

黄芪甲苷联合苦瓜皂甙对Ⅱ型糖尿病小鼠的降血糖作用

王罗武 赵一帆 杨波 戴相宜 刘劲肿 王鑫蕊 汤婷*

长沙医学院第一临床学院 湖南 长沙 410219

【摘要】目的:研究苦瓜皂甙与黄芪甲苷混合物对Ⅱ型糖尿病小鼠的降血糖效果。**方法:**用高脂饲料喂养小鼠4周后,腹腔注射链脲佐菌素复制Ⅱ型糖尿病小鼠模型。对糖尿病小鼠随机分组。按实验设计灌胃和测血糖,处理40天后,进行糖耐量试验、肝糖原检测试验及胰腺病理切片。**结果:**苦瓜皂甙与黄芪甲苷混合物能显著降低Ⅱ型糖尿病小鼠的血糖($P < 0.05$),改善糖耐量($P < 0.05$),增加肝糖原含量($P < 0.05$),保护和修复胰岛细胞。**结论:**苦瓜皂甙联合黄芪甲苷通过改善糖耐量、增加肝糖原含量、保护和修复胰岛细胞来降低血糖。

【关键词】黄芪甲苷; 苦瓜皂甙; Ⅱ型糖尿病; 降血糖

【中图分类号】R587.1

【文献标识码】A

【文章编号】2096-1685(2021)47-64-02

Ⅱ型糖尿病是一种遗传与环境因素共同作用下的以高血糖为主的代谢紊乱综合征,以中年人为主要发病人群,且随着社会的发展,发病人群年轻化趋势明显,占糖尿病人总数逐年增加。苦瓜皂甙与黄芪甲苷分别为苦瓜和黄芪中的活性提取物,现代医学证明苦瓜皂甙具有降血糖、抗炎、抗菌等作用^[1]。黄芪甲苷在调节免疫力、抗肿瘤、治疗糖尿病等方面具有重要作用^[2]。本文将苦瓜皂甙与黄芪甲苷联合作用于Ⅱ型糖尿病小鼠,观察混合物的降血糖作用,进一步探讨其可能的机制。

1 材料和仪器

1.1 药物与试剂

40% 苦瓜皂甙, 10% 黄芪甲苷粉, 链脲佐菌素(STZ), 柠檬酸钠缓冲溶液, 无水葡萄糖, 萘酚, 15% 三氯乙酸, 10mol/L KOH, 冰醋酸, 0.2% 苯甲酸, 95% 浓硫酸, 生理盐水。

1.2 仪器

3k15 型低温高速离心机, 德国 Sigma 公司; 稳锐血糖测试仪及配套试纸, 美国强生公司; FA1004B 分析天平, 中国聚创有限公司; UV2600 紫外分光光度计, 天美仪拓实验设备有限公司。

2 Ⅱ型糖尿病小鼠模型的复制及分组

2.1 复制Ⅱ型糖尿病小鼠

40 只体重 20~22g、2 月龄健康雄性昆明小鼠(长沙天勤生物技术有限公司), 在适宜环境下饲养。适应性喂养 1 周后, 随机选取 8 只作为正常空白对照组(A组), 给予普通饲料; 其余 32 只作为实验组, 给予高脂饲料喂养, 高脂饲料喂养 4 周后, 将实验组小鼠禁食 12h, 一次性给小鼠腹腔注射 STZ 溶液 90mg/kg, A 组注射等体积柠檬酸-柠檬酸钠缓冲溶液。注射 STZ 3 天后, 尾静脉取血测其空腹血糖, 以空腹血糖 ≥ 11.1 mmol/L 的小鼠为Ⅱ型糖尿病的病理模型^[3]。

2.2 小鼠的分组

将造模成功的小鼠随机分为四组, 即模型空白对照组(B组)、苦瓜皂甙组(C组)、黄芪甲苷组(D组), 苦瓜皂甙和黄芪甲苷混合物组(E组), 每组 8 只。

3 试验方法

3.1 苦瓜皂甙和黄芪甲苷混合物干预试验

A 组(正常空白对照组): 给予普通饲料即可, 8 只。

B 组(模型空白对照组): 继续给予高脂饲料, 用蒸馏水灌胃,

8 只。

C 组(苦瓜皂甙组): 给予高脂饲料, 用苦瓜皂甙 400mg/kg, 8 只。

D 组(黄芪甲苷组) 给予高脂饲料, 用黄芪甲苷 50mg/kg, 8 只。

E 组: 苦瓜皂甙和黄芪甲苷混合物组: 给予高脂饲料, 用 400mg/kg 苦瓜皂甙及黄芪甲苷 50mg/kg 混合物灌胃, 8 只。

每 10d 测一次血糖, 记录数据, 持续灌胃 40d 后, 进行其他相关指标测定。

3.2 小鼠耐糖量试验

处理 40d 后, 小鼠禁食不禁水 14 h, 将 A、B、C、D、E 组小鼠尾静脉取血并测定空腹血糖作为 0min 血糖值, 继而按照 2g/kg 体重葡萄糖溶液灌胃, 分别在 30、60、90、120min 时尾静脉取血, 测定血糖水平。

