

灯盏花素对2型糖尿病大鼠糖脂代谢的影响

马倩倩¹, 李锦平^{2*}, 武莉², 宋彬好³, 王明亮³

(1. 山西医科大学, 太原 030001; 2. 山西医科大学汾阳学院药理教研室, 山西 汾阳 032200;
3. 山西医科大学汾阳学院科技中心, 山西 汾阳 032200)

[摘要] **目的:**观察灯盏花素对2型糖尿病(T2DM)大鼠糖脂代谢的影响。**方法:**高脂高糖饮食联合链尿佐菌素(STZ)建立T2DM大鼠模型,将成模大鼠随机分为模型组、灯盏花素低、高剂量组(100, 200 mg·kg⁻¹·d⁻¹),并设正常对照组。腹腔注射(ip)灯盏花素14 d后,比较各组大鼠的一般状态、空腹血糖(FBG)、空腹胰岛素(INS)、血脂[总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)]及脂联素(APN)水平,并制作大鼠胰腺组织病理切片。**结果:**与正常组比较,模型组大鼠糖尿病状态明显,血清FBG,INS,TC,TG及LDL-C水平升高,APN水平降低($P < 0.01$),胰腺组织病理损害明显;与模型组比较,低、高剂量组大鼠一般状态有所改善,血清FBG,INS,TC,TG及LDL-C水平降低,APN水平升高($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),胰腺组织病理损害减轻。**结论:**灯盏花素可能通过改善T2DM大鼠APN低水平状态和胰岛素抵抗来改善糖、脂代谢紊乱。

[关键词] 灯盏花素; 2型糖尿病; 脂联素; 胰岛素; 糖脂代谢

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)13-0176-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014130176

Effect of Breviscapine on Glucose and Lipid Metabolism in Type 2 Diabetes Mellitus Rats

MA Qian-qian¹, LI Jin-ping^{2*}, WU Li², SONG Bin-yu³, WANG Ming-liang³

(1. Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China;

2. Department of Pharmacology, Fenyang College Shanxi Medical University, Fenyang 032200, China;

3. Science and Technology Center, Fenyang College Shanxi Medical University, Fenyang 032200, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of breviscapine on glucose and lipid metabolism in type 2 diabetes mellitus (T2DM) rats. **Method:** The T2DM model rats were induced by feeding of high-fat and high-carbohydrate diet and injecting streptozotocin and then were randomly divided into the model group (MG), the low and high dose group (100, 200 mg·kg⁻¹·d⁻¹, LG, HG), A normal control group was also set up (NG). The drugs were given for 14 days by intraperitoneal injection. Then the general status, the fasting blood glucose (FBG), insulin (INS), blood lipid [total cholesterol (TC), triglycerides (TG), and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C)] and adiponectin (APN) levels were compared between each group. The rat pancreatic tissue pathological section were also made. **Result:** Compared with NG, there were obvious symptoms of diabetes in MG, levels of FBG, INS, TC, TG, LDL-C significantly increased and levels of APN decreased in MG ($P < 0.01$). Compared with MG, the general status improved in both LG and HG, levels of FBG, INS, TC, TG, LDL-C significantly decreased and levels of APN increased in both LG and HG ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). **Conclusion:** Breviscapine may adjust the disturbance in the glucose and lipid metabolism by improving the low adiponectin levels and insulin resistance in T2DM rats.

[收稿日期] 20140306(016)

[基金项目] 山西省自然科学基金项目(20051113)

[第一作者] 马倩倩,医学硕士,从事糖尿病、冠心病的防治研究,Tel:13734098188,E-mail:mqdoctor@163.com

[通讯作者] *李锦平,医学硕士,教授,从事糖尿病、冠心病的防治研究,Tel:13663681666,E-mail:lijp5044@163.com

[**Key words**] breviscapine; type 2 diabetes mellitus; adiponectin; insulin; glucose and lipid metabolism

糖尿病(diabetes mellitus, DM)是最常见的内分泌代谢紊乱性疾病之一,其中90%以上为2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM),其引发的一系列并发症是致患者残疾和死亡的主要原因之一^[1],因此对DM的药物防治及作用机制的研究尤为重要。目前降糖药的长期服用难免产生多种不良反应,如:心血管毒性、肝功能损害^[2]。临床研究证实,中药不仅能减少西药的剂量和不良反应,在提高疗效上也显示出巨大优势。灯盏花素是从灯盏花中提取的黄酮类有效成分,已有报道显示其具有良好的心血管保护作用^[3],但对血糖、血脂及胰岛素抵抗的研究甚少,且有关其机制的研究尚未见报道。本实验通过观察灯盏花素治疗前后T2DM大鼠脂联素(adiponectin, APN)、胰岛素(insulin, INS)及糖脂代谢水平,探讨灯盏花素的治疗效果及可能的作用机制。

