

玉米须总皂苷对链脲佐菌素致糖尿病大鼠肾脏、胰腺、胸腺组织细胞病变的影响

苗明三,苗艳,纪晓宁,刘会丽 (河南中医学院,郑州 450008)

摘要:目的 探讨玉米须总皂苷对链脲佐菌素致糖尿病大鼠肾脏、胰腺、胸腺组织形态的影响。方法 以尾静脉注射链脲佐菌素 $60\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 造成的糖尿病模型大鼠为研究对象,将模型大鼠分为5组,分别灌服大、中、小剂量的玉米须总皂苷溶液、二甲双胍溶液和同体积生理盐水,另设一组空白对照组,给予同体积生理盐水。每天给药1次,连续给药30 d,于第30天测空腹血糖值,然后处死大鼠,取肾脏、肾脏、胸腺作常规病理切片,镜检。结果 玉米须总皂苷可降低模型大鼠血糖水平,可对抗造模大鼠胰岛细胞中 β 细胞的萎缩,减轻造模所致的肾脏损伤,可对抗造模所致的胸腺萎缩。结论 玉米须总皂苷有很好地降糖作用,并且对STZ致糖尿病动物模型所引起的肾脏损伤有保护作用,对抗模型大鼠的胰岛、胸腺细胞萎缩。

关键词:玉米须总皂苷;糖尿病模型;组织病变;保护作用

中图分类号:R285.6 文献标识码:A 文章编号:1007-7693(2007)03-0171-03

Cytopathic Effect of ZMLS on the Kidney, Abdominal Salivary Gland, Thoracic Gland Tissue of Diabetic Rat Induced by Streptozocin

MIAO Ming-san, MIAO Yan, JI Xiao-ning, LIU Hui-li (Henan TCM College, Zhengzhou 450008, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the effect of Saponin extracted from *Zea Mays L* (ZMLS) on the morphologies of kidney, abdominal salivary gland, thoracic gland tissue for diabetic model rat induced by streptozocin (STZ). **METHODS** The diabetic model rats were established by the intravenous injection of $60\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ streptozocin (STZ) via tail vein, and was divided into 5 groups. They were high, middle and low dose of ZMLS groups, metformin group and the control group of normal saline. The model rat was irrigated relevant drugs one time every day, for 30 days. measure The level of blood glucose in fasted rats was measured at the 30th day. The kidney, abdominal salivary gland and thoracic gland tissue were then taken to subject the convention pathological section for the morphological observation under microscope. **RESULTS** ZMLS can lower the level of blood glucose, counteract the atrophy of β cell in abdominal salivary gland and thymic cortex, and ameliorate the injury of the renal. **CONCLUSION** ZMLS has good action of decreasing blood glucose, can prevent renal injury induced by STZ and postpones the course of diabetic nephropathy in some extent.

KEY WORDS: ZMLS; diabetic model; pathological change; protection

玉米须为禾本科植物玉蜀黍 *Zea may L.* 的干燥花柱和柱头,性平,味甘,具有利水消肿,利湿退黄之功。玉米须为一利水渗湿药,而在民间用于治疗糖尿病已有悠久的历史,疗效较好,有报道玉米须煎剂有好的降糖作用^[1-2];我们的前期研究也表明玉米须总皂苷对多种糖尿病动物模型有较好的降糖作用^[3]。链脲佐菌素能建立很好的糖尿病模型,但该模型的相关脏器会不会受到影响,缺少相应实验资料。笔者报道链脲佐菌素糖尿病模型大鼠肾脏、胰腺和胸腺组织病理变化和玉米须总皂苷对相关组织的影响。

1 实验材料

1.1 实验动物

大鼠, Wistar, 雄性, 体重: $165\sim185\text{ g}$, 均由河南医学动物实验中心提供, 许可证号: 410117; 实验室为河南中医学院动

物实验中心, 实验室合格证号豫医动字 02002; 实验室温度 $20\sim25^{\circ}\text{C}$, 湿度 $60\%\sim80\%$; 动物自由饮食。

1.2 试剂药品

玉米须总皂苷(玉米须为禾本科植物玉蜀黍 *Zea may L.* 的干燥花柱和柱头, 干燥的玉米须以 $70\%\text{ EtOH}$ 回馏提取3次, 滤过, 合并滤液回收乙醇, 浓缩, 以石油醚萃取脱脂, 水层以水饱和正丁醇萃取, 减压蒸干正丁醇, 得玉米须总皂苷)由河南中医学院化学实验室提供, 含量近 60% ; 盐酸二甲双胍片, 批号 040602, 0.25 g 片; 链脲佐菌素, Sigma 公司; 葡萄糖测定试剂盒, 浙江东欧生物有限公司, 批号 041001。

