

翻白草水提液对 2 型糖尿病胰岛素抵抗大鼠糖脂代谢的影响

严哲琳^{1,2}, 董正平¹, 孙文¹, 刘铜华^{1*}

(1. 北京中医药大学, 北京 100078; 2. 天津中医药大学方剂教研室, 天津 300193)

[摘要] 目的: 观察翻白草水提取物对 2 型糖尿病胰岛素抵抗大鼠糖脂代谢的影响。方法: 采用 3 周龄 Wistar 大鼠, 高脂喂养 16 周加腹腔小剂量注射链脲佐菌素 (STZ) 的方法建立 2 型糖尿病胰岛素抵抗 (IR) 动物模型, 随机分为 4 组: 翻白草高、低剂量组 (400, 200 mg·kg⁻¹)、吡格列酮组 (4.05 mg·kg⁻¹) 及模型组, 每组 7 只。另取标准饲料喂养大鼠 7 只为正常组。比较各药物干预 4 周后对 2 型糖尿病 IR 大鼠空腹血糖 (FBG)、甘油三酯 (TG)、胆固醇 (TC)、低密度脂蛋白 (LDL-C)、高密度脂蛋白 (HDL-C) 及游离脂肪酸 (FFA) 影响。结果: 翻白草提取物和西药组均可显著降低大鼠 FBG, TG, TC, LDL, FFA 水平, 升高 HDL 水平 ($P < 0.05$)。结论: 翻白草对 2 型糖尿病胰岛素抵抗大鼠的空腹血糖及血脂水平有一定调节作用。

[关键词] 翻白草水提取物; 糖尿病; 血糖; 血脂; 胰岛素抵抗

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)07-0216-04

Anti-diabetic Effect of Aqueous Extract from *Potentilla discolor* in Type 2 Diabetic Rats

YAN Zhe-lin^{1,2}, DONG Zheng-ping¹, SUN Wen¹, LIU Tong-hua^{1*}

(1. Beijing Chinese Medicine University, Beijing 100078, China;

2. Prescription Department, Tianjin Chinese Medicine University, Tianjin 300193, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effects of aqueous extract from *Potentilla discolor* Bunge (APB) on blood glucose and lipids level in type 2 diabetic rat model. **Method:** Three week-old Wistar male rats were divided randomly into two groups according to random data table: control group with rat standard diet and model group with high-fat diet (HFD) for 16 weeks in order to induce insulin resistance and type 2 diabetic model, the HFD group was intraperitoneally given small dose STZ. Then, the model rats were divided into 4 groups: model group, positive control group (pioglitazone 4.05 mg·kg⁻¹), high-dose group (400 mg·kg⁻¹) and low dose group (200 mg·kg⁻¹) of APB aqueous extract, 7 rats in each group. The control group and model group were fed with distilled water at 10 mL·kg⁻¹. After 4 weeks of drug intervention, the fasting blood glucose (FBG), serum triglyceride (TG), serum total cholesterol (TC), serum free fatty acid (FFA), serum low-density lipoprotein (LDL-C) and serum high density lipoprotein (HDL-C) were examined. **Result:** Both the aqueous extract and the pioglitazone group significantly decreased FBG, TG, TC, LDL and FFA level, and increased the HDL level ($P < 0.05$). **Conclusion:** Aqueous extract of *P. discolor* may offer an alternate treatment for diabetes by regulating fasting blood glucose and serum lipids levels in type 2 diabetic insulin resistance rats.

