

降脂保肝方对糖尿病高脂血症大鼠糖脂代谢紊乱的影响

杨蕙¹, 王宇红^{1,2*}, 莫韦皓²

(1. 湖南省中药粉体与创新药物省部共建国家重点实验室培育基地, 长沙 410007;
2. 湖南中医药大学第一附属医院 中药药理(心血管)实验室, 长沙 410007)

[摘要] 目的:探讨降脂保肝方对糖尿病高脂血症大鼠糖脂代谢紊乱的影响。方法:采用高脂乳剂灌胃联合尾静脉注射链脲佐菌素(STZ, 38 mg·kg⁻¹)制备大鼠 2 型糖尿病模型,随机分为模型组、阳性药(二甲双胍 0.18 g·kg⁻¹)组、降脂保肝方组 9.54 g·kg⁻¹并设正常对照组,ig 连续给药 35 d。实验结束后,测定各组大鼠空腹血糖(FPG),糖化血红蛋白(HbA1c)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白(LDL)、高密度脂蛋白(HDL)、丙二醛(MDA)水平和超氧化物歧化酶(SOD)活性,肝脏 TC, TG, MDA, SOD。结果:与正常组比较,模型组大鼠 FPG, 血清 HbA1c, 血清及肝脏 TC, TG, LDL 和 MDA 水平显著升高,血清及肝脏中 HDL 水平显著降低且 SOD 活性显著减弱($P < 0.05$);降脂保肝方可以显著降低糖尿病高脂血症大鼠 FPG, 血清 HbA1c, 血清及肝脏 TC, TG, LDL, MDA 水平,提高血清及肝脏中 HDL 水平和 SOD 活性($P < 0.05$)。结论:降脂保肝方可有效调节糖尿病高脂血症大鼠糖脂代谢紊乱,降低肝脏脂质水平,提高机体抗氧化能力。

[关键词] 降脂保肝方; 糖尿病高脂血症; 糖脂代谢紊乱; 丙二醛; 超氧化物歧化酶

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)07-0230-04

[doi] 10.11653/zgsyfyjzz2013070230

Effects of Jiangzhi Baoganfang on the Metabolic Disorders of Glucose and Lipid in Type 2 Diabetic Rat with Hyperlipemia

YANG Hui¹, WANG Yu-hong^{1,2*}, MO Wei-hao²

(1. Training Bases, Hunan Key Laboratory of Chinese Materia Medica Powder and Innovative Drugs Established by Provincial and Ministry, Changsha 410007, China; 2. Key Laboratory of Chinese Materia Medica Pharmacology (Cardiovascular), First Hospital of Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410007, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of Jiangzhi Baoganfang on the metabolic disorders of glucose and lipid in type 2 diabetic rat with hyperlipemia. **Method:** Type 2 diabetic rat model was established by high-fat diet with tail vein injection of streptozotocin (STZ, 38 mg·kg⁻¹). Model rats were randomly divided into model group, positive medicine group (metformin 0.18 g·kg⁻¹), Jiangzhi Baoganfang group 9.54 g·kg⁻¹ and normal control group. Then the rats were administered with corresponding drugs for 35 days. The fasting plasma glucose (FPG), glycosylated hemoglobin (HbA1c), total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low density lipoprotein (LDL), high density lipoprotein (HDL), malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), as well as TC, TG, MDA and SOD in liver were measured. **Result:** Compared with model group, the levels of FPG, HbA1c in serum, TC, TG, LDL and MDA in serum and liver were significantly increased while the level of HDL and the activity of SOD in serum and liver were significantly decreased in model group ($P < 0.05$). The levels of FPG, HbA1c in serum, TC, TG, LDL and MDA in serum and liver were significantly reduced while the level of HDL and the activity of SOD in serum and liver was significantly higher in Jiangzhi Baoganfang group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Jiangzhi Baoganfang can adjust the metabolic disorders of glucose and lipid in type 2 diabetic rat with

[收稿日期] 20120826(004)

[第一作者] 杨蕙, 硕士研究生, 初级药师, 从事中药药理与新药开发, Tel: 15111415343, E-mail: philomena_yh@sina.com

[通讯作者] * 王宇红, 博士, 博士生导师, 从事药效组方筛选研究, E-mail: philomena_yh@sina.com

hyperlipemia, decrease the lipid levels in liver and improve the antioxidant capacity.

