

3 个活血化瘀复方治疗 2 型糖尿病大鼠的实验研究

郭建茹¹, 李焕彬¹, 梁楚燕¹, 侯少贞¹, 赖小平², 陈长青^{2*}

(1. 广州中医药大学中药学院, 广州 510006;
2. 东莞广州中医药大学中医药数理工程研究院, 广东东莞 523808)

〔摘要〕 目的: 考察活血化瘀药对 2 型糖尿病大鼠的疗效。方法: 采用高糖高脂喂饲加注射小剂量链脲佐菌素 (STZ) 的方法建立大鼠 2 型糖尿病模型。造模成功后随机分为 5 组, 模型组 (10 mL·kg⁻¹ 蒸馏水), 达美康组 (0.05 g·kg⁻¹), 速效救心丸组 (0.1 g·kg⁻¹)、地奥心血康组 (0.1 g·kg⁻¹) 和复方丹参滴丸组 (0.14 g·kg⁻¹), 并设正常对照组 (10 mL·kg⁻¹ 蒸馏水), 连续 ig 给药 4 周。分别于给药 2, 4 周后测定各组大鼠空腹血糖 (FBG), 并于给药 4 周后测定口服糖耐量, 计算血糖曲线下面积 (AUC); 测定血清游离脂肪酸 (FFA)、总胆固醇 (TC)、总甘油三酯 (TG)、瘦素 (Leptin) 及糖化血红蛋白 (GSP), 并做胰腺及肝脏病理学检查。结果: 给药 4 周后, 各组大鼠 FBG 分别为: 正常组 (5.32 ± 0.69) mmol·L⁻¹, 模型组 (20.40 ± 2.75) mmol·L⁻¹, 达美康组 (9.18 ± 3.91) mmol·L⁻¹, 速效救心丸组 (10.72 ± 2.60) mmol·L⁻¹, 地奥心血康组 (12.09 ± 3.85) mmol·L⁻¹, 复方丹参滴丸组 (14.76 ± 2.57) mmol·L⁻¹。各组大鼠 TG 分别为: 正常组 (0.50 ± 0.08) mmol·L⁻¹, 模型组 (1.00 ± 0.20) mmol·L⁻¹, 达美康组 (0.80 ± 0.21) mmol·L⁻¹, 速效救心丸组 (0.70 ± 0.24) mmol·L⁻¹, 地奥心血康组 (0.72 ± 0.21) mmol·L⁻¹, 复方丹参滴丸组 (0.81 ± 0.13) mmol·L⁻¹。3 组活血化瘀方能降低大鼠的 FBG、改善糖耐量、降低血清 TG 和 TC, 血脂水平得到改善, 脏器病变情况也得到改善。结论: 活血化瘀药物组对 2 型糖尿病大鼠有一定的治疗作用。

〔关键词〕 活血化瘀药; 2 型糖尿病; 大鼠; 血糖

〔中图分类号〕 R285.5 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1005-9903 (2012) 20-0220-04

Effect of Three Blood-activating and Stasis-resolving Medicines on Type 2 Diabetic Rats

GUO Jian-ru¹, LI Huan-bin¹, LIANG Chu-yan¹, HOU Shao-zhen¹, LAI Xiao-ping², CHEN Chang-qing^{2*}

(1. School of Chinese Meteria Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China;
2. Dongguan Mathematical Engineering Academy of Chinese Medicine,
Guangzhou University of Chinese Medicine, Dongguan 523808, China)

〔Abstract〕 **Objective:** To explore the effect of blood-activating and stasis-resolving medicines on type 2 diabetic rats. **Method:** Type 2 diabetic rats model was established by feeding high calorie-diet and injection of small-dose streptozotocin (STZ). The selected rats were randomly divided into six groups: normal control group, model group, diamicon group and Suxiao Jiuxin pills group, Diao Xinxuekang group, Compound Danshen dripping pills group. Fasting blood glucose was detected during the administration on 0 week, 2th week and 4th week. After 4 week's administration, oral glucose tolerance test, free fatty acid (FFA), triglyceride (TG), total cholesterol (TC), leptin, glycated serum protein fructose ammonia (GSP) were determined, pancreas and liver were examined. **Result:** After treatment of 4 weeks, the blood suger in each group was as follows: normal control (5.32 ± 0.69) mmol·L⁻¹, model fgroup (20.40 ± 2.75) mmol·L⁻¹; diamicon group (9.18 ± 3.91) mmol·L⁻¹, and Suxiao Jiuxin pills group (10.72 ± 2.60) mmol·L⁻¹, Diao Xinxuekang group (12.09 ± 3.85)

