

丹酚酸 B 对糖尿病血糖波动模型大鼠胰岛细胞的保护作用

陶善珺¹, 任尤楠¹, 赵梦秋², 郑书国^{1*}, 朱元美¹, 吴元洁³

1. 皖南医学院 药理教研室, 安徽 芜湖 241002

2. 安徽人口职业学院 基础医学教研室, 安徽 池州 247009

3. 安徽中医药大学 中医基础学教研室, 安徽 合肥 230038

摘要: **目的** 观察丹酚酸 B 对糖尿病血糖波动模型大鼠胰岛细胞的保护作用, 并探讨其可能的作用机制。**方法** 采用高糖高脂饮食合并 ip 链脲佐菌素 (STZ) 的方法建立大鼠糖尿病模型, 并在此基础上通过错时给予胰岛素或葡萄糖建立糖尿病血糖波动模型, 丹酚酸 B 各组分别给予丹酚 B 160、80 mg/kg。血糖波动 6 周后, 检测大鼠空腹血糖 (FBG)、空腹胰岛素 (FINS) 和糖化血红蛋白 (GHb) 水平, 并检测大鼠血清和胰腺组织总抗氧化能力 (TAC)、超氧化物歧化酶 (SOD) 活性和丙二醛 (MDA) 水平, HE 染色法观察大鼠胰岛组织病理学改变, TUNEL 染色法检测大鼠胰岛细胞凋亡情况, Western blotting 法检测胰腺组织胰十二指肠同源盒-1 (PDX-1) 蛋白表达水平。**结果** 糖尿病大鼠 FBG、GHb 及血清和胰腺组织 MDA 水平较对照组明显升高, 而 FINS 水平及血清和胰腺组织 TAC、SOD 活性显著下降 ($P < 0.01$)。同时, 糖尿病大鼠胰岛数量减少, 胰岛体积缩小, 胰岛细胞凋亡明显增多 ($P < 0.01$), 胰腺组织 PDX-1 蛋白表达水平显著下降 ($P < 0.01$)。给予丹酚酸 B 6 周后, 大鼠 FINS 水平, 血清及胰腺组织中 TAC、SOD 活性均明显升高, 而 FBG、GHb、血清及胰腺组织中 MDA 水平明显下降 ($P < 0.05$ 、 0.01)。丹酚酸 B 明显改善大鼠胰岛病理学改变, 减少胰岛细胞凋亡, 增加 PDX-1 蛋白表达水平 ($P < 0.05$ 、 0.01)。**结论** 丹酚酸 B 可明显减轻糖尿病血糖波动模型大鼠胰岛病变, 改善胰岛功能, 其作用机制可能与改善氧化应激、上调 PDX-1 蛋白表达水平, 进而抑制胰岛细胞凋亡有关。

关键词: 丹酚酸 B; 糖尿病; 血糖波动; 氧化应激; 胰十二指肠同源盒-1

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2016)17-3058-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.17.016

Protective effect of salvianolic acid B on pancreatic islet cells in diabetic rats with fluctuating blood glucose

TAO Shan-jun¹, REN You-nan¹, ZHAO Meng-qiu², ZHENG Shu-guo¹, ZHU Yuan-mei¹, WU Yuan-jie³

1. Department of Pharmacology, Wannan Medical College, Wuhu 241002, China

2. Department of Basic Medicine, Anhui Vocational Institute of Population, Chizhou 247009, China

3. Department of Basic Theory of Chinese Medicine, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230038, China

Abstract: **Objective** To observe the protective effect of salvianolic acid B (Sal B) on pancreatic islet cells in diabetic rats with fluctuating blood glucose and the possible mechanisms implicated. **Methods** Diabetes model in rats was established by feeding with high-sugar and high-fat diets combined with ip injection of streptozotocin (STZ). Then the rats were subjected to ip injection of insulin and/or ig administration of glucose at indicated time for 6 weeks to induce blood glucose fluctuation, with those in Sal B groups ig supplemented with Sal B 160 or 80 mg/kg. The contents of fasting blood glucose (FBG), fasting serum insulin (FINS), and glycosylated hemoglobin (GHb) and the levels of total anti-oxidant capacity (TAC), superoxide dismutase (SOD) activity, and malondialdehyde (MDA) in both serum and pancreatic tissues were determined with commercially available kits. Pathological changes and cell apoptosis in pancreatic islets were evaluated by HE staining and TUNEL staining, respectively. Protein levels of PDX-1 in pancreatic tissues were examined by Western blotting analysis. **Results** Compared with the control group, the contents of FBG, GHb, and MDA in diabetic rats were increased significantly, while the levels of FINS, TAC, and SOD activity were decreased markedly ($P < 0.01$). Pancreatic islets in diabetic rats became decreased in size and number, while cell apoptosis in islets increased notably ($P < 0.01$).

