

糖抗宁对Ⅱ型糖尿病大鼠胰岛素抵抗的影响

★ 李瑾 任志芳 (山东省临沂市中医医院 临沂 276002)

摘要:目的:观察糖抗宁对Ⅱ型糖尿病胰岛素抵抗的影响。方法:采用链脲佐菌素和高热量饲料的方法模拟Ⅱ型糖尿病胰岛素抵抗大鼠模型,研究糖抗宁合剂对Ⅱ型糖尿病胰岛素抵抗大鼠脂肪细胞葡萄糖氧化能力、胰岛素敏感性指数及肿瘤坏死因子的影响。结果:糖抗宁合剂可明显降低空腹血糖、体重指数、胰岛素水平($P<0.05\sim0.01$),提高胰岛素敏感性指数($P<0.05\sim0.01$),提高基础和胰岛素刺激的大鼠脂肪细胞的葡萄糖氧化能力($P<0.05\sim0.01$),并有一定的降低肿瘤坏死因子的作用($P>0.05$)。结论:糖抗宁合剂可提高Ⅱ型糖尿病胰岛素抵抗大鼠靶细胞的胰岛素敏感性,改善胰岛素抵抗,其作用机理可能与降低血糖、减肥降脂及改善受体后缺陷有关。

关键词:Ⅱ型糖尿病;胰岛素抵抗;糖抗宁;实验研究

中图分类号:R 965 **文献标识码:**A

胰岛素抵抗是Ⅱ型糖尿病的主要特征之一,它是造成高血糖及各种并发症产生的主要原因。本实验观察了糖抗宁对实验性Ⅱ型糖尿病大鼠体重、血糖、血脂、胰岛素、胰岛素敏感性指数及脂肪细胞葡萄糖氧化能力、肿瘤坏死因子的影响,从而观察和验证糖抗宁合剂对Ⅱ型糖尿病胰岛素抵抗的改善作用,并深入探讨其作用机理。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验动物与饲料加工:健康 Wistar 雄性大鼠,体重(200 ± 17)g,由山东省卫生防疫站实验动物室提供。正常饲料由山东省中医药大学药理室提供,高热量饲料由基础饲料加蔗糖、炼猪油和鸡蛋充分混匀后,用搅肉机成形、烤熟后用。

糖抗宁合剂:临沂市中医医院提供,制剂号 20011026,药物组成为生黄芪、山药、山萸肉、麦冬、花粉、知母、葛根、僵蚕、海藻、荷叶、佩兰、水蛭、熟大黄等,该制剂每毫升中含有生药 0.53 g。实验用药分 16 g/kg、8 g/kg 两种剂量,分别相当于临床人用药的 18.12 倍和 9.06 倍(以公斤体重折算)。

盐酸二甲双胍:贵州天安药业有限责任公司生产,批号:010802。试验动物用药 0.25 g/kg,相当于临床人用剂量的 10 倍(以公斤体重折算)。

链脲佐菌素:美国 Sigma 化学制剂公司提供。

125 I-胰岛素放射免疫测定药盒:中国科学院动物研究所提供。**糖化血红蛋白测定药盒:**南京建成生物工程研究所提供。**肿瘤坏死因子(TNF α)放射免疫测定药盒:**解放军总医院科技开发中心放免所提供。**D-[U-14C]-葡萄糖($248\text{mCi}\cdot\text{mmol}^{-1}\cdot\text{L}^{-1}$):**中国医学科学院放射医学研究所提供。

实验仪器: γ 免疫计数器(西安二六二厂生产),721 分光光度计(上海分析仪器厂生产),GT-4310 血糖分析仪(广西医疗电子仪器厂、日本京都科学株式回社合作生产),LG-10A 高速冷冻离心机(日立产品),COBAS 全自动生化分析仪(欧洲产),BeckmanLs1801 液体闪烁谱仪与倒置生物显微镜由山东中医药大学中心实验室提供。

药物配制:所用受试药物均用蒸馏水配成所需浓度。

给药途径:灌胃,大鼠 10 mL/kg,小鼠 20 mL/kg。

1.2 实验方法

1.2.1 Ⅱ型糖尿病胰岛素抵抗大鼠复制 按照文献方法^[1]加以改进。健康雄性大鼠 100 只,体重(200 ± 17)g。测定大鼠空腹血糖值,然后按 30 mg/kg 体重的剂量腹内注射新鲜配制的 2% 链脲佐菌素液(柠檬酸缓冲液, pH4.5)每天 1 次,连续 3 次,在末次注射 2 周后,挑选空腹血糖 ≥ 11.1 mmol/L 的

大鼠改喂高热量饮食,连续8周。造模结束后,从中挑选血糖 >11.1 mmol/L,并具有超重、高血脂及高胰岛素血症的大鼠确定为实验性Ⅱ型糖尿病胰岛素抵抗大鼠,共46只进入实验。

