

黄芪多糖对大鼠胰岛素敏感性的影响

魏学娟¹,陈雪辉¹,翁孝刚^{1*},王涛¹,王镣²

(1. 新乡医学院第一附属医院内分泌科,河南 卫辉 453100;
2. 南阳医学高等专科学校第三附属医院,河南 南阳 473000)

【摘要】 目的:探讨黄芪多糖(APS)对高脂饲料诱导的大鼠胰岛素抵抗(IR)的治疗作用及机制。方法:将 48 只成年雄性 SD 大鼠随机分为正常对照组(NC 组,12 只)和高脂模型组(HFM 组,36 只),分别给予普通饲料和高脂饲料喂养。模型建立成功后,再次随机分组:高脂对照组(HFC 组)、APS 组和吡格列酮组(Pio 组),每组均 12 只,分别给予生理盐水,200 mg·kg⁻¹·d⁻¹ APS,20 mg·kg⁻¹·d⁻¹ Pio 干预 8 周。随机选取各分组中的一半大鼠进行高胰岛素-正葡萄糖钳夹试验,以葡萄糖输注率(GIR)判定机体的胰岛素敏感性。同时测定另一半大鼠的空腹血糖(FBG),空腹胰岛素(FINS),游离脂肪酸(FFA),脂联素(APN)和抵抗素水平。结果:与 NC 组相比,HFC 组大鼠血浆的 FINS,FFA 和抵抗素水平升高,GIR 和 APN 水平降低($P<0.05$);与 HFC 组相比,APS 组大鼠血浆的 FINS,FFA 和抵抗素水平降低,APN 水平和 GIR 升高($P<0.05$)。GIR 和血浆 FINS、抵抗素、FFA 浓度呈负相关,和血浆 APN 水平呈正相关($P<0.05$)。结论:APS 可以改善大鼠的胰岛素抵抗,可能与其升高血浆 APN 水平和降低血浆抵抗素有关。

【关键词】 黄芪多糖;高胰岛素-正葡萄糖钳夹技术;胰岛素抵抗;脂联素;抵抗素

【中图分类号】 R285.5 【文献标识码】 A 【文章编号】 1005-9903(2011)15-0156-05

Effects of Astragalus Polysaccharides on the Insulin Resistance in Rats

WEI Xue-juan¹, CHEN Xue-hui¹, WENG Xiao-gang^{1*}, WANG Tao¹, WANG Liao²

【收稿日期】 20101221(018)
【基金项目】 河南省科技厅资助项目(224630170)
【第一作者】 魏学娟,硕士研究生,主治医师,从事中西医结合内分泌学研究,Tel:13051357828,E-mail: 183445200@qq.com
【通讯作者】 *翁孝刚,博士,教授,硕士生导师,从事代谢综合征研究,Tel:0373-4402553,E-mail: wengxiaogang@yahoo.com.cn

烧伤一般系指热力,如热液(热水、热油、热汤)、火焰、炽热金属(溶化的液体或炽热的固体)、蒸气、高温气体、电能、化学物质、放射线、微波等所致的组织损伤,主要是皮肤损害。严重者可伤及皮下组织、肌肉、骨骼、关节、神经、血管甚至内脏,伤者痛苦难忍。烧烫伤存在着创面疼痛、进行性坏死、易感染、瘢痕愈合等四大难题,芦荟烧伤液具有促进创面愈合、抗炎、镇痛、抑菌作用,对烧烫伤的治疗有较好的作用,为其进一步的研究开发奠定了坚实的基础。

【参考文献】

[1] 夏红旻,孙立立,孙敬勇,等. 地榆化学成分及药理活性研究进展[J]. 食品与药品,2009,11(7):67.

[2] 史雪靖. 黄芩药理作用研究进展[J]. 中医药信息,2010,27(4):128.

[3] 林树坤. 关黄柏的利用与栽培[J]. 特种经济动植物,2001,11:25.

[4] 文金辉,郭涛,赵庆春. 复方虎杖蜂房喷雾剂治疗烧伤的药效学研究[J]. 中成药,2007,29(7):1066.

