

拐枣多糖对糖尿病小鼠血糖血脂的影响

叶文斌¹, 樊亮¹, 王昱¹, 赵庆芳², 郭守军³, 俞汉伯⁴

(1. 陇南师范高等专科学校农林技术学院, 甘肃成县 742500) (2. 西北师范大学生命科学学院, 甘肃兰州 730030)
(3. 韩山师范学院生物系, 广东潮州 521041) (4. 中国科学院寒区旱区工程研究所, 甘肃兰州 730000)

摘要: 研究拐枣多糖 (*Hovenia acerba* Lindl. polysaccharide, HAP) 对四氧嘧啶诱导糖尿病小鼠血糖和血脂的影响。以腹腔注射四氧嘧啶 (ALX) 建立小鼠糖尿病模型, 将建模成功的小鼠随机分为正常对照组、糖尿病模型组、HAP 高、中、低剂量处理组、二甲双胍处理组、格列苯脲处理组和肾上腺素处理组。连续灌胃给药 28 d, 研究 HAP 对糖尿病小鼠空腹血糖 (FBG)、糖化血红蛋白 (HbA1c)、总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、高密度脂蛋白 (HDL)、低密度脂蛋白 (LDL) 等指标的影响。结果显示, HAP 能明显降低正常小鼠血糖, 能显著 ($p < 0.01$) 降低肾上腺素引起的高血糖, 能够有效降低糖尿病小鼠的 FBG、HbA1c、TC、TG, 升高 HDL 含量。拐枣多糖能够显著降低糖尿病小鼠血糖、改善血脂代谢紊乱。

关键词: 拐枣; 多糖; 糖尿病小鼠; 降血糖; 降血脂

文章编号: 1673-9078(2016)1-6-12

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.1.002

Effects of Polysaccharides Extracted from *Hovenia acerba* Lindl. on Glycemia and Lipidemia in Diabetic Mice

YE Wen-bin¹, FAN Liang¹, WANG Yu¹, ZHAO Qing-fang², GUO Shou-jun³, YUN Han-bo⁴

(1. School of Agriculture and forestry technology, Longnan Teachers College, Chenxian 742500, China)

(2. College of life science, Northwest Normal University, Lanzhou 730030, China)

(3. Department of Biology, Hanshan Normal University, Chaozhou 521041, China) (4. Cold and Arid Regions Environmental and Engineering Research Institute, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China)

Abstract: The effects of *Hovenia acerba* Lindl. polysaccharides (HAPs) on blood glucose and blood lipids in alloxan (ALX)-induced diabetic mice were investigated in the present study. A mouse model of diabetes was established by intraperitoneal injection of ALX. The ALX-induced diabetic mice were randomly assigned to one of eight groups, including three HAP-treated groups (low-, medium-, and high-doses), a metformin-treated group, a glibenclamide-treated group, an epinephrine-treated group, an untreated diabetic model group, and a normal control group that was not treated with ALX. The HAPs were administered intragastrically for four weeks and the effects of HAPs on the levels of fasting blood glucose (FBG), glycated hemoglobin (HbA1c), total cholesterol (TC), triglycerides (TG), high-density lipoprotein (HDL), and low-density lipoprotein (LDL) were investigated. The HAPs significantly reduced blood glucose in normal rats, markedly mitigated adrenaline-induced hyperglycemia, and effectively reduced serum FBG, HbA1c, TC, and TG while increasing the concentration of HDL. These results suggest that HAPs can lower blood glucose and improve the metabolic disorders of blood lipids in ALX-induced diabetic mice.

Key words: *Hovenia acerba* Lindl.; polysaccharides; diabetic mice; hypoglycemic; hypolipidemic

糖尿病 (Diabetes mellitus, DM) 及其并发症已成为继心脑血管疾病、肿瘤之后严重危害人类健康的第三大常见病, 据世界卫生组织 (WHO) 报告, 全世界目前约有 1.5 亿 DM 患者, 预测 2025 年将上升到 3 亿^[1], 近年糖尿病以及多种并发症的发生率越来越高, 对糖尿病的研究也随着成为研究热点。糖尿病慢性并发症的发生和发展与整体血糖水平的升高有密切的关系^[2], 同时糖尿病长时间的高糖环境会引起糖脂代谢的紊乱引起脏器病变引起并发症^[3]。血液中糖化血红蛋白 (HbA1c) 与血糖浓度成正比, 所以检测血中 HbA1c 水平可以直观的反映出血糖水平, 更好地监测机体糖代谢的情况^[4]。国外有学者研究证实了 HbA1c 是诊断血糖水平的重要指标^[5], 而且 HbA1c 与空腹血糖 (FBG)、甘油三酯 (TG) 低密度脂蛋白 (LDL)

收稿日期: 2015-04-16
基金项目: 国家“863”计划项目 (2006EA780088); 甘肃省自然科学基金项目 (1107RJZK243); 冻土工程国家重点实验室自主基金项目 (SKLFSE-ZY-05); 陇南师范高等专科学校重点项目 (2014LSZK01001)

