

基于皮质醇调控的番石榴幼果水提物降血糖机制

郭月红¹, 欧雨嘉¹, 吴静茹¹, 曾绍校¹, 郑宝东^{2*}, 林少玲^{1*}

(¹福建农林大学食品科学学院 福州 350000)

(²农业农村部食用菌加工及综合利用技术集成科研基地 福州 350000)

摘要 为研究番石榴幼果水提物对糖尿病小鼠的降血糖作用机制,通过链脲佐菌素诱导建立糖尿病小鼠模型,将小鼠分为正常组、正常降糖组、模型组、阳性组和番石榴幼果提取物高、中、低剂量组。测定小鼠的空腹血糖值、糖耐量、血脂 4 项,对肝、肾、胰腺组织进行病理学观察,对血清样本进行非靶向代谢组学研究,研究番石榴幼果对糖尿病小鼠的改善作用。结果显示,相较于模型组,番石榴幼果水提物高剂量组可显著降低糖尿病小鼠的血糖水平($P<0.05$),提高对葡萄糖的耐受能力($P<0.05$),并降低了血清中甘油三酯与总胆固醇水平($P<0.05$),对糖尿病小鼠的肝脏、肾脏及胰腺组织(组织形态完整性)具有一定的保护作用。通过血清代谢组学分析筛选出 27 种有显著回调作用的差异代谢物,明确皮质醇的合成和分泌是一条最相关的代谢通路。结论:番石榴幼果水提物具有一定的降血糖、调节血脂水平和保护肝、肾、胰腺组织的功效,通过调节机体皮质醇激素的水平达到改善糖尿病的目的。

关键词 番石榴幼果; 糖尿病; 降血糖; 降血脂; 血清代谢

文章编号 1009-7848(2024)06-0142-13 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.06.013

糖尿病(diabetes mellitus,DM)是一种全球性的慢性代谢疾病,目前已趋于年轻化,随着肥胖、不当饮食等各种因素的影响,预计到 2040 年,全球约有超过 6.4 亿的成年糖尿病患者,而在我国,成年人的糖尿病发病率已达到 11%,成为又一个危害身体健康的慢性疾病^[1-2]。糖尿病患者的血糖总保持在较高水平,影响体内碳水化合物和脂类细胞底物的代谢,进而导致身体代谢紊乱,体内器官慢性损伤,严重时还会导致身体器官衰竭^[3-4]。有临床研究^[5]表明糖尿病患者会出现一定程度的下丘脑-垂体-肾上腺(The hypothalamic-pituitary-adrenal axis,HPA)轴功能紊乱,主要表现在皮质醇活性增强,相关激素昼夜节律性消失。皮质醇由肾上腺皮质分泌,是机体主要的糖皮质激素,该激素是一种胰岛素抵抗激素,可通过糖异生、抑制胰岛素分泌等多种途径升高机体的血糖水平^[6]。长期的高血糖水平还会带来各种风险及并发症,如静脉曲张^[7]、非酒精性脂肪肝^[8]、骨质疏松^[9]、肾脏衰竭^[10]、下肢动脉粥样病变^[11]等。目前临床上治疗

糖尿病的药物有二甲双胍、胰岛素等,然而这些药物治疗常伴随副作用^[12-14]。越来越多的人开始关注饮食干预,通过饮食来控制体质量,调节血糖,进而缓解糖尿病症状^[15]。有研究也发现从食物中提取出的生物活性成分,在防治糖尿病方面具有十分优秀的前景,因此利用食物提取物来防治糖尿病成为一个热门的研究话题^[16-17]。

番石榴(Psidium guajav Linn,PG),又名有芭乐、那拔、鸡屎(矢)果等^[18]。因为番石榴果实富含营养价值,如维生素 C、铁、钙、磷等含量非常高,所以又有“超级水果”的美称^[19]。番石榴还具有很好的药理作用,如抗氧化^[20]、降血脂^[21]、降血糖^[22]、抗肿瘤^[23]等功效。目前关于番石榴的研究主要在成熟果实和叶上,而关于番石榴幼果的研究较少。番石榴幼果是番石榴种植过程中的副产物,通常由于蔬果或者掉落而被废弃。番石榴幼果经研究在临床上有很好的降血糖效果,如朱碧贞^[24]在对糖尿病的临床治疗中发现,饮用番石榴幼果茶后,糖尿病病人的“三多一少”症状得到改善,血糖水平维持在理想水平且无未见任何副作用,而其作用机制尚不清楚。

本研究以番石榴幼果为试验原料,以链脲佐菌素(Streptozotocin, STZ)诱导的 C57BL 雄性小鼠糖尿病模型为对象,探究番石榴幼果提取物对

收稿日期: 2023-06-13

基金项目: 福建省雏鹰计划青年拔尖人才专项(118362410108)

第一作者: 郭月红,女,硕士

通信作者: 林少玲 E-mail:shaoling_lin@yeah.net

郑宝东 E-mail:zhdfst@163.com

糖尿病小鼠的改善作用,以期促进番石榴的深度开发。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

番石榴幼果干,中依生物科技(厦门)有限公司。SPF 级雄性昆明小鼠,润怡实验动物服务部。链脲佐菌素,美国 Sigma 公司。二甲双胍,中美上海施贵宝公司;柠檬酸-柠檬酸钠缓冲溶液,上海语纯生物科技有效公司。色谱仪、质谱仪,赛默飞世尔科技公司;色谱柱,赛默飞世尔科技公司;血糖仪,德国罗氏诊断公司;恒温水浴锅,上河南予华仪器有限公司;旋转蒸发浓缩仪,上海申生科技有限公司;台式高速离心机,贝克曼库尔特(美国)有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 番石榴幼果水提物的制备 将番石榴幼果干粉碎后,过 100 目筛后得到番石榴幼果干粉。取番石榴幼果干粉 100 g,加入 2 000 mL 的蒸馏水后均匀混合,置于恒温水浴锅中进行提取,100 °C,提取 2 h 后,过滤、浓缩得到番石榴幼果水提物 100 mL。

1.2.2 糖尿病小鼠模型的建立 参考庄梅琳等^[25]的试验方法,略有修改。将 60 只 4 周龄的清洁级 C57BL 雄性小鼠,在温度 (23±1)°C、湿度 (55±5)%、12 h 的光/暗循环的环境下饲养。适应 1 周后,从中随机挑选 54 只小鼠进行糖尿病造模。对空腹 12 h 的小鼠进行 STZ (50 mg/kg) 的腹腔注射。连续注射 5 d 后,测小鼠空腹血糖值,空腹血糖在 12 mmol/L 以上的小鼠即为成功的糖尿病小鼠模型。

1.2.3 分组、给药 将造模成功的小鼠随机分成 5 组。分组和灌胃给药剂量如下:正常对照组 8 只(NC)灌胃等量生理盐水、正常降糖组 8 只(NC-H)灌胃 216 mg/(kg·d)番石榴幼果水提物、模型组 8 只(DM)灌胃等量生理盐水、阳性组 8 只(MET)灌胃 200 mg/(kg·d)二甲双胍、番石榴幼果水提物高、中、低剂量组各 8 只,分别灌胃 216 mg/(kg·d) (PG-H)、72 mg/(kg·d) (PG-M)、24 mg/(kg·d) (PG-L),连续灌胃 4 周。

1.2.4 检测指标

1.2.4.1 小鼠体质量测定 在实验期间每周固定给小鼠进行体质量测定,直至实验结束。

1.2.4.2 空腹血糖测定 小鼠每周固定时间禁食,进行尾部采血测定空腹血糖值,连续测定 4 周。

1.2.4.3 口服糖耐量测定 参考杨阳等^[26]的试验方法,略有修改。小鼠灌胃 4 周后进行口服糖耐量测试,禁食 12 h 后一次性给予葡萄糖(2 g/kg)。并在口服葡萄糖后的 0,0.5,1,1.5,2 h,进行尾部采血测定血糖值。根据测定结果,求出血糖曲线下面积(Area Under Curve,AUC)。

