

苹果渣多糖对链脲佐菌素诱导的糖尿病大鼠的 降血糖和降血脂作用

杜发强¹, 王小云², 王兆丰^{3*}

(1. 甘肃医学院基础医学院, 平凉 744000; 2. 平凉市食品检验检测中心, 平凉 744000;
3. 天水师范学院生物工程与技术学院, 天水 741001)

摘要: **目的** 研究苹果渣中粗多糖(apple pomace polysaccharides, AP)对链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)诱导的糖尿病大鼠的降血糖和降血脂活性。**方法** 考察 AP 对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶活性的抑制, 研究其体外降糖作用。用不同剂量 AP 治疗链脲佐菌素诱导的糖尿病大鼠, 测定其大鼠体重、食物和水摄入量及肝脏和骨骼肌糖原含量、血脂水平。**结果** 当口服 800 mg/kg AP 6 周后, 糖尿病大鼠的食物和水摄入量以及空腹血糖和胰岛素水平显著降低, 肝脏和骨骼肌糖原含量、丙酮酸激酶和己糖激酶浓度显著升高($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein-cholesterol, LDL-C)和极低密度脂蛋白胆固醇(very low-density lipoprotein-cholesterol, VLDL-C)水平显著降低, 而高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein-cholesterol, HDL-C)水平显著升高($P<0.01$ 或 $P<0.05$), 其可改善糖尿病大鼠的氧化应激水平。**结论** 苹果渣多糖对糖尿病 SD 大鼠具有明显的降血糖、降血脂效果, 其可作为辅助性治疗糖尿病的功能性食品成分。

关键词: 降血糖; 降血脂; 苹果渣多糖; 链脲佐菌素

Hypoglycemic and hypolipidemic effects of polysaccharide from apple pomace in streptozotocin induced diabetic rats

DU Fa-Qiang¹, WANG Xiao-Yun², WANG Zhao-Feng^{3*}

(1. Basic Medical College of Gansu Medical College, Pingliang 744000, China; 2. Pingliang Food Inspection and Testing Center, Pingliang 744000, China; 3. College of Bioengineering and Technology, Tianshui Normal University, Tianshui 741001, China)

ABSTRACT: Objective To study the hypoglycemic and hypolipidemic activities of apple pomace polysaccharides (AP) on diabetic SD rats induced by streptozotocin (STZ). **Methods** The effects of AP on α -glucosidase and α -amylase inhibitory were conducted to study its hypoglycemic effect *in vitro*. Different doses of AP were used to treat STZ induced diabetic mice. The body weight, food and water intake, liver and skeletal muscle glycogen content and blood lipid level were determined. **Results** After orally administrated with 800 mg/kg AP for 6 weeks, the food and water intake and the levels of fasting blood glucose and insulin in blood for the diabetic rats were drastically decreased, while the content of liver and skeletal muscle glycogen and the concentrations of hepatic pyruvate kinase

基金项目: 教育部 2020 年产学合作协同育人项目(202002137011)

Fund: Supported by the 2020 Annual Cooperative Education Project of the Ministry of Education (202002137011)

*通信作者: 王兆丰, 博士, 副教授, 主要研究方向为天然产物活性研究。E-mail: 15294190664@163.com

*Corresponding author: WANG Zhao-Feng, Ph.D, Associate Professor, College of Bioengineering and Technology, Tianshui Normal University, No.105 Jihe South Road, Qinzhou District, Tianshui 741001, China. E-mail: 15294190664@163.com

and hexokinase were obviously increased ($P<0.01$ or $P<0.05$). The levels of total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low-density lipoprotein-cholesterol (LDL-C) and very low-density lipoprotein-cholesterol (VLDL-C) were significantly descended, while high-density lipoprotein-cholesterol (HDL-C) was significantly ascended ($P<0.01$ or $P<0.05$). In addition, it could improve the level of oxidative stress in diabetes rats. **Conclusion** AP has obvious hypoglycemic and hypolipidemic effects on diabetes SD rats. It can be used as a functional food component for the adjuvant treatment of diabetes.

KEY WORDS: hypoglycemic; hypolipidemic; apple pomace polysaccharide; streptozotocin

0 引言

中国苹果产量占世界总产量 60% 以上, 大约 20% 用于苹果汁、酱和苹果酒的生产, 加工过程中会产生大量苹果渣, 除了用作动物饲料和食品凝胶成分外, 苹果渣可用于制备多糖, 其在食品、医药等领域应用广泛^[1]。

多糖是从天然植物中提取的一类重要的生物活性大分子, 具有抗氧化、保肝、免疫刺激、抗病毒和抗肿瘤特性等生物活性, 在生化和医学领域得到了广泛的研究^[2-4]。因其丰富的生物学功能, 已被开发为多种保健产品。但有关苹果渣多糖(apple pomace polysaccharides, AP)的研究主要集中在提取工艺优化及分离纯化方面, 对 AP 在治疗糖尿病方面的研究较少, 且有关降血糖和降血脂作用尚未系统研究。

