

水芹提取物对 2 型糖尿病小鼠成模的干预

Interventional effects of wild *Oenanthe javanica* extract in

Guizhou province in type 2 diabetic mice

陈晓靛 郭晓青 吴娜怡郁 代甜甜

CHEN Xiao-jing GUO Xiao-qing WU Na-yi-yu DAI Tian-tian

(贵阳护理职业学院, 贵州 贵阳 550081)

(Guiyang Nursing Vocational College, Guiyang, Guizhou 550081, China)

摘要:高糖高脂饲料喂养小鼠 5 周后, 对其进行腹腔一次性小剂量(75 mg/kg)注射 STZ 的方法建立 2 型糖尿病模型。应用水芹提取物灌胃, 监测小鼠体质量、血脂四项、空腹血糖等指标, 进行数据分析, 考察水芹提取物对 2 型糖尿病小鼠成模的干预作用。水芹提取物对小鼠由高糖高脂饲料喂养引起的血脂四项指标上升有明显的抵御作用。高糖高脂饲料喂养组小鼠注射 STZ 后第 3 周成模, 且成模率为 80%, 水芹水提物组成模率为 40%, 水芹醇提物组成模率为 60%, 且水芹提取物对 2 型糖尿病小鼠体质量下降有明显减缓趋势。水芹提取液对高糖高脂饲料喂养联合 STZ 诱导的 2 型糖尿病小鼠成模具有一定的干预作用。

关键词:水芹; 2 型糖尿病; 链脲佐菌素; 小鼠模型

Abstract: After 5 weeks feeding, the type 2 diabetes mellitus was established by intraperitoneal injection of low-dose STZ (75 mg/kg), to measure and statistically analyze the body weight, blood lipid level, fastig blood glucose level. The extracts of *Oenanthe javanica* can prevent the increase of blood glucose and the reduction of blood weight in STZ-induced type 2 diabetes mice. In the study, the type 2 diabetic mice model using high glucose and high fat diet and low dose STZ injection occurred at 3 weeks, the achievement ratio was 80%, the aqueous extracts composition mold rate was 40%, the alcohol extracts was 60%. Therefore, *Oenanthes Javanicae* extracts on high glucose and high-fat diet induced STZ mice with type 2 diabetes mellitus model has certain intervention effect.

Keywords: *Oenanthe javanica*; diabets mellitus (type 2); STZ; mice models

水芹属伞科多年生宿根草本水生植物, 具有清热解毒、

清肝利胆^[1-2]等功效, 在提高免疫功能、抗心律失常^[3-4]等方面也有一定的功效。目前已有水芹降血糖方面的报道^[5], 但水芹对 2 型糖尿病小鼠成模的干预作用尚未见报道。本研究用高糖高脂喂养联合链脲佐菌素(STZ)诱导建立 2 型糖尿病小鼠, 考察水芹提取物对 2 型糖尿病小鼠成模的影响, 旨在研究水芹对 2 型糖尿病的干预作用, 降低糖尿病的发病率, 以期对黔产水芹在抗糖尿作用方面的研究提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

野生水芹: 采自贵州省贵阳周边, 将样品用去离子水清洗干净, 沥干表面水分, 置恒温干燥箱中 60 °C 干燥至恒重, 粉碎后过 15 μm 的筛, 密封保存待用;

昆明小鼠: 生产许可证为 SCXK(黔)2014-0001, 动物质量合格证为小鼠 0201403, 贵州医科大学实验动物中心;

普通饲料: 许可证号为 SCXK(川)2015-01, 四川省医学科学院, 四川省人民医院实验动物研究所;

自制高糖高脂饲料: 60% 普通饲料、10% 白糖、10% 猪油、10% 蛋黄粉、10% 黄豆面;

链脲佐菌素: 纯度 > 98%, 美国 Sigma 公司。

1.2 仪器与设备

制冷水恒温振荡器: SHA-2 型, 金坛市医疗仪器厂;

冷冻干燥机: DYYB-12 型, 上海德洋意邦仪器有限公司;

高速粉碎机: ZH-500 型, 中南制药机械厂;

超纯水机: YC-ROI-20Z 型, 四川怡创科技有效公司;

血糖仪: AW06477503A 型, 强生医疗器材有限公司;

电子天平: SL502N 型, 上海民桥精密科学仪器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 水芹灌胃液的制备 按照参考文献[6]和[7]的方法,

基金项目: 贵州科学技术基金项目(编号: 黔科合 J 字[2014]2002 号)