[5] 吴继禹,王志强,黄学荪. 紫草喷雾剂的研制及药效学观察[J]. 福建中医药,2004,35(5):43.

[6] 周兴兴,高诚,徐平,等. 人类疾病动物模型复制方法学[M]. 上海:上海科学技术文献出版社,2008:224.

[7] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,2003:882,911.

[8] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,2006:298.

[9] 胡然,贾永蕊,朱素君,等. 氯丙米嗪镇痛抗炎作用研究[J]. 中国疼痛医学杂志,2004,10(2):98.

【责任编辑 聂淑琴】

(1. *Endocrinological Department of the First Affiliated Hospital, Xinxiang Medical University, Weihui 453100, China*; 2. *The Third Affiliated Hospital, Advanced Medical School, Nanyang 473000, China*)

[Abstract] **Objective:** To study the mechanisms of ameliorating insulin resistance (IR) by astragalus polysaccharides (APS) in rats with IR. **Method:** Forty-eight healthy male Sprague-Dawley rats were randomly divided into two groups: the normal control group (NC group, $n = 12$) and the high fat-diet-induced model group of IR (HFM group, $n = 36$). Rats in the NC group were fed with ordinary diet while those in the HFM group were fed with high fat diet for six weeks. Then the rats in the HFM group were randomly divided into three groups: the high fat-diet-induced control group (HFC group, $n = 12$), pioglitazone group (Pio group, $n = 12$), APS group ($n = 12$), lavaged with saline, pioglitazone ($20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) and APS ($200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) respectively for eight weeks. Changes in fasting blood glucose (FBG), fasting insulin (FINS), free fat acid (FFA), resistin and adiponectin of rats were routinely measured, meanwhile glucose infusion rate of tissue was evaluated by hyperinsulinaemic-euglycaemic clamp technique. **Result:** The levels of plasma FINS, FFA, resistin of rats were significantly higher and the levels of APN, glucose infusion rate of tissues were significantly lower in the HFC group than those in the NC group ($P < 0.05$). Compared with those in the HFC group, the above mentioned indexes in APS group were improved significantly ($P < 0.05$). GIR and the levels of FFA, FINS, resistin, APN were conducted linear correlation analysis and showed significant correlations. **Conclusion:** The results indicate that APS can regulate part of the insulin signaling in IR serum, and that APS could be a potential insulin sensitizer for the treatment of IR by an increase of adiponectin and reduction of resistin in serum.

[Key words] astragalus polysaccharides; hyperinsulinaemic-euglycaemic clamp technique; insulin resistance; adiponectin; resistin

众多研究表明,胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)和胰岛 β 细胞功能缺陷是2型糖尿病发病和病程中的2个重要环节。此外,IR还是代谢综合征的基础障碍,与高血压、肥胖症、动脉粥样硬化和脂代谢异常等均有密切联系^[1-2]。黄芪多糖(astragalus polysaccharides, APS)是从中药黄芪干燥根中提取的大分子多糖成分,是黄芪的主要生物活性成分。本组实验的前期结果表明,APS可以促进3T3-L1脂肪细胞的葡萄糖摄取及细胞分化,改善IR^[3]。本研究旨在通过观察APS对饮食诱导大鼠IR的治疗效果及其对脂联素(adiponectin, APN)、抵抗素水平的影响,进一步探讨其改善IR的作用机制。

1 材料

1.1 药物与试剂 黄芪多糖(APS),是从中药黄芪干燥根中提取的大分子多糖成分,西安鸿生生物技术有限公司产品,纯度98%;胰岛素注射液(批号RVG0010);盐酸吡格列酮片(Pio),北京太平洋药业有限公司,批号20608。脂联素(APN),抵抗素,游离脂肪酸(FFA),空腹胰岛素(FINS)试剂盒(美国PhoenixBiotech公司试剂,批号分别为AP0456,

