

发酵桦褐孔菌对链脲佐菌素诱导的Ⅱ型糖尿病大鼠降血糖作用的影响

Hypoglycemic effect of fermented *Inonotus obliquus* on type II diabetic rats induced by streptozotocin

徐正哲¹ 王飞雪² 王昊月² 马伟平²

XU Zheng-zhe¹ WANG Fei-xue² WANG Hao-yue² MA Wei-ping²

白金² 林墨³ 李官浩³ 陈正爱²

BAI Jin² LIN Mo³ LI Guan-hao³ CHEN Zheng-ai²

(1. 延边大学附属医院, 吉林 延吉 133000; 2. 延边大学医学院, 吉林 延吉 133002;

3. 延边大学食品研究中心, 吉林 延吉 133002)

(1. Affiliated Hospital of Yanbian University, Yanji, Jilin 133002, China; 2. College of Medicine, Yanbian University, Yanji, Jilin 133002, China; 3. Food Research Center, Yanbian University, Yanji, Jilin 133002, China)

摘要: 通过高脂饮食联合腹腔注射链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)的方法建立Ⅱ型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)大鼠模型, 探讨发酵桦褐孔菌(fermented *Inonotus obliquus*, FIO)对 T2DM 大鼠的血糖、血脂及抗氧化作用的影响。结果表明: 与模型组相比较, FIO 可显著降低 T2DM 大鼠的空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)、促进肝糖原(hepatic glycogen, HGln)合成、改善胰岛素(insulin, INS)抵抗, 使总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、游离脂肪酸(free fatty acids, FFA)、低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)及丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量显著下降, 高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)含量和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)的活性显著上升。说明 FIO 能够降低Ⅱ型糖尿病大鼠血糖, 改善脂质代谢及氧化应激水平。

关键词: 发酵桦褐孔菌; Ⅱ型糖尿病; 链脲佐菌素; 降血糖作用

Abstract: To test effects of FIO on blood glucose, blood lipid, and antioxidation in type II diabetes, the type II diabetic rat model was established by high fat diet-feeding combined with intraperitoneal injection of STZ. The results showed that FIO significantly lowered

FBG levels, promoted synthesis of HGln, and improved insulin resistance in the type II diabetic rats, compared to untreated control diabetic animals. In addition, FIO not only significantly decreased TC, TG, FFA, LDL and MDA in serum, but also dramatically increased the HDL in serum and the activities of SOD in type II diabetic rats. Our study showed that FIO significantly lowered high blood glucose, improved lipid metabolism and antioxidant ability.

Keywords: fermented *inonotus obliquus*; type II diabetes mellitus; streptozotocin; hypoglycemic

桦褐孔菌[*Inonotus obliquus* (Fr.) Pilat]是一种寄生于白桦树(*Betula platyphylla*)等阔叶树上的白腐菌, 属于真菌门、担子菌纲、多孔菌目、多孔菌科、褐卧孔菌属。主要分布于亚洲、欧洲及北美洲等低纬度地区。桦褐孔菌含有多糖、多酚、萜类及类固醇等化合物, 具有降血糖、降血脂、调节免疫、抗肿瘤、抗辐射、抗氧化、抗寄生虫等多种药理作用^[1-3]。野生桦褐孔菌生长周期长、易受污染, 获得菌丝较困难, 而人工栽培方法较难控制生长条件及产物质量。发酵是易于控制、经济高效且无重金属污染的培养方法。笔者^[2]前期研究发现 FIO 中多糖、 β -葡聚糖等具有降血糖作用成分的含量明显高于未发酵桦褐孔菌(unfermented *Inonotus obliquus*, UIO), 因此本试验采用高脂饮食联合腹腔注射 STZ 的方法建立Ⅱ型糖尿病大鼠模型, 通过检测大鼠血清中 FBG、HGln、TC、TG、FFA、HDL、LDL、SOD、MDA 及 INS 等含量, 进一步探讨 FIO 对Ⅱ型糖尿病大鼠降血糖作用的优势。

基金项目: 吉林省科技厅重点项目(编号: 20140307011YY); 吉林省教育厅重点项目(编号: 吉教科合字[2015]第 8 号)

