

消膏转浊方对肥胖型非酒精性脂肪肝大鼠胰岛素抵抗的影响

董 柳¹ 陈 良¹ 李 敏¹ 赵 昱² 段 军³ 仝小林¹

(1. 中国中医科学院广安门医院内分泌科, 北京市宣武区北线阁 5 号, 100053; 2. 民航总医院; 3. 中日友好医院)

[摘 要] **目的** 观察消膏转浊方对肥胖型非酒精性脂肪肝大鼠胰岛素抵抗的影响。 **方法** 将 40 只 Wistar 大鼠随机分为 5 组。正常组以标准饲料喂养; 其余组大鼠饲以高脂饲料。8 周后, 消膏转浊方组以及罗格列酮组改为普通饲料喂养, 同时给予药物治疗。饮食控制组改为普通饲料喂养, 共 12 周。于禁食次日进行钳夹实验, 并计算葡萄糖输注率(GIR)。实时荧光定量 PCR 方法检测大鼠肝脏胰岛素受体(InsR)和胰岛素受体底物-2(IRS-2)的基因表达。 **结果** 与模型组比较, 消膏转浊方组与罗格列酮组均能够显著提高肥胖型非酒精性脂肪肝大鼠的 GIR($P < 0.01$), 其 InsR mRNA、IRS-2 mRNA 的表达均显著高于模型组($P < 0.01$)。 **结论** 消膏转浊方通过增加肝脏组织 InsR 以及 IRS-2 的表达来改善胰岛素抵抗状态。

[关键词] 胰岛素抵抗; 肥胖; 非酒精性脂肪肝; 消膏转浊方; 钳夹实验

Effect of Xiaogao Zhuanzhuo Formula on the Insulin Resistance of Rats with Obese Non-alcoholic Fatty Liver

DONG Liu¹, CHEN Liang¹, LI Min¹, ZHAO Yu², DUAN Jun³, TONG Xiaolin¹

(1. Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences; 2. Civil Aviation General Hospital; 3. China-Japan Friendship Hospital)

ABSTRACT **Objective** To observe the effect of Xiaogao Zhuanzhuo Formula (Herbal formula for dissolving fat) on the insulin resistance of rats with obese non-alcoholic fatty liver. **Methods** Forty Wistar rats were randomized into 5 groups. The normal group was fed with standard feed and the rest were with high fat feed. Eight weeks later, the Xiaogao Zhuanzhuo Formula group and Rosiglitazone group were fed with ordinary feed and treated with the corresponding medicine. The food control group was fed with ordinary feed for 12 weeks. On the following day of fasting, clamp experiment was conducted and glucose infusion rate (GIR) was calculated. The expression of liver tissue insulin receptor (InsR) and its substrate-2 (IRS-2) was determined with the real-time fluorescence quantitative PCR detection method. **Results** Compared with those in the model group, GIR was increased significantly ($P < 0.01$) and the expression of InsR mRNA and IRS-2 mRNA was significantly higher ($P < 0.01$) in both Xiaogao Zhuanzhuo Formula group and Rosiglitazone group. **Conclusion** Xiaogao Zhuanzhuo Formula improves the state of insulin resistance through increasing the expression of InsR and IRS-2 of liver tissues of rats.

Key Words Insulin resistance; Obesity; Non-alcoholic fatty liver; Xiaogao Zhuanzhuo Formula (Herbal formula for dissolving fat); Clamp experiment

肥胖型非酒精性脂肪肝前期主要病因是肥胖, 肥胖是非酒精性脂肪肝(NAFL)、2 型糖尿病、血脂异常、高血压病、冠心病等诸多疾病的基础, 乃一因多病^[1]。从治疗肥胖入手可使防治重心前移, 体现了从源头控制, “未病先防、既病防变”的思想。现代研究表明, 胰岛素信号转导通路是一个完整的系统, 此通路上任一因素改变都可能导致胰岛素抵抗(IR)。本实验将从钳夹实验以及肝脏胰岛素受体(InsR)和胰岛素受体底物-2(IRS-2)的基因表达来探讨消膏转浊方对 IR 的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

消膏转浊方由生山楂 30g、红曲 6g 组成, 由中日友好医院药学部提供。罗格列酮片由葛兰素史克公司生产, 批号: 05040062。微电脑数字式微量注射泵(德国

