

红景天苷对百草枯中毒大鼠肺组织 TGF- β 1 表达的影响

张卓一¹, 吴立群², 丁黎敏¹, 徐佩颖¹, 陆如凤¹, 周晶晶¹, 黄小民¹ (1.浙江省中医院, 杭州 310006; 2.台州市中心医院, 浙江 台州 317000)

摘要: 目的 研究红景天苷(salidroside, SDS)对百草枯(paraquat, PQ)中毒大鼠肺组织 TGF- β 1 表达的影响。方法 将 130 只 SD 大鼠随机分为正常对照组、模型对照组、SDS 治疗组, 后 2 组又分为 1, 3, 7, 14, 21, 28 d 6 个亚组, 每亚组 10 只。模型对照组和 SDS 治疗组采用一次性灌胃百草枯溶液(20 mg·mL⁻¹)制备急性 PQ 中毒肺损伤模型, 染毒 1 h 后分别给予相同体积的生理盐水、SDS(10 mg·mL⁻¹)腹腔注射。各组在相应时间点取材, 采用免疫组化、RT-PCR 测定肺组织中转化生长因子 β 1(TGF- β 1)及其 mRNA 的表达情况。结果 免疫组化结果显示, 与正常对照组比较, 模型对照组、SDS 治疗组肺组织 TGF- β 1 表达显著增加($P<0.05$), 在第 14 天达到最大值。与模型对照组各时间点比较, SDS 治疗组中 TGF- β 1 的表达量低, 两者差异有统计学意义($P<0.05$)。RT-PCR 结果显示模型组与 SDS 治疗组染毒后第 1 天大鼠肺组织 TGF- β 1 mRNA 水平开始增加, 在第 14 天达到最高值, 第 28 天基因表达恢复正常。第 3 天至第 28 天 SDS 治疗组 TGF- β 1 mRNA 表达量比模型对照组低, 两者比较差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 TGF- β 1 参与了 PQ 中毒大鼠肺纤维化病理生理过程, SDS 能抑制 TGF- β 1 的表达, 减轻 PQ 中毒大鼠肺损伤。

关键词: 红景天苷; 百草枯中毒; 急性肺损伤; 转化生长因子- β 1

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2014)11-1308-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.11.003

Effect of Salidroside on the Expression of TGF- β 1 in Lung Tissue of Acute Paraquat Poisoned Rats

ZHANG Zhuoyi¹, WU Liquan², DING Limin¹, XU Liying¹, LU Rufeng¹, ZHOU Jingjing¹, HUANG Xiaomin¹ (1.Zhejiang Provincial Traditional Chinese Medicine Hospital, Hangzhou 310006, China; 2.Taizhou Central Hospital, Taizhou 317000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the effect of salidroside(SDS) on the expression of transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) in lung tissue of acute paraquat(PQ) poisoned rats. **METHODS** All of 130 SD rats were randomly divided into normal control group, model group and SDS group, the latter two groups were then divided into 1, 3, 7, 14, 21, 28 d group. The rats of model group and SDS group were given a single dose of PQ(20 mg·mL⁻¹) intraperitoneally to induce lung injury, and after 1 h, the same volume of saline and SDS(10 mg·kg⁻¹) was intragastrically administrated respectively per 12 h. The rats were executed in each time point, and use methods of immune histochemistry and real-time PCR to observe the TGF- β 1 expression of both protein and mRNA level. **RESULTS** The expression of TGF- β 1 in model group and SDS group were significantly increased compared with normal control group, and peaked at 7 d after injected PQ intraperitoneally. Compared with model group, the expression of TGF- β 1 was lower in different time points($P<0.05$). The level of TGF- β 1 mRNA was increased at the first day, peaked at the 14th day and then returned to normal at the 28th day. Compared with model group, the level TGF- β 1 mRNA was lower in SDS group from the 3th day to 28th day($P<0.05$). **CONCLUSION** TGF- β 1 is involved in the pathological and physiological process of pulmonary fibrosis. SDS can inhibit its expression, and alleviate the lung injury induced by PQ.

