胰岛素对糖尿病大鼠玻璃体及房水中 E-选择素水平的影响*

张志红¹, 陈卫芳², 李令辉¹, 王改新¹, 李 瑾¹ (1. 河北省石家庄市第二医院眼科 050051; 2. 华北石油管理局总医院眼科, 河北任丘 062550)

【摘要】 目的 探讨胰岛素对糖尿病大鼠玻璃体及房水中 E-选择素水平的影响。方法 60 只大鼠分为正常对照组、糖尿病血糖未控制组、糖尿病胰岛素治疗组共 3 组, 每组 20 只, 喂养 5 个月时, 应用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测玻璃体、房水中 E-选择素水平。结果 各组玻璃体中 E-选择素水平分别为: 正常对照组 (0.503 ± 0.013) ng/mL, 糖尿病血糖未控制组 (0.728 ± 0.111) ng/mL, 糖尿病胰岛素治疗组 (0.565 ± 0.061) ng/mL, 各组组间比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。各组房水中 E-选择素水平分别为: 正常对照组 (0.048 ± 0.004) ng/mL, 糖尿病血糖未控制组 (0.099 ± 0.012) ng/mL, 糖尿病胰岛素治疗组 (0.063 ± 0.007) ng/mL, 各组间比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 胰岛素治疗可明显降低糖尿病鼠玻璃体及房水内 E-选择素水平。

【关键词】 胰岛素; E-选择素; 糖尿病; 玻璃体; 房水

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2014.16.005 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2014)16-2203-02

Influence of insulin on E-selectin in vitreous and aqueous humor of diabetic rats* ZHANG Zhi-hong¹, CHEN Wei-fang², LI Ling-hui¹, WANG Gai-xin¹, LI Jin¹ (1. Department of Ophthalmology, the Second Hospital in Shijiazhuang, Hebei 050051, China; 2. Department of Ophthalmology, General Hospital of North China Petroleum Administration Bureau, Renqiu, Hebei 062550, China)

【Abstract】 Objective To explore the influence of insulin on E-selectin in vitreous and aqueous humor of diabetic rats. **Methods** Sixty SD male rats were randomly divided into the following groups: normal control (group A), diabetic rats with uncontrolled blood glucose group (group B), diabetic rats insulin controlled group (group C), received intensive insulin therapy, 20 rats in each group. Diabetes was induced in SD rats by a single intraperitoneal injection of Streptozotocin (STZ). Application of ELISA method to detect E-selectin in vitreous and aqueous humor after 5 months. **Results** The levels of E-selectin in vitreous in group B was higher than group A and group C ($P < 0.05$), The levels of E-selectin in vitreous respectively was group A (0.503 ± 0.013) ng/mL, group B (0.728 ± 0.111) ng/mL, group C (0.565 ± 0.061) ng/mL. Content of E-selectin (ng/mL) in aqueous humor respectively was group A (0.048 ± 0.004) ng/mL, group B (0.099 ± 0.012) ng/mL, group C (0.063 ± 0.007) ng/mL. Each group is statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** Insulin treatment can obviously reduce the levels of E-selectin in the vitreous and aqueous humor of diabetic rat, reduce the incidence of diabetic retinopathy.

【Key words】 insulin; E-selectin; diabetes; vitreous; aqueous humor

越来越多的研究表明局部炎症反应在糖尿病视网膜病变 (DR) 发生和发展过程中发挥着重要作用^[1]。一些慢性轻度炎症是糖尿病性视网膜病变的基础, 内皮细胞黏附特性的改变则是炎症反应的早期反应过程^[2-4]。E-选择素作用于视网膜毛细血管, 诱导黏附分子增加, 高糖及缺氧状态也可引起白细胞活化, 从而使 E-选择素等黏附分子表达增加, 增加了白细胞对视网膜内皮细胞的黏附性。黏附分子表达升高的同时, 这种分子的膜脱离至周围组织及体液中, DR 患者的玻璃体及房水中 E-选择素可反映视网膜血管内皮损伤情况。本文观察了糖尿病大鼠玻璃体及房水中 E-选择素水平, 以及胰岛素治疗时糖尿病大鼠玻璃体及房水中 E-选择素水平变化, 现报道如下。

