

黄秋葵提取物对 2 型糖尿病小鼠的降糖作用及与基因 TNF- α 和 IDE 的相关性研究

李莹^{1,3}, 李婧毓¹, 高铭彤¹, 曾露露¹, 徐蕾¹, 孟令全¹, 刘文丛^{1*}, 丁传波^{1,2}, 郑毅男^{1*}

1. 吉林农业大学中药材学院, 吉林 长春 130118

2. 珥春华瑞参业生物工程股份有限公司, 吉林 珥春 133300

3. 长春雷允上药业有限公司, 吉林 长春 130012

摘要: 目的 研究黄秋葵提取物对高脂饮食和链脲佐菌素 (STZ) 诱导的 2 型糖尿病小鼠的降糖作用及与肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 和胰岛素降解酶 (IDE) 的相关性。方法 采用高脂饲料喂养, 并 ip STZ 制备小鼠 2 型糖尿病模型, 随机分为对照组, 模型组, 二甲双胍组, 黄秋葵醇提物 (HQB) 高、中、低剂量组, 黄秋葵水提物 (WQB) 高、中、低剂量组, 均 ig 给药。给药 40 d 后进行空腹血糖、口服葡萄糖糖耐量 (OGTT) 测定、血清和肝组织中相关生化指标检测, 并对肝组织进行 HE 染色。通过荧光定量 PCR 探讨黄秋葵提取物降糖活性与 TNF- α 、IDE 基因表达的相关性。结果 HQB 高剂量组和 WQB 中剂量组显著降低小鼠空腹血糖, 并改善口服葡萄糖糖耐量, 有效抑制 2 型糖尿病小鼠血清中总胆固醇 (TC)、三酰甘油 (TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、天冬氨酸转氨酶 (AST)、丙氨酸转氨酶 (ALT) 和肝组织中 AST、ALT, 并抑制肝脏中 TNF- α 、IDE 的 mRNA 表达量, 明显提升血清中高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)。肝组织 HE 病理观察显示 HQB 高剂量组和 WQB 中剂量组对肝细胞有一定的保护作用。结论 HQB 和 WQB 通过降低 2 型糖尿病模型小鼠的 TC、TG、LDL-C, 同时升高 HDL-C 来改善小鼠的肥胖、高血脂症状, 对 2 型糖尿病引起的肝损伤有一定的保护作用, 并且降血糖与肝脏保护作用与 TNF- α 和 IDE 的基因表达量有一定的相关性。

关键词: 黄秋葵; 2 型糖尿病; 肝细胞; 口服葡萄糖糖耐量; 肿瘤坏死因子- α ; IDE; 血脂

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)15-3131-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.15.019

Hypoglycemic effect of okra extract on type 2 diabetic mice and correlation with TNF- α and IDE

LI Ying^{1,3}, LI Jing-yu¹, GAO Ming-tong¹, ZENG Lu-lu¹, XU Lei¹, MENG Ling-quan¹, LIU Wen-cong¹, DING Chuan-bo^{1,2}, ZHENG Yi-nan¹

1. College of Chinese Medicinal Materials, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China

2. Hunchun Huarui Ginseng Industry Bioengineering Co., Ltd., Hunchun 133300, China

3. Changchun Leiyunshang Pharmaceutical Co., Ltd., Changchun 130012, China

Abstract: Objective To analyze the hypoglycemic effect of okra (*Abelmoschus esculentus*) extract on the hyperlipidemia and streptozotocin (STZ)-induced type 2 diabetic mice and the correlation between TNF- α and IDE. **Methods** The diabetic mice were induced by high fat diet followed by a low dose of streptozotocin (STZ) and randomly divided into control group, diabetic model group, okra alcohol extract high, medium, and low dose (400, 200, and 100 mg/kg) groups, okra aqueous extract high, medium, and low dose (200, 100, and 50 mg/kg) groups. After the exposure to conventional or different treatment groups for 40 d, fasting blood sugar, glucose tolerance, related biochemical indexes in serum and liver tissue, and liver HE staining pathological sections were measured. **Results** The okra alcohol extract high dose group and okra aqueous extract middle dose group effectively reduced the mice fasting

收稿日期: 2017-03-09

基金项目: 吉林省自然科学基金项目 (20160101017JC); 吉林省科技发展计划项目, 重点科技攻关 (20170204023NY); 吉林省大学生创业资金项目 (20160521011HJ)

作者简介: 李莹, 硕士研究生, 主要研究方向为天然产物化学。Tel: 15143164791 E-mail: 77115260@qq.com

*通信作者 刘文丛, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为天然产物化学。Tel: 13804460499 E-mail: jwlw6803@126.com

郑毅男, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为天然产物化学。Tel: 15948721648 E-mail: zhengyinan@tom.com

blood glucose and improved oral glucose tolerance in mice, inhibited of type 2 diabetes mellitus rats serum TC, TG, LDL-C, ALT, AST, and mRNA expression of TNF- α and IDE in the rats liver. **Conclusion** The okra alcohol extract with high dose and the okra aqueous extract with middle dose could reduce TC, TG, LDL-C, while increase HDL-C to improve the mouse obesity, and hyperlipidemia symptoms. And hypoglycemic and liver protection and TNF- α and IDE gene expression levels have a certain correlation.