1.2.4.4 血脂相关指标测定 实验结束后,取小鼠眼眶血,静置凝固后,离心,取上层血清,测定血清中的高密度脂蛋白胆固醇(High density lipotein cholesterol,HDL-C),低密度脂蛋白胆固醇(Low-Density Lipoprotein Cholesterol,LDL-C),甘油三酯(Triglyceride,TG),总胆固醇(Total cholesterol,TC)的含量。

1.2.4.5 器官组织病理学观察 小鼠肝脏、肾、胰腺组织解剖后使用固定液保存,经过包埋切片、染色、脱水、封片步骤后,通过显微镜观察切片组织结构变化。

1.2.4.6 代谢组学的检测方法

①血清样品前处理 取 100 μL 样本,加入 400 μL 的甲醇水溶液;涡旋振荡后,静置 5 min,离心取上清液加质谱级水稀释;再次离心取上清液,进样,LC-MS 分析^[27]。

②QC 样品与 blank 样本制备 从每一个实验样本中取等量均匀混匀作为 QC 样本。甲醇水溶液作为 blank 样本。后续处理步骤同①。

③分析仪器参数 色谱条件:色谱柱 HypesilGoldcolumn(C18),柱温 40 °C,流速 0.2 mL/min;扫描范围 m/z 100~1 500;ESI 源的设置:喷雾电压 3.5 kV;鞘气流速 35psi;辅助气流速 10 L/min;离子传输管温度 320 °C;离子导入射频电平 60;辅助气加热器温度 350 °C;极性: positive, negative;MS/MS 二级扫描为数据依赖性扫描。

④数据预处理和代谢物鉴定 将下机数据文件导入 CD 3.1 搜库软件中进行处理,对每个代谢物进行保留时间、质荷比等参数的筛选,然后通过设置保留时间和质量对不同样品进行峰对齐,确

保结果准确。随后进行峰提取,对峰面积进行定量,整合目标离子,进行分子式的预测,并和 mz-Cloud、mzVault 和 Masslist 数据库进行比对,去除背景离子,进行标准化处理,最后得到代谢物的鉴定定量结果。

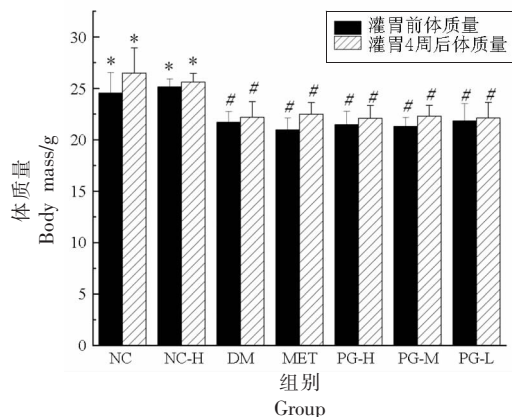
1.3 统计学处理

数据采用 SPSS、Origin、metaX、Python、R 语言等软件进行分析处理和绘图,以 $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著。

2 结果与分析

2.1 番石榴幼果水提取物对小鼠体质量的影响

“三多一少”为糖尿病最典型的临床症状,“三多”指的是多饮、多食、多尿,“一少”指的是体质量减轻。体质量减轻是由于患者糖代谢紊乱,机体主动分解脂肪和蛋白质功能导致身体日渐消瘦^[28]。本实验对糖尿病小鼠的体质量进行了记录,结果如图 1 所示,在灌胃前经过 STZ 注射诱导的糖尿病小鼠的体质量均显著低于正常组的小鼠($P < 0.05$),



注:比较同一时期的体质量值。与正常组相比,# $P < 0.05$;与模型组相比,* $P < 0.05$ 。

图 1 番石榴幼果水提取物对小鼠体质量的影响

Fig.1 The effect of water extract of immature guava fruit on the body mass of mice

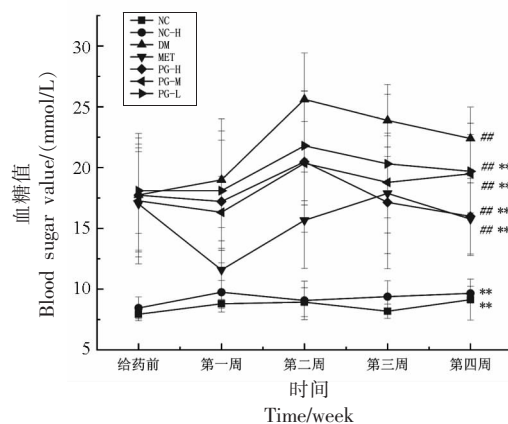
2.2 番石榴幼果水提取物对小鼠口服糖耐量的影响

灌胃葡萄糖后小鼠血糖值变化如图 3a 所示。各组的血糖值在灌胃葡萄糖 30 min 后达到顶峰,随后各组血糖值开始降低。而从第 30 min 开始,PG-H 组的血糖值都低于 DM 组,在第 120 min

说明建模的糖尿病小鼠符合“一少”的特征。在灌胃 4 周后,正常组和正常降糖组小鼠的体质量之间无显著性差异,说明番石榴幼果水提取物高剂量组对正常小鼠的体质量无影响,并不存在毒性。而其它实验组的体质量相对于正常组有差异,原因可能是短时间饮食干预并不能马上改善糖尿病小鼠的体质量,恢复到正常水平。

2.2 番石榴幼果水提取物对小鼠血糖的影响

小鼠每周血糖值如图 2。由图可得,在给药前,通过 STZ 诱导的实验组血糖值均显著高于 NC 组,说明糖尿病小鼠模型建立成功。在经过 4 周的干预下,DM 组的血糖值维持较高水平,极显著高于其它实验组($P < 0.01$)。NC-H 组的血糖值与 NC 组无显著性差异,说明高剂量的番石榴幼果水提取物对正常小鼠的血糖无不良影响。而 PG-H 组的血糖值极显著低于 DM 组($P < 0.01$),且与 MET 组无显著性差异,说明番石榴幼果水提取物能够有效控制糖尿病小鼠的体内血糖水平的升高,具有显著降血糖的效果。



注:比较灌胃第 4 周的小鼠血糖值。与正常组相比,## $P < 0.01$;与模型组相比,** $P < 0.01$ 。

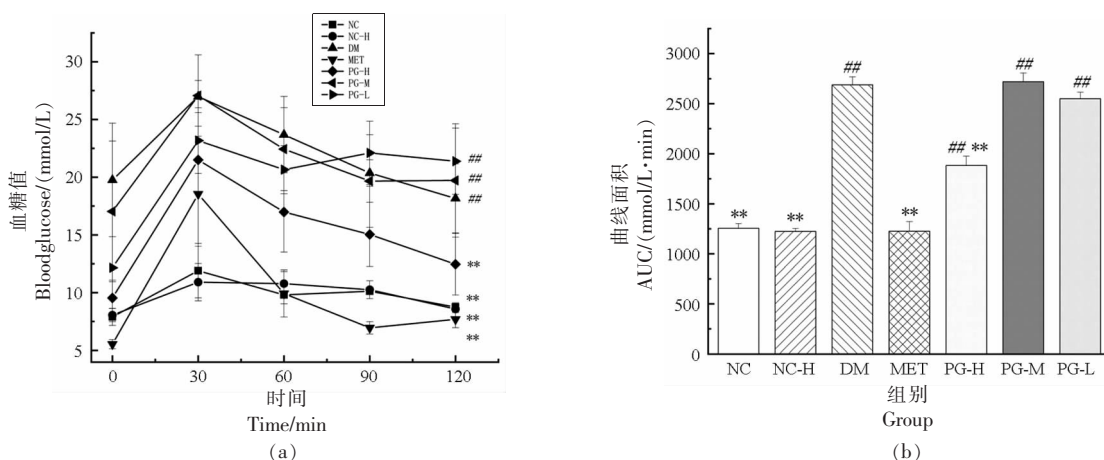
图 2 番石榴幼果水提取物对小鼠血糖水平的影响

Fig.2 The effect of water extract of immature guava fruit on blood glucose level in mice

