

孔石莼多糖锌对 I 型糖尿病小鼠糖脂代谢及体内抗氧化的干预作用

汤陈鹏, 吕峰*, 刘伊娜

(福建农林大学食品科学学院, 福建福州 350002)

摘要:以孔石莼多糖(*Ulva pertusa* polysaccharides, UP)为参照,探讨孔石莼多糖锌(*Ulva pertusa* polysaccharides-zinc complex, UPZ)对糖尿病小鼠糖脂代谢及体内抗氧化的干预作用。采用链脲霉素(Streptozocin, STZ)诱导建立 I 型糖尿病小鼠模型,试验小鼠分为 10 组,包括正常组,模型组,UP 及 UPZ 低、中、高剂量组(多糖均依次为 75、150、300 mg/kg BW/d,硫酸锌为无机锌组的 0.5、1、2 倍)无机锌(硫酸锌)组(锌含量 15 mg/kg BW/d),阳性对照组(盐酸二甲双胍 300 mg/kg BW/d),持续灌胃 4 周,并对小鼠的血糖、血脂及肝脏抗氧化指标进行测定。结果显示,UP 与 UPZ 可以有效改善糖尿病小鼠的糖脂代谢与体内抗氧化能力,且存在明显的量效关系。与模型组相比,UP 及 UPZ 均能抑制小鼠的体重减轻,缓解其肝、肾脏因高血糖导致的肿大;两试样均能显著或极显著($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)降低小鼠空腹血糖,提高其糖耐量,改善小鼠血清中的胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)浓度等血脂指标;同时,UP 与 UPZ 还可增强小鼠肝脏中总超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、过氧化氢酶(CAT)的活性,降低丙二醛(MDA)的含量。其中,高剂量 UPZ 对小鼠脏器损伤的修复能力和糖脂代谢的调节能力已与阳性对照无显著($P > 0.05$)差异;UPZ 的干预效果强于同剂量的 UP,且强于锌含量相同的硫酸锌。

关键词:I 型糖尿病,孔石莼多糖锌,糖脂代谢,体内抗氧化,干预

Intervention Effects of *Ulva pertusa* Polysaccharides-zinc Complex on Glucose-lipid Metabolism and Antioxidant Capacity of Type I Diabetic Mice

TANG Chen-peng, LV Feng*, LIU Yi-na

(College of Food Science Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: Taking *Ulva pertusa* polysaccharides (UP) as control, this paper studied the intervention effects of *Ulva pertusa* polysaccharides-zinc complex (UPZ) on glucose-lipid metabolism and antioxidant capacity of diabetic mice. The type I diabetic model of mice was established by injecting streptozotocin (STZ). The experiment mice were divided randomly into 10 groups, including normal control, diabetic model, UP and UPZ with low, middle and high dose (polysaccharide: 75, 150, 300 mg/kg BW/d, zinc sulfate: 0.5, 1, 2 times of inorganic zinc group respectively), inorganic zinc (zinc sulfate, 15 mg/kg BW/d Zn^{2+}), metformin hydrochloride (300 mg/kg BW/d). All mice were subjected to intragastric administration for 4 weeks. Then the blood glucose, blood lipid and antioxidant capacity of liver of diabetic mice were determined. The results showed that UP and UPZ could significantly improve the glucose-lipid metabolism and antioxidant capacity of diabetic mice. The dose-effect relationship was obvious. Compared with model group, UP and UPZ could relieve the weight loss of diabetic mice, and reduce the liver and kidney indexes of diabetic mice. Both of them could significantly ($P < 0.05$ or $P < 0.01$) decrease fasting blood glucose, improve glucose tolerance, and lower cholesterol (TC), triglyceride (TG), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) levels, increase high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) levels in serum of diabetic mice. Moreover, two samples could both improve the activities of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) and catalase (CAT), reduce malondialdehyde (MDA) content in liver of diabetic mice. Furthermore, there was no significant difference ($P > 0.05$) between the effects of high dose UPZ and metformin hydrochloride on organ injuries and glucose-lipid metabolism of diabetic mice. In addition, the effect of UPZ was stronger than UP at the same dose, and also stronger than zinc sulfate with the same zinc content.

收稿日期: 2019-04-12

作者简介: 汤陈鹏(1994-),男,硕士研究生,研究方向:食品化学与营养,E-mail:475629233@qq.com。

* 通讯作者: 吕峰(1964-),女,博士,研究员,研究方向:天然产物的综合利用、农产品加工及贮藏,E-mail:1245075427@qq.com。

基金项目:福建省科技重大专项(2011NZ01010064);福建农林大学创新基金项目(CXZX2017016)。

Key words: type I diabetes; *Ulva pertusa* polysaccharides - zinc complex (UPZ); glucose - lipid metabolism; antioxidant capacity; intervention

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2020)01-0295-07

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2020.01.048

引文格式: 汤陈鹏, 吕峰, 刘伊娜. 孔石莼多糖锌对 I 型糖尿病小鼠糖脂代谢及体内抗氧化的干预作用[J]. 食品工业科技, 2020, 41(1): 295-300, 309.

糖尿病(Diabetes mellitus)是一种以高血糖为主要特征的代谢疾病,长期的高血糖可对人体的多个脏器造成损伤,进而引起一系列并发症,目前糖尿病已成为除癌症与心脑血管疾病外对人类生命的又一大威胁^[1]。孔石莼多糖(*Ulva pertusa* polysaccharides, UP)是大型绿藻孔石莼的主要生理活性物质^[2],研究表明,UP具有降血糖^[3]、抗肿瘤^[4]、降血脂^[5]、抗氧化^[6]、调节免疫功能^[7]等多种生理活性。锌作为人体必需的微量元素,同时也是胰岛素的重要组成部分^[8],补锌对糖尿病及其并发症的治疗有着良好的促进作用^[9]。将天然多糖与锌进行络合改性,在保留各自独特生理活性的基础上,还可使其共同的活性协同增效,在保健品、药品等领域有着广阔的应用前景^[10-11]。然而目前,尚未有研究人员对孔石莼多糖锌络合物(*Ulva pertusa* polysaccharides - zinc complex, UPZ)的相关生理活性进行探索。

