莲房提取物对2型糖尿病大鼠胰岛素抵抗的影响

王思为, 夏道宗*, 方月娟, 钟怡平

浙江中医药大学药学院, 浙江 杭州 310053

摘要: 目的 观察莲房提取物(NRE)对2型糖尿病大鼠胰岛素抵抗(IR)的影响。方法 SD大鼠喂以高脂饲料4周后一次性ip给予小剂量链脲佐菌素(STZ, 30 mg/kg), 建立2型糖尿病大鼠模型。NRE低、中、高剂量(100、300、500 mg/kg)ig干预5周后, 检测大鼠血清空腹血糖(FBG)、胰岛素(FINS)、总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平, 检测肝脏丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)和己糖激酶(HK)活性, 检测肝糖原和肌糖原水平, 检测肝脏丙二醛(MDA)、还原型谷胱甘肽(GSH)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)水平以及血清中瘦素和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平, 并计算胰岛素敏感指数(ISI)和胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)。结果 NRE能明显降低模型大鼠FBG值, 提高ISI, 降低HOMA-IR, 降低血清瘦素和TNF- α 水平($P < 0.05$ 、 0.01); 对糖尿病大鼠所伴有的血脂(TC、TG、HDL-C、LDL-C)和肝脏(TC、TG、ALT、AST)代谢异常有显著改善作用($P < 0.05$ 、 0.01); 并能提高肝组织GSH水平及抗氧化酶活性, 降低MDA水平; 此外, NRE可在一定程度上增加糖原的量及HK活性($P < 0.05$ 、 0.01)。结论 NRE可明显改善2型糖尿病大鼠IR, 这可能与调节血脂和肝脏代谢, 提高肝组织抗氧化能力, 降低瘦素和TNF- α 水平作用有关。

关键词: 莲房; 糖尿病; 胰岛素抵抗; 血脂; 抗氧化

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)05-0721-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.05.018

Effects of *Nelumbinis Receptaculum* extract on insulin resistance in type 2 diabetic rats

WANG Si-wei, XIA Dao-zong, FANG Yue-juan, ZHONG Yi-ping

College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China

Abstract: Objective To study the effects of *Nelumbinis Receptaculum* (the seedpod of *Nelumbo nucifera*) extract (NRE) on insulin resistance (IR) in type 2 diabetic rats. **Methods** The experimental type 2 diabetic rats were established by high-fat diet for 4 weeks and injected with low dose of streptozotocin (STZ, 30 mg/kg). After intervention by ig administration of NRE in low, medium, and high dose groups (100, 300, and 500 mg/kg) for 5 weeks, the effects of NRE on the levels of fasting blood glucose (FBG), fasting insulin (FINS), total cholesterol (TC), triglycerides (TG), high density lipoproteins cholesterol (HDL-C), low density lipoproteins cholesterol (LDL-C), the activities of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), and hexokinase (HK), the levels of liver glycogen, muscle glycogen, liver malondialdehyde (MDA), reduced glutathione (GSH), glutathione peroxidase (GSH-Px), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), plasma leptin, and TNF- α were observed. The insulin sensitivity index (ISI) and IR were calculated accordingly. **Results** NRE could decrease the levels of FBG, increase ISI, reduce the levels of IR, plasma leptin, and TNF- α ($P < 0.05$ or $P < 0.01$) in type 2 diabetic rats. The dyslipidemia (TC, TG, HDL-C, and LDL-C) and hepatic metabolism (TC, TG, ALT, and AST) could be improved by NRE ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). NRE could increase the GSH level and antioxidant enzymes activities, and decrease MDA level. In addition, NRE could increase the glycogens content and HK activity. **Conclusion** NRE could improve the IR in the experimental type 2 diabetic rats. It might be related to its effects on improving dyslipidemia, hepatic metabolism, and antioxidant capacity of hepatic tissue, as well as reducing leptin and TNF- α levels.