时,PG-H 组的血糖值(12.46 mmol/L)相比 DM 组的血糖值(18.16 mmol/L)极显著降低($P < 0.01$)。计算各组血糖曲线下面积(AUC)如图 3b 所示,结果表明,PG-H 组相较于 DM 组极显著降低($P < 0.01$),而 PG-M 组和 PG-L 组效果不明显,原因

可能是中、低剂量的番石榴幼果水提取物对糖尿病小鼠的血糖并没有起到改善作用。综上,高剂量的

番石榴幼果水提取物能够改善糖尿病小鼠餐后血糖升高的情况,提高其对葡萄糖的耐受能力。



注:(a)表示小鼠口服葡萄糖后 120 min 内血糖变化情况。在灌胃葡萄糖第 120 min 后,与正常组相比,## $P<0.01$;与模型组相比,** $P<0.01$;(b)表示小鼠口服糖耐量血糖曲线下面积(AUC)。与正常组相比,## $P<0.01$;与模型组相比,** $P<0.01$ 。

图 3 番石榴幼果水提取物对小鼠口服糖耐量的影响

Fig.3 The effect of water extract of immature guava fruit on oral glucose tolerance in mice

2.4 番石榴幼果水提取物对小鼠血脂四项的影响

各组小鼠血清中血脂 4 项如图 4 所示。可以看出,在经过 4 周的干预下,DM 组的 TG、TC、LDL-C 显著高于 NC 组 ($P<0.05$),而 PG-M 组的 TG、TCHO 显著低于 DM 组 ($P<0.05$),说明我们的番石榴幼果水提取物能有效降低血脂中总胆固醇、甘油三酯的含量,改善因糖尿病而引起的血脂代谢紊乱问题。

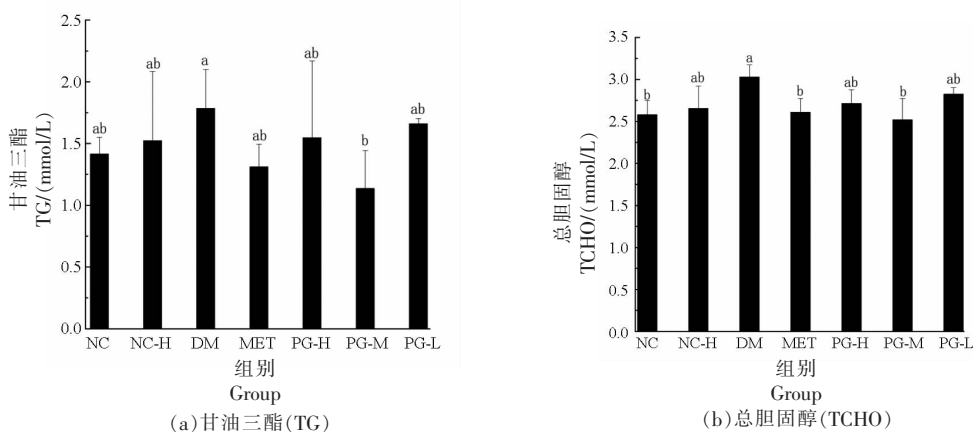
2.5 番石榴幼果水提取物对小鼠肝脏的影响

番石榴幼果水提取物对糖尿病小鼠肝脏组织的影响如图 5 所示。从图中可以看出,NC 组与 NC-H 组的肝细胞形态正常、组织结构完整、形态清

晰,且无明显病变情况。DM 组的肝细胞出现了明显空泡化病变,细胞形态不规则,某些细胞核固缩且消失。而经过二甲双胍和番石榴干预治疗后,MET 组和番石榴剂量组的肝细胞空泡化病变与细胞凋亡及核固缩有不同程度的改善,说明番石榴幼果水提取物对糖尿病小鼠的肝脏组织具有保护和修复的作用。

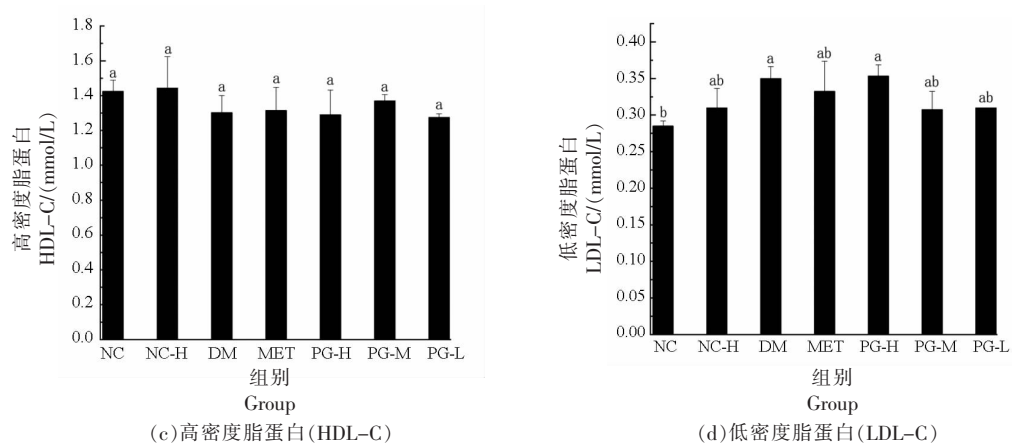
2.6 番石榴幼果水提取物对小鼠胰腺组织的影响

番石榴幼果水提取物对糖尿病小鼠胰腺组织的影响如图 6 所示。从图中可以看出,NC 组的胰岛细胞为椭圆形细胞团,胰岛细胞结构清晰。DM 组的胰岛细胞则发生明显地萎缩,胰岛形态不规则



(a) 甘油三酯(TG)

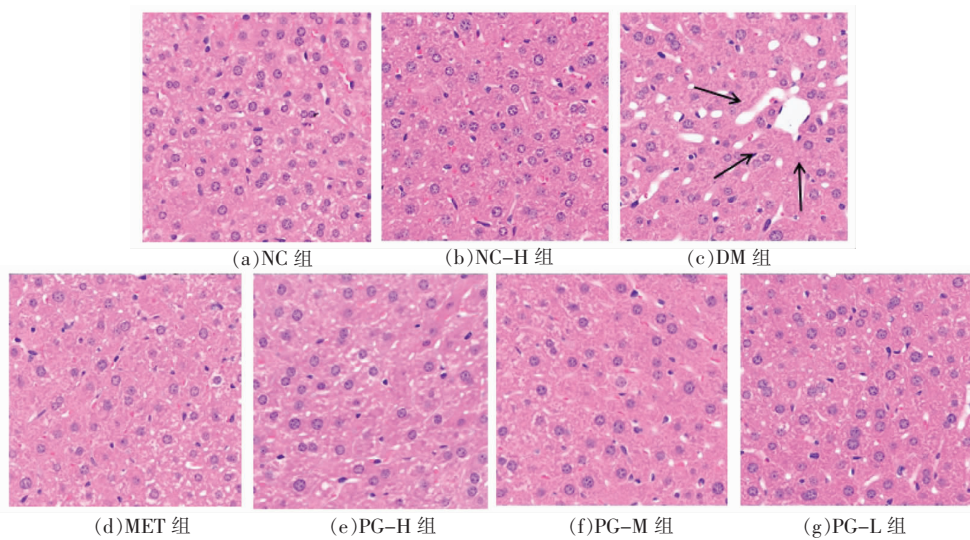
(b) 总胆固醇(TCHO)



