

益气活血方对糖尿病大鼠 p38MAPK 通路的影响

鲍陶陶^{1,2*}, 杨晓春¹, 储全根¹, 黄菊¹

(1. 安徽中医药大学, 合肥 230038; 2. 安徽中医药大学第一附属医院, 合肥 230031)

[摘要] **目的:**观察益气活血方对糖尿病大鼠基于 p38 丝裂原活化的蛋白激酶(p38MAPK)信号通路对血管内皮功能受损的综合调节作用机制。**方法:**采用高脂高糖饮食和应用链脲佐菌素(STZ)建立大鼠糖尿病模型,将大鼠随机分成7组,分别为正常组,模型组,丹蛭降糖胶囊高、中、低剂量组(1.08, 0.72, 0.54 g·kg⁻¹·d⁻¹),盐酸吡格列酮胶囊组(10 mg·kg⁻¹·d⁻¹),丹蛭降糖胶囊+盐酸吡格列酮胶囊结合组(1.08 g·kg⁻¹·d⁻¹+10 mg·kg⁻¹·d⁻¹)。大鼠造模成功后分别按相应剂量药物 ig 给予,每日1次,连续8周,后腹主动脉采集血液样本和腹主动脉进行相关检测,蛋白质免疫印迹(Western blot)法测定 p38MAPK,上游 MAPK 激酶 3/6(mitogen activated protein kinase kinase3/6, MKK3/6),下游核转录因子 cAMP 反应元件结合蛋白 1(cAMP response element-binding protein, CREB1) 以及其丝裂原活化蛋白激酶磷酸酶-1(mitogen-activated protein kinase phosphatase-1, MKP-1)信号蛋白在内皮细胞的蛋白表达量;实时荧光定量聚合酶链式反应(qPCR)方法测定单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1),血管内皮细胞抵抗素在血管内皮中的 mRNA 表达。**结果:**与正常组比较,模型组 p38MAPK, MKK3/6, CREB1 蛋白及 MCP-1,血管内皮细胞抵抗素 mRNA 表达水平明显升高($P < 0.01$),MKP-1 蛋白表达水平明显降低($P < 0.01$);各给药组 p38MAPK, MKK3/6, CREB1 蛋白及 MCP-1,血管内皮细胞抵抗素 mRNA 表达水平均明显降低, MKP-1 蛋白表达水平均明显升高,与模型组大鼠比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。**结论:**益气活血方通过调节糖尿病大鼠血管 p38MAPK 信号通路蛋白表达水平,从而达到降低血管内皮功能损伤的作用。

[关键词] 糖尿病血管病变; 益气活血方; p38 丝裂原活化蛋白激酶信号通路

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)08-0148-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016080148

Effect of Yiqi Huoxue Recipe on p38MAPK Pathway in Diabetic Rats

BAO Tao-tao^{1,2*}, YANG Xiao-chun¹, CHU Quan-gen¹, HUANG Ju¹

(1. Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230038, China;

2. The First Affiliated Hospital, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the comprehensive regulating effects and mechanism of Yiqi Huoxue recipe on the p38 mitogen-activated protein kinases (p38MAPK) signal pathway and impaired endothelial function of diabetic rats. **Method:** High fat and high glucose diet and streptozotocin (streptozotocin, STZ) were used to establish the model of diabetic rats. The rats were randomly divided into 7 groups: normal group, model group, Danzhi Jiangtang capsules high dose group, middle dose group and low dose group (1.08, 0.72, 0.54 g·kg⁻¹·d⁻¹), pioglitazone hydrochloride capsules group (10 mg·kg⁻¹·d⁻¹), Danzhi Jiangtang capsules + pioglitazone hydrochloride capsules group (1.08 g·kg⁻¹·d⁻¹+10 mg·kg⁻¹·d⁻¹). The diabetic model rats were given with corresponding dose medicine by intragastric administration, once a day, for 8 consecutive weeks. Blood samples were collected from abdominal aorta for detection. Western blot assay was used to detect p38MAPK, mitogen activated protein kinase kinase3/6 (MKK3/6), cAMP response element-binding protein1 (CREB1) and mitogen-activated protein kinase phosphatase-1 (MKP-1) protein expressions in endothelial cells. qPCR was used to detect the mRNA expression of monocyte chmotactic protein 1 (MCP-1) and vascular endothelial cells Resistin

