

黄金胶囊改善糖尿病大鼠胰岛素抵抗与 PI-3K, GLUT4 蛋白的表达

康学东¹, 党晓娟^{2*}, 余臣祖²

(1. 甘肃中医药大学附属医院, 兰州 730020; 2. 甘肃中医药大学, 兰州 730000)

[摘要] **目的:**研究黄金胶囊对糖尿病(DM)大鼠磷脂酰肌醇 3 激酶(PI-3K),葡萄糖转运因子 4(GLUT4)在肝脏及骨骼肌组织中的蛋白表达,并探讨其改善大鼠血糖的可能机制。**方法:**SPF 级雄性 Wistar 大鼠 65 只,血糖在 4.77~7.77 mmol·L⁻¹ 的大鼠入选,入选大鼠 60 只,正常组 12 只外,其余大鼠采用高脂饲料喂养联合小剂量链脲佐菌素 ip 的方法,建立 DM 大鼠模型。将造模成功大鼠随机分为黄金胶囊组(2.025 g·kg⁻¹),罗格列酮组(0.36 mg·kg⁻¹),模型组,继续高脂饲料喂养,并予以相应药物 ig 治疗 10 周,其中模型组与正常组均予以生理盐水 ig,观察大鼠一般状态,体重及摄食量,干预 10 周后,予 10% 水合氯醛麻醉大鼠,检测大鼠空腹血糖(FBG),空腹胰岛素(FINS)及胰岛素敏感指数(ISI)。采用苏木素-伊红(HE)检测各组大鼠肝脏、骨骼肌组织的病理改变及免疫组化检测 PI-3K 和 GLUT4 蛋白的表达。**结果:**与正常组比较,模型组 DM 大鼠 FBG, FINS 水平明显升高, ISI 水平明显降低,肝脏及骨骼肌组织中 PI-3K, GLUT4 蛋白表达明显降低($P < 0.05$),病理学检测发现大鼠肝脏、骨骼肌组织的病变较为明显;与模型组比较,药物干预后,黄金胶囊组与罗格列酮组均可降低 DM 大鼠的 FBG, FINS 水平,提高 ISI 水平,明显升高肝脏及骨骼肌组织中 PI-3K, GLUT4 蛋白表达($P < 0.05$),大鼠肝脏、骨骼肌组织的病变明显改善。**结论:**黄金胶囊提高胰岛素敏感性的作用,与激活肝脏及骨骼肌组织胰岛素信号传导通路中 PI-3K 和 GLUT4 的蛋白表达有关。

[关键词] 黄金胶囊; 糖尿病大鼠模型; 磷脂酰肌醇 3 激酶; 葡萄糖转运子 4; 胰岛素抵抗

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)23-0133-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016230133

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160906.0921.040.html>

[网络出版时间] 2016-09-06 9:21

Effect of Huangjin Capsule in Alleviating Insulin Resistance and Protein Expression of PI-3K and GLUT4 in Type 2 Diabetic Rats

KANG Xue-dong¹, DANG Xiao-juan^{2*}, YU Cheng-zu²

(1. Affiliated Hospital of Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730020, China;

2. Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of Huangjin capsule on protein expressions of phosphatidylinositol-3-kinase (PI-3K), glucose transporter 4 (GLUT4) in liver and skeletal muscle tissue of diabetes mellitus and insulin resistance rats. **Method:** Totally 65 SPF male Wistar rats with the blood glucose ranging between 4.77-7.77 mmol·L⁻¹. Except the 12 rats in normal group, all of the remaining rats were given high-fat diet and 1% streptozotocin 50 mg·kg⁻¹ to build the rat model of diabetes mellitus. The diabetic rats were randomly divided into Huangjin capsule group (Huangjin capsule suspension, 2.025 g·kg⁻¹), rosiglitazone (rosiglitazone suspension, 0.36 mg·kg⁻¹). Model group was continuously fed with high-fat diet, and treated by the corresponding drugs together with normal group for 10 weeks. Both model group and normal group were given normal saline. The general state of the rats, body weight and food intake were observed. 10 weeks later after the

[收稿日期] 20151207(019)