Key words: *Nelumbinis Receptaculum*; diabetes; insulin resistance; blood lipid; antioxidation

收稿日期: 2014-07-14

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81374048, 81102861); 国家级大学生创新创业训练计划项目暨浙江省新苗人才计划(2013R410018, 2014R410003); 浙江省重点科技创新团队项目(2012R10044-02)

作者简介: 王思为(1990—), 男, 硕士研究生, 研究方向为中药药理学。

*通信作者 夏道宗(1978—), 男, 博士, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为中药药理学。Tel: (0571)86613605 E-mail: xiadaozong@zcmu.edu.cn

随着人民生活水平的提高、人口老龄化以及生活方式的改变,糖尿病的患病率正逐年上升,对人类的健康造成极大的危害,目前我国糖尿病患者约9 200万^[1],成为全球糖尿病患者人数最多的国家。而我国糖尿病人群的构成以2型糖尿病为主,占糖尿病人群的90%以上,因此对2型糖尿病及其并发症的有效防治已成为医学研究领域的重要方向。胰岛素抵抗(IR)是指正常剂量的胰岛素产生低于正常生物学效应的一种状态,主要表现为胰岛素敏感细胞对胰岛素介导的葡萄糖摄取和处置以及对脂质和蛋白质代谢的抵抗^[2]。IR是2型糖尿病发病的主要病理机制,同时也存在于肥胖、血脂异常、高血压等多种代谢疾病中^[3]。因此,改善IR是治疗2型糖尿病及其并发症的关键之一。

近年来研究发现,中医药在改善IR方面有着独特的疗效。莲房 *Nelumbinis Receptaculum* 为睡莲科(Nymphaeaceae)植物莲 *Nelumbo nucifera* Gaertn. 的干燥花托,性味苦、涩、温,归肝经,具有化瘀止血的功效^[4]。现代研究表明,植物多酚有改善心血管疾病、降血糖、调血脂、治疗神经退行性疾病等作用^[5-6]。莲房中含有原花青素、金丝桃苷等多酚类成分,具有较强的药理学活性^[7]。有研究证实,蓝睡莲能降低糖尿病模型大鼠的血糖和血脂,但其作用机制不明^[8-9]。本课题组初步证实莲房提取物(*Nelumbinis Receptaculum extract*, NRE)对糖尿病大鼠IR有治疗作用。

本实验制备2型糖尿病大鼠模型,探讨NRE对2型糖尿病IR,血清瘦素、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平,肝脏相关酶活性,以及血清和肝脏脂质水平的影响,有望在中医药领域寻找更加安全有效的治疗IR和糖尿病并发症药物奠定基础,并为进一步研究莲房药理作用及临床应用提供理论依据。

1 材料

1.1 药材与试剂

莲房,浙江中医药大学中药饮片有限公司提供,由浙江中医药大学陈孔荣副主任中药师鉴定为莲 *Nelumbo nucifera* Gaertn. 的干燥花托。链脲佐菌素(STZ)、柠檬酸缓冲液,美国Sigma公司;盐酸吡格列酮,日本武田工业株式会社;胆固醇,华东医药股份有限公司;基础饲料,浙江省医学科学院;猪油、蛋黄粉、蔗糖、食盐均为市售。leptin和TNF- α 放射免疫分析试剂盒,安迪生物科技(上海)有限公司;葡萄糖、总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、

高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、肝糖原、肌糖原、己糖激酶(HK)测定试剂盒,德赛诊断系统(上海)有限公司;丙二醛(MDA)、还原型谷胱甘肽(GSH)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)测定试剂盒,南京建成生物工程研究所。

1.2 实验动物

雄性SD大鼠60只,体质量(200 $\pm$ 20)g,由上海斯莱克实验动物有限公司提供,生产许可号SCXK(沪)2008-0016。饲养于浙江中医药大学动物实验中心,自由摄食及饮水。

1.3 主要仪器

血糖仪、罗氏Accu-Chek血糖试纸,德国罗氏公司;FA2004型电子天平,上海潢海仪器有限公司;FD-1C-80型冷冻干燥机,北京博医康实验仪器有限公司;7020全自动生化分析仪,日本日立;Lambda 12紫外可见分光光度计,Perkin Elmer;BIO-RAD酶标仪,美国伯乐。

