· 实验研究 ·

人参皂苷 Rg1 对 2 型糖尿病大鼠肝损伤保护作用

李鑫

摘　要：目的　探讨人参皂苷 Rg1 对 2 型糖尿病大鼠肝脏损伤的保护作用及其机制。**方法**　采用高脂饮食和链脲佐菌素结合的方法建立大鼠 2 型糖尿病模型，实验设对照组、模型组、人参皂苷 Rg1（2、4、8 mg/kg）组；血糖仪测定大鼠血糖水平，分光光度法测定大鼠血清谷丙转氨酶（ALT）、谷草转氨酶（AST），超氧化物歧化酶（SOD）、丙二醛含量；苏木素伊红染色观察肝组织形态学变化；酶联免疫吸附法测定血清中肿瘤坏死因子（TNF-α）、白细胞介素 -6（IL-6）水平。**结果**　与对照组比较，模型组大鼠血清中 ALT、AST［分别为（123 ± 10.7）、（138 ± 13.8）U/L］、TNF-α、IL-6［分别为（54 ± 2.8）、（168 ± 12.5）pg/mL］和丙二醛［（24.8 ± 2.5）nmol/mgprot］含量均增加，SOD［（65 ± 7.9）U/mgprot］活力降低；与模型组比较，8 mg/kg 人参皂苷 Rg1 组大鼠血清中 ALT、AST［分别为（58 ± 8.0）、（65 ± 8.9）U/L］、TNF-α、IL-6［分别为（34 ± 4.1）、（83 ± 10.4）pg/mL］和丙二醛［（13.8 ± 1.9）nmol/mgprot］含量均降低，SOD［（105 ± 9.7）U/mgprot］活力增加。**结论**　人参皂苷 Rg1 对 2 型糖尿病大鼠肝损伤具有一定保护作用，其机制可能与其抗炎抗氧化作用有关。

关键词：糖尿病；肝损伤；人参皂苷 Rg1

中图分类号：R 587.1　**文献标志码：**A　**文章编号：**1001-0580(2015)05-0612-03　DOI：10.11847/zgggws2015-31-05-21

Protective effect of ginsenoside Rg1 on liver injury in rats with type 2 diabetes

LI Xin（*The First Affiliated Hospital of Liaoning Medical College*, *Jinzhou*, *Liaoning Province* 121000, China）

Abstract: Objective　To study the protective effect of ginsenoside Rg1 on liver injury induced by type 2 diabetes in rats and to explore its possible mechanism. **Methods**　Rat type 2 diabetes model was induced by high-fat diet and low-dose streptozotocin（HFD + STZ）. The experimental rats were divided into a normal group, a model group and three groups with different dose of ginsenoside Rg1（2, 4, and 8 mg/kg）. Blood glucose was determined with glucometer. The content of alanine transaminase（ALT）, asparate aminotransferase（AST）, superoxide dismutase（SOD）, and malondialdehyde（MDA）were measured with spectrophotometry. Liver pathological changes were observed with hematoxylin eosin（HE）staining. The content of tumor necrosis factor-α（TNF-α）, and interleukin-6（IL-6）were determined with enzyme-linked immunosorbent assay（ELISA）. **Results**　Compared with the control group, the content of ALT（123 ± 10.7 U/L）, AST（138 ± 13.8 U/L）, TNF-α（54 ± 2.8pg/m L）, IL-6（168 ± 12.5 pg/mL）, and MDA（24.8 ± 2.5 nmol/mg prot）were increased and the activity of SOD（65 ± 7.9 U/mg prot）was decreased in model group. Compared with the model group, the content of ALT（58 ± 8.0 U/L）, AST（65 ± 8.9 U/L）, TNF-α（34 ± 4.1 pg/mL）, IL-6（83 ± 10.4 pg/mL）, and MDA（13.8 ± 1.9 nmol/mg prot）were decreased and the activity of SOD（105 ± 9.7 U/mg prot）was increased in ginsenoside Rg1（8 mg/kg）group. **Conclusion**　Ginsenoside Rg1 has protective effect on liver injury induced by type 2 diabetes and the effect is associated with anti-inflammatory and antioxidative effects of ginsenoside Rg1.

