

鼠急性不完全性脑缺血脑组织含水量^[4]。研究还表明灯盏花总黄酮和灯盏花醇提取物 ig 给药能明显降低动物的卒中指数,减轻脑缺血再灌注损伤引起的脑水肿和脑缺血所致的脑电图改变,促进再灌注后脑电图电位幅度的恢复,减轻大脑皮质组织钙累积及降低脑组织脂质水平。显示灯盏花总黄酮和灯盏花醇提取物对脑缺血再灌注损伤均具有保护作用^[5]。本实验结果表明灯盏细辛注射液治疗后脑组织的代谢得到明显改善,治疗前后同时间点相比,差异有显著性。其中缺血再灌注后显示 NAA/Cr 有减小趋势,灯盏花治疗后对这种下降趋势有抑制作用;Cho/Cr 在脑缺血再灌注后逐渐增加,但组间并没有差异,与假手术组比较有差异;灯盏细辛治疗组与模型组比较有差异,提示灯盏细辛能改善脑代谢,作用机制可能与灯盏细辛能抑制蛋白激酶 C,从而减少细胞钙离子内流^[6];能抑制脂质过氧化^[4];能减轻脑缺血再灌注后的炎症反应^[7]等有关。

References:

[1] Liao W J, Frank W, Yang W T, et al. An experimental study on the neuroprotective effects of chinese angelica on cerebral ischemia injury in rats [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1999, 30(4): 273-275.

[2] Ding G L, Hu H B, Wang X B, et al. Photochemical model of cerebral ischemic injury of rat demonstration by T2 weighted MRI [J]. *Chin J Magn Resonance* (波谱学杂志), 1999, 16(1): 1-4.

[3] Zhang Z M, Yang Y H. Clinical effect observation of erigeron injection on acute cerebral infarction [J]. *Mod J Integr Tradit Chin West Med* (现代中西医结合杂志), 2002, 11(17): 1645-1646.

[4] Liu H. Protective effect of brevescapin against acute experimental cerebral ischemia [J]. *Chin J Mod Appl Pharm* (中国现代应用药学), 2001, 18(2): 96-98.

[5] Li L, Yang W M, Wu W L, et al. Neuroprotective effects of erigeron breviscapus flavonoids on transient cerebral ischemiaraperfusion injury in gerbils [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2000, 12(5): 55-59.

[6] Yu G, Luo Y, Peng G G, et al. Effect and mechanism of protein Kinase C inhibitor on cerebral ischemia in rats [J]. *Stroke Nerv Dis* (卒中与神经疾病), 2002, 9(6): 321-324.

[7] Luo Z M, Shang H F, Xi J, et al. Protective function of breviscapini in focal cerebral ischemic-reperfusion injury in rats [J]. *J Apoplexy Nerv Dis* (中风与神经疾病杂志), 2000, 17(4): 230-232.

[8] Zhang X B, Peng D Y, Zhu M G, et al. Protective effect of breviscapine dropping pill against focal cerebral ischemia reperfusion injury in rats [J]. *J Anhui Tradit Chin Med Coll* (安徽中医学院学报), 2003, 22(1): 45-47.

[9] Zea Longa E, Weinstein P R, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. *Stroke*, 1989, 20: 84-91.

[10] Liao W J, Liu S H, Fan M, et al. Modification of the preparation models of focal ischemic brain injury with suture occlusion in rats [J]. *Chin J Phys Med Rehabil* (中华物理医学与康复杂志), 2002, 24(6): 345-348.

[11] Liao W J, Yang W T, Fan M, et al. The impact of ischemic and reperfusion brain injury on NMR and spectroscopy of the cerebrum and cerebellum in rats [J]. *Chin J Phys Med Rehabil* (中华物理医学与康复杂志), 2002, 24(11): 675-678.

葛根素对糖尿病小鼠胰岛素抵抗的影响

曹莉², 顾振纶^{1,3}, 茅彩萍³

(1. 苏州大学医学院 药理学教研室, 江苏 苏州 215007; 2. 苏州大学药学院, 江苏 苏州 215007; 3. 苏州中药研究所, 江苏 苏州 215007)

摘要:目的 观察葛根素对糖尿病小鼠胰岛素抵抗的作用。方法 以链脲菌素(STZ)诱导糖尿病小鼠及以氢化可的松琥珀酸钠(HCSS)诱导胰岛素抵抗小鼠模型,观察葛根素对正常、糖尿病及胰岛素抵抗模型小鼠血糖及血清胰岛素水平的影响。结果 葛根素对正常小鼠空腹血糖无明显影响,可明显降低 STZ 诱导的糖尿病小鼠的血糖和血清胰岛素水平,使胰岛素敏感性指数显著升高,对 HCSS 诱导的小鼠胰岛素抵抗也有明显的改善,且均呈一定的剂量依赖性趋势。结论 葛根素可显著改善实验性糖尿病小鼠的胰岛素抵抗。