作者简介: 徐正哲, 男, 延边大学附属医院副教授, 博士。

通信作者: 陈正爱(1968—), 女, 延边大学医学院副教授, 博士。

E-mail: zhachen@ybu.edu.cn

收稿日期: 2017-05-13

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 试验动物及材料

SD 雄性大鼠:由延边大学动物实验中心提供;
基础饲料:由延边大学动物实验中心提供,符合国家动物饲料标准;
脂肪乳:其中含有 25%猪油,1%胆固醇,1%丙硫氧嘧啶,25%吐温-80,20%1,2-丙二醇,由本实验室自制;
FIO:延边高丽酿造有限公司。

1.1.2 试剂

STZ:≥98%,批号 WXB2432V,美国 Sigma 公司;
FBG、TC、TG、HDL、LDL、FFA、MDA、SOD 及 HGln 等试剂盒:南京建成生物工程研究所产品。

1.1.3 主要仪器与设备

分光光度计:723 型,上海菁华科技仪器有限公司;
酶标仪:S/D 601-0393 型,德国 BMG LABTECH 公司。

1.2 方法

1.2.1 II 型糖尿病大鼠模型的建立 SD 雄性大鼠灌胃脂肪乳(10 mL/kg)15 d 后,腹腔注射 STZ(30 mg/kg)^[3-4] 2 次,1 周后,大鼠禁食不禁水 12 h 后,断尾采血,检测大鼠血清中 FBG 含量,FBG>7.8 mmol/L 视为糖尿病大鼠^[5-6]。

1.2.2 分组与给药 将造模成功的大鼠按血糖值高低随机分为 4 组,分别为模型组、FIO 组、UIO 组和盐酸二甲双胍阳性对照组,除模型组外其余各组大鼠分别给 FIO(2 g/kg)、UIO (2 g/kg)^[2] 以及盐酸二甲双胍(900 mg/kg),连续灌胃 8 周,给药期间大鼠每 2 d 灌胃一次脂肪乳。

1.2.3 生化指标的检测 大鼠禁食不禁水 12 h,心脏采血,分离血清,按照试剂盒说明书方法检测血清中 FBG、TC、TG、HDL、LDL、FFA、MDA 和 SOD 含量,Elisa 法检测大鼠血清中胰岛素的含量,计算胰岛素敏感指数(insulin sensitivity index, ISI)和胰岛素抵抗指数(Homa- insulin resistance, Homa-IR);采集大鼠肝脏,蒽酮法测定大鼠肝糖原含量。

1.2.4 统计分析 采用 SPSS 16.0 软件进行统计分析,试验数据以均数±标准差($\bar{X} \pm SD$)表示,进行 *t* 检验和单因素方差分析,以 P<0.05 为有差异,具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 FIO 对 II 型糖尿病大鼠 FBG 水平和 HGln 含量的影响

由表 1 可知,与正常组比较,模型组大鼠 FBG 和 HGln 含量有显著性差异(P<0.01);与模型组比较,UIO 与 FIO 均可使糖尿病大鼠血清中 FBG 含量显著降低(P<0.01),HGln 含量显著升高(P<0.01),且 FIO 组大鼠 HGln 含量明显高于 UIO 组(P<0.01);与盐酸二甲双胍阳性对照组比较,FIO 组大鼠的 HGln 含量有显著差异(P<0.05)。表明 II 型糖尿病是由于胰岛素抵抗(Insulin resistance, IR)和胰岛素分泌不足引起的内分泌型疾病。正常情况下,机体可通过胰高血糖素与胰岛素共同作用来调节血糖水平,当机体产生 IR 或

胰岛素分泌不足时,会过多地分泌胰高血糖素,促进肝糖原的分解,导致机体的血糖升高。研究发现 FIO 可显著降低 II 型糖尿病大鼠血糖水平,明显促进肝糖原合成,且在促进肝糖原合成方面,FIO 的效果优于 UIO,说明 FIO 可使基础糖代谢恢复正常,减少了肝糖元的异生,与笔者^[4]前期研究结果相一致。

