

降糖消脂片对糖尿病动物降糖作用的研究

葛争艳, 金龙, 闫爱国, 董小霞, 李宏坤, 刘建勋*

(中国中医科学院西苑医院实验研究中心, 北京 100091)

[摘要] 目的: 采用糖尿病大、小鼠模型, 观察降糖消脂片的降糖作用。方法: 大鼠用链脲佐菌素 iv 造模(50 mg·kg⁻¹)。小鼠用四氧 iv 造模(90 mg·kg⁻¹)。3 d 后测血糖, 筛选成模动物。大鼠分为 7 组, 12 只/组。连续 ig 降糖消脂片 8, 4, 2 g·kg⁻¹ 8 周, 测定血糖、糖化血红蛋白、胰岛素、胰高血糖素等指标。小鼠分为 7 组, 14 只/组。连续 ig 降糖消脂片 10, 5, 2.5 g·kg⁻¹ 4 周, 测血糖。结果: 糖尿病模型大鼠在连续 ig 8 周后, 降糖消脂片各剂量组与模型组比较, 血糖明显降低($P < 0.05$); 高剂量组糖化血红蛋白、胰高血糖素明显下降($P < 0.05$), 胰岛素水平有增高的趋势; 胰腺病理结果显示: 降糖消脂片高剂量组胰岛数目明显增多。糖尿病小鼠模型在连续 ig 4 周后, 降糖消脂片高、中剂量组血糖明显降低($P < 0.05 \sim 0.001$)。结论: 降糖消脂片对糖尿病大、小鼠均有明显降糖作用。

[关键词] 链脲佐菌素; 四氧; 动物模型; 胰岛素; 糖化血红蛋白

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)16-0143-04

Study of Jiangtang Xiaozhi Tablets on Decreasing of Blood Glucose in Rat and Mouse Models of Diabetes Mellitus

GE Zheng-yan, JIN Long, YAN Ai-guo, DONG Xiao-xia, LI Hong-kun, LIU Jian-xun*

(Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China)

[Abstract] Objective: To observe effects of Jiangtang xiaozhi Tablets on decreasing levels of blood glucose in rat and mouse models of diabetes mellitus. **Method:** Rats were intravenously given streptozotocin at dose of 50 mg·kg⁻¹. Mice were intravenously given Alloxan at dose of 90 mg·kg⁻¹ to induce hyperglycemia. The levels of blood glucose in the rats and mice were measured after 3 days for screening model animals. Thereafter, rats were divided into 7 groups ($n = 12$, each) and were continuously given Jiangtang xiaozhi tablets by intragastric administration for 8 weeks. The levels of blood glucose, HbA_{1c}, insulin and glucagon were assayed. While mice were divided into 7 groups ($n = 14$, each) and were continuously given Jiangtang xiaozhi tablets by intragastric administration for 4 weeks. The level of blood glucose was assayed. **Result:** The levels of blood glucose in each Jiangtang xiaozhi treatment group, HbA_{1c} and glucagon levels in high dose group were significantly decreased ($P < 0.05$) comparing to those of model rats while serum insulin levels were increased in the high dose group. The morphological study of pancreas in rats demonstrated that number of islets markedly increased in the high dose group. The levels of blood glucose in mice were significantly decreased ($P < 0.05-0.001$) in middle and high dose groups comparing to that of model mice. **Conclusion:** Jiangtang xiaozhi Tablets has obvious effect on decreasing blood glucose for model animals of diabetes mellitus.

[Key words] streptozotocin; alloxan; animal model; insulin; HbA_{1c}

[收稿日期] 2010-06-30

[基金项目] 综合性中药新药研究开发技术大平台(2009ZX09303-003); 重大新药创制-中药医院制剂新药研发(2010ZX09102-213)

[第一作者] 葛争艳, 副研究员(医学学士), 研究方向: 中药药理, Tel: 010-62835623, E-mail: gezhengyan1028@sohu.com

[通讯作者] * 刘建勋, 研究员(博士), 研究方向: 中药药理, Tel: 010-62835601, E-mail: liujx0324@sina.com

糖尿病是严重危害人民健康的重大疾病,近年来其发病率和死亡率不断攀升,已成为严峻的社会问题。我院在有效医院制剂的基础上,对降糖消脂方进行研究优化,与西苑医院实验研究中心共同创制出中药新药降糖消脂片。本试验采用糖尿病大、小鼠模型,对降糖消脂片的药效学进行了研究。

