

木犀草素预防高脂膳食诱导的小鼠胰岛素抵抗的实验研究

周丽嫦 徐艳燕 陈伟标 曾婉君 王叶茗 欧阳勇

(广东省广州市中西医结合医院药剂科 广东 广州 510800)

摘要 目的 探讨黄酮类成分木犀草素对高脂饮食诱导的肥胖小鼠模型的胰岛素抵抗的影响。方法 30只 C57BL/6J 小鼠分正常饮食对照组(10只)、高脂膳食组(对照组,10只)和高脂膳食加2%木犀草素组(木犀草素组,10只),干预16周,观察体重、血脂水平、血糖、胰岛素敏感性及胰岛素水平的变化。结果 小鼠在给予高脂膳食16周后,体重水平、血脂水平、血糖水平、胰岛素水平显著高于木犀草素组,胰岛素敏感性显著下降,与木犀草素组比较 $P<0.05$ 或 $P<0.01$ 。而木犀草素组则可显著抑制体重、血脂、血糖及胰岛素水平的升高,与胰岛素敏感性未见明显下降,与正常对照组比较 $P>0.05$ 。结论 木犀草素可预防高脂膳食诱导的胰岛素抵抗。

关键词 木犀草素;高脂膳食;胰岛素抵抗;血糖;胰岛素敏感性

中图分类号:Q95-3 R544.1 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2012)14-2651-03

Experiment Study of Luteolin Prevents Mice Insulin Resistance Induced by High Fat Diet

ZHOU Li-chang, XU Yan-yan, CHEN Wei-biao, ZENG Wan-jun, WANG Ye-ming, OUYANG Yong

(Guangzhou Hospital of Integrated Chinese and Western medicine, Guangdong province China 510800)

ABSTRACT Objective: To explore the effect of flavonoids chemical Luteolin to the insulin resistance induced by the high fat diet in the mice. **Methods:** 30 mice were divided into three groups, the normal chow group (10 mice), the high fat diet group (10 mice), the high fat diet+2%Luteolin group, the intervention time is 16 weeks. The body weight, lipids levels, blood glucose level, insulin sensitivity and the variation of insulin were detected. **Results:** After administration of 16 weeks high fat diet, the body weight, the blood glucose level, the lipids level and the insulin level were significantly increased in mice of the high fat diet group, and the insulin sensitivity were decreased, compared with the Luteolin group, $P<0.05$ or $P<0.01$. In the Luteolin group, the body, lipids level, blood glucose level and insulin level increased slightly when compared with the control group, but no significantly difference exist, $P>0.05$. **Conclusion:** Luteolin can prevents the mice insulin resistance induced by high fat diet.

Key words: Luteolin; High fat diet; Insulin resistance; Blood glucose level; Insulin sensitivity

Chinese Library Classification(CLC): Q95-3, R544.1 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2012)14-2651-03

前言

当前肥胖已成为影响我国人民健康的重要公共卫生问题。高脂肪、高热量摄入和少运动等不良生活方式导致我国城市25%~30%人群体重超重,肥胖率达到7.1%(约7000万)。肥胖可导致一系列的健康问题的出现,目前研究已证实,肥胖可导致心血管代谢系统的紊乱,肥胖患者存在明显的胰岛素抵抗,可导致血压的升高,血管的损害,是脑卒中、心肌梗死等心脑血管事件的重要危险因素^[1,2]。2008年发表在Circulation上的中国健康报告显示,至2030年我国心脑血管疾病及心脑血管事件的将上升73%^[3]。而庞大的肥胖人群则是导致这一局面产生的重要因素。因此,针对肥胖、胰岛素抵抗人群制定干预策略具有重要的现实意义。美国提倡的DASH膳食使得美国的心脑血管事件发生率明显下降,目前的研究证实,低盐、多果蔬膳食可有效控制心脑血管事件的发生^[4-7]。中医药在我国经历数千年的发展