糖尿病(diabetes mellitus, DM)已成为影响全世界人民健康的主要疾病之一, 主要表现为高血糖和血脂异常, 如高脂血症等^[5-6]。2020 年全世界有超过 4.63 亿人患有糖尿病, 预计到 2035 年, 这一数字将增至 5.92 亿^[7]。尽管医药市场上有抗糖尿病药物如双胍类药物和磺酰脲类药物, 其除了禁忌症和高昂的价格外, 长期使用会产生不良反应甚至毒性^[8-10]。因此, 寻找安全、天然和低毒且治疗方便的 DM 药物成为研究热点之一。

因此, 本研究拟通过 AP 对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶活性的抑制效果及其对链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)诱导糖尿病大鼠的空腹血糖、肝脏和骨骼肌糖原、丙酮酸激酶和己糖激酶、血脂、血清和肝脏中氧化应激参数的影响, 探讨其降血糖和降血脂作用, 以期为多糖资源开发、质量评价和临床应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

苹果渣由陕西海升鲜果汁公司提供, 经 105℃ 烘箱干燥, 粉碎机粉碎后过 100 目筛, 保存备用。SPF 级 SD 大鼠, 体重(250±20) g, 甘肃中医药大学动物实验中心, 实验动物许可证号: SCXK(甘)2015-0002。

α -葡萄糖苷酶(100 U/mg)、 α -淀粉酶(3.70 U/mg)、无水乙醇、KOH(分析纯)、对硝基苯酚(p-nitrophenol, PNP, 纯度 ≥

98%)、对硝基苯- β -D-吡喃半乳糖苷(p-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside, pNPG, 纯度 ≥ 98%) (上海源叶生物科技有限公司); STZ(纯度 ≥ 98%)、3,5-二硝基水杨酸(3,5-dinitrosalicylic acid, DNS, 分析纯)(北京索莱宝科技有限公司); 碘、碘化钾(分析纯, 四川绿骋生物科技有限公司); 总胆固醇(total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein-cholesterol, HDL-C)、甘油三酯(triglyceride, TG)检测试剂盒(上海齐源生物科技有限公司); 丙酮酸激酶、己糖激酶、丙氨酸转氨酶(alaninetransaminase, ALT)、天冬氨酸转氨酶(aspartate transaminase, AST)、 γ -谷氨酰转肽酶(γ -glutamyl transpeptidase, GGT)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽(glutathione, GSH)、胰岛素酶联免疫吸附测定(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒(北京科美生物技术有限公司); 正丁醇、磷酸二氢钾、磷酸氢二钾、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、NaCl(分析纯, 上海麦克林生化科技有限公司); 酒石酸钾钠、氯仿、NaOH、Na₂CO₃(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 阿卡波糖(纯度 ≥ 98%, 成都德思特生物技术有限公司)。

1.2 仪器设备

HH-ABS-2 数显恒温水浴锅(常州金坛良友仪器有限公司); RE-201D 旋转蒸发器(巩义市宏华仪器设备有限公司); Q-6 紫外可见分光光度计(上海元析仪器有限公司); FZ102 微型植物粉碎机(河北省黄骅市中兴仪器有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 苹果渣粗多糖的制备

将苹果渣粉末按照 1:20 (*m*:*V*)比例加入蒸馏水, 在 80℃ 水浴中提取 100 min, 在微波功率 500 W 下处理 5 min 后, 5000 r/min(离心半径为 10 cm)离心 10 min, 将收集的上清液减压浓缩至原始体积的 10%, 在 4℃ 下缓慢搅拌加入 3 倍体积的 95% (*V*:*V*)乙醇使其沉淀, 静置 24 h, 通过溶解和沉淀 3 次进一步细化多糖沉淀物。将多糖完全溶解在适当体积的水中, 采用 Sevag 法[氯仿:正丁醇=5:1 (*V*:*V*)]除蛋白, 重复 5 次后, 收集上清液冷冻干燥为 AP。

1.3.2 多糖化学成分分析

采用苯酚-硫酸比色法测定 AP 含量^[11]; 通过硫酸呋

唑比色法测定糖醛酸含量^[12]，通过考马斯亮蓝 G-250 法测定蛋白质含量^[13]。

1.3.3 与食物中碳水化合物水解相关酶活的测定

(1) α-淀粉酶活性

参考 LI 等^[14]的方法略作改动，将 500 μL 淀粉溶液(0.5%，20 mmol/L 磷酸钠缓冲液，6.7 mmol/L NaCl，pH 6.9)与 10 μL 不同质量浓度的多糖混合后，加入 10 μL 酶活为 1 U α-淀粉酶溶液，在 65℃反应 5 min，加入 600 μL DNS 试剂(1% DNS、12%酒石酸钾钠、0.4 mol/L NaOH)。在 540 nm 处测定α-淀粉酶抑制活性，通过公式(1)计算其抑制活性：

$$\alpha\text{-淀粉酶抑制活性}/\%=(1-\frac{A_{\text{样本}}}{A_{\text{对照}}})\times 100\% \quad (1)$$