注:图中出现不同字母表示组间有显著性差异,相同字母表示组间无显著性差异, $P<0.05$ 。

图4 番石榴幼果水提物对小鼠血脂四项的影响

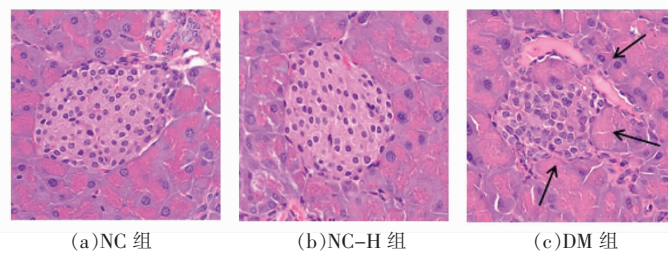
Fig.4 Effects of water extract of immature guava fruit on four items of blood lipids in mice

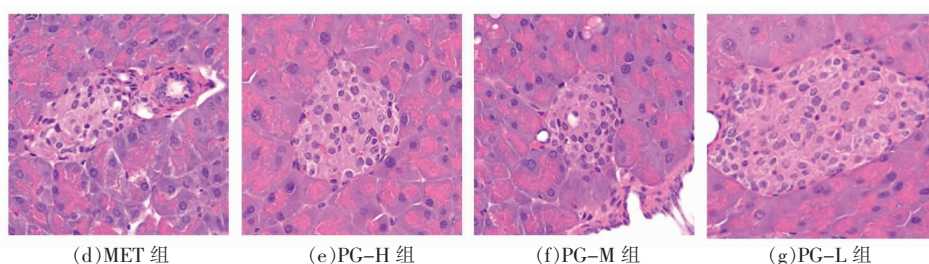


注:NC组表示正常组,NC-H组表示正常降糖组,DM组表示糖尿病模型组,MET组表示阳性组,PG-H组表示番石榴幼果水提物高剂量组,PG-M组表示番石榴幼果中剂量组,PG-L组表示番石榴幼果低剂量组。

图5 番石榴幼果水提物对小鼠肝脏的影响(200×)

Fig.5 The effect of water extract of immature guava fruit on the liver of mice (200×)





注:NC 组表示正常组,NC-H 组表示正常降糖组,DM 组表示糖尿病模型组,MET 组表示阳性组,PG-H 组表示番石榴幼果水提物高剂量组,PG-M 组表示番石榴幼果中剂量组,PG-L 组表示番石榴幼果低剂量组。

图 6 番石榴幼果水提物对小鼠胰腺组织的影响(200×)

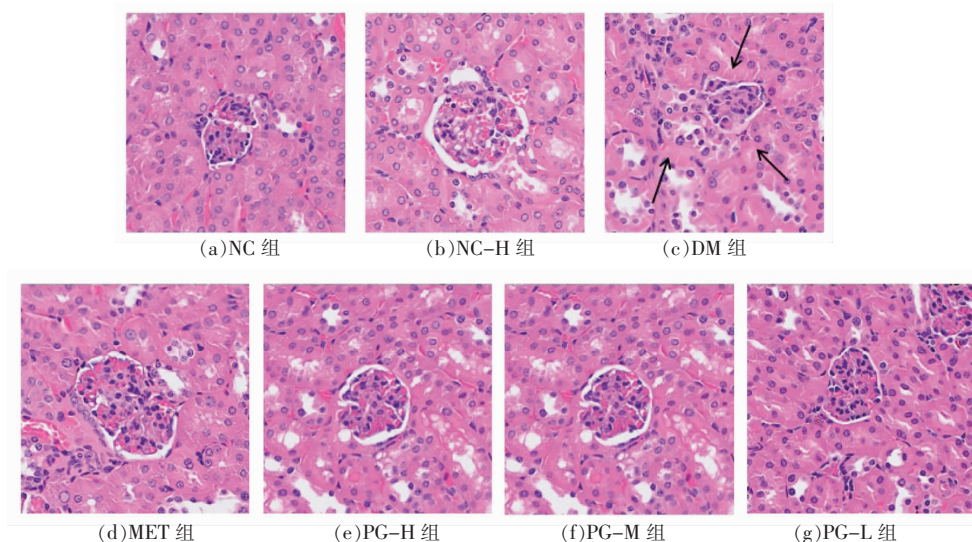
Fig.6 The effect of water extract of immature guava fruit on mouse pancreatic tissue(200×)

且轮廓不清晰。而番石榴幼果水提物剂量组的胰岛轮廓边缘清晰,胰岛细胞数目较多,排列相对规则。说明番石榴幼果水提物对糖尿病小鼠的胰岛细胞具有修复的作用。

2.7 番石榴幼果水提物对小鼠肾组织的影响

番石榴幼果水提物对糖尿病小鼠肾组织的影

响如图 7 所示。从图中可以看出,NC 组的肾小球大小正常、结构完整、轮廓清晰。DM 组的肾小球形态不完整、轮廓不清晰、组织结构松散。而番石榴幼果水提物剂量组的肾小球形态较完整、轮廓清晰,与对照组相似。说明番石榴幼果水提物对糖尿病小鼠的肾小球具有保护的作用。



注:NC 组表示正常组,NC-H 组表示正常降糖组,DM 组表示糖尿病模型组,MET 组表示阳性组,PG-H 组表示番石榴幼果水提物高剂量组,PG-M 组表示番石榴幼果中剂量组,PG-L 组表示番石榴幼果低剂量组。

图 7 番石榴幼果水提物对小鼠肾组织的影响(200×)

Fig.7 The effect of water extract of immature guava fruit on mouse kidney tissue(200×)

2.8 血清代谢组学分析

2.8.1 QC 样本相关性分析 基于代谢物的相对定量值来计算 QC 样本之间的 pearson 相关系数^[29],QC 样本相关性越高(R^2 越接近于 1)说明整个检测过程稳定性越好,数据质量越高。由图 8 可知,检测过程相对稳定,可进行下一步实验分析。

2.8.2 糖尿病小鼠血清代谢表型分析 通过液质联用(Liquid Chromatograph Mass Spectrometer, LC-MS)技术对正常组和模型组的血清样品进行分析^[29],两组血清样品的总离子色谱图中的峰型和数量存在一定差异性。图 9c 表示的正常组与模型组的差异代谢物聚类热图。通过两组样本对比

