



鸡和兔血糖调节生理差异比较

罗舒文¹, 胡璇¹, 郑铭¹, 徐雪雪¹, 刘雪明¹,
仲向前², 张钰¹, 陈国宏¹, 徐琪¹

(1. 扬州大学 动物科学与技术学院, 江苏扬州 225009; 2. 江苏省宿迁市畜牧兽医站, 江苏宿迁 223800)

摘要 为阐明禽类在高血糖情况下未表现出任何临床症状的内在原因,以鸡、家兔为研究对象,利用ELISA、高效液相色谱、液相色谱质谱检测等技术对两者葡萄糖调节生理差异进行比较。结果显示,ELISA检测鸡的糖化白蛋白显著高于兔,而糖化血红蛋白无显著性差异;鸡血清果糖胺含量与兔无显著性差异;鸡血清终末糖基化产物含量极显著低于兔;高效液相色谱检测结果显示,鸡的牛磺酸含量和游离氨基酸含量显著高于兔;液相色谱质谱检测结果显示,鸡的甲基乙二醛含量与家兔无显著性差异。以上研究结果表明,鸡无慢性高血糖所表现出的有害效应的主要原因是牛磺酸和部分游离氨基酸作为羰基清除剂降低果糖胺及甲基乙二醛的含量,从而导致糖基化终末产物的降低。

关键词 鸡;兔;血糖调节;糖基化终末产物;糖化蛋白;牛磺酸;甲基乙二醛

就糖代谢而言,禽类是脊椎动物的一个独特的类别。因其有着明显的胰岛素抵抗^[1],且血糖浓度很高,为哺乳动物的2倍左右^[2-3]。这种血糖浓度长期处于哺乳动物的病理水平,但却无明显的糖尿病并发症,是一种很好的研究糖尿病疾病的动物模型^[4]。导致糖尿病并发症的主要因素之一是葡萄糖美拉德反应,美拉德反应实际上是糖的羰基与氨基酸、磷脂和核酸等生物分子的胺之间的多重反应。而糖与生物分子这两种化合物是生命必须的,且必须在细胞和生物体中共存,因此美拉德反应是不可避免的^[5]。此外,由于美拉德过程的自发性、随机性和不可控性,且反应产物通常是有毒的,因此会显著导致糖尿病并发症和机体的衰老。简单来说,美拉德反应会导致形成多种产物,称为晚期糖基化终末产物(AGEs)。而AGEs对细胞和生物体功能有着致命伤害,是一类与葡萄糖毒性和糖尿病并发症相关的异常葡萄糖代谢物^[6]。例如,AGEs通过蛋白质交联、基质成分修饰、血小板聚集、内皮功能障碍增加^[7]、血管松弛缺陷和脂蛋白代谢异常加速动脉粥样硬化^[8];AGEs通过诱导氧化应激和炎症反应,导致

肾损伤或纤维化^[9],加速肾脏功能障碍^[10]等。综上所述,了解AGEs及其前体物的发生发展对于研究糖尿病并发症的内在机理有着重要作用。

Szwergold等^[11]在前期研究发现禽类可作为II型糖尿病无病理模型的突破点在于低浓度的AGEs,这可能是由于禽类有着抗糖基化的特性,但并无数据支撑^[12]。故本研究通过检测并比较禽类(鸡)与哺乳动物(兔)之间的糖尿病并发症相关指标,对鸡和兔血糖调节生理差异进行比较,以期探索禽类高血糖却无临床症状的内在原因,为控制人类的糖尿病并发症等问题提供新思路。

1 材料与方法

1.1 试验动物与样品采集

试验动物分别选用来自宿迁养鸡场、侯氏花鸟店的40 d体质量在2.5 kg左右的鸡(罗斯308)和150 d体质量在3 kg左右的家兔(新西兰兔),于扬州大学文汇路校区的养鸡房和养兔房进行饲喂,试验时间为2021年3月20日至5月2日。鸡与家兔分别重复6只,其中鸡采用地面平养,自由采食和饮水;兔采用层叠式笼养,乳头饮

收稿日期:2022-09-29 修回日期:2022-11-17

基金项目:江苏现代农业(肉鸡)产业技术体系(JATS[2022]163)。

第一作者:罗舒文,女,博士研究生,研究方向为鸡的遗传育种与繁殖。E-mail:santifay@163.com

通信作者:徐琪,男,博士,教授,研究方向为家禽遗传育种。E-mail:xuqi@yzu.edu.cn

水器饮水,自由采食。肉鸡与家兔饲料由公司提供,二者基础饲料配方及营养水平分别见表 1 和表 2。试验动物食入日粮中均无额外糖分添加。

表 1 鸡的基础饲料配方及营养含量(风干基础)

Table 1 Base feed formulation and nutritional content for chickens (air-dried base)

成分 Ingredient	含量/% Purity	主要营养指标 Major nutrient factor	营养水平 Nutrient level
玉米 Corn	56.75	代谢能/(MJ/kg) ME	13.22
小麦 Wheat	8.00	粗蛋白/% CP	18
豆粕 Soybean meal	26.00	钙/% Ca	1.02
全脂大豆 Fat soybean	0.00	有效磷/% AP	0.7
玉米蛋白 Corn protein	0.00	赖氨酸/% Lysine	1.1
磷酸氢钙 Calcium hydrophosphate	1.00	蛋氨酸/% Methionine	0.5
石粉 Mountain flour	1.25		
豆油 Soybean oil	5.00		
鱼粉 Fish meal	0.00		
预混料 Premix	2.00		
合计 Total	100.00		