积累了丰富的财富,近年,我们发现中医药在某些重大慢性疾病的预防方面有重要的作用。木犀草素是黄酮类成分,存在于多种中草药中,如金银花、菊花、荆芥、白毛夏枯草、紫苏属植物、黄芩属植物、芹菜、辣椒等^[8]。近年研究发现,木犀草素具有显著的抗炎、抗氧化清除自由基、抗缺血再灌注损伤、降脂等药理活性^[9]。在本研究中,我们利用高脂膳食诱导小鼠肥胖的胰岛素抵抗模型,为进一步探索其对肥胖胰岛素抵抗的防治作用,力求为探索肥胖胰岛素抵抗的防治方案提供有意义的研究成果。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

6~8周龄雄性C57BL/6J小鼠30只,采用随机表法分为3组:普通饲料组,给予普通饲料;高脂饮食组,给予高脂膳食;木犀草素+高脂饮食组,在高脂饲料中添加2%木犀草素^[9],每组10只小鼠。小鼠自由进食饮水。自然昼夜采光,室温22~24℃,每日早晚喂食、换水。

1.2 主要仪器及试剂

作者简介:周丽嫦(1970-),女,主管中药师,主要从事中药药理研究

(收稿日期:2011-11-08 接受日期:2011-11-30)

乌拉坦(上海曹杨第二中学化工厂):用灭菌去离子水配制10%的乌拉坦溶液,4℃保存。血糖试纸条(美国强生公司),胰岛素分析试剂盒(北京福瑞生物工程公司),血脂试剂盒(Beckman Coulter, USA),木犀草素(65%纯度,FLUKA,美国),Sure Step微量血糖仪(美国强生公司);全自动生化测定仪(Beckman Coulter Synchron LX20,USA)。

1.3 模型的复制

喂养时间16周,喂养的前20天每天计算进食量,喂养期间每周测一次体重,并计算肥胖度。根据人类肥胖和超重标准,我们将肥胖度大于10%为超重,大于20%为肥胖,认为肥胖模型建立成功。

肥胖度计算公式:肥胖度(%)=(实际体重-对照组平均体重/对照组平均体重)×100%

1.4 观察指标及检测方法

干预期间每周测1次体重、空腹血糖;干预结束前1周测空腹血糖、胰岛素敏感。实验结束时以10%乌拉坦麻醉后颈动脉取抗凝血,1200 g/12 min离心后取血浆测血脂(HDL-C、LDL-C、TG、TC)水平。以上指标均以ELISA法检测(试剂盒购于深圳晶美公司),在酶标仪上测定。

胰岛素敏感性的检测方法:常规胰岛素注射液(0.75 U/kg体重)腹腔注射后测0 min、15 min、30 min、45 min、60 min鼠尾血糖值。

葡萄糖负荷后胰岛素释放试验:小鼠空腹8小时后,按2 g/kg体重给予葡萄糖溶液灌胃,30 min后取血,以ELISA法测血浆胰岛素水平。

1.5 统计方法

实验数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,用Student's t检验比较组间差异的显著性;多组间比较采用one-way ANOVA检验,以 $P < 0.05$ 为有统计学差异。

2 结果

2.1 各组小鼠的体重及空腹血糖变化情况

从实验结果(见图1)我们观察到,高脂饮食小鼠在干预8周后体重显著高于普通饮食对照组小鼠,在干预9周后体重显著高于木犀草素组,而木犀草素组与普通膳食组小鼠的体重在1~16周之间均无统计学差异。在空腹血糖的变化方面,在给予高脂饮食干预12周后,高脂饮食组小鼠的空腹血糖值显著高于其他两组小鼠, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 。而木犀草素组与普通饮食组小鼠的空腹血糖值无显著性差异, $P > 0.05$ (见图2)。

