

红景天苷对链脲佐菌素所致糖尿病大鼠肝脏的保护作用

宋向军

邯郸市曲周县侯村中心卫生院, 河北 邯郸 057251

摘要: **目的** 研究红景天苷对链脲佐菌素所致糖尿病大鼠肝脏的保护作用。**方法** 一次性 ip 链脲佐菌素 (60 mg/kg) 制备糖尿病大鼠模型, 取造模成功的糖尿病大鼠 80 只, 按血糖水平随机分为模型组, 红景天苷 25、50、100 mg/kg 组以及盐酸二甲双胍 (25 mg/kg) 组, 每组 16 只; 另取同龄正常饲养大鼠 16 只作为对照组。ip 给药治疗, 1 次/d, 疗程为 12 周。分别于 0、4、8、12 周测定各组大鼠血糖水平。治疗 12 周后, 测定各组大鼠体质量和肝脏指数; 检测血清中转氨酶 (ALT、AST)、碱性磷酸酶 (ALP) 活性; 测定肝脏组织中超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 活性和丙二醛 (MDA) 含量; 并通过 HE 染色观察肝脏组织病理学改变。**结果** 与模型组比较, 红景天苷 50、100 mg/kg 组大鼠血糖水平显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), 肝脏指数显著降低、体质量显著增高 ($P < 0.05$ 、 0.01), 血清中 ALP 活性明显降低 ($P < 0.01$), 肝脏组织中 SOD、CAT 活性显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01); 红景天苷 25、50、100 mg/kg 组大鼠血清中转氨酶 (ALT、AST) 活性和肝组织中 MDA 含量显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01); 红景天苷组大鼠肝组织病理形态学改变程度明显减轻。**结论** 红景天苷对链脲佐菌素所致糖尿病大鼠肝脏具有剂量相关性的保护作用, 其作用机制可能与红景天苷能够有效改善抗氧化酶系统活性、降低氧化应激损伤, 从而改善肝功能有关。

关键词: 红景天苷; 糖尿病; 肝脏; 保护

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2015)05-0518-05

DOI:10.7501/j.issn.1674-5515.2015.05.009

Protection of salidroside on hepatic in diabetic rats induced by streptozotocin

SONG Xiang-jun

Quzhouhou Village Center Hospitals, Handan 057251, China

Abstract: **Objective** To investigate protective effects of salidroside on hepatic in diabetic rats induced by streptozotocin (STZ). **Methods** The experimental diabetic rat models were made by ip administered with STZ, and 80 models were selected. According to blood sugar levels, rats were randomly divided into the model group, salidroside (25, 50, and 100 mg/kg) groups, metformin hydrochloride (25 mg/kg) group, and other 16 rats as the control group. The drugs were given by ig administration for 12 weeks, once daily. In 0, 4, 8, and 12th weeks after experiment, the levels of fasting blood sugar were determined. After 12 weeks, the body weight and hepatic index were detected. The activities of ALT, AST, and ALP in serum were determined, and the activities of SOD and CAT, and the content of MDA in hepatic tissue were also determined. Histopathology changes of hepatic tissues were observed by HE staining. **Results** Compared with the model group, the fasting blood glucose level in salidroside 50 and 100 mg/kg groups significantly decreased ($P < 0.01$), the hepatic index significantly decreased ($P < 0.05$, 0.01), the body weight significantly increased ($P < 0.05$, 0.01), the activity of ALP significantly decreased ($P < 0.01$), and the activity of SOD and CAT in the hepatic tissue significantly increased ($P < 0.05$, 0.01). The activities of ALT and AST in salidroside 25, 50, and 100 mg/kg groups were significantly decreased ($P < 0.05$, 0.01), and the content of MDA in the hepatic tissue also significantly decreased ($P < 0.05$, 0.01). The histopathology changes of hepatic tissue in salidroside groups were significantly improved. **Conclusion** Salidroside has the protective effect on hepatic in diabetic rats induced by STZ with dose-dependent relation, whose mechanism may be related to its effects of improving antioxidant ability, reducing the damage of free radical, and improving hepatic function.