[Key words] *Potentilla discolor* aqueous extract; diabetes; glucose; blood lipids; insulin resistance

[收稿日期] 20110531(010)

[基金项目] 国际科技合作项目(2011DFA30920)

[第一作者] 严哲琳, 博士, 讲师, 从事中医药防治糖尿病及其并发症研究, Tel: 13466705591, E-mail: yanzhelin@yahoo.com.cn

[通讯作者] * 刘铜华, 博士, 博士后, 教授, 博士生导师, Tel: 13801020306, E-mail: thliu@tom.com

翻白草别名天青地白草、鸡脚儿,属蔷薇科植物,为多年生草本,用其全草及根入药。其味甘、微苦,性平、无毒^[2],归肝、胃、大肠经。具有清热润燥、凉血解毒、止血消肿、止痢之功效。近年来在糖尿病的治疗中取得了良好的临床效果^[3],民间有用翻白草泡水降糖的偏方。目前,有关翻白草降糖作用的实验研究已有不少报道^[1-4],但多采用化学诱导剂四氧嘧啶(alloxan)或链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)等造成胰岛 β 细胞凋亡的动物模型,观察血糖变化,而此类动物模型与人类2型糖尿病的发病机制存在较大差距。

随着人类生活水平的不断提高和饮食方式的改变,2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)现已成为世界广泛的流行病。胰岛素抵抗(IR)贯穿于T2DM的始终,而高脂饮食是IR发展的饮食基础。营养过剩可以引起肥胖和糖尿病,进而发展为2型糖尿病。高脂喂养的IR动物模型进一步注射小剂量的链脲佐菌素(STZ),导致部分胰岛 β 凋亡,可以加重糖脂代谢紊乱,能造成模拟人类2型糖尿病的动物模型。为深入了解翻白草的降糖疗效,本实验采用3周龄Wistar大鼠高脂喂养4个月后,一次性ip小剂量STZ($35\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)诱导2型糖尿病IR动物模型,在此基础上观察中药翻白草提取物对糖尿病IR大鼠体重、血糖、血脂的影响。

1 材料

1.1 动物 雄性,3周龄离乳的Wistar大鼠40只,SPF级,体重(53 ± 4)g。购自北京维通利华公司。合格证号SCXK(京)2006-0009。SPF饲养环境,温度(22 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,相对湿度50%~70%,照明条件12h光照12h黑暗交替,通风条件每小时换气大于15次的全新风,单笼喂养,自由摄食、饮水。

1.2 饲料 标准饲料配方:蛋白质23%,碳水化合物53%,脂肪5%;高脂饲料配方:普通饲料58.8%,蔗糖20%,猪油10%,蛋黄粉3%,胆固醇0.2%,酪蛋白8%。北京科奥协力饲料有限公司。

1.3 药物和试剂 翻白草*Potentilla discolor* Bunge(PDB),经北京中医药大学中药学院徐瞰海教授鉴定为中药翻白草生药全草。提取物亦由北京中医药大学中药学院徐瞰海教授提供。药材提取方法均为水提取液,方法简述如下:中药生药加水煎煮3次,加水量分别为生药体积的10倍量、10倍量以及8倍量,煎煮时间分别为1.5,1.5,1h,滤过,合并3次煎煮所得滤液,浓缩至稠膏,70 $^{\circ}\text{C}$ 真空干燥,粉碎,过80目筛。即1g提取物相当于生药5.95g。盐酸

吡格列酮片:北京太洋药业有限公司,批号H20040267;STZ由Sigma公司提供,批号S0130,-24 $^{\circ}\text{C}$ 保存,用 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (pH 4.4)的柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液冰浴下配置成0.5%($10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)的STZ溶液,现配现用。京药监械(准)字2009第2401097号,甘油三酯测定试剂盒(GPO-PAP法):京药监械(准)字2009第2401096号,游离脂肪酸检测试剂盒(酶法):京药监械(准)字2009第2400820号,胰岛素检测试剂,批准文号:国药准字S10930046。以上试剂盒均购自中国北方药物研究所。血糖仪及罗氏血糖试纸:国药2001第2406595号,购自瑞士罗氏公司(Roche)。

