

异育银鲫口服不同剂量葡萄糖后的代谢反应

蔡春芳¹ 刘影² 陈立侨² 宋学宏¹ 吴萍¹

(1. 苏州大学农业科技学院, 苏州 215006; 2. 华东师范大学生命科学学院, 上海 200062)

摘要: 平均体重为 164 ± 12 g 的异育银鲫(方正银鲫♀ × 兴国红鲤♂)禁食四周, 以使肝糖原含量充分下降, 然后灌喂不同剂量的葡萄糖, 研究葡萄糖负荷后的代谢反应。实验结果表明, 不管口服剂量是多少, 异育银鲫在口服葡萄糖后都出现持久的高血糖; 口服后 1h 血浆总氨基酸、甘油三酯和乳酸水平显著上升, 然后迅速下降; 肝糖原含量先降低, 2h 左右开始回升。血糖、总氨基酸、甘油三酯、乳酸及肝糖原的变化幅度也随口服剂量变化而变化: 血糖升幅随口服剂量增加而加大; 在口服后 1h, 总氨基酸含量随着口服剂量的增加而增加, 甘油三酯和乳酸含量随着口服剂量的增加而减少, 而在口服后 2—10h 内, 口服剂量越高, 总氨基酸、甘油三酯水平越低, 乳酸水平越高; 肝糖原含量随着口服剂量的增加而减少。上述结果提示异育银鲫在口服高剂量葡萄糖之初的 1h 内生长抑素和胰高血糖素水平较高, 而胰岛素的分泌可能受到了抑制; 推测当口服剂量较低时胰岛素则能正常分泌。

关键词: 葡萄糖; 代谢; 口服葡萄糖; 胰岛激素; 异育银鲫

中图分类号: S963. 1; Q493. 4 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2003)06-0602-05

糖是最廉价的饲料能源。目前已知温水性鱼类、淡水鱼类对糖的利用能力比冷水性鱼类及海水鱼类强^[1], 但鱼类对饲料糖的需求量还不能完全确定^[2]。糖对于鱼类来说显然是一种重要的营养素, 不仅饲料中缺乏糖会降低鱼类生长速度, 而且适量的饲料糖还可起到节约蛋白质和脂肪的作用^[3]。但鱼类对糖的利用能力非常有限, 高糖饲料会导致鱼类生长速度和免疫力^[4]的下降, 死亡率升高。关于鱼类对糖低利用性的原因还不很清楚。鱼类在糖耐量试验中表现出来的糖尿病症状曾一度被认为是内生胰岛素分泌不足^[5, 6], 但随着放射免疫技术的发展, 发现鱼类胰岛素水平相似于甚至高于哺乳类^[7], 从而否定了原来的推测。尽管鱼类胰岛素水平较高这一点几乎已达成共识, 但关于鱼类胰岛素分泌规律方面还存在分歧: 有报道称鱼类口服葡萄糖后血浆胰岛素水平增加^[8, 9], 也有报道称鱼类在葡萄糖负荷后的最初几小时内胰岛素水平反而下降^[10]。作者在异育银鲫糖代谢的研究中发现, 异育银鲫在口服 $167\text{mg}/100\text{g}$ 体重的葡萄糖之初肝糖原含量明显减少(未发表), 推测异育银鲫在口服后胰岛素水平也降低了, 导致合成代谢受抑制而分解代谢被促进。

为了验证上述推测, 通过研究异育银鲫口服不同剂量葡萄糖后的代谢反应, 揭示异育银鲫胰岛激素的分泌规律。

1 材料和方法

1.1 实验鱼、饲料和日常管理 异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*) (方正银鲫♀ × 兴国红鲤♂)由苏州黄桥水产养殖场提供, 平均体重为 164 ± 12 g, 运回后用 2% 食盐水消毒 10min, 然后驯养在 $100\text{cm} \times 50\text{cm} \times 60\text{cm}$ 的 PVC 水族箱内, 每箱放养 10 尾。每天上午 8: 00 投喂市售颗粒饲料, 饲料组成为粗蛋白 34.6%, 粗脂肪 4.8%, 灰分 5.4%, 水分 12.5%。投饲后 1h 排污并换水三分之一。饲养期间全日充气增氧, DO 为 6mg/L 以上, pH 7.5—8.5, 单体循环过滤。饲养三周后禁食四周以使肝糖原含量充分下降。禁食期间其他管理不变。