关键词:葛根素;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:0253-2670(2006)06-0901-04

Effect of puerarin on insulin resistance in diabetic mice

CAO Li², GU Zhen-lun^{1,3}, MAO Cai-ping³

(1. Department of Pharmacology, Medical College of Suzhou University, Suzhou 215007, China; 2. College of Pharmaceutical Sciences, Medical College of Suzhou University, Suzhou 215007, China; 3. Suzhou Institute of Chinese Materia Medica, Medical College of Suzhou University, Suzhou 215007, China)

收稿日期:2005 11 03

基金项目:香港保健协会研究项目(HK-2002.0819);江苏省中医药管理局课题(H-028)

作者简介:曹莉(1976—),女,江苏通州人,讲师,硕士,主要从事中药药理学教学、研究与新药开发。

Tel: (0512) 65125270 E-mail: caoli8545@sohu.com

Key words: puerarin; diabetes; insulin resistance

研究表明胰岛素抵抗 (insulin resistance) 是糖尿病重要的发病机制之一,贯穿于糖尿病的发生、发展全过程,同时也是导致糖尿病并发症的“动力”根源。增加胰岛素敏感性,改善胰岛素抵抗已成为预防和治理糖尿病的关键措施^[1]。葛根素是豆科多年生落叶藤本植物野葛 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi 或甘葛藤 *P. thomsonii* Benth. 根中的主要有效成分之一,现代药理学研究表明,葛根素具有活血化瘀、改善微循环、抑制醛糖还原酶活性等作用,临床治疗冠心病、心绞痛、心肌梗死及糖尿病肾病等已取得了一定的疗效^[2]。以往实验表明,葛根素具有一定的降血糖作用,对糖尿病大鼠主动脉内皮细胞损伤有一定的保护作用^[3],并可通过下调肾脏蛋白激酶 C (PKC) 活性来改善糖尿病大鼠肾脏形态和功能损伤^[4],葛根素还可控制糖尿病血管并发症 (DVC) 的发生与发展^[5]。本实验分别以链脲菌素 (STZ) 诱导糖尿病小鼠模型和以氢化可的松琥珀酸钠 (HCSS) 诱导胰岛素抵抗小鼠模型为研究对象,探讨葛根素对糖尿病胰岛素抵抗的影响。

1 材料

1.1 动物:昆明种小鼠,雌雄各半,体重 (20±2) g,清洁级,苏州大学医学院实验动物中心提供,使用许可证号 SYXK (苏) 2002-0037。

1.2 药品与试剂:葛根素,棕黄色粉末,湖南金农生物资源股份有限公司产品,质量分数 90%,批号 20010516;二甲双胍,昆山双鹤药业有限公司产品,批号 0309252,用蒸馏水配制成 16 mg/mL 溶液;STZ,美国 Sigma 公司,临用前用 0.1 mol/L 枸橼酸缓冲液 (pH 4.5) 配成 1% STZ 溶液;HCSS,天津市生物化学制药厂,批号 20031203,临用前用生理盐水配制成 14 mg/mL 溶液;胰岛素注射液,上海第一生化药业有限公司,批号 030506。临用前用生理盐水配制成 0.025 U/mL;血糖试剂盒,卫生部上海生物制品研究所,批号 20031218;胰岛素放免试剂盒,北京东亚免疫技术研究所,批号 20040625。

1.3 仪器:752 型分光光度计,上海第三分析仪器厂;电热恒温水槽,上海医疗仪器七厂;SN-682 型放射免疫 γ -计数器,中国科学院原子核研究所日环仪器厂。

2 方法

2.1 对正常小鼠血糖的影响:小鼠 50 只,雌雄各半,随机均分为 5 组:对照组 (蒸馏水)、二甲双胍

(320 mg/kg) 组、葛根素高、中、低剂量 (500、250、125 mg/kg) 组。各组均连续 ig 给药 7 d。末次给药前禁食 10 h,给药后 1 h,眼球后静脉丛取血,按血糖试剂盒说明测定空腹血糖。

