

糖脂平颗粒对糖尿病胰岛素抵抗大鼠胰岛素样生长因子 1 和内皮素的影响

金智生^{1*} 杨丽霞² 罗文蓉² 楚惠媛¹ 董翠珍¹ 郝红¹

(1. 甘肃中医学院, 甘肃省兰州市定西东路 35 号, 730000; 2. 甘肃省中医院)

基金项目: 2006 年度教育部科学技术研究重点资助项目(206150);

甘肃省科技支撑计划资助项目(0708NKCA127)

* 通讯作者: jzsgszy@126.com, (0931)8765475

[摘要] 目的 探讨糖脂平颗粒对糖尿病胰岛素抵抗大鼠胰岛素样生长因子 1(IGF-1)和内皮素(ET)的影响。方法 Wistar 大鼠 90 只随机选取 8 只为正常对照组,其余大鼠采用高脂高糖饲料联合注射链脲佐菌素诱导糖尿病胰岛素抵抗大鼠模型。选取造模成功大鼠 32 只,随机分为模型组、糖脉康颗粒组、糖脂平大剂量组、糖脂平小剂量组,每组 8 只。正常对照组和模型组给予等体积生理盐水,各给药组每日分别给予糖脉康颗粒(1.35 g/kg)、糖脂平颗粒大剂量(2.7 g/kg)、糖脂平颗粒小剂量(1.35 g/kg),每天灌胃 1 次,连续 4 周。检测各组大鼠体重、血糖、血清胰岛素(INS)、IGF-1 及 ET,并计算胰岛素敏感性指数(ISI)。结果 各给药组与模型组比较,体重、血糖、INS 及 ET 均降低,ISI 和 IGF-1 均升高,差异具有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论 糖脂平颗粒可降低糖尿病胰岛素抵抗大鼠体重、血糖、INS 和 ET,同时升高 ISI 值和 IGF-1,从而改善了糖尿病模型大鼠的胰岛素抵抗。

[关键词] 糖脂平颗粒; 2 型糖尿病; 胰岛素抵抗; 胰岛素样生长因子 1; 内皮素

Effect of Tangzhiping Granules on Insulin-Like Growth Factor-1 and Endothelin in Diabetic Rats with Insulin Resistance

JIN Zhisheng¹, YANG Lixia², LUO Wenrong², CHU Huiyuan¹, DONG Cuizhen¹, GAO Hong¹

(1. Gansu College of Traditional Chinese Medicine, Gansu Province 730000; 2. Gansu Province Hospital of Traditional Chinese Medicine)

ABSTRACT **Objective** To observe the effect and mechanism of Tangzhiping Granules (TZPG) for diabetic rats with insulin resistance (IR). **Methods** Eight rats among ninety Wistar rats of specific-pathogen free (SPF) grade were selected randomly as the normal control group and 82 diabetic rat models with IR were induced by a high fat, high sugar diet and injection of streptozotocin (STZ). Thirty-two successful modeling rats were randomized into the model group, Tangmaikang Granules (TMKG) group, high-dose TZPG group, low-dose TZPG group, with 8 in each. The same volume of saline was given to the normal control group and model group respectively. The other groups were given intragastric administration of 1.35 g/kg TMKG, 2.7 g/kg TZPG and 1.35 g/kg TZPG once daily for 4 weeks respectively. The body weight, blood glucose (BG), serum insulin (INS), insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and endothelin (ET) were detected and the insulin sensitivity index (ISI) was calculated. **Results** Comparing with the model group, BG, INS and ET were significantly decreased, but ISI and IGF-1 were significantly increased in the TMKG group, high-dose TZPG group and low-dose TZPG group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion** TZPG can reduce the body weight, BG, INS and ET, increase ISI and IGF-1 and improve the IR in diabetic rats. **Keywords** Tangzhiping Granules; type 2 diabetes mellitus; insulin resistance; insulin-like growth factor-1; endothelin

胰岛素抵抗(IR)是 2 型糖尿病(T2DM)、动脉粥样硬化、肥胖、代谢综合征等疾病的核心病理生理学异常^[1]。改善 IR 对 T2DM 的防治有着重大的意义。糖脂平颗粒具有益肾健脾、气阴并补、化痰祛瘀、益脑明目之功。研究表明,方中主要药物红芪和六味地黄丸均能降低糖尿病 IR 大鼠模型血糖、减低 IR 作用^[2-3];糖脂平颗粒对 T2DM IR 大鼠血脂及游离脂肪酸有调节作用^[4]。本研究旨在观察糖脂平颗粒对糖尿病 IR 模型大鼠胰岛素样生长因子 1(IGF-1)和内皮素(ET)的影响,探讨其防治 T2DM