2 方法

2.1 造模 40只雄性3周龄离乳Wistar大鼠适应性喂养1周后,按照随机数字表法随机选取7只作为对照组,予标准饲料喂养,其余33只高脂喂养16周后,为了进一步增强胰岛素抵抗大鼠糖脂代谢的紊乱,采用1次性小剂量ip链脲佐菌素(STZ, $35\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),诱导2型糖尿病模型。ip STZ的第3天空腹12h后,测快速血糖,以空腹血糖 $> 11.1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 作为造模成功标准。2只血糖过高的大鼠 $> 33\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,予以剔除。另有3只血糖有升高趋势但 $< 11.1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,予以剔除。共有28只大鼠符合入选。

2.2 分组与给药 将造模成功的28只大鼠,按照随机数字表法,分为翻白草高、低剂量组,吡格列酮组和模型组,每组各7只。另取正常饮食组7只作为对照。吡格列酮组($4.05\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)、翻白草高、低剂量组(以生药量计,400,200 $\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)ig给药,给药周期为4周。正常组及模型组按 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 灌服无菌水。

2.3 标本采集及指标观察

2.3.1 体重测量 分别在实验前和第4周末,禁食6h,测各组大鼠体重。

2.3.2 空腹血糖的测定 分别在实验前和第4周末,禁食6h,静脉采血,罗氏血糖仪测定空腹血糖水平。

2.3.3 血脂的测定 在第4周末腹主动脉取血,分离血清,日立7020全自动生化分析仪测定血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白(HDL-C)、低密度脂蛋白(LDL-C)及游离脂肪酸(FFA)。

2.4 统计学方法 应用SPSS 10.0统计软件分析,各组数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析。检验水准为 $P < 0.05$ 时,差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠实验前后体重的变化 由表 1 可知,入组时,高脂喂养大鼠体重较正常组明显增加($P < 0.05$),高脂喂养各组大鼠之间体重无明显差异。经过药物干预 4 周后,正常组体重明显增加,由(516.2 ± 11.6)g 增加至(539.7 ± 3.7)g,而模型组大鼠体重显著下降,由(537.2 ± 8.2)g 降至(497.9 ± 8.4)g。中药翻白草提取物及吡格列酮干预 4 周后,与模型组比,各组大鼠体重有不同程度的增加。

3.2 各组大鼠实验前后 FBG 水平的变化 Wistar 大鼠小剂量 ip STZ($35 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)后,可以诱导空腹

高血糖。与正常组相比,模型组大鼠血糖明显升高($P < 0.05$)。翻白草提取物及吡格列酮干预 4 周后,与模型组比较,空腹血糖显著下降($P < 0.05$)。其中西药吡格列酮组下降 30.59%,翻白草高剂量组下降 19.51%,翻白草低剂量组下降 10.23%。见表 1。

3.3 各组大鼠血脂水平的变化 与正常组比较,模型组 TG,TC,LDL,FFA 水平显著升高($P < 0.05$),同时 HDL 水平显著降低($P < 0.05$)。翻白草提取物及吡格列酮干预 4 周后,可使 TG,TC,LDL,FFA 水平明显降低($P < 0.05$),HDL 水平显著升高($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 各组大鼠体重及 FBG 变化($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	体重/g		FBG/mmol·L ⁻¹	
		第 0 周	第 4 周	第 0 周	第 4 周
正常	-	516.2 ± 11.6 ¹⁾	539.7 ± 3.7 ¹⁾	5.0 ± 0.4 ¹⁾	5.1 ± 0.5 ¹⁾
模型	-	537.2 ± 8.2	497.9 ± 8.4	13.1 ± 1.0	13.0 ± 1.1
吡格列酮	4.05	533.8 ± 9.1	528.2 ± 5.2 ¹⁾	13.4 ± 1.4	9.3 ± 1.4 ¹⁾
翻白草提取物	400	534.2 ± 12.4	523.4 ± 4.1 ¹⁾	12.3 ± 0.9	9.9 ± 1.0 ¹⁾
	200	533.2 ± 10.1	521.4 ± 4.5 ¹⁾	12.7 ± 1.0	11.4 ± 0.7 ¹⁾