2 方法

2.1 NRE的制备

干燥莲房经粉碎、过20目筛,用50%乙醇以1:30的料液比于80℃提取1.5h,最后合并提取液,冷冻干燥,经福林酚法测定含多酚29.7%,备用。

2.2 高脂饲料的制备

基础饲料69%,蛋黄粉10%,猪油10%,蔗糖10%,胆固醇0.5%,食盐0.5%,由浙江省医学科学院制备。

2.3 糖尿病大鼠模型制备^[10-11]及分组、给药

60只雄性SD大鼠,体质量(200 $\pm$ 20)g,适应性饲养1周后,随机取8只作为对照组,给予普通饲料喂养;其余52只大鼠全部给予高脂饲料喂养。4周后,对照组大鼠1次性ip等量0.1 mol/L、pH 4.5柠檬酸缓冲液,其余大鼠1次性ip STZ 30 mg/kg(用0.1 mol/L、pH 4.5柠檬酸缓冲液溶解,现用现配)。3d后禁食12h,尾静脉采血,用血糖仪测定空腹血糖(FBG)值。以11.1 mmol/L $\leq$ FBG值 $<$ 33.3 mmol/L为标准,确定糖尿病造模成功大鼠。2周后再次测定FBG值,选取FBG值稳定的大鼠进入正式实验。取造模成功大鼠40只,随机分为5组,每组8只,分别为模型组,阳性对照组(吡格列酮20 mg/kg),NRE低、中、高剂量(100、

300、500 mg/kg) 组, 给药组均 ig 给药, 模型组 ig 等量蒸馏水, 继续喂以高脂饲料; 对照组 ig 等量蒸馏水, 喂以基础饲料。连续给药 5 周后, 禁食 12 h, 麻醉大鼠, 腹主动脉采血, 离心, 分离血清, -80 °C 保存待测。大鼠处死后, 取肝脏和肌肉, 用电子天平分别称取 0.2 g 左右的肝组织和肌肉, 低温下制成匀浆, -80 °C 保存待测。

2.4 生化指标测定

采用全自动生化分析仪测定 FBG、TC、TG、HDL-C、LDL-C、ALT、AST、肝糖原、肌糖原、HK, 上述指标测定均采用酶法, 按照试剂盒说明进行操作。由 TC、HDL-C 测定结果计算动脉粥样硬化指数 [AI, AI=(TC-HDL-C)/HDL-C]。

放免法测定空腹胰岛素 (FINS), 并计算胰岛素敏感指数 (ISI) [12] 和 IR 指数 (HOMA-IR) [13]。

$$ISI = \ln[1/(FINS \times FBG)]$$

$$HOMA-IR = FBG \times FINS / 22.5$$

按照 ELISA 试剂盒要求进行操作, 测量各组大鼠血清瘦素及 TNF- α 水平。

按照试剂盒要求进行操作, 测量各组大鼠肝脏 MDA、GSH、GSH-Px、SOD、CAT 水平。

2.5 统计处理

所有数据均用 SPSS 13.0 统计软件进行处理, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间差异按方差分析进行检验, 并用最小显著差法作两两比较。

3 结果

3.1 一般状态观察

对照组大鼠精神状态良好, 动作灵活, 毛色有光泽, 饮水量、尿量及进食量正常, 体质量逐渐增加。模型组大鼠精神萎靡, 动作迟缓, 毛发干枯、脱落, 并出现多饮、多尿、多食、消瘦的症状。NRE 低、中、高剂量组以及吡格列酮组也出现与模型组相似的症状, 但程度较轻。

