

秋荔枝乙醇提取物减轻链脲佐菌素诱导的大鼠肝脏和胰腺病理损伤 *

黄绵庆 杨照新 王小蒙 王世雄 符 健[△]

(海南医学院 海南 海口 571101)

摘要 目的 研究秋荔枝乙醇提取物 (EEK) 对链脲佐菌素 (STZ) 诱导的 2 型糖尿病 (T2DM) 大鼠肝脏和胰腺组织病理结构的影响。方法 :以高脂饲料喂养联合 STZ 建立 T2DM 大鼠模型。大鼠分为为正常对照组、T2DM 模型组、二甲双胍组、EEK 低、中、高剂量组。大鼠给药 4 周后处死,取肝脏和胰腺进行组织病理学检查。结果 :随着 EEK 剂量的增加,大鼠肝脏和胰岛组织的病理损伤逐步减轻。结论 :EEK 有助于修复 STZ 诱导的 T2DM 大鼠受损的肝脏和胰岛组织。

关键词 秋荔枝 2 型糖尿病 链脲佐菌素

中图分类号 Q95-33,R743 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273(2012)11-2061-04

Ethanol Extract from Kandelia Candel Trunk Reduces Pathological Damages of Liver and Pancreas in Rats Induced by Streptozotocin*

HUANG Mian-qing, YANG Zhao-xin, WANG Xiao-meng, WANG Shi-xiong, FU Jian[△]

(Hainan Medical College, Haikou 571101, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of ethanol extract from kandelvia candel trunk (EEK) on pathological structure of liver and pancreas in type 2 diabetes mellitus (T2DM) rats induced by streptozotocin. **Methods:** The T2DM rat model was induced with high-fat diet and STZ. Rats were divided into normal control group, model group, metformin group, EEK low-dose group, EEK medium-dose group and EEK high-dose group. After 4W administration, the rats were sacrificed to perform histopathological examination. **Results:** The pathological damages of liver and pancreas were gradually reduced with increasing dosages of EEK in Rats. **Conclusion:** EEK contributes to repairing damaged liver and pancreas in T2DM rats induced by STZ.

Key words: Kandelia candel; Type 2 diabetes mellitus; Streptozotocin

Chinese Library Classification (CLC) : Q95-33,R743 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2012)11-2061-04

前言

秋荔枝 (Kandelia Candel) 是一种生长在海滨滩涂或潮间带的红树林植物,具有收敛、止血、抗菌、抗风湿和抗肿瘤功效^[1,2]。本课题组不久前的研究结果显示秋荔枝乙醇提取物 (EEK) 可改善 2 型糖尿病 (T2DM) 大鼠血糖和血脂异常^[3],同时对链脲佐菌素 (STZ) 诱导的 T2DM 大鼠肝脏氧化损伤具有保护作用^[4]。为了进一步探究 EEK 对该模型大鼠受损组织器官的保护作用,本研究从病理形态学角度观察 EEK 对 STZ 诱导的大鼠肝脏和胰腺组织病理损伤的影响。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器

1.1.1 主要试剂 链脲佐菌素 (美国 Sigma 公司) ; 甲醛 (西陇化工股份有限公司) ; 苏木素 (飞世尔科技公司) ; 曙红 Y (上海晶纯试剂有限公司) ; 血糖检测试剂盒 (上海丰汇医学科技有限公司) ; 盐酸二甲双胍片 (哈尔滨天木药业)。

1.1.2 主要仪器 ASP200S 型智能化组织脱水机、EG1160 型生

物组织冷冻包埋机、HI1220 型烤片机、HI1210 型摊片机 (德国莱卡公司) ; XSP-4C 型光学显微镜 (上海蔡康光学仪器有限公司) ; 7020 型全自动生化分析仪 (日本日立公司)。

1.2 受试物

秋荔枝采自海南省文昌市东寨港,由中国热带农业科学院鲍时翔教授鉴定。秋荔枝晒干,加工成小段粉碎,以 95%乙醇提取,提取液冻干后得秋荔枝乙醇提取物 (EEK)。给药前,以 1%羧甲基纤维素钠配制成不同浓度 EEK 混悬液。

