

虎奶菇菌核多糖对四氧嘧啶诱导 糖尿病小鼠的降血糖作用

巫光宏, 伍志权, 何典路, 蔡丽仪, 曹苏杰, 黄卓烈, 詹福建
(华南农业大学 生命科学学院, 广东 广州 510642)

摘要:通过腹腔注射四氧嘧啶建立小鼠糖尿病(DM)模型, 分别用虎奶菇菌核水提多糖(W-HNP)、碱提多糖(A-HNP)按每千克体质量200和100 mg灌胃给药, 阳性对照用盐酸二甲双胍片(MH)按每千克体质量500 mg灌胃给药, 连续15 d后, 分别测定空腹12 h后血糖, 并对小鼠血清进行乳酸脱氢酶(LDH)同工酶电泳。试验结果显示:与DM对照组相比, W-HNP、A-HNP处理组的小鼠血糖分别降低了(34.499 ± 9.345)%、(46.820 ± 7.032)% ($P < 0.01$), 且不影响正常小鼠血糖;同时, 多糖可改善DM小鼠的饮水、摄食和体质量, 提高DM小鼠的胸腺、脾指数;DM对照组血清的LDH₄、LDH₅的活性比正常组高, W-HNP、A-HNP处理组的LDH₄、LDH₅活性比DM对照组低。

关键词:虎奶菇菌核多糖; 糖尿病小鼠; 降血糖; 乳酸脱氢酶

中图分类号: Q936

文献标识码: A

文章编号: 1001-411X(2007)04-0100-05

Hypoglycemic Effect of Polysaccharides from the Mushroom *Sclerotia* of *Pleurotus tuber-regium* in Alloxan-Induced Diabetic Mice

WU Guang-hong, WU Zhi-quan, HE Dian-lu, CAI Li-yi, CAO Su-jie, HUANG Zhuo-lie, ZHAN Fu-jian
(College of Life Science, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China)

Abstract: The mice were injected intravenously with alloxan to establish diabetic models. Then the injected mice were divided into four groups randomly. The water extracts polysaccharides (W-HNP, 200 mg/kg) and alkali extracts polysaccharides (A-HNP, 100 mg/kg) from sclerotia of *Pleurotus tuber-regium* were irrigated into the stomachs of two groups of those diabetic mice. After treating for 15 d, the contents of fasting blood glucose (FBG) were detected. Lactate dehydrogenase (LDH) isoenzyme of serum was examined by poly-acrylamide gel electrophoresis (PAGE). Results showed that FBG content of diabetic mice significantly decreased to (34.499 ± 9.345)% and (46.820 ± 7.032)%, respectively after treatments with W-HNP and A-HNP ($P < 0.01$). But FBG content of the healthy mice remained unchanged. The contents of water and food intake of treated mice were improved. The mass and the index of thymus and spleen of diabetic mice increased. Furthermore, the activity of LDH₄, LDH₅ in serum of diabetic model mice were higher than that of the control groups, but the activity of LDH₄ and LDH₅ of those groups treated with W-HNP and A-HNP were lower than that of diabetic model mice.

Key words: polysaccharide from sclerotia of *Pleurotus tuber-regium*; diabetic mice; antihyperglycemic activities; lactate dehydrogenase

糖尿病(diabetes mellitus, DM)是一种常见多发的内分泌代谢性疾病,近年来发病率处于大幅上升

收稿日期: 2006-12-25

作者简介: 巫光宏(1964—), 女, 副教授, 博士; 通讯作者: 黄卓烈(1950—), 男, 教授, 硕士, E-mail: zhuolieh@scau.edu.cn

基金项目: 华南农业大学校长基金项目(2006X021)