Key words: *Abelmoschus esculentus* Linn.; type 2 diabetic; live cells; OGTT; TNF- α ; IDE; serum lipid

随着人们生活水平不断提高、膳食结构及生活方式的改变,高脂肪、高能量的过度摄入,运动量减少而导致的营养型肥胖、心脑血管疾病、高血压、高血脂和 2 型糖尿病的发病率不断升高^[1]。市面上有效的降糖药,虽然降糖效果显著,但是长期服用有一定的副作用。因而,寻找一种有降糖作用且副作用较小、药食两用的保健植物,成为当前糖尿病研究的热点。黄秋葵 *Abelmoschus esculentus* Linn. 属于锦葵科 (Malvaceae) 秋葵属 *Abelmoschus* Medic 一年生草本植物,别名秋葵、羊角豆、补肾草等^[2-4]。其营养丰富部位为果实,且具有显著的保健作用,欧美国家将其列入 21 世纪最佳绿色食品名录之中^[3],其对糖尿病、脂质代谢紊乱有较好的治疗效果^[5-6],且有研究表明黄秋葵醇提取物 (HQK) 对顺铂诱导的小鼠急性肾损伤有一定的保护作用^[7]。所以摄入适量的黄秋葵提取物,可以起到一定的保健作用。本实验通过高脂饲料喂养 ICR 雄性小鼠,结合 ip 链脲佐菌素 (streptozotocin, STZ) 制备 2 型糖尿病模型,观察 HQK、黄秋葵水提物 (WQK) 对 2 型糖尿病小鼠空腹血糖变化、口服葡萄糖糖耐量 (OGTT) 以及血清和肝组织中相关生化指标的影响,为深入研究黄秋葵提取物在降低血糖过程中的作用,进而将其用于防治糖尿病并发症等方面提供参考。

1 材料

1.1 实验动物

SPF 级 ICR 雄性小鼠 120 只,体质量 18~22 g,长春市亿斯实验动物技术有限责任公司,合格证号 SCXK-(吉)-2010-0001。

1.2 药物与试剂

黄秋葵采购于江西萍乡 (7~10 月),经吉林农业大学中药材学院郑毅男教授鉴定为锦葵科秋葵属植物黄秋葵 *Abelmoschus esculentus* Linn.。

链脲佐菌素 (STZ),Sigma 公司,批号 S0130;二甲双胍,北京京丰制药有限公司,批号 150558;天冬氨酸转氨酶 (AST)、丙氨酸转氨酶 (ALT)、考马斯亮蓝试剂盒、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C),南京建

成生物工程研究所;血清总胆固醇 (TC)、三酰甘油 (TG) 检测试剂盒,浙江东瓯诊断产品有限公司;高纯总 RNA 快速提取试剂盒, BioTeke 公司; 2 $\times$ SYBR real-time PCR Premixture, BioTeke 公司; BioTeke super KT Kit, BioTeke 公司。

1.3 仪器

MK3 型酶标仪,美国 Thermo Electron 公司; Applied Biosystems® 实时荧光定量 PCR 仪,美国 ABI 公司; KQ-500E 型超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司; HC-2518 高速离心机,安徽中科中佳科学仪器有限公司; D3024R 台式高速冷冻型微量离心机,北京大龙建设集团有限公司。

2 方法

2.1 供试药液的制备

2.1.1 HQK 的制备 1 kg 黄秋葵嫩果,冷冻干燥,粉碎,20、15、10 倍量的 70%乙醇超声提取 3 次,每次 30 min,抽滤,合并滤液,减压浓缩,真空干燥机干燥得 HQK,提取率为 38.55%,总多糖量为 (28.15 $\pm$ 0.61) %。分别取 HQK 100、200、400 mg 定容到 10 mL 量瓶中,即得质量浓度为 10、20、40 mg/mL 的 HQK 溶液。

