

引用:沈扬帆,李艺含,李壮壮,胡佳裕,刘征堂.复方桑白皮方对2型糖尿病小鼠糖代谢、炎症及氧化应激的改善作用及机制[J].中医指导报,2025,31(5):1-7.

实 验

复方桑白皮方对2型糖尿病小鼠糖代谢、炎症及氧化应激的改善作用及机制*

沈扬帆^{1,2}, 李艺含², 李壮壮², 胡佳裕², 刘征堂²

(1.北京中医药大学研究生院,北京 100029;2.中国中医科学院西苑医院,北京 100091)

[摘要] 目的:探究复方桑白皮方对2型糖尿病(T2DM)小鼠糖代谢、炎症及氧化应激的干预作用及机制。方法:取90只SPF级雄性健康C57BL/6小鼠,随机分为空白组($n=10$)和造模组($n=80$)。造模组采用高糖高脂喂养联合链脲佐菌素(STZ, 50 mg/kg)注射建立T2DM模型,造模成功后随机分为模型组、二甲双胍组、复方桑白皮方低剂量组、复方桑白皮方中剂量组、复方桑白皮方高剂量组,每组10只,干预5周。干预期间检测小鼠空腹血糖,并进行葡萄糖耐量试验(OGTT)、胰岛素耐量试验(ITT),5周后检测外周血中糖代谢指标[糖化血红蛋白(GHb)、糖化血清蛋白(GSP)、胰高血糖素样肽-1(GLP-1)、胰岛素(INS)]、抗氧化指标[超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、过氧化氢酶(CAT)]及炎症因子[白介素-6(IL-6)、白介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)]水平。结果:与模型组比较,复方桑白皮方低、中、高剂量组小鼠空腹血糖均下降($P<0.05$),复方桑白皮方中、高剂量组小鼠GHb及GSP均降低($P<0.05$),复方桑白皮方高剂量组INS及复方桑白皮方中、高剂量组GLP-1均升高($P<0.05$);OGTT及ITT试验复方桑白皮方中、高剂量组小鼠在60、90、120 min时与模型组比较,差异均有统计学意义($P<0.05$),曲线下面积显著减小($P<0.05$);氧化应激方面,复方桑白皮方中、高剂量组小鼠CAT、SOD、GSH-Px水平高于模型组($P<0.05$),MDA水平低于模型组($P<0.05$);炎症因子方面,复方桑白皮方中、高剂量组小鼠治疗后IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平低于模型组($P<0.05$)。结论:复方桑白皮方可降低T2DM小鼠血糖水平,改善小鼠糖代谢功能,其机制可能与增强机体抗氧化、抗炎能力有关。

[关键词] 2型糖尿病;复方桑白皮方;药效学;糖代谢;氧化应激;炎症反应;小鼠

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1672-951X(2025)05-0001-07

DOI: 10.13862/j.cn43-1446/r.2025.05.001

The Effects and Mechanisms of Compound Sangbaipi Formula (复方桑白皮方) on Glucose Metabolism, Inflammation and Oxidative Stress in Type 2 Diabetic Mice

SHEN Yangfan^{1,2}, LI Yihan², LI Zhuangzhuang², HU Jiayu², LIU Zhengtang²

(1. Graduate School of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

2. Xiuyan Hospital of China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China)

[Abstract] Objective: To investigate the intervention effects of the compound Sangbaipi formula on glucose metabolism, inflammatory factors and oxidative stress in type 2 diabetes (T2DM) mice. Methods: Totally 90 SPF-grade male C57BL/6 mice were randomly divided into blank group ($n=10$) and modelling group ($n=80$). The T2DM model was established by feeding high-fat, high-sugar diet combined with a single injection of streptozotocin (STZ, 50 mg/kg). After successful modeling, the mice were randomly divided into model group, metformin group, low-dose compound Sangbaipi formula group (low-dose group), medium-dose compound Sangbaipi formula group (medium-dose group), and high-dose compound Sangbaipi formula group (high-dose group), with

*基金项目:国家中医药多学科交叉创新项目(ZYYCXTD-D-202205);国家重点研发计划青年科学家项目(2022YFC3502400);中国中医科学院结余经费再立项项目(ZXKT020120036);国家中医药管理局监测统计中心深化医改中医药政策研究自选课题(YGZXKT2024015)

通信作者:刘征堂,男,主任医师,教授,研究方向为中医老年病临床与基础研究

10 mice in each group. The intervention lasted for 5 weeks. During the intervention, fasting blood glucose level was monitored, and oral glucose tolerance test (OGTT) and insulin tolerance test (ITT) were performed. After 5 weeks, glucose metabolism (GHb, GSP, GLP-1, INS), antioxidant markers (SOD, MDA, GSH-Px, CAT), and inflammatory factors (IL-6, IL-1 β , TNF- α) were measured in peripheral blood. Results: Compared to the model group, fasting blood glucose levels decreased in low-dose group, medium-dose group and high-dose group ($P<0.05$). The medium-dose group and high-dose group showed reductions in GHb and GSP levels ($P<0.05$). INS levels in the high-dose group and GLP-1 levels in the medium and high-dose groups increased ($P<0.05$). In the OGTT and ITT tests, significant differences were observed at 60, 90, and 120 minutes between the medium-dose group and high-dose group and the model group ($P<0.05$), and the area under the curve significantly decreased ($P<0.05$). In terms of oxidative stress, the medium-dose group and high-dose group showed higher levels of CAT, SOD, and GSH-Px than model group ($P<0.05$), while lower levels of MDA than model group ($P<0.05$). In inflammatory factors, the medium-dose group and high-dose group showed lower levels of IL-6, IL-1 β , and TNF- α than model group ($P<0.05$). Conclusion: The compound Sangbaipi formula can lower blood glucose levels in T2DM mice and improve glucose metabolism. The underlying mechanisms may involve enhancing antioxidant and anti-inflammatory responses in the body.

