

## 3种治法方药对2型糖尿病胰岛素抵抗大鼠 血液流变学和内皮素的影响

张业<sup>1,2</sup>, 谢鸣<sup>2\*</sup>, 刘玥<sup>3</sup>

(1. 河南中医学院方剂学科, 郑州 450003; 2. 北京中医药大学, 北京 100029;  
3. 中国中医科学院西苑医院心血管病中心, 北京 100091)

**[摘要]** 目的: 观察不同治法方药对2型糖尿病胰岛素抵抗大鼠血液流变学和内皮素的影响。方法: 高脂饲料喂养5周配合小剂量链脲佐菌素(STZ)ip的方法建立2型糖尿病IR大鼠模型。从第11周, 西药吡咯列酮 $1.35 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 中药干预分别给予益气养阴化痰活血方(中药I方:  $11.61 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )、益气养阴化痰降浊方(中药II方:  $8.46 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )、化痰降浊活血化瘀方(中药III方:  $6.30 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )ig治疗2周。第12周末, 用血液流变仪测定全血黏度( $200 \text{ s}^{-1}$ ,  $5 \text{ s}^{-1}$ )、血浆黏度; 用放射法检测血浆内皮素(ET-1)。结果: 与模型组比较, 吡咯列酮组大鼠血浆比黏度显著降低( $P < 0.05$ ); 中药I方、中药III方大鼠高切、低切下的全血比黏度与血浆比黏度均显著降低( $P < 0.05$ ); 用药各组对红细胞压积(HCT)均无明显影响; 吡咯列酮组和中药干预各组大鼠血浆内皮素(ET-1)含量均显著降低( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。结论: 3种不同治法方药对2型糖尿病胰岛素抵抗大鼠内皮细胞损伤和血流变异常有改善作用, 并存在有差异性, 益气养阴化痰活血方治疗效果较明显。

**[关键词]** 2型糖尿病; 胰岛素抵抗; 血液流变学; 内皮素

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)09-0247-04

## The Effect of 3 Kinds of Formulas with Different Therapeutic Methods on Hemorheology and ET-1 Level in Rats with Type 2 Diabetes Insulin Resistance

ZHANG Ye<sup>1,2</sup>, XIE Ming<sup>2\*</sup>, LIU Yue<sup>3</sup>

(1. Formula Department of Henan College of Traditional Chinese Medicine (TCM), Zhengzhou 450003, China;  
2. Beijing University of TCM, Beijing 100029, China; 4. Center of Cardiovascular Disease,  
Xiyuan Hospital of China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effects of 3 kinds of formulas with different therapeutic methods on hemorheology and endothelin-1 (ET-1) level in rats with type 2 diabetes mellitus (T2DM). **Method:** The rat model was established by feeding of high glucose and fat diet with peritoneal injection of (STZ). Different formulas were given to the modeling rats. Then indexes of, hemorheology and levels of ET-1 were tested. **Result:** Compared with the model group, the level of the whole blood viscosity at the  $200 \text{ s}^{-1}$ ,  $5 \text{ s}^{-1}$  shear rate and plasma viscosity of the I formula (Yiqi Yangyin Huatan Huoxue fang) group and the III formula (Huatan Jiangzhuo Huoxue Huayu fang) group were decreased obviously, the level of ET-1 of all formulas was decreased obviously. **Conclusion:** The effect of I formula (Yiqi Yangyin Huatan Huoxue fang) is the best among the 3 kinds of formulas. The Yiqi Yangyin Huatan Huoxue fang has an improvement effect on hemorheology and endothelial cell injury in rats with type 2 diabetes mellitus.