[收稿日期] 20150108(003)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81102591)

[第一作者] 鲍陶陶, 硕士, 主治医师, 从事中医内分泌工作, Tel:0551-62850092, E-mail:350270608@qq.com

in blood vessel endothelium. **Result:** Compared with the normal group, p38MAPK, MEK3/6, CREB1 protein expression and MCP-1, vascular endothelial cells Rresistin mRNA expression were significantly increased in the model group ($P < 0.01$), while MKP-1 protein expression was significantly reduced ($P < 0.01$). Compared with the model group, p38MAPK, MEK3/6, CREB1 protein expression and MCP-1, vascular endothelial cells Resistin mRNA expression were significantly reduced in various treatment groups, while MKP-1 protein expression was significantly increased, with statistically significant difference ($P < 0.05$). **Conclusion:** Yiqi Huoxue recipe can reduce the vascular endothelium injury by regulating the expression of p38MAPK signal transduction protein blood vessels of diabetic rats.

[Key words] diabetic vascular disease; Yiqi Huoxue recipe; p38 mitogen-activated protein kinase

研究报告在 2013 年,全世界有 3.82 亿人患有糖尿病,到 2035 年这一数字预计将增至 5.92 亿。而糖尿病血管病变是糖尿病患者的致死、致残主要原因之一^[1]。近期研究表明 p38 丝裂原活化的蛋白激酶(p38MAPK)信号传导通路是细胞信息传递的交汇点,多种刺激因素包括高糖、炎症因子、活性氧、血管紧张素 II、糖基化终产物生成增多及氧化应激等可激活 p38MAPK 引起细胞氧化还原状态变化,改变细胞功能,在糖尿病血管病变的形成中起重要作用,所以阻断 p38MAPK 可能是预防和治疗糖尿病血管并发症的新靶点^[2]。笔者以往研究发现益气活血方丹蛭降糖胶囊能改善糖尿病的胰岛素抵抗(IR),保护胰岛 B 细胞功能,改善糖代谢,抑制血管内皮损伤,保护氧化应激损伤组织,干预糖尿病血管病变的血栓前状态^[3,4]。但其基于 p38MAPK 通路所致内皮损伤这一糖尿病重要的并发症的作用机制尚未了解,本研究拟用链脲佐菌素(STZ)造模成的糖尿病模型大鼠研究益气活血方中药复方制剂丹蛭降糖胶囊对 p38MAPK 通路的干预作用,并探讨改善血管炎症性损伤的作用和机制。

1 材料

1.1 动物 6~8 周龄 SD 雄性大鼠 104 只,体重(200±20)g,合格证号 SCXK(苏)2011-0003,由常州卡文斯实验有限公司提供。购入后每笼 6~7 只喂养,动物自由觅食饮水,在室温 25℃,湿度(50±5)%环境下喂养 1 周,适应环境后开始实验。

1.2 药物及试剂 益气活血方选用中药复方制剂丹蛭降糖胶囊(安徽中医药大学第一附属医院院内制剂,专利号 ZL200310112845.1,由安徽中医药大学第一附属医院药物制剂中心提供,0.35g/粒),西药选用吡格列酮胶囊(杭州中美华东),STZ(批号 S0130,美国 Sigma 公司),RIPA 细胞裂解液(批号 P0013B,碧云天生物技术研究),预染蛋白 Marker(批号 124777)和增强型化学发光试剂(ECL)超敏

