

## 香椿子多酚对糖尿病大鼠早期肝损伤保护作用

邢莎莎, 陈超\*

(三峡大学医学院药理学教研室, 湖北 宜昌 443002)

**[摘要]** 目的: 观察香椿子多酚(TSTP)对链脲佐菌素(STZ)诱导的大鼠糖尿病早期肝损伤的保护作用。方法: 一次性 ip 链脲佐菌素( $55 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 造模 72 h 后禁食不禁水, 用血糖仪检测, 空腹血糖大于  $11.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  为造模成功大鼠。将造模成功大鼠随机分为模型组、香椿子多酚高、低剂量组 ( $75, 45 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )、格列本脲组 ( $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 另取 8 只作为正常组, 每天 ig 1 次, 连续 14 d。第 15 d 处死后取其血清和肝脏。血清测空腹血糖(FBG), 谷丙转氨酶(ALT), 谷草转氨酶(AST); 取肝脏测定脏器指数, 肝脏石蜡切片, 做 HE 染色。结果: 香椿子多酚能降低大鼠空腹血糖, 高、低剂量组 7 d 血糖分别为 ( $11.79 \pm 2.75$ ), ( $12.55 \pm 3.35$ )  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 与模型组 ( $15.53 \pm 2.33$ )  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  比较血糖降低 ( $P < 0.05$ ), 14 d 血糖分别为 ( $10.18 \pm 2.34$ ), ( $11.80 \pm 2.74$ )  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 与模型组 ( $15.57 \pm 2.69$ )  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  比较差异有显著性 ( $P < 0.01$ ); 不能降低血清 ALT 及 AST 含量; 香椿子多酚高剂量组大鼠肝脏脏器指数为 ( $3.616 \pm 0.358$ ), 与模型组比较显著降低 ( $P < 0.05$ ), 改善大鼠肝脏形态。结论: 香椿子多酚对糖尿病大鼠早期肝脏损伤具有一定的保护作用。

**[关键词]** 糖尿病大鼠; 多酚; 肝脏损伤; 香椿子

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)12-0182-03

## Protective Effect of Total Polyphenols from Seeds of *Toona sinensis* on Hepatic Injury at Early Stage in Diabetic Rats

XING Sha-sha, CHEN Chao\*

(Medical Science College of China Three Gorges University, Yichang, 443002, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study protective effects of total polyphenols from the seeds of *Toona sinensis* (TSTP) on hepatic injury at early stage in diabetic rats. **Method:** Diabetic models were induced by once intraperitoneal injection of STZ ( $55 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ). Then the blood glucose was detected after 72 hours. when hypoglycemic point  $> 11.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  the rats model were successful. Diabetic rats were randomly divided into model group, glibenclamide group ( $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) and high- ( $75 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) and low ( $45 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )-doses of TSTP groups. At the same time, 8 rats were chosen as normal group. All groups were fed qd for 14 consecutive. At fifteen day, all rats were anaesthetized and then were killed to remove Hepars and collect the blood sample. The fasting blood glucose (FBG), AST, ALT were detected. the liver index was calculated. The pathological changes of the liver were evaluated with HE. **Result:** TSTP can decrease FBG. High-and low-doses of TSTP groups FBG at 7 days were ( $11.79 \pm 2.75$ ), ( $12.55 \pm 3.35$ )  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  and at 14 day were ( $10.18 \pm 2.34$ ), ( $11.80 \pm 2.74$ )  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , Compared to modles, the FBG decreased ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); ALT and AST did not decrease. High dose group decrease liver index ( $3.616 \pm 0.358$ ), improve pathological morphous. **Conclusion:** TSTP has a protective effect on liver injury at early stage in diabetic rats.

**[Key words]** diabetic rats; polyphenols; hepatic injury; seed of *Toona sinensis*

**[收稿日期]** 20101114(002)

**[第一作者]** 邢莎莎, 硕士研究生, 从事中药药理研究, Tel: 13774197175, E-mail: xingshasha1230@126.com

**[通讯作者]** \* 陈超, 教授, 硕士生导师, 从事中药药理研究, Tel: 13986828578, E-mail: chaochen1954@163.com

香椿为楝科椿属植物,黄酮类化合物具降糖、降脂、清除自由基、保护细胞免受损伤等多种生物学活性<sup>[1]</sup>,我们前期研究发现,香椿子多酚能够降低糖尿病大鼠及小鼠血糖水平,改变糖尿病小鼠的肝脏脏器指数,本文旨在研究香椿子多酚对链尿佐菌素诱导的大鼠早期肝脏损伤的保护作用。

## 1 材料

**1.1 香椿子多酚制备** 香椿子 *Toona sinensis* (A. juss.) Roem. 购于安徽亳州,适当粉碎,70%乙醇浸泡24 h,经70%乙醇提取,重复3次,提取液比分别为1:1.2,1:1,1:1,提取时间1 h,45 min,45 min,合并滤液,AB-8大孔树脂纯化,福林酚法测定多酚的含量,所得香椿子多酚提取物中多酚含量为49.04%<sup>[2]</sup>。