表 1 FIO 对 II 型糖尿病大鼠 FBG 水平和 HGln 含量的影响[†]

Table 1 Effects of FIO on FBG Level and HGln Content in type II diabetic rats

组别	FBG/(mmol·L ⁻¹)	HGln/(mg·g ⁻¹)
正常组	5.87±1.91	18.50±3.22
模型组	14.07±5.05 ^a	5.05±2.53 ^a
UIO 组	7.43±1.27 ^b	22.22±2.16 ^b
FIO 组	7.92±1.43 ^b	28.40±12.65 ^{bde}
盐酸二甲双胍组	6.50±2.27 ^b	15.60±3.79 ^c

[†] a 表示与正常组比较,P<0.01; b 表示与模型组比较,P<0.01; c 表示与模型组比较,P<0.05; d 表示与 UIO 组比较 P<0.01; e 表示与盐酸二甲双胍组比较,P<0.05。

2.2 FIO 对 II 型糖尿病大鼠血清 FFA 含量的影响

由表 2 可知,与正常组比较,模型组大鼠血清中 FFA 含量显著升高(P<0.01);与模型组比较,UIO 可降低 II 型糖尿病大鼠血清中 FFA 的含量(P<0.05),FIO 能够显著降低 II 型糖尿病大鼠血清中 FFA 含量(P<0.01),且 FIO 组大鼠血清中 FFA 含量低于 UIO 组(P<0.05);但与盐酸二甲双胍阳性对照组比较,FIO 组大鼠血清中的 FFA 含量无显著差异。脂代谢紊乱尤其是 FFA 水平增高可诱发糖尿病的发生^[7],机体中 FFA 含量过高易发生再脂化,并异位沉积于非脂肪器官,使周围组织对胰岛素敏感性降低^[8],产生 IR,本试验的研究发现 FIO 可显著降低 II 型糖尿病大鼠的 FFA,说明 FIO 可通过调节脂质代谢改善大鼠的胰岛素抵抗。

2.3 FIO 对 II 型糖尿病大鼠血清 TC、TG 含量的影响

由表 3 可知,与正常组比较,模型组大鼠血清中 TC、TG 含量均显著升高(P<0.01);与模型组比较,UIO 和 FIO 均可使 II 型糖尿病大鼠血清中 TC、TG 含量显著降低(P<0.01);

表 2 FIO 对 II 型糖尿病大鼠血清 FFA 含量的影响[†]

Table 2 Effect of FIO on FFA Contents in type II diabetic rats

组别	FFA/(μmol·L ⁻¹)
正常组	367.47±121.53
模型组	815.67±320.62 ^a
UIO 组	570.25±213.73 ^c
FIO 组	375.24±125.38 ^{bd}
盐酸二甲双胍组	339.32±106.64 ^b

[†] a 表示与正常组比较,P<0.01;b 表示与模型组比较,P<0.01;c 表示与模型组比较,P<0.05;d 表示与 UIO 组比较,P<0.05。

表 3 FIO 对Ⅱ型糖尿病大鼠血清 TC、TG 含量的影响[†]

Table 3 Effects of FIO on TC and TG in type Ⅱ diabetic rats

mmol/L

组别	TC	TG
正常组	1.54±0.30	0.51±0.22
模型组	2.28±0.24 ^a	1.32±0.57 ^a
UIO 组	1.74±0.26 ^b	0.53±0.10 ^b
FIO 组	1.52±0.20 ^b	0.41±0.22 ^b
盐酸二甲双胍组	1.47±0.26 ^b	0.41±0.14 ^b