收稿日期: 2016-02-01

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81102626); 安徽省高校省级自然科学基金重点项目 (KJ2015A192)

作者简介: 陶善珺 (1991—), 女, 硕士研究生, 专业方向为临床药理学。Tel: 18895326580 E-mail: 1138540084@qq.com

*通信作者 郑书国, 男, 博士, 教授。Tel: 13955300871 E-mail: zhengsg2000@163.com

Protein level of PDX-1 was significantly decreased in pancreas of diabetic rats ($P < 0.01$). Supplementation with Sal B resulted in a significant decrease in FBG, GHb, and MDA contents and increase in FINS, TAC, and SOD activity in diabetic rats ($P < 0.05, 0.01$). Sal B significantly attenuated pathological changes and reduced cell apoptosis in pancreatic islets of diabetic rats, with the expression of PDX-1 protein up-regulated evidently ($P < 0.05$ or 0.01). **Conclusion** Sal B can significantly ameliorate pancreatic pathological changes and improve pancreatic islet function in diabetic rats with fluctuating blood glucose, which might be attributed to attenuation of oxidative stress, up-regulation of PDX-1 expression, and suppression of islet cell apoptosis.

Key words: salvianolic acid B; diabetes; blood glucose fluctuation; oxidative stress; PDX-1

糖尿病是由于胰岛素分泌绝对或相对不足引起的以高血糖为主要特征的代谢障碍性疾病。持续高血糖一方面可引起多种并发症,另一方面可直接损伤胰岛 β 细胞,导致胰岛素分泌进一步减少,此即葡萄糖毒性作用。临床资料显示,由于受饮食、用药等多种因素影响,糖尿病患者常出现明显血糖波动,表现为餐后高血糖及使用降糖药后出现的低血糖^[1]。大量研究表明,血糖波动较持续性高血糖更易诱导胰岛细胞损伤,加重胰岛功能障碍^[2],且血糖波动幅度越大,糖尿病预后越差^[3]。这些结果显示,抑制血糖波动诱导的胰岛细胞损伤,可能是保护胰岛功能、改善糖尿病预后的有效措施之一。

丹酚酸 B (Sal B) 是从唇形科植物丹参中提取的水溶性成分,具有较强的抗氧化活性,对心、脑及血管内皮等均具有明显保护作用^[4]。既往研究表明,丹酚酸 B 可显著降低糖尿病动物血糖水平^[5-6],但其确切机制尚未明确。本研究采用高糖高脂饮食合并 ip 链脲佐菌素 (STZ) 的方法建立大鼠糖尿病模型,并在此基础上错时给予胰岛素或葡萄糖建立更符合临床特点的糖尿病血糖波动模型,观察丹酚酸 B 对糖尿病大鼠胰岛功能的影响,并探讨其可能的作用机制,为临床应用丹酚酸 B 防治糖尿病提供依据。

1 材料

1.1 动物与饲料

健康雄性 SD 大鼠 80 只 (SPF 级), 体质量 220~240 g, 购于浙江省实验动物中心, 许可证号 SCXK (浙) 2014-0001。高糖高脂饲料购自南京市青龙山实验动物中心, 含猪油 10%、蔗糖 10%、蛋黄粉 5%、胆固醇 1%、普通饲料 74%。

1.2 药物与试剂

丹酚酸 B, 质量分数 80%, 批号 HK201410, 西安文竹生物科技有限公司; STZ, 美国 Sigma 公司; 血糖仪、血糖试纸, 长沙三诺生物传感技术有限公司; 普通胰岛素, 江苏万邦生化医药股份有限公司, 批号 201410。大鼠胰岛素 (INS) 酶联免疫检测试剂盒, 上海朗顿生物技术有限公司; 糖化血