1 材料

1.1 动物 Wistar 种 级大鼠,雌雄各半,体重 180 ~200 g,由中国医学科学院实验动物研究所提供,合格证号 SCXK 京 2000-0006; ICR 种 级雄性小鼠,体重 24 ~28 g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,合格证号 SCXK 京 2000-0003。

1.2 药物 降糖消脂片(试验用其浸膏,含生药 3.37 g·g⁻¹,中国中医科学院西苑医院实验研究中心药化室提供,批号 050401);盐酸二甲双胍片(北京利龄恒泰药业有限公司,批号 041226);金芪降糖片(天津中新药业集团股份有限公司隆顺榕制药厂,批号 0503746)。

1.3 试剂 链脲佐菌素(STZ)和四氧(Alloxan)(Sigma 公司,北京天来生物医学科有限公司分装,批号分别为 S0130 和 122H33211);罗康全活力型血糖试纸(德国罗氏公司,上海罗氏诊断产品有限公司分装,批号 22898731);糖化血红蛋白试剂盒(德国罗氏诊断有限公司,批号 200512);胰岛素试剂盒(北京市福瑞生物工程公司,批号 200601);胰高血糖素试剂盒(北京原子高科核技术应用股份有限公司,批号 200601)。

1.4 仪器 乐康全活力型血糖仪(德国罗氏诊断有限公司);日立 7060 型全自动生化分析仪(日本日立公司);Sn-6110 型免疫计数器(上海核所日环光电仪器有限公司)。

2 方法

2.1 模型的建立^[1-2] 90 只 Wistar 大鼠禁食 12 h,用 STZ 冰浴下 iv(50 mg·kg⁻¹,0.1 mol·L⁻¹柠檬酸缓冲液新鲜配制),造成糖尿病大鼠模型,造模 3 d 后,禁食 12 h,测血糖。90 只 ICR 小鼠禁食 12 h,用 Alloxan 冰浴下 iv(90 mg·kg⁻¹,NS 新鲜配制),造成糖尿病小鼠模型,造模 3 d 后,禁食 3 h,测血糖。2 种动物均以血糖 > 16.7 mmol·L⁻¹ 作为模型成功动物。

2.2 分组与给药 除空白对照组外,将成模大鼠分

为:模型组;二甲双胍组(0.2 g·kg⁻¹);金芪降糖片组(2 g·kg⁻¹);降糖消脂片高、中、低剂量组(8,4,2 g·kg⁻¹);12 只/组。除空白对照组和模型组外,其他各组均按剂量 ig,1 次/d,连续 8 周,每周测体重和摄食量,隔周测血糖。除空白对照组外,将成模小鼠分为:模型组;二甲双胍组(0.3 g·kg⁻¹);金芪降糖片组(3 g·kg⁻¹);降糖消脂片高、中、低剂量组(10,5,2.5 g·kg⁻¹);14 只/组。除空白对照组和模型组外,其他各组均按剂量 ig,1 次/d,连续 4 周,隔周测血糖。

2.3 快速微量血糖测定 将动物尾尖用乙醇棉擦净,再用纱布擦干。使“乐康全活力型血糖仪”处于准备状态,将血糖试纸插入仪器中,剪少许尾尖将血(约 2 μL)滴在血糖试纸上,10 s 后记录血糖值。

2.4 血样制备与指标检测 末次药后 1 h,ip 3.5% 水合氯醛(1 mL·kg⁻¹)麻醉大鼠,腹主动脉取血。3 000 r·min⁻¹离心 15 min,分离血清(用于胰岛素测定);取抗凝全血分离血浆(用于胰高血糖素测定),-70 低温保存备用。取抗凝全血测定糖化血红蛋白 HbA1c 等;取胰腺作病理切片(HE 染色及醛复红特殊染色),进行形态学观察。

2.5 统计学方法 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 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 降糖消脂片对糖尿病大鼠血糖的影响 大鼠造模后测定血糖,模型组与对照组比较血糖明显升高(*P* < 0.001),平均血糖水平 23 ~24 mmol·L⁻¹,说明造模成功。各组动物连续 ig 8 周,降糖消脂片高、中剂量组与模型组比较,6 ~8 周时有降糖作用(*P* < 0.05),小剂量组 8 周时有降糖作用(*P* < 0.05),见表 1。