其中， $A_{\text{对照}}$ 和 $A_{\text{样本}}$ 分别是对照样品和待测样品冷却至环境温度后的吸光度值。以阿卡波糖作为阳性对照。

(2) α-葡萄糖苷酶活性

将 5 μL α-葡萄糖苷酶溶液(10 U/mL，0.1 mol/L 磷酸钾缓冲液，pH 6.9)与 1 mL 不同浓度多糖溶液混合后，在 37.5℃保温 20 min；然后加入 10 μL 10 mmol/L pNPG 作为底物在 37℃继续反应 10 min 后，加入 4 mL 0.1 mol/L Na₂CO₃ 溶液终止反应。在 410 nm 处测量释放产物(对硝基苯酚)的量，采用公式(2)计算α-葡萄糖苷酶抑制活性。

$$\alpha\text{-葡萄糖苷酶抑制活性}/\%=(1-\frac{A'_{\text{样本}}}{A'_{\text{对照}}})\times 100\% \quad (2)$$

其中， $A'_{\text{对照}}$ 和 $A'_{\text{样本}}$ 分别是对照样品和待测样品冷却至环境温度后的吸光度值；以阿卡波糖作为阳性对照。

1.3.4 体内研究

(1) STZ 诱导性实验

健康雄性 SD 大鼠，体重为(190±10) g，在(22±2)℃的温度、湿度为 60%±5%下进行 12/12 h 的明暗循环。大鼠经过一周适应后，高脂高糖饲料喂养 6 周，按照 60 mg/kg 体重的剂量的 STZ 进行腹腔注射，72 h 后，将空腹血糖为 250 mg/dL 或更高的大鼠用于实验研究。非糖尿病对照组接受相同剂量冷柠檬酸缓冲液。从 STZ 注射后第 3 d 开始，采用多糖治疗持续至 42 d。

(2) 动物实验设计

将大鼠分为 5 组，每组 10 只。具体设计见表 1。

表 1 大鼠灌胃给药实验设计
Table 1 Experimental design of intragastric administration in rats

组别	灌胃给药
NC	生理盐水
STZ	生理盐水
STZ+LAP	200 mg/kg 体重 AP
STZ+MAP	400 mg/kg 体重 AP
STZ+HAP	800 mg/kg 体重 AP

所有组均连续维持 42 d，在整个实验期间，每天监测食物和水摄入量，每周监测体重和血糖水平。实验结束时(第 42 d)，大鼠禁食 14 h，从眼静脉采集血样，3000 r/min(离心半径为 10 cm)离心 10 min 提取血清，并储存在-70℃用于后续分析。随后，对大鼠实施安乐死后采集肝脏和骨骼肌，在预冷的生理盐水中洗涤以去除血液，在液氮中快速冷冻并储存在冰箱(-70℃)用于后续分析。

(3) 血清胰岛素的测定

采用 ELISA 竞争抑制法测定血清胰岛素；通过稳态模型评估(homeostasis model assessment, HOMA)胰岛素抵抗水平和胰岛细胞功能^[15-16]。血糖值和血清胰岛素值分别以 mmol/L 和 mU/L 表示。采用公式(3)计算胰岛素抵抗指数(homeostasis model assessment-insulin resistance, HOMA-IR)。

$$\text{HOMA-IR}=\frac{\text{血糖}\times\text{血清胰岛素}}{22.5} \quad (3)$$

(4) 肝脏和骨骼肌糖原的测定

对-70℃冷冻的肝脏和骨骼肌进行糖原分析。取组织加入质量分数为 33% KOH 均质，100℃下煮沸 30 min。冷却后，加入 96%乙醇，然后将样品加热至沸腾，并在冰浴中冷却，4000 r/min 离心 15 min，获得沉淀为糖原，将其溶解后采用碘试剂测定糖原含量，460 nm 处测量吸光度，结果以每克组织中含有糖原的毫克数表示。

(5) 丙酮酸激酶和己糖激酶的测定

根据试剂盒说明测定肝脏中丙酮酸激酶和己糖激酶的含量。

(6) 血清脂质含量的测定

根据商用酶试剂盒测定血清 TC、TG 和 HDL-C 浓度。根据弗里德瓦尔德方程，低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein-cholesterol, LDL-C)水平计算为 TC-TG/(5-HDL-C)，而极低密度脂蛋白胆固醇(very low-density lipoprotein-cholesterol, VLDL-C)水平计算为 TG/5^[17]。动脉粥样硬化指数(atherosclerosis index, AI)表示为[TC-(HDL-C)]÷(HDL-C)^[18]。

(7) 血清和肝脏中氧化应激参数的测定

血清中 ALT、AST 和 GGT 的水平，以及肝脏上清液中 CAT、SOD 和 GSH-Px 的含量参照试剂盒上的说明进行检测。

1.4 统计分析

所有实验均重复 3 次，采用 SPSS 23.0 对数据进行统计学分析，结果以平均值±标准偏差表示。通过方差分析检验比较各治疗组的平均值。 $P<0.01$ 表示具有极显著性差异， $P<0.05$ 表示具有显著性差异。

2 结果与分析

2.1 AP 的理化性质

通过热水浸提、乙醇反复沉淀和 Sevag 法除蛋白步

骤制备 AP。AP 得率可达 8.9% (*m:m*); 多糖含量和糖醛酸含量分别为 78.4% (*m:m*)和 12.1% (*m:m*), 蛋白质含量为 3.1% (*m:m*)。