〔收稿日期〕 20120419 (014)

〔基金项目〕 广州中医药大学 (东莞) 中医药数理工程研究院项目 (2009CCQ)

〔第一作者〕 郭建茹, 硕士, 从事中药新药研究与开发, Tel: 020-39356249, E-mail: 7477787971@qq.com

〔通讯作者〕 * 陈长青, 博士, 副研究员, 从事糖尿病临床及药物研究, Tel: 020-39358103, E-mail: chenchangqing888@126.com

mmol·L⁻¹, Compound Danshen dripping pills group (14.76 ± 2.57) mmol·L⁻¹. The TG in each group was as follows: normal control (0.50 ± 0.08) mmol·L⁻¹, model group (1.00 ± 0.20) mmol·L⁻¹; diamicon group (0.80 ± 0.21) mmol·L⁻¹, and Suxiao Jiuxin pills group (0.70 ± 0.24) mmol·L⁻¹, Diao Xinxuekang group (0.72 ± 0.21) mmol·L⁻¹, Compound Danshen dripping pills group (0.81 ± 0.13) mmol·L⁻¹. Adjust lipid metabolism level, reduce the level of atrophy lesion of pancrea and liver. **Conclusion:** The blood-activating and stasis-resolving medicines have therapeutic effects on type 2 diabetic rats.

[Key words] blood-activating and stasis-resolving medicinal; type 2 diabetes mellitus; blood suger

糖尿病(diabetes mellitus,DM)是由遗传和环境因素共同作用而引起的一组以糖代谢紊乱为主要表现的临床综合征,2型糖尿病是由于遗传和环境因素相互作用,导致胰岛素绝对或相对分泌不足以及靶组织细胞对胰岛素敏感性降低,引起蛋白质、脂肪、水和电解质等一系列代谢紊乱综合征,其中以高血糖为主要标志^[1]。糖尿病与瘀血的关系可追溯到《黄帝内经》,在《灵枢·五变篇》中曰:“血气逆留,髓皮充肌,血脉不行,转而为热,热则消肌肤,故为消瘴。”至清代唐容川在《血证论》中更明确提出:“瘀血在里则口渴,所以然者,血与气本不相离,内有瘀血,故气不得通,不能载水津上升,是以为渴,名曰血渴,瘀血去则不渴矣。”^[2]根据2010年版药典之记载,复方丹参滴丸由丹参、三七和冰片组成,其中丹参苦中微寒,可活血通脉,又可祛瘀养血;三七味甘微苦,为活血化瘀之要药,可增加冠脉血流量;冰片性辛寒,为开窍醒神、清热止痛之上品。以上诸药配伍,有活血化瘀,通经活络,理气止痛,醒神开窍之功效。速效救心丸是由川芎、冰片等制成,其中川芎味辛,性温,有行气开郁、活血止痛的功效,是最常用的活血化瘀中药之一。地奥心血康由薯蓣科植物黄山药,穿龙薯蓣的根茎提取物制成,为浅黄色或浅棕黄色粉末,具有活血化瘀的功效。已有研究报告和临床报道活血化瘀方药具有改善糖尿病及其并发症的作用^[3-5]。为研究活血化瘀方药防治糖尿病的作用机制,我们采用高糖高脂喂饲加注射小剂量链脲佐菌素(STZ)的方法建立大鼠2型糖尿病模型,观察活血化瘀药对糖尿病大鼠血糖、糖耐量、糖化血清蛋白等指标的影响,并做血脂、胰腺及肝脏病理学切片检查。

1 材料

1.1 药品与试剂 复方丹参滴丸(天津天士力制药股份有限公司,批号20070404),速效救心丸(天津中新药业集团股份有限公司第六中药厂,批号616191),地奥心血康(成都地奥制药集团有限公司,批号0711010),达美康(天津华津制药厂,批号070813),链脲佐菌素(streptozotocin, STZ, 美国