IR 的作用机制,为临床应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF 级 Wistar 大鼠 90 只,雌雄各半,体重(200 ± 20)g,由甘肃中医学院 SPF 级动物实验中心提供,合格证号:SCXK(甘)2004-0006。

1.2 药物及试剂

糖脂平颗粒(由熟地黄、山药、山萸肉、茯苓、泽泻、牡丹皮、红芪、西洋参、水蛭、僵蚕、羌活子组成),每袋 5 g,每克相当于生药 2.61 g,批号:20081028,

由甘肃中医学院和甘肃省中医院联合研制。糖脉康颗粒:成都中汇制药有限公司生产,批号:080811,每袋 5 g。链脲佐菌素(STZ):Sigma 公司提供,批号:S8050。血糖试纸(稳豪型):LifeScanIncUSA 公司提供。胰岛素(INS)放射免疫分析试剂盒:北京普尔伟生物科技有限公司提供,批号:20081201。大鼠 IGF-1 ELISA 检测试剂盒:上海史瑞可生物技术有限公司提供,批号:20080725。ET 放射免疫分析药盒:北京福瑞生物技术有限公司提供,批号:20080705。高脂高糖饲料:北京科澳协力饲料有限公司提供,批号:0806210。

1.3 主要仪器

721 分光光度计(VIS-7220,北京第二光学仪器厂),低速离心机(KDC-2044,北京医疗仪器厂),放射免疫计数器(FT-630G,北京核仪器厂),电热恒温水浴锅(H. H. S21-4,上海医疗器械五厂),酶标仪(WellScanMK2,美国大龙公司),ONE TOUCH Ultra TM 血糖仪(AW06156202B,美国强生生理康公司)。

1.4 模型建立

基础饲料适应性喂养 1 周后,将 90 只大鼠按体重编号,以随机数字表法选取 8 只为正常对照组,全程普通饲料喂养。其余大鼠参照文献[4-5]方法建立 T2DM IR 模型、分组及给药,以高脂高糖饲料(其中含 10.0% 猪油,15.0% 蔗糖,8.0% 蛋黄粉,67.0% 基础饲料)喂养 5 周,第 6 周末以低剂量(40 mg/kg)STZ(溶于 0.1 mmol/L 柠檬酸缓冲液, pH=4.4)一次性左侧下腹部注射,诱发胰岛素分泌障碍,产生高血糖症,高脂高糖饲料继续喂养 2 周,第 8 周末,大鼠禁食 12 h 后,按 2 g/kg 体重 20% 葡萄糖溶液灌胃,做口服糖耐量试验,0、120 min 血糖分别为 ≥ 7.8 mmol/L 和 11.0 mmol/L 的大鼠为造模成功^[6]。选择造模成功的大鼠 32 只,按体重编号并以随机数字表法分为模型组、糖脉康颗粒组、糖脂平大剂量组、糖脂平小剂量组,每组 8 只,各组大鼠继续喂以高脂高糖饲料。正常对照组、模型组每日

灌胃等体积生理盐水;糖脉康颗粒组每日灌胃糖脉康颗粒(1.35 g/kg);糖脂平大、小剂量组分别每日灌胃糖脂平颗粒 2.7 g/kg、1.35 g/kg。每天灌胃 1 次,连续 4 周。

1.5 实验标本采集

第 12 周末,各组大鼠均禁食不禁水 12 h,尾静脉取血测血糖后,腹腔注射 2% 戊巴比妥钠 40 mg/kg 麻醉,行股动脉取血后处死大鼠。将血液分成两部分,一部分血液迅速加入装有 40 000 U/ml 抑肽酶 20 μ l 的冰冷试管中混匀,以 3 500 r/min 离心 10 min,分离血浆, -20℃ 保存备用。另一部分血液 37℃ 静置,使其充分凝固,然后置 4℃ 过夜,以 1 500 r/min 离心 30 min,吸取上部清亮的血清于 -20℃ 保存。

1.6 观测指标及检测方法

于给药前后测量大鼠体重;空腹血糖(FBG)采用血糖仪和试纸测定;INS、ET 采用放射免疫分析试剂盒测定,按照试剂盒说明书操作;IGF-1 按照 ELISA 试剂盒说明书操作,酶标仪检测。计算胰岛素敏感性指数(ISI, $\ln[1/INS \times FBG]$)。