3.2 对大鼠体质量及肝脏指数的影响

与对照组比较, 模型组大鼠体质量增量显著降低 ($P < 0.01$), 给药 5 周后, NRE 低、中、高剂量组以及吡格列酮组大鼠体质量较模型组均有所增加, 其中, NRE 中、高剂量组以及吡格列酮组大鼠体质量显著增加 ($P < 0.01$)。与对照组比较, 模型组大鼠肝脏指数显著升高 ($P < 0.01$), 给药 5 周后, NRE 中、高剂量组和吡格列酮组大鼠肝脏指数较模型组明显降低 ($P < 0.05$), 而 NRE 低剂量组与模型组比较无统计学差异 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 NRE 对糖尿病大鼠体质量及肝脏指数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 1 Effects of NRE on body weight and liver indexes of diabetic rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	体质量增量/ (g·d ⁻¹)	肝脏指数/ (mg·g ⁻¹)
对照	—	0.66±0.04	27.28±0.84
模型	—	0.15±0.01 ^{###}	58.57±1.89 ^{###}
吡格列酮	20	0.56±0.03 ^{**}	49.58±2.84 [*]
NRE	100	0.26±0.01 [*]	57.68±2.28
	300	0.31±0.02 ^{**}	50.83±3.13 [*]
	500	0.67±0.05 ^{**}	46.21±1.29 [*]

与对照组比较: ^{###} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$, 下同
^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group, same as below

3.3 对大鼠 FBG 的影响

经 4 周高脂饲料喂饲, 给予 STZ 注射 3 d 后, 测量大鼠 FBG 值, 模型组较对照组大鼠 FBG 明显增高 ($P < 0.05$), 说明成功建立 2 型糖尿病 IR 模型。给药 5 周后, NRE 低、中、高剂量组和吡格列酮组大鼠 FBG 均有所降低, 并呈现剂量相关性, 其中高剂量组和吡格列酮组降血糖作用最为显著 ($P < 0.01$)。见表 2。

表 2 NRE 对糖尿病大鼠 FBG 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 2 Effects of NRE on FBG of diabetic rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	给药前 FBG/ (mmol·L ⁻¹)	给药后 FBG/ (mmol·L ⁻¹)
对照	—	6.41±0.23	6.40±0.25
模型	—	23.74±2.26 ^{###}	28.81±1.47 ^{###}
吡格列酮	20	23.92±1.98 ^{###}	15.41±0.93 ^{**}
NRE	100	23.10±2.68 ^{###}	21.27±0.65 [*]
	300	23.85±1.88 ^{###}	20.40±2.70 [*]
	500	24.17±0.99 ^{###}	12.70±1.16 ^{**}

3.4 对大鼠 FINS、ISI 和 HOMA-IR 的影响

与对照组比较, 模型组大鼠血清 FINS、IR 显著升高, ISI 显著下降, 差异显著 ($P < 0.01$); 与模型组比较, NRE 低、中、高剂量组大鼠 FINS、IR 明显降低, ISI 明显升高, 差异显著 ($P < 0.05、0.01$), 且呈现剂量依赖性, 见表 3。

3.5 对大鼠血脂代谢的影响

与对照组比较, 模型组大鼠血清 TC、TG、LDL-C、AI 均显著升高, 而起保护作用的 HDL-C 显著降低, 差异显著 ($P < 0.01$); 与模型组比较, NRE 低、中、高剂量组大鼠血清 TC、TG、LDL-C、AI 均明显降低, HDL-C 明显升高 ($P < 0.05、0.01$), 且呈剂量依赖性。见表 4。

表 3 NRE 对糖尿病大鼠 FINS、ISI 和 IR 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 3 Effects of NRE on FINS, ISI, and IR of diabetic rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	FINS/(mU·L ⁻¹)	ISI	HOMA-IR
对照	—	18.96 ± 0.88	-4.78 ± 0.06	5.39 ± 0.33
模型	—	38.18 ± 1.34 ^{##}	-6.99 ± 0.07 ^{##}	48.96 ± 3.34 ^{##}
吡格列酮	20	27.51 ± 1.59 ^{**}	-6.05 ± 0.12 [*]	18.84 ± 3.12 ^{**}
NRE	100	32.77 ± 1.49 [*]	-6.54 ± 0.08 [*]	31.16 ± 2.24 [*]
	300	32.09 ± 1.72 [*]	-6.41 ± 0.15 [*]	28.38 ± 3.55 [*]
	500	24.71 ± 1.63 ^{**}	-5.63 ± 0.28 ^{**}	13.48 ± 3.89 ^{**}

