

菊粉对反式脂肪酸致小鼠胰岛素抵抗的影响

李晓月¹, 张晶晶¹, 张红建¹, 周 聪¹, 肖安红^{1,2,*}

(1. 武汉轻工大学食品科学与工程学院, 湖北 武汉 430023; 2. 湖北省农产品加工与转化重点实验室, 湖北 武汉 430023)

摘要:目的: 研究菊粉对反式脂肪酸所致小鼠胰岛素抵抗的影响。方法: 采用反式脂肪酸饲料诱导建立小鼠高脂血症模型, 分别给予低、中、高3种剂量的菊粉, 测定小鼠胰岛素抵抗相关指标。结果: 反式脂肪酸的摄入导致小鼠血糖、血清胰岛素水平和胰岛素抵抗指数极显著增加 ($P < 0.01$), 胰岛素敏感指数、胰岛 β 细胞功能指数和总超氧化物歧化酶活性极显著降低 ($P < 0.01$)。菊粉干预能够降低小鼠血糖水平和胰岛素抵抗指数, 提高胰岛素敏感指数和增强胰岛 β 细胞功能, 且菊粉高剂量干预组与反式脂肪酸组相比, 差异均极显著 ($P < 0.01$), 效果最好。结论: 反式脂肪酸能够导致小鼠胰岛素抵抗, 菊粉干预能够改善小鼠的胰岛素抵抗状况, 且高剂量组效果最好。

关键词: 反式脂肪酸; 菊粉; 小鼠; 胰岛素抵抗; 高脂血症

Effect of Inulin on Insulin Resistance Prevention in *Trans* Fatty Acids-Fed Mice

LI Xiaoyue¹, ZHANG Jingjing¹, ZHANG Hongjian¹, ZHOU Cong¹, XIAO Anhong^{1,2,*}

(1. College of Food Science and Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China;

2. Hubei Key Laboratory for Agro-processing and Transformation, Wuhan 430023, China)

Abstract: Objective: To evaluate the effect of inulin on insulin resistance in *trans* fatty acids-fed mice. Methods: Inulin was given at low, medium and high doses. Results: The intake of *trans* fatty acids elevated fasting blood glucose, fasting serum insulin, insulin resistance index significantly ($P < 0.01$), and reduced insulin sensitivity index, islet β -cell function and T-SOD significantly ($P < 0.01$). Inulin reduced fasting blood glucose and insulin resistance index, and increased insulin sensitivity index and islet β -cell function, especially at the high dose, showing significant differences ($P < 0.01$) when compared with the *trans* fatty acid group. Conclusion: *Trans* fatty acids can lead to insulin resistance in mice, and the intervention of inulin can improve the symptoms, in particular at the high dose.

Key words: *trans* fatty acids; inulin; mice; insulin resistance; hyperlipidemia

中图分类号: TS202.3; TS201.4

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2015) 01-0201-04

doi:10.7506/spkx1002-6630-201501038

胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR) 是指胰岛素靶器官如脂肪组织、肝脏、肌肉对胰岛素的敏感性降低^[1]。

“共同土壤学说”^[2-4]认为IR普遍存在于糖尿病、高血压、血脂紊乱及肥胖等疾病中^[2-5], 是多种代谢性疾病的共同危险因素, 是代谢紊乱的重要表现。氧化应激是指机体在遭受各种有害刺激时, 体内高活性分子如活性氧自由基 (reactive oxygen species, ROS) 和活性氮自由基 (reactive nitrogen species, RNS) 产生过多, 氧化程度超出氧化物的清除速度, 氧化系统和抗氧化系统失衡, 从而导致组织损伤^[6]。氧化应激与IR关系密切, 是IR的病理学基础之一^[7]。反式脂肪酸 (*trans* fatty acids, TFA) 是具有反式构象碳-碳双键的所有非共轭不饱和脂肪酸的

