

加味苓桂术甘汤对代谢综合征大鼠血清抵抗素、脂联素、胰岛素、胰岛素抵抗的影响

黄江荣, 杜亚明, 鄢进, 胡娅, 李祥华*

(长江大学医学院, 湖北 荆州 434023)

[摘要] **目的:**探讨加味苓桂术甘汤对代谢综合征模型大鼠抵抗素、脂联素、胰岛素和胰岛素抵抗指数的影响。**方法:**取 SPF 级雄性大鼠, 随机分为正常对照组, 高脂高盐(模型)组, 二甲双胍(降糖)组, 阿托伐他汀(降脂)组, 加味苓桂术甘汤(试药)高($18\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、中($12\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、低($6\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)剂量组, 每组动物 10 只。除正常对照组外, 各组大鼠均以高脂高盐饲料喂养。并于模型制作当日分别 ig 给予药物治疗, 每日 1 次, 连续 8 周。正常对照组、模型组给予同样量的生理盐水。采用酶联免疫吸附分析方法测定血清抵抗素、脂联素、胰岛素水平, 计算胰岛素抵抗指数。**结果:**模型组抵抗素、脂联素、胰岛素水平及胰岛素抵抗指数与正常组比较均有显著性差异($P < 0.05$)。加味苓桂术甘汤高、中、低剂量组均能显著降低代谢综合征模型大鼠血清抵抗素、升高脂联素含量($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 均能显著降低代谢综合征模型大鼠胰岛素水平及降低胰岛素抵抗指数($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。**结论:**加味苓桂术甘汤对代谢综合征模型大鼠抵抗素、脂联素、胰岛素水平及胰岛素抵抗均有调节作用。提示加味苓桂术甘汤有调节脂肪和糖代谢的作用。

[关键词] 代谢综合征; 苓桂术甘汤; 抵抗素; 脂联素; 胰岛素; 胰岛素抵抗

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)06-0227-04

Effects of Reformatted Lingui Zhugan Decoction on the Level of Serum Resistin, Adiponectin, Insulin and Insulin Resistance in Metabolic Syndrome Model Rats

HUANG Jiang-rong, DU Ya-ming, YAN Jin, HU Ya, LI Xiang-hua*

(Medical School of Yangtze University, Jingzhou 434023, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effects of reformatted Lingui Zhugan decoction on metabolic syndrome. **Method:** Seventy male specified-pathogens free (SPF) Wistar rats, aged 3 weeks, were divided into seven groups in randomized manner: control group treated with distilled water diet; high fat (49% lard) and high salt (4% NaCl, model group); high fat and salt group treated with atorvastatin (lipid-lowering group); high fat and salt group treated with metformin (hypoglycemic group); high fat and salt group treated with reformatted Lingui Zhugan decoction large dose, middle dose and small dose groups. The rats of these groups were taken in high fat and high salt except control group. And rats of each group were administrated by gavage at the same time once every day for 8 weeks. Among them, lipid-lowering group rats were given $8\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ atorvastatin; hypoglycemic group rats $670\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ metformin; reformatted Lingui Zhugan decoction large dose group, middle dose group and small dose group rats $18, 12, 6\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ reformatted Lingui Zhugan decoction concentrated solution differently. Control group and model group rats were given normal salt administration by gavage equal content. The level of serum resistin, adiponectin and insulin were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). And insulin resistance (HOMA-IR) index was counted. **Result:** The level of resistin, adiponectin, insulin was of a very significant difference after reformatted Lingui Zhugan decoction were given for 8 weeks, compared with

[收稿日期] 20120907(012)

[基金项目] 长江大学博士科研启动基金

[通讯作者] *李祥华, Tel:0716-8062624, E-mail:yangtzeu_lxh@163.com

control group and model group (all $P < 0.01$). The level of insulin and HOMA-IR index was not significantly difference compared with the control group, lipid-lowering group and hypoglycemic group, but there was a significant difference compared with the model group (all $P < 0.01$). **Conclusion:** The reformatted Linggui Zhugan decoction can regulate metabolic syndrome, adiponectin, insulin and HOMA-IR index. It is suggested that reformatted Linggui Zhugan decoction have effect on regulation fat and saccharide metabolism.