发光试剂盒(批号 PC197917)均购自美国 Thermo 公司,下游核转录因子 cAMP 反应元件结合蛋白 1(CREB1,批号 F2504)和 p38(批号 H3325)兔抗大鼠购自美国 Bioworld 公司,丝裂原活化蛋白激酶磷酸酶-1(MKP-1)兔抗大鼠(批号 99258070,美国 Bioass 公司),MAPK 激酶 3/6(MKK3/6)小鼠抗大鼠(批号 G3508,美国 Stan Cruz 公司),小鼠 β -肌动蛋白(β -actin)单克隆抗体(批号 140829)和山羊抗小鼠 IgG(批号 107727),山羊抗兔 IgG(批号 107015)均购自北京中杉公司;DL2000 DNA Marker(批号 B7301A,日本 TaKaRa 公司),引物合成购自美国 Invitrogen 公司,逆转录试剂盒(批号 00145205,美国 Thermo 公司),TRIzol(批号 14105,美国 Invitrogen 公司)。

1.3 仪器 EPS 300 型电泳仪,VE-180 型电泳槽,VE-186 型转膜仪(天能科技有限公司),pH 计(美国 Mettler Toledo 公司),PVDF 膜(美国 Millipore 公司),PIKOREAL 96 型荧光定量 PCR 仪(美国 Thermo 公司),JW-3021HR 型高速台式冷冻离心机(安徽嘉文仪器装备有限公司)。

2 方法

2.1 造模、分组与给药 将 104 只大鼠数字排列后按随机数表随机分成 7 组分别为正常组、模型组、中药高、中、低剂量组、西药组、中西药结合组,各组间体重无显著性差异,明暗周期 12 h/12 h,自由摄食、饮水,正常组继续喂以基础饲料至实验结束。模型组及治疗组喂以高糖高脂饲料(内含 10% 的猪油,20% 的蔗糖,1% 的胆固醇,0.5% 的胆酸钠),共计 4 周。然后按 30 mg·kg⁻¹体重的剂量腹腔内注射 STZ,5 d 后检测血糖指标不达标者再按 25 mg·kg⁻¹体重的剂量腹腔内注射 STZ。造模成功的标准为于最后 1 次注射 5 d 后测定尾静脉随机血糖,认为 ≥ 16.7 mmol·L⁻¹者为造模成功^[3]。选择符合诊断标准的模型大鼠 77 只再重新随机分为 6 组,分别为模

型组 12 只,其余每组 13 只,模型组和治疗组均继续喂以高糖高脂饲料至实验结束。中药高、中、低组大鼠每日分别给予丹蛭降糖胶囊 1.08, 0.72, 0.54 g·kg⁻¹·d⁻¹灌胃(分别为临床成人单位体重剂量 12, 8, 6 倍)。西药盐酸吡格列酮胶囊给予 10 mg·kg⁻¹·d⁻¹。模型组与正常组予生理盐水 5 mL·kg⁻¹·d⁻¹ ig, 中西药结合组每日予丹蛭降糖胶囊 1.08 g·kg⁻¹·d⁻¹混合吡格列酮 10 mg·kg⁻¹·d⁻¹ ig, 给药时间为 8 周。实验期间每周测量 1 次尾静脉血糖、称体重并记录。实验结束时,末次给药后大鼠禁食 12 h,所有大鼠麻醉后腹主动脉采集血液样本和腹主动脉进行相关检测。

2.2 检测指标与方法

2.2.1 蛋白质免疫印迹 (Western blot) 法测定 p38MAPK, MKK3/6, CREB1 以及 MKP-1 信号蛋白在内皮细胞的蛋白表达量

剪取腹主动脉组织, RIPA 细胞裂解液 1 mL [内含 1 mmol·L⁻¹ 苯甲基磺酰氟 (PMSF)] 进行裂解。12 000 r·min⁻¹ 离心 10 min 提取组织总蛋白。加入等量的 2 × SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液变性蛋白,电泳转膜完毕后,按照合适的比例用一抗稀释液进行稀释 (CREB1, p38MAPK 抗体属性为兔抗, 1:700 稀释; MKP-1 抗体属性为兔抗, 1:400 稀释; MKK3/6 抗体属性为兔抗, 1:500 稀释; 8% 的分离胶), 按照 1:10 000 比例用二抗稀释液稀释辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的二抗。最后用 ECL 发光试剂盒来检

测蛋白。图片灰度值分析采用 Image J 软件进行分析。

2.2.2 实时荧光定量聚合酶链式反应 (qPCR) 方法测定单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1), 血管内皮细胞抵抗素 (Resistin) 在血管内皮中的 mRNA 表达

