

- nanoparticle uptake into mammalian cells [J]. Nano Lett, 2006, 6(4): 662-668.
- [4] LÜ Q, HAN M, LI L M, et al. Study of doxorubicin liposome modified with transferrin and folic acid targeting to glioma *in vitro* [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2012, 29(11): 963-970.
- [5] STUPP R, MASON W P, VAN DEN BENT M J, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma [J]. New Engl J Med, 2005, 352(10): 987-996.
- [6] STUPP R, HEGI M E, MASON W P, et al. Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial [J]. Lancet Oncol, 2009, 10(5): 459-466.
- [7] HOLT R W, DEMERS J L, SEXTON K J, et al. Tomography of epidermal growth factor receptor binding to fluorescent affibody *in vivo* studied with magnetic resonance guided fluorescence recovery in varying orthotopic glioma sizes [J]. J Biomed Opt, 2015, 20(2): 26001.
- [8] HUANG M, XIONG C, LU W, et al. Dual-modality micro-positron emission tomography/computed tomography and near-infrared fluorescence imaging of EphB4 in orthotopic glioblastoma xenograft models [J]. Mol Imaging Biol, 2014, 16(1): 74-84.
- [9] ACERBI F, BROGGI M, EOLI M, et al. Is fluorescein-guided technique able to help in resection of high-grade glioma [J]. Neurosurg Focus, 2014, 36(2): E5.
- [10] NIE G, HAH H J, KIM G, et al. Hydrogel nanoparticles with covalently linked coomassie blue for brain tumor delineation visible to the surgeon [J]. Small, 2012, 8(6): 884-891.
- [11] DOMÍNGUEZ A, SUÁREZ-MERINO B, GOÑI-DE-CERIO F. Nanoparticles and blood-brain barrier: the key to central nervous system diseases [J]. J Nanosci Nanotechnol, 2014, 14(1): 766-779.
- [12] OKURA T, HIGUCHI K, KITAMURA A, et al. Proton-coupled organic cation antiporter-mediated uptake of apomorphine enantiomers in human brain capillary endothelial cell line hCMEC/D3 [J]. Biol Pharm Bull, 2013, 37(2): 286-291.

收稿日期: 2016-01-07

大黄素对脓毒症大鼠血糖和胰岛素抵抗的影响

赵滋苗^a, 蔡宛如^{b*}, 陆军^a, 王飞^a, 丁月平^a, 叶肖琳^a, 马丹女^a(浙江中医药大学附属第二医院, a.重症医学科; b.呼吸科, 杭州 310005)

摘要: 目的 研究大黄素对脓毒症大鼠高血糖及胰岛素抵抗的影响。方法 60只SD大鼠随机分为假手术组、模型组、大黄素组、二甲双胍阳性对照组。手术前1h, 大黄素组灌胃给予100 mg·kg⁻¹的CMC-Na混悬液, 二甲双胍阳性对照组灌胃给予150 mg·kg⁻¹的CMC-Na混悬液, 按照盲肠结扎穿孔法建立脓毒症模型。分别测定术前及术后1, 2, 4, 6, 12, 24 h的血糖值, 及术后2 h的胰岛素水平, 计算胰岛素抵抗指数, 并于术后24 h腹主动脉取血, 酶联免疫吸附法检测IL-6、TNF-α、CRP水平。结果 大黄素能改善脓毒症大鼠的胰岛素抵抗, 抑制脓毒症大鼠感染后血糖的升高, 并能明显降低炎症因子IL-6、TNF-α、CRP的水平。结论 大黄素能降低脓毒症大鼠的高血糖, 改善其胰岛素抵抗, 其作用机制可能与抑制炎症细胞因子分泌有关。

关键词: 大黄素; 脓毒症; 高血糖; 胰岛素抵抗

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2016)09-1115-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.09.005

Effect of Emodin on Hyperglycemia and Insulin Resistance of Sepsis Rats

ZHAO Zimiao^a, CAI Wanru^{b*}, LU Jun^a, WANG Fei^a, DING Yueping^a, YE Xiaolin^a, MA Danyu^a(The Second Affiliated Hospital of Zhejiang Traditional Chinese Medicine University, a.Intensive Care Unit; b.Department of Respiration, Hangzhou 310005, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the effects of emodin on hyperglycemia and insulin resistance of the sepsis rats. **METHODS** Sixty SD rats were randomly divided into sham operation group, model group, emodin group and metformin positive control group. At 1 h before operation, emodin group rats were given 100 mg·kg⁻¹ CMC-Na suspension by gavage and 150 mg·kg⁻¹ CMC-Na for metformin positive control group, sepsis model were based on cecal ligation and puncture. The blood glucose in rats were measured at 0, 1, 2, 4, 6, 12, 24 h before and after operation, and at 2 h after operation, the insulin levels

