

醒胰降糖灵对试验性糖尿病大鼠 NO 与 ET-1 的影响

贾育新^{*}, 杨中高
(甘肃中医学院, 兰州 730000)

[摘要] 目的: 观察醒胰降糖灵对实验性糖尿病大鼠血清一氧化氮(NO)、血浆血管内皮素(ET-1)的影响。方法: 首先用一次性大剂量腹腔注射链脲佐菌素, 并连续皮下注射甲状腺素造成实验性糖尿病模型, 观察对比各药物治疗组与模型组的 NO, ET-1 变化。结果: 醒胰降糖灵和六味地黄汤治疗组不仅能降低大鼠血糖, 而且能明显改善 NO, ET-1 的变化, 其中醒胰降糖灵疗效明显优于六味地黄汤阳性药物对照组, 有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论: 醒胰降糖灵在纠正 NO 与 ET-1 失衡过程中起重要作用, 能改善血管的通利, 使血流流畅, 减少糖尿病并发症的发生。

[关键词] 醒胰降糖灵; 糖尿病; 一氧化氮; 血管内皮素

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)09-0166-03

Effects of Xingyi Jiangtangling on Experimental in Diabetic Rats

JIA Yu-xin^{*}, YANG Zhong-gao
(Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China)

[Abstract] Objective: To observe the effects of Xingyi Jiangtangling on the of serum nitric oxide (NO) and plasma endothelin vessels (ET) in diabetic rats. **Method:** The model of diabetic rats was established by one-off high-dose intraperitoneal injection of streptozotocin and then concomitant hypodermic injection with thyroid. Then the changes of the No1-ET will be obtained through observation and comparison between drug treatment group and the control model. Xingyi jiangtangling and liuweidihuangwan in the treatment group can not only decline the rat blood sugar but improve the changes of the No, ET-1. **Result:** that of the effects of the Xingyi Jiangtangling are better than the positive control group of Liuweidihuangwan obviously. It was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion:** Xingyi jiangtangling plays an important role in the process of improving blood flowing and reducing diabetic complications when it corrects the unbalanced NO and ET-1.

[Key words] Xingyi Jiangtangling; diabetes; NO; ET-1

糖尿病是一种常见的内分泌代谢紊乱性疾病, 发病率近年来有增加的趋势, 其并发症也日益受到人们的重视, 而并发症的发生与痰瘀有密切关系, 痰瘀的形成原因虽多, 但与血管的通利与否有密切关系。因此为了改善糖尿病及其并发症, 祛痰化瘀、通利血管是重要环节, 本文通过复制大鼠肾阴虚糖尿病模型, 观察一氧化氮(NO)、内皮素(ET-1)在大鼠

血清、血浆中的变化, 阐明血管内皮功能障碍对痰瘀影响的机制。

1 材料

1.1 动物 SPF 级 2 月龄 Wistar 大白鼠 60 只, 雌雄各半, 体重 250 g 左右, 购于甘肃中医学院 SPF 实验中心, 合格证号 SCXK(甘)2004-0006。

1.2 药品与试剂 醒胰降糖灵由六味地黄汤中熟地黄易生地黄, 加黄芪、五味子、水蛭、白僵蚕组成, 上述药材均购自甘肃中医学院附属医院, 由甘肃中医学院药学系中药炮制教研室常规水煎制, 其中醒胰降糖灵生药含量为 $2.51 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 六味地黄汤生药含量为 $1.78 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$; 链脲佐菌素注射液, 美国 Sig-

[收稿日期] 20100321(001)

[基金项目] 甘肃省教育厅资金资助项目(0505207)

[通讯作者] * 贾育新, 教授, 从事中医证理论及其应用研究,
Tel: 13919057019, E-mail: xinyujia@163.com

ma 公司提供, 上海荣盛生物技术有限公司分装, 批号 200710; 甲状腺素, 购自上海长城生物技术有限公司, 批号 20080811; cAMP, cGMP 放射免疫分析试剂盒, 上海中医药大学同位素室提供, 批号 200710; ET-1 放免药盒购自解放军总医院科技开发中心放免所, 批号 20090522; NO 测试盒购自南京建成生物工程研究所, 批号 20090529。