[**Key words**] metabolic syndrome; Linggui Zhugan decoction; resistin; adiponectin; insulin; insulin resistance

加味苓桂术甘汤是湖北省中医名师黄祥武主任医师治疗代谢综合征的经验方剂。为探讨本方对代谢综合征糖及脂代谢的影响,本文作者旨在研究加味苓桂术甘汤对代谢综合征大鼠血清抵抗素、胰岛素、脂联素水平,以探讨人抵抗素、脂联素和胰岛素与血脂、肥胖、胰岛素抵抗的关系。

1 材料

1.1 药物 加味苓桂术甘汤(白术 12 g,茯苓 12 g,桂枝 9 g,党参 12 g,法半夏 12 g,生山楂 30 g,豨莶草 15 g,红花 9 g,川芎 9 g,甘草 6 g,制何首乌 15 g),以上药物经由荆州市食品药品监督管理局刘以民副主任药师鉴定白术为菊科多年生草本植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz. d. 的根茎,茯苓为多孔菌科真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核,桂枝为樟科植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl. 的干燥嫩枝,党参为桔梗科多年生草本植物党参 *Codonopsis pilosula* (Franch.) nannf. 的干燥根,半夏为天南星科多年生草本植物半夏 *Pinellia ternate* (Thunb.) Breit. 的干燥块茎,山楂为蔷薇科落叶灌木山里红 *Crataegus pinnatifida* Bge. var. *major* N. E. Br. 的成熟果实,豨莶草为菊科植物 *Siegesbeckia orientalis* L. 的干燥地上部分,红花为菊科植物红花 *Carthamus tinctorius* L. 的干燥管状花,川芎为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎,甘草为豆科多年生草本植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根及根茎,何首乌为蓼科多年生缠绕草本植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的块根。本制剂经由荆州市中医医院中药制剂室提供。将该方加 8 倍量的水浸泡 30 min 后,煎煮 40 min,过滤,滤液另器保存,药渣再加 6 倍量水煎煮 30 min,过滤,将 2 次滤液合并,置于 100 ℃ 水浴浓缩至 1 mL 相当于原生药量的 6 g,置 4 ℃ 冰箱中备用。

1.2 动物 SPF 级 Wistar 3 周龄断乳雄性大鼠,体重(55 ± 10)g,购自湖北省医学科学院实验动物中心,实验动物质量合格证号 4200600603。实验动物

许可证号 SCXK(鄂)2008-0005。

1.3 药品试剂 血清抵抗素试剂盒(批号 201205),脂联素试剂盒(批号 201205),胰岛素试剂盒(批号 201205),均为(美国 R&D 公司),二甲双胍(中美上海施贵宝制药有限公司,批号 20110201),阿托伐他汀(辉瑞制药有限公司,批号 201103101)。

1.4 仪器 LD4-8 离心机(北京医用离心机厂),BEP III 酶免疫分析处理系统(贝林公司)。

2 方法

2.1 动物分组及模型制备 取雄性大鼠 70 只,随机分为正常对照组,高脂高盐(模型)组,模型 + 二甲双胍(降糖)组,模型 + 阿托伐他汀(降脂)组,模型 + 加味苓桂术甘汤(试药)高、中、低剂量组,共 7 组,每组 10 只动物。模型的制作参照文献[1-2]方法进行。除正常对照组大鼠标准颗粒饲料由湖北省医学科学院提供外,其他各组大鼠均以高脂(49% 脂肪)高盐(含 4% 氯化钠)饲料(由长江大学实验动物中心配制)喂养,饮用蒸馏水,连续喂养 8 周。并于模型制作当日分别 ig 给予药物治疗,每日 1 次,连续 8 周,其中降脂组给予阿托伐他汀 8 mg · kg⁻¹,降糖组给予二甲双胍 670 mg · kg⁻¹,试药高、中、低剂量组给予加味苓桂术甘汤浓缩液 18,12,6 g · kg⁻¹。正常对照组、高脂高盐模型组给予同样量的生理盐水。

