

金樱子多糖对糖尿病牙周炎大鼠免疫功能及抗氧化功能的影响

唐宇麒 张心仪 杨宇薇 贾欣怡 许迪 左湘 张敬芳*
(长沙医学院 湖南长沙 410219)

摘要:目的:探讨金樱子多糖对糖尿病牙周炎大鼠免疫功能及抗氧化功能的影响。方法:随机将 32 只大鼠分为对照组、牙周炎模型组、糖尿病牙周炎模型组、和糖尿病牙周炎 RLP 治疗组,各 8 只。检测各组牙周组织病理变化、免疫功能以及牙周组织中 SOD、MDA 水平。结果:N 大鼠牙周组织正常,仅可见少量炎症细胞;与 N 组大鼠相比较,L 组和 DL1 组大鼠牙周组织中结缔组织处有炎症细胞浸润,牙周纤维排列紊乱、水肿变性,其中 DL1 组大鼠比 L 组大鼠情况严重;与 DL1 组和 L 组大鼠相比,DP2 组大鼠牙周组织的炎症情况有所缓解;与 DL1 相比较,DL2 组大鼠牙周组织中 SOD 活性明显升高 ($P < 0.05$),MDA 水平明显降低 ($P < 0.05$);与 DL2 组相比, CD_4^+ 和 CD_8^+ 均显著增加,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);与 N 组相比,L 组、DL1 组 CD_4^+ 和 CD_8^+ 显著降低 ($P < 0.05$)。结论:金樱子多糖具有调节糖尿病伴牙周炎大鼠的免疫功能,且加强其抗氧化能力。

关键词:金樱子多糖;糖尿病;牙周炎;免疫功能;抗氧化

金樱子 *Rosa laevigata* Michx. 为我国南方民间习用药材,资源丰富,广泛分布于广西、广东、湖南等地,是妇科千金片、金鸡胶囊、三金片、王老吉凉茶等主要原药材,其根部化学成分以三萜皂苷类、黄酮类、碳水化合物等为主,药理作用主要包括抗炎、抗菌、抗氧化等,但目前对其物质基础和作用机制的研究不够深入^[1]。我国流行病学调查结果发现,年龄 ≥ 60 岁的老年人 T2DM 患病率 $> 20\%$,居世界首位,老年 T2DM 患者因其特殊的年龄阶段,免疫功能和抗氧化功能均有一定程度的降低^[2]。因此,本研究探讨金樱子多糖对糖尿病伴牙周炎大鼠免疫功能并评价其抗氧化活性。

1 材料与方法

1.1 实验动物

32 只 6-8 周龄健康雄性 SD 大鼠,重量为 180-210g,购于长沙市天勤生物技术有限公司。实验动物使用许可证编号:SYXK(湘)2022-0013。

1.2 主要试剂与仪器

50%金樱子多糖(陕西宝禾生物科技有限公司);链脲佐菌素(STZ,安徽酷尔生物工程有限公司);丙二醛(malondialdehyde,MDA)检测试剂盒、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)检测试剂盒(南京建成生物工程有限公司)、免疫试剂盒。

1.3 造模方法

牙周炎模型建立^[3]:将大鼠麻醉后,取仰卧位固定头部及四肢,使用 0.2mm 正畸结扎丝,对大鼠双侧上颌第一磨牙牙颈部进行结扎,将其压入龈沟内,术后予高糖高脂鼠粮喂养,6 周后观察牙周炎造模是否成功,并以高糖高脂鼠粮喂养。

二型糖尿病牙周炎模型建立^[4]:牙周炎建模成功后,大鼠禁食 12h 后腹腔注射 1% STZ (30mg/kg),自由饮食进水,72h 后进行取尾静脉侧空腹血糖,连续 3 天空腹血

糖 ≥ 16.7 mmol/L,则视为糖尿病建模成功,并以高糖高脂鼠粮喂养。

1.3 实验分组及给药方式

喂养 1 周后,32 只大鼠随机分为对照组(N 组)、牙周炎模型组(L 组)、糖尿病牙周炎模型组(DL1 组)和糖尿病牙周炎 RLP 治疗组(DL2 组),每组 8 只。L 组建立牙周炎模型,PL1 组和 PL2 组建立糖尿病牙周炎模型。建模成功后,每日上午 9 点进行灌胃给药,PL2 组给予 250mg/(kg·d) RLP 灌胃,剩余三组给予等量的等渗盐水,连续给药 4 周。

1.4 观察指标

1.4.1 牙周组织病理变化观察

取出右侧上颌骨并取下结扎丝,制片,HE 染色,并拍摄记录牙周组织病理学观。

1.4.2 免疫功能

颈椎脱臼法处死大鼠,取前眼球后静脉丛毛细血管取血,肝素抗凝,采用细胞流术法检测, CD_4^+ 、 CD_8^+ 和 CD_4^+/CD_8^+ 水平。

1.4.3 牙周组织中 SOD、MDA 测定

根据 ELISA 试剂盒操作步骤对牙周组织中 SOD 和 MDA 含量进行检测。

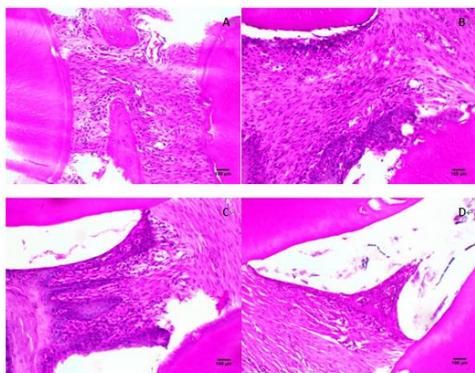
1.5 统计分析

运用 SPSS23.0 统计软件处理数据。

2 结果

2.1 牙周组织病理学变化

N 大鼠牙周组织正常,仅可见少量炎症细胞;与 N 组大鼠相比较,L 组和 DL1 组大鼠牙周组织中结缔组织处有大量炎症细胞浸润,牙周纤维排列紊乱、水肿变性,其中 DL1 组大鼠比 L 组大鼠情况严重;与 DL1 组和 L 组大鼠相比,DP2 组大鼠牙周组织的炎症情况有所缓解。见图 1。