1.3 仪器 PR 电子精密天平 PR2003 (北京赛多利斯天平有限公司); XYJ8022 电动离心机(金坛市恒丰仪器厂); FJ22008 自动免疫计数器(西安二六二厂); ONE TOUCH Ultra Easy 稳豪倍易血糖仪(中国强生医疗器械有限公司); BIO2TEK Elx2800 型酶联免疫检测仪(美国 Beckman Coulter 公司产品); GC-911 放射免疫计数器(科大创新股份有限公司中佳分公司); KDC-2044 低速冷冻离心机(科大创新股份有限公司中佳分公司); 722s 分光光度计(上海精密科学仪器有限公司)。

2 方法

2.1 动物分组、喂养和造模 SPF 实验室条件下喂养 1 周。将 60 只大鼠随机分为 2 组, 其中 16 只为对照组, 其余 44 只为糖尿病造模组, 按文献[1-3]改进造模。糖尿病模型组: 一次性腹腔注射 2% 链尿佐菌 (STZ) $65 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。STZ 现用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 4.2 的柠檬酸钠-柠檬酸缓冲液配成 2% 的 STZ 溶液。注射 STZ 后, 第 2 d 开始连续按 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ bw/d}$ 的量皮下注射甲状腺素(T4) 7 d, 从第 3 d 开始, 每隔 3~4 d 检测空腹 8 h 血糖值。14 d 后随机抓取对照组和糖尿病造模组各 8 只大鼠。摘取眼球取血 1 mL 测血糖, 其余均加入 EDTA 抗凝剂制成血浆, 取 0.1 mL 血浆用放免法测其血浆 cAMP, cGMP 含量(严格按照说明书操作)。若模型组大鼠 cGMP 含量降低、cAMP/cGMP 明显升高, 并且血糖值均大于 $11.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 则提示肾阴虚型糖尿病大鼠造模成功。

2.2 给药 至总第 22 d, 从造模组中选取血糖值均在 $11.0 \sim 16.7 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 伴有表征者即造模成功的 24 只大鼠称重, 按体重编号依照随机数字表法分为 3 组, 分别为模型组、六味地黄汤治疗组、醒胰降糖灵治疗组。对照组、模型组分别灌胃等体积($10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$)生理盐水; 六味地黄汤组每日灌胃六味地黄汤溶液 $17.82 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$; 醒胰降糖灵组每日灌胃醒胰降糖灵溶液 $25.11 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 1 次/d, 连续灌胃 21 d。

2.3 取材 记录大鼠每日食量及规定时间的血糖

值, 采用大鼠尾尖取血测定血糖。总第 42 d 后, 禁食 10 h, 行股动脉取全血, 并收集全血 6 mL, 其中 3 mL 注入不抗凝的干燥试管内, 静置 30 min 待血液凝固后, 于 4℃ 条件下以 $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 分离待测血清。3 mL 置于含有不同抗凝剂的抗凝试管中, 混匀, 于 4℃ 条件下以 $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min 获得待测血浆。

2.4 检测指标 空腹血糖: 禁食 8 h, 大鼠尾静脉取血, 用 ONE TOUCH Ultra Easy 稳豪倍易血糖仪测定测定空腹血糖; 血浆总 cAMP, cGMP 的含量用放免分析药盒测定; ET-1 的含量用放免分析药盒测定; NO 用硝酸还原酶法测定。

2.5 统计学方法 采用 SPSS 17.0 统计软件处理。所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间均数比较采用单因素方差分析, (One-Way-ANOVA) 检验, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 一般表征 造模后大鼠伴有消瘦, 毛无光泽, 活动频度增加, 多饮、多尿、大便干结等实验性糖尿病症状。

3.2 两组大鼠血糖及血浆总 cAMP, cGMP 含量和 cAMP/cGMP 结果 见表 1。与对照组比较, 模型组血糖明显升高 ($P < 0.01$), cAMP 含量无明显变化, 而 cGMP 含量明显降低 ($P < 0.01$), cAMP/cGMP 明显升高 ($P < 0.01$), 有显著性差异, 说明实验造模成功。