1.2.2 动物分组及饲养 将46只Ⅱ型糖尿病胰岛素抵抗大鼠随机分为4组:模型对照组、糖抗宁小剂量组、糖抗宁大剂量组和二甲双胍模型对照组,另取12只正常大鼠作为正常对照组。

各组均改以正常饲料喂养,其中模型对照组灌服等容量常水,糖抗宁低剂量组及大剂量组分别予糖抗宁8、16 g/kg,二甲双胍对照组按0.25 g/kg大鼠的剂量灌服二甲双胍混悬液,连续治疗40天。

1.2.3 指标观察 体重:于给药第41天上午测量动物体重。

生化指标:上述大鼠分别于给药第41天禁食12小时后眶静脉采血检测血糖、血脂后,给动物腹腔注射戊巴比妥钠(30 mg/kg)麻醉,剖腹自腹主动脉取血。按照有关测定药盒的技术要求,制备血清或血浆(以肝素钠抗凝),测定血清胰岛素(Ins)水平按照药盒说明书操作程序,测定TNF α 的含量。以及糖化血红蛋白含量。参照文献方法^[2]计算胰岛素敏感性指数(IAI)——即空腹血糖与胰岛素乘积的倒数。

脂肪细胞葡萄糖氧化能力:于治疗结束后断头处死大鼠,取附睾脂肪垫和腹部脂肪用于分离脂肪细胞。游离脂肪细胞的制备,按康有厚等改良Rodbell方法^[3,4]制备。脂肪细胞葡萄糖氧化能力的测定,按Pederson^[5]的方法,产生的 $^{14}\text{CO}_2$ 用25%海胺甲醇液吸收。

1.3 统计分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用单因素方差分析,两两比较用 q 检验。

2 结果

2.1 体重

见表1。

2.2 生化指标

结果见表2~表5。

2.3 脂肪细胞葡萄糖氧化能力

结果见表6。

2.4 肿瘤坏死因子(TNF α)

结果见表7。

表1 糖抗宁对糖尿病大鼠体重的影响

组别	样本数/只	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	体重/g	
			给药前	给药后
正常对照组	12	等容量	200 $\pm$ 17	212 $\pm$ 16.2
模型对照组	11	等容量	423 $\pm$ 15.2 [#]	419 $\pm$ 17.9 [#]
糖抗宁	12	8.0	425 $\pm$ 14.6	315 $\pm$ 15.9 Δ
糖抗宁	11	16.0	430 $\pm$ 11.2	287 $\pm$ 14.3 $\Delta\Delta$
二甲双胍	12	0.25	426 $\pm$ 13.9	346 $\pm$ 12.3 Δ

注:与正常组比较,[#] $P < 0.01$,与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ 。下同。

表2 糖抗宁对糖尿病大鼠血脂的影响 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$

组别	样本数/只	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	TC		TG	
			给药前	给药后	给药前	给药后
正常对照组	12	……	3.4 $\pm$ 1.2	3.5 $\pm$ 1.0	1.8 $\pm$ 0.7	1.8 $\pm$ 0.8
模型对照组	11	等容量	7.6 $\pm$ 1.5 [#]	7.4 $\pm$ 1.8 [#]	5.6 $\pm$ 1 [#]	5.3 $\pm$ 1 [#]
糖抗宁	12	8.0	7.7 $\pm$ 1.3	5.9 $\pm$ 1.7 Δ	5.8 $\pm$ 0.9	3.7 $\pm$ 1.1 Δ
糖抗宁	11	16.0	7.6 $\pm$ 1.9	4.3 $\pm$ 1.8 $\Delta\Delta$	5.8 $\pm$ 1.1	2.8 $\pm$ 0.8 $\Delta\Delta$
二甲双胍	12	0.25	7.7 $\pm$ 1.8	6.9 $\pm$ 1.8	5.7 $\pm$ 1.3	4.6 $\pm$ 1.4

表3 糖抗宁对糖尿病大鼠血糖的影响 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$

组别	样本数/只	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	血糖	
			给药前	给药后
正常对照组	12	……	5.47 $\pm$ 1.51	5.56 $\pm$ 1.58
模型对照组	11	等容量	12.31 $\pm$ 2.12 [#]	12.28 $\pm$ 2.39 [#]
糖抗宁	12	8.0	12.16 $\pm$ 1.89	8.13 $\pm$ 3.37 Δ
糖抗宁	11	16.0	12.51 $\pm$ 3.15	7.01 $\pm$ 2.73 $\Delta\Delta$
二甲双胍	12	0.25	12.39 $\pm$ 2.67	8.29 $\pm$ 2.91 Δ

