Protective effect of tetrahydroxystilbene glucoside on experimental diabetic cardiomyopathy in rats

Gan Shouyi[1], Chen Yong[1], Huang Jun[1], Li Cairong[1,2], Cai Fei[3]
([1] Department of Vasculocardiology, Xianning Center Hospital; [2] Department of medical, Xianning College, Xianning;
[3] Department of pharmacology, Xianning College, Xianning 37100)

Objective: To study the preventive effect of tetrahydroxystilbene glucoside(TSG) on cardiac function, ventricular remodeling and atrial natriuretic factor (ANP), angiotensin Ⅰ, angiotensin Ⅱ content in experimental diabetes rats. **Methods**: Male Wistar rats were divided into 4 group: normal control (n=10), diabetic rats with high-fat diet (n=10), diabetic rats with high-fat diet plus TSG (10 mg/kg·d, n=10), diabetic rats with high-fat diet plus TSG (20 mg/kg·d, n=10). All the rats were feed for 12 weeks, Doppler echocardiography was adopted to determine the cardiac function, and the ANP, angiotensin Ⅰ, angiotensin Ⅱ in serum was assayed by radio-immunoassy. **Results**: TSG improved the parameters of cardiac function and ventricular remodeling in diabetes($P<0.05$). Compared with diabetic rats with high-fat diet group, TSG decreased significantly serum ANP, angiotensin Ⅰ, angiotensin Ⅱ content. **Concluse**: TSG has preventive effect on myocardiopathy in experimental diabetic rats.

Key words tetrahydroxystilbene glucoside; diabetes; ventricular remodeling; atrial natriuretic polypeptide (ANP); angiotensin Ⅰ; angiotensin Ⅱ

二氢杨梅素对四氧嘧啶性糖尿病小鼠的降糖作用研究*

卢 威[1], 秦晓改[1], 王跃虎[2], 牛艳芬[1], 龙春林[2], 李 玲[1**]
([1]昆明医学院药学院暨云南省天然药物药理重点实验室,昆明 650500;
[2]中国科学院昆明植物研究所,昆明 650204)

摘 要 目的:研究二氢杨梅素 dihydromyricetin (DMY) 对四氧嘧啶性糖尿病小鼠血糖的影响。方法:采用小鼠尾静脉注射四氧嘧啶(60 mg/kg) 复制糖尿病小鼠模型,以二甲双胍 250 mg/kg 为对照,以二氢杨梅素 25、125、250 mg/kg 分别灌胃给药,其间监测血糖和进食饮水量,4 周后测糖耐量、及血清胰岛素含量,并处死糖尿病小鼠后取肝脏和肌肉研究肝糖原和肌糖原含量。结果:二氢杨梅素(25 mg/kg) 组灌胃第 3 周、第 4 周均能降低糖尿病小鼠的血糖水平(15.7 ± 8.3,14.0 ± 6.1),与模型对照组(24.7 ± 3.9,22.3 ± 5.6) 相比,差异有统计学意义,对糖耐量也有显著的改善作用,各时间点的血糖水平与模型对照组相比,差异有统计学意义,但对血清胰岛素水平和糖原含量影响不明显;二氢杨梅素(250 mg/kg) 组能明显促进胰岛素分泌(147.19 ± 23.07) 及肝糖原合成(14.39 ± 1.13),与模型对照组相比(125.41 ± 12.40,11.36 ± 1.91),差异有统计学意义,但是却不能降低糖尿病小鼠的血糖。结论:二氢杨梅素在一定的剂量范围内能降低四氧嘧啶性糖尿病小鼠的血糖,但不影响血清胰岛素水平,提示二氢杨梅素的降糖作用可能不是通过促进胰岛素的合成和分泌而降糖。

关键词 二氢杨梅素; 四氧嘧啶性糖尿病小鼠; 血糖; 胰岛素; 糖原

二氢杨梅素 dihydromyricetin(图 1) 是乌墨根部的主要活性成分之一,乌墨 (Syzygium cumini, Eugenia jambolana, Syzynium jambolana) 系桃金娘科(Myrtaceae) 蒲桃属植物。果实、茎皮、叶药用,具有润肺、止咳、平喘的功效,我国民间主要用于治疗肺结核、寒性哮喘和过敏性哮喘[1],在印度民间用于治疗糖尿病[2]。自 20 世纪 60 年代首次报道了乌墨具有降糖作用以来[3],大量文献相继报道了乌墨种子、果实和树皮的水或乙醇提取物具有降低正常和化学性糖尿病动物血糖水平的作用[4~7];本课题组的前期研究发现乌墨根的乙醇提取物也具有降糖作用,二氢杨梅素能明显促进 L6 肌细胞对葡萄糖的利用[8],为了进一步验证其体内降糖活性,本实验采用四氧嘧啶性糖尿病小鼠模型,研究二氢杨梅素对糖代谢的影响。

