

绿原酸干预糖尿病肾病肾间质纤维化小鼠的效果观察

王圳博 周伯林^(共同一作) 陈阳 何坤晖 宁佳丽^(通讯作者)

(长沙医学院 湖南长沙 410219)

摘要:目的:研究绿原酸干预糖尿病肾病肾间质纤维化小鼠的效果。方法:60只雄性昆明种小鼠分成6组(即对照组、格列美脲组、绿原酸高剂量组、绿原酸中剂量组、绿原酸低剂量组、模型对照组),连续给药21d后测定各组小鼠空腹血糖浓度,比较其差异。结果:绿原酸高、中剂量组能控制糖尿病小鼠血糖并且增加糖尿病小鼠体重,与模型组比较有显著差异($p < 0.05$);低剂量组未能降低血糖,与模型组相比无显著差异($p > 0.05$);格列美脲组造成正常小鼠低血糖,绿原酸高、中、低剂量组不会造成正常小鼠低血糖。结论:绿原酸对糖尿病肾病肾间质纤维化小鼠降血糖有功效,其浓度在5mg/g时,降糖效果最好,而且绿原酸对正常小鼠血糖没有副作用。

关键词:绿原酸;糖尿病;小鼠;血糖

2型糖尿病(T2DM)是由各种环境和遗传因素共同引起的代谢性疾病,主要表现为相对缺乏的胰岛素分泌和胰岛素抵抗,项目编号:致胰岛素介导的葡萄糖代谢功能降低,造成葡萄糖代谢紊乱,并伴有脂肪、蛋白质等一系列代谢紊乱综合征^[1]。绿原酸广泛存在于植物中,如金银花,葵花籽,小麦,咖啡豆中,在大量传统中药材中含量较高,是许多中成药与中药材的重要效用成分之一。绿原酸在中医上有清热解毒和疏解风热的作用,在理论上还有一定的降血糖作用,近年来绿原酸作为国际公认的植物黄金引起了较多关注^[2-3]。

1 动物与方法

动物和试剂:60只雄性昆明种小鼠(湖南斯莱克景达实验动物有限公司);实验鼠颗粒饲料(江苏协同生物);金银花(湖南富农金银花科技发展有限公司);GOD-POD试剂盒(北京雷根生物技术有限公司);格列美脲片(山东达因海洋生物制药有限公司);四氧嘧啶(上海伊卡生物技术有限公司)。相关试剂具体配置方法如下:

四氧嘧啶溶液:用电子天平称取0.4g四氧嘧啶放入20ml容量瓶中,用灭菌生理盐水15ml溶解,再用生理盐水定容至20ml,得到2%四氧嘧啶,溶液现配现用。

1.2 格列美脲原液:将格列美脲片以0.2mg/ml溶解于100ml矿泉水中,装瓶保存于冰箱。

金银花绿原酸提取液:采用超声波提取法(10g干金银花加20倍量矿泉水放置于超声波仪器内,超声功率300W,温度80度)。

小鼠造模:适应性饲养7d后进行实验,需造模小鼠均单次尾静脉注射链脲佐菌素(30mg/kg),检测空腹血糖浓度连续3d达到16.7mM(300mg/dL)即初步确诊为糖尿病大鼠,继续维持干预方式直至观察到肾病肾间质纤维化变化,即可确证肾病肾间质纤维化小鼠造模成功。

1.3 分组干预:60只小鼠分成6组(即对照组、格列美脲组、绿原酸高中低组、模型对照组),每组10只,干预方法如下:

生理盐水对照组:每日一次灌胃生理盐水5mg/g;

模型对照组:每日一次灌胃生理盐水5mg/g;

格列美脲组:每日一次灌胃给药格列美脲溶液3mg/g;

绿原酸高剂量组:每日一次灌胃给药绿原酸提取液5mg/g;

绿原酸中剂量组:每日一次灌胃给药绿原酸提取液2.5mg/g;

绿原酸低剂量组:每日一次灌胃给药绿原酸提取液1.5mg/g。

1.4 血糖测定:连续给药21天,在第21天晚8点停止喂食,次日早9点测定空腹血糖及体重。利用葡萄糖氧化酶法测定血糖,取动物全血0.2mL,离心沉淀,取上清液0.05mL,加5.0mL GOD试剂,置于37℃水浴10min后测定505nm的吸光度,与葡萄糖标准管进行对比。

1.5 统计分析:用SPSS 20.0建立数据库并统计分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 绿原酸对各种小鼠体重的影响

在给药21天后,同组间对比:格列美脲组,绿原酸高、中、存在显著性差异($p < 0.05$)低剂量差异不明显;与模型对照组体重相比较:格列美脲组和绿原酸高、中剂量组存在显著性差异($P < 0.05$);绿原酸低剂量组无显著变化。

表1 绿原酸对各种小鼠体重的影响

组别	N	剂量 mg/g	体重/g	
			0d	21d
生理盐水对照组	10	-	24.24 ± 1.47	31.23 ± 1.85
模型对照组	10	-	20.77 ± 1.55	18.66 ± 1.22
格列美脲组	10	3.	20.62 ± 1.54	26.32 ± 2.34*#

绿原酸高剂量组	10	5	20.86 ± 1.46	25.87 ± 1.72*#
绿原酸中剂量组	10	2.5	20.93 ± 0.89	23.08 ± 0.76*#
绿原酸低剂量组	10	1.5	20.79 ± 0.85	19.96 ± 0.29