[Keywords] type 2 diabetes; compound Sangbaipi formula; pharmacodynamics; glucose metabolism; oxidative stress; inflammatory response; mice

2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)是一种以高血糖为特征的慢性代谢性疾病,其发病主要与遗传及生活习惯等因素密切相关^[1-3]。全球糖尿病及其并发症的患病率正在上升,严重威胁公共卫生健康^[4-6]。2021年国际糖尿病联盟(international diabetes federation, IDF)的数据^[5]显示,全球糖尿病患者已达5.37亿,预计2045年成人糖尿病患者总数将上升到7.83亿。我国已成全球T2DM患病率最高的国家,成人糖尿病患者高达1.4亿人次,其中2型糖尿病患者约占95%,且发病率逐年上升。我国T2DM患者存在总体血糖达标率不足50%的情况,且因其并发症及合并症导致致残率和致死率高^[6]。如何有效治疗T2DM是亟需解决的关键问题。

T2DM的病理机制是多种因素单独或相互作用导致胰岛 β 细胞功能障碍或破坏,进而导致胰岛素相对或绝对缺乏。氧化应激、炎症反应是促进T2DM发生发展的重要原因之一^[7-9],改善T2DM的氧化应激和炎症反应是促进胰岛 β 细胞功能恢复、改善预后的重要途径。中药复方制剂治疗T2DM具有多组分、多靶点、低毒副作用等优势,具有良好的应用前景^[9-10]。糖尿病属中医学“消渴病”范畴。“消渴之疾,三焦受病也”,三焦气化失常,诸气失权,津、气、精、血输布障碍,不归正化而停滞于体内,蕴久化热,是糖尿病的主要病机。复方桑白皮方是西苑医院老年病科治疗T2DM的协定处方,由桑白皮、枳实、厚朴、土茯苓、猫爪草等组成,具有清利三焦湿热、补肾降糖的功效。课题组前期研究^[11-12]证实了复方桑白皮方干预T2DM的有效性,其在调节糖代谢的同时能降低血清中脂质含量,但具体机制尚不清楚。本研究以高糖高脂联合链脲佐菌素(streptozocin, STZ)诱导的T2DM小鼠为模型,探讨复方桑白皮方调控小鼠的炎症因子及氧化应激反应改善T2DM的作用机制。

1 材 料

1.1 实验动物 SPF级健康C57BL/6J雄性小鼠90只,4~6周

龄,体质量18~22 g,由斯贝福(北京)生物技术有限公司提供。动物生产许可证号:SCXK(京)2019-0010。动物质量合格证号:110324230906480828。本研究经中国中医科学院西苑医院实验动物伦理委员会审批通过(编号:2023XLC038-2),遵循西苑医院实验动物中心实验保护与使用准则进行饲养,动物使用许可证号:SYXK(京)2023-0053。饲养于清洁级动物房,饲养条件为相对湿度(55 \pm 5)%,温度为(22 \pm 2) $^{\circ}$ C。

1.2 药物与试剂 复方桑白皮方颗粒剂由北京康仁堂药业有限公司提供,每剂溶于100 mL双蒸水中,给药前搅拌均匀。盐酸二甲双胍片(5 g/瓶,批号:2230907005)、牛胰岛素(25 mg/瓶,批号:826V023)、STZ(100 mg/瓶,批号:231017)均购自北京索莱宝科技有限公司;葡萄糖粉剂(福州海王福药制药有限公司,20 g/包,批号:23070701);谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)试剂盒(批号:20231113)、过氧化氢酶(catalase, CAT)试剂盒(批号:20231108)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)试剂盒(批号:20231113)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)试剂盒(批号:20231121)、糖化血清蛋白(glycated serum protein, GSP)试剂盒(批号:20231119)、胰高血糖素样肽-1(glucagon-like peptide-1, GLP-1)酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(批号:20231127)均购自南京建成生物工程研究所;白介素-6(interleukin-6, IL-6)ELISA试剂盒(批号:742445)、白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)ELISA试剂盒(批号:834754)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)ELISA试剂盒(批号:64770009)均购自武汉博士德有限公司;糖化血红蛋白(glycated hemoglobin, GHb)ELISA试剂盒(批号:20231128A)、胰岛素(insulin, INS)ELISA试剂盒(批号:20231122)均购自上海酶联生物科技有限公司。

1.3 仪器 AS110.R2电子分析天平(波兰RADWAG公司);8号灌胃器(青岛海德诚公司);BGMS-1血糖仪、血糖试纸(长沙三诺生物传感技术股份有限公司);TG16-WS低速离心机

(湖南湘仪实验仪器开发有限公司);5 mL真空采血管(北京辉瑞医疗公司);INFINITE 200 PRO多功能酶标仪(美国BioTek公司)。

2 方 法

2.1 T2DM小鼠模型的建立 取90只雄性C57BL/6J小鼠,适应性喂养1周后禁食不禁水12 h。根据随机数字表法将小鼠分为空白组10只和造模组80只。空白组小鼠正常饲养,造模组小鼠则给予高糖高脂饲料,连续喂养6周。禁食不禁水24 h,造模组小鼠腹腔注射50 mg/kg的STZ溶液(STZ溶解于0.1 mol/L冷柠檬酸盐缓冲液,pH值为4.5,现配现用,避光保存)^[13],连续注射3 d。注射72 h后禁食不禁水12 h,通过小鼠尾静脉取血测定随机血糖,血糖值>11.1 mmol/L为T2DM模型造模成功。造模成功小鼠50只,成功率为62.5%(50/80),造模失败的30只小鼠未纳入后续实验。