2.2 与食物中碳水化合物水解有关的酶

糖尿病治疗主要通过抑制 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的活性来有效抑制餐后血糖含量, 从而延缓小肠对葡萄糖的吸收。因此, 通过上述酶的抑制剂作用或延长多糖消化时间, 降低葡萄糖吸收率, 从而减缓餐后血糖升高^[19]。目前, 抑制 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶被认为是治疗糖尿病最有效的方法之一。在本研究中, 该 AP 对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶均表现出抑制活性, 半抑制浓度(half inhibitory concentration, IC₅₀)值分别为(3.4±0.4)和(2.9±1.2) mg/mL; 而阿卡波糖对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶抑制活性 IC₅₀ 值分别为(2.1±0.8)和(1.3±0.6) mg/mL。说明 AP 对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶抑制活性低于阿卡波糖, 且 AP 的 α -淀粉酶抑制活性低于 α -葡萄糖苷酶抑制活性。

2.3 AP 对大鼠体重、食物和水摄入量的影响

表 2 总结了大鼠的初始和最终体重以及食物和水的

摄入量参数, 随着实验的进行, 所有服用 AP 的大鼠的体重都在下降。与正常对照组相比, 所有糖尿病组在治疗结束时体重均极显著减轻($P<0.01$)。STZ 组的食物和水摄入量分别显著($P<0.05$)和极显著($P<0.01$)高于非糖尿病对照组。然而, 与 STZ 组相比, 本研究中高剂量多糖(STZ+HAP 组)的食物和水摄入量呈显著($P<0.05$)和极显著减少($P<0.01$), 接近非糖尿病对照组的摄入量水平。结果表明, AP 可以有效地抑制 STZ 诱导的食物和水分摄入。

2.4 AP 对空腹血糖、胰岛素和 HOMA-IR 水平的影响

AP 对空腹血糖、胰岛素和 HOMA-IR 水平的影响如表 3 所示。与正常对照组相比, STZ 诱导的糖尿病大鼠在胰岛素耐受实验的整个期间血糖极显著升高($P<0.01$)。同时, 糖尿病对照组大鼠血浆胰岛素和 HOMA-IR 水平极显著升高($P<0.01$)。当糖尿病大鼠口服 HAP (800 mg/kg) 6 周后, 不仅极显著降低了空腹血糖水平($P<0.01$), 而且研究期末胰岛素抵抗水平显著恢复至正常对照组的水平($P<0.01$)。因此, 多糖可以降低空腹血糖, 改善胰岛素抵抗。

表 2 AP 对大鼠体重、食物和水摄入量的影响
Table 2 Effects of LJJP on body weight and food and water intake of rats

组别	大鼠体重/g		食物摄入量/(g/鼠/d)	水摄入量/(mL/鼠/d)
	开始	结束		
NC	189.6±5.3	326.5±2.9	19.0±2.6	31.2±4.1
STZ	193.6±3.8	135.9±4.5 ^A	26.5±2.9 ^a	196.6±2.9 ^A
STZ+LAP	195.7±8.2	160.2±2.9 ^A	29.5±4.5	198.5±6.4
STZ+MAP	198.5±6.8	175.8±4.8 ^A	28.6±4.9	190.2±7.2
STZ+HAP	200.4±5.8	153.8±8.1 ^A	19.9±3.7 ^b	45.2±3.9 ^B

注: ^A表示与正常组相比, 具有极显著性差异($P<0.01$); ^a表示与正常组相比, 具有显著性差异($P<0.05$); ^B表示与 STZ 诱导组相比, 具有极显著性差异($P<0.01$); ^b表示与 STZ 诱导组相比, 具有显著性差异($P<0.05$)。下表 3、4、5 同。

表 3 AP 对 STZ 诱导大鼠 6 周后空腹血糖、胰岛素浓度及胰岛素敏感性指数的影响
Table 3 Effects of AP on fasting serum glucose and insulin concentrations, and insulin sensitivity index of STZ-induced rats at the end of 6 weeks

组别	空腹血糖/(mmol/L)							空腹胰岛素/(mU/L)	HOMA-IR
	0 d	7 d	14 d	21 d	28 d	35 d	42 d		
NC	5.6±0.2	5.6±0.3	5.7±0.1	5.8±0.1	5.8±0.2	5.9±0.3	6.0±0.4	25.1±0.6	6.7
STZ	18.5±0.4 ^A	19.1±0.4 ^A	19.2±0.4 ^A	19.3±0.2 ^A	19.4±0.2 ^A	19.8±0.3 ^A	19.9±0.2 ^A	35.6±0.4 ^A	31.5 ^A
STZ+LAP	18.6±0.4	18.7±0.3	18.8±0.3	19.1±0.3	18.8±0.4	18.6±0.3	18.3±0.5	31.4±0.6	25.5
STZ+MAP	18.8±0.4	19.3±0.5	18.7±0.3	18.5±0.5	17.2±0.5	15.6±0.4	14.8±0.5	28.6±0.1	18.8
STZ+HAP	19.0±0.4	18.6±0.5	18.0±0.6	17.6±0.5	16.1±0.5	15.4±0.6	13.7±0.2 ^B	25.8±0.1 ^B	15.7 ^B