红蛋白 (GHb) 测试盒, 南京建成生物工程研究所; TUNEL 检测试剂盒, 南京凯基生物科技发展有限公司; 胰十二指肠同源盒 1 (PDX-1) 抗体, CST 公司; β -actin 抗体、辣根过氧化物酶标记二抗、总抗氧化能力 (TAC)、超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA)、蛋白定量试剂盒均购于碧云天生物技术研究; 其余试剂均为分析纯。

1.3 主要仪器

5427R 高速冷冻离心机, 德国 Eppendorf 公司; DNM-9602 型酶标仪, 北京普朗新技术有限公司; BX-41 型奥林巴斯显微镜, 日本 Olympus 公司; PowerPac300 型电泳仪、Mini PROTEAN 转膜系统, 美国 Bio Rad 公司; FluorChem FC3 化学发光凝胶成像系统, 美国 ProteinSimple 公司。

2 方法

2.1 糖尿病大鼠血糖波动模型制备与给药^[7]

健康雄性 SD 大鼠 80 只, 饲养温度 $(22 \pm 2)^\circ\text{C}$, 湿度 60%~65%, 光照周期 12 h, 自由进食及饮水。适应性喂养 1 周后, 随机选取 10 只作对照组, 喂以普通饲料, 其余大鼠给予高糖高脂饲料。4 周后, 禁食 12 h, 按 40 mg/kg 一次性 ip STZ (STZ 溶于滤过除菌的 0.1 mol/L pH 4.5 的柠檬酸缓冲液, 配成 1% 的溶液), 注射 STZ 72 h 后尾静脉取血测其空腹血糖 (血糖仪最大血糖显示值为 27.8 mmol/L, 超出量程仪器显示为 High, 这种情况血糖值被认为是 27.8 mmol/L), 造模 7 d 待血糖稳定后以随机血糖 ≥ 16.7 mmol/L 为造模成功。将造模成功的大鼠随机分为模型组、丹酚酸 B 高剂量 (160 mg/kg) 组及丹酚酸 B 低剂量 (80 mg/kg) 组。模型组和丹酚酸 B 各组继续喂饲高脂饲料, 并于每日 8:00 及 18:00 检测血糖值, 并根据血糖水平, 选择 sc 普通胰岛素 3~9 U (随机血糖 ≥ 16.7 mmol/L) 或 ig 葡萄糖 2 g/kg (随机血糖 < 16.7 mmol/L), 造成 1 d 之内血糖水平大幅度波动模型。丹酚酸 B 各组同时 ig 给予丹酚酸 B 160 和 80 mg/kg, 连续 6 周。实验过程中每周称体质量 1 次, 并根据体质量调整给药剂量。

2.2 各组大鼠 1 d 内 5 个时间点血糖波动水平检测

在给予胰岛素或葡萄糖诱导血糖波动后,每周二分别于 8:00、10:00、16:00、18:00 和 20:00 测定大鼠随机血糖水平,描绘大鼠 1 d 内 5 个时间点血糖波动趋势。各组大鼠分别于给药 0、2、4、6 周检测空腹血糖 (FBG)。

2.3 血生化指标检测

末次给药后,大鼠禁食 12 h,尾静脉取血测其空腹血糖。ip 戊巴比妥钠 (30 mg/kg) 麻醉,腹主动脉取血后分离血清,按试剂盒说明书检测大鼠空腹胰岛素 (FINS)、TAC、SOD 活性及 MDA 水平,留取部分全血分离红细胞制备溶血液,检测大鼠 GHb 水平。

2.4 胰腺组织病理学观察及 TUNEL 染色

取胰尾组织,多聚甲醛固定,常规石蜡切片 (5 μm),HE 染色观察病理学改变。TUNEL 染色按试剂盒说明书进行操作,以细胞核为深棕色判断为凋亡细胞,每只大鼠染色切片随机选取 5 个区域进行拍照分析,用 Image-pro plus 图像分析软件分析胰岛细胞凋亡水平,以 5 个视野平均凋亡率作为每只大鼠胰岛细胞凋亡率。

