

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2021.18.013

## 薯蓣粥对 2 型糖尿病模型大鼠糖代谢及胰岛功能的影响

戴燕铃<sup>1</sup>, 陈雪花<sup>2</sup>, 丁怀利<sup>3</sup>, 李绵利<sup>1</sup>, 庞书勤<sup>1</sup>, 刘蔚楠<sup>4</sup>✉

1. 福建中医药大学护理学院, 福建省福州市闽侯县上街邱阳路 1 号, 350108; 2. 福州市晋安区医院; 3. 福建省儿童医院; 4. 福建中医药大学附属人民医院

**[摘要]** **目的** 探讨薯蓣粥改善 2 型糖尿病糖代谢和胰岛素抵抗的可能作用机制。**方法** 50 只雄性 Wistar 大鼠随机分为空白组 8 只和造模组 42 只。造模组给予高脂高糖饲料喂养 6 周后结合腹腔注射链脲佐菌素 (STZ) 建立 2 型糖尿病大鼠模型。造模成功的 32 只大鼠随机分为模型组、薯蓣粥组、二甲双胍组、联合用药组, 每组 8 只。薯蓣粥组给予薯蓣粥灌胃, 其中山药含量 12 g/(kg·d), 二甲双胍组给予盐酸二甲双胍片 100 mg/(kg·d) 灌胃, 联合用药组上午给予薯蓣粥, 下午给予盐酸二甲双胍片灌胃 (剂量同上), 空白组、模型组给予 10 ml/(kg·d) 生理盐水灌胃, 持续干预 6 周。检测干预前及干预第 2、4、6 周各组大鼠空腹血糖 (FBG) 水平, 干预 6 周后各组大鼠进行口服葡萄糖耐量试验 (OGTT), 计算曲线下面积 (AUC)、血清空腹胰岛素 (FINS)、胰岛素抵抗指数 (HOMA-IR), 检测大鼠骨骼肌单磷酸腺苷酸激活蛋白激酶 (AMPK)、葡萄糖转运蛋白 4 (GLUT-4) mRNA 表达, 骨骼肌 AMPK、磷酸化单磷酸腺苷酸激活蛋白激酶 (p-AMPK)、GLUT-4 蛋白水平。**结果** 与模型组比较, 薯蓣粥组、二甲双胍组、联合用药组干预 2、4、6 周 AUC、FINS、HOMA-IR 及干预第 4、6 周 FBG 水平均降低, p-AMPK/AMPK, GLUT-4 蛋白及 mRNA 表达显著增加 ( $P < 0.05$ )。与薯蓣粥组比较, 联合用药组 AUC、FINS、HOMA-IR 降低, GLUT-4 蛋白及 mRNA、AMPK mRNA 表达升高, 干预第 4 周、第 6 周 FBG 水平显著降低 ( $P < 0.05$ )。薯蓣粥组大鼠 FBG 水平从干预第 2 周开始至第 6 周逐渐降低 ( $P < 0.05$ ); 二甲双胍组和联合用药组大鼠 FBG 水平从干预前至第 6 周逐渐降低 ( $P < 0.05$ )。在 OGTT 试验中, 模型组的血糖水平未见明显回落, 薯蓣粥组、二甲双胍组、联合用药组在 0.5 h 时血糖出现高峰, 1 h 时开始明显下降。**结论** 薯蓣粥能够改善 2 型糖尿病模型大鼠的糖代谢及胰岛素功能, 且与二甲双胍联用效果更佳, 其作用机制可能与调节骨骼肌的 AMPK 通路相关。

**[关键词]** 2 型糖尿病; 薯蓣粥; 二甲双胍; 糖代谢; 胰岛功能; 胰岛素抵抗; 单磷酸腺苷酸激活蛋白激酶; 葡萄糖转运蛋白 4

随着生活方式和疾病谱的改变, 2 型糖尿病的发病率呈迅速上升趋势, 已成为世界范围内的公众健康问题<sup>[1]</sup>。国际糖尿病联盟 (IDF) 发布的《全球糖尿病地图 (第 9 版)》<sup>[2]</sup> 显示, 截至 2019 年全球糖尿病患者已达 4.63 亿人, 预计到 2045 年全球将有近 7 亿人身患糖尿病, 且发展中国家的增长幅度最大。饮食干预是 2 型糖尿病综合治疗方案的关键

措施, 也是其防治的基础。饮食干预可以控制热量摄入, 调节能量代谢平衡, 从而影响 2 型糖尿病的糖代谢和胰岛功能, 实现对血糖的控制<sup>[3-4]</sup>。目前糖尿病的饮食干预方法主要有低血糖指数饮食、低血糖负荷饮食、地中海膳食及中医食疗等。薯蓣粥是张锡纯《医学衷中参西录》中的经典食疗方, 组成仅为一味生怀山药: “生怀山药一斤, 轨细过罗, 上药一味, 每服用药取七八钱, 或至一两, 和凉水调入锅内, 置炉上, 不住以箸搅之, 二三沸, 即成粥服之”<sup>[5]</sup>。山药又名薯蓣, 故称为薯蓣粥。