注:预混料为每千克饲料提供:VA 10 000 IU,VB₁ 3 mg,VB₂ 10 mg,VB₆ 4.5 mg,VB₁₂ 0.02 mg,VD₃ 4 000 IU,VE 30 IU,VK 32 mg,生物素 0.25 mg,叶酸 1.0 mg,D-泛酸 13 mg,烟酸 30 mg,抗氧化剂 100 mg,Cu 10 mg,Fe 70 mg,Mn 100 mg,Zn 80 mg,I 0.80 mg,Se 0.30 mg。

Note: Premixes provide: vitamin A 10 000 IU, vitamin B₁ 3 mg, vitamin B₂ 10 mg, vitamin B₆ 4.5 mg, vitamin B₁₂ 0.02 mg, vitamin D₃ 4 000 IU, vitamin E 30 IU, vitamin K 32 mg, biotin 0.25 mg, folic acid 1.0 mg, D-pantothenic acid 13 mg, niacin 30 mg, antioxidants 100 mg, Cu 10 mg, Fe 70 mg, Mn 100 mg, Zn 80 mg, I 0.80 mg, Se 0.30 mg.

表 2 家兔的基础饲料配方及营养含量

Table 2 Base diet formulation and nutritional content for rabbits

成分 Ingredient	含量/% Purity	主要营养指标 Major nutrient factors	营养水平 Nutrient level
玉米 Corn	8.00	消化能/(MJ/kg) ME	9.81
小麦麸 Wheat bran	21.00	粗蛋白质 CP	15.14
豆粕 Soybean meal	8.00	粗纤维/% Crude fiber	17.09
玉米麦芽粕 Corn malt meal	12.00	粗脂肪/% Crude fat	2.12
次粉 Powder	4.00	钙/% Ca	1.02
艾杆粉 Wormwood powder	10.00	总磷/% Total P	0.68
豆秸粉 Soya bean stem meal	5.00	赖氨酸/% Lysine	0.75
花生壳粉 Peanut shell powder	5.00	蛋氨酸+胱氨酸/% Met +Cys	0.65
向日葵粕 Sunflower meal	8.00	中性洗涤纤维/% NDF	35.21
稻壳 Rice hull	6.00	酸性洗涤纤维/% ADF	21.51
大麦 Barley	8.00	酸性洗涤木质素/% ADL	5.81
预混料 Premix	5.00		
合计 Total	100.00		

注:预混料为每千克饲料提供:Fe 70 mg,Cu 20 mg,Zn 70 mg,Mn 10 mg,Co 0.15 mg,I 0.2 mg,Se 0.25 mg,VA 12 000 IU,VD 1 000 IU,VE 50 mg,VK 2 mg,硫胺素 2 mg,核黄素 6 mg,泛酸 50 mg,吡哆醇 2 mg,VB₁₂ 0.02 mg,烟酸 50 mg,胆碱 1 000 mg,生物素 0.2 mg。

Note: Premix provides: Fe 70 mg, Cu 20 mg, Zn 70 mg, Mn 10 mg, Co 0.15 mg, I 0.2 mg, Se 0.25 mg, vitamin A 12 000 IU, vitamin D 1 000 IU, vitamin E 50 mg, vitamin K 2 mg, thiamine 2 mg, riboflavin 6 mg, pantothenic acid 50 mg, pyridoxine 2 mg, vitamin B₁₂ 0.02 mg, niacin 50 mg, choline 1 000 mg, biotin 0.2 mg per kg of diet.

两者饲养至体质量相近且均处正常生理状态时,对鸡和家兔利用脱氢酶电化学法使用罗氏血糖仪(罗氏 AccuChekperforma 卓越精采型,美国罗氏公司)进行空腹血糖(禁食 8 h 以上,不禁水)

和餐后血糖(餐后 2 h 以内)水平检测;分别对鸡进行翅静脉采血、家兔耳缘静脉采血,血清采集步骤:采血于促凝管,静置 30 min,3 500 r/min 离心 10 min 后分装至 1.5 mL EP 管,−80 ℃保存,备用;全血及血浆采血至含肝素钠的抗凝管中,全血保存于−20 ℃,备用。血浆立即 3 500 r/min 离心 10 min,随后分装至 1.5 mL EP 管,−80 ℃保存,备用。

1.2 糖化白蛋白、糖化血红蛋白检测

新鲜血液利用 Elisa 试剂盒(江苏科特生物科技有限公司提供)分别测定糖化白蛋白、糖化血红蛋白含量。

1.3 甲基乙二醛检测

将分离的血浆样品经 0.22 μm 有机滤膜,然

后用 Agilent 1290-6470 液相色谱质谱仪测定甲基乙二醛含量。牛磺酸液相色谱质谱条件如下:色谱柱,Agilent C18 柱(2.1 mm×100 mm,1.8 μm);柱温,35 ℃,流速,0.3 mL/min;采集模式,ESI+;母离子,195;子离子,127、115;进样量,2 μL;流动相为 A 0.1% 甲酸水溶液,B 乙腈,流动相梯度见表 3。甲基乙二醛含量按公式计算:

$$W = \frac{(C - C_0) \times V \times N}{m}$$

式中:W 表示试样中甲基乙二醛含量,单位为 μg/L;C 表示试样测定液中甲基乙二醛的质量浓度,单位 μg/L;V 表示定容体积,单位 mL;N 表示稀释倍数;m 表示试样的取样量,单位为 mL。

表 3 甲基乙二醛液相色谱质谱流动相梯度

Table 3 Gradient of mobile phase for liquid chromatography-mass spectrometry of methylglyoxal