2.2 分组与给药 将造模成功的50只小鼠按照随机数字表法分为模型组、二甲双胍组、复方桑白皮方低剂量组、复方桑白皮方中剂量组、复方桑白皮方高剂量组,各10只。复方桑白皮方临床剂量为120 g/d,按人和动物体表面积等效剂量系数折算法,选用70 kg成人用量换算,折算小鼠等效剂量15.6 g/kg为中剂量,7.8 g/kg为低剂量,31.2 g/kg为高剂量,二甲双胍组予盐酸二甲双胍(200 mg/kg)作为阳性药物对照。空白组小鼠正常饲养。模型组、空白组小鼠予等体积生理盐水灌胃。每日灌胃给药1次,连续给药5周。

2.3 标本采集及指标检测

2.3.1 糖代谢相关指标 (1)空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)测定:小鼠禁食不禁水12 h后,尾尖取血,用血糖仪测定各组FBG,给药期间每周检测1次。

(2)葡萄糖耐量试验(oral glucose tolerance test, OGTT):灌胃给药3周后,小鼠禁食不禁水12 h,在0 h尾尖静脉取血测定血糖值,后给小鼠灌胃葡萄糖(2 g/kg),并在给予葡萄糖30、60、90、120 min时测血糖值,计算血糖曲线下面积(AUC),评价复方桑白皮方对T2DM模型小鼠糖耐量的影响。

(3)胰岛素耐量试验(insulin tolerance test, ITT):灌胃给药4周后,小鼠禁食不禁水6 h,对小鼠尾尖静脉采血测定血糖作为0 min的血糖值,后每只小鼠腹腔注射胰岛素(0.5 U/kg),并在给予胰岛素溶液30、60、90、120 min时测血糖值,计算血糖曲线下面积(AUC),观察各组小鼠在各时间点上的血糖变化情况。

(4)小鼠血清GSP、GHb、GLP-1和INS水平检测:灌胃给药

5周后,小鼠禁食不禁水12 h,腹腔注射50 mg/kg戊巴比妥钠麻醉小鼠,对小鼠进行眼眶取血,低速离心机3 500 r/min离心15 min,离心半径12 cm,分离血清,于-80 ℃保存待测。采用ELISA法测定血清GLP-1、GHb、INS水平,采用硝基四氮唑蓝法测定GSP水平。

2.3.2 小鼠血清SOD、MDA、GSH-Px和CAT水平检测 采用水溶性四唑盐法测定血清SOD水平,采用硫代巴比妥酸法测定MDA水平,采用二硫代二硝基苯甲酸比色法测定GSH-Px水平,采用钼酸铵法测定CAT水平。

2.3.3 小鼠血清TNF- α 、IL-1 β 和IL-6水平检测 采用ELISA法测定血清TNF- α 、IL-1 β 及IL-6的水平。

2.4 统计学方法 所有数据采用SPSS 27.0软件进行统计分析,计量资料用“均数 \pm 标准差”($\bar{x}\pm s$)表示,用单因素方差分析和Newman-Keuls后置检验。重复测量计量资料采用重复测量方差分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结 果

3.1 复方桑白皮方对T2DM小鼠空腹血糖的影响 与空白组比较,模型组小鼠空腹血糖水平升高,且持续5周,差异均有统计学意义($P<0.01$);灌胃治疗5周后,与模型组比较,复方桑白皮方低、中、高剂量组小鼠空腹血糖值均出现下降趋势($P<0.05$ 或 $P<0.01$),其中复方桑白皮方高剂量组血糖明显降低($P<0.01$);空白组和模型组小鼠血糖水平随时间显著变化($P<0.01$)。(见表1)

3.2 复方桑白皮方对T2DM小鼠葡萄糖耐量的影响 与空白组比较,模型组小鼠在给予葡萄糖0、30、60、90、120 min时的血糖值均升高($P<0.01$),AUC显著高于空白组($P<0.01$)。与模型组比较,复方桑白皮方低剂量组小鼠在给予葡萄糖0、30、120 min时的血糖值显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与模型组比较,复方桑白皮方中、高剂量组小鼠在给予葡萄糖0、30、60、90、120 min时血糖显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与模型组比较,复方桑白皮方低、中、高剂量组小鼠糖耐量AUC显著减小($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。(见表2)

3.3 复方桑白皮方对T2DM小鼠胰岛素耐量的影响 与空白组比较,模型组小鼠血糖水平显著升高($P<0.01$)。与模型组比较,复方桑白皮方低、中、高剂量组小鼠在注射胰岛素30 min时的血糖值显著降低($P<0.01$)。与模型组比较,复方桑白皮方高剂量组小鼠在注射胰岛素60、90、120 min时血糖值显著降低($P<0.05$)。与模型组比较,复方桑白皮方中、高剂量组小鼠胰岛素耐量AUC显著减小($P<0.05$)。(见表3)

表1 复方桑白皮方对T2DM小鼠空腹血糖的影响 ($\bar{x}\pm s$, mmol/L)

