

# “标本配穴”电针对遗传性胰岛素抵抗大鼠股四头肌中氧化应激相关性指标表达的影响\*

吴群<sup>1,2</sup> 陈丽<sup>1</sup> 徐芬<sup>1</sup> 舒晴<sup>1</sup> 梁凤霞<sup>1,3</sup>

## 摘要

**目的:**观察“标本配穴”电针干预方法对遗传性胰岛素大鼠模型股四头肌中氧化应激相关产物活性氧(ROS)、丙二醛(MDA)和抑制氧自由基相关酶超氧化物歧化酶(SOD)的影响。

**方法:**7周龄 Zucker fa/fa 大鼠8只,随机分为电针治疗组(A组)及模型对照组(B组),另选其同窝瘦鼠(Zucker+fa/L)4只为空白对照组(C组)。A组按“标本配穴”法取“关元”、“中脘”、双侧“足三里”、“丰隆”穴,通电强度1mA,频率2Hz,每次10min,每周3次,共3周;治疗3周后大鼠处死,取其股四头肌,提取蛋白,采用紫外分光光度计法检测各组指标。

**结果:**治疗结束后,A组大鼠体重较B组显著降低( $P < 0.05$ ),股四头肌组织中SOD活性升高,ROS、MDA含量也明显降低( $P < 0.05$ )。

**结论:**“标本配穴”电针能减少氧化应激,促进抗氧化物SOD的表达,清除氧自由基,减少脂质过氧化物MDA的产生,使机体免受氧自由基的损伤,从而减轻或控制胰岛素抵抗。

**关键词** 标本配穴;Zucker fa/fa;电针;氧化应激

**中图分类号:**R245, R58 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2016)-05-0505-04

**The effects of electroacupuncture on the expressions of the indices correlated with oxidative stress, in the quadriceps femoris of Zucker diabetic fatty rats/WU Qun, CHEN Li, XU Fen, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2016, 31(5): 505—508**

## Abstract

**Objective:** To observe the effects of "the combination of Biao-Ben acupoints" electroacupuncture on the expressions of ROS, MDA, SOD in Zucker diabetic fatty (ZDF) rats (fa/fa).

**Method:** Eight male ZDF rats, 7-week-old, were randomly divided into electro acupuncture group (group A) and model control group (group B), 4 rats in each group. Four Zucker lean (ZL) rats (fa/fa), their lean normoglycemic littermates, were set as control group (group C). Group A was administrated with electroacupuncture for 10 min each time, acupoints of CV4, CV12, ST36 and ST40 were selected. The stimulation parameters were 2Hz and 1mA. The treatment was conducted for 3 times per week and lasted for 3 week, after that, all rats were sacrificed and the quadriceps were extracted for detection.

**Result:** After treatment, compared with group B, the body weight of group A reduced significantly( $P < 0.05$ ), the SOD activity in quadriceps tissue increased, and ROS, MDA content reduced significantly( $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** "The combination of Biao-Ben acupoints" electroacupuncture can reduce oxidative stress and protect the body from the damage of oxygen free radical, by lowering the expression of antioxidant SOD, scavenging oxygen free radicals and reducing the production of MDA, which may contribute to reducing or control-

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2016.05.002

\*基金项目:国家自然科学基金资助项目(81473787)

1 湖北中医药大学针灸骨伤学院/针灸治未病湖北省协同创新中心,武汉,430061; 2 武汉市普仁医院; 3 通讯作者

作者简介:吴群,男,住院医师; 收稿日期:2015-03-07

ling insulin resistance.

**Author's address** Acupuncture & Moxibustion and Orthopaedics College, Hubei University of Chinese Medicine/Hubei Provincial Collaborative Innovation Center of Preventive Treatment by Acupuncture and Moxibustion, Wuhan, 430061

**Key word** combination of Biao-Ben acupoints; Zucker fa/fa; electroacupuncture oxidative stress

胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)是指机体对胰岛素的生物学反应低于正常水平的一种状态,即胰岛素敏感性降低。近年来大量研究发现胰岛素抵抗可能与多种疾病(如冠心病、高血压、糖尿病、肥胖、脑血管意外等)相关联,并可能成为上述疾病共同的发病基础<sup>[1]</sup>。2型糖尿病是一种复杂的多基因遗传性疾病,其发病与许多因素有关,包括衰老、高热量摄入、运动量减少和肥胖等。有研究表明,体内代谢底物水平的升高会导致2型糖尿病的发生。持久慢性的高血糖不仅可以引起糖尿病的某些并发症,还可以诱发胰岛素抵抗和β细胞功能损害,这些效应与氧化应激密切相关<sup>[2]</sup>。