2.2 标本制作 于末次给药后 1 h,20% 乌拉坦 5 mL · kg⁻¹ ip 麻醉大鼠,立即分离颈动脉取血 8 mL,以 3 000 r · min⁻¹ 的速度离心 20 min,取血清,放置低温冰箱中待用。

2.3 血清抵抗素、脂联素测定 血清抵抗素、脂联素、酶联免疫分析按照试剂盒,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)方法,应用双抗体夹心法测定标本中大鼠抵抗素、脂联素水平。用酶标仪在 450 nm 波长下测定吸光度(A)。各步骤严格按照说明书操作。

2.4 血清胰岛素测定及胰岛素抵抗指数计算 血清胰岛素含量及胰岛素抵抗测定按照胰岛素酶联免疫分析试剂盒,采用 ELISA 法,应用双抗体夹心法

测定标本中大鼠胰岛素水平。用酶标仪在 450 nm 波长下测定 A。各步骤严格按照说明书操作。胰岛素抵抗 (HOMA-IR) 指数的计算:

$$\text{HOMA-IR 指数} = \text{空腹胰岛素} \times \text{空腹血糖} / 22.5$$

2.5 统计学处理 所得数据经统计学软件 SPSS 13.0 进行分析。各组数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计量资料样本均数间多重比较用单因素方差分析,组间比较用 *t* 检验。 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 对血清抗毒素、脂联素水平的影响 与正常组抗毒素和脂联素水平比较,模型组抗毒素显著升高,脂联素水平显著降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。加味苓桂术甘汤高、中、低剂量组均能显著降低模型大鼠血清抗毒素水平、升高血清脂联素含量 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);3 个剂量组分别与降脂和降糖组比较,也具有非常显著的差异 (均 $P < 0.01$)。结果见表 1。

表 1 加味苓桂术甘汤对代谢综合征大鼠血清抗毒素和脂联素水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$

组别	剂量 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	抗毒素	脂联素
正常对照	-	0.127 ± 0.022 ²⁾	0.242 ± 0.035 ¹⁾
模型	-	0.359 ± 0.057	0.175 ± 0.026
阿托伐他汀	8×10^{-3}	0.152 ± 0.033 ²⁾	0.177 ± 0.029
二甲双胍	0.670	0.120 ± 0.025 ²⁾	0.219 ± 0.039
加味苓桂术甘汤	6	0.135 ± 0.023 ²⁾	0.240 ± 0.062 ^{1,3)}
	12	0.122 ± 0.027 ²⁾	0.273 ± 0.043 ^{2,3)}
	18	0.119 ± 0.032 ²⁾	0.290 ± 0.067 ^{2,3)}

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与阿托伐他汀组比较³⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

3.2 对血清胰岛素含量及胰岛素抵抗指数的影响 与正常组比较,模型组 INS, HOMA-IR 均显著升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。加味苓桂术甘汤高、中、低剂量组均能显著降低模型大鼠 INS 含量降低 HOMA-IR。 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),与阿托伐他汀组比较显著降低 HOMA-IR ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 加味苓桂术甘汤对代谢综合征大鼠血清胰岛素及胰岛素抵抗指数的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

分组	剂量 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	INS / $\text{mU} \cdot \text{L}^{-1}$	HOMA-IR
正常对照	-	0.682 ± 0.322 ¹⁾	1.72 ± 0.31 ²⁾
模型	-	0.926 ± 0.357	2.54 ± 0.37
阿托伐他汀	8×10^{-3}	0.838 ± 0.273	2.30 ± 0.53
二甲双胍	0.670	0.673 ± 0.215 ¹⁾	1.97 ± 0.56 ¹⁾
加味苓桂术甘汤	6	0.695 ± 0.135 ^{1,3)}	1.85 ± 0.40 ^{2,3)}
	12	0.665 ± 0.107 ^{2,3)}	1.82 ± 0.45 ^{2,3)}
	18	0.625 ± 0.132 ^{2,3)}	1.75 ± 0.35 ^{2,3)}