**1.2 药物与试剂** 链脲佐菌素:Sigma(进口分装),格列本脲(天津太平洋制药有限公司),血糖试剂盒(上海荣盛生物技术有限公司)。

**1.3 动物** 健康SD大鼠,SPF级,体重(250±20)g,生产合格证号SCXK(鄂)2004-2007。

**1.4 仪器** 自动平衡离心机:LDZ5-2型(北京医用离心机厂);电子天平MP200A型(上海良平仪器厂);日立Hitachi7170A型全自动生化分析仪;自动血糖仪与试纸条,罗氏-罗康全优越型血糖仪及试纸;脱水机TP1020(德国徕卡公司);超薄切片机ULTRACUT R(奥地利莱卡/武汉进出口);多功能显微镜及图像分析系统DMR(德国Leica公司)。

## 2 方法

**2.1 模型建立** SD大鼠,60只,适应性饲养7 d,按体重随机分为正常组和造模组,取8只作为正常组,将另外52只,禁食不禁水12 h,按55 mg·kg<sup>-1</sup> ip(2%)链脲佐菌素,注射72 h后,禁食12 h,用血糖仪检测,血糖浓度高于11.1 mmol·L<sup>-1</sup>者作为高血糖组纳入实验<sup>[3]</sup>。

**2.2 分组与给药** 将高血糖大鼠随机分为模型组(0.5%羧甲基纤维素钠)、香椿子多酚高、低剂量组(75,45 mg·kg<sup>-1</sup>)及格列本脲组(10 mg·kg<sup>-1</sup>)。另外正常组给药同等体积的0.5%羧甲基纤维素钠,每天下午6点给药,连续给药14 d。

**2.3 血清及组织指标处理** 末次给药后禁食12 h,用10%水合氯醛麻醉大鼠,腹主动脉取血,3500 r·min<sup>-1</sup>离心10 min,取上层血清,保存于-55℃冰箱,用于各种血清学测定。迅速解剖大鼠,肝脏用

4%多聚甲醛固定,脱水,常规石蜡包埋。

## 2.4 观察指标和方法

**2.4.1 对糖尿病大鼠血糖影响** 在造模后3 d、给药7 d用血糖仪及试纸测定大鼠空腹12 h血糖,给药14 d后禁食不禁水12 h,用葡萄糖氧化酶法测定血糖含量。

**2.4.2 对糖尿病大鼠肝脏脏器指数影响** 大鼠处死,取大鼠肝脏,用冰生理盐水漂洗,用滤纸吸干水分,电子天平测定肝脏质量,计算脏器指数。

$$\text{脏器指数} = (\text{脏器湿质量} / \text{体重}) \times 100\%$$

**2.4.3 对糖尿病大鼠肝脏功能影响** 取大鼠血清,测定大鼠ALT和AST含量。

**2.4.4 大鼠肝脏病理学观察** 大鼠处死,迅速取肝脏,生理盐水漂洗,滤纸擦干,4%多聚甲醛固定,二甲苯脱水,常规石蜡包埋,切片,常规HE染色,观察大鼠肝脏形态变化。本实验将肝组织病变程度分为4级:(-)肝小叶没有变性;(+)肝细胞变性累及肝组织的1/3以下的肝小叶或仅见个别肝细胞变形;(++)肝细胞变性累及肝组织的2/3至1/3的肝小叶;(++)肝细胞变性累及肝组织的2/3以上的肝小叶并且程度较重。

**2.5 统计方法** 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS 13.0统计软件,组间比较采用单因素方差分析,病理组织学检查结果采用Ridit分析方法, $P < 0.05$ 有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 香椿子多酚对糖尿病大鼠血糖影响** 与正常组相比,模型组大鼠血糖有显著性升高( $P < 0.01$ ),在试验过程中血糖比较平稳,香椿子多酚高、低剂量组从第7天开始能显著降低糖尿病大鼠血糖水平( $P < 0.05$ ),第14天高剂量组降血糖水平和阳性药相当。见表1。

**3.2 香椿子多酚对糖尿病大鼠脏器指数影响** 与正常组比,模型组大鼠肝脏指数显著升高( $P < 0.01$ ),说明链脲佐菌素能造成大鼠肝脏脏器指数升高。与模型组比较,香椿子多酚高剂量组可显著降低大鼠肝脏指数( $P < 0.05$ ),但是未能降低到正常水平。阳性组和低剂量组脏器指数与模型组比较,差异没有显著性。见表2。