表 4 NRE 对糖尿病大鼠血脂代谢的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 4 Effects of NRE on blood lipid metabolism of diabetic rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	TC/(mmol·L ⁻¹)	TG/(mmol·L ⁻¹)	HDL-C/(mmol·L ⁻¹)	LDL-C/(mmol·L ⁻¹)	AI
对照	—	2.17 ± 0.09	1.15 ± 0.04	1.39 ± 0.05	0.48 ± 0.02	0.56 ± 0.02
模型	—	9.76 ± 0.36 ^{##}	3.07 ± 0.12 ^{##}	0.68 ± 0.02 ^{##}	6.87 ± 0.28 ^{##}	13.35 ± 0.15 ^{##}
吡格列酮	20	7.04 ± 0.25 ^{**}	2.08 ± 0.13 [*]	0.95 ± 0.05 [*]	4.62 ± 0.17 ^{**}	6.41 ± 0.23 ^{**}
NRE	100	7.82 ± 0.40 [*]	2.52 ± 0.11 [*]	0.83 ± 0.04 [*]	5.53 ± 0.22 [*]	8.42 ± 0.41 [*]
	300	7.72 ± 0.32 [*]	2.36 ± 0.09 [*]	0.91 ± 0.04 [*]	5.20 ± 0.21 [*]	7.56 ± 0.30 ^{**}
	500	5.29 ± 0.07 ^{**}	1.71 ± 0.05 ^{**}	1.15 ± 0.04 ^{**}	3.16 ± 0.05 ^{**}	3.62 ± 0.09 ^{**}

3.6 对大鼠血清瘦素和 TNF-α 水平的影响

与对照组比较, 模型组大鼠血清中瘦素和 TNF-α 水平显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, NRE 低、中、高剂量组大鼠血清中瘦素和 TNF-α 水平明显降低 ($P < 0.05, 0.01$), 且呈现剂量依赖性。见表 5。

3.7 对大鼠肝脏 ALT、AST、HK 活性和肝糖原、肌糖原水平的影响

与对照组比较, 模型组大鼠肝脏 ALT 和 AST 活性显著升高 ($P < 0.01$), 肝糖原、肌糖原水平及 HK 活性均显著降低 ($P < 0.01$)。与模型组比较, NRE 低、中、高剂量组以及吡格列酮组大鼠肝脏 ALT、AST 活性明显降低, 肝糖原、肌糖原水平及 HK 活性明显升高 ($P < 0.05, 0.01$), 且呈现剂量依赖性。见表 6。

表 5 NRE 对糖尿病大鼠血清瘦素和 TNF-α 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 5 Effects of NRE on levels of leptin and TNF-α in serum of diabetic rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	瘦素/(ng·mL ⁻¹)	TNF-α/(ng·mL ⁻¹)
对照	—	8.72 ± 0.44	0.21 ± 0.01
模型	—	17.59 ± 0.91 ^{##}	0.39 ± 0.01 ^{##}
吡格列酮	20	12.41 ± 0.51 ^{**}	0.34 ± 0.01 [*]
NRE	100	14.38 ± 0.63 [*]	0.34 ± 0.01 [*]
	300	13.19 ± 0.57 [*]	0.32 ± 0.01 [*]
	500	9.87 ± 0.30 ^{**}	0.26 ± 0.01 ^{**}

