

鸡内金多糖对糖尿病高脂血症大鼠血脂、 血糖及细胞免疫功能的影响

蒋长兴, 蒋顶云*, 熊清平, 时晓娟, 李燕

(淮阴工学院生命科学与化学工程学院, 江苏 淮安 223003)

[摘要] 目的:研究鸡内金多糖(PECG)对糖尿病高脂血症模型的影响。方法:以高脂高糖饲料饲喂 Wistar 大鼠 30 d 后,腹腔注射链脲佐菌素,继续以高脂高糖饲料饲喂,并分别以 80,20 mg·kg⁻¹剂量的鸡内金多糖灌胃给药 40 d,测定血清血脂和血糖水平,计算胸腺指数和脾脏指数,检测淋巴细胞增殖能力,考察 PECG 对大鼠血脂、血糖及免疫功能的影响。结果:PECG 能显著降低糖尿病高脂血症大鼠总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平和空腹血糖浓度($P < 0.05$),升高高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、胸腺指数及脾指数($P < 0.05$),高剂量组大鼠的淋巴细胞转化能力增强,刺激指数(SI)明显升高($P < 0.05$)。结论:PECG 能有效降低糖尿病高脂血症大鼠血糖和血脂水平,并能改善其细胞免疫功能。

[关键词] 鸡内金多糖; 高脂血症; 糖尿病; 血脂; 血糖; 免疫功能

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)20-0255-04

Effect of Polysaccharides from *Galli Gigerii Endothelium Corneum* on Blood Lipid, Blood Glucose and Cellular Immune Function in Diabetes Mellitus Rats with Hyperlipidemia

JIANG Chang-xing, JIANG Din-yun*, XIONG Qing-ping, SHI Xiao-juan, LI Yan

(Faculty of Life Sciences and Chemical Engineering, Huaiyin Institute of Technology, Huai'an 223003, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effects of Polysaccharides from *Galli Gigerii Endothelium Corneum* (PECG) on blood lipid, blood glucose and immune function in diabetes mellitus rats with hyperlipidemia. **Method:** Wistar rats were feed with the high fat and sugar feedfor 30 d, then the rats was injected with streptozotocin intraperitoneally, continue to feed with high fat and sugar feed, meanwhile, administered orally with 80, 20 mg·kg⁻¹ dosages of PECG for 40 d. Blood lipid, blood glucose and immune function in rats of different groups was observed. The index thymus and spleen were calculated. **Result:** The levels of total cholesterol (TC), triacylglyceride (TG), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and blood glucose decreased significantly ($P < 0.05$) and those of high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), the index thymus and spleen increased greatly ($P < 0.05$) and SI increased obviously in rats of high dose PECG group ($P < 0.05$). **Conclusion:** PECG can decrease the level of fasting blood lipid and blood glucose in diabetes mellitus rats with hyperlipidemia and improved cellular immune function significantly.

[Key words] *Galli Gigerii Endothelium Corneum* polysaccharides; hyperlipidemia; diabetes mellitus; blood lipid; blood glucose; immune function

糖尿病是一种以高血糖为主要特点的常见内分泌代谢系统疾病之一。糖尿病患者临床上不仅存

[收稿日期] 20120427(003)

[基金项目] 江苏省科技厅工业支撑项目(BE2009098);淮南市工业基金项目(HAG07066)

[第一作者] 蒋长兴,博士,副教授,从事食品化学及毒理学的研究,Tel:0517-83591165,E-mail:jl1c2x3@gmail.com

[通讯作者] *蒋顶云,副教授,从事应用化学与仪器分析的研究,Tel:0517-83591165,E-mail:d.y.jiang1966@163.com

在糖代谢障碍,而且往往也存在脂肪代谢障碍及免疫功能低下^[1]。高脂血症是老年糖尿病最早并发症,也是引起动脉粥样硬化,冠心病、脑血管意外,最终导致糖尿病人死亡的主要因素^[2],而免疫功能缺陷是糖尿病易患各种感染的重要原因^[3]。因此,有效降脂、降糖和调节免疫功能是降低糖尿病危害的重要措施。鸡内金为脊索动物门雉科动物家鸡的干燥砂囊内壁,具有消食健胃、固精止遗,化坚消石等作用,其富含蛋白质、氨基酸、多糖等生物活性物质^[4],研究表明,绝大多数天然源多糖在降血脂、抗血栓、降血糖、提高机体免疫力等方面疗效显著^[5]。本实验旨在研究 PECG 对糖尿病高脂血症大鼠血脂、血糖及免疫功能的影响,为 PECG 临床应用于糖尿病高脂血症的治疗提供理论参考。

1 材料

1.1 动物 SPF 级 Wistar 大鼠,体重 180 ~ 200 g,雌雄各半,由广州中医药大学实验动物中心提供。动物许可证号 SCXK(粤)2011-0045。