**基金项目:** 国家自然科学基金 (81904269); 福建省自然科学基金 (2019J01358); 福建中医药大学校管科研课题 (X2019048-学科, X2018003)

✉ 通讯作者: 13799309764@139.com, (0591) 86250012

前期研究<sup>[6-7]</sup>显示,薯蓣粥能降低2型糖尿病患者的空腹血糖(FBG)、餐后2小时血糖(2hPBG)和糖化血红蛋白,并改善胰岛功能,但其作用途径和机制尚未明确。单磷酸腺苷酸激活蛋白激酶(AMPK)通路是能量代谢的调节器,广泛参与2型糖尿病的糖代谢<sup>[8]</sup>。研究<sup>[9-10]</sup>发现,山药提取物、山药多糖可激活AMPK通路,AMPK磷酸化后可增加葡萄糖转运体(GLUT)的表达,增强骨骼肌对葡萄糖的摄取和利用,以维持糖代谢的动态平衡。本研究从AMPK能量代谢通路角度,探讨薯蓣粥改善2型糖尿病糖代谢及胰岛功能的可能作用机制,为临床应用中医食疗改善2型糖尿病提供实验依据。本研究经福建中医药大学动物实验伦理委员会批准(批号:FJTCM IACUC 2019056)。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物

SPF级雄性Wistar大鼠50只,8周龄,体质量(200±20)g,购自上海斯莱克实验动物有限责任公司,实验动物合格证号:SCXK(沪)2017-0005。饲养于福建中医药大学实验动物中心SPF级动物中心,温度(25±2)℃,湿度(55±5)%,每日人工光源12h明暗交替。

### 1.2 药品

薯蓣粥制备:生山药从河南焦作订购,经福建中医药大学药学院专家鉴定。150g山药去皮后(125g)切片、入匀浆机,加水50ml打成糊,250ml凉水调入,中火煮沸后关火,静置30s,文火煮沸后关火,再次静置30s,文火煮沸后关火,其间不断搅拌,最后成粥250ml(山药含量0.5g/ml),冷却至37℃后使用。

盐酸二甲双胍片(格华止,中美上海施贵宝制药有限公司,批号ABL5863,0.5g/片),加入蒸馏水配制含药浓度0.02g/ml混合液。葡萄糖注射液(湖南科伦制药有限公司,批号C1911029)。定制的高脂高糖饲料(福州市闽侯吴氏实验动物贸易有限公司)配方:15%蔗糖,4%胆固醇,0.3%胆酸盐,10%猪油,10%蛋黄粉,60.7%基础饲料,辐照后使用。

### 1.3 主要试剂及仪器

链脲佐菌素(STZ, Sigma公司,批号WXBD0304V);戊巴比妥钠(Sigma公司,批号AM00469);RIPA裂解液(批号MA0151)、BCA蛋白定量检测试

剂盒(批号MA0082)、蛋白Marker(批号MA0342)、SDS-PAGE凝胶制备试剂盒(批号MA0159)、蛋白上样缓冲液(批号MA0003-D)、ECL发光显影液(批号MA0186),大连美仑生物公司;β-actin单克隆抗体(批号YM3028)、GAPDH单克隆抗体(批号YM3029)、葡萄糖转运体4(GLUT-4)多克隆抗体(批号YT5523),美国Immunoway公司;RNA提取试剂盒(批号15596026),Thermo公司;AMPK and ACC Antibody Sampler Kit(批号9957T),Cell Signaling Technology公司;大鼠胰岛素酶联免疫吸附测定试剂盒(批号8NGCYVL35D),武汉伊来瑞特公司;柠檬酸(RH172682)、柠檬酸钠(RH176436),上海易恩化学技术有限公司。

OneTouch UltraEasy型血糖仪和稳豪型血糖试纸,强生(中国)医疗器械有限公司;KZ-II高速组织研磨仪,Servicebio公司;KDC-2046低速冷冻离心机,安徽中科中佳科学仪器有限公司;Stepone plus荧光定量PCR仪,ABI公司;MicroCL21R台式高速冷冻型微量离心机、NanoDrop2000超微量分光光度计、Multiska FC酶标检测仪、iBright CL750 Imaging System, Thermo公司;DYCZ-24DN双垂直电泳仪、DYCZ-40D转印电泳仪,北京六一仪器厂。

### 1.4 动物模型制备

大鼠适应性饲养1周后,50只大鼠采用随机数字表分为空白组8只和造模组42只。空白组给予普通饲料喂养。造模组参考文献[11]制备2型糖尿病大鼠模型:给予高脂高糖饲料喂养6周后禁食12h,按体重联合体表面积法(25mg/kg+m<sup>2</sup>)剂量腹腔注射STZ缓冲液(用pH=4.3~4.5的0.1mol/L柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液稀释),间隔72h后再次腹腔注射STZ缓冲液。空白组腹腔注射等量柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液。于两次腹腔注射后第3天和第7天,尾静脉采血测随机血糖,以FBG>11.1mmol/L或PBG>16.7mmol/L,同时伴有多饮、多食、多尿、体重下降等症状,判定2型糖尿病模型造模成功<sup>[11]</sup>。STZ注射剂量体重联合体表面积法计算,具体为<sup>[11]</sup>:大鼠体重≤200g的部分按25mg/kg计算;大鼠体重>200g的部分按162.45mg/m<sup>2</sup>计算,体表面积(m<sup>2</sup>)=大鼠体型系数(0.09)×体重<sup>2/3</sup>(kg);大鼠STZ用量=由体重计算所得用量+由体表面积计算所得用量。

