

魔芋葡甘聚糖对小鼠肠道生理结构及蠕动功能的影响

黄夏伶, 张炜, 李玉桑

(中南民族大学药学院药理学研究室, 湖北武汉 430074)

摘要: 本文探究了魔芋中主要成分葡甘聚糖 (Konjac glucomannan, 简称 KGM) 对小鼠肠道的生理结构及蠕动功能的影响。模拟人肠道动力不足之症, 采用硫糖铝建模的青年小鼠 (4 周龄) 和老年小鼠 (60 周龄) 来探究不同剂量 (低剂量: 0.18 g/kg 及高剂量: 0.90 g/kg) 葡甘聚糖对不同年龄小鼠肠道运动功能的影响。在给药后观察首次排便时间、测量排便量、含水量及碳末推进率。结果表明, 与空白对照组相比, 高剂量葡甘聚糖作用于硫糖铝处理的模型小鼠均能使青、老年小鼠首次排便时间明显延长, 排便量下降的现象。H&E 染色结果表明高剂量葡甘聚糖处理后的老年小鼠中, 易见结肠炎性细胞聚集以及小肠完整结构破坏。因此, 使用剂量偏大可能为大多数肠道动力不足的老年人过量食用葡甘聚糖后排便困难的重要原因之一。

关键词: 魔芋; 葡甘聚糖; 肠道运动

文章篇号: 1673-9078(2018)04-1-5

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.04.001

Effects of Konjac Glucomannan on the Intestinal Physiological Structure and Peristaltic Function in Mice

HUANG Xia-ling, ZHANG Wei, LI Yu-sang

(Department of Pharmacology, School of Pharmaceutical Sciences, South-Central University for Nationalities, Wuhan 430074, China)

Abstract: Effects of Konjac glucomannan (KGM) on the intestinal physiological structure and peristaltic function in mice were investigated in this study. Modeling human intestinal motility disorders, using sucralfate-modeled young mice (4 weeks old) and old mice (60 weeks old) to explore different doses (low dose: 0.18 g/kg and high dose: 0.90 g/kg) of KGM on intestinal motility in mice with different ages. After the administration, the defecation time, stool weight, fecal water content, carbon propulsion rates were determined. The results showed that compared with the control group, the high dosage of KGM treatment on sucralfate-treated young and aged mice could significantly prolong the first defecation time and decrease the stool weight. The results of H&E staining showed that the structure integrity of intestinal tissues were destroyed and colonic inflammatory cell aggregation increased in the aged mice treated with high dose of KGM. high dose uptakes of KGM could result in insufficient intestinal motility and the difficulty of defecation in aged people.

Key words: Amorphophallus konjac; glucomannan; intestinal motility

便秘是粪便在肠腔内停滞过久, 水分被过多吸收, 而出现的排便次数减少、粪便干硬等排便困难症状。随着人口老龄化和生活方式的改变, 便秘患病率不断增加, 而长期便秘又易引起痔疮、肛门裂伤、脱肛, 严重便秘可引起虚脱、晕厥^[1], 严重妨碍工作与生活, 甚至极大地危害心理及身体健康。

魔芋是天南星科魔芋属多年生草本植物, 其块茎

收稿日期: 2017-12-14

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81573887)

作者简介: 黄夏伶 (1994-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 药物化学

通讯作者: 李玉桑 (1972-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 从事慢病形成的

病理学机制及民族药物干预

炙后能健胃、消饱胀, 有“去肠砂”之称。魔芋通常加工成精粉, 其主要成分是葡甘聚糖; 在成熟的新鲜魔芋中, 葡甘聚糖的含量约 6%~10%; 在魔芋粉中含量达 50%~80%左右^[2]。研究表明 KGM 除调节胃肠道运动外, 还具有抗衰老、减肥、降血脂、降血糖和抗肿瘤等多种功效。本文就 KGM 在调节胃肠道作用方面做探究。随着食物精化和人口老龄化, 便秘患者急剧增加, 预防便秘主要是饮食中增加膳食纤维的含量, 而 KGM 是优良的膳食纤维, 能促进胃肠蠕动, 葡甘聚糖分子中含有大量羟基、羰基等亲水性基团, 能吸附其自身重量的 80~120 倍的水份形成粘稠的溶液^[3], KGM 能增强肠道功能, 并能抑制小肠对水分的吸