注：与同组比较*P < 0.05；与对照组比较#P < 0.05

2.2 绿原酸对各种小鼠体重的影响

在实验给药 21 天内，小鼠的生长状况良好，没有出现不良症状。由表 3.3 可以得出结果：绿原酸的高、中和低剂量组的空腹血糖浓度和空白组相比较没有存在差异，格列美脲组可降低小鼠空腹血糖浓度，存在显著性差异(p < 0.05)。

表 2 绿原酸对各种小鼠体重的影响

组别	N	剂量 mg/g	血糖
空白组	10	-	5.47 ± 1.08
格列美脲组	10	3	4.42 ± 1.23*
绿原酸高剂量组	10	5	5.28 ± 0.97
绿原酸中剂量组	10	2.5	5.34 ± 0.88
绿原酸低剂量组	10	1.5	5.39 ± 1.04

注：与对照组比较*P < 0.05

3 讨论

本实验研究表明，给药注射四氧嘧啶小鼠的体重明显低于对照组，血糖明显要高于对照组，并且存在显著性差异，符合糖尿病“三多一少”的症状。模型对照组与绿原酸各剂量的初始体重都在 20g 左右，但是在 21d 后称量，可知绿原酸高、中剂量组的体重有明显的增加，而模型对照组出现糖尿病症状从而导致体重下降。由此可知一定剂量的绿原酸可以缓解由高血糖代谢导致的体重降低，而且 CGA 呈现出剂量依赖性，通过剂量的增加使体重降低。高剂量 CGA 可以显著降低糖尿病小鼠体重，它的作用稍微低于降糖药物格列美脲的效果，预示着绿原酸可能对糖尿病的治疗有一定的效果^[4-5]。

实验期间连续给药 21d，小鼠生长良好，无不良反应。与生理盐水组相比，格列美脲组的血糖值有明显降低，说明格列美脲在药物治疗中存在副作用，可能是导致低血糖。而绿原酸高、中、低剂量组与正常小鼠的血糖浓度没有存在显著差异。这表明在降低血糖方面，绿原酸比格列美脲的安全性要高，副作用更小，无论是作为药物还是保健品开发均有一定的研究价值^[6-8]。在该实验中，绿原酸高、中剂量组都能控制糖尿病小鼠血糖，表明较高剂量的绿原酸对降低血糖有一定作用。有实验用南瓜多糖研究糖尿病小鼠降血糖，其结果表明有降血糖功效，但在同剂量下，没有绿原酸对糖尿病小

鼠降血糖功效明显。Rodriguez 研究表明绿原酸具有提高葡萄糖水平并且降低血浆和肺中脂质产物^[9]。然而，降血糖药物格列美脲的降血糖效果比绿原酸的降血糖效果好，表明绿原酸在降低血糖实验研究方面存在更大发展空间^[10]。综上，绿原酸对糖尿病肾病肾间质纤维化小鼠降血糖有功效，其浓度在 5mg/g 时，降糖效果最好，而且绿原酸对正常小鼠血糖没有副作用，但该项研究侧重于确证其效果，相关机制尚需结合更多效应指标深入分析。

参考文献：

- [1]田丹. 甘薯叶绿原酸提取及其调节糖代谢紊乱的研究[D]. 山东农业大学, 2023.
 - [2]张文静, 徐新禹. 基于 TLR4/NF-κB 信号通路探讨绿原酸对糖尿病肾病大鼠肾组织炎症和凋亡的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2022, 31(19): 2629-2635.
 - [3]姚宏纪, 薛兆毅, 王瑞琪, 等. 绿原酸激动 AMPK 调节糖脂代谢的抗糖尿病作用研究[J]. 海南医学院学报, 2022, 28(9): 654-662.
 - [4]郭成成, 张晓圆, 玉应香, 等. 绿原酸对高脂饲料诱导的肥胖大鼠糖耐量及其曲线特征的影响[J]. 北京大学学报(医学版), 2020, 52(2): 269-274.
 - [5]朱超, 徐靖, 汪笑秋, 等. 绿原酸通过抑制内质网应激改善大鼠糖尿病氧化性肾损伤[J]. 中国药师, 2019, 22(10): 1824-1828.
 - [6]杨艳秋, 刘森, 王丹, 等. 绿原酸改善 db/db 小鼠血管内皮功能障碍的作用初探[J]. 中国病理生理杂志, 2019, 35(3): 400-405.
 - [7]刘萍, 段雅彬, 陈红凯, 等. 昆仑雪菊中原花青素 B2、绿原酸含量测定及对小鼠血糖的影响[J]. 西部中医药, 2018, 31(9): 13-16.
 - [8]张立雯, 季涛, 宿树兰, 等. 桑叶黄酮类和生物碱类成分在正常和糖尿病大鼠体内的药代动力学研究[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(21): 4218-4225.
 - [9]张琼光, 王玄源, 时庆欣, 等. 苦丁茶中异绿原酸对实验性 2 型糖尿病小鼠的降血糖作用研究[J]. 时珍国医国药, 2017, 28(6): 1303-1305.
 - [10]袁俊. 绿原酸对高血糖小鼠生长的影响及脏器的保护作用[J]. 安徽农业大学学报, 2016, 43(6): 875-879.
- 作者简介：王圳博，长沙医学院 2020 级口腔六班在读学生。
作者简介：周伯林，长沙医学院教师
通讯作者：宁佳丽，女，本科，讲师
项目基金：2019 年湖南省大学生创新创业计划项目湘教通（2019）219 号 2418；湖南省教育厅一般项目（21C0891）