2.1.2 WQK 的制备 1 kg 黄秋葵嫩果,冷冻干燥,加入一定 pH 6 的酸水,滤过除去沉淀,取上层悬浊液,减压悬蒸浓缩,加无水乙醇调至醇体积分数为 80%,室温静置 12 h,离心弃去上清液,得沉淀,冷冻干燥,粉碎,得 WQK,提取率 32.46%,其中果胶量为 (7.38 $\pm$ 0.16) %,按“2.1.1”项方法配制质量浓度为 5、10、20 mg/mL 的 WQK 溶液。

2.1.3 阳性药二甲双胍的配制 取 250 mg 二甲双胍,粉碎,溶于 0.1%羧甲基纤维素钠溶液中,配制成质量浓度为 25 mg/mL 的溶液。

2.2 造模与给药

ICR 小鼠 120 只,适应性饲养 7 d 后,随机选取 10 只为对照组,喂正常饲料。其他 110 只,喂高脂饲料 30 d,于第 30 天晚间禁食不禁水,第 31 天随机抽取 30 只眼眶取血,离心取血清测得 TC 高于正常值 1.42 倍, TG 高于正常值 2.18 倍 ($P<0.01$)。ip 100

mg/kg STZ 枸橼酸缓冲液 (0.1 mol/L pH 4.4), 继续喂高脂饲料 10 d, 第 10 天晚间禁食不禁水, 于第 11 天尾部采血测定血糖值, 测空腹血糖 ≥ 11.1 mmol/L^[8] 为造模成功, 选取成模的 80 只小鼠, 随机分为 8 组, 分别为模型组, 二甲双胍组 (250 mg/kg), HQK 高、中、低剂量 (400、200、100 mg/kg) 组^[7]、WQK 高、中、低剂量 (200、100、50 mg/kg) 组 (剂量为 400 mg/kg 时相当于 WQK 的生药浓度为 40 mg/mL, 溶液较为黏稠, 不适合小鼠 ig 给药, 故降低给药剂量), 每组 10 只, 对照组和模型组每天 ig 生理盐水, 其他给药组分别 ig 相应药物, 共给药 40 d。

2.3 实验指标及测定方法

2.3.1 小鼠体质量和饮食、饮水量测量 每天记录小鼠生物利用率和体质量。

2.3.2 小鼠空腹血糖量及 OGTT 测定 给药第 1 天起, 每 10 天的晚间禁食不禁水, 第 2 天早上尾部采血测定空腹血糖值, 观察血糖变化, 第 40 天晚间禁食不禁水, 第 41 天尾部采血测定空腹血糖, ig 葡萄糖 2 g/kg 后分别测定 30、60、120 min 血糖, 计算血糖曲线下面积, 计算公式为曲线下面积 (mmol·h/L) = $1/2 (G_0 + G_{30}) \times 30 + 1/2 (G_{30} + G_{60}) \times 30 + 1/2 (G_{60} + G_{120}) \times 60$, G_i 分别为各时间点的血糖值^[9]。

2.3.3 小鼠血清及肝指标检测 血糖值测定后眼球取血, 脊椎处死, 取肝脏组织, 其中取一半肝大叶用 4% 甲醛固定, 切片处理, HE 染色法观察肝组织病理学变化, 另一半肝大叶迅速放入液氮冷冻后无菌 -80 °C 保存留做 qRT-PCR。全血室温静置 30 min 后, 3 500 r/min 离心 10 min 分离血清, 4 °C 下保存。按照试剂盒说明书分别测定血清 TC、TG、HDL-C、LDL-C、ALT、AST。取一定量的肝组织制备 10%

肝组织匀浆, 分别测定 ALT、AST。

2.3.4 小鼠肝脏中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、胰岛素降解酶 (IDE) mRNA 表达量测定 取 100 mg 肝脏组织, 保存于液氮内用研钵磨碎, 每 100 毫克组织加 1 mL 的裂解液, 根据高纯总 RNA 快速提取试剂盒说明书提取组织中 RNA, 取 1 μ g 总 RNA 配制逆转录反应体系, 逆转录合成 cDNA, 并以此为模板利用 Bio Teke super RT Kit 试剂盒进行扩增。PCR 反应中使用的引物序列如表 1 所示。反应体系总体积为 25 μ L, 实验重复 3 次。qRT-PCR 反应条件, 在 95 °C 进行预变性 30 s, 95 °C 变性 5 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 20 s, 40 个循环。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences	
基因	引物序列
IDE	5'-GTATTCACCCAGCCCTTTGA-3'
	5'-TCCCATACCAGACCTTCAGC-3'
TNF- α	5'-GTGGGTGAGGAGCACGTAGT-3'
	5'-ACGGCATGGATCTCAAAGAC-3'
β -actin	5'-TCACTGCCACCCAGAAGAC-3'
	5'-GAAGTCGCAGGAGACAACC-3'

