

胰岛素小鼠皮下注射的降血糖作用研究*

吴润生¹ 范世锦¹ 梅 贇¹ 钟月春¹ 邱丽敏¹ 张礼烙¹ 邹丽宜^{2Δ}

(1 广东医学院药学院 2008 级药学本科 广东 东莞 524808 ;2 广东医学院药理教研室 广东 东莞 524808)

摘要 目的 :了解胰岛素皮下注射后不同时间对小鼠血糖的影响。方法 :采用正规胰岛素制剂 0.5U/ml 予小鼠按 0.054ml/10g 皮下注射后 ,观察在注射后 30 分钟、60 分钟、90 分钟、120 分钟和 150 分钟后血糖的变化 ,并在注射 150 分钟后予 10%葡萄糖灌胃 ,观察小鼠 30 分钟和 60 分钟后的血糖变化。结果 :皮下注射各剂量的胰岛素均能引起小鼠血糖降低 ,其中以注射 90 分钟后血糖下降最为明显 ,高剂量胰岛素降血糖作用最明显。给予葡萄糖水灌胃后血糖有所升高 ,但是高剂量恢复比较慢。结论 :0.5U/ml 胰岛素按 0.108ml/10g 皮下注射会引起小鼠血糖过低 ,不利于实验数据的收集 ,0.027ml/10g 和 0.054ml/10g 剂量比较合适。

关键词 胰岛素 ;皮下注射 ;血糖 ;小鼠

中图分类号 :Q95-3 ,R587.1 文献标识码 :A 文章编号 :1673-6273(2012)05-852-04

The Effect of Blood Sugar Level After Insulin Skin-Poping in Mice*

WU Run-sheng¹,FAN Shi-jing¹, MEI Yun¹, ZHONG Yue-chun¹, QIU Li-min¹, ZHANG Li-luo¹, ZOU Li-yi^{2Δ}

(1 Guangdong medical college of pharmacy degree level in 2008 Dongguan Guangdong 524808,China;

2 Department of pharmacological, Guangdong medical college Dongguan Guangdong 524808,China)

ABSTRACT Objective: To study the effect of different blood sugar level at different time after insulin skin-pop in mice. **Methods:** Inject (skin-popi) the mice with regular insulin (0.5U/ml, 0.054ml/10g), After 30 minutes, 60 minutes, 90 minutes, 120 minutes and 150 minutes to detect the blood sugar. And at the time after injection 150 minutes later, fill the mice with 10% glucose, To study the blood sugar level of the mice. **Results:** Skin-popping the different dosage of insulin could reduce the blood sugar in mice. It was most obvious in high dose insulin and at 90 minutes after injection. The blood sugar were increasing after filling the 10% glucose, but it increased more slowly in high dose group. **Conclusions:** the insulin after skin-poping in 0.55u/ml,0.108ml/10g in mice, blood surger level reduced, so, it was not good for the collection of experimental data, but a dose of 0.027ml/10g and 0.054ml/10g would be better choice.

Key words: Insulin; Skin-Popping; Blood Sugar; Mice

Chinese Library Classification(CLC): Q95-3, R587.1 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2012)05-852-04

前言

胰岛素在临床上常单用或合用其他药物治疗糖尿病^[1,2] ,降血糖实验一直是药理学实验中的经典实验^[3] ,由于检测结果直观^[4] ,数据可靠 ,容易操作 ,因此经常为各学校药理学实验采用^[5] ,但是由于对胰岛素造成小鼠的降血糖作用和作用时间不甚了解 ,降糖规律不清楚 ,往往造成实验失败 ,如不能很好观察到明显的降血糖作用 ,或者胰岛素用量不合适^[6] ,用量过多的时候 ,造成血糖测不出来 ,用量过少的时候 ,未能达到良好的降血糖作用 ,或者采血时间没有把握好 ,造成实验现象不明显 ,针对这一现象 ,我们设计了观察胰岛素小鼠皮下注射后不同时间的血糖变化 ,为这一经典实验提供科学的参考数据 ,现报导如下 :

