

丹蛭降糖胶囊对胰岛素抵抗大鼠脂联素的影响

★ 王开成 (浙江省杭州市萧山第三人民医院 杭州 311251)

★ 方朝晖 (安徽中医学院第一附属医院 合肥 230031)

摘要:目的:观察丹蛭降糖胶囊对小剂量链脲佐菌素加高热量饲料诱导的胰岛素抵抗模型大鼠血清脂联素含量的影响。方法:雄性 Wistar 大鼠随机分为空白组、模型组、中药低剂量组、中药高剂量组。空白组喂以普通饲料,模型组与各治疗组注射小剂量链脲佐菌素并喂以高热量饲料,常规测定各组大鼠治疗前后的体重、空腹血糖和治疗后各组大鼠的空腹血清胰岛素水平,计算胰岛素敏感性指数,测定各组血脂、血清脂联素水平。结果:丹蛭降糖胶囊能有效地减轻模型大鼠体重,明显降低大鼠的空腹血糖和空腹胰岛素,改善脂代谢紊乱状况,提高胰岛素敏感指数,提高血清脂联素水平($P < 0.05$)。结论:丹蛭降糖胶囊对胰岛素抵抗大鼠有显著的改善作用,其机制可能与提高血清脂联素水平有关。

关键词:胰岛素抵抗;丹蛭降糖胶囊;脂联素

中图分类号:R 289.5 **文献标识码:**A

观察丹蛭降糖胶囊(DJC)对小剂量链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)加高热量饮食诱导的 2 型糖尿病(Diabetes Mellitus, DM)胰岛素抵抗(Insulin Resistance, IR)大鼠的体重、血糖、胰岛素、胰岛素敏感性指数(Insulin Sensitive Index, ISI)、血脂、脂联素的影响,以观察 DJC 的药物疗效。

1 材料

1.1 药物及试剂 丹蛭降糖胶囊,国家中医药管理局中药新药,安徽中医学院第一附属医院研制,由药物制剂中心生产(批号:030125),每粒胶囊含生药 0.5 g;链脲佐菌素,美国 sigma 公司产品,北京夏斯生物技术有限公司提供;0.1 mol/L, pH 4.4 柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液,北京夏斯生物技术有限公司提供;125I 胰岛素放免试剂盒,中国原子能科学研究院同位素研究所产品;脂联素 ELISA 试剂盒,购自军事医学科学院。

1.2 实验动物 Wistar 雄性大鼠 36 只,体重(200 ± 20) g,由河南医科大学实验动物中心提供,动物合格证号为 3212。

1.3 主要仪器 Soft.Tact™ “舒泰”血糖仪,美国雅培公司产品;TGL-168 离心机,上海安亭科学仪器厂产品;日立-7060 全自动生化分析仪,上海长征医学科技有限公司产品;HH.W21-600 型电热恒温水箱,上海医用恒温设备厂产品;XW-80A 旋涡混合器,上海医科大学仪器厂产品;721 分光光度计,上海第三分析仪器厂产品。

2 方法

2.1 动物分组及模型的制作

2.1.1 实验动物 18 月龄 Wistar 雄性大鼠 36 只,体重(200 ± 20) g,造模前先用基础饲料适应性饲养 1 周。基础饲料:蛋白质占 23%,碳水化合物占 53%,脂肪占 5%;购自安徽医科大学动物房。

2.1.2 分组 分 4 组,即:空白组、模型组、中药低剂量组、中药高剂量组,每组 9 只大鼠。

2.1.3 动物模型制作及饲养 采用司晓晨等提供的方法^[1],明暗周期 12/12 小时,自由摄食、饮水,空白组继续喂以基础饲料至实验结束。模型组及治疗组喂以高热量饲料,高热量饲料由基础饲料加猪油、麻油、鸡蛋和花生等混合而成(在 10 000 g 基础饲料中加入 150 g 食盐、50 g 白糖、2 000 g 猪油、400 g 麻油、2 000 g 花生、900 g 鸡蛋,碳水化合物 48%,脂肪 22%,蛋白质 20%),自行配置,共计四周。然后按 25 mg/kg 体重的剂量一次性腹腔内注射 STZ(溶于 0.1 mmol/L 柠檬酸缓冲液, pH 4.4)。造模成功的标准为:于 72 小时后禁食 12 小时按 2 g/kg 体重灌喂 20% D-葡萄糖溶液,做口服糖耐量实验,0 和 120 分钟血糖分别大于 7.0 和 11.1 mmol/L。造模成功后,模型组及治疗组继续喂以高热量饲料至实验结束,治疗组同时灌胃给药,空白组与模型组灌服生理盐水。