1.3 实验仪器

UV-2000分光光度计, 尤尼柯(上海)仪器有限公司; TGL-16G高速冷冻离心机, 上海安亭科学仪器厂。

2 实验方法与结果

取大鼠 100 只,禁食 12 h 后尾静脉注射链脲佐菌素 60 mg• kg⁻¹ (用 pH 为 4.2 的枸橼酸缓冲液配制),另选 10 只设为完全空白对照组,尾静脉注射等体积的枸橼酸缓冲液。第 10 天尾部取血测血糖值,选取血糖值 >11.1 mmol• L⁻¹ 并具有明显多饮、多食、多尿症状的大鼠 50 只,按血糖值随机均分为 5 组,分别灌大、中、小剂量玉米须总皂苷 (200, 100, 50 mg• kg⁻¹, 配成浓度为 20, 10, 5 mg• mL⁻¹, 灌胃体积均为 0.01 mL• g⁻¹),二甲双胍片 250 mg• kg⁻¹ (25 mg• mL⁻¹, 0.01 mL• g⁻¹),模型组与空白对照组给予同体积生理盐水,每天给药 1 次,连续给药 30 d,于第 30 天给药后 2 h (禁食后 6 h),按血糖试剂盒说明书测血糖值,然后处死大鼠,取胰脏、肾脏、胸腺作常规病理切片,镜检^[4-5]。用 SPSS 13.0 for windows 统计软件进行分析,实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计量资料组间比较采用单因素方差分析,等级资料采用 Ridit 分析。血糖测定结果见表 1,肾脏和胰脏组织病理观察见表 2,胸腺组织病理观察见表 3。

从表 1 可以看出:与空白组比,模型组血糖水平显著高于空白组 ($P < 0.01$),说明链脲佐菌素造糖尿病模型成功。

表 2 玉米须总皂苷对糖尿病模型大鼠肾脏和胰脏组织的影响 ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Tab 2 Effect of ZMLS on the Kidney and abdominal salivary gland in diabetic rat model ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量 /g• kg ⁻¹	肾脏				胰脏			
		-	+	++	+++	-	+	++	+++
空白组		8	2	0	0	10	0	0	0
模型组		0	0	10	0	0	0	2	8
二甲双胍组	0.25	10	0	0	0	0	4	6	0
ZMLS 组	0.2	1	3	6	0	6	2	2	0
	0.1	10	0	0	0	8	2	0	0
	0.05	3	2	5	0	4	4	2	0

注:肾脏栏下的“-”为肾小管上皮细胞和肾小球及间质均正常;“+”肾小管上皮细胞有轻度水肿;“++”肾小管上皮细胞广泛水肿,间质伴有炎细胞浸润;“+++”肾小管上皮细胞广泛水肿和间质大量炎细胞浸润及肾小球细胞增生,肾小囊腔变窄。胰脏栏下的“-”为胰岛细胞主要 β 细胞胞浆均丰富饱满;“+”为胰岛细胞主要 β 细胞出现 2~4 个细胞萎缩,细胞胞浆明显减少;“++”为胰岛细胞主要 β 细胞出现 5~9 个细胞萎缩,细胞胞浆明显减少;“+++”为胰岛细胞 β 细胞出现 10 个以上的细胞萎缩,胞浆明显减少。

肾脏:空白组、模型组、二甲双胍组、ZMLS 大剂量、中剂量、小剂量组 \bar{R} 分别为 0.332, 0.825, 0.267, 0.699, 0.267, 0.611; μR 95% 置信区间分别为 (0.153, 0.511), (0.646, 1.004), (0.088, 0.446), (0.52, 0.878), (0.088, 0.446), (0.432, 0.79); 胰脏空白组、模型组、二甲双胍组、ZMLS 大剂量、中剂量、小剂量组 \bar{R} 分别为 0.234, 0.901, 0.687, 0.407, 0.301, 0.474; μR 95% 置信区间分别为 (0.055, 0.413), (0.722, 1.08), (0.508, 0.866), (0.228, 0.586), (0.122, 0.48), (0.295, 0.653)。