基金项目: 国家自然科学基金(81273678); 浙江省中医药科技计划立项项目(2015ZA113)

作者简介: 赵滋苗, 男, 硕士, 主治医师 Tel: (0571)85288370
教授, 博导 Tel: (0571)85267135 E-mail: caiwanru@aliyun.com

E-mail: zzm751031@163.com *通信作者: 蔡宛如, 女, 主任医师,

were measured, at 24 h after operation, IL-6, TNF- α , CRP level were measured by enzyme linked immunosorbent assay. **RESULTS** Emodin could improve the insulin resistance, lower the high blood glucose of infected sepsis rats and significantly reduce the level of IL-6, TNF- α and CRP. **CONCLUSION** Emodin can reduce hyperglycemia of sepsis rats, and improve the insulin resistance. Its protective mechanism may be associated with inhibiting the inflammatory cytokine secretion. **KEY WORDS:** emodin; sepsis; hyperglycemia; insulin resistance

脓毒症是重症医学科患者死亡的主要原因之一。无论患者入院前是否存在糖尿病,脓毒症患者常因为疾病引起内分泌及代谢紊乱而导致高血糖、胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)及炎性递质失衡等,上述因素增加了患者的病死率^[1-2]。IR 目前尚没有特异性治疗,除传统的改善饮食结构、限制热卡、控制体质量以及体育锻炼之外,化学药物是改善与治疗 IR 的重要手段。目前用于 IR 治疗的药物主要有口服降血糖药:磺脲类、双胍类等;胰岛素降解抑制药(氯喹、羟基氯喹);胰岛素增敏药(噻格列酮、罗格列酮、吡格列酮)。但西药用于改善 IR 有一定的局限性和较多的不良反应,并多以胰岛素 2 条信号转导通路为靶标,近年来,随着中医药对 IR 研究的不断深入,中医药改善 IR 成为研究的热点。中医药多靶点、多途径的作用特点在改善 IR 方面具有明显优势,因此探讨中药改善 IR 具有重要意义^[3]。

本实验根据大黄素的药理作用特点,比较大黄素作用前后大鼠血糖、胰岛素水平,以及炎性递质 CRP、TNF- α 及 IL-6 的改变,研究大黄素对脓毒症大鼠高血糖和 IR 的影响,从而探讨其可能的作用机制。

1 仪器与材料

1.1 动物

SD 大鼠,♂,体质量 180~220 g,购自浙江省医学科学院,实验动物生产许可证号:SCXK(浙)2014-0001,饲养于 SPF 级动物饲养室,温度 21~24 °C,湿度 40%~60%,自由摄食、饮水,明暗交替 12 h/12 h。

1.2 药品与试剂

大黄素(上海源叶生物科技有限公司,批号:151108,纯度:99%),临用前用 0.5%CMC-Na 配成所需的剂量的混悬液。二甲双胍片(国光生物制药有限公司,批号:150619,规格:0.25 g);血糖试纸条(江苏鱼跃医疗设备有限公司,批号:150604);FINs(批号:151223)、IL-6(批号:151223)、TNF- α (批号:151221)、CRP(批号:151221)Elisa 试剂盒购自上海瑶韵生物科技有限公司。

1.3 仪器

悦准 I 型血糖仪(江苏鱼跃医疗设备有限公司);TBA-40FR 生化分析仪(东芝医疗系统有限公司);Centrifuge 5427R 高速离心机(Eppendorf);AUW120 分析天平(日本岛津);Multiskan MK3 酶标仪(Thermo Fisher Scientific)。

2 方法

2.1 分组及给药

SD 大鼠 60 只,♂,体质量 180~220 g,随机分成假手术组、模型组、大黄素组、二甲双胍阳性对照组。按照盲肠结扎穿刺法建立脓毒症模型^[4],假手术组不做盲肠结扎和穿刺。所有大鼠复制脓毒症模型前禁食不禁水 12 h。