1 材料与方 法

1.1 材料

动物 本院实验动物中心提供的昆明种小鼠 80 只 ,体重 20-22g 雌雄各半 ,随机分成 2 组。正规胰岛素(上海顺勃生物 工程技术有限公司贵州公司 ,批号 :11061-68-0) ,10%葡萄糖溶液(四川科伦药业股份有限公司 ,批号 :20110229-46)。仪器与 试剂美国强生稳豪血糖仪(美国强生公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 动物分组 上述小白鼠禁食 8 小时后随机分为 4 组 ,每 组 20 只 雌雄各半。A 组(空白对照组) 给予 N.S.0.054ml/10g 背部皮下注射 1 次 ;B 组 (胰岛素高剂量降血糖组) ,按 0.108ml/10g 背部皮下注射 0.5U/ml 胰岛素 1 次。C 组 (胰岛素中剂量降血糖组) ,按 0.054ml/10g 背部皮下注射 0.5U/ml 胰岛素 1 次 ,D 组(胰岛素低剂量降血糖组) ,按 0.027ml/10g 背部 皮下注射 0.5U/ml 胰岛素 1 次。于注射后 30 分钟、60 分钟、90 分钟、120 分钟和 150 分钟 ,分别采集尾静脉用血糖仪测定血 糖的变化。150 分钟采血检测后 ,马上灌胃 10%葡萄糖盐水

* 基金项目 :广东医学院教育研究课题

作者简介 :吴润生 男(1987-) ,广东医学院药学院 2008 在读本科生。Tel :15816832596 E-mail:15816832596@139.com

Δ通讯作者 :邹丽宜(1975-) ,女 ,硕士 ,药理学副教授 ,硕士生导师 ,主要从事基础药理学研究

Tel :076922896364 E-mail:zouliyi123@yahoo.com.cn

(收稿日期 :2011-06-08 接受日期 :2011-08-02)

0.1ml/10g,观察 30 分钟和 60 分钟后血糖的变化。

1.2.2 统计学处理 实验结果数据采用 $\bar{X} \pm S$ 表示,组间差异性用 t 检验,以 $P < 0.05$ 表示差异具有显著意义。

2 结果

2.1 各组小鼠皮下注射胰岛素后对小鼠状态的影响

实验显示,各组小鼠注射相应剂量的胰岛素后,没有小鼠发生死亡,在注射后 30 分钟内各种小鼠的表现较活泼,但是在 60 分钟后,B 组小鼠开始出现活动减少,少攀爬现象,而在 90 分钟左右出现呼吸急促,精神萎靡现象,个别趴着不动,150 分钟左右症状有所缓解,但仍活动减少。C 组小鼠在 90 分钟左右

也出现了活动减少,呼吸加快的现象,但症状比 B 组轻,150 分钟左右恢复较好。D 组小鼠 90 分钟左右出现活动稍减少,150 分钟左右可见已经恢复。A 组小鼠较活泼,未见明显变化。

2.2 各组小鼠皮下注射胰岛素后血糖的变化

实验结果提示,给予小鼠皮下注射胰岛素 30 分钟后,血糖开始下降($P < 0.01$),胰岛素 3 组血糖在 90 分钟左右下降最为明显,而高剂量组明显比中剂量和低剂量组下降($P < 0.01$),给药 150 分钟后,高剂量组血糖恢复不明显,而中剂量组和低剂量组则恢复较快($P < 0.01$)。由表 2 可知,B,C 两组的血糖下降比较明显,也直观,在给药后 90 分钟,B,C 两组血糖下降率相差不大($P > 0.05$)。D 组和 B,C 两组相比,降血糖作用明显下降($P < 0.01$)。

表 1 胰岛素皮下注射后不同时间对小鼠血糖的影响(mmol/L)

Table 1 Effect of skin-pop Insulin on blood sugar of mice at different time(mmol/L)

组别 (Group)	给药前 (Before injection)	给药后 30min (30min after Injection)	给药后 60min (60min after Injection)	给药后 90min (90min after Injection)	给药后 120min (120min after Injection)	给药后 150min (150min after Injection)
A-Group	6.85± 0.37	7.21± 0.57	6.68± 0.51	7.11± 0.66	7.09± 0.91	7.26± 0.68
B-Group	7.01± 0.41	2.16± 0.11**	1.07± 0.25**	<1**	1.64± 0.67**	1.99± 0.33**
C-Group	6.99± 0.38	3.75± 0.43**	2.04± 0.36**△	1.19± 0.23**△	3.25± 0.71**△	5.09± 0.81**△△
D-Group	7.15± 0.59	5.92± 0.67*△	4.87± 0.47*△△#	2.81± 0.51**△△#	3.94± 0.66**△△	5.91± 0.49*△△

注:与 A 组比较 *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; 与 B 组比较 △: $P < 0.05$; △△: $P < 0.01$; 与 C 组比较 #: $P < 0.05$; ##: $P < 0.01$

Note: Compared with Group A *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; Compared with Group B △: $P < 0.05$; △△: $P < 0.01$; Compared with Group C #: $P < 0.05$; ##: $P < 0.01$