2.5 胰腺组织生化指标检测

取胰腺组织,用 PBS 制成 10% 组织匀浆,按试剂盒说明书测定 TAC、SOD 活性及 MDA 水平,BCA 法测定蛋白浓度。

2.6 胰腺组织 PDX-1 蛋白表达检测

取胰腺组织,RIPA 裂解液裂解组织,12 000 $\times$ g、4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 10 min,收集上清液,BCA 法测定蛋白浓度,聚丙烯酰胺凝胶电泳 (PAGE) 分离蛋白,转膜、封闭后加入 PDX-1 和 β -actin 抗体 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,TBST 洗涤后加入辣根过氧化物酶标记的二抗,室温孵育 2 h,ECL 发光显色,凝胶图像分析仪分析目的条带吸光度值,结果以 PDX-1 与 β -actin 条带吸光度比值表示。

2.7 统计学处理

采用 DAS 1.0 统计软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析和 LSD 法。

3 结果

3.1 各组糖尿病大鼠 1 d 内 5 个时间点血糖变化

图 1 所示为建立血糖波动模型第 1 周日内随机血糖波动情况。对照组大鼠 5 个检测时间点血糖水平基本稳定,日内血糖水平无明显波动。与之相反,糖尿病造模大鼠在各时间点血糖水平均显著高于对照组。由于在 8:00 和 18:00 分别注射了胰岛

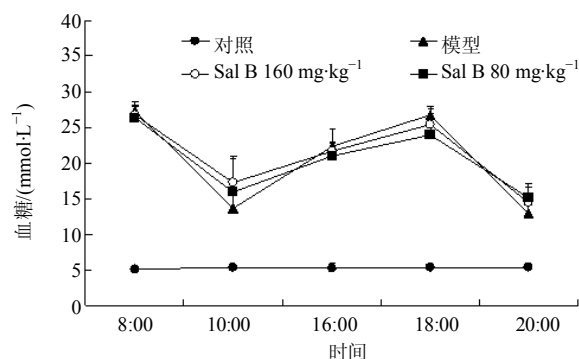


图 1 糖尿病大鼠 1 d 内 5 个时间点血糖变化趋势 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 1 Intraday variation of blood glucose in diabetic rats in five time points for 1 d ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

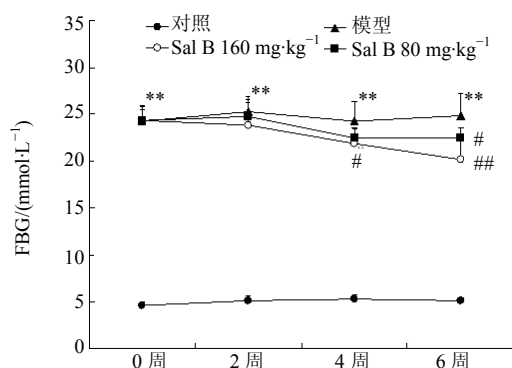
素,糖尿病大鼠 10:00 和 20:00 血糖水平较其他时间点出现明显下降,这些结果提示,糖尿病大鼠血糖波动模型建立成功。

3.2 丹酚酸 B 对糖尿病大鼠 FBG 的影响

由图 2 可见,糖尿病大鼠 FBG 水平在整个实验过程中均显著高于对照组 ($P < 0.01$),提示大鼠已形成稳定的糖尿病模型。给予丹酚酸 B 治疗后,糖尿病大鼠 FBG 出现下降趋势,至实验结束时其水平显著低于模型组 ($P < 0.05, 0.01$),提示丹酚酸 B 可明显降低糖尿病血糖波动模型大鼠 FBG 水平。

3.3 丹酚酸 B 对大鼠 FINS 及 GHb 的影响

与对照组比较,模型组大鼠 GHb 水平明显升高,FINS 水平显著降低 ($P < 0.01$)。给予丹酚酸 B 后大鼠 GHb 水平明显下降,而 FINS 水平显著升高 ($P < 0.05$),见表 1,提示丹酚酸 B 可明显改善糖尿病血糖波动模型大鼠胰岛功能。



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

图 2 丹酚酸 B 对糖尿病大鼠 FBG 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 2 Effect of Sal B on FBG in diabetic rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

表 1 丹酚酸 B 对大鼠 FINS 和 GHb 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of Sal B on FINS and GHb levels ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	FINS / (μU·mL ⁻¹)	GHb/ (吸光度值·10 g ⁻¹)
对照	—	20.20±2.83	25.57± 3.35
模型	—	10.70±1.96**	55.03±12.41**
Sal B	160	15.34±3.38 [#]	39.38± 9.89 [#]
Ssl B	80	13.39±1.62 [#]	41.46± 6.44 [#]