KEY WORDS: salidroside; paraquat poisoning; acute lung injury; TGF- β 1

百草枯(paraquat, PQ)是一种易溶于水, 有触杀和传导性作用的接触性除草剂, 与土壤接触后很快失效, 对土壤没有伤害作用。随着 PQ 在农业中的广泛应用, PQ 中毒事件日益增多。PQ 中毒后可波及多器官系统, 其中以急性肺损伤最为显著, 甚至当血液中的 PQ 浓度开始下降时, 其在肺组织中仍继续蓄积存留^[1]。PQ 中毒的幸存者, 大

多会遗留限制性肺通气功能障碍^[2]。因此寻找一种合理有效的关于 PQ 中毒后肺损伤的治疗手段势在必行。红景天苷(salidroside, SDS)作为藏药红景天的主要有效成分之一, 能够抑制急性肺损伤过程中炎性细胞因子的活性, 对脂多糖(LPS)诱导的急性肺损伤具有明显治疗作用^[3]。本课题组前期实验也证实 SDS 对 PQ 中毒大鼠急性肺损伤具有保

基金项目: 浙江省中医药科技计划项目(2013ZA056、2012ZB039); 浙江省医药卫生科技计划项目(2013KYA141)

作者简介: 张卓一, 女, 硕士, 副主任医师 Tel: 13858190336

E-mail: zhangzhuoyi701213@163.com

护作用,在此基础上,本研究进一步观察 PQ 中毒大鼠肺组织转化生长因子- $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$)mRNA 表达水平,探讨 SDS 对 PQ 中毒大鼠急性肺损伤的保护作用及其机制。

1 材料与方法

1.1 动物

清洁级健康 SD 大鼠,♀,130 只,体质量 190~210 g,由浙江中医药大学实验动物中心提供,并在清洁级环境下正常饲养。动物生产许可证号:SCXK(浙)2008-0022,动物使用许可证号:SYXK(浙)2008-0115,并已通过伦理审批。动物采用标准颗粒饲料和标准饮用水按常规饲养。

1.2 材料

PQ(山东三元工贸有限公司,20%浓度,批号:GB19308-2003);SDS(中国药品生物制品检定所,批号:CY90076,纯度>98%);TGF- $\beta 1$ 试剂盒(Santa Cruz 公司,批号:SC-146);免疫组化试剂盒(中衫金桥公司,批号:PV-9001);逆转录试剂盒(TaKaRa 公司,批号:RR014A);多功能真彩色细胞图像分析管理系统(美国 Media Cybernetics 公司)。

1.3 动物分组和模型制备

将实验大鼠随机分为 13 组,每组 10 只:正常对照组、模型对照组(共 6 组,分别为 PQ 染毒后 1 d 组、3 d 组、7 d 组、14 d 组、21 d 组、28 d 组)、SDS 治疗组(共 6 组,分别为 SDS 治疗后 1 d 组、3 d 组、7 d 组、14 d 组、21 d 组、28 d 组)。采用一次性灌胃 PQ 溶液的方法制备急性 PQ 中毒肺损伤模型,PQ 溶液给药浓度 $20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。模型对照组灌胃 PQ 溶液;正常对照组予腹腔注射等容积的生理盐水;PQ 染毒后 1 h,SDS 治疗组予腹腔注射 SDS $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,每隔 12 h 注射 1 次,2 次 $\cdot\text{d}^{-1}$ 。

1.4 标本采集与检测

正常对照组于第 1 天麻醉后直接处死大鼠;模型对照组和 SDS 治疗组分别在染毒后 1,3,7,14,21,28 d 经腹腔注射 10%水合氯醛麻醉处死大鼠,取右中上肺组织于 -70°C 冰箱中保存待测。

1.4.1 肺组织病理检测结果 右中上肺组织用 4%甲醛固定,石蜡包埋,行苏木素-伊红(HE)染色,光镜下观察肺组织病理学变化。

1.4.2 免疫组化法测定肺组织中 TGF- $\beta 1$ 表达及进行免疫组化评分 取各组动物组织尽可能新鲜,磷酸盐缓冲液(PBS)洗,取 $<0.5 \text{ cm}\times 0.5 \text{ cm}\times$