2.2 对 STZ 诱导的糖尿病小鼠血糖和胰岛素水平的影响^[6]:小鼠 STZ (180 mg/kg),72 h 后测血糖,选取血糖在 11.1 mmol/L 以上的小鼠为糖尿病造模成功小鼠,随机分为 5 组:模型组、二甲双胍组 (320 mg/kg)、葛根素各剂量 (500、250、125 mg/kg) 组。另取 10 只健康小鼠做为对照组。对照组和模型组均 ig 等量蒸馏水。各组连续 ig 给药 15 d。末次给药前禁食 10 h,给药后 1 h,眼球后静脉丛取血,测血糖,并留取血清测胰岛素水平。采用李光伟^[7]方法计算胰岛素敏感性指数 (ISI),ISI 为空腹血糖值与空腹胰岛素值乘积的倒数,因其为非正态分布,故分析时取其对数值 (IAI)。

2.3 对 HCSS 诱导的小鼠胰岛素抵抗的影响^[8]:取 60 只小鼠,雌雄各半,随机分为 6 组:对照组、模型组、二甲双胍组、葛根素各剂量组,给药剂量用 2.2 项方法,ig 给药同时 sc HCSS 70 mg/(kg·d),对照组 sc 生理盐水,连续 9 d。第 10 日再 ig 给药 1 次,给药前禁食 3 h,给药后 30 min,各组 ip 胰岛素 0.5 U/kg,测定给胰岛素后 0、30、120 min 时的血糖。

2.4 统计学处理:所有数据均用 SPSS 软件进行统计,两组间比较用方差分析 (ONE-WAY ANOVA) 中的最小显著差法 (LSD)。

3 结果

3.1 对正常小鼠血糖的影响:葛根素高、中、低剂量组小鼠空腹血糖与对照组相比未见明显差异,而二甲双胍组小鼠血糖显著降低,与对照组比较差异显著 ($P < 0.05$)。提示葛根素对正常小鼠血糖无明显影响,见表 1。

表 1 葛根素对正常小鼠空腹血糖的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 Effect of puerarin on fasting serum glucose in normal mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)		
组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	血糖/(mmol·L ⁻¹)
对照	—	4.96±0.43
葛根素	500	4.68±0.82
	250	4.87±1.04
	125	4.90±0.86
二甲双胍	320	4.16±1.10*

与对照组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group

3.2 对 STZ 诱导的糖尿病小鼠血糖和胰岛素水平

的影响:STZ 诱导的糖尿病小鼠空腹血糖较对照组持续升高,血清胰岛素水平显著高于对照组 ($P < 0.001$),葛根素各剂量组小鼠空腹血糖与模型组比较均显著降低 ($P < 0.01$)。葛根素各剂量组小鼠血糖较给药前也明显降低 ($P < 0.05$),呈剂量依赖趋

势。葛根素各剂量组与模型组比较,小鼠胰岛素敏感性指数显著升高 ($P < 0.001, 0.05$)。提示葛根素可使 STZ 所致糖尿病小鼠空腹血糖下降,胰岛素敏感性显著升高,见表 2。

3.3 对 HCSS 致小鼠胰岛素抵抗的影响:实验结

表 2 葛根素对 STZ 致糖尿病小鼠血糖和胰岛素水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 2 Effect of puerarin on fasting serum glucose and insulin level in diabetic mice induced by STZ ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	血糖/(mmol·L ⁻¹)		胰岛素/(μU·mL ⁻¹)	胰岛素敏感性 IAI
		给药前	给药后		
对照	-	5.42±0.50	5.18±1.11	16.54±5.47	-4.35±0.51
模型	-	21.59±3.53 ^{△△△}	25.54±1.51 ^{△△△}	42.45±16.29 ^{△△△}	-6.91±0.42 ^{△△△}
葛根素	500	20.62±5.00	15.60±5.35 ^{**}	24.46±12.07 [*]	5.78±0.75 ^{***}
	250	20.81±6.07	15.16±6.65 ^{**}	25.34±17.80 [*]	-5.72±0.55 ^{***}
	125	20.88±4.30	16.80±6.42 ^{**}	34.26±11.51	-6.27±0.55 [*]
二甲双胍	320	20.94±4.59	19.21±6.22 ^{**}	29.57±13.07	-6.18±0.54 [*]

与对照组比较: ^{△△△} $P < 0.001$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$

^{△△△} $P < 0.001$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$ vs model group