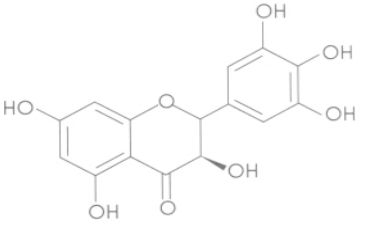

图 1 二氢杨梅素化学结构

1 材料与方法

1.1 试验药物 二氢杨梅素由中国科学院昆明植物所提供,纯度 90.0%,临用前以 2% 聚乙二醇助溶,然后用双蒸水定容备用。

* [基金项目] 国家自然科学基金资助项目(30760306),云南省应用基础研究计划重点项目(2006C009Z)。 ** 通讯作者

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1.2 动物 KM 小鼠,雄性,体重 25~30 g,由昆明医学院实验动物中心提供,实验动物生产许可证号:[SCXK(滇)2005-2008]。饲养条件:室温为(25±2)℃,相对湿度 60%~70%。

1.3 试剂 四氧嘧啶(Alloxan):J. T. BAK-ER CHEMICAL CD. PHILIPSBURG. NJ 08865。葡萄糖氧化酶法测定试剂盒为上海荣盛生物技术有限公司产品;糖原试剂盒为南京建成生物工程研究所产品;胰岛素 ELISA 试剂盒为美国 R&D 公司产品。

1.4 仪器 CL2 770 型临床分光光度计为日本岛津公司和光电公司产品。酶标板自动读书仪为美国 Bio-rad Model 680 型。

1.5 方法 参照文献[3]选用雄性 KM 小鼠,禁食 6 h,自由饮水,自尾静脉一次性注射四氧嘧啶 60 mg/kg 造成高血糖模型。于造模后第 4 天自小鼠尾静脉取血,用葡萄糖氧化酶法测血糖,血糖值 > 11.1 mmol/L 的小鼠作为受试糖尿病小鼠。受试小鼠按血糖值随机分为 5 组:糖尿病模型对照组,二氢杨梅素低、中、高剂量组和二甲双胍阳性对照组,分别给予 2% 聚乙二醇、二氢杨梅素 25、125、250 mg/kg 和二甲双胍 250 mg/kg,均按 20 ml/kg 体重灌胃(ig)给药,每天 1 次,连续 4 周。实验期间,每周测量 1 次小鼠的体重,最后一周记录小鼠每天的进食量和饮水量,并观察动物的一般情况。每周末自小鼠尾静脉取血,用葡萄糖氧化酶法测定血糖水平,动态观测非空腹血糖的变化。给药第 4 周,进行糖耐量实验:各实验组小鼠禁食 4 h 后,灌胃给予葡萄糖 2.5 g/kg,分别取糖负荷后 0、15、30、60 和 90 min 时的尾静脉血测血糖水平。实验结束时摘眼球取血,离心取上清测定胰岛素,并取后肢骨骼肌及肝脏测定肌糖原和肝糖原。

2 结果

2.1 二氢杨梅素对四氧嘧啶性小鼠进食量、饮水量及体重的影响 灌胃给予糖尿病小鼠二氢杨梅素和二甲双胍 4 周后,糖尿病小鼠的进食量和饮水量明显减少,与模型组相比,差异有显著性意义,见表 1;但对糖尿病小鼠的体重没有明显影响,与模型组比较,见表 2。

表 1 二氢杨梅素灌胃给药对四氧嘧啶糖尿病小鼠进食饮水量的影响($\bar{x}\pm s$, n=10)

组别	剂量(mg/kg)	进食量(g/kg/d)	饮水量(ml/kg/d)
糖尿病模型		336.1±36.1	933.8±55.4
二氢杨梅素	25	204.0±14.7**△△	473.7±30.3**△△
二氢杨梅素	125	253.2±17.0**△	701.0±30.0**△△
二氢杨梅素	250	288.2±31.4**△	875.4±62.6**△
二甲双胍	250	296.7±32.3*	804.7±58.5**

与糖尿病模型组比较,* P<0.05,** P<0.01;与二甲双胍对照组比较,△ P<0.05,△△ P<0.01(下同)

表 2 二氢杨梅素灌胃给药对四氧嘧啶糖尿病小鼠体重的变化($\bar{x}\pm s$, n=10)

组别	剂量(mg/kg)	体重(g) 0	1	2	3	4(周)
糖尿病模型		33.5±4.4	35.5±4.6	36.1±4.5	37.3±5.4	37.8±7.0
二氢杨梅素	25	32.8±2.3	34.6±2.1	34.3±2.3	33.8±3.3	34.4±4.0
二氢杨梅素	125	33.0±3.6	37.1±4.1	36.0±2.6	35.4±3.8	37.4±3.3
二氢杨梅素	250	35.4±2.2	35.1±3.6	34.3±3.7	35.0±4.2	36.3±4.3
二甲双胍	250	33.9±1.9	36.4±3.2	35.8±3.5	35.3±4.9	36.4±5.1

