

菊粉复配灵芝多糖 对 2 型糖尿病大鼠的降血糖作用

刘亚萍¹, 高文鸽¹, 梁隽杰¹, 张文菱子¹, 张泽生^{1,2,3,*}

(1.天津科技大学食品工程与生物技术学院,天津 300457;

2.天津科技大学省部共建食品营养与安全国家重点实验室,天津 300457;

3.天津食品安全低碳制造协同创新中心,天津 300457)

摘要:为探究菊粉复配灵芝多糖降血糖作用,采用高糖高脂联合链脲佐菌素(STZ)诱导 SD 大鼠建立 2 型糖尿病模型,记录菊粉复配灵芝多糖干预期间大鼠每周体重(BW)和血糖(FBG)变化,5 周后检测其血清中胰岛素(FINS)、糖化血清蛋白(GSP)、谷丙转氨酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)及肝糖原、肌糖原等指标,并进行肝脏的 HE 染色观察。结果表明,和模型组相比,菊粉复配灵芝多糖高剂量组(5 g/kg·bw 菊粉+0.4 g/kg·bw 灵芝多糖)大鼠的 FBG、FINS、GSP、ALT 和 AST 等指标极显著降低($P<0.01$),糖原含量极显著增加($P<0.01$),且和单一菊粉组相比存在显著差异($P<0.05$);HE 染色观察发现菊粉复配灵芝多糖可有效缓解 2 型糖尿病大鼠的肝脏损伤。综上所述,菊粉复配灵芝多糖对 2 型糖尿病大鼠有明显的降血糖作用,该作用机制可能与改善机体胰岛素抵抗、修复肝脏损伤和促进糖原合成有关。

关键词:菊粉,灵芝多糖,复配,降血糖,2 型糖尿病,大鼠

Hypoglycemic Effect of Inulin Combined with *Ganoderma lucidum* Polysaccharides on Type 2 Diabetes Mellitus Rats

LIU Ya-ping¹, GAO Wen-ge¹, LIANG Jun-jie¹, ZHANG Wen-ling-zi¹, ZHANG Ze-sheng^{1,2,3,*}

(1.College of Food Engineering and Biotechnology, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China;

2.State Key Laboratory of Food Nutrition and Safety, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China;

3.Tianjin Food Safety & Low Carbon Manufacturing Collaborative Innovation Center, Tianjin 300457, China)

Abstract: To investigate the hypoglycemic effect of the inulin compound with *Ganoderma* polysaccharides, type 2 diabetes mellitus rat model induced by high fat diet and streptozotocin was established. Then the inulin and *Ganoderma lucidum* polysaccharides were administered orally to the diabetic rats for 5 weeks. During this period, the body weight and fasting blood glucose of T2DM rats (FBG) were measured weekly. Subsequently, the insulin (FINS), glycosylated serum protein (GSP), glutamic acid transaminase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), hepatic glycogen and muscle glycogen were also measured, and the HE staining of the liver was observed. The results showed that, compared with the model group, the indicators of FBG, FINS, GSP, ALT and AST of the high combination of inulin and *Ganoderma lucidum* polysaccharides groups (5 g/kg·bw inulin + 0.4 g/kg·bw *Ganoderma lucidum* polysaccharides) were significantly decreased ($P<0.01$), the contents of glycogen was significantly increased ($P<0.01$), and insulin resistance was significantly improved ($P<0.01$). Moreover, compared with the simple inulin group, all the above indexes in the compound groups were significantly different ($P<0.05$). In a conclusion, inulin combined with *Ganoderma lucidum* polysaccharides could enhance synergistic hypoglycemic effect by improving insulin resistance, repairing liver injury and promoting glycogen synthesis.

Key words: inulin; *Ganoderma lucidum* polysaccharides; combination; hypoglycemic; type 2 diabetes mellitus; rat

中图分类号: TS201

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2019)20-0310-07

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2019.20.050

引文格式: 刘亚萍, 高文鸽, 梁隽杰, 等. 菊粉复配灵芝多糖对 2 型糖尿病大鼠的降血糖作用[J]. 食品工业科技, 2019, 40(20): 310-315, 324.

2 型糖尿病 (Type 2 diabetes mellitus, T2DM) 是一种慢性代谢紊乱疾病^[1-2], 主要表现为胰岛素抵抗, 即外周组织对胰岛素的敏感性降低, 使得机体无

法有效利用胰岛素, 从而导致患者体内出现高血糖与高胰岛素并存的现象^[3-5]。现如今, 高糖高脂的饮食习惯和较少的体力活动使 2 型糖尿病发病率逐年

收稿日期: 2019-01-28

作者简介: 刘亚萍 (1993-), 女, 硕士, 研究方向: 天然产物活性成分, E-mail: 1669633490@qq.com。

* 通讯作者: 张泽生 (1956-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 天然产物活性成分, E-mail: zhangzesheng@tust.edu.cn。

上升,严重威胁人类健康^[6-7]。同时,糖尿病发病机制复杂,单一靶点药物治疗途径单一,且存在较多副作用^[8-9]。因此,通过复配的方式将具有降血糖作用的单一产品开发为复合降血糖产品具有很好的研究价值。

菊粉(Inulin)又名菊糖,作为一种可溶性膳食纤维,可延缓胃的排空时间,抑制餐后血糖水平的升高^[10-11];也可改善机体胰岛素受体的敏感性,缓解胰岛素抵抗^[12-13];同时,还可调节糖代谢酶相关活性,降低餐后血糖水平^[14-15]。灵芝多糖(*Ganoderma lucidum* polysaccharides, GLPS)作为传统的中药成分,可降低机体氧化应激水平,修复胰岛损伤,改善胰岛素抵抗^[16-17];还可刺激胰岛细胞分泌,提高胰岛素水平,降低血糖含量^[18-19]。