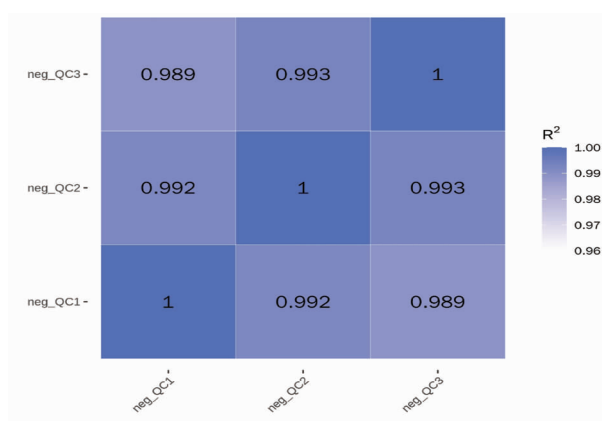


图8 QC样本相关性分析

Fig.8 QC sample correlation analysis

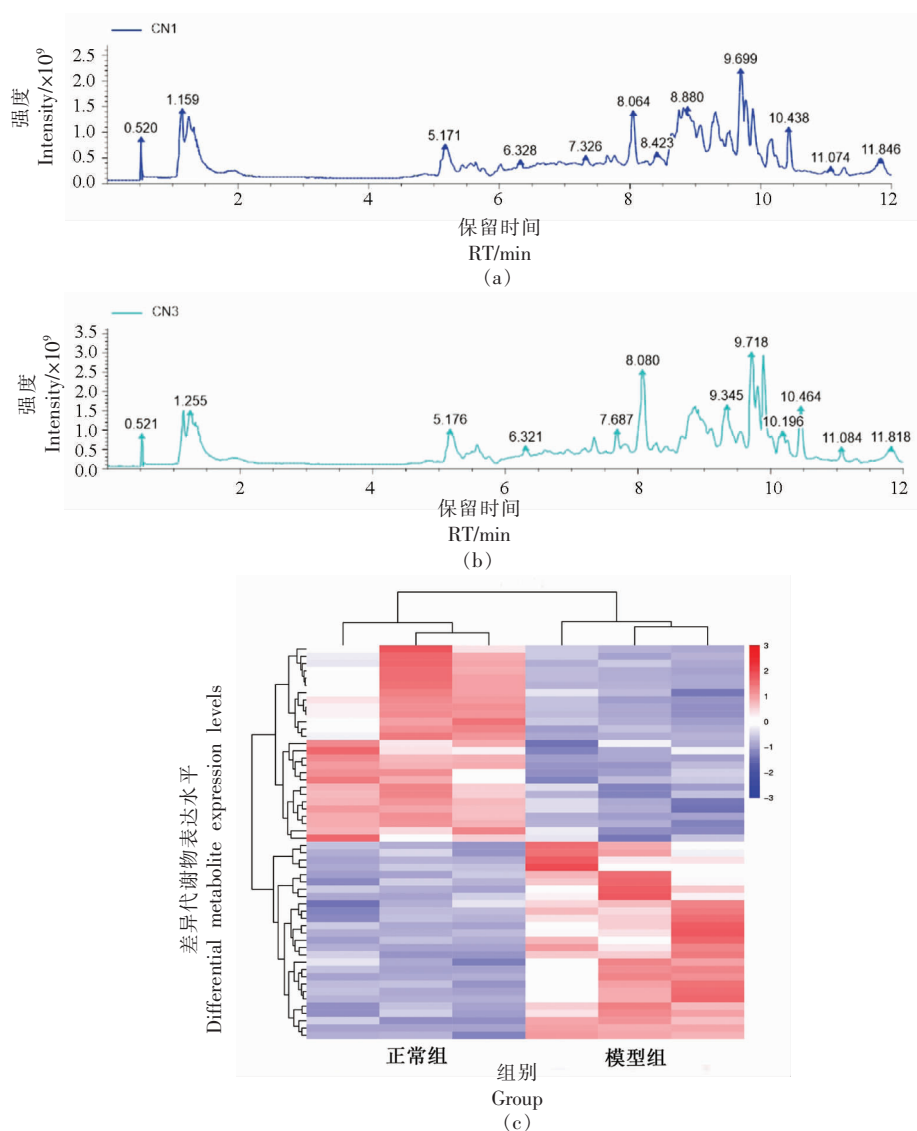


图9 正常组(a)和模型组(b)的总离子流色谱图、正常组与模型组的差异代谢物聚类热图(c)

Fig.9 Total ion current chromatogram of normal group (a) and model group (b), differential metabolite clustering heat map of normal group and model group (c)

可得, 模型组和正常组的血清代谢物的浓度变化趋势相反, 说明模型组体内的血清代谢表型发生了变化。

2.8.3 番石榴幼果提取物干预糖尿病小鼠的血清代谢表型分析 采用 PCA 方法对正常组、正常降糖组、模型组、阳性组、番石榴幼果水提物给药组的血清样品进行轮廓分析(图 10a), 由图可知, 各实验组各聚成一类, 模型组远离其它实验组, 而番

石榴幼果高剂量组和正常组、阳性组相互毗邻, 表明经番石榴幼果水提物干预后, 糖尿病小鼠体内代谢异常情况逐渐转向正常。对差异代谢物聚类热图(图 10b)分析可得, 正常组和番石榴幼果水提物高剂量组的聚类更为相似, 而模型组的聚类与两者相反, 说明番石榴幼果水提物高剂量组能够改善糖尿病小鼠的血清代谢表型, 逐渐向正常小鼠靠近。

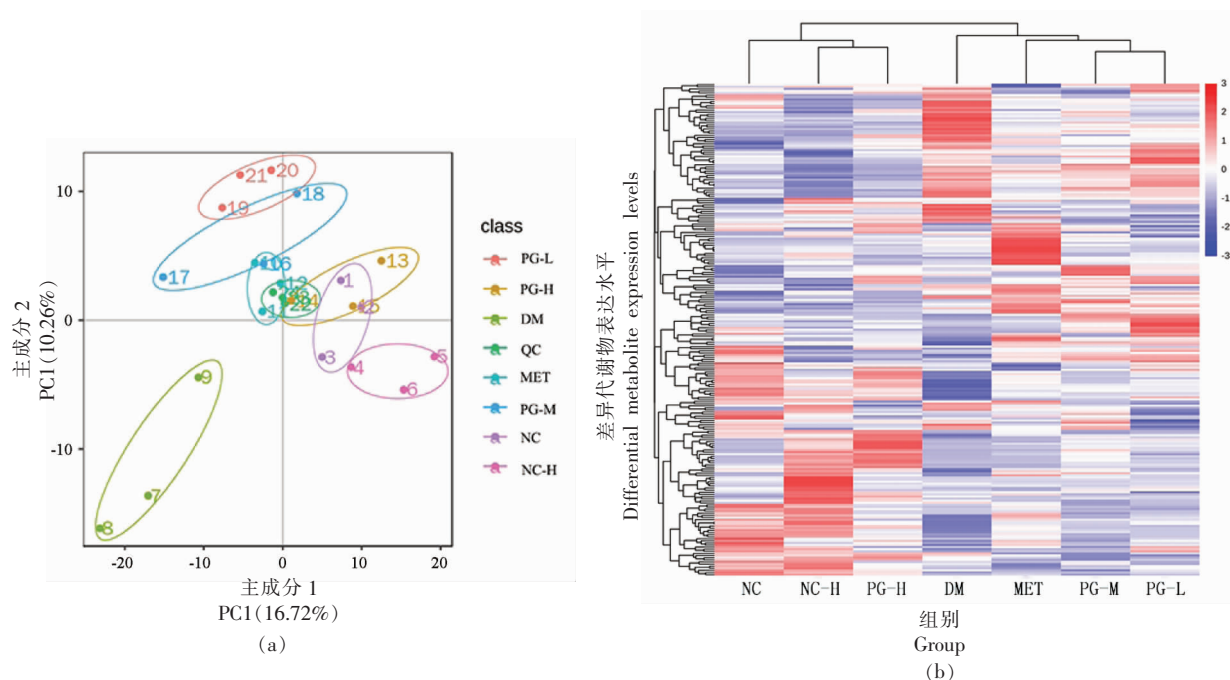


图 10 各实验组血清样品主成分得分图(a)和热图(b)

Fig.10 Principal component score map (a) and heat map (b) of serum samples in each experimental group

2.8.4 差异代谢物的筛选 通过 PLS-DA 模型, 分析比较糖尿病模型组与正常组之间的内源代谢物, 从中筛选出 54 种差异显著的代谢物 ($VIP > 1.0$, $FC > 1.2$ 或 $FC < 0.833$ 且 $P < 0.05$) 作为糖尿病潜在的生物标志物, 而在番石榴幼果水提物高剂量

组的干预下, 有 27 种内源代谢物相比于糖尿病模型组具有回调作用, 结果如表 1 所示。它们的浓度在糖尿病模型组显著上调或者下调, 经过番石榴幼果干预后, 差异代谢物的水平向正常状态发生不同程度的归转。