按试剂盒实验方法进行:称取组织 50 ~ 100 mg, 加入 TRIzol 1 mL 匀浆裂解、离心进行 RNA 提取,后加入焦碳酸二乙酯 (DEPC) 水 20 ~ 50 μL, 分别测定吸光度 A₂₆₀ 和 A₂₈₀ 值计算纯度及浓度, A₂₆₀/A₂₈₀ 均在 1.8 ~ 2.0。后加入 5 × Reaction Buffer 4.0 μL, 10 mmol·L⁻¹ dNTP Mix 2 μL, Ribolock™ Rnase inhibitor 1 μL, RevertAid™ M-MuLV reverse transcriptase 1 μL。42 °C, 60 min; 70 °C, 5 min 反转录,取出上述反应液,即为 cDNA, -80 °C 保存备用。在 PCR 仪上进行定量分析,循环条件为 95 °C 预变性 5 min, 95 °C 变性 10 s, 60 °C 退火和延伸 30 s, 40 个循环。每 1 次 qPCR 反应至少重复 3 次。1% 琼脂糖电泳检测 PCR 产物,取出凝胶,在紫外观察灯下观察结果,拍片。拍照后应用捷达凝胶成像系统进行面积灰度扫描,以条带光密度值代表其表达量。大鼠 MCP-1, Resistin, β-actin 引物设计采用 Prime 5 软件,根据 Gen Bank 设计引物,由上海生物工程公司合成。实验所使用的分析方法为 relative quantification study, 计算方法为 2^{-ΔΔC_t}。PCR 扩增上游和下游引物核酸序列见表 1。

表 1 PCR 引物序列

Table 1 Primer sequence of PCR

基因	上游	下游	产物长度/bp
β-actin	5'-CCCATCTATGAGGGTTACGC-3'	5'-TTTAATGTCACGCACGATTTTC-3'	150
MCP-1	5'-TCTGTGCTGACCCCAATAAGGAA-3'	5'-GAGGTGTTGTGGAAAAGAGAGTG-3'	187
Resistin	5'-GGACGGTTGATTGAGAACTGAGC-3'	5'-ACCACCATCATCCCATTGTGTATT-3'	153

2.3 统计学分析

采用 SPSS 17.0 软件进行统计学处理,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用方差分析法,两组间显著性差异采用 LSD-t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 对模型大鼠一般情况、体重、血糖的影响

造模后,成模大鼠出现进食、饮水、尿量增多,活动减少,体重增加,皮毛晦暗等变化。自灌胃给药干预后,与模型组比较第 7 周药物组大鼠血糖下降 ($P < 0.05$),体重有所减轻。见表 2。

3.2 对模型大鼠腹主动脉 p38MAPK 在内皮细胞的蛋白表达的影响

在造模后第 8 周末,模型组大鼠腹主动脉中 p38MAPK, MEK3/6, CREB1 蛋白表达水平明显上调, MKP-1 蛋白表达水平下调,与正常组比较,其差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 经药物治疗后, p38MAPK, MKK3/6, CREB1 蛋白表达水平均有下调, MKP-1 蛋白表达水平均有上调,与模型组大鼠比较,其差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。此外,药物治疗组间大鼠 p38MAPK 蛋白表达水平无明显变化无统计学意义。见表 3, 图 1。

表 2 益气活血方对大鼠随机血糖的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effects of Yiqi Huoxue recipe on random blood sugar in rats ($\bar{x} \pm s$) mmol·L⁻¹

