

苦瓜总皂苷对 2 型糖尿病模型
大鼠胰岛素抵抗、脂联素和瘦素的影响

刘永生¹, 李晓坤^{2*}, 王金菊³

(1. 河南省中医院体检中心, 郑州 450002; 2. 河南中医学院药学院, 郑州 450008;
3. 河南省郑州市第二人民医院药剂科, 郑州 450000)

[摘要] 目的: 方法: 探讨苦瓜总皂苷对 2 型糖尿病模型大鼠血糖、胰岛素抵抗、脂联素和瘦素的影响。方法: 采用高糖高脂加小剂量注射链脲佐菌素(streptozotocin, STZ) 造 2 型糖尿病大鼠模型, 通过测定各组血浆血糖、胰岛素、脂联素和瘦素水平, 并且计算胰岛素敏感指数, 来观察苦瓜总皂苷对 2 型糖尿病模型的影响。结果: 各用药组可显著降低模型大鼠血浆血糖和胰岛素水平($P < 0.01$), 显著升高胰岛素敏感指数($P < 0.01$), 可升高血浆脂联素水平, 降低血浆瘦素水平。结论: 苦瓜总皂苷可改善胰岛素抵抗, 有降糖的特点。

[关键词] 糖尿病; 血糖; 胰岛素敏感指数; 脂联素; 瘦素

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010) 09-0177-03

Effects of Total Saponins from Balsam Pear on Insulin Resistance,
Adiponectin and Leptin in Rat Model of Type 2 Diabetes

LIU Yong-sheng¹, LI Xiao-kun^{2*}, WANG Jin-ju³

(1. Henan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450002, China; 2. Henan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China; 3. Department of Pharmacy, the Second People 's Hospital of Zhengzhou City, Zhengzhou 450000, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effect of total saponins from balsam pear(TSBP) on insulin resistance, adiponectin, leptin in rat model of type 2 diabetes. **Method:** The mice model of type 2 diabetes was established by eating food containing high sugar and fat and injected a samll dosage of streptozotocin (STZ) . The levels of FBG, FINS, adiponectin and leptin in blood plasma were measured, and ISI was calculated. Finally, the effect of TSBP in rat model of type 2 diabetes was evaluated. **Result:** Compared with control group, TSBP groups and di-formin tablet group could significantly decrease the level of FBG and FINS ($P < 0.01$) , and significantly rise ISI. TSBP groups could elevate the level of adiponectin, and decrease the level of leptin. **Conclusion:** TSBP can improve insulin resistance and has hypoglycemic action.

[Key words] diabetes mellitus; blood glucose; insulin sensitivity index; adiponectin; leptin

2 型糖尿病, 又称非胰岛素依赖型糖尿病(Non-insulin-dependent diabetes mellitus, NIDDM) , 是因胰岛素分泌相对不足或靶细胞对胰岛素敏感性降低, 引起的以高血糖为主要标志的代谢性紊乱疾病, 属

于中医消渴范畴^[1]。苦瓜为葫芦科植物苦瓜的果实, 其性寒, 味苦, 具有利尿凉血的作用。现代药理研究表明苦瓜具有降血糖、抗肿瘤、抗菌、抗病毒等作用^[2]。但对苦瓜的活性部位药理研究缺少实验资料, 本研究观察了苦瓜总皂苷 total saponins from balsam pear(TSBP) 对 2 型糖尿病模型大鼠血糖、胰岛素、脂联素和瘦素的影响。

1 材料

1.1 动物 Wistar 大鼠, 雄性, 清洁级, 体重 180 ~

[收稿日期] 20100318(008)
[第一作者] 刘永生, 主管药师, 从事临床药学研究, Tel: 0371-60908837, E-mail: liuysh120@ 163. com
[通讯作者] * 李晓坤, Tel: 0371-65676656, E-mail: li96052122@ 126. com

200 g, 合格证号豫医动字 050926, 由河南省医学实验动物中心提供。

大鼠基础颗粒饲料高糖高脂饲料的组成: 基础料 66.5%、蔗糖 20%、猪油 10%、胆固醇 2.5%、胆酸钠 1%, 将这些成分加适量水拌匀揉团做成条状, 然后放在恒温鼓风干燥箱内(80 ~85) 干烤 3 ~4 h。