表 1 组间差异代谢物筛选

Table 1 Screening of differential metabolites between groups

名称	分子式	RT/min	m/z	MX vs NC	PG-H vs MX
LPC 16:1	$C_{24}H_{48}NO_7P$	8.70	538.31	-*	+***
LPE 14:0	$C_{19}H_{40}NO_7P$	8.38	424.25	-*	+***
LPC 19:1	$C_{27}H_{54}NO_7P$	9.98	580.36	-*	+***
LPC 14:0	$C_{22}H_{46}NO_7P$	8.45	512.30	-***	+***
α -苄基丁二酸	$C_{11}H_{12}O_4$	6.09	207.07	-***	+**
月桂酸乙酯	$C_{14}H_{28}O_2$	9.42	227.20	-*	+**

(续表 1)

名称	分子式	RT/min	<i>m/z</i>	MX vs NC	PG-H vs MX
皮质醇	C ₂₁ H ₃₀ O ₅	7.00	361.20	+**	-**
LPC 18:1	C ₂₆ H ₅₂ NO ₇ P	9.56	566.35	-*	+**
Lysopc 16:1	C ₂₄ H ₄₈ NO ₇ P	9.48	492.31	-*	+**
(+/-)19(20)-DiHDPA	C ₂₂ H ₃₄ O ₄	7.42	361.24	+*	-**
FAHFA (22:6/2:0)	C ₂₄ H ₃₄ O ₄	9.64	385.24	-*	+**
Lysopc 18:1	C ₂₃ H ₄₆ NO ₇ P	8.69	478.29	-**	+**
蜂王酸	C ₁₀ H ₁₈ O ₃	6.24	185.12	+*	-**
LPC 20:0	C ₂₈ H ₅₈ NO ₇ P	10.67	596.39	-*	+**
LPC 18:2	C ₂₆ H ₅₀ NO ₇ P	9.00	564.33	-*	+*
8-异构素-15-酮前列腺素 E2	C ₂₀ H ₃₀ O ₅	6.46	331.19	-*	+*
维生素 B2	C ₁₇ H ₂₀ N ₄ O ₆	9.41	375.13	-*	+*
13,14-二氢-15-酮前列腺素	C ₂₀ H ₃₈ O ₅	9.41	715.53	+**	-*
Lysopc 18:2	C ₂₆ H ₅₀ NO ₇ P	9.00	564.33	-**	+*
LPC 20:4	C ₂₈ H ₅₀ NO ₇ P	8.92	588.33	-	+*
LPC 20:1	C ₂₈ H ₅₆ NO ₇ P	10.13	594.38	-**	+*
FAHFA (22:5/18:1)	C ₄₀ H ₆₆ O ₄	10.01	609.49	+*	-*
Lysopc 18:0	C ₂₃ H ₄₈ NO ₇ P	9.34	480.31	-*	+*
二十二碳五烯酸	C ₂₂ H ₃₄ O ₂	10.03	329.25	+*	-*
17 α -羟基孕烯醇酮	C ₂₁ H ₃₂ O ₃	7.95	331.23	+*	-*
十五烷酸	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	9.86	241.22	+**	-*
3 β ,7 β -二羟基-5-雄甾-17-酮	C ₁₉ H ₂₈ O ₃	7.36	303.20	+*	-*

注：“+”表示含量上调，“-”表示含量下调；* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ，*** $P < 0.001$ 。

2.8.5 差异代谢物相关通路分析 将以上 27 种差异代谢物进行 MetaboAnalyst 代谢通路分析,以便找出番石榴幼果治疗糖尿病的高度相关代谢途径。通过对 P 值、通路影响值的综合分析,最终发现 1 条通路与治疗糖尿病关系最密切(图 11),为皮质醇合成和分泌 (Cortisol synthesis and secretion)。该条代谢通路的相关代谢产物为皮质醇 (Hydrocortisone) 和 17 α -羟基孕烯醇酮 (17 α -Hydroxypregnenolone),和糖尿病模型组对比,番石榴幼果干预组对其具有显著下调作用。糖尿病患者的血糖长期处于高水平,从而导致机体产生慢性应激反应,导致大脑海马体的功能受到损伤,而海马体参与了 HPA 轴的负反馈调节,在调节皮质醇的合成和分泌起到重要作用^[31]。皮质醇属于糖皮质激素,是人体下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴分泌的一种物质^[32],有前人研究发现,糖尿病患者存在 HPA 轴的紊乱^[33],尤其是其皮质醇激素的明显升高^[34],这和本实验结果相符合。本研究中,番石榴幼果水提取物能够显著下调糖尿病小鼠血清中的皮质醇水平 ($P < 0.01$),说明番石榴幼果干预糖尿

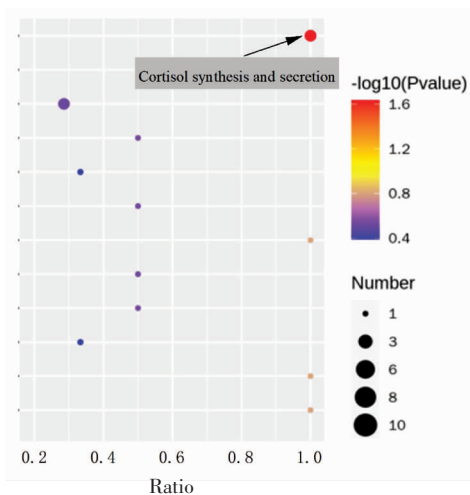


图 11 糖尿病模型组与番石榴幼果水提取物高剂量组血清样本差异代谢物的富集通路气泡图

Fig.11 Enrichment pathway bubble diagram of differential metabolites in serum samples of diabetes model group and immature guava fruit water extract high-dose group

病的机制与调节 HAP 轴和糖皮质激素的水平有关。

3 讨论与结论

本研究应用 LC-MS 技术对番石榴幼果干预糖尿病的机制进行非靶向代谢组学研究,探讨番石榴幼果对糖尿病小鼠的辅助降糖作用及其机制。对血清样本的主成分进行分析、显著差异代谢物的筛选以及相关通路分析,结果表明番石榴幼果水提物高剂量组相比于模型组对其中 27 种代谢物具有显著回调作用,并构建出一条最相关的代谢通路-皮质醇的合成和分泌。推测番石榴幼果可能通过调节机体皮质醇激素的水平,来改善糖尿病的症状。

糖尿病患者的症状之一就是高血糖,长期处于高血糖水平,会使糖尿病患者出现昏迷、意识丧失甚至导致死亡^[35]。而糖尿病患者体内血糖过高的原因之一是其体内皮质醇激素分泌过高,皮质醇激素可通过以下几种途径来升高血糖:第一,皮质醇作为一种胰岛素拮抗激素,能够抑制胰岛素的分泌并减弱胰岛素的生理功能,使机体血糖升高^[36]。第二,皮质醇作为糖皮质激素,会分解体内的脂肪和蛋白质产生大量的游离脂肪酸及氨基酸,而这些物质会被作为糖异生的原料,转化成葡萄糖,从而导致血糖升高。第三,糖尿病患者体内代谢紊乱,对胰岛素的敏感度降低,胰岛素抵抗加重进而导致血糖的升高^[6]。在本研究中,小鼠的每周空腹血糖值和口服糖耐量指标表明,经过 4 周干预,与模型组相比,高剂量的番石榴幼果水提物能够显著降低糖尿病小鼠的空腹血糖,并提高糖尿病小鼠对葡萄糖的耐受能力,说明番石榴幼果可能通过抑制皮质醇的合成和分泌来控制糖尿病小鼠的血糖水平和糖耐量情况。

糖尿病患者往往伴随着血脂代谢异常的情况^[37],而糖皮质激素异常会导致血脂代谢紊乱。皮质醇激素变化影响血脂代谢的机制可能有如下几种情况^[6]:第一,皮质醇过高会协同儿茶酚胺和胰高血糖素,促使脂肪分解成 TG,从而使体内 TG 含量升高。第二,皮质醇升高会刺激胰高血糖素的分泌,降低了胰岛素敏感性,胰岛素作用不足使得脂蛋白酯酶作用减弱,不能有效水解血液中的 TG,从而阻碍了 TG 合成高密度脂蛋白。第三,皮质醇也可长期控制血糖升高,导致糖化血红蛋白升高,进一步加重血脂代谢的紊乱。而在本实验中,在经

