

• 论著 •

复方丹参滴丸对胰岛素抵抗大鼠脂联素分泌作用的调控研究

陈 频, 徐向进, 史道华

(南京军区福州总医院内分泌科, 福建 福州 350025)

【摘要】 目的 观察复方丹参滴丸(DSP)对胰岛素抵抗(IR)大鼠脂代谢的作用,探讨其改善 IR 的机制。**方法** 24 只 SD 大鼠被随机分为正常对照(NC)组、IR 组及 DSP 组,每组 8 只。隔日 1 次,共 4 次肌肉注射地塞米松 1 mg/kg 诱导大鼠产生 IR 制备动物模型;DSP 组每日晨给予 DSP 0.5 g/kg(溶于生理盐水中)灌胃 1 次。给药 8 周后心脏采血检测空腹血糖(FPG)、空腹胰岛素(FINS)、总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、一氧化氮合酶(NOS)、一氧化氮(NO);计算胸主动脉肌层/管壁厚度;并采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定血清脂联素(ADPN)浓度。**结果** 制模成功大鼠稳态模型胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)及 TC、TG 较 NC 组明显增加, NOS、NO 生成减少,胸主动脉肌层/管壁厚度明显增加,ADPN 分泌减少;经 DSP 干预后,大鼠 HOMA-IR 及 TC、TG 均较 IR 组明显降低, NOS 及 NO 生成增加,胸主动脉肌层/管壁厚度明显减小,血清 ADPN 分泌增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。**结论** DSP 具有改善 IR 的作用,并与其促进血清 ADPN 分泌密切相关。

【关键词】 复方丹参滴丸;脂联素;胰岛素抵抗;脂代谢

中图分类号:R285.5;Q253

文献标识码:A

文章编号:1008-9691(2008)06-0326-03

Regulation of Danshen dripping pill (复方丹参滴丸) on the serum adiponectin expression in insulin resistant rats CHEN Pin, XU Xiang-jin, SHI Dao-hua. Department of Endocrinology, PLA Fuzhou General Hospital, Fuzhou 350025, Fujian, China

Corresponding author: XU Xiang-jin

【Abstract】 Objective To investigate the effects and the mechanism of Danshen dripping pill (DSP, 复方丹参滴丸) on the lipid metabolism in rats under insulin resistant (IR) status. **Methods** Twenty-four Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into normal control ($n=8$), IR control ($n=8$) and DSP groups ($n=8$). The rats were given dexamethasone (1 mg/kg) intramuscular injection once every other day to induce the IR status in the latter two groups, and the rats in DSP group were administered intra-gastrically with DSP 0.5 g/kg dissolved in normal saline once a day in the morning at 9 o'clock, and in the mean time, the rats in the normal and IR control groups were given intra-gastrically with equal amount of 0.9% NaCl. After 8 weeks of treatment, fasting blood glucose (FBG), fasting insulin (FINS), total cholesterol (TC), triglyceride (TG), nitric oxide synthase (NOS), nitrogen monoxidum (NO), smooth muscle depth/wall thickness of thoracic aorta were detected, and serum adiponectin concentration was measured by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), respectively. **Results** After IR model was successfully established, the insulin resistance index (HOMA-IR), TC and TG were increased, the serum NOS production and NO were decreased, smooth muscle depth/wall thickness of thoracic aorta was increased significantly, and the secretion of adiponectin concentration was decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). However, after interference of DSP, the results of dexamethasone administration were reversed, showing that the HOMA-IR, TC and TG were markedly decreased, the serum NOS production and NO were increased, smooth muscle depth/wall thickness of thoracic aorta was decreased significantly, and the secretion of adiponectin concentration was increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion** It is suggested that Danshen dripping pill improve the lipid metabolism and reverse the IR, the mechanism may be closely related to the promotion of serum adiponectin secretion.

