

· 博士之窗 ·

胰岛素抵抗模型大鼠的中医证候研究*

梁兴伦 韩明向[△]

内容提要 目的:探讨胰岛素抵抗(IR)模型大鼠的中医证候。方法:用含60%蔗糖饲料诱导大鼠产生IR,对造模后有关指标的相关系数进行聚类分析。结果:IR大鼠的指标变化可分为3类,并与中医的痰浊、瘀血、内毒有密切的联系。痰浊证表现为血脂(甘油三酯、总胆固醇)升高,糖化血清蛋白增多;瘀血证表现为凝血酶原时间缩短,血浆纤维蛋白原含量升高,血液高粘状态,红细胞和血小板数升高及血压变化;内毒证主要表现为葡萄糖毒性和肿瘤坏死因子 α 毒性及血清胰岛素升高。结论:IR大鼠模型具有痰浊、瘀血和内毒互结的中医证候,为中医临床与实验研究提供了理论依据。

关键词 胰岛素抵抗模型 中医证候 痰浊 瘀血 内毒

Study on Syndrome Pattern in Insulin Resistant Model Rats LIANG Xing-lun, HAN Ming-xiang *The First Affiliated Hospital, Anhui College of TCM, Hefei (230031)*

Objective: To explore the Syndrome pattern in insulin resistant model rats. **Methods:** Eight Sprague-Dawley (SD) rats were induced to insulin resistance (IR) by 60% high-sucrose forage. **Results:** The correlative coefficient of some biological and internal changes were clusterly analyzed and divided into 3 groups, which was closely related with phlegm turbidity, blood stasis and internal toxin types respectively. The phlegm turbidity type was characterized by high content of blood lipid (triglyceride, total cholesterol) and high concentration of glycated serum protein; the blood stasis type was characterized by tendency of high viscosity and high coagulant state, the blood pressure increased, prothrombin time shortened, fibrinogen content raised and RBC and platelet count increased; while the internal toxin type was characterized by high content of glucose, insulin and the elevation of tumor necrosis factor. **Conclusion:** The combined Syndrome of phlegm turbidity, blood stasis and internal toxin is the Syndrome-pattern in insulin resistant model rat. This observation provides theoretic basis for clinical and experimental studies of TCM.

Key words insulin resistance model, TCM Syndrome pattern, phlegm turbidity, blood stasis, internal toxin

胰岛素抵抗(insulin-resistance, IR)被作为心血管疾病独立危险因素,近10余年来成为基础与临床医学共同研究的热点,有关IR模型的研究亦为许多学者所关注,但对其中医证候的研究未见报道。我们选用高糖饲料制作IR大鼠模型,对其指标的变化作聚类分析,并结合中医基本理论与这些指标生物学特性的内在联系,阐明中医证候。

材料与方

1 动物与分组 2月龄雄性SD大鼠16只,体重191~210g,自江苏省实验动物中心购进,随机分成对

照组和模型组,每组8只,分别喂食普通饲料和60%蔗糖饲料(由安徽医科大学实验动物中心加工)。

2 造模方法 参考文献^[1-3],用含60%蔗糖的饲料每日喂饲40g,连续35天。蔗糖购自上海化学试剂公司,批号991106。

3 测定指标与方法

3.1 空腹血糖(FBS)、糖化血清蛋白(GSP)、血清胰岛素(Ins)测定方法 均为临床常规检测方法,由FBS和胰岛素计算胰岛素敏感性指数(SIS)^[4]。

3.2 血压 采用经尾动脉介入法^[5]测量收缩压(SBP)、舒张压(DBP)、脉压差(PP)。

3.3 红细胞膜胰岛素受体(RBC-IR)测定(包括高、低亲和力常数(RBC-IR-K1, RBC-IR-K2);高、低亲和力和容量(RBC-IR-R1, RBC-IR-R2)) 结晶Ins活性

* 国家自然科学基金资助项目(No. 39770894)