基于此,本研究采用链脲霉素(STZ)诱导建立 I 型糖尿病小鼠模型,以 UP 为参照物,以 UPZ 为试材,通过灌胃给药试验,从脏器指数、血糖、血脂代谢,体内抗氧化等方面综合评价 UP 及 UPZ 对糖尿病小鼠糖脂代谢及抗氧化能力的干预作用,为 UP 及 UPZ 的开发应用提供理论参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

UP(多糖含量 53.35%)、UPZ(锌含量约为 10%)均为实验室自制,制备方法见参考文献[12];STZ 上海源叶生物科技有限公司;盐酸二甲双胍缓释片 天方药业有限公司;硫酸锌 恒鑫食品配料有限公司;甘油三酯(TG)试剂盒、总胆固醇(TC)试剂盒、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)试剂盒、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)试剂盒、总超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒、丙二醛(MDA)试剂盒、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)试剂盒、过氧化氢酶(CAT)试剂盒 南京建成生物工程研究所;清洁级 ICR 雄性小鼠,体重(25±2)g 南京军区福州总医院,SYXK(闽)2018-0006。

HGM-114 血糖仪、血糖试纸 欧姆龙有限公司;CF15RN 高速冷冻离心机 日本日立公司;SYNERGY 酶标仪 美国伯腾仪器有限公司;UV-1800PC 紫外可见分光光度计 上海美谱达仪器有限公司;BSA223S 分析天平 北京赛多利斯科学仪器有限公司;HH-4 数显恒温水浴锅 常州国华电器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 I 型糖尿病鼠的建模 参考相关文献,并稍作修改^[13-14]。健康 ICR 小鼠适应饲养 7 d 后,禁食

16 h,随机选取 10 只作为正常组,其余小鼠以 200 mg/kg·BW 的剂量腹腔注射 10 mg/mL 的 STZ 溶液(0.1 mol/L pH = 4.3 柠檬酸缓冲液配制),正常组小鼠注射同体积柠檬酸缓冲液;注射 72 h 后,断尾采血,测定小鼠空腹血糖(取血前,小鼠禁食 12 h),血糖 ≥ 11.1 mmol/L 的小鼠视为造模成功,确定为 I 型糖尿病鼠,未成模小鼠剔除。

1.2.2 分组与给药 取造模成功的糖尿病小鼠 81 只,随机分为 9 组,每组 9 只,分别是模型对照组,UP 与 UPZ 低、中、高剂量组(剂量均依次为:75、150、300 mg/kg BW/d),无机锌(硫酸锌)对照组(按锌含量计 15 mg/kg BW/d),阳性对照组(盐酸二甲双胍 300 mg/kg BW/d);其中硫酸锌剂量的设置以成人硫酸锌片每天治疗摄入量(300 mg,其中锌含量 68 mg)为依据,并参考前人研究^[15],按照人与试验动物等效剂量系数换算得到;UPZ 低、中、高剂量的锌含量分别设为硫酸锌含量的 0.5、1、2 倍。所有小鼠每天固定时间灌胃给药 1 次,各组均按 0.15 mL/10 g BW 持续灌胃 4 周;模型组与正常组每日灌胃蒸馏水,给药组分别对应灌胃上述的试样溶液。

1.2.3 小鼠体重测定 从灌胃给药开始后,每周对各组小鼠的体重进行测定。

1.2.4 小鼠空腹血糖测定 灌胃给药 0、2、4 周后,各组动物均禁食 12 h,剪尾采血,测定空腹血糖值。

1.2.5 小鼠糖耐量测定 灌胃给药 4 周后,各组小鼠禁食 12 h,分别按 2 g/kg BW 的剂量灌胃葡萄糖(配制成浓度为 133 mg/mL 的溶液),剪尾采血,分别测定 0、30、60、120 min 时的血糖值,观察各组小鼠在喂食葡萄糖后各时间点的血糖水平变化,并按照下列公式计算血糖曲线下面积(Area under the curve, AUC)^[16]。

$$AUC = \frac{A + 2B + 3C + 2D}{4}$$

式中,A、B、C、D 分别为灌胃葡萄糖溶液 0、30、60、120 min 时小鼠的血糖值。

1.2.6 小鼠脏器指数测定 小鼠灌胃给药 4 周后,禁食 12 h,称重。引颈法处死小鼠,迅速摘除其脾脏、肝脏、肾脏,使用生理盐水漂洗后滤纸吸干、称重,按照以下公式计算其脏器指数。

$$\text{脏器指数}(\text{mg/g}) = \frac{\text{脏器质量}(\text{mg})}{\text{体质量}(\text{g})}$$

1.2.7 小鼠血清血脂指标测定 灌胃给药 4 周后,各组小鼠禁食 12 h,采用眼球摘除法取各试验组小鼠的血液,静置,待其分层后,以 3000 r/min 离心 10 min,取上清液得血清。按照试剂盒说明测定其血清中的 TC、TG、LDL-C 和 HDL-C 浓度。

1.2.8 小鼠肝脏抗氧化指标测定 准确剪切一定质量的肝脏组织,按质量体积比(g:mL)1:9 加入冰生理盐水,研磨成浓度 10% 的肝脏匀浆,于冷冻离心机

表1 孔石莼多糖及其锌络合物对糖尿病小鼠体重的影响
Table 1 Effects of UP and UPZ on weight of diabete mice