[基金项目] 甘肃省科技厅科技计划项目(1208RJZA179)

[第一作者] 康学东, 主任医师, 从事中西医结合治疗糖尿病及其并发症研究, Tel: 13893290513, E-mail: kangxdys@126.com

[通讯作者] * 党晓娟, 硕士, 从事中西医结合治疗糖尿病及其并发症研究, Tel: 15730973356, E-mail: dangxiaojuangzy@126.com

intervention, 10% chloral hydrate was injected to anesthetize the rats to test fasting blood-glucose (FBG), fasting insulin (FINS), and insulin sensitivity index (ISI). The immunochemical method was used to detect the pathological changes in rat liver and skeletal muscle tissue, and HE was applied to detect PI-3K and GLUT4 protein expressions. **Result:** Compared with normal group, model group showed significant increases in FBG, FINS levels, and decreases in ISI, PI-3K and GLUT4 protein expressions in rat liver and skeletal muscle tissue ($P < 0.05$), and the pathological detection showed obvious lesions in rat liver and skeletal tissue. After drug intervention, compared with model group, both Huangjin capsule group and rosiglitazone group can reduce the level of FBG and FINS of diabetes mellitus and insulin resistance rats, increase the level of ISI, PI-3K and GLUT4 protein expressions in rat liver and skeletal muscle tissue ($P < 0.05$), with obvious alleviation in lesions in rat liver and skeletal tissue. **Conclusion:** Huangjin capsule has the effect in improving insulin sensitivity, the mechanism is correlated with the activation of PI-3K and GLUT4 protein expression in insulin signal pathway of skeletal muscle tissue.

[Key words] Huangjin capsule; type 2 diabetes mellitus; phosphatidylinositol 3-kinase; glucose transporter 4; insulin resistance

2 型糖尿病 (T2DM) 是一组由多原因引起的以慢性高血糖为特点的代谢性、系统性疾病,其病理机制是胰岛素分泌不足和(或)胰岛素抵抗 (IR)^[1]。目前大量流行病学、临床及实验研究均表明 IR 是糖尿病发病的中心环节^[2],不仅贯穿于 T2DM 的发生、发展的始末,同时也是导致 T2DM 各种合并症的根源。因此针对 IR 的治疗已成为治疗 T2DM 的关键。根据中医浊毒理论组方而成的中药复方制剂黄金胶囊(黄连、鸡内金),在前期研究中已证明有改善 DM 大鼠 IR 的作用^[3,4]。磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI-3K),葡萄糖转运因子 4 (GLUT4) 在胰岛素信号传递途径中起着关键作用。PI-3K 活化后可以促进 GLUT4 合成,加速 GLUT4 向膜的转运,从而发挥胰岛素的生物活性,调节胰岛素作用的靶细胞对葡萄糖的摄取^[5]。PI-3K, GLUT4 与 IR 的关系甚为密切。研究发现, T2DM 患者骨骼肌和脂肪细胞中 PI-3K 基因表达调控均有缺陷。本实验就是观察黄金胶囊对 DM 大鼠肝脏、骨骼肌组织中胰岛素信号传导通路中的 PI-3K 和 GLUT4 蛋白表达的影响。

1 材料

1.1 动物 SPF 级雄性 Wistar 大鼠 65 只,动物及饲料由甘肃中医药大学实验动物中心提供,许可证号 SYXK (甘) 2011-0001,合格证号 SCXK (甘) 2011-0001。

1.2 药物及试剂 黄金胶囊(甘肃中医药大学附属医院制剂科提供,批号 120110),罗格列酮(太极集团重庆涪陵制药厂有限公司,批号 13010006),链脲佐菌素(streptozotoin, STZ, 美国 Sigma 公司,批号 S0130-1G),大鼠胰岛素 (INS) 酶联免疫吸附测定

(ELISA) 检测试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号 CSB-E05071 m), PIK3CA, GLUT4 免疫组化染色试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司,批号分别为 11CM251, BA1353-1); 山羊抗兔免疫组化试剂盒(二抗)(北京中衫金桥生物技术有限公司,批号 14188A05)。