### 1.5 分组及给药

造模成功的 32 只大鼠按随机数字表分为模型组、薯蓣粥组、二甲双胍组、联合用药组, 每组 8 只, 各组大鼠均给予普通饲料。空白组、模型组给予 10 ml/(kg·d) 生理盐水灌胃。薯蓣粥组给予薯蓣粥 12 g/(kg·d) 灌胃。二甲双胍组给予盐酸二甲双胍片 100 mg/(kg·d) 灌胃。各组均每天上、下午各灌胃 1 次。联合用药组上午给予薯蓣粥 12 g/(kg·d)、下午给予二甲双胍 100 mg/(kg·d) 灌胃。各组持续干预 6 周。薯蓣粥灌胃量为按体表面积计算<sup>[12]</sup>的人与大鼠等效剂量。

### 1.6 观察指标及方法

**1.6.1 空腹血糖及口服葡萄糖耐量试验 (OGTT)** 分别于干预前及干预第 2、4、6 周末尾静脉取血检测各组大鼠 FBG。干预第 6 周结束后大鼠禁食不禁水 12 h, 尾静脉取血测定 FBG 后给予 50% 葡萄糖溶液 2 g/kg 灌胃, 分别在 0.5、1、2 h 尾静脉取血测定血糖值, 并计算曲线下面积 (AUC) 评价糖耐量。AUC=1/4×FBG 值+1/2×0.5 h 血糖值+3/4×1 h 血糖值+1/2×2 h 血糖值<sup>[13]</sup>。

**1.6.2 血清空腹胰岛素 (FINS) 水平及胰岛素抵抗指数 (HOMA-IR)** 干预 6 周后, 大鼠腹腔注射 2% 戊巴比妥钠 (45 mg/kg) 麻醉, 取腹主动脉血, 于 4 ℃、2800 r/min 离心 10 min, 离心半径 8 cm, 取上层透明血清。采用酶联免疫吸附 (ELISA) 法, 用酶标仪测定吸光度 (OD 值), 波长 450 nm, 计算 FINS, FINS=10×[75.403×(校准 OD 值)<sup>2</sup>+192.44×校准 OD 值+0.0218]。该公式是在实验中根据标准品的浓度和 OD 值做出的标准曲线方程。计算稳态模型评估 HOMA-IR, HOMA-IR=(FBG×FINS)/22.5<sup>[14]</sup>。

**1.6.3 Western blot 法检测肌肉组织 AMPK、磷酸化单磷酸腺苷酸激活蛋白激酶 (p-AMPK)、GLUT-4 蛋白表达** 干预 6 周后, 大鼠腹腔注射 2% 戊巴比妥钠 (45 mg/kg) 麻醉, 处死后取左侧股直肌, 用随机数字表每组选取 6 个样本进行检测。股直肌用冷 PBS 洗涤 2 或 3 次, 去除血污, 剪成小块置于匀浆管中, 加入 RIPA 裂解后匀浆, 样品预冷至 4 ℃, 12 000 r/s 离心 10 min, 离心半径 7 cm, 取上清液。将上清液按照 4:1 的比例加入 5×蛋白上样缓冲液, 沸水浴 15 min 使蛋白变性。准备 5% SDS-PAGE 凝胶, 加样后电泳, 之后转至 0.45 μm PVDF 膜上, 5% 脱脂牛奶室温封闭 1 h, 加入一抗 (1:1000) 4 ℃过夜, 用 TBST 在室温下脱色摇床上洗 3 次, 每

次 5 min, 将二抗用 TBST 稀释 3000 倍, 室温下孵育 30 min 后, 用 TBST 在室温下脱色摇床上洗 3 次, 每次 5 min, ECL 发光液曝光, 将胶片进行扫描存档, 使用 Image J (1.52a) 软件分析目标条带的灰度值。

**1.6.4 PCR 法检测肌肉组织 AMPK、GLUT-4 mRNA 表达** 干预 6 周后, 用随机数字表每组选取 6 个样本进行检测。大鼠左侧股直肌匀浆后, 依照试剂盒方法依次进行总 RNA 提取, DNA 反转录及扩增, 实时荧光定量 PCR 法检测 AMPK、p-AMPK、GLUT-4 的 mRNA 表达。引物由上海生工生物有限公司合成, 详见表 1。DNA 扩增条件: 95 ℃预变性 10 min 后进入 PCR 循环, 95 ℃变性 15 s, 60 ℃退火 60 s, 共 40 个循环。结果以 2<sup>-ΔΔCt</sup> 定量法计算 mRNA 表达水平。

表 1 肌肉组织 AMPK、GLUT-4 mRNA 引物序列

| 基因      |    | 引物序列 (5' to 3')             | 碱基数 |
|---------|----|-----------------------------|-----|
| AMPK    | 上游 | TCC TTC ATG GAC GAT ATG GCC | 21  |
|         | 下游 | ATC CAG TGG ACA GCG TGC TTT | 21  |
| GLUT-4  | 上游 | GGG CTG TGA GTG AGT GCT TTC | 21  |
|         | 下游 | CAG CAA CTG AGG GCC TCT CT  | 20  |
| β-actin | 上游 | ACT CTG TGT GGA TTG GTG GC  | 20  |
|         | 下游 | AGC TCA GTA ACA GTC CGC CT  | 20  |

注: AMPK, 单磷酸腺苷酸激活蛋白激酶; GLUT-4, 葡萄糖转运蛋白 4。

### 1.7 统计学方法

应用 SPSS 22.0 进行统计分析, 计量资料以均值标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 多组间数据比较采用单因素方差分析, 多个干预时间点的组间和组内比较采用重复测量方差分析。两两比较, 方差齐时采用 LSD 检验, 方差不齐采用 Tamhane's *T*<sup>2</sup> 检验进行多重比较。均采用双侧检验, 以  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组大鼠不同时间 FBG、OGTT 及 AUC 比较

