

益气养阴活血方对胰岛素抵抗大鼠血清纤溶酶原激活物抑制物的影响

杨晓燕^{1*}, 王开成¹, 方朝晖²

(1. 浙江省杭州市萧山第三人民医院, 浙江 杭州 311251;
2. 安徽中医学院第一附属医院, 安徽 合肥 230031)

[摘要] 目的: 观察益气养阴活血方对胰岛素抵抗模型大鼠血清纤溶酶原激活物抑制物(PAF-1)含量的影响, 以初步明确其作用靶点。方法: 雄性 Wistar 大鼠随机分为空白组、模型组、中药低剂量组、高剂量组。空白组喂以普通饲料, 模型组与各给药组注射小剂量链脲佐菌素并喂以高热量饲料, 常规测定各组大鼠给药前后的体重、空腹血糖和给药后各组大鼠的空腹血清胰岛素水平, 计算胰岛素敏感性指数, 测定各组血脂、血清 PAF-1 水平。结果: 益气养阴活血方能有效地减轻模型大鼠体重, 明显降低大鼠的空腹血糖和空腹胰岛素水平, 改善脂代谢紊乱状况, 提高胰岛素敏感指数, 降低血清 PAF-1 水平($P < 0.05$)。结论: 益气养阴活血方对胰岛素抵抗大鼠有显著的改善作用, 其机制可能与降低血清 PAF-1 水平有关。

[关键词] 胰岛素抵抗; 益气养阴活血方; 血清纤溶酶原激活物抑制物

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)05-0052-03

Experimental Study of Yiqi Yangyin Huoxue Recipe's Effect on Serum PAF-1 Level in IR Rat

YANG Xiao-yan^{1*}, WANG Kai-cheng¹, FANG Zhao-hui²

(1. The 3rd Hospital of Xiaoshan, Hangzhou 311251, China;
2. The 1st Affiliated Hospital of Anhui College of TCM, Hefei 230031, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate Yiqi Yangyin Huoxue Recipe's effect on serum PAF-1 level in insulin resistance(IR) rat induced by low dose of streptozotocin(STZ) and high calorie food to find out its functional target. **Methods:** Male Wistar rats were randomly divided into normal group, model group, low dose of Yiqi Yangyin Huoxue Recipe treating group and high dose of Yiqi Yangyin Huoxue Recipe treating group. The rats of normal group were fed with common food while the others with high calorie food and injected with low dose of STZ. The weight, fasting blood glucose(FBG), fasting insulin(FIns), blood fat, PAF-1 level of all rats were measured, and insulin sensitivity index(ISI) was calculated accordingly. **Results:** Yiqi Yangyin Huoxue Recipe could reduce body weight of IR rats. According to the results of biochemical detection, Yiqi Yangyin Huoxue Recipe could reduce FBG level and FIns level, improve blood fat condition, enhance ISI while reduce serum PAF-1 level effectively ($P < 0.05$). **Conclusion:** Yiqi Yangyin Huoxue Recipe can ameliorate IR condition of the model rat and its mechanism is probably related to the effect of reducing serum PAF-1 secretion.

[Key words] insulin resistance; Yiqi Yangyin Huoxue Recipe; PAF-1

[收稿日期] 2007-08-20

[通讯作者] * 杨晓燕, Tel: (0571) 83039019, 82477391; E-mail: yxyh30@yahoo.com.cn

观察益气养阴活血方对小剂量链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)加高脂饮食诱导的2型糖尿病胰岛素抵抗(Insulin Resistance, IR)大鼠的体重、血糖、胰岛素、胰岛素敏感性指数(Insulin Sensitive Index, ISI)、血脂、血清纤溶酶原激活物抑制物-1(plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1)的影响,以观察益气养阴活血方的药理作用并初步阐明其作用机理。

1 材料

1.1 药物及试剂 益气养阴活血方是由太子参、丹皮、生地黄、泽泻、菟丝子、水蛭组成的复方制剂,安徽中医学院第一附属医院研制,由药物制剂中心生产(批号:030125),制备工艺为:取太子参1 000 g,牡丹皮800 g,生地黄800 g,泽泻600 g,菟丝子400 g,水蛭100 g,6味药材饮片加水浸泡0.5 h,煎煮提取3次,第1次加10倍量水煎煮1.5 h,第2次、第3次加8倍量水煎煮提取1 h。合并提取液过滤,减压浓缩至4:1,加入1%壳聚糖醋水溶液搅匀,冷藏静置絮凝24 h,减压过滤,滤液真空浓缩至相对密度为1.05~1.10(60℃),喷雾制粒,干燥整粒,充填抛光,包装成1 000粒胶囊。质检指标结论:按本品制剂质量标准草案和中国药典2000年版一部附录XIII微生物限度检查检验均符合规定。每粒胶囊含生药0.5 g;STZ,美国Sigma公司产品(批号:2002100210),北京夏斯生物技术有限公司提供;0.1 mol·L⁻¹, pH 4.4 柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液,北京夏斯生物技术有限公司提供;¹²⁵I 胰岛素放免试剂盒(批号:20011208),中国原子能科学研究院同位素研究所产品;血清PAI-I试剂盒(批号:20030426),购自军事医学科学院。基础饲料:蛋白质占23%,碳水化合物占53%,脂肪占5%;购自安徽医科大学动物房。高热量饲料由基础饲料加猪油、麻油、鸡蛋和花生等混合而成(在10 000 g基础饲料中加入150 g食盐,50 g白糖,2 000 g猪油,400 g麻油,2 000 g花生,900 g鸡蛋。碳水化合物48%,脂肪22%,蛋白质20%),自行配置。