组别	体重(g)				
	0周	1周	2周	3周	4周
正常组	31.15 ± 1.42	34.70 ± 1.43	37.38 ± 1.33	38.87 ± 0.90	39.67 ± 1.01
模型组	26.72 ± 1.10**	25.40 ± 0.70**	23.58 ± 1.16**	22.83 ± 1.71**	21.92 ± 1.39**
阳性对照组	26.88 ± 1.07**	25.97 ± 0.94**	25.37 ± 1.86**	25.45 ± 1.86***#	26.20 ± 1.89***#Δ
硫酸锌对照组	26.63 ± 1.46**	25.41 ± 0.84**	24.67 ± 0.79**	24.12 ± 1.60**	23.97 ± 2.07**▲
UP低剂量组	26.90 ± 1.01**	25.43 ± 1.40**	24.16 ± 2.15**	23.16 ± 1.73**▲	22.63 ± 2.01**▲▲
UP中剂量组	27.15 ± 0.92**	25.94 ± 0.59**	24.79 ± 1.94**	24.20 ± 1.31**	24.22 ± 2.09***#
UP高剂量组	26.52 ± 1.27**	25.67 ± 0.67**	24.64 ± 1.58**	24.55 ± 1.89**	24.59 ± 1.79**#
UPZ低剂量组	26.83 ± 1.19**	25.79 ± 0.83**	24.45 ± 1.56**	24.23 ± 1.39**	24.20 ± 1.58**#
UPZ中剂量组	27.01 ± 0.55**	25.93 ± 1.06**	25.30 ± 1.80**	25.54 ± 1.59***#	26.39 ± 2.02***#Δ
UPZ高剂量组	27.08 ± 0.83**	25.89 ± 1.00**	25.62 ± 1.76***#	25.78 ± 1.20***#	26.68 ± 1.57***#Δ

注:与正常组相比,*表示差异显著($P < 0.05$),**表示差异极显著($P < 0.01$);与模型组相比,#表示差异显著($P < 0.05$),##表示差异极显著($P < 0.01$);与阳性对照组相比,▲表示差异显著($P < 0.05$),▲▲表示差异极显著($P < 0.01$);与硫酸锌对照组相比,Δ表示差异显著($P < 0.05$),ΔΔ表示差异极显著($P < 0.01$)。表2~表6同。

4℃、3000 r/min 下离心 10 min,收集上清液,按试剂盒说明对小鼠肝脏组织中 MDA 含量、CAT、SOD、GSH-Px 活性进行测定。

1.3 数据处理

使用软件 DPS v7.05 对试验数据进行统计学分析,各组数据之间的多重比较使用 LSD 法,其中,以 $P > 0.05$ 为差异不显著, $P < 0.05$ 为显著, $P < 0.01$ 为极显著。试验数据均用平均值 ± 标准差表示。因在试验过程中有个别小鼠死亡,各组试验数据以 $n = 8$ 进行分析处理。

2 结果与分析

2.1 糖尿病小鼠造模情况

与正常组小鼠相比,各组经过 STZ 造模的小鼠精神萎靡、行动迟缓,其进食、饮水、排尿量明显增多,垫料容易潮湿,符合糖尿病患者“三多”的典型症状;经测定,各组小鼠空腹血糖均高于 11.1 mmol/L,说明糖尿病小鼠造模成功。

2.2 UP 与 UPZ 对糖尿病小鼠体重的影响

多饮、多食、多尿、身体消瘦是糖尿病人常见的症状,即俗称的“三多一少”^[17-18]。从表 1 中可以看出,在试验开始时,与正常组小鼠相比,其余各组病鼠体重均极显著($P < 0.01$)下降。灌胃 4 周后,正常组小鼠的体重逐渐上升,模型组病鼠体重则呈下降趋势,推测该现象为糖尿病引发病鼠机体代谢紊乱所致。灌胃 4 周后,除 UP 低剂量组外,UP 中、高剂量组、UPZ 低剂量组病鼠的体重显著($P < 0.05$)高于模型组,UPZ 中、高剂量组病鼠的体重则极显著($P < 0.01$)高于模型组,且 UPZ 中、高剂量组病鼠的体重与阳性对照组无显著差异($P > 0.05$),甚至略高,说明 UP、UPZ 对糖尿病小鼠的体重减轻均有一定减缓作用;且同剂量下,UPZ 的效果显著($P < 0.05$)优于 UP,中剂量 UPZ 的效果显著($P < 0.05$)优于锌含量相同的硫酸锌。

2.3 UP 与 UPZ 对糖尿病小鼠空腹血糖的影响

表 2 可以看出,灌胃前,STZ 造模的各组病鼠的

空腹血糖浓度均极显著($P < 0.01$)高于正常组小鼠,且各造模组之间无显著差异($P > 0.05$)。在试验周期内,正常组小鼠的血糖无显著($P > 0.05$)变化,而模型组病鼠的血糖则一直处于较高水平。第 4 周,除 UP 低剂量组病鼠的空腹血糖显著($P < 0.05$)低于模型组外,其余各给药组病鼠的空腹血糖均极显著($P < 0.01$)低于模型组,并呈明显的量效关系;其中 UP 高剂量组、UPZ 中、高剂量组病鼠的空腹血糖与阳性对照组无显著差异($P > 0.05$),且 UPZ 高剂量组病鼠的空腹血糖显著($P < 0.05$)低于同剂量的 UP 组,说明 UPZ 比 UP 具有更好干预病鼠血糖上升的效果。

表2 孔石莼多糖及其锌络合物对糖尿病小鼠空腹血糖的影响
Table 2 Effects of UP and UPZ on blood glucose of diabetes mice

组别	空腹血糖(mmol/L)		
	0周	2周	4周
正常组	5.2 ± 0.9	5.2 ± 0.9	5.0 ± 0.8
模型组	20.8 ± 2.7**	21.4 ± 3.2**	21.0 ± 2.1**
阳性对照组	20.3 ± 2.6**	17.5 ± 2.0***#	14.5 ± 2.0***#Δ
硫酸锌对照组	20.8 ± 2.6**	18.2 ± 3.2***#	17.0 ± 1.2***#▲
UP低剂量组	20.7 ± 2.1**	19.3 ± 2.3***#	18.5 ± 3.0***#▲▲
UP中剂量组	21.7 ± 3.6**	18.3 ± 1.7***#	17.1 ± 2.1***#▲
UP高剂量组	21.0 ± 3.3**	18.1 ± 2.5***#	16.0 ± 1.8***#
UPZ低剂量组	21.4 ± 3.0**	18.5 ± 2.1***#	17.1 ± 2.2***#▲
UPZ中剂量组	20.6 ± 2.6**	17.8 ± 3.0***#	15.6 ± 2.6***#
UPZ高剂量组	21.2 ± 2.9**	16.9 ± 2.4***#	13.4 ± 2.1***#Δ