2.4 统计学处理方法

采用 SPSS 17.0 统计学软件, 实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用方差分析, 采用 LSD 法进行两两比较。

3 结果与分析

3.1 黄秋葵提取物对 2 型糖尿病小鼠体质量的影响

造模成功后, 模型组与对照组比较, 小鼠体质量显著增加, 如表 2 所示。随着给药时间增加, 给药组小鼠体质量趋于稳定, 与对照组比较无显著性差异。

表 2 黄秋葵提取物对 2 型糖尿病模型小鼠体质量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 2 Effects of okra extract on body weight of type 2 diabetic mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	体质量/g				
		0 d	10 d	20 d	30 d	40 d
对照	—	31.20 $\pm$ 1.43	31.59 $\pm$ 1.51	34.10 $\pm$ 2.19	34.19 $\pm$ 1.52	34.40 $\pm$ 2.16
模型	—	34.27 $\pm$ 1.51 [#]	35.37 $\pm$ 3.02 [#]	37.92 $\pm$ 0.60 [#]	38.58 $\pm$ 2.09 ^{##}	37.72 $\pm$ 1.78 [#]
二甲双胍	250	34.33 $\pm$ 1.31	36.01 $\pm$ 3.61	36.63 $\pm$ 1.46	35.92 $\pm$ 1.55 [*]	35.70 $\pm$ 3.13 [*]
HQK	400	34.61 $\pm$ 1.68	35.81 $\pm$ 2.12	36.69 $\pm$ 2.00	35.93 $\pm$ 3.15 [*]	35.05 $\pm$ 3.27 [*]
	200	34.01 $\pm$ 2.09	36.11 $\pm$ 1.01	38.71 $\pm$ 2.16	37.18 $\pm$ 2.57	35.98 $\pm$ 3.94 [*]
	100	34.12 $\pm$ 1.99	34.98 $\pm$ 2.61	37.65 $\pm$ 3.00	36.95 $\pm$ 4.96	36.93 $\pm$ 3.23
WQK	200	34.33 $\pm$ 1.31	35.72 $\pm$ 1.71	35.16 $\pm$ 1.32 ^{**}	38.23 $\pm$ 1.09	37.48 $\pm$ 1.82
	100	33.96 $\pm$ 2.01	36.11 $\pm$ 2.01	37.20 $\pm$ 1.65	37.44 $\pm$ 1.97	35.09 $\pm$ 3.60 [*]
	50	34.25 $\pm$ 1.78	36.71 $\pm$ 3.95	35.14 $\pm$ 2.03 ^{**}	36.47 $\pm$ 2.62	36.75 $\pm$ 2.60

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

[#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group, same as below

3.2 黄秋葵提取物对 2 型糖尿病小鼠空腹血糖量的影响

如表 3 所示,造模成功后小鼠空腹血糖值明显升高,与对照组比较差异显著 ($P<0.01$)。给药治疗后,二甲双胍组, HQK 高剂量组, WQK 高、中

剂量组小鼠空腹血糖值均呈下降趋势。持续给药 40 d 后,与模型组相比,二甲双胍组、HQK 高剂量和 WQK 高、中剂量组空腹血糖值显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01),其他给药组小鼠空腹血糖值也有所降低,但无显著差异。

表 3 黄秋葵提取物对 2 型糖尿病小鼠空腹血糖量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 3 Effect of okra extract on fasting blood glucose in type 2 diabetic mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	空腹血糖值/(mmol·L ⁻¹)				
		0 d	10 d	20 d	30 d	40 d
对照	—	4.93±0.32	4.46±0.88	5.12±0.58	4.90±0.99	5.60±0.76
模型	—	14.54±3.16 ^{##}	16.21±5.14 ^{##}	15.45±3.94 ^{##}	15.54±3.97 ^{##}	16.13±2.95 ^{##}
二甲双胍	250	13.48±4.67	12.44±3.98 ^{**}	14.66±4.07	11.84±2.77 ^{**}	11.97±3.49 ^{**}
HQK	400	13.41±4.58	14.09±5.59	12.68±3.40 [*]	11.57±1.54 ^{**}	10.43±3.73 ^{**}
	200	14.65±5.03	12.36±1.82	14.91±4.84	14.77±5.53	13.88±4.67
	100	14.13±1.84	12.51±5.24	13.58±4.51	14.66±4.07	14.66±4.07
WQK	200	13.73±4.89	13.97±3.37	13.13±4.74	13.63±1.99	12.89±5.85 [*]
	100	13.47±5.72	13.41±3.17	12.67±1.62 [*]	11.79±2.88 ^{**}	10.81±1.97 ^{**}
	50	14.78±5.94	14.19±2.74	13.07±5.37	15.00±3.17	15.00±3.17