总称。研究表明, TFA的过多摄入会导致机体血脂异常及糖尿病等疾病^[8]。

菊粉又称菊糖, 主要来源于菊芋块根, 是D-呋喃果糖经 β -1,2-糖苷键聚合而成的一种果聚糖。菊粉是自然界中天然存在的可溶性膳食纤维之一, 广泛存在于约3.6万种植物中^[9]。研究表明, 每日摄食2 g菊粉对控制人的体质量, 改善肠道功能, 控制血糖水平及防止机体失调有很大帮助^[10], 因此, 研究菊粉对IR的改善作用具有重要意义。

本实验以高脂血症-IR-氧化应激为主线, 探讨菊粉对反式脂肪酸致高脂血症小鼠IR的影响。首先用反式脂肪酸饲料喂养小鼠, 建立小鼠高脂血症模型, 按人体推荐

收稿日期: 2014-03-04

基金项目: 国家高技术研究发展计划 (863计划) 项目 (2010AA023003-01); 武汉市科技计划项目 (201220837298-5);

武汉工业学院研究生创新基金项目 (2012cx016)

作者简介: 李晓月 (1989—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品科学。E-mail: lixiaoyue-540@163.com

*通信作者: 肖安红 (1963—), 女, 教授, 博士, 研究方向为粮食油脂及植物蛋白。E-mail: 1090106395@qq.com

量^[11]的5、10、20倍设计菊粉低、中、高3个剂量组对高脂血症模型小鼠进行灌胃,研究菊粉对反式脂肪酸诱导小鼠IR的影响。

1 材料与方法

1.1 动物、材料与试剂

昆明种雄性小鼠90只,体质量(20±2)g,湖北省疾病预防控制中心提供,动物合格许可证编号:SCXK(鄂)2008-0005。

菊粉(纯度94.46%)基本成分(质量分数,下同):水分4.37%、蛋白质0.02%、脂肪1.1%、灰分0.13%、总糖98.24%、还原糖3.78%。

高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)试剂盒、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)试剂盒、甘油三酯(triglyceride, TG)试剂盒、总胆固醇(total cholesterol, TC)试剂盒、总超氧化物歧化酶(total superoxide dismutase, T-SOD)试剂盒 南京建成生物工程研究所;胰岛素酶联免疫吸附试剂盒 上海博古生物科技有限公司。

小鼠饲料:普通基础饲料由湖北省疾病预防控制中心提供,高脂饲料和10% TFA饲料均为本实验自制^[12]。饲料配方见表1。

表1 饲料配方及成分
Table 1 Formula and ingredients of feeds

饲料种类	基础饲料	胆酸钠	胆固醇	白糖	丙硫氧嘧啶	猪油	人造黄油
普通基础饲料	100	—	—	—	—	—	—
高脂饲料	81.3	0.5	3	5	0.2	10	—
10% TFA饲料	81.3	0.5	3	5	0.2	7.5	2.5

注:表中数据以质量分数计;人造黄油中TFA含量按质量分数40%计;—,不添加。

1.2 仪器与设备

ELX800型酶标仪 美国Bio-Tek公司;血糖试纸、便携式血糖仪 北京怡成生物电子有限公司。

1.3 方法

1.3.1 高脂血症小鼠模型建立

实验采用普通高脂模型^[13]和10% TFA高脂模型两种方法^[14]。造模成功的标志为:血清TC含量>5.72 mmol/L,或血清TG含量>1.70 mmol/L,或TC含量>5.72 mmol/L且TG含量>1.70 mmol/L,或HDL-C含量<0.9 mmol/L^[12]。

1.3.2 分组及喂养方法

实验初期小鼠适应性喂养,1周后随机分为9组,每组10只(分组及饲养方法见表2)。4周后,小鼠空

腹24 h后取血测TG、TC、HDL-C、LDL-C水平,T-SOD活性、空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)含量和空腹胰岛素(fasting insulin, FIN)水平。实验过程中小鼠自由饮水摄食,每日上午灌胃。饲养环境:温度18~22℃,相对湿度45%~60%、明暗12 h/12 h。