† a 表示与正常组比较,P<0.01;b 表示与模型组比较 P<0.01。

但与盐酸二甲双胍阳性对照组比较,FIO 组大鼠血清中 TC、TG 含量无显著差异。

2.4 FIO 对Ⅱ型糖尿病大鼠血清 HDL、LDL 含量的影响

由表 4 可知,与正常组比较,模型组大鼠血清中 HDL 和 LDL 水平均有显著性差异(P<0.01);与模型组比较,UIO 可增加Ⅱ型糖尿病大鼠血清中 HDL 含量(P<0.05)、显著降低 LDL 含量(P<0.01),FIO 可使Ⅱ型糖尿病大鼠血清中 HDL 含量显著升高(P<0.01)、LDL 水平显著降低(P<0.01),且 FIO 对 HDL、LDL 的调节作用强于 UIO(P<0.05);但与盐酸二甲双胍阳性对照组比较,FIO 组大鼠血清中 HDL 和 LDL 含量无显著差异。说明当机体产生 IR 时,机体血液中 TG 和 LDL 明显升高,引起脂质代谢异常^[9-10],通过表 2 和表 3 发现,FIO 可使Ⅱ型糖尿病大鼠血清中 TC、TG、LDL 含量明显降低,HDL 明显升高,可能通过改善 T2DM 大鼠的脂毒性调节糖尿病大鼠的脂代谢紊乱。

表 4 FIO 对Ⅱ型糖尿病大鼠血清 HDL、LDL 含量的影响[†]

Table 4 Effects of FIO on HDL and LDL in type Ⅱ diabetic rats

mmol/L

组别	HDL	LDL
正常组	1.59±0.65	0.52±0.25
模型组	0.53±0.23 ^a	1.41±0.27 ^a
UIO 组	0.96±0.35 ^c	0.82±0.50 ^b
FIO 组	1.48±0.32 ^{bd}	0.45±0.17 ^{bd}
盐酸二甲双胍组	1.23±0.34 ^b	0.47±0.20 ^b

† a 表示与正常组比较,P<0.01; b 表示与模型组比较,P<0.01; c 表示与模型组比较 P<0.05;d 表示与 UIO 组比较 P<0.05。

2.5 FIO 对Ⅱ型糖尿病大鼠血清 SOD 活性及 MDA 含量的影响

由表 5 可知,与正常组比较,模型组大鼠血清中 MDA 含量及 SOD 活性均有显著性差异(P<0.01);与模型组比较,UIO 与 FIO 均可使Ⅱ型糖尿病大鼠血清 MDA 含量显著降低(P<0.01)、SOD 水平显著提高(P<0.01);与盐酸二甲双胍阳性对照组比较,FIO 组大鼠血清中 SOD 活性具有显著性差异(P<0.01)。长期高血糖和高血脂可使机体自由基增加,导致机体始终处于氧化应激状态,从而使胰岛 B 细胞凋亡,造成肝脏、骨骼肌等胰岛素主要靶组织的损伤^[11-12]。本试验通过测定 SOD 活性与 MDA 含量间接反映机体氧化应

表 5 FIO 对Ⅱ型糖尿病大鼠血清 SOD 活性及 MDA 含量的影响[†]

Table 5 Effects of FIO on SOD activity and MDA content in type Ⅱ diabetic rats

组别	MDA/ (mmol·mg ⁻¹ ·Prot)	SOD/ (U·mg ⁻¹ ·Prot)
正常组	2.00±0.81	154.91±11.3
模型组	8.39±1.36 ^a	131.72±24.1 ^a
UIO 组	3.30±1.88 ^b	158.77±31.61 ^b
FIO 组	2.30±1.98 ^b	174.04±17.5 ^{bd}
盐酸二甲双胍组	2.97±2.18 ^b	149.85±8.10 ^c

† a 表示与正常组比较,P<0.01;b 表示与模型组比较,P<0.01; c 表示与模型组比较,P<0.05; d 表示与盐酸二甲双胍组比较,P<0.01。

激状态^[13]。结果表明,FIO 与 UIO 均可使Ⅱ型糖尿病大鼠 SOD 活性显著提高,MDA 含量显著降低。说明 FIO 可提高机体抗氧化能力,改善脂质过氧化。