各组大鼠灌胃给药,假手术组和模型组灌胃给予 0.5%CMC-Na,大黄素组灌胃给予 100 mg·kg⁻¹的 CMC-Na 混悬液^[5],二甲双胍阳性对照组灌胃给予 150 mg·kg⁻¹的 CMC-Na 混悬液^[6],给药体积为 1.0 mL·(100 g)⁻¹,给药 1 次,给药后 1 h,按照盲肠结扎穿刺法复制脓毒症大鼠模型。腹腔注射 3.0%戊巴比妥钠 45 mg·kg⁻¹麻醉,无菌条件下取下腹正中切口 2 cm,暴露盲肠,用丝线结扎盲肠总长度的 30%,注意避开肠系膜血管,16 号注射针头在盲肠游离端刺孔穿透盲肠,然后将盲肠还纳腹腔,逐层缝合切口,即刻皮下注射生理盐水 3 mL·(100 g)⁻¹以补充术中丢失的液体。

2.2 观察指标及检测方法

各组分别于术前及术后 1, 2, 4, 6, 12, 24 h 剪尾取血,用血糖试纸条及生化分析仪测血糖值及 2 h 的 FPG 水平,放射免疫法检测手术后 2 h 的 FINs 水平。术后 24 h,麻醉前禁食不禁水 6 h,3.0%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉,取血,静置,2 500 r·min⁻¹ 分离血清,酶联免疫吸附法(ELISA)检测 IL-6、TNF- α 、CRP 水平。采用 HOMA 计算手术后 2 h IR 指数 HOMA-IR, HOMA-IR=FPG×FINs/22.5。

2.3 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计软件进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用统计学软件对计量资料进

行正态性、方差齐性检验,若资料符合正态性、方差齐,采用方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义, $P<0.01$ 为差异有显著统计学意义。

3 结果

3.1 大黄素对脓毒症大鼠一般状态的影响

脓毒症大鼠术后逐渐出现活动少,竖毛,皮毛失去光泽,停止饮水,呼吸加快的现象,有些大鼠鼻周围出现血性分泌物,眼睛变双环,感觉迟钝。各组大鼠一般状态未见明显区别。

3.2 大黄素对脓毒症大鼠术后血糖影响

模型组大鼠术后可见血糖升高,2 h 后升高到最高点,后逐渐下降,大黄素及二甲双胍在术后 2 h 能明显降低大鼠的血糖。与模型组相比具有显著性,结果见图 1。

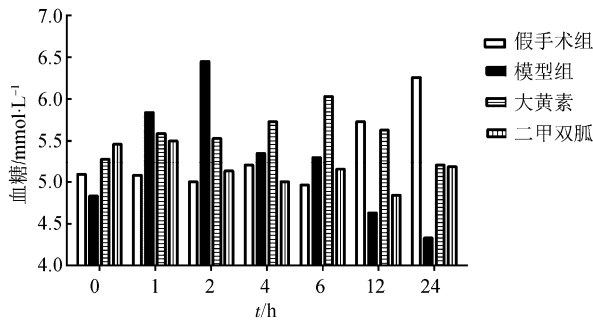


图 1 大黄素对脓毒症大鼠术后各个时间点血糖的影响
Fig. 1 The effects of emodin on serum glucose levels after surgery in sepsis rats

3.3 大黄素对脓毒症大鼠术后 2 h 血糖、胰岛素及 IR 指数的影响

大黄素能降低脓毒症大鼠术后 2 h 的血糖,降低胰岛素的分泌及 IR 指数,与模型组比较差别均有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结果见表 1。

表 1 大黄素对脓毒症大鼠血糖、胰岛素及 IR 指数的影响 ($n=8$)
Tab. 1 The effects of emodin on serum glucose, insulin levels and the insulin resistance index in sepsis rats($n=8$)

组 别	剂量/ mg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	FPG/ mmol·L ⁻¹	FINs/ mU·mL ⁻¹	HOMA-IRI
假手术组	/	5.0±0.6	21.5±1.7	4.8±0.6
模型组	/	6.5±1.1 ¹⁾	26.4±2.4 ¹⁾	7.6±1.4 ¹⁾
大黄素组	100	5.8±0.8	23.0±1.9 ³⁾	5.7±1.0 ²⁾
二甲双胍组	150	5.1±1.0 ²⁾	22.2±1.7 ³⁾	5.6±0.7 ³⁾

注:与假手术组比较, ¹⁾ $P<0.01$;与模型组比较, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$ 。
Note: Compared with sham operation group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with model group, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$ 。

