

# 灯盏花素对大鼠 2 型糖尿病胰岛素抵抗的影响

武莉<sup>1</sup>, 马倩倩<sup>2</sup>, 张轩萍<sup>2</sup>, 李锦平<sup>1\*</sup>

(1. 山西医科大学汾阳学院药理学教研室, 山西 汾阳 032200; 2. 山西医科大学, 太原 030001)

**[摘要]** **目的:**探讨灯盏花素(breviscapine, Bre)对 2 型糖尿病胰岛素抵抗大鼠模型的血糖、血脂和对胰岛素抵抗的影响。**方法:**高脂高糖结合链脲佐菌素(STZ)制备 2 型糖尿病胰岛素抵抗模型。4 周后选取空腹血糖  $> 16.7 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的大鼠随机分为模型组、Bre 低、高剂量组( $100, 200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ), 并设正常对照组。连续给药 14 d 后, 断尾采血测血糖(FBG), 空腹胰岛素(FINS), 血清总胆固醇(TC), 甘油三酯(TG), 游离脂肪酸(FFA), 计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)。HE 染色观察胰腺和心脏组织形态学改变。**结果:**与正常对照组比较, 模型组 FBG, FINS, TG, TC, FFA, HOMA-IR 明显升高( $P < 0.05$ ), 显示胰岛素抵抗特征。与模型对照组相比, Bre 高、低剂量组 FBG, FINS, TG, TC, FFA, HOMA-IR 降低( $P < 0.05$ ); 组织 HE 染色光镜下观察显示, 模型组大鼠胰腺及心脏结构异常, Bre 高、低剂量组均能明显改善胰腺及心脏组织的病理改变。**结论:**灯盏花素对 2 型糖尿病胰岛素抵抗大鼠模型有降低血糖水平、调节血脂紊乱的作用并呈剂量依赖性, 可以改善胰岛素的抵抗, 减轻胰腺和心脏的病理损伤。

**[关键词]** 灯盏花素; 2 型糖尿病; 胰岛素抵抗

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)16-0152-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014160152

## Effect of Breviscapine in Type 2 Diabetes Mellitus Rats with Insulin Resistance

WU Li<sup>1</sup>, MA Qian-qian<sup>2</sup>, ZHANG Xuan-ping<sup>2</sup>, LI Jin-ping<sup>1\*</sup>

(1. Department of Pharmacology, Fenyang College of Shanxi Medical University, Fenyang 032200, China;  
2. Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the effects of breviscapine (Bre) on serum glucose, serum lipid and insulin resistance in type 2 diabetes mellitus rats with insulin resistance and find its mechanism. **Method:** Experimental diabetic insulin resistance was duplicated in rats by feeding on high-fat and high-carbohydrate diet four weeks plus injecting low-doses streptozotocin (STZ,  $40 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ). Then the rats whose free blood glucose (FBG) level was equals to or surpasses  $16.7 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  were selected and divided into model group of Bre, the low does group, and the high does group. The medication was given for 14 days. FBG, fasting insulin (FINS), free fatty acids (FFA), triglycerides (TG), total cholesterol (TC) were measured and calculated the insulin resistance index (HOMA-IR) after 14 days. The pancreas, myocardial tissues were stained by HE so as to observe its morphologic changes. **Result:** FBG, FINS, TG, TC, FFA, HOMA-IR increased in the model group as compared with those in normal group. FBG, FINS, TG, TC, FFA, HOMA-IR reduced in the Bre group compared with those in model group. Curative effect of Bre-H group was better than Bre-L group ( $P < 0.05$ ). Through HE-stain in model group the organizational structure of the pancreas and myocardial tissues was abnormal. The pathologic changes in different does Bre groups were significantly improved. **Conclusion:** Bre can reduce levels of

**[收稿日期]** 20140331(020)

**[基金项目]** 山西省科技厅基础研究计划项目(20051113)

**[第一作者]** 武莉, 硕士研究生在读, 讲师, 从事心血管药理学研究, Tel: 15035880183, E-mail: wuli0509@163.com

**[通讯作者]** \* 李锦平, 硕士, 教授, 从事心血管药理学研究, E-mail: lij5044@163.com

blood glucose, regulate components and content of blood lipids, and improve the insulin resistance.