贝朗医疗有限公司产品), 快速葡萄糖分析仪(德国内卡公司)。

1.2 动物分组与处理

Wistar 雄性 SPF 级大鼠 40 只、体重 180~220g, 购自北京维通利华实验动物中心[SCXK(京) 2005-2006]。大鼠适应性喂养 1 周后, 按随机数字表法分为 5 组, 正常组、模型组、消膏转浊方组、罗格列酮组、饮食控制组, 每组 8 只。同时自实验开始起, 正常组标准饲料喂养; 其余组大鼠每天饲以高脂饲料(即标准饲料的基础上加 14%猪油、1%胆固醇)。消膏转浊方组 8 周后改为普通饲料, 同时以消膏转浊方灌胃 4 周治疗, 剂量为成人剂量 10 倍量(浓度为 1.8g 生药/ml, 灌胃量为 6.44ml/kg); 罗格列酮组 8 周后改为普通饲料, 同时给予罗格列酮 18mg·kg⁻¹灌胃, 浓度为 0.75mg/ml, 灌胃量为 4ml/kg 治疗 4 周; 饮食控制组 8 周后改为

普通饲料,不用药物治疗。以上所有动物均每周测 1 次体重及进食量。给药 4 周后禁食 12h,于次日进行钳夹实验。

1.3 检测指标及方法

通过钳夹实验^[2]计算葡萄糖输注率(GIR),评价 IR 程度;实时荧光定量 PCR 方法检测大鼠 InsR 和 IRS-2 的基因表达。引物设计:根据美国基因生物库(genebank)提供基因核酸序列,选取 G+C 含量约 50%的无发卡结构,相互间无同源序列两段特异性保守序列,设计引物如下:Beta-actin-FP: 5'-GAGAC-CTTCAACACCCCAGCC-3', Beta-actin-RP: 5'-AAT-GTCACGCACGATTTCCC-3',扩增片段为 263bp;InsR-FP: 5'-TCTGGGTAGAGTCCCGATAA-3', InsR-RP: 5'-ACAGCGAGGAGAACAAGG-3',扩增片段为 349bp; IRS-2-FP: 5'-AAAACCCAAGCCAAACT-3', IRS-2-RP: 5'-GATCACATGCTGACCTCC-3',扩增片段为 401bp。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计软件处理,计量数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较用单因素方差分析,组间两两比较用最小显著差法(LSD)。

2 结果

2.1 各组大鼠空腹血糖、胰岛素及 GIR 比较

表 1 示,模型组空腹血糖有上升的趋势,但各组之间无统计学意义。与正常组比较,模型组与饮食控制组空腹胰岛素含量显著上升($P < 0.015$ 或 $P < 0.01$), GIR 显著降低($P < 0.01$),提示模型组与饮食控制组存在明显的 IR;与模型组比较,消膏转浊方组与罗格列酮组血清空腹胰岛素含量均显著降低、GIR 显著提高($P < 0.01$),表明消膏转浊方和罗格列酮均能显著增加大鼠胰岛素敏感性。与饮食控制组比较,消膏转浊方组与罗格列酮组空腹胰岛素和 GIR 也具有统计学差异($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

表 1 各组大鼠空腹血糖、空腹胰岛素及 GIR 比较($\bar{x} \pm s$)				
组别	鼠数	空腹血糖 (mmol/L)	空腹胰岛素 (mmol/L)	GIR (mg·kg ⁻¹ ·min ⁻¹)
正常组	8	4.21±0.29	0.96±0.59★★	16.14±1.12★★
模型组	8	5.22±0.52	3.01±1.21**	11.23±1.12**
饮食控制组	8	4.59±0.72	1.89±0.72*	11.96±0.90**
罗格列酮组	8	4.61±0.81	1.15±0.68★★	15.58±2.43★★★
消膏转浊方组	8	4.79±0.34	1.22±0.55★★	15.71±1.57★★★

注:与正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较,▲ $P < 0.01$;与饮食控制组比较,★ $P < 0.05$,★★ $P < 0.01$

2.2 各组大鼠肝脏组织中 InsR 及 IRS-2 基因 mRNA 的表达比较

表 2 示,模型组 InsR mRNA 以及 IRS-2 mRNA

表达显著低于正常组($P < 0.01$);饮食控制组 InsR mRNA 表达显著低于正常组($P < 0.01$);与模型组比较,消膏转浊方组与罗格列酮组 InsR mRNA 以及 IRS-2 mRNA 的表达显著增强($P < 0.01$);与饮食控制组比较,消膏转浊方组和罗格列酮 InsR mRNA 以及 IRS-2 mRNA 的表达显著增强($P < 0.01$)。