1.2 灌喂葡萄糖及分析测定 禁食 4 周后, 轻轻地从水族箱将鱼捞取, 用 $50\mu\text{g}/\text{L}$ MS-222 使其麻醉, 称重后灌喂葡萄糖溶液, I 组剂量为 $55.7\text{mg}/100\text{g}$ 体重, II 组剂量为 $111.3\text{mg}/100\text{g}$ 体重, III 组剂量为 $167\text{mg}/100\text{g}$ 体重。然后放回原水体。在灌喂前(0h)

收稿日期: 2002-03-13; 修订日期: 2002-10-18

基金项目: 江苏省教委自然科学基金资助; 苏州大学青年教师基金资助; 上海水产大学重点学科建设经费资助

作者简介: 蔡春芳(1967—), 女, 江苏海门人; 博士; 主要从事水生动物营养学研究。Email: szccfwz@263.net

通讯作者: 陈立侨, 教授, 博导。Email: liqiaochen@yahoo.com

及灌喂后 1、2、4、6、8、10h 分别取鱼 20—30 尾, 尾静脉抽血测血糖、血浆甘油三酯、总氨基酸和乳酸含量。抽血后的鱼迅速解剖取出肝胰腺, 剥除周围脂肪, 用 PBS 洗涤后滤纸吸干, 立即消化测定肝糖原含量。

血糖测定用葡萄糖氧化酶-过氧化物酶终点比色法(试剂盒由卫生部上海生物制品研究所生产)。血浆甘油三酯测定用甘油磷酸氧化酶法(试剂盒由上海荣盛生物技术有限公司生产)。血浆总氨基酸测定用铜离子络合物法(试剂盒由南京建成生物工程研究所生产)。肝糖原用蒽酮比色法测定^[11]。

1.3 数据处理 所有数据经方差分析后 Duncan's 新复极差检验。

2 结果

2.1 血糖

异育银鲫在口服不同剂量葡萄糖后血糖变化规律相似, 都在口服后 1h 血糖显著升高, 3h 左右达最高水平, 然后开始缓慢下降, 至 10h 血糖含量仍显著高于禁食水平。但口服不同剂量的葡萄糖后血糖升高的幅度不同, 随着葡萄糖剂量的增加, 血糖上升的幅度明显提高。I 组血糖峰值为 14.96 mmol/L, II 组血糖峰值为 20.54 mmol/L, III 组血糖峰值进一步提高到 26.04 mmol/L。同时随着口服剂量的增加, 血糖回落的时间相对延长(图 1)。

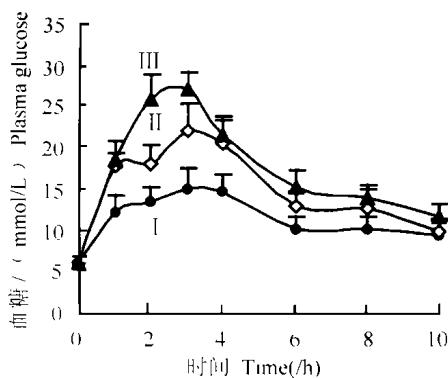


图 1 口服葡萄糖剂量对血糖的影响

Fig. 1 Effects of glucose doses administered on plasma glucose

2.2 血浆总氨基酸

血浆总氨基酸含量在口服葡萄糖后 1h 升高, 然后急速下降, 2—4h 保持较低水平, 6h 略有回升, I、II 组在 8h 下降, 10h 又升高, III 组在 8h 进一步升高, 10h 回落。统计结果显示, 在 1h 各组鱼的总氨基酸含量均显著高于禁食水平, 2h 各组又都显著低于 1h。I、II 组在 6h 比在 2h 时显著升高, 8h 显著下

降, II 组在 6h 比 4h 显著升高, 10h 又比 8h 时显著降低。各组间的统计分析表明, 在 1h II、III 组显著高于 I 组, 4h I 组显著高于 III 组, 8h 时 II 组显著高于另两组而 10h II 组显著低于另两组(图 2)。

