

连芪消渴胶囊对 2 型糖尿病大鼠治疗作用的实验研究

温航远, 陈红艳, 杨新波*, 耿淼, 王建华, 苏成虎
(解放军总医院老年医学研究所, 北京 100853)

[摘要] 目的: 观察连芪消渴胶囊对 2 型糖尿病大鼠的治疗作用。方法: 高糖高脂饲料喂养 4 周后, ip 30 mg·kg⁻¹ 链脲佐菌素制备 2 型糖尿病大鼠模型, 分组并给药治疗 8 周, 取血检测空腹血糖、胰岛素、总胆固醇、甘油三酯、超氧化物歧化酶、丙二醛, 计算胰岛素敏感指数及光镜下观察胰腺病理组织学变化。结果: 模型组与正常对照组比较: 血糖、总胆固醇、甘油三酯、丙二醛水平明显升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 胰岛素、胰岛素敏感指数、超氧化物歧化酶明显降低 ($P < 0.05$), 胰岛细胞损伤明显; 连芪消渴胶囊治疗组与模型组比较: 血糖、总胆固醇、甘油三酯、丙二醛水平明显降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 胰岛素、胰岛素敏感指数、超氧化物歧化酶明显升高 ($P < 0.05$), 胰岛细胞损伤减轻。结论: 连芪消渴胶囊具有降低大鼠空腹血糖和血脂的作用, 其机理可能与提高胰岛素敏感性、修复损伤的胰岛细胞和改善体内氧化应激水平有关。

[关键词] 连芪消渴胶囊; 2 型糖尿病大鼠; 胰岛素抵抗

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)04-0131-04

Experimental study of effect of Lianqi Xiaoke Capsule in type 2 diabetic rats

WEN Hang-yuan, CHEN Hong-yan, YANG Xin-bo*, GENG Miao, WANG Jian-hua, SU Cheng-hu
(Institute of Geriatrics, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China)

[Abstract] Objective: To research the effect of Lianqi Xiaoke Capsule on type 2 diabetic rats. **Method:** Type 2 diabetic rat model was induced with high sucrose-fat diet for 4 weeks and streptozotocin ip for 30 mg·kg⁻¹, all animals were grouped and administrated with drugs for 8 weeks. The fasting blood glucose, insulin, insulin sensitivity index, total cholesterol, triglyceride, superoxide dismutase and malondialdehyde were assessed and pancreatic pathological changes were observed. **Result:** model group vs normal control group: the fasting blood glucose, total cholesterol, triglyceride, malondialdehyde were obviously increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$), otherwise insulin, insulin sensitivity index, superoxide dismutase decreased ($P < 0.05$), pancreatic damage were appeared; Lianqi Xiaoke Capsule treatment groups vs. model group: the fasting blood glucose, total cholesterol, triglyceride, malondialdehyde were significantly decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and insulin, insulin sensitivity index, superoxide dismutase increased ($P < 0.05$), pancreatic damage were ameliorated. **Conclusion:** Lianqi Xiaoke Capsule could decrease fasting blood glucose and blood lipids via ameliorating pancreatic damage and insulin resistance, and inhibition of oxidative stress.

[Key words] Lianqi Xiaoke Capsule; type 2 diabetic rat; insulin resistance

糖尿病(DM)发病率不断升高,据世界卫生组织最新统计表明,目前全世界有糖尿病患者 1.51 亿,每年都有 300 万患者死于糖尿病,DM 已经成为继心血管、肿瘤之后的第三位威胁人类健康的疾病^[1],其

中 2 型糖尿病发病率占 DM 发病率 90% ~ 95%^[2]。治疗 2 型糖尿病主要以口服降血糖药为主,大多为化学合成品,有较明显的不良反应。连芪消渴胶囊是民间治疗消渴有效方剂加减而成,已在临床应用多年,取得较好疗效,本研究观察其对 2 型糖尿病动物模型的影响,为临床应用提供实验依据。

1 实验材料

1.1 实验动物 SPF 级 SD 大鼠 60 只,体重 130

[收稿日期] 2009-10-09

[通讯作者] * 杨新波, Tel: (86) (010) -66876421; E-mail:

yangxb_301@sina.com

~150 g。北京维通利华实验动物技术有限公司, 许可证号: SCXK(京) 2007-0001, 于解放军总医院实验动物中心 SPF 级啮齿类动物实验室分笼饲养, 自由采食、饮水, 保持室温 24 ~26 , 相对湿度 60% ~65%, 日照时间 12 h·d⁻¹。