尽管菊粉和灵芝多糖均有降血糖效果,具备联合降血糖的理论基础,但两者复配是否优于单用,目前仍未见报道。所以,本实验首次将菊粉和灵芝多糖进行复配,采用高糖高脂联合链脲佐菌素(STZ)诱导建立2型糖尿病大鼠模型,深入探究菊粉复配灵芝多糖降血糖作用,为更加天然安全的降血糖产品的开发利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

Sprague-Dawley 大鼠(雄性,6周龄,体重(180 ± 10) g,许可证编号 SCXK(京)2016-0002)、动物基础饲料 北京斯贝福生物技术有限公司;菊粉 纯度90%,河北维乐夫农业科技有限公司惠赠;灵芝多糖 纯度70%,河北维乐夫农业科技有限公司惠赠;高糖高脂联合链脲佐菌素(STZ) 北京索莱宝科技有限公司;糖化血清蛋白(GSP)、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、苏木素-伊红(HE)试剂盒 南京建成生物技术研究。

One Touch 血糖仪 美国强生公司;Multiskan FC 酶标仪 美国 Thermo Fisher 公司;CKX41 倒置荧光显微镜 日本奥林巴斯公司。

1.2 实验方法

1.2.1 2型糖尿病大鼠模型的建立 实验大鼠饲养于天津科技大学清洁动物房内(环境设施合格证号:SYXK(津)2006-0005),生长温度为(23 ± 2) °C,湿度为55% ± 10%,12 h 周期性明/暗交替,自由饮食和饮水。

SD 大鼠适应性喂养1周后随机分为正常组(8只)和模型组(50只)。正常组喂食基础饲料,模型

组喂食高糖高脂饲料(表1)。4周后,模型组一次性腹腔注射 STZ(30 mg/kg,溶于0.1 mol/L 柠檬酸钠缓冲液, pH4.5),正常组的大鼠则注射适量的柠檬酸-柠檬酸钠缓冲溶液^[20]。72 h 后,测定模型组大鼠空腹血糖值 ≥ 16.7 mmol/L 即为成功建立2型糖尿病模型,可进入后续实验。

表1 高糖高脂饲料组成
Table 1 Composition of high-fat-diet

成分	含量(g/kg)
基础饲料	500
白砂糖	220
酪蛋白	90
猪油	160
胆固醇	5
胆酸盐	5
复合维生素	10
明胶	10

1.2.2 实验动物分组及给药 将建模成功的2型糖尿病大鼠随机分为5组,即模型组和4个干预组,每组8只,进行为期5周的灌胃干预。各剂量组给予不同浓度的受试样品,正常组和模型组给予等量的蒸馏水,如表2所示(其中菊粉和灵芝多糖剂量的选择参考文献[21-22])。

1.2.3 生化指标测定 干预期间每日观察大鼠的精神状态和摄食情况,并在每周固定时间测定其空腹体重和血糖。其中,大鼠空腹血糖(FBG)测定采用尾尖静脉取血法。

所有大鼠经不同样品灌胃干预5周后,对其进行空腹过夜处理,并在乙醚麻醉状态下,股动脉取血,然后颈椎脱臼处死。所获得的全血样本经4000 r/min 离心15 min,得到上层血清,并按照相应的试剂盒说明书测定大鼠空腹血清胰岛素(FINS)、糖化血清蛋白(GSP)、谷丙转氨酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)指标。另外,通过生物学解剖,获得心、肝、肾等重要组织,并用生理盐水清洗、滤纸擦拭、称重后,计算相应的脏器指数,并按照试剂盒说明书测定肝糖原和肌糖原含量。

其中,按照(式1)计算大鼠空腹血清中的胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)。按照(式2)计算大鼠的脏器指数。

$$HOMA-IR = (FINS \times FBG) + 22.5$$
 式(1)

$$脏器指数 = \frac{脏器重量}{体重}$$
 式(2)

表2 各组给药剂量
Table 2 Dosages of administration

分组	组别简称	灌胃剂量
正常组	NC	蒸馏水
模型组	DC	蒸馏水
菊粉组	I	5 g/kg bw 菊粉
灵芝多糖组	G	0.4 g/kg bw 灵芝多糖
菊粉 + 灵芝多糖低剂量组	CL	5 g/kg bw 菊粉 + 0.2 g/kg bw 灵芝多糖
菊粉 + 灵芝多糖高剂量组	CH	5 g/kg bw 菊粉 + 0.4 g/kg bw 灵芝多糖

1.2.4 肝脏组织切片的病理学观察 取体积约 1 mm^3 的肝小叶,放入 10% 的中性福尔马林溶液固定,然后进行石蜡包埋和苏木素-伊红染色^[23],最后使用显微镜观察切片,比较各组大鼠肝脏组织形态结构差异。

1.3 数据处理

本实验采用 IBM SPSS Statistics 22 软件进行数据统计与分析。其中,两两比较时采用单因素方差分析,多重比较时采用 Duncans 多重检验。实验结果以“均值 $\pm$ 标准偏差 ($M \pm SD$)”表示。 $P < 0.05$ 表示两组之间存在显著性差异, $P < 0.01$ 表示两组之间存在极显著性差异。