4 讨论

国内一项流行病学研究显示,普通人群中代谢综合征发生率高达 13.25%,患病率随年龄增加而增高,55 岁以上人群中发生率为 20.26%^[3]。近 20 年来,随着我国城乡居民生活水平的提高,饮食快餐化,体力活动减少,工作节奏加快,心理压力增大,使其发病率逐年增加。血脂代谢紊乱是代谢综合征患者常见的代谢异常,与动脉粥样硬化关系密切。既往的研究显示,代谢综合征是重要的心脑血管危险因素,代谢综合征患者动脉硬化程度增高^[4]。

代谢综合征的发病原因与环境因素、精神因素、肥胖和遗传有关系。胰岛素抵抗是目前医学界关注的热点。使机体对胰岛素的生理功能敏感性和反应性降低。主要是组织细胞对胰岛素介导的葡萄糖利用性下降^[5]。

2001 年,Steppan 等^[6]首次报道了抗毒素是一个由脂肪细胞分泌的肽类激素,在遗传性肥胖及糖尿病小鼠种血浆抗毒素水平明显增高,给予抗毒素抗体可改善糖尿病小鼠的血糖水平和胰岛素的敏感性,故认为抗毒素可能是肥胖和糖尿病的联系所在,抗毒素的作用是对抗胰岛素,使血糖水平升高。此后有许多动物实验证实,高脂喂养的肥胖鼠和遗传性肥胖鼠的血清抗毒素水平升高,而禁食和给予 TZDS 类的药物可使抗毒素的表达水平明显下降,从而也推测抗毒素参与了肥胖导致胰岛素抵抗的发病过程,而且二甲双胍在 db/db 鼠可以上调其表达^[7]。我们的实验研究结果显示,在给动物高脂高盐喂养同时给予加味苓桂术甘汤治疗后,抗毒素含量降低。

脂联素为近年来发现的一种由脂肪细胞分泌的激素,与肥胖、胰岛素抵抗、2 型糖尿病、冠心病和其他动脉粥样硬化性血管病的发生有关^[8]。提高脂联素水平可增加胰岛素敏感性及预防糖尿病的发生,从而预防冠心病和其他动脉粥样硬化性血管病的发生。国外学者的研究已经证实^[9],脂联素具有抗炎抗动脉粥样硬化的作用,给与外源性的脂联素,可提高机体对胰岛素的敏感性^[10],肥胖患者脂联素水平下降,而当体重减轻后,脂联素的水平又升高^[11]。因此推测脂联素可能是对人体有益的因子,维持其正常水平对人体有益,而脂联素水平的下降可能是肥胖和胰岛素抵抗的纽带。我们的研究结果表明,给药组脂联素显著升高,而模型组并未升高,这说明本方可能有参与脂肪代谢作用。有关本方对代谢综合征所致血糖及血脂代谢的影响,有待进一

葛根素对6-羟多巴胺所致帕金森病大鼠 黑质组织 Nrf2/ARE 通路的影响

黎荣¹, 徐灵源², 梁韬³, 段小群¹, 李勇文¹, 廖维勇^{1*}

(1. 桂林医学院, 广西 桂林 541004; 2. 右江民族医学院附属医院, 广西 百色 533000;
3. 广西医科大学, 南宁 530021)

