

◆方药研究◆

山药多糖对妊娠期糖尿病小鼠的影响

杜妍妍¹, 蒋平平², 游艳婷², 郭曼萍², 刘梦², 罗仁², 刘艳艳², 周琳³

1. 南京市浦口区中心医院妇科, 江苏 南京 211800
2. 南方医科大学中医药学院, 广东 广州 510515
3. 南方医科大学南方医院内分泌科, 广东 广州 510515

[摘要] 目的: 观察山药多糖对妊娠期糖尿病小鼠的影响。方法: 采用链脲佐菌素 (STZ) 诱导复制妊娠期糖尿病小鼠模型。将造模成功的妊娠糖尿病模型小鼠随机分为模型组、山药多糖低剂量组、山药多糖中剂量组和山药多糖高剂量组, 并以正常妊娠小鼠作为正常组, 每组 10 只。山药多糖低、中、高各剂量组小鼠分别灌胃山药多糖的浓度为 100 mg/(kg·d)、200 mg/(kg·d)、400 mg/(kg·d), 模型组及正常组均以同体积的生理盐水灌胃, 持续 14 天。分别于给药的第 0 天、第 7 天和第 14 天检测其空腹血糖情况, 在给药的第 0 天和第 14 天称量小鼠体质量, 记录各组小鼠的饮食和饮水量。测定胰岛素水平, 计算胰岛素抵抗指数 (HOMA-IR), 测定血清胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 水平。处死孕鼠后剥离胎鼠, 计数胎鼠数量、胎鼠重量及胎盘重量。结果: 与正常组比较, 模型组小鼠在第 0 天时, 体质量较低; 在第 14 天时, 体质量显著升高; 模型组小鼠 24 h 摄食量、24 h 饮水量、空腹血糖值、血清胰岛素水平、胰岛素抵抗指数、血清 TC、TG 水平显著升高, HDL-C 水平明显降低, 模型组胎鼠重量和胎盘重量显著升高, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与模型组比较, 在第 7 天时, 山药多糖中、高剂量组小鼠空腹血糖值显著降低; 在第 14 天时, 山药多糖低、中、高各剂量组小鼠空腹血糖值显著降低; 山药多糖各剂量组小鼠 24 h 摄食量、24 h 饮水量、血清胰岛素水平、胰岛素抵抗指数、小鼠体质量、血清 TC 水平、血清 TG 水平显著降低, 胎鼠重量和胎盘重量均有所下降, HDL-C 显著升高, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结论: 山药多糖有改善妊娠期糖尿病小鼠血糖的作用, 其机制可能与改善胰岛素抵抗、调节脂质代谢有关。

[关键词] 山药多糖; 妊娠期糖尿病; 血糖; 胰岛素抵抗; 血脂; 动物实验; 小鼠

[中图分类号] R285.5; R587.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2017) 09-0001-04

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2017.09.001

Chinese Yam Polysaccharides Can Improve Blood Glucose on Mice with Gestational Diabetes Mellitus

Du Yanyan, Jiang Pingping, You Yanting, Guo Manping,
Liu Meng, Luo Ren, Liu Yanyan, Zhou Lin

Abstract: **Objective:** To observe the effect of Chinese yam polysaccharides on mice with gestational diabetes mellitus. **Methods:** Adopted streptozotocin (STZ)-induced diabetic mice, and divided the model mice with gestational diabetes mellitus into the model group, low, medium and high dose groups of Chinese yam polysaccharides randomly, 10 cases in each. Another 10 pregnant mice were selected as the normal group. The low, medium and high dose groups of Chinese yam polysaccharides were given Chinese yam polysaccharides with the concentration of 100 mg/(kg·d), 200 mg/(kg·d) and 400 mg/(kg·d) respectively by gavage; the model group and the normal group were given same volume of saline by gavage, lasting for fourteen days. Detected fasting blood glucose of the mice before medication, and the seventh and fourteenth day of medication respectively. Weighed the body mass of mice, and recorded dietary amount and drinking amount before medication and the fourteenth day of medication. Calculated insulin resistance index (HOMA-IR), detected insulin level, and level of serum total

[收稿日期] 2017-01-12

[基金项目] 广东省中医药局项目 (20161165); 大学生创新创业训练项目 (201412121008)