1.2 试剂 高糖高脂饲料(60% 常规饲料、10% 猪油、10% 蛋黄粉、20% 蔗糖), 购自军事医学科院实验动物中心, 许可证: SCXK(军) 2002-018; 链脲佐菌素(streptozotocin, STZ), 购自 Sigma 公司, 批号 S0130; 连芪消渴胶囊(lianqi xiaoke capsule, LXC), 由解放军 302 医院药学部提供; 盐酸二甲双胍(MHT), 购自北京双鹤药业股份有限公司, 批号: 070754; 超氧化物歧化酶(SOD) 试剂盒、丙二醛(MDA) 试剂盒, 购自南京建成科技有限公司, 批号分别为: 20090226、20090226; 大鼠胰岛素(Ins) 酶联免疫吸附测定试剂盒, 购自 USCNLIFE 公司, 批号 E 0488r; 中性树胶(NB): 中国上海标本模型厂, 批号: 20080508。

1.3 仪器 血糖仪, 强生 One Touch Ultra 稳豪型血糖仪, 强生(上海) 医疗器材有限公司, 批号: 2832419; 酶联仪, Bio-Tek Instrument, 型号: EL × 800UV; 全自动生化分析仪, 日立 HITACHI, 型号: 7600 -110。全自动真空组织脱水机, LEICA, 型号 ASP300; 组织包埋机, LEICA, 型号: EG1140; 组织切片机, LEICA, 型号: RM2135; OLYMPUS 系统显微镜, 型号: BX60。

2 方法

2.1 模型制备和分组给药 SD 大鼠 60 只, 随机选出 10 只为正常对照组大鼠(A 组), 给予常规饲料, 自由饮食。其余大鼠高糖高脂饲料喂养 4 周, ip STZ 30 mg·kg⁻¹ (0.1 mmol·L⁻¹ pH4.2 柠檬酸缓冲液配制成 1% STZ 溶液, 现用现配)。72h 后检测空腹血糖(FBG), FBG > 11.2 mmol·L⁻¹ 为 2 型糖尿病大鼠。将成模大鼠分为模型组、MHT 组(每天 0.2 g·kg⁻¹)、LXC 治疗组(每天 2, 4, 8 g·kg⁻¹), 每组各 10 只, 均 ig 连续 8 周。

2.2 一般指标观察 观察各组大鼠体重、尿量、饮食量的变化, 以及大鼠皮毛、运动状态等。

2.3 样本采集 末次给药后禁食 12h, 大鼠剪尾检测 FBG, ip 7% 水合氯醛(5 mL·kg⁻¹) 麻醉大鼠, 腹主动脉取血, 3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min 得血清于 -20 保存, 取胰腺组织置于 10% 福尔马林溶液

保存。

2.4 胰岛素敏感性检测 用酶联免疫吸附测定试剂盒检测血清胰岛素(Ins) 水平, 并且计算胰岛素敏感指数(ISI) 以评价胰岛素抵抗, ISI = - Ln(Ins × FBG)^[3]。

2.5 血清总胆固醇、总甘油三酯水平检测 全自动生化仪检测血清中的总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)。

2.6 血清 SOD, MDA 水平检测 根据试剂盒说明书检测血清中 SOD, MDA 水平。

2.7 病理组织学观察胰腺组织变化 将取出的胰腺组织固定、脱水、制成厚度为 4 μm 切片, HE 染色, 观察胰腺组织结构变化。

2.8 数据处理 采用 SPSS 13.0 医学统计软件对数据进行分析, 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间采用 *t* 检验。

3 结果

3.1 对大鼠一般指标的影响 与正常对照组对比, 模型组大鼠体重下降, 皮毛晦暗, 运动能力和精神状态下降, 饮食量、尿量增多, 饲养笼垫料明显浸湿。LXC, MHT 组均有不同程度的改善。

3.2 对 2 型糖尿病大鼠 FBG, Ins 和 ISI 的影响 如表 1 所示, 模型组 FBG 显著升高 (*P* < 0.01), Ins 和 ISI 显著降低 (*P* < 0.01); MHT, LXC 组 FBG 显著降低 (*P* < 0.01), 其中 MHT, LXC 中、高剂量组的 Ins 和 ISI 明显提高 (*P* < 0.05, *P* < 0.01)。