1.7 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计软件处理。所有数据采用 ($\bar{x} \pm s$) 表示。组间均数比较采用单因素方差分析及配对 *t* 检验。

2 结果

2.1 各组大鼠给药前后体重、FBG 比较

表 1 示,给药前后模型组体重及 FBG 与正常对照组比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。给药后各给药组与模型组比较体重、FBG 均降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);糖脂平大剂量组与糖脂平小剂量组、糖脉康颗粒组比较血糖降低,差异有统计学意义($P < 0.01$)。各给药组治疗后与治疗前比较血糖降低,差异有统计学意义($P < 0.01$)。

2.2 各组大鼠血清 INS 及 ISI 比较

表 2 示,模型组与正常对照组比较大鼠血清

表 1 各组大鼠给药前后体重、FBG 比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	体重(g)		FBG(mmol/L)	
		给药前	给药后	给药前	给药后
正常对照组	8	231.6 $\pm$ 7.8	236.5 $\pm$ 3.9	5.9 $\pm$ 0.2	6.2 $\pm$ 0.2
模型组	8	255.3 $\pm$ 4.5*	272.8 $\pm$ 2.1*	30.1 $\pm$ 1.3*	28.3 $\pm$ 0.5*
糖脉康颗粒组	8	259.6 $\pm$ 5.1	248.5 $\pm$ 1.9 Δ	30.5 $\pm$ 1.2	20.1 $\pm$ 0.6 Δ ▲
糖脂平大剂量组	8	256.8 $\pm$ 3.7	243.3 $\pm$ 3.3 Δ	30.6 $\pm$ 1.7	15.1 $\pm$ 0.4 Δ ■
糖脂平小剂量组	8	257.6 $\pm$ 6.1	247.3 $\pm$ 3.4 Δ	30.9 $\pm$ 1.2	20.2 $\pm$ 0.5 Δ ▲

注:与正常对照组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$;与糖脂平大剂量组比较,▲ $P < 0.01$;与本组给药前比较,■ $P < 0.01$

INS 升高,ISI 值降低($P<0.01$)。各给药组与模型组比较 INS 均下降,血清 ISI 值均升高($P<0.01$)。糖脂平大剂量组与小剂量组、糖脉康颗粒组比较,大鼠血清 INS 降低,ISI 值升高更为明显($P<0.01$)。

表 2 各组大鼠 INS 及 ISI 比较($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	INS(mIU/L)	ISI
正常对照组	8	1.1613 $\pm$ 0.0419	0.1438 $\pm$ 0.0019
模型组	8	2.2500 $\pm$ 0.0370*	0.0155 $\pm$ 0.0009*
糖脉康颗粒组	8	1.7913 $\pm$ 0.0253 Δ	0.0275 $\pm$ 0.0011 Δ
糖脂平大剂量组	8	1.4038 $\pm$ 0.0262 Δ	0.0474 $\pm$ 0.0015 Δ
糖脂平小剂量组	8	1.8013 $\pm$ 0.0230 Δ	0.0280 $\pm$ 0.0009 Δ

注:与正常对照组比较,* $P<0.01$;与模型组比较, $\Delta P<0.01$;与糖脂平大剂量组比较, $\Delta P<0.01$

2.3 各组大鼠 IGF-1 及 ET 比较

表 3 示,模型组与正常对照组比较,IGF-1 降低,ET 升高,差异均有统计学意义($P<0.01$)。各给药组与模型组比较,IGF-1 升高,ET 降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。糖脂平大剂量组与糖脂平小剂量组、糖脉康颗粒组比较,IGF-1 升高,ET 降低,差异均有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

表 3 各组大鼠 IGF-1 及 ET 比较(pg/ml, $\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	IGF-1	ET
正常对照组	8	5.35 $\pm$ 1.04	49.70 $\pm$ 2.77
模型组	8	1.80 $\pm$ 0.24*	132.28 $\pm$ 3.68*
糖脉康颗粒组	8	2.62 $\pm$ 0.39 Δ	115.08 $\pm$ 3.06 Δ
糖脂平大剂量组	8	3.84 $\pm$ 0.76 Δ	107.98 $\pm$ 2.52 Δ
糖脂平小剂量组	8	2.61 $\pm$ 0.37 Δ	112.91 $\pm$ 2.22 Δ