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$ (表 2 同)。

表 2 各组大鼠血脂水平的变化($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	mmol·L ⁻¹				
		TG	TC	HDL	LDL	FFA
正常	-	0.56 ± 0.02 ¹⁾	1.44 ± 0.08 ¹⁾	1.92 ± 0.11 ¹⁾	0.48 ± 0.03 ¹⁾	0.27 ± 0.02 ¹⁾
模型	-	1.20 ± 0.26	2.46 ± 0.16	0.79 ± 0.11	1.86 ± 0.12	0.52 ± 0.02
吡格列酮	4.05	0.86 ± 0.05 ¹⁾	1.27 ± 0.10 ¹⁾	1.05 ± 0.05 ¹⁾	0.72 ± 0.10 ¹⁾	0.43 ± 0.04 ¹⁾
翻白草提取物	400	0.78 ± 0.06 ¹⁾	1.65 ± 0.03 ¹⁾	1.06 ± 0.03 ¹⁾	0.82 ± 0.07 ¹⁾	0.42 ± 0.01 ¹⁾
	200	0.94 ± 0.12 ¹⁾	1.89 ± 0.04 ¹⁾	0.99 ± 0.08 ¹⁾	0.94 ± 0.06 ¹⁾	0.34 ± 0.03 ¹⁾

4 讨论

本实验研究了中药翻白草水提取物对 2 型糖尿病 IR 大鼠的血糖、血脂的影响,采用的是长期高脂喂养加小剂量链脲佐菌素(STZ)诱导的糖尿病 IR 动物模型。研究表明,高脂喂养大鼠导致胰岛素抵抗主要通过 Randle 循环^[5],或者称作葡萄糖-游离脂肪酸循环^[6]。大量的临床资料和实验室资料均证实^[7-9]:高脂环境是诱导胰岛素抵抗(IR)和 2 型糖尿病(DM)的独立危险因素。高脂环境可以损害包括骨骼肌、肝脏和脂肪在内的多种胰岛素靶器官的胰岛素敏感性。胰岛素抵抗是脂代谢紊乱发生的基础。目前认为,高脂环境诱导的 IR 的特点是高脂环境对胰岛素敏感性的影响具有时间依赖性^[10]。因此本研究选择 16 周作为高脂喂养的干预时间,以

更好的观察高脂环境对胰岛素敏感性影响的长期效应。实验性 2 型糖尿病动物模型价格低廉,可操作性强,并且在一定程度上符合人类糖尿病形成的病理过程,成为目前研究 2 型糖尿病、筛选有效成分的最主要动物模型^[11]。

现已证实,大剂量的 STZ($> 50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)导致胰岛 β 细胞凋亡,胰岛 β 细胞分泌胰岛素严重降低,而类似于人类 1 型糖尿病;小剂量的 STZ 可诱导 β 细胞 InS-1 凋亡^[12],从而使胰岛素分泌轻度受损,能较好的模拟人类的 2 型糖尿病的发病特征^[13]。

本研究中高脂喂养的模型组大鼠空腹血糖(FBG)水平显著升高,显示了模型组大鼠同时具有高血糖、高脂血症,经形成了胰岛素抵抗,其发病过程接近人类 2 型糖尿病的发病过程和病理特征,说

明而采用长期高脂喂养加小剂量 STZ 诱导模拟人类饮食习惯的 2 型糖尿病 IR 动物模型是成功的。下一步可以用该模型来研究翻白草干预 IR 的影响。

糖尿病最重要的病理特征是血糖升高,高血糖可以造成多方面的损害:如增加自由基,减少抗氧化剂浓度,从而损伤胰岛 β 细胞,导致胰岛素抵抗^[14]。另外,IR 使葡萄糖的利用受阻,胰岛素抗脂解作用降低,脂肪分解加强。血液中 FFA 浓度升高,刺激肝脏合成和释放 TG,进而加剧糖脂代谢紊乱。本研究证实中药翻白草提取物可以明显降低空腹血糖。