作者简介: 叶文斌 (1982-), 男, 讲师, 研究方向: 天然产物化学与功能食品

呈正相关。在控制血糖水平的同时,有效调节血脂代谢紊乱对治疗糖尿病及其并发症有重要意义。植物多糖在自然界中广泛存在,具有降血糖、提高免疫力、防止心肌缺血等复杂的生物活性与功能^[6-13],主要能促进胰岛素分泌,提高血浆胰岛素水平^[14],抑制糖异生途径和调控糖原的合成、分解及促进血糖利用^[15]。目前,市场上治疗糖尿病的药物主要是化学合成药,虽然短期疗效显著,但常伴有不同程度的副作用,如心血管疾病、过敏反应等^[2]。

拐枣(*Hovenia acerba Lindl.*) 俗称万寿果属鼠李科枳椇属落叶乔木,因其果梗肉质膨大扭曲,肉质肥厚形似鸡爪,味甘甜如枣,故名拐枣。营养丰富,清凉利尿,解酒醉不醒,可治风湿,有清热利尿、止渴降火和解毒之功效,果梗性甘平有健胃补血的作用,主治头风、润五脏、利大小便^[16],在甘肃省陇南市徽成盆地广为栽培,产量很高。拐枣多糖(*Hovenia acerba Lindl. Polysaccharides, HAP*)系其主要有效成分,可治腋下狐臭和痔疮^[17],同其它药用植物多糖一样复杂的生物活性与功能,而拐枣多糖在降血糖、血脂方面的研究较少。为此,本文采用 ALX 诱导建立糖尿病小鼠模型来研究拐枣多糖作用于化学性糖尿病小鼠模型,观察拐枣多糖对糖尿病小鼠的降血糖和降血脂作用效果,来开发无毒无副作用的降糖替代药物,对拐枣多糖综合开发提供实验技术,促进拐枣产业经济的发展具有重大意义。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 实验材料与动物

拐枣采自甘肃省陇南市成县支旗镇梁旗村;实验动物和饲料均购自兰州大学医学院实验动物中心饲料。

1.1.2 实验药品

四氧嘧啶, Sigma 公司;盐酸二甲双胍片,上海医药(集团)有限公司信谊制药总厂生产;格列苯脲片,上海信谊药厂有限公司生产;血糖试纸,爱奥乐医疗器械(深圳)有限公司;普鲁卡因肾上腺素注射液,远大医药(中国)有限公司生产。

1.1.3 主要仪器

RE52AA 旋转蒸发仪,上海亚荣生化仪器厂;HH-6 数显恒温水浴锅,上海千载科技有限公司;TGL-16G 高速台式离心机,上海安亭科学仪器厂;UV759 紫外-可见分光光度计,上海精密科学仪器有限公司;TDL-5000B 型低速冷冻大容量离心机,上海安亭科学

仪器厂;LGJ-18 型冷冻干燥机,北京四环科学仪器厂;全自动生化分析仪 AU5800,贝克曼库尔特有限公司;全自动血糖检测仪,爱奥乐医疗器械(深圳)有限公司;LC-6A 高压液相色谱仪(配有 RI-10A 示差折光检测器、7725i 手动进样器、CTO-10AS 柱温箱、CBM-20A 在线控制器和 LC-solution 分析软件),日本岛津公司;TSK-Gel SW3000 和 TSK-Gel SW4000 色谱柱,日本 Tosoh 公司等。

1.2 实验方法

1.2.1 拐枣多糖的提取

将拐枣在 50 °C 烘干后将其粉碎,用无水乙醇回流脱脂,50 °C 烘干,取 100 g 然后加入一定量的 1000 ml 蒸馏水,在 40 °C 温度下溶解 2 h 后,真空抽滤得上清液经过减压浓缩得浓缩液,与 Sevag 试剂(氯仿:正丁醇体积比 4:1)按体积比 5:1 混合,振荡,离心弃去变性蛋白,重复 4 次。合并水层,用 95% 的乙醇沉淀(体积比 3:1),5000 r/min 离心 10 min,沉淀物溶于 40 °C 热水中,搅拌状态下慢慢加入斐林试剂,析出铜络合物,静置 1 h,倾出上清液,用水洗涤 3 次,离心分离得络合物,向络合物中加 4 °C 蒸馏水,再滴加 0.5 mol/L HCl 使之全部溶解,用 95% 的乙醇沉淀(体积比 3:1),离心,所得絮状物分别用乙醇、丙酮、乙醚洗涤,冷冻干燥得洁白拐枣多糖粉末^[18]。

1.2.2 拐枣多糖对正常小鼠血糖水平的影响

取 KM 小鼠 50 只,随机分为 5 组。按 250 mg/kg bw 剂量每天灌胃一次二甲双胍为药物对照组;按照 100 mg/kg bw、200 mg/kg bw、400 mg/kg bw 标准每天灌胃一次拐枣多糖,建立拐枣多糖低、中、高剂量组。在实验期间,小鼠自由饮食和饮水,以喂食与格列本脲对照组相同体积的生理盐水为空白组,给药后 1 h 眼眶静脉丛采血,用血糖仪测定 FBG 和称量体重。