表 1 LXC 对 2 型糖尿病大鼠 FBG, Ins 和 ISI 的影响 ($\bar{x} \pm s$, *n* = 10)

组别	剂量	FBG	Ins	ISI
	/g·kg ⁻¹	/mmol·L ⁻¹	/mIU·L ⁻¹	
Control	-	6.16 ± 0.79 ²⁾	61.89 ± 2.50 ²⁾	- 5.93 ± 0.13 ²⁾
Model	-	31.28 ± 2.38	37.56 ± 4.16	- 7.06 ± 0.15
MHT	0.2	16.71 ± 1.18 ²⁾	43.09 ± 4.86 ²⁾	- 6.57 ± 0.10 ²⁾
LXC	2.0	28.18 ± 1.84 ²⁾	39.85 ± 2.35	- 7.02 ± 0.07
	4.0	23.74 ± 3.12 ²⁾	40.27 ± 2.67	- 6.85 ± 0.16 ²⁾
	8.0	18.67 ± 2.29 ²⁾	41.82 ± 2.63 ¹⁾	- 6.65 ± 0.17 ²⁾

注: 与模型组比¹⁾ *P* < 0.05, ²⁾ *P* < 0.01(下同)

3.3 对 2 型糖尿病大鼠血清 TC, TG 的影响 如表 2 所示, 模型组 TC, TG 明显升高 (*P* < 0.01), MHT, LXC 组出现不同程度的降低, 其中 MHT, LXC 中、高剂量组 TC, TG 水平明显降低 (*P* < 0.05, *P* < 0.01)。

3.4 对 2 型糖尿病大鼠血清 SOD, MDA 的影响 如表 3 所示, 模型组 SOD 明显降低 (*P* < 0.01), MDA 显著升高 (*P* < 0.01), 其中 MHT, LXC 中、高剂量组

SOD 明显升高 ($P < 0.01$), MDA 水平明显降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)

表 2 LXC 对 2 型糖尿病大鼠血清 TC, TG 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	TC /mmol·L ⁻¹	TG /mmol·L ⁻¹
Control	-	0.65 ± 0.06 ²⁾	0.96 ± 0.13 ²⁾
Model	-	1.79 ± 0.42	1.82 ± 0.15
MHT	0.2	1.20 ± 0.11 ²⁾	1.15 ± 0.26 ²⁾
LXC	2.0	1.45 ± 0.12	1.68 ± 0.17 ¹⁾
	4.0	1.39 ± 0.09 ¹⁾	1.51 ± 0.14 ²⁾
	8.0	1.38 ± 0.13 ¹⁾	1.29 ± 0.12 ²⁾