3.4 丹酚酸 B 对大鼠胰岛病理改变的影响

由图 3 可见, 对照组大鼠胰腺内胰小叶密集, 胰岛呈圆形, 边界清晰, 细胞核大而圆, 胰岛内细胞数量较多, 形状规则, 排列整齐, 分布均匀。而模型组大鼠胰岛数量明显减少, 边界模糊, 分布稀疏, 纤维增生, 胰岛细胞肿胀、坏死, 细胞核固缩, 细胞内有大量炎症细胞浸润, 破坏严重。丹酚酸 B 各组胰岛细胞明显增多, 胰岛体积增大, 胰岛细胞形态较模型组明显改善, 提示丹酚酸 B 对糖尿病大鼠胰岛细胞具有明显的保护作用。

3.5 丹酚酸 B 对大鼠胰岛细胞凋亡的影响

由图 4 可见, 对照组大鼠胰岛细胞很少出现凋亡, 而模型组大鼠胰岛内出现大量凋亡细胞, 细胞凋亡率较对照组明显升高 ($P < 0.01$), 给予丹酚酸 B 后胰岛细胞凋亡率显著降低 ($P < 0.05, 0.01$), 提示丹酚酸 B 可有效抑制糖尿病大鼠胰岛细胞凋亡。

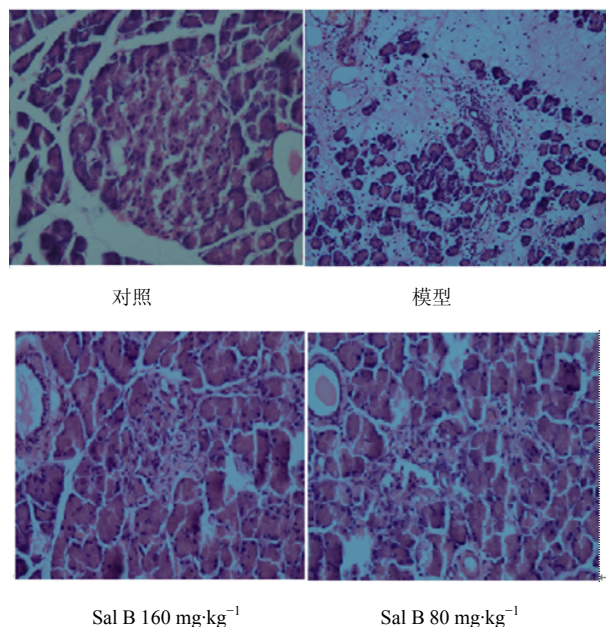


图 3 丹酚酸 B 对大鼠胰岛病理改变的影响

Fig. 3 Effect of Sal B on pathological changes in pancreatic tissues of diabetic rats