安徽中医学第一附属医院(合肥 230031),[△] 导师

单位为 180nCi/ng, Sigma 公司提供, ¹²⁵I-Ins 比放射性为 350 ~ 371 μCi/μg, 华西糖尿病研究所提供, 批号: 20000228, 受体测定采用放射配基结合法^(6,7)。

3.4 甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、肿瘤坏死因子 α(TNFα)、红细胞(RBC)、血小板(BPC)、凝血酶原时间(PT)、血粘度(高切、低切、血浆比粘度、血纤维蛋白原(Fbg)含量)测定方法均为临床常规检测方法。

4 统计学方法 组间比较采用 t 检验, 两指标相关性采用相关系数分析, 指标分类采用聚类分析法, 使用 SPSS 和 PRIMER 软件。

结 果

1 血糖、胰岛素及胰岛素受体的测定结果 见表 1。经造模后大鼠 Ins 升高, ISI 下降, 同时伴 FBS 和 GSP 升高, 与对照组比较差异有显著性 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 说明 IR 明显, 造模成功。胰岛素与受体结合方面, RBC-IR-K1、RBC-IR-K2 及 RBC-IR-R2 的下降差异有显著性 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), RBC-IR-R1 变化差异无显著性。

表 1 两组大鼠血糖、胰岛素及胰岛素受体的测定结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

	对照组	模型组
FBS (mmol/L)	8.1 ± 1.5	10.2 ± 2.5**
Ins (mu/L)	4.4 ± 1.2	7.3 ± 1.3**
ISI	-3.5 ± 0.6	-4.3 ± 0.5*
GSP (%)	10.2 ± 2.1	14.2 ± 2.1**
RBC-IR-K1 (×10 ⁹ /ml)	2.10 ± 0.11	6.80 ± 0.19**
RBC-IR-K2 (×10 ⁹ /ml)	1.02 ± 0.88	1.47 ± 1.02*
RBC-IR-R1 (个/RBC)	89 ± 101	128 ± 48
RBC-IR-R2 (个/RBC)	387 ± 158	541 ± 114*

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 两组均为 8 只大鼠; 下表同

2 两组大鼠血压测定结果 见表 2。经造模后大鼠 SBP 升高 ($P < 0.05$), 而 DBP 升高更显著 ($P < 0.01$), PP 减小 ($P < 0.05$)。

表 2 两组大鼠血压测定结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

	对照组	模型组
SBP (mmHg)	87.4 ± 6.3	94.2 ± 8.8*
DBP (mmHg)	61.3 ± 5.5	74.2 ± 6.0**
PP (mmHg)	26.4 ± 4.3	20.2 ± 3.8*

3 两组大鼠血脂及血液流变学等指标测定结果 见表 3。经造模后, 大鼠 TG、TC 均显著升高 ($P < 0.01$), TNFα、RBC、BPC、血粘度高切、PT、Fbg 与对照组比较差异均有显著性 ($P < 0.05$), 而血粘度低切、血浆比粘度差异无显著性。

表 3 两组大鼠血脂及血液流变学等指标测定结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

	对照组	模型组
TC (mmol/L)	3.5 ± 1.0	7.4 ± 1.8**
TG (mmol/L)	1.7 ± 0.8	5.5 ± 1.4**
TNFα (μg/L)	0.13 ± 0.05	0.25 ± 0.07*
RBC (×10 ¹² /L)	4.5 ± 0.8	6.5 ± 0.9*
BPC (×10 ¹² /L)	55.2 ± 9.3	67.3 ± 12.3*
PT (s)	13.5 ± 0.5	12.0 ± 0.5*
血粘度 (mpa·s)		
高切	6.8 ± 1.5	7.5 ± 1.2*
低切	8.4 ± 1.0	8.8 ± 1.2
血浆比粘度	1.23 ± 0.50	1.33 ± 0.50
Fbg (g/L)	2.5 ± 0.5	3.5 ± 0.2*