1.2 实验动物 Wistar 雄性大鼠36只,体重(200±20)g,由河南医科大学实验动物中心提供,合格证号为3212。

1.3 主要仪器 Soft.Tact™“舒泰”血糖仪,美国雅培公司产品;TGL-168离心机,上海安亭科学仪器厂;日立-7060全自动生化分析仪,上海长征医学科技有

限公司;HH.W21-600型电热恒温水箱,上海医用恒温设备厂;XW-80A旋涡混合器,上海医科大学仪器厂;721分光光度计,上海第三分析仪器厂。

2 方法

2.1 动物分组及模型的制作 18月龄Wistar雄性大鼠36只,体重(200±20)g,造模前先用基础饲料适应性饲养1周。分4组,即:空白组、模型组、益气养阴活血方0.54、1.08 g·kg⁻¹(分别为临床用量的6、12倍),每组9只大鼠。灌胃给药(剂量按提取物量计算)。共计4周。采用司晓晨等提供的方法^[1],明暗周期12/12 h,自由摄食、饮水,空白组继续喂以基础饲料至实验结束。模型组及治疗组喂以高热量饲料,共计4周。然后按25 mg·kg⁻¹剂量1次性ip STZ(溶于0.1 mmol·L⁻¹柠檬酸缓冲液, pH 4.4)。造模成功的标准为:于72 h后禁食12 h按2 g·kg⁻¹体重灌喂20% D-葡萄糖溶液,做口服糖耐量实验,0和120 min血糖分别大于7.0和11.1 mmol·L。造模成功后,模型组及给药组继续喂以高热量饲料至实验结束,治疗组同时ig给药,空白组与模型组ig生理盐水。

2.2 指标的观察 末次给药后禁食12 h测体重、血糖,然后从腹主动脉抽血,离心、取血清,置-20℃冰箱保存,用以检测血脂、胰岛素、PAI-1。

2.2.1 体重测量 观察造模和给药前后动物的体重变化。

2.2.2 血糖的测定 给药前后断尾采血,用美国雅培公司Soft.Tact™“舒泰”血糖仪检测大鼠的血糖(FBG)。

2.2.3 血清甘油三酯、胆固醇和高密度脂蛋白测定 由安徽中医学院第一附属医院检验中心生化室测定。

2.2.4 血清空腹胰岛素(FIns)水平测定 用放免法测定血清FIns水平。按照李光伟^[2]的方法计算ISI,即ISI=ln 1/(FBG×FIns)。式中FBG为空腹血糖值计算时把Ins单位换算为mU·L⁻¹。

2.2.5 血清PAI-1测定 用比色法测定血清PAI-1,具体操作步骤按试剂盒说明书进行。

2.3 统计学方法 正态分布计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析。非正态分布资料调整为正态分布后再按上述方法进行统计分析。

3 结果

3.1 对大鼠体重和空腹血糖的影响 高热量饲料喂养的大鼠 1 个月后体重明显高于空白对照组, 精神状态良好、反应灵敏、皮毛光泽、活动减少; 腹腔注射 STZ 后渐出现消瘦、多饮、反应迟钝、皮毛乱脏等表现, 摄食量在注射 STZ 后头几天减少, 以后逐渐恢复正常。随着给药时间的延长, 大鼠的一般状态逐渐好转, 活动量增加, 皮毛红润光泽。对体重和空腹血糖的影响见表 1。

表 1 对大鼠体重和空腹血糖的影响($\bar{x} \pm s, n=9$)

组别	剂量 (g·kg ⁻¹)	体重(g)		FBC(mmol·L ⁻¹)	
		造模后	治疗后	造模后	治疗后
空白组	—	342.1 ± 19.1 ²⁾	382.5 ± 32.1 ²⁾	5.41 ± 1.31 ²⁾	5.68 ± 1.61 ²⁾
模型组	—	381.0 ± 20.9	435.8 ± 34.6	9.23 ± 1.57	9.33 ± 1.89
益气养阴活血方	0.54	378.9 ± 25.9	395.6 ± 23.9 ¹⁾	8.61 ± 1.45	7.89 ± 2.48
	1.08	374.6 ± 20.7	391.2 ± 21.1 ²⁾	8.79 ± 1.51	7.41 ± 1.71 ¹⁾