组别	n	1周	2周	3周	4周	5周	F	P
空白组	10	3.65 \pm 0.79	5.62 \pm 1.69	6.26 \pm 1.14	6.02 \pm 1.20	6.27 \pm 1.74	9.819	0.000
模型组	10	15.09 \pm 3.87 ^a	14.45 \pm 4.05 ^a	15.78 \pm 5.99 ^a	20.62 \pm 8.35 ^a	24.80 \pm 4.86 ^a	5.397	0.004
二甲双胍组	10	9.86 \pm 3.70 ^b	9.92 \pm 4.15 ^b	10.73 \pm 1.60 ^b	9.73 \pm 2.34 ^b	10.63 \pm 2.73 ^c	0.743	0.567
复方桑白皮方低剂量组	10	11.12 \pm 4.28 ^b	10.13 \pm 4.52 ^b	10.95 \pm 2.81 ^b	10.68 \pm 3.69 ^b	13.08 \pm 3.41 ^b	2.255	0.093
复方桑白皮方中剂量组	10	10.64 \pm 6.05 ^b	10.67 \pm 3.82 ^b	10.45 \pm 2.84 ^b	10.55 \pm 3.14 ^b	10.86 \pm 3.36 ^c	0.407	0.802
复方桑白皮方高剂量组	10	9.79 \pm 5.30 ^b	9.87 \pm 2.39 ^b	10.34 \pm 2.41 ^b	10.45 \pm 1.59 ^b	10.61 \pm 1.05 ^c	0.378	0.821
F		8.887	8.816	17.060	57.107	54.107		
P		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000		

注:与空白组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.05$,^c $P<0.01$ 。

表 2 复方桑白皮方对 T2DM 小鼠口服糖耐量的影响 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	血糖水平(mmol/L)					AUC/(mmol·h/L)
		0 min	30 min	60 min	90 min	120 min	
空白组	10	6.02±1.20	13.14±3.10	7.85±1.08	6.78±1.99	5.12±1.34	33.15±5.82
模型组	10	20.62±8.35 ^a	29.54±2.59 ^a	27.65±3.64 ^a	26.35±4.08 ^a	26.01±3.98 ^a	108.86±12.10 ^a
二甲双胍组	10	9.73±2.34 ^c	25.81±4.05 ^c	24.74±4.47	19.68±2.88 ^c	11.73±4.98 ^c	82.27±11.60 ^c
复方桑白皮方低剂量组	10	10.67±3.69 ^b	23.47±4.58 ^c	24.28±6.32	23.41±6.27	21.63±7.20 ^b	76.99±14.86 ^c
复方桑白皮方中剂量组	10	10.55±3.14 ^b	22.03±4.18 ^c	23.38±6.88 ^b	18.61±7.30 ^c	14.99±5.59 ^c	65.65±18.76 ^b
复方桑白皮方高剂量组	10	10.45±1.59 ^c	20.74±3.42 ^c	21.82±5.62 ^c	14.05±3.68 ^c	12.40±1.87 ^c	60.85±8.47 ^c
F		19.090	34.921	30.214	33.955	41.825	50.975
P		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:与空白组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.05$,^c $P<0.01$ 。

表 3 复方桑白皮方对 T2DM 小鼠胰岛素耐量的影响 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	血糖水平/(mmol/L)					AUC/(mmol·h/L)
		0 min	30 min	60 min	90 min	120 min	
空白组	10	6.72±1.74	5.75±1.49	4.50±1.64	4.74±1.27	4.97±1.04	10.43±2.25
模型组	10	24.80±4.86 ^a	22.36±7.88 ^a	14.56±8.54 ^a	12.26±3.23 ^a	11.81±7.54 ^a	33.85±4.76 ^a
二甲双胍组	10	10.63±2.73 ^c	10.95±3.78 ^c	9.90±3.01 ^b	7.28±3.23 ^b	7.66±4.49 ^b	22.85±3.39 ^c
复方桑白皮方低剂量组	10	13.07±3.41 ^c	12.82±6.87 ^c	12.63±8.23	8.52±3.61	9.33±2.76	30.79±4.81
复方桑白皮方中剂量组	10	10.86±3.36 ^c	8.13±2.69 ^c	9.07±5.78	8.17±2.52	8.50±3.88	29.68±2.63 ^b
复方桑白皮方高剂量组	10	10.60±1.05 ^c	10.43±3.42 ^c	9.14±2.66 ^b	7.45±2.98 ^b	8.00±2.62 ^b	28.64±3.75 ^b
F		54.823	18.207	4.949	6.537	3.881	70.842
P		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:与空白组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.05$,^c $P<0.01$ 。

3.4 复方桑白皮方对T2DM小鼠GHb、GSP、INS及GLP-1水平的影响 与空白组比较,模型组小鼠血清GHb和GSP水平显著升高($P<0.01$),INS、GLP-1水平显著降低($P<0.01$),表明T2DM小鼠处于高血糖水平的状态,存在胰岛β细胞分泌胰岛素严重不足导致胰岛素严重缺乏。与模型组比较,复方桑白皮方中剂量组GHb和GSP水平显著降低($P<0.05$),复方桑白皮高剂量组GHb和GSP水平降低明显($P<0.01$),复方桑白皮方高剂量组INS水平显著升高($P<0.05$),复方桑白皮方中、高剂量组GLP-1水平显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。(见表4)