3.3 黄秋葵提取物对 2 型糖尿病小鼠 OGTT 的影响

如表 4 所示,各组小鼠在 ig 葡萄糖 30 min 后血糖值达到峰值,30~60 min 血糖值缓慢降低,60~120 min 血糖值快速降低,当 120 min 时二甲双胍给药组降到 11.35 mmol/L,与模型组比较差异显著 ($P<0.05$); HQK 高剂量组降到 8.86 mmol/L,与模型组有极显著性差异 ($P<0.01$); WQK 中剂量组血糖值为 11.76 mmol/L,与模型组比较差异显著 ($P<0.05$)。如图 1 所示, HQK 高剂量组与 WQK 中剂量组血糖曲线下面积 AUC 明显低于模型组,且差

异显著 ($P<0.05$)。结果表明, HQK 高剂量组与 WQK 中剂量组能明显改善 2 型糖尿病小鼠的葡萄糖耐受情况,并且可以快速降低餐后血糖,与二甲双胍给药组效果相当。

3.4 黄秋葵提取物对 2 型糖尿病小鼠血脂水平的影响

由表 5 可见,与对照组相比,模型组 TC、TG、LDL-C 水平明显升高, HDL-C 水平明显降低,差异显著 ($P<0.05$ 、 0.01),会引起小鼠体内代谢紊乱。 HQK 高剂量组和 WQK 中剂量组小鼠高血脂症状明显改善,且血清中 TC、TG 显著性降低 ($P<$

表 4 黄秋葵提取物对 2 型糖尿病小鼠 OGTT 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 4 Effect of okra extract on OGTT in type 2 diabetic model mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	血糖值/(mmol·L ⁻¹)			
		空腹	30 min	60 min	120 min
对照	—	5.60±0.76	10.66±1.56	8.37±0.65	5.37±0.43
模型	—	16.13±2.95 ^{##}	21.94±3.54 ^{##}	20.72±2.77 ^{##}	17.45±2.46 ^{##}
二甲双胍	250	11.97±3.49 [*]	16.28±1.58 ^{**}	14.33±2.01 ^{**}	11.35±2.30 ^{**}
HQK	400	10.43±3.73 ^{**}	14.56±3.59 ^{**}	12.87±1.23 ^{**}	8.86±1.32 ^{**}
	200	13.88±4.67	18.05±1.89 [*]	15.36±2.96 ^{**}	13.01±5.88 [*]
	100	14.66±4.07	19.19±3.03	16.47±3.00 [*]	15.51±4.19
WQK	200	12.89±5.85	17.70±2.08 [*]	15.34±2.48 ^{**}	14.04±2.77 [*]
	100	10.81±1.97 ^{**}	17.02±2.20 [*]	14.31±2.69 ^{**}	11.76±3.29 ^{**}
	50	15.00±3.17	17.82±3.36 [*]	16.22±2.83 [*]	15.05±2.92

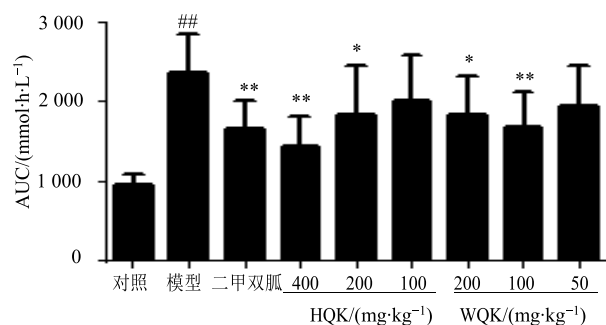


图 1 黄秋葵提取物对 2 型糖尿病模型小鼠血糖曲线下面积的影响

Fig. 1 Effect of okra extract on AUC in type 2 diabetic model mice

表 5 黄秋葵提取物对 2 型糖尿病小鼠血脂水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 5 Effect of okra extract on blood lipid level in type 2 diabetic mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	血脂水平/(mmol·L ⁻¹)			
		TC	TG	HDL-C	LDL-C
对照	—	2.72 ± 0.37	1.02 ± 1.47	3.42 ± 0.42	0.69 ± 0.48
模型	—	4.93 ± 0.48 ^{##}	2.60 ± 1.37 [#]	2.33 ± 0.81 ^{##}	1.19 ± 0.48 ^{##}
二甲双胍	250	4.62 ± 0.57	1.22 ± 2.13 [*]	3.00 ± 0.50 [*]	0.90 ± 0.11 [*]
HQK	400	3.30 ± 0.51 ^{**}	1.17 ± 1.67 [*]	3.33 ± 0.80 ^{**}	0.84 ± 0.09 ^{**}
	200	3.32 ± 0.36 ^{**}	1.10 ± 1.58 [*]	2.93 ± 0.62 [*]	0.89 ± 0.21 [*]
	100	4.63 ± 0.51	1.09 ± 0.85 [*]	2.65 ± 0.23	1.11 ± 0.28
WQK	200	3.47 ± 0.35 [*]	1.54 ± 1.44	2.77 ± 0.49	1.04 ± 0.17
	100	3.24 ± 0.47 ^{**}	1.22 ± 1.04 [*]	3.12 ± 0.71 ^{**}	0.85 ± 0.10 ^{**}
	50	4.71 ± 0.59	1.70 ± 1.38	2.46 ± 0.39	0.79 ± 0.14 ^{**}