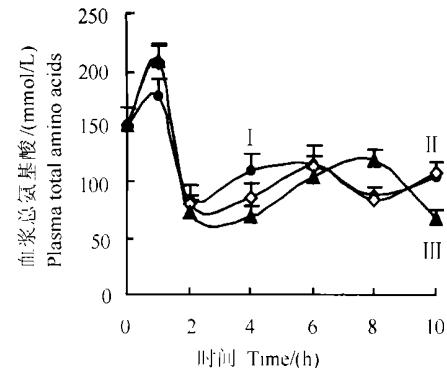


图 2 口服葡萄糖剂量对血浆总氨基酸的影响

Fig. 2 Effects of glucose doses administered on plasma total amino acids

2.3 血浆甘油三酯

口服葡萄糖后血浆甘油三酯在 1h 内升高, 1—4h 内不断下降。I 组在 6h 时继续降低, 6—10h 内略有升高; II 组在 4—10h 也略有升高; III 组在 6h 出现一个峰, 6—10h 内下降。统计结果显示, I 组 1h 比禁食水平显著升高, 2h 又比 1h 显著降低但与禁食水平无显著差异, 6h 比 2h 显著降低; II 组也在 1h 时显著升高, 2h 与 1h 有显著差异, 4h 又与 2h 有显著差异, 4—10h 间差异不显著; III 组在 1h 也显著升高, 2h 又显著降低, 4h 又比 2h 显著降低, 6h 比 4h 显著升高, 6—10h 又显著下降。就组间比较而言, 口服后 1h 各组间差异不显著, 以后 III 组甘油三酯水平一直低于另两组。统计结果显示, 在 2h、4h、8h 及 10h 时 I 组和 II 组都显著高于 III 组(图 3)。

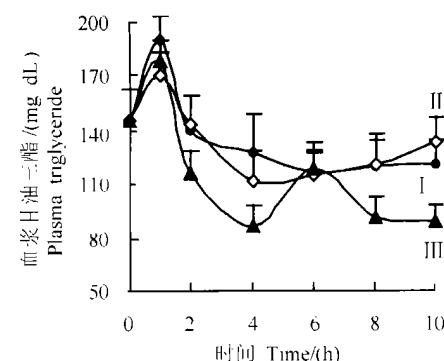


图 3 口服葡萄糖剂量对血浆甘油三酯的影响

Fig. 3 Effects of glucose doses administered on plasma triglyceride

2.4 乳酸

血浆乳酸在口服葡萄糖后的变化规律如图 4 所

示。口服后 1h 各组鱼血浆乳酸水平显著升高, 2h 比 1h 显著降低, 而且显著低于禁食水平。I 组 4h 的乳酸水平显著低于 2h, 在 4—8h 内维持较低水平, 10h 又显著升高; II 组和 III 组在 4h 水平较低, 在 6h 出现一个峰值, 然后两组均在 8h 显著降低, 10h 与 I 组一样有所回升, 但差异不显著。各组间统计分析表明, 在 1h, I 组与另两组差异显著, 在 4—6h II、III 组显著高于 I 组, 8h II 组显著高于另两组, 10h 各组差异显著, I 组最高, II 组最低。

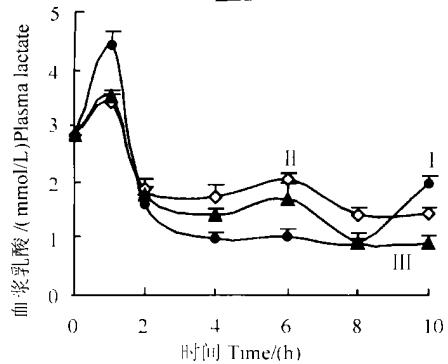


图 4 口服葡萄糖剂量对血浆乳酸的影响

Fig. 4 Effects of glucose doses administered on plasma lactate

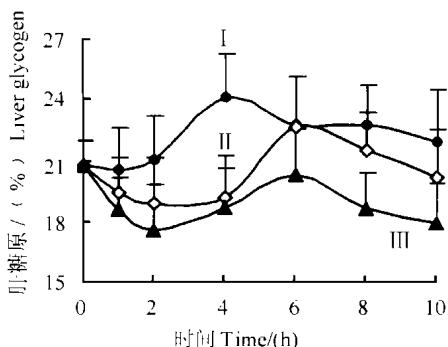


图 5 口服葡萄糖剂量对肝糖原的影响

Fig. 5 Effects of glucose doses administered on liver glycogen

2.5 肝糖原

口服葡萄糖后各组鱼的肝糖原变化规律如图 5 所示。I 组在 1h 肝糖原含量略有下降, 但变化不显著。2h 开始升高, 口服后 4h 升至最高水平, 比禁食时提高了 13.23%。口服后 6h 肝糖原开始逐渐下降, 但 10h 时肝糖原含量仍显著高于禁食水平。II 组在口服后 1h 肝糖原明显地低于禁食水平, 2h 时糖原含量又显著地低于 1h 时, 此时比禁食糖原水平降低了 8.77%, 3h 时开始回升, 至 6h 时高于禁食水平但差异不显著。III 组的肝糖原变化规律与 II 组相似, 但下降的幅度更大, 2h 时肝糖原含量比禁食时降低了 15.22%, 并在口服后 10h 内未见肝糖原含量