0.1 cm 组织块;固定和包埋:用 4%多聚甲醛($0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PBS, pH 7.0~7.6,含 0.1%DEPC)进行固定,经乙醇 30 min、80%乙醇 30 min、90%乙醇 30 min 2 次、95%乙醇 30 min 2 次、100%乙醇 30 min 2 次、二甲苯透明 30 min 2 次、 55°C 石蜡中 30 min 2 次、用铜制模具包埋组织块;切片:将厚度 $5 \mu\text{m}$ 的组织切片附于经多聚赖氨酸附膜的载玻片上, 60°C 过夜;脱蜡、入水:将切片浸于二甲苯中 5 min 2 次、100%乙醇 5 min 2 次、95%乙醇 5 min 2 次、90%乙醇 5 min 2 次、85%乙醇 5 min 2 次、75%乙醇 5 min 2 次、自来水冲洗、PBS 洗 2 次;1%甲醇双氧水,室温 10 min,蒸馏水洗 1 次,PBS 洗 3 次 $\times 5 \text{ min}$;切片上滴加抗原修复液,室温 10 min,PBS 洗 3 次 $\times 5 \text{ min}$;切片上滴加正常山羊血清封闭液,室温 20 min。甩去多余液体,不洗。切片上滴加第一抗体(一抗稀释比例为:1:100), 4°C 过夜,PBS 洗 3 次 $\times 5 \text{ min}$ 。切片上滴加生物素化第二抗体(IgG), 37°C 20 min,PBS 洗 3 次 $\times 5 \text{ min}$ 。切片上滴加辣根酶标记链霉卵白素工作液(S-A/HRP) 37°C 20 min,PBS 洗 3 次 $\times 5 \text{ min}$ 。DAB 显色:使用 DAB 显色试剂盒 1 mL 蒸馏水加显色剂 A、B、C 各 1 滴,混匀,加至标本上,显色 6 min,充分水洗。苏木素复染细胞核 1 min,充分水洗、1%盐酸酒精分化、1%胺水反蓝、充分水洗、经 70%乙醇 5 min、80%乙醇 5 min、90%乙醇 5 min 2 次、95%乙醇 5 min 2 次、100%乙醇 5 min 2 次脱水、二甲苯透明 5 min 2 次、中性树脂封片。显微镜观察:选择实验组和对照组的阳性和阴性组织相进行 400 倍的显微照相。图象分析:选择有意义的组织相,经登录、编号、采集、分析、读取数据、最后存盘。

1.4.3 肺组织中 TNF- $\beta 1$ 基因表达的测定 用 Trizol 一步法抽提肺组织总 RNA,根据引物设计原理和在 Pubmed 数据库中查找待检测基因的 DNA、mRNA 及内参 GAPDH 序列,采用引物设计软件 Primer Premier 5.0 设计上游和下游引物;采用荧光定量 RT-PCR 法检测 TNF- $\beta 1$ 表达量。引物序列见表 1。

1.5 统计学处理

实验数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 SPSS 统计软件 17.0 进行分析。各组间数据比较采用 One-way ANOVA,两两比较用最小的显著差异法分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 荧光实时定量 PCR 反应各个基因特异性引物
Tab. 1 Real-time PCR reactions for each gene-specific primers

片段	引物	序 列	片段长度/bp
TNF-β1	TNF-β1-F	5'-GAGATGCAATGCTATTCCT-3'	101
	TNFβ1-R	5'-CGACGTCACAGCGCACTT-3'	
GAPDH	GAPDH-F	5'-CCTCAAGATTGTCAGCAAT-3'	141
	GAPDH-R	5'-CCATCCACAGTCTTCTGAGT-3'	

2 结果

2.1 大鼠 PQ 中毒表现

大鼠染毒后 0.5~2 h 即开始出现精神不佳，进食进水量减少，萎靡、眯眼、拱背、反应迟钝、呼吸加快；12 h 后则出现口唇紫绀、张口呼吸，甚至呼吸窘迫等；1~3 d 症状进行性加重，呼吸系统最为明显，伴随体质量下降、腹泻及血尿等表现；7~14 d 上述症状逐渐缓解，呼吸系统损伤减轻；14~28 d 再次出现呼吸频率加快、张口呼吸。模型对照组死亡 12 只，SDS 治疗组死亡 4 只。