趋势,其死亡率仅次于肿瘤和心血管疾病^[1-3]。DM 病因和发病机理目前尚未完全清楚,DM 治疗上除注射胰岛素外,主要是磺脲类、列酮类、双胍类等药物的单一或联合使用,但都不能很理想地控制血糖水平,且存在许多严重副作用,尤其对肝、肾的毒性大,有的降糖药长期使用会失效^[4]。近年来国内外对具有降糖作用多糖的化学和药理研究进展迅速,多糖类成分不仅是一种非特异免疫增强剂,在提高机体的抗菌、抗病毒、抗肿瘤等免疫功能的同时,还具有降血糖、降血脂、降血压等多种作用,且无毒副作用^[2-3,5]。Kim 等^[3]报道5种菇类多糖能降低链脲菌毒素(STZ)诱导的DM小鼠的高血糖、血脂和胆固醇。Hu 等^[5]研究发现,食用菌侧耳属金顶侧耳 *Pleurotus citrinopileatus* 水溶性多糖(SPPC)能降低 STZ 诱导的 DM 小鼠的高血糖的 44%。白木耳属 *Tremella* 的银耳 *T. fuciformis*、金耳 *T. aurantia* 等已经被证实对四氧嘧啶诱导的 DM 小鼠具有降血糖作用^[2]。而虎奶菇 *Pleurotus tuber-regium* 自古以来被民间用于药食用菌,具有镇定、祛痰、降血糖、血脂等多种功能^[6],但对其降血糖作用及作用机理研究少有报道。本文通过动物试验的方法,研究虎奶菇菌核水提多糖、碱提多糖对四氧嘧啶诱导的实验性糖尿病小鼠的高血糖的降低作用,同时利用同工酶电泳技术研究乳酸脱氢酶(LDH)在DM和正常小鼠之间的异常,揭示DM紊乱的糖代谢过程,以便探讨虎奶菇菌核多糖降血糖功能作用机理,为虎奶菇菌核保健食品的开发研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试动物和试剂

试验动物为昆明小鼠,SPF 等级,雄性,体质量 18~22 g,清洁级,由广东省实验动物监测所提供,许可证号:SCXK(粤)2003~0002,粤检证字 2005A012。

四氧嘧啶(alloxan,ALX)由美国 Sigma 公司生产。虎奶菇水提多糖(W-HNP)、碱提多糖(A-HNP)由华南农业大学生命科学学院生化教研室制备,经 SephadaxG-100 纯化。盐酸二甲双胍片(metformin hydrochloride,MH)由深圳市中联制药有限公司提供。京都快速血糖仪 GT-1640 和血糖试纸是日本 ARKRAY 产品。其他试剂为国产分析纯。

1.2 试验方法

1.2.1 糖尿病(DM)动物模型的建立。对雄性小鼠适应性喂养 3 d,随机分笼为 3 组(I、II、III),每组

10 只,标记,称质量,小鼠禁食(不禁水)16 h,用 $\varphi = 2\%$ 的 ALX 按每千克体质量 100、220、300 mg 的剂量空腹注射。6 d 后,小鼠禁食(不禁水)12 h,尾部静脉取血,京都快速血糖仪 GT-1640 和血糖试纸测定空腹血糖浓度(FBG)^[7-8],预测 FBG 在 11.1 mmol/L 以上,且连续出现多食、多饮、多尿症状者可选为 DM 模型小鼠。

1.2.2 DM 动物的分组及处理方法 按照 Manonmani 等^[7]方法,选择健康小鼠 10 只作为正常对照组(CK)。将成模 DM 小鼠随机分为 4 组,每组 10 只,4 组分别为:DM 模型对照组;W-HNP 处理组,每天用 W-HNP 多糖溶液按每千克体质量 200 mg 的剂量对 DM 小鼠灌胃给药;A-HNP 处理组,每天用 A-HNP 多糖溶液按每千克体质量 100 mg 的剂量对 DM 小鼠灌胃;MH 阳性处理组,每天用 MH 溶液按每千克体质量 500 mg 的剂量对 DM 小鼠灌胃;CK 和 DM 组每次给予等体积的生理盐水。连续灌胃 15 d。每天测定小鼠饮水、进食量。分别于灌胃 3 和 15 d 后,小鼠禁食(不禁水)12 h,测定小鼠体质量和 FBG。

