

## 菩人丹超微粉对肥胖型 2 型糖尿病大鼠 糖代谢相关指标的影响

庞宗然<sup>1\*</sup>, 赵玉堂<sup>2</sup>, 李静华<sup>2</sup>, 刘祖涵<sup>1</sup>, 李晓军<sup>2</sup>, 曹式丽<sup>3</sup>, 张伯礼<sup>3</sup>

(1. 中央民族大学中国少数民族传统医学研究院, 北京 100081;

2. 承德医学院, 河北 承德 067000; 3. 天津中医药大学, 天津 300193)

[摘要] 目的: 观察菩人丹超微粉 (PRD supermicropowder) 对 2 型糖尿病 (Type 2 diabetes mellitus, T2DM) 大鼠血糖、糖耐量、糖化血清蛋白、血清胰岛素及胰岛素敏感指数的影响, 探讨菩人丹的降糖作用。方法: 采用大鼠灌胃脂肪乳, 辅以尾静脉快速 iv 小剂量链脲佐菌素, 制备以胰岛素抵抗为特征的 T2DM 合并大血管病变的动物模型。成模大鼠随机分为菩人丹低、中、高治疗组, 马来酸罗格列酮治疗组, 模型组, 各组分别 ig 给予相应药物治疗 4 周, 测定用药前、用药后 2 周、4 周大鼠随机血糖和治疗 4 周末空腹血清胰岛素、糖化血清蛋白含量, 计算胰岛素敏感指数。结果: 模型大鼠随机血糖和糖化血清蛋白含量较正常组上调, 血清胰岛素、胰岛素敏感指数明显降低 ( $P < 0.01$ )。菩人丹低、中、高剂量及马来酸罗格列酮治疗组均能显著降低大鼠随机血糖和糖化血清蛋白含量 ( $P < 0.05 \sim 0.01$ ), 菩人丹中、高剂量组及马来酸罗格列酮组显著升高 T2DM 模型大鼠血清胰岛素含量 ( $P < 0.05 \sim 0.01$ ), 提高胰岛素敏感指数 ( $P < 0.05 \sim 0.01$ )。结论: 菩人丹超微粉可降低 T2DM 大鼠过高的血糖和糖化血清蛋白含量, 增加胰岛素敏感性, 从而改善 T2DM 大鼠糖代谢。

[关键词] 2 型糖尿病; 菩人丹超微粉; 糖代谢; 胰岛素敏感性

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)05-0107-03

## Effect of PRD Ultramicro-powder on the Indexes Correlated with Glycometabolism in Obese Type 2 Diabetes Mellitus Rats

PANG Zong-ran<sup>1\*</sup>, ZHAO Yu-tang<sup>2</sup>, LI Jing-hua<sup>2</sup>, LIU Zu-han<sup>1</sup>, LI Xiao-jun<sup>2</sup>, CAO Shi-li<sup>3</sup>, ZHANG Bo-li<sup>3</sup>

(1. Institute of Chinese Minority Traditional Medicine, Minzu University of China, Beijing 100081, China;

2. Chengde Medical College, Chengde 067000, China;

3. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the influence of PRD (Pu Ren Dan) ultramicro-powder on the functional indexes correlated with glycometabolism in T2DM rats, including plasma glucose, glucose tolerance, glycosylated serum protein, serum insulin and insulin sensitivity index. And to investigate the hypoglycemic effect of PRD.

**Method:** Wistar rats were fed fat milk, and small doses of streptozotocin was rapidly injected into tail vein. Animal models of type 2 diabetes with macroangiopathy characterized by insulin resistance were successfully prepared in a short time. The model rats were randomly divided into five groups including PRD low dose, PRD medium dose, PRD high dose, rosiglitazone maleate and model groups. Every group was respectively treated for 4 weeks with PRD low dose, PRD medium dose, PRD high dose, rosiglitazone maleate and water. Random plasma glucose of rats were respectively measured before treatment, after 2 weeks and 4 weeks with treatment. Fasting serum insulin and glycosylated serum protein content of rats were measured on the 4<sup>th</sup> weekend. And Insulin sensitivity index were

[收稿日期] 2009-10-15

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (30572303)