2.2 肺组织病理改变

HE 染色显示模型对照组 1, 3 d 出现明显毛细血管扩张、充血等肺泡炎症表现，肺泡间隔明显增宽，肺泡腔内充满渗出的水肿液，部分有透明膜形成，伴有出血及炎性细胞浸润；7, 14 d 肺泡炎症、渗出有所减轻，局部胶原纤维不规则排

列，不同程度增生；21, 28 d 可见肺组织弥漫性肺纤维化，大量胶原纤维沉积，肺泡间隔以及部分肺泡腔被胶原和纤维蛋白占据，正常肺泡结构萎陷，甚至出现纤维瘢痕样组织，出现代偿性肺气肿。SDS 治疗组各时点肺组织病理改变与模型对照组相似，但病变程度相对较轻。结果见图 1。

2.3 免疫组织化学检测肺组织 TGF-β1 的表达

与正常对照组相比，第 3 天起模型对照组的肺组织 TGF-β1 表达阳性细胞计数及免疫组化评分有显著增加($P<0.01$)，在第 14 天达到最大值，第 28 天时，肺组织 TGF-β1 表达明显下降接近正常。与模型对照组相比，SDS 治疗 3, 7, 14, 21 d 后 TGF-β1 表达阳性细胞计数及免疫组化评分下降，差异有统计学意义($P<0.05$)。结果见表 2~3。

2.4 大鼠肺组织 TGF-β1mRNA 基因表达的荧光定量 PCR 检测

大鼠染毒后肺组织中 TGF-β1mRNA 表达量发生了改变，染毒第 1 天开始，TGF-β1 基因表达开始增加，随着时间发展，基因表达量逐渐增加，模型对照组与 SDS 治疗组均在第 14 天表达达到最高值($P<0.01$)；第 28 天时，基因表达接近正常。而 SDS 干预 3, 7, 14, 21 d 后大鼠肺组织中 TGF-β1 表达量改变相对要小，差异有统计学意义($P<0.05$)。结果见表 4。

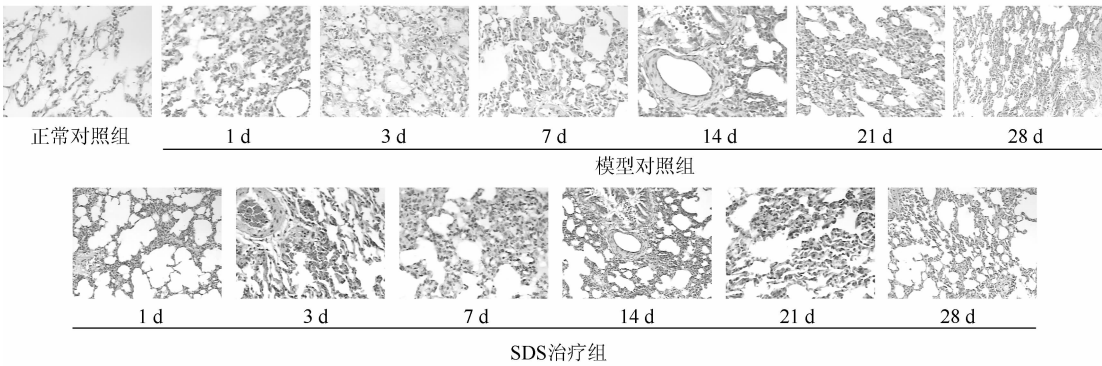


图 1 大鼠肺组织病理变化
Fig. 1 Rat lung tissue pathological features

表 2 大鼠肺组织 TGF-β1 表达阳性细胞计数的测定结果($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 The measurement results of rat lung tissue expression of TGF-β1-positive cell count ($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

组 别	阳性细胞计数/%					
	1 d	3 d	7 d	14 d	21 d	28 d
正常对照组	16±1.41					
模型对照组	17±1.32	22.33±4.51 ¹⁾	28.67±4.16 ¹⁾	42.39±6.38 ¹⁾	36.50±5.12 ¹⁾	17.59±2.55
SDS 治疗组	16±1.51	20.73±3.73 ¹⁾²⁾	25.67±4.23 ¹⁾²⁾	35.31±4.54 ¹⁾²⁾	28.49±4.55 ¹⁾²⁾	16.53±2.23

注：与正常对照组比较，¹⁾ $P<0.01$ ；与模型对照组比较，²⁾ $P<0.05$ 。
Note: Compared with the normal group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with the model group, ²⁾ $P<0.05$.