1.2.3 W-HNP、A-HNP 对 DM 小鼠胸腺、脾指数的影响 多糖灌胃 DM 小鼠 15 d 后处死,分别摘取小鼠的胸腺、脾,称质量。分别计算:胸腺指数 = 胸腺质量/体质量;脾指数 = 脾质量/体质量。

1.2.4 W-HNP、A-HNP 对 DM 小鼠各组织乳酸脱氢酶(LDH)同工酶的影响 多糖灌胃 DM 小鼠 15 d,DM 各处理组小鼠处死前禁食 12 h,眼眶采血,用考马斯亮蓝 G250 染色法测定 DM 小鼠各试验组血清的蛋白质含量^[9]。进行不连续胶的聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)^[10],每孔血清点样量均为 800 μg 蛋白。

染色和脱色:分别取 5 mg/mL NAD⁺ 4 mL,1 mol/L 乳酸钠 2.5 mL,0.1 mol/L NaCl 2.5 mL,1 mg/mL NBT 10 mL,1 mg/mL PMS 1 mL,0.1 mol/L (pH7.5) PBS 5 mL,混匀,配成 LDH 活性染色液。37 $^{\circ}\text{C}$ 染色 20 min,凝胶的 LDH 同工酶带呈现蓝紫色区带,洗胶,在照片观察灯上进行拍照。

1.3 试验数据处理

试验数据均以平均值 \pm 标准误($\bar{x} \pm \text{SE}$)表示,采用 SPSS 13.0 统计软件进行邓肯氏新复极差检验,对各处理组试验数据进行统计学分析。

2 结果与分析

2.1 ALX 剂量对 DM 小鼠模型建立的影响

从表 1 可知,按每千克体质量 220 mg 对小鼠进行空腹注射 ALX 6 d 后,FBG 为 (19.13 \pm 1.06)

mmol/L,符合DM模型的要求,没有动物死亡,且连续出现多食、多饮、多尿症状. 所以选用ALX建立DM小鼠模型的最适剂量为每千克体质量220 mg.

表1 四氧嘧啶剂量对小鼠空腹血糖(FBG)的影响

Tab. 1 Effect of alloxan dose on fasting blood glucose (FBG) content of mice

组别 group	动物数 number	w(ALX)/ (mg · kg ⁻¹)	死亡率 death rate/%	c(FBG)/ (mmol · L ⁻¹)
I	10	100	0	8.57 ± 0.90
II	10	220	0	19.13 ± 1.06
III	10	300	70	28.25 ± 0.67

2.2 W-HNP、A-HNP对DM小鼠饮水、进食量和体质量的影响

如图1、2所示,小鼠给药后,随着时间增加,W-HNP、A-HNP处理组与DM对照组比较,饮水量和进食量都逐渐减少,体质量增加,进食量与正常对照组接近. 给药3和15 d,DM对照组小鼠体质量继续下降,与正常对照组有极显著差异;而W-HNP、A-HNP、MH处理组的体质量与DM对照组相比有显著或极显著差异. 说明以W-HNP和A-HNP分别按每千克体质量200和100 mg的剂量灌胃、经过15 d的治疗,能有效地缓解糖尿病小鼠多饮多食的症状,明显改善四氧嘧啶型糖尿病小鼠消瘦的症状,并且效果与盐酸二甲双胍片阳性处理组类似.

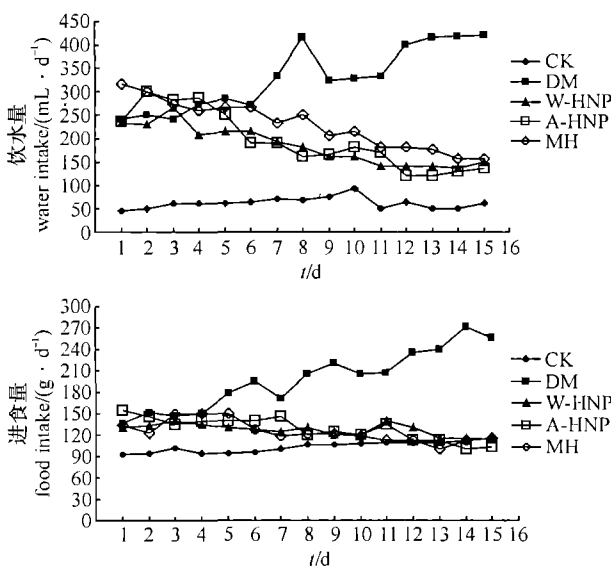
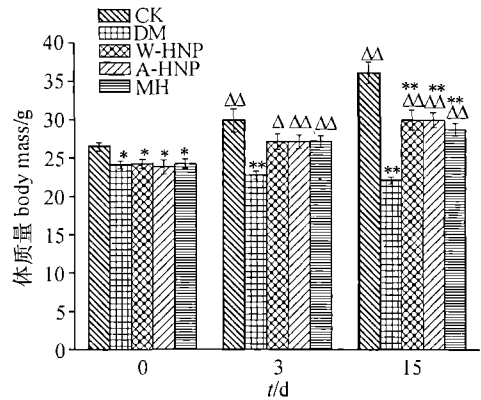