2.4 UP 与 UPZ 对糖尿病小鼠糖耐量的影响

糖耐量即是指动物体对血糖浓度的调节能力^[19]。从表 3 可看出,灌胃葡萄糖溶液后,各组小鼠的血糖均上升,并在 60 min 左右均达到峰值,在 60~120 min 内,各组小鼠血糖呈下降趋势;至 120 min,正常组小鼠的血糖与 0 min 时已无显著差异($P > 0.05$),而其余各组病鼠的血糖仍显著($P < 0.05$)高于

表3 孔石莼多糖及其锌络合物对糖尿病小鼠糖耐量的影响
Table 3 Effects of UP and UPZ on glucose tolerance of diabetes mice

组别	血糖浓度 (mmol/L)				AUC (mmol·h/L)
	0 min	30 min	60 min	120 min	
正常组	5.0 ± 0.8	10.6 ± 1.4	10.9 ± 1.0	6.3 ± 1.3	17.89 ± 1.65
模型组	21.0 ± 2.1 **	28.7 ± 0.8 **	30.5 ± 1.9 **	26.4 ± 2.0 **	55.67 ± 3.22 **
阳性对照组	14.5 ± 2.0 ***Δ	20.6 ± 2.4 ***Δ	23.0 ± 2.4 ***ΔΔ	17.3 ± 2.1 ***ΔΔ	39.78 ± 4.49 ***ΔΔ
硫酸锌对照组	17.0 ± 1.2 ***▲	24.4 ± 2.0 ***▲	26.7 ± 1.2 ***▲▲	21.6 ± 1.8 ***▲▲	47.23 ± 2.89 ***▲▲
UP 低剂量组	18.5 ± 3.0 ***▲▲	25.4 ± 4.1 ***▲▲	27.9 ± 3.3 ***▲▲	23.1 ± 3.7 ***▲▲	49.78 ± 6.86 ***▲▲
UP 中剂量组	17.1 ± 2.1 ***▲	24.2 ± 2.5 ***▲	26.4 ± 2.0 ***▲	20.7 ± 2.5 ***▲	46.51 ± 3.80 ***▲▲
UP 高剂量组	16.0 ± 1.8 ***	24.5 ± 2.5 ***▲	26.6 ± 2.0 ***▲▲	20.1 ± 2.8 ***	46.25 ± 4.27 ***▲
UPZ 低剂量组	17.1 ± 2.2 ***▲	23.8 ± 2.5 ***▲	26.6 ± 2.3 ***▲▲	21.3 ± 2.7 ***▲▲	46.80 ± 4.36 ***▲▲
UPZ 中剂量组	15.6 ± 2.6 ***	22.8 ± 2.8 ***	25.3 ± 2.4 ***▲	19.1 ± 3.2 ***	43.79 ± 5.31 ***
UPZ 高剂量组	13.4 ± 2.1 ***ΔΔ	21.9 ± 2.6 ***Δ	24.0 ± 2.6 ***Δ	16.9 ± 3.0 ***ΔΔ	40.73 ± 4.25 ***Δ

表4 孔石莼多糖及其锌络合物对糖尿病小鼠脏器指数的影响
Table 4 Effects of UP and UPZ on organ index of diabetes mice

组别	肝脏指数 (mg/g)	肾脏指数 (mg/g)	脾脏指数 (mg/g)
正常组	41.53 ± 2.57	15.40 ± 1.04	3.62 ± 0.37
模型组	51.40 ± 1.68 **	19.78 ± 1.33 **	2.82 ± 0.20 **
阳性对照组	45.68 ± 1.29 ***ΔΔ	18.31 ± 0.93 ***	2.97 ± 0.25 **
硫酸锌对照组	49.05 ± 2.27 ***▲	18.97 ± 0.75 **	2.89 ± 0.29 **
UP 低剂量组	51.17 ± 1.83 ***▲	18.68 ± 0.76 **	2.86 ± 0.44 **
UP 中剂量组	49.00 ± 1.73 ***▲	18.90 ± 1.34 **	2.86 ± 0.32 **
UP 高剂量组	45.48 ± 1.94 ***ΔΔ	18.16 ± 1.51 ***	2.97 ± 0.30 **
UPZ 低剂量组	49.22 ± 1.81 ***▲	18.56 ± 0.81 **	2.95 ± 0.35 **
UPZ 中剂量组	48.06 ± 2.14 ***▲	18.13 ± 0.89 ***	2.90 ± 0.29 **
UPZ 高剂量组	44.65 ± 1.58 ***ΔΔ	17.59 ± 1.13 ***Δ	3.08 ± 0.32 **

0 min,其中,UP 低剂量组病鼠的血糖显著($P < 0.05$)低于模型组,其余各给药组病鼠的血糖则极显著($P < 0.01$)低于模型组。AUC 是一种反映血糖水平的指标,相较于单点的血糖值,通过计算 AUC 可更为全面地分析血糖变化的时间和程度,其值越小,说明糖耐量越强。结合 AUC 值可发现,模型组病鼠的 AUC 极显著($P < 0.01$)大于正常组小鼠,说明 STZ 诱导的糖尿病明显损伤了小鼠的糖代谢机能;而各给药组病鼠的 AUC 除 UP 低剂量组显著($P < 0.05$)小于模型组外,均极显著($P < 0.01$)小于模型组;其中 UPZ 中、高剂量组小鼠的 AUC 与阳性对照组无显著差异($P > 0.05$);但各给药组与正常组间仍存在极显著差异($P < 0.01$)。结果表明,UPZ 改善糖尿病小鼠血糖代谢,提高其糖耐量的效果优于 UP。

2.5 UP 与 UPZ 对糖尿病小鼠脏器指数的影响

在糖尿病患者过于亢进的糖代谢下,作为糖代谢的最重要器官,肝脏、肾脏往往会发生肿大^[20];而当糖尿病导致生物体免疫功能损伤时,机体最大的免疫器官脾脏则会发生器官萎缩^[21];因此通过对脏器指数的测定,可以较为直观地体现机体器官受糖尿病损伤的程度。从表 4 可以看出,与正常组相比,模型组病鼠的肝脏、肾脏指数极显著($P < 0.01$)升高,脾脏指数极显著($P < 0.01$)降低。UP 中剂量组、UPZ 低剂量组病鼠的肝脏指数显著($P < 0.05$)低于模型组,而 UP 高剂量组、UPZ 中、高剂量组病鼠的肝