4 聚类分析结果 为了便于找出各指标间的联系, 阐述 IR 大鼠的证候, 我们首先求出 IR 大鼠每两个指标间的相关系数, 后对其进行聚类分析。分析后将指标分为以下 3 类: 第 1 类含 TG、TC、GSP 等, 与中医痰浊证关系密切; 第 2 类含 PT、PP、RBC、BPC、血粘度(高、低切)、DBP、Fbg 等, 与中医瘀血证关系密切; 第 3 类含 FBS、Ins、TNFα 等, 与中医内毒证关系密切。

证候学研究

结合中医学理论与上述指标生物学特性的联系, 经对上述 3 类指标进行分析, 可以看出这 3 类指标与中医的痰浊、瘀血、内毒证有密切的联系。

1 IR 大鼠的痰浊内停证表现为血清 TG、TC 升高, GSP 含量增多。对大鼠每日给予富含蔗糖的饲料喂养, 此高梁厚味远超出机体所能正常代谢的水平, 必然损伤脾胃的功能, 其直接后果是导致痰湿内生, 上述 3 项物质代谢均有不利影响, 在脂质代谢方面, IR 大鼠中表现为 TG、TC 升高, 这些血脂异常一般属于中医“内生痰湿”范畴。

此外, 除上述意义上的“痰浊”内生, 在本模型中痰浊还具有如下的独特表征, 即 GSP 的升高。IR 形成以后, 多种物质代谢异常⁽⁸⁾, 其中蛋白质的变化表现为 GSP 的升高, 此由于血中葡萄糖和体内蛋白质中的氨基不可逆性地以共价键形式结合, 形成“糖化作用”。经造模后大鼠 GSP 显著高于对照组。GSP 一旦形成, 即不易解离, 可长期存在于血液中。即使进行治疗, 血糖可较快降低至正常, 而由于 GSP 的牢固结合, 不易降低, 充分体现缠绵难愈的特点⁽⁹⁾。此物质之特性与中医“痰性粘滞”特点何其相似, 故我们认为 GSP 是痰浊证的特异性标志之一, 其高低反映痰浊证的轻重。

2 IR 大鼠的瘀血证表现为血液浓粘凝聚现象。新近的流行病学研究揭示: 在 IR 患者中存在凝血和

抗凝血、纤溶和抗纤溶异常,直接导致纤维蛋白溶解障碍,成为血液高凝状态。有学者检测了糖尿病患者组织型纤溶酶原激活剂(tPA)及其抑制剂 PAI 和 Ins 及 ISI 的改变,发现其血浆 PAI 和 Ins 高于正常对照组,而 tPA 活性和 ISI 则降低($P < 0.01$),认为纤溶活性失调与 IR 和高 Ins 有关^(10,11)。

造模后 IR 大鼠血液呈现显著的“浓、粘、凝、聚”现象的瘀血症表现,其“浓”体现在血中 RBC 升高,其“粘”体现在血粘度高切减慢,其“凝”表现为 BPC 升高,其“聚”体现为 Fbg 升高,凝血时间也缩短。

另外,其瘀血症还表现为舒张压的升高和脉压差的减小。由于血液粘滞,血液不易通过,使阻力血管前的动脉管内保留较多的血液,以致动脉血压升高。特别是在心室舒张期,收缩力减弱,血液流向外周更慢,大动脉内充盈血量更多,舒张压则更高。本研究中 IR 大鼠脉压差减小亦应属于瘀血症范畴。

3 IR 大鼠的内毒证,表现为葡萄糖毒性, TNF α 和 Ins 升高。IR 对血糖及多种物质代谢的不良作用已被学者广泛关注⁽⁸⁾,与此同时,人们也注意到血糖升高对胰岛的反作用。有人把大白鼠胰岛细胞放在不同葡萄糖浓度下培养,发现随着处理时间的延长,胰岛素的分泌能力逐渐下降,葡萄糖浓度越高,胰岛素分泌能力下降出现的越早,最终可导致胰岛细胞逐渐丧失其分泌胰岛素的能力。针对这种现象,学者们提出了葡萄糖失敏感性和葡萄糖毒性学说⁽¹²⁾。实际上这种由体内原本正常的物质的过度蓄留或增加而造成机体损害的现象临床非常常见,如肾炎患者的肌酐,甲亢患者的甲状腺素等。“阴平阳秘 精神乃治”;“亢则害 承乃治”,IR 大鼠其血糖水平升高无疑这种状态会对大鼠产生不良影响,故属于“内毒”范畴。同时过多 Ins 在体内对代谢的负面作用也已成共识⁽⁸⁾。所以我们认为这种过多的葡萄糖和 Ins 储留于体内并致病现象,符合“毒”的特点,因而属于中医毒邪内蕴证候。

