

lead to altered clinical severity of macrothrombocytopenia and anemia and are associated with variable skewed X inactivation [J]. *Hum Mol Genet*, 2002, 11(2): 147-152.

[7] Ashihara E, Vannucchi A M, Migliaccio G, et al. Growth factor receptor expression during *in vitro* differentiation of partially purified populations containing murine stem cells [J]. *J Cell Physiol*, 1997, 171(3): 343-356.

[8] Leonard M, Brice M, Engel J D, et al. Dynamics of GATA transcription factor expression during erythroid differentiation [J]. *Blood*, 1993, 82(4): 1071-1079.

[9] Dalyot N, Fibach E, Ronchi A, et al. Erythropoietin triggers a burst of GATA-1 in normal human erythroid cells differentiating in tissue culture [J]. *Nucleic Acids Res*, 1993, 21(17): 4031-4037.

[10] Scicchitano M S, McFarland D C, Tierney L A, et al. *In vitro* expansion of human cord blood CD36+ erythroid progenitors: temporal changes in gene and protein expression [J]. *Exp Hematol*, 2003, 31(9): 760-769.

[11] Deveaux S, Filipe A, Lemarchand V, et al. Analysis of the thrombopoietin receptor (MPL) promoter implicates GATA and Ets proteins in the coregulation of megakaryocyte-specific genes [J]. *Blood*, 1996, 87(11): 4678-4685.

[12] Minami T, Tachibana K, Imanishi T, et al. Both Ets-1 and GATA-1 are essential for positive regulation of platelet factor 4 gene expression [J]. *Eur J Biochem*, 1998, 258(2): 879-889.

[13] Martin F, Prandini M H, Thevenon D, et al. The transcription factor GATA-1 regulates the promoter activity of the platelet glycoprotein IIb gene [J]. *J Biol Chem*, 1993, 268(29): 21606-21612.

萆薢醇提物对胰岛素抵抗综合征大鼠模型的防治作用研究

万春平,包·照日格图,却翎,宋娜丽,唐志国

(云南中医学院中药学院,云南昆明 650200)

摘要:目的 观察萆薢醇提物(AEPL)对实验性胰岛素抵抗综合征(IRS)大鼠模型的防治作用,探讨其可能的作用机制。方法 采用高脂、高糖、高盐膳食制备 IRS 大鼠模型,喂养 4 周后预防性给予 AEPL,12 周后测定空腹血糖(FBG)、胰岛素水平(FINS)、口服葡萄糖耐量、游离脂肪酸(FFA)水平、甘油三酯(TG)和肿瘤坏死因子(TNF- α)水平,并计算胰岛素敏感指数(ISI)。结果 AEPL 明显增加 IRS 模型大鼠胰岛素敏感指数,改善糖耐量,降低 TNF- α 水平($P < 0.05, 0.01$),防止 FFA、TG 水平的上升($P < 0.05, 0.01$)。结论 AEPL 具有改善实验性 IRS 的作用,其机制可能与抑制 TNF- α 水平有关。

关键词:萆薢醇提物;胰岛素抵抗综合征;糖耐量;胰岛素敏感指数;肿瘤坏死因子

中图分类号:R285.5 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2010)01-0096-03

胰岛素抵抗综合征(insulin resistance syndrome, IRS)是包括高胰岛素血症、糖耐量异常、脂代谢紊乱和高血压等疾病和症状的总称。萆薢为胡椒科植物萆薢 *Piper longun* L. 的干燥近成熟或成熟果穗,是中蒙医习用药材,功能温中散寒、行气止痛。蒙医认为萆薢具有调理体素、分清化浊的功效。前期研究表明萆薢油非皂化物能显著抑制高脂血症模型总胆固醇水平^[1];萆薢有效成分萆薢宁能显著调节血脂代谢紊乱^[2];国外也报道其有效成分显著提高药物和营养物质的生物利用度^[3]。本研究采用高脂、高糖、高盐饲养制备实验性 IRS 大鼠模型,观察萆薢醇提物(AEPL)对实验性 IRS 大鼠模型胰岛素敏感指数、糖耐量、血脂及 TNF- α 水平的影响。

1 实验材料

1.1 动物与饲料:Wistar 大鼠,60 只,雄性,体质量 180~200 g,由四川省医学科学院实验动物研究所

提供,合格证号:SCXK(川)2004-16。标准饲料:蛋白质 23%,碳水化合物 53%,脂肪 5%。高脂饲料:基础饲料 51%,猪油 23%,蔗糖 24%,食盐 2%,由昆明医学院动物实验中心加工成颗粒。