时间/min	Time	流速/(mL/min)	Flow velocity	流动相 A/%	Mobile phase A	流动相 B/%	Mobile phase B
0.0		0.3		95		5	
1.0		0.3		95		5	
5.0		0.3		50		50	
6.5		0.3		40		60	
6.6		0.3		10		90	
7.5		0.3		10		90	

1.4 果糖胺、糖基化终末产物检测

采用低速离心分离血清,利用 Elisa 试剂盒(江苏科特生物科技有限公司提供)分别测定果糖胺、糖基化终末产物含量。

1.5 牛磺酸、游离氨基酸检测

将分离的血浆样品经 0.45 μm 微孔滤膜,然后用 Agilent 1260 液相色谱仪测定。牛磺酸和 17 个游离氨基酸标准品分别由广州佳途科技股份有限公司和上海源叶生物科技公司提供。牛磺酸液相色谱条件如下:色谱柱,C18 SHISEIDO 柱(4.6 mm×250 mm×5 μm);检测器,FLD 检测器;柱温,30 ℃;进样量,10 μL;波长,激发波长 330 nm,发射波长 530 nm;流动相,A 为乙酸钠缓冲液,B 为乙腈,流动相 A:流动相 B=70:30。

游离氨基酸液相色谱条件如下:色谱柱,C18 SHISEIDO 柱(4.6 mm×250 mm×5 μm);柱温,40 ℃;进样量,10 μL;波长,254 nm;流动相,A 为 0.1 mol/L 无水乙酸钠+乙腈=97+3,混

匀后调 pH 至 6.5(31.815 g 乙酸钠+3 880 mL 水+120 mL 乙腈),B 为乙腈+水=80+20;流动相梯度见表 4。

1.6 数据处理与分析

采用 Excel 2019 建立数据库,利用 SPSS 25.0 软件对数据进行统计分析,采用单因素方差分析进行显著性检验,以 P<0.05 表示差异有统计学意义。用作图软件 GraphPad Prism 8.0 进行制图,数据以“平均值±标准差”的形式表示。

2 结果与分析

2.1 鸡与家兔的血糖、糖化白蛋白、糖化血红蛋白含量比较

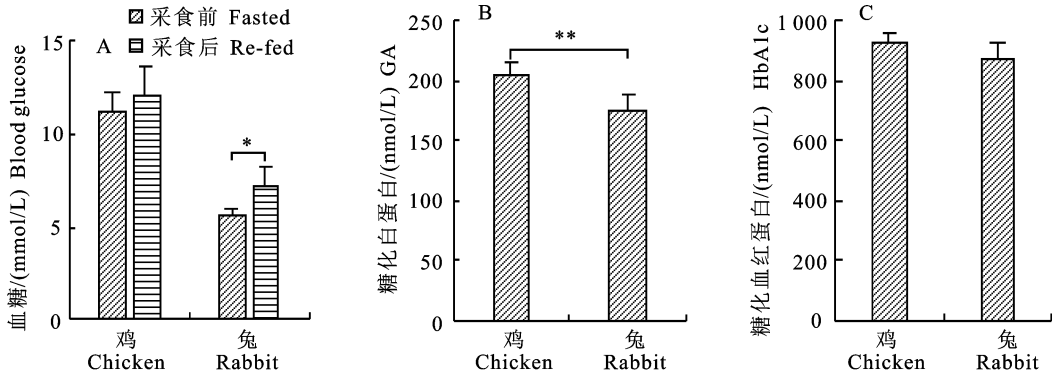
对鸡和家兔的血糖(BG)、糖化白蛋白(GA)和糖化血红蛋白(HbA1c)进行测定。结果显示(图 1),鸡和家兔的平均空腹血糖为 11.283 mmol/L 和 5.617 mmol/L,平均餐后血糖为 11.983 mmol/L 和 7.267 mmol/L,鸡的餐前餐后血糖无显著变化,而家兔的血糖显著增加(P<

0.05);鸡的餐前餐后血糖均显著高于家兔($P<0.01$)。糖化白蛋白测定结果显示,鸡 GA 的含量极显著高于家兔($P<0.01$)。而糖化血红蛋白测定结果显示,鸡与家兔的 HbA1c 含量无显著差异($P>0.05$)。

表 4 游离氨基酸液相色谱流动相梯度

Table 4 Mobile phase gradients for liquid chromatography of free amino acids

时间/min	Time	流速/(mL/min)	Flow velocity	流动相 A/%	Mobile phase A	流动相 B/%	Mobile phase B
0.0		1.0		100		0	
14.0		1.0		85		15	
29.0		1.0		66		34	
30.0		1.0		0		100	
37.0		1.0		0		100	
38.0		1.0		100		0	
45.0		1.0		100		0	

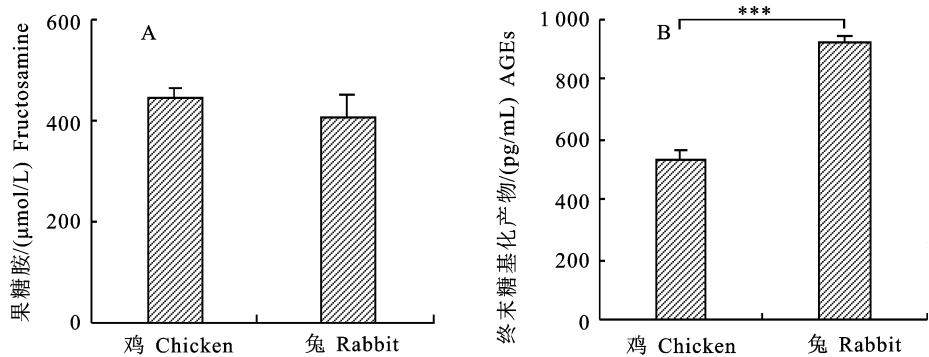


A. 罗氏血糖仪检测鸡、家兔采食前(Fasted)与采食后(Re-fed)的血糖值;B. ELISA 法检测鸡、家兔空腹糖化白蛋白水平;C. ELISA 法检测鸡、家兔空腹糖化血红蛋白水平。* $P<0.05$; ** $P<0.01$

A. Pre-meal (Fasted) and post-meal (Re-fed) blood glucose values in chickens and rabbits by Roche glucometer; B. Fasting glycated albumin levels in chickens and rabbits by ELISA; C. Fasting glycated haemoglobin levels in chickens and rabbits by ELISA