**[收稿日期]** 20110826(015)

**[基金项目]** 河南中医学院“博士科研基金”课题(BSJJ2009)

**[第一作者]** 张业, 博士, 从事方剂学研究, Tel: 0371-65680287, E-mail: zhangye3377@163.com

**[通讯作者]** \* 谢鸣, E-mail: xieming603@263.net

[Key words] type 2 diabetes; insulin resistance; blood rheology; ET-1

“方证相关”是中医学中的一个重要命题。方剂的疗效不仅与药物的组成有关,还与其所主病证紧密相关<sup>[1]</sup>。本课题以“方证相关”为逻辑基础,在复制 2 型糖尿病胰岛素抵抗(IR)大鼠模型的过程中,探查其证候病机动态演变规律的基础上<sup>[2-3]</sup>,选择与证候病机有不同关联程度的方药作用于模型发展过程中的不同阶段,运用关联排他即异方同证的研究方法,比较同一证候阶段不同中医方药生物效用差异,探查方药效用与病证的关联程度,并探讨其生物学基础。

## 1 材料

**1.1 动物与饲料** 健康雄性 SD 大鼠 70 只,体重(200 ± 10)g,SPF 级别,动物许可证号为 SCXK(京)2007-0011,由北京维通利华实验动物中心提供。高脂饲料配方:2%胆固醇、0.5%牛胆酸钠、10%猪油、5%蔗糖、5%蛋黄粉,77.5%基础饲料。基础饲料和高脂饲料均由中国医学科学院实验动物研究所加工提供。

**1.2 药物** 益气养阴化痰活血方(中药干预 I 方):黄芪 20 g,麦冬 15 g,山萸肉 12 g,山药 12 g,茯苓 15 g,泽泻 10 g,陈皮 10 g,丹参 15 g,丹皮 10 g,赤芍 10 g。益气养阴化痰降浊方(中药干预 II 方):黄芪 20 g,麦冬 15 g,山萸肉 12 g,山药 12 g,茯苓 15 g,泽泻 10 g,陈皮 10 g;化痰降浊活血化癥方(中药干预 III 方):茯苓 15 g,泽泻 10 g,陈皮 10 g,丹参 15 g,丹皮 10 g,赤芍 10 g;以上所有中药材均购自北京同仁堂药业有限公司,经鉴定全部药材均符合药用标准。各方按传统方法水煎浓缩制备,分别制成每毫升含生药 2.32 g,1.69 g,1.26 g 的浓缩液。盐酸吡格列酮片:购自北京太洋药业有限公司,批号 H20070530,实验时取出片剂研成细粉,用蒸馏水配制成质量浓度 0.15 g·L<sup>-1</sup> 的溶液。

**1.3 试剂和仪器** 柠檬酸(10007192),柠檬酸钠(10019492,北京化学试剂公司),链脲佐菌素(STZ, Sigma, S0130,购自北京博爱科贸有限公司),胰岛素放射免疫分析药盒(F200704231,北京福瑞生物工程公司),内皮素(ET)放免试剂盒(批号 20071231,北京康大贝克曼科技有限公司)。快速血糖仪及血糖试纸(美国拜耳公司);3K30 低温高速离心机(Sigma 公司),Synchron CX4PRO 全自动生化分析仪,(美国 BECKMAN COULTER);DWN-90 血液流

变分析仪(北京多米诺科技有限公司)。

## 2 方法

**2.1 造模** 参考文献[4],SD 大鼠 70 只适应性喂养 1 周后,按体重随机分为正常组 10 只和造模组 60 只。正常组给予基础饲料喂养,造模组给予高脂饲料喂养,连续 5 周。第 6 周,造模组给予一次性 ip 1% STZ 溶液 30 mg·kg<sup>-1</sup>(STZ 溶于 0.1 mol·L<sup>-1</sup> pH 4.2 柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液中),注射 STZ 后第 3 天大鼠尾静脉采血检测空腹血糖,以空腹血糖 FPG ≥ 11.1 mmol·L<sup>-1</sup> 为模型成功判定标准。

