

葛根素联合不同剂量葛根异黄酮干预高尿酸血症小鼠的效果观察

李桐 秦玲 陈程 孙建永 王婧 韩丽 黄春霞^(通讯作者)
(长沙医学院 湖南长沙 410219)

摘要:目的 分析葛根素联合不同剂量葛根异黄酮干预高尿酸血症(HUA)小鼠的效果。方法 小鼠灌胃腺嘌呤和盐酸乙胺丁醇混合液制作HUA模型小鼠,随机分组为正常组,模型组,葛根素联合葛根异黄酮高4.2ml/(kg.d);中2.3 ml/(kg.d);低剂量组1.2 ml/(kg.d),每组10只,每天灌胃1次,连续给药14d,比较各组血糖和血脂指标含量的统计学差异。结果 血糖水平比较:与模型组相比,葛根素联合葛根异黄酮高、中、低剂量组血糖极显著性降低($P < 0.05$);高、中剂量组虽有改善但组间差异不明显。血脂水平比较:葛根素联合葛根异黄酮高、中、低剂量组小鼠治疗后TC较模型组降低且组内比较有统计学意义($P < 0.05$),而葛根素联合葛根异黄酮高、中剂量组在升高TG方面较模型组比具有显著性差异($P < 0.05$)。结论 葛根素联合葛根异黄酮具有降血糖和降血脂作用,且高剂量组效果最好。
关键词:葛根素;葛根异黄酮;高尿酸血症;血糖;血脂

高尿酸血症(hyperuricemia, HUA)是我国广泛流行且发病率居高不下的代谢性疾病,临床症状典型且进行性加重而对患者造成严重困扰。当前临床治疗依然以西药为主,但极易加重肝肾负担,尤其是长期用药则会损伤肾脏功能,继而影响嘌呤代谢而加重病情^[1]。既有研究^[2]已证实,葛根对HUA疾病有确切作用,但其组分复杂而无法明确药效成分及可能机制,本研究以葛根素和葛根异黄酮联合作用为基础设计,分析验证不同剂量葛根异黄酮的干预效果差别,现将结果汇报如下。

1 材料与方

1.7 动物、试剂、设备:①实验动物为50只健康的C57BL/6雄性小鼠(长沙天勤生物技术有限公司提供),体重在18~20g,实验前小鼠可自由进食,饮水。②主要试剂为:葛根素粉末,纯度为98%,(购自西安博联特化工有限公司);柠檬酸三钠(国药集团化学试剂有限公司);柠檬酸(天津市瑞金特化学品有限公司);四氧嘧啶(上海伊卡生物技术有限公司)。总胆固醇(TC)甘油三酯(TG)试剂盒(中生北控生物科技有限公司)。③主要仪器为:高速离心机(上海安亭科学仪器厂);电子天平AL204101(由梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司提供),血糖仪及测试试纸(三诺生物传感有限公司)。

1.8 HUA小鼠造模方法:模型组和葛根素联合葛根异黄酮高、中、低剂量组小鼠连续灌胃等体积造模试剂(腺嘌呤和盐酸乙胺丁醇混合液)30天以制作HUA模型^[4]。

1.9 分组干预方法:葛根素联合葛根异黄酮高剂量组4.2ml/(kg.d)、中剂量组2.3 ml/(kg.d)、低剂量组1.2 ml/(kg.d),每天灌胃给药1次。每个组连续给药14d,正常组给予相同体积的生理盐水。最后一次给药前先禁食12h,给药1h后,小鼠通过断尾取血来测定血糖,接着摘眼球采血,离心取血清待。

1.10 效应指标采集:①体重和形态:每周定期对所有小鼠称重;行为动态、精神状态等一般外貌特征,并记录是否出现异常情况。②空腹血糖:最后一次给药前先禁食12h,给药1h后,小鼠通过断尾取血来测定血糖,并依照试剂盒步骤测定血糖。③血脂含量:血清TC、TG测定:治疗后第14d,禁食不禁水16h,断尾取血。取血时应尽量让血滴垂直滴落在EP管中,不要让小鼠挣扎,收集

1.5~2ml左右血。接完血后室温静止1h,放在4℃冰箱,隔天3500转离心10min,用移液枪小心取上层透明血清。根据试剂盒步骤测定血清中TC、TG的含量。

1.11 统计分析:用SPSS 20.0统计分析,计量资料($\bar{x} \pm s$)组间比较用F/t检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 五组小鼠体重和形态情况