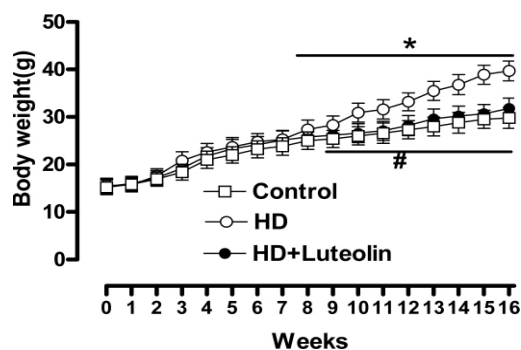


Fig.1 Body weight of the mice
Compared with control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

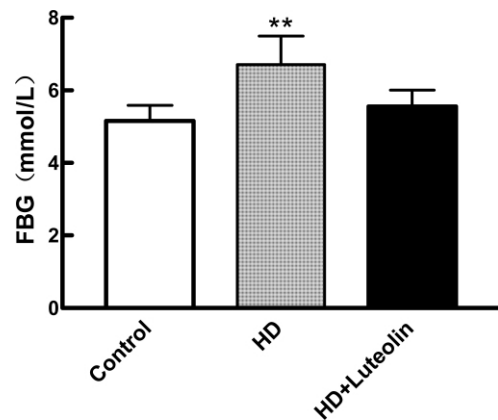


Fig.2 Mice fasting blood glucose
Compared with HD + Luteolin group # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$

2.2 各组小鼠的胰岛素敏感性及其葡萄糖负荷后胰岛素水平

在给予高脂饮食干预15周后,高脂饮食组小鼠的胰岛素敏感性显著下降,与其他两组小鼠比较,差异显著, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ (见图3)。此外,高脂饮食组小鼠的葡萄糖负荷后的胰岛素水平亦明显升高,说明高脂饮食可导致小鼠胰岛素抵抗,使小鼠的胰岛素水平升高,而木犀草素则可防止高脂饮食导致的以上改变(见图4)。

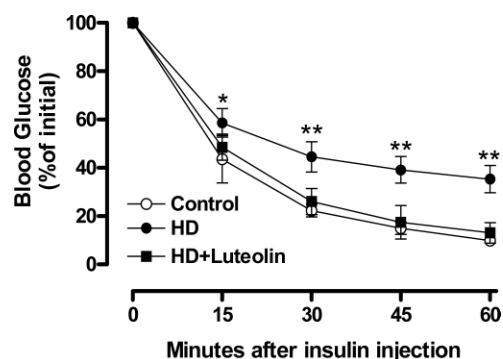


Fig.3 Intraperitoneal insulin tolerance test (IPITT)
Compared with control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

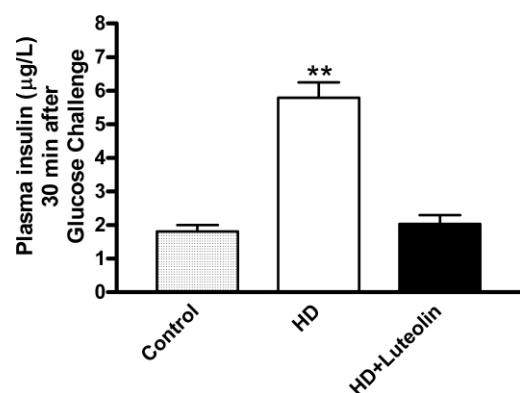


Fig.4 Mice Insulin level after Glucose challenge
Compared with HD + Luteolin group # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$

2.3 各组小鼠的血脂水平

高脂饮食组小鼠的HDL-C水平显著下降,LDL-C、TG、TC水平则显著上升,与普通饲料组及木犀草素组比较,差异显著,

$P < 0.01$ 或 $P < 0.05$ 。高脂饮食组与普通饲料组比较, $P > 0.05$, 说明膳食中给予木犀草素可防止高脂饮食诱导的血脂水平升高(见表 1)。

Table 1 Lipids levels of mice in each group($\bar{x} \pm s$)