Zucker fa/fa大鼠是目前最符合胰岛素抵抗的遗传性大鼠模型,不仅表现为血脂等代谢紊乱,还具备胰岛素分泌缺失(β细胞功能受损)、胰岛素利用障碍(肝脏和肌肉等组织胰岛素抵抗)和糖耐量异常等特征<sup>[3]</sup>。本研究观察“标本配穴”电针对遗传性胰岛素抵抗大鼠股四头肌中氧化应激相关性指标表达的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物与分组

选择7周龄雄性Zucker fa/fa大鼠8只及其同窝瘦鼠4只,由北京维通利华实验技术有限公司提供,许可证号:SCXK(京)2012-0001。大鼠在华中科技大学同济医学院SPF级动物饲养间饲养,温度(23±2)℃,湿度50%—70%,12h明暗交替,动物设施使用许可证号为:SYXK(鄂)2010-0057。实验过程遵守《实验动物伦理与福利》相关原则和规定。

### 1.2 动物分组和处理

电针治疗组(A组)4只:Zucker fa/fa大鼠模型;模型对照组(B组)4只:Zucker fa/fa大鼠模型;空白对照组(C组)4只:Zucker+fa/?同窝未变异的背景瘦鼠,无脂质等代谢紊乱,无胰岛素抵抗。

A组大鼠按“标本配穴”法,取“本”穴“关元”、双侧“足三里”和“标”穴“中脘”和双侧“丰隆”穴<sup>[4]</sup>。“关

元”穴向耻骨联合部斜刺3mm左右,“中脘”穴向剑突方向斜刺3mm左右,双侧“足三里”和“丰隆”直刺3mm左右,连接HANS LH202H电针治疗仪,接线方式为同侧负极接“足三里”穴,正极接“丰隆”穴,另一组电针负极接“关元”,正极接“中脘”。选连续波,频率2Hz,强度1mA,留针10min。A组大鼠每周针刺3次,共治疗3周。针刺所需的针具,均为环球牌0.30×13mm一次性针灸针。

### 1.3 取材

治疗结束后,各组大鼠给予腹腔10%水合氯醛注射麻醉(剂量为0.35ml/100g),快速处死,在冰上迅速剪取股四头肌,分别从中取1mm×1mm样本迅速投入液氮中冷冻保存,待检测。

### 1.4 体重及血糖的检测

大鼠体重及血糖每周测量并记录,血糖取大鼠尾部静脉血,采用快速血糖仪检测(free style,雅培糖尿病护理公司,美国)。

### 1.5 SOD活性、MDA及ROS含量的检测

使用分光光度计(上海精密仪器厂生产的721型分光光度计测定各管的吸光度)比色法测定SOD活性,MDA及ROS含量,参照购买的试剂盒(购于南京建成公司)说明书进行。

### 1.6 统计学分析

所有数据资料运用SPSS 17.0统计软件进行分析,计量资料用均数±标准差表示,组间比较采用单因素方差分析。

## 2 结果

### 2.1 电针干预前后各组大鼠体重比较

0周为适应性喂养期,此时A组和B组具有可比性( $P > 0.05$ )。1周后A、B和C组比较无显著性差异;针刺2周及3周后A与B组比较具有显著性差异( $P < 0.05$ )。见表1。

### 2.2 电针干预前后各组大鼠空腹血糖比较

0周为适应性喂养期,此时A和B组具有可比

表1 治疗前后各组体重的比较

组别	例数	0(周)	1(周)	2(周)	3(周)
A组	4	272.5±11.79	280.95±12.81	302.275±9.74 <sup>①</sup>	313.8±5.19 <sup>①</sup>
B组	4	282.225±8.48	295.675±10.65	319.725±9.47	331.225±11.17
C组	4	233.175±11.9	235.575±12.28	252.725±10.49	262.45±11.34

①与B组比较  $P < 0.05$

性 ( $P > 0.05$ )。治疗1周和2周后A组和B组比较有所改善;3周后A和B组比较具有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。见表2。