图1 虎奶菇菌核水提多糖(W-HNP)和碱提多糖(A-HNP)对糖尿病小鼠每日饮水量和进食量的影响

Fig. 1 Effects of water extract polysaccharide (W-HNP) and alkali extract polysaccharide (A-HNP) from sclerotia of *Pleurotus tuber-regium* on daily water and food intake of diabetic mice



*和**分别表示与正常对照组比较具有显著差异($P < 0.05$)和极显著差异($P < 0.01$); Δ 和 $\Delta\Delta$ 分别表示与DM比较具有显著差异($P < 0.05$)和极显著差异($P < 0.01$)

Statistical significance between control group and other treated groups: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; Statistical significance between DM group and other treated groups: $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.05$

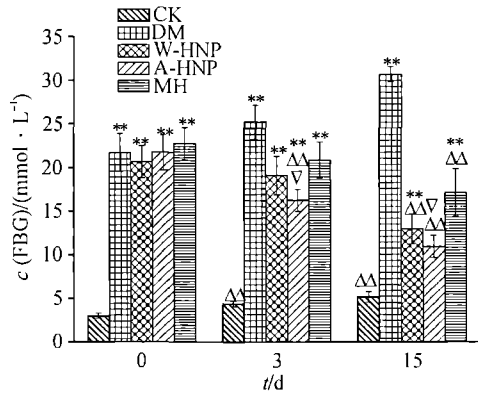
图2 虎奶菇菌核水提多糖(W-HNP)和碱提多糖(A-HNP)对糖尿病小鼠体质量的影响($n = 10, \bar{x} \pm SE$)

Fig. 2 Effect of water extract polysaccharide (W-HNP) and alkali extract polysaccharide (A-HNP) from sclerotia of *Pleurotus tuber-regium* on body mass of diabetic mice

2.3 W-HNP、A-HNP对正常和DM小鼠血糖的影响

2.3.1 W-HNP、A-HNP对正常小鼠FBG的影响 以W-HNP、A-HNP、MH分别按每千克体质量200、100、500 mg的剂量灌胃,15 d后,正常组及W-HNP、A-HNP、MH处理组FBG分别为:(3.18 ± 0.301)、(3.67 ± 0.195)、(3.65 ± 0.204)、(4.05 ± 0.305) mmol/L. 可见,各处理组与正常对照组比,FBG水平无显著性变化,符合正常血糖值(2.9~6.1 mmol/L)的范围,说明W-HNP、A-HNP对正常小鼠的血糖没有影响.

2.3.2 W-HNP、A-HNP对DM小鼠FBG的影响 与正常对照组比较,ALX诱导的DM模型各处理组小鼠的FBG值显著升高,且远远高于DM的FBG下限值(11.1 mmol/L),同时给药前各组DM小鼠之间FBG值无明显差异,表明建模成功(图3). 给药后3 d,DM对照组小鼠FBG上升,W-HNP、A-HNP、MH组小鼠FBG下降;给药后15 d,DM对照组FBG持续升高,W-HNP、A-HNP、MH组小鼠FBG进一步降低,即分别降低(34.499 ± 9.345)%、(46.820 ± 7.032)%、(26.773 ± 3.841)%. 与DM对照组相比,给药15 d后W-HNP、A-HNP、MH组的降血糖效果均具有极显著性差异,同时,A-HNP处理组的降血糖效果较MH阳性处理组明显. 本试验结果与Kim等^[3]和Hu等^[5]对菇多糖的降血糖的研究结果相类似.