R8331, E0612, F1596)。

1.2 仪器 微电脑数字式电子微量输液泵(上海天呈科技有限公司产品,型号TJ-3A/W0109-1B),拜安捷血糖仪(德国拜耳公司产品,型号JF040000054)。

1.3 动物及饲料 健康雄性SD大鼠48只,体重200~220 g,购于郑州大学医学部实验动物中心(豫医动字第6108035号,清洁级)。饲料的配方是在杨爱君等^[4]建立的营养性肥胖动物模型的基础上配制。高脂饲料的成分:78%普通饲料+10%熟牛油+10%蛋黄粉+1%胆固醇+1%胆酸钠。每隔3~4 d配制一次新鲜饲料,置4℃冰箱保存。普通饲料和高脂饲料均由新乡医学院实验动物中心配制。

2 方法

2.1 动物模型的建立及分组 SD大鼠适应性喂养1周后随机分为正常对照组(NC组,12只)和高脂模型组(HFM组,36只),分别给予普通饲料和高脂饲料。饲养6周末,将HFM组随机分为:高脂对照组(HFC组)、APS组和吡格列酮组(Pio组),每组12只,分别给予生理盐水, $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 的APS, $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 的Pio, ig。干预8周后,随机选取各

分组中的一半大鼠,用于留取血标本,测定 FBG, FINS, FFA, APN 和抵抗素,另一半大鼠采用高胰岛素-正葡萄糖钳夹技术测定组织的葡萄糖输注率 (glucose infusion rate, GIR)。

2.2 实验指标的测定方法 FBG 测定采用葡萄糖氧化酶法;血浆 APN,抵抗素,FFA, FINS 均采用 Elisia 法。

2.3 高胰岛素-正葡萄糖钳夹试验 大鼠禁食 12 h,10% 水合氯醛 ip 麻醉,显效后分离大鼠股动、静脉并插管。股静脉接两个微电脑数字式电子微量输液泵控制输液,股动脉接肝素帽备查血糖和取血样。术后静置 40 ~ 60 min,输注 10 mU·kg⁻¹·min⁻¹ 胰岛素注射液,用羟乙基淀粉于使用前临时配制。输液开始后每 5 min 测 1 次血糖,当血糖值低于 (5.0 ± 0.5) mmol·L⁻¹ 时,开始以 4 ~ 6 mg·kg⁻¹·min⁻¹ 速度输注 20% 葡萄糖液,根据血糖水平调整 GIR,以保证血糖水平在 (5.0 ± 0.5) mmol·L⁻¹ 范围内。当连续 3 次血糖值均维持在 (5.0 ± 0.5) mmol·L⁻¹ 时,视为钳夹实验稳态形成,观察 120 min 结束实验。

稳态下 GIR 计算:将测定的稳态下第 (60 ~ 120 min) GIR 共 13 个葡萄糖输注率值求平均值,单位 mg·kg⁻¹·min⁻¹。稳态下血糖值 BG 计算:将测定的稳态下第 (60 ~ 120 min) BG,共 13 个 BG 值求平均值,单位:mmol·L⁻¹。

2.4 统计学处理 采用 SPSS 16.0 软件对实验结

果进行统计分析,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析及方差分析中均数的两两比较,变量的相互关系采用多元相关分析,*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 一般情况观察及体重变化 HFM 组大鼠较 NC 组活动减少,毛发光亮,体重增加,并逐渐表现出明显的腹型肥胖特征。实验期间各组摄食量未见显著差异。共有 2 只大鼠死亡:1 只死于药物干预过程中,是药物灌胃不善所致。另一只死于钳夹实验,可能因为麻醉过深。分组时,两组大鼠体重差异无显著意义。高脂饲养 3 周末和 6 周末,两组大鼠体重差异有显著意义(均为 *P* < 0.01);高脂饲养 6 周, HFM 组比 NC 组的体重 > 20%,认为肥胖大鼠模型建立成功。见表 1。