1.2 药品与试剂:萆薢醇提取物(AEPL)采用 70%乙醇提取 3 次,回收溶剂浓缩至浸膏,每克浸膏相当于原生药 8.75 g,4℃ 保存备用,临用前以生理盐水按照设定浓度稀释。罗格列酮,成都恒瑞制药有限公司(批号 070201);TG 试剂盒、FFA 试剂盒、血糖度剂盒购自南京建成生物工程研究所(批号 0906111、20071114、20070718);TNF- α 试剂盒购自北京邦定公司(批号 20070915);胰岛素浓度由昆明医学院第一附属医院核医学科采用放免法检测。

1.3 仪器:756 型紫外-可见光分光光度仪(上海光谱仪器厂);DNM-9062G 型酶标仪(北京普朗新

收稿日期:2009-03-25

基金项目:云南省自然科学基金项目(2005C0014R)

作者简介:万春平(1981—),汉族,江西南昌人,硕士研究生,主要研究方向:临床中药学和药理学。

Tel: 13816430570 E-mail: wanchunping1012@yahoo.com.cn

*通讯作者 包·照日格图 Tel: (0871) 5918133 E-mail: rigdan@126.com

技术有限公司); TGL —20M 高速台式冷冻离心机 (湘仪离心机厂)。

2 实验方法

2.1 动物分组、IRS 模型制备和给药:健康 Wistar 雄性大鼠 60 只,适应性喂养 1 周后,随机分为 6 组:正常对照组,模型组,罗格列酮组 (ROG, 3 mg/kg), AEPL 高、中、低剂量组 (120、60、30 mg/kg), 每组 10 只,单笼饲养,明暗周期 12 h。实验前各组动物均采用眼底静脉丛取血,测定空腹血糖 (FBG)、甘油三酯 (TG) 水平。病理模型制备参照潘玲等方法^[4]略加改进,即将造模饲料的食盐 5% 调整为 2%。每天模型组和各用药组给予等量造模饲料饲喂,以制备 IRS 病理模型。同时,正常对照组喂养等最基础饲料,各组给予饮用清洁自来水。本实验采用预防性给药方法,在造模饲料喂养第 4 周后,按照设定剂量 ig 给药,正常对照组和模型组 ig 给予等容积生理盐水。各组给药次数、时间、体积均相同,饮食条件不变,连续给药 8 周,实验周期共计 12 周^[5]。

2.2 指标检测

2.2.1 FBG 及 FINS 检测:采用眼底静脉丛取血,分离血清,分别采用葡萄糖氧化酶-过氧化物酶法、放射免疫法测定 FBG 和胰岛素水平 (FINS),计算胰岛素敏感指数 [ISI = ln1 / (FINS × FBG)]^[6]。

2.2.2 口服葡萄糖耐量试验:以空腹血糖为基础,ig 25% 葡萄糖液 (葡萄糖 0.25 g/100 g 体质量) 后,分别于 0、1、2 h 测定血糖。

2.2.3 TG、游离脂肪酸 (FFA) 和肿瘤坏死因子 (TNF- α) 水平检测:以上述空腹分离的血清,分别采用 GPO-PAP 法、比色法、酶联免疫法检测 TG、FFA 和 TNF- α 水平,操作步骤按说明书进行。

2.3 统计学处理:数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 11.0 ONE-Way ANOVA 方法分析,组间比较采用 Dunnett 法检验,以 $\alpha = 0.05$ 为检验水准。

3 实验结果

3.1 对 IRS 大鼠模型 FBG、FINS 和 ISI 影响:FBG 动态检测结果显示,第 4、8 周 (即给药 4 周) 模型组 FBG 均高于正常对照组,经药物干预后,给药组 FBG 均低于模型组;实验 12 周 (即给药 8 周),同正常对照组相比较,模型组大鼠 FBG、FINS 均高于正常对照组 ($P < 0.05, 0.01$),而 ISI 低于正常对照组,经统计学处理差异有显著性意义 ($P < 0.01$);与模型组比较,给药组大鼠 FINS、FBG 水平均低于模型组,其中 FBG 水平差异有显著性 ($P <$

$0.05, 0.01$), ISI 则较模型组增加 ($P < 0.01$)。结果见表 1、2。

3.2 对 IRS 大鼠模型糖耐量的影响:糖耐量实验结果表明,当给予外源性葡萄糖时,正常对照组大鼠 1 h 血糖上升不明显,2 h 后迅速回落正常水平;而模型组与正常对照组比较,给予外源性葡萄糖 1 h 后,血糖迅速上升,出现一个高血糖时相,2 h 后仍处于高血糖状态 ($P < 0.01$),表明模型组出现明显糖耐量异常。经药物干预后,给药组 2 h 血糖水平均有显著下降 ($P < 0.01$),表明 AEPL 能够改善 IRS 大鼠模型糖耐量异常,结果见表 3。

