

壳寡糖及其衍生物对糖尿病大鼠血脂代谢紊乱的影响及对肝脏的保护作用

刘冰¹, 秦贞奎¹, 林祥梅¹, 梅琳¹, 刘万顺², 韩宝芹²

(1. 中国检验检疫科学研究院 动植物检所, 北京 100025;

2. 中国海洋大学生命学院 生化教研室, 山东 青岛 266003)

[摘要] 目的: 研究壳寡糖、N-乙酰氨基单糖对糖尿病大鼠的血脂的影响和对肝脏的保护作用。方法: 腹腔注射 STZ 制备糖尿病大鼠模型, 连续 60 d 灌胃壳寡糖和 N-乙酰氨基单糖水溶液, 研究壳寡糖、N-乙酰氨基单糖对链脲佐菌素诱导的糖尿病大鼠降低餐后 2 h 血糖的作用。并对血脂和肝功能等指标进行测定, 肝脏做病理组织学检查。结果: 壳寡糖、N-乙酰氨基单糖能不同程度的改善糖尿病大鼠的体重减轻、多饮、多食等症状, 降低餐后 2 h 血糖值和尿糖。壳寡糖、N-乙酰氨基单糖可以显著降低血清中载脂蛋白 B、谷丙转氨酶、谷草转氨酶、总胆红素、间接胆红素、N-乙酰氨基葡萄糖苷酶的浓度, 并提高血清中载脂 A1/载脂 B、总蛋白、白蛋白、球蛋白、白球比、谷草/谷丙比值。不同剂量的壳寡糖、N-乙酰氨基单糖对肝脏均有保护作用。结论: 壳寡糖和 N-乙酰氨基单糖可以应用于糖尿病肝病的治疗。

[关键词] 壳寡糖; N-乙酰氨基单糖; 糖尿病大鼠; 调节血脂; 脂肪肝

[中图分类号] R587.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-9965(2009)04-0388-07

Effect of chitooligosaccharides and its derivatives on disturbing plasma lipid and protecting liver ability in diabetic rats induced by STZ

LIU Bing¹, QIN Zhen-kui¹, LIN Xiang-mei¹, MEI Lin¹, LIU Wan-shun², HAN Bao-qin²

(1. Institute of Animal and Plant Quarantine, Chinese Academy of Inspection and Quarantine, Beijing 100025, China;

2. College of Marine Life Sciences, Ocean University of China, Shandong Qingdao 266003, China)

[Abstract] **Aim:** To detect the effect of chitooligosaccharides and N-acetylglucosamine on disturbing plasma lipid and protecting liver ability in diabetic rats. **Methods:** The diabetic model of Wistar rats was duplicated with STZ once intraperitoneally. The diabetes treating groups were administered chitooligosaccharides and N-acetylglucosamine daily on 60 successive days. The 2 h plasma glucose were examined after 60 days. The activity of plasma fats and index about the function of liver in plasma of DM rats induced by STZ were measured after 60 days. The tissue slice of liver were stained by HE. **Results:** Chitooligosaccharides and N-acetylglucosamine have prominent effect on the general clinical symptom of DM rats, decrease the 2hPG and urine glucose. Chitooligosaccharides and N-acetylglucosamine decrease the level of

[收稿日期] 2008-12-12

[基金项目] 国家科研院所基本科研业务费资助项目(2008JK007); 国家科技支撑计划(2006BAD06A14)

[作者简介] 刘冰(1980-), 男, 副研究员, 博士后, 研究方向: 生物化学

通讯作者: 秦贞奎, 男, 研究员, Tel: 15910668661; E-mail: iceicecream1221@126.com

ApoA1、ALT、AST、TBIL、IBIL、NAG in plasma, increase the level of A1/B、TP、ALB、GLO、A/G、AST/ALT, compared with DM group had significant difference. All dose of chitooligosaccharides and N-acetylglucosamine have protective effects on liver. **Conclusion:** Chitooligosaccharides and N-acetylglucosamine can be used in the treatment of protecting liver in diabetes mellitus.