[作者简介] 杜妍妍 (1980-), 女, 主治医师, 研究方向: 中西医结合妇科内分泌。

[通信作者] 周琳, E-mail: zlecho@163.com。

cholesterol (TC), triglyceride (TG) and high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C). After pregnant mice were sacrificed, separated fetal mice, calculated the amount of the fetal mice, and the weight of the fetal mice and placenta. **Results:** Body mass of the model group was lower than that of the normal group before medication, which was increased significantly in the fourteenth day of medication. After medication, comparing with the normal group, 24-hour dietary amount, 24-hour drinking amount, fasting blood glucose score, levels of serum insulin, insulin resistance index, serum TC and TG were significantly increased in the model group, and HDL-C levels were decreased significantly, weight of the fetal mice and placenta was significantly increased, the differences all being significant ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Comparing with the model group, fasting blood glucose scores of the medium and high dose groups of Chinese yam polysaccharides were decreased significantly in the seventh day of medication, which were decreased significantly in the low, medium and high dose groups of Chinese yam polysaccharides in the fourteenth day of medication; 24-hour dietary amount, 24-hour drinking amount, fasting blood glucose scores, levels of serum insulin, insulin resistance index, serum TC and TG were significantly decreased in the low, medium and high dose groups of Chinese yam polysaccharides, and HDL-C levels were increased significantly, weight of the fetal mice and placenta was decreased significantly, the differences all being significant ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** Chinese yam polysaccharides can improve blood glucose of mice with gestational diabetes mellitus, whose mechanism may be related to improvement of insulin resistance and regulation of lipid metabolism.

Keywords: Chinese yam polysaccharides; Gestational diabetes mellitus; Blood glucose; Insulin resistance; Blood lipid; Animal experiment; Mice

妊娠期糖尿病(gestational diabetes mellitus, GDM)是糖尿病的特殊类型之一,是妊娠期发生不同程度的糖代谢异常的统称。GDM对母儿影响极大,主要为孕妇易合并泌尿及生殖系感染、妊娠期高血压、酮症酸中毒、胎儿畸形、流产等不良后果,甚至其后代将来可能发展成2型糖尿病^[1-2]。GDM发病机制至今还未研究清楚,它由多种因素引起,现研究中认为胰岛 β 细胞表达降低以及发生胰岛素抵抗是GDM发病的原因,且遗传易感性和其他危险因素也参与了GDM的发病^[3-4]。目前GDM的治疗措施主要包括饮食、运动和药物治疗三大类,现有的治疗手段均会出现比较严重的副作用,如影响胎儿生长发育、增加孕妇感染概率等^[5]。因此,开发有效且副作用小的防治GDM的新药很有必要。研究表明山药多糖对糖尿病大鼠有降血糖、抗氧化等作用^[6-7],但其是否对妊娠期糖尿病有降糖作用未见报道。本研究通过观察中药提取物山药多糖在GDM小鼠模型中起到的治疗作用来探讨治疗GDM可能存在的机制,为临床治疗GDM提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 C57BL/6J小鼠,雌性80只,性成熟而未生育,体质量18~22g;雄性40只,性成熟,体质量22~26g,由南方医科大学实验动物中心提供,实验动物合格证号为SCXK(粤)2011-0015。自由摄食与饮水,温度(22±1)℃,湿度(50±5)%,每天光照与黑夜时间各为12h,实验过程中对动物的处置符合动物伦理学标准。

1.2 药品与试剂 山药多糖,参照文献[8]采取水提醇沉法制备,山药饮片购于南方医院中药房,临用前用生理盐水溶解;链脲佐菌素(STZ)购自Sigma公司;胰岛素放射免疫试剂盒为

北京科美东雅生物技术有限公司产品(批号060525)。胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)试剂盒购于南京建成生物工程研究所。

1.3 实验仪器 旋转蒸发器、低温冷冻干燥机、One-touch血糖测定仪(美国强生)。

1.4 动物模型的建立 动物模型的建立参考文献[9],C57BL/6J小鼠,雌雄小鼠以2:1比例合笼过夜,次日晨检结果出现阴栓或阴道涂片发现精子时记为妊娠第0天。孕鼠阴道发现精子后空腹10h,选择血糖低于6.11mmol/L、尿糖阴性的孕鼠,按150mg/kg一次性腹腔注射链脲佐菌素(STZ溶于0.1mol/L、pH4.2的柠檬酸/枸橼酸钠缓冲液中,现配现用,冰浴保存),给药24h后每天尾尖取血测定血糖,测空腹血糖值(FBG),空腹血糖高于11.1mmol/L者确定为造模成功的GDM模型。

1.5 分组与给药 将造模成功的妊娠糖尿病模型小鼠随机分为4组,分别为模型组、山药多糖低剂量组、山药多糖中剂量组和山药多糖高剂量组,并以正常妊娠小鼠作为正常组,每组10只。山药多糖低、中、高各剂量组小鼠分别灌胃山药多糖的浓度为100mg/(kg·d)、200mg/(kg·d)、400mg/(kg·d),模型组及正常组均以同体积的生理盐水灌胃。