**3.3 香椿子多酚对肝脏血清转氨酶含量影响** 与正常组相比,糖尿病模型组ALT和AST含量显著升高( $P < 0.05$ ),但是阳性组及香椿子多酚高、低剂

表 1 香橼子多酚对糖尿病大鼠血糖的影响( $\bar{x} \pm s$ )

mmol·L<sup>-1</sup>

组别	n	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	血糖		
			0 d	7 d	14 d
正常	8	-	4.76 ± 0.26	5.23 ± 0.55	4.72 ± 0.26
模型	8	-	16.11 ± 2.42 <sup>4)</sup>	15.53 ± 2.33 <sup>4)</sup>	15.57 ± 2.69 <sup>4)</sup>
格列本脲	9	10	15.33 ± 2.26 <sup>4)</sup>	10.69 ± 2.26 <sup>2)</sup>	10.41 ± 2.34 <sup>2)</sup>
香橼子多酚	9	75	15.40 ± 2.15 <sup>4)</sup>	11.79 ± 2.75 <sup>1)</sup>	10.18 ± 2.34 <sup>2)</sup>
	8	45	15.28 ± 1.87 <sup>4)</sup>	12.55 ± 3.35 <sup>1)</sup>	11.80 ± 2.74 <sup>2)</sup>

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

表 2 香橼子多酚对糖尿病大鼠肝脏脏器指数影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	脏器指数 /%
正常	8	-	2.611 ± 0.115
模型	8	-	3.928 ± 0.313 <sup>1)</sup>
格列本脲	9	10	3.638 ± 0.236
香橼子多酚	9	75	3.616 ± 0.358 <sup>1)</sup>
	8	45	3.799 ± 0.210

表 3 香橼子多酚对糖尿病大鼠肝脏血清转氨酶影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	ALT /U·L <sup>-1</sup>	AST /U·L <sup>-1</sup>
正常	8	-	47.60 ± 9.29	106.50 ± 34.78
模型	8	-	79.00 ± 20.67 <sup>3)</sup>	178.67 ± 36.43 <sup>3)</sup>
格列本脲	9	10	91.40 ± 16.09	158.60 ± 20.60
香橼子多酚	9	75	93.43 ± 30.72	153.29 ± 53.02
	8	45	81.20 ± 23.06	149.00 ± 39.97

量组不能显著降低 ALT 及 AST 含量。

**3.4 香橼子多酚对肝脏病理变化影响** 肉眼观,两组大鼠肝脏色泽基本相同。各组肝脏病理切片 HE 染色结果显示,正常组大鼠肝小叶结构清晰,中央静脉结构完好,细胞索呈放射状排列,细胞排列整齐,胞质均匀,汇管区未见淋巴细胞浸润;模型组肝细胞索结构紊乱,细胞体积增大,内见大小不等的脂滴空泡。局部有淋巴细胞浸润。与模型组比较,格列本脲 10 mg·kg<sup>-1</sup> 组肝细胞形态未见明显改善,香橼子多酚 75, 45 mg·kg<sup>-1</sup> 组镜下肝细胞形态结构有所恢复,但未恢复至正常水平。各组大鼠肝脏病理变化见表 4。

#### 4 讨论

肝脏是调节糖代谢的重要器官,肝损害是常见的糖尿病慢性并发症之一,糖尿病合并肝损害时肝脏糖代谢出现紊乱,使血糖进一步升高,形成恶性循环。糖尿病性肝损害启动因素为高血糖、高血脂,继发氧化应激致肝细胞二次打击是其发生、发展的

表 4 香橼子多酚对糖尿病大鼠肝脏病理变化影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	肝脏病变分级				积分
			-	+	++	+++	
正常	8	-	8	0	0	0	0 ± 0
模型	8	-	0	2	5	1	1.87 ± 0.64 <sup>4)</sup>
格列本脲	9	10	1	3	5	0	1.44 ± 0.72 <sup>4)</sup>
香橼子多酚	9	75	4	4	1	0	0.66 ± 0.70 <sup>2)</sup>
	8	45	3	4	1	0	0.75 ± 0.70 <sup>2)</sup>

关键因素<sup>[4]</sup>。

本实验研究证明,与正常组比较,模型组大鼠有血清转氨酶改变及肝脏病理损伤;香橼子多酚高、低剂量组能改善肝脏病理改变,但是不能降低血清转氨酶水平。说明香橼子多酚对糖尿病大鼠早期肝脏病理形态改变早于血清转氨酶改变。格列本脲组未能改善糖尿病大鼠肝脏病理改变,这说明格列本脲不是通过变肝脏糖代谢过程来发挥降血糖作用的,这与现有研究相符。香橼子多酚能降低糖尿病大鼠血糖,改善肝脏形态。高剂量组对肝脏病理学改善效果较好。说明香橼子多酚有可能通过减轻肝脏损害,改善肝脏血糖的代谢,从而发挥降血糖作用。

#### [参考文献]

- [1] 陈晓珏,季斌. 银杏叶提取物对脑损伤的保护作用[J]. 江苏医药, 2009, 35(3): 335.
- [2] 邢莎莎,陈超. 香橼子多酚体外抗氧化作用研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(14): 7285.
- [3] Li Z, Zhang T, Dai H, et al. Involvement of endoplasmic reticulum stress in myocardial apoptosis of streptozocin-induced diabetic rats[J]. J Clin Biochem Nutr, 2007, 41(1): 58.
- [4] West I C. Radicals and oxidative stress in diabetes[J]. Diabet Med, 2000, 17(1): 171

[责任编辑 聂淑琴]