* 和 ** 分别表示与正常对照组比较具有显著差异 ($P < 0.05$) 和极显著差异 ($P < 0.01$); Δ 和 $\Delta\Delta$ 分别表示与 DM 比较具有显著差异 ($P < 0.05$) 和极显著差异 ($P < 0.01$); ∇ 表示 A-HNP 与 MH 组比较具有显著差异 ($P < 0.05$)

Statistical significance between control group and other treated groups: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; Statistical significance between DM group and other treated groups: $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; Statistical significance between MH treated group and A-HNP treated group: $\nabla P < 0.05$

图 3 虎奶菇菌核水提多糖 (W-HNP) 和碱提多糖 (A-HNP) 对糖尿病小鼠空腹血糖 (FBG) 浓度的影响 ($n = 10, \bar{x} \pm SE$)

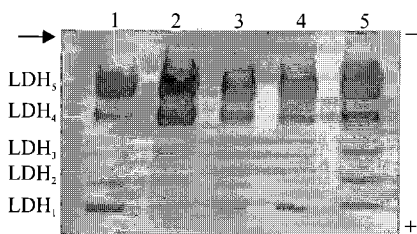
Fig. 3 Effect of water extract polysaccharide (W-HNP) and alkali extract polysaccharide (A-HNP) from sclerotia of *Pleurotus tuber-regium* on fasting blood glucose (FBG) level of diabetic mice

表 2 虎奶菇菌核水提多糖 (W-HNP) 和碱提多糖 (A-HNP) 对糖尿病小鼠胸腺、脾质量及其指数的影响¹⁾ ($n = 10, \bar{x} \pm SE$)

Tab. 2 Effect of water extract polysaccharide (W-HNP) and alkali extract polysaccharide (A-HNP) from sclerotia of *Pleurotus tuber-regium* on mass and index of thymus and spleen of diabetic mice

试验组	m (胸腺)	胸腺指数	m (脾)	脾指数
group	thymus)/mg	index of thymus/($g \cdot kg^{-1}$)	spleen)/mg	index of spleen/($g \cdot kg^{-1}$)
CK	111.613 \pm 5.000 $\Delta\Delta$	3.192 \pm 0.278 $\Delta\Delta$	103.6 \pm 6.185 $\Delta\Delta$	3.030 \pm 0.415
DM	22.963 \pm 1.964**	1.035 \pm 0.071**	47.850 \pm 2.613**	2.204 \pm 0.146
W-HNP	53.613 \pm 3.498** $\Delta\Delta$	1.878 \pm 0.211** Δ	99.300 \pm 11.871 $\Delta\Delta$	3.417 \pm 0.427
A-HNP	58.100 \pm 8.147** $\Delta\Delta$	2.041 \pm 0.253** $\Delta\Delta$	96.138 \pm 11.808 $\Delta\Delta$	3.424 \pm 0.475
MH	41.663 \pm 5.616** Δ	1.476 \pm 0.173**	77.825 \pm 12.248 Δ	2.823 \pm 0.527

1) * 和 ** 分别表示同列中与正常对照组比较具有显著差异 ($P < 0.05$) 和极显著差异 ($P < 0.01$); Δ 和 $\Delta\Delta$ 分别表示同列中与 DM 比较具有显著差异 ($P < 0.05$) 和极显著差异 ($P < 0.01$)



1: 正常对照组; 2: 糖尿病对照组; 3: W-HNP 处理组; 4: A-HNP 处理组; 5: MH 处理组

1: control group; 2: DM group; 3: W-HNP treated group; 4: A-HNP treated group; 5: MH treated group

图 5 血清 LDH 的聚丙烯酰胺凝胶电泳图

Fig. 5 Polyacrylamide gel electrophoresis of LDH in serum

2.4 W-HNP、A-HNP 对 DM 小鼠胸腺指数的影响

从表 2 可知, DM 小鼠胸腺、脾脏质量明显低于正常组, 而 W-HNP、A-HNP 组的胸腺、脾脏质量明显高于 DM 组, 但与正常组相比, 胸腺质量仍有极显著差异. 同时 W-HNP、A-HNP 治疗 15 d 后, 胸腺指数提高, 并且显著高于 DM 对照组水平, 说明 W-HNP、A-HNP 能促进 DM 小鼠胸腺的生长发育, 增强免疫能力.