Note: “-” express renal tubular epithelial cell, acinus renis and interstitial substance are normal; “+” express renal tubular epithelial cell has light oedema; “++” express renal tubular epithelial cell has generally oedema, interstitial substance has phlegmasia cell infiltrating; “+++” express renal tubular epithelial cell has generally oedema, interstitial substance has wide phlegmasia cell infiltrating, acinus renis cellular proliferation and Bowman's space grow narrowing. “-” express the main β cell endochylema of islet cell is abundant; “+” express 2~4 β cell endochylema of islet cell are anolysis, cell endochylema is obviously decrease; “++” express 5~9 β cell endochylema of islet cell are anolysis, cell endochylema is obviously decrease; “+++” express more than 10 β cell endochylema of islet cell are anolysis, cell endochylema is obviously decrease. (Standard above are established by pathology staff room of Henan TCM College)

从表 2 可看出:空白组大鼠的肾小球、肾小管上皮细胞及间质基本正常。模型组大鼠肾脏广泛的肾小管上皮细胞水肿和间质不同程度的炎细胞浸润,经 Ridit 检验 $P < 0.01$,

与模型组比,大、中剂量玉米须总皂苷和二甲双胍均可显著降低第 30 天血糖值 ($P < 0.01$),小剂量玉米须总皂苷有降低血糖趋势。

表 1 玉米须总皂苷对糖尿病模型大鼠血糖的影响 ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Tab 1 Effect of ZMLS on the level of blood glucose in diabetic rat model ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量 /g• kg ⁻¹	血糖 /mmol• L ⁻¹	
		开始血糖	第 30 天
空白组		7.661 \pm 0.506 ¹⁾	4.526 \pm 0.544 ¹⁾
模型组		15.147 \pm 3.322	20.731 \pm 3.185
二甲双胍组	0.25	16.293 \pm 4.056	11.819 \pm 2.389 ¹⁾
ZMLS 组	0.2	16.436 \pm 2.505	13.799 \pm 2.941 ¹⁾
	0.1	15.957 \pm 4.684	11.523 \pm 2.174 ¹⁾
	0.05	14.244 \pm 2.955	17.296 \pm 6.254

注:与模型组比,¹⁾表示 $P < 0.01$

Note: Compared with the model group, ¹⁾ $P < 0.01$

说明造模大鼠的肾脏发生损伤。与模型组比,二甲双胍组中肾小球、肾小管上皮细胞及间质基本正常 ($P < 0.01$);大剂量玉米须总皂苷可部分改善肾小管上皮细胞的广泛水肿和间

质炎细胞的浸润 ($P > 0.05$);中剂量玉米须总皂苷可保护肾小球、肾小管上皮细胞,使其得到显著改善 ($P < 0.01$);小剂量玉米须总皂苷对肾小管上皮细胞出现的水肿、肾小球出现的细胞增生及肾小囊变窄有改善的趋势 ($P > 0.05$)。结果提示:中剂量玉米须总皂苷组和二甲双胍组对链脲佐菌素所致模型大鼠的肾脏损伤有较好的保护作用。

从表 2也可看出:空白组大鼠各胰岛细胞中的 β 细胞胞浆丰富饱满,模型组大鼠胰岛细胞中 β 细胞明显萎缩,胞浆明显减少,经 Ridit 检验 $P < 0.01$,说明造模大鼠胰腺发生损伤。与模型组比,二甲双胍可部分抵抗 β 细胞萎缩,使部分细胞胞浆得到恢复 ($P > 0.05$);大、中剂量玉米须总皂苷可对抗大部分 β 细胞萎缩,使大部分胞浆得到显著改善 ($P < 0.01$);小剂量玉米须总皂苷可对抗部分 β 细胞萎缩,使部分胞浆有所改善 ($P > 0.05$)。结果提示:大、中剂量玉米须总皂苷对链脲佐菌素所致的胰岛损伤有保护作用,作用明显强于二甲双胍组。

表 3 玉米须总皂苷对糖尿病模型大鼠胸腺皮质厚度、淋巴细胞数的影响 ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Tab 3 Effect of ZMLS on the cortex thymi thickness and lymphocyte population in diabetic rat model ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	胸腺皮质厚度 / μm	淋巴细胞数 /个
空白组		26.2 \pm 11.4 ²⁾	47.6 \pm 18.2 ²⁾
模型组		11.2 \pm 2.7	13.8 \pm 4.4
二甲双胍组	0.25	14.6 \pm 3.8 ¹⁾	24.6 \pm 7.6 ²⁾
ZMLS组	0.2	18.8 \pm 7.4 ¹⁾	25.2 \pm 10.4 ²⁾
	0.1	21.6 \pm 10.6 ¹⁾	32.4 \pm 8.6 ²⁾
	0.05	18.6 \pm 4.2 ²⁾	24.8 \pm 6.4 ²⁾