果显示,ip 相同剂量的胰岛素后 0 min,小鼠血糖呈下降趋势,30 min 后葛根素各剂量组小鼠血糖下降幅度均明显大于模型组 ($P < 0.05, 0.01$),且呈一定的剂量依赖趋势。二甲双胍组 0 min 时较对照组小鼠血糖下降明显 ($P < 0.05$),30 min 时血糖下降幅度较葛根素各组大,与模型组比较差异非常显著 ($P < 0.001$)。提示葛根素可提高 HCSS 所致胰岛素抵抗小鼠的胰岛素敏感性,见表 3。

表 3 葛根素对 HCSS 诱导的胰岛素抵抗小鼠血糖的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 Effect of puerarin on serum glucose in insulin-resistance mice induced by HCSS ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	血糖/(mmol·L ⁻¹)		
		0 min	30 min	120 min
对照	-	4.99±0.48	2.18±0.37	3.64±0.98
模型	-	5.36±0.81	3.21±0.91 ^{△△}	4.31±1.14
葛根素	500	4.71±0.84	2.28±0.39 ^{**}	3.57±0.98
	250	4.86±1.06	2.38±0.24 [*]	3.93±1.17
	125	4.91±0.87	2.43±0.70 [*]	3.73±1.31
二甲双胍	320	3.95±1.26 [△]	1.73±0.80 ^{***}	4.14±1.42

与对照组比较: [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$

与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$

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

^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$ vs model group

4 讨论

研究发现:很多 I 型糖尿病患者不但血糖异常升高,而且胰岛素水平也往往高于正常人,而这种高胰岛素水平产生低于正常生物学效应的状态就是胰岛素抵抗 (IR)。已有大量的研究表明:胰岛素抵抗是 I 型糖尿病重要的发病机制之一,并贯穿糖尿病的发生、发展全过程。近年来有临床报道:葛根

素可改善 II 型糖尿病患者胰岛素敏感性^[9]。在本实验中 STZ 诱导糖尿病动物模型,小鼠胰岛 β 细胞有轻度损伤,并出现明显的“三多一少”症状,血糖、尿糖升高,糖耐量异常。本实验结果显示,葛根素可显著降低 STZ 诱导的糖尿病小鼠的血糖和血清胰岛素水平,升高胰岛素敏感性指数。而对正常小鼠空腹血糖无显著影响。表明葛根素可能对胰岛素 β 细胞有一定的保护作用,可显著改善 STZ 诱导的糖尿病小鼠的胰岛素抵抗,而不影响正常小鼠的血糖。

HCSS 可以通过影响机体糖、脂肪、蛋白质等的物质代谢来诱导小鼠产生胰岛素抵抗。这种胰岛素抵抗模型小鼠空腹血糖与正常小鼠的空腹血糖差异不大 ($P > 0.05$),糖耐量却明显异常,类似于胰岛素敏感性明显降低而尚未形成糖尿病的“健康人”^[8]。对于这种胰岛素抵抗模型的小鼠,ip 一定剂量的胰岛素后,观察其血糖变化,可体现小鼠体内胰岛素对血糖代谢的能力,从而反映小鼠的胰岛素敏感性。本实验结果显示,ip 胰岛素后 0 min 小鼠血糖开始降低,30 min 时小鼠血糖显著降低,120 min 后逐渐恢复正常。ip 相同剂量的胰岛素 30 min 后,葛根素各组小鼠血糖下降幅度均明显大于模型组 ($P < 0.05$),且呈一定的剂量依赖趋势。提示葛根素可通过增强小鼠胰岛素对糖代谢能力,提高小鼠胰岛素的敏感性,而显著改善 HCSS 诱导的胰岛素抵抗。

综上所述,葛根素可在一定程度上阻止胰岛素抵抗的发生、发展,提高机体胰岛素的敏感性,但葛根素对胰岛素抵抗的作用机制尚待进一步研究。

References:

[1] Wu J, Lei M X. New consideration on the relation of insulin

resistance and type 2 diabetes [J]. *Med Philo* (医学与哲学), 2004, 25(2): 4-5.

[2] Mao C P, Gu Z L. Studies of puerarin on pharmacology and clinic [J]. *Chin J Hemorheol* (中国血液流变学杂志), 2004, 14(1): 138-142.

[3] Mao C P, Gu Z L, Xu X H, et al. Effect of puerarin on morphology and function of aortic endothelium in diabetic rats [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36(3): 402-405.

[4] Mao C P, Gu Z L, Cao L. Effects of puerarin on renal protein kinase C activity in diabetic rats [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35(10): 1141-1144.

[5] Mao C P, Gu Z L. Effects of puerarin on sICAM-1, OX-LDL levels in serum and TNF- α level in plasma of diabetic rats [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36(1):

86-88.

