

番石榴叶提取物对糖尿病肾病小鼠肾损伤改善机制的研究

龙宝仪 张丽娟 刘雨芹 周洁 林奋奇 王琳*

(长沙医学院 湖南长沙 410219)

摘要:目的 探讨番石榴叶提取物对糖尿病肾病小鼠肾损伤改善机制的研究。方法 选择健康清洁,大小等量的 SPF 级雄性小鼠,共 90 只,随机分为空白对照组(A组);正常对照组动物设置 12 只,给予基础饲料。番石榴叶低剂量组[B组, TTPGL-L, 60mg/kg]、中剂量组[C组, TTPGL-M, 120mg/kg]、高剂量组[D组, TTPGL-H, 240mg/kg],罗格列酮组[E组, (rosiglitazone, RSG, 5mg/k), DN 阳性对照组(F组),每组各 12 只。各组小鼠每天给予不同剂量的番石榴叶和罗格列酮灌胃, DN 阳性对照组和空白对照组则给予同体积的生理盐水灌胃。每天给药 1 次,连续给药 6 周。检测空腹状态取小鼠尾静脉血,用血糖仪测空腹血糖(FBG)、肾小球形态学变化及生化指标检测。结果 与 A 组相比,其余各组血糖水平、总细胞数及基底膜厚度均显著增加,组间比较有显著性差异($P<0.05$);与 F 组相比, B、C、D、E 组血糖水平、总细胞数及基底膜厚度明显降低,组间比较具有显著性差异($P<0.05$),且随着番石榴叶提取物剂量的提高血糖水平、总细胞数及基底膜厚度逐渐降低,但略低于 E 组。与 A 组比较,小鼠 TG、TC 和 24h 尿蛋白水平显著升高,差异均有统计学意义($P<0.05$);与 F 组比较, B、C、D 组 TG、TC 和 24h 尿蛋白水平逐渐降低,差异均有统计学意义($P<0.05$)。结论 番石榴叶具有一定的降血糖作用,可为延缓糖尿病肾病的发生、发展提供临床依据。

关键词: 番石榴叶;糖尿病肾病;肾损伤;血糖

糖尿病肾病(Diabetic Nephropathy, DN)是糖尿病性肾小球硬化症,是糖尿病临床常见的心脑肾三大并发症之一,在糖尿病人群的发病率高达 40%^[1]。虽然近年来有很多学者对糖尿病肾病的发病机制进行了研究,但是其机制并未完全阐明。根据国内外研究表明^[2],番石榴叶对糖尿病大鼠肾脏病变具有一定的治疗效果,有研究发现番石榴叶提取物可以降低血糖,改善胰岛素抵抗。本项目探究番石榴叶提取物对糖尿病导致的肾病小鼠肾损伤的改善作用。通过建立糖尿病肾病小鼠模型,分组对照番石榴叶提取物是否能有效缓解糖尿病肾病小鼠的肾损伤。检测小鼠空腹血糖(FBG)、肾小球形态学变化及生化指标,探讨番石榴叶提取物对糖尿病肾病小鼠肾损伤改善的保护机制,为糖尿病肾病小鼠肾损伤改善的保护机制和临床保健药物开发提供基础理论依据,具有一定理论和现实意义。

1 材料与方法

1.1 主要材料

选择健康清洁,大小等量的 SPF 级雄性小鼠,共 90 只,所有小鼠饲养于长沙医学院形态楼七楼实验室动物房,室温 25°C 左右,湿度 50%-70%,实验前小鼠可以自由进食、饮水,适应环境至少一周后开始实验。实验材料和试剂:甘磷酸胆碱(CdCl₂ 复合物)试剂;链脲佐菌素(streptozotocin, STZ);盐酸罗格列酮片;胰岛素放免试剂盒;葡萄糖测试盒、游离脂肪酸测试盒、糖化血红蛋白测试盒、糖化血清蛋白测试盒;番石榴叶:番石榴叶干燥叶片。

1.2 方法

1.2.1 实验动物建模

糖尿病建模动物设置 78 只,给予高脂饲料。喂养 4 周后,禁食 12h,模型组腹腔注射 2%STZ 溶液(40mg/kg),1 周后测定小鼠葡萄糖负荷 2h 血糖(禁食 12h,给予 2g/kg 的葡萄糖灌胃,测 2h 后的血糖),筛选血糖值大于 11.1mmol/L 的小鼠确定为糖尿病小鼠。