1.2.3 拐枣多糖对正常小鼠糖耐量的影响

取 KM 小鼠 60 只,随机分为 6 组,设二甲双胍对照组,拐枣多糖低、中、高剂量组,以喂食与格列本脲对照组相同体积的生理盐水为空白组,各组灌胃给药方法依照 1.2.2,每天按 10% 葡萄糖 20 mL/10 kg bw 灌胃一次为葡萄糖对照组,末次给药前禁食 12 h,给药后 30 min 眼眶采血测定 0 h、0.5 h、1 h、2 h 各组小鼠的 FBG。

1.2.4 拐枣多糖对肾上腺素引起高血糖小鼠血糖水平的影响

取 KM 小鼠 60 只,随机分成 6 组,分组及给药方法同 1.2.2,每天按 0.2 mg/kg bw 的标准腹腔注射一次肾上腺素,为肾上腺素为对照组。末次给药前禁食

12 h, 给药 30 min 后眼眶采血测定 FBG。

1.2.5 糖尿病小鼠模型建立

取 KM 小鼠适应性喂养 7 d, 在禁食不禁水 12 h, 称重后, 测量 FBG。随机取 10 只小鼠作为正常对照组, 将其余 60 只小鼠腹腔一次性注射 240 mg/kg bw 新鲜配制的 3% ALX 溶液, 72 h 后眼眶静脉丛采血, 用血糖仪测定 FBG, 将 $FBG \geq 11.0$ mmol/L 者视为造模成功。正常对照组每天灌胃一次与造模成功后的小鼠糖尿病模型组等体积的生理盐水; 按 250 mg/kg bw 剂量每天灌胃一次二甲双胍为药物对照组; 按照 100 mg/kg bw、200 mg/kg bw、400 mg/kg bw 标准每天灌胃一次拐枣多糖, 建立拐枣多糖低、中、高剂量组。在实验期间, 小鼠自由饮食和饮水, 连续观察 28 d, 每隔 7 d, 测定 FBG 和称量体重, 测定 FBG 前 12 h 禁食不禁水。

1.2.6 小鼠口服(灌胃)急性毒性预试验

选取 50 只 KM 小鼠, 随机分成 5 组, 一组小鼠为空白对照组。试验组小鼠进行灌服, 灌服剂量分别为 10000、20000、40000、60000 mg/kg bw, 给药后笼边观察。先观察 30 min, 在给药后的 4 h 再观察 1 次, 以后每天早晚各观察 1 次, 连续观察 7 d。观察的主要内容有被毛组织光滑度、眼角膜是否有血丝、红肿现象、小鼠活动是否有异常行为, 以及对小鼠进行剖检观察各组织器官的变化^[19]。

1.3 检测指标

按照 1.2.2 方法给药处理后, 各组小鼠禁食不禁水 12 h, 采用血糖仪和血糖试纸, 剪尾取血测各组小鼠 FBG; 测定 FBG 后, 迅速处死动物并解剖在静脉血管采血, 离心收集血清, 采用全自动生化分析仪测 TC、TG、HDL 和 LDL 水平, 取主动脉顶端 1 cm, 10% 甲醛溶液分别固定 24 h, 常规石蜡切片, 苏木精-伊红染色, 观察组织形态学改变。

1.4 统计分析

实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 数据分析采用 SPSS17.0 软件进行 t 检验统计处理, $p < 0.05$ 为差异显著, $p < 0.01$ 为差异极显著。

2 结果与分析

2.1 拐枣多糖对正常小鼠血糖水平的影响

格列本脲是降低血糖的特效药物之一, 由于其能刺激胰腺分泌胰岛素而降低血糖, 还通过增加门静脉

胰岛素水平或对肝脏直接作用, 抑制肝糖原分解和糖原异生作用, 也可增加胰外组织对胰岛素的敏感性和糖的利用, 而缓解人体高糖环境, 所以医疗使用范围较广。格列本脲灌胃小鼠后血糖降低明显, 而拐枣多糖低、中、高剂量组在灌胃处理小鼠后血糖均发生了降低, 结果见如表 1。连续灌胃 7 d 后三种剂量组与空白组比较降血糖作用不存在显著性的差异 ($p > 0.05$), 高剂量的多糖作用下血糖浓度为 5.09 mmol/L, 空白对照此时血糖为 5.19 mmol/L; 三种多糖剂量组与格列本脲组相比不及格列本脲对正常小鼠血糖的影响, 血糖浓度为 3.39 mmol/L。研究结果表明, 连续 7 d 灌胃给予多糖, 对正常小鼠的空腹血糖无显著影响, 可能无刺激正常胰岛素分泌的作用。

表 1 拐枣多糖对正常小鼠血糖水平的影响

Table 1 Effects of HAP on blood glucose in KM mice

组别	动物数 (n)	剂量 /(mg/kg bw)	血糖值 /(mmol/L)
空白组	10	-	5.19±0.17
格列本脲组	10	25	3.39±0.44**
低剂量组	10	100	5.17±0.48##
中剂量组	10	200	5.13±0.67##
高剂量组	10	400	5.09±0.87##

注: 与空白组比较, ** $p < 0.01$; 与格列本脲组比较, # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$ 。