Key words: diabetes; liver injury; ginsenoside Rg1

人参为中国传统补气类中药之一，因其成分复杂药用功效也很多。人参皂苷 Rg1 为人参三醇类皂苷，主要存在于人参和三七中，含量少活性高，具有抗炎抗氧化，抑制心肌肥厚等广泛的药理作用[1-2]。研究发现人参皂苷 Rg1 具有抗肝纤维化作用[3]，可以通过核因子 -κB（nuclear factor-kappa B, NF-κB）通路抑制伴刀豆球蛋白 -A 引起的转氨酶升高，炎症因子分泌增加，降低淋巴细胞侵润[4]，对过度运动引起的肝氧化应激损伤也具有一定的保护作用[5]。而对糖尿病引起的肝损伤目前研究较少。2 型糖尿病为胰岛素抵抗和胰岛 β 细胞损伤为特征的代谢性疾病，在糖尿病的慢性并发症中，肝脏为长期血糖过高累及的靶器官之一。因此，本研究采用高脂饮食和链脲佐菌素相结合的方法复制大鼠 2 型糖尿病模型，观察人参皂苷 Rg1 对糖尿病肝损伤的影响，结果报告如下。

1　材料与方法

1.1　*实验动物*　SD 大鼠 50 只，雌雄不限，体重 200 ~ 220 g，由辽宁医学院实验动物中心提供，动物生产许可证号：SCKK（辽）2009 - 0004。

1.2　*主要试剂*　人参皂苷 Rg1（宝鸡市辰光生物科技有限公司），链脲佐菌素（streptozotocin, STZ）（美国 Sigma 公司）；谷丙转氨酶（alanine transaminase, ALT）、谷草转氨酶（asparate aminotransferase,

作者单位：辽宁医学院附属第一医院，辽宁 锦州 121000

作者简介：李鑫（1978 - ），女，辽宁锦州人，主管药师，学士，研究方向：中药药理。

数字出版日期：2015 - 3 - 25 9:24

数字出版网址：http://www.cnki.net/kcms/detail/21.1234.R.20150325.0924.010.html

中国公共卫生 CPH

AST)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor-α, TNF-α)和白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)试剂盒(南京建成生物工程研究所)。

1.3　分组与处理　模型建立:50 只大鼠适应性喂养 1 周后,随机选择 10 只作为对照组,喂普通饲料(12% 脂肪、60% 碳水化合物和 28% 蛋白质),另 40 只大鼠喂高脂高糖饲料(40% 脂肪、42% 碳水化合物和 18% 蛋白),8 周后禁食 12 h,大鼠尾静脉注射 30 mg/kg STZ 生理盐水溶液,对照组注射同体积生理盐水。1 周后禁食过夜(12 h),尾静脉取血,空腹血糖≥7.8 mmol/L,随机血糖≥11.1 mmol/L 即为 2 型糖尿病建模成功。40 只造模成功大鼠随机分为模型组,人参皂苷 Rg1(2、4、8 mg/kg)组,于成模后 1 周灌胃给予人参皂苷 Rg1,连续 8 周,对照组和模型组给予等体积生理盐水。

1.4　指标与方法

1.4.1　血糖测定　灌胃结束后,大鼠尾静脉取血,用血糖仪测定大鼠空腹血糖。

1.4.2　肝功能指标测定　灌胃结束后,大鼠麻醉,仰卧位固定,心脏穿刺取血,分离血清,按试剂盒说明操作测定血清 AST、ALT 含量。

1.4.3　肝组织病理观察　取肝脏组织迅速固定于 4% 多聚甲醛溶液中,石蜡包埋;石蜡横断面连续切片 5~6 片,厚度约 5 μm,切片常规脱蜡脱水,苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色,普通光学显微镜观察肝脏组织病理改变。