1.3 实验动物饲料

大鼠普通饲料 由长沙市开福区东创实验动物科技服务部生产,碳水化合物 46.5%,粗蛋白 24.3%,粗脂肪 7.5%。

大鼠高脂饲料 : 由普通饲料 73.9%、猪油 10%、蛋黄粉 10%、白糖 5%、胆固醇 1%、猪胆盐 0.1%,加上适量水充分混合后,75℃烘干。

1.4 实验动物与分组

1.4.1 T2DM 大鼠模型的建立 清洁级 SD 大鼠由长沙市开福区东创实验动物科技服务部生产,动物合格证号 003722。所用大鼠 6 周龄,体重 170~200 g,雄性。

* 基金项目 海南省自然科学基金项目 (309031)

作者简介 黄绵庆,男,助理研究员,主要从事药理毒理学研究,E-mail: abshare@126.com

[△]通讯作者简介 符健,男,教授,硕士生导师,E-mail: fujian.hnmc@163.com

(收稿日期 2011-10-25 接受日期 2011-11-20)

SD 大鼠购回后以普通饲料适应性饲养 1 周,随机抽出 12 只大鼠设正常对照组,以普通饲料喂养。剩余大鼠均换成高脂饲料喂养,4 周后以 30 mg/kg 单次腹腔注射 0.3%STZ (溶于 0.1 mmol/L 柠檬酸缓冲液,pH4.4),注射后 1 周检测空腹血糖,以血糖 $\geq$ 7.0 mmol/L 作为 T2DM 大鼠模型成功标准^[3]。

1.4.2 实验动物分组 糖尿病大鼠随机分成 5 组,每组 12 只,分别为模型组、二甲双胍组 (0.2g/kg)、EEK 低、中、高 (0.25,1 和 2 g/kg) 剂量组。每天以 10 mL/kg 灌胃给药 1 次,连续 4 周。模型组给等体积 1%羧甲基纤维素钠溶液。上述 5 组动物在给药期间以高脂饲料喂养。

1.5 病理检查

末次给药后第二天处死动物,剪取大鼠肝脏和胰腺组织,以 4%甲醛溶液固定。组织经脱水、透明、浸蜡、包埋后,切成片厚 4 μ m 的切片,常规脱蜡至水和 H-E 染色后封片,显微镜下观察和拍照。

2 结果

2.1 EEK 对 T2DM 大鼠肝脏病理结构的影响

正常对照组大鼠肝小叶结构清晰,肝细胞索排列整齐且呈放射状,肝窦正常,胞核结构清晰。肝细胞、内皮细胞、肝小叶及血管形态或结构均正常。T2DM 模型组大鼠肝组织结构紊乱,肝细胞索状结构消失,绝大部分肝细胞高度肿胀,发生气球样变性,部分细胞出现脂肪变性,出现脂肪空泡,部分肝细胞发生坏死。二甲双胍组肝细胞结构紊乱程度有所减轻,但大部分肝细胞仍高度肿胀,发生气球样变性,部分细胞发生脂肪变性,部分肝细胞发生坏死。EEK 低剂量组与模型组相比,大鼠肝细胞结构紊乱程度有所减轻,大部分肝细胞仍高度肿胀,发生气球样变性,部分细胞发生脂肪变性,部分肝细胞发生坏死。EEK 中剂量组肝细胞结构中轻度紊乱,部分肝细胞肿胀,少量细胞发生脂肪变性。EEK 高剂量组肝细胞结构轻度紊乱,部分肝细胞索恢复,但仍有少量肝细胞发生肿胀,少量细胞发生脂肪变性,见图 1。