表 1 大鼠饲养 6 周后体重的变化 ($\bar{x} \pm s$) g				
组别	<i>n</i>	分组时	3 周末	6 周末
正常对照	12	205.83 ± 9.71	313.33 ± 8.76	384.17 ± 11.58
高脂模型	36	205.83 ± 15.15	342.83 ± 20.91 ¹⁾	469.17 ± 19.21 ¹⁾

注:与正常对照组比较¹⁾ *P* < 0.01。

3.2 钳夹实验的数据测定 BG,平均 CV_{BG} 和平均 CV_{GIR} 各干预组间进行比较,无显著性差异。与 NC 组相比,HFC 组稳态期的 GIR 显著减低(*P* < 0.01);与 HFC 组相比,Pio 组、APS 组的 GIR 显著升高(*P* < 0.01)。Pio 组和 APS 组进行比较,无显著性差异。见表 2。

表 2 钳夹实验稳态时 BG 和 GIR 及其变异系数的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	<i>n</i>	BG/mmol·L ⁻¹	平均 CV _{BG} /%	GIR/mg·kg ⁻¹ ·min ⁻¹	平均 CV _{GIR} /%
正常对照	-	6	5.02 ± 0.23	3.46 ± 0.7	23.49 ± 2.81	3.41 ± 0.66
高脂模型	-	6	5.00 ± 0.24	3.00 ± 0.94	13.15 ± 2.99 ¹⁾	2.84 ± 0.21
Pio	20	5	5.02 ± 0.27	3.40 ± 0.85	22.62 ± 2.87 ²⁾	2.88 ± 0.50
APS	200	5	5.07 ± 0.33	2.20 ± 0.60	21.49 ± 3.16 ²⁾	2.34 ± 0.71

注:与正常对照组比较¹⁾ *P* < 0.01;与高脂模型组比较²⁾ *P* < 0.01。

3.3 血浆学指标 和 NC 组比较,HFC 组的 FINS, FFA 和抵抗素水平升高,差异有显著意义 (*P* < 0.01)。和 HFC 比较,Pio 组的 FINS,FFA 和抵抗素水平减低,差异有显著意义 (*P* < 0.01);APS 组的 FINS,FFA 和抵抗素水平减低,差异有显著意义 (*P* < 0.01;*P* < 0.01;*P* < 0.05)。和 NC 组比较,HFC 组的 APN 水平减低,差异有显著意义 (*P* < 0.01);和 HFC 组比较,Pio 组和 APS 组的 APN 水平均升高,差

异有显著意义 (*P* < 0.01)。见表 3。

3.4 血浆学指标与钳夹实验 GIR 水平的相关分析 GIR 和血浆 FINS,抵抗素,FFA 浓度存在显著负相关, *R* 和 *P* 分别 [*(R* = - 0.867, *P* < 0.01); (*R* = -0.834, *P* < 0.05); (*R* = -0.665, *P* < 0.01)] 和血浆 APN 水平存在显著正相关 (*R* = 0.840, *P* < 0.01)。

表 3 黄芪多糖对血浆学指标的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	n	FBG/mmol·L ⁻¹	FINS/mU·L ⁻¹	FFA/ μ mol·L ⁻¹	抵抗素/ μ g·L ⁻¹	APN/mg·L ⁻¹
正常对照	-	6	4.58 ± 0.32	19.16 ± 5.23	326.07 ± 44.21	20.75 ± 3.17	15.44 ± 2.68
高脂模型	-	6	5.4 ± 0.41	35.82 ± 8.25 ¹⁾	452.32 ± 38.09 ¹⁾	34.22 ± 3.85 ¹⁾	7.63 ± 1.32 ¹⁾
Pio	20	5	4.73 ± 0.47	21.63 ± 6.02 ³⁾	353.62 ± 34.27 ³⁾	22.57 ± 2.99 ³⁾	13.63 ± 1.98 ³⁾
APS	200	5	4.82 ± 0.31	23.54 ± 5.74 ³⁾	364.85 ± 37.20 ³⁾	23.40 ± 3.92 ²⁾	12.30 ± 1.84 ³⁾

注:与正常对照组比较¹⁾ $P < 0.01$;与高脂模型组比较²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$ 。