[Key words] chitooligosaccharides; N-acetyl glucosamine; Diabetic rat; disturbing plasma lipid; fatty liver

糖尿病(diabetes mellitus, DM)是一种常见的具有遗传倾向的内分泌代谢病^[1],是由于胰岛素绝对或相对不足所致的血糖及尿糖增高为主要特征的并导致糖、蛋白和脂肪代谢障碍全身慢性代谢异常综合症,常伴发心脑血管、肾、眼及神经等多种并发症,危害性大^[2]。糖尿病患者糖代谢的异常往往伴随着脂代谢异常,长期的脂代谢紊乱会引起中性脂肪甘油三酯在肝内蓄积过多,导致肝脏脂肪变性并进一步影响肝功能,使其代偿能力不足,对缺氧、中毒等的耐受性降低而容易发生肝功能衰竭。而且部分患者还可能进一步发展成为肝炎、肝纤维化和肝硬化。壳寡糖(chitooligosaccharides, COS)是壳聚糖的降解产物,分子量小,溶于水,可被人体、动物及植物机体吸收利用。研究发现,壳寡糖可提高机体免疫、抗肿瘤、降血糖、抗感染、防治病原生物感染、作为植物调节物质,作为促进双歧杆菌生长因子的研究等^[3-8]。本研究以全雄性 Wistar 大鼠为实验动物,观察了不同剂量壳寡糖及其衍生物 N-乙酰氨基单糖降低 STZ 诱导的糖尿病大鼠的血糖,改善脂代谢紊乱,减轻肝脏损伤的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物

封闭群纯系雄性 Wistar 大鼠 90 只(二级标准,许可证号:SCXK(鲁)20030010),体质量(200 ± 20)g,月龄 1~2 个月,购买于青岛市立医院动物试验中心,稳定饲养 1 周。

1.2 实验试剂及仪器

壳寡糖(D. D. = 90%, $M_n = 1\ 200$ Da),本实验室制备;N-乙酰氨基单糖($M_n = 221$ Da),本实验室制备;盐酸二甲双胍(北京中会药业,批号 H19983069);链脲佐菌素(Streptozocin, SIGMA);血糖、N-乙酰氨基葡萄糖苷酶测定试剂盒(南京建

成);TU-1800 紫外可见分光光度计(北京普析通用);血液生化全自动分析仪(奥林巴斯)。

1.3 实验方法

(1)模型制作 所有大鼠夜间禁食 12 h,自由饮水,STZ 临用前,将链脲菌素(1 200 mg)溶于 60 mL 无菌 0.1 mol/L 柠檬酸钠缓冲液中(pH = 4.2),制成质量分数为 2% 的链脲菌素溶液,大鼠称重并按 $65\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 一次性腹腔内注射(ip)STZ。正常对照组注射等量的柠檬酸钠缓冲液。注射 7 d 后,眼眶静脉丛采血检测餐后 2 h 血糖(2hPG),定性尿糖。尿糖在 +++ 以上,血糖 > 11.11 mmol/L,有多食、多饮、多尿症状者为成模标准。

(2)动物分组及受试物剂量 成模大鼠随机分为 9 组,每组 9 只:正常对照组(Normal control)、阴性对照组(DM):每日灌胃蒸馏水(质量分数为 10 mL/kg);二甲双胍组(Met):每日质量分数为 200 mg/kg 胃大鼠;壳寡糖和 N-乙酰氨基单糖组高、中、低剂量分别以 COS-H、COS-M、COS-L 和 NAG-H、NAG-M、NAG-L 表示:每日分别以质量分数为 1 500、500、250 mg/kg 灌胃大鼠,连续给予受试物 60 d。

(3)观察指标

①一般状态观察:每天观察各组大白鼠的一般健康状况、采食、饮水以及是否有异常。

②血糖测定:禁食 12 h 后大鼠灌胃葡萄糖水溶液(2.5 g/kg),于给糖后 2 h 眼眶后静脉丛采血,离心分离血清,试剂盒方法测定血糖值,60 d 前后各采血 1 次,。

③血脂测定:用自动血液生化分析仪测定同一批血样中的甘油三酯(TG)、总胆固醇(CHO)、载脂蛋白 A1 (ApoA)、载脂蛋白 B (ApoB)、载脂 A1/载脂 B(A/B)。