2.5 W-HNP、A-HNP 对 DM 小鼠血清 LDH 同工酶的影响

各试验组血清的 LDH 同工酶谱见图 5, 每组都分离出 5 条电泳带, 其中各组 LDH₅ 电泳带最宽, 着色最深. 但 DM 对照组的 LDH₅、LDH₄ 要比正常组染色更加明显, 表明由于 DM 引起机体的组织病变, 细胞膜通透性加大, 导致 LDH 释放到血液中. 而 W-HNP、A-HNP 治疗组的 LDH₅ 的电泳带及酶活性与正常组差异不大, 表明经 W-HNP、A-HNP 处理, DM 机体血糖下降, 各组织紊乱的糖代谢有所缓解.

3 讨论

ALX 是一种氧化剂, 化学性质极不稳定, 进入体内被胰岛 β 细胞迅速摄取, 所产生的超氧阴离子等自由基能直接破坏胰岛 β 细胞的膜结构, 导致胰岛素原合成障碍, 引起动物糖尿病^[11]. 试验结果表明, 小鼠 ALX 的腹腔注射最适宜剂量是按体质量 220 mg/kg, 能诱导小鼠高血糖, FBG 为 (19.13 \pm 1.06) mmol/L, 显著高于正常小鼠 FBG (4.275 \pm 0.365) mmol/L. 符合美国糖尿病学会 (ADA) 专家组委员会制定标准之一: FBG \geq 7.0 mmol/L, 可诊断为糖尿病^[8]. 因此, 本试验中以测得小鼠的 FBG 在 11.1 mmol/L 以上, 且连续出现多食、多饮、多尿症状者方

被选为 DM 模型。

近期研究表明,多种菇类来源的多糖能降低 DM 的高血糖,缓解“三多一少”症状,为安全无毒性的降血糖剂^[2,5],其中,有的多糖对正常小鼠和 ALX 诱导的 DM 小鼠都有明显的降血糖作用^[12]。本试验选用虎奶菇菌核多糖 W-HNP (200 mg/kg)、A-HNP (100 mg/kg) 按体质量连续灌胃 DM 小鼠 15 d 后,能有效地缓解 DM 小鼠多饮、多食、多尿的症状,并且小鼠体质量升高,效果与 MH (500 mg/kg) 阳性对照治疗组类似,同时, W-HNP、A-HNP 实验组小鼠的脾指数和胸腺指数比 DM 小鼠高,尤其 W-HNP、A-HNP 的胸腺指数与 DM 相比差异显著,证实 W-HNP、A-HNP 具有提高机体免疫水平,增加机体抗氧化能力,减缓 ALX 导致的过氧化毒性作用。与 Zhang 等^[6]报道的虎奶菇多糖具有较高的免疫活性相符。各 DM 组小鼠经过 W-HNP、A-HNP 灌胃 15 d 治疗后,FBG 均有大幅度下降,与 DM 组比较,有极显著性差异, W-HNP 组降低了 (34.499 ± 9.345)%, A-HNP 组降低了 (46.820 ± 7.032)%, 这与 Lo 等^[2]的试验结果相类似。同时,这 2 种多糖对正常小鼠的血糖无降低作用。在降糖效果方面, A-HNP 组优于 W-HNP 组。

一般认为降血糖药的作用机制主要涉及两方面:一方面是促进胰岛素的分泌或释放;另一方面是影响胰岛素受体后糖代谢的某些环节,其中与和葡萄糖分解有关的酶有密切关系^[13]。LDH 是糖代谢中的一个重要酶^[14]。LDH 有 5 种同工酶,其中 LDH₅、LDH₄ 主要存在于肝、肾、心、肌肉等组织中。DM 的长期高血糖会导致包括肝、肾、心、肌肉等组织损伤和糖代谢紊乱^[14]。El-Demerdash 等^[14]证实,由于 DM 小鼠的肝、肾受损,使 DM 小鼠血清的 LDH 活性高于正常小鼠。这在本试验中也得以证实。在 LDH 同工酶电泳中,发现 DM 组血清的 LDH₅、LDH₄ 酶带染色比正常组深,电泳带较宽,说明 ALX 导致的毒性对小鼠肝、肾等组织的损伤,导致细胞内的 LDH 透过细胞膜进入血液,使血清的 LDH₅、LDH₄ 活性升高。而多糖治疗组 W-HNP、A-HNP 的 LDH 酶带染色比 DM 组浅,接近正常组,表明多糖治疗组小鼠的肝、肾等组织的损伤程度得到改善,使糖代谢中相关的酶活性得到调控,增加血糖的分解利用,从而降低 DM 高血糖。