2 结果与分析

2.1 菊粉复配灵芝多糖对 T2DM 大鼠体重的影响

菊粉复配灵芝多糖对 T2DM 大鼠体重指标的影响如图 1 所示。其中,与正常组相比,模型组大鼠的体重极显著降低($P < 0.01$),说明经高糖高脂饮食联合小剂量的 STZ 诱导的 SD 大鼠由于体内持续的高血糖,诱发机体结构蛋白减少或退化^[24],从而导致体重减轻,表现出典型的 2 型糖尿病症状。与模型组相比,菊粉组大鼠的体重在灌胃干预 5 周后略有增加,但相较于模型组无显著性差异($P > 0.05$),这可能是由于菊粉作为一种可溶性膳食纤维,能在一定程度上降低机体摄食量,减缓大鼠体重的增加趋势;灵芝多糖组大鼠的体重在整个干预期间逐渐升高,且在灌胃 5 周后相较于模型组极显著增加($P < 0.01$),表明灵芝多糖可有效缓解 T2DM 大鼠的体重减轻症状。另外,与单一菊粉组相比,各复配组大鼠的体重在灌胃 5 周后极显著增加($P < 0.01$)。同时,与单一灵芝多糖组相比,菊粉复配灵芝多糖高剂量组大鼠的体重在灌胃 5 周后也显著增加($P < 0.05$)。说明菊粉复配灵芝多糖对 2 型糖尿病大鼠的体重恢复具有明显的促进作用。

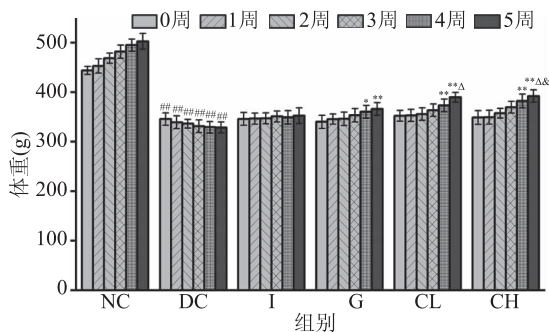


图 1 菊粉复配灵芝多糖对 T2DM 大鼠体重的影响

Fig.1 Effect of of inulin compound with *Ganoderma lucidum* polysaccharides on body weight of T2DM rats

注:##表示 DC 与 NC 相比有极显著差异($P < 0.01$);

*表示样品干预组与 DC 组相比有显著性差异($P < 0.05$);

**表示样品干预组与 DC 组有极显著性差异($P < 0.01$);

Δ表示复配组与菊粉组相比有显著性差异($P < 0.05$);

&表示复配组与灵芝多糖组相比有显著性

差异($P < 0.05$);图 2~图 4、表 3~表 5 同。

2.2 菊粉复配灵芝多糖对 T2DM 大鼠脏器指数的影响

菊粉复配灵芝多糖对 T2DM 大鼠脏器指数的影响如表 3 所示。其中,与正常组相比,模型组大鼠的各项脏器指数均极显著升高($P < 0.01$),说明长期的慢性高血糖使得 T2DM 大鼠的重要脏器已出现严重损伤,有进一步引发糖尿病型肝肿大、肾小球病变和冠心病等多种并发症的风险^[25-26]。与模型组相比,菊粉组大鼠的心脏和肝脏指数显著下降($P < 0.05$),肾脏指数极显著下降($P < 0.01$),灵芝多糖组大鼠的各项脏器指数均显著下降($P < 0.05$),这可能是因为菊粉和灵芝多糖均具有显著的抗氧化作用,可有效缓解氧化应激,在一定程度上修复机体损伤。另外,和单一菊粉组相比,菊粉复配灵芝多糖低剂量组大鼠的各项脏器指数均显著降低($P < 0.05$),而菊粉复配灵芝多糖高剂量组大鼠的肾脏指数极显著降低($P < 0.01$);同时,和单一灵芝多糖组相比,菊粉复配灵芝多糖高剂量组大鼠的肾脏指数显著降低($P < 0.05$)。可见菊粉复配灵芝多糖可有效缓解 T2DM 大鼠的脏器损伤,在一定程度上延缓糖尿病型肝硬化、肾病和心血管疾病等糖尿病并发症的发展进程。

表 3 菊粉复配灵芝多糖对 2 型糖尿病大鼠脏器指标的影响

Table 3 Effect of inulin compound with *Ganoderma lucidum* polysaccharides on organ index of T2DM rats

组别	脏器指数 (%)		
	心脏	肝脏	肾脏
NC	0.22 ± 0.06	1.96 ± 0.18	0.18 ± 0.20
DC	$0.41 \pm 0.14^{##}$	$2.73 \pm 0.22^{##}$	$1.04 \pm 0.17^{##}$
I	$0.38 \pm 0.06^*$	$2.47 \pm 0.13^*$	$0.75 \pm 0.18^{**}$
G	$0.37 \pm 0.07^*$	$2.35 \pm 0.18^*$	$0.76 \pm 0.09^*$
CL	$0.34 \pm 0.04^{**\Delta}$	$2.07 \pm 0.13^{**\Delta}$	$0.51 \pm 0.12^{**\Delta}$
CH	$0.30 \pm 0.09^{**\Delta}$	$2.03 \pm 0.21^{**\Delta}$	$0.42 \pm 0.13^{**\Delta\&}$

2.3 菊粉复配灵芝多糖对 T2DM 大鼠空腹血糖的影响

菊粉复配灵芝多糖对 T2DM 大鼠空腹血糖的影响如表 4 所示。其中,模型组大鼠经高糖高脂饮食辅以小剂量的 STZ 诱导成功建立 T2DM 模型后,其体内的血糖水平持续升高,与正常组相比具有极显著差异($P < 0.01$)。这主要是因为 T2DM 大鼠体内的血糖水平居高不下,从而进一步引起碳水化合物、脂肪和蛋白质的代谢紊乱^[27]。在菊粉复配灵芝多糖灌胃干预 T2DM 大鼠的初期(第 1~3 周),各干预组大鼠的血糖变化较小,与模型组相比无显著性差异,从第 4 周开始,各干预组大鼠的血糖水平呈下降趋势。其中,与模型组相比,菊粉组大鼠血糖水平在第 5 周时显著下降($P < 0.05$),灵芝多糖组和复配组大鼠的血糖值极显著下降($P < 0.01$),且各干预组的血糖值相较于其初始水平分别下降了 2.41%、13.95%、15.15% 和 19.82%。这也在一定程度上说明了菊粉和灵芝多糖作为天然绿色产物,在具有降血糖作用的同时,不会出现急性降血糖的不良反应。另外,与单一菊粉组相比,菊粉复配灵芝多糖高剂量组的血