2.2 给药方法

中药高剂量组:按临床成人剂量 12 倍即 1 080 mg/kg 灌胃给药,中药低剂量组按临床成人剂量的 6 倍即 540 mg/kg 灌胃给药。共计 4 周。

2.3 标本制取

末次给药后禁食 12 小时测体重、血糖,然后从腹主动脉抽血,离心,提取血清,标记后置 -20℃ 冰箱保存,用以检测血脂、胰岛素、脂联素。

2.4 指标的观察

2.4.1 观察造模和治疗前后动物的体重变化。

2.4.2 血糖的测定 治疗前后断尾采血,用美国雅培公司 Soft.Tact™ “舒泰”血糖仪检测大鼠的血糖。

2.4.3 血清甘油三酯、胆固醇和高密度脂蛋白 由安徽中医学院第一附属医院检验中心生化室测定。

2.4.4 血清胰岛素水平测定 采用放免法。

2.4.5 胰岛素敏感指数测定 按照李光伟^[2]的计算方法,

是以空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)与空腹血胰岛素(fasting insulin, FIns)乘积倒数的自然对数来表示,即 $ISI = \ln 1 / (FPG \times FIns)$ 。计算时把 Ins 单位换算为 mU/L。

2.4.6 血清脂联素的测定 采用 ELISA 法。

2.5 统计方法

用 SPSS 10.0 软件软件进行资料的分析处理,数据用描述,显著性分析采用方差分析和 q 检验。

3 结果

表 1 对大鼠体重和空腹血糖的影响

组别	n	剂量 /mg·kg ⁻¹	体重/g		FBG/mmol·L ⁻¹	
			造模后	治疗后	造模后	治疗后
空白组	9	—	342.1 ± 19.13	82.5 ± 32.1	5.41 ± 1.31	5.68 ± 1.61
模型组	9	—	381.0 ± 20.9 ^{##}	435.8 ± 34.6 ^{##}	9.23 ± 1.57 ^{##}	9.33 ± 1.89 ^{##}
中药低剂量组	9	540	378.9 ± 25.9 ^{##}	395.6 ± 23.9 ^{**}	8.61 ± 1.45 ^{##}	7.89 ± 2.48 ^{##}
中药高剂量组	9	1080	374.6 ± 20.7 ^{##}	391.2 ± 21.1 ^{**}	8.79 ± 1.51 ^{##}	7.41 ± 1.71 [*]

注:与空白组比较^{##} $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$;与模型组比较^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$ (下同)。

3.2 对各组大鼠空腹血清胰岛素水平、胰岛素敏感性指数、血脂的影响

见表 2。

表 2 各组大鼠血清胰岛素、胰岛素敏感性指数、血脂的比较

组别	n	剂量/mg·kg ⁻¹	Fins/mU·L ⁻¹	ISI	TG/mmol·L ⁻¹	TC/mmol·L ⁻¹	HDL-C/mmol·L ⁻¹
空白组	9	—	24.97 ± 5.61	-5.10 ± 0.22	0.43 ± 0.13	1.69 ± 0.28	1.51 ± 0.26
模型组	9	—	43.86 ± 9.68 ^{##}	-5.96 ± 0.15 ^{##}	1.86 ± 0.39 ^{##}	2.19 ± 0.25 ^{##}	1.02 ± 0.14 ^{##}
中药低剂量组	9	540	36.88 ± 9.09 ^{##}	-5.76 ± 0.39 ^{##}	1.45 ± 0.37 ^{##}	2.03 ± 0.27 ^{##}	1.19 ± 0.11 ^{##}
中药高剂量组	9	1080	33.56 ± 7.26 ^{##}	-5.65 ± 0.38 ^{##}	1.07 ± 0.34 ^{##}	1.96 ± 0.29 ^{##}	1.31 ± 0.11 ^{##}

3.3 对各组大鼠脂联素的影响

见表 3。

表 3 各组大鼠血浆脂联素含量的比较

组别	n	剂量/mg·kg ⁻¹	脂联素/μg·L ⁻¹
空白组	9	—	8.69 ± 2.13
模型组	9	—	4.86 ± 1.69 ^{##}
中药低剂量组	9	540	5.23 ± 0.94 ^{##}
中药高剂量组	9	1080	6.16 ± 1.05 ^{##}

4 讨论

丹蛭降糖胶囊是在大量古今文献调查和既往中医证候学调查和预试验的基础上,认为气虚、阴亏、血瘀为 2 型糖尿病 IR 的基本病机^[3~4],并以此为理论依据,参照中医文献和中药药理的部分最新研究成果,选择具有“益气、养阴、活血”功效的中药组方,筛选出太子参、丹皮、生地黄、泽泻、菟丝子、水蛭组成的复方制剂。