超过禁食水平。由此可见肝糖原的含量与口服葡萄糖的剂量呈一定程度的反比关系, 口服葡萄糖剂量越高, 肝糖原含量下降越明显。

3 讨论

人们广泛地研究了鱼类营养状态对胰岛激素分泌的影响, 发现鱼类和哺乳类一样, 在血糖和胰岛激素的分泌之间存在着显著的相关性。一方面胰岛激素调节各种营养素的代谢, 如胰岛 B 细胞分泌的胰岛素促进合成代谢, 刺激氨基酸和葡萄糖的吸收, 降低血浆脂肪酸, 促进糖原的合成^[12]; 胰岛 A 细胞分泌的胰高血糖素作用与胰岛素正相反^[13]而与胰岛 D 细胞分泌的生长抑素协同。胰岛各种分泌细胞的相互协作保证了鱼类正常的代谢活动。另一方面, 胰岛激素的分泌也受各种营养素的调节: 血糖浓度被认为是调节胰岛素分泌的最重要而又经常起作用的因素, 糖浓度升高, 胰岛素分泌增加, 使血糖浓度下降, 而当血糖浓度下降时胰岛素分泌减少, 血糖浓度又升高, 从而使血糖浓度维持在比较稳定的水平^[14]。但从本实验结果看, 异育银鲫在口服葡萄糖后胰岛激素的分泌并不严格遵循上述规律, 因为口服葡萄糖后 1h 血糖显著升高, 而血浆总氨基酸、甘油三酯和乳酸含量也在口服后 1h 显著升高, 2h 时才显著下降, 肝糖原含量在血糖升高后并不是增加, 而是下降。

异育银鲫的这种异常反应与斑点叉尾 和虹鳟相似。Ronner 和 Scarpa^[15] 报道斑点叉尾 胰岛 D 细胞对葡萄糖浓度变化比 B 细胞敏感, 葡萄糖浓度的升高首先刺激胰岛 D 细胞分泌生长抑素, 生长抑素的大量分泌抑制了胰岛素的分泌。Harmon^[10] 等人直接测定了腹腔注射葡萄糖后 24h 内虹鳟血浆中各种胰岛激素的变化规律, 发现血糖在 1h 内显著升高, 而胰岛素在 1h 内显著降低, 3h 才达最高水平, 生长抑素也是先升高, 3h 后才开始降低。这些报道支持了本实验结果, 提示异育银鲫糖耐量较低, 在口服葡萄糖之初因对高糖摄入的生理不适而发生了代谢通量转移 (A shift in metabolic flux)^[10], 血浆胰高血糖素和生长抑素水平较高, 胰岛素的分泌受到了抑制, 从而分解代谢被促进, 合成代谢受抑制。在口服葡萄糖后 2h 异育银鲫血浆总氨基酸、甘油三酯、乳酸迅速下降, 提示此时胰岛素水平开始升高而胰高血糖素、生长抑素含量相对下降。口服后 6h 血浆总氨基酸、甘油三酯、乳酸又有小幅回升, 提示此时促进分解代谢的激素如胰高血糖素、生长抑素水平又有所升高。