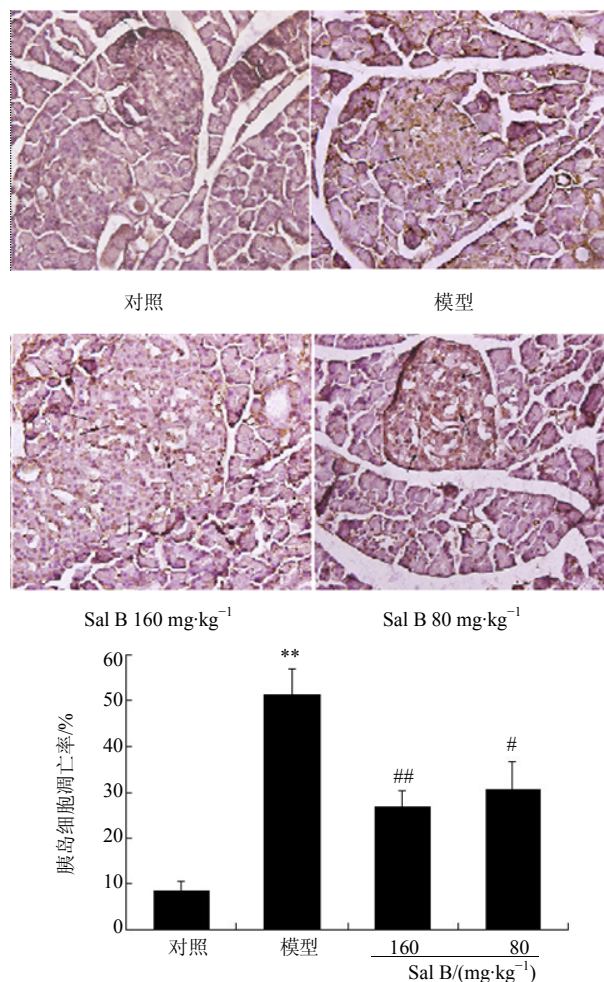


图 4 丹酚酸 B 对大鼠胰岛细胞凋亡的影响

Fig. 4 Effect of Sal B on pancreatic islet cell apoptosis in diabetic rats

3.6 丹酚酸 B 对大鼠血清及胰腺组织 TAC、SOD 活性和 MDA 水平的影响

与对照组比较, 模型组大鼠血清及胰腺组织中 TAC、SOD 活性均显著降低, MDA 水平明显升高 ($P < 0.01$), 给予丹酚酸 B 可明显提高大鼠血清及胰腺组织 TAC、SOD 活性, 降低 MDA 水平 ($P < 0.05, 0.01$), 提示丹酚酸 B 可明显改善糖尿病大鼠氧化应激状态, 见表 2 和 3。

3.7 丹酚酸 B 对大鼠胰腺组织 PDX-1 蛋白水平的影响

与对照组比较, 模型组大鼠胰腺组织 PDX-1 蛋白水平显著降低 ($P < 0.01$), 给予丹酚酸 B 可明显提高大鼠胰腺 PDX-1 蛋白水平 ($P < 0.05, 0.01$), 这一结果与丹酚酸 B 减少胰岛细胞凋亡、改善胰岛功能作用一致, 提示丹酚酸 B 可能通过上调 PDX-1 蛋白表达而发挥胰岛细胞保护作用, 见图 5。

表 2 丹酚酸 B 对大鼠血清 TAC、SOD 活性及 MDA 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of Sal B on levels of TAC, SOD, and MDA in serum of rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	TAC/(mmol·L ⁻¹)	SOD/(U·mL ⁻¹)	MDA/(nmol·mL ⁻¹)
对照	—	0.70±0.04	84.64±24.52	21.69±5.57
模型	—	0.35±0.10**	35.57±6.08**	49.09±9.89**
Sal B	160	0.58±0.07###	52.64±9.83###	29.31±5.21###
Ssl B	80	0.57±0.07###	51.92±13.99#	34.29±9.23#

表 3 丹酚酸 B 对大鼠胰腺组织 TAC、SOD 活性及 MDA 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of Sal B on levels of TAC, SOD, and MDA in pancreatic tissue of rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	T-AOC/(μmol·mg ⁻¹)	SOD/(U·mg ⁻¹)	MDA/(nmol·mg ⁻¹)
对照	—	73.37±14.10	11.66±2.50	2.81±0.83
模型	—	28.14±6.25**	3.88±0.57**	5.58±0.74**
Sal B	160	55.17±12.27###	7.48±2.99#	3.22±0.57###
Sal B	80	53.53±11.33###	6.37±1.77#	4.31±0.82#

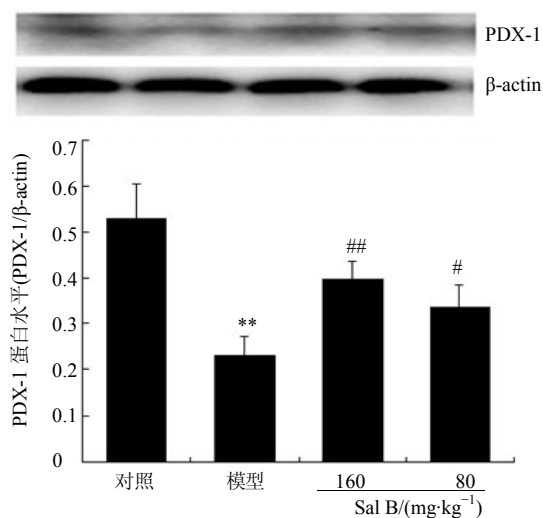


图 5 丹酚酸 B 对大鼠胰岛组织 PDX-1 蛋白水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

Fig. 5 Effect of Sal B on levels of PDX-1 protein in pancreatic tissues of rats ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