表 1 AEPL 对 IRS 大鼠模型 FBG、FINS 和 ISI 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 1 Effect of AEPL on FBG, FINS, and ISI of IRS rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	FBG (mmol·L ⁻¹)	FINS (mIU·L ⁻¹)	ISI
正常对照	-	4.50 ± 0.04 **	9.98 ± 0.08 *	-3.87 ± 0.17 **
模型	-	7.46 ± 0.88	12.79 ± 3.37	-4.50 ± 0.29
ROG	3	4.14 ± 0.40 **	10.26 ± 3.31	-3.70 ± 0.33 **
AEPL	30	5.00 ± 0.15 **	12.02 ± 4.71	-3.75 ± 0.58 **
	60	5.42 ± 0.14 *	12.04 ± 4.09	-4.01 ± 0.44 *
	120	5.31 ± 0.91 *	11.88 ± 2.23	-3.66 ± 0.34 **

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$, 下表同

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group, following tables are same

表 2 AEPL 对 IRS 大鼠模型血糖的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effect of AEPL on blood glucose levels of IRS rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	血糖值/(mmol·L ⁻¹)			
		0周(n=10)	4周(n=8)	8周(n=8)	12周(n=8)
正常对照	-	3.55 ± 0.56	4.47 ± 0.29	4.34 ± 0.53 **	4.50 ± 0.04 **
模型	-	3.74 ± 0.65	4.76 ± 0.25	5.27 ± 0.39	7.46 ± 0.88
ROG	3	3.53 ± 0.84	4.35 ± 0.41	3.91 ± 0.46 **	4.14 ± 0.40 **
AEPL	30	3.76 ± 0.91	4.25 ± 0.23	4.05 ± 0.52 **	5.00 ± 0.15 **
	60	3.43 ± 0.62	4.53 ± 0.26	3.66 ± 0.50 **	5.42 ± 0.14 *
	120	3.51 ± 0.94	4.47 ± 0.66	3.75 ± 0.46 **	5.31 ± 0.91 **

表 3 AEPL 对 IRS 大鼠模型糖耐量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 3 Effect of AEPL on glucose tolerance of IRS rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	血糖值/(mmol·L ⁻¹)		
		0 h	1 h	2 h
正常对照	-	4.50 ± 0.04 **	8.18 ± 1.39	5.27 ± 0.19 **
模型	-	7.46 ± 0.88	11.06 ± 1.47	9.71 ± 0.94
ROG	3	4.14 ± 0.40 **	8.77 ± 0.81	6.84 ± 0.68 **
AEPL	30	5.00 ± 0.15 **	9.45 ± 2.02	6.19 ± 0.69 **
	60	5.42 ± 0.14 *	10.08 ± 1.97	7.22 ± 0.49 **
	120	5.31 ± 0.91 *	9.59 ± 1.34	6.78 ± 0.13 **

3.3 对 IRS 大鼠模型 TG、FFA、TNF- α 水平的影响: TG 水平动态检测结果显示,实验前各组 TG 水平无显著性差异,给予造模饲料 4 周后,大鼠 TG 水

平明显升高 ($P < 0.01$)。经药物干预后,各给药组 TG 均有所下降,其中 AEPL 高剂量组与模型组差异显著 ($P < 0.05$),结果见表 4。实验 12 周后,模型组大鼠血清 FFA、TNF- α 水平高于正常对照组,差异有显著性意义;药物干预后,给药组大鼠血清 FFA、TNF- α 均低于模型组 ($P < 0.05, 0.01$) 结果见表 5。

表 4 AEPL 对 IRS 大鼠模型 TG 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Effect of AEPL on TG levels of IRS rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	TG (mmol · L ⁻¹)			
		0周(n=10)	4周(n=8)	8周(n=8)	12周(n=8)
正常对照	-	0.61 ± 0.23	0.63 ± 0.14 **	0.92 ± 0.30 **	0.82 ± 0.37 **
模型	-	0.67 ± 0.16	1.44 ± 0.49	1.36 ± 0.26	1.71 ± 0.53
ROG	3	0.82 ± 0.84	1.32 ± 0.33	0.95 ± 0.35 *	1.37 ± 0.74
AEPL	30	0.73 ± 0.31	1.65 ± 0.37	1.12 ± 0.32	1.29 ± 0.33
	60	0.61 ± 0.29	1.49 ± 0.47	1.00 ± 0.60	1.19 ± 0.39 *
	120	0.64 ± 0.26	1.55 ± 0.50	0.97 ± 0.40 *	1.07 ± 0.23 **