鱼类在摄入糖后的代谢反应可能与血糖升高的幅度和速度有关。就肝糖原的变化规律而言, 大量研究表明鱼类在摄入含糖饲料后肝糖原会增加^[16-18], 而且随着饲料糖含量的增加肝糖原含量也会提高; 但在本实验中, 异育银鲫口服葡萄糖后血糖升高的同时肝糖原却显著下降。摄入含糖饲料和口服葡萄糖的根本区别在于前者所含糖往往是大分子, 需要消化才能吸收, 这样进入血液循环的速度就慢, 血糖升高的幅度和速度就相对小一些。而葡萄糖是小分子糖, 不需要消化就能吸收, 使血糖在短时间内大幅度升高。Tung 和 Shiao^[19] 研究发现, 用分别含 44% 淀粉、糊精和葡萄糖的饲料喂罗非鱼, 每种饲料以两种方式投喂, 一种为每天分两次投喂, 另一种方式为每天分 6 次投喂, 从而人为地降低血糖升高的速度和幅度, 结果每天投喂 6 次的各组增重率显著高于每天投喂 2 次的, 每天投喂 2 次时淀粉组和糊精组的增重率显著高于葡萄糖组, 而每天投喂 6 次时差异不显著, 说明血糖升高的速度和幅度确实对糖的代谢及利用有显著影响。异育银鲫口服不同剂量葡萄糖后血浆总氨基酸、甘油三酯、乳酸和肝糖原也表现出明显规律性变化: 在口服后 1h, 总氨基酸含量随着口服剂量的增加而增加, 甘油三酯、乳酸升高的幅度及肝糖原含量随着口服剂量的增加而减少。在口服后 2—10h 内, 口服剂量越高, 总氨基酸、甘油三酯及肝糖原水平越低, 乳酸水平越高。也就是说口服剂量越高, 体内分解代谢越快。上述实验结果与 Tung 等报道相支持, 提示异育银鲫在口服剂量较高时生长抑素分泌量较多, 抑制胰岛素的分泌, 体内进行分解代谢, 但当口服剂量较低(至少低于 55.7mg/100g)时异育银鲫胰岛素分泌的抑制作用较弱, 能有效调节血糖浓度, 进行正常的合成代谢。鉴于此, 为了维持异育银鲫正常的生理状态, 建议其饲料糖含量应控制在一定水平。

参考文献:

- [1] Cai C F. Advance of the studies on carbohydrate utilization of fish [J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 1997, 6: 116—123
[蔡春芳. 鱼类糖利用性研究进展 [J]. 上海水产大学学报, 1997, 6: 116—123]
- [2] Wilson R P. Utilization of dietary carbohydrate by fish [J]. *Aquaculture*, 1994, 124: 67—80
- [3] Li A J. Nutrition and Feeding of Aquatic Animal [M]. Beijing: Chinese Agricultural Press, 1996, 78—79 [李爱杰. 水产动物营养与饲料学. 北京: 中国农业出版社, 1996, 78—79]
- [4] Waagbq R, Gleble J, Sanders K, et al. Influence of dietary carbohydrate on blood chemistry, immunity and disease resistance in Atlanttic salmon, *Salmo salar* L [J]. *J. Fish Diseases*, 1994, 17: 245—258
- [5] Furuichi M, Yone Y. Effect of insulin on blood sugar levels on fishes [J]. *Bull. Jpn. Soc. Sa. Fish.*, 1982, 48: 1289—1291
- [6] Wilson R P, Poe W E. Apparent inability of channel catfish to utilize dietary monosaccharides as energy sources [J]. *J. Nutr.*, 1987, 117: 280—285
- [7] Plisetskaya E M. Recent studies on fish pancreatic hormones [J]. *Zool. Sci.*, 1990, 7: 335—353
- [8] Hilton J W, Plisetskaya E M, Leatherland J F. Does oral 1, 5, 3'-triiodo-L-thyronine affect dietary glucose utilization and plasma insulin levels in rainbow trout (*Salmo gairdneri*)? [J]. *Fish Physiol. Biochem.*, 1987, 4: 113—120
- [9] Emdin S O. Effects of hagfish insulin in the Atlantic hagfish, *Myxine glutinosa*. The in vivo metabolism of [¹⁴C]-leucine and studies on starvation and glucose loading [J]. *Gen. Comp. Endocrinol.* 1982, 47: 414—425
- [10] Hamon J S, Eilertson C D, Sheridan M A, et al. Insulin suppression is associated with hypsomatosatremia and hyperglucagonemia in glucose injected rainbow trout [J]. *Am. J. Physiol.*, 1991, 261: R609—R613
- [11] Editor group of "biochemistry". Experimental direction of biochemistry [M]. Beijing: People's hygiene press, 1987, 117—119; 89—91
[《生物化学》编审小组. 生物化学实验指导 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1987, 117—119, 89—91]
- [12] Plisetskaya E M, Bhattacharya S, Dickho W W, et al. The effect of insulin on amino acid metabolism, glycogen content in isolated liver cells of juvenile coho *Oncorhynchus kisutch* [J]. *Comp. Biochem. Physiol. A Comp.*, 1984, 78: 773—778
- [13] Plisetskaya E M. Physiology of fish endocrine pancreas [J]. *Fish Physiol. Biochem.*, 1989, 7: 39—48
- [14] Wang Y Q, Huang S J, Zhao W X. Fish physiology [M]. Shanghai: Science and technology press, 1990, 207—211. [王义强, 黄世蕉, 赵维信. 鱼类生理学. 上海: 上海科学技术出版社, 1990, 207—211]
- [15] Ronner P, Scarpa A. Difference in glucose dependency of insulin and somatostatin release [J]. *Am. J. Physiol.*, 1984, 246: E506—E509
- [16] Beamish F W H, Hilton J W, Niimi E, et al. Dietary carbohydrate and growth, body composition heat increment in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) [J]. *Fish Physiol. Biochem.*, 1986, 1: 85—91
- [17] Kim J D, Kaushik S J. Contribution of digestible energy from carbohydrates and estimation of protein energy requirements for growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Aquaculture*, 1992, 106: 161—169
- [18] Mazur C N, Higgs D A, Plisetskaya E, et al. Utilization of dietary starch and glucose tolerance in rainbow trout (*Oncorhynchus tshawytscha*) of different strains in sea water [J]. *Fish Physiol. Biochem.*, 1992, 10: 203—213
- [19] Tung P H, Shiao S Y. Effects of meal frequency on growth performance of hybrid tilapia *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*, fed different carbohydrate diets [J]. *Aquaculture*, 1991, 92: 343—350