表 6 黄秋葵提取物对 2 型糖尿病模型小鼠 AST、ALT 水平影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 6 Effect of okra extract on AST and ALT in type 2 diabetic mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	AST/(U·g ⁻¹)		ALT/(U·L ⁻¹)	
		血清	肝	血清	肝
对照	—	40.11 ± 3.84	38.77 ± 7.57	58.10 ± 5.51	36.87 ± 1.42
模型	—	48.24 ± 8.02 ^{##}	49.93 ± 5.12 ^{##}	84.21 ± 3.36 ^{##}	56.81 ± 6.93 ^{##}
二甲双胍	250	42.97 ± 2.43	40.04 ± 6.50 ^{**}	70.78 ± 9.87 ^{**}	40.13 ± 2.87 ^{**}
HQK	400	41.69 ± 1.74 [*]	40.27 ± 5.49 ^{**}	62.24 ± 9.49 ^{**}	38.62 ± 1.63 ^{**}
	200	42.10 ± 1.82 [*]	45.47 ± 5.69	63.36 ± 8.09 ^{**}	45.84 ± 3.49 ^{**}
	100	44.14 ± 14.35	45.86 ± 3.41	67.89 ± 11.22 ^{**}	47.06 ± 3.64 ^{**}
WQK	200	42.37 ± 3.06 [*]	46.85 ± 4.46	64.49 ± 6.79 ^{**}	49.28 ± 2.73 ^{**}
	100	41.46 ± 3.47 [*]	44.34 ± 9.42 [*]	62.94 ± 8.29 ^{**}	45.59 ± 2.00 ^{**}
	50	44.19 ± 4.97	47.98 ± 4.60	73.52 ± 6.30 [*]	54.17 ± 7.29

3.6 肝脏组织形态学变化

对照组小鼠的肝脏呈鲜红色，表面光滑。模型组的小鼠肝脏呈灰红色，表面有蜂窝状密集小点。二甲双胍给药组及黄秋葵提取物各给药组小鼠的肝脏组织呈暗红色，表面有些许小点。由图 2 可见，对照组内肝索肝窦未见异常，汇管区 3 种管腔结构

清楚可见，肝细胞未见变性、坏死及凋亡；模型组肝细胞排列紊乱，胞质疏松，炎性细胞浸润明显。与模型组对比，二甲双胍组、HQK 高剂量组、WQK 中剂量组的小鼠肝细胞排列相对整齐，胞质疏松有所改善，炎性细胞浸润不明显，说明二甲双胍、HQK 高剂量及 WQK 中剂量对肝脏组织有一定的保护作用。

3.5 黄秋葵提取物对 2 型糖尿病小鼠血清和肝组织中 ALT、AST 水平的影响

与模型组比较，二甲双胍及 HQK 高剂量、WQK 中剂量能够明显降低 2 型糖尿病引起的 ALT、AST 水平升高 ($P < 0.01$)，如表 6 所示。结果表明，HQK 高剂量、WQK 中剂量对 2 型糖尿病引起的肝损伤有一定的保护作用。