[**Key words**] Jiangzhi Baoganfang; diabetic hyperlipemia; metabolic disorders of glucose and lipid; MDA; SOD

正常人群高脂血症的发生率为 20% ~ 40%, 而糖尿病患者高脂血症的发生率高达 60%。高脂血症包括高胆固醇血症、高甘油三酯及高低密度脂蛋白胆固醇血症, 其不仅是糖尿病血管病变发生的主要危险因素, 也是促进冠心病和动脉硬化发生的一个重要原因^[1]。降脂保肝方是以中医基础理论为指导, 结合多年临床经验制成的中药复方制剂, 由黄连、山楂、知母、山茱萸、桑叶组成, 全方共奏益气养阴, 清热燥湿, 活血化痰之功效, 主要用于治疗糖尿病高脂血症。本实验采用高脂乳剂灌胃联合尾静脉注射链脲佐菌素 (STZ) 制备大鼠 2 型糖尿病模型^[2], 观察降脂保肝方对 2 型糖尿病模型大鼠空腹血糖 (FPG), 血清糖化血红蛋白 (HbA1c)、总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、低密度脂蛋白 (LDL)、高密度脂蛋白 (HDL), 肝脏 TC, TG 的影响, 探讨其对糖尿病高脂血症的治疗作用; 同时测定血清及肝脏中自由基代谢产物丙二醛 (MDA) 水平和超氧化物歧化酶 (SOD) 活性, 探索其降糖降脂作用与抗氧化的相关性, 为降脂保肝方的临床用药提供理论依据。

1 材料

1.1 药物 降脂保肝方由桑叶, 山茱萸, 知母, 山楂, 黄连组成, 原药材购自湖南中医药大学第一附属医院。由湖南中医药大学第一附属医院药剂科按桑叶 0.9: 山茱萸 1.08: 知母 1.08: 山楂 1.08: 黄连 5.4 的比例水煎浓缩后制成口服液, 按生药量计质量浓度为 0.954 g·mL⁻¹。盐酸二甲双胍片 (规格 500 mg/片, 批号 20111009, 上海施贵宝制药公司)。

1.2 动物 SPF 级雄性 SD 大鼠 60 只, 180 ~ 200 g, 由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供, 许可证号 SCXK (湘) 2009-0004。全价颗粒饲料由湖南中医药大学 SPF 实验动物中心提供。实验动物环境设施合格证号 SYXK (湘) 2009-0001。

1.3 试剂 高脂乳剂组成: 10% 胆固醇、0.2% 丙硫氧嘧啶、20% 猪油、2% 胆酸钠、20% 吐温-80、20% 丙二醇、加蒸馏水至 100 mL 配制而成。链脲佐菌素 (STZ) 由 Sigma 提供; TG, TC, LDH, LDL, HbA1c 试剂盒 (中生北控生物科技股份有限公司, 批号依次为 110102, 110125, 110305, 110201, 101201); MDA, SOD 试剂盒 (南京建成生物工程研究所, 批号为 110405, 110405); 乐生血糖试纸由强生公司提供。

1.4 仪器 One Touch II 血糖仪 (强生公司), RT-1904C 半自动生化分析仪 (深圳雷杜生命科学股份有限公司)。

2 方法

2.1 糖尿病高脂血症模型制备 除空白组以外, 其余大鼠均以高脂乳剂 10 mL·kg⁻¹ 连续灌胃 14 d, 每天 1 次。末次灌胃后, 大鼠禁食不禁水 24 h, 一次性尾静脉注射链脲佐菌素 (STZ, 溶于新鲜配制的 0.1 mol·L⁻¹, pH 4.5 枸橼酸缓冲液中, 4 °C 保存) 38 mg·kg⁻¹, 正常对照组 1 次性尾静脉注射 0.1 mol·L⁻¹, pH 4.5 枸橼酸缓冲液, 注射体积为 2 mL·kg⁻¹。造模 72 h 后, 所有大鼠禁食不禁水 7 h, 测定, 从中选取 FPG ≥ 16.00 mmol·L⁻¹ 的大鼠为 2 型糖尿病模型。