表 2 胰岛素皮下注射后不同时间对小鼠血糖变化率的影响(%)

Table 2 Effect of the rate of blood sugar by Insulin skin-popping in different time in mice(%)

组别 (Group)	给药后 30min (30min after Injection)	给药后 60min (60min after Injection)	给药后 90min (90min after Injection)	给药后 120min (120min after Injection)	给药后 150min (150min after Injection)
A-Group	5.26± 0.13	-2.48± 0.25	3.79± 0.27	3.50± 0.84	5.98± 0.41
B-Group	-69.18± 0.33	-84.73± 0.55*	<-86.59± 0.67**	-76.60± 0.81**	71.61± 0.52**
C-Group	-46.35± 0.52**	-70.81± 0.61**△	-82.97± 0.53**	-53.50± 0.62**△	-27.38± 0.73*△△
D-Group	-17.20± 0.54*△	-31.89± 0.81*△△#	-60.70± 0.19**△△#	-44.89± 0.72**△△	-17.34± 0.50*△△

注:与 A 组比较 *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; 与 B 组比较 △: $P < 0.05$; △△: $P < 0.01$; 与 C 组比较 #: $P < 0.05$; ##: $P < 0.01$

Compared with Group A *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; Compared with Group B △: $P < 0.05$; △△: $P < 0.01$; Compared with Group C #: $P < 0.05$; ##: $P < 0.01$

2.3 各组小鼠灌胃 10%葡萄糖溶液后血糖的变化

由表 3 结果可知,予各组小鼠灌胃 10%葡萄糖溶液后,对照组小鼠的血糖上升很快,其他各组也有升高,但是幅度没有

对照组明显($P < 0.01$),其中高剂量组升高最为慢($P < 0.01$)。低剂量组则恢复较快,在灌胃 120 分钟后与正常组差异没有显著意义($P > 0.05$)。

表 3 胰岛素皮下注射后灌胃葡萄糖溶液对小鼠血糖的影响(mmol/L)

Table 3 Effect of oral Glucose solution on the blood sugar in mice after skin-popped with Insulin(mmol/L)

Group	灌胃后 30min (30min after Oral)	灌胃后 60min (60min after Oral)
A-Group	12.29± 0.95	12.08± 1.18
B-Group	3.62± 0.82**	3.94± 0.85**
C-Group	6.77± 0.71**△	7.09± 0.39*△
D-Group	8.13± 0.94*△△	10.19± 0.79△△#

注:与 A 组比较 *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; 与 B 组比较 △: $P < 0.05$; △△: $P < 0.01$; 与 C 组比较 #: $P < 0.05$; ##: $P < 0.01$

Compared with Group A *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; Compared with Group B △: $P < 0.05$; △△: $P < 0.01$; Compared with Group C #: $P < 0.05$; ##: $P < 0.01$

3.4 各组小鼠皮下注射胰岛素后体重的变化

由表 4 可知,皮下注射胰岛素后,小鼠的体重有不同程度的下降,在给药 90 分钟前未见明显的变化(P>0.05),但是在给

药 90 分钟时间段,高剂量组小鼠的体重明显比对照组下降(P<0.05),可能与血糖过低,引起小鼠休克和呼吸急促有关。

表 4 胰岛素皮下注射后对小鼠体重的影响(g)

Table 4 Effect of the body weight by Insulin skin-popping in different time in mice(g)

组别 (Group)	给药前 (Before injection)	给药后 30min (30min after Injection)	给药后 60min (60min after Injection)	给药后 90min (90min after Injection)	给药后 120min (120min after Injection)	给药后 150min (150min after Injection)
A-Group	21.68± 2.07	21.52± 2.33	21.37± 3.56	21.21± 5.61	21.23± 4.39	21.58± 5.06
B-Group	21.92± 2.84	21.03± 3.2	19.64± 4.09	17.66± 4.29*	16.84± 4.55*	16.71± 5.09*
C-Group	22.03± 3.08	21.89± 3.51	20.85± 4.22	19.22± 5.11	19.08± 4.16	19.11± 4.12
D-Group	21.82± 2.91	21.09± 3.03	20.06± 4.23	19.05± 3.98	18.97± 3.86	19.14± 4.17

注:与 A 组比较 *:P<0.05;**P<0.01;与 B 组比较 Δ:P<0.05; ΔΔ:P<0.01;与 C 组比较 #:P<0.05; ##: P<0.01