表2 实验小鼠分组
Table 2 Experimental groups

组别	代号	饲料类型	灌胃试剂	灌胃剂量/(g/(kg·d))
正常对照组	C组	普通饲料		5
高脂对照组	HF组	高脂饲料	生理盐水	5
10% TFA对照组	TFA组	10% TFA饲料		5
低剂量菊粉高脂组	HF-L组	高脂饲料		2.5
中剂量菊粉高脂组	HF-M组	高脂饲料	菊粉	5
高剂量菊粉高脂组	HF-H组	高脂饲料		10
低剂量菊粉10% TFA组	TFA-L组	10% TFA饲料		2.5
中剂量菊粉10% TFA组	TFA-M组	10% TFA饲料	菊粉	5
高剂量菊粉10% TFA组	TFA-H组	10% TFA饲料		10

注:小鼠灌胃剂量以体质量计。

1.3.3 各项指标的测定及计算方法

1.3.3.1 血清学指标的测定

禁食24 h后,小鼠眼眶取血,离心取上清液,测TC、TG、HDL-C、LDL-C水平,T-SOD活性及FIN水平。

1.3.3.2 FBG含量的测定

小鼠空腹24 h后,鼠尾取血,采用怡成血糖仪和血糖试纸进行测定。

1.3.3.3 胰岛素抵抗指数(homeostasis model assessment-insulin resistance, HOMA-IR)测定

根据已测定的FBG和FIN水平,由公式(1)计算HOMA-IR。

$$HOMA-IR = \frac{FBG / (mmol/L) \times FIN / (mIU/L)}{22.5} \quad (1)$$

1.3.3.4 胰岛β细胞功能指数(homeostasis model assessment-β, HOMA-β)测定

根据已测定的FBG和FIN水平,由公式(2)计算HOMA-β。

$$HOMA-β = 20 \times \frac{FIN / (mIU/L)}{FBG / (mmol/L) - 3.5} \quad (2)$$

1.3.3.5 小鼠胰岛素敏感指数(insulin sensitivity index, ISI)测定

根据已测定的FBG和FIN水平,由公式(3)计算ISI。

$$ISI = \ln \frac{1}{FBG / (mmol/L) \times FIN / (mIU/L)} \quad (3)$$

1.4 数据处理

应用SPSS 17.0统计软件进行数据处理。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间差异比较采用单因素方差分析。

2 结果与分析

2.1 高脂血症小鼠造模结果

表3 高脂血症小鼠造模结果

Table 3 Successful establishment of hyperlipidemia mouse model

组别	TC含量/ (mmol/L)	TG含量/ (mmol/L)	HDL-C含量/ (mmol/L)	LDL-C含量/ (mmol/L)
C组	3.26±0.09	0.76±0.07	3.34±0.06	1.73±0.05
HF组	5.89±0.09**	1.99±0.06**	1.80±0.08**	4.48±0.08**
TFA组	7.68±0.08 ^{###}	2.97±0.05 ^{###}	0.76±0.06 ^{###}	6.64±0.09 ^{###}

注: **、与C组相比, 差异极显著 ($P < 0.01$); ##、与HF组相比, 差异极显著 ($P < 0.01$)。表4同。

由表3可知, HF组TC>5.72 mmol/L、TG>1.70 mmol/L; TFA组TC>5.72 mmol/L, TG>1.70 mmol/L, HDL-C<0.9 mmol/L。因造模成功的标志为: 血清TC>5.72 mmol/L, 或血清TG>1.70 mmol/L, 或TC>5.72 mmol/L且TG>1.70 mmol/L, 或HDL-C<0.9 mmol/L^[12]。由以上结果可知, HF组和TFA组高脂血症小鼠造模成功。且TFA组各项指标与HF组相比差异极显著 ($P < 0.01$), 说明TFA与HF相比对高脂血症有加剧作用。

2.2 TFA对高脂血症小鼠IR的影响

正常血糖钳夹技术是目前国际公认的检测胰岛素敏感性的方法, 被认为是检测胰岛素抵抗的金标准^[15]。但由于其操作过程复杂、费用昂贵而使得其应用受限。稳态模型和胰岛素敏感指数^[16-17]由于操作和测定过程简单、准确性高而成为临床上评价IR的主要标准。稳态模型的两个主要指标HOMA-IR和HOMA-β分别与机体IR程度和胰岛β细胞功能存在良好的相关性^[18], HOMA-IR升高说明IR程度增强, HOMA-β降低表明胰岛β细胞功能减弱。