④肝功能指标的测定:夜间禁食 12 h,自由饮水,经大鼠腹主动脉采血,分离出血清后用自动血

液生化分析仪测定总蛋白(TP)、白蛋白、(ALB)球蛋白(GLO)、白球比(A/G)、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、谷草/谷丙比值(AST/ALT)、 γ -谷氨酰转肽酶(GGT)、总胆红素(TBIL)、直接胆红素(DBIL)。N-乙酰氨基葡萄糖苷酶的测定用试剂盒方法。

⑤器官系数:取血后将各组动物处死立即剖取肝、脾、肾、胸腺、胰腺5个器官,用吸水纸吸干表面血液,称重,计算器官系数=器官重量(g)/体重(kg)。

⑥病理组织学检查:连续灌胃给药60 d后,将各组大鼠扑杀、解剖,先肉眼观察有无病理变化,再取肝脏常规组织脱水、透明,制成石蜡切片,HE染色,光镜观察。

1.4 统计学处理

全部资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用SPSS 11.0 软件采用 One-Way ANOVA 进行多组样本均数的比较,组间比较采用 Duncan's 法, $P < 0.05$ 表示有统计学意义。

2 结果

2.1 一般状态观察

STZ 注射后 72 h,糖尿病大鼠逐渐出现多饮、多

尿、多食、搔痒,毛失去光泽、脱毛、消瘦、活动减少等特征,随着病程的进展,有些大鼠在病程 1 个月后出现白内障。不同剂量的壳寡糖对 STZ 诱导的糖尿病大鼠的一般状态都有明显的改善,可以显著地改善糖尿病大鼠体重减轻、多饮、多食等症状。N-乙酰氨基单糖可以在一定程度上改善糖尿病大鼠体重减轻、多饮、多食等症状。二甲双胍组对降低糖尿病大鼠体重减轻,多饮,多食等症状作用不佳。

2.2 壳寡糖, N-乙酰氨基单糖对 DM 大鼠尿糖、血糖的影响

在试验前后 2 h 血糖变化过程中,可见不同剂量的壳寡糖对 2hPG 均有不同程度的降低,壳寡糖中剂量组(质量分数为 500 mg/kg)的降血糖效果最好,可使血糖降至浓度为 16.14 mmol/L,与阴性对照组比较有极显著差异($P < 0.01$),降糖率为 47.48%。不同剂量的壳寡糖对糖尿病大鼠的尿糖也有明显的降低作用,均能降其由+++降低为++。N-乙酰氨基单糖可以在一定程度上改善 2 h 血糖值,其低剂量组(质量分数为 250 mg/kg)试验后 2 h 血糖可降至浓度 21.70 mmol/L,效果较好,与阴性对照组比较有极显著差异($P < 0.01$)(表 1)。

表 1 60 天前后 DM 大鼠尿糖、餐后 2 h 血糖($\bar{x} \pm s$)的测定

组别	n	w/ (mg·kg ⁻¹)	c(2 h 餐后血糖)/(mmol·L ⁻¹)		降糖率 /%	尿糖	
			0 d	60 d		试验前	试验后
正常对照组	9	/	5.59±0.66 ¹⁾	5.60±0.68 ¹⁾	-0.27	-	-
二甲双胍对照组	9	200	30.32±3.77	26.65±2.09 ²⁾	12.08	+++	+++~++
阴性对照组	9	/	29.58±3.83	39.38±9.08	-33.13	+++	++++~+++
壳寡糖高剂量组	9	1 500	31.13±2.13	19.73±8.12 ¹⁾	36.63	+++	++~+
壳寡糖中剂量组	9	500	30.73±2.81	16.14±11.55 ²⁾	47.48	+++	++~+
壳寡糖低剂量组	9	250	31.39±4.94	20.20±7.52 ²⁾	35.65	+++	++
N-乙酰氨基单糖高剂量组	9	1 500	30.42±4.64	27.20±6.77 ²⁾	10.59	+++	+++
N-乙酰氨基单糖中剂量组	9	500	30.50±2.84	25.40±10.69 ²⁾	16.72	+++	+++~++
N-乙酰氨基单糖低剂量组	9	250	30.94±5.84	21.70±5.10 ²⁾	29.89	+++	++