表4 糖抗宁对糖尿病大鼠胰岛素的影响 $\mu\text{U} \cdot \text{ml}^{-1}$

组别	样本数/只	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	胰岛素	
			给药前	给药后
正常对照组	12	……	72.2 $\pm$ 9.6	72.4 $\pm$ 8.5
模型对照组	11	等剂量	101.2 $\pm$ 10.5 [#]	99.5 $\pm$ 11.2 [#]
糖抗宁	12	8.0	112.1 $\pm$ 8.7	86.5 $\pm$ 10.7 Δ
糖抗宁	11	16.0	109.7 $\pm$ 9.5	81.3 $\pm$ 9.2 $\Delta\Delta$
二甲双胍	12	0.25	111.2 $\pm$ 10.3	87.7 $\pm$ 12.9 Δ

表5 对糖尿病大鼠胰岛素敏感性指数(IAI)的影响

组别	样本数/只	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	IAI	
			给药前	给药后
正常对照组	12	……	0.919 $\pm$ 0.179	0.925 $\pm$ 0.113
模型对照组	11	等容量	0.759 $\pm$ 0.105 [#]	0.763 $\pm$ 0.101 [#]
糖抗宁	12	8.0	0.761 $\pm$ 0.098	0.884 $\pm$ 0.164 Δ
糖抗宁	11	16.0	0.762 $\pm$ 0.163	0.899 $\pm$ 0.118 $\Delta\Delta$
二甲双胍	12	0.25	0.762 $\pm$ 0.172	0.871 $\pm$ 0.091 Δ

表6 糖抗宁对大鼠脂肪细胞葡萄糖氧化能力的比较

组别	样本数/只	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	^{14}C -葡萄糖/ $\mu\text{R} \cdot \text{L}^{-1}$				
			0	1	5	10	20
正常对照组	12	……	9.3 $\pm$ 1.31	18.1 $\pm$ 1.63	22.9 $\pm$ 1.63	25.2 $\pm$ 1.88	27.3 $\pm$ 1.67
模型对照组	11	等容量	5.9 $\pm$ 1.56 [#]	8.9 $\pm$ 1.77 [#]	14.2 $\pm$ 1.28 [#]	15.3 $\pm$ 1.72 [#]	16.2 $\pm$ 1.53 [#]
糖抗宁	12	8.0	8.7 $\pm$ 1.35 Δ	12.7 $\pm$ 1.46 Δ	15.9 $\pm$ 1.91 Δ	17.4 $\pm$ 1.57 Δ	17.8 $\pm$ 1.32 Δ
糖抗宁	11	16.0	8.9 $\pm$ 1.29 $\Delta\Delta$	14.3 $\pm$ 1.38 $\Delta\Delta$	17.7 $\pm$ 1.36 $\Delta\Delta$	17.5 $\pm$ 1.95 $\Delta\Delta$	18.5 $\pm$ 1.93 $\Delta\Delta$
二甲双胍	12	0.25	7.9 $\pm$ 1.61 Δ	11.8 $\pm$ 1.75 Δ	15.6 $\pm$ 1.63 Δ	16.9 $\pm$ 1.83 Δ	17.2 $\pm$ 1.67 Δ

表 7 糖抗宁对肿瘤坏死因子(TNF α)大鼠的影响

组别	样本数 /只	剂量 /g·kg ⁻¹	TNF α /ng·mL ⁻¹	
			给药前	给药后
正常对照组	12	……	32.87±6.92	32.91±7.03
模型对照组	11	等容量	39.27±5.93	39.14±6.11
糖抗宁	12	8.0	39.33±7.12	38.44±8.88
糖抗宁	11	16.0	40.01±6.58	34.70±5.53
二甲双胍	12	0.25	39.79±6.92	33.89±4.04

结果显示,造模成功后,TNF α 水平有一定程度的增高,对此糖抗宁及二甲双胍均具有一定的纠正作用,统计学检测未见显著性差异($P>0.05$)。

3 讨论

胰岛素抵抗的发生主要与受体前缺陷、受体缺陷、受体后缺陷有关,而受体后缺陷可能是引起胰岛素抵抗的主要原因,表现为靶细胞对胰岛素的反应性降低;细胞内丙酮酸脱氢酶合成酶活力降低^[6],可影响细胞的葡萄糖氧化能力,导致葡萄糖氧化能力下降;STZ 糖尿病大鼠的脂肪细胞葡萄糖氧化能力较正常大鼠降低,说明有受体后胰岛素抵抗存在^[3]。糖抗宁可显著提高基础和胰岛素刺激的脂肪细胞的葡萄糖氧化能力,从而通过改善受体后缺陷以改善胰岛素抵抗。