1.2.2 制备番石榴提取物

番石榴叶片粉碎后取粗粉,参考郭莹^[3]等的提取方式。

1.2.3 分组及处理

将 SPF 级雄性 90 只小鼠,分为空白对照组(A组);正常对照组动物设置 12 只,给予基础饲料。番石榴叶低剂量组[B组, TTPGL-L, 60mg/kg]、中剂量组[C组, TTPGL-M, 120mg/kg]、高剂量组[D组, TTPGL-H, 240mg/kg],罗格列酮组[E组, (rosiglitazone, RSG, 5mg/k), DN 阳性对照组(F组),每组各 12 只。低、中、高剂量番石榴叶提取物组和罗格列酮组小鼠每天给予不同剂量的番石榴叶和罗格列酮灌胃, DN 阳性对照组和空白对照组则给予同体积的生理盐水灌胃。每天给药 1 次,连续给药 6 周。

1.3 检测指标

1.3.1 一般情况

连续给药 6 周后,空腹状态取小鼠尾静脉血,用血糖仪测空腹血糖(FBG)及肾小球形态学变化。

1.3.2 生化指标检测

禁食但进水 12h 后,注射 1%肝素钠,于眼底动脉取血冰浴中静置 5min, 3000r/min 离心 10min,取血清样品于-80°C 保存备用。

按试剂盒所示方法测定血清中的甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、用放射免疫法测定 24h 尿蛋白量的情况。

1.4 统计学分析

应用采用 SPSS23.0 软件进行处理。

2 结果

2.1 各组血糖和肾小球形态学变化情况

与 A 组相比,其余各组血糖水平、总细胞数及基底膜厚度均显著增加,组间比较有显著性差异($P<0.05$);与 F 组相比, B、C、D、E 组血糖水平、总细胞数及基底膜厚度明显降低,组间比较具有显著性差异($P<0.05$),且随着番石榴叶提取物剂量的提高血糖水平、总细胞数及基底膜厚度逐渐降低,但略低于 E 组。具体见表 1。

表 1 各组血糖和肾小球形态学变化的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	血糖 (mmol/L)	总细胞数(个/肾小球)	基底膜厚度 (nm)
A 组	12	5.13 ± 0.52	42.21 ± 2.75	133.65 ± 26.37
B 组	12	24.36 ± 3.05	61.54 ± 3.01	218.62 ± 37.23
C 组	12	24.01 ± 2.54	57.22 ± 2.69	196.11 ± 34.34
D 组	12	22.78 ± 2.72	50.16 ± 2.65	169.07 ± 32.29
E 组	12	20.66 ± 2.64	47.95 ± 2.50	160.29 ± 31.87
F 组	12	25.32 ± 2.87	81.42 ± 5.09	310.26 ± 59.25

2.2 各组生化指标及 24h 尿蛋白情况

与 A 组比较,小鼠 TG、TC 和 24h 尿蛋白水平显著升高,差异均有统计学意义($P<0.05$);与 F 组比较, B、C、D 组 TG、TC 和 24h 尿蛋白水平逐渐降低,差异均有统计学意义($P<0.05$);具体见表 2。

表 2 各组生化指标及 24h 尿蛋白比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	TG (mmol/L)	TC (mmol/L)	24h 尿蛋白 (mg/24h)
A 组	12	0.76 ± 0.09	1.88 ± 0.15	6.81 ± 1.29
B 组	12	2.92 ± 0.42	5.12 ± 0.75	28.51 ± 2.08
C 组	12	2.84 ± 0.35	4.01 ± 0.54	20.11 ± 1.73
D 组	12	2.78 ± 0.32	3.46 ± 0.38	17.40 ± 1.39
E 组	12	2.50 ± 0.37	2.49 ± 0.44	13.28 ± 3.20
F 组	12	6.63 ± 0.36	6.33 ± 0.58	39.63 ± 1.81

3.讨论

番石榴叶为桃金娘科植物番石榴的干燥叶及带叶嫩茎,在民间传统具有健胃消食、捏肠止泻、杀虫止痒、收敛止血的作用^[4]。近年来研究发现^[5-8],它还具有很好的降糖、降脂作用,对黄曲霉素 B1 所致的大鼠肝癌具有较强的抑制效果。现代药理研究显示番石榴叶中的黄酮类、酚酸类,三萜和倍半萜类等化学成分具有降血糖的活性,最近的研究发现,它还可以对抗肿瘤,具有广阔的开发前景。