2.2 拐枣多糖对正常小鼠葡萄糖耐量的影响

对各组小鼠灌胃给予葡萄糖后血糖开始升高, 葡萄糖组在 1 h 后达到最高峰, 拐枣多糖低、中剂量组对葡萄糖致高血糖有明显的抑制作用, 使血糖值高峰提前到 0.5 h, 血糖分别为 10.73 和 11.26 mmol/L, 而 1 h 后, 二甲双胍组的血糖为 5.79 mmol/L, 高剂量的多糖灌胃后小鼠血糖为 5.83 mmol/L, 两者在小鼠血糖降低作用上表现的非常显著 ($p < 0.01$), 这说明拐枣多糖对正常小鼠口服葡萄糖耐量有明显的改善作用, 但不及二甲双胍组, 结果见表 2。当正常小鼠灌胃一定量外源性葡萄糖时, 血糖迅速升高, 但预先给不同剂量多糖的小鼠可以显著抑制血糖升高, 增强对外源性葡萄糖的耐受量, 改善小鼠糖耐量有可能是通过降低机体吸收葡萄糖的速率或数量, 从而调节血糖, 这说明对于预防糖尿病和大血管病变具有重要意义。

2.3 拐枣多糖对肾上腺素引起高血糖小鼠血糖的影响

表 2 拐枣多糖对正常小鼠糖耐量的影响

Table 2 Effects of HAP on glucose tolerance in KM mice

组别	剂量 (mg/kg bw)	血糖值/(mmol/L)			
		0 h	0.5 h	1 h	2 h
空白组	-	5.13±0.22	5.29±2.19	5.77±0.99	5.94±0.95
葡萄糖组	200	5.45±1.86	13.34±1.62	13.93±2.39	11.33±1.95
二甲双胍组	25	5.14±1.75	5.55±1.91**	5.79±0.99**	5.20±1.96**
低剂量组	100	5.24±1.38	10.73±1.99**##	8.13±1.77**##	8.09±2.08**##
中剂量组	200	5.14±0.23	11.26±0.53**##	7.69±1.85**##	6.36±0.75**##
高剂量组	400	5.19±1.05	5.57±0.92**	5.83±0.41**	5.24±2.16**

注:与葡萄糖组比较, ** $p<0.01$; 与二甲双胍组比较, # $p<0.05$, ## $p<0.01$ 。

肾上腺素是肾上腺髓质分泌物,能使肝糖元分解,阻碍葡萄糖进入肌肉及脂肪组织细胞,促使血糖升高。由表 3 可知,拐枣多糖对肾上腺素引起的小鼠血糖升高具有明显的抑制作用,连续灌胃 7 d 后肾上腺素组小鼠血糖为 12.77 mmol/L,而拐枣多糖高剂量组治疗后血糖浓度为 8.25 mmol/L,这种抑制小鼠糖代谢的作用有可能是通过促进胰岛素的释放,提高胰岛素敏感性,从而增加外周组织对葡萄糖的利用和增加肝糖元合成,调节糖代谢和抑制糖异生过程来完成降低血糖的作用^[14-15]。二甲双胍口服治疗后血糖为 7.80 mmol/L,而拐枣多糖中、高剂量治疗小鼠血糖分别为 8.70 和 8.25 mmol/L,小鼠血糖水平与肾上腺素处理组血糖水平均存在极显著差异 ($p<0.01$),低剂量组与肾上腺素引起小鼠血糖均有显著差异 ($p<0.05$)。

表 3 拐枣多糖对肾上腺素致高血糖大鼠血糖水平的影响

Table 3 Effects of HAP on blood glucose in adrenaline-induced hyperglycemic mice

组别	动物数(n)	剂量/(mg/kg bw)	血糖值/(mmol/L)
空白组	10	-	5.24±0.24
肾上腺素组	10	0.2	12.77±1.48
二甲双胍组	10	25	7.80±0.93**
低剂量组	10	100	9.85±1.29**
中剂量组	10	200	8.70±2.10**
高剂量组	10	400	8.25±1.47**

注:与肾上腺素组比较, * $p<0.05$, ** $p<0.01$ 。

2.4 拐枣多糖对糖尿病小鼠血糖的影响

表 4 拐枣多糖对糖尿病大鼠空腹血糖的影响

Table 4 Effects of HAP on FBG in ALX-induced diabetic mice

组别	剂量 (mg/kg bw)	血糖值/(mmol/L)				
		0 d	7 d	14 d	21 d	28 d
空白组	-	5.23±0.20	5.29±0.72	5.82±0.31	6.12±0.37	6.40±0.13
ALX 模型组	-	18.33±1.46	19.05±1.58##	23.80±0.39##	25.48±0.95##	29.10±1.03##
二甲双胍组	250	18.59±0.29	22.41±0.61**##	21.69±0.21**##	17.17±0.66**##	16.47±2.16**##
低剂量组	100	18.83±0.81*##	25.74±1.19**##	28.04±0.87**##	27.00±0.58**##	25.39±1.48##
中剂量组	200	19.68±0.27**##	23.24±0.33*##	22.59±0.45*##	19.96±0.95*##	19.80±1.44*##
高剂量组	400	20.10±0.55**##	18.17±1.12**##	22.75±1.19**##	17.44±0.16**##	16.74±0.93**##

