

## 硒和维生素E对喂克山病病区粮大鼠 胰岛素、C肽水平的影响及其发生机制

张桂珍\* 李广生 王凡 康德仁 张培茵<sup>△</sup> 张秀云  
(白求恩医科大学地方病研究所, 长春 130021)

**提 要** 饲以克山病病区粮对大鼠胰岛B细胞分泌功能的影响及补充硒和维生素E (VE) 的保护作用研究表明, 病区粮组大鼠血清胰岛素、C肽水平显著下降, 胰岛B细胞C肽分泌贮备减少, 胰腺谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活力明显降低, 脂质过氧化物 (LPO) 含量升高。在病区粮内分别加入0.44mg/kg亚硒酸钠和500mg/kg VE及联合补充上述剂量硒和VE可明显提高血清胰岛素、C肽水平, 增加C肽分泌贮备, 升高胰腺GSH-Px活力及降低LPO含量。此结果提示, 克山病病区粮可引起大鼠胰岛B细胞功能受损, 胰岛素分泌不足, 此改变在克山病时可能成为加重心肌损害的原因之一。

**关键词:** 克山病 硒 VE 胰岛素 C肽

晚近的研究表明, 硒和维生素E (VE) 联合缺乏可能是克山病的基本病因<sup>[1]</sup>, 并且主要与病区粮有关。克山病致病因素在引起心肌坏死的同时往往导致不同程度的胰腺损害<sup>[2]</sup>。国外学者也观察到硒和VE缺乏可同时造成心肌与胰腺的双重病变<sup>[3]</sup>。上述工作主要集中在胰腺外分泌部的变化, 对胰岛的影响所知甚少。近年来一些学者通过形态学方法证实了存在胰岛-腺泡门脉系统<sup>[4]</sup>, 提示胰腺内外分泌之间可能存在的功能上的密切联系及病理上的相互影响。为进一步揭示克山病的发病机理, 本研究以克山病病区粮饲养大鼠观察其胰岛B细胞功能的变化及硒和VE的保护作用。

### 1 材料与 方法

#### 1.1 动物、饲料与分组

选用本校实验动物部提供的幼年Wistar大鼠60只, 体重90~120g, 雌雄各半, 按体重分为克山病病区粮组 (EG)、病区粮加硒组 (EG+Se)、病区粮加VE组 (EG+VE)、病区粮加硒和VE组 (EG+Se+VE) 和常规饲料组 (Stock diet, 饲以本校实验动物部提供的大鼠常规饲料。其组成 (%) 为: 玉米面48、黄豆面20、精盐0.5、高粱面7、麸子面15、鱼粉5、骨粉2.5、酵母粉2。含硒量为0.152mg/kg diet、VE量61.6mg/kg diet)。病区粮购于内蒙古呼伦贝尔盟莫力达瓦达斡尔自治旗宝山乡腰小泉村, 为1990年至1991年生产的粮食。其中玉米面的含硒量为<0.007mg/kg。除常规饲

\* 女, 1955年生, 讲师, 国家“八五”攻关课题

<sup>△</sup> 白求恩医科大学基础医学部

**Table 1 Diet composition of various groups**

Group	n	Corn (%)	Soybean (%)	NaCl (%)	Fish liver oil (mg/kg diet)	VE (mg/kg diet)	Se
EG	12	89	10	1	50	—	—
EG+S	12	89	10	1	50	—	0.2
EG+VE	12	89	10	1	50	500	—
EG+Se+VE	12	89	10	1	50	500	0.2
Stock diet	12	stock diet from our college animal laboratory					