组别	剂量/g·kg ⁻¹	n	用药前	用药后		
				第 2 周	第 4 周	第 7 周
正常	-	11	5.3 ± 0.6	5.4 ± 0.7	5.6 ± 0.6	5.0 ± 1.0
模型	-	10	23.7 ± 4.6 ¹⁾	25.3 ± 4.6 ¹⁾	23.1 ± 4.6 ¹⁾	25.2 ± 3.9 ¹⁾
益气活血方	1.08	10	24.0 ± 4.8 ¹⁾	27.3 ± 4.6	14.8 ± 3.0	8.8 ± 2.1 ^{2,3)}
	0.72	11	25.7 ± 4.9 ¹⁾	25.3 ± 6.6	14.3 ± 6.0	10.3 ± 4.9 ^{2,3)}
	0.54	10	24.5 ± 4.7 ¹⁾	22.1 ± 5.7	16.7 ± 6.7	13.2 ± 3.2 ^{2,3)}
盐酸吡格列酮胶囊	0.01	9	25.5 ± 6.3 ¹⁾	20.9 ± 9.1	15.4 ± 6.4	8.9 ± 4.5 ^{2,3)}
中西药结合	1.08 + 0.01	9	25.2 ± 5.3 ¹⁾	21.5 ± 4.0	15.8 ± 5.9	9.8 ± 4.2 ^{2,3)}

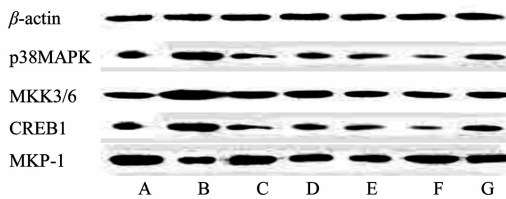
注:与正常组比较¹⁾ P < 0.01;与模型组比较²⁾ P < 0.05;与用药前比较³⁾ P < 0.05。

表 3 益气活血方对大鼠腹主动脉 p38MAPK, MKK3/6, CREB1, MKP-1 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Effects of Yiqi Huoxue recipe on expression of p38MAPK, MKK3/6, CREB1, MKP-1 protein in aorta abdominalis of rats ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	p38MAPK	MKK3/6	CREB1	MKP-1
正常	-	0.58 ± 0.14	0.64 ± 0.13	0.37 ± 0.08	1.18 ± 0.24
模型	-	1.12 ± 0.12 ¹⁾	1.46 ± 0.17 ¹⁾	0.83 ± 0.13 ¹⁾	0.52 ± 0.02 ¹⁾
益气活血方	1.08	0.65 ± 0.16 ²⁾	0.68 ± 0.14 ²⁾	0.42 ± 0.08 ²⁾	1.05 ± 0.05 ²⁾
	0.72	0.71 ± 0.13 ²⁾	0.86 ± 0.24 ²⁾	0.44 ± 0.06 ²⁾	0.99 ± 0.08 ²⁾
	0.54	0.80 ± 0.15 ²⁾	0.88 ± 0.20 ²⁾	0.52 ± 0.10 ²⁾	0.81 ± 0.12 ²⁾
盐酸吡格列酮胶囊	0.01	0.63 ± 0.16 ²⁾	0.70 ± 0.19 ²⁾	0.39 ± 0.06 ²⁾	1.07 ± 0.06 ²⁾
中西药结合	1.08 + 0.01	0.67 ± 0.15 ²⁾	0.75 ± 0.10 ²⁾	0.44 ± 0.03 ²⁾	0.87 ± 0.11 ²⁾

注:与正常组比较¹⁾ P < 0.01;与模型组比较²⁾ P < 0.05(表 4 同)。



A. 正常组; B. 模型组; C. 益气活血方 1.08 g·kg⁻¹ 组; D. 益气活血方 0.72 g·kg⁻¹ 组; E. 益气活血方 0.54 g·kg⁻¹ 组; F. 盐酸吡格列酮胶囊组; G. 中西药结合组

图 1 益气活血方对大鼠腹主动脉 p38MAPK, MKK3/6, CREB1, MKP-1 蛋白表达的影响

Fig.1 Effects of Yiqi Huoxue recipe on expression of p38MAPK, MKK3/6, CREB1, MKP-1 protein in aorta abdominalis of rats

3.3 对 MCP-1, Resistin 在血管内皮中的 mRNA 表达的影响 模型组 MCP-1, Resistin mRNA 表达水平升高,与正常组大鼠比较,其差异有统计学意义 (P < 0.01)。在造模后第 8 周末,经药物治疗后,与模型组比较,药物治疗组大鼠 MCP-1, Resistin mRNA 表达水平明显降低 (P < 0.05)。见表 4。