注:与模型组比较, * $p<0.05$; ** $p<0.01$; 与正常组比较, # $p<0.05$; ## $p<0.01$ 。

ALX 是一种常用的诱导小鼠产生 II 型糖尿病的物质,其致病原因在于它能破坏小鼠的胰岛 β 细胞导致氧化应激而升高血糖^[3],通过对小鼠进行腹腔注射 3% ALX,对小鼠胰岛 β 细胞进行特殊的破坏,从而减少胰岛素的来源使小鼠血糖升高,小鼠进食量、饮水量、尿量显著增加,体形明显消瘦,行动迟缓,且血糖 ≥ 11.0 mmol/L,说明 ALX 诱导糖尿病模型成功,对糖尿病小鼠血糖的结果见表 4。小鼠通过连续灌胃拐枣多糖治疗 28 d 后空腹血糖均明显升高,低剂量组

小鼠血糖为 25.39 mmol/L,空白对照组小鼠血糖为 6.40 mmol/L,两者之间存在极显著差异 ($p<0.01$),而 ALX 模型小鼠血糖为 29.10 mmol/L,与低剂量组之间相比无显著差异 ($p>0.05$),与中、高剂量组之间相比成显著差异 ($p<0.01$);灌胃给药二甲双胍 28 d 后小鼠的血糖为 16.47 mmol/L,拐枣多糖中剂量治疗小鼠的血糖值与模型组相比有显著性差异 ($p<0.05$),而高剂量组血糖为 16.74 mmol/L,与模型组比较血糖明显降低,有极显著性差异 ($p<0.01$)。以上结果表明,

拐枣多糖对糖尿病模型小鼠具有明显的降血糖作用,且高剂量组降血糖效果最好,与二甲双胍组无显著差异 ($p>0.05$)。Gong 等^[6]研究表明,马齿苋粗多糖可显著降低 DM 小鼠的空腹血糖浓度和提高血浆胰岛素水平; Li 等^[7]报道黄芪多糖可显著降低血糖水平,提高血浆胰岛素浓度,降低 β 细胞凋亡率,也可改善胰岛素与靶细胞特异性结合,增强对胰岛素敏感性,有效保护和修复胰岛细胞,还可通过调节糖代谢酶活性来降低血糖水平^[4]。

2.5 拐枣多糖对糖尿病小鼠糖化血红蛋白的影响

糖化血红蛋白是人体血液中 HbA1c 与葡萄糖通过非酶促的缓慢结合所形成的一种血红蛋白组分,与血糖浓度成正比,所以检测血中 HbA1c 水平可以直观的反映出血糖水平,能更好地反映机体糖代谢的情况。小鼠口服拐枣多糖后结果见表 5。在 0 d 时小鼠血糖高、中剂量组与模型组和对照组相比均成极显著差异 ($p<0.01$),低剂量组与模型组和对照组相比均成极显著差异 ($p<0.05$); 小鼠口服高、中剂量拐枣多糖 7 d 后血液中 HbA1c 含量显著下降到 10.95% 和 11.47%,与模型组的 12.51% 比较具有显著性差异 ($p<0.05$),低剂量组小鼠的 HbA1c 含量与模型组比较无显著性差异 ($p>0.05$),而口服二甲双胍的小鼠 HbA1c 含量明显降低到 10.24%,其高剂量效果与二甲双胍组无显著差

异 ($p>0.05$)。这说明拐枣多糖能刺激 ALX 致糖尿病小鼠的胰岛细胞的再生并释放胰岛素,使胰岛素分泌增多,降低糖尿病小鼠 HbA1c 水平^[1],有效调节和改善糖代谢水平,也可能调节糖代谢酶的活性,降低小鼠血清葡萄糖水平,降低肝磷酸化酶和葡萄糖-6-磷酸脂酶的活性,显著提高血清丙酮水平及肝糖原含量,增加葡萄糖的利用^[3],所以通过用拐枣多糖来降低 HbA1c 水平,能有效降低心血管病发病率^[4],对控制和防治糖尿病具有重要意义。

表 5 拐枣多糖对糖尿病小鼠糖化血红蛋白含量的影响

Table 5 Effects of HAP on HbA1c level in ALX-induced diabetic mice

组别	动物数 (n)	剂量 / (mg/kg bw)	HbA1c / %
空白组	10	-	5.34±0.44
模型组	10	-	12.51±0.32 ^{##}
二甲双胍组	10	25	10.24±0.19 ^{###}
低剂量组	10	100	12.00±0.76 ^{##}
中剂量组	10	200	11.47±0.88 ^{##}
高剂量组	10	400	10.95±0.97 ^{###}

注:与模型组比较,* $p<0.01$; ** $p<0.05$;与正常组比较,^{##} $p<0.01$ 。

2.6 拐枣多糖对糖尿病模型小鼠血脂代谢与动脉的影响

表 6 拐枣多糖对糖尿病小鼠血脂代谢的影响

Table 6 Effects of HAP on serum lipids in ALX-induced diabetic mice

组别	剂量 / (mg/kg bw)	TC / (mmol/L)	TG / (mmol/L)	HDL / (mmol/L)	LDL / (mmol/L)
空白组	-	1.20±0.12	0.66±0.19	0.44±0.06	0.50±0.10
模型组	-	1.60±0.21 ^{##}	1.20±0.84 ^{##}	0.63±0.11 ^{##}	0.35±0.02 ^{##}
二甲双胍组	25	1.38±0.20 [*]	1.07±0.29 [*]	0.49±0.23 [*]	0.39±0.09 [*]
低剂量组	100	1.48±0.12	1.02±0.19	0.52±0.16	0.48±0.16
中剂量组	200	1.30±0.31 ^{**}	0.92±0.27 ^{**}	0.48±0.05 [*]	0.32±0.12
高剂量组	400	1.32±0.13 ^{**}	0.80±0.12 ^{**}	0.40±0.17 ^{**}	0.46±0.15 ^{**}