1.3 仪器 CX22 型显微镜(日本 Olympus 公司), RM2015 型石蜡切片机(德国莱卡公司)。

2 方法

2.1 DM 大鼠动物模型的复制 选取大鼠 65 只,普通饲料适应性喂养 1 周,禁食 12 h 后,针刺大鼠尾部采血测空腹血糖。血糖在 $4.77 \sim 7.77 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的大鼠入选^[6]。入选大鼠 60 只按体重编号,用随机数字表法设正常组 12 只,造模组 48 只,造模组大鼠给予高脂饲料喂养,配比成分为胆盐 0.5%,基础饲料 64.5%,胆固醇 2%,葡萄糖 2%,猪油 10%;正常组大鼠给予正常饮食配比的普通饲料喂养^[7]。自由饮水,饲养 4 周后,记录大鼠体重变化,尾部采血检测大鼠空腹血糖,给予造模组大鼠空腹 12 h,单次 ip STZ $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 72 h 测定大鼠血糖。取 $\text{FPG} \geq 11.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 2 h $\text{PG} \geq 16.7 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的大鼠纳入糖尿病模型实验组,于 STZ 注射后 2 周末复测大鼠血糖,未达标者均剔除,不作为实验用鼠。

2.2 给药途径及剂量 将造模成功的大鼠用同前的随机数字表法随机分为 3 组,分别为模型组、罗格列酮组及黄金胶囊组。此造模成功的 3 组均继续给予高脂饲料,正常组则给予普通饲料喂养,按人与大鼠体表面积折算分别给予相应的药品 ig,每日 1 次,共 ig 治疗 10 周。根据前期的实验确定黄金胶囊的

给药剂量为 $2.025 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1[4-5]}$, 罗格列酮组给予剂量 $0.36 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 模型组给予生理盐水 $1 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

2.3 观察指标、标本采集和处理 大鼠一般情况观察、体重、摄食量及血糖的测定 最后一次 *ig* 结束, 给予隔夜禁食 12 h, 称每只大鼠体重, 检测大鼠空腹血糖 (FBG), 按剂量 $3 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 用 10% 水合氯醛 *ip* 麻醉, 无菌剪刀剪股动脉取血, 收集至一次性离心管中, 每只约 3~5 mL, 于 4 °C 冷冻离心机中 2 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min, 离心后取上清液 (血清), 放入离心管内, 置于 -20 °C 冰箱冷冻保存, 以测血清空腹胰岛素 (FINS), 计算胰岛素敏感指数 [$\text{ISI} = 1/(\text{FBG} \times \text{FINS})$]。并取肝脏组织 (肝右叶 1 块, 左叶 1 块) 及一侧后肢骨骼肌, 放于对应编号的广口瓶中, 加入 4% 多聚甲醛溶液 (福尔马林) 固定 24 h 后, 送病理实验室, 常规石蜡包埋, 每份蜡块制成厚度 5 μm 切片。行苏木素-伊红 (HE) 染色做病理组织学检验, 采用 ABC 法免疫组化染色。

2.4 统计学分析 采用 SPSS 17.0 中文统计学软件进行数据分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 正态性检验后采用相应分析方法, 单因素方差分析、独立样本 *t* 检验及配对 *t* 检验, 若为非正态分布, 则采用非参数检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 一般情况观察 正常组大鼠活动灵敏, 精神状态佳, 皮毛光滑, 有光泽; 模型组可见大鼠毛色发黄,

活动减少, 喜静恶动, 尿量明显增多, 1~2 d 可见垫料潮湿明显, 饮水量增加, 摄食量明显增加。到实验后期, 4 组大鼠比较, 模型组精神状态最差, 可见毛色暗黄, 行动迟缓。与模型组比较, 黄金胶囊组与罗格列酮组以上特征, 均有不同程度的改善。