收和使肠壁水分被吸收进肠道,软化大便而起到通便作用,可使结肠运输加速,从而改善便秘^[4]。

但随着魔芋葡甘聚糖的广泛食用,部分食用者(主要是老年人)反映便秘加重了。针对这一现象,本研究利用硫糖铝模拟肠道功能失调之症,并采用葡甘聚糖灌胃处理,观察小鼠的首次排便时间、单位时间内粪便量及含水量、小肠推进率等,揭示了葡甘聚糖可能加重老年小鼠肠道功能失调,并导致便秘的作用与规律^[5]。

1 材料与方法

1.1 受试样品

魔芋葡甘聚糖为白色粉末冲剂,由湖北一致魔芋生物科技有限公司生产;人体推荐用量为 42.9 mg/(kg·d)。

1.2 实验动物

雄性昆明(KM)小鼠 25 只,体重 18~20 g,4 周龄,SPF 级;雄性 KM 小鼠 25 只,体重 45~50 g,60 周龄,SPF 级,由湖北省实验动物中心提供,许可证号:SCXK(鄂)2015-0018。食物和饮水供应充足,温度保持范围在 20℃~25℃,湿度保持范围 60%~70%,光照/暗时间为 12/12 h 循环。

1.3 主要试剂与仪器

二甲苯,国药集团化学试剂有限公司;苏木精,南京建成科技公司;伊红,美国 AMRESCO 公司;TP1020 脱水机,德国 Leica;EG1150 石蜡包埋机(德国 Leica);RM2265 全自动轮转式切片机(德国 Leica);BTY 脱色摇床(上海博通)。

1.4 实验方法

青年小鼠组采用 25 只 4 周龄雄性 KM 青年小鼠;老年小鼠组采用 25 只 60 周龄雄性 KM 老年小鼠。均随机分成 5 组:空白对照组、硫糖铝组(硫糖铝 13.40 g/kg)、葡甘聚糖模型处理组(硫糖铝 13.40 g/kg+葡甘聚糖低剂量 0.18 g/kg 或高剂量 0.90 g/kg)、葡甘聚糖对照组(0.90 g/kg)。

1.5 检测指标

1.5.1 首次排便时间、粪便粒数和粪便重量的测定

给药前饥饿过夜,第 1 d 给药后记录首次排出粪便的时间。每日 1 次,连续 2 日给药,在第二次给药

结束后,饥饿过夜,自由饮水,收集 12 h 内排便量,称重。粪便以 75℃烘箱处理 4 h,以重量差计算含水量。

$$\text{粪便量含水量}(\%) = \frac{\text{粪便湿重} - \text{粪便干重}}{\text{粪便湿重}} \times 100$$

1.5.2 小肠墨汁推进率的测定

第三天以上述方法进行相应小鼠半量灌胃。给药 30 min 后,对各组小鼠进行墨汁混悬液灌胃。20 min 后脱颈椎处死小鼠,解剖分离肠系膜取出小肠,置于白底平板上,在无张力作用的情况下以胃幽门处为起点量取“小肠总长度”,测量幽门至墨汁推进前端为“墨汁推进长度”,计算墨汁推进率。

$$\text{墨汁推进率}(\%) = \frac{\text{墨汁推进长度}}{\text{小肠总长度}} \times 100$$

1.5.3 肠道病理学

取实验小鼠小肠、大肠肠段 H&E 染色观察病理学形态变化。

1.6 统计学处理

所有数据采用 GraphPad Prism 5.01 科学统计绘图软件进行分析,并以 mean±SEM 表示,组间和组内采用双向方差分析,最终以 $p < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 葡甘聚糖对青年小鼠肠道的作用

2.1.1 葡甘聚糖对小鼠首次排便时间的影响

如图 1a 所示,与空白组相比较,单独给予硫糖铝组小鼠的首次排便时间显著延长($p < 0.01$);相比硫糖铝组,低剂量葡甘聚糖显著缩短了小鼠粪便排出的时间($p < 0.05$);高剂量葡甘聚糖作用于后,粪便排出的时间虽无统计学差异,但有增加的趋势,且在高剂量灌胃后,出现了小鼠死亡(死亡率 2/5),解剖发现小鼠具有肠胀气的现象;单独给予高剂量葡甘聚糖后也出现了小鼠死亡(死亡率 1/5),其余小鼠的首次排便时间与空白组无差异。