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

由表 1 可见, 各用药组与模型组比较, 体重明显减轻。高剂量组空腹血糖明显降低($P < 0.05$)。

3.2 对大鼠空腹血清胰岛素水平、ISI、血脂的影响

表 2 各组大鼠血清胰岛素、ISI、血脂的比较($\bar{x} \pm s, n=9$)

组别	剂量 (g·kg ⁻¹)	FIns		TC (mmol·L ⁻¹)	TC (mmol·L ⁻¹)	HDL-C (mmol·L ⁻¹)
		(mU·L ⁻¹)	ISI			
空白组	—	24.97 ± 5.61 ²⁾	-5.10 ± 0.22 ²⁾	0.43 ± 0.13 ²⁾	1.69 ± 0.28 ²⁾	1.51 ± 0.26 ²⁾
模型组	—	43.86 ± 9.68	-5.96 ± 0.15	1.86 ± 0.39	2.19 ± 0.25	1.02 ± 0.14
益气养阴活血方	0.54	36.88 ± 9.09	-5.76 ± 0.39	1.45 ± 0.37 ¹⁾	2.03 ± 0.27	1.19 ± 0.11 ²⁾
	1.08	33.56 ± 7.26 ¹⁾	-5.65 ± 0.38 ¹⁾	1.07 ± 0.34 ²⁾	1.96 ± 0.29	1.31 ± 0.11 ²⁾

由表 2 可知, 与模型组比较, 中药高剂量组 FIns 有明显降低($P < 0.05$)、ISI 有明显升高($P < 0.05$), TG、TC 均有不同程度降低; 各给药组大鼠 HDL-C 均显著升高($P < 0.01$), TG 水平显著降低。

3.3 对各组大鼠血清 PAF-1 的影响

表 3 各组大鼠血清 PAF-1 含量的比较($\bar{x} \pm s, n=9$)

组别	剂量(g·kg ⁻¹)	PAF-1(ng·mL ⁻¹)
空白组	—	19.27 ± 11.90 ¹⁾
模型组	—	44.25 ± 27.32
益气养阴活血方	0.54	27.23 ± 16.73 ¹⁾
	1.08	26.32 ± 20.63 ¹⁾

由表 3 可知, 中药高、低剂量组血浆 PAF-1 水平明显低于模型组($P < 0.05$)。

4 讨论

本实验采用小剂量 STZ 加高热量饮食喂养大鼠建立 IR 模型, 观察益气养阴活血方对 IR 大鼠血清 PAF-1 含量的影响, 探讨其作用机理。结果表明: 造模后, 模型组及各给药组大鼠体重增加, 空腹血糖明显增加, ISI 显著降低, 提示本实验所用动物模型基本符合 IR 的特征。给药后, 各给药组大鼠 FIns、ISI 升高, 提示益气养阴活血方能有效减轻 IR 程度。

2 型糖尿病 IR 合并血脂异常的典型脂谱是 TG 升高、HDL-C 降低及低密度脂蛋白增多^[3]。本实验测定了模型组大鼠血脂水平, 结果发现: TC、TG 显著增高, 而 HDL-C 显著降低, 且存在高胰岛素血症。给予益气养阴活血方治疗后血脂紊乱得到良好纠正, TG 显著下降, HDL-C 明显上升, 均近于正常水平。表明了益气养阴活血方具有良好的调脂效果, 从而改善了大鼠的 IR。

PAF-1 是血浆纤溶系统的主要抑制物, 它可与纤溶系统的主要激活物血浆纤溶酶原激活剂(t-PA) 和尿激酶结合, 抑制两者的活性, 导致纤溶酶的降低^[4]。

实验发现 2 型糖尿病大鼠血浆 PAF-1 的活性与 FIns 呈正相关, 与 ISI 显著负相关, 说明 2 型糖尿病大鼠 PAF-1 活性的升高与高胰岛素血症及 IR 有关, 益气养阴活血方可降低 IR 模型鼠的血浆 PAF-1 水平, 从而改善 IR。

综上所述, 益气养阴活血方能有效的改善 IR 大鼠的 IR 水平, 其降低血浆 PAF-1 的作用可能与其改善机体的脂代谢紊乱密切相关。中药复方改善 IR 是一个多方位多途径多层次的调节过程, 而 PAF-1 有可能是益气养阴活血方的一个作用靶点, 其具体机制有待进一步阐明。

[参考文献]

[1] 司晓晨, 尚文斌, 卞慧敏, 等. 链脲佐菌素加高脂膳食诱导 2 型糖尿病大鼠模型[J]. 安徽中医临床杂志, 2003, 15(5): 383-385.

[2] 李光伟, 潘孝仁, Lilliojas, 等. 检测人群胰岛素敏感性的一项新指数[J]. 中华内科杂志, 1993, 32(10): 656.

[3] 杨文英. 从脂毒性到糖尿病再到血脂异常[J]. 国外医学内分泌学分册, 2004, 24(4): 287-288.

[4] 高淑华, 宁光, 戴蒙, 等. NIDDM 中 PAF-1 与高胰岛素血症及胰岛素抵抗的关系[J]. 中华内分泌代谢杂志, 1997, 13(1): 60.