1.4.4　大鼠血清生化指标测定　按试剂说明书操作,测定各组大鼠血清中 TNF-α、IL-6、SOD、丙二醛含量。

1.5　统计分析　实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 13.0 统计软件进行单因素方差分析及最小显著差法进行组间两两比较,$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

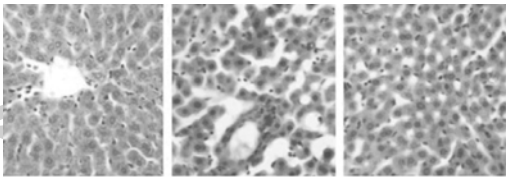
2.1　人参皂苷对 2 型糖尿病大鼠血糖、肝功影响(表 1)　与对照组比较,模型组大鼠血糖水平、AST 和 ALT 活性均升高,提示建模成功,且模型大鼠肝功能已出现损害;与模型组比较,4、8 mg/kg 人参皂苷 Rg1 组大鼠血糖及血清中 AST、ALT 活性均下降($P < 0.01$)。

2.2　人参皂苷 Rg1 对糖尿病大鼠肝形态学影响(图 1)　对照组大鼠肝组织结构清晰,胞浆深染,汇管区无炎性细胞浸润(图 1A);糖尿病模型组大鼠肝小叶内细胞索结构紊乱,肝细胞肿胀,体积增大,局部有炎症细胞浸润(图 1B);人参皂苷 Rg1(8 mg/kg)组与模型组相比,肝组织结构清晰,脂肪组织减少,浸润的炎细胞减少(图 1C)。

表 1　人参皂苷对糖尿病大鼠血糖及肝功影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别(mg/kg)		血糖(mmol/L)	AST(U/L)	ALT(U/L)
对照组		6.0 ± 0.9	56 ± 5.9	36 ± 7.1
模型组		23.7 ± 1.9[a]	138 ± 13.8[a]	123 ± 10.7[a]
人参皂苷 Rg1 组	2	21.4 ± 1.2	123 ± 12.9	82 ± 9.1[b]
	4	17.4 ± 2.0[b]	82 ± 13.1[b]	69 ± 7.5[b]
	8	12.7 ± 1.9[bc]	65 ± 8.9[bc]	58 ± 8.0[bc]

注:与对照组比较,a $P < 0.01$;与模型组比较,b $P < 0.01$;与 4 mg/kg人参皂苷 Rg1 组比较,c $P < 0.05$。



A　B　C

注:A:对照组;B:模型组;C:8 mg/kg 人参皂苷 Rg1 组。

图 1　人参皂苷 Rg1 对糖尿病大鼠肝组织病理形态学影响(HE, ×200)

2.3　人参皂苷对糖尿病大鼠血清生化因子影响(表 2)　与对照组比较,2 型糖尿病大鼠丙二醛、TNF-α、IL-6 含量均增加,而 SOD 活力降低(均 $P < 0.01$);与模型组比较,4、8 mg/kg 人参皂苷 Rg1 组大鼠丙二醛、TNF-α、IL-6 含量均下降、SOD 活力升高(均 $P < 0.01$)。

表 2　人参皂苷对糖尿病大鼠血清生化因子影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别 (mg/kg)		SOD (U/mgprot)	丙二醛 (nmol/mgprot)	TNF-α (pg/mL)	IL-6 (pg/mL)
对照组		120 ± 10.4	10.7 ± 1.9	28 ± 1.9	75 ± 12.9
模型组		65 ± 7.9[a]	24.8 ± 2.5[a]	54 ± 2.8[a]	168 ± 12.5[a]
人参皂苷 Rg1 组	2	80 ± 9.6	20.1 ± 1.9	55 ± 3.9	153 ± 13.6
	4	94 ± 7.9[b]	16.3 ± 2.7[b]	42 ± 3.7[b]	120 ± 13.1[b]
	8	105 ± 9.7[bc]	13.8 ± 1.9[bc]	34 ± 4.1[bc]	83 ± 10.4[bc]