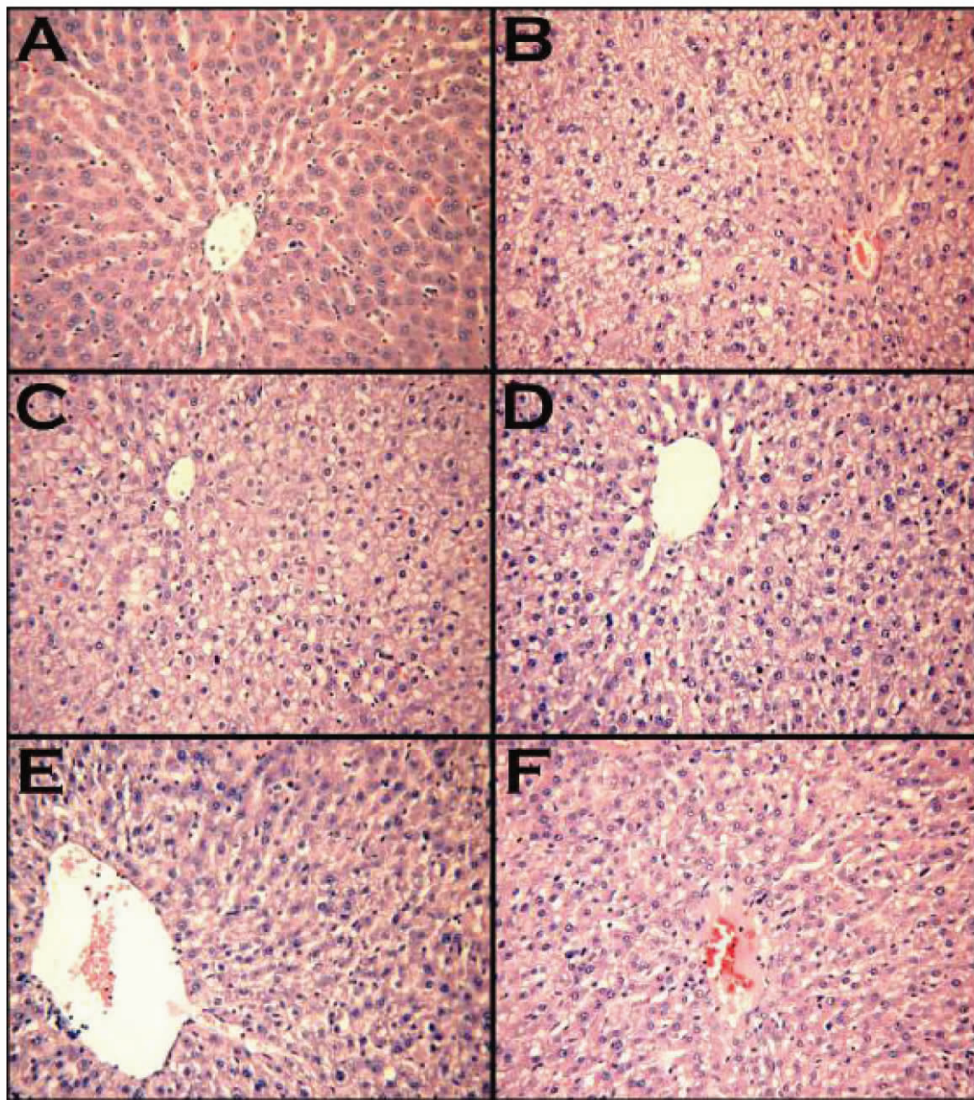


图 1 EEK 对 T2DM 大鼠肝脏病理结构的影响 (200 $\times$)

Fig.1 Effect of EEK on hepatic pathological structure of T2DM rats (200 $\times$)

注: A) 正常对照组 B) T2DM 模型组 C) 0.2 g/kg 二甲双胍组 D) 0.25 g/kg EEK 剂量组 E) 1 g/kg EEK 剂量组 F) 2 g/kg EEK 剂量组

Note: A) control group B) T2DM model group C) 0.2 g/kg metformin group D) 0.25 g/kg EEK group E) 1 g/kg EEK group F) 2 g/kg EEK group

2.2 EEK 对 T2DM 大鼠胰腺病理结构的影响

正常对照组胰岛多为圆形或椭圆形的细胞团,分散于胰腺腺泡之间,胰岛边界清晰,无包膜,细胞团的大小不一,胰岛细胞为多边形,排列整齐,分布均匀,胞浆淡染呈浅粉红色,核多为圆形深染。T2DM 模型组胰岛细胞可见不同程度的肿胀和空泡样变性,边界不清,细胞核大小不等,细胞数量明显减少,排列紊乱,部分细胞发生核固缩和坏死。二甲双胍组胰岛细胞形态结构有所改善,细胞数目增多,排列较整齐,胞浆分布均匀,