Key words: salidroside; diabetes; hepatic tissue; protection

收稿日期: 2014-12-17

作者简介: 宋向军, 男, 本科, 主治医师, 从事临床药学研究。E-mail: hdqzhsxj@163.com

糖尿病是一种常见的具有遗传倾向的、以血糖、尿糖增高为主要特征的慢性内分泌代谢系统疾病^[1]。据世界卫生组织统计,糖尿病已成为仅次于肿瘤和心血管病变的第三大严重危害人类健康的慢性疾病,且有逐年上升的趋势。长期的高血糖将诱发多个组织器官出现并发症,Lapshina等^[2]和Anwar等^[3]研究发现,体内持续高血糖将诱发自由基大量产生,并破坏抗氧化酶系统,从而导致氧化应激反应的广泛发生;Yan等^[4]研究表明,氧化应激损伤可能是糖尿病多器官并发症共同的发病机制之一。Shakil等^[5]研究表明糖尿病患者中合并肝脏并发症高达50%以上,但目前对于糖尿病众多并发症人们关注更多的是血管及神经病变,而对于肝脏损伤研究相对较少。红景天是景天科红景天属植物高山红景天 *Rhodiola sachalinensis* A. Bor.或狭叶红景天 *R. kirilowii* (Regel) Maxim.的干燥全草,是我国传统的藏族药用植物,《神农本草》和《本草纲目》中都有记载。红景天苷是红景天的主要有效成分,经现代药理学研究发现,红景天苷具有明显的抗氧化、调血糖、预防骨质疏松等活性^[6-11]。本实验采用腹腔注射链脲佐菌素(STZ)的方法制备糖尿病大鼠模型,研究红景天苷对糖尿病大鼠肝脏的保护作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF级雄性SD大鼠,200~240 g,由河北省实验动物中心提供,许可证号SCXK(冀)2008-1-003,动物合格证号810154。

1.2 药物和试剂

红景天苷(成都恒基医药科技有限公司,质量分数≥95%);盐酸二甲双胍(河北天成药业股份有限公司);ALT、AST、ALP测定试剂盒购于南京建成生物工程研究所;超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、丙二醛(MDA)、HE染色试剂盒均购于北京博奥森生物技术有限公司;STZ购于美国Sigma公司;乌拉坦购于北京化学试剂公司。

1.3 主要仪器

BS200生化分析仪(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司);UV1800紫外可见分光光度计(上海菁华科技仪器有限公司);血糖仪(罗氏);光学显微镜(日本Olympus公司);TDL-50C低速离心机(上海圣科仪器设备有限公司);AL104电子天平(Mettler-Toledo公司);RMI255石蜡切片机(德国Leica公司);JJ-2组织捣碎机(金坛市华城润华

实验仪器厂)。

1.4 糖尿病大鼠模型的制备^[12]

大鼠经高糖饲料喂养8周后,一次性ip STZ(60 mg/kg),制备糖尿病大鼠模型,72 h后和1周后测定尾静脉血血糖,血糖持续高于16.7 mmol/L的大鼠即认为造模成功。

1.5 动物分组与给药

取造模成功的糖尿病大鼠80只,按血糖水平随机分为模型组,红景天苷25、50、100 mg/kg组^[13-14]以及盐酸二甲双胍(25 mg/kg)组^[15],每组16只;另取同龄正常饲养大鼠16只作为对照组。取红景天苷并准确称量,用生理盐水溶解并制备溶液;盐酸二甲双胍片研碎后用生理盐水溶解并稀释。为保证每组动物给药容积一致,ig给药体积均为1 mL/kg。对照组和模型组分别ig给予生理盐水,剂量为1 mL/kg。各组动物均1次/d,疗程为12周。