1 材料与方 法

1.1 糖尿病大鼠动物模型的制作 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 60 只, 雄性, 体质量 200~250 g。随机分为正常对照组、糖尿病血糖未控制组、糖尿病胰岛素治疗组共 3 组, 每组 20 只大鼠。糖尿病组大鼠造模, 大鼠禁食, 水自由饮用过夜, 于第 2 天腹腔内注射链脲菌素 (STZ), 按 60 mg/kg 腹腔注射, 正常对照组腹腔内注射等量 0.1 mol/L 的柠檬酸缓冲液 (pH4.5)。

72 h 后剪尾采血测血糖, 空腹血糖 16.7 mol/L (3 000 mg/L) 以上, 尿量及饮水明显增多、体质量下降者建模成功, 列为实验对象。

1.2 糖尿病大鼠血糖的控制 腹腔注射 STZ 3 周后, 糖尿病胰岛素治疗组大鼠, 给予 Novo lin 30R 胰岛素 4~6 U/(kg·d), 每日下午 5~6 点皮下注射, 根据血糖水平每天调整胰岛素用量, 使空腹血糖控制在 4~9 mmol/L。糖尿病血糖未控制组大鼠, 未给予任何降血糖药物。

1.3 方法 应用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测玻璃体、房水中 E-选择素水平。兔抗鼠 E-选择素单克隆抗体购自北京北方生物技术研究所。

1.4 统计学方法 应用 SAS9.1 版软件进行统计分析, 数据资料以 $\bar{x} \pm s$ 形式表示, 组间比较采用方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 实验动物的一般情况 糖尿病模型成功后, 大鼠逐渐出现多饮、多食、多尿, 体质量增长缓慢或减轻的症状。与正常对照组相比, 胰岛素治疗组血糖水平差异有统计学意义 ($P < 0.05$),

* 基金项目: 河北省石家庄市科技局资助项目 (131460653)。

作者简介: 张志红, 女, 硕士, 主治医师, 主要从事眼底病、白内障的研究。

胆固醇和三酰甘油水平差异无统计学意义($P>0.05$)。血糖未控制组血糖水平、胆固醇和三酰甘油水平与正常对照组和糖尿病胰岛素治疗组差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

2.2 各组大鼠玻璃体、房水中的 E-选择素水平比较 糖尿病

胰岛素治疗组玻璃体、房水中的 E-选择素水平明显低于糖尿病血糖未控制组,高于正常对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$);糖尿病血糖未控制组玻璃体、房水中的 E-选择素水平明显高于正常对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 1 各组大鼠血糖、胆固醇和三酰甘油水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	血糖(mmol/L)	胆固醇(mmol/L)	三酰甘油(mmol/L)
正常对照组	20	5.059±0.626	1.795±0.106	0.519±0.063
糖尿病血糖未控制组	20	12.017±3.000 [△]	2.434±0.172 [△]	0.854±0.079 [△]
糖尿病胰岛素治疗组	20	6.527±1.405 [*]	1.863±0.179 [*]	0.555±0.069 [*]

注:与正常对照组比较,[△] $P<0.05$;与糖尿病血糖未控制组比较,^{*} $P<0.05$ 。

表 2 各组大鼠玻璃体、房水中 E-选择素水平比较 (ng/mL, $\bar{x}\pm s$)

组别	n	玻璃体 E-选择素	房水 E-选择素
正常对照组	20	0.503±0.013	0.048±0.004
糖尿病血糖未控制组	20	0.728±0.111 [△]	0.099±0.012 [△]
糖尿病胰岛素治疗组	20	0.565±0.061 [*]	0.063±0.007 [*]