2.5 AP 对哺乳动物肝脏和骨骼肌糖原水平的影响

糖原作为可储存葡萄糖的主要形式,其储存在骨骼肌和肝脏中。因此,大多数葡萄糖处理发生在肝脏和骨骼肌中,葡萄糖稳态主要由肝脏和骨骼肌调节。如图 1 所示,所有糖尿病大鼠的肝脏和肌糖原含量分别为 (8.9 ± 0.3) 和 (1.2 ± 0.2) mg/g,均低于正常对照大鼠[分别为 (14.2 ± 0.4) 和 (1.8 ± 0.2) mg/g]。然而,高剂量 800 mg/kg AP 治疗组的糖原水平明显高于模型对照组,分别为 (13.6 ± 0.4) 和 (1.8 ± 0.2) mg/g。胰岛素促进细胞内糖原合成,不同组织中的糖原水平直接反映胰岛素敏感性。糖原水平越低,胰岛素敏感性越高。AP 对肝脏和骨骼肌中的糖原储存具有促进作用。AP 可能调节肝脏和骨骼肌中糖酵解和糖原合成的关键酶,可能是肝脏和骨骼肌组织中胰岛素增敏效应的结果^[20]。

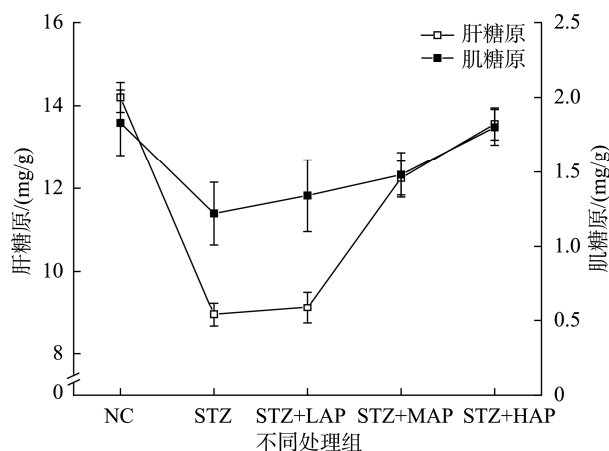


图 1 AP 对大鼠服用 STZ 后肝脏和骨骼肌糖原的影响($n=3$)

Fig.1 Effects of AP on hepatic and skeletal muscle glycogen after administration of STZ in rats ($n=3$)

2.6 AP 对丙酮酸激酶和己糖激酶水平的影响

胰岛素抵抗和葡萄糖利用率降低与肝糖酵解酶表达下调(如丙酮酸激酶和己糖激酶)密切相关,因此,通过提高丙酮酸激酶和己糖激酶的活性来提高葡萄糖利用率可以缓解胰岛素抵抗。如图 2 所示,与正常对照组大鼠相比[分别为 (113.5 ± 1.2) 、 (10.3 ± 0.3) U/g 蛋白质],模型对照组大鼠丙酮酸激酶和己糖激酶活性分别降低为 (40.2 ± 1.3) 、 (3.5 ± 0.4) U/g 蛋白。糖尿病大鼠服用 AP 后,丙酮酸激酶水平恢复至 (95.3 ± 1.3) U/g 蛋白,己糖激酶活性明显恢复至 (8.0 ± 0.2) U/g 蛋白。丙酮酸激酶和己糖激酶是葡萄糖代谢的关键酶。前者是维持葡萄糖稳态的重要酶,被认为是根据血糖水平调节葡萄糖肝脏释放/摄取的标志物,而后者是葡萄糖有氧氧化的限速酶。胰岛素水平降低可能会导

致糖尿病小鼠胰岛素活性受损^[20]。此外,正常和糖尿病大鼠食用果糖对 *L* 型丙酮酸激酶基因表达调节的研究证实了多糖可以轻微上调丙酮酸激酶基因转录,并在治疗糖尿病的同时显著上调丙酮酸激酶基因转录^[21]。本研究结果与此一致,未经治疗的大鼠肝脏丙酮酸激酶和己糖激酶活性明显降低,这可能是由于细胞对胰岛素不敏感,给予大鼠 AP 后,丙酮酸激酶和己糖激酶的活性明显增加,而丙酮酸激酶和己糖激酶活性的增加可能有助于血糖水平的恢复。

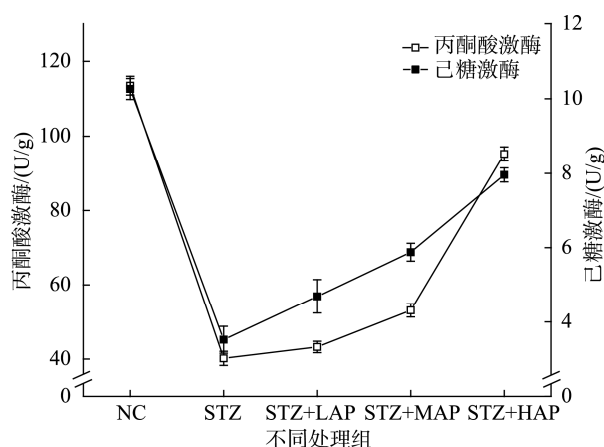


图 2 AP 对大鼠服用 STZ 后肝脏丙酮酸激酶和己糖激酶的影响($n=3$)