Note: Compared with Group A *:P<0.05;** P<0.01; Compared with Group B Δ:P<0.05; ΔΔ: P<0.01; Compared with Group C #:P<0.05; ##: P<0.01

3.5 各组小鼠灌胃葡萄糖后体重的变化

由表 5 可知,皮下注射胰岛素 150 分钟灌胃葡萄糖水后,

小鼠的体重有不同程度的恢复,其中中剂量和低剂量组恢复较快,而高剂量组则比较慢,与对照组比较差异有显著意义(P<0.05)。

表 5 胰岛素皮下注射后灌胃葡萄糖对小鼠体重的影响(g)

Table 5 Effect of oral Glucose solution on body weight of mice in different time after insulin skin-popping(g)

Group	灌胃前(Before oral)	灌胃后 30min (30min after Oral)	灌胃后 60min (60min after Oral)
A-Group	21.58± 5.06	22.29± 4.28	22.07± 4.11
B-Group	16.71± 5.09 *	18.09± 5.061 *	18.14± 5.26
C-Group	19.11± 4.12	20.61± 4.29	20.97± 3.68
D-Group	19.14± 4.17	21.07± 3.88	21.15± 5.07

注:与 A 组比较 *:P<0.05;**P<0.01;与 B 组比较 Δ:P<0.05; ΔΔ:P<0.01;与 C 组比较 #:P<0.05; ##:P<0.01.

Note: Compared with Group A *:P<0.05;** P<0.01; Compared with Group B Δ:P<0.05; ΔΔ: P<0.01; Compared with Group C #:P<0.05; ##: P<0.01

3 讨论

胰岛素是由胰岛 B 细胞分泌的一种酸性蛋白质,由 A 链和 B 链通过二硫键相连^[7]。胰岛素与胰岛素受体结合而发挥作用。当胰岛素与其受体 α 亚单位结合后,激活了 β 亚单位的 TPK 活性,引起受体 β 亚单位自身及胞内 IRS 的酪氨酸残基磷酸化,启动了磷酸化级联反应^[8]。同时,胰岛素可使葡萄糖转运蛋白从细胞内重新分布到细胞膜,而加速葡萄糖的转运,从而引起血糖的下降。虽然对胰岛素的非注射制剂研究越来越多^[9-10],但是,目前,胰岛素的主要给药方法仍为注射给药,因此,在对胰岛素的作用研究过程中,了解小鼠对胰岛素皮下注射后的血糖的变化仍具有比较重要的意义。在本实验中观察到,予小鼠背部皮下注射胰岛素后,可以明显引起小鼠血糖下降,在注射后 90 分钟到 120 分钟间下降最为明显,150 分钟有所回升,胰岛素注射后的不良反应以低血糖最为常见^[11],多为胰岛素用量过大或未按时进食所致为了预防低血糖的严重后果,发生低血糖后,一般轻者可口服糖水,重者应立即静脉注射 50%葡萄糖注射液 20ml~40ml 进行救治^[12]。实验中观察到小鼠注射胰岛

素后 90 分钟左右出现症状最为明显,150 分钟后给予 10%葡萄糖灌胃后情况好转,血糖回升明显,其中以正常对照组最为明显,其次是低剂量注射组。本实验结果显示,小鼠皮下注射 0.5U/ml 胰岛素 0.108ml/10g、0.054ml/10g 和 0.027ml/10g 均能明显降低小鼠的血糖,但是 0.108ml/10g 将血糖过急过强,导致在 90min 时间段小鼠的血糖过低未能检测,不利于实验数据的完整性,胰岛素浓度在 0.054ml/10g 和 0.027ml/10g 均能看到小鼠血糖明显下降,且恢复较快,可以看出胰岛素起效、作用维持和作用减退的过程,因此此两个剂量较适合实验用剂量。当出现血糖下降明显后,给予各组的小鼠灌胃葡萄糖,可以看出,0.054ml/10g 和 0.027ml/10g 剂量组的小鼠恢复比较快,而 0.108ml/10g 剂量组的小鼠恢复较慢,因此,对于实验而言,按 0.108ml/10g 剂量给予小鼠皮下注射胰岛素,剂量过大,不利于观察实验结果。

4 结论

给予小鼠背部皮下注射胰岛素按 0.108ml/10g,0.054ml/10g 和 0.027ml/10g 的剂量均能引起小鼠血糖明显下降,但是

0.108ml/10g 剂量下小鼠血糖过低,引起低血糖反应,且不能检测血糖,不利于实验数据的收集,也对小鼠造成较严重的影响,而按 0.054ml/10g 和 0.027ml/10g 剂量给药则比较合适。