表 3 大鼠肺组织 TGF-β1 蛋白表达免疫组化评分的测定结果($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 The measurement results in lung tissue TGF-β1 protein expression by immunohistochemistry scores ($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

组 别	免疫组化评分					
	1 d	3 d	7 d	14 d	21 d	28 d
正常对照组	2.15±0.21					
模型对照组	2.75±0.23	4.76±0.87 ¹⁾	8.65±2.23 ¹⁾	12.41±3.44 ¹⁾	8.43±2.43 ¹⁾	3.45±0.98 ¹⁾
SDS 治疗组	2.65±0.20	3.85±0.76 ¹⁾²⁾	7.15±2.19 ¹⁾²⁾	10.15±2.87 ¹⁾²⁾	6.42±2.11 ¹⁾²⁾	3.15±0.43 ¹⁾

注：与正常对照组比较，¹⁾ $P<0.01$ ；与模型对照组比较，²⁾ $P<0.05$ 。

Note: Compared with the normal group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with the model group, ²⁾ $P<0.05$.

表 4 大鼠肺组织 TGF-β1mRNA 基因表达的荧光定量测定结果($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 4 The measurement results in lung tissue of TGF-β1mRNA gene expression by quantitative fluorescence ($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

组 别	相对基因 TGF-β1 mRNA 表达量					
	1 d	3 d	7 d	14 d	21 d	28 d
正常对照组	1					
模型对照组	1.55±0.21 ¹⁾	3.34±0.45 ¹⁾	6.43±1.21 ¹⁾	7.21±2.11 ¹⁾	4.23±0.88 ¹⁾	1.16±0.33
SDS 治疗组	1.45±0.23 ¹⁾	2.35±0.26 ¹⁾²⁾	4.12±1.14 ¹⁾²⁾	5.32±1.45 ¹⁾²⁾	3.22±0.54 ¹⁾²⁾	1.10±0.21

注：与正常对照组比较，¹⁾ $P<0.01$ ；与模型对照组比较，²⁾ $P<0.05$ 。

Note: Compared with the normal group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with the model group, ²⁾ $P<0.05$.

3 讨论

PQ 口服吸收后，由于肺组织存在聚胺类物质摄取系统，绝大部分分布集中于肺组织，约为血浆浓度的 6~10 倍^[4]，肺泡损伤最为突出。早期以肺泡上皮损伤、出血性水肿、炎症细胞浸润为主，晚期则出现肺泡内及间质纤维化^[5-6]，早期主要死于急性呼吸窘迫综合征，而晚期主要死于肺组织弥漫性纤维化，呼吸衰竭。

本实验证实 PQ 中毒后 1 d，肺组织病理切片 HE 染色即发现毛细血管扩张、充血、出血，肺泡腔内充满渗出的水肿液，部分有透明膜形成等肺泡炎症表现，7~14 d 肺泡炎症减轻，并出现纤维化修复，21~28 d 后可见明显疤痕组织。随着分子生物学技术的发展，研究发现，多种细胞因子参与了肺纤维化的发生发展，其中 TGF-β1 作为一个关键的多肽类生长因子，具有调节细胞生长、分化、凋亡等不同的生物活性，在肺纤维化发生的过程中，通过趋化巨噬细胞和成纤维细胞，诱导相关炎症细胞释放，促进炎症反应发生。TGF-β1 还可通过上调 ECM 表达，增加肺内 ECM 沉积；促进成纤维细胞对胶原及纤维结合蛋白的合成，参与肺纤维化形成^[7]。此外，TGF-β1 还可以通过影响其他致纤因子如 PDGF、TNF-α 加速肺纤维化形成^[8]。TGF-β 被公认为纤维化形成与发展的启动枢纽。本研究发现，模型组大鼠肺组织中 TGF-β1 因子含量及表达量较对照组显著提高，且 PQ 染毒