1.6 检测指标 各组小鼠分别于给药第0天、第7天及第14天用药后1h,禁食8h,尾尖取血测空腹血糖;在给药的第0天和第14天称量小鼠体质量,并在该时间后连续记录5天各组小鼠的饮食饮水量。摘眼球采血后处死,离心制备血清,分离血清。采用双抗体夹心法(ELISA)按试剂盒说明测定胰岛素水平,并计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR),胰岛素抵抗指

数(HOMA-IR)=(空腹血糖×空腹胰岛素)/22.5;按试剂盒操作流程测定血清TG、TC、HDL-C指标。处死孕鼠后迅速剥离胎鼠,计数胎鼠数量、体重及胎盘重量。

1.7 统计学方法 实验数据用SPSS19.0统计软件进行处理,计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 各组小鼠24 h饮水量、进食量比较 见表1。与正常组比较,模型组小鼠24 h进食量、24 h饮水量显著升高,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较,山药多糖低、中、高各剂量组小鼠24 h进食量、24 h饮水量显著降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

表1 各组小鼠24 h饮水量、进食量比较 $(\bar{x} \pm s, n=10)$

| 组别 | 剂量(g/kg) | 24 h饮水量(mL) | | 24 h进食量(g) | |
|----------|----------|--------------------------|--------------------------|------------|------|
| | | 0 d | 14 d | 0 d | 14 d |
| 正常组 | - | 27.00±1.581 | 17.00±0.255 | | |
| 模型组 | - | 74.60±2.408 ^① | 26.34±0.945 ^① | | |
| 山药多糖低剂量组 | 0.1 | 61.00±1.225 ^② | 22.86±0.546 ^② | | |
| 山药多糖中剂量组 | 0.2 | 52.20±1.483 ^② | 21.72±0.536 ^③ | | |
| 山药多糖高剂量组 | 0.4 | 44.00±3.808 ^③ | 20.40±0.495 ^③ | | |

与正常组比较,① $P < 0.01$;与模型组比较,② $P < 0.05$,③ $P < 0.01$

2.2 各组小鼠空腹血糖比较 见表2。与正常组比较,模型组小鼠的空腹血糖值显著升高,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较,在第7天时,山药多糖中、高剂量组小鼠空腹血糖值显著降低,在第14天时,山药多糖低、中、高各剂量组小鼠空腹血糖值显著降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

表2 各组小鼠空腹血糖比较 $(\bar{x} \pm s, n=10)$

| 组别 | 剂量(g/kg) | 空腹血糖(mmol/L) | | |
|----------|----------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | | 0 d | 7 d | 14 d |
| 正常组 | - | 3.81±0.659 | 5.16±0.698 | 5.80±0.489 |
| 模型组 | - | 16.30±0.459 ^① | 16.44±0.523 ^① | 16.40±0.665 ^① |
| 山药多糖低剂量组 | 0.1 | 16.83±0.709 | 16.47±0.560 | 15.16±0.430 ^② |
| 山药多糖中剂量组 | 0.2 | 16.66±0.720 | 15.35±0.510 ^② | 13.72±0.510 ^② |
| 山药多糖高剂量组 | 0.4 | 16.75±0.886 | 12.72±0.965 ^② | 10.95±0.675 ^② |

与正常组比较,① $P < 0.01$;与模型组比较,② $P < 0.05$

2.3 各组小鼠血清胰岛素水平比较 见表3。与正常组比较,模型组小鼠血清胰岛素水平显著升高,胰岛素抵抗指数也显著升高,差异有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较,山药多糖各剂量组小鼠血清胰岛素水平显著降低,而胰岛素抵抗指数亦明显降低,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。

2.4 各组小鼠体质量比较 见表4。与正常组比较,模型组小鼠在第0天时,体质量较低;在第14天时,体质量显著升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与模型组比较,在第14天时,山药多糖各剂量组小鼠体质量均显著降低,差异均有统计

学意义($P < 0.05$)。

表3 各组小鼠血清胰岛素水平比较 $(\bar{x} \pm s, n=10)$

| 组别 | 剂量(g/kg) | 胰岛素水平(U/mL) | 胰岛素抵抗指数(IR) |
|----------|----------|--------------------------|--------------------------|
| 正常组 | - | 20.36±1.592 | 5.256±0.669 |
| 模型组 | - | 54.77±2.640 ^① | 40.13±2.726 ^① |
| 山药多糖低剂量组 | 0.1 | 41.13±2.465 ^② | 27.70±1.656 ^② |
| 山药多糖中剂量组 | 0.2 | 31.12±2.396 ^② | 18.96±1.449 ^② |
| 山药多糖高剂量组 | 0.4 | 24.67±1.817 ^② | 12.03±1.467 ^② |