1.2 药物 鸡内金为脊索动物门雉科动物家鸡(*Gallus gallus domesticus* Brisson)的干燥砂囊内壁,经广州中医药大学张丹雁教授鉴定为正品。试验药物为鸡内金的多糖提取物产品。将鸡内金洗净、晾干、粉碎,收集 20 ~ 40 目粉末。按料液比 1:15(m:V, g·mL⁻¹)的比例加入无水乙醇,于圆底烧瓶回流搅拌脱脂和脱色提取 2 次,弃去提取液,残渣于 80 °C 烘干。称取干燥粉末 100 g 于 5 L 圆底烧瓶中,加入去离子水(料液比为 1:30),于(90 ± 5) °C 搅拌回流提取 3 h,实验重复提取 2 次,合并提取液,于旋转蒸发仪中,减压浓缩至 100 ~ 150 mL,按无水乙醇比浓缩液 1:5 的比例加入无水乙醇,搅拌 20 ~ 30 min,静置 8 ~ 10 h,离心分离,弃去上清液,下层固体于 80 °C 烘干得粗多糖,粗多糖按文献工艺方法^[4](DEAE-纤维素柱层析和 Sephadex G-100 凝胶柱层析分离纯化,并用 Sevag 法除蛋白)进行分离纯化得类白色的 PECG,该多糖采用苯酚硫酸法测得其多糖含量为 93.13%。

1.3 试剂 高脂高糖饲料(20% 蔗糖 + 10% 猪油 + 2.5% 胆固醇 + 0.25% 胆盐 + 67.5% 基础饲料),上海起福生物科技有限公司产品,批号 20101231001;链脲佐菌素, Sigma 公司,批号 S0573,临用前用枸橼酸-枸橼酸钠缓冲液稀释成含 1% 链脲佐菌素稀释液;血清总胆固醇(TC)试剂盒,批号 1102016;甘油三酯(TG)试剂盒,批号 1004077;高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)试剂盒,批号 1111097;低

密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)试剂盒,均为中生北控生物科技股份有限公司,批号 1102016;肝素,北京双鹤药业股份有限公司,批号 1009014;DMSO,美国 Amresco 公司,批号 20100519;胰蛋白酶,美国 Amresco 公司,批号 20110574;MTT,美国 Amresco 公司,批号 20100453。

1.4 仪器 ECOM-F6124 半自动生化分析仪(德国 Eppendorf 公司);低温高速离心机(上海安亭科学仪器厂);GT1640 快速血糖测定仪(日本爱科来公司);酶标免疫测定仪(美国 Bio-Tek 公司);UV-2450 紫外可见分光光度计(日本岛津公司)。

2 方法

2.1 造模方法 大鼠按性别和体重随机分为 4 组,即正常对照组、模型组、PECG 高、低剂量组,每组 12 只。所有大鼠以基础饲料预饲 7 d 后,除正常对照组外,其余各组均以高脂高糖饲料喂养 30 d 后,禁食 12 h,按 100 mg·kg⁻¹的剂量腹腔注射链脲佐菌素稀释液,正常组注射等量的枸橼酸-枸橼酸钠缓冲液。除正常对照组外,其余各组继续以高脂高糖饲料饲喂,同时按 10 mL·kg⁻¹的给药量,PECG 高、低剂量组分别给以 PECG 80, 20 mg·kg⁻¹;正常对照组和模型组给以等容量生理盐水。各组每天给药 1 次,连续给药 40 d。每天称量记录大鼠体重。

2.2 检测方法

2.2.1 血脂及胸腺指数、脾指数检测 末次给药后禁食 12 h,乙醚麻醉,腹主动脉取血,分离血清,用酶学法测定血清中总胆固醇(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)。取血后立即处死大鼠,分离脾脏、胸腺,冰盐水洗净,称重并按文献方法^[6-7]计算胸腺指数和脾指数。

2.2.2 淋巴细胞转化实验 无菌取大鼠脾脏,用 Hank's 液洗 2 次,将脾脏放置不锈钢网(200 目)上,置于盛有适量 Hank's 液的小平皿中,用镊子轻轻将脾撕碎,用注射器针芯轻轻研压脾脏,制成单细胞悬液。经 200 目筛网过滤,用 Hank's 液洗 3 次,每次离心 1 000 r·min⁻¹, 10 min。倒去 Hank's 液,试管底部沉淀细胞即为效应细胞,加入完全 DMEM 培养液,计数细胞,用完全 DMEM 培养液调整细胞密度为 1 × 10⁶/mL 备用。在培养板孔中加入脾脏细胞液 100 μL,每个样加 6 孔,3 孔加入的 Con A (5 g·L⁻¹) 100 μL,另 3 孔加不含 Con A 的培养液 100 μL 作为对照。37 °C, 5% CO₂ 培养箱孵育 44 h,加 5 mg·L⁻¹的 MTT 10 μL,继续孵育 4 h,离心弃上

