· 实验研究 ·

明日叶查尔酮对糖尿病大鼠氧化应激影响*

王先红[1]，张照杰[1]，李蕾[2]，钟进义[1]

摘　要：目的　探讨明日叶查尔酮（AC）对 2 型糖尿病大鼠氧化应激水平的影响。**方法**　雄性 Wistar 大鼠高脂饲料喂养加链脲佐菌素腹腔注射建立 2 型糖尿病模型，将造模成功大鼠随机分为糖尿病模型组、AC 30、10、5 mg/kg组及对照组，每日经口灌胃 AC 连续 4 周，检测空腹血糖、血清胰岛素、超氧化物歧化酶（SOD）、丙二醛（MDA）、总抗氧化能力、氧化型低密度脂蛋白（ox-LDL）和胰腺组织病理改变等指标。**结果**　糖尿病模型组大鼠血糖与胰岛素水平分别为（17.30 ± 3.57）mmol/L 和（38.28 ± 4.97）mU/L，MDA 和 ox-LDL 含量分别为（12.00 ± 1.32）nmol/mL 和（23.05 ± 2.87）ng/mL，均明显高于对照组（$P < 0.05$），与糖尿病模型组比较，AC 30 mg/kg 组大鼠血糖［（7.00 ± 2.55）mmol/L］、胰岛素［（29.50 ± 5.31）mU/L］、MDA［（9.96 ± 0.65）nmol/mL］和 ox-LDL［（15.36 ± 1.70）ng/mL］均明显降低，差异均有统计学意义（$P < 0.05$），胰岛细胞损伤程度减轻。**结论**　AC 对 2 型糖尿病大鼠氧化应激和胰岛细胞损伤有一定抑制作用。

关键词：明日叶查尔酮（AC）；2 型糖尿病；氧化应激；胰岛细胞
中图分类号：R 587.1　**文献标志码：**A　**文章编号：**1001-0580(2014)01-0074-03　DOI：10.11847/zgggws2014-30-01-22

Effect of ashitaba chalcone on oxidative stress in diabetic rats

WANG Xian-hong*, ZHANG Zhao-jie, LI Lei, et al (*Department of Public Health, Medical College of Qingdao University, Qingdao, Shandong Province* 266021, China)

Abstract: Objective　To explore the effect of ashitaba chalcone (AC) on oxidative stress in type 2 diabetic rats. **Methods**　Type 2 diabetic rat model was set up in male Wister rats by feeding high-fat diet and streptozotocin (STZ) injection. Rats in AC treatment groups (at dosages of 5, 10, and 30 mg/kg) were treated with gavage AC daily. Four weeks later, the fasting blood glucose (FBG), insulin, superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), total antioxidative capacity (T-AOC), and oxidized low density lipoprotein (ox-LDL) were measured and the morphology of islet cellulars was observed. **Results**　In diabetic model group, the levels of FBG (17.30 ± 3.57 mmol/ml), insulin (38.28 ± 4.97 mU/L), MDA (12.00 ± 1.32 nmol/ml), and ox-LDL (23.05 ± 2.87 ng/ml) were significantly elevated compared with those of the control group ($P < 0.05$ for all). In 30 mg/kg AC group, the levels of FBG (7.00 ± 2.55 mmol/ml), insulin (29.50 ± 5.31 mU/L), MDA (9.96 ± 0.65 nmol/ml), and ox-LDL (15.36 ± 1.70 ng/ml) were significantly lower than those of diabetic model group ($P < 0.05$ for all) and the magnitude of morphological damage in islets cellular was also alleviated. **Conclusion**　Ashitaba chalcone could inhibit oxidative stress and injury of islet cells in type 2 diabetic rats.

Key words: ashitaba chalcone; type 2 diabetes; oxidative stress; islet cell

明日叶（ashitaba），又名长寿草，属芹科多年生草本植物，原产地日本八丈诸岛。据文献报道，明日叶中的活性成分查尔酮（chalcone），其化学结构为 1,3－二苯基丙烯酮，属黄酮类化合物，具有抗肿瘤、抗氧化、抗糖尿病等多种生物学功效[1-2]。本研究采用高脂饲料喂养加链脲佐菌素腹腔注射制备大鼠 2 型糖尿病模型，经口灌胃不同剂量明日叶查尔酮，观察大鼠血糖、胰岛素、氧化应激和胰岛细胞损伤等指标，探讨明日叶查尔酮对 2 型糖尿病大鼠氧化应激水平的影响，结果报告如下。

