

糖脂平对胰岛素抵抗大鼠糖脂代谢的影响

赵 轩 高彦彬 周盛楠 李娇阳 朱智耀 张 娜

(首都医科大学中医药学院, 北京, 100069)

摘要 目的: 建立喂养型胰岛素抵抗(IR)大鼠模型, 观察糖脂平对喂养型 IR 大鼠糖脂代谢的影响。方法: 选用体重在 180 ~ 200 g 的 8 周龄雄性 SD 大鼠 60 只, 适应性喂养 1 周后, 随机分为空白对照组 15 只和造模组 45 只。空白对照组采用普通饲料喂养, 造模组采用高脂饲料喂养。8 周造模成功后, 将造模组随机分为: 模型组、糖脂平组、罗格列酮组各 15 只。糖脂平组给予糖脂平按生药 20 g/(kg·d) 灌胃; 罗格列酮组给予罗格列酮 0.8 mg/(kg·d) 灌胃; 模型组和空白对照组灌服等量的生理盐水; 末次给药后禁食 12 h, 用正常血糖胰岛素钳夹技术来评价胰岛素敏感性, 并检测各组大鼠的体重、血糖、血清胰岛素、血脂(TG、TC、HDL-C、LDL-C)等指标。结果: 糖脂平能够增加胰岛素敏感性, 改善胰岛素抵抗, 抑制体重增长, 效果优于罗格列酮; 同时可降低血糖、空腹血清胰岛素, 降低 TG 和 LDL-c, 与罗格列酮药效相近。结论: 糖脂平能够调整 IR 大鼠的糖脂代谢紊乱, 改善胰岛素抵抗。

关键词 胰岛素抵抗; 糖脂平; 糖脂代谢; 胰岛素敏感性

Effects of Tangzhiping on Glucose and Lipid Metabolism in Insulin-Resistance Rat Model

Zhao Xuan, Gao Yanbin, Zhou Shengnan, Li Jiaoyang, Zhu Zhiyao, Zhang Na

(School of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China)

Abstract Objective: To investigate the effects of Tangzhiping on glucose and lipid metabolism in rats with insulin resistance. **Methods:** Sixty male SD rats which were 8 weeks old and weighted among 180 to 200 g were randomly divided into blank control group ($n = 15$) and module group ($n = 45$) after being fed for a week for adaptation. Rats in the blank control group were fed with common food, while module group fed the rats with high fat food for 8 weeks. Eight weeks later, the model rats were successfully made, and they were randomly divided into: the model group ($n = 15$), Tangzhiping group ($n = 15$), rosiglitazone group ($n = 15$). Tangzhiping group gave the rats Tangzhiping formula particles according to the statement 20 g/kg/d to fill in the stomach; rosiglitazone group applied up to 0.8 mg/kg/d rosiglitazone gavage; model group and blank control group used the same amount of saline solution for 8 weeks. Twelve hours after the last administration, levels of insulin sensitivity was evaluated by the "euglycemic hyperinsulin clamp technique", and levels of body weight, fast plasma glucose, serum insulin, blood lipids were also observed. **Results:** Tangzhiping could raise insulin sensitivity, improve IR, suppress weight gain which was better than rosiglitazone; it could lower blood sugar, reduce serum insulin, TG and LDL-c, which was close to the efficacy of rosiglitazone. **Conclusion:** IR model is successfully established. Tangzhiping and rosiglitazone can lose weight, reduce blood sugar and insulin levels, adjust blood lipid levels and increase insulin sensitivity.

Key Words Insulin Resistance; Tangzhiping; Glucose and lipid metabolism; Insulin sensitivity

中图分类号: R285.5 文献标识码: A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2014.05.026

胰岛素抵抗(Insulin Resistance, IR)是指胰岛素的外周靶组织(主要为骨骼肌、肝脏和脂肪组织)对胰岛素的敏感性和反应性降低, 导致生理剂量的胰岛素产生低于正常值的一种病理状态^[1]。胰岛素抵抗是引起肥胖、脂肪肝、糖尿病、高血压、动脉粥样硬化、冠心病、肾脏疾病、皮质醇增多症等代谢综合征极其重要的因素之一, 最终将发展为严重的糖尿病并发症和心脑血管疾病, 因此研制其早期干预性药物具有十分重要的意义。通过参阅大量古今文献及回顾性总结大量临床