4 讨论

IR 是代谢综合征的病理生理学基础。判断机体有无 IR,必须准确测定胰岛素敏感性。在众多评估 IR 的方法中,高胰岛素-正葡萄糖钳夹技术是目前国内外公认的评价胰岛素敏感性的金标准。由于该技术复杂耗时、费用昂贵,对技术水平要求高,在我国开展较少。本实验采用该技术,形成稳态的时间为 20 ~ 50 min,各组平均 CV_{BG},平均 CV_{GIR}均低于 5%,提示本实验建立的钳夹技术稳定、可靠。

近来研究表明,脂肪组织是一种内分泌器官,其分泌的脂肪细胞因子如 APN、抵抗素、白细胞介素-6 (IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、血浆纤溶酶原激活物抑制物 1 (PAI-1)等在 IR 的发生发展中起着关键性作用^[5-6]。其中,APN 和抵抗素被认为是机体代谢紊乱和严重程度的生物标志物^[7-8],其水平的改变是 IR 独立的预测因子^[9-10],成为诊断代谢综合征的指标。APN 是一种由脂肪细胞分泌的血浆蛋白,其浓度随 BMI、腰围的增加而降低^[11],增加循环 APN 的浓度可以增加周围组织的胰岛素敏感性,降低则可以增加代谢综合征的发病风险^[12]。本研究也观察到了类似的变化:HFC 组血浆 APN 浓度较 NC 组显著降低,并伴有明显的高胰岛素血症^[8];而且血浆 APN 浓度与 FINS 水平呈负相关,与代表机体胰岛素敏感性的 GIR 水平呈正相关。上述结果可能与 APN 激活肝脏中的 5'-单磷酸腺苷活化蛋白激酶 (AMPK) 途径^[13]和促进骨骼肌中的葡萄糖转运子 4 的转位途径^[14]有关。

抵抗素也是由脂肪细胞分泌的多肽类激素,主要表达于白色脂肪组织。研究表明^[15]:抵抗素于肥胖时增加,有影响血糖内环境稳定 and 对抗胰岛素的作用,是联系炎症和代谢综合征的信号分子^[16],其水平升高可导致 IR^[17]。本研究显示:HFC 组血浆抵抗素浓度较 NC 组显著升高,抵抗素水平和 FFA、INS 水平均呈正相关,和 GIR 呈负相关,这和上述的报道一致。其机制可能为慢性高抵抗素血症导致全

身性 IR,包括骨骼肌、肝脏和脂肪组织中的胰岛素信号转导受损,从而导致糖耐量减低、高胰岛素血症^[18]。

APS 是从黄芪中提取出来的一种大分子化合物。体外研究表明:APS 可以促进 3T3-L1 脂肪细胞的葡萄糖摄取及细胞分化,增加其 PPAR γ mRNA 的表达,改善 IR^[3,19]。在体研究表明:APS 可以改善小鼠肝脏的 IR 和高胰岛素血症^[20]。本研究应用 APS 干预 8 周后,APS 组大鼠的 GIR 水平较 HFC 组显著升高,FINS 水平显著降低,提示 APS 可以提高机体胰岛素敏感性,在治疗 IR 方面有一定的疗效和应用前景。同时,APS 组血浆 APN 水平较 HFC 组显著升高,抵抗素水平显著降低。由此可以推断,APS 改善 IR 的作用可能是通过上调血浆 APN 水平和下调血浆抵抗素水平实现的,但仍需从基因水平上进一步证实。另外,由于脂肪细胞强大的内分泌功能以及层出不穷的脂肪细胞因子的发现,推测 APS 改善 IR 的机制可能与其促进多种脂肪细胞因子水平的改变有关,其具体机制有待进一步探讨。

[参考文献]

[1] Grundy S M. Metabolic syndrome pandemic [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol,2008,28(4):629.

[2] Alberti K G,Zimmet P Z. Should we dump the metabolic syndrome[J]. BMJ,2008,336(7645):641.