部分细胞发生肿胀和空泡变性,少数细胞发生核固缩和坏死。EEK 低剂量组胰岛细胞可见不同程度的肿胀和空泡样变性,边界不清,细胞核大小不等,细胞数量明显减少,排列紊乱,部分细胞发生核固缩和坏死。EEK 中剂量组胰岛细胞肿胀和空泡样变性的程度有所减轻,细胞数目增多,排列较整齐,少数细胞发生核固缩和坏死。EEK 高剂量组部分胰岛细胞发生肿胀和空泡样变性,细胞数目增多,排列较整齐,少数细胞发生核固缩和坏死。见图 2。

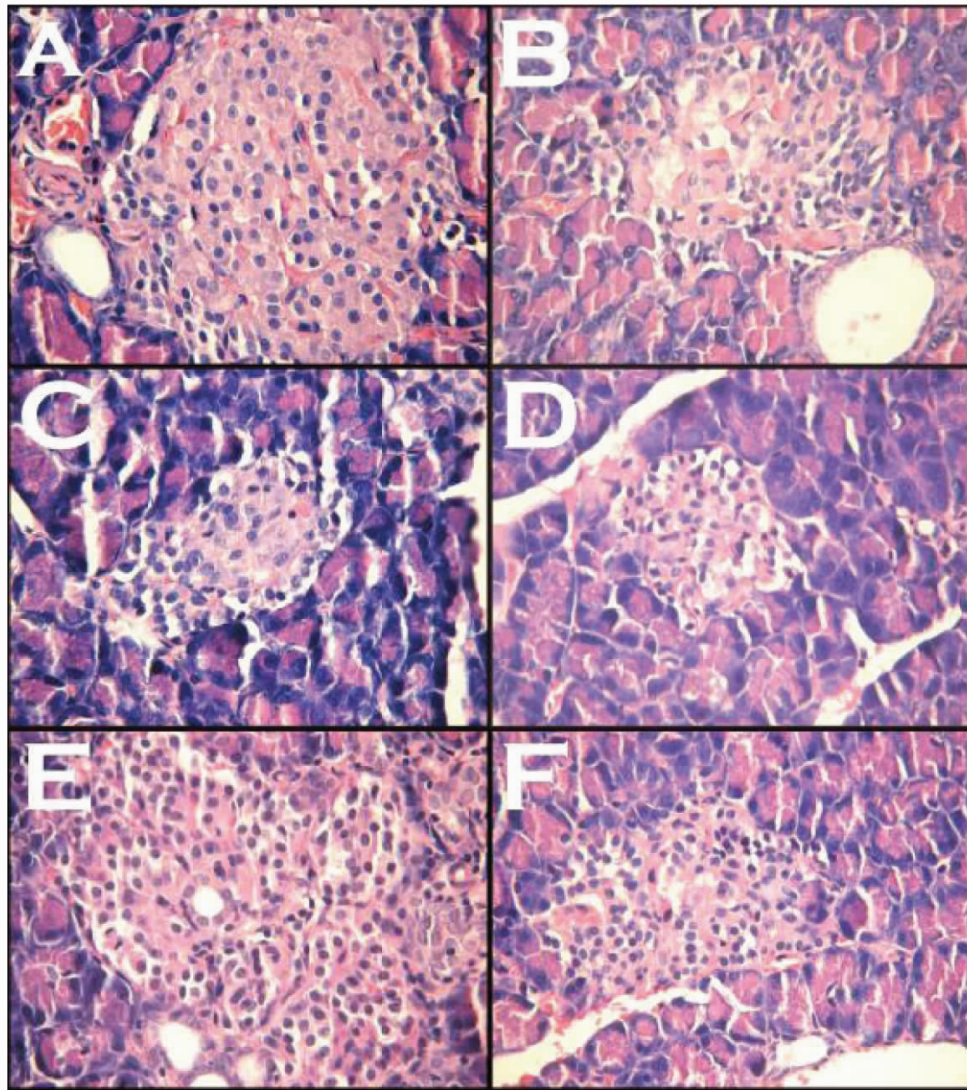


图 2 EEK 对 T2DM 大鼠胰腺病理结构的影响 (400×)