表 6 NRE 对糖尿病大鼠肝脏 ALT、AST、HK 活性和肝糖原、肌糖原水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 6 Effects of NRE on activities of ALT, AST, and HK in liver and levels of liver glycogen, muscle glycogen of diabetic rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	ALT/(IU·L ⁻¹)	AST/(IU·L ⁻¹)	肝糖原/(mg·g ⁻¹)	肌糖原/(mg·g ⁻¹)	HK/(U·g ⁻¹)
对照	—	40.69 ± 1.51	116.37 ± 4.40	11.94 ± 0.48	3.31 ± 0.13	4.63 ± 0.19
模型	—	98.14 ± 3.81 ^{##}	174.65 ± 7.07 ^{##}	7.48 ± 0.31 ^{##}	1.47 ± 0.06 ^{##}	2.23 ± 0.09 ^{##}
吡格列酮	20	78.32 ± 3.29 [*]	147.69 ± 4.58 [*]	9.33 ± 0.51 [*]	2.24 ± 0.08 [*]	3.25 ± 0.16 [*]
NRE	100	80.07 ± 3.21 [*]	151.62 ± 6.10 [*]	8.99 ± 0.40 [*]	1.93 ± 0.09 [*]	2.96 ± 0.13 [*]
	300	75.62 ± 3.13 [*]	148.18 ± 5.72 [*]	9.18 ± 0.45 [*]	2.17 ± 0.09 [*]	3.18 ± 0.14 [*]
	500	57.16 ± 0.47 ^{**}	128.93 ± 2.00 ^{**}	10.98 ± 0.70 ^{**}	2.75 ± 0.10 ^{**}	4.03 ± 0.11 ^{**}

3.8 对大鼠肝脏脂质代谢的影响

与对照组比较, 模型组大鼠肝脏 TC、TG 均显著升高 ($P < 0.01$), NRE 低、中剂量组均能降低大鼠肝脏 TC、TG 水平 ($P < 0.05$ 、 0.01), NRE 高剂量组和吡格列酮组可显著降低大鼠肝脏 TC、TG 水平 ($P < 0.01$)。见表 7。

3.9 对大鼠肝组织抗氧化能力的影响

与对照组比较, 模型组大鼠肝脏 MDA 显著升高 ($P < 0.01$), 且 GSH、GSH-Px、SOD、CAT 活性均显著降低 ($P < 0.01$), NRE 低、中、高剂量组能明显降低大鼠肝脏 MDA 水平, 明显提高肝脏 GSH、GSH-Px、SOD、CAT 活性 ($P < 0.05$ 、 0.01), 且呈剂量依赖性。见表 8。

表 7 NRE 对糖尿病大鼠肝脏脂质代谢的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)
Table 7 Effects of NRE on lipid metabolism in liver of diabetic rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	TC/($\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}$)	TG/($\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}$)
对照	—	1.46 ± 0.06	0.93 ± 0.04
模型	—	6.12 ± 0.25 ^{##}	2.05 ± 0.09 ^{##}
吡格列酮	20	3.08 ± 0.13 ^{**}	1.30 ± 0.05 ^{**}
NRE	100	4.79 ± 0.22 [*]	1.76 ± 0.08 [*]
	300	4.23 ± 0.18 ^{**}	1.59 ± 0.07 [*]
	500	2.47 ± 0.08 ^{**}	1.21 ± 0.04 ^{**}

表 8 NRE 对糖尿病大鼠肝组织抗氧化能力的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 8 Effects of NRE on antioxidant capacity in liver tissue of diabetic rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	GSH/ ($\text{nmol} \cdot \text{mg}^{-1}$)	MDA/ ($\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1}$)	GSH-Px/ ($\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$)	SOD/ ($\text{U} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$)	CAT/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$)
对照	—	19.13 ± 0.73	163.23 ± 6.44	127.39 ± 5.13	20.75 ± 0.81	65.38 ± 2.55
模型	—	7.26 ± 0.31 ^{##}	462.63 ± 18.57 ^{##}	59.13 ± 2.43 ^{##}	7.94 ± 0.31 ^{##}	31.68 ± 1.25 ^{##}
吡格列酮	20	11.53 ± 0.55 [*]	349.66 ± 16.12 [*]	79.38 ± 3.71 [*]	12.45 ± 0.49 ^{**}	42.64 ± 1.79 [*]
NRE	100	10.94 ± 0.39 [*]	374.31 ± 16.00 [*]	74.82 ± 3.66 [*]	10.68 ± 0.51 [*]	39.82 ± 1.94 [*]
	300	12.34 ± 0.59 [*]	345.14 ± 15.54 [*]	81.30 ± 3.55 [*]	12.80 ± 0.58 ^{**}	43.90 ± 1.88 [*]
	500	16.88 ± 0.10 ^{**}	254.08 ± 9.50 ^{**}	105.74 ± 3.02 ^{**}	17.51 ± 0.35 ^{**}	57.96 ± 2.02 ^{**}