1.6 血糖水平检测

分别于给药治疗后第0、4、8、12周取8只大鼠尾静脉采血,血糖仪测定各组大鼠空腹血糖水平。

1.7 体质量和肝脏指数检测

给药治疗12周后,分别测定各组大鼠体质量;取8只大鼠经腹腔注射乌拉坦实施麻醉后,开腹取肝脏组织,经生理盐水冲洗干净后、称定质量,计算肝脏指数。

1.8 血清中ALT、AST、ALP活性的测定

给药治疗12周后,取8只大鼠经ip乌拉坦实施麻醉,经腹主动脉取血,2 000 r/min离心5 min后取上层血清,通过全自动生化检测仪测定血清中ALT、AST、ALP活性。

1.9 肝脏组织中SOD、CAT活性和MDA含量的检测

待所取肝脏组织称定质量后,剪碎置于试管中,加入适量冷裂解液,研磨匀浆,3 000 r/min离心5 min后取上清液,通过紫外可见分光光度计测定肝脏组织中SOD、CAT活性和MDA含量。

1.10 HE染色观察肝脏组织病理学改变

取肝脏组织置于10%甲醛溶液中进行固定,经石蜡包埋,切片(厚度为5 μm)和展片处理后,进行HE染色,通过光学显微镜观察肝脏组织形态学变化。

1.11 统计学方法

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,运用软件SPSS 15.0进行统计分析,多组间均数比较采用单因素方差分析,

两两比较采用 LSD 检验。

2 结果

2.1 各组大鼠空腹血糖水平的变化

模型组大鼠空腹血糖水平较对照组显著升高

($P < 0.01$)；经红景天苷 50、100 mg/kg 治疗 12 周后，大鼠血糖水平显著降低，与模型组比较，降幅分别为 16.0%、21.5%，差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)，结果见表 1。

表 1 红景天苷对糖尿病大鼠血糖水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Table 1 Effects of salidroside on blood sugar in diabetic rats ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	血糖/(mmol·L ⁻¹)			
		0 周	4 周	8 周	12 周
对照	—	5.8±0.5	5.6±0.6	5.7±0.6	5.8±0.7
模型	—	18.4±1.2 ^{**}	18.5±1.1 ^{**}	18.3±1.0 ^{**}	18.1±1.2 ^{**}
二甲双胍	25	18.4±1.1	15.1±0.9 [△]	14.5±0.9 ^{△△}	13.8±0.8 ^{△△}
红景天苷	25	18.6±1.3	18.2±1.1	17.7±1.2	17.5±1.1
	50	18.3±1.1	17.8±0.9	16.8±1.1	15.2±1.0 [△]
	100	18.5±1.2	15.6±1.0 [△]	14.8±1.0 ^{△△}	14.2±0.9 ^{△△}

与对照组比较：^{**} $P < 0.01$ ；与模型组比较：[△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$

^{**} $P < 0.01$ vs control group; [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$ vs model group

2.2 各组大鼠体质量和肝脏指数的变化

模型组大鼠较对照组体质量显著减轻 ($P < 0.01$)，肝脏指数显著升高 ($P < 0.01$)；经红景天苷 50、100 mg/kg 治疗 12 周后，大鼠体质量显著升高 ($P < 0.01$)、肝脏指数显著降低 ($P < 0.05$ 、0.01)，结果见表 2。

2.3 各组大鼠血清中 ALT、AST、ALP 活性的变化

模型组大鼠血清中 ALT、AST、ALP 活性较对照组显著升高 ($P < 0.01$)；经红景天苷 25、50、100 mg/kg 治疗 12 周后，大鼠血清 ALT、AST 活性显著降低 ($P < 0.05$ 、0.01)，其中红景天苷 50、100 mg/kg 组大鼠 ALP 活性显著降低 ($P < 0.01$)，见表 3。

表 2 红景天苷对糖尿病大鼠体质量和肝脏指数的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Table 2 Effects of salidroside on body weight and hepatic index in diabetic rats ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	体质量/g	肝脏指数
对照	—	347.2±32.5	16.5±1.6
模型	—	245.3±24.8 ^{**}	29.7±5.2 ^{**}
二甲双胍	25	275.3±18.7 ^{△△}	26.7±4.3 ^{△△}
红景天苷	25	256.1±27.6	29.3±4.9
	50	260.4±25.9 [△]	28.2±4.4 [△]
	100	267.2±23.8 ^{△△}	26.5±4.1 ^{△△}