1.2 药品与试剂 苦瓜总皂苷: 将鲜苦瓜粉碎, 以 70% 乙醇回馏提取 3 次, 滤过, 合并滤液回收乙醇, 浓缩, 以石油醚反复萃取脱脂, 水层以水饱和正丁醇反复萃取, 减压蒸干正丁醇, 得苦瓜总皂苷, 得率为 1.5%, 含量 > 50%, 由本院制剂室提供。盐酸二甲双胍片, 广州白云山天心制药股份有限公司, 批号 040602; 链脲佐菌素(streptozotocin, STZ) 为美国 Sigma 公司产品; 血糖(FBG) 试剂盒, 南京建成生物制剂公司, 批号 0501121; 胰岛素(FINS) 放免分析药盒, 中国人民解放军总医院科技开发中心放免研究所, 批号 051126; 瘦素放免药盒, 中国人民解放军总医院科技开发中心放免研究所, 批号 051126; 脂联素酶免试剂盒, Phoenix-Pharmaceuticals 公司。

1.3 仪器 FA(N) / JA(N) 系列电子天平, 上海民桥精密仪器有限公司; TGL-168 高速台式离心机, 上海安亭科学仪器厂; Sn-895B 型智能放免 γ 测量仪, 上海原子核研究所四环仪器一厂; UV-260 分光光度计, 日本岛津; 680 型酶标仪, 美国 BIO-RAD。

2 方法

2.1 造模^[3]、给药与取材 取大鼠 100 只, 喂高糖高脂饲料, 对照组饲喂基础颗粒饲料。高糖高脂饲料喂养 4 周后, ip STZ(临用前溶解在 pH 4.0 的 0.1 mmol · L⁻¹ 柠檬酸缓冲液内, 25 mg · kg⁻¹), 正常对照组 ip 等量柠檬酸缓冲液。1 次/d, 连续 2 d。注射药物 72 h 后, 尾部取血测定大鼠空腹血糖(测试前禁食不禁水 12 h) 即注射后血糖, 以血糖含量 > 11.1 mmol · L⁻¹ 为 2 型糖尿病大鼠模型判定标准, 随机选取 60 只糖尿病大鼠为模型。按血糖值随机均分为 5 组, 分别 ig 高、中、低剂量苦瓜总皂苷水溶液(400, 200, 100 mg · kg⁻¹, 10 mL · kg⁻¹), 二甲双胍片水溶液 250 mg · kg⁻¹(25 g · L⁻¹, 10 mL · kg⁻¹), 模型组与空白对照组给予同体积生理盐水, 1 次/d, 连续给药 30 d, 于第 30 天给药后 2 h(禁食不禁水后 12 h), 眼球取血, 离心, 取上清, 置冰箱冷藏保存, 待测。

2.2 观测指标

2.2.1 血清血糖和胰岛素测定 取适量血清分别

严格按照试剂盒说明书测定空腹血糖和胰岛素水平, 血糖测定采用葡萄糖氧化酶法, 胰岛素测定采用放射免疫法, 并且计算胰岛素敏感指数。胰岛素敏感指数(ISI) 参照李光伟^[4] 等方法, 为空腹血糖与胰岛素乘积的倒数, 因其呈非正态分布, 故分析时取其自然对数。

2.2.2 血清脂联素和瘦素的测定 取适量血清分别严格按试剂盒说明书测定空腹瘦素、脂联素, 瘦素测定采用放射免疫法, 脂联素测定采用酶联免疫法。

2.2.3 数据用 SPSS13.0 统计软件, 采用单因素方差结合 SNK-*q* 检验进行统计分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, *P* < 0.05 认为有统计学差异。

3 结果

3.1 苦瓜总皂苷对 2 型糖尿病大鼠空腹血糖的影响 表 1 结果显示: 模型组血糖水平显著高于空白组(*P* < 0.01), 说明高糖高脂加小剂量链脲佐菌素造糖尿病大鼠模型成功。苦瓜总皂苷 0.4, 0.2, 0.1 g · kg⁻¹ 组和二甲双胍组可显著降低第 30 d 大鼠血糖值(*P* < 0.01), 且呈一定的量效关系。苦瓜总皂苷 0.4, 0.2, 0.1 g · kg⁻¹ 组和二甲双胍组 30 d 血糖比开始血糖显著降低(*P* < 0.01)。