注:与模型组相比,¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$
Note: Compared with the model group,¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$

胸腺皮质厚度及淋巴细胞数的测定方法:用测微尺测得胸腺皮质最宽处和最窄处,求均值为皮质厚度;将测微尺基线压在胸腺皮质上的淋巴细胞计数,求均值为淋巴细胞数。统计方法采用成组资料 t 检验。

从表 3可看出:模型组大鼠的胸腺皮质出现不同程度的皮质厚度变薄、细胞稀疏等病理改变。与模型组比,二甲双胍组、大、中剂量玉米须总皂苷组大鼠胸腺皮质厚度有明显改善 ($P < 0.05$),淋巴细胞数有显著增加 ($P < 0.01$);小剂量玉米须总皂苷组大鼠胸腺皮质厚度、淋巴细胞数均有显著改善 ($P < 0.01$)。

3 讨论

糖尿病 (diabetes mellitus, DM)属中医“消渴”范畴,是以多饮、多食、多尿、身体消瘦、或尿浊、尿有甜味为特征的病症,现代医学认为糖尿病是一种由多种病因引起的慢性代谢

性疾病,其主要病变部位是胰脏,糖尿病肾病和糖尿病继发感染是糖尿病常见并发症,提示糖尿病易致肾脏的病变,也可能导致免疫功能的异常。从形态学方面来看,胰岛体积的大小、胞浆的丰富程度、细胞核的密集程度,均可以反应胰岛 β 细胞的功能。一般胰岛的体积大,胞浆多而丰富,说明产生的胰岛素的功能增强,细胞胞浆明显减少,而胞核非常密集,说明胰岛细胞的功能下降。链脲佐菌素在体内代谢后可产生 $O^{\cdot -}$ 和 NO 自由基,造成胰岛 β 细胞损伤,从而可成功建立糖尿病模型^[1,6]。糖尿病肾病是糖尿病患者最常见的并发症,也是终末期肾病 (ESRD)的首位病因,糖尿病患者病程的 15年后一般都会出现肾脏损伤^[6];胸腺是中枢免疫器官,具有重要的免疫调节功能。但链脲佐菌素是否能导致相应组织的损伤,特别是组织形态的变化,缺少有关实验依据。本实验研究表明,链脲佐菌所致糖尿病模型大鼠不仅胰岛 β 细胞明显萎缩,肾脏出现明显病理变化,肾小管上皮细胞呈现明显的损伤,胸腺也明显萎缩。玉米须总皂苷对链脲佐菌素造成的糖尿病模型有很好改善作用,可显著降低模型大鼠血糖,对链脲佐菌素所致糖尿病模型大鼠的脏器病变有好的保护作用,能明显对抗胰岛 β 细胞和胸腺的萎缩,能够使大鼠胰岛细胞胞浆丰富、使大鼠胸腺皮质厚度增加、淋巴细胞数增加,显著减轻肾脏的损伤,减轻肾小管上皮细胞水肿和间质不同程度的炎细胞浸润。提示玉米须总皂苷不仅有好的降糖作用,也能显著改善糖尿病并发的肾脏病变和免疫异常。

参考文献

[1] LIU Q, LI R. the effect of Maize Silk on debasing blood sugar in natural and diabetic mice model [J]. Chin Tradit Herb Med (中草药), 1997, 28 (6): 379.
[2] LI W, CHEN Y L, YANG M. the experimental investigation of Maize Silk on debasing blood sugar [J]. Chin Tradit Herb Med (中草药), 1995, 26 (6): 305.
[3] MIAO M S, SUN Y H. The investigation of ZMLS on debasing blood sugar [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2004, 29 (7): 711.
[4] DU G H, LI X J, ZHANG Y X. Experiment enchriridion of pharmacology-new medicine discover and pharmacological appraisalment (药理学实验指南—新药发现和药理学评价) [M]. Vol1. Beijing: Science Publishing Company, 2001: 700.
[5] GUO X H. Type 2 diabetes mellitus induced by diets and its features of renal involvement in rat [J]. Chin J Diabetes (中国糖尿病杂志), 2002, 10 (5): 92.
[6] ZHAO F P, ZHANG J H. The discussion of diabetes pathogenesis [J]. Gansu J Tradit Chin Med (甘肃中医), 2001, 14 (4): 43.

收稿日期: 2006-04-14