**2.2 分组处理** 将筛选出的符合模型标准的 50 只大鼠随机分为模型组 10 只、西药组 10 只和中药干预 I 组、II 组、III 组各 10 只。继续高脂饲料喂养,从第 11 周,中药干预 3 组分别给予益气养阴化痰活血方(11.61 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)、益气养阴化痰降浊方(8.46 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)、化痰降浊活血化癥方(6.30 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>) ig;西药组给予盐酸吡格列酮(1.35 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>) ig,正常组和模型组分别 ig 等量蒸馏水。连续 ig 2 周。第 12 周末,禁食 12 h,以 10% 水合氯醛 ip 麻醉大鼠,采取颈总动脉方式采血。试管中静置 20 min,4 ℃,3 500 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min,按照有关测定试剂盒的技术要求,制备血清或血浆。用血液流变仪测定全血黏度(高切、低切)、血浆黏度;用放免法检测 ET-1。

**2.3 数据处理** 全部数据用 SPSS 12.0 软件进行处理。各组数据计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示,采用单因素方差分析,用 SNK 法进行多组间两两比较;非正态分布资料采用非参数统计分析。 $P < 0.05$  有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 不同治法方药对模型大鼠血流变指标的影响** 由表 1 可以看出,与正常组比较,造模 12 周后模型组大鼠高切、低切下的全血比黏度和血浆比黏度均显著升高( $P < 0.05$ )。与模型组比较,西药组大鼠血浆比黏度显著降低( $P < 0.05$ ),中药干预 I 方、II 方组大鼠高切、低切下的全血比黏度与血浆比黏度均显著降低( $P < 0.05$ )。用药各组对红细胞压积(HCT)均无明显影响。与西药组比较,中药干预 I 方、III 方组大鼠高切、低切下的全血比黏度显著降低( $P < 0.05$ )。与中药干预 I 方组比较,中药干预 III 方组各指标无明显差异。

表1 不同治法方药对模型大鼠血流变指标的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	全血黏度/ $mPa \cdot s$		血浆黏度/ $mPa \cdot s$	HCT/%
		$200 s^{-1}$	$5 s^{-1}$		
正常	-	$6.09 \pm 0.21$	$12.99 \pm 0.83$	$1.23 \pm 0.20$	$43.6 \pm 3.2$
模型	-	$8.31 \pm 0.30^{1)}$	$14.33 \pm 0.70^{1)}$	$1.98 \pm 0.19^{1)}$	$49.3 \pm 2.9$
盐酸吡咯列酮	$1.35 \times 10^{-3}$	$8.03 \pm 0.18$	$14.10 \pm 0.73$	$1.36 \pm 0.17^{2)}$	$45.7 \pm 1.8$
益气养阴化痰活血方	11.61	$6.85 \pm 0.11^{2,3)}$	$12.90 \pm 0.76^{2,3)}$	$1.30 \pm 0.16^{2)}$	$42.4 \pm 3.6$
益气养阴化痰降浊方	8.46	$7.99 \pm 0.20$	$13.99 \pm 0.60$	$1.43 \pm 0.11$	$47.6 \pm 2.4$
化痰降浊活血化瘀方	6.30	$6.94 \pm 0.19^{2,3)}$	$12.93 \pm 0.68^{2,3)}$	$1.32 \pm 0.12^{2)}$	$44.1 \pm 1.7$

注:与正常组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ;与模型组比较<sup>2)</sup> $P < 0.05$ ;与西药组比较<sup>3)</sup> $P < 0.05$ 。

### 3.2 不同治法方药对模型大鼠血浆内皮素的影响

由表2可以看出,与正常组比较,造模12周后模型组大鼠血浆内皮素含量显著升高( $P < 0.01$ )。与模型组比较,西药组和中药干预各方组大鼠血浆内皮素含量均显著降低( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ )。与西药组比较,中药干预I方、III方组大鼠血浆内皮素含量降低( $P < 0.05$ )。与中药干预I方组比较,中药干预II方组大鼠血浆内皮素含量升高( $P < 0.05$ )。与中药干预II方组比较,中药干预III方组大鼠血浆内皮素含量降低( $P < 0.05$ )。