Sigma公司,临用前用柠檬酸缓冲液配成质量浓度为2% pH为4.4的STZ溶液),血糖试纸(瑞士罗氏制药公司产,批号450652)。生化试剂盒(北京中生北控生物科技有限公司),糖化血清蛋白(GSP)测定试剂盒(批号20080318),游离脂肪酸(NEFA)测试盒(批号20080320),均由南京建成生物工程研究所提供。

1.2 仪器 2100尤尼柯紫外分光光度计(北京凯维丰科技发展有限公司);罗康全优越型血糖仪(瑞士罗氏制药公司)产;AU400全自动生化分析仪(日本Olympus公司)。

1.3 动物 雄性SD大鼠60只,体重(180 ± 20)g,由广州中医药大学实验动物中心提供,许可证号SCXK(粤)2003-0001,合格证号0042567。

2 方法^[6]

2.1 动物模型建立 随机抽取10只大鼠作为正常对照组给予普通饲料喂养,其余大鼠给予高糖高脂饲料(1%胆固醇,10%猪油,10%蛋黄粉,10%蔗糖,69%基础饲料)喂养,4周后将模型组的动物禁食(不禁水)过夜,ip STZ溶液30 mg·kg⁻¹。正常对照组ip同体积的柠檬酸缓冲液。3d后禁食过夜,尾静脉采血,血糖仪测定血糖,以大于16.7 mmol·L⁻¹作为模型成功大鼠。

2.2 分组及给药 将糖尿病大鼠分为5个组,即模型组(10 mL·kg⁻¹蒸馏水),达美康组(0.05 g·kg⁻¹),速效救心丸组(0.1 g·kg⁻¹),地奥心血康组(0.1 g·kg⁻¹),复方丹参滴丸组(0.14 g·kg⁻¹),每组10只。每天给药1次,连续给药4周。

2.3 给药前后大鼠血糖的变化 于给药前、给药2,4周后,动物禁食12 h,乌拉坦ip麻醉,眼球采血,分离血清,测定给药前、后血糖(FBG)。

2.4 糖耐量试验 给药4周后,动物禁食12 h,采0 min血后,灌服葡萄糖溶液2.0 g·kg⁻¹,于灌服后30, 60, 120 min分别测定血糖,并计算血糖曲线下面积(AUC)。

2.5 血脂指标检测 给药4周后,动物禁食12 h,

乙醚麻醉,眼眶静脉取血,分离血清,检测各组血清瘦素(leptin)、总胆固醇(TC)、总甘油三酯(TG)、糖化血清蛋白(GSP),操作严格按照说明书进行。

2.6 胰腺及肝脏组织形态的观察 给药 4 周后,动物禁食 12 h 后处死,取新鲜胰腺和肝脏组织,常规甲醛固定后,石蜡包埋,切片,HE 染色,光镜下观察形态的改变。根据病变轻重程度,依次被定量为轻度“+”,中度“++”,重度“+++”,无病变组织标记为“-”。

2.7 统计学方法 使用 SPSS 12.0 进行数据分析。

数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 血糖水平的变化 造模后各组血糖值明显升高,与正常对照组比,有统计学意义($P < 0.01$),且模型组血糖值在实验过程中保持较高水平。达美康给药组治疗后血糖明显降低($P < 0.05$);活血化瘀药组给药 2 周后血糖均有下降,其中速效救心丸、地奥心血康的降糖效果最明显($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见表 1。

表 1 3 个活血化瘀复方对糖尿病大鼠给药前、后血糖含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	FBG/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$		
		给药前	给药 2 周后	给药 4 周后
正常	-	$4.80 \pm 0.93^{2)}$	$5.60 \pm 0.60^{2)}$	$5.32 \pm 0.69^{2)}$
模型	-	24.7 ± 8.00	21.5 ± 6.03	20.40 ± 2.75
达美康	0.05	24.1 ± 7.51	$15.5 \pm 4.36^{1,3)}$	$9.18 \pm 3.91^{2,4)}$
速效救心丸	0.1	24.8 ± 6.62	$14.1 \pm 4.38^{1,3)}$	$10.72 \pm 2.60^{2,4)}$
地奥心血康	0.1	24.2 ± 8.17	$13.5 \pm 4.01^{1,3)}$	$12.09 \pm 3.85^{1,3)}$
复方丹参滴丸	0.14	26.0 ± 6.52	18.5 ± 4.83	$14.76 \pm 2.57^{1,4)}$

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与给药前比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2~3 同)。