3.2 苦瓜总皂苷对 2 型糖尿病大鼠血浆 FINS 水平和 ISI 的影响 表 2 结果显示: 与空白组比, 模型组可显著升高血浆 FINS 水平和显著降低 ISI(*P* < 0.01), 说明高造 2 型糖尿病大鼠模型成功。与模型组相比, 二甲双胍组和苦瓜总皂苷 0.4, 0.2 g · kg⁻¹ 组可显著降低血浆 FINS 水平(*P* < 0.01) 和明显升高 ISI(*P* < 0.05); 苦瓜总皂苷 0.1 g · kg⁻¹ 组 FINS 水平显著升高(*P* < 0.01)。

表 1 苦瓜总皂苷对 2 型糖尿病大鼠空腹血糖的影响($\bar{x} \pm s$, *n* = 10) mmol · L⁻¹

组别	剂量 / g · kg ⁻¹	开始血糖	第 30 天
空白	-	5.45 ±1.47 ¹⁾	6.35 ±0.43 ¹⁾
模型	-	17.16 ±2.72	21.34 ±3.18 ²⁾
二甲双胍	0.25	16.44 ±3.23	12.15 ±2.43 ^{1, 2)}
苦瓜总皂苷	0.4	15.38 ±4.51	12.24 ±2.85 ^{1, 2)}
	0.2	14.72 ±2.59	13.44 ±2.33 ^{1, 2)}
	0.1	16.84 ±3.16	14.66 ±2.47 ^{1, 2)}

注: 与模型组比较¹⁾ *P* < 0.01; 与开始血糖比较²⁾ *P* < 0.01。

3.3 苦瓜总皂苷对 2 型糖尿病大鼠血浆脂联素和瘦素水平的影响 表 3 结果显示: 与空白组比, 模型组血浆脂联素水平显著降低(*P* < 0.01), 瘦素水平显著升高(*P* < 0.01)。与模型组相比, 二甲双胍组和苦瓜总皂苷 3 个剂量组可显著升高模型大鼠脂联素水平(*P* < 0.01 或 *P* < 0.05), 显著降低瘦素水平

表 2 苦瓜总皂苷对 2 型糖尿病大鼠血浆 FINS 水平和 ISI 的影响(柳±s, n = 10)

组别	剂量 /g· kg ⁻¹	FINS / μU· L ⁻¹	ISI
空白	-	12. 86 ±2. 64 ²⁾	- 4. 40 ±0. 12 ²⁾
模型	-	20. 52 ±5. 26	- 6. 08 ±2. 82
二甲双胍	0. 25	15. 15 ±3. 48 ²⁾	- 5. 22 ±2. 13 ¹⁾
苦瓜总皂苷	0. 4	16. 41 ±5. 21 ²⁾	- 5. 30 ±2. 70 ¹⁾
	0. 2	16. 56 ±6. 24 ²⁾	- 5. 40 ±2. 68 ¹⁾
	0. 1	17. 86 ±3. 54 ²⁾	- 5. 57 ±2. 17

注: 与模型组比较¹⁾ P < 0. 05, ²⁾ P < 0. 01(下同); “-”表示胰岛素敏感指数降低。

表 3 苦瓜总皂苷对 2 型糖尿病大鼠血浆脂联素和瘦素水平的影响(柳±s, n = 10)

组别	剂量 /g· kg ⁻¹	脂联素 /mg· L ⁻¹	瘦素 /mg· L ⁻¹
空白	-	5. 26 ±1. 23 ²⁾	3. 21 ±0. 86 ²⁾
模型	-	2. 56 ±0. 67	5. 34 ±0. 97
二甲双胍	0. 25	4. 56 ±1. 48 ²⁾	3. 80 ±0. 93 ²⁾
苦瓜总皂苷	0. 4	4. 41 ±0. 94 ²⁾	4. 26 ±1. 14 ¹⁾
	0. 2	3. 26 ±1. 24 ¹⁾	4. 32 ±0. 53 ¹⁾
	0. 1	3. 15 ±1. 12 ¹⁾	4. 51 ±1. 20 ¹⁾