2.2 二氢杨梅素对糖尿病小鼠血糖和糖耐量的影响 实验期间,模型组小鼠血糖持续在高血糖水平,血糖值 >11.1 mmol/L;灌胃给予糖尿病小鼠受试样品 2 周后,二氢杨梅素(25 mg/kg,125 mg/kg)和二甲双胍均降低糖尿病小鼠的非空腹血糖,第 3 周时与糖尿病对照组比较,差异有统计学意义;而二氢杨梅素高剂量组(250 mg/kg)则未能降低血糖,见表 3。

表 3 二氢杨梅素灌胃给药对四氧嘧啶糖尿病小鼠非空腹血糖的影响($\bar{x}\pm s$, n=10)

组别	剂量(mg/kg)	血糖(mmol/L) 0	1	2	3	4(周)
糖尿病模型		20.8±5.5	24.8±7.3	18.8±3.8	24.7±3.9	22.3±5.6
二氢杨梅素	25	20.8±4.5	22.2±9.4	15.0±8.1	15.7±8.3*	14.0±6.1*
二氢杨梅素	125	20.8±5.2	24.3±7.8	14.3±5.4	15.9±4.7*	20.9±9.9
二氢杨梅素	250	20.6±5.2	22.6±7.6	15.5±4.9	22.8±4.0	21.1±5.0
二甲双胍	250	20.5±5.0	20.9±8.0	11.6±5.2*	15.0±5.2**	13.1±7.6*

给予葡萄糖负荷后,模型组小鼠的糖耐量曲线异常升高,而二氢杨梅素(25 mg/kg)组的血糖降低,各时间点与糖尿病模型组比较差异有统计学意义,见图 2。

2.3 二氢杨梅素对糖尿病小鼠血清胰岛素的影响 二氢杨梅素的高剂量组有增高胰岛素趋势,与模型组相比有统计学意义(P<0.05),但是中低剂量组同模型组没有明显区别,见表 4。

2.4 二氢杨梅素对四氧嘧啶糖尿病小鼠肝糖原和肌糖原的影响 二氢杨梅素的高剂量组和中剂量组显著增加肝糖原含量,肌糖原含量仅表现出增高趋势,见表 5。

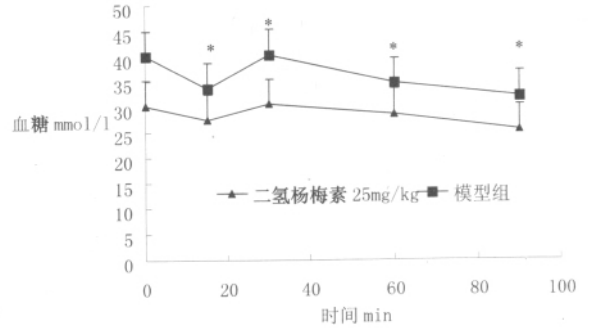

图 2 二氢杨梅素灌胃给药对四氧嘧啶糖尿病小鼠糖耐量的影响

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表4 二氢杨梅素灌胃给药对四氧嘧啶糖尿病小鼠血清胰岛素的影响($\bar{x} \pm s$, n=10)

组别	剂量(mg/kg)	胰岛素(pg/ml)
糖尿病模型		125.41±12.40
二氢杨梅素	25	133.07±13.49
二氢杨梅素	125	123.55±21.66
二氢杨梅素	250	147.19±23.07*
二甲双胍	250	119.37±20.01

表5 二氢杨梅素灌胃给药对四氧嘧啶糖尿病小鼠糖原的影响($\bar{x} \pm s$, n=10)

组别	剂量(mg/kg)	肝糖原(mg/g)	肌糖原(mg/g)
糖尿病模型		11.36 ± 1.91	2.78 ± 0.28
二氢杨梅素	25	12.32 ± 3.43	2.47 ± 0.57
二氢杨梅素	125	15.88 ± 2.68*	3.57 ± 1.37
二氢杨梅素	250	14.39 ± 1.13*	3.50 ± 1.09
二甲双胍	250	14.26 ± 7.92	2.61 ± 0.51

