硬化学术 交流会的第一轮通知

为深入开展有关动脉粥样硬化的研究,交流近年来国内外动脉粥样硬化的基础和临床研究成果,根据第三届全国动脉硬化学术会议(天津)广大代表的提议,经中国病理生理学会动脉粥样硬化专业委员会研究,决定委托衡阳医学院承办第四届全国动脉粥样硬化学术交流会,现将有关事项通知如下:

- 1、会议主要议程: A. 第三届委员会工作告; B. 专题讲座;
C. 论文报告; D. 技术交流;
E. 学术研究; F. 选举第四届委员会
- 2、会期及会址: 拟于 1995 年暑假期间在湖南省张家界举行会议。
- 3、征稿内容及要求: 凡与动脉粥样硬化基础和临床研究有关的文章均在本次征集之列。
A. 专题: 要求为全文并附参考文献, 字数不超过 5 000 字(参考文献除外)。
B. 论文: 只收摘要, 每篇字数限 1 000 字以内。
来稿请寄: 衡阳医学院心血管病研究所 涂玉林 (邮编: 421001)
截止日期为 1995 年 1 月 31 日(以邮戳为准), 过期无法纳入汇编, 请谅解。
- 4、其他: 具体日期及报到地点另行通知。(请互相转告)

中国病理生理学会动脉粥样硬化专业委员会
衡阳医学院心血管病研究所

1994 年 7 月 28 日