Fig.2 Effect of EEK on pancreatic pathological structure of T2DM rats (400×)

注 :A) 正常对照组 B) T2DM 模型组 C) 0.2 g/kg 二甲双胍组 D) 0.25 g/kg EEK 剂量组 E) 1 g/kg EEK 剂量组 F) 2 g/kg EEK 剂量组 Note: A) control group B) T2DM model group C) 0.2 g/kg metformin group D) 0.25 g/kg EEK group E) 1 g/kg EEK group F) 2 g/kg EEK group

3 讨论

链脲佐菌素是不产色链霉菌自然产生的化合物,具有抗菌活性和细胞毒性。STZ 对胰岛 β 细胞有高度选择性毒性,与 β 细胞高表达葡萄糖转运体 2 (GLUT2) 有关,后者也同样高表达于肝脏、肾脏、小肠等器官^[5]。GLUT2 可加速和提高细胞膜对 STZ 摄取效率^[6]。摄入胰岛 β 细胞的 STZ 可通过产生 NO 和甲

基化 DNA 方式损伤 DNA,从而导致 β 细胞坏死或凋亡^[7,8]。此外,STZ 还可抑制 O- 连接 N- 乙酰葡萄糖胺糖苷酶,使氮乙酰葡萄糖胺在 β 细胞内蓄积,从而阻止胰岛素分泌^[9]。因此,STZ 是建立动物糖尿病模型的良好诱导剂,高脂膳食加小剂量 STZ 腹腔注射更是诱导 2 型糖尿病模型的经典方法之一^[10]。

在上述方法建立的大鼠 T2DM 模型上,秋荔枝乙醇提取

物 (EEK) 升高 T2DM 大鼠肝脏的 SOD、CAT、GSH-Px 等抗氧化酶活性^[4],并降低 T2DM 大鼠血糖和血脂至正常水平^[3]。然而目前尚未有从病理形态学研究 EEK 对 T2DM 影响的报道。本文之所以选择胰腺和肝脏,因为它们均高表达 GLUT2,且胰腺是 STZ 的主要作用靶器官,而肝脏是 STZ 给药后的主要分布脏器,因此高脂膳食加小剂量 STZ 诱导实验性 T2DM 容易引起胰腺和肝脏损伤。在本研究中,T2DM 大鼠肝脏和胰岛组织结构均排列紊乱,细胞发生肿胀和空泡样变性,部分细胞坏死,这与李静、苏明丽、王芳等以 STZ 诱导的大鼠糖尿病模型的肝脏和胰岛病理结构改变一致^[11-13]。本文令人意想不到的是,随着 EEK 剂量的增加,肝脏和胰岛组织结构紊乱、细胞肿胀等病理损伤逐步减轻,表明 EEK 有助于实验性 T2DM 大鼠中受损肝脏和胰腺组织的修复。虽然 EEK 在其中的作用机制还不清楚,但氧化损伤被广泛认为是 STZ 诱导实验性 T2DM 的途径之一^[14],因此 EEK 的抗氧化活性可能参与受损肝脏和胰腺组织的修复。

参考文献 (References)