GROUPS	N	HDL-C (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)
Control	10	1.03 $\pm$ 0.42	0.85 $\pm$ 0.12	2.11 $\pm$ 0.34	0.75 $\pm$ 0.15
HD	10	1.12 $\pm$ 0.48	1.15 $\pm$ 0.13**##	3.15 $\pm$ 0.58**##	1.18 $\pm$ 0.18**##
HD+ Luteolin	10	1.08 $\pm$ 0.52	0.93 $\pm$ 0.11	2.48 $\pm$ 0.57	0.87 $\pm$ 0.21

Note: Compared with control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

Compared with HD + Luteolin group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

3 小结与讨论

在本实验研究中, 我们利用高脂饲料在给予 12 周的高脂饮食后, 成功复制出肥胖伴胰岛素抵抗的小鼠动物模型。研究中我们还观察到, 饮食中添加 2% 的木犀草素可对抗高脂饮食诱导的小鼠肥胖的发生, 可防止高脂饮食导致的胰岛素敏感性的下降, 空腹血脂水平、胰岛素水平及空腹血糖水平的升高。

肥胖是由于能量稳态失调而出现的体内脂肪的过度累积, 可以诱发与心血管疾病相关的多种代谢功能异常, 增加 2 型糖尿病、冠心病、中风、心力衰竭、高血压、血脂异常等的发病率和死亡率^[1,2]。当前由于生活及饮食方式的改变, 尤其是高脂高热量膳食的摄入增多, 导致我国肥胖人群的比例不断上升, 肥胖儿童的数量也不断增加, 据我国肥胖儿童的数量已达 1200 万, 对儿童的健康构成巨大的威胁, 这都归因与不健康的膳食方式^[3]。而与大鼠和其他类型小鼠相比, 由于 C57BL/6J 小鼠遗传背景清晰、对饮食诱导的肥胖发生较为敏感, 且易于出现动脉粥样硬化等肥胖并发症, 因此我们应用 C57BL/6J 小鼠制作饮食诱导的肥胖模型^[4]。因此, 在本研究中我们利用高脂膳食复制了小鼠的肥胖伴胰岛素抵抗的模型进行研究。

木犀草素属于黄酮类物质, 在自然界中分布广泛, 存在于多种天然药物、蔬菜果实中。目前研究表明木犀草素除具有显著的抗菌、抗炎、抗肿瘤、抗肝纤维化、护肝、抗增殖的活性外^[8,12], 还具有显著的抗氧化及心血管代谢的保护作用: 可显著抑制血小板源性生长因子-BB (PDGF-BB) 诱导的血管平滑肌细胞的增殖和 DNA 合成, 可以阻滞细胞周期于 G1 期^[13]; 可以浓度依赖地降低苯肾上腺素预收缩血管的张力, 拮抗高钾引起的血管收缩, 具有动脉舒张作用^[14]; 可以抑制猪主动脉内皮细胞内皮素-1 (ET-1) 的分泌和基因表达^[15]; 可降低高脂饮食诱导的大鼠血脂水平的升高^[16]; 可减小由 Ang II 刺激而引起的乳鼠心肌细胞直径、蛋白质含量和蛋白质的合成速率增加^[17]。而我们的研究发现, 饮食中添加木犀草素可有效地预防高脂饮食导致的肥胖的发生, 以及由此带来的空腹血糖及胰岛素敏感性的改变。

4 结论

木犀草素可有效预防肥胖的发生, 改善胰岛素抵抗及降低血脂水平, 可为膳食干预肥胖症提供借鉴。本实验未对木犀草素干预高脂膳食导致的肥胖及胰岛素抵抗的产生的机制进行深入的研究, 我们将围绕与代谢相关的信号通路, 如代谢性核

受体 (PPARs) 及于能量代谢相关的分子如解偶联蛋白 (UCPs) 进行深入研究。

参考文献 (References)