3.2 降糖消脂片对糖尿病大鼠 HbA1c 等指标的影响 表 2 显示,各组连续 ig 8 周后,降糖消脂片高剂量组与模型组比较,HbA1c 有所下降(*P* < 0.05),HbA1c% 明显下降(*P* < 0.01),血红蛋白(Hb)与模型组比较无明显差异,见表 2。

3.3 降糖消脂片对糖尿病大鼠胰岛素、胰高血糖素的影响 降糖消脂片各剂量组连续 ig 8 周后,与模型组比较,胰岛素水平有增高趋势,但无统计学意义。降糖消脂片高剂量组与模型组比较,胰高血糖素下降(*P* < 0.05),见表 3。

表 1 降糖消脂片对糖尿病大鼠血糖的影响 ($\bar{x} \pm s$)

mmol · L⁻¹

组别	剂量 /g · kg ⁻¹	n	血 糖				
			药前	药后 2 周	药后 4 周	药后 6 周	药后 8 周
对照	-	13	6.53 ± 0.43 ³⁾	6.32 ± 0.32 ³⁾	6.46 ± 0.53 ³⁾	6.39 ± 0.43 ³⁾	5.39 ± 0.32 ³⁾
模型	-	13	23.27 ± 3.48	29.38 ± 3.48	29.85 ± 2.17	28.75 ± 1.40	28.99 ± 2.30
二甲双胍	0.2	12	23.61 ± 2.38	25.91 ± 2.61 ²⁾	25.36 ± 4.83 ²⁾	18.43 ± 9.36 ³⁾	22.51 ± 3.50 ³⁾
金芪降糖	2	11	24.08 ± 2.69	27.23 ± 2.50	26.82 ± 5.45 ¹⁾	27.42 ± 3.88	26.66 ± 3.53
降糖消脂	8	11	23.13 ± 2.64	28.30 ± 5.24	27.25 ± 5.17	24.98 ± 5.37 ¹⁾	25.02 ± 5.72 ¹⁾
	4	12	23.50 ± 2.92	29.50 ± 3.25	29.11 ± 2.62	26.88 ± 2.02 ¹⁾	25.58 ± 4.50 ¹⁾
	2	10	23.64 ± 3.44	29.20 ± 3.21	28.58 ± 1.73	28.34 ± 2.09	25.50 ± 5.36 ¹⁾

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, ³⁾ $P < 0.001$ (表 2 ~5 同)。

表 2 降糖消脂片对糖尿病大鼠 HbA1c 等指标的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 /g · kg ⁻¹	n	HAlc /%	HbA1c /%	HB /g · L ⁻¹
对照	-	13	3.60 ± 0.08 ³⁾	0.27 ± 0.04 ³⁾	17.94 ± 3.14
模型	-	13	7.83 ± 0.47	1.10 ± 0.19	17.35 ± 2.51
二甲双胍	0.2	12	7.38 ± 0.47 ¹⁾	0.92 ± 0.16 ¹⁾	15.69 ± 2.00
金芪降糖	2	11	7.39 ± 0.73	1.02 ± 0.17	17.36 ± 1.35
降糖消脂	8	11	7.04 ± 0.80 ²⁾	0.92 ± 0.20 ¹⁾	16.81 ± 1.36
	4	12	7.43 ± 0.73	1.04 ± 0.21	17.60 ± 1.80
	2	10	7.59 ± 0.79	1.06 ± 0.25	17.36 ± 3.24

表 3 降糖消脂片对糖尿病大鼠胰岛素、胰高血糖素的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 /g · kg ⁻¹	n	胰岛素 /μU · mL ⁻¹	胰高血糖素 /pg · mL ⁻¹
对照	-	13	14.92 ± 7.18 ³⁾	219.72 ± 42.88 ³⁾
模型	-	13	4.72 ± 1.79	445.63 ± 134.52
二甲双胍	0.2	12	5.51 ± 2.21	337.35 ± 70.83 ¹⁾
金芪降糖	2	11	4.38 ± 1.81	349.39 ± 96.65
降糖消脂	8	11	4.88 ± 1.23	350.35 ± 73.99 ¹⁾
	4	12	5.34 ± 1.49	380.11 ± 130.68
	2	10	4.85 ± 0.85	406.54 ± 140.05