[通讯作者] \* 庞宗然, Tel: 13811809555; E-mail: zpang@163.com

calculated. **Result:** As compared with normal group rats, random plasma glucose and glycosylated serum protein content of model group rats were increased, while serum insulin and insulin sensitivity index significantly were decreased ( $P < 0.01$ ). Random plasma glucose and glycosylated serum protein content of rats were all significantly reduced in PRD low, medium, high dose and rosiglitazone maleate groups ( $P < 0.05 \sim 0.01$ ). Serum insulin content and insulin sensitivity index of T2DM model rats treated by PRD medium, high dose and rosiglitazone maleate were significantly increased ( $P < 0.05 \sim 0.01$ ). **Conclusion:** Based on reducing the high level of plasma glucose and glycosylated serum protein content, PRD ultramicro-powder can enhance insulin sensitivity of T2DM rats and improve glycometabolism in T2DM rats.

**[Key words]** type 2 diabetes mellitus; Pu Ren Dan ultramicro-powder; glycometabolism; insulin sensitivity

在 2 型糖尿病 (T2DM) 患者中, 糖脂代谢紊乱、胰岛素抵抗相互影响, 直接或间接作用于血管内皮细胞, 造成血管内皮损伤, 导致糖尿病大血管并发症的发生。本研究采用给 Wistar 大鼠 ig 脂肪乳, 辅以尾静脉快速注射小剂量的链脲佐菌素, 在短时间内成功的制备了以胰岛素抵抗为特征的 T2DM 合并大血管病变的动物模型, 系统观察了菩人丹超微粉干预 4 周对 T2DM 大鼠血糖 (BG)、糖耐量 (GT)、糖化血清蛋白 (GSP)、血清胰岛素 (Ins) 的影响。

## 1 材料

**1.1 动物** SPF 级雄性 Wistar 大鼠, 由中国医学科学院放射医学研究所实验动物中心提供。许可证号 SCXK 津 2005-0001。

**1.2 药物及试剂** 菩人丹超微粉 (PRD) 河北以岭药业集团有限公司; 马来酸罗格列酮, 4 mg/片, 葛兰素史克 (天津) 有限公司, 批号 03110001; 链脲佐菌素 (STZ), Sigma 公司; 胰岛素放射免疫试剂盒, 九鼎公司; GSP 试剂盒, 德国罗氏公司。

**1.3 仪器** P-MODULAR 全自动生化分析仪, 德国罗氏公司; DPCR-GAMMA-C2 放射免疫计数器, 九鼎公司; 德国 CR411 低温低速大容量离心机, JOUAN 公司; ONE Touch Ultra 血糖仪, 美国强生公司; 稳豪型血糖试纸, 强生 (上海) 医疗器材有限公司。

## 2 方法

**2.1 脂肪乳的制备** 猪油 20 g, 甲基硫氧 1 g, 胆固醇 8 g, 谷氨酸钠 1 g, 蔗糖 5 g, 果糖 5 g, 吐温-80 20 mL, 丙二醇 30 mL, 加水至 100 mL, 配成脂肪乳。

**2.2 肥胖型 T2DM 大血管损伤大鼠模型的制备** Wistar 大鼠, 雄性, 体重 ( $240 \pm 20$ ) g, 每日 ig 自制脂肪乳  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 连续 3 周后, 眶静脉取血, 离心, 放免法检测 Ins, 全自动生化仪检测总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、低密度脂蛋白 (LDL), 尾静脉取血测

血糖。挑选 TC, TG, LDL 增高, 胰岛素敏感指数下降的大鼠, 空腹 6 h 后, 尾静脉 iv STZ  $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 1 周后取尾静脉血检测血糖高于  $16.7 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的大鼠作为 T2DM 模型大鼠。成模大鼠用药前观察胸主动脉弓病理改变: 动脉血管电镜下见内皮细胞局部损伤严重; 内皮细胞与内弹力板连接处空隙增加等, 证实 T2DM 大血管损伤模型复制成功。

**2.3 分组、给药及指标检测** T2DM 大鼠按血糖结合体重分层随机分为 5 组: 模型组, 马来酸罗格列酮治疗组, PRD 高、中、低剂量 ( $3.54, 1.77, 0.885 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 治疗组, 另取 10 只大鼠为正常对照组。各组动物 ig 给药, 1 次/d, 正常对照组和模型组 ig 等量自来水, 连续 4 周。实验期间造模各组均连续给予高脂高热量饲料。用药前、用药后 2 周、4 周分别取尾静脉血检测血糖, 4 周末股动脉取血, 离心得血清, 检测各组大鼠 GSP; 放射免疫分析法检测血清 Ins; 计算胰岛素敏感指数 (ISI)。