表 5 AEPL 对 IRS 模型大鼠 FFA 和 TNF- α 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 5 Effect of AEPL on FFA and TNF- α levels of IRS rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/(mg · kg ⁻¹)	FFA/(μ mol · L ⁻¹)	TNF- α /(ng · L ⁻¹)
正常对照	-	846.74 ± 414.06 **	0.45 ± 0.30 **
模型	-	1605.72 ± 739.64	1.36 ± 0.45
ROG	3	919.16 ± 436.44 *	0.83 ± 0.30 *
AEPL	30	1200.34 ± 261.53	0.81 ± 0.11 **
	60	1129.28 ± 99.29 *	0.78 ± 0.22 **
	120	917.48 ± 110.33 *	0.75 ± 0.26 **

4 讨论

胰岛素抵抗是指胰岛素作用的靶器官(主要是肝、肌肉和脂肪)对胰岛素的敏感性下降,在疾病发展的早、中期,机体为克服靶器官的胰岛素抵抗,代偿性分泌过多的胰岛素,引起高胰岛素血症^[5]。胰岛素抵抗是贯穿 IRS 各组分的主线,是连接它们的纽带及导致各组分病理生理变化的基础。脂肪组织分泌产生的脂肪因子,影响胰岛素敏感性、血压水平等,参与 IRS 病理生理过程。现代研究发现 TNF- α 是一种具有多种生物活性脂肪细胞因子,参与肥胖相关的胰岛素抵抗。TNF- α 过度表达可通过以下机制导致胰岛素抵抗: 通过干扰胰岛素早期信号传导抑制胰岛素刺激肌肉及脂肪细胞葡萄糖跨膜转运的信号; 下调脂肪细胞 GLUT-4 的表达; 促进脂肪分解及 FFA 释放,从而抑制葡萄糖代谢; 引起循环中胰岛素拮抗激素水平升高,如瘦素; 刺激多种细胞因子的释放,参与血管舒缩反应及动脉

粥样硬化形成^[7]。本实验通过预防性给药 8 周,结果表明萆薹醇提取物(AEPL)能够改善糖耐量异常,防止模型大鼠血糖升高,增加外周组织(肌肉、脂肪组织)对胰岛素的敏感性,从而改善胰岛素抵抗。造模 12 周后,可见模型组大鼠血清中 TNF- α 水平显著高于正常对照组 ($P < 0.01$),说明 TNF- α 参与了 IRS 的发生发展。经药物干预后,罗格列酮、AEPL 均能降低 IRS 模型 TNF- α 水平,推测 AEPL 可能是通过抑制 TNF- α 水平升高,阻断以上机制中 TNF- α 致胰岛素抵抗途径,从而改善 IRS 症状。

IRS 的发生发展过程中多伴有脂代谢异常,胰岛素抵抗引起脂代谢异常与肝脏的胰岛素抵抗有关,其中一个重要的机制是胰岛素抵抗使脂肪细胞释放过多的 FFA, FFA 和 TG 是肝脏极低密度脂蛋白的主要来源,胰岛素抵抗可以使肝脏合成和分泌极低密度脂蛋白(VLDL)和 TG 水平都增加, FFA 增加又进一步加重胰岛素抵抗^[5]。本实验研究结果显示,AEPL 能够防止血清 FFA、TG 水平升高,改善 IRS 模型脂代谢异常。推测 AEPL 在改善糖代谢的同时,可能降低脂肪细胞释放过多的 FFA,阻断 IRS 病理过程中脂代谢异常的恶性循环,改善胰岛素抵抗。然而萆薹改善脂代谢作用机制有待进一步。

综上所述,萆薹醇提取物能够提高 IRS 模型大鼠胰岛素敏感性,改善胰岛素抵抗和脂代谢,其改善胰岛素抵抗作用可能与抑制 TNF- α 水平升高有一定关系。

参考文献:

- [1] 包·照日格图, 吴恩. 萆薹油非皂化物对小鼠高脂血症的影响 [J]. 中草药, 1992, 23(4): 197-199.
- [2] 麻春杰, 哈·斯阿古拉, 张立全, 等. 萆薹宁对高脂血症大鼠血脂代谢及其相关基因表达的影响 [J]. 中草药, 2008, 39(7): 1039-1043.
- [3] Badmaev V V, Majeed M, Prakash L. Piperine derived from black pepper increases the plasma levels of coenzyme q10 following oral supplementation [J]. J Nutr Biochem, 2000, 11: 109-113.
- [4] 潘玲, 刘继林, 王建, 等. 实验性胰岛素抵抗综合征大鼠模型 [J]. 华西医学, 2000, 15(4): 421.
- [5] 孙宝安, 段文若. 实用内分泌代谢疾病药物治疗学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003.
- [6] 李光伟, 潘孝仁, Stephen L, 等. 检测人群胰岛素敏感性一项新指数 [J]. 中华内科杂志, 1993, 32(10): 656.
- [7] 邱健力, 秦永文, 章建梁. 胰岛素抵抗综合征血清学标志物研究进展 [J]. 心血管疾病分册, 2002, 29(5): 267-269.