正常对照组小鼠的体重随生存时间增加而趋向于平稳;建模成功的各组小鼠与正常对照组相比,体重显著性下降($P < 0.05$)。给药1周后,与正常对照组相比,模型组体重有所下降且具有统计学意义($P < 0.05$);与模型组相比,葛根素联合葛根异黄酮高、中、低剂量组体重有差异($P < 0.05$),但可能是给药时间较短所以效果并不太明显。给药2周后,与正常对照组相比,模型组体重极显著性降低($P < 0.05$);与模型组相比,葛根素联合葛根异黄酮高、中、低剂量组体重有所下降且具有统计学意义($P < 0.05$),说明各剂量组均可有效降低HUA小鼠的体重其中高剂量组效果最好。表明葛根素联合葛根异黄酮高、中剂量组溶液对四氧嘧啶所致HUA小鼠体重减轻有恢复作用。

表2 五组小鼠干预前后体重情况比较

分组	剂量 (ml/kg.d)	造模后	给药后7d	给药后14d
正常组(n=10)	-	30.52 ± 2.0	30.66 ± 1.6	35.30 ± 1.1
模型组(n=10)	-	28.48 ± 1.6 [△]	28.33 ± 1.6 [△]	18.28 ± 2.1 ^{**}
高剂量组 (n=10)	4.2	28.53 ± 1.7 [△]	28.28 ± 1.6 [△]	23.50 ± 2.2 ^{△**}
中剂量组 (n=10)	2.3	27.25 ± 1.2 [△]	28.53 ± 1.6 [△]	22.22 ± 2.8 ^{△**}
低剂量组 (n=10)	1.2	26.98 ± 1.6 [△]	28.55 ± 1.6 [△]	20.32 ± 2.5 ^{△**}

注:与正常组比较* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$; $\Delta \Delta P < 0.01$

2.2 五组小鼠干预后血脂含量比较

正常组、模型组、高剂量组、中剂量组、低剂量组干预后TC含量分别为：(2.57 ± 0.64) mol/L、(5.5 ± 1.2) mol/L、(3.8 ± 0.9) mol/L、(4.2 ± 1.0) mol/L、(4.6 ± 1.0) mol/L, TG含量分别为：(1.4 ± 0.2) mol/L、(2.3 ± 0.5) mol/L、(2.9 ± 0.6) mol/L、(2.5 ± 0.7) mol/L、(1.9 ± 0.5) mol/L。与正常对照组相比,模型对照组小鼠血清TC、TG含量显著性增高 (P<0.05),说明各剂量组具有很好调节血脂的功能。与正常对照组相比,葛根素联合葛根异黄酮各量组中的血清TC含量有所增高且具有统计学意义 (P<0.05),与模型对照组比,葛根素联合葛根异黄酮各量组中的血清TC含量明显降低 (P<0.05),说明各剂量组具有很好降低血脂的功效。与正常对照组相比,葛根素联合葛根异黄酮低剂量组TG含量显著性上升 (P<0.05),与模型对照组相比,葛根素联合葛根异黄酮中、高剂量组的血清TG增加 (P<0.05),其中中剂量组效果最好。

2.3 五组小鼠干预前后空腹血糖含量比较

给药1周后,与正常对照组相比,模型组血糖极显著性升高 (P<0.01);与模型组相比,葛根素联合葛根异黄酮高、中、低剂量组血糖有所下降且具有统计学意义 (P<0.05),说明各剂量组对血糖均具有一定的降糖作用。给药2周后,与正常对照组相比,模型组血糖极显著性升高 (P<0.01);与模型组相比,葛根素联合葛根异黄酮高、中剂量组血糖极显著性降低 (P<0.01);说明给药时间越长降糖效果越好。虽然高、中剂量组都有很强的降糖效果,但组间差异不明显,所以高剂量效果最好。

表2 五组小鼠干预前后空腹血糖含量比较

分组	剂量 (ml/kg.d)	造模前	造模后	给药后 7d	给药后 14d
正常组 (n=10)	-	5.9 ± 0.8	6.1 ± 0.9	5.6 ± 0.8	6.1 ± 0.6
模型组 (n=10)	-	6.1 ± 0.6	14.0 ± 2.1 ^{**}	21.9 ± 3.5 ^{**}	28.9 ± 2.4 ^{**}
高剂量组 (n=10)	4.2	5.8 ± 1.3	14.2 ± 2.2 ^{**}	12.3 ± 1.7 ^Δ	10.2 ± 0.8 ^Δ
中剂量组 (n=10)	2.3	5.7 ± 0.7	12.8 ± 1.7 ^{**}	11.9 ± 2.5 ^Δ	10.7 ± 1.0 ^Δ
低剂量组 (n=10)	1.2	5.5 ± 1.7	12.9 ± 2.8 ^{**}	14.0 ± 1.5 ^Δ	19.7 ± 3.0