与阴性对照组比较,1) $P < 0.01$; 2) $P < 0.05$

2.3 血脂指标的测定

阴性对照组甘油三酯,载脂蛋白 B 质量浓度升高,载脂 A1/载脂 B 值降低,胆固醇浓度轻度升高。壳寡糖组载脂蛋白 B 质量浓度相对阴性对照组降低,中剂量组有显著差异($P < 0.05$),各剂量组载脂

A1/载脂 B 值与阴性对照组比较有显著差异,中剂量组效果最好;N-乙酰氨基单糖各剂量组甘油三酯,载脂蛋白 B 质量浓度相对阴性对照组较低,载脂 A1/载脂 B 值降低与阴性对照组比较均有极显著差异($P < 0.01$),低剂量组效果最好(表 2)。

表2 60 d后DM大鼠60 d后甘油三酯、总胆固醇、载脂蛋白A1、载脂蛋白B、载脂A1/载脂B($\bar{x} \pm s$)的测定

组别	n	w/ (mg·kg ⁻¹)	c(甘油三酯)/ (mmol·L ⁻¹)	c(总胆固醇)/ (mmol·L ⁻¹)	ρ(载脂蛋白) A1/(g·L ⁻¹)	ρ(载脂蛋白B)/ (g·L ⁻¹)	载脂A1/ 载脂B
正常对照组	9	/	0.863±0.174	1.302±0.262	0.130±0.017	0.050±0.016	2.200±0.768
二甲双胍对照组	9	/	0.676±0.079	1.364±0.201	0.132±0.013	0.033±0.008 ¹⁾	3.848±1.047 ¹⁾
阴性对照组	9	200	1.688±0.698	1.410±0.234	0.122±0.014	0.373±0.240	0.517±0.359
壳寡糖高剂量组	9	/	0.788±0.278	1.532±0.204	0.118±0.025	0.057±0.005	1.900±0.360 ¹⁾
壳寡糖中剂量组	9	1 500	0.678±0.077	1.362±0.192	0.118±0.025	0.050±0.001 ²⁾	2.350±0.500 ¹⁾
壳寡糖低剂量组	9	500	0.872±0.450	1.708±0.125	0.112±0.045	0.058±0.008	1.950±0.809 ²⁾
N-乙酰氨基单糖高剂量组	9	250	0.468±0.240	1.325±0.302	0.122±0.035	0.050±0.008 ²⁾	2.425±0.435 ¹⁾
N-乙酰氨基单糖中剂量组	9	1 500	0.942±0.557	1.465±0.250	0.133±0.037	0.052±0.008	2.650±0.907 ¹⁾
N-乙酰氨基单糖低剂量组	9	500	0.698±0.301	1.335±0.116	0.148±0.046	0.055±0.005	2.738±0.946 ¹⁾

与阴性对照组比较, 1)P<0.01; 2)P<0.05

2.4 肝脏相关指标观察(表3、4、5)。

表3 60 d后糖尿病大鼠血清中总蛋白、白蛋白、球蛋白、白球比($\bar{x} \pm s$)的测定

组别	n	w/ (mg·kg ⁻¹)	ρ(总蛋白)/ (g·L ⁻¹)	ρ(白蛋白)/ (g·L ⁻¹)	ρ(球蛋白)/ (g·L ⁻¹)	白球比
正常对照组	9	/	65.29±7.52	34.57±3.05	30.71±6.55	1.17±0.27
二甲双胍对照组	9	/	58.00±4.98	29.00±6.42	29.00±5.86	1.06±0.47
阴性对照组	9	200	54.80±3.96	27.20±3.27	27.60±3.44	1.00±0.20
壳寡糖高剂量组	9	/	64.25±6.50 ¹⁾	27.25±2.22	37.00±8.29 ¹⁾	0.78±0.28
壳寡糖中剂量组	9	1 500	61.75±4.35 ¹⁾	30.75±3.86	28.50±2.65	1.09±0.24
壳寡糖低剂量组	9	500	65.50±4.81 ²⁾	32.67±1.97 ²⁾	32.83±4.58	1.02±0.19
N-乙酰氨基单糖高剂量组	9	250	70.00±5.83 ²⁾	29.50±3.416	40.50±6.14 ²⁾	0.62±0.36
N-乙酰氨基单糖中剂量组	9	1 500	64.17±4.02 ¹⁾	29.00±3.03	35.17±6.79	0.87±0.26
N-乙酰氨基单糖低剂量组	9	500	69.17±3.97 ¹⁾	29.17±6.88	38.00±6.42 ¹⁾	0.81±0.32