清,每孔加入 100 μL DMSO,振荡 15 min 后,用酶标仪以 570 nm 波长测定吸光度(A),并按文献方法[8]计算刺激指数 SI。

2.3 统计学方法 采用 SPSS 11.5 软件进行统计分析,实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间均数比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为有统计意义。

3 结果

3.1 对糖尿病高脂血症大鼠血脂的影响 模型组的 TC, TG, LDL-C 均明显升高,而 HDL-C 明显降低。对 TC 的影响,PECG 的高、低两个剂量组与模型组比较,组间差异极显著($P < 0.01$);对 TG 的影响,

PECG 的高剂量组与模型组比较,组间差异有显著意义($P < 0.01$);对 LDL-C 的影响,PECG 的高剂量组与模型组比较组间差异显著,低剂量组与模型组比较组间差异有显著意义($P < 0.05$)。对 HDL-C 的影响,PECG 的高剂量组与模型组比较组间差异显著($P < 0.01$)。对 LDL-C/ HDL-C 的影响,PECG 的高剂量组与模型组比较组间差异显著($P < 0.01$),低剂量组与模型组比较组间差异显著。实验表明 PECG 可明显预防糖尿病高脂血症大鼠血清 TC, TG 和 LDL-C 水平升高及 HDL-C 水平降低。见表 1。

表 1 PECG 对糖尿病高脂血症大鼠血脂的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量 / $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	TC / $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	TG / $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	LDL-C / $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	HDL-C / $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	LDL-C / HDL-C
对照	-	1.89 \pm 0.12 ²⁾	1.27 \pm 0.09 ¹⁾	0.71 \pm 0.14 ²⁾	1.61 \pm 0.29 ²⁾	0.44 \pm 0.11 ²⁾
模型	-	3.34 \pm 0.21	1.69 \pm 0.12	2.65 \pm 0.14	1.11 \pm 0.15	2.39 \pm 0.33
PECG	80	1.91 \pm 0.15 ²⁾	0.78 \pm 0.13 ²⁾	1.09 \pm 0.13 ²⁾	1.56 \pm 0.16 ²⁾	0.70 \pm 0.07 ²⁾
	20	2.05 \pm 0.10 ²⁾	1.42 \pm 0.19	1.79 \pm 0.17 ¹⁾	1.21 \pm 0.19	1.48 \pm 0.21 ¹⁾

注:与模型组相比¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ (表 2~3 同)。

3.2 PECG 对糖尿病高脂血症大鼠空腹血糖的影响 模型组空腹血糖明显高于正常组,PECG 的高、低剂量组与模型组比较,组间差异均有显著意义($P < 0.05$)。PECG 干预组明显低于模型组。实验表明,PECG 可明显降低糖尿病高脂血症大鼠的空腹血糖水平。见表 2。

表 2 PECG 对糖尿病高脂血症大鼠血糖的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量 / $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	血糖 / $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$
对照	-	5.53 \pm 0.66 ²⁾
模型	-	23.11 \pm 0.98
PECG	80	13.54 \pm 0.49 ²⁾
	20	18.15 \pm 0.30 ¹⁾

3.3 对糖尿病高脂血症大鼠脾脏、胸腺指数及淋巴细胞转化的影响 对脾脏指数的影响,PECG 的高剂量组与模型组比较,组间差异显著($P < 0.05$);对胸腺指数的影响,PECG 高、低剂量组与模型组比较,组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。对 SI 的影响,PECG 高剂量组与模型组比较,组间差异均有显著统计学意义($P < 0.05$),PECG 干预组明显低于模型组,提示 PECG 有较好的提高糖尿病高脂血症大鼠的淋巴细胞转化能力。实验表明,

PECG 可显著提高糖尿病高脂血症大鼠的脾脏、胸腺指数,促进淋巴细胞转化,改善其细胞的免疫功能。见表 3。

表 3 PECG 对糖尿病高脂血症大鼠脾脏、胸腺指数及淋巴细胞转化的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量 / $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	脾脏指数 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	胸腺指数 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	SI
对照	-	0.504 \pm 0.006 ²⁾	1.612 \pm 0.081 ²⁾	1.431 \pm 0.085 ²⁾
模型	-	0.424 \pm 0.011	0.634 \pm 0.015	0.721 \pm 0.027
PECG	80	0.459 \pm 0.023 ¹⁾	1.314 \pm 0.036 ²⁾	1.215 \pm 0.018 ²⁾
	20	0.432 \pm 0.019	0.941 \pm 0.031 ¹⁾	0.816 \pm 0.052