图 1 鸡与家兔的血糖、糖化白蛋白、糖化血红蛋白水平检测

Fig. 1 Blood glucose, glycated albumin and glycated haemoglobin levels in chickens and rabbits



A. ELISA 法检测鸡、家兔空腹果糖胺水平; B. ELISA 法检测鸡、家兔空腹糖基化终末产物水平。*** $P<0.001$ 。下同
A. Fasting fructosamine levels in chickens and rabbits by ELISA; B. Fasting advanced glycosylation end products levels in chickens and rabbits by ELISA. *** $P<0.001$. The same below

图 2 ELISA 法检测鸡与家兔果糖胺、糖基化终末产物水平

Fig. 2 Fructosamine and advanced glycation end-products levels in chickens and rabbits

2.2 鸡与家兔的果糖胺、糖基化终末产物含量比较

通过 ELISA 法对鸡与家兔的果糖胺(FA)、糖基化终末产物(AGEs)含量的检测,结果显示(图 2),鸡的果糖胺含量与家兔无显著性差异($P>0.05$);相反地,鸡终末糖基化产物的含量极显著低于家兔($P<0.001$)。

2.3 鸡与家兔的甲基乙二醛含量比较

对鸡和家兔的甲基乙二醛进行液相色谱质谱(LCMS)测定,结果显示(图 3),鸡 MG 的含量与家兔无显著性差异($P>0.05$)。

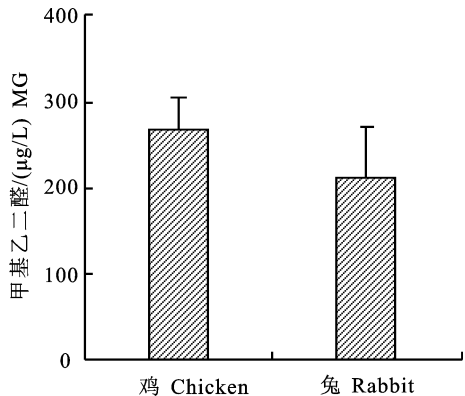


图 3 LCMS 检测鸡、家兔空腹甲基乙二醛水平
Fig. 3 Fasting methylglyoxal levels in chickens and rabbits by LCMS

2.4 鸡与家兔的牛磺酸含量比较

对鸡和家兔的血浆牛磺酸含量进行高效液相色谱(HPLC)测定,结果显示(图 4),鸡牛磺酸的含量极显著高于家兔($P<0.01$)。

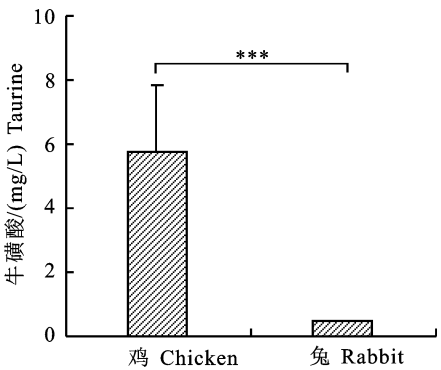


图 4 高效液相色谱检测鸡、家兔牛磺酸含量

Fig. 4 Determination of taurine in chickens and rabbits by high performance liquid chromatography

2.5 鸡与家兔的游离氨基酸含量比较

对鸡和家兔的 17 个游离氨基酸含量进行高效液相色谱(HPLC)测定,其中鸡与家兔的酪氨酸、胱氨酸、异亮氨酸、亮氨酸及苯丙氨酸 5 个游离氨基酸均未检出外(酪氨酸 <0.41 mg/L;胱氨酸 <5.17 mg/L;异亮氨酸 <0.35 mg/L;亮氨酸 <0.39 mg/L;苯丙氨酸 <0.47 mg/L),其他游离氨基酸检测结果如表 5 所示,两物种间丙氨酸、脯氨酸、缬氨酸、蛋氨酸和赖氨酸的含量无显著差异($P>0.01$),除甘氨酸含量为家兔显著高于鸡外($P<0.01$),其他均为鸡的游离氨基酸显著高于家兔($P<0.01$)。

表 5 鸡与家兔不同游离氨基酸含量比较

Table 5 Comparison of different free amino acid contents in chickens and rabbits

氨基酸/(mg/L) Amino acid	鸡 Chicken	家兔 Rabbit	P 值 P-value
天冬氨酸 Asp	10.176 7±3.386 05	1.841 7±0.629 90	<0.01
谷氨酸 Glu	27.163 3±6.580 11	5.316 7±1.829 06	<0.01
丝氨酸 Ser	26.485 0±6.211 63	11.721 7±3.821 62	<0.01
甘氨酸 Gly	19.158 3±3.180 36	40.968 3±15.371 91	<0.01
组氨酸 His	6.726 7±1.884 27	2.863 3±1.288 62	<0.01
精氨酸 Arg	34.133 3±12.768 91	10.461 7±4.158 08	<0.01
苏氨酸 Thr	19.041 7±5.363 58	5.631 7±2.326 17	<0.01
丙氨酸 Ala	19.208 3±4.268 74	12.325 0±4.389 07	<0.05
脯氨酸 Pro	3.948 3±0.880 10	4.620 0±2.447 60	0.541 2
缬氨酸 Val	3.026 7±0.727 73	2.836 7±1.380 75	0.771 7
蛋氨酸 Met	0.636 7±0.333 81	0.365 0±0.070 07	0.079 6
赖氨酸 Lys	12.338 3±4.714 20	8.671 7±3.133 11	0.143 7

注: $P<0.01$ 水平差异有统计学意义。
Note:Differences are statistically significant at the $P<0.01$ level.