1 材料

1.1 动物与饲料 6~8周龄健康雄性SD大鼠62只,清洁级,体重(220±20)g,由山西医科大学实验动物中心提供,许可证号SYXK(晋)2009-0004。高脂高糖饲料由59%基础饲料、20%蔗糖、18%猪油、3%蛋黄混合而成。

1.2 药品与试剂 链尿佐菌素(美国Sigma公司,批号329A0312),灯盏花素注射液(石药银湖制药有限公司,批号1011305223),三诺安稳血糖试条(长沙三诺生物传感技术股份有限公司,批号2309NK),总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)试剂盒(南京建成公司,批号分别为20130615,20130617,20130618),INS酶联免疫吸附法(ELISA)测定试剂盒(上海R&D公司,批号201308),脂联素酶联免疫测定试剂盒(上海西唐生物科技有限公司,批号1310271)。

1.3 仪器与设备 三诺血糖测试仪(长沙三诺生物传感技术股份有限公司),725型紫外光栅分光光度计(上海第三分析仪器厂),GL21M型高速冷冻离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司),DM4000B型荧光倒置显微镜(德国LEICA公司),Gen5型酶标仪(美国BIOTEK公司)。

2 方法

2.1 T2DM大鼠模型的制备 选取FBG正常的大鼠62只,适应性喂养7d,按随机原则分为正常组

12只,普通饲料喂养;高脂高糖组50只,高脂高糖饲料喂养,28d后高脂高糖组一次性ip STZ 40 mg·kg⁻¹,5d后断尾取血测定FBG水平,选取FBG≥16.7 mmol·L⁻¹的大鼠作为T2DM模型^[4]。

2.2 分组及给药 选取成模大鼠36只,随机分为模型组、低、高剂量组,每组12只。低、高剂量组分别给予灯盏花素100,200 mg·kg⁻¹·d⁻¹,正常组和模型组给予等剂量生理盐水,均ip 14d。末次给药结束后禁食12h,断尾取血测FBG;麻醉后抽取腹主动脉血,静置2h,3 000 r·min⁻¹,4℃离心10min,提取血清备用;取胰腺组织用4%多聚甲醛固定24h后制成蜡块标本备用。

2.3 指标的检测 一般状态观察:观察大鼠的精神状态、体重、进食量、饮水量、尿量。生化指标的检测采用快速血糖仪测大鼠FBG,ELISA法测定并计算大鼠血清中INS,APN含量;酶法检测大鼠血清TC, TG水平;选择性沉淀法检测大鼠血清LDL-C水平;HE染色观察胰腺组织病理学变化。所有实验操作均按说明书严格操作。

2.4 统计学处理 运用统计软件SPSS 17.0进行统计学分析,所有数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析,组间比较方差齐者用LSD法,方差不齐者用Dunnet's T3检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠一般状态的比较 结果显示,正常组大鼠精神状态良好,体重持续增加,无其他症状。模型组大鼠精神萎靡,体毛散乱无光泽,活动明显减少,体重逐渐较前下降,消瘦走势,并有明显的多饮多食多尿等DM症状。预防性用药后,低、高剂量组一般状态有不同程度的改善,其中高剂量组改善明显,精神转好,体毛恢复光泽。

3.2 各组大鼠FBG,INS及APN的比较 与正常组比较,模型组大鼠FBG、INS水平明显升高,APN水平明显降低($P < 0.01$);预防性用药后,与模型组比较,低、高剂量组大鼠FBG,INS水平有不同程度降低,APN水平升高($P < 0.01$),见表1。

3.3 各组大鼠血脂指标的比较 与正常组比较,模型组大鼠TC, TG及LDL-C水平均明显升高($P < 0.01$);预防性用药后,低、高剂量组大鼠TC, TG及LDL-C水平均低于模型组($P < 0.05$),见表2。

表 1 各组大鼠 FBG,INS 及 APN 的比较($\bar{x} \pm s, n = 12$)