### 2.3 电针干预前后各组大鼠餐后血糖比较

0周为适应性喂养期,此时A组和B组具有可比性 ( $P > 0.05$ )。治疗2周及3周后A组和B组比较具有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。见表3。

### 2.4 电针对大鼠股四头肌SOD活力及ROS、MDA含量的影响

采用“标本配穴”电针法干预结束后,与同窝瘦鼠比较,模型组大鼠股四头肌中SOD活力明显降低 ( $P < 0.05$ );与模型组比较,电针组SOD活力较模型组明显升高 ( $P < 0.05$ )。与同窝瘦鼠比较,模型组大鼠股四头肌中ROS含量明显升高 ( $P < 0.05$ )。与模型组比较,电针组ROS浓度较模型组明显降低 ( $P < 0.05$ )。与同窝瘦鼠比较,模型组大鼠股四头肌MDA含量明显升高 ( $P < 0.05$ )。与模型组比较,电针组MDA含量较模型组明显降低 ( $P < 0.05$ ),表4。

表2 治疗前后各组空腹血糖的比较 ( $\bar{x} \pm s$ , mmol/L)

组别	例数	0(周)	1(周)	2(周)	3(周)
A组	4	3.75±0.12	3.9±0.4	4.62±1.04	4.8±1.04 <sup>①</sup>
B组	4	3.8±0.16	3.8±0.49	4.65±0.54	5.95±0.23
C组	4	3.05±0.12	2.6±0.43	2.95±0.36	3.1±0.21

①与B组比较  $P < 0.05$

表3 治疗前后各组餐后血糖的比较 ( $\bar{x} \pm s$ , mmol/L)

组别	例数	0(周)	1(周)	2(周)	3(周)
A组	4	11.22±0.82	13.12±0.55	15.9±0.54 <sup>①</sup>	14.75±0.61 <sup>①</sup>
B组	4	11.42±0.89	14±0.39	16.77±0.6	15.9±0.42
C组	4	5.52±0.69	5.6±0.59	5.45±0.44	5.22±0.5

①与B组比较  $P < 0.05$

表4 治疗后股四头肌中SOD、ROS、MDA的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	SOD (U/L)	ROS (荧光强度/mg)	MDA (mmol/ml)
A组	4	177.25±9.76	22.32±2.02	2.07±0.24
B组	4	154.95±20.17 <sup>②</sup>	50.36±2.43 <sup>②</sup>	3.39±0.11 <sup>②</sup>
C组	4	197.33±13.72 <sup>①</sup>	24.34±1.57 <sup>①</sup>	2.39±0.39 <sup>①</sup>

①与同窝瘦鼠比较  $P < 0.05$ ; ②与模型组比较  $P < 0.05$

### 3 讨论

在生理状态下,ROS的产生和清除水平保持一种平衡的状态,而且少量的ROS在维持细胞间的信号传递中起着非常重要的作用,这种作用包括信号转录、转导或程序性细胞死亡<sup>[5]</sup>。但当ROS的产生超过了生物体的承受能力时就会损害蛋白质及细胞结构和功能,从而导致细胞的死亡<sup>[6-7]</sup>。活性氧与机体细胞膜的磷脂、酶和膜受体相关的多不饱和脂肪酸的侧链,及核酸等大分子物质发生脂质过氧化反应产生脂质过氧化产物丙二醛(malondialdehyde, MDA)等,进而使细胞膜的通透性和流动性发生变化,引起Ca<sup>2+</sup>内流和细胞膜的脆性增加,从而导致了细胞结构和功能的改变,因而测定脂质过氧化的产物MDA可以反映机体脂质过氧化反应的水平。

目前治疗胰岛素抵抗的手段多种多样。西医学主要是通过药物干预,提高胰岛素敏感性和降低葡萄糖的摄入,但往往需要长期服药。中医针灸具有疗效确切,在很多疾病状态下都具有清除自由基,提高抗氧化酶的活性的作用<sup>[8-9]</sup>。近年来有许多学者研究对针刺大鼠SOD、MDA含量的影响。结果发现针刺可升高SOD的活性,降低MDA的含量。这表明,针刺可能通过提高抗氧化酶的活性,对抗自由基的损伤<sup>[10]</sup>。