4 讨论

糖尿病患者常伴有脂代谢紊乱,其机制与糖尿病的类型有关。非胰岛素依赖型糖尿病病人由于周围组织胰岛素受体的敏感性降低和数量减少,发生胰岛素抵抗,血清胰岛素水平增高,但由于脂肪细胞膜上受体不敏感,对脂肪分解作用的抑制减弱,游离脂肪酸生成增多,进入肝脏转化为 TG 增多,而胰岛素促进脂肪合成,导致血中极低密度脂蛋白(VLDL)及 TG 增多。胰岛素依赖型糖尿病病人胰岛素相对缺乏,导致脂肪分解加速、加强,游离脂肪酸进入人肝而生成 TG 和酮体,毛细血管壁脂蛋白脂肪酶活性减低,于是乳糜微粒及 VLDL 分解减弱而

在血中浓度增高。糖尿病性脂代谢紊乱,以血清 TG 增高最明显,TC 轻度增高^[1]。有研究者认为 NIDDM 患者的血浆 HDL 水平降低,HDL 颗粒从周围组织摄取胆固醇的能力降低,导致胆固醇在这些部位的大量积聚,这可能是 NIDDM 患者动脉粥样硬化发病的重要因素^[9]。实验结果表明,PECG 可明显预防糖尿病高脂血症大鼠血清 TC, TG 和 LDL-C 水平升高及 HDL-C 水平降低。从而提高机体调节脂质代谢的能力,有效调节糖尿病高脂血症大鼠血清的 TC, TG, LDL-C 水平。

免疫力下降是糖尿病的特征,有学者认为是高血糖导致细胞膜代谢改变,从而影响了红细胞的免疫功能^[3],也有学者认为其可能与高血糖延缓淋巴细胞分裂和蛋白质糖基化导致免疫球蛋白功能低下有关^[10]。胸腺是 T 细胞分化和发育的场所,为机体重要的中枢免疫器官。脾脏是 T, B 细胞移居和接受抗原刺激从而产生免疫应答的重要场所,为机体重要的外周免疫器官。因此,胸腺指数和脾脏指数能在一定程度上反应免疫调节作用。淋巴细胞转化率的高低可反映机体细胞的免疫水平,是测定机体免疫功能的常用指标之一。实验结果表明,PECG 可明显提高糖尿病高脂血症大鼠脾脏指数和胸腺指数,促进淋巴细胞转化,改善其细胞免疫功能,并在一定程度上降低血糖,其降糖作用可能是其改善机体免疫功能的重要机制之一。

综上,PECG 能有效改善糖尿病高脂血症大鼠的血脂和血糖异常变化,提高机体免疫功能,在预防糖尿病高脂血症方面具有显著疗效和药用价值,值得进一步的研究开发。

[参考文献]

- [1] 刘淑梅,韩淑英,张宝忠,等. 荞麦种子总黄酮对糖尿病高脂血症大鼠血脂、血糖及脂质过氧化的影响[J]. 中成药,2003,25(8):662.
- [2] 雷勇,徐向进,杨洁. 糖尿病伴高脂血症的治疗[J]. 中国实用内科杂志,1999,19(4):249.
- [3] 李明龙,陈凌. 非胰岛素依赖型糖尿病患者的免疫功能研究[J]. 上海免疫学杂志,1996,16(1):26.
- [4] 张秋菊,尹卫东,席守民,等. 金樱子和鸡内金对饲高糖高脂血症大鼠血清中糖脂和胰岛素水平的影响[J]. 中国动脉硬化杂志,2003,11(3):227.
- [5] Gan D, Ma L, Jiang C, et al. Production, preliminary characterization and antitumor activity *in vitro* of polysaccharides from the mycelium of *Pholiota dinghuensis* Bi. [J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 84(3):997.
- [6] 李俊,黄艳,廖日权,等. 罗汉果多糖对小鼠免疫功能的影响[J]. 中国药理学通报,2008,24(9):1237.
- [7] 熊清平,张强华,徐燕萍,等. 白藜芦醇固体脂质纳米粒抑制小鼠移植性肿瘤 H22 的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(2):153.
- [8] 吕琳,陈永红. 壮医药线灸对脾虚大鼠淋巴细胞转化率及红细胞免疫功能的影响[J]. 广西中医药,2001,24(2):48.
- [9] 熊清平,石莹莹,张强华,等. 白藜芦醇对高脂血症大鼠血脂及血液流变学的影响[J]. 中药新药与临床药理,2011,22(5):517.
- [10] 张峰,高永峰,张继国. 四叶参多糖对糖尿病大鼠血糖及免疫功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(2):184.

[责任编辑 李玉洁]