注:与正常对照组比较,[△] $P<0.05$;与糖尿病血糖未控制组比较,^{*} $P<0.05$ 。

3 讨 论

多项研究表明,高血糖能诱导血管内皮细胞功能改变,糖尿病患者其各种血清因子如 E-选择素、白细胞介素-1(IL-1)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、细胞间黏附分子 1(ICAM-1)等都明显高于健康人群,其机制与 2 型糖尿病的糖代谢紊乱、胰岛素抵抗、多种细胞因子、炎症反应等多种危险因素有关^[5]。E-选择素及其介导的白细胞与血管内皮细胞的黏附过程在 DR 毛细血管内皮损伤、毛细血管闭塞及新生血管形成的 3 个阶段中均起重要作用^[6-8]。一旦白细胞在 E-选择素等黏附分子介导下黏附于血管壁,会释放氧自由基、酶等细胞毒性物质,通过单核细胞、中性粒细胞产生蛋白酶、胶原酶和溶酶体蛋白等损伤内皮,增加血管通透性以及引起内皮细胞增殖。E-选择素水平增加可使白细胞在毛细血管聚集进一步引起毛细血管闭塞、破坏,是刺激新生血管形成的重要因素,从而引发或加重糖尿病视网膜损伤^[9]。正常情况下玻璃体内黏附分子水平很少,糖尿病患者由于高血糖、缺氧等原因造成血-视网膜屏障破坏,血循环中的 E-选择素等炎症因子穿过已破坏的血-视网膜屏障,作用于视网膜毛细血管,诱导 E-选择素水平增加,并脱离至玻璃体、房水眼内组织中。有研究表明,胰岛素一方面可以控制血糖,另一方面又促进血-视网膜屏障的破坏,促进糖尿病的进展^[10-12]。本文探讨胰岛素治疗对糖尿病大鼠玻璃体及房水内 E-选择素水平的影响,结果显示糖尿病大鼠胰岛素治疗组玻璃体及房水内 E-选择素水平明显低于糖尿病血糖未控制组,高于正常对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。说明血糖控制不良是糖尿病患者视网膜产生 E-选择素的主要因素,会增加白细胞与血管内皮黏附,促进血管并发症的发生,控制血糖后可改善玻璃体及房水内 E-选择素水平。玻璃体中 E-选择素的水平可能作为 DR 进展的识别标志,胰岛素治疗在控制血糖的同时降低玻璃体及房水内 E-选择素水平,对糖尿病微血管具有保护作用,降低 DR 发病率。

参考文献

[1] Tang J, Kern TS. Inflammation in diabetic retinopathy [J]. Prog Retin Eye Res, 2011, 30(5): 343-358.

[2] Kanwar M, Chan PS, Kern TS, et al. Oxidative damage in the retinal mitochondria of diabetic mice: possible protection by superoxide dismutase [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2007, 48(8): 3805-3811.

[3] Jousseaume AM, Poulaki V, Le ML, et al. A central role for inflammation in the pathogenesis of diabetic retinopathy [J]. FASEB J, 2004, 18(12): 1450-1452.

[4] Granger DN, Vowinkel T, Petnehazy T. Modulation of the inflammatory response in cardiovascular disease [J]. Hypertension, 2004, 43(5): 924-931.

[5] Zhong Y, Li J, Chen Y, et al. Activation of endoplasmic reticulum stress by hyperglycemia is essential for Müller cell-derived inflammatory cytokine production in diabetes [J]. Diabetes, 2012, 61(2): 492-504.

[6] Boulbou MS, Koukoulis GN, Vasiou KG, et al. Increased soluble E-selectin levels in type 2 diabetic patients with peripheral arterial disease [J]. Int Angiol, 2004, 23(1): 18-24.

[7] Wilkinson-Berka JL, Tan G, Binger KJ, et al. Aliskiren reduces vascular pathology in diabetic retinopathy and oxygen-induced retinopathy in the transgenic(mRen-2)27 rat [J]. Diabetologia, 2011, 54(10): 2724-2735.

[8] Zheng L, Howell SJ, Hatala DA, et al. Salicylate-based anti-inflammatory drugs inhibit the early lesion of diabetic retinopathy [J]. Diabetes, 2007, 56(2): 337-345.

[9] Gogitidze Joy N, Hedrington MS, Briscoe VJ, et al. Effects of acute hypoglycemia on inflammatory and pro-atherothrombotic biomarkers in individuals with type 1 diabetes and healthy individuals [J]. Diabetes Care, 2010, 33(7): 1529-1535.

[10] Akalin A, Temiz G, Akcar N, et al. Short term effects of atorvastatin on endothelial functions and oxidized LDL levels in patients with type 2 diabetes [J]. Endocr J, 2008, 55(5): 861-866.

[11] Potenza MA, Gagliardi S, Nacci C, et al. Endothelial dysfunction in diabetes: from mechanisms to therapeutic targets [J]. Curr Med Chem, 2009, 16(1): 94-112.

[12] Shahin Y, Khan JA, Samuel N, et al. Angiotensin converting enzyme inhibitors effect on endothelial dysfunction: a meta-analysis of randomised controlled trials [J]. Atherosclerosis, 2011, 216(1): 7-16.

(收稿日期:2013-12-24 修回日期:2014-02-28)