脏指数则极显著($P < 0.01$)低于模型组。且 UP 与 UPZ 高剂量组病鼠的肝脏指数与阳性对照组无显著差异($P > 0.05$)。UP 高剂量、UPZ 中剂量组病鼠的肾脏指数显著($P < 0.05$)低于模型组,而 UPZ 高剂量组小鼠的肾脏指数极显著($P < 0.01$)低于模型组,且三者与阳性对照组均无显著差异($P > 0.05$)。各给药组病鼠的脾脏指数较模型组均有不同程度地上升,但并未产生显著差异($P > 0.05$)。综上,UPZ 对受试糖尿病小鼠脏器损伤的修复作用优于同剂量的 UP。

2.6 UP 与 UPZ 对糖尿病小鼠血清血脂指标的影响

胰岛素不仅对糖代谢至关重要,同时也是脂代谢不可或缺的调节激素。大量研究表明,糖尿病的发生常常导致血脂代谢紊乱^[22]。从表 5 可知,除阳性对照组病鼠血清的 HDL-C 与正常组无显著差异($P > 0.05$)外,其他各组病鼠血清的 TC、TG、LDL-C 均较正常组极显著($P < 0.01$)上升,而 HDL-C 则均极显著($P < 0.01$)降低。相较模型组,UP 高剂量组、UPZ 中、高剂量组病鼠血清的 TC、TG、LDL-C 均极显著($P < 0.01$)降低,HDL-C 均极显著($P < 0.01$)上升;UP 中剂量组病鼠血清的 TG 显著($P < 0.05$)降低,HDL-C 极显著($P < 0.01$)上升;而 UPZ 低剂量组病鼠血清的 LDL-C 极显著($P < 0.01$)降低,HDL-C 极显著($P < 0.01$)上升。提示两试样对病鼠血脂代谢的紊乱均有一定的校正作用,且校正程度与剂量

表5 孔石莼多糖及其锌络合物对糖尿病小鼠血脂的影响
Table 5 Effects of UP and UPZ on blood lipids of diabetes mice

组别	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)
正常组	3.06 ± 0.11	0.96 ± 0.06	0.73 ± 0.08	1.34 ± 0.07
模型组	4.00 ± 0.20 **	1.90 ± 0.09 **	1.27 ± 0.08 **	0.69 ± 0.15 **
阳性对照组	3.42 ± 0.10 **##ΔΔ	1.52 ± 0.11 **##ΔΔ	1.01 ± 0.10 **##	1.28 ± 0.12 ##ΔΔ
硫酸锌对照组	3.80 ± 0.13 **##▲▲	1.83 ± 0.15 **##▲▲	1.12 ± 0.11 **##	0.89 ± 0.15 **##▲▲
UP 低剂量组	3.92 ± 0.14 **##▲▲	1.84 ± 0.12 **##▲▲	1.19 ± 0.17 **##▲	0.82 ± 0.08 **##▲▲
UP 中剂量组	3.87 ± 0.15 **##▲▲	1.77 ± 0.04 **##▲▲	1.14 ± 0.15 **	0.90 ± 0.17 **##▲▲
UP 高剂量组	3.76 ± 0.08 **##▲▲	1.65 ± 0.10 **##▲▲ΔΔ	1.04 ± 0.13 **##	1.06 ± 0.20 **##▲▲ΔΔ
UPZ 低剂量组	3.88 ± 0.14 **##▲▲	1.82 ± 0.06 **##▲▲	1.08 ± 0.13 **##	0.93 ± 0.11 **##▲▲
UPZ 中剂量组	3.73 ± 0.14 **##▲▲	1.70 ± 0.11 **##▲▲ΔΔ	1.04 ± 0.11 **##	0.97 ± 0.11 **##▲▲
UPZ 高剂量组	3.60 ± 0.09 **##▲▲	1.55 ± 0.10 **##▲▲ΔΔ	0.94 ± 0.08 **##	1.13 ± 0.11 **##▲

表6 孔石莼多糖及其锌络合物对糖尿病小鼠抗氧化能力的影响
Table 6 Effect of UP and UPZ on antioxidant function of diabetes mice

组别	MDA (nmol/mg prot)	CAT (U/mg prot)	SOD (U/mg prot)	GSH-Px (U/mg prot)
正常组	2.29 ± 0.13	43.50 ± 1.73	253.59 ± 8.81	922.85 ± 32.63
模型组	4.48 ± 0.18 **	26.99 ± 1.12 **	135.62 ± 4.84 **	582.04 ± 24.31 **
阳性对照组	2.90 ± 0.20 **##ΔΔ	38.67 ± 0.94 **##ΔΔ	208.49 ± 12.65 **##ΔΔ	780.39 ± 30.53 **##ΔΔ
硫酸锌对照组	4.10 ± 0.15 **##▲▲	28.83 ± 0.89 **##▲▲	164.40 ± 7.40 **##▲▲	658.58 ± 20.40 **##▲▲
UP 低剂量组	4.35 ± 0.11 **##▲▲	28.03 ± 0.70 **##▲▲	140.61 ± 5.34 **##▲▲ΔΔ	598.12 ± 30.82 **##▲▲ΔΔ
UP 中剂量组	4.29 ± 0.16 **##▲▲	28.88 ± 1.68 **##▲▲	143.42 ± 4.84 **##▲▲ΔΔ	615.43 ± 28.93 **##▲▲ΔΔ
UP 高剂量组	4.17 ± 0.24 **##▲▲	30.40 ± 1.11 **##▲▲ΔΔ	148.83 ± 3.33 **##▲▲ΔΔ	640.76 ± 30.45 **##▲▲
UPZ 低剂量组	4.08 ± 0.23 **##▲▲	29.31 ± 1.21 **##▲▲	156.75 ± 5.02 **##▲▲	645.30 ± 25.53 **##▲▲
UPZ 中剂量组	3.85 ± 0.14 **##▲▲ΔΔ	30.80 ± 1.84 **##▲▲ΔΔ	178.11 ± 6.22 **##▲▲ΔΔ	686.66 ± 26.26 **##▲▲
UPZ 高剂量组	3.31 ± 0.16 **##▲▲ΔΔ	33.06 ± 1.37 **##▲▲ΔΔ	194.86 ± 9.60 **##▲▲ΔΔ	746.37 ± 22.68 **##▲▲ΔΔ