表 4 复方桑白皮方对 T2DM 小鼠 GHb、GSP、INS 和 GLP-1 的影响 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	GHb/(μg/mL)	GSP/(mmol/L)	INS/(mIU/L)	GLP-1/(pmol/L)
空白组	10	118.86±11.94	3.89±0.31	30.60±2.39	13.60±0.70
模型组	10	158.93±10.01 ^a	6.34±0.55 ^a	22.44±1.40 ^a	9.42±0.99 ^a
二甲双胍组	10	129.56±12.19 ^c	4.18±0.37 ^c	27.58±2.42 ^c	12.42±0.80 ^c
复方桑白皮方低剂量组	10	154.11±12.84	5.83±0.15	23.46±2.49	10.17±0.77
复方桑白皮方中剂量组	10	141.48±11.31 ^b	5.10±0.50 ^b	23.95±2.36	11.36±0.97 ^b
复方桑白皮方高剂量组	10	133.72±11.44 ^c	4.41±0.17 ^c	24.94±2.10 ^b	12.47±0.96 ^c
F		13.150	54.574	22.473	38.285
P		0.000	0.000	0.000	0.000

注:与空白组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.05$,^c $P<0.01$ 。

3.5 复方桑白皮方对T2DM小鼠SOD、MDA、GSH-Px和CAT的影响 与空白组比较,模型组小鼠血清中SOD、GSH-Px、CAT水平均显著降低($P<0.01$),MDA水平显著升高($P<0.01$)。给药

干预5周后,与模型组比较,复方桑白皮方中剂量组SOD、CAT水平显著升高($P<0.05$),复方桑白皮方高剂量组SOD、CAT水平升高明显($P<0.01$);复方桑白皮方高剂量组GSH-Px水平显著升高($P<0.05$);复方桑白皮方中剂量组MDA水平显著降低($P<0.05$),复方桑白皮方高剂量组MDA水平降低明显($P<0.01$)。(见表5)

表 5 复方桑白皮方对 T2DM 小鼠 SOD、MDA、GSH-Px、CAT 的影响 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	SOD/(U/mL)	MDA/(nmol/mL)	GSH-Px/(U/mL)	CAT/(U/mL)
空白组	10	237.06±3.06	6.87±0.70	238.11±22.24	2.73±0.22
模型组	10	198.27±3.24 ^a	15.09±0.38 ^a	185.27±16.08 ^a	1.29±0.08 ^a
二甲双胍组	10	229.00±5.08 ^c	14.00±0.87 ^c	203.92±14.43 ^b	2.19±0.10 ^c
复方桑白皮方低剂量组	10	199.48±4.95	14.88±0.42	189.44±18.66	1.34±0.16
复方桑白皮方中剂量组	10	206.59±3.24 ^b	14.59±0.41 ^b	193.44±9.94	1.50±0.13 ^b
复方桑白皮方高剂量组	10	213.87±3.24 ^c	13.77±0.28 ^c	197.40±9.98 ^b	2.00±0.19 ^c
F		193.827	305.905	17.527	103.462
P		0.000	0.000	0.000	0.000

注:与空白组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.05$,^c $P<0.01$ 。

3.6 复方桑白皮方对T2DM小鼠TNF-α、IL-1β和IL-6的影响 与空白组比较,模型组小鼠血清中IL-6、IL-1β、TNF-α水平显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。给药干预5周后,与模型组比较,复方桑白皮方高剂量组IL-6、IL-1β、TNF-α水平显著降低($P<0.05$)。(见表6)

表6 复方桑白皮方对T2DM小鼠TNF- α 、IL-1 β 和IL-6的影响 ($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

组别	n	IL-6	IL-1 β	TNF- α
空白组	10	74.66 \pm 6.10	104.79 \pm 10.58	128.16 \pm 11.25
模型组	10	92.88 \pm 6.43 ^b	139.04 \pm 13.52 ^a	163.95 \pm 15.89 ^a
二甲双胍组	10	78.96 \pm 6.01 ^c	107.64 \pm 8.37 ^c	129.02 \pm 13.72 ^c
复方桑白皮方低剂量组	10	88.63 \pm 5.16	131.98 \pm 12.42	155.08 \pm 15.89
复方桑白皮方中剂量组	10	86.75 \pm 5.44	121.02 \pm 10.01	144.45 \pm 10.89
复方桑白皮方高剂量组	10	78.44 \pm 5.94 ^c	110.12 \pm 5.31 ^c	129.86 \pm 12.01 ^c
F		11.739	30.055	21.302
P		0.000	0.000	0.000

注:与空白组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$;与模型组比较,^c $P < 0.05$ 。

4 讨 论

本研究采用GHb与GSP共同评估实验动物的血糖变化情况。GHb是由葡萄糖的游离醛基与血红蛋白的游离氨基通过非酶促结合形成。GHb的糖化位点为主要糖化位点,位于血红蛋白分子 β 链的N端缬氨酸残基,占有结合葡萄糖的约60%^[14]。由于糖化这一过程基本不可逆,基于红细胞寿命,GHb能够反映T2DM患者1~4个月的血糖水平。GSP则是循环中发生糖化的蛋白质,其中90%是糖化白蛋白(glycated albumin,GA)。由于血清蛋白的半衰期比红细胞短,目前研究认为GSP水平能反映过去2~3周的血糖控制情况^[15]。