病例, 高彦彬教授提出痰瘀互阻是胰岛素抵抗发生的核心病机, 化痰活血是改善胰岛素抵抗的基本治法, 因而研制出糖脂平用于治疗痰瘀互阻型的早期糖尿病或糖尿病前期, 临床上获得了显著的疗效。我们已完成的国家“十一五”支撑课题证实, 糖脂平具有降低空腹及餐后血糖、改善胰岛素抵抗的作用, 可明显降低糖耐量减低(Impaired Glucose Tolerance, IGT)转化为糖尿病的风险^[2], 但糖脂平改善胰岛素抵抗的作用机制尚不清楚, 本文通过高脂诱导建立胰岛素抵抗大鼠模

基金项目: 北京市自然科学基金项目(北京市教委基金资助, 编号: 7122020)

第一作者: 赵轩(1986—), 女, 天津人, 硕士研究生在读, 从事中医药防治糖尿病及其并发症的临床和基础研究

通信作者: 高彦彬(1960—), 男, 山东人, 教授, 主任医师, 医学博士, 博士研究生导师, 从事中医药防治糖尿病及其并发症的临床和基础研究, E-mail: dfyynfm@163.com

型,旨在探讨糖脂平对喂养型 IR 大鼠糖脂代谢的影响。

1 实验材料

1.1 动物 清洁级雄性 SD 大鼠 60 只,8 周龄左右,体重 180~200 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,动物许可证编号:SCXK(京)2012-0001,动物批号:0275644。饲养于首都医科大学实验动物科学部 SPF 级条件下,每 3 只为 1 笼,自由摄食进水。环境温度控制在 $(23 \pm 5)^\circ\text{C}$,湿度 $45\% \pm 15\%$,12/12 h 光照/黑暗循环(光照时间:7:00~19:00)。

1.2 药物

1.2.1 中药 糖脂平免煎颗粒(主要成分为桑白皮、鬼箭羽、黄连等,批号分别是 120101、120501、120101),北京康仁堂药业有限公司生产,北京中医药大学东方医院南楼颗粒药房提供。

1.2.2 西药 爱能罗格列酮片:成都恒瑞制药有限公司生产,批号:120205;胰岛素(商品名:诺和灵 R),规格:100 U/MI,购于美国强生公司(批号:SFZ0111),4℃保存,常温后使用。

1.2.3 试剂 血糖测定试剂盒及试纸(批号:666732)、TG 测定试剂盒(批号:661752)、TC 测定试剂盒(批号:674467)、HDL-C 测定试剂盒(批号:660662)、LDL-C 测定试剂盒(批号 661859),均由豪夫迈-罗氏公司提供。胰岛素放免检测试剂盒(批号:201304),北京原子高科股份有限公司提供。

1.2.4 仪器设备 血糖试纸及快速血糖仪,购于 i-SENS 公司;微量注射泵,购自德国贝朗公司;电子天平,购自余姚纪铭称重校验设备有限公司;日立 7180 型全自动分析仪,购自株式会社日立高新技术公司;DDL-5 型低温台式离心机,购自上海安厅科学仪器厂;电子恒温水浴锅,购自北京长安仪器仪表公司;Perkin Emler γ 免疫计数器,购自北京原子高科股份有限公司。

2 实验方法

2.1 模型建立及分组给药 参照文献,选用体重在 180~200 g 的 8 周龄雄性 SD 大鼠 60 只,适应性喂养 1 周后,随机分为空白对照组 15 只和造模组 45 只。空白对照组采用普通饲料喂养,造模组采用高脂饲料(普通饲料 74.8%、猪油 12%、胆固醇 1%、猪胆盐 0.2%、蛋黄粉 10%、干酪素 2%)喂养。8 周造模成功后,将造模组随机分为:模型组、糖脂平组、罗格列酮组各 15 只。糖脂平组给予糖脂平按生药 20 g/(kg·d)灌胃;罗格列酮组给予罗格列酮 0.8 mg/(kg·d)灌胃;模型组和空白对照组灌服等量的生理盐水;给药期间对照