[Key words] breviscapine; type 2 diabetes mellitus; insulin resistance

胰岛素抵抗是2型糖尿病的特征,也是其发病的重要机制。因此,提高胰岛素的敏感性成为治疗糖尿病药物研究的新思路。西医在防治胰岛素抵抗过程中由于其毒副作用、耐药性的原因影响长期使用。中药在防治糖尿病及其并发症领域有独特优势。近些年来研究显示,许多中药制剂可以改善胰岛素抵抗<sup>[1]</sup>。灯盏花素的有效成分是黄酮类,以灯盏乙素为主。作为传统中药,灯盏花素具有改善心脑血管血流、抗氧化应激、抗炎、抗纤维化、保肝利胆的作用。研究还发现灯盏花素对糖尿病小鼠有降血压、降血糖、降血脂的效果<sup>[2]</sup>。但是对糖尿病大鼠,尤其是2型糖尿病大鼠相关指标的影响鲜有报道。本实验在此基础上,观察灯盏花素对2型糖尿病胰岛素抵抗模型大鼠糖脂代谢的作用,并观察其对胰腺和心脏组织形态学的影响,以探讨灯盏花素改善模型胰岛素抵抗可能的机制。

## 1 材料

**1.1 动物** 健康雄性SD大鼠60只,体重(220±20)g,清洁级,购自山西医科大学实验动物中心,许可证号SYXK(晋)2009-0004。

**1.2 药物及试剂** 链脲佐菌素(STZ,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),总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、游离脂肪酸(FFA)试剂盒(南京建成生物工程研究所公司,批号分别为20130726,20130726,20130726),胰岛素(INS)放射免疫分析试剂盒(上海R&D公司,批号201308),三诺安稳血糖仪和试纸条(长沙三诺生物传感技术股份有限公司,批号2309NK)。

**1.3 仪器** BL-420S型心电图机(成都泰盟科技有限公司),725型紫外光栅分光光度计(上海第三分析仪器厂),DM 4000 B型生物显微镜(德国LEICA),GL21M型高速冷冻离心机长沙湘仪离心机仪器有限公司),Gen5型酶标仪(美国Biotek)。

## 2 方法

**2.1 2型糖尿病胰岛素抵抗模型的制备** 将60只健康雄性SD大鼠,基础饲料适应性喂养1周。禁食12h测空腹血糖,选择空腹血糖正常的大鼠56只,将其中12只作为正常对照组用普通饲料喂养,其余44只用高脂高糖饲料喂养4周。4周后,大鼠禁食不禁水12h,除正常对照组外,其余大鼠给予小

剂量STZ(40 mg·kg<sup>-1</sup>,溶于0.1 mmol·L<sup>-1</sup>柠檬酸缓冲液中,pH 4.4)1次性左下腹ip。14 d后,断尾取血测空腹血糖>16.7 mmol·L<sup>-1</sup>为造模成功。

**2.2 分组与给药** 将成模大鼠36只,随机分为模型组、灯盏花素高、低剂量组,每组12只。成模后次日,低剂量组给予灯盏花素注射液100 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>,高剂量组给予灯盏花素注射液200 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>,ip给药,正常组和模型组给予等体积生理盐水,ip连续给药14 d。给药期间,除正常对照组外,其余各组继续喂高脂高糖饲料,每天称体重。

**2.3 标本采集** 给药结束后禁食12 h,取尾静脉血测空腹血糖(FBG)。随后大鼠10%水合氯醛麻醉,腹主动脉取血,3 000 r·min<sup>-1</sup>离心10 min,取血清测相关指标。取胰腺、心脏心尖部,用4%多聚甲醛固定24 h后制成蜡块标本。

**2.4 指标检测** 用快速血糖仪检测血糖;比色法测TC, TG, FFA; ELISA法测定血清空腹胰岛素(FINS),计算稳态模式胰岛素抵抗指数(HOMA-IR) = FBG (mmol·L<sup>-1</sup>) × FINS (mU·L<sup>-1</sup>)/22.5。HOMA-IR > 2.75为胰岛素抵抗, HOMA-IR < 2.75为胰岛素敏感<sup>[3]</sup>。