3.2 对糖尿病大鼠体重的影响 高脂饲料喂养的模型组、黄金胶囊组、罗格列酮组随着实验进程的进行, 体重先有不同程度升高, 后期体重下降, 以黄金胶囊组体重下降最为明显, 治疗后黄金胶囊组与各组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 黄金胶囊对糖尿病大鼠体重的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	治疗前	治疗后
正常	-	328.98 \pm 15.50	415.68 \pm 12.16
模型	-	362.78 \pm 15.35 ¹⁾	317.78 \pm 18.38
罗格列酮	3.6×10^{-4}	356.38 \pm 16.98 ¹⁾	285.95 \pm 18.99
黄金胶囊	2.025	360.05 \pm 14.41 ¹⁾	262.24 \pm 19.89 ³⁾

注: 与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$; 与治疗前比较³⁾ $P < 0.05$ 。

3.3 对糖尿病大鼠 FBG, FINS 及 ISI 水平的影响 与正常组比较, 模型组 FBG, FINS 均升高, ISI 明显降低 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 罗格列酮组及黄金胶囊组 FBG, FINS 均有所降低, ISI 明显升高 ($P < 0.05$); 黄金胶囊组与罗格列酮组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 黄金胶囊对糖尿病大鼠 FBG, FINS 及 ISI 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 2 Effect of Huangjin granules on FBG, FINS and ISI in diabetes rats ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	FBG/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	FINS/ $\mu\text{M}\cdot\text{L}^{-1}$	ISI
正常	-	4.40 \pm 0.75	11.97 \pm 1.37	-3.95 \pm 0.91
模型	-	16.55 \pm 0.87 ¹⁾	26.33 \pm 1.46 ¹⁾	-6.07 \pm 0.08 ¹⁾
罗格列酮	3.6×10^{-4}	8.36 \pm 2.01 ²⁾	16.09 \pm 0.98 ²⁾	-4.87 \pm 0.29 ²⁾
黄金胶囊	2.025	10.68 \pm 1.35 ^{2,3)}	18.45 \pm 1.08 ^{2,3)}	-5.27 \pm 0.16 ²⁾

注: 与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$; 与模型组比较²⁾ $P < 0.05$; 与罗格列酮组比较³⁾ $P < 0.05$ 。

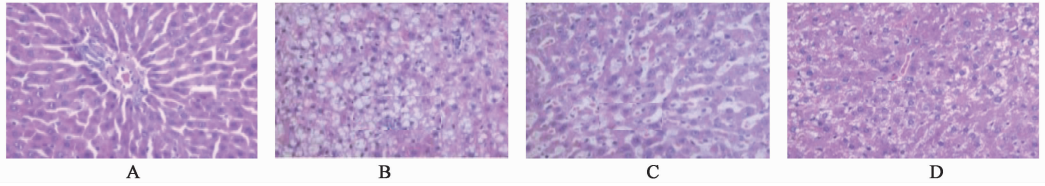
3.4 对糖尿病大鼠肝组织病理形态学的影响 正常大鼠肝组织可见排列整齐的肝组织细胞及肝窦组成的肝小叶, 以中央静脉为中心呈放射状排列, 排列规则, 质地均匀, 可见成行排列的肝索细胞, 每个肝小叶可见汇管区, 未见炎性细胞浸润及脂滴, 细胞结构完整, 未见固缩的细胞核。模型组大鼠肝组织肝细胞排列不规则, 质地不均匀, 可见肝细胞内存在大小不等的脂滴、炎性细胞浸润、坏死的肝细胞、细胞质红染、细胞核固缩、汇管区可见肥大细胞增多。与模型组比较黄金胶囊与罗格列酮组大鼠肝组织可见

以中央静脉为中心呈放射状排列的肝细胞排列较规则、密度欠均匀、肝细胞内大小不等的脂滴、以小脂滴多见、少量炎细胞浸润、少量坏死肝细胞, 未见增多的肥大细胞。见图 1。

3.5 对糖尿病大鼠骨骼肌组织病理形态学的影响 正常组大鼠骨骼肌组织细胞呈细长纤维状, 呈明暗相间的横纹, 横断面肌束间可见较多的神经束及血管分布, 肌细胞为多核细胞, 细胞呈椭圆形, 核仁明显。模型组大鼠骨骼肌组织可见肌纤维萎缩、骨骼肌内异位脂肪沉积、血管蛋白沉积、骨骼肌细胞