组仍给予普通饲料喂养,其他三组继续给予高脂饲料喂养,喂养条件不变,持续 8 周。给药过程中大鼠死亡 5 只(糖脂平组死亡 3 只,罗格列酮组死亡 2 只)。在高脂喂养的 8 周中和药物干预的 8 周中,至少每 4 周检测一次体重和血糖,以动态监测变化。末次给药后禁食 12 h,用正常血糖胰岛素钳夹技术来评价胰岛素敏感性,并测定血糖、胰岛素等指标。

2.2 指标检测

2.2.1 胰岛素敏感性测定 使用目前国际公认的 IR 评价“金标准”——正常血糖高胰岛素钳夹技术评价胰岛素敏感性:末次给药后,各组大鼠用 10% 的水合氯醛(按每 300 g 大鼠 1 mL)经腹腔麻醉。在左颈动脉(测量血糖)和左颈静脉(同时泵入胰岛素和葡萄糖)插入导管(EP-50),并用适量肝素钠(1:100)溶液封管。禁食不禁水 12 h。固定大鼠,在清醒状态下测定空腹血糖,两只大鼠同时进行。分别以 25 mU/kg 的初始浓度和 4 mU/(kg·min)的维持浓度,持续 150 min 静脉泵入胰岛素,同时以 12.5% 葡萄糖液持续静脉泵入,每 7 min 测定 1 次血糖值。可适当调节输注速度以维持血糖水平。待血糖值稳定后,用 M 值(最后 35 min 内葡萄糖输注速度的平均值)评价胰岛素敏感性,一般认为 M 值不足 150 mg/(m²·min)时为 IR,M 值越小说明 IR 越严重。

2.2.2 体重 电子天平称量。

2.2.3 快速血糖 用大鼠尾静脉取血,采用血糖仪试纸法测定。

2.2.4 空腹血清胰岛素(FIns) 取血离心,按照试剂盒说明书进行操作,放免法检测。

2.2.5 血脂 取血离心,按照试剂盒说明书,酶法检测 TC、TG、HDL-c、LDL-c 水平。

2.3 统计学方法 采用 SPSS 18.0 软件进行实验数据的统计学处理。计量数据($\bar{x} \pm s$)表示,非正态分布资料经转换后进行统计,组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 表明差异有统计学意义。

3 实验结果

3.1 各组大鼠 M 值的比较 结果见表 1。连续给药 8 周末,与对照组比较,模型组 M 值显著降低,有统计学意义($P < 0.05$);与模型组比较,糖脂平组、罗格列酮组的 M 值显著升高,有统计学意义($P < 0.05$)。糖脂平组与罗格列酮组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),提示糖脂平能够增加胰岛素敏感性,改善胰岛素抵抗,与罗格列酮药效相近。

3.2 各组大鼠体重的比较 结果见表 2,与对照组比较,高脂喂养 8 周末,各组大鼠的体重均明显高于对照

组,有统计学意义($P < 0.05$);与模型组比较,连续给药 8 周末的糖脂平组体重明显下降,有统计学意义($P < 0.05$),罗格列酮组体重下降不明显($P > 0.05$),糖脂平组和罗格列酮组相比,有统计学意义($P < 0.05$),提示糖脂平具有抑制大鼠体重增加的作用,且效果优于罗格列酮。

表 1 各组大鼠 M 值的比较($\bar{x} \pm s, \text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{min})$)

组别	只数	M 值
对照组	15	14.47 $\pm$ 1.21
模型组	15	9.26 $\pm$ 0.43 *
糖脂平组	12	10.76 $\pm$ 0.52 * Δ
罗格列酮组	13	11.34 $\pm$ 0.49 * Δ

注:与对照组比较, * $P < 0.05$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$ 。

表 2 各组大鼠体重的比较($\bar{x} \pm s, \text{g}$)