[摘要] 目的:研究葛根素对6-羟多巴胺(6-OHDA)致帕金森病(PD)大鼠黑质组织核转录因子(Nrf2)/抗氧化反应元件(ARE)通路的影响。方法:建立帕金森SD大鼠模型,随机分成5组:模型组、美多巴阳性组(40 mg·kg⁻¹)及葛根素低、中、高剂量组(20, 40, 80 mg·kg⁻¹)。持续灌胃给药30 d。Elisa法检测黑质组织中γ-谷氨酰半胱氨酸合成酶(γ-GCS)、谷胱甘肽(GSH)、过氧化氢酶(CAT)活性。RT-PCR法检测黑质组织细胞色素c氧化酶(COX)mRNA表达。Western blot法检测转录因子NF-E2相关因子2(Nrf2)、Kelch样环氧氯丙烷相关蛋白-1(Keap1)蛋白表达。结果:与正常组比较,模型组黑质中γ-GCS, GSH, CAT活性显著降低, COX mRNA Nrf2, Keap1蛋白表达显著降低(P<0.01);与模型组比较,葛根素有效地增加帕金森病大鼠黑质γ-GCS, GSH, CAT活性(P<0.01)。葛根素低,中,高剂量组能明显上调黑质COX mRNA水平(38.5±4.3)%, (43.2±5.1)%, (57.4±6.2)% (P<0.01),显著增加Nrf2, Keap1蛋白表达(38.5±3.6)%, (52.4±4.8)%, (78.5±7.3)%; (31.7±2.3)%, (40.8±3.5)%, (65.9±6.1)% (P<0.01)。结论:葛根素有效地对抗6-OHDA诱导PD大鼠黑质神经细胞氧化应激性损伤,其机制可能与其调节Nrf2/ARE通路有关。

[关键词] 葛根素; 6-羟多巴胺; 帕金森病; Nrf2/ARE通路

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)06-0230-04

[收稿日期] 20120823(007)

[第一作者] 黎荣, 硕士, 从事抗帕金森研究, Tel:13635187328, E-mail: lirong1278@163.com

[通讯作者] *廖维勇, 硕士, 讲师, 从事抗帕金森研究, Tel:0773-5895291, E-mail: liaoweiyong99@163.com

步研究。

[致谢] 湖北省荆州市中心医院医学检验部王昌富教授、李承彬主任技师、梅冰博士在数据检测分析中给予了大力支持,特此致谢!

[参考文献]

[1] 蓝忠, 龙惠东, 曾昭华, 等. 代谢综合征模型的建立及其靶器官改变[J]. 现代预防医学, 2012, 39(3): 725.
[2] 陈维彬, 刘戈力, 李亚璞, 等. 代谢综合征幼鼠模型中血管内皮功能损伤的检测[J]. 天津医科大学学报, 2011, 17(4): 473.
[3] 吴桂贤, 吴兆苏, 刘静, 等. 11省市代谢综合征患者中心脑血管疾病发病率队列研究[J]. 中华流行病学杂志, 2003, 24(7): 551.
[4] 顾惠琳, 陈支援, 丁随新. 代谢综合征社区干预效果观察[J]. 上海预防医学杂志, 2010, 22(1): 5.
[5] Steppan C M, Lazar M A. The current biology of resistance[J]. J Intern Med, 2004, 255(4): 439.
[6] Steppan C M, Bailey S T, Bhat S, et al. The hormone resistin links obesity to diabetes [J]. Nature, 2001, 409: 307.

[7] Fujita H, Fujishima H, Morii T, et al. Effect of metformin on adipose tissue resistin expression in db/db mice[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2001, 289: 1328.
[8] Kubota N. Pioglitazone ameliorates insulin resistance and diabetes by both adiponectin-dependent and-independent pathways[J]. Biol Chem, 2006, 281(13): 8748.
[9] Juan C C, Au L C, Fang V S, et al. Suppressed gene expression of adipocyte resistin in an insulin resistant rat model probably by elevated free fatty acids[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2001, 289: 1328.
[10] Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, et al. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2001, 86: 1930.
[11] Yang W S, Lee W J, Funahashi T, et al. Weight reduction increased plasma levels of an adipose-derived anti-inflammatory protein[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2001, 86: 3815.

[责任编辑] 聂淑琴