核密集、横断面骨骼肌变形。与模型组比较,黄金胶囊与罗格列酮组大鼠骨骼肌组织肌纤维萎缩,可见

少量脂肪沉积、密集细胞核,细胞核密度较模型组低,横断面肌细胞变形。见图 2。



A. 正常组;B. 模型组;C. 黄金胶囊组;D. 罗格列酮组(图 2 同)

图 1 黄金胶囊对糖尿病大鼠肝组织病理形态学的影响(HE, ×400)

Fig. 1 Effect of Huangjin granules on liver tissue pathology morphology in diabetes rats(HE, ×400)

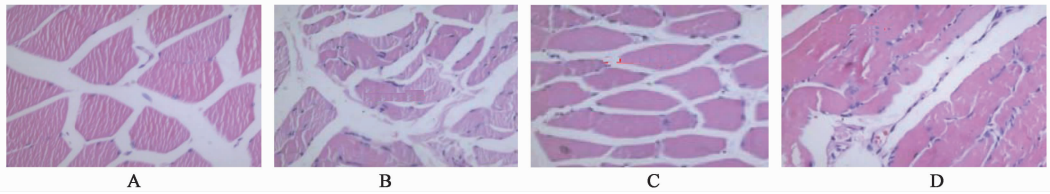
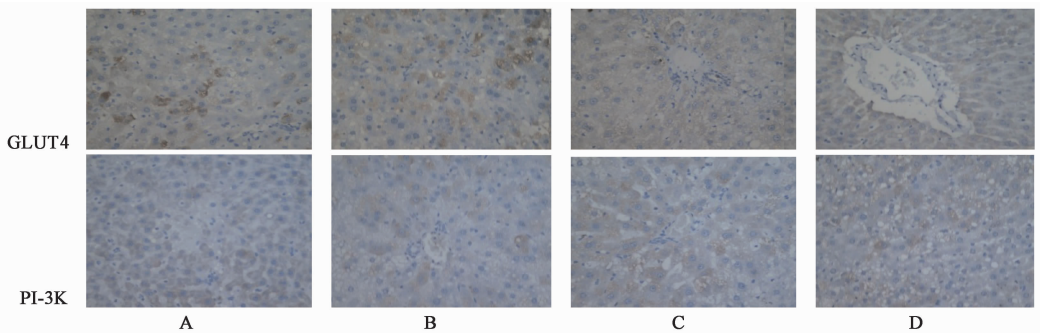


图 2 黄金胶囊对糖尿病大鼠骨骼肌组织病理形态学的影响(HE, ×400)

Fig. 2 Effect of Huangjin granules on skeletal muscle tissue pathologic morphology in diabetes rats(HE, ×400)

3. 6 对糖尿病大鼠肝脏 GLUT4, PI-3K 蛋白表达的影响 免疫组化染色后的正常肝组织中棕色区域提示 GLUT4, PI-3K 阳性,在肝细胞内棕色物均匀分布在细胞质及细胞膜上,其他细胞及肝细胞核内未见棕色阳性染色。模型组中目标蛋白主要分布在细胞膜及细胞质内,病变肝细胞中的脂滴内未见 GLUT4, PI-3K 阳性染色,坏死肝细胞及炎性细胞内显色为阴性,阳性染色细胞多集中在中央静脉周围,相同视野内阳性显色面积较正常肝组织明显减少。罗格列酮组阳性表达位置不变,分布以中央静脉

肝索周围多见,相同视野内阳性显色细胞分布不均匀,阳性表达低于正常组,高于模型组。黄金胶囊组阳性表达细胞数量及表达强度低于罗格列酮组,但高于模型组。见图 3。与正常组比较,模型组糖尿病大鼠肝脏 GLUT4, PI-3K 蛋白积分吸光度(IA)表达明显降低($P < 0.05$);与模型组比较,罗格列酮组及黄金胶囊组明显升高糖尿病大鼠肝脏 GLUT4, PI-3K 蛋白表达($P < 0.05$);罗格列酮组与黄金胶囊组比较,罗格列酮组各蛋白表达强度更强($P < 0.05$)。见表 3。