注:与对照组比较,a $P < 0.01$;与模型组比较,b $P < 0.01$;与 4 mg/kg 人参皂苷 Rg1 组比较,c $P < 0.05$。

3　讨　论

糖尿病性肝损伤,作为非酒精性脂肪肝的一种,已经引起越来越多学者的关注,约有 20% 的患者可能发展为肝硬化或肝癌。糖尿病性肝损害病理主要表现为肝内脂肪组织浸润、脂肪性肝炎、肝纤维化,后期常发展为肝硬化。本研究采用高脂饮食和 STZ 相结合的方法诱导大鼠 2 型糖尿病模型,HE 染色显示部分肝组织细胞索结构紊乱、肝细胞肿胀、体积增大、局部有炎症细胞浸润,提示有肝损伤发生,血

清中 AST、ALT 活性增加,表明肝功能受损;结果表明人参皂苷 Rg1 组大鼠血清中 AST、ALT 活性降低、肝组织形态学改变减轻。提示人参皂苷 Rg1 对糖尿病性肝损伤具有一定的改善作用。

糖尿病的发病机制复杂,大量研究显示氧化应激和炎症反应为糖尿病及其并发症的主要原因[6-7]。代谢紊乱时高糖可诱导氧化应激反应发生,活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)大量生成。ROS 包括大量的超氧阴离子、羟自由基等加重胰岛 β-细胞凋亡损伤,还可以激活 c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)、NF-κB 通路加重胰岛素抵抗[8-9]。在这一过程大量增加的 TNF-α 和 IL-6 可通过 JNK、NF-κB 通路使胰岛素受体底物(IRS)丝氨酸磷酸化,破坏胰岛素信号通路,加重胰岛素抵抗[10]。因此,抑制氧化应激、抑制炎症反应对糖尿病的治疗至关重要。人参皂苷 Rg1 具有抗炎抗氧化的药理作用,本研究结果显示,人参皂苷 Rg1 在改善肝功能的同时对 2 型糖尿病引起的大鼠血清中 SOD 活力降低、丙二醛含量增加以及血清中炎症因子 TNF-α 和 IL-6 升高具有一定的拮抗作用。提示人参皂苷 Rg1 对糖尿病肝损伤的保护作用机制可能与其抗炎抗氧化作用有关。

参考文献

[1] He Q, Sun J, Wang Q, et al. Neuroprotective effects of ginsenoside Rg1 against oxygen-glucose deprivation in cultured hippocampal neurons[J]. J Chin Med Assoc, 2014, 77(3): 142-149.

[2] 王琰,张佩,梁灵君,等. 人参皂苷对肿瘤坏死因子-α 致心肌肥大抑制作用[J]. 中国公共卫生, 2014, 30(1): 77-79.

[3] 董向前,段丽平,梁兵,等. 人参皂苷 Rg1 和 Rb1 抗肝纤维化的体视学研究[J]. 山东大学学报, 2012, 50(1): 85-88.

[4] Cao L, Zou Y, Zhu J, et al. Ginsenoside Rg1 attenuates concanavalin A-induced hepatitis in mice through inhibition of cytokine secretion and lymphocyte infiltration[J]. Mol Cell Biochem, 2013, 380(1-2): 203-210.

[5] Korivi M, Hou CW, Huang CY, et al. Ginsenoside-Rg1 protects the liver against exhaustive exercise-induced oxidative stress in rats[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2012: 932165.

[6] Evans JL, Maddux BA, Goldfine ID. The molecular basis for oxidative stress-induced insulin resistance[J]. Antioxidants and Redox Signaling, 2005, 7(7-8): 1040-1052.