表2 不同治法方药对模型大鼠血浆内皮素的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	ET-1/ $ng \cdot L^{-1}$
正常	-	$63.19 \pm 9.21$
模型	-	$121.13 \pm 13.6^{1)}$
盐酸吡咯列酮	$1.35 \times 10^{-3}$	$99.69 \pm 9.60^{2)}$
益气养阴化痰活血方	11.61	$76.28 \pm 8.36^{3,4)}$
益气养阴化痰降浊方	8.46	$88.30 \pm 9.65^{2,5)}$
化痰降浊活血化瘀方	6.30	$72.39 \pm 8.33^{3,4,6)}$

注:与正常组比较<sup>1)</sup> $P < 0.01$ ;与模型组比较<sup>2)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>3)</sup> $P < 0.01$ ;与西药组比较<sup>4)</sup> $P < 0.05$ ;与益气养阴化痰活血方比较<sup>5)</sup> $P < 0.05$ ;与益气养阴化痰降浊方比较<sup>6)</sup> $P < 0.05$ 。

### 4 讨论

2型糖尿病占糖尿病90%~95%,是严重危害人类健康的多发病与难治病<sup>[5]</sup>。胰岛素抵抗(IR)是2型糖尿病的主要病理生理基础和显著特征,贯穿于2型糖尿病始终,并出现糖、脂代谢异常及血液流变及血管功能异常。现代研究发现<sup>[6]</sup>,糖尿病患者多存在血液流变学异常,其血瘀的严重程度与全血黏度的增加呈正相关,认为全血黏度可作为血瘀证的早期诊断指标。据临床资料分析<sup>[7]</sup>,血瘀证是糖尿病发展过程中的一种常见证型,其发生率为60%~90%,且随着病情发展,血瘀兼证率进行性上升。

内皮素(ET)是一类由内皮细胞合成分泌的生物活性多肽,广泛存在于内皮细胞、神经、血管平滑肌及巨噬细胞等组织细胞中,是迄今为止已知最强的血管收缩活性物质<sup>[8]</sup>。研究发现,糖尿病患者存在高血糖状态使血液黏度增加,血流缓慢,同时红细胞膜流动性降低,携氧和释氧能力降低导致组织缺氧;红细胞、血小板聚集性增高,易于黏附在血管内皮细胞上,导致血管内皮细胞损伤,刺激ET分泌增加而使血浆ET水平增高,其强收缩血管作用又可使内皮细胞进一步受损,加重微循环障碍<sup>[9-10]</sup>。

“方证相关”所蕴含的重要科学问题是方与证间的关联性大小及其现代生物学基础<sup>[1]</sup>。方剂疗效的大小取决于方内药物配伍与其所主病证病机的关联程度;从经验上看,方与证之间的关联程度越高,疗效越好;而关联程度越低,则疗效越差。本实验观察到,益气养阴化痰活血方(I方)和化痰降浊活血化瘀方(III方)均可使模型大鼠高切、低切下的全血黏度与血浆黏度明显降低,内皮素含量明显降低;益气养阴化痰降浊方(II方)对模型大鼠血液流变学指标无明显作用,对内皮素水平有降低作用。3种不同治法方药中益气养阴化痰活血方治疗效果较明显,说明综合运用的益气养阴化痰活血类方药与2型糖尿病气阴两虚兼痰瘀的病证特点相符,关联程度较高,并以多环节、多靶点在整体水平上综合调理,对血液流变学异常有较好的改善作用,尤其在血管内皮细胞损伤的保护、高凝状态抑制等方面有一定优势。

### [参考文献]

- [1] 谢鸣.方证对应的科学问题及其研究[J].医学研究杂志,2006,35(10):8.
- [2] 刘玥,谢鸣,张业.2型糖尿病胰岛素抵抗大鼠模型中医外观表征的变化[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(14):127.