A. 正常组;B. 模型组;C. 罗格列酮组;D. 黄金胶囊组(图 4 同)

图 3 各组糖尿病大鼠肝脏 GLUT4, PI-3K 蛋白的表达(免疫组化, ×400)

Fig. 3 Protein expression of GLUT4, PI-3K in liver tissue of each diabetes rats(IHC, ×400)

3. 7 对糖尿病大鼠骨骼肌组织 GLUT4, PI-3K 蛋白表达的影响 正常骨骼肌组织中棕色区域提示 GLUT4, PI-3K 阳性,棕色染色均匀分布在细胞质及细胞膜上,细胞核内阳性染色不明显。模型组中目

标蛋白主要分布在细胞膜及细胞质内,阳性染色颗粒数量减少,分布不均匀,颜色呈浅黄色,说明目标蛋白表达明显减弱,相同视野内阳性显色面积较正常组明显减少。罗格列酮组阳性表达位置不变,相

表 3 黄金胶囊对大鼠肝组织 GLUT4, PI-3K 蛋白 IA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 3 Effect of Huangjin granules on protein IA expression of GLUT4, PI-3K in liver tissue of diabetes rats ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	GLUT4	PI-3K
正常	-	0.443 ± 0.005	0.357 ± 0.008
模型	-	0.328 ± 0.008 ¹⁾	0.284 ± 0.090 ¹⁾
罗格列酮	3.6 × 10 ⁻⁴	0.419 ± 0.014 ^{2,3)}	0.336 ± 0.031 ^{2,3)}
黄金胶囊	2.025	0.378 ± 0.008 ²⁾	0.328 ± 0.131 ²⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$;与黄金胶囊组比较³⁾ $P < 0.05$ (表 4 同)。

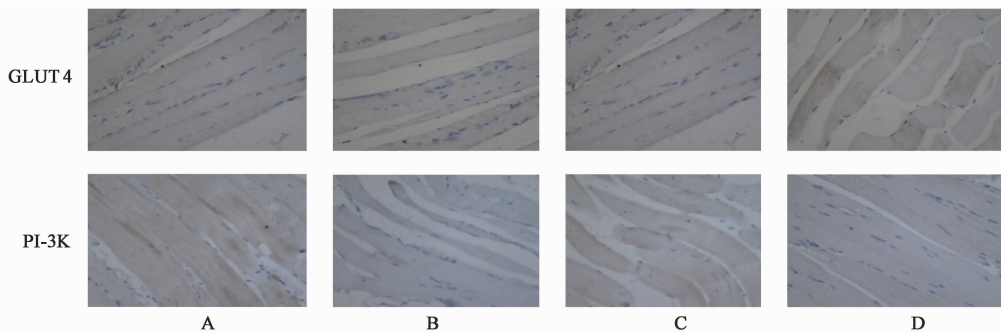


图 4 各组糖尿病大鼠骨骼肌组织 GLUT4, PI-3K 蛋白的表达(免疫组化, ×400)

Fig. 4 Protein expression of GLUT4, PI-3K in skeletal muscle tissue of each diabetes rats(IHC, ×400)

表 4 黄金胶囊对糖尿病大鼠骨骼肌组织 GLUT4, PI-3K 蛋白 IA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 4 Effect of Huangjin granules on protein IA expression of GLUT4, PI-3K in skeletal muscle tissue of diabetes rats ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	GLUT4	PI-3K
正常	-	0.378 ± 0.009	0.381 ± 0.012
模型	-	0.309 ± 0.007 ¹⁾	0.310 ± 0.008 ¹⁾
罗格列酮	3.6 × 10 ⁻⁴	0.364 ± 0.006 ^{2,3)}	0.370 ± 0.041 ^{2,3)}
黄金胶囊	2.025	0.351 ± 0.010 ²⁾	0.353 ± 0.006 ²⁾