料组外, 各组饲料中另加入浓缩鱼肝油制剂 (每克含维生素A 50000IU、维生素D5000IU)。饲料组成及维生素A、D、E和硒的补给量见表1。

**1.2 实验方法**

动物自由摄食, 饮用自来水。饲养12周后经眼眶取血分离血清, 并断头处死。取胰腺组织制备匀浆, 匀浆介质为0.15M pH 7.4的磷酸盐缓冲液, 并按1mg/ml加入大豆胰蛋白酶抑制剂, 以1:9浓度 (W:V = 1g:9ml) 在4℃下制备匀浆。3000r/min, 离心10分钟, 取上清液保存于-20℃冰箱内。测定胰腺组织GSH-Px活性<sup>[5]</sup>及LPO含量<sup>[6]</sup>, 并用北方试剂研究所及海军放免中心制备的放免药盒测定大鼠空腹血清胰岛素和C肽浓度以及胰腺内C肽浓度。

**2 结果**

**2.1 空腹血清胰岛素含量 (表2)**

病区粮组血清胰岛素浓度显著降低, 反映胰岛B细胞分泌机能低下。补充一定剂量硒或VE均可不同程度地提高血清胰岛素水平, 以联合补充硒和VE的效果较为理想。

**2.2 血清及胰腺组织C肽浓度 (表3)**

**Table 2 Insulin concentration in the serum of rats (M±SD)**

Groups	n	Insulin concentration (mU/L)
EG	12	9.87±5.48
EG+Se	12	17.98±6.21
EG+VE	12	20.27±10.69*
EG+Se+VE	12	33.37±12.05**
Stock diet	12	38.78±12.97**

In contrast to EG \*: P<0.05, \*\*: P<0.01, the following is the same

病区粮组血清及胰腺组织C肽浓度均明显减少, 说明B细胞合成与分泌激素的能力降低。补充一定剂量的硒或VE均可明显提高血清C肽水平, 增加C肽分泌贮备。

**2.3 胰腺GSH-Px活力及LPO含量 (表4)**

病区粮组大鼠胰腺组织GSH-Px活性明显下降。补充硒或VE均可不同程度地升高此酶活性, 但酶明显优于VE, 联合补充硒和VE对升高此酶活性效果最明显。病区粮组大鼠胰腺LPO含量明显升高。补充硒或可明显降低其含量, 而联合补充硒和VE对降低胰腺LPO含量最明显。

**3 讨论**

**Table 3 CP concentration in the serum and pancreas of rats (M±SD)**

Group	n	CP concentration in serum (µg/L)	CP concentration in pancreas (µg/g wet wt)
EG	12	1.34±0.47	70.8±26.36
EG+Se	12	2.33±1.35*	118.76±57.57*
EG+VE	12	2.54±1.56*	156.23±75.05**
EG+Se+VE	12	2.83±1.18**	192.10±88.23**
Stock diet	12	3.67±1.95**	138.37±54.58*

Table 4 GSH-Px activity and LPO content in pancreas of rats (M ± SD)

Group	n	GSH-Px activity (U/g wet wt)	LPO contents (nmol/mg protein)
EG	12	2.71 ± 1.01	2.10 ± 1.02
EG+Se	12	9.70 ± 2.64**	1.27 ± 0.49*
EG±VE	12	4.61 ± 0.99*	1.08 ± 0.92*
EG+Se+VE	12	12.43 ± 3.78**	0.88 ± 0.41**
Stock diet	12	11.55 ± 2.54**	1.11 ± 0.52*

很早就有人观察到克山病病人有糖耐量异常<sup>[7]</sup>, 克山病区健康儿童及患儿血清胰岛素水平低于非病区健康儿童<sup>[8]</sup>。提示致克山病的因素可累及胰岛功能。本研究结果表明, 克山病病区粮可引起大鼠血清胰岛素、C肽水平明显下降, 胰岛B细胞C肽分泌贮备显著减少, 说明病区粮中的致病因素能够损害B细胞, 使其合成与分泌多肽类激素的能力下降。C肽是B细胞合成的胰岛素原经胰岛素转化酶的作用而形成的, 通过出胞作用分泌到血循环中。在理论上, C肽与胰岛素是等克分子。C肽和胰岛素及药用胰岛素抗体均无交叉反应, 故C肽含量的测定可作为内源性胰岛素指数来判定B细胞的功能, 优于胰岛素的测定。病区粮组大鼠不仅血清C肽浓度降低, 而C肽分泌贮备亦减少, 一方面进一步证实了B细胞分泌功能障碍, 另一方面也反映了B细胞合成激素的能力降低。