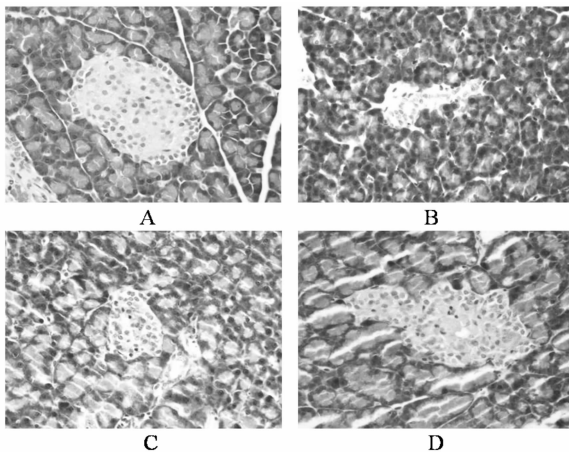
组别	剂量	FBG	INS	APN
	/mg·kg ⁻¹	/mmol·L ⁻¹	/mU·L ⁻¹	/mg·L ⁻¹
正常	-	4.29 ± 0.35	4.61 ± 0.49	18.19 ± 1.90
模型	-	23.81 ± 2.53 ²⁾	6.82 ± 0.80 ²⁾	4.37 ± 0.45 ²⁾
灯盏花素	100	13.62 ± 0.96 ⁴⁾	5.47 ± 0.50 ⁴⁾	5.87 ± 0.64 ⁴⁾
	200	10.95 ± 1.40 ⁴⁾	4.90 ± 0.34 ⁴⁾	8.30 ± 1.34 ⁴⁾

注:与正常组比较¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01;与模型组比较³⁾ P < 0.05, ⁴⁾ P < 0.01(表 2 同)。

表 2 各组大鼠血脂指标的比较($\bar{x} \pm s, n = 12$) mmol·L⁻¹

组别	剂量	TC	TG	LDL-C
	/mg·kg ⁻¹			
正常	-	1.33 ± 0.32	0.47 ± 0.20	0.47 ± 0.21
模型	-	3.28 ± 0.53 ²⁾	2.21 ± 0.46 ²⁾	1.21 ± 0.26 ²⁾
灯盏花素	100	2.29 ± 0.47 ⁴⁾	1.84 ± 0.46 ³⁾	0.69 ± 0.18 ⁴⁾
	200	1.43 ± 0.32 ⁴⁾	0.72 ± 0.24 ⁴⁾	0.50 ± 0.09 ⁴⁾

3.4 各组大鼠胰腺组织病理形态的比较 正常组大鼠胰岛形态完好,多数呈圆形或椭圆形,分散于胰腺腺泡之间,数目较多,胞质丰富,细胞边界清晰,轮廓规则,细胞间有丰富的毛细血管。模型组大鼠胰岛萎缩,数目明显减少,胞质疏松着色浅,密度减低,细胞边界不清,形态不规则,部分细胞核固缩且细胞减少。灯盏花素低、高剂量组较模型组有不同程度改善,胰岛数目增多,胞质增多,核固缩减轻,形态较规则,高剂量组改善效果更明显,见图 1。



A. 正常组;B. 模型组;C. 灯盏花素 100 mg·kg⁻¹·d⁻¹组;
D. 灯盏花素 200 mg·kg⁻¹·d⁻¹组

图 1 各组大鼠胰腺组织病理形态学变化(HE, ×400)

4 讨论

本实验用高脂高糖饲料喂养 4 周与单次 ip 给予 40 mg·kg⁻¹ STZ 联合造 T2DM 大鼠模型,大鼠 FBG 均 ≥ 16.7 mmol·L⁻¹, 并出现饮水量、进食量、尿

量均明显增加而体重下降的症状,建模后大鼠耸毛卷伏,体毛无光泽,活动减少,结合各项生化指标和形态的结果来看,模型较符合 T2DM 的病理特点。经实验确定以 40 mg·kg⁻¹ 剂量 STZ 单次 ip,模型成功率达 80% 以上,死亡率下降,模型较稳定,表明该造模方法切实可行。

目前 DM 被认为是心脑血管、肾脏、肝脏等疾病的独立危险因素,与 DM 有关的糖、脂代谢紊乱、胰岛素抵抗等危险因素使 DM 患者发生并发症的风险增高,因此降低这些因素是预防和治疗 DM 及其并发症的关键。

灯盏花素作为一种应用广泛的中药有效成分,不良反应少,可长期应用,其具有抗炎止痛、活血化痰、保肝护肾、防治心脑血管病等药理作用^[5],研究发现,灯盏花素能降低 DM 模型动物的血糖、血脂水平,提高 INS 分泌指数^[6-7],本实验结果显示,灯盏花素干预治疗后,大鼠胰岛细胞得到了一定程度的保护,血糖、血脂水平较模型组有不同程度的降低,胰岛素抵抗也得到了改善,且随着给药剂量的增加改善越显著,提示了灯盏花素可改善胰岛素抵抗,调节糖脂代谢,对 T2DM 大鼠具有明显疗效。