3.3 肝糖原含量测定 采用萘酚比色法^[4]测定肝糖原。

3.4 胰腺组织病理学检查 组织分别经过脱蜡、水化、染色, 分化、透明后, 再封片、镜检。

3.5 统计学分析

实验数据均采用 SPSS 25.0 统计软件进行分析, 计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示, 用 One-way ANOVA 比较各组间数据, 以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

4 结果

4.1 对Ⅱ型糖尿病小鼠血糖的影响

在同一组内, 处理不同时间与未处理时比较, B 组、C 组、D 组、E 组血糖值与Ⅱ型糖尿病小鼠血糖浓度均有显著影响($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 且 C 组在 30d 时出现明显的降血糖作用($P < 0.01$), 而 D 组在 40d 时才出现明显的降血糖作用($P < 0.01$); 处理 40d 后, 与模型空白对照组(B组)比较, C 组、D 组、E 组对Ⅱ型糖尿病小鼠血糖浓度的作用均有显著差异($P < 0.05$ 或 $P > 0.01$)。C 组与 E 组比较, 二者降血糖作用差异无统计学意义($P > 0.05$); D 组和 E 组比较, E 组小鼠血糖降低的幅度比 D 组大, 但在 30d 时, 降血糖作用的差异有显著性。结果如表 1 所示。

4.2 对Ⅱ型糖尿病小鼠糖耐量的影响

结果如表 2 所示, 与模型空白对照组(B组)比较, A 组血糖值差异有高度显著性($P < 0.01$), C 组、E 组均能降低Ⅱ型

基金项目: 湖南省大学生创新创业训练计划项目, 湘教通[2020]191号-3976; 湖南省教育厅科学研究一般项目, 湘教通[2019]90号-18C1199; 长沙医学院创新训练项目: 长医教[2020]26号-073

第一作者: 王罗武(2000—), 男, 本科, 临床医学专业。

通讯作者: 汤婷(1984—), 女, 讲师, 从事医学生物化学与分子生物学教学和研究。

糖尿病小鼠的血糖 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), D 组对于糖耐量的降低不明显 ($P > 0.05$), C 组与 E 组相比, 二者降血糖作用的差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 1 小鼠血糖浓度值 [$n=8, (\bar{x} \pm s)$]

组别	血糖浓度 mmol/L				
	灌胃 0d	灌胃 10d	灌胃 20d	灌胃 30d	灌胃 40d
A 组	5.87 ± 0.98	5.84 ± 1.04	5.80 ± 1.08	5.78 ± 0.99	5.79 ± 0.92
B 组	13.59 ± 1.31	14.50 ± 1.69 ^a	15.19 ± 1.66 ^a	15.36 ± 2.03 ^a	15.76 ± 1.57 ^a
C 组	12.72 ± 0.69	13.97 ± 1.63 ^{ac}	13.06 ± 1.48 ^{ad}	10.82 ± 1.27 ^{bd}	8.06 ± 0.66 ^{bd}
D 组	13.18 ± 1.48	13.30 ± 0.91 ^{ac}	12.10 ± 0.95 ^{ad}	11.01 ± 0.67 ^{ad}	9.03 ± 0.47 ^{bd}
E 组	13.10 ± 1.44	13.21 ± 1.34 ^{ac}	11.05 ± 0.95 ^{ad}	9.28 ± 0.63 ^{bd}	6.60 ± 0.56 ^{bd}

注: 同组处理前后比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$; 各组与正常空白对照组 (A 组) 比较, ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$ 。

表 2 小鼠糖耐量值 [$n=8, (\bar{x} \pm s)$]

组别	血糖浓度 mmol/L				
	0min	30min	60min	90min	120min
A 组	5.36 ± 0.96 ^b	14.29 ± 1.99 ^b	11.89 ± 1.77 ^b	9.55 ± 1.48 ^b	6.53 ± 1.11 ^b
B 组	13.82 ± 1.86	28.01 ± 1.24	21.85 ± 1.36	16.35 ± 0.90	12.06 ± 0.68
C 组	9.32 ± 0.86 ^a	26.15 ± 2.47 ^a	15.05 ± 1.07 ^b	10.70 ± 1.56 ^b	8.24 ± 1.36 ^b
D 组	8.96 ± 0.66 ^a	27.41 ± 1.49	18.41 ± 3.05	13.55 ± 2.48	10.79 ± 2.06
E 组	8.55 ± 0.48 ^a	21.88 ± 2.55 ^a	13.11 ± 1.15 ^b	10.39 ± 0.87 ^b	8.11 ± 0.54 ^b

注: 与模型空白对照组 (B 组) 比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ 。

4.3 黄芪甲苷与苦瓜皂甙混合物对 II 型糖尿病小鼠肝糖原的影响

结果如表 3 所示, 模型空白对照组 (B 组) 的肝糖原 AOD

值比正常空白对照组 (A 组) 显著降低 ($P < 0.01$)。B 组 AOD 值与 C 组、D 组、E 组的 AOD 值比较, 有显著差异 ($P < 0.01$)。使用药物干预的 C 组、D 组、E 组三者之间的 AOD 值无明显差异。