作者简介: 陈晓靛, 女, 贵阳护理职业学院讲师, 硕士。

通信作者: 郭晓青(1964—), 女, 贵阳护理职业学院教授, 本科。

E-mail: gyguoxiaoqing@163.com

收稿日期: 2017-09-18

收集水芹水提取粉和醇提粉各 3 g。用 1%吐温 80 的生理盐水溶解上述不同溶剂提取水芹粉,配制成 800 mg/kg 水芹灌胃液。

1.3.2 动物分组与饲养方法 将 120 只体质量 35 g 左右雄性小鼠适应性饲养 1 周,期间抽查血糖是否正常。1 周后进行随机分组,分为 6 组:A 组和 B 组为普通饲料喂养组,C 组和 D 组为高糖高脂饲料喂养组,E 组为高糖高脂饲料和水芹水提物灌胃组,F 组为高糖高脂饲料和水芹醇提物灌胃组。E 组和 F 组分别给予 800 mg/kg 水芹灌胃液对小鼠进行灌胃,灌胃体积控制在 6 mL,连续灌胃 4 d 后停止 1 d 再继续灌胃,同时将不同的水芹提取粉配制成浓度为 0.012 3 g/mL 的溶液,加到小鼠日常饮用水中,从而增大水芹提取物浓度对小鼠成模的干扰。其他组灌胃液用 1%吐温 80 的生理盐水代替,灌胃方式相同。期间小鼠自由进食、饮水,且每日更换饮用水,添加足量饲料。

1.3.3 建立 STZ 诱导的 2 型糖尿病小鼠模型 按上述饲养方法喂养 5 周后,B、D、E、F 4 组按 75 mg/kg STZ(用 0.1 mol/L、pH 4.0 的枸橼酸钠缓冲溶液配制 1% STZ)的小剂量^[8]对小鼠进行腹腔一次性注射,A 组和 C 组按照相同剂量和注射方式注射 0.1 mol/L、pH 4.0 的枸橼酸钠缓冲溶液。注射完毕后,继续按照原饲料喂养,并适时观察状态,记录小鼠体质量(BW),同时进行尾静脉取血测定小鼠空腹血糖值(Fasting Blood-Glucose,FBG),连续测定 5 周。3 周后小鼠空腹血糖值 ≥ 11.1 mmol/L 并出现多食、多饮、多尿症状的小鼠为 2 型糖尿病小鼠模型^[9-12]。

1.3.4 检测指标

(1) 高糖高脂饲料对小鼠血脂四项指标的影响:按照 1.3.2 喂养方法喂养 5 周后,随机从各组取 10 只小鼠,后腿切断股动脉取血,检测血脂四项(甘油三酯 TG、胆固醇 CHOL、高密度脂蛋白胆固醇 HDL-CH、低密度脂蛋白胆固醇 LDL-CH)。考察高糖高脂饲料对小鼠血脂四项的影响。

(2) 水芹提取物对 2 型糖尿病小鼠成模的干预作用:严格按照 1.3.2 灌胃剂量对 E 组和 F 组小鼠进行灌胃,按 1.3.3 建模,D 组为对照,适时观察小鼠状态,测定小鼠空腹血糖值和体质量,确定死亡率及成模率,考察水芹提取物对 2 型糖尿病小鼠成模的干预作用。

2 结果与分析

2.1 一般情况观察

小鼠注射 STZ 前(造模前),各组小鼠生长良好(高糖高脂饲料喂养组体质量增长较快),活动正常,被毛紧披有光泽,健康有力,垫料干燥。造模 3 周后,B 组小鼠体质量和精神状态基本无变化,而 D 组小鼠出现脱水状态,较瘦,皮毛无光泽,饮食量、饮水量和尿量明显增多,具有典型的“三多一少”症状。E 组和 F 组小鼠较 D 组体质量下降较慢,精神状态较好,但均无小鼠死亡。

2.2 喂养方式对小鼠不同指标的影响

表 1 为不同喂养方式小鼠监测指标的数据。由表 1 可知,适应性喂养 1 周后,各组小鼠体质量相当。按照各组喂养要求和灌胃标准对小鼠连续喂养 5 周后,A 组和 B 组的平均体质量每周增加 2 g,血糖值基本稳定,而高糖高脂饲料喂养的 C~F 组平均体重增加较快,达到每周增加 3 g 左右,血糖值稍高。其中高糖高脂饲料喂养的 C 组和 D 组血脂四项指标较其他组明显升高,空腹血糖值也有所增大,而 E 组和 F 组同样是高糖高脂饲料喂养,但给予水芹灌胃液灌胃结合水芹水喂养后,小鼠血脂四项指标明显下降,与正常组小鼠相近。因此,高糖高脂饲料喂养小鼠较普通饲料喂养更容易肥胖,更容易出现胰岛素敏感性下降,从而模拟了肥胖 2 型糖尿病患者发病初期的胰岛素抵抗状态。同时,通过水芹灌胃后小鼠血脂四项指标明显降低,表明水芹具有较好的降低血糖血脂的作用,可有效促进胰岛素的分泌,提高机体胰岛素水平^[13]。