3.4 大黄素对脓毒症大鼠术后 24 h 血清中 IL-6、TNF- α 、CRP 的影响

模型组大鼠血清中 IL-6、TNF- α 、CRP 均可见明显升高;与模型组相比,大黄素能明显降低 IL-6、TNF- α 、CRP 的水平, TNF- α 、CRP 水平差别均有统计学意义($P<0.05$)。结果见表 2。

表 2 大黄素对脓毒症大鼠 IL-6、TNF- α 、CRP 的影响($n=8$)
Tab. 2 The effects of emodin on IL-6, TNF- α and CRP levels in sepsis rats($n=8$)

组 别	剂量/ mg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	IL-6/ pg·mL ⁻¹	TNF- α / pg·mL ⁻¹	CRP/ ng·mL ⁻¹
假手术组	/	117±17	138±25	124±14
模型组	/	152±21 ¹⁾	173±34 ¹⁾	189±21 ¹⁾
大黄素组	100	138±20	143±18 ²⁾	145±42 ²⁾
二甲双胍组	150	159±33	153±14	174±23

注:与假手术组比较, ¹⁾ $P<0.01$;与模型组比较, ²⁾ $P<0.05$ 。
Note: Compared with sham operation group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with model group, ²⁾ $P<0.05$ 。

3 讨论

高血糖是脓毒症发生后体内代谢紊乱的重要标志,分解代谢活跃期与急性期 IR 均可直接导致血糖升高,而一旦发生急性期 IR,其直接后果是胰岛素失去对循环中葡萄糖处理能力和对肝糖原新生的抑制作用。IR 是指机体内正常生理浓度水平的胰岛素不能对周围靶组织,如肝脏、肌肉、卵巢、血管、脑组织、脂肪组织细胞产生其相应生物学效应的一种病理生理状态。

盲肠结扎穿刺法是建立腹腔感染的脓毒症模型的经典方法,易于重复,可以模拟出人类脓毒症的自然过程。该模型的实验动物生存时间长,循环及病理生理改变与临床相似,是当前进行脓毒症动物科研的金标准。在本研究中,模型组大鼠与假手术组相比,前者血清中 IL-6、TNF- α 、CRP 等炎症指标均可见明显升高;脓毒症模型大鼠与假手术组相比,都出现了明显的高血糖及高胰岛素血症,同时,IR 指数也明显升高。术前给予大黄素能明显降低脓毒症大鼠的 IL-6、TNF- α 、CRP 的水平,降低脓毒症大鼠术后 24 h 的血糖,减少胰岛素的分泌,并降低 IR 指数,与模型组比较差别均有显著性差异;而术前给予二甲双胍虽然也能明显降低脓毒症大鼠术后 24 h 的血糖及胰岛素水平,改善 IR 指数,但不能降低脓毒症大鼠的 IL-6、TNF- α 、CRP 的水平。故推测,脓毒症一系列炎性递质介导 IR,导致机体葡萄糖代谢功能受

损,从而引起高血糖及高胰岛素血症。此推理与文献研究结果是一致的,脓毒症患者高血糖的发生,可能源自感染后神经内分泌系统激活和炎症递质释放过度而造成的代谢紊乱,而 IR 则是引起血糖升高的最直接原因^[7]。

大黄是常用的中药,从现代药理研究的结果看,大黄具有收敛、止血、解痉、利胆、抗菌、抗病毒、抗寄生虫、抗肿瘤、降血压等作用。金力薇等研究发现,大黄联合枯草杆菌二联活菌对急性化脓性腹膜炎的促炎因子 TNF- α 、IL-6 具有较好调节作用^[8]。大黄素是中药大黄的主要成分,也存在于虎杖、芦荟等蓼科药用植物中,是分布最广泛的一种羟基蒽醌类化合物,但较之其他中药,大黄药源更为丰富,价格更低廉,其加工、炮制及配制过程简便易行,使用较安全,无不良反应。大黄素作为中药大黄的单体,具有泻下攻积,凉血解毒,清热利湿等作用。有研究发现^[9-11],大黄素可抑制急性胰腺炎大鼠模型胰、肺组织核转录因子- κ B(NF- κ B)的活化,降低 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8 等炎症递质及细胞因子的表达水平,说明大黄素可通过抑制炎症细胞因子的表达及释放,发挥其抑制炎症反应的作用。