4 讨论

高血糖是糖尿病最主要的临床特征，长期高血糖既是糖尿病各种并发症的元凶，更是糖尿病患者胰岛功能进行性减退的主要诱因之一。因此，降血糖历来是糖尿病治疗的最主要措施。然而，近年来研究发现，糖尿病并发症及预后除与血糖水平有关，还与血糖波动性密切相关，血糖波动幅度越大，

糖尿病并发症越严重，预后越差。因此，Monnier 等^[8]提出了“血糖四分体”的概念，即糖尿病血糖控制要关注 GHb、FBG、餐后血糖和血糖波动四位一体，这对糖尿病血糖控制提出了更严格的要求。然而，由于受饮食及治疗依从性等多方面因素的影响，糖尿病患者常难以有效控制血糖波动。因此，积极防治血糖波动所致的胰岛功能损伤就成为防治糖尿病并发症、改善预后的重要措施之一。本研究采用高糖高脂饮食合并 ip STZ 的方法建立大鼠糖尿病模型，并通过错时给予胰岛素或葡萄糖建立更符合临床特征的糖尿病血糖波动模型。研究结果显示，糖尿病大鼠血糖波动 6 周后，大鼠胰岛细胞凋亡率明显增加，胰岛数量减少，体积缩小，INS 分泌能力明显下降，同时大鼠 FBG、GHb 水平明显升高，提示大鼠胰岛功能出现明显损伤，其机制可能与胰岛细胞凋亡增加有关，这一结果与文献报道相一致^[9]。给予丹酚酸 B 治疗 6 周后，糖尿病大鼠胰岛细胞凋亡率显著下降，胰岛数量增加，体积增大，同时胰岛素分泌功能明显改善，FBG 及 GHb 水平明显降低，提示丹酚酸 B 可明显减轻糖尿病血糖波动所致的大鼠胰岛损伤，改善胰岛功能，其机制可能与丹酚酸 B 抑制胰岛细胞凋亡有关。

氧化应激是机体或细胞内自由基的产生与清除失衡，导致活性氧和活性氮在体内或细胞内蓄积而引起氧化损伤。大量研究表明，高血糖尤其是波动性高血糖可损伤机体抗氧化系统，增加活性氧产生，诱导氧化应激状态^[10]。由于胰岛 β 细胞内抗氧化酶活性较低，故 β 细胞更易受到氧化损伤，并在活性氧诱导下发生凋亡，导致胰岛素分泌功能进一步障碍，这可能是糖尿病患者胰岛功能进行性减退的主要原因之一。本研究显示，糖尿病大鼠血糖波动持续 6 周后，大鼠血清及胰腺组织 SOD 活性和 TAC 均显著降低，而脂质过氧化产物 MDA 水平明显升高，这一结果与文献报道基本一致^[11]，提示糖尿病血糖波动诱导了氧化应激状态，产生了明显氧化损伤。给予丹酚酸 B 6 周后，大鼠血清及胰腺组织 TAC 明显升高，MDA 水平显著下降，这一结果与丹酚酸 B 抑制胰岛细胞凋亡、改善胰岛功能作用一致，提示丹酚酸 B 对糖尿病血糖波动模型大鼠胰岛保护作用与其提高抗氧化能力、抑制胰岛细胞凋亡有关。

PDX-1 是胰岛 β 细胞特异表达的转录因子，在胰腺发育分化、胰岛素基因表达和胰岛素释放中均

发挥重要作用,是维持胰岛 β 细胞正常形态和胰岛素分泌的必要条件^[12]。此外, PDX-1 还可促进胰岛 β 细胞增殖,抑制 β 细胞凋亡^[13],在胰岛 β 细胞新陈代谢中发挥重要调节作用。既往研究表明, PDX-1 表达减少是胰岛细胞凋亡增加的主要原因之一,而增加 PDX-1 表达则可通过上调抗凋亡基因 Bcl-2 和 Bcl-xL 表达抑制胰岛细胞凋亡^[14-15]。活性氧可明显抑制 PDX-1 表达,诱导胰岛 β 细胞凋亡,并可降低 PDX-1 与胰岛素基因启动子结合活性,从而导致胰岛素合成和释放减少^[16],这也是高血糖尤其是波动性高糖诱导胰岛功能损伤的机制之一。本研究结果显示,给予丹酚酸 B 可明显上调糖尿病大鼠胰腺组织 PDX-1 蛋白表达水平,这一结果与丹酚酸 B 减少胰岛细胞凋亡、改善胰岛功能作用相一致,提示丹酚酸 B 对糖尿病血糖波动模型大鼠胰岛细胞的保护作用与上调 PDX-1 表达、抑制胰岛细胞凋亡有关。