与正常组比较,① $P < 0.01$;与模型组比较,② $P < 0.01$

表4 各组小鼠体质量比较 $(\bar{x} \pm s, n=10)$ g

| 组别 | 剂量(g/kg) | 体质量 | |
|----------|----------|--------------------------|--------------------------|
| | | 0 d | 14 d |
| 正常组 | - | 17.84±0.554 | 25.31±0.825 |
| 模型组 | - | 16.34±0.490 ^① | 27.80±0.716 ^① |
| 山药多糖低剂量组 | 0.1 | 16.05±0.495 | 26.56±0.542 ^② |
| 山药多糖中剂量组 | 0.2 | 15.93±0.625 | 25.46±0.825 ^② |
| 山药多糖高剂量组 | 0.4 | 16.14±0.378 | 24.24±0.914 ^② |

与正常组比较,① $P < 0.05$;与模型组比较,② $P < 0.05$

2.5 各组小鼠血脂代谢比较 见表5。与正常组比较,模型组小鼠TC、TG水平显著升高,HDL-C水平明显降低,差异有统计学意义($P < 0.01$),提示模型组存在明显的脂代谢紊乱。与模型组比较,山药多糖各剂量组小鼠TC、TG显著降低,HDL-C升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

表5 各组小鼠血脂代谢比较 $(\bar{x} \pm s, n=10)$ mmol/L

| 组别 | 剂量(g/kg) | TG | TC | HDL-C |
|----------|----------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 正常组 | - | 1.15±0.072 | 1.69±0.075 | 1.23±0.060 |
| 模型组 | - | 1.91±0.091 ^① | 2.20±0.102 ^① | 0.62±0.049 ^① |
| 山药多糖低剂量组 | 0.1 | 1.59±0.052 ^② | 1.81±0.067 ^② | 0.77±0.043 ^② |
| 山药多糖中剂量组 | 0.2 | 1.45±0.043 ^② | 1.69±0.064 ^② | 0.87±0.090 ^② |
| 山药多糖高剂量组 | 0.4 | 1.33±0.044 ^② | 1.53±0.072 ^② | 1.00±0.084 ^② |

与正常组比较,① $P < 0.05$;与模型组比较,② $P < 0.05$

2.6 各组小鼠胎鼠数量、胎鼠重量及胎盘重量比较 见表6。与正常组比较,模型组胎鼠重量和胎盘重量显著升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。与模型组比较,山药多糖各剂量组胎鼠重量和胎盘重量均有所下降,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

3 讨论

近年来有研究发现^[9],GDM的发生除了出现异常的胰岛素分泌以及功能障碍外,还与一些因子有关,如炎症因子、脂肪因子等。本实验结果显示,给予STZ造模后,小鼠饮食饮水量与进食量显著升高,其空腹血糖在造模后第7天和第14天均显著升高,空腹时血清胰岛素水平和胰岛素抵抗指数显著性升高,血脂TG和TC均显著性升高,而HDL-C显著性降

表6 各组小鼠胎鼠数量、胎鼠重量及胎盘重量比较($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

| 组别 | 剂量(g/kg) | 胎鼠数量(只) | 胎鼠重量(g) | 胎盘重量(g) |
|----------|----------|-----------|-------------------------|----------------------------|
| 正常组 | - | 5.3±0.949 | 0.79±0.047 | 0.113 5±0.001 |
| 模型组 | - | 5.1±1.370 | 0.91±0.041 ^① | 0.127 3±0.009 ^① |
| 山药多糖低剂量组 | 0.1 | 5.4±1.430 | 0.83±0.036 ^② | 0.116 9±0.002 ^② |
| 山药多糖中剂量组 | 0.2 | 5.2±0.789 | 0.77±0.038 ^② | 0.115 6±0.001 ^② |
| 山药多糖高剂量组 | 0.4 | 5.0±0.943 | 0.85±0.037 ^② | 0.114 2±0.006 ^② |