# 玉郎伞皂苷对大鼠离体心脏缺血再灌注损伤的保护作用

李健玲<sup>1</sup>, 陈兆霓<sup>2</sup>, 吕纪华<sup>2</sup>, 黄仁彬<sup>2</sup>, 覃斐章<sup>2</sup>, 张士军<sup>2\*</sup>

(1. 广西医科大学第一附属医院心血管病研究所, 南宁 530021;

2. 广西医科大学药理学教研室, 南宁 530021)

**[摘要]** **目的:**研究玉郎伞(YLS)皂苷对大鼠离体心脏缺血再灌注损伤(MI/RI)的保护作用及其作用机制。**方法:**40只Wistar大鼠随机分为5组(每组8只):正常对照组,缺血-再灌注组,YLS皂苷低剂量组( $2 \times 10^{-2} \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ),YLS皂苷高剂量组( $4 \times 10^{-2} \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ),阳性对照维拉帕米组( $5 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )。离体大鼠心脏采用Langendorff法灌流,停灌30 min再灌30 min造成心肌缺血-再灌注损伤模型。左心室插入水囊导管,记录YLS皂苷对血流动力学指标的影响,测定冠脉流量(CF)和冠脉流出液中肌酸激酶(CK)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)、乳酸脱氢酶(LDH)、乳酸脱氢酶同工酶-1(LDH-1)活性以及心肌组织超氧化物歧化酶(SOD)和丙二醛(MDA)含量。**结果:**YLS皂苷高剂量可显著改善缺血-再灌注所致的心功能损伤,减少CK,CK-MB,LDH,LDH-1的释放和心肌组织MDA的产生,增加SOD的活性(与模型组相比, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ )。**结论:**YLS皂苷对心肌缺血-再灌注损伤具有保护作用,其机制可能与清除氧自由基、减少脂质过氧化反应有关。

**[关键词]** 玉郎伞皂苷;心肌缺血再灌注;心脏血流动力学;心肌酶

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)09-0250-04

## Effect of Saponin of Yulangsans on Myocardial Ischemia Reperfusion Injury in Isolated Rat Hearts

LI Jian-ling<sup>1</sup>, CHEN Zhao-ni<sup>2</sup>, LV Ji-hua<sup>2</sup>, HUANG Ren-bin<sup>2</sup>, QIN Fei-zhang<sup>2</sup>, ZHANG Shi-jun<sup>2\*</sup>

(1. Institute of Cardiovascular Disease, First Affiliated Hospital, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China; 2. Department of Pharmacology, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the effect and mechanism of saponin of Yulangsans (SYLS) on myocardial ischemia reperfusion injury in isolated rat hearts. **Method:** Fourteen Wistar rats were randomly divided into five

**[收稿日期]** 20111221 (003)

**[基金项目]** 广西科学研究与技术开发计划项目(桂科攻0630002-2A)

**[第一作者]** 李健玲, 硕士, 主治医师, 从事心血管疾病及药物研究工作, Tel:0771-5359553, E-mail: at5056@163.com

**[通讯作者]** \* 张士军, 博士, 副教授, 从事心血管药理工作, Tel:0771-5359553, E-mail: gxykdxzsj@163.com

[3] 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.

[4] Reed M J, Meszaros K, Entes L J, et al. A new rat model of Type 2 diabetes: the fat-fed, streptozotocin-treated rat[J]. Metabolism, 2000, 49(11): 1390.

[5] 朱禧星. 现代糖尿病学[M]. 上海: 复旦大学出版社, 2000: 249.

[6] 陈利国, 马民, 屈媛, 等. 糖尿病血瘀证研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2005, 20(2): 114.

[7] 张永杰. 糖尿病血瘀证机理及活血化瘀法应用之探

讨[J]. 中国热带医学, 2004, 4(6): 1022.

[8] 李植延, 张荔群. 2型糖尿病中医辨证分型与血浆内皮素及降钙素基因相关肽研究[J]. 福建中医学院学报, 2001, 11(3): 1.

[9] 刘红. 糖尿病血管病变和内皮素[J]. 广西医学, 1999, 21(3): 456.

[10] 唐迎雪. 祛痰活血解毒方对实验性2型糖尿病胰岛素抵抗大鼠血液流变学的影响[J]. 中药药理与临床, 2005, 21(1): 35.

[责任编辑 聂淑琴]