本实验采用小剂量 STZ 加高热量饮食喂养大鼠建立 IR 模型,观察丹蛭降糖胶囊对 IR 大鼠血清脂联素含量的影响,探讨丹蛭降糖胶囊改善 IR 作用的机理。结果表明:造模后,模型组及各给药组与空白组比较,大鼠体重均明显增加,空腹血糖明显增加,模型组大鼠 ISI 显著降低,提示本实验所用动物模型符合 IR 的特征和要求。治疗后,各给药组大鼠 FIns 与模型组比较均显著升高;各给药组大鼠与空白组比较,各组模型大鼠 FIns、ISI 均高于空白组,提示丹蛭降糖胶囊能有效减轻 IR 程度,并呈剂量依赖性。

2 型 DM IR 合并血脂异常的典型脂谱是 TG 升高、HDL-C 降低及小而密的低密度脂蛋白和小而密的高密度脂蛋

3.1 对大鼠体重和空腹血糖的影响

高热量饲料喂养的大鼠 1 个月后体重明显高于空白对照组,精神状态良好、反应灵敏、皮毛光泽、活动减少,腹腔注射链脲佐菌素后渐出现消瘦、多饮、反应迟钝、皮毛乱脏等表现,摄食量在注射 STZ 后头几天减少,以后逐渐恢复正常。随着给药时间的延长,大鼠的一般状态逐渐好转,活动量增加,皮毛红润光泽。对体重和空腹血糖的影响分别见表 1。

白增多^[5]。本实验测定了模型组大鼠血脂水平,结果发现:TC、TG 显著增高,而 HDL-C 显著降低,且存在高胰岛素血症。给予 DJC 治疗后血脂紊乱得到良好纠正,TG 显著下降,HDL-C 明显上升,均近于正常水平。表明了 DJC 具有良好的调脂效果,从而改善了大鼠的 IR。

脂联素由脂肪细胞分泌,并在脂肪组织中高度表达。在分离的肝细胞中,脂联素可以增加低于生理水平的胰岛素控制血糖的能力,也可提高 DM 动物模型的胰岛素敏感性。大量的研究表明,在肥胖、2 型 DM、心血管疾病的患者血中脂联素水平降低。这些患者同时伴有 IR 和高胰岛素血症^[6]。日本大阪大学的 Hotta 等^[7]研究人员用易发生肥胖并发展成 2 型 DM 的恒河猴做实验,研究脂联素与 IR 之间的关系。研究发现,就象人一样,患肥胖和 2 型 DM 的恒河猴血浆脂联素水平明显降低。进一步的研究还发现,血浆脂联素水平的降低在肥胖早期就发现,在发生 2 型 DM 后继续降低。提示血浆脂联素水平的降低与 IR 相伴发生、发展。德国 Fasshauer 等^[8]研究人员为了证实脂联素在 IR 中的作用,用不同的激素处理 3T3-L1 脂肪细胞诱导 IR,并用定量实时反转录聚合酶链反应技术检测脂联素 mRNA 的表达。有趣的是,用 100 nmol/L 的胰岛素,10 ng/ml 的 TNF2 或 100 nmol/L 地塞米松处理 3T3-L1 脂肪细胞 16 小时后,其脂联素的表达减少了 50%~85%。与此同时,血管紧张素 2、生长激素和三碘甲状腺氨酸并不受影响。在停药 24 小时以后,胰岛素、TNFα、地塞米松对脂联素表达的下调出现逆转。这项研究提示脂联素的表达由胰岛素、TNFα 和地塞米松的双向调节。Yamauchi 等^[9]给脂肪萎缩小鼠注射生理剂量的

脂联素,发现可以使其 IR 部分逆转。如果联合应用生理剂量的脂联素和瘦素,则可使全部脂肪萎缩小鼠的 IR 逆转。Berg 等^[10]给小鼠单独注射纯化的重组脂联素,可导致循环血中脂联素水平上升 2~3 成,并引发短暂的基础葡萄糖水平下降。此外,在分离的肝细胞中,脂联素可以增加低于生理水平的胰岛素控制血糖的能力。这两项研究的结果提示,肥胖和脂肪萎缩小鼠的脂联素减少预示 IR 的发生,脂联素可能是治疗 IR 的新靶点^[11]。如上所述,血浆脂联素水平与胰岛素增敏剂有一定相关性,故血浆脂联素水平有可能作为诊断 IR 的一个指标。脂联素影响糖脂代谢的证据逐渐增多。血浆脂联素水平和身体的胰岛素敏感性之间的强相关性已被确认,还发现其具有抗动脉粥样硬化的性质。有理由相信,脂联素的深入研究将对 IR、肥胖及 2 型 DM 的防治开辟一个新的领域。本研究显示,治疗后,与空白组比较,各组大鼠脂联素水平均有显著降低,且具有统计学意义($P < 0.01$);与模型组比较,中药高剂量组脂联素水平有明显升高($P < 0.05$)。说明 DJC 高剂量能有效提高血浆脂联素水平,该作用可能与其降低血糖,提高 ISI 的功能有关。