4 讨论

血糖的升高是糖尿病的最主要表现, 也是糖尿病组织损伤的初始原因。本研究结果表明, NRE 明显减轻了糖尿病造成的血糖升高, 并呈一定的剂量依赖性。IR 引起胰岛素敏感性降低, 并参与 2 型糖尿病的发生与发展过程, 是糖尿病主要发病机制之一。本研究发现虽然糖尿病大鼠血清 FINS 水平高于正常大鼠, 但是血糖仍然明显升高, 且胰岛素敏感指数明显降低, 表明模型大鼠出现了典型的 IR 症状, 外周各组织对胰岛素的敏感性明显降低; NRE 提高了糖尿病大鼠对胰岛素的敏感性, 抑制了 IR 症状。

长期胰岛素的相对缺乏不仅会引起高血糖, 还常伴有脂质代谢紊乱, 其典型表现为血清 TG、TC、LDL-C 增高, HDL-C 降低^[14]。本实验结果表明, 糖尿病大鼠血清中 TG、TC、LDL-C、AI 值明显增高, HDL-C 明显下降, 与前述结果一致; 而 NRE 能明显减轻糖尿病引起的脂质代谢异常。NRE 调节脂质代谢异常的原因与其提高外周组织胰岛素敏

感性, 抑制 IR 的作用有关。正因为如此, 给药组大鼠的肝脂肪和肝脏指数变化程度较模型组轻, 表现为 TG、TC 值明显降低, ALT 和 AST 活性也明显降低。

脂肪组织中的 IR 同一些炎症因子的表达及活性变化有关, 目前研究最多的是 TNF- α 和瘦素^[15]。TNF- α 是一种具有多功能的炎性细胞因子, 与胰岛素水平及葡萄糖代谢密切相关, 其过度表达可产生或加重 IR^[16]。瘦素是肥胖基因的产物, 是脂肪细胞分泌的释放入血的一种激素, 其与胰岛素之间有双向调节作用^[17]。本研究结果显示糖尿病大鼠血清瘦素和 TNF- α 明显升高。给予 NRE 治疗后, 糖尿病大鼠血清瘦素和 TNF- α 明显降低。

人体调节血糖的组织主要是肝脏和骨骼肌。肝糖原分解和糖异生是维持空腹血糖浓度的两条主要的代谢通路。2 型糖尿病大鼠糖原分解增多、合成减少^[18]。本实验结果表明 NRE 可使 2 型糖尿病大鼠肝糖原和肌糖原储存明显增加, 且 HK 活性明显增加, 从而改善 2 型糖尿病大鼠的 IR。

氧化应激被广泛认为是许多疾病的一个重要特征^[19]。研究表明, 机体内 SOD 和 GSH-Px 活性及清除自由基的能力下降, 脂质过氧化的终末产物 MDA 增多, 导致机体产生大量自由基, 能够诱发 IR^[20]。本实验结果显示 NRE 明显提高肝组织中的 SOD、CAT 活性, 降低 MDA 的量。此外, NRE 还能增加肝组织中 GSH 的量及 GSH-Px 活性, 这表明其可提高肝脏的抗氧化能力。

总之, NRE 可明显改善 2 型糖尿病大鼠的 IR, 调节血脂和肝脏代谢, 提高肝组织抗氧化能力, 降低瘦素和 TNF- α 水平。本课题组将深入研究 NRE 防治大鼠 2 型糖尿病的分子机制和信号通路, 以期对 2 型糖尿病及其并发症治疗药物的开发奠定基础。