2.1.2 葡甘聚糖对小鼠 12 h 内排便量、含水量的影响

如图 1b 所示,粪便统计结果表明与空白组相比,硫糖铝处理组排便量仅有少量的增加;与硫糖铝处理组相比,葡甘聚糖高剂量与硫糖铝共同作用后小鼠排便量剂量依赖性下降。如图 1c 所示,葡甘聚糖作用的各组小鼠粪便含水量均增加,葡甘聚糖低剂量显著性增加便秘小鼠的粪便含水量($p < 0.01$)。

2.1.3 葡甘聚糖对小鼠小肠推进率的影响

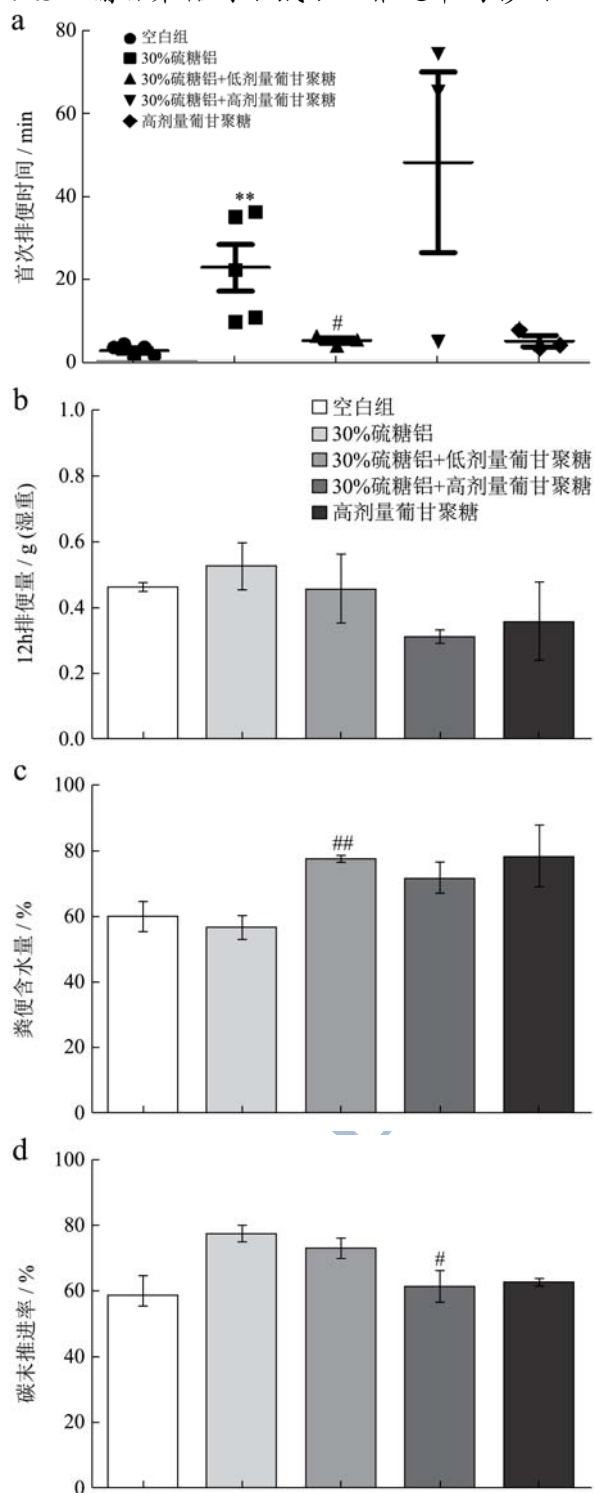


图1 青年小鼠实验结果

Fig.1 Experimental results of young mice

注: (a) 小鼠首次排便时间统计结果; (b) 小鼠给药后 12 h 内排便量; (c) 小鼠给药后所排粪便含水量; (d) 小鼠小肠碳末推进率; 与空白对照组小鼠相比, ** $p < 0.01$; 与硫糖铝处理组小鼠相比, # $p < 0.05$, ### $p < 0.01$ 。