高糖不仅抑制胰岛素分泌,同时也抑制骨骼肌刺激的葡萄糖本身的运转及骨骼肌糖原的合成,即高糖同时抑制胰岛素的分泌和胰岛素的作用。故胰岛素抵抗可致血糖升高;而长期高血糖状态又可加重已有的胰岛素抵抗,使 β 细胞功能恶化,形成恶性循环。这种现象即所谓“葡萄糖中毒作用”。糖抗宁可有效降低大鼠空腹血糖,可以通过其有效的降糖作用来改善胰岛素抵抗,增加胰岛素敏感性,使胰岛素刺激的组织可以有效的对葡萄糖进行摄取和利用。

胰岛素抵抗还与肥胖、高脂血症有着密切的关系。肥胖引起胰岛素抵抗的机理可能与以下因素有关:(1)肥胖者骨骼肌细胞的胰岛素受体数量减少、功能降低;(2)骨骼肌、脂肪细胞膜上胰岛素介导的葡萄糖转运蛋白(如 Glut-4)功能降低,血糖刺激胰岛素分泌,产生高胰岛素血症和胰岛素抵抗;(3)过多的脂肪向血循环中释放大游离脂肪酸,影响胰岛素的失活,引起高胰岛素血症;(4)持续的高胰岛素血症导致可逆的胰岛素抵抗;(5)与胰岛素同时分泌的多肽 Amylin 可能与胰岛素抵抗有关;(6)中心型肥胖者骨骼肌纤维含量增多,毛细血管分布密度降低,血流调节异常,可能与胰岛素抵抗有关^[7]。另外,肥胖者不仅可以见到胰岛素受体数目的减少,而且也可以发现存在受体酪氨酸激酶活性的降低,

而后者是导致受体后缺陷而引起胰岛素抵抗的原因之一^[8]。高脂血症所致的血液中游离脂肪酸(FFA)增多可抑制肌肉组织和肝脏对胰岛素介导的葡萄糖的摄取,使葡萄糖输出增多,并可刺激胰岛 β 细胞分泌胰岛素增多而产生高胰岛素血症,从而产生胰岛素抵抗^[9]。胰岛素抵抗又可进一步加重脂代谢紊乱,引发高 TG 血症、高 VLDL 血症和低 HDL 血症^[10]。糖抗宁可有效降低大鼠的体重、血胆固醇及甘油三酯,增高高密度脂蛋白,从而减轻胰岛素抵抗。

另外,糖抗宁组成药物中有些经现代药理研究证实有明显改善胰岛素抵抗的作用,静脉滴注葛根素^[11]能改善 II 型糖尿病血糖控制情况,增加机体对胰岛素的敏感性,对胰岛素水平无影响。大黄^[12]能通过提高胰岛素受体结合力而改善糖代谢和脂质代谢障碍以及高胰岛素血症;知母可促进横膈、脂肪组织对葡萄糖的摄取,使横膈中糖原含量增加,从而减轻胰岛素抵抗,增加胰岛素敏感性。

参考文献

- [1]赵晓华,宋征,李兴,等.胰岛素抵抗性非胰岛素依赖型糖尿病大鼠模型研制[J].中华预防医学杂志,1999,33(5):300
- [2]李光伟,潘孝仁,Stephen,等.检测人群胰岛素敏感性的一项新指数[J].中华内科杂志,1993,32(10):656
- [3]康有厚,刘亚兵,陈援朝,等.链尿佐菌素糖尿病大鼠的胰岛素受体结合、胰岛素释放和葡萄糖氧化[J].中华内分泌代谢杂志,1991,7(2):96
- [4]Robell M. Metabolism of isolated fat cells. 1. Effects of hormone on glucose metabolism and Lipolysis[J]. J Biol Chem,1964, 239:37
- [5]Pederson, Hiquand E, Lindskovlo. Insuline binding and action on fat cell from young healthy females and males[J]. Am J physiol 1982, 243:E 158
- [6]Garavey WT. Insulin resistance and noninsulin dependent diabetes mellitus: Which horse is pulling the cart[J]. Dia Metab Rev, 1989, 5:729
- [7]杜忠东. 肥胖、胰岛素抵抗与高血压[J]. 中国高血压杂志, 1994, (2):41
- [8]王舟. 胰岛素受体异常与胰岛素抵抗[J]. 国外医学内科学分册, 1991,18(8):360
- [9]武革. 性激素结合球蛋白与胰岛素抵抗[J]. 国外医学·内分泌分册, 1999, (4):161
- [10]徐一甄. 胰岛素抵抗与血脂异常[J]. 国外医学·内科学分册, 1998, (1):12
- [11]刘蕴玲,陈少华. 葛根素对 II 型糖尿病人胰岛素敏感性的影响[J]. 辽宁实用杂志, 2000, 3(1):26
- [12]孙亚捷,孙辉. 大黄传统功效的现代研究[J]. 甘肃科技, 2000, 3:59

(收稿日期:2005-02-21)