- [1] Grundy SM. Multifactorial causation of obesity: implications for prevention[J]. Am J Clin Nutr, 1998, 67 (suppl 3): 563S-572S
- [2] Labib M. The investigation and management of obesity [J]. J Clin Pathol, 2003, 56 (1): 17-25
- [3] Krumholz HM. Circulation: cardiovascular quality and outcomes: scholarship to improve health and health care for patients and populations [J]. Circ Cardiovasc Qual Outcomes, 2008, 1:1-3
- [4] Bibbins-Domingo K, Chertow GM, Coxson PG, et al. Projected effect of dietary salt reductions on future cardiovascular disease[J]. N Engl J Med, 2010, 362(7): 590-599
- [5] Lakoski SG, Cushman M, Siscovick DS, et al. The relationship between inflammation, obesity and risk for hypertension in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA)[J]. J Hum Hypertens, 2011, 25(2):73-79
- [6] Engstrom G. Inflammation, obesity and risk of hypertension: shared pathways or independent risk factors?[J]. J Hum Hypertens, 2011, 25 (2): 71-72
- [7] Mitka M. DASH dietary plan could benefit many, but few hypertensive patients follow it[J]. JAMA, 2007, 298(2): 164-165
- [8] Li Xing-xia, Guo Cheng. Luteolin pharmacological studies [J]. China Pharmacy, 2007, 18 (18):1421-1424
- [9] Karrasch T, Kim JS, Jang BI, et al. The flavonoid luteolin worsens chemical-induced colitis in NF-kappaB (EGFP) transgenic mice through blockade of NF-kappaB-dependent protective molecules[J]. PLoS One, 2007, 2:e596
- [10] Wei Xue-xiang, Li Liu-yin. Research of Present Situation and Intervention of Childhood Simple Obesity[J]. Medical Recapitulate, 2011, 17(14):2137-2139
- [11] Getz GS, Reardon CA. Diet and Murine Atherosclerosis Arterioscler Thromb[J]. Vasc Biol, 2006, 26: 242-249
- [12] Domitrovic R, Jakovac H, Tomac J, Sain I. Liver fibrosis in mice induced by carbon tetrachloride and its reversion by luteolin[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2009, 241:311-321
- [13] Kim JH, Jin YR, Park BS, et al. Luteolin prevents PDGF-BB-induced proliferation of vascular smooth muscle cells by inhibition of PDGF beta-receptor phosphorylation [J]. Biochem Pharmacol, 2005, 69 (12):1715

(下转第 2671 页)

交替检测来说,如散点面积、长轴、短轴^[12],长短轴之比以及对角象限的点数比等都将可能对检测起到良好的判断,这些定性指标还有待于进一步深入探索,并有望成为散点图非线性检测的新发展。

参考文献(References)