1　材料与方法

1.1　*实验动物*　清洁级健康雄性 Wistar 大鼠 60 只（山东鲁抗医药实验中心），6～8 周龄，体重 180～200 g，许可证号：SCXK（鲁）2009－0007。高脂饲料（北京华阜康生物科技股份有限公司）。

1.2　*主要试剂与仪器*　明日叶查尔酮（ashitaba chalcone，AC）由青岛大学医学院营养所卫生毒理学实验室制备，纯度 > 90%。查尔酮标准品（纯度 > 99%）、链脲佐菌素（streptozotocin，STZ）（美国 sigma 公司），超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，

* **基金项目：**山东省医药卫生科技发展计划项目（QNW001）
作者单位：1. 青岛大学医学院预防医学系，山东 青岛 266021；2. 厦门大学
作者简介：王先红（1986－），女，山东青岛人，硕士在读，研究方向：卫生毒理学。
通讯作者：钟进义，E-mail：zhongjy03@yahoo.com.cn
数字出版日期：2013－6－8 16：27：00
数字出版网址：http://www.cnki.net/kcms/detail/21.1234.R.20130608.1627.001.html

SOD)、总抗氧化能力(total antioxidative capacity, T-AOC)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)试剂盒(南京建成生物工程研究所),氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(北京博奥森生物技术有限公司),碘[125I]胰岛素放射免疫分析药盒(北京北方生物技术研究所)。RT-6000 酶标分析仪(深圳雷杜生命科学股份有限公司),XDS-1B 型倒置显微镜、DP72 型图像采集设备(日本 OLIMPUS 公司)。

1.3　糖尿病大鼠模型制备　将 60 只雄性 Wistar 大鼠适应性喂养 1 周后随机选取 10 只为对照组,其余动物采用高脂饲料联合腹腔注射 STZ 方法诱发 2 型糖尿病,STZ 剂量为 15 mg/kg,自第 2 周开始注射,1 次/周,连续 3 周。末次注射后 2 d 空腹血糖值高于 16.7 mmol/L 判定为糖尿病。

1.4　分组与处理　将造模成功的 40 只糖尿病大鼠随机分为 4 组,糖尿病模型组(蒸馏水)、AC 30、10、5 mg/kg 组,每组 10 只。在高脂饲料喂养基础上,每天经口灌胃给予 AC。对照组给予普通饲料并经口灌胃蒸馏水。各组动物自由进食进水,连续 4 周。在末次灌胃后禁食 12 h,尾尖采血测定空腹血糖。全部动物经腹腔注射 7% 水合氯醛麻醉后,腹主动脉采血并分离血清和迅速分离胰腺组织备检。

1.5　指标及检测

1.5.1　血糖和血清胰岛素测定　血糖用葡萄糖氧化酶法,取尾尖血用血糖仪测定;血清胰岛素用放免法测定,参照试剂盒说明书操作。按照以下公式计算胰岛素敏感指数(insulin sensitivity index, ISI),ISI = ln[1/(空腹血糖浓度 × 空腹胰岛素浓度)][3]。

1.5.2　血清 SOD、MDA、T-AOC、ox-LDL 测定　SOD 用黄嘌呤氧化酶法;T-AOC 用菲林比色法;MDA 用硫代巴比妥酸比色法;ox-LDL 用 ELISA 法,均参照试剂盒说明书操作。

1.5.3　胰腺组织病理学观察　胰腺组织经 4% 多聚甲醛溶液固定 24 h,常规石蜡包埋,切片,厚度 5 μm。苏木素 - 伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色、封片,光镜下观察胰岛细胞形态,细胞膜完整性,细胞核大小形态和细胞数量。

1.6　统计分析　实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS 17.0 统计软件进行单因素方差分析,组间比较采用 q 检验,检验水准 $\alpha = 0.05$。