IR 大鼠的内毒证还表现为 TNF α 毒性。有人发现在人类 IR 和 2 型糖尿病患者中有 TNF α -mRNA 和蛋白质水平的升高, TNF α 通过其受体及受体后途径直接影响胰岛素的敏感性。TNF α 产生越多,受体抑制越明显⁽¹³⁾。IR 大鼠其血清 TNF α 升高,这种病理产物的存在对机体也造成了持续的损害,因而属于中医毒邪内蕴证候。

由于上述共同病理机制,导致大鼠体内 Ins 的生理作用不能有效发挥,致使 ISI 下降,同时组织供血供

氧受到障碍,即阻遏了阳气和阴血的运行,对微观组织而言,配体与受体的结合受到影响,所以红细胞膜胰岛素受体的亲和力及亲和常数均有下降。

总之,辨证论治不仅适用于病人,对模型动物也应如此。在临床研究基础上⁽¹⁴⁾,进一步阐明 IR 大鼠的痰浊、瘀血和内毒互结的中医证候,为中医药的应用基础研究提供了理论依据,有助于充实辨证论治学说。

参 考 文 献

1. Reaven GM. Sugar induced hypertension in sprague dawley rats. *Am J Hypertens* 1991 ;4:610—614.
2. 东富云,曹又陵,汤新之.高蔗糖膳食诱发大鼠胰岛素抵抗的研究. *实验动物科学与管理* 1998 ;15(4):1—4.
3. Contreas RJ, King S. High fat/sucrose feeding attenuates the spontaneously hypertensive rats. *Physiol Behav* 1989 ;46:285—291.
4. 李光伟,潘孝仁,Stephen,等.检测人群胰岛素敏感性的一项新指数. *中华内科杂志* 1993 ;33(10):656—660.
5. 梁兴伦.经尾动脉介入法测量大鼠血压的方法研究. *中国高血压杂志* 2000 ;8(3):244—246.
6. 崔毓桂,何戎华,朱安.红细胞胰岛素受体分析法的改良及其初步应用. *标记免疫分析与临床* 1996 ;3(4):185—188.
7. 张敏,刘鼎新,贺师鹏.受体的放射分析.刘长征主编. *实验核医学与核药理学*.北京:人民卫生出版社,1999:218—249.
8. DeFronzo RA, Ferrannini E. Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular diseases. *Diabetes Care* 1991 ;14(3):173—194.
9. 王金泉,刘志红,周虹,等.年龄、血糖及肾功能对血清糖基化终产物水平的影响. *中华内分泌代谢杂志* 2000 ;16(1):24—27.
10. 杨立勇,刘东晖,倪达人,等.老年糖尿病患者血浆纤溶活性与胰岛素抵抗的关系. *中国老年学杂志* 1999 ;19(1):34—36.
11. 陆丕能,徐成斌,张海澄,等.高血压病患者胰岛素抵抗与血浆纤溶酶原激活物抑制物-1 的关系. *北京医科大学学报* 1999 ;31(3):167—170.
12. 陆菊明.葡萄糖失敏感性和葡萄糖毒性. *人民军医* 1997 ;40(6):340—341.
13. 鲁瑾,邹大进.肿瘤坏死因子 α 对正常大鼠胰岛素敏感性的影响. *第二军医大学学报* 1999 ;20(7):23—26.
14. 梁兴伦.胰岛素抵抗及其综合征与中医药研究. *安徽中医学院学报* 2000 ;19(6):45—48.

(收稿 2000-05-15 修回 2001-04-11)