4 讨论

糖尿病血管病变与中医之“气虚、血瘀”有密切关联。中医认为生理状态下“气为血之帅,血为气之母”“气能行血,血能载气”;病理状态下“气虚血瘀”“气滞血瘀”,故益气活血法是中医治疗血管病变的

表 4 益气活血方对大鼠腹主动脉 MCP-1, Resistin mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 4 Effects of Yiqi Huoxue recipe on expression of MCP-1, Resistin mRNA in aorta abdominalis of rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	MCP-1	Resistin
正常	-	1.00 ± 0.08	1.01 ± 0.13
模型	-	2.51 ± 0.21 ¹⁾	2.71 ± 0.62 ¹⁾
益气活血方	1.08	1.45 ± 0.06 ²⁾	1.70 ± 0.13 ²⁾
	0.72	1.53 ± 0.07 ²⁾	1.57 ± 0.12 ²⁾
	0.54	2.24 ± 0.19	2.42 ± 0.46
盐酸吡格列酮胶囊	0.01	1.41 ± 0.16 ²⁾	1.67 ± 0.13 ²⁾
中西药结合	1.08 + 0.01	2.02 ± 0.20 ²⁾	2.14 ± 0.22 ²⁾

重要治则之一。笔者以往研究具有益气活血功效的中药复方丹蛭降糖胶囊由太子参、牡丹皮、水蛭、泽泻、地黄、菟丝子等组成,方中太子参补脾肾之气、健脾润肺生津,地黄清热凉血、滋养脾肾之阴,牡丹皮清热活血化瘀,水蛭破血逐瘀消积,两者共使经络通畅,泽泻利水渗湿、清热泻浊,菟丝子甘温补肾固精、养肝明目,全方阴阳互济,寒温并调,补而不得邪,攻而不伤正,补通兼施,共奏益气养阴活血通络之效。

p38MAPK 信号通路在糖尿病模型大鼠的内皮细胞的增生、生长、分化起重要作用,在糖尿病血管重构中发挥致炎和致纤维化作用,被激活后可引起

血管平滑肌细胞增生、肥大,内皮细胞功能紊乱,血小板聚集等,从而加速血管病变的形成^[5-6]。其中 p38MAPK 广泛参与炎症、应激、凋亡、血管收缩等病理生理过程^[7]。MKK3/6 是 p38MAPK 信号通路上游主要激活因子^[8],MKK3/6 激活后,可使 p38MAPK 催化区 TGY 基因序列中的苏氨酸和酪氨酸残基磷酸化,从而激活 p38MAPK 通路。CREB1 是 p38MAPK 信号通路下游因子,磷酸化的 CREB 可与结合在含有 CRE 位点基因的启动子上的 cAMP 反应元件调控蛋白或激活转录因子形成异聚体或同聚体,然后调控基因的表达。p38MAPK 的活性主要由 MAPK 激酶 MKK 和磷酸酶引起的磷酸化和脱磷酸化的动态平衡决定。而 MKP-1 在 MAPK 的去磷酸化方面发挥重要作用^[9],可使 p38MAPK 去磷酸化而使其活性减弱,起着负向调控的作用。通过阻断 p38MAPK 通路来阻止糖尿病血管的重构,可成为治疗糖尿病血管并发症新研究靶点。

Resistin 是脂肪细胞和单核能源性细胞因子,被称为脂肪细胞因子的活性分子不仅参与胰岛素抵抗的发生,而且是重要的血管活性物质之一,可直接或间接影响血管内皮细胞功能^[10],参与了 IR,并通过信号转导途径导致内皮细胞功能障碍,是引起肥胖、糖尿病、动脉粥样硬化等疾病的危险因素^[11]。MCP-1 作为一种特异性单核细胞趋化因子,是重要炎症因子,在动脉粥样硬化的早期起重要作用。高水平的 MCP-1 通过与单核细胞表面受体-2 结合,使血液中的单核细胞迁入血管内膜下,促使血管壁的单核细胞吞噬大量的修饰脂蛋白形成泡沫细胞,促进血管平滑肌细胞的增殖和移动,刺激炎症产生,与内皮细胞功能障碍密切关系^[12-13]。