3.2 糖耐量试验 正常组大鼠灌服葡萄糖水后在 30min 时血糖水平最高;模型组大鼠后在 60 min 时血糖水平最高;达美康、各活血化瘀复方组大鼠均在 30 min 时血糖水平最高,同时,模型组糖负荷后的血

糖曲线下面积大于正常组($P < 0.01$),各活血化瘀药物组的血糖曲线下面积差异亦有统计学意义($P < 0.05$)。提示各活血化瘀药物组能够改善 2 型糖尿病大鼠糖耐量。见表 2。

表 2 3 个活血化瘀复方对糖尿病大鼠糖耐量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	血糖/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$				AUC/ $\text{mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$
		0 min	30 min	60 min	120 min	
正常	-	$5.27 \pm 0.33^{2)}$	$7.43 \pm 0.46^{2)}$	$6.96 \pm 0.23^{2)}$	$6.76 \pm 0.62^{2)}$	$13.63 \pm 0.79^{2)}$
模型	-	24.39 ± 8.96	29.60 ± 6.07	31.20 ± 6.08	24.03 ± 6.08	56.31 ± 10.14
达美康	0.05	12.54 ± 8.16	18.94 ± 6.07	18.47 ± 8.38	12.61 ± 6.87	$32.76 \pm 12.80^{1)}$
速效救心丸	0.1	11.77 ± 7.51	19.89 ± 8.39	17.95 ± 8.21	13.24 ± 5.81	$32.97 \pm 15.14^{1)}$
地奥心血康	0.1	9.25 ± 3.09	22.25 ± 7.37	16.30 ± 4.21	12.35 ± 3.48	$31.84 \pm 9.40^{1)}$
复方丹参滴丸	0.14	12.97 ± 7.46	22.57 ± 7.41	20.23 ± 8.40	14.57 ± 6.60	$36.98 \pm 15.17^{1)}$

3.3 血脂指标检测 模型组大鼠的游离脂肪酸水平、水平、瘦素水平、糖化血清蛋白水平均明显高于正常组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);达美康组大鼠的甘油三酯和糖化血清蛋白水平显著低于模型组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),速效救心丸组的 TG, GSP 水平显著低于模型组($P < 0.05$);地奥心血康组的 TC, TG, GSP 水平均低于模型组($P < 0.05$);复方丹参滴丸组的游离脂肪酸、甘油三酯水平均低于模型组($P < 0.05$)。提示 3 个活血化瘀药物组均不同程度地改

善血脂指标水平。见表 3。

3.4 胰腺及肝脏组织形态的观察

3.4.1 胰腺 模型组大鼠胰腺组织严重萎缩(卅),达美康组大鼠胰腺组织基本正常,速效救心丸组大鼠胰腺组织中度萎缩(卅),地奥心血康组大鼠胰腺组织中度萎缩(卅),复方丹参滴丸组大鼠胰腺组织轻微萎缩(+)。提示各活血化瘀药物组在不同程度改善大鼠的胰腺组织。

3.4.2 肝脏 模型组大鼠肝细胞水肿及有脂肪病

表3 3个活血化瘀复方对糖尿病大鼠血清FFA,TC,TG,leptin,GSP的测定($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	FFA/mmol·L ⁻¹	TC/mmol·L ⁻¹	TG/mmol·L ⁻¹	leptin/μg·L ⁻¹	GSP/g·L ⁻¹
正常	—	2.10 ± 0.27 ²⁾	1.60 ± 0.18 ²⁾	0.50 ± 0.08 ²⁾	0.33 ± 0.05 ¹⁾	1.2 ± 0.07 ¹⁾
模型	—	6.30 ± 1.12	2.10 ± 0.23	1.00 ± 0.20	0.45 ± 0.17	2.8 ± 0.78
达美康	0.05	5.70 ± 1.27	1.90 ± 0.26	0.80 ± 0.21 ¹⁾	0.46 ± 0.17	1.6 ± 0.26 ²⁾
速效救心丸	0.1	6.20 ± 1.26	1.80 ± 0.32	0.70 ± 0.24 ¹⁾	0.40 ± 0.14	2.1 ± 0.36 ¹⁾
地奥心血康	0.1	5.70 ± 1.58	1.50 ± 0.18 ¹⁾	0.72 ± 0.21 ¹⁾	0.31 ± 0.04 ¹⁾	2.1 ± 0.28 ¹⁾
复方丹参滴丸	0.14	5.10 ± 0.82 ¹⁾	2.00 ± 0.62	0.81 ± 0.13 ¹⁾	0.44 ± 0.22	2.2 ± 0.33