**2.4 统计学方法** 计量资料用均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 应用 SPSS 13.0 软件进行统计。

## 3 结果

**3.1 PRD 对肥胖型 T2DM 大血管损伤大鼠 BG 的影响** 与正常组比较, T2DM 模型组大鼠随机 BG 明显升高 ( $P < 0.01$ )。PRD 中剂量及马来酸罗格列酮在治疗 2 周末即能极显著降低 T2DM 模型大鼠 BG (与模型组比较  $P < 0.01$ )。治疗 4 周末 PRD 高、中剂量及马来酸罗格列酮均能极显著降低模型大鼠 BG (与模型组比较  $P < 0.01$ ), PRD 低剂量组的降糖作用亦有显著性差异 (与模型组比较  $P < 0.05$ )。见表 1。

**3.2 PRD 对肥胖型 T2DM 大血管损伤大鼠 GT 的影响** 模型组各时间点的血糖均明显升高, 与正常

表 1 PRD 对 T2DM 大血管损伤大鼠随机血糖的影响( 柳±s)

组别	n	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	BG/mmol·L <sup>-1</sup>		
			药前	药后2周	药后4周
正常对照	10	-	5.79 ±0.41 <sup>2)</sup>	5.64 ±0.62 <sup>2)</sup>	5.88 ±0.38 <sup>2)</sup>
模型	10	-	24.18 ±4.78	22.16 ±2.50	21.19 ±1.29
罗格列酮	11	0.36 ×10 <sup>-3</sup>	25.95 ±6.06	14.51 ±3.25 <sup>2)</sup>	11.94 ±1.90 <sup>2)</sup>
PRD	10	0.885	26.14 ±5.35	19.51 ±3.20	14.66 ±3.91 <sup>1)</sup>
	9	1.77	24.64 ±4.63	15.90 ±2.42 <sup>2)</sup>	11.37 ±2.31 <sup>2)</sup>
	9	3.54	24.52 ±5.07	18.81 ±4.89	13.29 ±3.22 <sup>2)</sup>

注: 与模型组比较<sup>1)</sup> P<0.05, <sup>2)</sup> P<0.01(下同)

表 2 PRD 对 T2DM 大血管损伤大鼠 GT 的影响( 柳±s)

组别	n	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	ig 葡萄糖后不同时间的血糖值 /mmol·L <sup>-1</sup>			
			0 h	0.5 h	1 h	2 h
正常对照	10	-	5.88 ±0.38 <sup>2)</sup>	10.76 ±1.85 <sup>2)</sup>	10.20 ±1.91 <sup>2)</sup>	8.45 ±0.81 <sup>2)</sup>
模型	10	-	21.19 ±1.29	29.32 ±1.76	26.23 ±2.56	23.38 ±2.19
罗格列酮	11	0.36 ×10 <sup>-3</sup>	11.94 ±1.90 <sup>2)</sup>	20.85 ±2.37 <sup>2)</sup>	17.59 ±3.14 <sup>2)</sup>	13.73 ±2.33 <sup>2)</sup>
PRD	10	0.885	14.66 ±3.91 <sup>1)</sup>	25.76 ±3.10 <sup>1)</sup>	21.39 ±2.12 <sup>1)</sup>	16.54 ±2.02 <sup>2)</sup>
	9	1.77	11.37 ±2.31 <sup>2)</sup>	21.33 ±2.23 <sup>2)</sup>	18.22 ±2.57 <sup>2)</sup>	13.58 ±2.06 <sup>2)</sup>
	9	3.54	13.29 ±3.22 <sup>2)</sup>	22.67 ±2.76 <sup>1)</sup>	18.95 ±2.36 <sup>2)</sup>	14.37 ±2.29 <sup>2)</sup>

表 3 PRD 对 T2DM 大血管损伤大鼠 GSP, INS, ISI 的影响( 柳±s)