表 2 示, 各时间模型组、薯蓣粥组、二甲双胍组、联合用药组 FBG 水平均显著高于空白组 ( $P < 0.05$ )。与模型组比较, 干预 2 周二甲双胍组和联合用药组 FBG 水平降低, 干预 4、6 周薯蓣粥组、二甲双胍组、联合用药组 FBG 水平均降低 ( $P < 0.05$ )。与薯蓣粥组比较, 干预 4 周二甲双胍组、联合用药组 FBG 水平均显著降低, 干预 6 周联合用药组 FBG 水平显著降低 ( $P < 0.05$ )。空白组和模型组组内不同时间 FBG 水平比较差异均无统计学

表2 各组大鼠不同时间FBG水平比较 (mmol·L<sup>-1</sup>,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别    | 鼠数 | 干预前                      | 干预2周                           | 干预4周                                 | 干预6周                                    |
|-------|----|--------------------------|--------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------------|
| 空白组   | 8  | 4.66±0.43                | 4.83±0.47                      | 5.23±0.63                            | 4.68±0.37                               |
| 模型组   | 8  | 29.21±2.93 <sup>a)</sup> | 30.69±1.93 <sup>a)</sup>       | 29.74±3.06 <sup>a)</sup>             | 28.81±1.04 <sup>a)</sup>                |
| 薯蓣粥组  | 8  | 29.90±3.73 <sup>a)</sup> | 27.54±3.79 <sup>a)</sup>       | 20.65±3.64 <sup>a) b) d) e)</sup>    | 15.10±2.03 <sup>a) b) d) e) f)</sup>    |
| 二甲双胍组 | 8  | 30.94±2.27 <sup>a)</sup> | 22.09±2.86 <sup>a) b) d)</sup> | 16.24±2.61 <sup>a) b) c) d) e)</sup> | 12.40±2.14 <sup>a) b) d) e) f)</sup>    |
| 联合用药组 | 8  | 29.26±4.97 <sup>a)</sup> | 22.76±4.44 <sup>a) b) d)</sup> | 17.08±3.71 <sup>a) b) c) d) e)</sup> | 11.75±1.27 <sup>a) b) c) d) e) f)</sup> |

注：FBG，空腹血糖。

a) 与空白组同时时间比较， $P<0.05$ ；b) 与模型组同时时间比较， $P<0.05$ ；c) 与薯蓣粥组同时时间比较， $P<0.05$ ；d) 与本组干预前比较， $P<0.05$ ；e) 与本组第2周比较， $P<0.05$ ；f) 与本组第4周比较， $P<0.05$ 。

意义 ( $P>0.05$ )；干预4、6薯蓣粥组大鼠FBG水平较前一时间点降低，差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )；二甲双胍组和联合用药组大鼠FBG干预2、4、6周FBG水平较前一时间点降低，差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。

表3示，在OGTT试验中，模型组各时间点血糖水平未见明显回落，薯蓣粥组、二甲双胍组、联合用药组在0.5h时血糖出现高峰，1h时开始明显下降。模型组AUC显著高于空白组 ( $P<0.05$ )，薯蓣粥组、二甲双胍组、联合用药组AUC均显著低于模型组 ( $P<0.05$ )。联合用药组AUC低于薯蓣粥组 ( $P<0.05$ )，与二甲双胍组差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。薯蓣粥组和二甲双胍组的AUC差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。

2.2 各组大鼠血清FINS、HOMA-IR比较

表4示，与空白组比较，模型组大鼠血清FINS、HOMA-IR水平显著升高 ( $P<0.05$ )；与模型组比较，薯蓣粥组、二甲双胍组、联合用药组FINS、HOMA-IR水平显著降低 ( $P<0.05$ )；与薯蓣粥组比较，联合用药组FINS、HOMA-IR水平均显著降低 ( $P<0.05$ )；薯蓣粥组和二甲双胍组FINS、HOMA-IR水平差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。

2.3 各组大鼠骨骼肌AMPK通路相关蛋白表达比较

表5示，与空白组比较，其余各组大鼠骨骼肌

表4 各组大鼠血清FINS水平、HOMA-IR水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别    | 鼠数 | FINS/mIU·L <sup>-1</sup>      | HOMA-IR /mIU·mmol·L <sup>-2</sup> |
|-------|----|-------------------------------|-----------------------------------|
| 空白组   | 8  | 5.66±0.72                     | 1.17±0.17                         |
| 模型组   | 8  | 13.08±1.23 <sup>a)</sup>      | 16.72±1.18 <sup>a)</sup>          |
| 薯蓣粥组  | 8  | 8.90±1.17 <sup>a) b)</sup>    | 5.98±1.08 <sup>a) b)</sup>        |
| 二甲双胍组 | 8  | 8.14±0.90 <sup>a) b)</sup>    | 4.48±0.87 <sup>a) b)</sup>        |
| 联合用药组 | 8  | 7.72±0.64 <sup>a) b) c)</sup> | 4.03±0.54 <sup>a) b) c)</sup>     |