过番石榴幼果干预下,糖尿病小鼠血清中的 TG、TC 显著低于模型组,而 TG、TC 的增高会加大糖尿病并发症的产生,如动脉粥样硬化等心血管疾病。因此,番石榴幼果水提物可能通过抑制糖尿病小鼠体内的糖皮质激素,有效降低血清中甘油三酯和总胆固醇水平,发挥调节血脂代谢、保护心血管的作用。

糖尿病患者由于体内代谢出现紊乱,导致体内组织器官出现病变,从而出现胰岛素分泌失调、糖尿病肾病、肝功能受损等疾病的产生。通过 4 周的干预,相较于模型组,番石榴幼果水提物剂量组有效缓解糖尿病所引起的肝脏、胰腺、肾脏组织的器官病变,起到保护和修复体内器官的作用。

综上,高剂量的番石榴幼果水提物能够显著降低糖尿病小鼠的血糖水平、血清中甘油三酯和总胆固醇含量,提高对葡萄糖的耐受能力,并且对肝脏、胰腺、肾脏组织起到保护和修复作用,其潜在在治疗糖尿病的作用机制可能为调节机体皮质醇激素的水平,从而达到降血糖的效果。

参 考 文 献

- [1] WIVIOTT S D, RAZ I, BONACA M P, et al. Dapagliflozin and cardiovascular outcomes in type 2 diabetes[J]. *N Engl J Med*, 2019, 380(4): 347-357.
- [2] 杨文英. 中国糖尿病的流行特点及变化趋势[J]. *中国科学: 生命科学*, 2018, 48(8): 812-819.
YANG W Y. Prevalence and change trend of diabetes mellitus in China[J]. *Science in China: Life Sciences*, 2018, 48(8): 812-819.
- [3] 石杰, 高艳均, 王倩. 2 型糖尿病患者糖尿病肾病患病率及其危险因素分析[J]. *华南预防医学*, 2021, 47(2): 228-231.
SHI J, GAO Y J, WANG Q. Prevalence and risk factors of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes mellitus [J]. *South China Preventive Medicine*, 2021, 47(2): 228-231.
- [4] YARIBEYGI H, FARROKHI F R, BUTLER A E, et al. Insulin resistance: Review of the underlying molecular mechanisms[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(6): 8152-8161.
- [5] 林东源, 刘志梅, 李剑军, 等. 2 型糖尿病 60 例下

- 丘脑-垂体-肾上腺轴功能的变化[J]. 内科, 2009, 4(2): 235-237.
- LIN D Y, LIU Z M, LI J J, et al. Changes of hypothalamic-pituitary-adrenal axis function in 60 patients with type 2 diabetes mellitus[J]. Internal Medicine, 2009, 4(2): 235-237.
- [6] 刘长丽. T2DM 肥胖患者皮质醇水平与血糖血压血脂的关系[D]. 唐山: 华北理工大学, 2017.
- LIU C L. The relationship between cortisol level and blood glucose, blood pressure and blood lipid in T2DM obese patients[D]. Tangshan: North China University of Science and Technology, 2017.
- [7] HINTON W, NEMETH B, DE LUSIGNAN S, et al. Effect of type 1 diabetes and type 2 diabetes on the risk of venous thromboembolism[J]. Diabet Med, 2021, 38(5): e14452.
- [8] STEFAN N, HÄRING H U, CUSI K. Non-alcoholic fatty liver disease: Causes, diagnosis, cardiometabolic consequences, and treatment strategies [J]. The Lancet Diabetes & Endocrinology, 2019, 7(4): 313-324.
- [9] 熊雪松, 余显霞. 2型糖尿病与骨质疏松症相关性研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2017, 23(1): 130-135.
- XIONG X S, YU X X. Research progress of type 2 diabetes mellitus and osteoporosis[J]. Chinese Journal of Osteoporosis, 2017, 23(1): 130-135.
- [10] PERKOVIC V, JARDINE M J, NEAL B, et al. Canagliflozin and renal outcomes in type 2 diabetes and nephropathy[J]. N Engl J Med, 2019, 380(24): 2295-2306.
- [11] 张梦丹, 朱凌燕, 刘玉. 糖尿病性下肢血管病变发病机制的研究进展[J]. 临床合理用药杂志, 2021, 14(6): 174-177.
- ZHANG M D, ZHU L Y, LIU Y. Research progress in the pathogenesis of diabetic lower extremity vascular diseases[J]. Journal of Clinical Rational Drug Use, 2021, 14(6): 174-177.
- [12] 王维波, 陈华, 孙建华, 等. 2017-2019年山东省降糖药致严重不良反应回顾性分析[J]. 中国合理用药探索, 2022, 19(5): 35-41.
- WANG W B, CHEN H, SUN J H, et al. Retrospective analysis of severe adverse reactions caused by hypoglycemic drugs in Shandong Province from 2017 to 2019[J]. Exploration of Rational Drug Use in China, 2022, 19(5): 35-41.
- [13] 向玉芳, 孙辉, 陈月, 等. 2型糖尿病降糖药不良反应及联合用药情况分析[J]. 中国药物警戒, 2022, 19(3): 313-316.
- XIANG Y F, SUN H, CHEN Y, et al. Adverse reactions and combination of hypoglycemic drugs in type 2 diabetes mellitus[J]. Chinese Pharmacovigilance, 2022, 19(3): 313-316.
- [14] TERAO N, SUZUKI K. Glycemic excursion, adverse drug reactions, and self-management in diabetes patients undergoing chemotherapy: A literature review[J]. Asia Pac J Oncol Nurs, 2021, 8(6): 610-622.
- [15] EVERT A B, DENNISON M, GARDNER C D, et al. Nutrition therapy for adults with diabetes or prediabetes: A consensus report [J]. Diabetes Care, 2019, 42(5): 731-754.
- [16] LIN X. Research progress in the mechanism of polysaccharide in relieving type 2 diabetes[J]. AIP Conference Proceedings, 2019, 2058: 020010.
- [17] REYNOLDS A N, AKERMAN A P, MANN J. Dietary fibre and whole grains in diabetes management: Systematic review and meta-analyses[J]. PLoS Med, 2020, 17(3): e1003053.
- [18] 张朝坤, 黄婉莉, 陈洪彬, 等. 番石榴果实生长发育和营养品质变化规律分析[J]. 热带作物学报, 2021, 42(4): 1035-1040.
- ZHANG C K, HUANG W L, CHEN H B, et al. Analysis of growth, development and Nutritional quality of Guava fruit[J]. Journal of Tropical Crops, 2021, 42(4): 1035-1040.
- [19] JAMIESON S, WALLACE C E, DAS N, et al. Guava (*Psidium guajava* L.): A glorious plant with cancer preventive and therapeutic potential[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2021, 63(2): 192-223.
- [20] 洪佳敏, 林宝妹, 张朝坤, 等. 番石榴醇提物抗氧化能力及 α -葡萄糖苷酶抑制活性研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2019, 47(1): 139-146.
- HONG J M, LIN B M, ZHANG C K, et al. Study on antioxidant capacity and α -glucosidase inhibitory activity of Guava alcohol extract[J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2019, 47(1): 139-146.
- [21] KUMARI S, RAKAVI R, MANGARAJ M. Effect of guava in blood glucose and lipid profile in healthy