表4 菊粉复配灵芝多糖对 T2DM 大鼠空腹血糖的影响
Table 4 Effect of inulin compound with *Ganoderma lucidum* polysaccharides on FBG of T2DM rats

组别	血糖值 (mmol/L)					血糖下降比率 (%)
	第0周	第1周	第3周	第4周	第5周	
NC	4.65 ± 0.36	5.25 ± 0.49	5.17 ± 0.20	5.16 ± 0.05	4.75 ± 0.23	—
DC	25.63 ± 1.17 ^{##}	23.90 ± 2.91 ^{##}	23.83 ± 2.07 ^{##}	25.69 ± 2.03 ^{##}	28.18 ± 4.13 ^{##}	—
I	22.15 ± 2.39	23.83 ± 1.58	23.06 ± 1.42	22.38 ± 1.05	21.62 ± 1.2 [*]	2.41
G	24.02 ± 1.83	22.32 ± 1.19	23.13 ± 1.98	21.70 ± 1.54 [*]	20.67 ± 1.52 ^{**}	13.95
CL	24.42 ± 2.15	22.68 ± 1.18	21.75 ± 1.40	21.22 ± 1.16 [*]	20.72 ± 1.33 ^{**}	15.15
CH	24.55 ± 2.43	22.50 ± 2.65	21.30 ± 1.64	20.02 ± 1.25 ^{**}	19.68 ± 1.72 ^{**Δ}	19.82

糖值显著降低 ($P < 0.05$), 说明菊粉复配灵芝多糖的降血糖效果优于单一菊粉。

2.4 菊粉复配灵芝多糖对 T2DM 大鼠胰岛素水平的影响

菊粉复配灵芝多糖对 2 型糖尿病大鼠胰岛素水平的影响如图 2 所示。其中, 与正常组相比, 模型组大鼠的 FINS 水平和 HOMA-IR 指数极显著升高 ($P < 0.01$), 说明高糖高脂联合 STZ 诱导可使 T2DM 大鼠的胰岛素敏感性降低或作用缺陷, 从而引起血糖水平持续升高, 导致机体产生更多的胰岛素, 出现产生明显的胰岛素抵抗^[28]。经过菊粉和灵芝多糖灌胃干预 5 周后, 与模型组相比, 菊粉组和灵芝多糖组大鼠的 FINS 显著性降低 ($P < 0.05$), HOMA-IR 指数极显著性降低 ($P < 0.01$), 而各复配组大鼠的 FINS 和 HOMA-IR 指数均极显著性降低 ($P < 0.01$), 说明菊粉和灵芝多糖均可有效调节机体的胰岛素水平。此外, 与单一菊粉组相比, 菊粉复配灵芝多糖高剂量组的 FINS 和 HOMA-IR 指数显著降低 ($P < 0.05$); 与单一灵芝多糖组相比, 菊粉复配灵芝多糖高剂量组的 HOMA-IR 指数显著降低 ($P < 0.05$)。说明菊粉复

配灵芝多糖可通过调节机体胰岛素水平, 有效缓解 2 型糖尿病大鼠的胰岛素抵抗。

2.5 菊粉复配灵芝多糖对 T2DM 大鼠糖原水平的影响

菊粉复配灵芝多糖对 T2DM 大鼠糖原水平的影响如表 5 所示。其中, 和正常组相比, 模型组大鼠的糖原水平极显著性降低 ($P < 0.01$), 说明高糖高脂联合 STZ 诱导使得 T2DM 大鼠胰岛素敏感性降低, 产生了严重的胰岛素抵抗, 从而导致糖原合成受到抑制, 糖原含量显著降低^[29]。经菊粉复配灵芝多糖灌胃干预 5 周后, 和模型组相比, 菊粉组大鼠的肝糖原水平显著升高 ($P < 0.05$), 灵芝多糖组大鼠的肝糖原水平极显著升高 ($P < 0.01$), 肌糖原水平显著升高 ($P < 0.05$), 而各复配组大鼠的肝糖原和肌糖原水平均极显著升高 ($P < 0.01$), 说明菊粉和灵芝多糖可在一定程度上提高胰岛素的敏感性。此外, 和单一菊粉组相比, 菊粉复配灵芝多糖高剂量组的肌糖原含量极显著增加 ($P < 0.01$)。和单一灵芝多糖组相比, 菊粉复配灵芝多糖高剂量组的肌糖原含量显著增加 ($P < 0.05$)。说明菊粉复配灵芝多糖可以有效地促进糖原合成, 改善机体胰岛素抵抗。

表5 菊粉复配灵芝多糖对 T2DM 大鼠糖原水平的影响 (mmol/L)

Table 5 Effect of inulin compound with <i>Ganoderma lucidum</i> polysaccharides on GS of T2DM rats (mmol/L)		
组别	肝糖原	肌糖原
NC	7.16 ± 0.44	4.92 ± 0.61
DC	2.65 ± 0.68 ^{##}	1.41 ± 0.52 ^{##}
I	3.70 ± 0.48 [*]	1.52 ± 0.17
G	4.80 ± 0.48 ^{**}	1.80 ± 0.43 [*]
CL	4.86 ± 0.95 ^{**}	3.10 ± 0.50 ^{**Δ}
CH	5.14 ± 0.65 ^{**Δ}	4.97 ± 0.57 ^{**ΔΔ&}