与正常组比较, ① $P < 0.05$; 与模型组比较, ② $P < 0.05$

低。模型组孕鼠的胎盘与胎鼠重量均显著性升高, 胎鼠数无显著性差异, 提示该模型构建成功。

临床治疗妊娠期糖尿病患者主要采取控制饮食疗法^[7], 但是部分 GDM 孕妇患者使用控制饮食法治疗效果并不显著, 医生会予以胰岛素治疗, 但胰岛素治疗会出现比较严重的副作用, 甚至出现胰岛素抵抗进一步加重的情况^[10]。山药作为药食同源的药物之一, 其味甘性平, 归肺、脾、肾经, 具有补中益气、健脾止泄、聪耳明目、滋阴润燥的功效^[11]。现发现山药具有多种有治疗作用的生物活性物质, 其中包括各种多糖(糖蛋白、甘露聚糖、果胶等)、粗纤维、淀粉酶及多种微量物质^[12-13]。其中, 山药多糖具有调节免疫、抗肿瘤与降血糖等作用, 因此本研究结合目前临床治疗妊娠期糖尿病患者主要手段——饮食疗法, 选取山药多糖治疗 GDM 小鼠模型, 观察它的药用效果。本研究将治疗组小鼠分为低剂量组、中剂量组和高剂量组。根据实验结果显示, 山药多糖高、中、低各剂量组小鼠饮食饮水量与体质量均显著性下降, 在治疗期的第 7 天和第 14 天, 山药多糖低、中、高剂量组小鼠较模型组小鼠的空腹血糖值和血清胰岛素指标均显著性下降, 并在一定程度上改善胰岛素抵抗指数。此外, 山药多糖能改善妊娠期糖尿病小鼠的脂质代谢紊乱, 降低巨大胎鼠的出生, 减轻胎盘的重量。山药多糖高、中、低各剂量组小鼠的血脂 TG 与 TC 均显著性降低, 而 HDL-C 显著性升高。3 组剂量对比后发现, 山药多糖剂量越高, 治疗效果越明显。

综上所述, 山药多糖可能通过降低胰岛素抵抗与脂质代谢以缓解妊娠期糖尿病小鼠的病情, 提示山药多糖可作为治疗妊娠糖尿病的一种药食同源的药物, 但是山药多糖治疗妊娠糖尿病的机理还需进一步的研究。

[参考文献]

[1] Ferrara A. Increasing prevalence of gestational diabetes

mellitus: a public health perspective[J]. Diabetes Care, 2007, 30(Suppl 2): S141-S146.

- [2] Bellamy L, Casas JP, Hingorani AD, et al. Type 2 diabetes mellitus after gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis [J]. Lancet, 2009, 373 (9677): 1773-1779.
- [3] Clausen TD, Mathiesen ER, Hansen T, et al. High prevalence of type 2 diabetes and pre-diabetes in adult offspring of women with gestational diabetes mellitus or type 1 diabetes: the role of intrauterine hyperglycemia[J]. Diabetes Care, 2008, 31(2): 340-346.
- [4] 马润玫, 杜明钰, 王丹丹, 等. 妊娠合并糖尿病的流行病学现状[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2007, 23(6): 455-458.
- [5] 李伟. 妊娠糖尿病的治疗进展[J]. 基础医学与临床, 2012, 32(8): 858-863.
- [6] 刘华, 罗新. 妊娠糖尿病患者心理干预效果分析[J]. 实用糖尿病杂志, 2010, 4(6): 30.
- [7] 邓凌, 谢翠华, 罗祥蓉. 妊娠糖尿病患者应用胰岛素泵强化治疗存在的问题及护理对策[J]. 南方护理学报, 2005, 12(10): 58-59.
- [8] 廖靖, 蔡东红. 麦冬多糖对妊娠期糖尿病小鼠胰岛抵抗作用的影响[J]. 齐鲁药事, 2011, 30(8): 435-437.
- [9] Hossein-Nezhad A, Maghbooli Z, Vassigh AR, et al. Prevalence of gestational diabetes mellitus and pregnancy outcomes in Iranian women [J]. Taiwan J Obstet Gynecol, 2007, 46(3): 236-241.
- [10] 夏莉, 胡红琳, 王长江, 等. 妊娠糖尿病患者血脂水平与胰岛素抵抗相关性分析[J]. 安徽医科大学学报, 2017, 52(5): 749-752.
- [11] 廖朝晖, 朱必凤, 刘安玲, 等. 山药主要生化成分含量的测定[J]. 韶关学院学报: 自然科学版, 2003, 24(6): 67-69.
- [12] 宋永刚, 胡晓波, 王震宙. 山药的活性成分研究概况[J]. 江西食品工业, 2007(4): 45-48.
- [13] Ruchat SM, Mottola MF. Mottola. The important role of physical activity in the prevention and management of gestational diabetes mellitus [J]. Diabetes Metab Res Rev, 2013, 29(5): 334-346.

(责任编辑: 冯天保, 郑锋玲)