如图 1d 所示, 碳末推荐率呈剂量依赖性下降, 高剂量葡甘聚糖组肠道推进率降低 ($p < 0.05$), 说明高剂

量葡甘聚糖降低便秘青年小鼠的小肠蠕动。

2.2 葡甘聚糖对老年小鼠 (60 周龄) 肠道作用

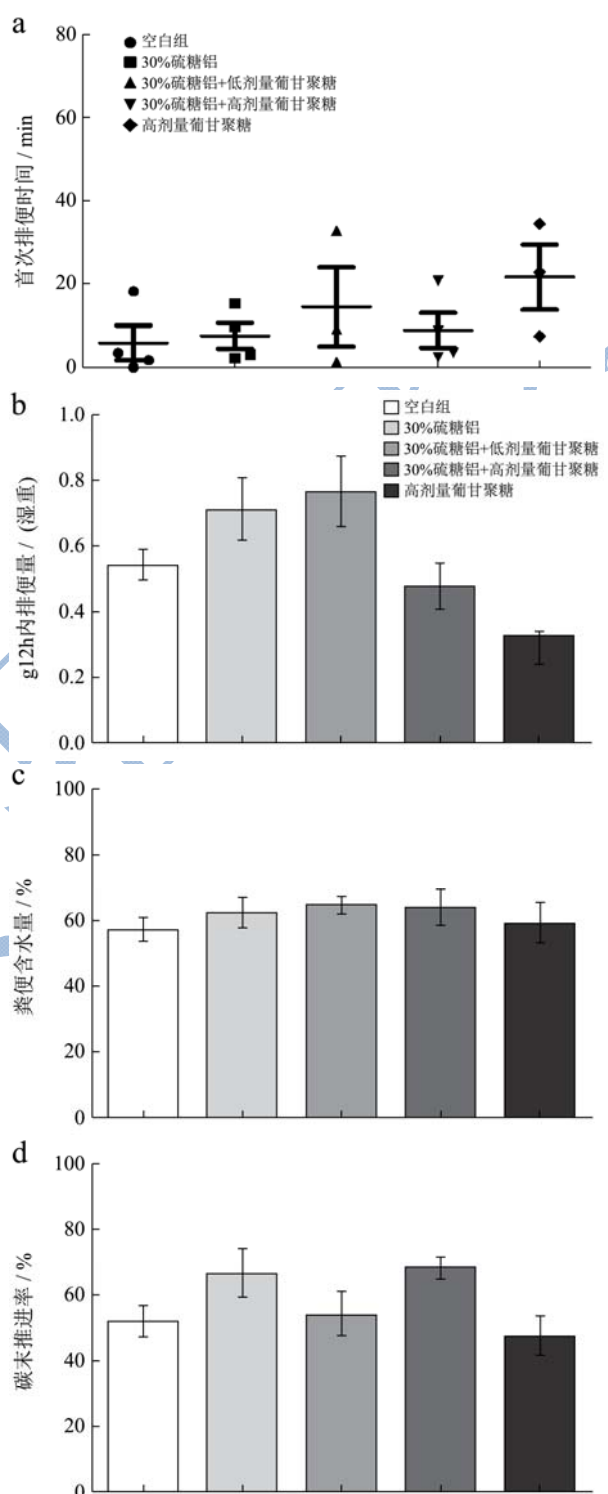


图2 老年小鼠实验结果

Fig.2 Experimental results of aged mice

注: (a) 小鼠首次排便时间统计结果; (b) 小鼠给药后 12 h 内排便量; (c) 小鼠给药后所排粪便含水量; (d) 小鼠小肠碳末推进率; 与空白组小鼠相比, * $p < 0.05$ 。

2.2.1 葡甘聚糖对小鼠首次排便时间的影响

如图 2a 所示, 相比空白对照组, 硫糖铝处理组的首次排便时间无差异, 给予葡甘聚糖后, 低剂量、高剂量均有死亡 (死亡率分别为 2/5、1/5), 解剖发现肠胀气现象, 其余小鼠的首次排便时间无差异。高剂量葡甘聚糖作用正常老年小鼠后死亡率为 2/5, 剩余小鼠的粪便排出时间延长。

2.2.2 葡甘聚糖对小鼠 12 h 内排便量、粪便含水量的影响

如图 2b 所示, 与空白对照组相比, 硫糖铝处理后粪便量增加。与硫糖铝处理组小鼠相比, 低剂量葡甘聚糖粪便量有增加的趋势, 但无统计学差异。高剂量葡甘聚糖无论是对于硫糖铝老年小鼠还是正常的老年小鼠来说, 都具有减少排便的作用; 且高剂量葡甘聚糖作用于正常小鼠后明显降低排便量 ($p < 0.05$)。老年小鼠各组的粪便量均高于青年小鼠。如图 2c 所示, 给药各组老年鼠的粪便含水量基本一致; 相比青年小鼠, 各剂量葡甘聚糖给予后粪便含水量均降低。