APN 是由脂肪细胞表达和分泌的一种激素蛋白,具有广泛的生物学作用,可调节糖脂代谢、增强 INS 敏感性、抵抗炎症发生发展,是人体的保护因子^[8]。APN 在正常机体血清中含量丰富,但在肥胖、T2DM、冠心病等胰岛素抵抗状态下水平降低^[9]。本实验通过检测大鼠血清 APN 水平发现,T2DM 大鼠的血清 APN 水平明显低于正常大鼠,这一结果与文献报道一致。经灯盏花素治疗后,T2DM 大鼠血清 APN 水平有不同程度升高,高剂量组升高更明显,提示其可以提高 T2DM 大鼠的血清 APN 水平。由此推测,灯盏花素可通过增加 APN 表达改善胰岛素抵抗,从而调节糖、脂代谢。其可能的机制为:①灯盏花素可上调循环血中 APN 浓度,APN 作为一种 INS 超敏化激素可促进骨骼肌脂肪酸的氧化,并抑制肝脏糖异生,提高 INS 的敏感性,改善胰岛素抵抗,从而通过增敏 INS 效应细胞增加外周组织对糖的利用而发挥降糖作用^[10]。②临床资料表明,APN 与 TC, TG, LDL-C 水平独立相关^[11],APN 能与其受体结合增加细胞氧化旁路和氧化磷酸化过程中相关酶的表达,使骨骼肌与肝脏对脂肪酸的利用增加,游离脂肪酸快速氧化,血清 TG 和脂肪酸含量下降,改善体内脂质代谢,增加 INS 敏感性^[12]。实验结果显示灯盏花素治疗后大鼠 INS, FBG 及血

脂水平降低,并呈剂量依赖性,这与推测结论相符。

综上所述,灯盏花素可改善 T2DM 大鼠糖、脂代谢紊乱,最终发挥对胰岛细胞的保护作用。其在治疗 DM 方面的疗效及机制,值得进一步研究探讨,以期今后在临床上得到更广泛的应用。另外,本实验主要目的是观察灯盏花素对 T2DM 大鼠模型新的疗效与可能的作用机制,与模型组比较亦能显示疗效与探讨机制,由于本实验是导师课题的初步研究,有不足之处,下一阶段的课题研究将会设置阳性药物组来完善。

[参考文献]

[1] Shirani J, Dilsizian V. Screening asymptomatic patients with type 2 diabetes mellitus for coronary artery disease: Does it improve patient outcome? [J]. *Curr Cardiol Rep*, 2010, 12(2):140.

[2] Hafizur R M, Kabir N, Chishti S. Modulation of pancreatic β -cells in neonatally streptozotocin-induced type 2 diabetic rats by the ethanolic extract of *Momordica charantia* fruit pulp [J]. *Nat Prod Res*, 2011, 25(4):353.

[3] 周光宇,杨为民. 灯盏花素治疗缺血性心脑血管疾病的细胞分子作用机制研究进展[J]. *昆明医学院学报*, 2009, 30(3B):213.

[4] 王保伟,李颖,刘晓红,等. 高脂饲料喂养时间及链脲佐菌素剂量对实验型2型糖尿病大鼠造模的影响[J]. *卫生研究*, 2011, 40(1):99.

[5] 林莉莉,邹浩军. 灯盏花素作用机制研究进展[J]. *中国民族民间医药*, 2007, 89(6):368.

[6] 莫灼康,罗军强. 灯盏花素对四氧嘧啶致糖尿病小鼠的降血糖作用研究[J]. *中国医药指南*, 2012, 10(12):89.

[7] 邱阜生,高英堂,朱争艳,等. 糖尿病模型大鼠血糖、血脂、转化生长因子 β 变化与灯盏花素[J]. *中国临床康复*, 2005, 9(15):132.

[8] Hotta K, Funahashi T, Arita Y, et al. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, 20(6):1595.

[9] Hotta K, Funahashi T, Bodkin N L, et al. Circulating concentrations of the adipocyte protein adiponectin are decreased in parallel with reduced insulin sensitivity during the progression to type 2 diabetes in rhesus monkeys[J]. *Diabetes*, 2001, 50(5):1126.

[10] 丁宁,张玲,陈凤静,等. 抵当汤对高脂饮食胰岛素抵抗大鼠的瘦素、脂联素及其受体 mRNA 表达的影响[J]. *中药药理与临床*, 2013, 29(4):1.

[11] Adameczak M, Wiecek A, Funahashi T, et al. Decreased plasma adiponectin concentration in patients with essential hypertension[J]. *Am J Hypertens*, 2003, 16(1):72.

[12] 崔倩卫,冷吉燕,卜丽梅,等. 高血压伴胰岛素抵抗患者血清脂联素水平与动脉粥样硬化的相关性研究[J]. *中国老年学杂志*, 2011, 31(11):1959.

[责任编辑 聂淑琴]

欢迎投稿

欢迎订阅