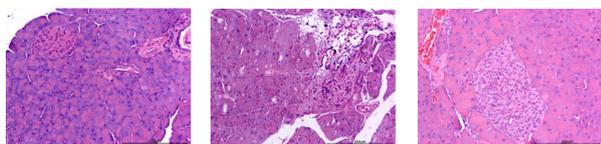
表 3 肝细胞的肝糖原表达 AOD 值 [$n=8, (\bar{x} \pm s)$]

	A 组	B 组	C 组	D 组	E 组
AOD 值	0.73 ± 0.40 ^a	0.37 ± 0.12	0.70 ± 0.14 ^a	0.69 ± 0.09 ^a	0.71 ± 0.11 ^a

注: 与模型空白对照组 (B 组) 比较, ^a $P < 0.01$ 。

4.4 黄芪甲苷与苦瓜皂甙混合物对 II 型糖尿病小鼠胰腺组织的影响

对胰腺组织记性 HE 染色, 可见正常胰腺组织 (A 组) 胰岛边缘清楚, 胰岛细胞胞质明显, 周围胰腺组织界限清楚, 无炎症细胞浸润, 间质无增生; 模型空白对照组中 (B 组), 胰岛与胰腺细胞界限不清, 胰岛内有炎症细胞的浸润, 部分胰腺细胞出现水样变性; 与模型空白对照组相比, 经过混合药物治疗的 E 组, 胰岛与周围胰腺细胞界限清楚, 无明显炎症细胞浸润和增生, 病理症状有所改善。



注: A 正常空白对照组; B 模型空白对照组; E 苦瓜皂甙和黄芪甲苷混合物组。

5 讨论

试验研究表明, II 型糖尿病小鼠模型的复制是成功的, 再通过 40d 的治疗证实了黄芪甲苷联合苦瓜皂甙混合物可以降低 II 型糖尿病小鼠血糖值 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 且比苦瓜皂甙或黄芪甲苷单独用药, 二者降血糖起协同作用效果更好。黄芪甲苷对血糖值的降低作用要比苦瓜皂甙出现晚, 特别是在第 40d 的时候, 作用效果更加明显 ($P < 0.01$), 这也证实了黄芪甲苷降低血糖需要依赖时间积累^[5]; 糖耐量试验表明苦瓜皂甙能够明显改善 II 型糖尿病小鼠的糖耐量 ($P < 0.01$), 但是黄芪甲苷对于糖耐量的改善并不明显, 所以对于混合物改善 II 型糖尿病小鼠糖耐量, 笔者认为主要是苦瓜皂甙的作用; 肝糖原检测试验表明, 无论是

苦瓜皂甙、黄芪甲苷还是二者的混合物, 均能增加肝糖原的含量 ($P < 0.01$), 对于苦瓜皂甙, 其增加肝糖原的含量可能与其能够调节糖代谢过程中相关酶的活性有关, 有研究表明苦瓜皂甙能抑制葡萄糖-6-磷酸酶和果糖-1, 6-二磷酸酶活性^[6], 同时还有类似胰岛素样结构可以抑制糖原合成酶激酶的活性, 使得糖原的合成得到促进, 分解得到抑制。而黄芪甲苷可抑制肝葡萄糖原磷酸化酶活性, 同时也可以抑制葡萄糖-6-磷酸酶活性; 对于胰腺的病理组织观察显示, 苦瓜皂甙和黄芪甲苷混合物能够使受损的胰岛细胞修复, 减轻其炎性反应, 保护、修复胰岛细胞; 本试验对苦瓜皂甙联合黄芪甲苷对 II 型糖尿病小鼠的降血糖机制研究尚浅, 还需要后续的进一步探讨。对于糖尿病的中药治疗, 应该考虑两种或多种药物的复配, 以达到更好的治疗和预防效果。另外对其相关的作用机制和并发症的预防将继续进行深入研究。

参考文献

- [1] Leung L, Birtwhistle R, Kotecha J, et al. Anti-diabetic and hypoglycaemic effects of Momordica charantia (bitter melon): a mini review[J]. Br J Nut, 2009, 102(12):1703-1708.
- [2] 张蕾, 高文远, 满淑丽. 黄芪中有效成分药理活性的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(21):3203.
- [3] 于淑池, 苏涛, 杨建民, 等. 安吉白茶多糖对实验性糖尿病小鼠降血糖作用研究[J]. 茶叶科学, 2010, 30(3):223-228.
- [4] 军事医学科学院实验动物场. 实验动物饲养与繁殖[M]. 北京: 科学出版社, 1984: 84.
- [5] 吕琳. 黄芪甲苷对高脂加链脲佐菌素诱导的糖尿病小鼠的降血糖作用及其作用机制[D]. 广州: 南方医科大学, 2010.
- [6] 王先远, 金宏, 许志勤, 等. 苦瓜皂甙降血糖作用及其机制初探[J]. 氨基酸和生物资源, 2001, 23(3):42-45.