- [1] 陈铁寓, 龙盛京. 红树植物秋茄茎皮的化学成分[J]. 华西药理学杂志, 2006, 21(2): 129-131
Chen Tie-yu, Long Sheng-jing. The chemical constituents in mangrove *Kandelia candel*[J]. West China Journal of Pharmaceutical Sciences, 2006, 21(2): 129-131
- [2] 陈虹, 金国虔, 李萍, 等. 红树植物秋茄提取物的体外抑菌与抗肿瘤活性[J]. 中国海洋药物杂志, 2008, 27(5): 15-17
Chen Hong, Jin Guo-qian, Li Ping, et al. Antimicrobial and antitumor activities of extracts from the roots of *Kandelia candel* [J]. Chinese Journal of Marine Drugs, 2008, 27(5): 15-17
- [3] 黄绵庆, 王小蒙, 王世雄, 等. 秋茄枝乙醇提取物改善 2 型糖尿病大鼠血糖和血脂异常[J]. 中国海洋药物杂志, 2011, 30(2): 49-52
Huang Mian-qing, Wang Xiao-meng, Wang Shi-xiong, et al. Ethanol extract from *Kandelia Candel* Trunk improves abnormal blood glucose and fat in type 2 diabetes mellitus rats[J]. Chinese Journal of Marine Drugs, 2011, 30(2): 49-52
- [4] 黄绵庆, 王小蒙, 王世雄, 等. 秋茄枝乙醇提取物对 2 型糖尿病大鼠肝脏氧化损伤的保护作用 [J]. 时珍国医国药, 2011, 22(9): 2237-2238
Huang Mian-qing, Wang Xiao-meng, Wang Shi-xiong, et al. Protective Effect of Ethanol Extract from *Kandelia Candel* Trunk on Hepatic Oxidative Damage of Type 2 Diabetes Mellitus Rats [J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2011, 22(9): 2237-2238
- [5] Leturque A, Brot-Laroche E, Le Gall M. GLUT2 mutations, translocation, and receptor function in diet sugar managing [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2009, 296(5): E985-992
- [6] Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas[J]. Physiol Res, 2001, 50(6): 537-554
- [7] Koo KB, Suh HJ, Ra KS, et al. Protective effect of cyclo (his-pro) on streptozotocin-induced cytotoxicity and apoptosis in vitro[J]. J Microbiol Biotechnol, 2011, 21(2): 218-227
- [8] Bathaie SZ, Sedghoo F, Jafarnejad A, et al. Spectroscopic studies of STZ-induced methylated-DNA in both in vivo and in vitro conditions [J]. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc, 2008, 71(3): 803-808
- [9] Pathak S, Dorfmueller HC, Borodkin VS, et al. Chemical dissection of the link between streptozotocin, O-GlcNAc, and pancreatic cell death [J]. Chem Biol, 2008, 15(8): 799-807
- [10] Lu HE, Jian CH, Chen SF, et al. Hypoglycaemic effects of fermented mycelium of *Paecilomyces farinosus* (G30801) on high-fat fed rats with streptozotocin-induced diabetes[J]. Indian J Med Res, 2010, 131: 696-701
- [11] 李静, 刘德义. 丹参对链脲佐菌素糖尿病大鼠肝和肾组织结构的影 响[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(21): 11162-11164
Li Jing, Liu De-yi. Effect of *Salvia miltiorrhiza* Bunge on the Organization Structure of Liver and Kidney in Diabetic Rats Induced by STZ [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2010, 38(21): 11162-11164
- [12] 苏明丽, 王怀清, 雷银雪, 等. 链脲佐菌素对大鼠胰岛 β 细胞结构及超微结构损伤的特点[J]. 中国医药导报, 2008, 10(8): 1422-1424
Su Ming-li, Wang Huai-qing, Lei Yin-xue, et al. Structural and Ultra-microstructural Changes of Beta-cells Induced by Streptozotocin in Rats [J]. Chinese Journal of Medicinal Guide, 2008, 10(8): 1422-1424
- [13] 王芳, 朱名安, 胡清, 等. 链脲佐菌素对鼠胰腺病理学的影响[J]. 实用诊断与治疗杂志, 2008, 22(4): 288-289
Wang Fang, Zhu Ming-an, Hu Qing, et al. Pathological effect of streptozotocin on murine pancreas [J]. Journal of Practical Diagnosis and Therapy, 2008, 22(4): 288-289
- [14] Sefi M, Fetoui H, Lachkar N, et al. *Centaurium erythraea* (Gentianaceae) leaf extract alleviates streptozotocin-induced oxidative stress and β -cell damage in rat pancreas [J]. J Ethnopharmacol, 2011, 135(2): 243-250