3 讨论

本研究发现,在同处正常生理状态且无额外的糖分摄入时,鸡的空腹血糖是兔的 2.01 倍,符合李慧等^[2]的结果。如此长期的高血糖会导致机体产生糖基化反应,其中还原糖分子(如葡萄糖、果糖、羰基化合物)与蛋白质、脂质分子和核酸发生反应,且无需酶的调节^[13]。糖基化可改变分子构象,扰乱蛋白质、核酸等正常功能,从而导致糖尿病并发症的发生^[14]。糖基化过程分为 3 个阶段:早期、中期和晚期^[15],其中早期糖基化产物主要指葡萄糖与蛋白质的氨基结合(如糖化白蛋白、糖化血红蛋白等)形成不稳定的席夫碱^[16],随后经过阿马多利重排形成稳定的中间糖化产物,如果糖胺等酮胺^[17];最终分别通过氧化途径和非氧化途径形成不同的异构糖氨基酸加合物,统称为糖基化终末产物(AGEs)^[18]。通过了解 AGEs 形成的化学过程和前期讨论的 AGEs 的病理生化过程,了解到挖掘禽类与哺乳动物糖化白蛋白、糖化血红蛋白、果糖胺及 AGEs 的浓度差异至关重要。

3.1 鸡与家兔 HbA1c、GA、FA 及 AGEs 的差异比较

糖化血红蛋白(HbA1c)是红细胞中的血红蛋白与血液中的糖相结合的产物。糖尿病患者血糖水平长期高于标准值,在血液中的糖类缓慢且持续地影响下,红细胞中的血红蛋白发生不可逆的糖化反应,形成 HbA1a、HbA1b、HbA1c。其中 HbA1c 含量最高,结构稳定,且便于检测,因此 HbA1c 的检测已被广泛用作糖尿病患者长期血糖控制的指标^[19]。已有研究表明,通过监测 HbA1c 可以预测糖尿病并发症的发生。例如,Chang 等^[20]通过引入血红蛋白指数(HGI,通过测量 HbA1c 和空腹血糖建立线性回归直线,从而预测 HbA1c。)发现,高 HGI 组高血糖患者导致胰岛素敏感性和胰腺 β 细胞功能的恶化,且持续高 HGI 与复合冠心病(CVD)、冠状动脉疾病(CAD)、外周动脉疾病(PAD)等并发症有显著相关($P < 0.05$)。然而 HbA1c 的水平会受血红蛋白代谢紊乱的影响^[21],因此对于一些糖尿病并发症合并缺铁性贫血的患者,检测 HbA1c 的含量无法客观反应血糖真实水平^[22]。

糖化白蛋白(GA)是由血清白蛋白和葡萄糖通过非酶促氧化反映结合生成,其血清含量不受血红蛋白代谢、蛋白质结构异常等因素的干扰,且 GA 的半衰期较短,因此可以避免 HbA1c 检测的

缺陷^[23]。GA 通过一系列的化学重排,形成晚期糖化终产物(AGEs)^[24],导致 II 型糖尿病的病理特征。此外,GA 可修饰红细胞膜蛋白质,并调节其生物或结构功能,使红细胞膜变形、红细胞的通透脆性增强^[25];且糖化蛋白的增加会导致血浆糖基化标记物(如果糖胺、 β -淀粉样蛋白)水平的升高^[26]。果糖胺(FA)是指循环葡萄糖和血浆蛋白质之间所有酮胺键的总和。该物质不含果糖,但在酮胺键中与蛋白质氨基相连的葡萄糖被修饰成类似果糖的开链形式^[27]。FA 作为早期糖基化加合物,半衰期在 17 d 左右,可反映 2~3 周内的血糖水平,因此其与 GA 共同用于评估早期血糖水平^[28]。综上所述,检测并比较哺乳动物与禽类的糖化白蛋白、糖化血红蛋白、果糖胺以及糖基化终末产物对糖尿病并发症的主要病因研究有着重要作用。

从这 4 个指标的检测结果可以看出,鸡的血糖在显著高于兔的前提下,鸡 HbA1c 的含量与家兔并无显著差异,GA 和 FA 的含量略高于家兔,但总 AGEs 的含量鸡却显著低于家兔。说明鸡的血糖浓度虽然很高,致使检测短期糖基化的两个蛋白指标高于家兔,但长期监测的 HbA1c 指标并无显著差异。从另一角度而言,这意味着鸡的高血糖浓度可能并不会导致蛋白长期受糖基化的影响,这与 Jessica 等^[29]的结果相一致。但糖化蛋白浓度究竟是如何随着时间的增长而降低的,其中原因不得而知,还需进一步研究。