与对照组比较：^{**} $P < 0.01$ ；与模型组比较：[△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$

^{**} $P < 0.01$ vs control group; [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$ vs model group

表 3 红景天苷对糖尿病大鼠血清中 ALT、AST、ALP 活性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Table 3 Effects of salidroside on activity of ALT, AST, and ALP in serum of diabetic rats ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	ALT/(U·L ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)	ALP/(U·L ⁻¹)
对照	—	117±24	46.8±9.3	128±23
模型	—	1 093±375 ^{**}	110.6±18.1 ^{**}	168±28 ^{**}
二甲双胍	25	865±336 ^{△△}	87.5±19.0 [△]	152±28b
红景天苷	25	937±341b	95.4±17.2 [△]	163±30
	50	890±317 ^{△△}	90.7±17.8 [△]	154±29 [△]
	100	804±283 ^{△△}	83.2±16.4 ^{△△}	147±27 ^{△△}

与对照组比较：^{**} $P < 0.01$ ；与模型组比较：[△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$

^{**} $P < 0.01$ vs control group; [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$ vs model group

2.4 各组大鼠肝脏中 SOD、CAT 活性和 MDA 含量的变化

模型组大鼠肝脏组织中 SOD、CAT 活性较对照组显著降低 ($P<0.01$), MDA 含量显著升高 ($P<0.01$); 经红景天苷 25、50、100 mg/kg 治疗 12 周后, 大鼠肝脏组织中 MDA 含量显著降低 ($P<0.05$ 、0.01), 并且红景天苷 50、100 mg/kg 组 SOD、CAT

活性显著升高 ($P<0.05$ 、0.01), 见表 4。

2.5 观察肝脏组织病理形态学改变

通过 HE 染色并在光学显微镜下观察发现, 对照组大鼠肝脏组织未见异常; 模型组出现肝组织结构紊乱、肝小叶轮廓不清, 肝细胞呈现空泡病变, 胞质染色不均, 胞核固缩、深染; 红景天苷各治疗组大鼠肝组织病理形态学改变程度明显减轻, 见图 1。

表 4 红景天苷对糖尿病大鼠肝脏组织中 SOD、CAT 活性及 MDA 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Table 4 Effects of salidroside on activities of ALT, AST, ALP, and content of MDA in hepatic tissue of diabetic rats ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	SOD/(U·mg ⁻¹)	CAT/(U·mg ⁻¹)	MDA/(mmol·mg ⁻¹)
对照	—	13.9±2.1	4.31±1.08	3.36±0.80
模型	—	8.5±1.7**	2.57±0.76**	6.45±1.29**
二甲双胍	25	9.5±1.9 [△]	3.12±0.92 ^{△△}	5.78±1.03 ^{△△}
红景天苷	25	8.8±1.9	2.68±0.80	6.08±1.15
	50	9.4±2.0 [△]	2.94±0.83 [△]	5.74±1.08 [△]
	100	10.7±2.0 ^{△△}	3.26±0.91 ^{△△}	5.52±0.97 ^{△△}