2.3 注射 STZ 后对普通饲料 B 组和高糖高脂饲料 D 组小鼠血糖浓度的影响

分别给 B 组和 D 组小鼠一次性腹腔注射 75 mg/kg STZ 后,在 1,2,3,4,5 周内监测小鼠空腹血糖值,见表 2。普通饲料喂养的 B 组空腹血糖值没有明显升高,3 周后空腹血糖控制在 6.48~6.62 mmol/L,血糖稳定,饮食正常,毛色光滑。小剂量一次性注射 STZ 普通饲料喂养的 B 组并未成模。高糖高脂饲料喂养的 D 组注射 1 周后,小鼠血糖值开始增高,到第 3 周后空腹血糖均 ≥ 26.84 mmol/L,且表现出多饮、多尿等症状,表明高糖高脂结合一次性小剂量注射 STZ 后 D 组

表 1 喂养方式对小鼠各指标浓度的影响[†]

Table 1 Effects of different feeding methods on the concentration of different indexes in mice (n=10)

组别	BW/g		FBG/(mmol·L ⁻¹)		TG/	CHOL/	HDL-CH/	LDL-CH/
	试验前	造模前	试验前	造模前	(mmol·L ⁻¹)	(mmol·L ⁻¹)	(mmol·L ⁻¹)	(mmol·L ⁻¹)
A	34.96±0.66	44.81±0.85	6.77±0.40	6.85±0.27	1.05±0.23	1.99±0.12	1.64±0.09	0.49±0.15
B	35.24±0.58	44.77±2.15	6.53±0.34	7.26±0.55	1.10±0.16	1.87±0.10	1.66±0.09	0.51±0.09
C	35.07±0.54	59.07±1.73	6.92±0.33	9.15±0.70	1.78±0.08	4.43±0.39	3.05±0.12	1.54±0.24
D	35.21±0.72	58.42±3.11	6.89±0.22	8.87±0.27	1.75±0.08	4.04±0.13	3.11±0.19	1.58±0.20
E	35.18±0.47	58.17±1.85	7.53±0.50	9.55±0.72	1.35±0.09	2.01±0.11	2.01±0.13	0.51±0.07
F	35.01±0.66	59.27±1.77	7.39±0.41	9.66±1.14	1.02±0.19	1.03±0.20	2.15±0.16	0.35±0.14

[†] 试验前指适应性喂养 1 周后;造模前指按照各组喂养要求喂养 5 周后;血脂四项为造模前数据。

表 2 B 组和 D 组注射 STZ 后血糖浓度的影响

Table 2 Effects of B and D on blood glucose concentration after injection of STZ

mmol/L					
组别	1 周	2 周	3 周	4 周	5 周
B	6.89±0.22	7.45±0.54	6.62±0.36	6.56±0.32	6.48±0.27
D	9.01±0.23	17.14±1.88	28.14±1.47	26.84±0.72	26.84±0.59

成为 2 型糖尿病小鼠模型。采用高糖高脂饲料联合小剂量 STZ 选择性破坏胰岛功能后,小鼠的血糖逐渐升高,提示小鼠胰岛受到高脂诱导的胰岛素抵抗和化学物质 STZ 的双重打击以后,胰岛功能受到损伤,但单纯高糖高脂饮食并不能直接诱发高血糖和糖尿病^[14-16],只有联合小剂量 STZ 才更容易诱发小鼠形成 2 型糖尿病。所以高糖高脂联合 STZ 诱导的小鼠较普通饲料喂养的小鼠更容易形成 2 型糖尿病。2 型糖尿病小鼠模型建立,最好检测高糖高脂对小鼠胰岛素的影响,但正常小鼠胰岛素生化检测较困难。同时小鼠血量较少,取血困难,只能采用切断后腿股动脉取血。基于上述原因,需要进行生化检测的动物试验,建议选用大鼠进行建模。