呈正相关关系,其中 UPZ 高剂量组病鼠血清的 TG、LDL-C、HDL-C 与阳性对照组无显著差异 ($P > 0.05$)。从表 5 中还可获悉,UPZ 中剂量组病鼠的各项血脂指标值优于锌含量相同的硫酸锌组,特别是 TG 较硫酸锌组显著 ($P < 0.05$) 降低;且 UPZ 各剂量组病鼠血清的 TC、LDL-C 显著 ($P < 0.05$) 低于相应剂量 UP 组,说明 UPZ 对糖尿病小鼠的血脂代谢的校正作用较 UP 显著 ($P < 0.05$) 增强。

2.7 UP 与 UPZ 对糖尿病小鼠肝脏抗氧化指标的影响

机体内过量自由基的氧化作用与其衰老、疾病等有着直接的联系。CAT、SOD、GSH-Px 为生物体内十分重要的抗氧化酶,具有抑制自由基产生、减少氧化损伤的作用^[23-24]。MDA 则是机体自由基作用于脂质的过氧化产物。通过对这些指标进行测定,可以直观地反映机体的抗氧化能力,其中抗氧化酶活性越强,MDA 含量越低,说明机体对氧化作用的抑制能力越强,即抗氧化能力越强。表 6 数据显示,与正常组相比,模型组病鼠肝脏 CAT、SOD、GSH-Px 的活性均极显著 ($P < 0.01$) 降低,而 MDA 含量极显著 ($P < 0.01$) 增加,说明 STZ 诱导的糖尿病使小鼠肝脏的抗氧化能力受到明显损伤。经过 4 周的灌胃,除 UP 低、中剂量组外,其余各给药组小鼠肝脏的 CAT、SOD、GSH-Px 活性均极显著 ($P < 0.01$) 高于模型组,MDA 含量均极显著 ($P < 0.01$) 低于模型组;而 UP 中剂量组小鼠肝脏的 CAT、GSH-Px 活性亦显著 ($P <$

0.05) 高于模型组;说明两试样对糖尿病小鼠的肝脏抗氧化能力均有一定的改善作用,且存在明显的量效关系。另外,UPZ 的改善效果极显著 ($P < 0.01$) 强于同剂量的 UP。中剂量 UPZ 对病鼠肝脏 MDA 含量、CAT 活性的改善效果显著 ($P < 0.05$) 强于锌含量相同的硫酸锌,对 SOD 活性的改善效果极显著 ($P < 0.01$) 强于锌含量相同的硫酸锌。

3 讨论与结论

糖尿病主要分为 I 型糖尿病、II 型糖尿病、妊娠期糖尿病等。I 型糖尿病尽管发病率较低,但起病急骤、症状严重,患者生活质量差,且其病理机制尚存在许多不明确之处,故进行 I 型糖尿病的研究对糖尿病防治领域具有重要的意义^[25]。胰岛素的绝对缺乏是 I 型糖尿病最主要的生理特征,缺乏胰岛素的调节,动物体利用和转化葡萄糖的过程将受到抑制,从而导致血糖升高和一系列并发症。

长期的高血糖会导致机体产生过高的糖化反应和氧化应激反应,促进炎症的产生与发展,从而对各个脏器造成慢性损伤,并导致机体的抗氧化能力下降^[26-27]。同时,胰岛素对脂质代谢亦有重要的调节作用,当机体缺乏胰岛素时,脂肪合成减少,分解加强,从而引起血脂升高,故糖尿病患者在血糖升高的同时往往会出现血脂代谢紊乱。迄今为止,有关天然多糖对糖尿病的治疗效果表明,多糖对糖尿病的干预作用机制主要包括:促进机体胰岛 β 细胞再生,改善胰岛素分泌;恢复胰岛素抵抗,提高其作用效率;

改善免疫系统和抗氧化能力;调节糖脂代谢,促进机体对葡萄糖的吸收利用等^[28-30]。本研究结果显示,UPZ与UP均可有效缓解糖尿病小鼠的“三多一少”症状,降低其空腹血糖,提高糖耐量;同时降低病鼠血清中的TC、TG、LDL-C浓度,提高HDL-C浓度,改善其血脂指标,推测两试样可能可以促进病鼠胰岛 β 细胞的修复和再生,改善胰岛素的分泌,在一定程度上缓解糖尿病小鼠的糖脂代谢紊乱^[31];UPZ与UP还可降低糖尿病小鼠的肝脏、肾脏指数,说明两者对病鼠的肝脏、肾脏具有保护和修复作用,可拮抗高血糖对脏器造成的慢性损伤,抑制代谢器官的肿大^[32];此外二者还可显著($P < 0.05$)提升糖尿病小鼠肝脏中CAT、SOD、GSH-Px等抗氧化酶的活性,降低MDA含量,通过增强病鼠体内抗氧化酶的活性,恢复其清除自由基的能力,减轻氧化应激对小鼠机体的损害,也是两者改善糖尿病小鼠各项症状的途径之一^[33]。

本研究结果表明,UPZ对I型糖尿病小鼠糖脂代谢与体内抗氧化的干预效果均明显强于同剂量的UP;而且中剂量UPZ的干预效果亦明显强于锌含量相同的硫酸锌(无机锌),推测可能是UP与锌络合后,不仅提高了原多糖降血糖、调节血脂、抗氧化等活性,同时亦增强了锌的生理活性。UPZ作为一种新型的生物补锌剂,具备良好的生理活性,在食品、保健品等领域有着广阔的开发前景。