参考文献

- [1] Yang W, Lu J, Jia W, *et al.* Prevalence of diabetes among men and women in China [J]. *New Engl J Med*, 2010, 362(12): 1090-1101.
- [2] 陈俊群. PPAR- γ 与胰岛素抵抗 [J]. *中国医药前沿*, 2011, 6(20): 12-13.
- [3] Wilcox G. Insulin and insulin resistance [J]. *Clin Biochem Rev*, 2005, 26(5): 19-39.
- [4] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [5] 张晓梦, 倪 艳, 李先荣. 茶多酚的药理作用研究进展 [J]. *药物评价研究*, 2013, 36(2): 157-160.
- [6] Park C H, Noh J S, Park J C, *et al.* Beneficial effect of 7-*o*-galloyl-d-sedoheptulose, a polyphenol isolated from *Corni Fructus*, against diabetes-induced alterations in kidney and adipose tissue of type 2 diabetic db/db mice [J]. *Evidence-Based Complement Alternat Med*, 2013, 2013: 736856.
- [7] Ling Z Q, Xie B J, Yang E L. Isolation, characterization, and determination of antioxidative activity of oligomeric procyanidins from the seedpod of *Nelumbo nucifera* Gaertn [J]. *J Agric Food Chem*, 2005, 53(7): 2441-2445.
- [8] Rajagopal K, Sasikala K, Ragavan B. Hypoglycemic and antihyperglycemic activity of *Nymphaea stellata* flowers in normal and alloxan diabetic rats [J]. *Pharm Biol*, 2008, 46(9): 654-659.
- [9] Bhandarkar M R, Khan A. Antihepatotoxic effect of *Nymphaea stellata* Willd, against carbon tetrachloride-induced hepatic damage in albino rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2004, 91(1): 61-64.
- [10] 郝玉美, 刘洪琪. 苦瓜、黄芪、黄芩苷对 2 型糖尿病大鼠模型胰岛素抵抗的影响 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2007, 9(5): 6-7.
- [11] 李 勇, 刘孟宇, 王颜刚. 生芪降糖颗粒对胰岛素抵抗鼠的作用及机制研究 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2007, 27(5): 449-451.
- [12] 李秀钧. 胰岛素抵抗综合征: 胰岛素敏感性评估及应用 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001.
- [13] Hanley A J, Williams K, Gonzalez C, *et al.* Prediction of type 2 diabetes using simple measures of insulin resistance: combined results from the san antonio heart study, the mexico city diabetes study, and the insulin resistance atherosclerosis study [J]. *Diabetes*, 2003, 52(5): 463-469.
- [14] Zhang X J, Deng Y X, Shi Q Z, *et al.* Hypolipidemic effect of the Chinese polyherbal Huanglian Jiedu decoction in type 2 diabetic rats and its possible mechanism [J]. *Phytomedicine*, 2014, 21(5): 615-623.
- [15] 丁世英, 申竹芳, 谢明智. PPAR 与胰岛素抵抗 [J]. *中国药理学通报*, 2002, 18(3): 241-245.
- [16] Jin D, Sun J, Huang J, *et al.* TNF- α reduces g0s2 expression and stimulates lipolysis through PPAR- γ inhibition in 3T3-L1 adipocytes [J]. *Cytokine*, 2014, 69(2): 196-205.
- [17] Kolaczyski J W, Nyce M R, Considine R V, *et al.* Acute and chronic effect of insulin on leptin production in humans: studies *in vivo* and *in vitro* [J]. *Diabetes*, 1996, 45(5): 699-701.
- [18] 徐 洁, 钟丽娟. 肉桂对 2 型糖尿病大鼠肝糖原、肌糖原的影响 [J]. *中国中医药科技*, 2007, 14(3): 171-172.
- [19] Xia D Z, Fan Y S, Zhang P H, *et al.* Protective effects of the flavonoid-rich fraction from rhizomes of *Smilax glabra* Roxb. on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats [J]. *J Membrane Biol*, 2013, 246(6): 479-485.
- [20] 刘继强, 梅 洵, 梁永红, 等. 斜生褐孔菌菌质对链脲佐菌素诱导的 2 型糖尿病大鼠的影响 [J]. *中草药*, 2013, 44(7): 869-874.