同时,本研究还检测了小鼠血清GLP-1水平的变化。GLP-1属于肠促胰岛素激素,通过胰高血糖素原的翻译后修饰生成。GLP-1能在食物摄入后以葡萄糖依赖性方式增加胰岛 β 细胞膳食刺激的胰岛素分泌量^[16]。此外GLP-1还能通过增加胰岛素编码基因的转录、稳定胰岛素mRNA、增加胰岛B细胞内钙离子浓度等途径促进胰岛素的生物合成^[17]。在空腹状态下,GLP-1的基础水平对于葡萄糖稳态的调节非常重要。研究^[17]发现即使低水平GLP-1也对分泌胰高血糖素的 α 细胞具有持续的抑制作用。GLP-1的促胰岛素作用、抑制胰高血糖素的作用均与血糖升高相关^[18],使用GLP-1受体激动剂(度拉糖肽、利拉鲁肽、艾塞那肽等)治疗T2DM患者时较少出现低血糖的情况^[19]。GLP-1因其巨大的治疗潜力,成为目前T2DM研究的重要内容。

糖耐量与胰岛素耐量试验也一定程度上体现了小鼠胰岛素抵抗情况^[20],而胰岛素抵抗是T2DM的重要病理机制。胰岛素的作用在于通过促进细胞膜上的胰岛素受体结合、激活胰岛素信号通路等途径,促进肌肉、脂肪组织等组织吸收、分解葡萄糖,从而调节血糖水平^[21]。胰岛素可帮助组织吸收葡萄糖并调节血糖。脂肪细胞的肥大和能量储存过剩导致胰岛素靶向组织对高生理胰岛素水平的反应性降低,减少葡萄糖的摄取,造成血糖逐渐升高,被称为“胰岛素抵抗”^[22]。肥大的脂肪细胞产生过量的脂质介质,通过激活蛋白激酶C(PKC)和蛋白磷酸酶2A等,抑制胰岛素信号传导,进而加剧胰岛素抵抗^[23]。胰岛 β 细胞分泌的胰岛素,与胰岛A细胞分泌的胰高血糖素共同调节体内血糖水平。长期的过度负荷导致胰岛 β 细胞的功能衰竭。目前研究认为肌肉和肝脏中胰岛素抵抗与胰岛 β 细胞衰竭是T2DM的核心病理生理缺陷,后者(胰岛 β 细胞

衰竭)的发生和速度决定了高血糖的进展速度^[24],其破坏还会激发全身性炎症反应^[25-26]。脂肪组织在肥胖状态下会释放较少的羟基脂肪酸酯(FAHFs),进一步加剧胰岛素敏感性下降^[27]。脂肪组织胰岛素抵抗不仅影响脂肪细胞,还通过改变肝脏和骨骼肌的脂质积累和能量代谢,推动全身性胰岛素抵抗,从而促进糖尿病进展^[21]。

通过腹腔注射STZ结合高糖高脂饮食构建T2DM模型小鼠,可促进小鼠胰岛 β 细胞的选择性坏死、选择性抑制葡萄糖刺激的胰岛素分泌^[28]。建模后,模型组小鼠呈现出T2DM典型的高血糖症状,血糖水平随时间持续升高,并出现氧化应激及炎症反应等相关症状。给予T2DM模型小鼠低、中、高剂量复方桑白皮方灌胃5周后,小鼠空腹血糖、GHb及GSP水平较给药前及模型组均降低,其中复方桑白皮方高剂量组降低最为显著,提示高剂量复方桑白皮方能够稳定降低T2DM小鼠血糖水平。此外,复方桑白皮方低、中、高剂量组小鼠血清INS、GLP-1均升高,提示复方桑白皮方能够促进INS和GLP-1分泌,改善模型小鼠的糖耐量和胰岛素耐量,具有持续调控血糖的作用,有效缓解血糖波动,从而显著降低T2DM模型小鼠血糖水平。

氧化应激和炎症反应是T2DM的重要病理机制,二者相互影响。氧化应激是由过量的活性氧族(reactive oxygen species,ROS)引起的自由基介导的损伤^[29],在T2DM中与胰岛素抵抗、胰岛 β 细胞功能障碍和葡萄糖耐量受损等病理机制相关^[30-31]。目前研究^[32-33]发现高血糖通过诱导内皮细胞线粒体电子传递链过度产生超氧化物,进而激活多元醇通路、PKC等多个病理通路,从而引发糖尿病微血管损伤。此外,研究^[34]发现T2DM脂肪组织中巨噬细胞、外周单核细胞及凋亡的胰岛 β 细胞均为炎症的来源。炎症反应能够损坏胰岛 β 细胞功能、干扰胰岛素信号传导,从而使机体产生胰岛素抵抗^[35-36]。研究^[37]认为炎症反应是T2DM导致动脉粥样硬化的关键机制之一。T2DM发病过程中存在氧化应激与炎症反应相互加剧的正向反馈机制^[38]。激活的免疫细胞所释放的ROS不仅具备直接作用,还能作为信号分子,激发炎症因子的生成与分泌。炎症反应不仅加剧了胰岛素抵抗,还通过促进ROS的产生和细胞黏附分子、生长因子的表达,进一步加重氧化应激,从而在体内构建起一个涉及氧化应激与炎症反应相互加剧的正向反馈机制。临床研究^[7,39]发现,T2DM患者外周血存在氧化应激升高的病理改变,同时外周血IL-6和C反应蛋白水平升高与T2DM发病风险增加相关^[40]。本研究发现复方桑白皮方能显著提高T2DM小鼠血清抗氧化酶GSH-Px、CAT、SOD的水平,降低MDA水平,同时,复方桑白皮方能显著降低T2DM小鼠血清炎症因子IL-6、IL-1 β 、TNF- α 的水平,提示复方桑白皮方在抗T2DM氧化应激的同时能减轻炎症反应。