人体代谢活动可以产生少量ROS, 当机体受到损伤时, ROS产生过多或清除减少, 导致机体抗氧化防御系统失衡, 造成机体氧化应激。高脂饮食能诱导机体处于氧化应激状态, 导致机体氧化损伤, 干扰骨骼肌组织对葡萄糖的摄取而诱导IR^[19-21]。T-SOD是机体内酶类主要自由基清除剂之一, 可减轻自由基对生物膜和其他组织造成的损伤。因此可以利用T-SOD活力高低间接反映机体抗氧化系统的功能水平^[22]。

表4 TFA对高脂血症小鼠IR的影响

Table 4 Effects of *trans* fatty acids on insulin resistance in mice

组别	FBG水平/ (mmol/L)	FIN水平/ (mIU/L)	ISI	HOMA-IR	HOMA-β	T-SOD活力/ (U/mL)
C组	5.3±0.6	8.32±0.25	-3.79±0.08	2.10±0.12	82.53±16.40	110.56±9.56
HF组	7.7±0.7**	9.53±0.87**	-4.39±0.09**	3.39±0.38**	44.43±9.87**	76.45±12.23**
TFA组	9.9±1.0 ^{##}	9.85±1.06	-4.60±0.09 ^{##}	4.21±0.60 ^{##}	33.23±8.56 ^{##}	66.12±13.45 ^{##}

由表4可知, HF、TFA两组与C组相比, FBG、FIN水平和HOMA-IR显著升高 ($P < 0.01$), ISI、HOMA-β

和T-SOD活力显著降低 ($P < 0.01$)。说明高脂血症小鼠产生了IR。TFA组与HF组相比, FBG水平, HOMA-IR、ISI和T-SOD活力差异均极显著 ($P < 0.01$), HOMA-β显著降低 ($P < 0.05$), FIN水平升高但差异并不显著 ($P > 0.05$)。可能是由于喂养时间过短, 在FBG水平极显著升高的情况下, 胰岛β细胞无须分泌大量的胰岛素来满足机体代谢的需要^[23]。以上结果说明TFA更易导致高脂血症小鼠IR。

2.3 菊粉对高脂血症小鼠IR影响的结果及分析

2.3.1 菊粉对小鼠血糖水平的影响

表5 菊粉对反式脂肪酸致高脂血症小鼠IR的影响

Table 5 Effect of inulin on insulin resistance in *trans* fatty acids-fed mice

组别	FBG水平/ (mmol/L)	FIN水平/ (mIU/L)	ISI	HOMA-IR	HOMA-β	T-SOD活力/ (U/mL)
C组	5.4±0.5	8.58±0.47	-3.84±0.09	2.22±0.40	80.26±10.44	115.35±12.78
HF组	7.9±0.8	9.08±0.63	-4.23±0.10	3.28±0.38	51.08±5.39	75.76±11.09
TFA组	9.7±1.2	9.88±1.01	-4.48±0.13	3.89±0.57	34.68±3.14	65.56±10.10
HF-L组	7.2±0.7 ^k	8.96±0.60	-4.12±0.08 ^k	3.08±0.42 ^k	55.46±7.08 ^k	80.15±9.34 ^k
HF-M组	7.0±0.6 ^{ka}	8.89±0.67	-4.01±0.07 ^{ka}	2.88±0.46 ^{ka}	59.78±8.36 ^{ka}	83.52±10.06 ^{ka}
HF-H组	6.7±0.7 ^{kab}	8.78±0.56	-3.96±0.09 ^{kab}	2.64±0.39 ^{kab}	64.45±8.68 ^{kab}	88.67±9.12 ^{kab}
TFA-L组	9.3±0.8 ^a	9.48±0.66	-4.39±0.10 ^a	3.44±0.37 ^a	40.56±7.45 ^a	80.98±9.66 ^a
TFA-M组	8.9±0.5 ^{ad}	9.08±0.29	-4.25±0.08 ^{ad}	3.06±0.34 ^{ad}	45.89±6.66 ^{ad}	91.34±9.66 ^{ad}
TFA-H组	8.6±0.4 ^{ade}	8.84±0.35	-4.10±0.07 ^{ade}	2.78±0.35 ^{ade}	50.13±7.23 ^{ade}	109.15±10.11 ^{ade}