后 1 d 即升高，14 d 左右达高峰，同时大鼠肺组织出现肺纤维化表现，如间隔变厚、胶原沉积，说明 TGF-β1 在 PQ 中毒后对肺组织纤维化具有促进作用，参与了肺纤维化这一病理生理过程。因此，通过抑制 TGF-β1 的表达，或作为靶分子进行药物干预是有效治疗 PQ 中毒肺损伤的方法之一^[9]。

红景天是景天科草本植物，多分布于高寒地带，《四部医典》提及红景天“性平，味涩，善润肺、补肾、理气养血”，现代药理学研究证实，红景天提取物具有抗衰老、增强免疫、减少炎症细胞浸润保护心肌^[10]、抗氧化及中枢神经系统的双向调节作用^[11]。SDS 是红景天的主要有效成分。研究表明，SDS 通过抑制肺组织中炎症介质及抗氧化作用可以改善脂多糖和油酸所致急性肺损伤^[12]。红景天亦可以通过抑制博莱霉素致大鼠肺纤维化模型肺组织的 MMP-2、TIMP-1 的合成及分泌，在一定程度上调整其比值，使其趋于平衡，减轻博莱霉素所致大鼠的肺纤维化^[13]。本研究结果表明，SDS 治疗组大鼠病理切片显示肺组织损伤有所减轻，免疫组化显示肺组织 TGF-β1 上升幅度有所下降，阳性细胞数及基因表达量相对要小，差异具有统计学意义。结果提示，SDS 能够减轻 PQ 中毒大鼠肺损伤的纤维化程度，而起作用机理可能通过降低 TGF-β1 的表达而发挥作用。

目前 PQ 中毒尚无特效的治疗手段，本研究发现 TGF-β1 参与了 PQ 中毒后肺损伤的病理生理过

程, 作为肺损伤过程中纤维化的关键因子, 在整个发病过程中起着重要作用。SDS 能够有效抑制 TGF- β 1 的表达, 减轻 PQ 中毒后大鼠肺组织的损伤程度, 延缓肺纤维化的进程, 为临床治疗 PQ 中毒提供了理论基础。

REFERENCES

- [1] DINIS-OLIVEIRA R J, DUARTE J A, SÁNCHEZ-NAVARRO A, et al. Paraquat poisonings: mechanisms of lung toxicity, clinical features, and treatment [J]. Crit Rev Toxicol, 2008, 38(1): 13-71.
- [2] YAMASHITA M, YAMASHITA M, ANDO Y. A long-term follow-up of lung function in survivors of paraquat poisoning [J]. Hum Exp Toxicol, 2000, 19(2): 99-103.
- [3] GUAN S, XIONG Y, SONG B, et al. Protective effects of salidroside from *Rhodiola rosea* on LPS-induced acute lung injury in mice [J]. Immunopharmacol Immunotoxicol, 2012, 34(4): 667-672.
- [4] HOET P H, LEWIS C P, DEMEDTS M, et al. Putrescine and paraquat uptake in human lung slices and isolated II type pneumocytes [J]. Biochem Pharmacol, 1994, 48(3): 517-524.
- [5] HU J L, SHI H W, TIAN Y P, et al. Expression of nuclear factor kappa B and tumor necrosis factor α in lung tissue of paraquat poisoned rats [J]. Chin J Indust Hyg Occup Dis(中华劳动卫生职业病杂志), 2011, 29(1): 44-48.
- [6] YAMASHITA M, ANDO Y. A long-term follow-up of lung function in survivors of paraquat poisoning [J]. Human Exp Toxicol, 2000, 19(2): 99-103.
- [7] UHAL B D, KIM J K, LI X, et al. Angiotensin-TGF-beta 1 crosstalk in human idiopathic pulmonary fibrosis: autocrine mechanisms in myofibroblasts and macrophages [J]. Curr Pharm Des, 2007, 13(12): 1247-1256.
- [8] LIU F, LIU H, PENG Y, et al. Inhibition of TGF-beta1 expression in human peritoneal mesothelial cells by pcDU6 vector-mediated TGF-beta1 shRNA [J]. Nephrology (Carlton), 2006, 11(1): 23-28.
- [9] FAKHRAI H, MANTIL J C, LIU L, et al. Phase I clinical trial of a TGF-beta antisense-modified tumor cell vaccine in patients with advanced glioma [J]. Cancer Gene Ther, 2006, 13(12): 1052-1060.
- [10] LIANG X Q, XIE P, ZHANG Y, et al. Effects of salidroside on myocardial ischemia/reperfusion injury in rats [J]. Chin J Nat Med(中国天然药物), 2010, 8(2): 127-131.
- [11] LIU Z, LI X, SIMONEAU A R, et al. Rhodiola rosea extracts and salidroside decrease the growth of bladder cancer cell lines via inhibition of the mTOR pathway and induction of autophagy [J]. Mol Carcinog, 2012, 51(3): 257-267.
- [12] QI C F, ZHANG J F, CHEN X L, et al. Salidroside protects cultured rat subventricular zone neural stem cells against hypoxia injury by inhibiting Bax, Bcl-2 and caspase-3 expressions [J]. J South Med Univ(南方医科大学学报), 2013, 33(7): 962-966.
- [13] WANG Y Y, WANG Q, YANG W H, et al. Effect of integrin-petal Rhodiola Herb on the expression of MMP-2 and TIMP-1 in rats with pulmonary fibrosis [J]. J Chongqing Med Univ(重庆医科大学学报), 2010, 35(5): 689-691.