2.2 分组与给药 糖尿病模型大鼠按血糖值随机分为 3 组, 分别为模型组, 阳性药 (二甲双胍 0.18 g·kg⁻¹) 组, 降脂保肝方组 9.54 g·kg⁻¹, 以正常组作为对照, 每组 10 只。阳性组及受试组 ig 连续给药 35 d, 正常组及模型组给予等体积的蒸馏水, ig 体积 10 mL·kg⁻¹。

2.3 检测指标 每周监测各组大鼠的体重及空腹血糖变化。末次给药前大鼠禁食 12 h, 给药 1 h 后, 10% 水合氯醛 3 mL·kg⁻¹ 腹腔麻醉下行腹主动脉取血, 离心取血清保存于 -80 °C 冰箱, 严格按照试剂盒说明书测定糖化血红蛋白、血清 TC, TG, LDL, LDH, MDA 水平和 SOD 活性; 部分肝脏 4 °C 低温匀浆成 10% 混悬液, 低温离心后取上清液测定肝脏 TC, TG, MDA 水平和 SOD 活性。

2.4 统计学处理 采用 SPSS 11.0 进行统计学分析。多组间比较用方差分析, 每组两两比较用 *q* 检验, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。P < 0.05 有统计学意义。

3 结果

3.1 对糖尿病高脂血症大鼠体质量及空腹血糖及 HbA1c 的影响 正常对照组大鼠实验过程中情况良好, 毛色纯白光滑, 进食和饮水量正常, 大便与尿量正常; 糖尿病模型大鼠出现明显多饮、多尿、多食、脱毛、消瘦、活动减少等特征; 给药 5 周后, 治疗组大鼠体质量有所增加, 糖尿病相关症状明显好转。

与正常对照组相比, 模型组大鼠血糖及 HbA1c 显著升高 (P < 0.01)。与模型组相比, 阳性药组和

降脂保肝方组大鼠血糖和 HbA1c 显著降低 ($P < 0.05$), 但降糖过程存在一定差异: 给予阳性药第 2 周后动物血糖急剧下降, 随后保持血糖基本稳定; 降脂保肝方降糖过程较为缓和, 没有血糖陡然下降的现象。见表 1。

3.2 对糖尿病高脂血症大鼠血脂影响 与正常

表 1 降脂保肝方对糖尿病高脂血症大鼠治疗前后空腹血糖及 HbA1c 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	FPG/mmol·L ⁻¹					HbA1c /%	
		成模	1 周	2 周	3 周	4 周		5 周
正常	-	6.41 ± 0.94	6.21 ± 0.9	6.49 ± 1.07	6.51 ± 1.09	5.95 ± 0.97	6.35 ± 0.87	3.01 ± 0.41
模型	-	21.02 ± 4.07 ²⁾	22.95 ± 3.19 ²⁾	22.34 ± 4.22 ²⁾	21.03 ± 3.90 ²⁾	20.23 ± 5.50 ²⁾	20.82 ± 4.54 ²⁾	9.24 ± 0.24 ²⁾
二甲双胍	0.18	20.15 ± 2.86	18.73 ± 5.06 ³⁾	18.12 ± 4.78 ³⁾	14.85 ± 8.22 ⁴⁾	13.64 ± 5.68 ³⁾	13.85 ± 3.81 ³⁾	6.17 ± 0.62 ³⁾
降脂保肝方	9.54	20.14 ± 3.06	18.15 ± 4.89 ³⁾	16.70 ± 5.96 ⁴⁾	16.46 ± 6.17 ⁴⁾	16.56 ± 5.16 ^{3,4)}	12.15 ± 4.94 ^{3,4)}	5.62 ± 0.78 ⁴⁾