3 讨论

四氧嘧啶是特异性的胰岛B细胞毒剂,选择性作用于胰岛B细胞,通过超氧自由基破坏胰岛B细胞,使胰岛B细胞分泌胰岛素减少,产生高血糖[10]。本实验以四氧嘧啶作为诱导剂复制了糖尿病小鼠模型,在此模型上,观察了二氢杨梅素对糖尿病小鼠的降糖作用,结果表明二氢杨梅素(25 mg/kg, 125 mg/kg)明显降低糖尿病小鼠的非空腹血糖,改善糖耐量,同时明显改善了多饮多食现象,但高剂量的二氢杨梅素(250 mg/kg)在本实验条件下没有明显的降糖作用,提示二氢杨梅素在一定的剂量范围内具有降低血糖的作用。

目前药物降糖的机制总的来说分为抑制糖在肠道的吸收、促进糖的排泄、增加糖的利用和转化。其中糖的利用和转化主要是通过促进胰岛素的分泌、增强胰岛素的作用来实现,其利用转化的去向主要是合成糖原。可以说糖原代谢是糖代谢的重要组成部分,当血糖降低时,糖原分解补充血糖;当血糖升高时,胰岛素促进血糖转变成糖原。因此,本试验通过测定血清胰岛素浓度和糖原含量来初步评价其作用机制,结果表明低剂量的二氢杨梅素对血清胰岛素、肝糖原和肌糖原没有明显影响,李石飞等报道二氢杨梅素能显著促进高糖、高胰岛素诱导的胰岛素抵抗L6肌细胞对葡萄糖的摄取,改善胰岛素抵抗状态[8],提示二氢杨梅素的降糖作用可能不是通过促进胰岛素的合成和分泌,而与增加胰岛素的作用有关。

参考文献

1 云南省药材公司. 云南中药资源名录. 北京科学出版社. 第一版, 1993: 353

2 Helmstadter A. Syzygium cumini(L.) skeels(Myrtaceae) against diabetes-125 years of research. Pharmazie, 2008; 63: 91~101

3 Sigogneau-Jagodzinski M, Bibal-Prot P, Chanez M, et al. Hypoglycemic and antidiabetic activity of a principle extracted from Eugenia jambolana. Comptes Rendus Hebdomadaires des Seances de l'Academie des Sciences. Serie D: Sciences Naturelles, 1967; 264: 1119~1123

4 Mahapatra PK, Pal M, Chaudhari AKN, et al. Preliminary studies on glycemic effect of Syzyginium cumini seeks. IRCS medical Science Biochemistry, 1985; 13: 129~33

5 Teixeira CC, Pinto LP, Kessler FHP, et al. The effect of Syzyginium cumini(L.) skeels on postprandial blood glucose level in non diabetic rats and rats with streptozotocin induced diabetes mellitus. J Ethanopharmacol, 1997; 56: 209~213

6 Prince PS, Menon VP, Pari L. Hypoglycemic activity of Syzyginium cumini seeds: effect on lipid peroxidation in alloxon diabetic rats. J Ethanopharmacol, 1998; 61: 1~7

7 Sharma SB, Nasir A, Prabhu KM, et al. Hypoglycemic and hypolipidemic effect of ethanolic extract of seeds of Eugenia jambolana in alloxon-induced diabetic rabbits. J Ethanopharmacol, 2003; 85: 201~206

8 李石飞,黄年旭,李玲,等. 滇产植物乌墨中胰岛素增敏活性成分. 云南植物研究, 2009; 31(5): 469~473

9 牛艳芬,王玉天,周明义,等. BEOV对四氧嘧啶性糖尿病小鼠的降糖作用研究. 昆明医学院学报, 2007; 28(4B): 1~5

10 嵇杨,张葵荣,王文俊. 建立四氧嘧啶糖尿病模型的研究. 中医药学期刊, 2003; 21(7): 1125~1126

11 覃洁萍,钟正贤,周桂芬,陈学芬,等. 双氢杨梅树皮素降血糖的实验研究. 中国现代应用药学杂志, 2001; 18(5): 15~17

田蓟苷对TNF-α诱导的大鼠血管平滑肌细胞增殖和迁移的影响*

邢建国,曹文疆[1],王新春[1],金家贵[2],彭克军[2]**

(新疆维吾尔自治区药物研究所,乌鲁木齐 830004; [1]石河子大学医学院一附院,石河子 832008; [2]成都医学院检验医学院,成都 610083)

摘 要 目的:通过观察田蓟苷对TNF-α诱导的大鼠主动脉血管平滑肌细胞(VSMC)增殖和迁移的影响,探讨其治疗动脉粥样硬化的可能药效机制。方法:体外培养大鼠主动脉VSMC,采用SABC-Cy3荧光免疫组化技术鉴定其纯度;以TNF-α刺激VSMC建立细胞增殖和迁移模型;采用MTT法检测细胞的增殖,Transwell小室法检测细胞的迁移,免疫酶组化法检测细胞内增殖细胞核抗原

* 国家科技重大专项课题新药创制(2009ZX09103-448)课题资助

** 通讯作者

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net