2.2.3 葡甘聚糖对小鼠小肠推进率的影响

如图 2d 所示, 相比空白对照组, 硫糖铝组小鼠碳末推进率增加, 相比硫糖铝组小鼠, 低剂量葡甘聚糖使小肠碳末推进率降低, 但无高剂量葡甘聚糖使小肠蠕动无异于硫糖铝处理组小鼠。高剂量葡甘聚糖对正常的老年鼠具有减慢小肠蠕动的的作用。老年小鼠的碳末推进率均低于青年组小鼠。

2.3 小鼠 H&E 染色结果

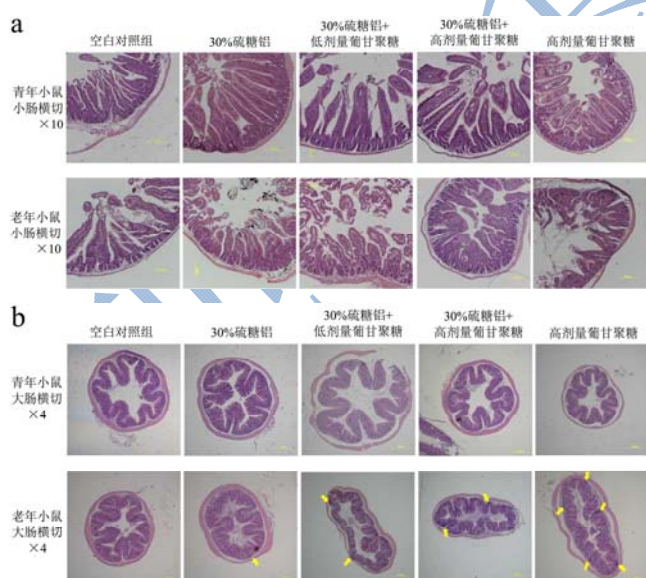


图 3 小鼠肠道 H&E 染色图

Fig.3 H&E staining of intestine in mice

注: (a) 青年、老年小鼠小肠染色结果图; (b) 青年、老年小鼠大肠染色结果图; 黄色箭头所指为炎性浸润巢。标尺: 100 μ m。

如图 3a 所示, 青年小鼠: 空白对照组小鼠小肠绒毛完整, 杯状细胞丰富。硫糖铝处理组小鼠的小肠绒毛完整, 杯状细胞数量与空白组相比无差异。低、高剂量葡甘聚糖作用硫糖铝小鼠后小肠绒毛排列稀疏, 但绒毛结构完整, 杯状细胞数量减少。高剂量葡甘聚糖作用于正常小鼠后小肠绒毛完整, 但杯状细胞数量较少; 老年小鼠: 空白对照组小鼠小肠绒毛完整, 杯状细胞丰富。硫糖铝处理组小鼠绒毛结构完整但杯状细胞数量减少。低、高剂量葡甘聚糖作用硫糖铝小鼠后小肠绒毛出现断裂现象, 结构遭到破坏, 杯状细胞数量明显降低。高剂量葡甘聚糖作用于正常小鼠后小肠绒毛出现断裂、脱落现象, 结构遭到严重破坏, 杯状细胞数量明显降低, 基本消失不见。

如图 3b 所示, 青年小鼠: 空白对照组、硫糖铝处理组小鼠大肠粘膜上皮完整无缺损, 炎性细胞少, 杯状细胞丰富。低、高剂量葡甘聚糖作用硫糖铝小鼠后大肠粘膜表层有缺损, 炎性细胞少, 杯状细胞较空白组明显减少。高剂量葡甘聚糖作用于正常小鼠后大肠粘膜表层缺损程度较严重, 杯状细胞较空白组明显减少, 并伴有炎性细胞浸润; 老年小鼠: 空白对照组、硫糖铝处理组小鼠大肠有少量炎性细胞浸润, 杯状细胞较丰富。低、高剂量葡甘聚糖作用硫糖铝小鼠后大肠粘膜表层有缺损, 炎性浸润巢明显增多, 杯状细胞较空白组明显减少。高剂量葡甘聚糖作用于正常小鼠后大肠粘膜表层严重缺损, 杯状细胞明显减少, 并伴大量炎性细胞浸润。