【Key words】 Danshen dripping pill; adiponectin; insulin resistance; lipid metabolism

胰岛素抵抗(IR)是肥胖、高血脂、高血糖、高血压、高尿酸等一系列代谢紊乱的共同病理基础^[1],探

讨 IR 机制及其防治已成为近年来的研究热点。现代中药研发提示,丹参、葛根、黄连等单味及复方活血化瘀药剂具有改善 IR 的潜在作用,但确切机制尚未阐明。本研究通过观察活血化瘀中药复方丹参滴丸(DSP)对 IR 大鼠稳态模型胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)、体重(BW)、总胆固醇(TC)、三酰甘

基金项目:福建省自然科学基金资助项目(2008J0104)

通信作者:徐向进,硕士生导师

作者简介:陈 频(1969-),女(汉族),福建省人,医学硕士,主治医师,研究方向为胰岛素抵抗,Email:chenpin@21cn.com。

油(TG)、一氧化氮合酶(NOS)、一氧化氮(NO)及胸主动脉肌层增殖的影响,并探讨这种影响与脂联素(ADPN)分泌的关系,试图从脂代谢角度深入揭示DSP改善IR的作用及其机制。

1 材料与方法

1.1 IR大鼠模型建立和分组:SPF级雄性SD大鼠24只,按随机数字表法分为正常对照(NC)组、IR组及DSP组,每组8只。隔日1次,肌肉注射地塞米松磷酸钠注射液1mg/kg,共4次,建立IR模型。DSP浸膏为天津天士力制药集团有限公司产品,按0.5g/kg溶于生理盐水,于每日晨灌胃1次,NC组和IR组予等量生理盐水。给药8周后,心脏采血检测血清学指标,剪取大鼠胸主动脉,观察血管变化。

1.2 检测指标及方法

1.2.1 血糖、TC、TG、空腹胰岛素(FINS)检测:空腹血糖(FPG)采用己糖激酶法,TC、TG采用脂酶法,均用自动生化仪测定,FINS检测采用放射免疫法,自动放射免疫仪测定。

1.2.2 NOS活性和NO含量检测:按照试剂盒说明书测定总NOS活性和NO含量(试剂盒由南京汇标生物科技有限公司生产,批号:060901)。

1.2.3 血清ADPN检测:采用酶联免疫吸附法(ELISA,试剂盒为美国Chemicon公司产品,批号:0611045021)。

1.2.4 指数的计算: $HOMA-IR = FINS \times FPG / 22.5$;稳态模型胰岛素敏感指数($HOMA-ISI = 1 / (FINS \times FPG)^{[2]}$ 。

1.2.5 胸主动脉肌层/管壁厚度测定:采用Weigert间苯二酚复红染色法。

1.3 统计学分析:成组数据用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,统计学处理使用SPSS 11.0统计软件,组间差异比较采用单因素方差分析,两样本均数比较采用Student's *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠FPG、FINS、HOMA-IR、HOMA-ISI水平比较(表1):IR组FPG、FINS、HOMA-IR较NC组明显增加,HOMA-ISI明显降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。DSP组FPG、HOMA-IR较IR组明显降低,HOMA-ISI明显增加(P 均 < 0.05),FINS与IR组无明显差异($P > 0.05$)。

2.2 各组大鼠BW、TC、TG、ADPN水平比较(表2):IR组TC、TG较NC组明显升高,BW、ADPN明显降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。DSP组TC、TG较IR组明显降低,BW、ADPN明显增加(P 均 < 0.05)。

表1 各组大鼠FPG、FINS、HOMA-IR、HOMA-ISI水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	FPG (mmol/L)	FINS (mU/L)	HOMA-IR	HOMA-ISI
NC组	8	4.42±0.60	165.0±19.0	3.47±0.20	-6.58±0.20
IR组	8	6.44±0.19 ^a	305.0±21.3 ^b	4.57±0.07 ^a	-7.58±0.07 ^a
DSP组	8	5.04±0.40 ^c	197.0±46.4	3.58±0.19 ^c	-6.76±0.19 ^c

注:与NC组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$;与IR组比较,^c $P < 0.05$

表2 各组大鼠BW、TC、TG、ADPN水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	BW (g)	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	ADPN (μg/L)
NC组	8	568.0±28.6	1.36±0.11	0.28±0.03	9.18±0.40
IR组	8	308.0±25.9 ^b	2.50±0.29 ^a	0.90±0.16 ^a	5.06±0.52 ^b
DSP组	8	386.0±30.5 ^c	1.30±0.19 ^c	0.50±0.24 ^c	7.83±0.42 ^c

注:与NC组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$;与IR组比较,^c $P < 0.05$