[7] Donath MY, Shoelson SE. Type 2 diabetes as an inflammatory disease[J]. Nature Reviews Immunology, 2011, 11(2): 98-107.

[8] Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, et al. Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and β-cell dysfunction? [J]. Diabetes, 2003, 52(1): 1-8.

[9] Scivittaro V, Ganz MB, Weiss MF. AGEs induce oxidative stress and activate protein kinase C-β(II) in neonatal mesangial cells[J]. American Journal of Physiology, 2000, 278(4): F676-683.

[10] Gratas-Delamarche A, Derbré F, Vincent S, et al. Physical inactivity, insulin resistance, and the oxidative-inflammatory loop[J]. Free Radical Research, 2014, 48(1): 93-108.

收稿日期: 2014-06-02　　(解学魁编辑　郭薇校对)

中国公共卫生 CPH

· 实验研究 ·

小檗碱改善 AD 模型小鼠认知障碍作用*

陈魁敏[1], 周恒伟[2], 李玉芳[1], 金戈[1], 唐迪莹[1], 李欣欣[1], 邢爱平[1], 孟宪锋[3]

摘　要: 目的　观察小檗碱对阿尔茨海默病(AD)模型小鼠脑内神经生长因子(NGF)通路变化及改善 AD 小鼠学习记忆机制。**方法**　以 APP/PS1 双转基因小鼠为模型,采用 Y 迷宫进行学习记忆能力评价, Western blot 检测 NGF 及相关通路蛋白表达。**结果**　与对照组[(77.57 ± 11.81)%]比较,模型组小鼠自发交替反应率[(55.71 ± 12.33)%]降低($P < 0.01$);与模型组比较,小檗碱组小鼠自发交替反应率[(70.93 ± 15.99)%]升高($P < 0.01$);与对照组比较,模型组小鼠海马 NGF、络氨酸激酶(TrkA)、磷酸化蛋白激酶(ERK)、磷酸化环磷腺苷效应元件结合蛋白(CREB)表达水平[分别为(0.186 ± 0.031)、(0.187 ± 0.019)、(0.572 ± 0.101)、(0.499 ± 0.138)]均降低(均 $P < 0.05$);与模型组比较,小檗碱组小鼠海马 NGF、TrkA、磷酸化 ERK、磷酸化 CREB 表达水平[分别为(0.592 ± 0.043)、(0.281 ± 0.085)、(0.906 ± 0.097)、(0.895 ± 0.152)]均升高(均 $P < 0.05$)。**结论**　小檗碱可以改善 APP/PS1 小鼠学习记忆障碍,其机制可能与调控 NGF 通路有关。

关键词: 小檗碱; 阿尔茨海默病(AD); 认知障碍; 神经生长因子(NGF)

中图分类号: R 114　**文献标志码**: A　**文章编号**: 1001-0580(2015)05-0614-03　DOI: 10.11847/zgggws2015-31-05-22

Berberine attenuates cognitive deficits via improving NGF signaling in AD mice

CHEN Kui-min*, ZHOU Heng-wei, LI Yu-fang, et al (* *Mental Health Center for College Students, Shenyang Medical*

* **基金项目**: 辽宁省教育厅一般项目(L2014409); 沈阳市科技局(F13-220-9-27)

作者单位: 1. 沈阳医学院心理教研室,辽宁 沈阳 110034; 2. 沈阳市苏家屯区中心医院; 3. 辽宁省精神卫生中心

作者简介: 陈魁敏(1963-),女,辽宁沈阳人,高级实验师,硕士,研究方向:认知行为研究与治疗。

通讯作者: 金戈, E-mail: jinge1026@163.com

数字出版日期: 2015-4-9 15:37

数字出版网址: http://www.cnki.net/kcms/detail/21.1234.R.20150409.1537.012.html