Fig.2 Effects of AP on liver pyruvate kinase and hexokinase after administration of STZ in rats ($n=3$)

2.7 AP 对糖尿病大鼠血脂水平的影响

当脂质代谢异常时,会导致血清 TC、TG、LDL-C 和 VLDL-C 积累及 HDL-C 降低。TC、TG、LDL-C 和 VLDL-C 水平升高是心血管疾病如冠心病(高脂血症)及其动脉粥样硬化的主要影响因素。相反,HDL-C 在胆固醇从外周向肝脏的转运中起着关键作用,可降低心血管疾病的风险^[22-23]。

结果如表 4 所示,NC 组大鼠的 TC、TG、LDL-C 和 VLDL-C 水平在内的血脂水平分别升高至 STZ 组的 (2.9 ± 0.2) 、 (3.3 ± 0.3) 、 (1.6 ± 0.2) 和 (0.7 ± 0.1) mmol/L ($P<0.05$),而 HDL-C 则从 (0.8 ± 0.1) mmol/L 显著降低至 (0.5 ± 0.1) mmol/L ($P<0.05$)。然而,给予 800 mg/kg HAP 的糖尿病大鼠(STZ+HAP 组)的血清 TC、TG、LDL-C 和 VLDL-C 水平显著降低至 (1.8 ± 0.2) 、 (1.9 ± 0.2) 、 (0.6 ± 0.3) 和 (0.4 ± 0.1) mmol/L ($P<0.05$),而 HDL-C 显著升高至 (0.8 ± 0.1) mmol/L ($P<0.05$)。由此可知,采用 AP 治疗 42 d 后,糖尿病 SD 大鼠的 TC、TG、LDL-C 和 VLDL-C 水平降低,而 HDL-C 水平升高,可知 AP 对血脂异常有调节作用。

表 4 AP 对大鼠血清 TC、TG、HDL-C、LDL-C、VLDL-C 和 AI 水平的影响
Table 4 Effects of AP on serum TC, TG, HDL-C, LDL-C, VLDL-C and AI levels in rats

组别	TC/(mmol/L)	TG/(mmol/L)	HDL-C/(mmol/L)	LDL-C/(mmol/L)	VLDL-C/(mmol/L)	AI
NC	1.7±0.2	1.7±0.2	0.8±0.1	0.6±0.2	0.3±0.1	1.3±0.3
STZ	2.9±0.2 ^a	3.3±0.3 ^a	0.5±0.1 ^a	1.6±0.2 ^a	0.7±0.1 ^a	3.2±0.4 ^a
STZ+LAP	2.6±0.3 ^a	2.9±0.1 ^a	0.7±0.2	1.3±0.3 ^a	0.6±0.1 ^a	2.7±0.3 ^a
STZ+MAP	2.2±0.1 ^a	2.5±0.2 ^a	0.7±0.1	0.9±0.3	0.5±0.1 ^a	2.0±0.5 ^a
STZ+HAP	1.8±0.2 ^b	1.9±0.2 ^b	0.8±0.1 ^b	0.6±0.3 ^b	0.4±0.1 ^b	1.2±0.2 ^b

此外, 动脉粥样硬化指数 AI 从正常对照组的 1.3±0.3 显著增加到 STZ 诱导的糖尿病大鼠的 3.2±0.4 ($P<0.05$)。经 800 mg/kg HAP (STZ+HAP 组) 治疗后, 其显著下降至正常状态, 为 1.2±0.2 ($P<0.05$), 表明该多糖可有效降低动脉粥样硬化、冠心病和其他糖尿病并发症的风险。其不仅降低了 STZ 诱导的糖尿病大鼠血液中 TC、TG、LDL-C、VLDL-C 和 AI 的水平, 且提高了 HDL-C 的水平。因此, 在添加 AP 的 STZ 诱导的糖尿病大鼠中观察到的血糖水平降低、血脂水平的改善(表 3), 表明 AP 具有降血糖和降血脂活性。

2.8 AP 对血清和肝脏氧化应激参数的影响

糖尿病通常与自由基生成增加或抗氧化防御机制受损及糖尿病的病理有关^[24]。糖尿病患者体内普遍存在氧化应激^[25]。此外, 研究发现, 肝脏氧化应激失衡有助于葡萄糖代谢, 并与糖尿病的发生和发展有关^[26-27]。结果见表 5 所示, 大鼠血清中包括 ALT、AST 和 GGT 在内的抗氧化酶水平的降低, 以及肝脏中 CAT、SOD 和 GSH 水平的提高, 可能会增加抗氧化防御系统对氧化应激的反应。STZ 组的 ALT、AST 和 GGT 水平极显著升高($P<0.01$); 与 STZ 大鼠相比, STZ+HAP 组的 ALT、AST 和 GGT 水平极显著降低($P<0.01$); 相反, 与 NC 组相比, STZ 组 CAT、SOD 和 GSH 水平极显著下降($P<0.01$), 与 STZ 大鼠相比, STZ+HAP 组 CAT、SOD 和 GSH 极显著升高($P<0.01$)。结果表明, 在糖尿病大鼠