3.2 鸡与家兔 AGEs 的含量与 MG 浓度差异密切相关

前人研究发现 AGEs 受体(RAGE)在 AGEs 的命运中扮演着消极的角色。AGEs 与其结合会激活机体的应激反应,导致炎症和细胞功能障碍^[30],因此 RAGE 基因被认为是糖尿病并发症发生的重要因素之一^[11]。近年来研究发现禽类缺少 RAGE 基因^[31],这是解释它们能成功应对高血糖并发症的能力之一。但从结果中可以看出,高血糖鸡的 AGEs 比家兔正常血糖下的 AGEs 还要低许多,说明缺少 RAGE 基因并非关键因素,因此寻找致使鸡血清低 AGEs 浓度的原因更为重要。

鉴于以上结果,本研究另外检测了两物种的甲基乙二醛含量。甲基乙二醛(MG)的产生与前面提到的蛋白糖基化相互关联,并相互影响:血糖浓度升高导致糖酵解生成 MG^[32];另一方面,葡

葡萄糖通过互变异构生成果糖,果糖分解代谢后形成 α -氧醛, MG 即为其中之一^[18]。MG 是生成 AGEs 的重要前体物质, MG 及其两个相邻的羰基可以直接形成 AGE^[33]。Brownlee 等^[6]发现在培养牛主动脉内皮细胞时发现, AGE 含量的增加是由于甲基乙二醇产量的增加。此外据估计, MG 的反应活性约是葡萄糖的 20 000 倍^[34], 且对细胞有着高度的毒性^[35]。所以, 动物体内 MG 的含量对糖尿病患者是否产生并发症发挥着重要作用。或许, 鸡的 AGEs 的低含量是由于 MG 含量本就不高导致。但通过检测发现, 鸡与家兔的 MG 并无显著差异, 可能是由于鸡体内有某个物质或某些物质在 MG 后续形成 AGEs 的过程中起了调节作用。

3.3 鸡与家兔牛磺酸和部分游离氨基酸含量比较

牛磺酸于 18 世纪首次从胆汁中被分离出, 是动物机体内的条件性必需氨基酸^[36]。它含有磺酸盐, 但并无羧基, 主要通过肝脏中的半胱氨酸的氧化及脱羧合成^[37]。作为一种体内的氧化剂, 牛磺酸可以对多种细胞功能进行调节, 包括胆汁酸结合、防止由于氧化损伤引起的膜通透性变化等^[38]。有研究报道, 糖尿病患者的体内牛磺酸水平持续下降, 而适当补充牛磺酸在胰岛素依赖、胰岛素抵抗^[39]及糖尿病并发症方面有显著效果^[40]。而本研究发现, 对于体质量相近的鸡和家兔, 鸡的牛磺酸含量显著高于家兔。这或许是鸡 AGEs 浓度低的关键: 一方面, 对于糖基化蛋白, 例如糖化白蛋白过高的后果是红细胞脆性增加, 而尽管鸡的糖化白蛋白含量较高, 但有牛磺酸对细胞的形态和功能进行调节, 才导致鸡尽管血糖高但并无明显的病理现象; 另一方面, 牛磺酸较其他氨基酸而言具有与醛基较高的反应活性^[41], 而醛基是 AGEs 合成所必须的, 意味着牛磺酸可以直接抑制 AGEs 的形成。

此外已有研究表明, 游离氨基酸除了有抗氧化的作用外, 还可以作为羰基清除剂^[42]。Siah-balaei 等^[43]研究发现游离氨基酸尤其是精氨酸、谷氨酸具有良好的抑制葡萄糖氧化的能力。但在机体的血浆糖基化含量较高的情况下, 游离氨基酸含量会减少, 其抗氧化活性亦会降低^[44]。结果发现与家兔相比, 鸡血浆中作为活性羰基清除剂的牛磺酸和其他游离氨基酸的浓度显著更高 ($P < 0.01$)。家兔与鸡的甲基乙二醛差异并不显

著, 而游离氨基酸含量的检测结果可以解释这一原因: 可能是由于进入血浆的 MG 会被精氨酸或其他清除剂中和。

4 结 论

本研究发现鸡有慢性高血糖却无任何临床症状的原因可能是牛磺酸和部分游离氨基酸作为羰基清除剂降低了果糖胺及甲基乙二醛的含量, 从而导致糖基化终末产物的降低, 抑制了其对生物机体的损害。这为探明禽类高血糖耐受生理特性提供了新的科学数据, 也为人类防治 II 型糖尿病及其并发症提供了新思路。

参考文献 Reference:

- [1] 王子阳, 陈 文. 鸡胰岛素耐受性及血液葡萄糖稳态调节研究进展[J]. 动物营养学报, 2022, 34(4): 2123-2129.
WANG Z Y, CHEN W. Research progress in insulin tolerance and regulation of blood glucose homeostasis in chickens [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2022, 34(4): 2123-2129.
- [2] 李 慧, 杨小军, 姚军虎, 等. 蛋白酶和木聚糖酶对肉仔鸡生长性能、血液指标和消化机能的影响[J]. 西北农业学报, 2011, 20(1): 45-51.
LI H, YANG X J, YAO J H, et al. Effects of protease and xylanase on performance, blood parameters and digestive function of broilers [J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2011, 20(1): 45-51.
- [3] FRANSSENS L, LESUISSE J, WANG Y, et al. The effect of insulin on plasma glucose concentrations, expression of hepatic glucose transporters and key gluconeogenic enzymes during the perinatal period in broiler chickens[J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2016, 232: 67-75.
- [4] BRAUN E J, SWEAZEA K L. Glucose regulation in birds [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2008, 151(1): 1-9.
- [5] HUEBSCHMANN A G, REGENSTEINER J G, VLAS-SARA H, et al. Diabetes and advanced glycoxidation end products[J]. *Diabetes Care*, 2006, 29(6): 1420-1432.
- [6] BROWNLEE M. Negative consequences of glycation[J]. *Metabolism-clinical & Experimental*, 2000, 49(2 Suppl 1): 9-13.
- [7] ZHOU Z, WANG K, PENN M S, et al. Receptor for AGE (RAGE) mediates neointimal formation in response to arterial injury[J]. *Circulation*, 2003, 107(17): 2238-2243.
- [8] RAJ D S, CHOUDHURY D, WELBOURNE T C, et al. Advanced glycation end products: a nephrologist's perspective [J]. *American Journal of Kidney Diseases*, 2000, 35(3): 365-380.
- [9] HUANG K H, GUAN S S, LIN W H, et al. Role of calbi-