因此, W-HNP、A-HNP 对 DM 小鼠具有较好的降血糖效果,尤其是 A-HNP 并不降低正常小鼠的血糖。W-HNP、A-HNP 多糖通过增强小鼠的免疫功能,抵抗四氧嘧啶的损伤,从而保护胰岛的功能;同时调节动物体内与葡萄糖代谢相关的酶的活性,使血糖下降。所以 W-HNP、A-HNP 是安全有效降血糖、无毒副作用的生物效应调节剂。

参考文献:

[1] PETERSEN K F, SHULMAN G I. Etiology of insulin resist-

ance [J]. The American Journal of Medicine, 2006, 119 (5A):10-16.

- [2] LO H C, TSAI F A, WASSER S P, et al. Effects of ingested fruiting bodies, submerged culture biomass, and acidic polysaccharide glucuronoxylomannan of *Tremella mesenterica* Retz. :Fr. on glycemic responses in normal and diabetic rats [J]. Life Sciences, 2006, 78:1957-1966.
- [3] KIM D H, YANG B K, JEONG S C, et al. A preliminary study on the hypoglycemic effect of the exo-polymers produced by five different medicinal mushrooms [J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2001, 11(1):167-171.
- [4] 杜小莉,张翠莲. 降血糖新药——格列本脲和盐酸二甲双胍复合片 [J]. 中国药学杂志, 2002, 37(11):869-871.
- [5] HU S H, WANG J C, LIEN J L, et al. Antihyperglycemic effect of polysaccharide from fermented broth of *Pleurotus citrinopileatus* [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2006, 70(1):107-113.
- [6] ZHANG Mei, ZHANG Li-na, KEUNG P C, et al. Molecular weight and anti-tumor activity of the water-soluble polysaccharides isolated by hot water and ultrasonic treatment from the sclerotia and mycelia of *Pleurotus tuber-regium* [J]. Carbohydrate Polymers, 2004(56):123-128.
- [7] MANONMANI G, BHAVAPRIYA V, KALPANA S, et al. Antioxidant activity of *Cassia fistula* (Linn.) flowers in alloxan induced diabetic rats [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2005, 97:39-42.
- [8] 钱荣立. 关于糖尿病新诊断标准与分型的意义 [J]. 临床内科杂志, 2000, 17(3):133.
- [9] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72:248-254.
- [10] BROOKS G A, DUBOCHAUD H, BROWN M, et al. Role of mitochondrial lactate dehydrogenase and lactate oxidation in the intracellular lactate shuttle [J]. Physiology, 1999, 96(2):1129-1134.
- [11] SZKUDELSKI T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in β cells of the rat pancreas [J]. Physiological Research, 2001, 50(6):537-546.
- [12] DING X, ZHANG J, JIANG P, et al. Structural features and hypoglycaemic activity of an exopolysaccharide produced by *Sorangium cellulosum* [J]. Letters in Applied Microbiology, 2004, 38, 223-228.
- [13] TIEDGE M, KRUG U, LENZEN S. Modulation of human glucokinase intrinsic activity by SH reagents mirrors post-translational regulation of enzyme activity [J]. Biochimica Biophysica Acta, 1997, 1337:175-190.
- [14] EL-DEMERDASH F M, YOUSEF M I, EL-NAGA N I A. Biochemical study on the hypoglycemic effects of onion and garlic in alloxan-induced diabetic rats [J]. Food and Chemical Toxicology, 2005, 43:57-63.

【责任编辑 李晓卉】