2.6 菊粉复配灵芝多糖对 T2DM 大鼠血清糖化蛋白 (GSP) 水平的影响

糖化血清蛋白可有效反映患者过去 1~2 周内的平均血糖水平, 不因外界环境条件的改变而轻易改变, 是 T2DM 近期监测的一个非常灵敏的指标^[30]。菊粉复配灵芝多糖对 T2DM 大鼠 GSP 水平的影响如图 3 所示。其中, 与正常组相比, 模型组大鼠的 GSP 水平极显著升高 ($P < 0.01$), 说明近 2 周内 T2DM 大鼠的平均血糖值一直处于较高水平。与模型组相

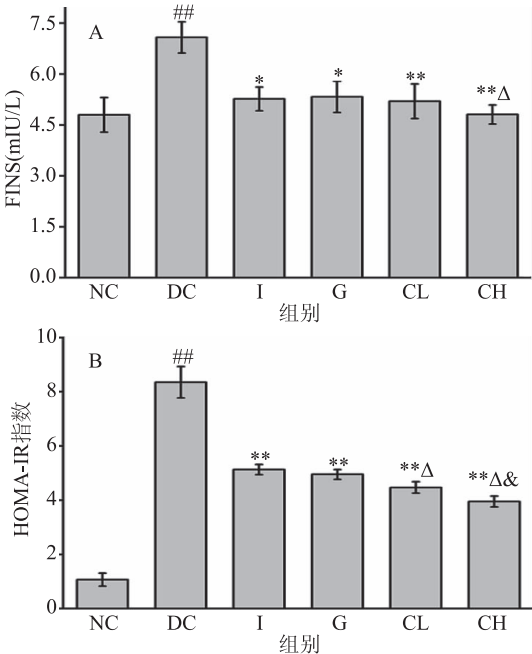


图2 菊粉复配灵芝多糖对 T2DM 大鼠 FINS 的影响
Fig.2 Effect of inulin compound with *Ganoderma lucidum* polysaccharides on FINS of T2DM rats

比,菊粉组大鼠的 GSP 水平显著降低($P < 0.05$),灵芝多糖组和各复配组大鼠的 GSP 水平极显著降低($P < 0.01$),说明菊粉和灵芝多糖均可降低 T2DM 大鼠体内的 GSP 水平。其中,与单一菊粉组相比,各复配组的 GSP 水平出现显著降低($P < 0.05$),与单一灵芝多糖组相比,菊粉复配灵芝多糖高剂量组的 GSP 水平显著降低($P < 0.05$),说明菊粉复配灵芝多糖可通过减少糖胺的形成,进一步有效调节血糖水平。

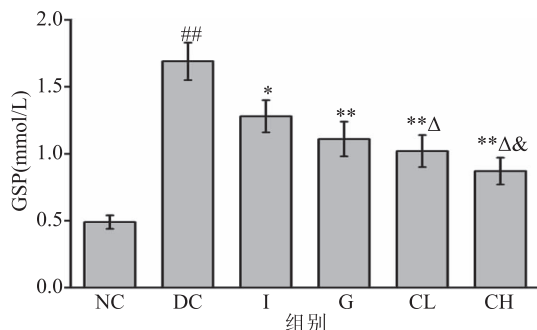


图3 菊粉复配灵芝多糖对 T2DM 大鼠 GSP 的影响

Fig.3 Effect of inulin compound with *Ganoderma lucidum* polysaccharides on GSP of T2DM rats

2.7 菊粉复配灵芝多糖对 T2DM 大鼠肝功能指标的影响

T2DM 患者由于胰岛素抵抗造成的糖脂代谢紊乱,极易导致肝脏功能受损,使得患者血清中的 ALT 和 AST 水平高于常人^[31]。菊粉复配灵芝多糖对 T2DM 大鼠肝功能指标的影响如图 4 所示。其中,与正常组相比,模型组大鼠血清中的 ALT 和 AST 水平极显著性升高($P < 0.01$),说明长期持续的高血糖已诱发 T2DM 大鼠的肝脏损伤。与模型组相比,菊粉组大鼠的 ALT 和 AST 水平显著下降($P < 0.05$),灵芝多糖组大鼠的 ALT 水平显著下降($P < 0.05$),AST 水平极显著下降($P < 0.01$),而各复配组大鼠的 ALT 和 AST 水平均极显著下降($P < 0.01$)。另外,与单一菊粉组相比,菊粉复配灵芝多糖高剂量组大鼠的 ALT 水平显著下降($P < 0.05$),AST 水平极显著下降($P < 0.01$)。与单一灵芝多糖组相比,菊粉复配灵芝多糖高剂量组的 ALT 和 AST 水平显著下降($P < 0.05$),说明菊粉复配灵芝多糖可通过缓解由持续的高血糖引起的肝脏损伤,进一步改善糖代谢水平。

2.8 菊粉复配灵芝多糖对 T2DM 大鼠肝脏组织病理学的影响

有研究表明,T2DM 发病过程中出现的高血糖和脂质堆积极易造成肝脏损害,而肝脏损害之后糖脂代谢的调节能力进一步下降,最终形成恶性循环,出现肝肿大、脂肪肝、肝纤维化、肝硬化等症^[32]。肝脏组织经过 HE 染色封片后,在倒置荧光显微镜下观察肝细胞形态变化,可见菊粉复配灵芝多糖对 T2DM 大鼠肝脏组织形态变化的影响如图 5 所示。正常组肝脏组织结构正常,肝细胞外形规则统一,排列整齐紧密,细胞核清晰可见。模型组肝细胞弥漫性肿胀,排列紊乱,细胞核染色变浅,甚至部分核消失。与模型组相比,各受试样品组大鼠肝细胞损伤程度明显