[3] 刘宏志,翁孝刚,杨献军,等. 黄芪多糖对体外培养大鼠脂肪细胞分泌脂联素及 IL-6 的影响[J]. 医学信息手术学分册,2007,20(11):1009.

[4] 杨爱君,崔雁,叶卉初,等. 营养性肥胖动物模型的建立[J]. 临床和实验医学杂志,2005,3(4):156.

[5] Klötting N, Fasshauer M, Dietrich A, et al. Insulin-sensitive obesity [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2010,299(3):E506.

[6] Fargnoli J L, Sun Q, Olenczuk D, et al. Resistin is associated with biomarkers of inflammation while total and high-molecular weight adiponectin are associated with biomarkers of inflammation, insulin resistance, and

- endothelial function [J]. Eur J Endocrinol, 2010, 162 (2):281.
- [7] Karbowska A, Boratyńska M, Klinger M. Resistin: a pathogenic factor or a biomarker of metabolic disorders and inflammation? [J]. Postepy Hig Med Dosw, 2009, 63 (1):485.
- [8] Bik W, Ostrowski J, Baranowska-Bik A, et al. Adipokines and genetic factors in overweight or obese but metabolically healthy Polish women [J]. Neuro Endocrinol Lett, 2010, 31 (4):497.
- [9] Kim S K, Choe J Y, Park S H, et al. Increased insulin resistance and serum resistin in Korean patients with Behçet's disease [J]. Arch Med Res, 2010, 41 (4):269.
- [10] Zhuo Q, Wang Z Q, Fu P, et al. Association between adiponectin and metabolic syndrome in older adults from major cities of China [J]. Biomed Environ Sci, 2010, 23 (1):53.
- [11] Shaibi G Q, Cruz M L, Weigensberg M J, et al. Adiponectin independently predict metabolic syndrome in overweight latino youth [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2007, 92 (5):1809.
- [12] Wang C H, Wang J H, Lee C J, et al. Fasting serum adiponectin level inversely correlates with metabolic syndrome in peritoneal dialysis patients [J]. Blood Purif, 2010, 30 (1):1.
- [13] Kahn B B, Alquier T, Carling D, et al. AMP-activated protein kinase: ancient energy gauge provides clues to modern understanding of metabolism [J]. Cell Metab, 2005 (1), 1:15.
- [14] Tsuchida A, Yamauchi T, Kadowaki T. Nuclear receptors as targets for drug development: molecular mechanisms for regulation of obesity and insulin resistance by peroxisome proliferator-activated receptor- γ , CREB-binding Protein, and ediponectin [J]. J Pharmacol Sci, 2005, 97 (2):164.
- [15] Ochi M, Osawa H, Hirota Y, et al. Frequency of the G/G genotype of resistin single nucleotide Polymorphism at-420 appears to be increased in younger-onset type 2 diabetes [J]. Diabetes, 2007, 56 (11):2834.
- [16] Pang S S, Le Y Y. Role of resistin in inflammation and inflammation-related diseases [J]. Cell Mol Immunol, 2006, 3 (1):29.
- [17] Luo Z, Zhang Y, Li F, et al. Resistin induces insulin resistance by both AMPK-dependent and AMPK-independent mechanisms in HePG2 cells [J]. Endocrine, 2009, 36 (1):60.
- [18] Palanivel R, Maida A, Liu Y, et al. Regulation of insulin signaling, glucose uptake and metabolism in rat skeletal muscle cells upon prolonged exposure to resistin [J]. Diabetologia, 2006, 49 (1):183.
- [19] 刘毅, 王文健, 陈伟华, 等. 黄芪多糖对 3T3-L1 前脂肪细胞增殖和分化的影响 [J]. 中西医结合学报, 2007, 5 (4):421.
- [20] Liu M, Wu K, Mao X, et al. Astragalus Polysaccharide improves insulin sensitivity in KKAY mice: regulation of PKB/GLUT4 signaling in skeletal muscle [J]. J Ethnopharmacol, 2010, 127 (1):32.

[责任编辑 聂淑琴]