3.4 降糖消脂片对糖尿病大鼠体重的影响 STZ 注射后各组体重与对照组比较均有不同程度的下降,

从第 2 周开始明显下降 ($P < 0.05 \sim 0.001$)。连续 ig 8 周后,大鼠体重仍无法恢复至造模前,见表 4。

表 4 降糖消脂片对糖尿病大鼠体重的影响 ($\bar{x} \pm s$)

g

组别	剂量 /g · kg ⁻¹	药前	药后 2 周	药后 4 周	药后 6 周	药后 8 周
对照	-	227.00 ± 8.75 ³⁾	312.46 ± 16.01 ³⁾	366.39 ± 23.19 ³⁾	387.92 ± 26.74 ³⁾	421.31 ± 35.39 ³⁾
模型	-	202.23 ± 11.31	227.31 ± 19.64	254.62 ± 27.96	233.31 ± 32.11	240.15 ± 35.56
二甲双胍	0.2	198.62 ± 14.84	217.77 ± 23.46	222.00 ± 23.03 ²⁾	204.17 ± 41.23	206.58 ± 33.08 ¹⁾
金芪降糖	2	199.46 ± 9.58	216.85 ± 12.69	216.83 ± 23.47 ²⁾	206.00 ± 21.47 ¹⁾	201.82 ± 24.09 ²⁾
降糖消脂	8	195.21 ± 17.90	212.57 ± 25.40	213.86 ± 31.37 ²⁾	220.23 ± 39.05	213.82 ± 37.08
	4	196.69 ± 10.65	205.69 ± 21.28 ¹⁾	224.69 ± 22.01 ²⁾	207.25 ± 32.76	208.25 ± 37.71 ¹⁾
	2	197.69 ± 15.85	200.00 ± 34.05 ¹⁾	210.50 ± 37.02 ²⁾	201.20 ± 41.36 ¹⁾	194.50 ± 41.90 ²⁾

3.5 降糖消脂片对糖尿病大鼠一般状态及摄食量的影响 STZ 注射后各组大鼠摄食量与对照组比较明显增高,从药前开始就有明显差异 ($P < 0.05 \sim 0.001$),糖尿病多食多饮的症状明显。连续 ig 2 周后,降糖消脂片高、中剂量组与模型组比较,摄食量有不同程度的下降,但无统计学意义。随着血糖水平的降低,糖尿病的症状有所减轻。

3.6 降糖消脂片对糖尿病大鼠胰腺的影响 HE 染色下,每组计 18 个低倍镜视野,计数每个低倍镜视

野中胰岛总数,取平均值。对照组胰岛数量多为 (11.44 ± 2.59) 个,胰岛的界限清,排列紧密,胞浆丰富,核呈圆形。醛复红染色下,胰岛内 细胞丰富,细胞胞浆内可见密集的紫蓝色颗粒。模型组胰岛萎缩、分布稀疏、数量减少为 (4.22 ± 2.44) 个,明显低于对照组;且胰岛细胞发生退行性改变(细胞肿胀、胞质着色浅、细胞核固缩);醛复红染色下,胞浆内基本见不到紫蓝色颗粒。降糖消脂高剂量组胰岛数量较模型组明显增多为 (5.67 ± 1.75) 个,差异显著 (P

< 0.05); 胰岛细胞仍有退行性变, 但程度略有好转; 醛复红染色下, 少数胰岛细胞胞浆内可见紫兰色颗粒。降糖消脂中、低剂量组胰岛数量与模型组比较有增多的趋势, 分别为 (4.67 ± 1.50) 个和 (4.61 ± 2.09) 个, 但无统计学差异。

3.7 降糖消脂片对糖尿病小鼠血糖的影响

小鼠经 Alloxan iv 3 d 后测血糖, 药前各组与对照组比较

血糖明显升高 ($P < 0.001$), 平均血糖水平 $24 \sim 25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 说明造模成功。各组连续 ig 4 周, 降糖消脂片高剂量组与模型组比较, 2 周和 4 周时均能明显降低小鼠血糖 ($P < 0.01 \sim 0.001$), 降糖率达到 20.87%。中剂量组 2 周时有降糖作用 ($P < 0.05$), 见表 5。