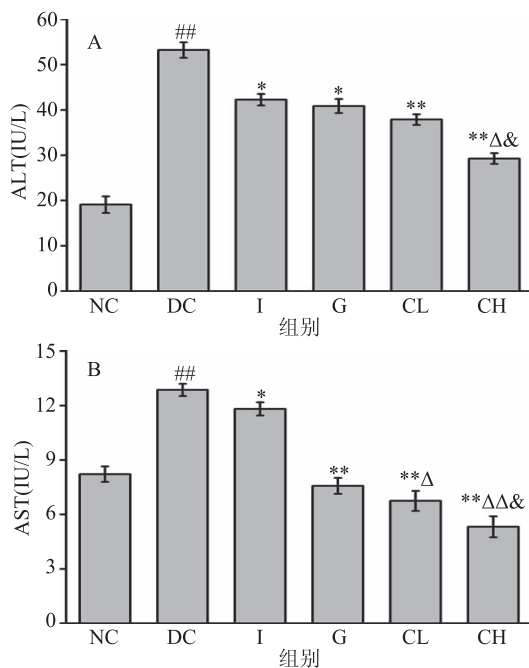


图4 菊粉复配灵芝多糖对 T2DM 大鼠肝功能的影响

Fig.4 Effect of inulin compound with *Ganoderma lucidum* polysaccharides on liver function of T2DM rats

改善。其中,复配组肝脏细胞肿胀明显减轻,受损细胞数量减少,细胞核明显增加,细胞形态、个体间排列状况均有所改善,进一步说明菊粉复配灵芝多糖可以有效缓解 2 型糖尿病患者的肝脏损伤。

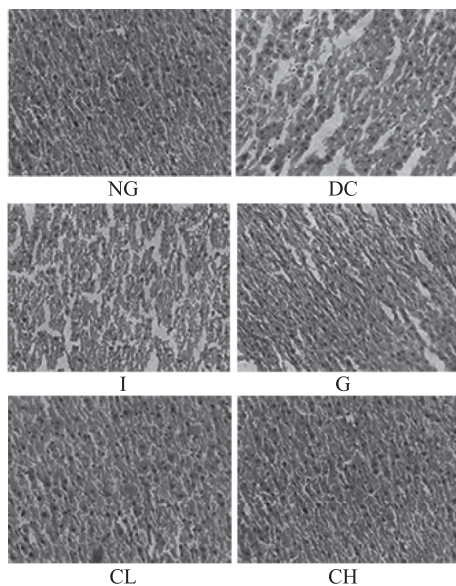


图5 菊粉复配灵芝多糖对 T2DM 大鼠肝脏组织形态的影响(10×40)

Fig.5 Effect of inulin compound with *Ganoderma lucidum* polysaccharides on liver of T2DM rats(10×40)

3 结论

本文采用高糖高脂联合链脲佐菌素(STZ)诱导 SD 大鼠建立 2 型糖尿病模型,探究菊粉复配灵芝多糖的降血糖作用。结果表明,经菊粉和灵芝多糖灌胃干预 5 周后,和模型组相比,菊粉和灵芝多糖组大鼠的空腹血糖值和糖化血清蛋白含量显著降低,胰

胰岛素敏感性有效提高,糖原合成明显增加,胰岛素抵抗显著改善,肝功能测定和 HE 染色观察发现菊粉和灵芝多糖还可有效缓解 2 型糖尿病大鼠的肝脏损伤。且与单一菊粉组相比,复配组对 2 型糖尿病大鼠的血糖改善效果更加显著。由此可知,菊粉复配灵芝多糖对 2 型糖尿病大鼠有明显的降血糖作用,该作用机制可能与改善机体胰岛素抵抗、修复肝脏损伤和促进糖原合成有关。