注: 与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2 ~ 4 同)。

表 2 降脂保肝方对糖尿病高脂血症大鼠治疗前后血脂的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	TC	TG	HDL	LDL
空白	-	1.03 ± 0.33	0.70 ± 0.22	0.36 ± 0.13	0.51 ± 0.17
模型	-	2.60 ± 0.34 ²⁾	1.13 ± 0.20 ²⁾	0.13 ± 0.03 ²⁾	1.75 ± 0.26 ²⁾
二甲双胍	0.18	1.99 ± 0.45 ³⁾	0.79 ± 0.25 ³⁾	0.18 ± 0.05 ³⁾	1.00 ± 0.25 ⁴⁾
降脂保肝方	9.54	1.93 ± 0.53 ³⁾	0.82 ± 0.25 ³⁾	0.21 ± 0.05 ⁴⁾	0.98 ± 0.24 ^{3,4)}

3.3 对糖尿病高脂血症大鼠肝脏 TC 和 TG 含量的影响 与正常组比较, 模型组大鼠肝脏 TC 和 TG 含量显著升高 ($P < 0.01$)。降脂保肝方及阳性药组均可显著降低模型大鼠 TC 和 TG 含量 ($P < 0.01$), 且降脂保肝方作用优于阳性药组。见表 3。

3.4 对糖尿病高脂血症大鼠体内 SOD 和 MDA 的影响 与正常组比较, 糖尿病大鼠 MDA 含量显著升高, SOD 活性显著降低 ($P < 0.01$)。降脂保肝方与阳性药组均可显著降低模型大鼠 MDA 并升高

对照组相比, 模型组大鼠 TC、TG 和 LDL 水平显著升高, HDL 水平显著降低 ($P < 0.01$)。给药 5 周后, 阳性药组和降脂保肝方组糖尿病大鼠 TC、TG 和 LDL 水平显著降低, HDL 水平显著升高 ($P < 0.01$), 且降脂保肝方与阳性药作用相当。见表 2。

表 3 各组大鼠治疗前后肝脏 TC、TG 含量变化 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	TC	TG
空白	-	0.34 ± 0.04	0.39 ± 0.10
模型	-	0.52 ± 0.04 ²⁾	0.65 ± 0.06 ²⁾
二甲双胍	0.18	0.45 ± 0.05 ³⁾	0.54 ± 0.06 ³⁾
降脂保肝方	9.54	0.39 ± 0.05 ⁴⁾	0.51 ± 0.05 ³⁾

SOD 活性 ($P < 0.01$), 且降脂保肝方作用优于阳性药组。见表 4。

表 4 各组大鼠治疗前后血清 MDA 含量和 SOD 活性的变化 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	MDA/nmol·L ⁻¹		SOD/U·mL ⁻¹	
		血清	肝组织	血清	肝组织
空白	-	5.32 ± 1.21	2.31 ± 0.24	200.48 ± 25.44	24.44 ± 1.24
模型	-	10.60 ± 1.05 ²⁾	3.43 ± 0.99 ¹⁾	157.95 ± 21.22 ²⁾	17.13 ± 1.69 ²⁾
二甲双胍	0.18	8.74 ± 0.69 ³⁾	2.61 ± 0.46 ³⁾	184.48 ± 19.38 ³⁾	20.43 ± 1.72 ³⁾
降脂保肝方	9.54	7.73 ± 0.96 ³⁾	2.52 ± 0.31 ³⁾	192.23 ± 20.89 ⁴⁾	21.52 ± 1.43 ⁴⁾

4 讨论

糖尿病合并高脂血症属于中医“消渴”的兼证, 痰瘀互结是糖尿病高脂血症的基本病机, 消渴日久, 气阴两虚, 痰毒、瘀毒蕴积, 阻滞血脉, 对人体各脏腑

组织造成广泛损害, 同时伴有肝失疏泄。活血化瘀、调脂护肝是治疗糖尿病脂代谢紊乱的重要方法^[3-4]。降脂保肝方方中山楂祛瘀消积; 知母清热泻火, 生津止渴, 滋阴润燥; 山茱萸补阴益肾; 黄连清