2　结　果

2.1　AC 对大鼠血糖、血清胰岛素、ISI 影响(表 1)　与对照组比较,糖尿病模型组大鼠空腹血糖、血清胰岛素均升高,胰岛素敏感指数降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$);与糖尿病模型组比较,AC 30 mg/kg 组大鼠空腹血糖和血清胰岛素含量降低,而胰岛素敏感性升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1　各组大鼠空腹血糖和血清胰岛素浓度变化($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别(mg/kg)	血糖(mmol/L)	胰岛素(mU/L)	ISI
对照组	4.59 ± 1.63	25.70 ± 2.33	−4.71 ± 0.36
糖尿病模型组	17.30 ± 3.57[a]	38.28 ± 4.97[a]	−6.46 ± 0.29[a]
AC 组　5	17.05 ± 3.20[ac]	37.85 ± 5.02[a]	−6.42 ± 0.18[a]
10	13.91 ± 3.15[ab]	37.04 ± 5.44[a]	−6.21 ± 0.27[a]
30	7.00 ± 2.55[bc]	29.50 ± 5.31[bc]	−5.30 ± 0.27[abc]

注:与对照组比较,a $P < 0.05$;与糖尿病模型组比较,b $P < 0.05$;与 AC 10 mg/kg 组比较,c $P < 0.05$。

2.2　AC 对大鼠血清 SOD、MDA、T-AOC、ox-LDL 水平影响(表 2)　与对照组比较,糖尿病模型组大鼠血清 MDA、ox-LDL 水平明显升高,SOD 及 T-AOC 水平明显降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$);与糖尿病模型组比较,AC 30 mg/kg 组大鼠血清 MDA、ox-LDL 水平降低,而 SOD 及 T-AOC 则升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

表 2　各组大鼠 SOD、MDA、T-AOC、ox-LDL 水平比较($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别(mg/kg)	MDA(nmol/mL)	T-AOC(U/mL)	SOD(U/mL)	ox-LDL(ng/mL)
对照组	8.94 ± 0.43	12.79 ± 1.80	332.88 ± 45.51	14.90 ± 2.45
糖尿病模型组	12.00 ± 1.32[a]	7.24 ± 1.27[a]	241.72 ± 21.67[a]	23.05 ± 2.87[a]
AC 组　5	11.86 ± 1.10[a]	7.43 ± 2.03[ac]	248.32 ± 32.28[a]	22.86 ± 2.16[ac]
10	11.23 ± 1.27[a]	9.56 ± 2.51[ab]	262.56 ± 38.62[a]	16.27 ± 2.41[b]
30	9.96 ± 0.65[bc]	9.80 ± 1.13[ab]	295.79 ± 51.30[b]	15.36 ± 1.70[b]

注:与对照组比较,a $P < 0.05$;与糖尿病模型组比较,b $P < 0.05$;与 AC 10 mg/kg 组比较,c $P < 0.05$。

2.3　胰岛细胞形态学观察(图 1)　对照组大鼠胰岛呈圆形或椭圆形细胞团,境界清晰,胰岛数量较多,胰岛细胞分布均匀,结构清晰呈索状排列,细胞核大小均匀呈圆形,胞浆丰富(图 1A)。糖尿病模型组可见胰岛萎缩,胰岛数目减少,体积明显缩小,形态不规则,边界不清,胰岛内细胞数量减少,排列松散,细胞形态不一,胞浆出现空泡,细胞核固缩、核溶解(图 1B)。与糖尿病模型组比较,AC 30 mg/kg 组胰岛病变较轻,胰岛体积增大,岛内细胞数目增多,细胞排列趋于规整(图 1C),但 AC 10 mg/kg 组改变不明显(图 1D)