与阴性对照组比较, 1)P<0.05; 2)P<0.01

表3显示阴性对照组血清总蛋白含量降低,与正常组比较有极显著差异(P<0.01),白蛋白,球蛋白均减少,白球比下降;壳寡糖各剂量组白蛋白减少,球蛋白增多,白球比下降;N-乙酰氨基单糖各剂量组白蛋白无明显减少,球蛋白显著增多,白球比严重倒置。

表4 60 d后糖尿病大鼠血清中谷丙、谷草转氨酶、谷草/谷丙比值、γ-谷氨酰转肽酶($\bar{x} \pm s$)的测定

组别	n	w/ (mg·kg ⁻¹)	谷丙转氨酶/ (U·L ⁻¹)	谷草转氨酶/ (U·L ⁻¹)	谷草/ 谷丙	γ-谷氨酰转肽酶/ (U·L ⁻¹)
正常对照组	9	/	37.143±5.872	138.571±20.983	3.831±0.931	2.000±0.577
二甲双胍对照组	9	/	62.500±19.013	209.667±41.147	3.492±0.714	4.667±4.885
阴性对照组	9	200	66.800±12.337	190.800±62.275	2.824±0.551	1.600±0.548
壳寡糖高剂量组	9	/	55.500±27.098	177.000±22.106	3.7845±1.656	1.000±0.000
壳寡糖中剂量组	9	1 500	56.250±26.349	180.000±48.751	3.592±1.186	1.250±0.500
壳寡糖低剂量组	9	500	51.500±6.317	189.333±27.325	3.718±0.648	1.667±0.516
N-乙酰氨基单糖高剂量组	9	250	47.250±5.737	173.250±50.5	3.717±1.154	1.750±0.957
N-乙酰氨基单糖中剂量组	9	1 500	78.000±38.704	194.500±45.610	2.852±0.916	1.333±0.516
N-乙酰氨基单糖低剂量组	9	500	88.000±33.094	228.500±55.802	2.865±1.048	2.333±1.033

与阴性对照组比较, 1)P<0.05; 2)P<0.01

表 4 显示阴性对照组血清谷丙转氨酶,谷草转氨酶含量升高,谷草/谷丙比值下降, γ -谷氨酰转肽酶降低;壳寡糖组血清谷丙转氨酶,谷草转氨酶含量相对阴性对照组较低,谷草/谷丙比值相对阴性对照组较高, γ -谷氨酰转肽酶降低;N-乙酰氨基单糖中,低剂

量组谷丙转氨酶,谷草转氨酶含量相对阴性对照组较高,与正常组比较有显著差异,谷草/谷丙比值降低, γ -谷氨酰转肽酶升高,高剂量组变化不明显;二甲双胍组谷草/谷丙比值降低, γ -谷氨酰转肽酶升高显著。