与对照组比较: ** $P<0.01$; 与模型组比较: [△] $P<0.05$ ^{△△} $P<0.01$

** $P<0.01$ vs control group; [△] $P<0.05$ ^{△△} $P<0.01$ vs model group

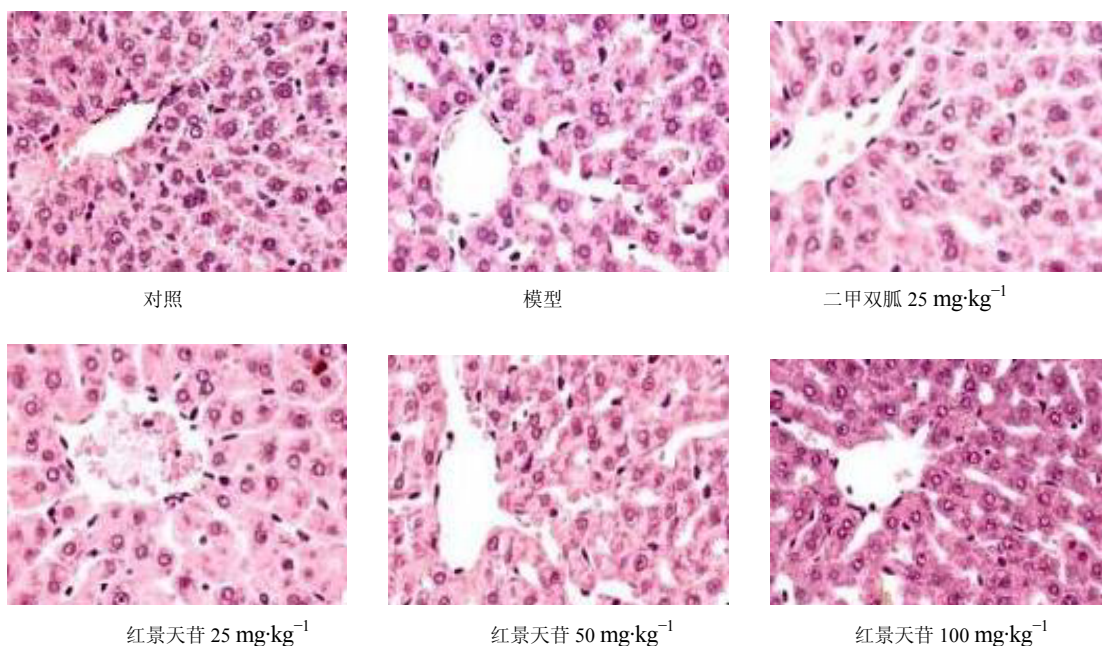


图 1 红景天苷对糖尿病大鼠肝脏组织病理形态学改变的影响

Fig 1 Effects of salidroside on the histopathological changes of hepatic tissue in diabetic rats

3 讨论

长期的高血糖将诱发多组织器官并发症的发生, 大量研究表明, 糖代谢异常而导致的氧自由基多度产生和抗氧化酶系统活性抑制, 进而出现广泛的氧化应激损伤是导致糖尿病众多并发症发生发展的重要因素, 包括肝组织损伤。

细胞膜极易在氧自由基的攻击下发生脂质过氧化而生成丙二醛 (MDA), 所以肝组织中 MDA 的含量能够间接反映肝细胞过氧化损伤程度^[16]。超氧化物歧化酶 (SOD) 能够提供氢原子配体而使其还原生成过氧化氢, 进而阻断其诱导产生的级联反应^[17], 被称为机体防御氧自由基损伤的“第一道屏

障”；而生成的过氧化氢能够被过氧化氢酶（CAT）进一步催化还原生成对人体无害的 H_2O 和 O_2 ^[18]。因此，SOD 和 CAT 构成了机体抗氧化酶防御系统，它们的活性能够直接反映机体抗氧化能力。血清中转氨酶（ALT、AST）和碱性磷酸酶（ALP）活性是临床上常用的生化检测指标，肝脏组织细胞受损后，血清中 ALT、AST 和 ALP 活性将陡然增高，能够敏感地反映肝功能受损伤程度。

本实验通过一次性腹腔注射 STZ 的方法制备糖尿病大鼠模型进行研究发现：红景天苷能够有效降低实验性糖尿病大鼠血糖水平、增加体质量、降低肝脏指数、改善肝功能、改善肝脏组织病变，提示红景天苷对链脲佐菌素所致糖尿病大鼠肝脏具有保护作用，其作用机制可能与红景天苷能够有效改善抗氧化酶活性、抑制氧化应激损伤有关。