组别	只数	第 1 周末	高脂喂养 8 周末	连续给药 8 周末
对照组	15	228.21 $\pm$ 6.33	482.61 $\pm$ 27.33	597.43 $\pm$ 29.47
模型组	15	228.34 $\pm$ 5.73	552.89 $\pm$ 32.01 *	679.97 $\pm$ 27.62 *
糖脂平组	12	229.68 $\pm$ 7.41	555.62 $\pm$ 31.68 *	629.21 $\pm$ 24.64 * Δ $\blacktriangle$
罗格列酮组	13	230.35 $\pm$ 4.57	558.71 $\pm$ 29.72 *	656.57 $\pm$ 21.66 *

注:与对照组比较, * $P < 0.05$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$;与罗格列酮组相比, $\blacktriangle P < 0.05$ 。

3.3 各组大鼠空腹血糖的比较 结果见表 3,与对照组比较,高脂喂养 8 周末,模型组大鼠的血糖高于对照

组,有统计学意义($P < 0.05$);与模型组比较,连续给药 8 周末,糖脂平组、罗格列酮组血糖值均明显下降,有统计学意义($P < 0.05$)。糖脂平组与罗格列酮组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),提示糖脂平具有一定降血糖的作用。

表 3 各组大鼠空腹血糖的比较($\bar{x} \pm s, \text{mmol/L}$)

组别	只数	第 1 周末	高脂喂养 8 周末	连续给药 8 周末
对照组	15	4.71 $\pm$ 0.37	4.82 $\pm$ 0.23	4.78 $\pm$ 0.35
模型组	15	4.65 $\pm$ 0.26	5.17 $\pm$ 0.16 *	5.67 $\pm$ 0.23 *
糖脂平组	12	4.66 $\pm$ 0.31	5.19 $\pm$ 0.19 *	5.32 $\pm$ 0.29 * Δ
罗格列酮组	13	4.68 $\pm$ 0.37	5.21 $\pm$ 0.18 *	5.29 $\pm$ 0.27 *

注:与对照组比较, * $P < 0.05$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$ 。

3.4 各组大鼠 TG、TC、LDL - c、HDL - c 的比较 结果见表 4。连续给药 8 周末,与对照组比较,模型组 TC、TG、LDL - c、FIns 均明显增高,HDL - c 明显降低($P < 0.05$);与模型组比较,糖脂平组、罗格列酮组的 TG、LDL - c 和 FIns 降低($P < 0.05$),而 TC 和 HDL - c 差异无统计学意义($P > 0.05$)。糖脂平组与罗格列酮组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),提示高脂饲料喂养后,大鼠出现较明显的脂代谢紊乱和高胰岛素血症,糖脂平可降低 TG、LDL - c 和 FIns,具有改善脂代谢紊乱和降低胰岛素水平的作用。

表 4 各组大鼠血脂和胰岛素的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	LDL - C (mmol/L)	HDL - C (mmol/L)	Fins ($\mu\text{IU}/\text{mL}$)
对照组	15	1.80 $\pm$ 0.18	0.59 $\pm$ 0.05	0.85 $\pm$ 0.09	1.35 $\pm$ 0.15	29.88 $\pm$ 5.34
模型组	15	2.23 $\pm$ 0.27 *	1.58 $\pm$ 0.15 * Δ	1.27 $\pm$ 0.08 * Δ	1.06 $\pm$ 0.11 *	69.69 $\pm$ 6.49 * Δ
糖脂平组	12	2.16 $\pm$ 0.21 *	1.21 $\pm$ 0.12 * Δ	1.02 $\pm$ 0.11 * Δ	1.13 $\pm$ 0.10 *	48.71 $\pm$ 5.97 * Δ
罗格列酮组	13	2.15 $\pm$ 0.17 *	1.26 $\pm$ 0.17 *	1.01 $\pm$ 0.09 *	1.08 $\pm$ 0.12 *	50.99 $\pm$ 6.43 *

注:与对照组比较, * $P < 0.05$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$ 。

4 讨论

胰岛素抵抗与脂质代谢密切相关^[3],是目前代谢综合征研究中的新热点。糖脂平是由桑白皮、鬼箭羽、黄连等中药组成,已应用于临床。现通过高脂饲料喂养复制 IR 的大鼠模型^[4],观察糖脂平对 IR 大鼠的体重影响及与 IR 有关的血生化指标——血糖、血脂、胰岛素等的变化,以探讨其作用机制。