一般认为, 低硒是克山病发生的重要生物地球化学因素。晚近的研究进一步表明VE的相对缺乏可能参与克山病的发病。由于硒缺乏时机体对VE的需要量明显增加而引起VE的相对不足, 另一方面, 最近的研究结果指出, 病区粮中的VE总量及 $\alpha$ -生育酚含量均明显低于非病区粮<sup>[9,10]</sup>提示病区粮不仅低硒, 而且低VE。饲以病区粮引起的胰岛损害可能为硒和VE缺乏所致。

胰腺内GSH-Px活性及LPO含量测定结果显示, 病区粮组大鼠胰腺内GSH-Px活

性显著下降, 胰腺LPO含量升高。提示胰腺内自由基清除功能障碍。由此看来, 硒缺乏引起的过氧化损伤可能是胰岛B细胞功能障碍的主要机制。Asaymah等<sup>[11]</sup>用硒和VE缺乏饲料喂养大鼠时, 发现胰岛自由基清除系统功能发生明显的改变, 胰岛内含锰的超氧化物歧化酶(SOD)活性显著降低, 胰岛素的分泌贮备减少, 糖耐量异常。有资料表明, 胰岛易于受过氧化损伤的影响。一方面胰岛内含Cu的SOD和总SOD在所有组织中含含量是最低的, 说明胰岛的自由基清除系统存在一定的薄弱环节。另一方面胰岛的内分泌细胞含有丰富的内质网系统, 由大量不饱和脂肪酸构成的内质网膜是自由基攻击的主要目标。内质网又是合成多肽类激素的场所, 其受损后可直接减少激素的合成与分泌, 使血清及胰岛内激素含量下降。

有文献报告, 硒具有胰岛素样作用<sup>[12]</sup>。体外实验表明, 硒能刺激脂肪细胞膜上葡萄糖载体的转运过程, 提高cAMP磷酸二酯酶活性, 但对胰岛素受体激酶活性没有影响, 而当有胰岛素存在的条件下, 硒可以提高胰岛素受体激酶的活性。似表明硒的胰岛素样作用是通过受体后机制引起的。硒缺乏条件下, 胰岛素对脂肪细胞内葡萄糖氧化的促进作用降低<sup>[13]</sup>。提示硒既具有胰岛素样作用, 又具有与胰岛素协同的作用, 从而使硒缺乏引起的胰岛损害问题更为突出。克山病病区粮引起的胰岛功能改变是否与此机制有关尚待进一步研究。

VE是体内存在一种脂溶性抗氧化剂, 它作为一种供氢体来消除自由基、阻断脂质过氧化的链锁反应。硒和VE之间有互补作用, 协同作用和相互节约作用。硒缺乏补充少量的硒即可防止胰腺萎缩, 但需要大剂量VE才能有效地防止低硒引起的营养性胰腺萎缩<sup>[14]</sup>。本研究中对在低硒的病区粮中补充500mg/kg剂量的VE能有效地纠正B细胞功

能障碍。因此将VE作为低硒外的辅助营养因素来研究在克山病发病中的意义是很有必要的。

胰岛素的主要功能是促进细胞对葡萄糖的摄取及其在细胞内的氧化利用。葡萄糖氧化是心肌细胞能量代谢的中心环节。人的心肌对葡萄糖的利用率约每分钟4.59mg/100g心肌组织<sup>[15]</sup>。胰岛素能促进心肌细胞膜载体对葡萄糖的转运,加速心肌细胞对葡萄糖的氧化利用。如果硒和VE缺乏引起的B细胞机能障碍使胰岛素的合成与分泌严重减少,导致心肌细胞对葡萄糖的氧化利用障碍,在克山病时可能成为加重心肌损害的重要因素之一。