注:与模型组比较,* $p<0.05$; ** $p<0.01$;与正常组比较,^{##} $p<0.05$ 。

糖尿病小鼠在拐枣多糖高、中、低剂量的干预下,血脂代谢发生了变化,变化结果见表 6。正常组小鼠 TC、TG 和 HDL 分别为 1.20、0.66 和 0.44 mmol/L,糖尿病模型小鼠在连续灌胃多糖治疗 7 d 后 TC、TG 和 HDL 分别为 1.60、1.20 和 0.63 mmol/L,均显著升高 ($p<0.05$),而 HDL 由 0.50 mmol/L 显著降低到 0.35 mmol/L ($p<0.05$)。模型组与二甲双胍组比较,TC、TG 和 HDL 均有明显升高 ($p<0.05$),分别为 1.38、

1.07 和 0.49 mmol/L。给药四周后,高剂量组与糖尿病模型组比较小鼠的 TC、TG 和 HDL,分别为 1.32、0.80 和 0.40 mmol/L 两者有极显著性差异 ($p<0.01$),其对糖尿病模型小鼠血脂的调节作用与二甲双胍组相当,两组的 TC、TG 及 HDL 含量均无显著性差异 ($p>0.05$);高剂量多糖口服治疗后各小鼠 LDL 逐渐恢复到 0.46 mmol/L,与正常和模型组比较均具有显著性差异 ($p<0.05$)。对各组小鼠主动脉病理变化进行解

剖学观察见图 1，正常组主动脉内膜光滑、有光泽，染色均匀，内膜下细胞排列整齐，中层平滑肌和弹力层完整。ALX 诱导糖尿病模型组小鼠主动脉内膜可见大量的内皮细胞增生、脂质沉积，中膜平滑肌细胞增生、排列紊乱，有些部位钙化明显。二甲双胍组和拐枣多糖高剂量组相比模型组内膜较完整平坦，内皮黏附及浸润于内膜的单核细胞明显少于模型组，内膜增厚明显轻于模型组，说明拐枣多糖可以调节降低糖尿病小鼠血脂，对糖尿病小鼠的血管并发症有一定的改善作用。

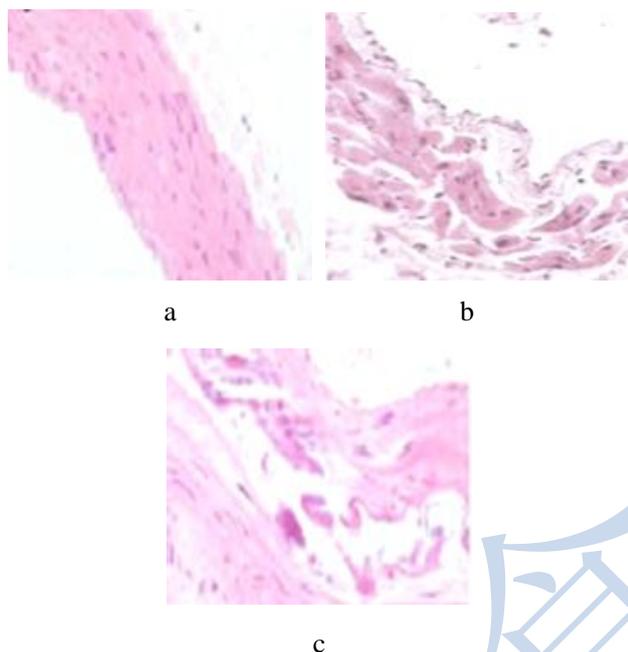


图 1 拐枣多糖对糖尿病小鼠主动脉的影响

Fig.1 Effects of HAP on aorta in ALX-induced diabetic mice

注：a.正常组，b.模型组，c.拐枣多糖高剂量组。

2.7 拐枣多糖对糖尿病模型小鼠体重的影响

在ALX诱导糖尿病模型组小鼠成功后3~4 d 内出现饮水、进食及尿量明显增加，体质量略有下降，活动减少等表现，灌胃拐枣多糖后糖尿病小鼠体重变化结果见图2。正常组小鼠随时推移体重由19.02 g 逐渐增加到25.40 g，而造模成功后的各组小鼠体形则明显消瘦，体重逐渐减少到16.05 g，与模型组相比，在给药第28 d后，拐枣多糖治疗组小鼠体重逐渐恢复增加，高剂量多糖治疗后小鼠体重由18.30 g增加到18.40 g，小鼠活动与精神状况逐渐好转，多糖高剂量与二甲双胍之间的治疗效果相似。这可能是ALX诱导后糖尿病小鼠受到胰岛素缺乏的原因，小鼠不能充分利用葡萄糖产生的能量，破坏了糖代谢的正常过程，而不能提供生理需要的能量，引起致脂肪和蛋白质分解加速，消耗过量，体重逐渐下降。而通过拐枣多糖的治疗，