2.4 注射 STZ 后水芹提取物对小鼠成模的干预作用

以 D 组为对照组,考察水芹水提物 E 组和水芹醇提物 F 组对 2 型糖尿病小鼠成模的干预作用(见表 3)。D 组、E 组和 F 组按 1.3.3 方法建立模型。D 组小鼠 3 周后稳定成模,血糖值在 26.84~28.14 mmol/L,成模率为 80%,死亡率为 0%。E 组和 F 组进行水芹提取物灌胃,2 组小鼠体质量下降趋势平缓,成模率均低于 D 组,水芹水提物成模率为 40%,水芹醇提物成模率为 60%,死亡率均为 0%,且水芹水提物喂养小鼠血糖值为 19.17~18.25 mmol/L,水芹醇提物血糖值为 20.56~19.45 mmol/L,2 组血糖值均低于 D 组。第 5 周后,从第一只小鼠死亡到小鼠全部自然死亡,E 组和 F 组死亡时间都比 D 组推迟 1 周。说明水芹提取物可能存在某类成分或代谢产物,在改善胰岛素方面有一定的疗效,对 2 型糖尿病小鼠成模具有一定的干预作用,同时对小鼠体质改变起到积极作用,但其改善胰岛素抵抗的机制仍需进一步探讨。

表 3 注射 STZ 后对小鼠空腹血糖(FBG)浓度的影响(第 5 周)

Table 3 Effect of injection of STZ on fasting plasma glucose (FBG) concentration in mice (five weeks)

组别	BW/g	空腹血糖/ (mmol·L ⁻¹)	死亡率/ %	成模率/ %
D	29.39±1.05	26.85±0.59	0	80
E	45.27±1.04	18.25±1.05	0	40
F	43.35±1.63	19.45±1.06	0	60

3 结论

采用高糖高脂饲料喂养联合一次性小剂量注射 STZ 建立 2 型糖尿病小鼠模型,水芹水提物和醇提物对 2 型糖尿病模具有一定的干扰作用,降低成模成功率;水芹提取物对小

鼠体质改善也起到积极作用,小鼠体质量下降缓慢,死亡时间推迟。说明水芹在抗糖尿方面是有一定作用的。但水芹对成模的干扰作用尚不清楚,需进一步深入研究。

参考文献

[1] 陈晓靛,孙国兵,郭晓青.药食兼用植物水芹的研究现状[J].安徽农业科学,2015,45(36):225-227.

[2] 孙国兵,谷超,陈晓靛,等.黔产野生水芹总黄酮提取工艺优化及含量测定[J].中成药,2017,39(2):431-435.

[3] 朴日龙,张红英.水芹正丁醇提取物抗凝血和抗血栓形成作用的研究[J].食品科学,2010,31(7):280-283.

[4] LEE C H, PARK J H, CHO J H, et al. Effect of *Oenanthe javanica* extract on antioxidant enzyme in the rat liver[J]. Chinese Medical Journal, 2015, 128(12): 1 649-1 654.

[5] 黄正明,杨新波,曹文斌,等.中药水芹的现代研究与应用[J].解放军药学报,2001,17(5):266-269.

[6] 郭晓青,韦隆华,代甜甜,等.水芹化学成分检测及降血糖作用[J].食品与机械,2017,32(1):153-257.

[7] 陆雅丽,王明力,闫岩.微波辅助提取薏苡仁油的工艺优化[J].食品与机械,2014,30(3):198-200.

[8] 秦崇涛,林志杰,陈松平,等.建立小鼠 2 型糖尿病模型时链脲佐菌素剂量的研究[J].北方药学,2014,11(4):84-85.

[9] 赵宝胜,董淑云,霍海如,等.2 型糖尿病动物模型的研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2005,11(5):62-66.

[10] 张芳林,李果,刘优萍,等.2 型糖尿病大鼠模型的建立及其糖代谢特征分析[J].中国实验动物学报,2002,10(1):16.

[11] 张文,陈建伟,李祥,等.猴头菌粉提取物对 2 型糖尿病小鼠降血糖作用研究[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(7):176-180.

[12] 张伟云,洪珠凤,陈全成,等.油茶醇提取物对 2 型糖尿病小鼠血糖的作用[J].海峡药学,2017,29(1):21-24.

[13] 周迎生,高妍,李斌,等.高脂喂养联合链脲佐菌素注射的糖尿病大鼠模型分析[J].中国实验动物学报,2005,13(3):154-158.

[14] 唐静,曾雅莉,何婷.何首乌提取物对 2 型糖尿病胰岛素抵抗大鼠的影响[J].实用药物与临床,2016,19(11):1 336-1 339.

[15] 王世伟,徐宁.玉竹多糖对糖尿病大鼠降糖作用及机制研究[J].辽宁中医杂志,2017,44(8):1 739-1 741.

[16] 陈俊,李兴,朱丽英.何首乌对链脲佐菌素糖尿病降血糖作用积极机制探讨[J].中国临床药理学杂志,2015,31(1):52-55.