表 1 两组大鼠血糖及血浆总 cAMP, cGMP 含量和 cAMP/cGMP 比值结果比较 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	血糖 /mmol·L ⁻¹	cAMP /pm·mL ⁻¹	cGMP /pm·mL ⁻¹	cAMP /cGMP
对照	4.43 ±0.47	72.59 ±6.93	105.92 ±4.11	0.68 ±0.06
模型	13.15 ±2.31 ¹⁾	60.58 ±3.86	30.30 ±2.15 ¹⁾	2.00 ±0.11 ¹⁾

注: 与对照组比较¹⁾ $P < 0.01$ 。

3.3 各组大鼠血糖, NO, ET-1 的比较 见表 2。模型组各数据均明显高于对照组数据, 其差异具有显著统计学意义 ($P < 0.01$); 与模型组比较治疗组空腹血糖明显下降 ($P < 0.05$), NO 指标均升高 ($P < 0.05$), ET-1 指标均降低 ($P < 0.01$)。与模型组相比, 六味地黄丸组有统计学意义 ($P < 0.05$), 醒胰降糖灵组有显著统计学意义 ($P < 0.01$); 醒胰降糖灵组与六味地黄丸组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。说明醒胰降糖灵较六味地黄丸在改善 NO 与 ET-1 失衡有较好的作用。

表 2 各组大鼠空腹血糖、NO、ET-1 的比较($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	血糖 /mmol·L ⁻¹	NO /μmol·L ⁻¹	ET-1 /pg·mL ⁻¹
对照	4.43 ± 0.47	57.35 ± 6.22	121.64 ± 12.64
模型	13.15 ± 2.31 ²⁾	42.19 ± 6.78 ²⁾	160.11 ± 6.42 ²⁾
六味地黄汤	6.99 ± 1.95 ^{2,3)}	50.53 ± 5.35 ^{2,3)}	140.10 ± 9.79 ^{2,3)}
醒胰降糖灵	6.91 ± 1.52 ^{2,3,5)}	55.48 ± 7.92 ^{2,4)}	135.34 ± 3.29 ^{2,4)}

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与模型对照组比较

³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$;与六味地黄汤组比较⁵⁾ $P < 0.05$, ⁶⁾ $P < 0.01$ 。

4 讨论

糖尿病是现代医学病名,祖国医学认为,糖尿病属消渴病范畴。《灵枢·五变》曰:“五脏皆柔弱者,善病消瘵”。古今医家以肾阴不足,痰瘀阻络为糖尿病的基本病机。东汉的张仲景有“男子消渴……肾气丸主之”之说,开创了补肾治消渴之先河;而赵献可^[4]力主三消肾虚学说,提倡治三消当以治肾为本。由于肾阴亏虚,阴虚内热;燥热伤津,炼津为痰;肾阴亏虚,津液不足,脉络空虚,脉内营血虚少,血行减慢,血滞脉络而成瘀;唐容川^[5]认为瘀血致渴的机制为:“瘀血在里则渴……瘀血去则不渴矣。”;痰湿的形成,可直接耗伤阴液,另外痰郁化火又可耗损阴津,更有痰湿日久闭阻经络,阴津失于输布,使机体失去濡养而发为消渴者^[6]。程汉桥^[7]通过多年临床观察,指出瘀血可贯穿于消渴病整个病程。正如清代唐容川《血证论》^[5]言:“瘀血既久,亦能化痰。”