2.6 FIO 对Ⅱ型糖尿病大鼠胰岛素分泌功能及胰岛素抵抗的影响

由表 6 可知,与正常组相比,模型组大鼠的 ISI 显著下降(P<0.01),Homa-IR 明显升高(P<0.01);与模型组比较,FIO 可使Ⅱ型糖尿病大鼠的 ISI 升高、Homa-IR 明显降低(P<0.01);但与盐酸二甲双胍阳性对照组比较,FIO 组大鼠的 ISI 和 Homa-IR 无显著差异。在持续高血糖和 IR 的双重刺激下,机体对胰岛素的敏感性下降,使胰岛 B 细胞代偿性分泌胰岛素,进而加深 IR 程度,因此对 IR 及 ISI 进行检测,可有效地评估胰岛素敏感性、胰岛素抵抗水平与胰岛 B 细胞功能^[14-15]。本试验发现,FIO 可使Ⅱ型糖尿病大鼠的 ISI 升高,Homa-IR 明显降低,表明 FIO 可能通过促进葡萄糖转运蛋白从细胞内重新分布到细胞膜,而加速葡萄糖的转运,引起血糖的下降^[16]。

表 6 FIO 对Ⅱ型糖尿病大鼠血清 INS 含量以及 ISI、Homa-IR 的影响[†]

Table 6 Effect of FIO on INS, ISI and Homa-IR in type Ⅱ diabetic rats

组别	INS/ (μIU·mL ⁻¹)	Homa-IR	ISI
正常组	10.15±0.61	6.19±2.09	-3.96±0.51
模型组	9.25±0.17	14.66±5.38 ^a	-4.70±0.47 ^a
UIO 组	9.60±0.61	6.80±1.83 ^b	-3.93±0.57 ^b
FIO 组	11.25±0.65	7.85±1.42 ^b	-4.13±0.47 ^c
盐酸二甲双胍组	8.05±0.36	6.74±2.41 ^b	-3.86±0.43 ^b

† a 表示与正常组比较,P<0.01;b 表示与模型组比较,P<0.01; c 表示与模型组比较,P<0.05。

3 结论

本试验研究表明 FIO 具有显著的降血糖作用,可能与其降低肝糖原分解、促进胰岛素分泌、改善脂质代谢及提高机

体抗氧化水平有关,且 FIO 分解肝糖原及调节 FFA、HDL、LDL 的作用优于 UIO。本研究仅对 FIO 粗提物进行了研究,后续将制备出单体,并对其物质基础与作用机制作深入研究。

参考文献

[1] 常晨,包怡红.桦褐孔菌多糖的研究进展[J].食品与机械,2017,33(1):201-204.

[2] 徐正哲,朴花子,白金,等.发酵桦褐孔菌的降低血糖作用实验研究[J].延边大学医学学报,2014,37(3):170-172.

[3] 魏占英,沈丽,冯晓慧,等.高脂饲料喂养时间和 STZ 剂量对建立 2 型糖尿病大鼠模型的影响[J].医学研究杂志,2014,43(2):42-46.

[4] 张继媛,刘金福,肖萍,等.三种植物提取物对 II 型糖尿病小鼠糖脂代谢改善作用研究[J].食品与机械,2016,33(12):142-147.

[5] CAO Shi-cheng, LI Bo-wen, YI Xue-jie, et al. Effects of Exercise on AMPK Signaling and Downstream Components to PI3K in Rat with Type 2 Diabetes[J]. PLoS ONE, 2012, 7(12): 1-12.

[6] 殷成坤,刘燕,李晓霞,等.高脂饮食联合 STZ 建立 2 型糖尿病大鼠模型稳定性观察[J].川北医学院学报,2016,31(2):178-182.

[7] DOWMAN J K, TOMLINSON J W, NEWSOME P N. Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease[J]. Q J Med, 2010, 103(2): 71-83.

[8] GARY W. Possible effects of dietary polyphenols on sugar ab-

sorption and digestion [J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2013, 57: 48-57.

[9] SHAMS M E, AL-GAYYAR M M, BARAKAT E A. Type 2 diabetes mellitus-induced hyperglycemia in patients with NAFLD and normal LFTs: relationship to lipid profile, oxidative stress and pro-inflammatory cytokin[J]. Sci Pharm, 2011, 79(3): 623-634.

[10] WONG B X W, KYLE R A, MYHILL P C, et al. Dyslipidemic diabetic serum increases lipid accumulation and expression of stearoyl-CoA desaturase in human macrophages[J]. Lipids, 2011, 46(10): 931-941.