综上所述,DJC 能有效的改善 IR 大鼠的 IR 水平,其提高脂联素的作用可能与其改善机体的脂代谢紊乱密切相关,中药复方改善 IR 是一个多方位多途径多层次的调节过程,而脂联素可能就是 DJC 的一个作用靶点,其具体机制有待进一步阐明。

参考文献

- [1]司晓晨,尚文斌,卞慧敏,等.链脲佐菌素加高脂膳食诱导 2 型糖尿病大鼠模型[J].安徽中医临床杂志 2003;15(5):383~385
- [2]李光伟,潘孝仁,Lilliojas,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]方朝晖,张念志,韩明向.益气养阴活血法对 II 型糖尿病患者免疫功能的影响[J].中国中医药信息杂志,2001,8(11):47~78
- [4]方朝晖,章小平.中医药改善 2 型糖尿病胰岛素抵抗研究思路与方法[J].中国中医药信息杂志,2003,10(12):71~72
- [5]杨文英.从脂毒性到糖尿病再到血脂异常[J].国外医学内分泌学分册,2004,24(4):287~288
- [6]Kondo H, Shimomura I, Matsukawa Y, et al. Association of adiponectin mutation with type 2 diabetes: a candidate gene for the insulin resistance syndrome[J]. Diabetes, 2002, 51(7):2 325
- [7]Hotta K, Funahashi T, Bodkin NL, et al. Circulating concentrations of the adipocyte protein adiponectin are decreased in parallel with reduced insulin sensitivity during the progression to type 2 diabetes in rhesus monkeys[J]. Diabetes, 2001, 50(5):1 126
- [8]Fasshauer M, Klein J, Neumann S, et al. Hormonal regulation of adiponectin gene expression in 3T3~L1 adipocytes[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2002, 290(3):1 084
- [9]Yamauchi T, Oike Y, Kamon J, et al. Increased insulin sensitivity despite lipodystrophy in Crebbp heterozygous mice[J]. Nat Genet, 2002, 30(2):211
- [10]Berg A H, Combs T P, Scherer P E. ACRP30/adiponectin: an adipokine regulating glucose and lipid metabolism[J]. Trends Endocrinol Metab, 2001, 13(2):84
- [11]Berg A H, Combs T P, Scherer P E. ACRP30/adiponectin: an adipokine regulating glucose and lipid metabolism[J]. Trends Endocrinol Metab, 2001, 13(2):84

(收稿日期:2005-12-06)

Experimental study of Danzhijiangtang Capsule's effect on serum adiponectin level in IR rats

WANG Kai - cheng¹, FANG Zhao - hui²

(1 The 3rd Hospital of Xiaoshan, Hangzhou, 311251;

2 The 1st Affiliated Hospital of Anhui College of TCM, 230031)

ABSTRACT: Objective: Investigate Danzhijiangtang Capsule's effect on serum adiponectin level in insulin resistance(IR) rats induced by low dose of streptozotocin(STZ) and high calorie food to find out its functional target. Methods: Male Wistar rats were randomly divided into normal group、model group、low dose of Danzhijiangtang Capsule treating group and high dose of Danzhijiangtang Capsule treating group. The rats of normal group were fed with common food while the others with high calorie food and injected with low dose of STZ. The weight、fasting blood glucose(FBG)、fasting insulin(FIns)、blood fat、adiponectin level of all rats were measured, and insulin sensitivity index(ISI) was calculated accordingly. Results: Danzhijiangtang Capsule could reduce body weight of IR rats. According to the results of biochemical indicator detection, Danzhijiangtang Capsule could reduce FBG level and FIns level, improve blood fat condition, enhance ISI and serum adiponectin level effectively ($P < 0.05$). Conclusion: Danzhijiangtang Capsule can ameliorate IR condition of the model rats and its mechanism is probably related to its effect of enhancing serum adiponectin secreting.

Keywords: Insulin Resistance; Danzhijiangtang Capsule; Adiponectin