本课题以中医针灸“治未病”理论为指导。提出“标本配穴”<sup>[11]</sup>法,即固护正气的腧穴为本,祛除邪气的腧穴为标,增强机体抵抗病邪能力为本,同时利导邪气排除,注重调动机体整体的潜在抗病能力为标,标本同治达到防治疾病的目的,两者配合应用的腧穴配伍方法<sup>[12]</sup>。选取关元、足三里、中脘、丰隆进行针灸治疗。关元为任脉与足三阴经交会穴,针之可以益精补气,扶助人体先天之本;足三里为胃经合穴和胃腑之下合穴,针之可补益气血生化之源,固护后天之本。关元、足三里相配合,兼顾先天和后天,补益正气。中脘穴为胃之募穴,八会穴之腑会,针之可

以健脾和胃,通降腑气;丰隆为胃经之络穴,具有化痰定喘,宁心安神之功。中脘、丰隆配合可调理肠胃,化痰和胃,祛除邪气。四穴配合,固护先天和后天,祛邪防微,可达以治为防,防治结合之目的。此四穴均为近年被多次报道治疗IR的首选要穴<sup>[13]</sup>。另外,有研究发现,电针,尤其是低频电针,能够促进β内啡肽的释放,增强胰岛素分泌<sup>[14]</sup>,改善胰岛素抵抗,因此,本研究采用电针的干预方法。

综上所述,“标本配穴”电针法具有改善大鼠血糖、体重的作用,同时也能减少氧化应激,促进抗氧化物SOD的表达,清除氧自由基,减少了脂质过氧化物MDA的产生,使机体免受氧自由基的损伤,从而减轻或控制胰岛素抵抗。

#### 参考文献

- [1] Lee BC, Lee J. Cellular and molecular players in adipose tissue inflammation in the development of obesity-induced insulin resistance[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1842(3): 446—462.
- [2] Stavniichuk R, Drel VR, Shevalye H, et al. Baicalein alleviates diabetic peripheral neuropathy through inhibition of oxidative-nitrosative stress and p38 MAPK activation[J]. *Exp Neurol*, 2011, 230(1):106—113.
- [3] Milne JC, Lambert PD, Schenk S, et al. Small molecule activators of SIRT1 as therapeutics for the treatment of type 2 diabetes[J]. *Nature*, 2007, 450(7170):712—716.
- [4] 华兴邦.大白鼠穴位图谱的研制[J].*实验动物与动物实验*, 1991, (1):1—6.
- [5] Babior BM, Takeuchi C, Ruedi J, et al. Investigating antibody-catalyzed ozone generation by human neutrophils[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(6):3031—3034.
- [6] Lander HM. An essential role for free radicals and derived species in signal transduction[J]. *FASEB J*, 1997, 11(2):118-124.
- [7] Valko M, Leibfritz D, Moncol J, et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2007, 39(1):44—84.
- [8] 高洪泉,王英.针刺老年大鼠“足三里”“关元穴”对脑SOD、MDA以及NO含量影响的研究[J].*针灸临床杂志*, 2001, 17(11):47
- [9] 高洪泉,朱梅.针刺老年大鼠“足三里”“关元穴”对心SOD、MDA以及NO含量影响的实验研究[J].*牡丹江医学院学报*, 2002, 23(2):4.
- [10] 高洪泉,韩雪山,王大志,等.针刺老年大鼠“足三里”“关元穴”对肝SOD、MDA以及NO含量影响的实验研究[J].*中华医学杂志*, 2002, 9(16):123.
- [11] 梁凤霞,陈瑞,王华.针灸防治胰岛素抵抗及其相关性疾病的研究思路探讨[J].*中国针灸*, 2012, 32(7):639—643.
- [12] 王华,梁凤霞.腧穴配伍研究思路和展望[J].*辽宁中医杂志*, 2012, 32(4):359—363.
- [13] Liang F, Koya D. Acupuncture: is it effective for treatment of insulin resistance?[J]. *Diabetes Obes Metab*, 2010, 12(7):555—569.
- [14] Chang SL, Lin JG, Chi TC, et al. An insulin-dependent hypoglycaemia induced by electroacupuncture at the Zhongwan (CV12) acupoint in diabetic rats[J]. *Diabetologia*, 1999, 42(2):250—255.