表 5 降糖消脂片对糖尿病小鼠血糖的影响($\bar{x} \pm s$)

$\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1} (\%)$

组别	剂量 $/\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	n	血 糖		
			药前	药后 2 周	药后 4 周
对照		12	$6.56 \pm 0.64^{3)}$	$7.79 \pm 1.10^{3)}$	$7.03 \pm 0.68^{3)}$
模型		14	25.41 ± 4.69	32.61 ± 0.87	31.17 ± 1.68
二甲双胍	0.3	15	24.02 ± 2.65	$21.85 \pm 5.6^{3)}$ (33.02)	$9.27 \pm 6.32^{3)}$ (70.25)
金芪降糖	3	14	24.89 ± 4.11	$29.95 \pm 3.66^{1)}$ (8.17)	29.02 ± 3.87 (6.90)
降糖消脂	10	14	24.81 ± 3.23	$25.81 \pm 4.47^{3)}$ (20.87)	$27.36 \pm 3.89^{2)}$ (12.24)
	5	14	25.41 ± 4.26	$29.80 \pm 4.49^{1)}$ (8.63)	31.07 ± 2.86 (0.32)
	2.5	14	24.89 ± 2.34	31.93 ± 2.06 (2.10)	29.64 ± 3.71 (4.93)

注: () 内为血糖抑制率 (%)。

4 讨论

STZ 是目前国内外使用较多的一种制备糖尿病动物模型的药物, 具有选择性地破坏胰岛 β 细胞的作用。其诱导的糖尿病模型大鼠的特点与人类 2 型糖尿病相似, 表现明显的多饮、多尿、多食、体重下降等糖尿病典型症状, 是一种较理想的糖尿病动物模型, 因此大鼠选用 STZ 造模。而小鼠对 STZ 敏感性差, 需 iv $175 \sim 200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 才可引起糖尿病^[2], 故小鼠选用四氧 1 造模。

中医认为糖尿病的发生、发展与脾肾气阴两虚, 痰浊瘀血阻络有关。降糖消脂片是根据益气养阴、化痰祛瘀为治则研制的中药复方。方中女贞子滋补肝肾, 黄芪补中益气, 二者益气养阴共为君药。黄连清热解毒, 姜黄活血行气, 二者温通血脉, 共助君药而为臣。昆布消痰软坚, 荔枝核行气通络共为佐药。全方以扶正为主, 祛邪为辅, 临床验证有较好的疗效。近年来研究发现, 女贞子中的齐墩果酸、黄连中的盐酸小檗碱、姜黄中的姜黄素均有降低血糖的作用^[3-4]。本试验结果显示: 大鼠成模后连续 ig 8 周, 降糖消脂片各剂量组与模型组比较血糖明显降低; 高剂量组 HbA_{1c} 和 H_{1c}% 明显下降; 胰高血糖素有所下降; 胰岛素水平有增高趋势; 胰腺病理结果显示

高剂量组胰岛数目明显增多。小鼠成模后连续 ig 4 周, 降糖消脂高、中剂量组与模型组比较, 能明显降低小鼠血糖。以上结果证实降糖消脂片对糖尿病大、小鼠均有明显的降糖作用。

降糖消脂片的降糖作用可能与减轻 STZ 对胰岛 β 细胞损伤, 增强胰岛的分泌功能, 提高血清胰岛素水平有关。此外还可能与益气养阴、活血化瘀类中药改善机体内环境, 促进组织器官的血液循环, 增强组织靶细胞胰岛素受体的敏感性有关。但其具体的降糖作用机制, 尚需采用 2 型糖尿病大鼠、转基因糖尿病小鼠等动物模型进行深入研究。

[参考文献]

- [1] 陈奇. 中药药理研究方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006, 721.
- [2] 徐淑云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005, 1516.
- [3] 于冬青, 邓华聪. 姜黄素对糖尿病大鼠糖、脂代谢及氧化应激的影响 [J]. 重庆医学, 2005, 34 (1): 37.
- [4] 黄婉, 杨耀芳. 女贞子及其有效成分的药理及临床研究进展 [J]. 现代中西医结合杂志, 2003, 12 (7): 772

[责任编辑 何伟]