综上所述,丹酚酸 B 可明显减轻糖尿病血糖波动模型大鼠胰岛病理改变,改善胰岛功能,其机制可能与改善氧化应激、上调 PDX-1 蛋白表达,进而抑制胰岛细胞凋亡有关。

参考文献

- [1] 劳美玲, 郎江明, 魏爱生, 等. 血糖控制不佳的 2 型糖尿病患者动态血糖波动的观察 [J]. 中国糖尿病杂志, 2013, 21(3): 256-259.
- [2] Kim M, Chung H, Yoon C, *et al.* Increase of INS-1 cell apoptosis under glucose fluctuation and the involvement of FOXO-SIRT pathway [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2012, 98(1): 132-139.
- [3] Kohnert K D, Freyse E J, Salzsieder E. Glycaemic variability and pancreatic β -cell dysfunction [J]. *Curr Diabetes Rev*, 2012, 8(5): 345-354.
- [4] 吴继超, 王 彬, 田 振, 等. 丹酚酸 B 对异丙肾上腺素所致乳鼠心肌细胞肥大的保护作用 [J]. 中草药, 2013, 44(17): 2422-2426.
- [5] 赵桂峰, 范英昌, 郭茂娟. 丹酚酸 B 对 ApoE 基因敲除糖尿病小鼠动脉粥样硬化的防治作用 [J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(4): 858-859.
- [6] Raoufi S, Baluchnejadmojarad T, Roghani M, *et al.* Antidiabetic potential of salvianolic acid B in multiple low-dose streptozotocin-induced diabetes [J]. *Pharm Biol*, 2015, 53(12): 1803-1809.
- [7] 吴元洁, 吴元波, 郑书国, 等. 糖尿病大鼠血糖波动模型的建立 [J]. 南方医科大学学报, 2014, 34(6): 771-776.
- [8] Monnier L, Colette C, Owens D R. Integrating glycaemic variability in the glycaemic disorders of type 2 diabetes: a move towards a unified glucose tetrad concept [J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2009, 25(5): 393-402.
- [9] 公惠玲, 李卫平, 尹艳艳, 等. 黄精多糖对链脲佐菌素糖尿病大鼠降血糖作用及其机制探讨 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(9): 1149-1154.
- [10] Ge Q M, Dong Y, Zhang H M, *et al.* Effects of intermittent high glucose on oxidative stress in endothelial cells [J]. *Acta Diabetol*, 2010, 47(Suppl 1): 97-103.
- [11] 吴元洁, 郑书国, 方朝晖, 等. 糖尿病大鼠血糖波动下 SOD、MDA、NO 变化及丹蛭降糖胶囊的干预作用 [J]. 中成药, 2014, 36(7): 1361-1366.
- [12] Yang B T, Dayeh T A, Volkov P A, *et al.* Increased DNA methylation and decreased expression of PDX-1 in pancreatic islets from patients with type 2 diabetes [J]. *Mol Endocrinol*, 2012, 26(7): 1203-1212.
- [13] 武 革, 吴美芬, 郑坤杰, 等. 利拉鲁肽对 2 型糖尿病大鼠胰岛 β 细胞凋亡及 PDX-1 表达的影响 [J]. 基础医学与临床, 2015, 35(9): 1256-1258.
- [14] 张丰姣, 张珊珊, 李曾一, 等. PDX-1 蛋白对 TNF- α 和 IL-1 β 诱导的大鼠胰岛凋亡的保护作用 [J]. 中国实用神经疾病杂志, 2010, 13(9): 11-13.
- [15] Zhang Y, Zhen W, Maechler P, *et al.* Small molecule kaempferol modulates PDX-1 protein expression and subsequently promotes pancreatic β -cell survival and function via CREB [J]. *J Nutr Biochem*, 2013, 24(4): 638-646.
- [16] Lee J W, Kim W H, Jim J H, *et al.* Mitochondrial dysfunction: glucokinase downregulation lowers interaction of glucokinase with mitochondria, resulting in apoptosis of pancreatic beta-cells [J]. *Cell Signal*, 2009, 21(1): 69-78.