热燥湿,泻火解毒;桑叶凉润肺燥;全方共奏益气养阴,活血化瘀之功效。

实验发现,与模型组比较,降脂保肝方组大鼠血清 TC, TG, LDL 及肝脏 TC, TG 水平显著降低, HDL 水平显著升高,表明该方具有调节糖尿病高脂血症大鼠血脂代谢紊乱的作用。降脂保肝方降低糖尿病高脂血症大鼠血脂后,可减少游离脂肪酸的吸收,减少对肝脏的细胞毒性作用,减少肝脏脂质过氧化,从而发挥降脂保肝的作用。此外,糖化血红蛋白反映了动物在过去 5 周内的血糖水平,结果表明,模型组在整个实验期间,血糖一直较高,而给予降脂保肝方干预后,血糖逐渐降低并日趋平稳,其稳定血糖的能力优于阳性药。

SOD 是机体重要的抗氧化酶,生理状态下可及时清除代谢产生的氧自由基,其活性的高低间接反映机体清除氧自由基的能力。MDA 是脂质过氧化的终产物,可使细胞膜的流动性和通透性发生障碍,引起细胞功能失调甚至破裂和死亡,是反映机体脂质过氧化物水平的灵敏指标^[5-6]。研究表明,糖尿病及高脂血症均可导致血清 MDA 含量升高, SOD 活性降低,给予降糖药物干预后,氧化应激状况得到缓解^[7-10]。本实验结果表明,糖尿病高脂血症时,体内脂质过氧化作用增强,抗氧化活性物质水平降低,即机体的氧化-抗氧化状态失衡。给予降脂保肝方干预后,糖尿病高脂血症大鼠抗氧化能力明显增强。同时,高脂血症能使肝自由基产生增多,诱导肝脏氧化应激和脂质过氧化反应,肝脏 MDA 增加而 SOD 活性降低可导致肝细胞的损伤。本实验结果中,降脂保肝方可以显著提高肝组织 SOD 的活性并降低 MDA 含量,推测抗氧化应激可能是降脂保肝方保护肝脏的重要机制。

总之,本实验通过建立 2 型糖尿病高脂血症动物模型,研究了降脂保肝方对糖尿病高脂血症的治疗作用及对肝脏的保护作用,并初步探索了其治疗机制。结果提示该组方对 2 型糖尿病高脂血症的糖脂代谢紊乱具有一定的调节作用,并能通过调节糖

脂代谢减少肝脏脂质蓄积而保护肝脏。实验推测,降脂保肝方可能通过改善模型动物糖脂代谢紊乱介导的机体氧化应激,达到其对糖尿病高脂血症大鼠的治疗作用,今后可进一步从细胞、分子水平研究其对糖尿病高脂血症的治疗作用。

[参考文献]

- [1] 崔凤魁. 糖尿病高脂血症中医药治疗研究进展[J]. 内蒙古中医药, 2009, 8: 44.
- [2] 韩荣, 薛洁, 张海英. 实验性糖尿病高脂血症动物模型的建立与研究[J]. 中国心血管病研究, 2008, 6(5): 377.
- [3] 闻莉, 刘松林, 梅国强. 高脂血症的中医临床证型分布及辨证规律研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2008, 14(3): 220.
- [4] 郭美珠, 肖燕倩, 杨志新. 浅谈糖尿病高脂血症的基本病机与治疗[J]. 中医药信息, 2005, 22(3): 4.
- [5] Vardi N, Parlakpinar H, Cein A, et al. Protective effect of beta-carotene on methotrexate-induced oxidative liver damage[J]. Toxicol Pathol, 2010, 38(5): 592.
- [6] Boak L, Chin-Dusting J P. Hypercholesterolemia and endothelium dysfunction: role of dietary supplementation as vascular protective agents[J]. Curr Vasc Pharmacol, 2004, 2(1): 45.
- [7] 李进, 黄学宽, 任凌燕, 等. 楂芪降糖汤对实验性糖尿病大鼠血糖及氧化应激的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(13): 124.
- [8] 李步满, 高彦彬, 吴丽丽, 等. 糖脂平对 2 型糖尿病大鼠糖、脂毒性及胰腺组织氧化应激的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(14): 139.
- [9] 成龙, 梁日欣, 杨滨, 等. 红花提取物对高脂血症大鼠降脂和抗氧化的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(9): 25.
- [10] 叶锦荣, 梁日欣, 王岚. 氧化应激与心血管疾病的关系研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(10): 139.

[责任编辑 聂淑琴]