注:与正常对照组比较,* $P<0.01$;与模型组比较, $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$;与糖脉康颗粒组比较, $\Delta P<0.01$;与糖脂平大剂量组比较, $\# P<0.05$, $\#\# P<0.01$

3 讨论

T2DM IR 患者往往具有肥胖、高血糖伴有高血脂、高胰岛素血症等特征。研究表明,高脂饲料喂养可以引起大鼠广泛的 IR 并引起体重增加,小剂量多次注射 STZ 造成胰岛 B 细胞轻度损伤,可以建立 T2DM IR 大鼠模型^[7],该模型具有人类 T2DM IR 的特征。

IGF-1 是由垂体分泌的生长激素(GH)作用于肝脏合成并分泌,其可通过 GH/IGF-1 轴负反馈调节生长激素的水平^[8]。在糖尿病发病过程中,生长激素的过度分泌可能是导致胰岛素敏感性下降的重要原因之一^[9]。IGF-1 能抑制 GH 和胰岛素的分泌,降低高胰岛素血症,提高胰岛素和胰岛素受体后敏感性,改善 IR。T2DM IR 患者长期高胰岛素、高血糖状态可致血管内皮损伤和功能受损。ET 含量

增加是血管内皮损伤的标志,高胰岛素血症可刺激 ET 的释放,而内皮损伤可能影响胰岛素与其受体结合^[10],加重 IR。因此血管内皮功能障碍、ET 释放与 IR 正相关,而 IGF-1 分泌与 IR 负相关。

糖脂平颗粒是在六味地黄丸基础上,加红芪、西洋参、水蛭、僵蚕、茺蔚子组成的复方制剂,主要功用是养阴益气、化痰通络,临床用于糖尿病及慢性并发症或伴有 IR 所致的患者。六味地黄丸滋阴补肾,研究表明,该药能降低模型大鼠血糖,改善脂代谢,提高胰岛素敏感性^[3]。红芪补气固表,敛疮生肌。红芪所含红芪多糖能显著改善模型大鼠血糖、血脂,并有保护肾脏组织的作用。水蛭破血逐瘀,对糖尿病性神经病变有一定治疗作用。茺蔚子活血调经,清肝明目,僵蚕祛风定惊,化痰散结。纵观本方,切合糖尿病及慢性并发症病机。

参考文献

- [1]侯文芳,王海宁,洪天配,白介素 18 与胰岛素抵抗[J]. 中国糖尿病杂志,2012,20(2):158—159.
- [2]金智生,李娟娥,张东鹏,等.红芪多糖对改善 2 型糖尿病模型大鼠胰岛素抵抗的影响[J]. 中国中医药信息杂志,2007,14(5):27—28.
- [3]金智生,杨世勤,潘宇清,等.六味地黄丸对实验性糖尿病大鼠胰岛素敏感性影响[J]. 甘肃中医学院学报,2008,25(2):9—11.
- [4]金智生,汝亚琴,楚慧媛,等.糖脂平颗粒对糖尿病胰岛素抵抗大鼠血脂及游离脂肪酸的影响[J]. 中国中西医结合杂志,2010,30(9):938—940.
- [5]郭洁文,潘竞强,邱光清,等.荔枝核增强 2 型糖尿病胰岛素抵抗大鼠胰岛素敏感性作用[J]. 中国新药杂志,2003,12(7):526—529.
- [6]赵宝珍,白秀平,荣青峰.实验性 2 型糖尿病大鼠模型的研究[J]. 中国药物与临床,2002,2(6):383—384.
- [7]田爱平,郭赛珊,申竹芳.高脂饲料与胰岛素抵抗动物模型[J]. 中国药理学通报,2006,22(3):267—269.
- [8]蔡文就,熊曼琪,朱章志,等.实验性 NIDDM 大鼠模型及其胰岛素抵抗的初步研究[J]. 广州中医药大学学报,1997,14(2):87—91.
- [9]Grottoli S,Gasco V,Mainolfi A,et al. Growth hormone/insulin-like growth factor I axis, glucose metabolism, and lipolysis but not leptin show some degree of refractoriness to short-term fasting in acromegaly[J]. J Endocrinol Invest,2008,31(12):1103—1109.
- [10]Yakar S,Setser J,Zhao H, et al. Inhibition of growth hormone action improves insulin sensitivity in liver, IGF-I deficient mice[J]. J Clin Invest,2004,113(1):96—105.

(收稿日期:2012—06—08;修回日期:2012—12—01)

[编辑:洪 涛]