IR 发生机制十分复杂,炎症介质与胰岛素作用的靶组织细胞表面相应受体的结合是其主要的原因为:TNF- α 、IL-6 等炎症介质介导胰岛素受体底物(IRS)-1 的丝氨酸磷酸化并使之成为胰岛素受体酪氨酸激酶(IRK)的抑制剂,从而抑制 IRS-1 的酪氨酸磷酸化^[12]。TNF- α 、IL-6 等还可使 IRS-1 的酪氨酸结合位点与胰岛素受体 JM 区相互作用减少,故导致 IRS-1 的酪氨酸磷酸化减少^[13]。IRS-1 在胰岛素信号传递中起重要作用,TNF- α 、IL-6 通过作用于胰岛素信号传递通路中 IRK 及 IRS-1 而介导了 IR^[14]。本实验表明,脓毒症时血清中的 TNF- α 、IL-6 等炎症递质水平明显升高。而大黄素可以明显降低血清中的 TNF- α 、IL-6 及 CRP 等炎症介质水平,间接改善了因 TNF- α 等介导损害的脓毒症大鼠胰岛素的信号通路。

由本实验结果可知,在脓毒症大鼠模型早期即出现高血糖及高胰岛素血症,提前给予大黄素

可明显降低炎症递质水平,改善 IR,降低脓毒症大鼠出现的高血糖,其机制可能与大黄素通过抑制炎症细胞因子分泌有关。

REFERENCES

- [1] DELLINGER R P, LEVY M M, CARLET J M, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septicshock: 2008 [J]. Crit Care Med, 2008, 36(4): 1394-1396.
- [2] HERMANIDES J, VRIESENDORP T M, BOSMAN R J, et al. Glucose variability is associated with intensive care unit mortality [J]. Crit Care Med, 2010, 38(3): 838-842.
- [3] 杨玮丽, 茅彩萍, 顾振纶. 中药复方改善 2 型糖尿病胰岛素抵抗的研究进展[J]. 中成药, 2007, 29(11): 1662-1665.
- [4] RITTIRSCH D, HUBERLANG M S, FLIERL M A, et al. Immunodesign of experimental sepsis by cecal ligation and puncture [J]. Nat Protoc, 2009, 4(1): 31-36.
- [5] HE J S, CAO D W. Effect of emodin on expression of MCP-1 in renal tissue of diabetic rats [J]. Chin J Biochem Pharm(中国生化药物杂志), 2012, 33(6): 795-797.
- [6] ZHANG Y H, ZHOU F X, LU F G. Effect of emodin on nonalcoholic fatty liver disease and its disturbance in the lipid and glucose metabolism in rat [J]. Hainan Med(海南医学), 2013, 24(5): 636-638.
- [7] VAN CROMPHAUT S J, VANHOREBEEK I, VAN D B G. Glucose metabolism and insulin resistance in sepsis [J]. Curr Pharm Des, 2008, 14(19): 1887-1899.
- [8] JIN L W, CHEN Y, DAI W. Effect of Dahuang combined with live binary bacillus subtilis on TNF- α and IL-6 in rat with acute suppurative peritonitis [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2016, 33(1): 49-53.
- [9] LIU L, ZHUANG L W. An experimental study of effect of emodin on acute necrotizing pancreatitis [J]. Chin J Lab Diagn(中国实验诊断学), 2012, 16(5): 852-855.
- [10] JIN J, GAO J, LU S L, et al. Inhibition of the expression of inflammation cytokines by rhubarb in experimental acute necrotizing pancreatitis rats [J]. Chin J Journal Pancreatol(中华胰腺病杂志), 2011, 11(6): 423-425.
- [11] LIU R L, LIU M L, MA L L. Effect of emodin on nuclear factor- κ B expression in severe pancreatitis in rats [J]. Chin J Integr Tradit West Med Intent Crit Care(中国中西医结合急救杂志), 2005, 12(4): 230-232.
- [12] HOTAMISIGIL G S, PERALDI P, BUDAVARI A, et al. IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF- α and obesity-induced insulin resistance [J]. Science, 1996, 271(5249): 665-668.
- [13] PAZ K, HEMI R, LEROITH D, et al. A molecular basis for insulin resistance [J]. J Biol Chem, 1997, 272(47): 10.
- [14] KATSUKI A, SUMIDA V, MURASHIMA S, et al. Serum levels of tumornecrosis factor - α are increased in obese patients with non insulin-dependent diabetes mellitus [J]. J Clin Endocrinol Metab, 1998, 83(3): 859-862.

收稿日期: 2016-03-09