中, 多糖的剂量依赖性给药显著恢复了抗氧化剂水平。口服多糖 6 周, 血清 ALT、AST 和 GGT 活性明显降低, 肝脏 CAT、SOD 和 GSH 逐渐升高。因此, 推测抗氧化应激可能是 AP 缓解糖尿病大鼠高血糖状态的潜在机制之一^[28-30]。综上所述, AP 具有明显的改善糖尿病状况的潜力, 并可能通过以下能力预防其多种并发症: (1)降低高血糖; (2)降低高脂血症; (3)提高血清和肝脏的抗氧化能力。目前, 需在功能和分子水平上阐明其具体机制。

3 结 论

研究表明 AP 在体外对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶具有一定的抑制活性; 在体内实验中, AP 能够增加 STZ 诱导的 SD 大鼠的体重增加, 有效地抑制食物和水分摄入; 糖尿病 SD 大鼠的 TC、TG、LDL-C 和 VLDL-C 水平降低, 而 HDL-C 水平升高, 表明 AP 可改善糖尿病大鼠的血脂水平; AP 对 STZ 诱导的糖尿病大鼠显示出强大的降血糖作用, 它能够降低血糖水平, 缓解血液中的胰岛素抵抗, 以及改善脂质代谢和氧化应激。因此 AP 可作为辅助治疗糖尿病及其并发症的功能性食品成分的潜在药物之一。本研究未进一步分析其多糖组分以及其对降低大鼠血糖和血脂的可能机制, 后续将对 AP 进行组分分离, 在动物和细胞水平进一步研究。

表 5 AP 对大鼠血清 ALT、AST 和 GGT 水平及肝脏 CAT、SOD 和 GSH 水平的影响
Table 5 Effects of AP on serum levels of ALT, AST and GGT, and hepatic levels of CAT, SOD and GSH in rats

组别	血清			肝脏		
	ALT/(IU/L)	AST/(IU/L)	GGT/(IU/L)	CAT/(IU/L)	SOD/(IU/L)	GSH/(IU/L)
NC	40.5±3.2	82.6±10.2	45.1±2.3	76.5±3.6	278.5±12.1	8.3±0.5
STZ	156.3±8.1 ^A	364.3±12.6 ^A	140.3±5.3 ^A	30.2±5.8 ^A	158.4±10.8 ^A	3.5±0.2 ^A
STZ+LAP	143.5±4.6	285.1±12.3	135.0±7.2	34.2±6.5	165.1±8.2	4.1±0.4
STZ+MAP	96.5±10.2	162.3±20.3	102.4±3.8	56.1±7.5	200.5±5.2	6.5±0.6
STZ+HAP	43.3±5.3 ^B	83.3±12.3 ^B	47.3±4.7 ^B	75.6±6.1 ^B	280.2±7.6 ^B	8.2±0.3 ^B