4 讨论

中医认为脾主运化水谷精微物质,机体所需之水谷精微可视作人体血糖、脂肪和蛋白等,同时均为痰浊的主要特征和生化物质基础,说明痰饮与水谷精微代谢失常密切相关。肥胖是引起 T2DM 的主要原因,而脂肪细胞内储存过多脂肪中医认为这就是无形的痰。脂肪细胞内脂肪储存到一定的程度就会游离入血,这就为浊,当这种游离的脂肪细胞沉积在胰岛素作用的靶器官如骨骼肌细胞,就会造成骨骼肌细胞的 IR,这就是浊毒。脾的运化功能与 IR,葡萄糖运化障碍等机制可谓“殊途同归”。戴恩来^[8]认为消渴病机特点为阴虚为本,燥热、痰浊、瘀血为标,而以上之标邪,更直接的根源则是不能进入到细

同视野内阳性显色细胞分布不均匀,阳性表达低于正常组,但高于模型组。黄金胶囊组阳性表达特点同罗格列酮组,但阳性表达细胞数量及表达强度低于罗格列酮组,但高于模型组。见图 4。与正常组比较,模型组大鼠骨骼肌组织 GLUT4, PI-3K 蛋白 IA 表达明显降低 ($P < 0.05$);与模型组比较,罗格列酮组及黄金胶囊组明显升高大鼠骨骼肌组织 GLUT4, PI-3K 蛋白 IA 表达 ($P < 0.05$);罗格列酮组与黄金胶囊组比较,前者表达强度更强 ($P < 0.05$)。见表 4。

胞内而滞留在血管中的糖,不能发挥作用,产生糖毒性即为浊毒。基于以上观点,形成了解毒化浊理论。

现今 2 型糖尿病患者以肥胖痰湿体质者诸多,本实验所用的黄金胶囊,正是针对痰浊这一病因病机,从痰浊论治,应用解毒化浊理论清热解毒,化浊除湿,其主要成分为黄连、鸡内金。现代对黄连进行了药理学研究发现,黄连中起主要降糖作用的为小檗碱^[9],小檗碱有改善 IR,刺激胰岛素分泌及降低血脂的作用^[10],小檗碱可以增加肝脏中过氧化物酶增殖体激活受体,同时可上调肝脏胰岛素诱导基因^[11]。有学者认为,黄连中所含的生物碱可提高大鼠骨骼肌糖原储存,可增加糖尿病大鼠靶细胞的胰岛素受体底物,从而起到降低血糖的作用^[12-14]。研究发现小檗碱可以增加 T2DM 大鼠脂肪、肝组织及骨骼肌中 PI-3K 蛋白表达水平^[15]。现代对鸡内金的研究表明其含有鸡内金多糖,可提高糖尿病合并非酒精性脂肪肝大鼠的脾脏指数和胸腺指数,促进淋巴细胞转化,改善其细胞免疫功能。根据对给予鸡内金多糖大鼠的跟踪研究表明,鸡内金多糖可降低空腹血糖水平,同时有一定调节血脂的作用^[16]。在对肥胖大鼠的腹围、臀围研究中发现,黄连中的小檗碱可缩小脂肪组织中的脂肪细胞体积。研究大鼠臀围及腰围的变化,发现小檗碱可减少大鼠的腰围

及臀围^[17]。目前考虑黄金胶囊组的体重减低与黄连中的小檗碱缩小脂肪细胞体积的作用有关。

现代研究认为,胰岛素可激活一系列信号传导来调节糖及能量代谢。目前研究出的胰岛素信号主要有 3 条通路^[18]为①与糖、脂代谢密切相关的 PI-3K 通路;②参与细胞分化与增值的 MAPK 通路;③参与葡萄糖转蛋白膜转位的相关蛋白通路。其中胰岛素信号传导的经典途径为 PI-3K 途径^[19]。PI-3K 参与胰岛素信号传导,它可产生有第二信使功能的肌醇脂物质的激酶,可对葡萄糖转运信号的传导起关键作用的蛋白起调节作用^[20]。所以 PI-3K, GLUT4 2 种信号蛋白的表达在胰岛素信号传导过程中尤为重要,通过本实验的免疫组化结果可以看出,黄金胶囊组较模型组肝脏、骨骼肌细胞中 PI-3K, GLUT4 蛋白明显增加,说明黄金胶囊可以影响 PI-3K, GLUT4 蛋白的表达,增加细胞中 PI-3K, GLUT4 的含量,可以使 GLUT4 从细胞内转移到细胞外,促进葡萄糖的转运,从而降低血糖,改善胰岛素抵抗。