复方桑白皮方改善氧化应激的机制可能与其稳定血糖水平的作用有关。临床研究^[41]发现,降低T2DM患者的急性血糖波动可以减少氧化应激的激活。复方桑白皮方的活性成分包括桑根甾B、 β -谷甾醇、山柰酚、槲皮素等^[42],其中 β -谷甾醇^[42]、山柰酚的代谢产物^[43]、槲皮素^[44]在动物实验与细胞实验中被证实有降低血糖、细胞保护的作用。这些活性成分的靶基因

富集于DNA损伤修复、细胞周期调控等相关通路,可调控白蛋白(ALB)、丝裂原活化蛋白激酶1(MAPK1)、SOD1等关键蛋白,可能涉及包括MAPK信号通路在内的多个通路。复方桑白皮方可能具有改善胰岛细胞氧化应激和炎症反应的作用,能通过减少细胞损伤,增加血清胰岛素和GLP-1水平。

综上所述,复方桑白皮方短期干预能够降低T2DM模型小鼠血糖水平,改善糖耐量及胰岛素耐量,同时复方桑白皮具有抗氧化和抗炎作用。未来研究可进一步探讨复方桑白皮方的具体作用机制及其在临床应用中的有效性,为T2DM的防治提供新的思路和方法。然而,由于本实验的研究时间较短,对于桑白皮方长期治疗T2DM的高血糖状态及其相关并发症的疗效及作用通路仍需进一步研究。

参考文献

- [1] ARROYO M N, GREEN J A, CNOP M, et al. tRNA biology in the pathogenesis of diabetes: Role of genetic and environmental factors[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(2): E496.
- [2] SAMPSON M, CLARK A, BACHMANN M, et al. Lifestyle intervention with or without lay volunteers to prevent type 2 diabetes in people with impaired fasting glucose and/or nondiabetic hyperglycemia: A randomized clinical trial[J]. *JAMA Intern Med*, 2021, 181(2): 168–178.
- [3] GBD 2021 Diabetes Collaborators. Global, regional, and national burden of diabetes from 1990 to 2021, with projections of prevalence to 2050: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2021[J]. *Lancet*, 2023, 402(10397): 203–234.
- [4] LÓPEZ-DÍEZ R, EGAÑA-GORROÑO L, SENATUS L, et al. Diabetes and cardiovascular complications: The epidemics continue[J]. *Curr Cardiol Rep*, 2021, 23(7): 74.
- [5] International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas 10th Edition [A/OL]. [2024-08-04]. <https://diabetesatlas.org/atlas/tenth-edition/>.
- [6] 《中国老年型糖尿病防治临床指南》编写组.中国老年2型糖尿病防治临床指南(2022年版)[J]. *中国糖尿病杂志*, 2022, 30(1): 2–51.
- [7] CATURANO A, D'ANGELO M, MORMONE A, et al. Oxidative stress in type 2 diabetes: Impacts from pathogenesis to lifestyle modifications[J]. *Curr Issues Mol Biol*, 2023, 45(8): 6651–6666.
- [8] LU X, XIE Q X, PAN X H, et al. Type 2 diabetes mellitus in adults: Pathogenesis, prevention and therapy[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2024, 9(1): 262.
- [9] 曹珣,崔丽.中药多糖防治糖尿病及其并发症的研究进展[J]. *中医药学报*, 2024, 52(8): 110–114.
- [10] 王凯,谢小丽,胡璇,等.中药防治糖尿病专利信息挖掘及其用药规律分析[J]. *中国中医药图书情报杂志*, 2022, 46(6): 8–16.
- [11] 刘征堂,靳冰.桑蚕颗粒对糖尿病大鼠的初步药效学研究[J]. *中华中医药杂志*, 2019, 34(8): 3681–3684.
- [12] 刘梦阳,刘征堂.基于网络药理学探讨自拟桑蚕颗粒治疗2型糖尿病的作用机制[J]. *山东中医药大学学报*, 2021, 45(5): 695–706.
- [13] 裴天仙,郭景玥,王春雨,等.6种2型糖尿病动物模型中生化 and 病理改变的比较[J]. *药物评价研究*, 2020, 43(9): 1740–1746.
- [14] CS L, TC A. HbA1c in the diagnosis and management of diabetes mellitus: An update[J]. *Diabetes Updat*, 2020, 6(1): 10.
- [15] XIONG J Y, WANG J M, ZHAO X L, et al. Glycated albumin as a biomarker for diagnosis of diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis[J]. *World J Clin Cases*, 2021, 9(31): 9520–9534.
- [16] DRUCKER D J, HOLST J J. The expanding incretin universe: From basic biology to clinical translation[J]. *Diabetologia*, 2023, 66(10): 1765–1779.
- [17] ZHENG Z K, ZONG Y, MA Y Y, et al. Glucagon-like peptide-1 receptor: Mechanisms and advances in therapy[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2024, 9(1): 234.
- [18] NAUCK M A, QUAST D R, WEFERS J, et al. GLP-1 receptor agonists in the treatment of type 2 diabetes—state-of-the-art[J]. *Mol Metab*, 2021, 46: 101102.
- [19] ZHU Y, XU J, ZHANG D, et al. Efficacy and safety of GLP-1 receptor agonists in patients with type 2 diabetes mellitus and non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis[J]. *Front Endocrinol*, 2021, 12: 769069.
- [20] LEI C, WANG J, LI X, et al. Changes of insulin receptors in high fat and high glucose diet mice with insulin resistance[J]. *Adipocyte*, 2023, 12(1): 2264444.
- [21] SANTORO A, MCGRAW T E, KAHN B B. Insulin action in adipocytes, adipose remodeling, and systemic effects[J]. *Cell Metab*, 2021, 33(4): 748–757.
- [22] LEE S H, PARK S Y, CHOI C S. Insulin resistance: From mechanisms to therapeutic strategies[J]. *Diabetes Metab J*, 2022, 46(1): 15–37.
- [23] SAKERS A, DE SIQUEIRA M K, SEALE P, et al. Adipose-tissue plasticity in health and disease[J]. *Cell*, 2022, 185(3): 419–446.
- [24] WYSHAM C, SHUBROOK J. Beta-cell failure in type 2 diabetes: Mechanisms, markers, and clinical implications[J]. *Postgrad Med*, 2020, 132(8): 676–686.
- [25] BLÉRIOT C, DALMAS É, GINHOUX F, et al. Inflammatory and immune etiology of type 2 diabetes[J]. *Trends Immunol*, 2023, 44(2): 101–109.
- [26] LIMA J E B F, MOREIRA N C S, SAKAMOTO-HOJO E T. Mechanisms underlying the pathophysiology of