- ndin-*D28k* in diabetes-associated advanced glycation end-products-induced renal proximal tubule cell injury [J]. *Cells*, 2019, 8(7):660.
- [10] MATSUI T, HIGASHIMOTO Y, NISHINO Y, *et al.* *RAGE*-aptamer blocks the development and progression of experimental diabetic nephropathy[J]. *Diabetes*, 2017, 66(6):1683-1695.
- [11] SZWERGOLD B S, MILLER C B. Potential of birds to serve as a pathology-free model of type 2 diabetes, part 1: is the apparent absence of the *RAGE* gene a factor in the resistance of avian organisms to chronic hyperglycemia? [J]. *Rejuvenation Research*, 2014, 17(1):54-61.
- [12] SZWERGOLD B S, MILLER C B. Potential of birds to serve as pathology-free models of type 2 diabetes, part 2: do high levels of carbonyl-scavenging amino acids (e. g., taurine) and low concentrations of methylglyoxal limit the production of advanced glycation end-products? [J]. *Rejuvenation Research*, 2014, 17(4):347-358.
- [13] YAMAGISHI S, MATSUI T. Advanced glycation end products, oxidative stress and diabetic nephropathy[J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2010, 3(2):101-108.
- [14] HSIEH C L, YANG M H, CHYAU C C, *et al.* Kinetic analysis on the sensitivity of glucose- or glyoxal-induced *LDL* glycation to the inhibitory effect of psidium guajava extract in a physiomic system[J]. *Biosystems*, 2007, 88(1/2):92-100.
- [15] BAKER J R, METCALF P A, JOHNSON R N, *et al.* Use of protein-based standards in automated colorimetric determinations of fructosamine in serum[J]. *Clinical Chemistry*, 1985, 31(9):1550-1554.
- [16] JOHN W G. Effect of schiff base (labile fraction) on the measurement of glycated hemoglobin by affinity chromatography[J]. *Clinical Chemistry*, 1984(6):1111-1112.
- [17] CHO S J, ROMAN G, YEBOAH F, *et al.* The road to advanced glycation end products: a mechanistic perspective [J]. *Current Medicinal Chemistry*, 2007, 14(15):1653-1671.
- [18] SINGH R, BARDEN A, MORI T, *et al.* Advanced glycation end-products: a review [J]. *Diabetologia*, 2001, 44(2):129-146.
- [19] LIN C H, LAI Y C, CHANG T J, *et al.* Hemoglobin glycation index predicts renal function deterioration in patients with type 2 diabetes and a low risk of chronic kidney disease[J]. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 2022, 186:109834.
- [20] CHAHG H A, MIN S H, LEE D W, *et al.* Hemoglobin glycation index is associated with cardiovascular diseases in people with impaired glucose metabolism[J]. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2017, 102(8):2905-2913.
- [21] KUANG L, LI W, XU G, *et al.* Systematic review and meta-analysis; influence of iron deficiency anemia on blood glycosylated hemoglobin in diabetic patients[J]. *Annals of Palliative Medicine*, 2021, 10(11):11705-11713.
- [22] AYDIN B, ÖZCELIK S, KILIT T P, *et al.* Relationship between glycosylated hemoglobin and iron deficiency anemia; a common but overlooked problem[J]. *Primary Care Diabetes*, 2022, 16(2):312-317.
- [23] AHMED E, BOKHARY F E Z S, ISMAIL S, *et al.* Predictive value of the glycated albumin versus glycosylated hemoglobin in follow-up of glucose homeostasis in hemodialysis-maintained type-2 diabetic patients [J]. *Endocrine Regulations*, 2022, 56(1):10-21.
- [24] RUBENSTEIN D A, YIN W. Glycated albumin modulates platelet susceptibility to flow induced activation and aggregation[J]. *Platelets*, 2009, 20(3):206-215.
- [25] SINGH M, SHIN S. Changes in erythrocyte aggregation and deformability in diabetes mellitus; a brief review[J]. *Indian Journal of Experimental Biology*, 2009, 47(1):7-15.
- [26] ADESHARA K A, DIWAN A G, JAGTAP T R, *et al.* Relationship between plasma glycation with membrane modification, oxidative stress and expression of glucose transporter-1 in type 2 diabetes patients with vascular complications[J]. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 2017, 31(2):439-448.
- [27] KLONOFF D C. Analysis; serum fructosamine as a screening test for type 2 diabetes[J]. *Diabetes Technology & Therapeutics*, 2000, 2(4):537-539.
- [28] JOHNSON R N, METCALF P A, BAKER J R. Fructosamine; a new approach to the estimation of serum glycosylprotein. An index of diabetic control [J]. *Clinica Chimica Acta*, 1983, 127(1):87-95.
- [29] JESSICA Z, BORGES C R, BRAUN E J, *et al.* Chicken albumin exhibits natural resistance to glycation[J]. *Comparative Biochemistry & Physiology Part B Biochemistry & Molecular Biology*, 2017, 203:108-114.
- [30] HUEBSCHMANN A G, REGENSTEINER J G, VLASARA H, *et al.* Diabetes and advanced glycoxidation end products [J]. *American Diabetes Association*, 2006, 29(6):1420-1432.
- [31] RAMASAMY R, YAN S F, SCHMIDT A M. Receptor for AGE (*RAGE*): signaling mechanisms in the pathogenesis of diabetes and its complications[J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2011, 1243:88-102.
- [32] SCHALKWIJK C G, STEHOUWER C D. Methylglyoxal, a highly reactive dicarbonyl compound, in diabetes, its vascular complications, and other age-related diseases[J]. *Physiological Reviews*, 2020, 100(1):407-461.
- [33] RABBANI N, THORNALEY P J. Methylglyoxal, glyoxalase 1 and the dicarbonyl proteome[J]. *Amino Acids*, 2012, 42(4):1133-1142.
- [34] BEISSWENGER P J, HOWELL S K, RUSSELL G B,