参考文献

- [1] Newsholme P, Haber E P, Hirabara S M, *et al.* Diabetes associated cell stress and dysfunction: role of mitochondrial and non-mitochondrial ROS production and activity [J]. *J Physiol*, 2007, 583(Pt1): 9-24.
- [2] Lapshina E A, Sudnikovich E J, Maksimchik J Z, *et al.* Antioxidative enzyme and glutathione S-transferase activities in diabetic rats exposed to long-term ASA treatment [J]. *Life Sci*, 2006, 79(19): 1804-1811.
- [3] Anwar M M, Meki A R. Oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats: effects of garlic oil and melatonin [J]. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 2003, 135(4): 539-547.
- [4] Yan S, Xu D, Zhang B, *et al.* Graph embedding and extensions: a general framework for dimensionality reduction [J]. *IEEE Trans Pattern Anal Mach Intell*, 2007, 29(1): 40-51.
- [5] Shakil A, Church R J, Rao S S. Gastrointestinal complications of diabetes [J]. *Am Fam Physician*, 2008, 77(12): 1697-1702.
- [6] 文 镜, 郭 豫, 常 平. 红景天提取物抗氧化作用的实验观察 [J]. 中国临床康复, 2005, 9(11): 125-127.
- [7] 杨德森, 田先翔, 李浩浩, 等. 红景天苷对大鼠脑缺血再灌注损伤抗氧化活性的实验研究 [J]. 时珍国医国药, 2011, 22(9): 2288-2290.
- [8] 杨宏山, 艾 国, 黄正明. 红景天最细粉对糖尿病肾病模型大鼠的保护作用 [J]. 国际中医中药杂志, 2014, 36(2): 121-124.
- [9] 张胜昌, 王淑秋, 赵 爽. 红景天苷对糖尿病并发骨质疏松大鼠瘦素表达的影响 [J]. 中国病理生理杂志, 2009, 25(4): 787-788.
- [10] 张明发, 沈雅琴. 红景天苷及其苷元酪醇的抗炎、抗肿瘤和免疫调节作用 [J]. 药物评价研究, 2013, 36(3): 228-234.
- [11] 郑明显, 金哲悟, 朴红梅, 等. 红景天苷通过 NF- κ B/TGF- β 1 信号通路抑制哮喘小鼠气道重塑的实验研究 [J]. 中草药, 2014, 45(17): 2511-2516.
- [12] 刘晓庆, 甄永占, 郝晓方, 等. 赖氨大黄酒对糖尿病大鼠肝脏的保护作用及其机制 [J]. 吉林大学学报: 医学版, 2014, 40(3): 499-503.
- [13] 蔺 勇, 赵 珩, 张 扬, 等. 红景天苷对糖尿病脑病模型大鼠的神经保护作用 [J]. 中国老年学杂志, 2009, 29(7): 788-790.
- [14] 马 莉, 蔡东联, 黎怀星, 等. 红景天苷对疲劳小鼠氧化损伤的保护作用 [J]. 中西医结合学报, 2009, 7(3): 237-241.
- [15] 孟凡丽, 苏晓田, 郑毅男. 人参皂苷 Rb₃ 对糖尿病模型小鼠的降血糖和抗氧化作用 [J]. 华南农业大学学报, 2013, 34(4): 553-557.
- [16] Laumbach R J, Kipen H M, Ko S, *et al.* A controlled trial of acute effects of human exposure to traffic particles on pulmonary oxidative stress and heart rate variability [J]. *Part Fibre Toxicol*, 2014, 11(1): 45-51.
- [17] Jin Y, Liu K, Peng J, *et al.* Rhizoma Dioscoreae Nipponicae polysaccharides protect HUVECs from H₂O₂-induced injury by regulating PPAR γ factor and the NADPH oxidase/ ROS-NF- κ B signal pathway [J]. *Toxicol Lett*, 2014, 232(1): 149-158.
- [18] Syed S N, Rizvi W, Kumar A A, *et al.* *In vitro* antioxidant and *in vivo* hepatoprotective activity of leave extract of *Raphanus sativus* in rats using CCl₄ model [J]. *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 2014, 11(3): 102-106.