小鼠体重逐渐恢复。

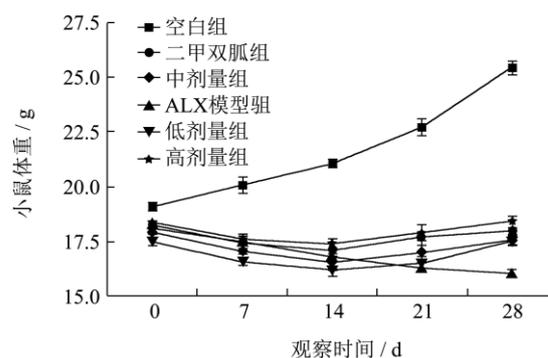


图 2 拐枣多糖对糖尿病小鼠体重的影响

Fig.2 Effect of HAP on body weight in ALX-induced diabetic mice

2.8 拐枣多糖对小鼠急性毒理试验

小鼠口服（灌胃）急性毒性预试验中，一次性灌服拐枣多糖剂量分别为 10000、20000、40000、60000 mg/kg bw，给药后笼边观察 7 d，小鼠给药后各组外观毛色光亮，无兴奋、不安、窜动、跳跃、竖毛、流泪、流涎、凸眼、扭体反应现象，给药后摄食、进水、大小便等均无明显异常。观察期间未出现死亡和异常反应，小鼠活动自如，LD₅₀ 未能测出。并对小鼠进行颈椎脱臼处死进行心、肝、肺、脾、肾、子宫、睾丸、卵巢、肠等重要脏器病理检查，均未出现出血、充血、水肿、渗出、溃疡、穿孔、胸腔、腹腔、心包膜无积液等明显病理变化。根据毒理学评价标准，LD₅₀ > 10000 mg/kg bw（灌胃）属于无毒物质^[15]，本研究中一次性灌服拐枣多糖最大剂量为 60000 mg/kg bw，远远大于毒理学评价标准，结果说明拐枣多糖对小鼠安全无毒。

3 结论

本文研究拐枣多糖对四氧嘧啶诱导糖尿病小鼠血糖和血脂的影响。以腹腔注射ALX建立小鼠糖尿病模型，连续灌胃给药28 d，研究HAP对糖尿病小鼠空腹血糖(FBG)、糖化血红蛋白(HbA1c)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白(HDL)、低密度脂蛋白(LDL)等指标的影响。研究表明，糖尿病模型组小鼠体重减少，而饮食量、饮水量及排尿量增加，符合糖尿病“三多一少”的症状，且胰岛细胞破坏明显，导致糖尿病模型组小鼠的FBG明显高于正常对照组；经过28 d的灌胃治疗，拐枣多糖治疗组不同程度降低了小鼠的FBG，高剂量治疗组的降糖效果显著；拐枣多糖处理降低了小鼠HbA1c含量，并作用效果与二甲双胍组接近；与正常组相比，糖尿病模型组小鼠 TC

和TG浓度显著升高, HDL的含量有所下降, 与糖尿病模型组相比, 拐枣多糖各剂量组均能使糖尿病小鼠血清中G、TC含量降低, 同时提高HDL含量, 说明能够改善糖尿病小鼠血脂代谢紊乱的情况; 拐枣多糖高剂量治疗后主动脉内膜相比模型组较完整平坦, 内皮黏附及浸润于内膜的单核细胞明显较少, 内膜增厚明显轻于模型组, 说明拐枣多糖可以调节降低糖尿病小鼠血脂, 对糖尿病小鼠的血管并发症有一定的改善作用, 对治疗高脂血症、预防动脉粥样硬化、冠心病等方面是具有广阔的开发前景的, 有望成为一种新型调节血脂的保健食品。本研究中一次性灌服拐枣多糖最大剂量为 60000 mg/kg bw, 远远大于毒理学评价标准, 说明拐枣多糖对小鼠安全无毒。正常组小鼠体重随时推移增加迅速, 与正常组相比较, 造模成功后的各组小鼠体形则明显消瘦, 体重逐渐变轻。表明拐枣多糖具有很好的促进糖尿病小鼠体重恢复的作用。虽然拐枣多糖的降血糖作用不如口服降血糖药二甲双胍那么强, 但其作用比较温和, 不会出现二甲双胍那样强烈的低血糖反应也是其突出的优点, 用来开发无毒无副作用的降糖替代药物具有重要意义。