- human subjects: a randomized controlled study[J]. *J Clin of Diagn Res*, 2016, 10(9): BC04-BC07.
- [22] 莫斯锐, 廖国光, 李宏丽, 等. 番石榴果实水提物降血糖作用的探究[J]. *广东化工*, 2020, 47(18): 49, 21.
MO S R, LIAO G G, LI H L, et al. Study on hypoglycemic effect of water extract from Guava fruit [J]. *Guangdong Chemical Industry*, 2020, 47(18): 49, 21.
- [23] 刘晓聪, 林冬梅, 刘敏, 等. 番石榴的化学成分及其抗肿瘤与抗真菌活性[J]. *中国中药杂志*, 2021, 46(15): 3877-3885.
LIU X C, LIN D M, LIU M, et al. Chemical constituents and antitumor and antifungal activities of Guava[J]. *Chinese Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2021, 46(15): 3877-3885.
- [24] 朱碧贞. 未成熟番石榴治疗糖尿病临床观察(附5例报告)[J]. *齐齐哈尔医学院学报*, 2002, 4: 410.
ZHU B Z. Clinical observation of immature Guava in the treatment of diabetes mellitus (report of 5 cases)[J]. *Journal of Qiqihar Medical College*, 2002, 4: 410.
- [25] 庄梅琳, 程晶, 周亚明. 链脲佐菌素诱导建立糖尿病小鼠模型的给药方案研究[J]. *健康之路*, 2018, 17(6): 21-22.
ZHUANG M L, CHENG J, ZHOU Y M. Study on the administration scheme of streptozotocin induced diabetic mouse model[J]. *Health Road*, 2018, 17(6): 21-22.
- [26] 杨阳, 武立腾, 刘禹颀. 沙棘叶乙酸乙酯萃取物对链脲佐菌素诱导的2型糖尿病小鼠的降血糖作用[J]. *生物化工*, 2021, 7(5): 89-91.
YANG Y, WU L T, LIU Y J. Hypoglycemic effect of ethyl acetate extract from Seabuckthorn leaves on streptozotocin induced type 2 diabetic mice[J]. *Chinese Journal of Biochemistry*, 2021, 7(5): 89-91.
- [27] WANT E J, MASSON P, MICHPOULOS F, et al. Global metabolic profiling of animal and human tissues via UPLC-MS[J]. *Nature Protocols*, 2012, 8(1): 17-32.
- [28] 付武威. 白扁豆多糖对II型糖尿病大鼠的降血糖作用及其机制初探[D]. 南昌: 南昌大学, 2021.
FU W W. Study on hypoglycemic effect of lentil polysaccharide on type II diabetic rats and its mechanism[D]. Nanchang: Nanchang University, 2021.
- [29] RAO G, SUI J, ZHANG J. Metabolomics reveals significant variations in metabolites and correlations regarding the maturation of walnuts (*Juglans regia* L.)[J]. *Biology Open*, 2016, 5(6): 829-836.
- [30] 崔国良, 冯小可, 魏睦新, 等. 基于血清代谢组学探讨香砂六君合半夏泻心汤治疗糖尿病胃轻瘫大鼠的作用机制[J]. *中医学报*, 2021, 36(5): 1035-1041.
CUI G L, FENG X K, WEI M X, et al. Study on the mechanism of Xiangsha Liujun He Banxia Xiexin Decoction in the treatment of diabetic gastroparesis rats based on serum metabolomics[J]. *Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2021, 36(5): 1035-1041.
- [31] 倪昶, 郭颖, 梁伟, 等. 2型糖尿病患者血清皮质醇与慢性并发症的关系[J]. *新医学*, 2021, 52(4): 260-264.
NI C, GUO Y, LIANG W, et al. Relationship between serum cortisol and chronic complications in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. *New Medicine*, 2021, 52(4): 260-264.
- [32] 张炜, 张征, 徐尔理. 高血糖患者皮质醇分泌情况的临床观察[J]. *中国糖尿病杂志*, 2014, 22(11): 1015-1020.
ZHANG W, ZHANG Z, XU E L. Clinical observation of cortisol secretion in patients with hyperglycemia[J]. *Chin J Diabetes*, 2014, 22(11): 1015-1020.
- [33] LEDEBROGEN F, HUMMEL J, FADEMRECHT C, et al. Flattened circadian cortisol rhythm in type 2 diabetes[J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2011, 119(9): 573-575.
- [34] 刘长丽, 金秀平, 王颖, 等. 肥胖2型糖尿病患者血皮质醇水平与血糖、血脂的关系[J]. *现代中西医结合杂志*, 2018, 27(6): 660-663.
LIU C L, JIN X P, WANG Y, et al. The relationship between serum cortisol level and blood glucose, blood lipid in obese type 2 diabetes patients [J]. *Modern Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine*, 2018, 27(6): 660-663.
- [35] 佟童, 王璇, 邵新宇, 等. 人源乳酸菌对2型糖尿病小鼠的缓解效果[J]. *微生物学杂志*, 2022, 42(1): 74-79.
TONG T, WANG X, SHAO X Y, et al. Alleviating effect of human *Lactobacillus* on type 2 diabetic mice[J]. *Chinese Journal of Microbiology*, 2022, 42(1): 74-79.

- [36] 郑鹏杰, 唐菊英, 张少玲, 等. 成人慢性继发性肾上腺皮质功能减退症患者的血脂谱特征[J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2014, 8(9): 1767-1770.
ZHENG P J, TANG J Y, ZHANG S L, et al. Characteristics of blood lipid profile in adult patients with chronic secondary hypoadrenocortical dysfunction [J]. Chinese Journal of Clinical Physicians (Electronic Edition), 2014, 8(9): 1767-1770.
- [37] 尤丽, 党娅, 杨彬彦. 蓝莓花青素对2型糖尿病小鼠糖脂代谢的调节作用[J]. 食品工业科技, 2022, 43(9): 381-388.
- YOU L, DANG Y, YANG B Y. Regulation effect of blueberry anthocyanin on glucose and lipid metabolism in type 2 diabetic mice[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(9): 381-388.
- [38] 叶晓晴. 不同病程糖尿病大鼠肾脏损害与其它器官病理改变的相关性研究[D]. 泸州: 四川医科大学, 2015.
- YE X Q. Correlation between kidney damage and pathological changes of other organs in diabetic rats with different course of disease[D]. Luzhou: Sichuan Medical University, 2015.

Hypoglycemic Mechanism of Immature Guava Fruit Water Extract Based on Cortisol Regulation

Guo Yuehong¹, Ou Yujia¹, Wu Jingru¹, Zeng Shaoxiao¹, Zheng Baodong^{2*}, Lin Shaoling^{1*}

¹College of Food Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350000

²Integrated Scientific Research Base of Edible Fungi Processing and Comprehensive Utilization Technology, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Fuzhou 350000)

Abstract To investigate the mechanism of the hypoglycemic effect of immature guava fruit extract on diabetic mice, a diabetes mouse model was established through streptozotocin induction. The mice were divided into normal, normal hypoglycemic, model, positive control, and high, medium, and low dose groups of immature guava fruit extract. The fasting blood glucose, glucose tolerance, and lipid profile of the mice were measured. Pathological observations were conducted on the liver, kidney, and pancreatic tissues, and a non-targeted metabolomics study was carried out on the serum samples to investigate the therapeutic effects of immature guava fruit on diabetic mice. The results showed that, compared to the model group, the high-dose immature guava fruit extract significantly reduced the blood glucose levels ($P<0.05$) and improved the glucose tolerance ($P<0.05$) in diabetic mice. It also lowered the levels of serum triglycerides and total cholesterol ($P<0.05$), and exhibited a certain protective effect on the liver, kidney, and pancreatic tissues (tissue morphology integrity) of the diabetic mice. Through serum metabolomics analysis, 27 significantly altered differential metabolites had been screened out, and it had been clarified that cortisol synthesis and secretion were the most relevant metabolic pathways. Conclusion: The aqueous extract of immature guava fruit had exhibited certain effects in lowering blood glucose, regulating lipid levels, and protecting liver, kidney, and pancreatic tissues. It had achieved the improvement of diabetes by regulating the body's cortisol hormone levels.

Keywords immature guava fruit; diabetes; hypoglycemic; hypolipidemic; serum metabolism