3.5 LXC 对 2 型糖尿病大鼠胰腺病理变化的影响

大鼠胰腺组织病理学观察, 如图 1, 与正常对照组对比, 模型组大鼠胰岛萎缩、结构凌乱不规则, 胰岛

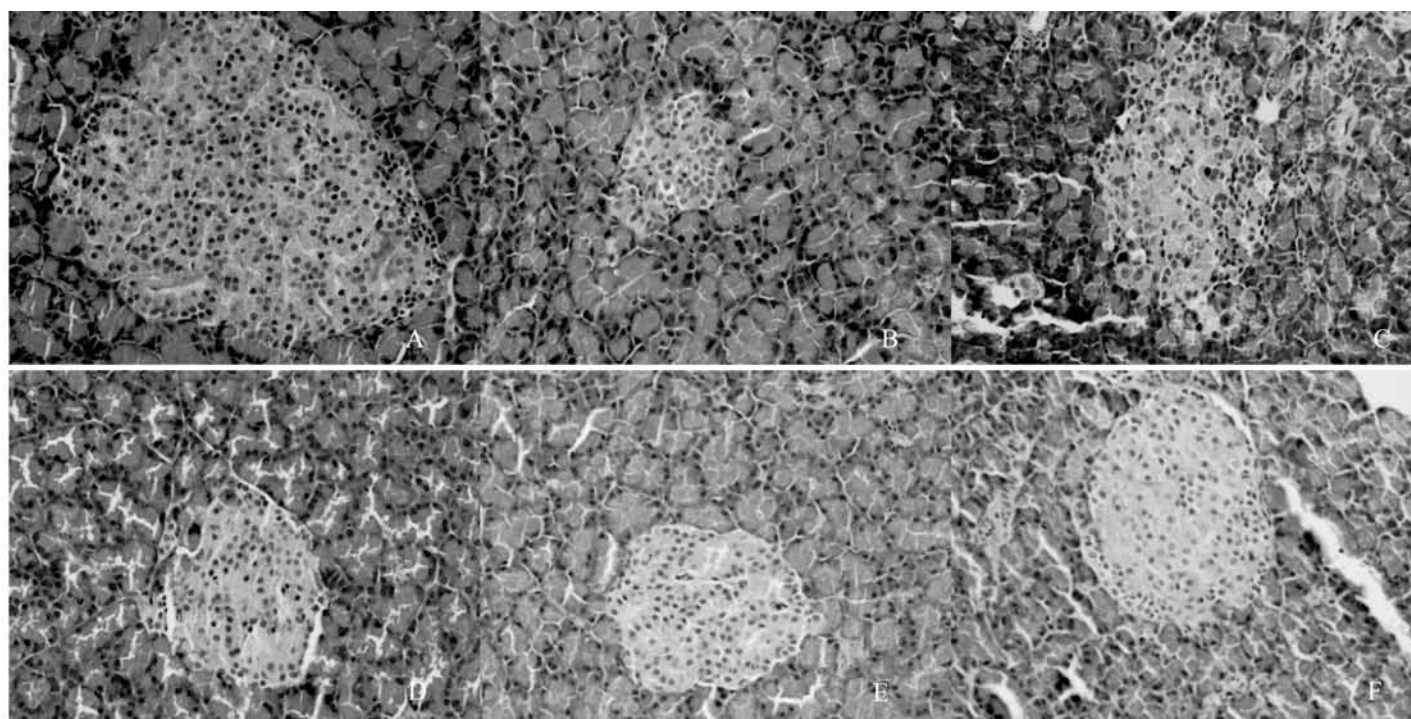


图 1 各组大鼠胰腺组织病理学改变 (HE, 400)

A. Control; B. Model; C. MHT; D. LXC 2.0 g·kg⁻¹·d⁻¹; E. LXC 4.0 g·kg⁻¹·d⁻¹; F. LXC 8.0 g·kg⁻¹·d⁻¹

4 讨论

我们根据文献报道并结合多次预实验, 制备了 2 型糖尿病模型^[4]。动物出现高血糖后继续给予高糖高脂饲料喂养 8 周, 模型组大鼠表现为持续高血糖状态并伴有明显的胰岛素抵抗现象。各给药组经 8 周治疗, 大鼠高血糖和胰岛素抵抗均出现不同程度的改善, 其中 LXC 治疗 (4, 8 g·kg⁻¹·d⁻¹) 组和 MHT 治疗组作用明显, 提示药物对 2 型糖尿病有较好的治疗作用。

糖尿病常并发血脂代谢异常, 而胰岛素与其受体结合所产生的一系列反应是调节脂代谢的重要因素^[5], 当胰岛素分泌障碍或者胰岛素功能性障碍均会导致体内脂代谢异常, 引发多种代谢疾病的发生发展。其中胆固醇和甘油三酯是血脂重要指标。本

细胞分布不均匀, 部分胰岛细胞核出现扩散、消失, 细胞质溶解。与模型组对比, MHT、LXC 组出现不同程度的改善, 其中 MHT、LXC 中、高剂量组改善胰腺损伤作用明显, 表现为胰岛萎缩减轻, 胰岛形状趋于完整、饱满, 胰岛细胞数量增加。

表 3 LXC 对 2 型糖尿病大鼠血清 SOD, MDA 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	SOD /KU·L ⁻¹	MDA /mmol·L ⁻¹
Control	-	318.1 ± 17.85 ²⁾	5.04 ± 0.53 ²⁾
Model	-	243.1 ± 15.23	8.24 ± 0.77
MHT	0.2	302.6 ± 28.13 ²⁾	6.11 ± 0.47 ²⁾
LXC	2.0	248.9 ± 5.92	7.13 ± 0.59 ¹⁾
	4.0	272.7 ± 11.25 ²⁾	6.80 ± 0.61 ²⁾
	8.0	291.8 ± 8.49 ²⁾	6.15 ± 0.51 ²⁾