参考文献

- [1] 苏现义.植物多糖降血糖作用研究进展[J].食品与药品, 2014,16(4):7-8
SU Xian-yi. Progress in hypoglycemic effects of plant polysaccharides [J]. Food and Drug, 2014, 16(4): 7-8
- [2] 王丽华,张坚,杨永利,等.长角豆胶对小鼠糖代谢的影响[J].营养学报,2009,31(1):89-91
WANG Li-hua, ZHANG Jian, YANG Yong-li, et al. Effect of locust bean gum on glycometabolism in mice [J]. Acta Nutrimenta Sinica, 2009, 31(1): 89-91
- [3] 涂白青,翁宇静,童智,等.糖尿病小鼠血糖波动模型的建立及其对脏器损伤的研究[J].复旦大学学报(自然科学版),2008,47(5):647-651
TU Bai-qing, WEN Yu-jing, TONG Zhi, et al. Establishment of blood glucose fluctuation model on diabetes mice and its damage to viscera [J]. Journal of Fudan University (Natural Science), 2008, 47(5): 647-651
- [4] 刘欣,李昂,符瑶,等. II型糖尿病患者体内 3-硝基酪氨酸、糖化血红蛋白等生化指标的测定及临床意义[J].北华大学学报(自然科学版),2012,13(3):305-308
LIU Xin, Li Ang, FU Yao, et al. Detection of 3 nitrotyrosine, glycosylated hemoglobin and other biochemical indicators in serum of patients with type ii diabetes and its clinical significance [J]. Journal of Beihua University (Natural Science), 2012, 13(3): 305-308
- [5] Khan H A, Sobki S H, Khan S A. Association between glycaemic control and serum lipids profile in type 2 diabetic patients:HbA1c predicts dyslipidaemia [J]. Clin. Exp. Med., 2007, 7(1): 24-29.
- [6] GONG Fa-yong, Feng Lin-li, Zhang Li-li, et al. Hypoglycemic effects of crude polysaccharide from Purslane [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2009, 10(3): 880-888
- [7] LI Ru-Jiang, QIU Shu-dong, CHEN Hong-xia, et al. The immunotherapeutic effects of astragalus polysaccharide in type 2 diabetic mice [J]. Biol. Pharm. Bull, 2007, 30(3): 470-476
- [8] LIU Min, WU Ke, MAO Xiao-qin, et al. Astragalus polysaccharide improve insulin sensitivity in KKAY mice, regulation of PKB/GLUT4 signaling in skeletal muscle [J]. J. Ethnopharmacol., 2010, 127(1): 32-37
- [9] WANG Jun-long, ZHANG Ji, ZHAO Bao-tang, et al. Structural features and hypoglycaemic effects of Cynomorium songaricum polysaccharides on STZ induced rats [J]. Food Chem., 2010,120 (2): 443-451
- [10] HU Fang-di, LI Xiao-dong, ZHAO Liang-gong, et al. Antidiabetic properties of purified polysaccharide from Hedysarum polybotrys [J]. Can. J. Physiol. Pharmacol., 2010, 88(1): 64-72
- [11] SUN Gui-lan, LIN Xiao, SHEN Lan, et al. Mono-PEGylated radix ophiopogonis polysaccharide for the treatment of myocardial ischemia [J]. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2013, 49 (4): 629-636
- [12] XU Jie, WANG Yuan, XU De-Sheng, et al. Hypoglycemic effects of MDG-1, a polysaccharide derived from ophiopogon japonicas, in the ob/ob mouse model of type 2 diabetes mellitus [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2011, 49 (4): 657-662
- [13] Kim H M, Kang J S, Kim J Y, et al. Evaluation of antidiabetic activity of polysaccharide isolated from Phellinus linteus in nonobese diabetic mouse [J]. Int. Immunopharmacol., 2010, 10(1): 72-78
- [14] 刘娟,韩晓强,姜博.玉米须多糖治疗糖尿病作用机制的研究[J].中药新药与临床药理,2006,17(4):242-244
LIU Juan, HAN Xiao-qiang, JIANG Bo. Mechanism of polysaccharide from stigma maydis for diabetes mellitus [J]. Traditional Chinese Drug Research and Clinical Pharmacology, 2006, 17(4): 242-244
- [15] 何云,戚玉敏,刘景升,等.山药多糖对糖尿病大鼠胰岛素及

- 血小板的影响[J].河北北方学院学报(医学版), 2009, 26(1):29-31
- HE Yun, QI Yu-min, LIU Jing-sheng, et al. Effect of Chinese yam polysaccharides on insulin and blood platelet in diabetic rats [J]. Journal of Hebei North University(Medical Edition), 2009, 26 (1): 29-31
- [16] 李时珍.本草纲目(第2版)[M].北京:人民卫生出版社,1971
- LI Shi-zheng. Compendium of Materia Medica (the Second Edition) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1971
- [17] 朱炯波,赵虹桥,董爱文,等.拐枣中多糖的提取与含量测定[J].林产化工通讯,2005,39(1):27-30
- ZHU Jiong-bo, ZHAO Hong-qiao, DONG Ai-wen, et al. Isolation and assaying of polysaccharide in hovenia acerba lindl [J]. Journal of Chemical Industry of Forest Products, 2005, 39(1): 27-30
- [18] 金鑫,赖凤英.仙人掌多糖的提取、分离纯化及 GPC 法测定其分子量[J].现代食品科技,2006,22(2):138-140
- JIN Xin, LAI Feng-ying. Extraction, isolation and purification of polysaccharides in opuntia and determination of its molecular weight by gpc method [J]. Modern Food Science and Technology, 2006, 22(2): 138-140
- [19] 王静,蒋万,何生虎,等.自制中药复方片剂对小鼠的急性毒性试验[J].动物医学进展,2015,36(2):120-124
- WANG Jing, JIANG Wan, HE Sheng-hu, et al. The self-made traditional Chinese medicine compound tablet on the acute toxicity in mice [J]. Progress in Veterinary Medicine, 2015, 36(2): 120-124