- [1] 孙育民. T 波电交替与室性心律失常 [J]. 国际心血管病杂志, 2006, 33(5):297-299
Sun Yu-min. T wave alternans and ventricular arrhythmias[J]. International Journal of Cardiovascular Disease, 2006, 33 (5):297-299
- [2] 张兆国,张海澄. T 波电交替现象:一项强有力的评估心脏病患者预后的无创指标[J]. 中国心脏起搏与心电生理杂志, 2005, 19(6):497-500
Zhang Zhao-guo, Zhang Cheng-hai. T wave alternans:a strong index of noninvasive detection of heart disease prognosis[J]. Chinese Journal of Cardiac Pacing and Electrophysiology, 2005, 19(6): 497-500
- [3] 张志冀,张建兴,李川勇. T 波交替的研究进展[J]. 国际生物医学工程杂志 2007,30(3):181-186
Zhang Zhi-guo, Zhang Jian-xing, Li Chuan-yong. Development of the T-wave alternan[J]. Int J Biomed Eng, june, 2007, 30(3):181-186
- [4] 张联锋,蒋敏杰,张鹏龙等. Excel 统计分析及应用[M]. 第一版,北京:电子工业出版社,2011, 162
Zhang Lian-feng, Jiang Min-jie, Zhang Peng-long, et al. Statistical analysis and the application using Excel[M]. The First Edition,Beijing: Publishing House of Electronics Industry, 2011, 162
- [5] 赵艳娜,魏琰. 基于小波变换的心电信号去噪综合算法[J].现代生物医学进展, 2009, 9(16):3128-3131
Zhao Yan-na, Wei Long. ECG Signal Denoising Algorithm Based on Wavelet Transform[J]. Progress in Modern Biomedicine, 2009, 9(16): 3128-3131
- [6] 赵捷,华玫. 基于 T 波最大值的 T 波电交替分析法[J]. 生物医学工程杂志,2005,22(5):951-955
Zhao Jie, Hua Mei. The algorithm of detecting the T-wave alternans (TWA) based on the maximum of T waves [J]. Journal of Biomedical Engineering,2005,22(5):951-955
- [7] 徐舫舟. T 波交替散点图法:利用非线性动力学系统表示周期性的散点图[J].中国组织工程研究与临床康复,2010,14(9) :1645-1648
Xu Fang-zhou. Poincare mapping method for T-wave alternans using a nonlinear dynamic system[J]. Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research, 2010, 14(9):1645-1648
- [8] Jan Ruta, Pawel Strumillo. Usefulness of the poincare mapping in detection of T-wave althernans in precordial leads of standard ECG-a comparison with the spectral method [J]. Diagnostics and Medical Technology, 2001, 7(3):471-476
- [9] 夏邦世,吴金华. Kappa 一致性检验在检验医学研究中的应用[J].中华检验医学杂志, 2006, 29(1):83-84
Xia Bang-shi, Wu Jin-hua. Kappa consistency test in Medical test Applications[J]. Chin J Lab Med, January, 2006, 29(1): 83-84
- [10] 韩卫星. 心率变异性及 Poincare 散点图判断心脏病变的临床应用研究[D].安徽:安徽医科大学,2002, 31
Han Wei-xing. A Study of Clinical Usefulness of Heart Rate Variability and Poincare Plot for Diagnosing Heart Diseases[D]. Anhui: Anhui Medical University,2011, 31
- [11] 马兰,胡华青,干岭,等. Poincare 散点图对冠心病诊断价值的探讨[J].安徽医科大学学报, 2005, 40(5):470-472
Ma Lan, Hu Hua-qing, Gan Ling, et al. An investigation of the clinical diagnostic value of Poincare plot for coronary heart disease[J]. Acta Universitatis Medicinalis, 2005, 40(5):470-472
- [12] 徐征,葛霁光,徐秋萍,等. 心率的 Poincare 散点图量化指标[J].生物医学工程学杂志, 2000, 17(4) :433-436
Xu Zheng, Ge Ji-guang, Xu Qiu-ping, et al. A quantitative study of Poincare dispersed-dot Plot for Heart Rate Variability [J]. J Biomed Eng, 2000, 17(4):433-436
- [16] Yan Qing-feng, Yang Da-kuan, Huang Yun-chao, et al. Effects of Luteolin on Hyperlipidemic Rat Serum Lipid Metabolism [J]. Journal of Kunming Medical College, 2007,(1):23-26
- [17] Du Xiao-yan, Hou Ying, Qin Hua, et al. Luteolin Inhibits Angiotensin :Induced Cardiac Hypertrophy[J]. Science Technology and Engineering, 2010,10(32):7890-7893

(上接第 2653 页)

- [14] Jiang Hui-di, Ru Hai-long, Wang Xiao-xia, et al. Vasodilation effect of luteolin on rat thoracic aorta and its mechanism[J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2005, 40 (6) : 427
- [15] Kozakai T, Yamanaka A, Ichiba T, et al. Luteolin inhibits endothelin -1 secretion in cultured endothelial cells[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2005, 69(8):1613