参考文献

- [1] Position Statements. Diagnosis and classification of diabetes mellitus [J]. Diabetes Care, 2014, 33(11): S67-S74.
- [2] 苏秀榕, 李太武. 孔石莼营养成分的研究 [J]. 中国海洋药物, 1997, 61(1): 33-35.
- [3] 林龙. 孔石莼多糖对四氧嘧啶诱导的糖尿病小鼠的降血糖作用及其机制研究 [D]. 厦门: 集美大学, 2013: 13-20.
- [4] 王凯, 蔡慧敏, 李玉磊, 等. 孔石莼多糖及其硫酸酯化衍生物抗肿瘤活性的体外实验研究 [J]. 中国海洋药物, 2014, 33(2): 19-23.
- [5] Yu P Z, Zhang Q B, Li N, et al. Polysaccharides from *Ulva pertusa* (Chlorophyta) and preliminary studies on their antihyperlipidemia activity [J]. Journal of Applied Phycology, 2003, 15(1): 21-27.
- [6] Miao X, Sun W, Fu Y, et al. Zinc homeostasis in the metabolic syndrome and diabetes [J]. Frontiers of Medicine, 2013, 7(1): 31-52.
- [7] 卞俊, 储智勇, 鲍蕾蕾, 等. 孔石莼多糖对小鼠免疫功能的影响 [J]. 中国生化药物杂志, 2006, 27(5): 276-279.
- [8] Li W, Wang K, Jiang N, et al. Antioxidant and antihyperlipidemic activities of purified polysaccharides from *Ulva pertusa* [J]. Journal of Applied Phycology, 2018(30): 1-9.
- [9] Cruz K J C, Oliveira A R S D, Marreiro D D N. Antioxidant role of zinc in diabetes mellitus [J]. World Journal of Diabetes, 2015, 6(2): 333-337.
- [10] Li C, Huang Q, Xiao J, et al. Preparation of *Prunella vulgaris* polysaccharide-zinc complex and its antiproliferative activity in HepG2 cells [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 91: 671-679.
- [11] 赵姝雯, 夏宇, 陈贵堂, 等. 金针菇多糖-Zn²⁺螯合物对L929肿瘤细胞的增殖抑制作用及其抗氧化活性 [J]. 食品科学, 2016, 37(5): 202-207.
- [12] 汤陈鹏, 吕峰, 王蓉琳. Box-Behnken 响应面法优化孔石莼多糖络合锌工艺 [J]. 渔业研究, 2018, 40(5): 366-373.
- [13] 熊政委, 董全, 王强. 菊糖面包对STZ糖尿病小鼠血脂、血糖的影响 [J]. 食品工业科技, 2015, 36(20): 368-370, 376.
- [14] 石莹莹. 参葛酚酮胶囊对糖尿病神经病变的作用及机制研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2014.
- [15] 黄继江, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2004, 9(9): 1069-1072.
- [16] 杨蕾, 舒雯, 姚冬冬, 等. 葛根素对链脲佐菌素诱导的糖尿病小鼠降糖作用 [J]. 中国医院药学杂志, 2014, 34(16): 1338-1342.
- [17] Yuan X Q, Gu X H, Tang J, et al. Hypoglycemic effect of semipurified peptides from *Momordica charantia* L. var. *abbreviate* Ser. in alloxan induced diabetic mice [J]. Journal of Food Biochemistry, 2008, 32(1): 107-121.
- [18] 郑国亚, 张金宝, 刘顺梅, 等. 链脲佐菌素诱导C57BL/6J和昆明小鼠I型糖尿病模型的比较 [J]. 中国生化药物杂志, 2016, 36(1): 20-22.
- [19] 许樟荣. 糖耐量受损早期干预的临床意义及其存在的问题 [J]. 中华医学杂志, 2004, 84(21): 1765-1767.
- [20] 邢莎莎, 陈超. 香椿子总多酚对糖尿病小鼠的降血糖作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(11): 169-171.
- [21] Wada J, Makino H. Innate immunity in diabetes and diabetic nephropathy [J]. Nature Reviews Nephrology, 2016, 12(1): 13-26.
- [22] Avramoglu R K, Basciano H, Adeli K. Lipid and lipoprotein dysregulation in insulin resistant states [J]. Clinica Chimica Acta, 2006, 368(1): 1-19.
- [23] Moukette M B, Pieme C A, Nya Biapa P C, et al. *In vitro* antioxidant and anti-lipoperoxidative activities of bark extracts of *Xylopia aethiopica* against ion-mediated toxicity on liver homogenates [J]. J Complement Integr Med, 2015, 12(3): 195.
- [24] Bhatia S, Rathee P, Sharma K, et al. Immuno-modulation effect of sulphated polysaccharide (porphyran) from *Porphyra vietnamensis* [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 57(6): 50-56.
- [25] Atkinson M A, Eisenbarth G S, Michels A W. Type 1 diabetes [J]. Lancet, 2014, 383(9911): 69-82.
- [26] Esposito K. Inflammatory cytokine concentrations are acutely increased by hyperglycemia in humans: Role of oxidative stress [J]. Circulation, 2002, 106(16): 2067-2072.
- [27] Giugliano D, Ceriello A, Esposito K. Glucose metabolism and hyperglycemia [J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2008, 87(1): 217S-222S.
- [28] Wang P C, Zhao S, Yang B Y, et al. Anti-diabetic polysaccharides from natural sources: A review [J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 148: 86-97.
- [29] 侯小涛, 何耀涛, 杜正彩, 等. 降糖植物多糖来源及其降糖活性研究 [J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(2): 358-360.
- [30] 原丽, 林文庭. 海藻多糖降血糖作用及其构效关系的研究 (下转第309页)

随机对照试验评价了摄入不同剂量(4、8、12 g/d)聚葡萄糖对健康志愿者机体生理功能的影响,肠道功能评价结果表明,干预28 d后,3个剂量均明显增加了粪便频率,改善了排便困难,而且没有腹痛、腹泻等不良反应。Adele Costabile等^[15]的研究发现,补充聚葡萄糖8 g/d,持续3周,对健康受试者的排便习惯有影响,并且无腹部不适感,排便困难和排便规律有改善。Timm等^[18]的研究发现,每天摄入聚葡萄糖20 g,连续10 d,粪便数量和排便量明显增加,粪便更软,pH降低,但肠道传输时间未发生变化;而且聚葡萄糖干预组腹胀、肠鸣音较对照组严重。