收稿日期: 2014-01-13

地黄寡糖对二型糖尿病大鼠糖脂代谢及肝脏超微结构的影响

刘影¹, 刘涛¹, 赵晓军¹, 李星², 杨菁^{1*} (1. 辽宁医学院, 辽宁 锦州 121001; 2. 锦州奥鸿药业有限责任公司, 辽宁 锦州 121013)

摘要: 目的 观察地黄寡糖对 2 型糖尿病大鼠糖脂代谢的影响及肝脏的保护作用。方法 取♂SD 大鼠用高脂高糖饲料喂养 8 周后, 腹腔注射链脲佐菌素 25 mg·kg⁻¹ 制备糖尿病大鼠模型, 造模成功后随机分组为: 糖尿病模型组、地黄寡糖高剂量组、地黄寡糖中剂量组、地黄寡糖低剂量组、二甲双胍组, 每组 10 只; 另取 8 只用普通大鼠饲料喂养 8 周后, 腹腔注射等体积柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液, 作正常对照组。在第 0, 2, 4, 8 周末各测定一次空腹血糖(FBG); 第 8 周末测定血清甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白(LDL-C)、高密度脂蛋白(HDL-C)、和空腹血清胰岛素(FINS); 实验结束后处死大鼠, 取肝组织检测谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛(MDA)水平; HE 染色后光镜观察肝脏病理变化; 透射电镜观察肝脏超微结构的改变。结果 与糖尿病模型组比较, 地黄寡糖中、高剂量组 FBG、TG、TC、LDL-C、FINS 水平均明显降低, HDL-C 升高($P<0.05$); 糖尿病大鼠肝组织氧化应激水平增高, 地黄寡糖中、高剂量组糖尿病大鼠 SOD、GSH-Px 活性均显著增加, MDA 水平显著下降; HE 染色显示, 各地黄寡糖治疗组大鼠肝细胞脂肪变性明显减少, 肝细胞排列基本规则。透射电镜结果显示, 地黄寡糖高剂量组大部分线粒体结构清晰内质网完整。结论 地黄寡糖可降低糖尿病大鼠血糖、血脂, 减轻肝细胞脂肪变性, 从而达到保护肝脏的作用, 其作用机制可能与其增强肝组织抗氧化作用, 减缓糖尿病对肝组织的损伤有关。

关键词: 地黄寡糖; 二型糖尿病; 肝脏超微结构

基金项目: 辽宁省科技厅项目(2013225305); 辽宁医学院校内青年科技基金(Y2012E022)

作者简介: 刘影, 女, 硕士, 实验师 Tel: (0416)4673117 Email: ly0924_1979@163.com *通信作者: 杨菁, 男, 博士, 教授 Tel: (0416)4673465 Email: jzyangjing@gmail.com