组别	n	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	GSP /mmol·L <sup>-1</sup>	INS /mU·L <sup>-1</sup>	ISI
正常对照	10	-	0.229 ±0.012 <sup>2)</sup>	37.05 ±7.84 <sup>2)</sup>	-3.06 ±0.19 <sup>2)</sup>
模型	10	-	0.361 ±0.020	24.42 ±5.40	-3.84 ±0.26
罗格列酮	11	0.36 ×10 <sup>-3</sup>	0.274 ±0.014 <sup>2)</sup>	29.50 ±4.30 <sup>2)</sup>	-3.34 ±0.16 <sup>2)</sup>
PRD	10	0.885	0.322 ±0.021 <sup>1)</sup>	24.98 ±5.67	-3.52 ±0.22 <sup>1)</sup>
	9	1.770	0.251 ±0.013 <sup>2)</sup>	29.34 ±6.72 <sup>1)</sup>	-3.49 ±0.15 <sup>2)</sup>
	9	3.540	0.272 ±0.014 <sup>2)</sup>	27.30 ±7.19 <sup>1)</sup>	-3.48 ±0.20 <sup>2)</sup>

#### 4 讨论

糖尿病是由遗传和环境多种因素共同作用所引起的一种慢性高血糖状态, 由于胰岛 细胞破坏, 胰岛素分泌减少, 血糖持续在较高水平, 而蛋白质在高糖环境中极易发生非酶促糖基化, 继而引起一系列病理改变, 这是糖尿病慢性并发症发生、发展的关键环节之一<sup>[1]</sup>。在人体内, 除了血红蛋白外, 一些半衰期长的组织蛋白如基底膜、胶原、晶体蛋白质也会发生糖化作用。血浆白蛋白被糖化后, 其分解代谢减弱, 但半衰期不变。血浆低密度脂蛋白被糖化后, 在体内降解速度减慢, 在血中堆积, 而高密度脂蛋白被糖化后降解加快, 使高、低密度脂蛋白的比例下降, 即血管内脂质清除能力减弱, 脂质沉积因此增加, 这是形成糖尿病血管病变的重要原因。

组比较, P<0.01; PRD 低、中、高剂量组 ig 葡萄糖后不同时间点的血糖值, 与模型组比较, 均明显降低 (P<0.05 或 P<0.01)。结果见表 2。

**3.3 PRD 对肥胖型 T2DM 大血管损伤大鼠 GSP, INS 和 ISI 的影响** 模型组大鼠 GSP 明显升高, PRD 高、中剂量及马来酸罗格列酮均能显著降低 T2DM 模型大鼠 GSP (P<0.01), PRD 低剂量亦能降低 T2DM 模型大鼠 GSP (P<0.05); 模型组大鼠 INS, ISI 明显降低, PRD 高、中剂量及马来酸罗格列酮均能显著升高 T2DM 模型大鼠 INS, 增加 ISI。见表 3。

GSP 是血液中葡萄糖与白蛋白及其他蛋白质分子(不含血红蛋白) N 末端的氨基酸上发生缓慢连续的非酶促糖化反应, 形成具有酰胺键的糖化蛋白, 亦称果糖胺, 血清白蛋白的半衰期大约为 17 d 左右, 故 GSP 能反映测定前 2 周 ~3 周血糖的平均水平<sup>[1~2]</sup>。GSP 不受血红蛋白变异或其他可促进红细胞更新因素的影响, 评价、监控糖尿病的疗效迅速、灵敏、特异<sup>[3]</sup>, 同时标本不需前处理, 血清可直接测定。

近来许多研究<sup>[4~5]</sup>表明: 餐后高血糖与大血管并发症关系更加密切, 并且与心血管事件及其伴随的病死率之间有独立的相互关系, 甚至糖尿病患者糖耐量减低阶段, 其大血管病变就已发生。餐后血糖增高导致蛋白质糖基化增加、D-二聚体以及凝血酶原片段向血液循环中释放增多, 同时通过葡萄糖自动氧化途径和多元醇途径引起自由基的产生增加, 进而促进了动脉粥样硬化的形成。

菩人丹超微粉药物组成: 苦瓜(《广东新语》又称菩达)、人参、丹参、葛根等。针对 T2DM 大血管损伤的病机关键——“虚、瘀、络阻”而设, 临床研究证实其对糖尿病及其胰岛素抵抗并发的冠心病患者具有确切的治疗作用<sup>[6~7]</sup>。本研究结果显示: PRD 能降低 T2DM 模型动物的空腹血糖, 且降糖作用缓慢