在实验中也观察到黄金胶囊与罗格列酮比较,在降低血糖与改善胰岛素敏感指数方面不及罗格列酮,这从理论上可以解释,罗格列酮除了本实验可以激活肝脏及骨骼肌组织胰岛素信号传导通路中 PI-3K 和 GLUT4 的蛋白表达,既往的研究证明罗格列酮主要通过激活过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ)起作用。这与本实验结果是一致的。

[参考文献]

[1] 葛均波,徐永健. 内科学[M]. 8 版. 北京:人民卫生出版社,2013: 733.
[2] 陈家伦. 临床内分泌学[M]. 上海:上海科学技术出版社,2011:1250.
[3] 崔庆荣,安小平,康学东,等. 黄金胶囊改善 2 型糖尿病胰岛素抵抗大鼠胰岛素敏感性研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(5):150-152.
[4] 余臣祖,安小平,康学东,等. 黄金胶囊对 2 型糖尿病大鼠胰岛素抵抗的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(3):199-201.
[5] Kampmann U, Christensen B, Nielsen T S, et al. GLUT4 and UBC9 protein expression is reduced in muscle from type 2 diabetic patients with severe insulin resistance[J]. PLoS One, 2011, 6(11): e27854.
[6] 崔淑芳. 实验动物学[M]. 上海:第二军医大学出版社,

2007:303.

[7] 田小梅,田梅晞. 混合喂养法诱导营养性肥胖大鼠模型的实验研究[J]. 实用心脑血管病杂志,2012,20(3):429-430.
[8] 戴恩来. 糖尿病证治新解[J]. 甘肃中医学院学报,2014,31(1):69-70.
[9] 郑洪艳. 原小檗碱类生物碱作用差异的机理研究[D]. 天津:天津医科大学,2005.
[10] Liu W H, Hei Z Q, Nie H, et al. Berberine ameliorates renal injury in streptozolocin induced diabetic rats by suppression of both oxidative stress reductase[J]. Chin Med J (Engl), 2008,121(8):706-712.
[11] Zhou J Y, Zhou S W, Zhang K B, et al. Chronic effects of berberine on blood, liver glucolipid metabolism and liver PPARs expression in diabetic hyperlipidemic rats[J]. Biol Pharm Bull,2008,31(6):1169-1176.
[12] 徐颖. 黄连总生物碱的提取及其对实验性糖尿病肾病大鼠的保护作用及机制的初步研究[D]. 重庆:第三军医大学,2006.
[13] 徐颖,周世文,汤建林,等. 黄连总生物碱对实验性糖尿病肾病大鼠肾功能保护作用的研究[J]. 重庆医学,2006,36(6):526-527.
[14] 应懿. 黄连生物碱的提取及其对实验性糖尿病周围神经病变和糖尿病肌病的保护作用及机制研究[D]. 重庆:第三军医大学,2007.
[15] 金丹. 黄连解毒汤及黄连素对 2 型糖尿病大鼠靶组织中磷脂酰肌醇-3 激酶 mRNA 和蛋白表达的影响[D]. 武汉:华中科技大学,2006.
[16] Olefsky J M, Saltiel A R. PPAR γ and the treatment of insulin resistance[J]. Opt Lett, 2000, 11(9):362-368.
[17] 任毅. 小檗碱对初发 2 型糖尿病糖脂代谢和脂联素的影响[D]. 太原:山西医科大学,2008.
[18] Krook A, Björnholm M, Galuska D, et al. Characterization of signal transduction and glucose transport in skeletal muscle from type 2 diabetic patients[J]. Diabetes, 2000, 49(2):284-292.
[19] Taha C, Klip A. The insulin signaling pathway[J]. J Membr Biol,1999,169(1):1-12.
[20] 王军,姜宏卫. 磷脂酰肌醇 3 激酶与 2 型糖尿病[J]. 国外医学:内分泌学分册,2001,21(6):294-296.

[责任编辑 周冰冰]