注：FINS，空腹胰岛素；HOMA-IR，稳态模型胰岛素抵抗指数。

a) 与空白组比较， $P<0.05$ ；b) 与模型组比较， $P<0.05$ ；c) 与薯蓣粥组比较， $P<0.05$ 。

AMPK蛋白表达比较差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )，联合用药组AMPK蛋白表达高于薯蓣粥组 ( $P<0.05$ )；与空白组比较，模型组p-AMPK/AMPK、GLUT-4蛋白表达显著降低 ( $P<0.05$ )；与模型组比较，薯蓣粥组、二甲双胍组、联合用药组p-AMPK/AMPK、GLUT-4蛋白表达显著增加 ( $P<0.05$ )；薯蓣粥组、二甲双胍组、联合用药组两两比较，p-AMPK/AMPK蛋白表达差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )；二甲双胍组GLUT-4蛋白表达高于薯蓣粥组 ( $P<0.05$ )，联合用药组的GLUT-4蛋白表达高于薯蓣粥组、二甲双胍组 ( $P<0.05$ )。各组大鼠骨骼肌AMPK、p-AMPK、AMPK、GLUT-4蛋白电泳图见图1。

表3 各组大鼠50%葡萄糖灌胃后不同时间OGTT、AUC水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别    | 鼠数 | OGTT/mmol·L <sup>-1</sup> |            |            |            | AUC/mmol·L <sup>-1</sup> ·min <sup>-1</sup> |
|-------|----|---------------------------|------------|------------|------------|---------------------------------------------|
|       |    | 0 h                       | 0.5 h      | 1 h        | 2 h        |                                             |
| 空白组   | 8  | 4.68±0.37                 | 7.01±0.55  | 7.76±0.31  | 4.90±0.35  | 12.95±0.25                                  |
| 模型组   | 8  | 28.81±1.04                | 32.80±0.98 | 32.96±0.56 | 31.55±1.96 | 64.35±1.07 <sup>a)</sup>                    |
| 薯蓣粥组  | 8  | 15.10±2.03                | 31.56±2.50 | 29.16±3.49 | 22.09±2.23 | 52.47±4.61 <sup>a) b)</sup>                 |
| 二甲双胍组 | 8  | 12.40±2.14                | 26.74±1.03 | 26.14±3.46 | 20.34±3.10 | 46.24±3.70 <sup>a) b)</sup>                 |
| 联合用药组 | 8  | 11.75±1.27                | 29.00±2.22 | 25.08±1.80 | 17.19±2.13 | 44.84±1.72 <sup>a) b) c)</sup>              |

注：OGTT，口服葡萄糖耐量试验；AUC，OGTT试验曲线下面积。

a) 与空白组比较， $P<0.05$ ；b) 与模型组比较， $P<0.05$ ；c) 与薯蓣粥组比较， $P<0.05$ 。

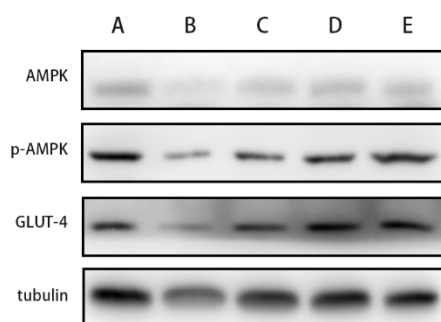
表5 各组大鼠骨骼肌 AMPK、GLUT-4 蛋白表达

及 p-AMPK/AMPK 比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别    | 鼠数 | AMPK/<br>灰度值            | p-AMPK/<br>AMPK            | GLUT-4/<br>灰度值                   |
|-------|----|-------------------------|----------------------------|----------------------------------|
| 空白组   | 6  | 0.61±0.17               | 1.05±0.21                  | 0.76±0.09                        |
| 模型组   | 6  | 0.59±0.23               | 0.45±0.09 <sup>a)</sup>    | 0.14±0.03 <sup>a)</sup>          |
| 薯蓣粥组  | 6  | 0.40±0.09               | 1.43±0.14 <sup>a) b)</sup> | 0.27±0.08 <sup>a) b)</sup>       |
| 二甲双胍组 | 6  | 0.59±0.25               | 1.51±0.08 <sup>a) b)</sup> | 0.40±0.07 <sup>a) b) c)</sup>    |
| 联合用药组 | 6  | 0.74±0.31 <sup>c)</sup> | 1.53±0.11 <sup>a) b)</sup> | 0.48±0.03 <sup>a) b) c) d)</sup> |

注: AMPK, 单磷酸腺苷酸激活蛋白激酶; p-AMPK, 磷酸化单磷酸腺苷酸激活蛋白激酶; GLUT-4, 葡萄糖转运蛋白4。

a) 与空白组比较,  $P<0.05$ ; b) 与模型组比较,  $P<0.05$ ; c) 与薯蓣粥组比较,  $P<0.05$ ; d) 与二甲双胍组比较,  $P<0.05$ 。



注: AMPK, 单磷酸腺苷酸激活蛋白激酶; p-AMPK, 磷酸化单磷酸腺苷酸激活蛋白激酶; GLUT-4, 葡萄糖转运蛋白4。

A, 空白组; B, 模型组; C, 薯蓣粥组; D, 二甲双胍组; E, 联合用药组。

图1 各组大鼠骨骼肌 AMPK、p-AMPK、AMPK、GLUT-4 蛋白电泳图

## 2.4 各组大鼠骨骼肌 AMPK、GLUT-4 mRNA 表达比较

表6示, 与空白组比较, 模型组 AMPK、GLUT-4 mRNA 表达显著降低 ( $P<0.05$ ); 与模型组比较, 薯蓣粥组、二甲双胍组、联合用药组 AMPK、GLUT-4 mRNA 表达显著升高 ( $P<0.05$ )。与薯蓣粥组比较, 联合用药组 AMPK、GLUT-4 mRNA 表达均显著升高 ( $P<0.05$ )。薯蓣粥组与二甲双胍组 AMPK、GLUT-4 mRNA 表达差异均无统计学意义 ( $P>0.05$ )。