3 结论

3.1 便秘是全球范围内常见的消化肠道疾病之一^[6]。我国约有 50%~60% 人群有过便秘的烦恼, 其中老年人、孕妇、儿童和节食减肥者的发生率较高^[7]。有研究表明, 60 岁以上老年人中, 就有 22% 患有便秘^[8]。食用葡甘聚糖想要改善便秘, 但适得其反的出现了便秘加重的情况。

3.2 我们所做的动物研究表明, 青年小鼠在致便秘药硫糖铝作用后, 低剂量葡甘聚糖较高剂量葡甘聚糖对首次排便时间、12 h 内排便量有明显的改善作用, 提示低剂量葡甘聚糖能够促进小鼠的肠道运动功能。而在老年小鼠实验中, 发现高剂量葡甘聚糖对正常及肠道运动能力异常小鼠的首次排便时间、12 h 内排便量不但没有改善作用, 反而增加了首次排便时间、减少 12 h 内排便量, 进一步证实了高剂量葡甘聚糖对小鼠肠道运动功能有抑制作用。H&E 染色结果显示高剂量葡甘聚糖作用后, 青年小鼠组小肠杯状细胞减少, 但绒毛结构无明显变化; 大肠粘膜表层有缺损, 杯状细

胞减少。高剂量葡甘聚糖作用的老年小鼠可见小肠杯状细胞减少,甚至消失不见,绒毛结构不完整遭破坏;大肠黏膜表层有缺损,杯状细胞减少及出现炎性细胞浸润巢。提示小鼠在高剂量葡甘聚糖作用后排便困难与肠道病理性改变有关。

3.3 相比葡甘聚糖高剂量组而言,低剂量使老年小鼠排便增加。可认为 0.9 g/kg (相当于人推荐日用量)的使用剂量偏大,高剂量葡甘聚糖进入胃肠道后吸水膨胀程度太大,进而影响肠道运动,这可能为部分肠道运动能力减弱的中老年人食用葡甘聚糖后排便困难的原因。

参考文献

- [1] 翁建锋,邱啸臣,李元新.功能性便秘的治疗进展[J].中国临床研究,2016,29(3):409-412
WENG Jian-feng, QIU Xiao-chen, LI Yuan-xin. Progress in the treat functional constipation [J]. Chinese Journal of Clinical Research, 2016, 29(3): 409-412
- [2] 黄明发,张盛林.魔芋膳食纤维保健作用研究进展[J].中国食物与营养,2010,5:75-77
HUANG Ming-fa, ZHANG Sheng-lin. Research Advances on Health Effects of Konjac dietary fiber [J]. Food and Nutrition in China, 2010, 5: 75-77
- [3] 黄琼,陈龙全.魔芋葡甘聚糖的药理作用[J].湖北民族学院学报(医学版),2008,25(2):85-86
HUANG Qiong, CHEN Long-quan. Pharmacological effects of konjac glucomannan [J]. Journal of Hubei University for Nationalities (Medical Editio), 2008, 25(2): 85-86
- [4] Jonat M Evans, Kevin C Fleming, Nicholas J Talley, et al. Relation of colonic transit to functional bowel disease in older people:a population-based study [J]. JAGS, 1998, 46: 83-87
- [5] 刘井如,季宇彬,陈明苍.便秘动物模型研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2012,11(18):353-356
LIU Jing-ru, JI Yu-bin, CHEN Ming-cang. Advances of pharmacological researches in constipation animal model [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2012, 11(18): 353-356
- [6] 王佩佩,罗雯,禹铮,等.慢性便秘的研究进展[J].中国全科医学,2017,20(3):370-374
WANG Pei-pei, LUO Wen, YU Zheng, et al. Research progress of chronic constipation [J]. Chinese General Practice January, 2017, 20(3): 370-374
- [7] 李美新.老年人顽固性便秘的护理体会[J].临床合理用药杂志,2002,37(10):763-764
LI Mei-xin. Nursing experience of intractable constipation in the elderly [J]. Chin. J of Clinical. Rational Drug Use, 2002, 37(10): 763-764
- [8] 刘智勇,杨关根,沈忠,等.杭州市城区便秘流行病学调查[J].中华消化杂志,2004,24(7):435-436
LIU Zhi-yong, YANG Guan-gen, SHEN Zhong, et al. Epidemiological survey of constipation in Hangzhou city [J]. Chin. J. Dig., 2004, 24(7): 435-436