变(卅);达美康组大鼠肝细胞轻微水肿及轻微脂肪病变(+);速效救心丸组大鼠肝细胞轻微水肿及轻微脂肪病变(+);地奥心血康组大鼠肝细胞轻微水肿及轻微脂肪病变(+);复方丹参滴丸组大鼠肝细胞水肿及轻微脂肪病变(+)。提示各活血化瘀药物组在不同程度改善大鼠肝脏组织。

4 讨论

糖尿病属于中医学“消渴”范畴,中医研究认为,瘀血贯穿于糖尿病的始终^[7-8]。糖尿病的血瘀论:自从祝谌予氏创立糖尿病血瘀学说以后,许多学者从基础到临床等方面对瘀血病机进行了较为深入的研究。詹锐文^[9]对糖尿病血瘀产生的机制做了较为全面的论述,认为糖尿病的气虚、阴虚、阳虚之病理变化,导致了瘀血的产生。气虚则无力推动血行;阳虚则寒,寒凝则血滞;阴虚内热,血液浓缩,凝聚成瘀。气虚、阴虚、阳虚与血瘀互为因果,同时并存,瘀血既是糖尿病的病产物,又是糖尿病发展的动因。可见,瘀血内阻是糖尿病的主要病机,活血化瘀疗法作为治疗糖尿病及其并发症的重要法则,已越来越受到人们的重视。临床上活血化瘀治法贯穿于治疗过程中^[10]。

速效救心丸、地奥心血康、复方丹参滴丸均为临床上针对血瘀型胸痹症的习用中成药。速效救心丸的主要成分为川芎。川芎,李时珍在《本草纲目》称它为“血中之气药”,《本草正义》谓:川芎“血之行气,为之疏通”,它辛温香窜,走而不守,以通为用,对于气滞血瘀之证有很好疗效。地奥心血康为薯蓣科植物黄山药提取物制成的中药制剂,具有活血化瘀、行气止痛、扩张血管等功效。复方丹参滴丸主要成分为丹参、三七、冰片等,丹参活血、通血脉;三七止血、散血、和营止血、通脉行瘀。这3个药物虽然主要成分不同,但都有活血化瘀的作用。本次实验研究发现,活血化瘀药物组不仅能降低高脂饮食配

合小量STZ诱导的2型糖尿病大鼠的血糖,促进血糖脂代谢,改善脏器病变情况。

本研究结果提示活血化瘀疗法可以改善2型糖尿病大鼠的糖脂代谢;具有相同活血化瘀功效的不同药物,其药效结果相似,但机制还不明确,还需进一步研究。

[参考文献]

[1] 陆再英,钟南山.内科学[M].7版.北京:人民卫生出版社,2008:770.

[2] 张林军,刘军,常超,等.补阳还五汤治疗2型糖尿病研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(1):243.

[3] 郑汉军.活血化瘀药在2型糖尿病中的配伍应用[J].中医药临床杂志,2011,23(2):125.

[4] 宫彩霞,王旭璞,高艳峰,等.芪丹益肾降糖胶囊对糖尿病肾病大鼠的保护作用[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(4):140.

[5] 张业,谢鸣,刘玥.不同治法方药对2型糖尿病胰岛素抵抗大鼠细胞因子的影响[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(5):210.

[6] 张均田.现代药理实验方法[M].上册.北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社,1998:1009.

[7] 闫秀峰,倪青,陈世波,等.对林兰糖尿病中医“三型辨证”理论的探讨[J].中医杂志,2005,46(12):885.

[8] 陈世波,倪青,魏子孝,等.基于个体化诊疗平台2型糖尿病合并代谢综合征证候规律研究[J].中国中医药信息杂志,2007,14(11):18.

[9] 詹锐文.第四届全国糖尿病(消渴病)学术研讨会论文集[C].济南:山东中医药学会糖尿病学会,1997:284.

[10] 倪青,陈世波,周雪忠,等.基于无尺度网络分析的2型糖尿病代谢综合征方-药-证关系[J].中国中医药信息杂志,2006,13(11):19.

[责任编辑 聂淑琴]