大量流行病学调查和临床研究结果均表明,由胰岛素抵抗引发的 2 型糖尿病、肥胖症、高血压、冠心病和动脉粥样硬化等疾病的高发,与环境因素特别是目前人们的高脂饮食有关。随着人们生活方式、饮食结构的改变,日常膳食中以脂肪为代表的高能量食物成分所占比例明显增加,已成为 IR 综合征相关疾病发生的重要危险因素^[5]。高脂饮食诱导大鼠的 IR 十分类似于人类饮食因素导致的胰岛素抵抗,且高脂饮食诱

导的 IR 动物模型具有可靠、便捷、成本低等优点,近年来被人们广泛采用。在评价胰岛素抵抗的方法中,正常血糖高胰岛素钳夹技术(Euglycemic Hyperinsulin Clamp Technique, EICT)是由 Defronzo 等 1979 年创立,是目前国内外公认的评价 IR 的“金标准”,它以同时输入外源性胰岛素及葡萄糖的方法,阻断内源性葡萄糖-胰岛素反馈,避免了内源性胰岛素缺乏及低血糖对胰岛素敏感性测定的影响,适用于糖耐量正常、糖耐量低减及糖尿病患者群,具有准确定量和重复性好等优点。因而在本实验中,采用高脂膳食喂养法建立了 IR 大鼠模型,并应用钳夹技术来评价其胰岛素敏感性。罗格列酮是过氧化物酶体增殖激活受体 γ (Peroxisome Proliferator - Activated Receptor - γ , PPAR - γ) 的高选择性、强效激动剂,能通过提高靶组织对胰岛素的敏感性改善 IR,故本实验采用罗格列酮作为改善 IR

的阳性对照药。

我们通过大量 IR 患者临床资料分析,发现 IR 患者多伴有高血压、高血脂、肥胖及动脉硬化,约 1/3 以上患者伴有血管病变。导师认为胰岛素抵抗的发生与先天禀赋有关,又是后天饮食不节,嗜卧少动,忧思过度,精神紧张等多种因素共同作用的结果,结合现代医学病理机制之多种致病因素引起神经内分泌异常、体液代谢障碍,导致代谢产物堆积,内环境紊乱。导师提出痰瘀互阻是 IR 发生的核心病机,化痰活血是改善 IR 的基本治法,研制出具有化痰活血作用的糖脂平用于治疗痰瘀互阻型的糖尿病前期患者,获得了显著的疗效^[2]。方中桑白皮善于清热化痰,鬼箭羽长于活血通络,黄连能够解毒燥湿,3 味合用,共奏化痰活血、通络解毒之效,对改善痰瘀互阻型的胰岛素抵抗症状有明显的效果。汪宁等^[6]经过药理学研究发现,桑白皮有一定的降糖作用,可使培养液中的人肝癌细胞株(HpG₂)的葡萄糖消耗量增加,同时对胰岛素刺激的人肝癌细胞株葡萄糖消耗有增强作用。提示桑白皮具有促进外周组织特别是肝脏的葡萄糖代谢、提高肝细胞对胰岛素的敏感性、改善 IR 的作用;鬼箭羽能够降低血糖,有一定的调脂和抗氧化作用^[7],其改善 IR 的机制可能是通过改善受损伤的 β 细胞的功能,降低机体对胰岛素的拮抗性;从黄连中提取得到的小檗碱在降血糖和改善 IR 症状方面也有较多的研究报道,亦可以改善 IR^[8]。如此等等,都证明了中医药治疗具有多靶点效应,能针对 IR 发病机制的多个途径和环节发挥作用。这些研究都能为糖脂平改善 IR 提供一定的科学依据。