A.N 组; B.L 组; C.DL1 组; D.DL2 组

图 1 各组大鼠牙周组织切片 (HE,×200) 2.2 牙周组织中 SOD 活性和 MDA 水平测定

与DL1相比较, DL2组大鼠牙周组织中SOD活性显著升高、MDA水平显著下降, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 各组大鼠牙周组织中 SOD 活性和 MDA 水平 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	SOD (U/mg)	MDA (mmol/g)
N 组	156.87 ± 4.05	2.92 ± 0.70
L 组	149.19 ± 12.19*	3.90 ± 1.26*
DL1 组	165.27 ± 4.36*	4.11 ± 0.97*
DL2 组	156.38 ± 6.06 ^Δ	3.11 ± 0.82 ^Δ

注: N 组比较, * $P < 0.05$; 与 DL1 组比较, $\Delta P < 0.05$

2.3 免疫功能比较

结果表明: 与 DL2 组相比, CD_4^+ 和 CD_8^+ 均显著增加, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与 N 组相比, L 组、DL1 组 CD_4^+ 和 CD_8^+ 显著降低 ($P < 0.05$); 而 CD_4^+/CD_8^+ 各组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 各组大鼠免疫功能比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	CD_4^+ (%)	CD_8^+ (%)	CD_4^+/CD_8^+
N 组	8	20.87 ± 3.15	11.92 ± 2.43	1.76 ± 0.43
L 组	8	19.24 ± 3.09*	11.05 ± 2.27*	1.72 ± 0.38
DL1 组	8	17.57 ± 3.06*	9.85 ± 2.03*	1.80 ± 0.49
DL2 组	8	24.58 ± 3.45*	13.12 ± 2.42*	1.88 ± 0.54

注: N 组比较, * $P < 0.05$ 。

3. 讨论

金樱子多糖抗氧化、降血脂、抑菌抗炎、免疫调节和抗癌等作用^[2]。韦玉兰等^[5]也通过实验证明金樱子多糖对羟自由基、超氧阴离子及 DPPH 自由基具有较强的清除能力, 但对各自由基的敏感程度不同。在不同种类的自由基中, 羟自由基和超氧阴离子自由基对细胞的危害

最大, 可直接损伤各种生物大分子和生物膜, 金樱子多糖对这两种自由基有显著的清除能力, 抗氧化能力优良。此外, 金樱子多糖抗氧化与抗衰老活性之间存在必然的联系, 相关试验中, 金樱子多糖可以使衰老小鼠胸腺指数、脾脏指数显著增加, MDA、NO 含量显著降低, 氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶活力显著提高, 并表现良好剂量依赖关系。结果表明, 金樱子多糖对糖尿病牙周炎大鼠, 在牙周组织中 MDA 水平明显降低, SOD 活性明显升高, 与既往研究基本一致。

T2DM 是一种慢性低水平炎症状态, 全身和局部的促炎症因子增加与胰岛素抵抗和 T2DM 进展密切相关^[8]。老年 T2DM 患者通常由于炎症状态的加重而出现循环细胞因子水平改变, 研究显示, T2DM 患者 CD_4^+ 和 CD_8^+ 表达异常, 二者比例失调, CD_4^+ 和 CD_8^+ 及分泌的细胞因子共同作用可导致糖代谢紊乱, 进而引起胰岛素抵抗和 T2DM 的进一步发展^[9]。研究显示, CD_4^+/CD_8^+ 比例失调则提示 T2DM 老年患者细胞免疫功能发生障碍^[10]。因此, 糖尿病伴牙周炎发生时, 平衡被打破, 细胞免疫功能下降、免疫调节失衡, 容易引起感染。

参考文献:

- [1] 张家旭, 郭玉儿, 王信, 等. 金樱子活性成分、生物功能及其在食品应用中的研究进展[J]. 食品科技, 2023, 48(01): 98-106.
 - [2] 闫彬源, 张维璐, 田敏, 等. 1996~2016年中国≥20岁成年人2型糖尿病患病率meta分析[J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2018, 17(11): 814-819.
 - [3] 张艳. 实验性牙周炎大鼠模型及 miR-23a 慢病毒转染大鼠成骨细胞的建立[D]. 第四军医大学, 2014.
 - [4] 刘国霞, 武岐山, 钱毅, 等. 伴牙周炎 2 型糖尿病大鼠模型的建立及 RANKL、OPG 的研究[J]. 临床口腔医学杂志, 2013, 29(10): 593-595.
 - [5] 韦玉兰, 苏上贵, 黄燕军, 等. 金樱子多糖抗氧化作用的实验研究[J]. 广西中医药, 2015, 38(03): 61-64.
- 基金项目: 2022 年湖南省大学生创新创业训练计划项目 (湘教通[2022]174 号-4600); 湖南省普通高等学校教学改革研究项目 (湘教通[2020]232 号-HNJG-2020-1038); 湖南省教育厅科学研究项目 (湘教通[2023]361 号-23C0453)
- 第一作者: 唐宇麒, (2001.11-), 女, 汉, 湖南醴陵, 本科在读, 口腔医学专业
- 通讯作者: 张敬芳, (1962.03-), 女, 汉, 湖北荆门, 硕士, 教授, 研究方向: 糖尿病