**2.5 胰腺、心肌组织染色** 将胰腺、心肌组织蜡块标本切成4 μm厚的切片,常规脱蜡至水,苏木素染细胞核,伊红染细胞质,梯度乙醇脱水,二甲苯透明后中性树胶封片,光学显微镜下检查心脏有无下列病变:心肌有无肥大、变性坏死,间质有无充血水肿、炎细胞浸润,组织细胞有无增生;心外膜有无充血水肿、炎细胞浸润或纤维化;心内膜有无变性坏死,炎细胞浸润等病变。并根据各种病变由轻到重的程度分别标记为“+”, “++”, “+++”, “++++”, 无明显病变者标记为“-”, 分别评为1分, 2分, 3分, 4分, 0分。累加每组每只动物所有病变分数,并计算出每组每只动物的均分,分值越低提示病变程度越轻,药物疗效越好<sup>[4]</sup>。

**2.6 统计学方法** 实验数据采用SPSS 17.0软件处理,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两独立样本的计量资料采用 $t$ 检验,多组间比较采用方差分析法,两两比较用LSD- $t$ 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 一般状况** 正常组大鼠皮毛有光泽,反应敏捷,体重增加;模型组大鼠毛发直立、无光泽,反应迟

钝,多尿、多饮、多食明显,体重下降;与模型组相比,药物干预组同样出现“三多一降”现象,但比模型组程度轻,体重下降较缓。

**3.2 对 2 型糖尿病大鼠体重、血糖的影响** 模型组大鼠血糖水平比正常组血糖水平明显升高,体重明显下降( $P < 0.05$ );给药 14 d 后,灯盏花素高、低剂量组血糖水平比模型组明显降低,体重升高( $P < 0.05$ )。并且高剂量组对各指标的影响作用更为显著。见表 1。

表 1 灯盏花素对 2 型糖尿病大鼠体重、血糖的影响( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

组别	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	用药后体重 /g	用药后空腹血糖 /mmol·L <sup>-1</sup>
正常	-	238 ± 23	5.3 ± 0.4
模型	-	149 ± 18 <sup>1)</sup>	25.8 ± 1.8 <sup>1)</sup>
Bre	100	176 ± 21 <sup>2)</sup>	14.6 ± 4.1 <sup>2)</sup>
	200	200 ± 29 <sup>2)</sup>	10.8 ± 3.2 <sup>2)</sup>

注:与正常组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ;与模型组比较<sup>2)</sup> $P < 0.05$ (表 2 ~ 4 同)。

**3.3 对 2 型糖尿病大鼠血脂的影响** 模型组大鼠 TG, TC, FAA 水平比正常组 TG, TC, FAA 水平明显升高( $P < 0.05$ );给药 14 d 后,灯盏花素高、低剂量组 TG, TC, FAA 水平比模型组明显降低( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 灯盏花素对 2 型糖尿病大鼠血脂的影响( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )  
mmol·L<sup>-1</sup>

组别	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	TG	TC	FAA
正常	-	1.53 ± 0.18	0.54 ± 0.08	1.41 ± 0.40
模型	-	3.12 ± 0.16 <sup>1)</sup>	1.75 ± 0.19 <sup>1)</sup>	2.10 ± 0.28 <sup>1)</sup>
Bre	100	2.29 ± 0.27 <sup>2)</sup>	1.08 ± 0.13 <sup>2)</sup>	1.81 ± 0.26 <sup>2)</sup>
	200	1.93 ± 0.21 <sup>2)</sup>	0.95 ± 0.32 <sup>2)</sup>	1.67 ± 0.17 <sup>2)</sup>

**3.4 对 2 型糖尿病大鼠血清 FINS, HOMA-IR 的影响** 模型组大鼠血清 FINS, HOMA-IR 水平比正常组血清 FINS, HOMA-IR 水平明显升高( $P < 0.05$ ), HOMA-IR > 2.75 提示 2 型糖尿病胰岛素抵抗模型建立;给药 14 d 后,灯盏花素高、低剂量组血清 FINS, HOMA-IR 水平比模型组明显降低( $P < 0.05$ )。见表 3。

**3.5 对糖尿病大鼠心脏病变的影响** 模型组大鼠病变评分比正常组病变评分明显升高( $P < 0.05$ );给药 14 d 后,灯盏花素高、低剂量组病变评分比模型组明显降低( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 3 灯盏花素对 2 型糖尿病大鼠血清 FINS, HOMA-IR 及心脏病变评分的影响( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