实验观察, 模型组血脂明显升高, 而药物治疗组血脂水平明显降低, 显示 LXC 和 MHT 均具有对抗糖尿病诱发的高血脂作用。

糖尿病会引起体内不同程度的氧化应激损伤, 而氧化应激通过不同途径使糖尿病及其并发症进一步的发展。氧化应激是指机体在遭受各种有害刺激时, 自由基的产生和抗氧化防御之间严重失衡, 从而导致组织损伤。现认为应用抗氧化治疗可阻止或延缓糖尿病及其并发症的发生、发展^[6]。SOD, MDA 是氧化应激水平的主要指标, 实验发现 LXC (4, 8 g·kg⁻¹·d⁻¹) 组和 MHT 组可以显著改善糖尿病大鼠模型体内氧化应激水平。

此外, 2 型糖尿病患者除有不同程度胰岛素抵抗外, 常伴有胰岛损伤^[7], 本实验证实模型组胰腺发

生明显的损伤性改变。LXC ($8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) 组和 MHT 组能够明显减轻大鼠胰腺损伤。

连芪消渴方主要包括黄芪、黄连、麦冬等几味中药, 该方突出益气养阴、生津止渴, 主治气阴两虚。有文献报道黄芪、黄连 2 种单味中药均有明显治疗糖尿病及其并发症的作用^[8-9]。本研究观察到连芪消渴胶囊具有降低 2 型糖尿病大鼠血糖和血脂水平的作用, 该结果从实验角度证实连芪具有较好的抗糖尿病作用。其作用可能与改善胰岛素抵抗、保护胰腺及对抗氧化应激损伤有关。但确切的机理有待进一步研究。

[参考文献]

[1] 世界卫生组织网站, 2006. 9: 312 号 (www. who. Int/diabetes/fact/en/).
[2] American Diabetes Association. American Diabetes Association Diagnosis and classification of diabetes mellitus [J]. Diabetes Care, 2006, 29(Suppl 1): S43.
[3] ZHAO MM, LI Z, TENG Z, *et al.* Repeated oral treatment with polysaccharide sulfate reduces insulin resistance and dyslipidemia in diabetic dyslipidemic rat model [J]. Acta Pharmaceutica Sinica 2007, 42(5): 488.
[4] WANG Rong-rong, XIE Lin, Wu Xiao-ye, *et al.* Effect

of ginkgo biloba extract on liver from experimental type 2 diabetic rats [J]. Chinese Journal of Pathophysiology. 2007, 23(3): 566.

[5] Patrick J, Boyle MD, Allen Bennett King MD, *et al.* Effects of Pioglitazone and rosiglitazone on blood lipid levels and glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus: A retrospective review of randomly selected medical records [J]. Clinical Therapeutics, 24(3): 378.
[6] Kaneto H, Katakami N, Kawamori D, *et al.* Involvement of Oxidative Stress in the Pathogenesis of Diabetes [J]. Antioxidants & Redox Signaling, 2007, 9(3): 355.
[7] Meisterfeld R, Eehalt F, Saeger HD, *et al.* Pancreatic disorders and diabetes mellitus [J]. Experimental and clinical endocrinology & diabetes. 2008 vol. 116 Suppl 1: S7.
[8] 宋恩峰, 刘晶晶, 贾汝汉等. 黄芪对 2 型糖尿病大鼠肾脏结缔组织生长因子的影响 [J]. 中国中西医结合肾病杂志. 2008, 9(5): 431.
[9] LIU Wei-hua, HUANG He-qing, DENG Yan-hui, *et al.* Effects of berberine on renal function, oxidative stress and renal aldose reductase in rats with diabetic nephropathy [J]. Chinese Pharmacological Bulletin 2008; 24(7): 955.

疑难杂症验方合作

您有效果神奇、应用已久、无毒副作用且功效显著的民间验方吗? 您希望它产业化吗? 您期盼它为更多人解除病痛吗? 这样的事情您自己完成有困难吗? 我们来合作好吗? 天津权健自然医学科技发展有限公司致力于民间神奇验方的收集整理使之产业化服务人民大众。

期待与您的真诚合作! 共同造福人类!

公司: 天津市权健自然医学科技发展有限公司

地址: 天津市武清区豆张庄乡权健道 1 号

邮编: 301707

电话: 022 - 22160850 022 - 22160816

传真: 022 - 22160816

联系人: 高小姐、常小姐

公司网址: www. ziranyixue. com

公司流程:

来电咨询确认

提供临床试用品 10 份

试验治愈率 70% 为成功

洽谈合作事宜

(一般为购买验方)