表 2 各组大鼠肝脏 InsR/ β actin 以及 IRS-2/ β actin CT 比值比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	InsR/ β actin	IRS-2/ β actin
正常组	8	1.15±0.07▲▲▲	1.26±0.04▲▲▲
模型组	8	1.60±0.09**	1.45±0.07**
饮食控制组	8	1.48±0.26**	1.34±0.06*▲
罗格列酮组	8	1.20±0.06▲▲▲	1.27±0.04▲▲▲
消膏转浊方组	8	1.25±0.03▲▲▲	1.27±0.06▲▲▲

注:与正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较,▲ $P < 0.05$,▲▲ $P < 0.01$;与饮食控制组比较,★ $P < 0.01$

3 讨论

IR 分为受体前、受体及受体后抵抗。胰岛素一旦结合于胰岛素受体,激活细胞内的信号转导通路,胰岛素受体底物(IRS)对胰岛素信号转导及胰岛素的代谢功能起重要作用^[2]。IR 可能是多种疾病的共同发病基础和共同的危险因素。关于 NAFL 发生 IR 的机制可能与以下因素有关^[3]:①发生 NAFL 时肝内脂肪储存过多,肝内脂肪堆积。血脂代谢紊乱导致细胞膜结构、功能异常,肝细胞表面胰岛素受体数目减少且出现受体缺陷,从而使肝细胞对胰岛素的敏感性、反应性降低。②人体发生 NAFL 时,对抗胰岛素的物质游离脂肪酸增加,机体为维持血糖正常水平导致胰岛素过多分泌。③NAFL 时长期明显增高的 TG 与葡萄糖竞争进入肝细胞内造成了 IR,高甘油三酯血症通过 FFA 干扰了胰岛素在周围组织中与受体的结合。以上因素综合作用造成了 NAFL 患者发生 IR,IR 又通过上述机制诱发 NAFL。肝脏脂肪储积导致胰岛素清除率下降,形成脂肪储积和 IR 的恶性循环^[4]。

《黄帝内经》最早记载了肥胖病,肥胖病者被分为脂人、膏人、肉人等 3 种类型。膏人特点为“纵腹垂腴”、“皮缓”、“肉不坚”,表现为形体肥胖,纵腹垂腴,且皮肤纵缓,肉不坚,质地绵软,其肥胖当属脂肪之肥,脂肪主要分布于腹部,故有“大腹垂腴”之象,与近代医学的腹型肥胖相同。肥胖型 NAFL 的核心病机,肥胖是其前期主要病因。病机多为肝脾气郁,中焦气滞,木郁土壅,致津液失调,聚湿成痰,痰湿浊化,酿脂为膏,异位沉积于肝内,阻滞肝络,而成脂肪肝。病程日久,膏脂痰浊与气滞并见,气血运行不畅,而瘀血内生,痰瘀交阻,积结肝内,久而化毒。故立法为消膏、转浊、祛瘀、排毒,方以

消膏转浊方治之。通过长期临床观察,初步发现该方具有减轻脂肪肝程度、降低血脂的作用。

钳夹实验显示高脂饮食大鼠存在明显的 IR, 尽管空腹血糖水平与普通饮食相似, 但血清胰岛素水平已明显升高表明胰岛素的生物作用已受损。消膏转浊方可以提高 GIR, 降低血清胰岛素含量, 改善 IR 状态。消膏转浊方在胰岛素信号传导通路上, 是通过增强肝细胞胰岛素受体和 IRS-2 基因的表达, 作用于受体及受体后两方面, 来改善胰岛素抵抗。总之, 该方能够通过改善肥胖大鼠 IR 状态来改善 NAFL 的病变, 但本研究为中药复方研究, 缺少单味药的药理及药效以及复方中药物之间剂量配比研究, 有待进一步完善。

参考文献

- [1]董柳, 仝小林. 从“治未病”探讨糖尿病合并脂肪肝的诊疗思路[J]. 新中医, 2007, 39(2): 1-2.
- [2]Cusi K, Maezono K, Osman A, et al. Insulin resistance differentially affects the PI 3-kinase- and MAP kinase-mediated signaling in human muscle[J]. J Clin Invest, 2000, 105(3): 311-320.
- [3]魏良洲, 杨正武. 瘦素、胰岛素在非酒精性脂肪肝发病中的作用[J]. 临床肝胆病杂志, 2006, 22(1): 71-73.
- [4]Choudhury J, Sanyal AJ. Insulin resistance and the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease[J]. Clin Liver Dis, 2004, 8(3): 575-594.
- (收稿日期: 2009-10-20; 修回日期: 2010-04-29)
- [编辑: 行 之]

中西医结合治疗宫腔粘连性不孕症 38 例

许雪梅 宋晓光

(河南省中医院, 郑州市东风路 6 号, 450002)