参考文献(References)

- [1] 田文真,马凤珍,李红梅. 甘精胰岛素在门诊 2 型糖尿病中的应用[J]. 宁夏医学杂志,2011,33(1):52-54
Tian Wen-zhen, Ma Feng-zhen, Li Hong-mei, et al. The study of insulin in the outpatient the application type 2 diabetes[J]. Ningxia Medical Journal,2011,33(1):52-54
- [2] 赵菊珍. 甘精胰岛素联合口服降糖药治疗 2 型糖尿病[J]. 中国实用医刊,2010,37(16):56-58
Zhao Ju-ying. The treatment of type 2 diabetes by orally drug and insulin[J]. Chinese Journal of Practical Medicine,2010,37(16):56-58
- [3] 崔燎主编. 药理学实验教程[M]. 北京: 科学出版社,2011:136-138
Cui Liao Editor. Experiment tutorial of the Pharmacology[M]. Beijing: Sciences press,2011:136-138
- [4] 张超,胡亚楠,唐丽娜,等. 胰岛素不同给药途径对糖尿病小鼠葡萄糖代谢的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学,2007,12(8):927-930
Zhang Chao, Hu Ya-nan, Tang Li-na, et al. Insulin administration on glucose metabolism in alloxan diabetic mice[J]. Chin J Clin Pharmacol Ther,2007,12(8):927-930
- [5] 陈时宏. 多种教学方法在降血糖药教学中的应用实践[J]. 医学信息,2009,22(12):3640-3643
Chen Shi-hong. Applications of Multi-teaching Methods in Antidiabetes for Nursing Pharmacology, Teaching[J]. Medical Information,2009,22(12):3640-3643
- [6] 张程亮,蔡晓寒,李秋,等. 自身抗原胰岛素皮下注射诱导 1 型糖尿病模型小鼠的免疫耐受作用[J]. 医药导报,2006,25(6):495-498
Zhang Cheng-liang, Cai Xiao-han, Li Qiu, et al. A Study of Immune Tolerance Induced by Subcutaneous Administration of Autoantigen Insulin in Mice with IDDM[J]. Herald of Medicine,2006,25(6):495-498
- [7] 吴铁. 主编. 药理学[M]. 北京: 科学出版社,2101,413-416
Wu Tie. Editor. Pharmacology [M]. Beijing: Sciences press,2010:413-416
- [8] 李华,王草,刘维全,等. 人胰岛素基因在幼仓鼠肾细胞中的表达及其降血糖效应[J]. 中国临床康复,2006,10(40):178-180
Li Hua, Wang Cao, Liu Wei-quan, et al. Expression of human insulin genes in body hamster kidney cells and its effect on decreasing blood glucose[J]. Chinese Journal of Clinical Rehabilitation,2006,10(40):178-180
- [9] 刘蓉,张阳德. 糖尿病大鼠口服胰岛素油溶液降血糖效果的研究[J]. 中国现代医学杂志,2008,18(7):843-846
Liu Rong, Zhang Yang-de. Study on hypoglycemic activity of oral insulin oily solution in rats with diabetes [J]. China Journal of Modern Medicine,2008,18(7):843-846
- [10] 徐晖. 胰岛素纳米粒制剂研究进展[J]. 中国药业,2008,17(22):19-21
Xu Hui. Advance in Study of Insulin Nanoparticles[J]. China Pharmaceutical,2008,17(22):19-21
- [11] 闫敏,次央. 重视低血糖症的危害与防治[J]. 西藏医药杂志,2009,30(4):28-30
Yan Min, Ci Yang. The prevention and the harm of low blood sugar [J]. Medical journal of Tibetan,2009,30(4):28-30
- [12] 康燕婕,李恒周,彭勃,等. 预防输注胰岛素溶液发生低血糖反应的临床对策[J]. 中国医学创新,2011,8(5):154-155
Kang Yan-jie, Li Heng-zhou, Peng Bo, et al. The clinical countermeasures of low blood sugar reaction by inject insulin solution[J]. Medical Innovation of China,2011,8(5):154-155
- (上接第 860 页)
- [22] Becker GL. Fatty acid lessens halothane's inhibition of energy metabolism in isolated hepatocytes [J]. Anesth Analg,1990,70(1):22-28
- [23] Kitade H, Kanemaki T, Sakitani K, et al. Regulation of energy metabolism by interleukin-1beta, but not by interleukin-6, is mediated by nitric oxide in primary cultured rat hepatocytes [J]. Biochim Biophys Acta,1996,1311(1):20-26