参考文献

- [1] YOUNIS K, AHMAD S, AHMAD S. Waste utilization of apple pomace as a source of functional ingredient in buffalo meat sausage [J]. *Cogent Food Agric*, 2015, 1(1): 1119397.
- [2] HE N, SHI X, ZHAO Y, *et al.* Inhibitory effects and molecular mechanisms of selenium-containing tea polysaccharides on human breast cancer MCF-7 cells [J]. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(3): 579–588.
- [3] YANG W, WU J, LIU W, *et al.* Structural characterization, antioxidant and hypolipidemic activity of *Grifola frondosa* polysaccharides in novel submerged cultivation [J]. *Food Biosci*, 2021, 42: 101187.
- [4] WANG D, ZHAO Y, SUN Y, *et al.* Protective effects of Ziyang tea polysaccharides on CCl₄-induced oxidative liver damage in mice [J]. *Food Chem*, 2014, 143: 371–378.
- [5] CHEN L, ZHANG Y, SHA O, *et al.* Hypolipidaemic and hypoglycaemic activities of polysaccharide from *Pleurotus eryngii* in Kunming mice [J]. *Int J Biol Macromol*, 2016, 93: 1206–1209.
- [6] KUMAR R, ARORA V, RAM V, *et al.* Hypoglycemic and hypolipidemic effect of allopolysaccharide formulations in streptozotocin induced diabetes mellitus in rats [J]. *Int J Diabet Mellit*, 2015, 3(1): 45–50.
- [7] CASANOVA LM, ESPÍNDOLA-NETTO JM, TINOCO LW, *et al.* The use of NMR metabolite profiling and *in vivo* hypoglycemic assay for comparison of unfractionated aqueous leaf extracts of two *Ocimum* species [J]. *Chem Biod*, 2016, 13(6): 686–694.
- [8] MIRZADEH M, LELEKAMI AK, KHEDMAT L. Plant/algal polysaccharides extracted by microwave: A review on hypoglycemic, hypolipidemic, prebiotic, and immune-stimulatory effect [J]. *Carbohydr Polym*, 2021, 266: 118134.
- [9] GUO C, ZHANG C, LI L, *et al.* Hypoglycemic and hypolipidemic effects of oxymatrine in high-fat diet and streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Phytomedicine*, 2014, 21(6): 807–814.
- [10] HE N, SHI X, ZHAO Y, *et al.* Inhibitory effects and molecular mechanisms of selenium-containing tea polysaccharides on human breast cancer MCF-7 cells [J]. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(3): 579–588.
- [11] ZHU J, LIU W, YU J, *et al.* Characterization and hypoglycemic effect of a polysaccharide extracted from the fruit of *Lycium barbarum* L. [J]. *Carbohydr Polym*, 2013, 98(1): 8–16.
- [12] WANG J, JIN W, ZHANG W, *et al.* Hypoglycemic property of acidic polysaccharide extracted from *Saccharina japonica* and its potential mechanism [J]. *Carbohydr Polym*, 2013, 95(1): 143–147.
- [13] TANG Z, GAO H, WANG S, *et al.* Hypolipidemic and antioxidant properties of a polysaccharide fraction from *Enteromorpha prolifera* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2013, 58: 186–189.
- [14] LI XJ, LI ZG, WANG X, *et al.* Application of cavitation system to accelerate aqueous enzymatic extraction of seed oil from *Cucurbita pepo* L. and evaluation of hypoglycemic effect [J]. *Food Chem*, 2016, 212: 403–410.
- [15] LIU Z, QU CY, LI JX, *et al.* Hypoglycemic and hypolipidemic effects of malonyl ginsenosides from American ginseng (*Panax quinquefolius* L.) on type 2 diabetic mice [J]. *ACS Omega*, 2021, 6(49): 33652–33664.
- [16] YANG HR, CHEN LH, ZENG YJ. Structure, antioxidant activity and *in vitro* hypoglycemic activity of a polysaccharide purified from *Tricholoma matsutake* [J]. *Foods*, 2021, 10(9): 2184.
- [17] FRIEDEWALD WT, LEVY RI, FREDRICKSON DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge [J]. *Clin Chem*, 1972, 18(6): 499–502.
- [18] YANG ML, LU C, FAN ZF, *et al.* Hypoglycemic and hypolipidemic effects of *Epigynum auritum* in high fat diet and streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 288: 114986.
- [19] SHAO W, XIAO C, YONG T, *et al.* A polysaccharide isolated from *Ganoderma lucidum* ameliorates hyperglycemia through modulating gut microbiota in type 2 diabetic mice [J]. *Int J Biological Macromol*, 2022, 197: 23–38.
- [20] AHMED F. *In vitro* hypoglycemic effects of molokhia leaves (*Corchorus olitorius* L.) [J]. *Pharmacog Magaz*, 2021, 17(6): 246.
- [21] ZHU J, LIU W, YU J, *et al.* Characterization and hypoglycemic effect of a polysaccharide extracted from the fruit of *Lycium barbarum* L. [J]. *Carbohydr Polym*, 2013, 98(1): 8–16.
- [22] WENG Y, YU L, CUI J, *et al.* Antihyperglycemic, hypolipidemic and antioxidant activities of total saponins extracted from *Aralia taibaiensis* in experimental type 2 diabetic rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 152(3): 553–560.
- [23] MA YQ, WANG X, GAO S, *et al.* Hypoglycemic activity of polysaccharides from sweet corn cob on streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *J Food Sci*, 2017, 82: 208–213.
- [24] PAN LH, LI XF, WANG MN, *et al.* Comparison of hypoglycemic and antioxidative effects of polysaccharides from four different *Dendrobium* species [J]. *Int J Biol Macromol*, 2014, 64: 420–427.
- [25] PREETHA PP, GIRIJA DV, RAJAMOHAN T. Hypoglycemic and antioxidant potential of coconut water in experimental diabetes [J]. *Food Funct*, 2012, 3: 753–757.
- [26] AZOFEIFA G, QUESADA S, NAVARRO L, *et al.* Hypoglycaemic, hypolipidaemic and antioxidant effects of blackberry beverage consumption in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *J Funct Food*, 2016, 26: 330–337.
- [27] LIU W, ZHENG Y, ZHANG ZW, *et al.* Hypoglycemic, hypolipidemic and antioxidant effects of *Sarcandra glabra* polysaccharide in type 2 diabetic mice [J]. *Food Funct*, 2014, 5: 2850–2860.
- [28] GU J, ZHENG Z, YUAN J, *et al.* Comparison on hypoglycemic and antioxidant activities of the fresh and dried *Portulaca oleracea* L. in insulin-resistant HepG2 cells and streptozotocin-induced C57BL/6J diabetic mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 161: 214–223.
- [29] YIN A, GAO P. Antidiabetic activity of *Anemarrhena asphodeloides* Bge. polysaccharides [J]. *Am J Med Case Rep*, 2021, 9(2): 116–121.
- [30] BENÍTEZ V, REBOLLO-HERNANZ M, AGUILERA Y, *et al.* Extruded coffee parchment shows enhanced antioxidant, hypoglycaemic, and hypolipidemic properties by releasing phenolic compounds from the fibre matrix [J]. *Food Funct*, 2021, 12(3): 1097–1110.

(责任编辑: 于梦娇 张晓寒)

作者简介



杜发强, 硕士, 讲师, 主要研究方向为代谢与疾病研究。

E-mail: qweluogh@163.com



王兆丰, 博士, 副教授, 主要研究方向为天然产物活性研究。

E-mail: 15294190664@163.com