组别	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	FINS /mU·L <sup>-1</sup>	HOMA-IR	病变评分 /分
正常	-	4.71 ± 0.59	0.96 ± 0.06	0.0 ± 0.0
模型	-	6.97 ± 0.62 <sup>1)</sup>	7.25 ± 1.03 <sup>1)</sup>	6.2 ± 0.7 <sup>1)</sup>
Bre	100	5.54 ± 0.42 <sup>2)</sup>	3.36 ± 0.32 <sup>2)</sup>	3.4 ± 0.8 <sup>2)</sup>
	200	4.88 ± 0.33 <sup>2)</sup>	2.42 ± 0.36 <sup>2)</sup>	2.9 ± 1.4 <sup>2)</sup>

注:与正常组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ;与模型组比较<sup>2)</sup> $P < 0.05$ 。

### 3.6 灯盏花素对胰腺、心脏病理改变的影响

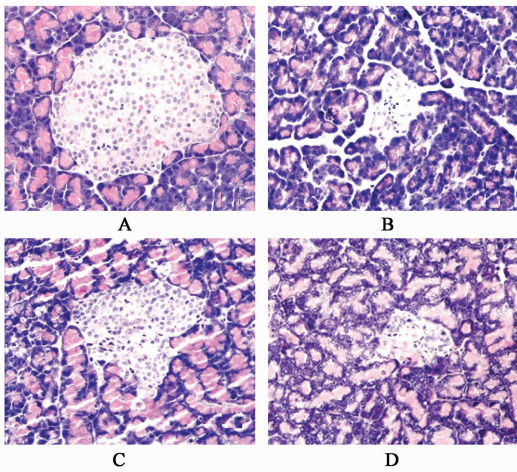
**3.6.1 胰腺组织形态改变** 正常组大鼠镜下胰岛数目丰富,呈圆形或椭圆形,体积较大,边界清,胰岛细胞胞核居中,胞质丰富;糖尿病胰岛素抵抗模型组大鼠胰岛数目减少,边界不清,胰岛细胞体积增大,形态不规则,细胞核偏心分布;Bre 高、低剂量组较模型组病变较轻,胰岛数目增多,胰岛细胞形态较规则,排列规整,细胞质增多,而高剂量组较低剂量组改善明显。见图 1。

**3.6.2 心脏组织形态改变** 正常组大鼠肌浆红染,心肌纤维排列整齐,核居中,无炎细胞浸润。模型组大鼠胞浆红染,心肌纤维断裂、杂乱、呈疏松水肿状,核偏心分布、大小不等,可见嗜酸变性。Bre 高、低剂量组较模型组病变较轻,有明显改善,其中高剂量组改善更明显,心肌纤维结构整齐,无断裂,核居中,嗜酸变性轻微。见图 2。

## 4 讨论

2 型糖尿病发病机制普遍认为胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)是中心环节。IR 发病率超过了 80%,因此改善 IR 及其相关代谢异常已成为降低糖尿病发病率和诸多并发症的重要防治措施<sup>[5]</sup>。

T2DM 发病机制中,“脂毒性”即脂质代谢紊乱对细胞具有的毒性作用<sup>[6]</sup>逐渐受到重视,脂质代谢紊乱在加重高血糖的同时,还能显著增高糖尿病大血管并发症的发生率。TG 水平显著增高是 2 型糖尿病最常见的脂质代谢紊乱<sup>[7]</sup>,IR 与脂质代谢紊乱有共同的生物学基础。已有研究表明, TG 的水解产物 FFA 是糖尿病发生发展过程中重要危险因素之一<sup>[8]</sup>,可引起心肌细胞形态学改变<sup>[4]</sup>。高 TG 血症者,血中 FFA 显著上升,不仅加重高血糖,还干扰了胰岛素在周围组织中与受体的结合,造成 IR<sup>[9]</sup>。IR 与高脂血症互为因果,形成恶性循环<sup>[10]</sup>。研究发现,IR 是糖尿病及心血管病变中的一个独立的危险因素,每升高 1 单位胰岛素将增加 5.4% 的心血管



A. 正常组;B. 模型组;C. Bre 200 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>组;  
D. Bre 100 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>组(图2同)  
图1 灯盏花素对2型糖尿病大鼠胰腺  
组织病变的影响(HE染色,×400)