2.3 各组大鼠NOS活性、NO及胸主动脉肌层/管壁厚度测定(表3):IR组NOS活性、NO含量较NC组明显降低,胸主动脉肌层/管壁厚度明显增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。DSP组NOS活性、NO含量较IR组明显增加,胸主动脉肌层/管壁厚度明显减小($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

表3 各组大鼠NOS活性、NO及胸主动脉肌层/管壁厚度比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	NOS活性 (μmol/g)	NO含量 (μmol/L)	肌层/管壁厚度
NC组	8	0.235±0.060	0.055±0.030	0.612±0.050
IR组	8	0.117±0.050 ^b	0.019±0.050 ^b	0.672±0.040 ^a
DSP组	8	0.213±0.080 ^d	0.073±0.060 ^d	0.611±0.070 ^c

注:与NC组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$;与IR组比较,^c $P < 0.05$,^d $P < 0.01$

3 讨论

根据中医学理论对IR进行的研究虽尚未形成统一认识,但多认为IR与痰瘀互结、痰瘀阻络有关,主张以活血化瘀方药防治^[3-6]。临床研究观察到,葛根、丹参、黄芪、黄连等单味药以及活血化瘀复方具有抗血小板黏附和聚集、扩张血管、调节血脂、改善血液流变学状态、抗动脉粥样硬化等方面的独特疗效。药理及分子生物学研究亦证实,丹参具有抑制脂质过氧化物生成以及氧化应激反应,调节血管内皮功能及糖脂代谢,改善IR的潜在作用^[5-6]。

据研究,IR发病机制与脂肪因子分泌异常密切相关,ADPN是惟一与IR呈负相关的脂肪细胞因子,可作为内源性胰岛素增敏因子预测、防治IR的

发生发展^[7-8]。IR 可引起并加重血管内皮损伤,加剧动脉粥样硬化进程。血流动力学改变、高胆固醇(特别是低密度脂蛋白及氧化型低密度脂蛋白增加)对血管内皮细胞产生毒性作用,诱发内皮功能减弱;同时脂质激活补体趋化单核细胞,诱导内皮细胞表达黏附分子,在斑块形成早期促使血液中的白细胞和单核细胞迁入内皮,在已形成的斑块组织中则促使斑块扩大;促进血管中层平滑肌细胞复制、分裂和增殖。而 ADPN 通过抑制骨髓单核/巨噬细胞的增殖,减少单核/巨噬细胞的产生,抑制成熟巨噬细胞的吞噬活性以及肿瘤坏死因子- α 的生成和分泌,抑制其激活核转录因子- κ B 达到抗炎作用,促进内皮细胞合成及释放 NO;同时抑制其转化为泡沫细胞,从而抑制平滑肌细胞增殖,发挥抗动脉粥样硬化功能^[9]。在动物实验中也观察到,敲除 ADPN 基因的大鼠可引发 IR,而经补充外源性 ADPN 或其球状结构域后,能通过抑制肿瘤坏死因子- α ,改善胰岛素受体后信号转导,抑制肝糖输出,改善肌肉中脂质代谢提高胰岛素敏感性,明显降低血糖和血脂^[10]。

DSP 主要组分为丹参、三七、冰片,是祖国中医药记载的活血化瘀复方制剂。我们在血管平滑肌细胞增殖实验中观察到,DSP 通过 NO 介导明显抑制了高糖高胰岛素诱导的平滑肌细胞增殖^[11],因而本研究中进一步从整体动物考察 DSP 对 IR 时脂代谢的作用,选用雄性 SD 大鼠以糖皮质激素隔日 1 次肌肉注射地塞米松 1 mg/kg,1 周后观察到大鼠 HOMA-IR 及 TC、TG 明显增高,BW、HOMA-ISI 明显降低,表明 IR 模型制模成功,与文献^[12-14]报道一致。本研究中观察到,IR 大鼠较正常大鼠 NOS 活性、NO 分泌明显降低,胸主动脉肌层/管壁厚度明显增加,血清 ADPN 水平亦明显降低;而经 DSP 干预 8 周,IR 大鼠上述各指标均有不同程度改善,HOMA-IR 及 TC、TG 明显降低,NOS 活性和 NO 含量增加,胸主动脉肌层/管壁厚度亦明显减小;血清 ADPN 水平明显增加。