(P < 0. 01, P < 0. 05) 。

4 讨论

本实验采用高糖高脂饮食造成外周组织对胰岛素不敏感, 给予小剂量注射 STZ 破坏一部分胰岛 β 细胞功能, 两者结合诱导出接近临床 NIDDM 的动物模型, 此模型已被界内认可^[5], 且本试验出现高血糖血症、高胰岛素血症、胰岛素抵抗等变化与文献报道一致, 说明 2 型糖尿病动物模型建立成功。

临床研究发现糖尿病早期症状是胰岛素抵抗(insulin resistance, IR), IR 与 β 细胞功能缺陷本身又有着直接、间接的复杂联系。IR 指机体对一定量的胰岛素的生物学效应低于预计正常水平的现象, 表现为胰岛素的敏感性和反应性降低。李氏胰岛素敏感性指数与国际胰岛素钳夹技术有高度相关性, 相关系数达到 0. 9, 避免了操作繁杂, 费用昂贵^[6]。本实验中 30 d 模型组 FBG 和 FINS 显著高于空白组, 并且 ISI 也有明显低于正常组, 出现胰岛素抵抗。各给药组均显著降低模型大鼠的血糖和胰岛素水平, 并且 ISI 明显升高。苦瓜总皂苷组以大剂量组治疗效果最好。脂联素和瘦素是一种具有多种生物活性的细胞因子, 与 IR 密切相关。大量文献证实: 瘦素缺乏可导致 IR; 瘦素与肥胖密切相关; 肥胖产生 IR, 因此可以推测体内存在“脂肪-瘦素-胰岛素”轴, 瘦素在脂肪细胞和胰岛素之间起负反馈的信号传递

作用^[7]。研究发现 2 型糖尿病模型存在瘦素水平升高, 抵抗严重。模型组瘦素水平显著高于空白组, 二甲双胍组可显著降低瘦素水平, 高中低剂量苦瓜总皂苷可明显降低模型大鼠瘦素水平。脂联素具有调节骨骼肌胰岛素受体的酪氨酸磷酸化作用, 因而有提高胰岛素敏感性作用^[8]。有研究表明^[9] 在动物实验中证实补充外源性脂联素可使胰岛素抵抗和 B 细胞脱颗粒现象减轻, 糖尿病症状改善。本研究模型组脂联素显著低于空白组, 二甲双胍组和大剂量苦瓜总皂苷可显著升高脂联素水平, 中小剂量苦瓜总皂苷组可明显升高脂联素水平。

本研究通过苦瓜总皂苷对 2 型糖尿病大鼠模型的研究提示, 苦瓜总皂苷可改善胰岛素抵抗, 具有降糖的特点。为深入研究丰富的苦瓜资源提供了平台, 对进一步开发中药资源具有重要意义。

[参考文献]

[1] 赵保胜, 董淑云, 霍海如, 等. 2 型糖尿病动物模型的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2005, 11(5): 62.

[2] 陆建锋, 宋新波, 马百平. 苦瓜的现代研究概况[J]. 中国中医药杂志, 2008, 6(5): 20.

[3] 张芳林, 李果, 刘优萍, 等. 2 型糖尿病大鼠模型的建立及其糖代谢特征分析[J]. 中国实验动物学报, 2002, 10(1): 18.

[4] 李光伟, Bennett P H. 关于空腹血糖、空腹胰岛素乘积的倒数在流行病学研究中应用的补充说明[J]. 中华糖尿病杂志, 2005, 13(4): 247.

[5] 冷萍, 杨淑萍, 时萍, 等. 扶正化痰活血方对 2 型糖尿病模型大鼠胰岛素抵抗的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(8): 39.

[6] 郝玉美, 刘洪琪. 苦瓜、黄芪、黄芩苷对 2 型糖尿病模型大鼠胰岛素抵抗的影响[J]. 中药药理与临床 2007, 23(5): 145.

[7] McNeely M J, Chessler S D, Boyko E J, et al. Association between baseline plasma leptin level and subsequent development of diabetes in Japanese Americans [J]. Diabetes Care, 1999, 22: 65.

[8] Kumada M, Kihara S, Sumitsuji S, et al. Association of hypoadiponectinemia with coronary artery disease in men [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2003, 23: 85.

[9] 王学雷, 王彦, 杨静. 罗格列酮对 2 型糖尿病患者脂联素和瘦素的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2009, 7(3): 363

[责任编辑 聂淑琴]