本实验过程中,各治疗组大鼠一般情况较模型组改善,其中中药高、中剂量组相对西药组及中西药结合组皮损情况良好。实验结果表明糖尿病大鼠腹主动脉中 p38MAPK 及其上下游因子活性增强,蛋白表达增加,提示 p38MAPK 信号转导途径参与了糖尿病血管病变的发生发展过程。中药高、中剂量可明显改善糖尿病大鼠血管内皮功能,与吡格列酮比较效果相当,均可抑制 p38MAPK 表达及蛋白磷酸化水平,说明本方对这一信号通路存在干预作用,可能为其治疗的机制之一。同时益气活血方显著降低抵抗素及 MCP-1 水平可防治胰岛素抵抗,提示其治疗 2 型糖尿病有减轻脂毒性防治糖尿病血管并发症的作用。综合实验结果表明,益气活血方早期干预可预防和延缓糖尿病血管病变的进展,为心脑血管

管疾病和周围血管疾病级预防提供了有益的思路。

[参考文献]

- [1] Guariguata L, Whiting D R, Hambleton I, et al. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2013, 103(2): 137-149.
- [2] Chang P C, Chen T H, Chang C J, et al. Advanced glycosylation end products induce inducible nitric oxide synthase (iNOS) expression via a p38 MAPK-dependent pathway[J]. *Kidney Int*, 2008, 65(5):1664-1675.
- [3] 徐先祥,汪宁卿,夏伦祝,等.丹蛭降糖胶囊对实验性糖尿病大鼠降糖作用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(17):288-290.
- [4] 程森华,方朝晖.丹蛭降糖胶囊治疗 2 型糖尿病血管病变机理探讨[J]. *辽宁中医杂志*, 2013(5):861-864.
- [5] Zhang R, Zhou S J, Li C J, et al. C-reactive protein/oxidised low-density lipoprotein/beta2-glycoprotein I complex promotes atherosclerosis in diabetic BALB/c mice via p38mitogen-activated protein kinase signal pathway[J]. *Lipids Health Dis*, 2013, 12(1):42-49.
- [6] Riad A, Unger D, Du J, et al. Chronic inhibition of p38MAPK improves cardiac and endothelial function in experimental diabetes mellitus[J]. *Eur J Pharmacol*, 2007, 554(1):40-45.
- [7] Fischer S, Koerberle S C, Laufer S A. p38 mitogen-activated protein kinase inhibitors, a patent review (2005 -2011) [J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2011, 21(12):1843-1866.
- [8] Zhu X, Sano H, Kim K P, et al. Role of mitogen-activated protein kinasemediated cytosolic phospholipase A2 activation in arachidonic acid metabolism in human eosinophils [J]. *J Immunol*, 2001, 167(5):461-468.
- [9] Lee E, Yim S, Lee S K, et al. Two transactivation domains of hypoxia-inducible factor-1 alpha regulated by the MEK-1/p42/p44 MAPK pathway [J]. *Mol Cells*, 2002, 14(1):9-15.
- [10] Kougiass P, Chai H, Lin P H, et al. Adipocyte-derived cytokine resistin causes endothelial dysfunction of porcine coronary arteries[J]. *J Vasc Surg*, 2005, 41(4):691-698.
- [11] Abate N, Sallam H S, Rizzo M, et al. Resistin: an inflammatory cytokine. Role in cardiovascular diseases, diabetes and the metabolic syndrome [J]. *Curr Pharm Des*, 2014, 20(31):4961-4969.
- [12] Panee J. Monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1) in obesity and diabetes[J]. *Cytokine*, 2012, 60(1):1-12.
- [13] Daniele G, Mendoza R G, Winnier D, et al. The inflammatory status score including IL-6, TNF- α , osteopontin, fractalkine, MCP-1 and adiponectin underlies whole-body insulin resistance and hyperglycemia in type 2 diabetes mellitus [J]. *Acta diabetologica*, 2014, 51(1):123-131.

[责任编辑 周冰冰]