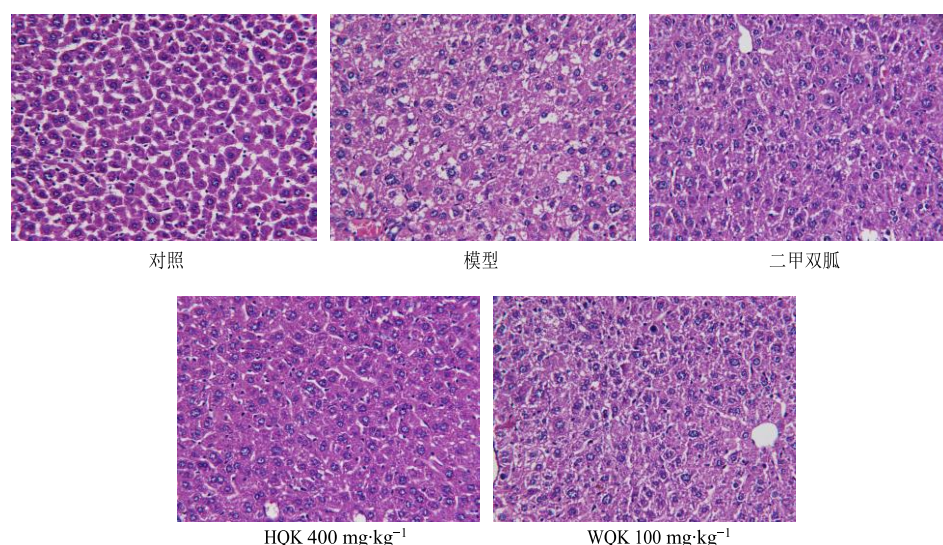


图 2 各组小鼠肝脏组织形态学变化 (HE × 400)

Fig. 2 Morphological changes of liver tissue of mice in each group (HE × 400)

3.7 黄秋葵提取物对肝脏中 TNF- α 、IDE mRNA 表达量的影响

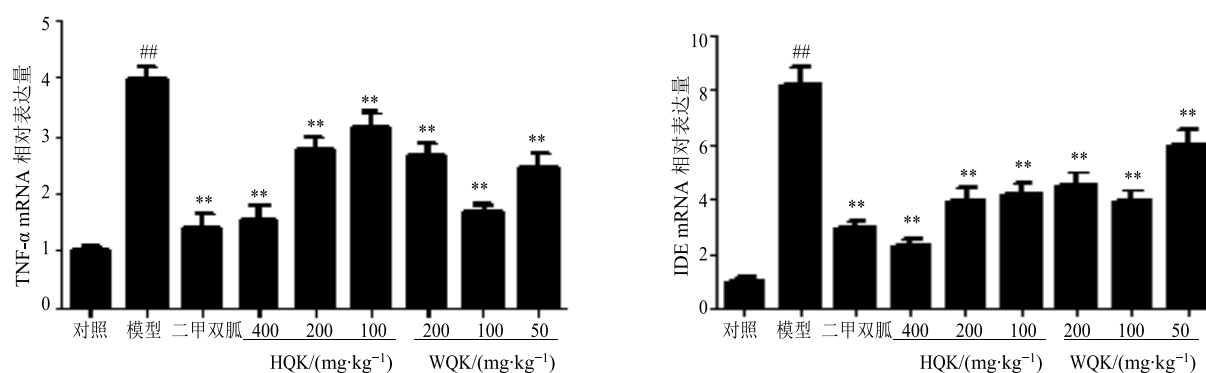
HQK、WQK 各剂量组小鼠肝脏中 TNF- α 、IDE 基因的表达量与模型组相比显著降低 ($P < 0.01$)。HQK 高剂量和 WQK 中剂量组 TNF- α 、IDE 基因表达量与二甲双胍组相当,尤其是 HQK 高剂量组 IDE 基因的表达量低于二甲双胍组。结果 (图 3) 说明黄秋葵提取物对 2 型糖尿病小鼠降糖作用与 TNF- α 、IDE 基因表达水平相关。

4 讨论

2 型糖尿病是一种常见的内分泌系统紊乱疾病,是由于胰岛素抵抗及胰岛 β 细胞功能受损而造成糖、脂、蛋白质代谢紊乱。糖尿病相当于中医的消渴症,常由高糖高脂的饮食、劳累过度所诱发,气阴两亏、燥热内盛为主要病机^[10]。本研究采用高

糖高脂饮食并 ip 100 mg/kg STZ 制备 2 型糖尿病小鼠模型,再分别给予不同剂量的 HQK 和 WQK 进行治疗,并对比阳性药物二甲双胍的治疗效果。实验结果表明,与模型组比较, HQK 高剂量和 WQK 高、中剂量对 2 型糖尿病小鼠口服葡萄糖耐受量有所改善,显著降低了小鼠血液中 TC、TG 和 LDL-C 水平,并升高了 HDL-C 水平 ($P < 0.01$),但是由于 WQK 高剂量的果胶量较高,不便于小鼠吞咽,因此该剂量不适宜给药。HQK 和 WQK 均有改善模型小鼠的肥胖、血脂紊乱,可能通过调节血脂对控制血糖起到一定作用,具体作用机制有待继续研究。

糖尿病是多种肝脏疾病的风险因素,其引发肝损伤,致使血糖调节能力紊乱,导致高血糖症状,并且肝细胞中 ALT、AST 因肝脏受损而释放入血液中,导致血清内 ALT、AST 显著升高,所以糖尿病