文献报道,DSP 可降低血液黏稠度,改善血液流变性,调解红细胞电泳率,激活纤维酶原,促进纤维蛋白转化,产生纤溶作用,改善微循环,扩张血管,提高超氧化物歧化酶活性,影响血脂的转化和清除,发挥降低 TC、TG、低密度脂蛋白胆固醇及增加高密度脂蛋白胆固醇的调脂作用,改善血管内皮功能等作用^[15-18]。结合本研究结果表明,DSP 具有改善 IR 的作用,机制与其多成分、多途径、多靶点的复方制剂作用特点有关,通过上调血清 ADPN 分泌,促

进 NOS、NO 生成,调节血脂、抑制血管平滑肌增殖,发挥其调节 IR 大鼠脂代谢的作用。

参考文献

- [1] Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease[J]. Nutrition, 1987, 13(1): 65.
- [2] 李光伟,潘孝仁,Stephe L,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): 656-660.
- [3] 魏治鹏,郭宏敏. 代谢综合征中的郁和瘀[J]. 辽宁中医杂志, 2006, 33(7): 803-804.
- [4] 张京春,陈可冀. 代谢综合征与中西医结合综合干预[J]. 中国中西医结合杂志, 2004, 24(11): 1029-1032.
- [5] 赵天豫,郭改会. 化痰解毒法防治胰岛素抵抗 2 型糖尿病的研究[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2002, 9(3): 176.
- [6] 张化民,周小明,金耀松. 丹参注射液对实验性动脉内膜增生的抑制作用[J]. 中国危重病急救医学, 1997, 9(8): 459-461.
- [7] Pannacchiulli N, Bunt JC, Ortega E, et al. Lower total fasting plasma adiponectin concentrations are associated with higher metabolic rates [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2006, 91(4): 1600-1603.
- [8] Yokoyama H, Emoto M, Mori K, et al. Plasma adiponectin level is associated with insulin-stimulated nonoxidative glucose disposal [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2006, 91(1): 290-294.
- [9] Hug C, Lodish HF. The role of the adipocyte hormone adiponectin in cardiovascular disease [J]. Curr Opin Pharmacol, 2005, 5(2): 129-134.
- [10] Kobayashi K, Inoguchi T, Sonoda N, et al. Adiponectin inhibits the binding of low-density lipoprotein to biglycan, a vascular proteoglycan [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 335(1): 66-70.
- [11] 陈颖,徐向进. 复方丹参滴丸对高糖/高胰岛素诱导兔胸主动脉平滑肌细胞增殖的抑制作用[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2007, 14(5): 313-316.
- [12] Severino C, Brizzi P, Solinas A, et al. Low-dose dexamethasone in the rat: a model to study insulin resistance [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2002, 283(2): E367-373.
- [13] Burén J, Liu HX, Jensen J, et al. Dexamethasone impairs insulin signalling and glucose transport by depletion of insulin receptor substrate-1, phosphatidylinositol 3-kinase and protein kinase B in primary cultured rat adipocytes [J]. Eur J Endocrinol, 2002, 146(3): 419-429.
- [14] Tappy L, Randin D, Vollenweider P, et al. Mechanisms of dexamethasone-induced insulin resistance in healthy humans [J]. J Clin Endocrinol Metab, 1994, 79(4): 1063-1069.
- [15] 刘志扬. 复方丹参滴丸对 2 型糖尿病合并微血管病变的临床观察[J]. 中国血液流变学杂志, 2004, 14(2): 197-203.
- [16] 王山岭,王丽霞,孙月和. 复方丹参滴丸对不稳定型心绞痛患者血小板活化及纤溶活性的影响[J]. 中国心血管杂志, 2003, 8(5): 354-356.
- [17] 马晓静,张兴华,马红军,等. 复方丹参滴丸对球囊损伤血管内膜增生修复的影响[J]. 临床心血管病杂志, 2006, 22(7): 437-438.
- [18] 王东霞,王孝铭,许晶兰. 复方丹参滴丸对血管内皮细胞功能及形态保护作用的研究[J]. 中国病理生理杂志, 2006, 22(5): 933-937.

(收稿日期: 2008-01-11 修回日期: 2008-08-19)

(本文编辑: 李银平)