根据以上文献报道,聚葡萄糖在人群试验中的使用量在8~20 g左右。本研究显示聚葡萄糖在高剂量3 g/kg时具有润肠通便功能,若以人60 kg标准体重计算,种属间换算系数计为10,则人体每天聚葡萄糖剂量为18 g,在人群试验的使用剂量范围内,但剂量较高,这可能与种属差异、聚葡萄糖聚合度差异、干预时间等有关。聚葡萄糖是随机交联的葡萄糖组成的多糖,其聚合度在2~120之间,平均聚合度大于12,不同原料厂家生产的聚葡萄糖,其聚合度可能存在差异,进而影响其功能。干预时间也影响聚葡萄糖改善肠道的功能,Duncan等研究发现^[22],聚葡萄糖短期摄入并不能缩短肠道传输时间。

本研究为聚葡萄糖在通便功能食品中的剂量设计提供了一定的依据,但存在一定的局限性。本实验仅设计了3个剂量组,初步评价了其润肠通便效果和有效剂量,未探讨聚葡萄糖润肠通便的机制,进一步的实验可设置多个剂量组,并设置不同干预时间,研究聚葡萄糖润肠通便功能的最低有效剂量和干预时间,并探讨其可能的机制,为聚葡萄糖通便类功能食品的研发提供数据支持。

参考文献

[1] 中华医学会消化病学分会胃肠动力组.中国慢性便秘诊治指南(2013版)[J].中国消化杂志,2013,33(5):291-297.
 [2] 向雪莲,侯晓华.《2013年中国慢性便秘诊治指南》重点解读[J].中国实用外科杂志,2013,33(11):940-942.
 [3] 于普林,李增金,郑宏,等.老年人便秘流行病学特点的初步分析[J].中华老年医学杂志,2001,20(2):132-134.
 [4] 蔡云清,王惠娟,张旭,等.南京市老年人便秘患病率及其与亚健康症状关系的调查[J].中华老年医学杂志,2004,23(4):267-269.
 [5] 中国营养学会.中国居民膳食营养素参考摄入量(2013版)[M].北京:科学出版社,2014:464.
 [6] 方秀才,刘宝华.慢性便秘[M].北京:人民卫生出版社,2015:125.
 [7] 杨月欣,李宁.营养功能成分应用指南[M].北京:北京大学医学出版社,2011:156-157.

[8] Do Carmo M M, Walker J C, Novello D, et al. Polydextrose: Physiological function, and effects on health[J]. Nutrients, 2016, 8(9):1-13.
 [9] Raza G S, Putaala H, Hibberd A A, et al. Polydextrose changes the gut microbiome and attenuates fasting triglyceride and cholesterol levels in Western diet fed mice[J]. Sci Rep, 2017, 7(1):5294.
 [10] 辛修锋.膳食纤维聚葡萄糖的生理功能研究进展[J].中国食品添加剂,2011(21):128-132.
 [11] Soong Y Y, Lim W X, Leow M K, et al. Combination of soya protein and polydextrose reduces energy intake and glycaemic response via modulation of gastric emptying rate, ghrelin and glucagon-like peptide-1 in Chinese[J]. Br J Nutr, 2016, 115(12):2130-2137.
 [12] 张莉,袁卫涛,薛雅莺,等.聚葡萄糖的应用研究进展[J].精细与专用化学品,2012,20(9):38-40.
 [13] 陈智慧,庞明利,杨海军.水溶性膳食纤维聚葡萄糖的功能研究与应用现状[J].中国乳业,2012(4):52-55.
 [14] 王莹,王鸿,周金花,等.聚葡萄糖治疗功能性便秘的临床疗效分析[J].氨基酸和生物资源,2011,33(3):56-57.
 [15] Adele Costabile, Francesca Fava, Hema, et al. Impact of polydextrose on the faecal microbiota: A double-blind, crossover, placebo-controlled feeding study in healthy human subjects[J]. British Journal of Nutrition, 2012, 108, 471-481.
 [16] Ibarra A, Pelipygina T, Rueffer M, et al. Efficacy of polydextrose supplementation on colonic transit time, bowel movements, and gastrointestinal symptoms in adults: A double-blind, randomized, placebo-controlled trial[J]. Nutrients, 2019, 11(2):439.
 [17] Shimada M, Nagano N, Goto S, et al. Effect of polydextrose intake on constipation in Japanese dialysis patients: A triple-blind, randomized, controlled trial[J]. J Nutr Sci Vitaminol, 2015, 61(4):345-335.
 [18] Timm D A, Thomas W, Boileau T W, et al. Polydextrose and soluble corn fiber increase five-day fecal wet weight in healthy men and women[J]. J Nutr, 2013, 143(4):473-478.
 [19] Hengst C I, Ptok S, Roessler A, et al. Effects of polydextrose supplementation on different faecal parameters in healthy volunteers[J]. Int J Food Sci Nutr, 2009, 60 Suppl 5:96-105.
 [20] Jie Z, Bang Yao L, Ming Jie X, et al. Studies on the effects of polydextrose intake on physiologic functions in Chinese people[J]. Am J Clin Nutr, 2000, 72(6):1503-1509.
 [21] Hengst C, Ptok S, Roessler A, et al. Effects of polydextrose supplementation on different faecal parameters in healthy volunteers[J]. Int J Food Sci Nutr, 2009, 60 Suppl 5:96-105.
 [22] Duncan P I, Enters-Weijnen C F, Emami N, et al. Short-term daily intake of polydextrose fiber does not shorten intestinal transit time in constipated adults: A randomized controlled trial[J]. Nutrients, 2018, 10(7):920.

(上接第300页)

究进展[J].海峡预防医学杂志,2011,17(2):26-28.
 [31] 刘华钢,梁秋云,蒙华琳,等.仙人掌果多糖提取物降血糖作用的实验研究[J].中药材,2010,33(2):240-242.
 [32] 叶丹榕,黄月娥,陈锦权,等.鲍鱼脏器粗多糖对糖尿病

小鼠生理功能的影响[J].现代食品科技,2014(4):26-33.
 [33] 徐先祥,黄玉香,夏伦祝,等.太子参多糖对糖尿病小鼠抗氧化能力与胰腺病理的影响[J].食品工业科技,2012,33(24):392-393.