表 5 60 d 后糖尿病大鼠血清中总胆红素、直接胆红素、间接胆红素、N-乙酰葡萄糖苷酶含量($\bar{x} \pm s$)的测定

组别	n	w/ (mg · kg ⁻¹)	c(总胆红素)/ (μ mol · L ⁻¹)	c(直接胆红素)/ (μ mol · L ⁻¹)	c(间接胆红素)/ (μ mol · L ⁻¹)	N-乙酰葡萄糖苷酶/ (U · L ⁻¹)
正常对照组	9	/	0.529 ± 0.256	0.143 ± 0.140	0.386 ± 0.177	31.611 ± 2.941
二甲双胍对照组	9	/	0.700 ± 0.167 ¹⁾	0.250 ± 0.235	0.450 ± 0.243 ¹⁾	40.989 ± 5.775
阴性对照组	9	200	1.240 ± 0.665	0.220 ± 0.217	1.020 ± 0.614	66.762 ± 7.856
壳寡糖高剂量组	9	/	0.475 ± 0.189 ²⁾	0.125 ± 0.189	0.350 ± 0.238 ²⁾	31.643 ± 5.467 ²⁾
壳寡糖中剂量组	9	1 500	0.825 ± 0.287	0.450 ± 0.129	0.375 ± 0.171 ²⁾	41.531 ± 12.409 ¹⁾
壳寡糖低剂量组	9	500	0.983 ± 0.343	0.567 ± 0.372 ¹⁾	0.417 ± 0.147 ²⁾	56.077 ± 9.054
N-乙酰氨基单糖高剂量组	9	250	0.950 ± 0.378	0.375 ± 0.299	0.575 ± 0.275 ¹⁾	63.014 ± 10.495
N-乙酰氨基单糖中剂量组	9	1 500	1.267 ± 0.459	0.550 ± 0.138	0.717 ± 0.431	40.813 ± 11.997
N-乙酰氨基单糖低剂量组	9	500	1.183 ± 0.248	0.200 ± 0.276	0.983 ± 0.264	39.936 ± 12.001 ¹⁾

与阴性对照组比较, 1) $P < 0.05$; 2) $P < 0.01$

表 5 显示阴性对照组血清总胆红素,间接胆红素,N-乙酰葡萄糖苷酶含量升高与正常组比较有极显著差异($P < 0.01$),直接胆红素轻度上升;壳寡糖组血清总胆红素,间接胆红素含量和 N-乙酰葡萄糖苷酶相对阴性对照组较低,其中高剂量组在上述指标改善上与阴性对照组比较均有极显著差异($P < 0.01$);N-乙酰氨基单糖各剂量组总胆红素,间接胆

红素,N-乙酰葡萄糖苷酶含量相对阴性对照组较低,与正常组比较有显著差异,高剂量组在上述指标上效果较好;二甲双胍组总胆红素,间接胆红素含量相对阴性对照组较低有显著差异($P < 0.05$),N-乙酰葡萄糖苷酶含量相对阴性对照组较低。

2.5 壳寡糖, N-乙酰氨基单糖对 DM 大鼠器官系数的影响 (表 6)。

表 6 60 d 后 DM 大鼠器官系数($\bar{x} \pm s$)的测定

组别	n	w/ (mg · kg ⁻¹)	器官系数/%				
			胰腺	胸腺	脾	肝	肾
正常对照组	9	/	0.429 ± 0.056 ¹⁾	0.080 ± 0.026 ¹⁾	0.347 ± 0.032 ²⁾	2.770 ± 0.256 ¹⁾	0.579 ± 0.088 ¹⁾
二甲双胍对照组	9	200	0.259 ± 0.150	0.051 ± 0.003	0.326 ± 0.051	3.516 ± 0.368 ²⁾	0.996 ± 0.074 ¹⁾
阴性对照组	9	/	0.234 ± 0.013	0.045 ± 0.011	0.293 ± 0.016	4.261 ± 0.168	1.343 ± 0.151
壳寡糖高剂量组	9	1 500	0.373 ± 0.071 ²⁾	0.075 ± 0.014 ²⁾	0.367 ± 0.060 ²⁾	3.703 ± 0.327 ²⁾	0.921 ± 0.162 ¹⁾
壳寡糖中剂量组	9	500	0.392 ± 0.121 ²⁾	0.084 ± 0.015 ¹⁾	0.405 ± 0.140 ²⁾	3.514 ± 0.142 ²⁾	0.913 ± 0.054 ¹⁾
壳寡糖低剂量组	9	250	0.346 ± 0.014	0.088 ± 0.008 ¹⁾	0.378 ± 0.031 ²⁾	3.644 ± 0.250 ²⁾	0.987 ± 0.064 ¹⁾
N-乙酰氨基单糖高剂量组	9	1 500	0.353 ± 0.049	0.061 ± 0.009	0.397 ± 0.027 ²⁾	3.344 ± 0.533 ²⁾	1.009 ± 0.162 ¹⁾
N-乙酰氨基单糖中剂量组	9	500	0.319 ± 0.046	0.089 ± 0.011 ¹⁾	0.344 ± 0.037 ²⁾	3.530 ± 0.234 ²⁾	1.096 ± 0.049 ²⁾
N-乙酰氨基单糖低剂量组	9	250	0.348 ± 0.015	0.085 ± 0.011 ¹⁾	0.414 ± 0.176 ¹⁾	4.279 ± 0.718	1.155 ± 0.196