参考文献

- [1] Himsworth H P. Diabetes Mellitus: Its differentiation into insulin-sensitive and insulin-insensitive types[J]. International Journal of Epidemiology, 2013, 42(6): 1594-1598.
- [2] Jaacks L M, Siegel K R, Gujral U P, et al. Type 2 diabetes: A 21st century epidemic[J]. Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism, 2016, 30: 331.
- [3] Yiping Z, Wen X, Xiaoqiang H, et al. Fucoxanthin ameliorates hyperglycemia, hyperlipidemia and insulin resistance in diabetic mice partially through IRS-1/PI3K/Akt and AMPK pathways[J]. Journal of Functional Foods, 2018, 48: 515-524.
- [4] Lo H Y, Ho T Y, Li C C, et al. A novel insulin receptor-binding protein from *Momordica charantia*, enhances glucose uptake and glucose clearance *in vitro* and *in vivo* through triggering insulin receptor signaling pathway[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(36): 8952-8961.
- [5] Gandhi G R, Stalin A, Balakrishna K, et al. Insulin sensitization via partial agonism of PPAR γ and glucose uptake through translocation and activation of GLUT4 in PI3K/p-Akt signaling pathway by embelin in type 2 diabetic rats[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects, 2013, 1830(1): 38-46.
- [6] Cree-Green M, Triolo T M, Nadeau K J. Etiology of insulin resistance in youth with type 2 diabetes[J]. Current Diabetes Reports, 2013, 13(1): 81-88.
- [7] Yanbo F, Zhiwei H, Wei W, et al. Tangganjian decoction ameliorates type 2 diabetes mellitus and nonalcoholic fatty liver disease in rats by activating the IRS/PI3K/AKT signaling pathway[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2018, 106(6): 733-737.
- [8] Ashoush S, El-Said M, Fathi H, et al. Identification of metformin poor responders, requiring supplemental insulin, during randomization of metformin versus insulin for the control of gestational diabetes mellitus[J]. Journal of Obstetrics and Gynaecology Research, 2016, 42(6): 640-647.
- [9] Gao S, Guo Q, Qin C, et al. Sea buckthorn fruit oil extract alleviates insulin resistance through the pi3k/akt signaling pathway in type 2 diabetes mellitus cells and rats[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65(7): 1328-1336.
- [10] Farhangi M A, Javid A Z, Dehghan P. The effect of enriched chicory inulin on liver enzymes, calcium homeostasis and hematological parameters in patients with type 2 diabetes mellitus: A randomized placebo-controlled trial[J]. Prim Care Diabetes, 2016, 10(4): 265-271.
- [11] Aravind N, Sissons M J, Fellows C M, et al. Effect of inulin soluble dietary fibre addition on technological, sensory, and structural properties of durum wheat spaghetti[J]. Food Chemistry, 2012, 132(2): 993-1002.
- [12] Gargari B, Dehghan P, Aliasgharzadeh A, et al. Effects of high performance inulin supplementation on glycemic control and antioxidant status in women with type 2 diabetes[J]. Diabetes and Metabolism Journal, 2013, 37(2): 140-148.
- [13] Teslovich T M, Musunuru K, Smith A V, et al. Biological, clinical and population relevance of 95 loci for blood lipids[J]. Nature, 2010, 466(7307): 707-713.
- [14] Guerreiro I, Oliva-Teles A, Enes P. Improved glucose and lipid metabolism in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed short-chain fructooligosaccharides and xylooligosaccharides[J]. Aquaculture, 2015, 441: 57-63.
- [15] Aliasgharzadeh A, Khalili M, Mirtaheri E, et al. A combination of prebiotic inulin and oligofructose improve some of cardiovascular disease risk factors in women with type 2 diabetes: A randomized controlled clinical trial[J]. Advanced Pharmaceutical Bulletin, 2015, 5(4): 507.
- [16] 乔进, 徐济良, 陈惠, 等. 灵芝多糖联合二甲双胍对糖尿病大鼠血管内皮功能的影响[J]. 中国新药与临床杂志, 2013, 32(9): 44-48.
- [17] Zhu K, Nie S, Li C, et al. A newly identified polysaccharide from *Ganoderma atrum* attenuates hyperglycemia and hyperlipidemia[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 57: 142-150.
- [18] Xiao C, Wu Q, Zhang J. Antidiabetic activity of *Ganoderma lucidum* polysaccharides F31 down-regulated hepatic glucose regulatory enzymes in diabetic mice[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2017, 196(1): 47-57.
- [19] Xiao C, Wu Q, Cai W, et al. Hypoglycemic effects of *Ganoderma lucidum* polysaccharides in type 2 diabetic mice[J]. Archives of Pharmacal Research, 2012, 35(10): 1793-1801.
- [20] Zheng J, Yang B, Yu Y, et al. *Ganoderma lucidum* polysaccharides exert anti-hyperglycemic effect on streptozotocin-induced diabetic rats through affecting beta-cells[J]. Comb Chem High Throughput Screen, 2012, 542-550.
- [21] Ning C, Wang X, Gao S, et al. Chicory inulin ameliorates type 2 diabetes mellitus and suppresses JNK and MAPK pathways *in vivo* and *in vitro*[J]. Molecular Nutrition and Food Research, 2017, 61(8): 1-30.
- [22] Zhu K, Nie S, Li C, et al. A newly identified polysaccharide from *Ganoderma atrum* attenuates hyperglycemia and hyperlipidemia[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 57: 142-150.
- [23] Mokashi P, Bhatt L K, Khanna A, et al. Swertisin rich fraction from *Enicostema littorale* ameliorates hyperglycemia and hyperlipidemia in high-fat fed diet and low dose streptozotacin induced type 2 diabetes mellitus in rats[J]. Biomedicine and Pharmacother, 2017, 96: 1427-1437.
- [24] Chandrasekaran S, Ramajayam N, Pachaiappan P. Ameliorating effect of berbamine on hepatic key enzymes of carbohydrate metabolism in high-fat diet and streptozotacin induced type 2 diabetic rats[J]. Biomedicine and Pharmacother, 2018, 103: 539-545.

著下降($P < 0.01$), HDL-c 显著上升($P < 0.05$); 粪便中胆酸含量极显著上升($P < 0.01$); 肝脏组织结构有所和主动脉粥样硬化症状有所改善; 在基因相对表达量中 CYP7A1 显著上升($P < 0.05$), LXR α 、PPAR α 及 FXR 极显著上升($P < 0.01$), LIMA1、NPC1L1 显著下降($P < 0.05$), HMG-CoA-R、SREBP2 极显著下降($P < 0.01$)。其中综合来看添加量为山楂 2%, 甾醇酯 0.3%, 功能红曲 0.3% 效果最佳, 即可以通过 3 种天然物质的复配可以从调节体内胆固醇合成胆酸进而排出体外、减少胆固醇的吸收、减少胆固醇的自身合成的 3 个途径更好地预防因长期高脂饮食导致的高脂血症。

本实验为山楂复配甾醇酯及功能红曲的降血脂效果提供了基本理论依据, 但仅局限于生理和基因表达的层面, 未来还可通过蛋白质组学等进行更深层次的研究, 为山楂复配甾醇酯及功能红曲在食品工业中的开发提供进一步的理论支撑。