- et al.* Early progression of diabetic nephropathy correlates with methylglyoxal-derived advanced glycation end products[J]. *Diabetes Care*, 2013, 36(10):3234-3239.
- [35] THORNALLEY P J. Dicarbonyl intermediates in the maillard reaction[J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2005, 1043(1):111-117.
- [36] SIRDAH M M. Protective and therapeutic effectiveness of taurine in diabetes mellitus: a rationale for antioxidant supplementation[J]. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 2015, 9(1):55-64.
- [37] DAS J, ROY A, SIL P C, *et al.* Mechanism of the protective action of taurine in toxin and drug induced organ pathophysiology and diabetic complications: a review[J]. *Food & Function*, 2012, 3(12):1251-1264.
- [38] TIMBRELL J A, SEABRA V, WATERFIELD C J. The in vivo and in vitro protective properties of taurine[J]. *General Pharmacology*, 1995, 26(3):453-462.
- [39] ZHENGY, CEGLAREK U, HUANG T, *et al.* Plasma taurine, diabetes genetic predisposition, and changes of insulin sensitivity in response to weight-loss diets[J]. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2016 (10):3820-3826.
- [40] ITO T, SCHAFFER S W, AZUMA J. The potential usefulness of taurine on diabetes mellitus and its complications[J]. *Amino Acids*, 2012, 42(5):1529-1539.
- [41] OGASAWARA M, NAKAMURA T, KOYAMA I, *et al.* Reactivity of taurine with aldehydes and its physiological role [J]. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 1993, 41(12):2172-2175.
- [42] CANTERO A V, PORTERO-OTIN M, AYALA V, *et al.* Methylglyoxal induces advanced glycation end product (AGEs) formation and dysfunction of PDGFR α : implications for diabetic atherosclerosis [J]. *The FASEB Journal*, 2007, 21(12):3096-3106.
- [43] SIAHBALAEI R, KAVOOSI G. In vitro anti-diabetic activity of free amino acid and protein amino acid extracts from four iranian medicinal plants[J]. *Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science*, 2020, 45(2):443-454.
- [44] TUPE R S, BANGAR N, DIWAN A, *et al.* Comparative study of different glycating agents on human plasma and vascular cells [J]. *Molecular Biology Reports*, 2020, 47(1):521-531.

Comparison of Physiological Differences in Blood Glucose Regulation between Chickens and Rabbits

LUO Shuwen¹, HU Xuan¹, ZHENG Ming¹, XU Xuexue¹, LIU Xueming¹,
ZHONG Xiangqian², ZHANG Yu¹, CHEN Guohong¹ and XU Qi¹

(1. College of Animal Science and Technology, Yangzhou University, Yangzhou Jiangsu 225009, China;

2. Suqian Animal Husbandry Veterinary Station, Suqian Jiangsu 223800, China)

Abstract The fasting blood glucose concentrations of birds are about twice of themammals, and the birds have significant insulin resistance, but there is no significant diabetic complications, the reasons for the absense are unclear. In order to elucidate the intrinsic reasons for no clinical signs of hyperglycaemia inthe poultry, this study was conducted to compare the physiological differences in glucose regulation between chickens and rabbits using ELISA, high performance liquid chromatography and liquid chromatography mass spectrometry detection techniques. The results showed that glycosylated albumin was higher in chickens than in rabbits, while glycosylated haemoglobin was not significantly different; serum fructosamine levels inchickens were not significantly different from those in rabbits; and serum levels of advanced glycation end-products were significantly lower in chickens than in rabbits . The results of high performance liquid chromatography showed that the taurine content and free amino acid content of chickens were extremely significantly higher than those of rabbits; the results of liquid chromatography mass spectrometry showed that the methylglyoxal content of chickens was not significantly different from that of rabbits. In conclusion, the main reason forchickens to exhibite deleterious effects under the no chronic hyperglycaemiaais that taurine and some free amino acids act as carbonyl scavengers to reduce the levels of fructosamine and methylglyoxal, and decrease the advanced glycation end-products.

Key words Chicken; Rabbit; Glucose regulation; Glycosylation end products; Glycated proteins; Taurine; Methylglyoxal

Received 2022-09-29

Returned 2022-11-17

Foundation item Jiangsu Modern Agricultural (Broiler) Industry Technology System (No. JATS [2022] 163).

First author LUO Shuwen, female, doctoral student. Research area: chicken genetic breeding and reproduction. E-mail: santifay@163.com

Corresponding author XU Qi, male, Ph. D, professor. Research area: poultry genetics and breeding. E-mail: xuqi@yzu.edu.cn

(责任编辑:顾玉兰 Responsible editor: GU Yulan)