- type 2 diabetes: From risk factors to oxidative stress, metabolic dysfunction, and hyperglycemia[J]. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*, 2022, 874–875: 503437.
- [27] ERTUNC M E, KONDURI S, MA Z, et al. Acute inflammation upregulates FAHFs in adipose tissue and in differentiated adipocytes[J]. *J Biol Chem*, 2024, 300(12): 107972.
- [28] RACINE K C, IGLESIAS-CARRES L, HERRING J A, et al. The high-fat diet and low-dose streptozotocin type-2 diabetes model induces hyperinsulinemia and insulin resistance in male but not female C57BL/6J mice[J]. *Nutr Res*, 2024, 131: 135–146.
- [29] JOMOVA K, RAPTOVA R, ALOMAR S Y, et al. Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: Chronic diseases and aging[J]. *Arch Toxicol*, 2023, 97(10): 2499–2574.
- [30] SEN P, GUPTA M, SAINI M, et al. Oxidative stress-induced metabolic disorders[M]//*Metal Nanocomposites in Nanotherapeutics for Oxidative Stress-Induced Metabolic Disorders*. Boca Raton: CRC Press, 2023: 1–15.
- [31] BHATTI J S, SEHRAWAT A, MISHRA J, et al. Oxidative stress in the pathophysiology of type 2 diabetes and related complications: Current therapeutics strategies and future perspectives[J]. *Free Radic Biol Med*, 2022, 184: 114–134.
- [32] PAUL S, ALI A, KATARE R. Molecular complexities underlying the vascular complications of diabetes mellitus—A comprehensive review[J]. *J Diabetes Complications*, 2020, 34(8): 107613.
- [33] AN Y, XU B T, WAN S R, et al. The role of oxidative stress in diabetes mellitus-induced vascular endothelial dysfunction[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2023, 22(1): 237.
- [34] FENERCIOGLU A K, GONEN M S, UZUN H, et al. The association between serum 25-hydroxyvitamin D3 levels and pro-inflammatory markers in new-onset type 2 diabetes mellitus and prediabetes[J]. *Biomolecules*, 2023, 13(12): 1778.
- [35] WONDUNKUN Y T. Obesity, insulin resistance, and type 2 diabetes: Associations and therapeutic implications[J]. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2020, 13: 3611–3616.
- [36] SON J, ACCILI D. Reversing pancreatic β -cell dedifferentiation in the treatment of type 2 diabetes[J]. *Exp Mol Med*, 2023, 55(8): 1652–1658.
- [37] LI J R, ZHAO J Y, TIAN C X, et al. Mechanisms of regulation of glycolipid metabolism by natural compounds in plants: Effects on short-chain fatty acids[J]. *Nutr Metab*, 2024, 21(1): 49.
- [38] YOUSEF H, KHANDOKER A H, FENG S F, et al. Inflammation, oxidative stress and mitochondrial dysfunction in the progression of type II diabetes mellitus with coexisting hypertension[J]. *Front Endocrinol*, 2023, 14: 1173402.
- [39] CHEN J W, WANG Q, LI R Y, et al. The role of sirtuins in the regulation of oxidative stress during the progress and therapy of type 2 diabetes mellitus[J]. *Life Sci*, 2023, 333: 122187.
- [40] LE T N, BRIGHT R, TRUONG V K, et al. Key biomarkers in type 2 diabetes patients: A systematic review[J]. *Diabetes Obes Metab*, 2025, 27(1): 7–22.
- [41] OMACHI T, OHARA M, FUJIKAWA T, et al. Comparison of effects of injectable semaglutide and dulaglutide on oxidative stress and glucose variability in patients with type 2 diabetes mellitus: A prospective preliminary study[J]. *Diabetes Ther*, 2024, 15(1): 111–126.
- [42] 谷江霞, 窦德强. 食用仙人掌降糖活性成分研究[J]. *中国现代中药*, 2007, 9(11): 15–16, 26.
- [43] 杨胜楠. 山奈酚-3-O-葡萄糖醛酸苷、黄芩苷调节糖代谢的作用机制研究[D]. 天津: 南开大学, 2019.
- [44] 刘慧. microRNAs介导槲皮素与EGCG改善胰岛素抵抗的分子机制研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2023.
- (收稿日期: 2024-09-26 编辑: 罗英姣)