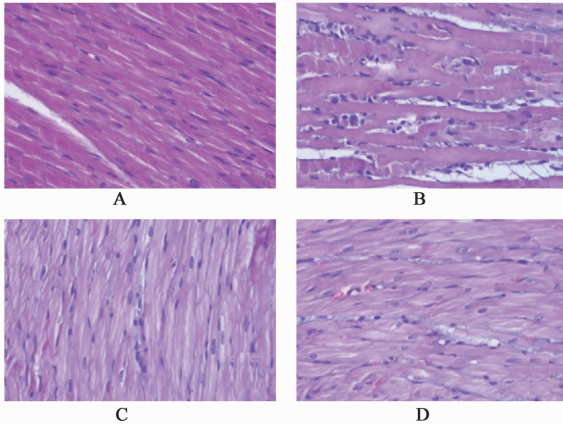


图2 灯盏花素对2型糖尿病大鼠  
心脏组织病变的影响(HE染色,×400)

发病风险<sup>[11]</sup>。因此,传统的以降糖为主的糖尿病防治策略,应该转化为以改善IR及调节脂质代谢紊乱,防治心血管疾病等并发症为目标。

本实验采用高脂高糖饮食加小剂量STZ诱发2型糖尿病胰岛素抵抗,造模动物出现了高血糖、高血脂、高胰岛素血症和胰岛素敏感性降低等特征,与人类2型糖尿病IR的发病特征相似<sup>[12]</sup>,说明模型建立成功。实验结果显示,灯盏花素能显著降低2型糖尿病胰岛素抵抗大鼠的血糖水平,提高胰岛素敏感性;通过降低TC,TG,FFA的含量调节脂质代谢紊乱;从而对2型糖尿病胰岛素抵抗产生防治作用。

本研究主要从生化和组织学角度探讨灯盏花素对2型糖尿病胰岛素抵抗的作用。灯盏花素降糖、降脂、改善胰岛素抵抗的作用,机制可能为通过降

脂、降低FFA水平、抗炎、减少了组织和血中游离脂肪酸残基和自由基的生成,降低了组织损伤的程度;心脏和胰腺的病理组织学也证实了灯盏花素能明显改善组织病理损伤。结果提示灯盏花素可以通过改善胰岛素抵抗达到减轻糖尿病病情、阻止或延缓心血管并发症出现的目的。

[参考文献]

[1] 郑海生,金智生,刘凯,等. 红芪多糖对2型糖尿病胰岛素抵抗大鼠胰岛素敏感性影响的研究[J]. 中医学刊,2010,(7):1516.  
[2] 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.  
[3] 王依屹,张珏,鲁传翠. 2型糖尿病患者胰岛素抵抗与血清游离脂肪酸浓度的关系[J]. 检验医学,2012(10):806.  
[4] 刘洪,许惠琴,时艳. 山茱萸环烯醚萜总苷对2型糖尿病心脏病变大鼠胰岛素抵抗及血脂含量的影响[J]. 中药药理与临床,2007,23(3):36.  
[5] Pettinelli P, del Pozo T, Araya J, et al. Enhancement in liver SREBP-1c/PPAR-alpha ratio and steatosis in obese patients: correlations with insulin resistance and n-3 Long-chain polyunsaturated fatty acid depletion [J]. Biochim Biophys Acta,2009,1792(11):1080.  
[6] Neschen Susanne, Morino Katsutaro, Dong Jianying, et al. n-3 Fatty acids preserve insulin sensitivity *in vivo* in a peroxisome proliferator-activated receptor-alpha-dependent manner [J]. Diabetes, 2007, 56(4):1034.  
[7] Franssen Remco, Monajemi Houshang, Stroes Erik S G, et al. Obesity and dyslipidemia[J]. Med Clin North Am, 2011, 95(5):893.  
[8] Yellaturu C R, Deng X, Cagen L M, et al. Insulin enhances posttranslational processing of nascent SREBP-1c by promoting its phosphorylation and association with COPII vesicles[J]. Biol Chem,2009,284(12):7518.  
[9] 丁晓东,范建高. 肝脏胰岛素抵抗的机制和后果[J]. 中华糖尿病杂志,2009,1(4):297.  
[10] 杨燕,童南伟. 肥胖、脂代谢紊乱、胰岛素抵抗的相互关系[J]. 药品评价, 2011, 8(9):27.  
[11] 李金梁. 胰岛素抵抗与心血管病的临床和药理学研究[D]. 吉林:吉林大学,2012.  
[12] 陈津津,王韧,李晓芳,等. 高脂饮食诱导胰岛素抵抗模型建立及其内脏损伤的研究[J]. 中华临床医师杂志(电子版),2011,5(6):1630.

[责任编辑 聂淑琴]