Junod^[9]创建(STZ 用量为 65 mg/kg),其特点是注射 STZ 后 7h 即可在光镜下观察到大量的胰岛细胞坏死,1d 后血糖即持续升高,并在高水平上相对稳定,有较高成模率、低阴转率、低死亡率的特点,称为速发型。明确该模型制作过程及其肾脏损害变化规律,对

(下转第 121 页)

(上接第 79 页)

糖尿病肾病研究具有积极意义。丁润蓉[8]采用紫檀芪对高脂高糖联合 STZ 诱导的糖尿病大鼠进行了为期 6 周的干预,结果显示 2 型糖尿病模型组大鼠基底膜增厚,系膜细胞增生,肾脏组织中 TGF- β 1 和 α -SMA 蛋白表达水平升高,而紫檀芪干预后,2 型糖尿病大鼠肾脏病理结构明显改善,TGF- β 1 和 α -SMA 蛋白表达水平降低。王婧茹^①研究显示,番石榴叶总三萜对能显著降低 2 型糖尿病大鼠的血糖和血脂水平,明显改善糖尿病动物的糖脂代谢紊乱,升高血清胰岛素水平。既往研究指出^[10],STZ 诱导速发型 DM 大鼠在 2 周内即可出现肾小球高滤过,超微病理显示系膜区基质增多,蛋白尿分泌率上升,出现早期肾病的征象。而对何时出现典型的糖尿病肾病表现,则未见明确研究。

综上所述,番石榴叶化学成分多样,其有很多药理作用。本文结果表明干预组比模型组具有明显的降血糖作用,而且在高浓度番石榴叶提取物治疗组中作用最明显,从而不仅验证了番石榴叶具有很强的降血糖作用,而且为其有效成分的开发提供了科学的依据。

参考文献:

- [1]农聪.糖尿病肾病治疗进展[J].糖尿病新世界,2021,24(02):196-198.
- [2]Esther C,Seoyoung B,Kuanglim B, et al. Psidium guajava L. leaf extract inhibits adipocyte differentiation and improves insulin sensitivity in 3T3-L1 cells.[J]. Nutrition research and practice,2021,15(5). 568-578.
- [3]郭莹,熊阳,宋忠诚等.番石榴叶挥发油的提取、成分分析及抑菌活性研究[J].中华中医药杂志,2015,30(10):3754-3757.

[4]沈嘉梁,吴超锋,宋振亮,等.番石榴茶与绿茶治疗女性中老年糖尿病前期患者的对比研究[J].山西医药杂志,2019,48(14):1690-1692.

[5]Muthukumaran J,Ramachandran V,Baojun X. Guava leaves extract ameliorates STZ induced diabetes mellitus via activation of PI3K/AKT signaling in skeletal muscle of rats.[J]. Molecular biology reports,2020,47(4).2793-2799.

[7]陈欣怡,黄积武,李创军等.番石榴叶乙醇提取物的化学成分研究[J].药学研究,2021,40(07):432-436.

[8]Junod A, Lambert AE, Orci L, et al. Studies of the diabetogenic action of streptozotocin[J]. Proc Soc Exp Biol Med, 1967, 126:201.

[9]丁润蓉,孙华磊,刘亚萍,等.紫檀芪对 2 型糖尿病大鼠肾损伤的改善作用[J].郑州大学学报(医学版),2022,57(01):18-22.

[10]王婧茹,赵晶晶,叶春玲,等.番石榴叶总三萜对 2 型糖尿病大鼠的降血糖和血脂作用[J].中国病理生理杂志,2012,28(06):1109-1113.

[11]黄颂敏,张海燕,徐勇等.蛋白激酶介导的系膜细胞内钙变化在早期糖尿病鼠肾小球高滤过中的作用[J].中国糖尿病杂志,2003(02):42-45.

项目基金:长沙医学院大学生创新创业训练计划项目:长医教[2022]41号-115

第一作者:龙宝仪,(2001-),女,汉族,本科在读,临床医学专业

*通讯作者:王琳(1986-),女,汉族,硕士,讲师,研究方向:生物化学与分子生物学。