图 3 黄秋葵提取物对 2 型糖尿病小鼠肝脏 TNF- α 、IDE mRNA 表达量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Fig. 3 Effect of okra extract on expression of TNF- α and IDE mRNA in liver of type 2 diabetic mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

患者的血清及肝脏中 ALT、AST 水平均高于正常人群^[1]，本实验结果表明，与模型组比较，HQK 高剂量和 WQK 中剂量均显著降低小鼠血清及肝脏中 ALT 和 AST 水平 ($P < 0.01$)，并且通过 HE 染色肝脏病理切片观察，HQK 高剂量和 WQK 中剂量组肝细胞排列相对整齐，胞质疏松有所改善，炎性细胞浸润不明显，表明黄秋葵提取物对 2 型糖尿病模型小鼠肝脏损伤有保护作用。孙蓓等^[12]研究表明，TNF- α 基因表达量增加是肥胖引起 2 型糖尿病的重要因素，可引起高血糖、高血脂和高胰岛素血症的发生。王娟^[13]研究表明 IDE 是一种胰岛素降解酶，其表达量变化会使胰岛素的生物学作用产生异常，导致糖代谢紊乱。qRT-PCR 实验结果表明，与对照组比较，模型组 TNF- α 、IDE 的 mRNA 表达量明显增加，而二甲双胍组、HQK、WQK 组 mRNA 表达量与模型组相比均明显降低，因此，说明 TNF- α 、IDE 的表达水平与黄秋葵提取物对小鼠 2 型糖尿病的治疗效果密切相关。

综上所述，HQK 和 WQK 通过降低 2 型糖尿病模型小鼠血液中的 TC、TG、LDL-C 水平，同时升高 HDL-C 水平来改善小鼠的肥胖、高血脂症状，对 2 型糖尿病模型小鼠起到有效治疗作用；通过对给药组小鼠血清及肝组织 ALT、AST 水平的有效降低，对 2 型糖尿病引起的小鼠肝损伤有一定的保护作用，并且降糖及肝脏保护作用与 TNF- α 和 IDE 基因表达量有一定的相关性。

参考文献

- [1] 卜艳龙, 李广琦, 史琳涛, 等. 2 型糖尿病肥胖患者焦虑状态的观察 [J]. 中国糖尿病杂志, 2013, 21(12): 1115-1118.
- [2] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1984.
- [3] 单承莺, 马世宏, 张卫明. 保健蔬菜黄秋葵的应用价值与前景 [J]. 中国野生植物资源, 2012, 31(2): 68-71.
- [4] Liu J K, Hu L, Dong Z J, *et al.* DPPH radical scavenging activity of ten natural p-terphenyl derivatives obtained from three edible mushrooms indigenous to China [J]. *Chem Biodiversi*, 2004, 1(4): 601-605.
- [5] 张灵敏, 王 玲, 贾 奥, 等. 黄秋葵水提物对 2 型糖尿病大鼠糖脂代谢的影响 [J]. 食品工业科技, 2016, 37(3): 355-363.
- [6] Fan S J, Zhang Y, Sun Q H, *et al.* Extract of okra lowers blood glucose and serum lipids in high-fat diet-induced obese C57BL/6 mice [J]. *J Nut Biochem*, 2014(25): 702-709.
- [7] 李 莹, 高铭彤, 李婧毓, 等. 黄秋葵醇提物对顺铂致急性肾损伤的保护作用 [J]. 中国兽药杂志, 2016, 50(7): 52-56.
- [8] 邢冬杰, 李广元, 孙永庆, 等. 桑枝总黄酮提取物对 2 型糖尿病大鼠的作用研究 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2010, 12(7): 57-58.
- [9] 庞 芳. 黄芪改善 2 型糖尿病胰岛素抵抗和胰岛素分泌功能的临床研究 [J]. 中国医药导刊, 2013, 15(8): 1420-1421.
- [10] 谷 豪, 夏毅伟, 王 飞, 等. 桃胶多糖、抗性淀粉、低聚果糖对糖耐量受损大鼠血糖的影响比较研究 [J]. 热带医学, 2013, 13(3): 288-290.
- [11] Forlani G, Di B P, Mannucci E, *et al.* Prevalence of elevated liver enzymes in type 2 diabetes mellitus and its association with the metabolic syndrome [J]. *J End Inv*, 2008, 31(2): 146-152.
- [12] 孙 蓓, 王宝利, 梁冬春, 等. TNF- α 与 2 型糖尿病胰岛素抵抗的关系 [J]. 天津医科大学学报, 2006, 12(3): 424-426.
- [13] 王 娟. KCNQ1 基因和 IDE 基因与中国汉族人 2 型糖尿病的关系 [D]. 天津: 天津医科大学, 2012.