[6] Zhang J T. *Modern Methodology in Pharmacological Experiment* (现代药理实验方法学) [M]. Beijing: Peking Medical College and Peking Union Medical College United Publishing House, 1998.

[7] Li G W, Pan X R, Stephen L, et al. A new insulin-sensitivity index for the population-based study [J]. *Chin J Intern Med*, 1993, 32(10): 656-660.

[8] Moller D E, Flier J S. Insulin resistance mechanism, syndromes, and implications [J]. *N Eng J Med*, 1991, 325(13): 928-948.

[9] Liu Y L, Chen S H, Chen X B. Effects of puerarin on insulin-sensitivity in type 2 diabetic sufferer [J]. *Liaoning J Pract Diabetol* (辽宁实用糖尿病杂志), 2000, 8(1): 26.

蒺藜皂苷对脑缺血再灌注损伤大鼠的保护作用

关欣, 纪影实, 李红, 杨世杰*

(吉林大学基础医学院 药理学教研室, 吉林 长春 130021)

缺血性脑血管疾病是心脑血管疾病中的常见病、多发病, 是危害人类健康的三大疾病之一, 严重影响了人们的正常生活和身体健康。蒺藜皂苷 (gross saponins from *Tribulus terrestris* L., GSTT) 是从蒺藜地上部分中提取, 临床主要用于心脑血管疾病的治疗。本课题组研究^[1,2]表明, GSTT 可减轻心肌缺血损伤, 抑制心肌细胞凋亡, 减轻脑缺血神经功能缺损, 改善生化指标。本实验在此基础上进一步研究 GSTT 对脑缺血再灌注损伤后神经细胞凋亡的保护作用并探讨其可能的机制。

1 材料

1.1 药品和试剂: GSTT, 质量分数 > 90%, 吉林敖东洮南药业股份有限公司提供, 批号 20030218; 尼莫地平, 天津市中央药业有限公司生产, 批号 050306; 红四氮唑 (TTC), 中国医药上海化学试剂总厂, 批号 20031103; TUNEL 试剂盒, 北京中杉金桥生物技术有限公司生产; DNA ladder 提取试剂盒, 北京鼎国生物技术发展中心产品; 免疫组化试剂盒, 北京中杉金桥生物技术有限公司产品。

1.2 动物: Wistar 大鼠, 由吉林大学实验动物中心提供。

1.3 仪器: 倒置显微镜, 日本 Olympus 公司; 水平

电泳仪, 江苏海门市麒麟医用仪器厂; GIS-2008 天能凝胶成像分析仪, 上海天能科技有限公司。

2 方法

2.1 分组及给药: 60 只雄性 Wistar 大鼠, 体重 300~350 g, 随机分为 6 组。假手术组、模型组 (注射等体积生理盐水)、阳性对照药尼莫地平组 (11 mg/kg)、GSTT 高、中、低剂量 (30、10、3 mg/kg) 组, 各组均 ip 给药, 连续给药 5 d, 每天 1 次。

2.2 大鼠脑缺血再灌注损伤模型制备: 于末次给药后 30 min, 动物 ip 水合氯醛 (350 mg/kg) 麻醉。仰卧位固定, 行颈正中切口, 分离暴露右侧颈总动脉、右侧颈内动脉、右侧颈外动脉; 结扎颈总动脉近心端和颈外动脉, 用动脉夹夹闭颈总动脉, 并在颈总动脉剪开一小口, 将直径 0.175 mm 的尼龙线插入颈总动脉约 18.5 mm, 遇阻即止, 阻塞大脑中动脉起始部, 然后逐层缝合肌肉和皮肤, 单笼饲养。术后自由进食、饮水, 2 h 后拔出栓线使血流再灌注 22 h, 假手术组仅分离右侧颈总动脉、颈内动脉及颈外动脉, 其余同上。参照文献方法^[3,4]将大鼠于术后 24 h 进行行为学评分, 满分 4 分, 得分高者, 运动障碍明显, 选择神经功能评分 1 分及以上者进行下述实验。

2.3 脑梗死面积测定: 实验结束后, 将大鼠快速断

收稿日期: 2005-12-10

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30472020); 高校博士点基金支持资助项目 (20050183029)

作者简介: 关欣 (1981-), 女, 吉林省吉林市人, 硕士, 主要从事心脑血管药理学研究。

Tel: (0431) 5619799 E-mail: guanxinyaoli@126.com

* 通讯作者 杨世杰 Tel: (0431) 5619483 E-mail: jcyao@sina.com