## 3 讨论

2型糖尿病属于中医学“消渴病”范畴, 以阴虚为本, 燥热为标, 中焦脾气散精功能失常是消渴发病的关键<sup>[15]</sup>。“脾胰同源”说认为现代医学中胰腺的功能包含于中医学脾的“转输”和“散精”之中, 脾气所散之“精”, 包含饮食所化之“精”(血糖)及胰岛分泌之“精”(糖调节激素), 脾散精功能受损, 不能将水谷精微布散全身, 则聚为“糖

表6 各组大鼠骨骼肌 AMPK、GLUT-4 mRNA 表达比较

(2<sup>-△△Ct</sup>,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别    | 鼠数 | AMPK                          | GLUT-4                        |
|-------|----|-------------------------------|-------------------------------|
| 空白组   | 6  | 1                             | 1                             |
| 模型组   | 6  | 0.36±0.10 <sup>a)</sup>       | 0.32±0.05 <sup>a)</sup>       |
| 薯蓣粥组  | 6  | 0.67±0.11 <sup>a) b)</sup>    | 0.59±0.07 <sup>a) b)</sup>    |
| 二甲双胍组 | 6  | 0.79±0.08 <sup>a) b)</sup>    | 0.71±0.07 <sup>a) b)</sup>    |
| 联合用药组 | 6  | 0.87±0.05 <sup>a) b) c)</sup> | 0.81±0.05 <sup>a) b) c)</sup> |

注: AMPK, 单磷酸腺苷酸激活蛋白激酶; GLUT-4, 葡萄糖转运蛋白4。

a) 与空白组比较,  $P<0.05$ ; b) 与模型组比较,  $P<0.05$ ; c) 与薯蓣粥组比较,  $P<0.05$ 。

浊”, 表现为血糖升高<sup>[15]</sup>。“脾不散精”往往表现为脾气虚弱、脾阴不足相互交叠, 故健脾益气、养阴生津是调节2型糖尿病糖代谢的基本法则<sup>[16-17]</sup>。研究<sup>[18]</sup>表明, 健脾生津法可促进脾气散精功能, 改善胰岛微循环障碍, 减少血糖波动。运用中医饮食干预治疗2型糖尿病, 可助脾散精, 使水谷精微的转输与利用恢复正常, 则“糖浊”可化。本团队对中医食疗干预2型糖尿病的随机对照试验研究进行Meta分析, 结果显示益气养阴食疗法能有效降低患者的血糖水平<sup>[19]</sup>。

近代名医张锡纯以善用山药著称, 薯蓣粥的组成仅为一味生怀山药, 其性味甘平, 具有补脾益气、滋养脾阴的功效, 可用于糖尿病的中医饮食干预中。薯蓣粥能健脾益气, 助脾升清, 令水精四布; 亦有滋养脾阴之效, 脾阴足自能灌溉诸脏腑, 散精于四肢, 令“精”散而不壅, “精”尽为所用, 从而起到降低血糖和恢复糖调节激素功能的作用。曲超<sup>[20]</sup>对糖尿病的中药用药规律进行系统评价, 结果显示山药是防治2型糖尿病的核心药物, 能够有效降低患者血糖和HbA1c, 提高胰岛素敏感性, 降低胰岛素抵抗水平。本研究结果表明, 薯蓣粥、二甲双胍和联合用药均能有效降低2型糖尿病模型大鼠的FBG、OGTT曲线下面积、FINS和HOMA-IR指数, 提高胰岛素敏感性。短期干预时二甲双胍的降糖作用较为明显, 但随着干预时间的延长, 联合用药组的降糖效果更佳。同时, 联合用药组在改善胰岛功能方面效果亦更佳。从药理学角度看, 山药含有多种有效成分, 如薯蓣皂苷、抗性淀粉、山药多糖等, 都具有明显的降糖降脂、改善胰岛素抵抗等作用<sup>[21-23]</sup>。李亚娟等<sup>[24]</sup>对2型糖尿病患者在胰岛素治疗基础上配合山药食疗, 可有效降低患者血糖、血脂, 改善胰岛功能。本研究结果与上述研究结果均一致。