注: &、与HF组相比, 差异显著 ($P < 0.05$); &&、与HF组相比, 差异极显著 ($P < 0.01$); Δ、与TFA组相比, 差异显著 ($P < 0.05$); ΔΔ、与TFA组相比, 差异极显著 ($P < 0.01$); a、与HF-L组相比, 差异显著 ($P < 0.05$); aa、与HF-L组相比, 差异极显著 ($P < 0.01$); b、与HF-M组相比, 差异显著 ($P < 0.05$); bb、与HF-M组相比, 差异极显著 ($P < 0.01$); d、与TFA-L组相比, 差异显著 ($P < 0.05$); dd、与TFA-L组相比, 差异极显著 ($P < 0.01$); e、与TFA-M组相比, 差异显著 ($P < 0.05$); ee、与TFA-M组相比, 差异极显著 ($P < 0.01$)。

由表5可知, 采用低、中、高3种剂量的菊粉对高脂血症小鼠进行干预, 均能不同程度地降低小鼠的FBG水平。其中, 高剂量组的效果最好 ($P < 0.01$)。Kim等^[24]使用含10 mmol/L葡萄糖和10 g/L菊粉的等渗电解质溶液 (pH 7.4) 对大鼠进行灌肠实验, 结果表明灌注液中的菊粉能明显抑制空肠对葡萄糖的吸收 ($P < 0.05$), 研究人员指出可能是菊粉提高了黏度, 导致肠黏膜厚度增加, 从而降低葡萄糖吸收的程度。

2.3.2 菊粉对小鼠血清胰岛素水平的影响

由表5可知, 菊粉干预能够降低小鼠的FIN水平, 但是差异并不显著 ($P > 0.05$)。Causey等^[25]证明菊粉可以降低血糖水平 ($P < 0.05$), 但是对胰岛素水平没有显著影响 ($P > 0.05$), 其原因可能是菊粉添加量低且喂养时间短, 不足以改善严重受损的胰岛β细胞的功能。

2.3.3 菊粉对小鼠ISI、HOMA-IR和HOMA-β的影响

由表5可知, 菊粉干预增强了小鼠的ISI和HOMA-β, 降低了小鼠的HOMA-IR。其中高剂量组效果最佳。Kumar等^[26]发现麦麸和瓜尔胶能增强糖尿病大鼠的ISI, 降低HOMA-IR, 与本实验结果基本一致。

2.3.4 菊粉对小鼠抗氧化能力的影响

由表5可知, 菊粉干预使小鼠的T-SOD活力极显著升高($P<0.01$), 增强了小鼠的抗氧化能力, 且高剂量组的效果最好。原因可能是菊粉能够清除体内积累的自由基, 减轻了过多自由基对机体的损伤。

3 结 论

添加10% TFA的高脂饲料可致小鼠高脂血症并能够诱导小鼠产生IR。菊粉能够改善小鼠的IR状况, 且高剂量组效果优于中、低剂量组。菊粉可使高脂血症小鼠的抗氧化能力提高, 从而缓解IR程度。

参考文献:

- [1] 石梅兰, 李强翔. 大黄素在糖尿病胰岛素抵抗中的作用[J]. 中国老年学杂志, 2012, 32(19): 4351-4353.
- [2] RESNICK H E, HOWARD B V. Diabetes and cardiovascular disease[J]. Annual Review of Medicine, 2002, 53(1): 245-267.
- [3] ZEYDA M, STULNIG T M. Obesity, inflammation, and insulin resistance-a mini-review[J]. Gerontology, 2009, 55(4): 379-386.
- [4] 杨晖, 李艺, 程玲, 等. 电针与饮食调整对营养性肥胖大鼠胰岛素抵抗的影响[J]. 中西医结合学报, 2007, 5(5): 546-549.
- [5] CHEUNG O, SANYAL A J. Recent advances in nonalcoholic fatty liver disease[J]. Current Opinion in Gastroenterology, 2010, 26(3): 202-208.
- [6] 赵丽. Nrf2/HO-1途径对高脂饮食诱导的大鼠胰岛素抵抗的保护作用和机制研究[D]. 西安: 第四军医大学, 2012: 25-26.
- [7] SUCIU I, NEGREAN V, SAMPELEAN D. The oxidative stress in the development of diabetes chronic complications in the elderly[J]. Romanian Journal of Internal Medicine, 2003, 42(2): 395-406.
- [8] 李璇, 郑建仙. 脂肪与心血管疾病相互关系最新进展及对食品工业的指导意义[J]. 食品与发酵工业, 1998, 24(1): 74-79.
- [9] 许勤虎. 菊粉的功能及应用研究[J]. 食品工业科技, 2002, 23(增刊1): 141-145.
- [10] 汤锋, 杨武, 王丽, 等. 菊粉功能特性的研究[J]. 食品工业科技, 2010, 31(5): 318-320.
- [11] World Health Organization. Diet, nutrition and the prevention of chronic disease[R]. Geneva: WHO, 1991.
- [12] 李晓月, 张晶晶, 张红建, 等. 玉米皮膳食纤维对反式脂肪酸致高脂血症小鼠脂代谢的影响[J]. 中国酿造, 2013, 32(11): 32-35.
- [13] 张世卿, 佟丽. 胰岛素抵抗作用发生机制及实验模型的研究进展[J]. 中药新药与临床药理, 2012, 23(3): 364-368.
- [14] 席路. 玉米皮膳食纤维对TFA致高脂血症小鼠血脂调节及抗氧化能力的影响[D]. 武汉: 武汉工业学院, 2011: 51-58.
- [15] 柏建清. 有氧运动对大鼠胰岛素敏感性的时相性影响[J]. 中国老年学杂志, 2012, 32(20): 4467-4469.
- [16] 李光伟, 潘孝仁, LILLIOJASS S, 等. 检测人群胰岛素敏感性的一项新指数[J]. 中华内科杂志, 1993, 32(10): 656-660.
- [17] DUNCAN M H, SINGH B M, WISE P H, et al. A simple measure of insulin resistance[J]. The Lancet, 1995, 346: 120-121.
- [18] 崔庆荣, 安小平, 康学东, 等. 黄金胶囊改善2型糖尿病胰岛素抵抗大鼠胰岛素敏感性研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010(5): 150-152.
- [19] MATSUZAWA-NAGATA N, TAKAMURA T, ANDO H, et al. Increased oxidative stress precedes the onset of high-fat diet-induced insulin resistance and obesity[J]. Metabolism, 2008, 57(8): 1071-1077.
- [20] REBOLLEDO O R, MARRA C A, RASCHIA A, et al. Abdominal adipose tissue: early metabolic dysfunction associated to insulin resistance and oxidative stress induced by an unbalanced diet[J]. Hormone and Metabolic Research, 2008, 40(11): 794-800.
- [21] LI Lanfang, LI Jian. Link between oxidative stress and insulin resistance[J]. Chinese Medical Sciences Journal, 2007, 22(4): 254-259.
- [22] 高丹红. 叶黄素改善高脂饲料喂养大鼠动脉粥样硬化危险因素的初步研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2012: 36-38.
- [23] MUNIYAPPA R, LEE S, CHEN H, et al. Current approaches for assessing insulin sensitivity and resistance *in vivo*: advantages, limitations, and appropriate usage[J]. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism, 2008, 294(1): E15-E26.
- [24] KIM M, SHIN H K. The water-soluble extract of chicory reduces glucose uptake from the perfused jejunum in rats[J]. The Journal of Nutrition, 1996, 126(9): 2236-2242.
- [25] CAUSEY J L, FEIRTAG J M, GALLAHER D D, et al. Effects of dietary inulin on serum lipids, blood glucose and the gastrointestinal environment in hypercholesterolemic men[J]. Nutrition Research, 2000, 20(2): 191-201.
- [26] KUMAR C M, RACHAPPAJI K S, NANDINI C D, et al. Modulatory effect of butyric acid-a product of dietary fiber fermentation in experimentally induced diabetic rats[J]. The Journal of Nutritional Biochemistry, 2002, 13(9): 522-527.