醒胰降糖灵主要由六味地黄汤加黄芪、水蛭、五味子、白僵蚕组成,其中六味地黄汤是治疗消渴的经典方。陈士铎认为:“消渴非火不成”,主张重用熟地黄、山萸肉、麦冬养阴,反对用桂附辛热之品。方中黄芪补虚益气,与山药、茯苓、泽泻合用,益气扶脾,渗利脾湿,杜绝湿滞生痰;生地黄与牡丹皮合用,既养阴生津,又清泻虚火。水蛭逐瘀,对既成的血行不畅有通行作用;白僵蚕活血化痰祛瘀,与水蛭合用,增强逐瘀祛痰;五味子益气生津,补肾宁心,与山萸肉、泽泻合用,调肝益肾,促进脾的运化。正如赵献可^[4]《医贯·消渴论》曰:“治消之法,无分上中下,以治肾为急,唯六味、八味及加减八味丸,随证而服”。

现代研究证实血管内皮细胞可以合成分泌 ET, NO 等血管活性物质。如刘月洁^[9]、陈涛^[10]认为: NO 合成减少或灭活增加、扩散过程受阻、受体功能发生改变等都可以反映血管内皮功能障碍。ET 是迄今为止作用最强、持续时间最久的一种缩血管活性多肽。有研究认为当内皮细胞损伤时 ET-1 释放增加,是血管内皮功能障碍可信指标^[11]。施赛珠

等^[12]研究结果显示糖尿病患者存在内皮细胞受损等现象,糖尿病血瘀证患者内皮细胞损害大为明显。刘德庆^[13]研究测定 2 型糖尿病血瘀证 ET 含量较正常组升高, NO 水平较正常组低,证明 ET 和 NO 参与血瘀证发生和发展。以上都证明血管的通利与否是形成痰瘀的重要环节。

造模后实验性糖尿病大鼠的 NO, ET-1 指标均有异常,实验发现 NO, ET-1 在实验性糖尿病大鼠中成负相关,数据显示 NO 水平降低, ET-1 水平升高,提示二者可能共同作用使血管血流减少,血供降低,导致大鼠血管病变。通过治疗后检测发现,醒胰降糖灵不仅能降低空腹血糖,而且能提高 NO 的含量、降低 ET-1 的含量,从而使血管通利,血流增加,血供提高,减少瘀血的发生,进而起到对实验性糖尿病的治疗,并对其并发症起预防治疗作用。

[参考文献]

- [1] 杨巍,罗春元,于春雷,等. 不同剂量 STZ 诱导小鼠糖尿病模型的发病机制[J]. 吉林大学学报:医学版, 2006, 32(3): 432.
- [2] 陈小野. 实用中医证候动物模型学[M]. 北京:中国协和医科大学、北京医科大学联合出版社, 1993: 27.
- [3] 吴文莉,马威,薛莎,等. 肾阴虚型糖尿病动物模型的研制[J]. 湖北中医学院学报, 1999, 1(3): 117.
- [4] 明·赵献可. 医贯·消渴论[M]. 北京:人民卫生出版社, 1959: 64.
- [5] 清·唐容川. 血证论[M]. 北京:人民卫生出版社, 1980: 175.
- [6] 佟晓哲,叶辉. 糖尿病久病从痰瘀辨治[J]. 辽宁中医杂志, 2003, 30(8): 615.
- [7] 程汉桥. 糖尿病从痰湿论治的理论探讨[J]. 中国中医基础医学杂志, 1999(4): 48.
- [8] 刘月洁,吴艳君. 糖尿病患者血管内皮功能损伤的发生机制[J]. 临床超声医学杂志, 2003, 5(1): 38.
- [9] 陈涛,王中心. 血管内皮功能障碍与 2 型糖尿病[J]. 医学综述, 2006, 12(6): 376.
- [10] Morise T, Konil, Takeuehi Y, et al. Increased Plasma levels of immuno-reactive endothelin And von Willebrand factor in non insulin dependent diabetes mellitus Patients [J]. Diabetes Care, 1995, 18(1): 87.
- [11] 施赛珠,陈剑秋,张茂华,等. 糖尿病血瘀证与血栓前状态分子标记物关系的研究[J]. 中医研究, 1996, 9(6): 21.
- [12] 刘德庆. 2 型糖尿病血瘀证一氧化氮及内皮素水平变化分析[J]. 实用中医内科杂志, 2007, 21(3): 103.

[责任编辑 邹晓翠]