AMPK被称为“代谢的感受器”, 可协调机体内代谢和能量需要, 是细胞能量代谢中枢和总开

关。AMPK 活化后可降低循环中的葡萄糖和脂质的水平, 增强胰岛素敏感性, 在 2 型糖尿病的非胰岛素治疗过程中起到至关重要的作用<sup>[8]</sup>。AMPK 磷酸化后可诱导 GLUT-4 转位, 在基因水平增加 GLUT-4 的表达, 增加外周组织(如骨骼肌)摄取葡萄糖, 促进葡萄糖转运。Halse 等<sup>[25]</sup>对骨骼肌细胞研究发现激活 AMPK 后, 在明显促进葡萄糖摄取的同时抑制了糖原合成酶的作用, 从而保证葡萄糖向着糖酵解方向反应。本研究结果表明, 2 型糖尿病会使 AMPK、GLUT-4 mRNA 表达显著降低, 同时 AMPK 磷酸化(p-AMPK/AMPK)和 GLUT-4 的蛋白表达亦随之降低。而薯蓣粥、二甲双胍和联合用药干预 6 周后 2 型糖尿病大鼠骨骼肌 AMPK 和 GLUT-4 mRNA 表达水平增加, 使磷酸化 AMPK 和 GLUT-4 蛋白表达随之增加, 尤其是联合用药组在提高 GLUT-4 蛋白表达方面较薯蓣粥、二甲双胍组更明显。有研究表明, 一些天然食物可通过激活 AMPK, 增加 db/db 小鼠骨骼肌 GLUT-4 表达, 从而促进葡萄糖摄取, 改善 2 型糖尿病的症状<sup>[26-27]</sup>。Ma 等<sup>[28]</sup>研究表明, 激活 AMPK 后可增加 2 型糖尿病模型大鼠骨骼肌 p-AMPK/AMPK 和 GLUT-4 的蛋白表达, 从而提高胰岛素敏感性, 降低血糖水平, 改善胰岛素抵抗, 本研究结果与其一致。

本研究结果证实, 薯蓣粥能有效改善 2 型糖尿病模型大鼠的糖代谢及胰岛素功能, 薯蓣粥联合二甲双胍的效果更佳, 其机制可能是通过调控骨骼肌 AMPK 通路实现。本实验未将不同浓度薯蓣粥进行分组研究其量效关系, 有待后续深入研究。

## 参考文献

- [1] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2020 年版)[J]. 中华糖尿病杂志, 2021, 13(4): 315-409.
- [2] International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, 9th edn[M/OL]. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2019:2.
- [3] EVERT AB, DENNISON M, GARDNER CD, et al. Nutrition therapy for adults with diabetes or prediabetes: a consensus report [J]. Diabetes Care, 2019, 42 (5): 731-754.
- [4] FRANZ MJ, MACLEOD J, EVERT A, et al. Academy of nutrition and dietetics nutrition practice guideline for type 1 and type 2 diabetes in adults: systematic review of evidence for medical nutrition therapy effectiveness and recommendations for integration into the nutrition care process [J]. J Acad Nutr Diet, 2017, 117(10): 1659-1679.
- [5] 张锡纯. 医学衷中参西录[M]. 北京: 化学工业出版社, 2018: 73-74.
- [6] 庞书勤, 李婉婷, 林娟, 等. 薯蓣粥对 2 型糖尿病病人血糖、血脂的影响[J]. 护理研究, 2017, 31(16): 1941-1946.
- [7] 庞书勤, 辛惠明, 刘玲玉, 等. 薯蓣粥对 2 型糖尿病肠道内双歧杆菌及血糖影响研究[J]. 中国实用内科杂志, 2017, 37(3): 247-250.
- [8] 陈标, 满玉蓉, 高柳玲, 等. AMPK 调控能量代谢研究进展[J]. 生物学杂志, 2017, 34(5): 78-82.
- [9] MA J, KANG SY, MENG X, et al. Effects of rhizome extract of dioscorea batatas and its active compound, allantoin, on the regulation of myoblast differentiation and mitochondrial biogenesis in C2C12 myotubes [J]. Molecules, 2018, 23(8): 2308-2323.
- [10] HUANG R, XIE J, YU Y, et al. Recent progress in the research of yam mucilage polysaccharides: Isolation, structure and bioactivities [J]. Int J Biol Macromol, 2020, 155: 1262-1269. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.11.095.
- [11] 林心君, 王麒又, 辛金钟, 等. 高成模率和高稳定性的糖尿病大鼠模型制备: 高脂高糖膳食+STZ 体重联合体表面积法构建糖尿病大鼠模型[J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(9): 2051-2054.
- [12] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 203.
- [13] MARI A, PACINI G, MURPHY E, et al. A model-based method for assessing insulin sensitivity from the oral glucose tolerance test [J]. Diabetes Care, 2001, 24(3): 539-548.
- [14] WALLACE TM, LEVY JC, MATTHEWS DR. Use and abuse of HOMA modeling [J]. Diabetes Care, 2004, 27(6): 1487-1495.
- [15] 晁俊, 刘桢, 钟文, 等. 基于“脾胰同源”理论从脾论治糖尿病[J]. 中医杂志, 2017, 58(17): 1458-1461.
- [16] 王德惠, 吴贤顺, 李晋宏, 等. 从脾虚“脾不散精”或“散精障碍”探讨糖尿病的中医病机[J]. 中医杂志, 2014, 55(22): 1906-1908.
- [17] 富晓旭, 刘桢, 高泓, 等. “脾气散精”环节在机体糖调节中发挥核心作用的理论探讨[J]. 中国中医基础医学杂志, 2021, 27(3): 398-399, 426.
- [18] 周秀娟, 张攀, 朱建伟, 等. 基于“脾气散精”理论探讨调节胰岛微循环及血糖波动的方法[J]. 中医杂志, 2018, 59(17): 1470-1473.
- [19] 戴燕铃, 刘蔚楠, 庞书勤, 等. 中医食疗对 2 型糖尿病患者血糖和生存质量影响的系统评价[J]. 广西中医药大学学报, 2019, 22(1): 140-146.
- [20] 曲超. 中医药综合防治糖尿病前期的系统评价及用药规律分析[D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2020.
- [21] 关倩倩, 张文龙, 杜方岭, 等. 山药多糖生物活性及作