与阴性对照组比较, 1) $P < 0.01$; 2) $P < 0.05$

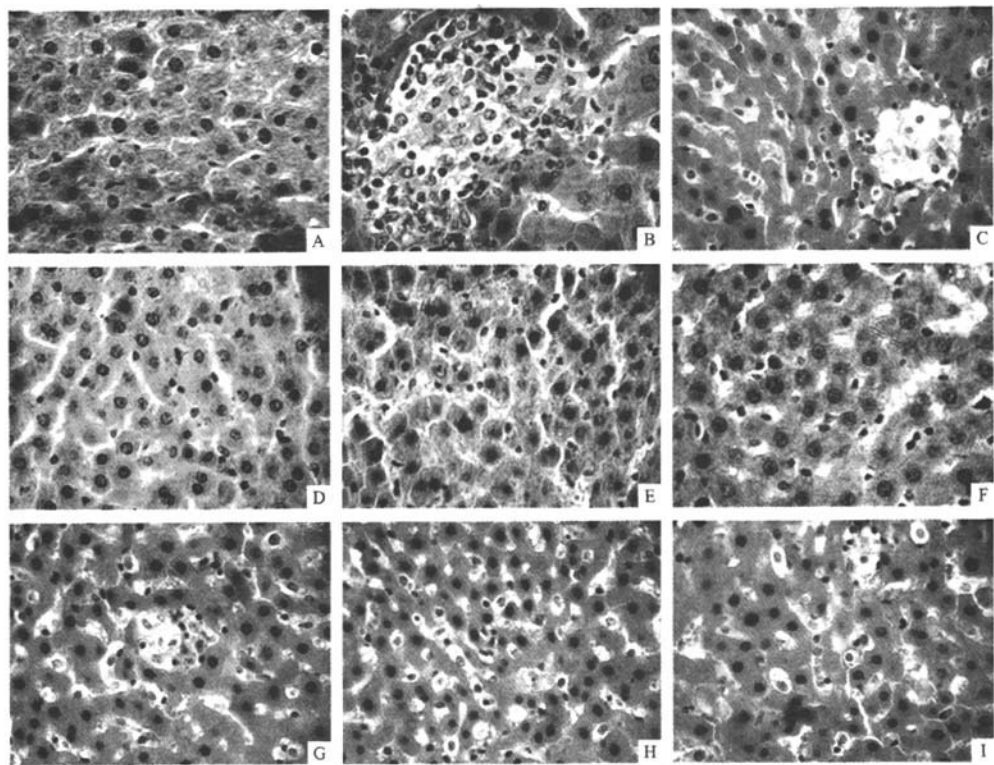
由表 6,壳寡糖各组胰指数、脾指数、与胸腺指数与阴性对照组比较有明显改善作用,与阴性对照组有极显著差异($P < 0.01$)。壳寡糖各组肝指数,肾指数与阴性对照组也有显著差异,中剂量组在促

进胰指数、脾指数与胸腺指数,降低肝指数、肾指数效果较好。N-乙酰氨基单糖各组在促进脾指数与胸腺指数效果较好,有显著差异($P < 0.05$),在降低肝指数、肾指数方面有也一定效果。

2.6 肝脏病理切片形态学观察

正常组大鼠肝无异常,仅见个别肝细胞内有极少量细小脂滴散布于细胞核周围,肝窦清晰可见,肝索排列整齐(图1A)。模型组大鼠肝脏出现程度不等的弥漫性脂变,脂变肝细胞增大,肝窦受压变窄甚至消失,肝索排列紊乱,有的尚可见肝细胞水肿、点

状坏死、炎细胞浸润等表现,而在石蜡切片中,脂滴被乙醇、二甲苯等脂溶剂所溶解,表现为空泡状(图1B);壳寡糖各组肝索排列整齐,部分肝细胞增大,脂变程度低(图1D、E、F);N-乙酰氨基单糖各组肝索排列紊乱,多数肝细胞水肿,脂变程度较高(图1G、H、I)。