METABOLIC RESPONSES OF ALLOGYNOGENETIC GBEL CARP AFTER ORAL ADMINISTRATION OF DIFFERENT DOSES OF GLUCOSE

CAI Chun-Fang¹, LIU Ying², CHEN Li-Qiao², SONG Xue-Hong¹, and WU Ping¹

(1. School of Agricultural Science and Technology, Suzhou University, Suzhou 215006;

2. School of Life Science, East China Normal University, Shanghai 200062)

Abstract: In this experiment, the variation of plasma level of glucose, total amino acids, triglyceride, lactate and liver glycogen were determined after different doses of glucose were oral administered to allogynogenetic gibel carp in order to study the hormonal pattern in regulation of carbohydrate metabolism in fish. Fish (mean weight: 164 ± 12 g) were acclimated to experimental condition before fasted for four weeks to ensure the liver glycogen decreased to low level enough, followed by different doses of glucose administration. The doses of glucose oral administered to fish were 55.7 (group I), 111.3 (group II), 167 (group III) mg per 100g body weight, respectively. 20 to 30 fish were randomly sampled respectively before (0h) or 1, 2, 4, 6, 8, 10h after glucose administration. Blood was sampled from the caudal vein and then the plasma level of glucose, total amino acids, triglyceride, lactate were determined. The fish were then dissected rapidly and pancreas were removed and pooled for glycogen determination. Results showed that plasma glucose increased significantly at 1h and peaked at 3h after glucose administered, which was still higher notably at 10h than at 0h ($P < 0.05$), regardless the glucose doses; The plasma level of all of total amino acids, triglyceride and lactate in group III increased significantly at 1h ($P < 0.05$) and later decreased sharply, which were lower at 2h than at 0h. In group III, a piece of little peak of total amino acids appeared at 8h while that of triglyceride and lactate appeared at 6h; Liver glycogen increased slowly after reduced significantly during the first 2h. The change extents of plasma level of glucose, total amino acids, triglyceride, lactate and liver glycogen were varied with the doses of glucose administered. Plasma glucose increased with the increasing doses. At 1h the total amino acid was higher while triglyceride and lactate lower with the increasing doses and during 2—10h, however, the total amino acid and triglyceride were lower while lactate was higher. Liver glycogen decreased with increasing in glucose doses administered. These results indicated that allogynogenetic silver crucian carp was glucose intolerance. High dose of glucose administered result in a shift in metabolic flux towards an enhanced catabolism of stored body reserves, which is probably associated with an increase in plasma glucagon and somatostatin and an suppression of plasma insulin. As a result, the gluconeogenesis and glycogen catabolism were promoted. These data also suggested that the content of insulin increased at 2h when the gluconeogenesis were inhibited while the glycolysis enhanced. At about 6h, however, hormone which promoted catabolism such as plasma glucagon and somatostatin rising slightly again. It was indicated that if the dose of glucose administered was low enough (at least less than 55.7mg per 100g body weight), the insulin would excrete normally, so, the dietary carbohydrate of allogynogenetic silver crucian carp should be in relatively low level in order to keep normal physiology states.

Key words: Glucose; Metabolism; Oral glucose administration; Pancreatic hormones; Allogynogenetic silver crucian carp