本研究结果还表明,在病区粮中补充一定剂量的硒和VE,均可不同程度地提高胰腺GSH-Px活力,降低LPO含量,升高血清胰岛素、C肽水平,增加C肽分泌贮备。提示硒和VE对胰岛B细胞具有良好的保护作用。因而在临床上治疗糖尿病时提供适量的硒和VE改善胰岛机能可能是有益的。

#### 参 考 文 献

- 1 王凡.克山病病因研究新进展.中国地方病学杂志 1989, 8(1):2
- 2 康德仁等.克山病胰腺腺泡的病理改变及其意义.中国地方病防治杂志 1987, 2(5):275
- 3 Vanledet JF. Myocardial and Pancreatic Damage in Selenium and Vitamin E Deficient Mice. In: Wandel A(ed). Selenium in Biology and Medicine, Springer Verlag, Heidelberg, 1989:142
- 4 张中超.胰腺内外分泌关系的研究进展.哈尔滨医科大学学报 1991, 25(4):299
- 5 夏弈明等.血和组织谷胱甘肽过氧化物酶活力的测定方法——I. DTNB直接法.卫生研究 1987, 16(4):457
- 6 陈一玲等.血清水溶性脂质过氧化物的荧光光谱法测定.中华医学检验杂志 1988, 11(3):144
- 7 周翔等.43例克山病人的糖耐量试验.吉林医科大学学报 1960, 5:247
- 8 于维汉,王凡主编.楚雄克山病综合性科学考察文集.北京:人民卫生出版社, 1988: 249
- 9 姜熙罗等.克山病病区粮多不饱和脂肪酸,VE及硒水平研究.中国地方病学杂志 1992, 11:161
- 10 李恩民等.克山病区玉米中维生素E和硒水平.中国地方病防治杂志 1992, 7(4): 200
- 11 Asaymak et al. Effect of vitamin E deficiency and selenium deficiency on insulin secretory reserve and free radical scavenging systems in islets: decrease of islet manganese superoxide dismutase. *J Lab Clin Med* 1986, 107(95):459
- 12 Osamu Ezaki. The insulin-like effects of selenate in rat adipocytes. *J Biol Chem* 1990, 265(2):1124
- 13 Sauness J E et al. The effect of selenium-deficiency on rat fat-cell glucose oxidation. *Biochem J* 1983, 214:471
- 14 Whitace ME et al. Influence of dietary vitamin E on nutritional pancreatic atrophy in selenium-deficiency chicks. *J Nutr* 1987, 117:465
- 15 李广生,王凡主编.心肌病理学.上海:科学技术出版社, 1983:41

## EFFECTS OF SELENIUM AND VITAMIN E ON THE LEVELS OF INSULIN AND CONNECTIVE PEPTIDE (CP) IN RATS FED WITH GRAINS GROWN IN KESHAN DISEASE ENDEMIC AREA

Zhang Guizhen, Li Guangsheng, Wang Fan,  
Kang Deren, Zhang Peiyin, Zhang Xiayun

(*Institute of Endemic Disease, Norman Bethune University of Medical Sciences,  
Changchun 130021*)

The changes of secretory function of B cells in islets in rats fed with grains grown in Keshan disease endemic area and the effects of selenium and vitamin E on those were investigated. The results demonstrated that the insulin and CP content in the serum and CP secretory reserve in the islets of rats from endemic grain group markedly decreased. The GSH-Px activity and LPO content in pancreas statistically decreased and increased respectively in the rats. Diets supplemented with either sodium selenite (0.44mg/kg diets) or vitamin E (500mg/kg diets) alone or both increased insulin and CP content in serum and the CP secretory reserve in islets, simultaneously the GSH-Px activity increased and LPO content decreased in pancreas. It was suggested the endemic grains deficient in selenium may cause the dysfunction of B cells in islets and the main mechanism on the changes was due to the peroxidation caused by Se deficiency. The dysfunction of B cells in islets might aggravate myocardium lesions in patients with Keshan disease. This study also indicated selenium and vitamin E played an important role in protecting B cells.

**Key words:** Keshan disease    selenium    vitamin E    insulin    C peptide

**收稿日期:** 1993-03-22