参考文献

- [1] 韦云路, 刘义, 王瑶, 等. 3 株益生菌体外降胆固醇能力及体内降血脂效果评价[J]. 食品科学, 2017, 38(23): 129-134.
- [2] 王玲, 吴军林, 吴清平, 等. 山楂降血脂作用和机理研究进展[J]. 食品科学, 2015, 36(15): 245-248.
- [3] Zesheng Zhang, Walter K K Ho Yu Huang, Zhenyu Chen. Hypocholesterolemic activity of hawthorn fruit is mediated by regulation of cholesterol-7 α -hydroxylase and acyl CoA: Cholesterol acyltransferase [J]. Food Research International, 2002, 35: 885-891.
- [4] Zhang Y, Breevoort S R, Angdisen J, et al. Liver LXR α expression is crucial for whole body cholesterol homeostasis and reverse cholesterol transport in mice [J]. Journal of Clinical Investigation, 2012, 122(5): 1688-1699.
- [5] Kalaany N Y, Mangelsdorf D J. LXRs and FXR: The yin and yang of cholesterol and fat metabolism [J]. Annual Review of Physiology, 2006, 68(68): 159-191.
- [6] Katsiki N, Mikhailidis D P, Mantzoros C S. Non-alcoholic fatty liver disease and dyslipidemia: An update [J]. Metabolism, 2016, 65: 1109-1123.

(上接第 315 页)

- [25] 刘舟, 李月碧, 张卫华, 等. 黄连温胆汤对 2 型糖尿病大鼠肝损伤的保护作用[J]. 现代中西医结合杂志, 2016, 25(2): 15-17, 47.
- [26] Gao Y F, Zhang M N, Wang T X, et al. Hypoglycemic effect of D-chiro-inositol in type 2 diabetes mellitus rats through the PI3K/Akt signaling pathway [J]. Molecular and Cellular Endocrinology, 2016, 5(13): 1-13.
- [27] Xiao C, Wu Q, Zhang J, et al. Antidiabetic activity of *Ganoderma lucidum* polysaccharides F31 down-regulated hepatic glucose regulatory enzymes in diabetic mice [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2017, 196: 47-57.
- [28] Shen K P, Lin H L, Yen H W, et al. Eugenosedin - A improves glucose metabolism and inhibits MAPKs expression in streptozotocin/nicotinamide-induced diabetic rats [J]. The

[7] Stroses E S, Thompson P D, Corsini A, et al. Statin-associated muscle symptoms: Impact on statin therapy European Atherosclerosis Society Consensus Panel Statement on Assessment, Aetiology and Management [J/OL]. Eur Heart J, 2015, 36: 1012.

[8] 马祖兵, 孙强, 李小芳, 等. 红曲降脂成分他汀类药物检测方法的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(23): 228-234.

[9] Wei-Hsuan Hsua, Ting-Hung Chena, Bao-Hong Leea, et al. Monascin and ankaflavin act as natural AMPK activators with PPAR α agonist activity to down-regulate nonethanolic steatohepatitis in high-fat diet-fed C57BL/6 mice [J]. Food and Chemical Toxicology, 2014, 64: 94-103.

[10] Newman C B, Palmer G, Silbershatz H, et al. Safety of atorvastatin derived from analysis of 44 completed trials in 9416 patients [J]. The American journal of cardiology, 2008, 92: 670-672.

[11] 邓建伟, 郭栋, 周宏灏. 他汀类降血脂药物的药代动力学研究进展[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2007, 12(8): 850-860.

[12] 龚海荣, 李向平, 梁思宇. 贝特类调脂药物研究进展[J]. 中南药学, 2011, 9(7): 539-542.

[13] 关静, 霍艳艳, 董春娇. 烟酸类药物的研究进展[J]. 沈阳医学院学报, 2011, 13(2): 110-112.

[14] Roteta L A, Sheng Q, Guo Y, et al. Bile acid resins correct HDL-microRNA intercellular communication associated with type 2 diabetes [J]. Diabetes, 2015, 64: A320-A320.

[15] Carlson L A. Nicotinic acid: The broad spectrum lipid drug. A 50th anniversary review [J]. Journal of Internal Medicine, 2005, 258: 94-114.

[16] 郑凯, 李海. 降脂药物的合理应用与药物性肝损伤[J]. 实用肝脏病杂志, 2017, 20(2): 139-141.

[17] Bing-Ying H O, Pan T M. The Monascus metabolite monacolin k reduces tumor progression and metastasis of lewis lung carcinoma cells [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2009, 57(18): 8258-8265.

[18] Dong B, Singh A B, Fung C, et al. CETP inhibitors downregulate hepatic LDL receptor and PCSK9 expression *in vitro* and *in vivo* through a SREBP2 dependent mechanism [J]. Atherosclerosis, 2014, 235(2): 449-462.

Kaohsiung Journal of Medical Sciences, 2018, 34: 166-171.

[29] Jiang S, Ren D, Li J, et al. Effects of compound K on hyperglycemia and insulin resistance in rats with type 2 diabetes mellitus [J]. Fitoterapia, 2014, 95: 58-64.

[30] 张泽生, 高云峰, 张梦娜, 等. D-松醇复配 Mn^{2+} 对糖尿病 ICR 小鼠降血糖作用的研究 [J]. 中国食品添加剂, 2015(5): 55-60.

[31] Xie M, Hao H J, Cheng Y, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cells ameliorate hyperglycemia through regulating hepatic glucose metabolism in type 2 diabetic rats [J]. Biochemical & Biophysical Research Communications, 2016, 483(1): 435.

[32] 汪丽娜. 牛磺酸对 2 型糖尿病肝损伤的保护作用研究 [D]. 咸宁: 湖北科技学院, 2016.