近年来, 伴随人工流产术的增加, 宫腔粘连致继发不孕症的发病率逐渐升高。我们采用中西医结合方法治疗宫腔粘连性不孕症患者 38 例, 现报告如下。

1 一般资料

76 例均为 2006 年 5 月~2008 年 10 月来我院妇科门诊就诊的患者。患者排除卵巢性因素、输卵管性因素、免疫性因素及男性因素所致的不孕症, 经子宫输卵管碘油造影和宫腔镜检查确诊, 均有宫腔及宫颈手术操作史。其中轻度粘连 48 例, 中度粘连 22 例, 重度粘连 6 例; 宫颈操作 1 次 53 例, 宫颈操作 2 次 19 例, 宫颈操作 3 次以上者 4 例; 年龄 26~34 岁, 平均年龄 28.2 岁。随后将患者随机分为对照组、治疗组各 38 例, 两组年龄、粘连分级、宫腔操作次数无统计学差异 ($P > 0.05$), 具有可比性。

2 治疗方法

两组患者均在 B 超监测宫腔镜下行宫腔粘连分解术。术后放置宫内节育器, 并于术后第 1 天给予补佳乐 3mg, 每日 3 次, 连服 21 天, 术后第 16 天给予黄体酮胶囊 200mg, 每日 1 次, 连服 5 天, 共用药 3 个月。治疗组在术后加服中药自拟保宫汤。方药组成: 鹿角胶 24g、龟甲胶 24g、巴戟天 10g、肉苁蓉 10g、菟丝子 15g、山茱萸 15g、熟地黄 20g、枸杞子 10g、当归 10g、丹参 30g、香附 20g、红藤 10g。随证加减: 肝郁肾虚加郁金、合欢皮; 肾阳虚加附子; 肾阴虚加墨旱莲; 痰湿阻滞去枸杞子、山茱萸、熟地黄加苍术、半夏、茯苓; 气滞血瘀加川芎、红花。术后 3 个月取出节育器, 3 个月为 1 个疗程, 共治疗 2 个疗程, 并随访 2 年。

3 结果

3.1 疗效标准

根据《中医妇科学》^[1]相关内容制定。治愈: 在 2 年内受孕; 好转: 虽未受孕, 但与本病有关的症状、体征及实验室检查有改善; 无效: 未达到受孕。

3.2 结果

治疗组轻度粘连患者 24 例, 妊娠 21 例, 妊娠率为 87.5%; 其中足月妊娠 17 例, 足月妊娠率 70.8%; 流产 4 例, 流产率 16.7%。中度粘连患者 11 例, 妊娠 8 例, 妊娠率 72.7%; 其中足月妊娠 7 例, 足月妊娠率为 63.6%; 流产 1 例, 流产率 9.1%。重度粘连患者 6 例, 妊娠 0 例, 妊娠率 0。对照组轻度粘连患者 22 例, 妊娠 17 例, 妊娠率 76.3%; 其中足月妊娠 15 例, 足月妊娠率 68.2%; 流产 2 例, 流产率 13.6%。中度粘连患者 11 例, 妊娠 6 人, 妊娠率 54.5%; 其中足月妊娠 5 例, 足月妊娠率 45.5%; 流产 1 例, 流产率 9.1%。重度粘连患者 6 例, 妊娠 0 例, 妊娠率 0。两组比较, 妊娠率有统计学差异 ($P < 0.05$)。

4 讨论

现代医学认为, 宫腔粘连是由于宫腔炎症而形成的子宫内 膜形态及功能变化^[2], 使宫腔部分或全部封闭以致不孕。属中医学的“月经病”、“不孕症”范畴。我们认为, 本病是由于手术损伤胞宫胞脉, 肾精不足, 冲任亏虚, 肝郁气滞或邪毒感染致胞脉 闭阻而致不孕。方中鹿角胶、龟甲胶二药善通督任, 峻补肾阴肾 阳, 有助阳而不刚燥, 益阴而不寒腻之妙; 巴戟天、肉苁蓉、菟丝 子温养奇脉, 温而不伤阴; 山茱萸、熟地黄、枸杞子补肾填精; 当 归、丹参、香附养血活血, 疏肝开郁; 红藤清热解毒, 化瘀散结。 诸药合用, 补肾养血活血, 使精充血足, 冲任调达, 经候如期, 胎 孕自成。本研究结果表明, 中西医结合治疗宫腔粘连所导致的 不孕症效果优于单纯西医治疗。

参考文献

- [1]张玉珍. 中医妇科学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2002: 322.
- [2]徐增祥, 史常旭. 现代妇产科治疗学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2003: 278.