- 用机理研究进展[J]. 中国食物与营养, 2018, 24(3): 11-14.
- [22] GUO XX, SHA XH, LIU J, et al. Chinese Purple Yam (*Dioscorea alata* L.) extracts inhibit diabetes-related enzymes and protect HepG2 cells against oxidative stress and insulin resistance induced by FFA [J]. Food Sci and Technol Res, 2015, 21(5): 677-683.
- [23] 李新萍, 周书琦, 徐丽丽, 等. 山药多糖的提取及其对糖尿病小鼠的影响研究[J]. 黑龙江医药, 2018, 31(1): 20-22.
- [24] 李亚娟, 顾晓琦, 沈小璇, 等. 胰岛素治疗糖尿病过程中配合山药食疗的效果分析[J]. 世界中医药, 2016, 11(12): 2665-2668.
- [25] HALSE R, FRYER LG, MCCONMACK JG, et al. Regulation of glycogen synthase by glucose and glycogen: a possible role for AMP-activated protein kinase [J]. Diabetes, 2003, 52(1): 9-15.
- [26] ASRAFUZZAMAN M, RAHMAN MM, MANDAL M, et al. Oyster mushroom functions as an anti-hyperglycaemic through phosphorylation of AMPK and increased expression of GLUT4 in type 2 diabetic model rats[J]. J Taibah Univ Med Sci, 2018, 13(5): 465-471.
- [27] KANG OH, SHON MY, KONG R, et al. Anti-diabetic effect of black ginseng extract by augmentation of AMPK protein activity and upregulation of GLUT2 and GLUT4 expression in db/db mice [J]. BMC Complement Altern Med, 2017, 17(1): 341. doi: 10.1186/s12906-017-1839-4.
- [28] MA WY, MA LP, YI B, et al. Antidiabetic activity of *Callicarpa nudiflora* extract in type 2 diabetic rats via activation of the AMPK-ACC pathway [J]. Asian Pac J Trop Biomed, 2019, 9(11): 456-466.

### Effects of *Shuyu Gruel* (薯蕷粥) on the Glucose Metabolism and Islet Function of Type 2 Diabetic Model Rats

DAI Yanling<sup>1</sup>, CHEN Xuehua<sup>2</sup>, DING Huaili<sup>3</sup>, LI Mianli<sup>1</sup>, PANG Shuqin<sup>1</sup>, LIU Weinan<sup>4</sup>

1. School of Nursing, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, 350108; 2. Fuzhou Jin'an District Hospital; 3. Fujian Children's Hospital; 4. People's Hospital Affiliated to Fujian University of Traditional Chinese Medicine

**ABSTRACT Objective** To explore the mechanism of *Shuyu Gruel* (薯蕷粥, SY) in improving glucose metabolism and insulin resistance in type 2 diabetes (T2D) model rats. **Methods** Fifty male Wistar rats were randomised into blank group (n=8) and modeling group (n=42). The rats in the modeling group were fed with high-fat high-sugar diet for six weeks and then were given intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ) to establish T2D rat model. The successfully modeled 32 rats were randomly divided into model group, SY group, metformin (MET) group and combination group, with eight rats in each group. SY containing 12 g/(kg·d) of *Shanyao* (*Rhizoma Dioscoreae*) was given to the SY group by gavage; metformin hydrochloride tablets at the dose of 100 mg/(kg·d) was administered by gavage in the MET group; SY was taken in the morning and metformin hydrochloride tablets were given in the afternoon to the rats in the combination group in the same administration way with SY and MET group; 10 ml/(kg·d) of normal saline was administered by gavage in the blank group and model group; all the interventions lasted for six weeks. Fasting blood glucose (FBG) was assessed before treatment and week 2, 4 and 6 after treatment; the area under the curve (AUC) of oral glucose tolerance test (OGTT), fasting insulin in the serum (FINS), and insulin resistance index (HOMA-IR) were assessed; the mRNA expression of adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase (AMPK) and glucose transporter 4 (GLUT-4), as well as the protein levels of AMPK, phosphorylated AMP-activated protein kinase (p-AMPK) and GLUT-4 in skeletal muscle were detected. **Results** Compared to those of the model group, AUC, FINS and HOMA-IR of the SY, MET and combination groups at week 2, 4 and 6, as well as FBG level at week 4 and 6 significantly decreased, while the protein and mRNA expression of p-AMPK/AMPK and GLUT-4 significantly increased ( $P < 0.05$ ). Compared to SY group, the combination group had lower AUC, FINS and HOMA-IR, and higher GLUT-4 protein and mRNA expression and AMPK mRNA expression; and the FBG level at week 4 and 6 significantly decreased ( $P < 0.05$ ). The FBG level of SY group gradually decreased from week 2 to week 6 ( $P < 0.05$ ), while that of MET group and combination group decreased from before to after 6 weeks of treatment ( $P < 0.05$ ). The OGTT showed that the glucose level of the model group did not drop significantly, and that of SY group, MET group and combination group peaked at 0.5 h and began to decrease significantly at 1 h. **Conclusions** SY could improve glucose metabolism and insulin resistance in T2D model rats, which may be related to the regulation of AMPK pathway in skeletal muscle. To some extent, better effect can be achieved when SY is used in combination with metformin.

**Keywords** type 2 diabetes; *Shuyu Gruel* (薯蕷粥); metformin; glucose metabolism; islet function; insulin resistance; adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase; glucose transporter 4

(收稿日期: 2020-12-22; 修回日期: 2021-05-24)

[编辑: 王利芬]