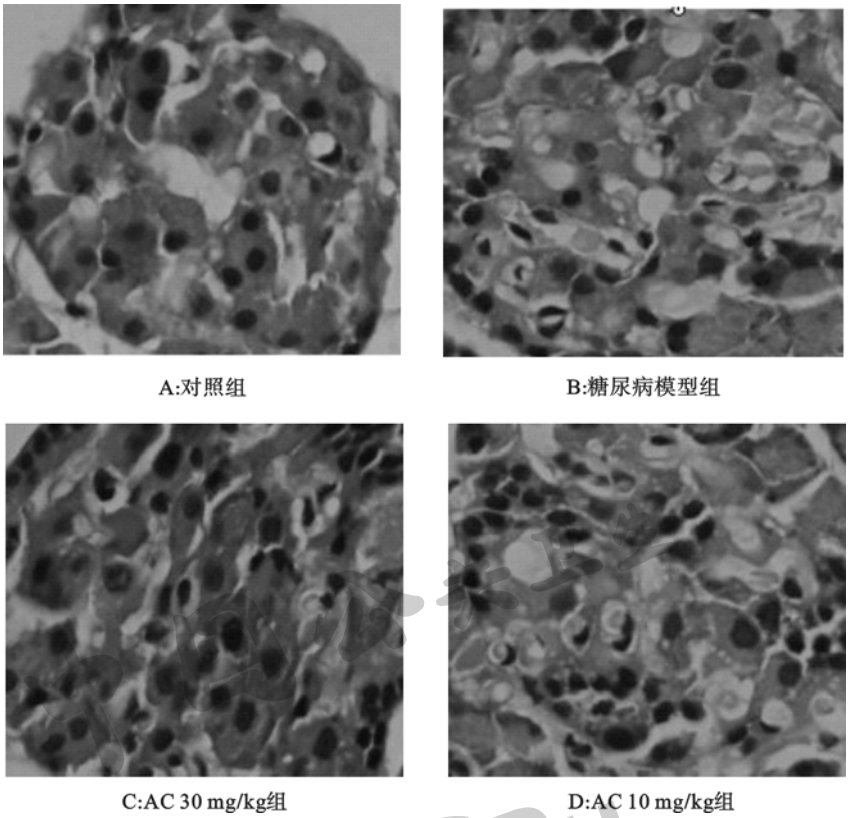

图1　AC对大鼠胰腺组织细胞病理结构影响(HE, ×400)

3　讨　论

本研究结果表明,与对照组比较,糖尿病模型组大鼠空腹血糖和胰岛素均明显升高,胰岛素敏感性降低,表明2型糖尿病大鼠模型诱发成功;与糖尿病模型组比较,AC 30 mg/kg组大鼠空腹血糖和胰岛素均降低,而胰岛素敏感性升高,提示AC可降低2型糖尿病大鼠血糖和胰岛素水平,提高胰岛素的敏感性。

糖尿病的发生发展与氧化损伤密切相关,从而产生明显的氧化应激[4-5]。MDA和ox-LDL含量是反应脂质过氧化程度的重要指标,SOD和总T-AOC可表明机体抗氧化酶活性和抗氧化能力[6-8]。本研究结果显示,AC 30 mg/kg组大鼠血清MDA和ox-LDL含量较糖尿病模型组下降,而SOD活力和T-AOC增强,表明AC可提高2型糖尿病大鼠抗氧化能力,降低脂质过氧化水平。胰腺是对氧化应激最为敏感的组织,2型糖尿病存在胰岛β细胞损伤[9]。本研究胰腺组织光镜观察结果显示,AC可减轻2型糖尿病大鼠的胰岛萎缩,胰岛及岛内细胞数量减少等病变,与上述抗氧化损伤结果呈现一致性。

参考文献

[1] 侯芳霖,钟进义,张燕,等.明日叶查尔酮对荷瘤小鼠抗氧化能力影响作用的研究[J].世界中西医结合杂志,2011,6(4):288-290.

[2] Enoki T, Ohnoqi H, Nagamine K, et al. Antidiabetic activities of chalcones isolated from a Japanese herb, *Angelica keiskei* [J]. J Agric Food Chem, 2007, 55(15): 6013-6017.

[3] 李光伟,潘孝仁,Stephen L,等.检测人群胰岛素敏感性的一项新指标[J].中华内科杂志,1993,32(10):656-660.

[4] Ceriello A, Motz E. Is oxidative stress the pathogenic mechanism underlying insulin resistance, diabetes, and cardiovascular disease? The common soil hypothesis revisited [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2004, 24(5): 816-823.

[5] 贾文波,许继取,宋方方,等.2型糖尿病患者胰岛素抵抗和氧化应激反应[J].中国公共卫生,2006,22(7):769-771.

[6] 葛喜珍,孔德娟,刘昆,等.大豆异黄酮对去卵巢大鼠主动脉晚期糖化终末产物(AGEs)及脂质过氧化的影响[J].中药材,2003,26(1):26-28.

[7] 文隆,何慧,钟惠菊,等.普罗布考对糖尿病大血管病变患者颈动脉内中膜厚度及氧化应激的影响[J].中国全科医学,2011,14(16):1798-1800.

[8] 张然,袁从英,冯娜,等.车前子多糖对糖尿病小鼠氧化应激的影响[J].天津医药,2011,3(39):253-255.

[9] Porte D. β-cell dysfunction and failure in type 2 diabetes, potential mechanisms[J]. Diabetes, 2001, 50: 160-163.

收稿日期:2012-09-05　　(解学魁编校)