[11] 赵国莉,吕肖锋,程千鹏.氧化应激与 2 型糖尿病相关性的观察[J].中国糖尿病杂志,2013,21(6):514-517.

[12] GIACCO F, BROWNLEE M. Oxidative stress and diabetic complications[J]. Circ Res, 2010, 107(9): 1 058-1 070.

[13] LARTIGUE A, BURLAT B, COUTARD B, et al. The megavirus chilensis Cu, Zn- superoxide dismutase: the first viral structure of a typical cellular copper chaperone- independent hyperstable dimeric enzyme[J]. J Virol, 2015, 88(1): 824-832.

[14] 李莎,刘蕊,吴谊青,等.2 型糖尿病患者高胰岛素血症变化的研究[J].检验医学,2013,28(5):366-369.

[15] FUJINO H, ITODA S, SAKO S, et al. Reliability of HOMA-IR for evaluation of insulin resistance during perioperative period[J]. Masui, 2013, 62: 140-146.

[16] 王桂红,朱璐,吴勇,等.消渴胶囊对 2 型糖尿病模型大鼠血糖和血脂的作用[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(17):171-174.

(上接第 138 页)

[14] 李波,刘占宇,黄敬峰,等.基于 PCA 和 PNN 的水稻病虫害高光谱识别[J].农业工程学报,2009,25(9):143-147.

[15] 公丽艳,孟宪军,刘乃侨,等.基于主成分与聚类分析的苹果加工品质评价[J].农业工程学报,2014,30(13):276-285.

[16] 苏文浩,刘贵珊,何建国,等.高光谱图像技术结合图像处理方法检测马铃薯外部缺陷[J].浙江大学学报:农业与生命科学

版,2014,40(2):188-196.

[17] 赵进辉,吁芳,吴瑞梅,等.基于分段主成分分析与波段比的鸡胴体表面粪便污染物检测[J].激光与光电子学进展,2011,48(7):166-170.

[18] 蔡健荣,王建黑,黄星奕,等.高光谱图像技术检测柑橘果锈[J].光电工程,2009,36(6):26-30.

[19] 蔡健荣,王建黑,陈全胜,等.波段比算法结合高光谱图像技术检测柑橘果锈[J].农业工程学报,2009,25(1):127-131.

(上接第 142 页)

参考文献

[1] 谢晶,吴天.小型冷库开关门过程温度场的数值模拟[J].上海海洋大学学报,2006,15(3):333-339.

[2] 杨磊,汪小昆.冷藏库预冷降温过程中温度场的数值模拟与试验研究[J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2008,36(9):219-223.

[3] 刘妍玲,张岩,王世清,等.果蔬摆放形式对冷库内气流场分布影响的研究[J].青岛农业大学学报:自然科学版,2008,25(1):24-27.

[4] 缪晨,谢晶.空气幕的研究进展[J].食品与机械,2012,28(4):237-240,262.

[5] 缪晨,谢晶.冷库空气幕流场的非稳态数值模拟及验证[J].农业工程学报,2013,29(7):246-253.

[6] 谢晶,瞿晓华,施骏业.计算流体力学在食品工业中的应用[J].上海海洋大学学报,2004,13(2):170-175.

[7] 赵鑫鑫,王家敏,李丽娟,等.多温区冷藏车回风导轨对厢内温度场的影响分析[J].食品与机械,2014,30(1):149-154.

[8] 汤毅,谢晶,王金锋,等.CFD 预测风机摆设形式对冷库的影响[J].食品与机械,2012,28(1):124-128.

[9] 张登春,陈焕新,舒信伟,等.空调车内三维紊流流动与传热的模拟研究[J].铁道学报,2002,24(6):39-43.

[10] 吕全立,林金庭,陈效建,等.异质结构的流体动力学输运模型及其在 HBT 一维分析中的应用[J].固体电子学研究与发展,1994(2):108-115.

[11] 王彤,谷传纳,杨波,等.非定常流动计算的 PISO 算法[J].水动力学研究与进展,2003,18(2):233-239.