本实验结果显示,与对照组比较,模型组大鼠 M 值显著下降伴空腹胰岛素水平显著升高,说明出现了明显的高胰岛素血症,提示 IR 模型诱导成功。模型组

大鼠的体重增加,空腹血糖升高,血清 TG、TC、LDL - c 升高,HDL - c 降低,说明高脂饲养可使大鼠肥胖、糖脂代谢紊乱;与模型组比较,中药组 M 值明显升高,胰岛素水平下降,可以说明糖脂平具有增加胰岛素敏感性和改善 IR 的作用。中药组大鼠的体重增长缓慢,血糖降低,TG 和 LDL - c 降低,提示糖脂平能够抑制体重增长,且效果优于罗格列酮。糖脂平在降低血糖、降低 TG 和 LDL - c 水平上与罗格列酮药效相近。总体来说,本模型存在较明显的 IR、糖脂代谢紊乱,糖脂平能够减轻体重、纠正糖脂代谢紊乱、降低空腹胰岛素水平,具有增加胰岛素敏感性、改善 IR 的作用,有进一步深入研究的价值。

参考文献

- [1] 袁荣华,黄起壬,柯临慧. 胰岛素抵抗机制的研究现状和进展[J]. 九江学院学报:自然科学版,2010,25(4):109-111.
- [2] Gao YanBin, Zhou Hui, Zhao HuiLing, et al. Clinical research of traditional chinese medical intervention on impaired glucose tolerance[J]. Am J Chin Med, 2013, 41(1):21-32.
- [3] 张健,华琦,李静,等主编. 代谢综合征[M]. 北京:人民卫生出版社, 2003:117-137.
- [4] 李慧,张岩. 喂养型胰岛素抵抗动物模型的建立与评价[J]. 中国误诊学杂志,2003,3(10):1531-1532.
- [5] 唐远谋,陈祥贵,焦士蓉. 高脂饮食诱导的胰岛素抵抗研究进展[J]. 西华大学学报:自然科学版,2013,32(2):98-102.
- [6] 汪宁,朱荃,周义维,等. 桑枝、桑白皮体外降糖作用研究[J]. 中药药理与临床,2005,21(6):35-36.
- [7] Kim KW, Suh SJ. Effects on lipid peroxidation and antioxidative enzymes of *Euonymus alatus* in cultured rat hepatocytes[J]. Basic Clin Pharmacol Toxicol, 2009, 104(1):60-70.
- [8] Lv Xiao-yan, Li Jie, Zhang Ming, et al. Enhancement of sodium caprate on intestine absorption and antidiabetic action of berberine[J]. AAPS Pharm SciTech, 2010, 11(1):372-382.

(2013-10-23 收稿 责任编辑:王明)

(上接第 622 页)

- [14] Holmdahl LE, Al - Jabreen M, Risberg B, et al. Role of fibrinolysis in the formation of postoperative adhesions[J]. Wound Repair Regen, 1994, 2(3):171-176.
- [15] Hurwitz PJ, Weizblit J, Heller D. Experimental coating of flexor tendons with polyvinylpyrrolidone to reduce postoperative adhesions[J]. Plast Reconstr Surg, 1985, 76(5):798-799.
- [16] 郭效明,沈尊理. 屏障材料预防肌腱粘连的研究进展[J]. 现代生物医学进展杂志, 2011, 11(16):3179-3182.
- [17] Xu L, Cao D, Liu W, et al. In vivo engineering of a functional tendon sheath in a hen model[J]. Biomaterials, 2010, 31(14):3894-3902.
- [18] Riccio M, Battiston B, Pajardi g, et al. Efficiency of Hyaloglide in the pre-

vention of the recurrence of adhesions after tenolysis of flexor tendons in zone II: a randomized, controlled, multicentre clinical trial[J]. J Hand Surg(Eur Vol), 2010, 35(2):130-138.

- [19] 高鸣,赵红芳,田德虎,等. 人羊膜修复腱鞘缺损的实验研究[J]. 中国修复重建外科杂志, 2013, 27(3):335-339.
- [20] 李旭军,刘坤,汪春阳,等. 负载布洛芬的生物可吸收膜预防鸡肌腱粘连的实验研究[J]. 中华手外科杂志, 2013, 29(3):173-176.
- [21] Kessler I, Nissim F. Primary repair without immobilization of flexor tendon division within the digital sheath[J]. Acta Orthop Scand, 1969, 40(5):587-601.

(2013-06-08 收稿 责任编辑:王明)