糖尿病患者通常具有体重下降的症状,本实验的模型组采用 STZ 诱导糖尿病后,体重由 (537.2 ± 8.2) g 降至 (497.9 ± 8.4) g。研究表明,STZ 具有 β 细胞毒性作用,可以破坏 β 细胞形态、减少 β 细胞数目。而予以中药翻白草提取物及吡格列酮 4 周后,各组大鼠的体重明显增加,表明中药可以改善糖尿病体重减轻的症状。

本研究表明中药翻白草提取物干预大鼠 4 周后,可明显降低 TG、TC、LDL 及 FFA,增加 HDL 水平。研究显示,糖尿病有脂质代谢异常的改变,控制血清或组织中脂质水平,可以减少大血管和微血管并发症,因此翻白草可能通过调节血脂,防止糖尿病并发症的产生^[15-16],其作用机制有待于进一步深入研究。

[参考文献]

[1] 王晓敏,王建红,徐东平,等. 翻白草水提液对糖尿病小鼠降血糖作用[J]. 江西中医学院学报,2005,17(2):53.

[2] 韩永明,张业辉,熊迎春,等. 中药翻白草对糖尿病大鼠血糖的影响[J]. 湖北中医学院学报,2002,4(1):23.

[3] 朴丽花,洪花,金政,等. 翻白草对四氧嘧啶性糖尿病大鼠的降糖作用及对胰岛的病理学影响[J]. 时珍国医国药,2007,18(7):163.

[4] 洪花. 翻白草的降血糖作用及其机制的实验研究[D]. 延吉:延边大学医学部,2006:1.

[5] Randle P J, Garland P B, Hales Cn, et al. The glucose fattyacid cycle: its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus[J]. Lancet, 1963, 1(7285):785.

[6] Reaven G M. Insulin resistance, hyperinsulinemia, hypertriglyceridemia and hypertension: parallels between human disease and rodent models[J]. Diabetes Care, 1991, 14:195.

[7] Man Z W, Hirashima T, Mori S, et al. Decrease in triglyceride accumulation in tissues by restricted diet and improvement of diabetes in Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats, a non-insulin-dependent diabetes model[J]. Metabolism, 2000, 49: 108.

[8] Oakes N D, Cooney G J, Camilleri S. Mechanisms of liver and muscle insulin resistance induced by chronic high-fat feeding[J]. Diabets, 1997, 46: 1768.

[9] Gao Z, Zhang X, Zuberi A, et al. Inhibition of insulin sensitivity by free acids requires activation of multiple serine kinases in 3T3-L1 adipocytes [J]. Mol Endocrinol, 2004, 18: 2024.

[10] Youngren J F, Paik J, Bamard R J. Impaired insulin-receptor autophosphorylation is an early defect in fat-fed, insulin-resistant rats[J]. J Appl Physiol, 2001, 91: 2240.

[11] 赵保胜,董淑云,霍海如,等. 2 型糖尿病动物模型的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2005,11(5):62.

[12] Saini K S, Thomson C, Winterford C M, et al. Streptozotocin at low doses induces apoptosis and at high doses causes necrosis in a murine pancreatic beta cell line, Ins-1 [J]. Biochem Mol Biol Int, 1996, 39(6): 1229.

[13] Reed M J, Meszaros K, Entes L J, et al. A new rat model of type 2 diabetes, the fat-fed, streptozotocin-treated rat [J]. Metabolism, 2000, 49: 1390.

[14] Aragno M, Mastrocola R, Catalano M G, et al. Oxidative stress impairs skeletal muscle repair in diabetic rats [J]. Diabetes, 2004, 53: 1082.

[15] Pushparaj P N, Low H K, Manikandan J, et al. Anti-diabetic effects of Cichorium intybus instreptozotocin-induced diabetic rats [J]. J Ethnopharmacol, 2007, 111: 430.

[16] Sakatani T, Shirayama T, Suzuki Y, et al. The association between patients with and without coronary artery disease [J]. International Heart Journal, 2005, 46: 619.

[责任编辑 聂淑琴]