A: 对照组;B: DM 对照组;C: Met 组;D:1 500 mg/kg COS 保护组;E: 500 mg/kg COS 保护组;F: 250 mg/kg COS 保护组;G:1 500 mg/kg NAG 保护组;H: 500 mg/kg NAG 保护组;I: 250 mg/kg NAG 保护组

图1 不同处理组肝脏病理切片(HE×400)

3 讨论

糖尿病患者糖代谢的异常往往伴随着脂代谢异常,长期的脂代谢紊乱会引起中性脂肪,主要为甘油三酯在肝内蓄积过多,导致肝脏脂肪变性并进一步影响肝功能,使其代偿能力不足,部分患者还可能进一步发展成为肝炎、肝纤维化和肝硬化。本研究结果表明,壳寡糖可以提高血清总蛋白含量,改善白蛋白、球蛋白及白球比,说明壳寡糖可以改善肝脏的蛋白质代谢能力,而且壳寡糖可以降低血清谷丙转氨酶、谷草转氨酶含量,使谷草/谷丙比值恢复正常,γ-

谷氨酰转肽酶降低,血清中谷丙转氨酶(ALT),谷草转氨酶(GOT),γ-谷氨酰转肽酶(γ-GT)均是反应肝功能的灵敏指标,ALT, GOT 作为肝细胞变性,坏死的灵敏指标,已应用多年。此外,壳寡糖可以降低血清总胆红素,间接胆红素,N-乙酰葡萄糖苷酶含量。胆红素是血红细胞中血红素的代谢产物,正常情况下,在肝脏中与葡萄糖醛酸结合后进一步代谢排出体外。但当肝功能失常时,胆红素代谢出现故障,以致于在血液中积蓄。N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷酶

在肝中含量最为丰富。在各种肝疾患如急性肝炎、原发肝癌、酒精性肝病时都会发生不同程度的细胞坏死,导致细胞内的 NAG 酶也会有不同程度的释放,血清中酶活性升高,且这种升高与细胞坏死的程度有关。从这几个角度上讲壳寡糖可以有效的改善糖尿病大鼠的血脂代谢紊乱,并对肝脏具有明显的保护作用。N-乙酰氨基单糖与壳寡糖作用机制相似,故对糖尿病大鼠的肝脏也有一定的保护作用。

[参考文献]

- [1] RUBIO M A, ARRIETA J L, RUIZ M, et al. Design and validation of a scale to assess preferences of type 2 diabetic patients towards different nutritional supplements[J]. *Nutr Hosp*, 2008, 23(3): 253 - 262.
- [2] JANGHORBANI M, STENHOUSE E A, JONES R B, et al. Is neighbourhood deprivation a risk factor for gestational diabetes mellitus[J]? *Diabet Med*, 2006, 23(3): 313 - 317. [3] LIN W, HU X, ZHANG W, et al. Hydrogen peroxide mediates defence responses induced by chitosans of different molecular weights in rice[J]. *Plant Physiol*, 2005, 162(8): 937 - 944.
- [4] JE J Y, PARK P J, KIM S K. Free radical scavenging properties of hetero-chitooligosaccharides using an ESR spectroscopy[J]. *Food Chem Toxicol*, 2004, 42(3): 381 - 387.
- [5] LEE S H, SUH J S, KIM H S, et al. MR evaluation of radiation synovectomy of the knee by means of intraarticular injection of holmium-166-chitosan complex in patients with rheumatoid arthritis; Results at 4-month follow-up[J]. *Korean Journal of Radiology*, 2003, 4(3): 170 - 178.
- [6] PARK P J, JE J Y, KIM S K. Free radical scavenging activity of chitooligosaccharides by electron spin resonance spectrometry[J]. *J Agric Food Chem* 2003, 51(16): 4624 - 4627.
- [7] PARK P J, JE J Y, KIM S K. Angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory activity of hetero-chitooligosaccharides prepared from partially different deacetylated chitosans[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51: 4930 - 4934.
- [8] BING L, WANSHUN L, BAOQIN H, et al. Antidiabetic effects of Chitooligosaccharides on pancreatic islet cells and streptozotocin induced diabetic rats[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2007, 13(5): 725 - 731.

[责任编辑:朱颖娜]