注:与正常组比较*P<0.05,**P<0.01;与模型组比较,ΔP<0.05;ΔΔP<0.01

4 讨论

HUA患者体内持续高水平尿酸可激活肾素-血管系统,微观层面引发平滑肌细胞增殖,同时促进血小板黏附作用加强,使形成血栓的风险增加,进而加速动脉粥样硬化形成。随着病情进行性发展,甚至可能由此诱发血糖、血脂异常相关性疾病。市场上治疗HUA疾病依然为西药为主,虽然有效但不良反应亦较为明显,联合我国传统的中草药进行干预成为趋势。葛根作为豆科植物,其富含葛根素和葛根异黄酮,异黄酮则是临床药用研究较为广泛且富含于众多中药材中的化学物质,根据三碳链的氧化程度、B环连接的位置及三碳是否成环,黄酮类化合物可分为黄酮、黄酮醇、二氢黄酮、异黄酮等衍生物^[9]。异黄酮具有缓解内皮细胞炎症或应激状态,继而

增加机体清除氧自由基的能力,为探究葛根素联合不同剂量葛根异黄酮干预HUA小鼠的效果,前期实验过程中特对葛根素粉末进行成分提取和纯化,并根据对照实验方法进行了上述实验设计。

结果显示,实验期间的模型小鼠均表现出高血糖,体重增加并有血脂异常等现象出现,表征腺嘌呤和盐酸乙胺丁醇混合液灌胃造模方法取得成功。同时研究数据还显示,给药7d发现小鼠体重、血糖、血脂等指标均未表现出明显的变化。直到给药第14d,才表现出葛根素联合葛根异黄酮能降低HUA小鼠的高血糖水平,并能使小鼠的机体情况有所好转,如增加小鼠的体重,恢复小鼠的脂肪代谢,从而改善HUA机体消瘦的症状。与模型对照组相比,虽然葛根素联合葛根异黄酮中、高剂量组都能改善血糖但是效果却不够明显。而且在HUA小鼠的血糖中也发现高剂量对小鼠影响最大。综上可明确,葛根素联合葛根异黄酮具有降血糖和降血脂作用,且高剂量组效果最好。但是该研究尚未对信号通路、基因表达等指标进行定量检测,因此其发挥降糖、降脂的作用机制尚不明确。同时由于实验过程中存在联合用药情况,葛根素联合葛根异黄酮用药是单独发挥作用,亦或存在协同效应尚需后续通过交互作用分析进行明确。

参考文献:

- [1] 张娴娴,孙维峰.高尿酸血症的中医药治疗研究[J].华南国防医学杂志,2009,23(2):3.
- [2] 陈巧,曾嘉,范少玲,等.葛根苓连汤加四妙丸联合黄连素治疗湿热型肥胖高尿酸血症的临床效果[J].临床医学,2021,41(5):112-114.
- [3] 负茜.黄酮类化合物降尿酸机制的研究进展[J].广东化工,2018,45(5):132-133.
- [4] 杨桂梅,黄胜华,李江,等.腺嘌呤和氧嗪酮制作高尿酸血症大鼠模型比较[J].实验动物科学,2011,28(2):4.
- [5] 郭敏侠,李娜芝,张初玲,等.黄酮类化合物抗痛风和痛风性关节炎作用及机制的研究进展[J].中药新药与临床药理,2022,33(9):1283-1288.

作者简介:李桐(2000年11月-),女,籍贯天津,长沙医学院在校生

作者简介:秦玲(2000年-),女,籍贯湖南,本科,长沙医学院在校生

作者简介:陈程(2000年7月-),男,籍贯湖南,长沙医学院在校生

作者简介:孙建永,男,高级实验师,研究方向:临床应用解剖学。

作者简介:黄春霞,女,副教授,研究方向:心血管疾病分子生物学机制

作者简介:王婧,女,研究方向:肝脏移植相关生物化学理论研究

作者简介:韩丽,长沙医学院教师

项目编号:国家级大学生创新创业训练计划项目(编号S202010823014);湖南省大学生创新创业训练计划项目(湘教通[2021]197号编号3878;湘教通[2020]191号,编号3897、3966、3973;湘教通[2019]219号,编号2396);湖南省教育厅科研项目(编号20C0190)