

降糖明目胶囊对糖尿病家兔血 GMP-140 优球蛋白及红细胞、血小板功能的影响

秦裕辉, 孙兆泉 (湖南省中医药研究院, 长沙 410006)

中图分类号: R285.5 文献标识码: D 文章编号: 1005-9903(2001)04-0042-02

糖尿病视网膜病变系糖尿病常见并发症,其机理与毛细血管高通透性、血液高粘滞性、血小板高活性有关,为探讨模型动物血液粘滞性、血小板活性状态及中药降糖明目胶囊对其的影响,我们选择 GMP-140、优球蛋白及红细胞、血小板功能等指标作了检测分析,现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 动物 新西兰家兔,体重 2.0~2.5kg,雌雄各半,由本院动物室提供,合格证号:湘医动字 027 号。

1.2 药物及试剂 降糖明目胶囊(简称 JM):药物组成:女贞子、旱莲草、枣皮、怀山、茯苓、泽泻、丹皮、丹参等,由本院中药所制剂室提供,批号 971210,成人每日服用量为 31.8g 生药。导升明-500(简称 DXM) 奥地利依比威大药厂生产,临床用量为 1000mg/人/日。GMP-140 放射免疫试剂盒:苏州医学院血栓研究室提供,批号 9701120。

1.3 造模方法^[1] 取新西兰家兔,在禁食 12h 后耳静脉采血,用 GLUGU SCOT 便携式血糖测试仪测量血糖值,选用血糖值在 10mg/ml 以下的家兔,静脉注射四氧嘧啶 200mg/kg,48h 后再采血测定空腹血糖,取血糖值在 20mg/ml 以上者作为实验动物,分别于第 20、40、60d 测定空腹血糖,取血糖值大于 20mg/ml 的动物,再同法各注射一次四氧嘧啶,以维持高血糖状态,同时监测注药后空腹血糖,于第 61d 再测空腹血糖,以血糖值大于 40mg/ml 的动物入选作下一步分组及给药实验。

1.4 动物分组及给药方法 取造模 60d 的新西兰家兔随机分为 5 组,每组 12 只,另取同期饲养的 8 只正常家兔,空腹血糖在 10mg/ml 以下者,作为对照组。对照组(正常对照组):每日空腹灌以蒸馏水 8ml/kg。模型组(模型对照组):每日空腹灌以蒸馏水

8ml/kg。JM 高组(降糖明目大剂量组):灌以 0.36g/ml 的 JM 液 8ml/kg。JM 中组(降糖明目中剂量组):灌以 0.18g/ml 的 JM 液 8ml/kg。JM 小组(降糖明目小剂量组):灌以 0.09g/ml 的 JM 液 8ml/kg。DXM 组(导升明-500 组):灌以 5.8mg/ml 的导升明-500 蒸馏水稀释液 8ml/kg。

1.5 观察指标与方法 禁食 12h,麻醉前心脏采血测血浆 α -颗粒膜蛋白 140(GMP-140)、红细胞柔韧性、优球蛋白溶解时间、血小板粘附反应。

1.5.1 α -颗粒膜蛋白 140(GMP-140)的测定 用枸橼酸钠抗凝,分离血浆,检测方法按药盒说明书进行。

1.5.2 红细胞柔韧性检测 用微孔滤过器进行检测,具体方法:将采集的血标本用枸橼酸钠抗凝,取抗凝血约 1ml,测定其红细胞压积后,用生理盐水稀释 5 倍(加 4ml 生理盐水),将稀释血放于 10 毫升注射器中,再经微孔滤器(醋酸纤维滤膜,孔径为 5 μ m)过滤,经离心,检测滤液中红细胞压积,计算滤过百分率。

1.5.3 血小板粘附性测定 心脏取血 2.7ml,置于含有 3.13% 枸橼酸钠溶液 0.3ml 的硅化试管中,轻轻混匀。随后取 1.5ml 抗凝血加入容量为 12ml 的球形玻璃瓶内,将球形瓶固定在血小板粘附仪的转动装置上,以 3 转/min 的速度转 15min,使血液与瓶壁充分接触。旋转后从环形瓶(粘附后)中及试管中(粘附前)各取 1ml 血液分别加入到盛有 3.13% 枸橼酸钠溶液 19ml 的大试管中,以塑料膜覆盖试管口,反复倾倒 3 次,使其均匀,在室温下静置 2h,取试管上层液体进行血小板计数。每一被测标本均做双份测定,取其均值,计算血小板粘附率。

1.5.4 血浆优球蛋白溶解时间(ELT)的测定 心脏取血,按前述方法分离血浆,取新鲜血浆 0.5ml,加到预先冷却后含有 9ml 乙酸溶液的锥形离心管中,混

匀后放在 4℃冰箱内置 30min, 优球蛋白呈絮状沉淀析出, 离心(3000 转/min) 5min。轻轻倾去上清液, 保留沉淀部分, 将离心管倒置在滤纸上约 2min, 吸尽剩余酸液, 再将离心管放置在 37±0.1℃玻璃恒温水浴中, 加 0.5ml pH9.0 硼酸溶液, 用细玻璃棒小心搅拌, 使沉淀溶解, 再加 0.02mol/L 氯化钙溶液混匀, 约 1~2min, 管内液体开始凝固。记录从凝块形成到凝块完全溶解的时间, 此过程所需时间即为 ELT, 再将 10000 除以 ELT, 即为溶解活性单位。

1.5.5 数理统计方法 采用组间 t 检验。

2 实验结果

2.1 对红细胞柔韧性的影响 由微孔过滤法检测红细胞的柔韧性, 以滤过百分率表示, 糖尿病动物的红细胞通过微孔的比率明显下降, 其柔韧性是下降的, JM 高剂量组及 DXM 能明显对抗这种作用, 提高红细胞的可塑性、柔韧性, 结果见表 1。

表 1 JM 对糖尿病家兔红细胞微孔滤过率的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	例数(n)	剂量(g/kg)	红细胞滤过率(%)
正常对照组	8		65.6±11.5**
模型组	6		31.4±9.8
JM 高组	9	2.88	45.2±11.0*
JM 中组	8	1.44	43.4±12.5
JM 小组	6	0.72	37.9±11.3
DXM 组	9	48mg	46.3±7.4**

注: 与模型组比较* P<0.05, ** P<0.01(下同)。

2.2 对糖尿病家兔血优球蛋白溶解时间的影响

由表 2 可见, 与正常对照组比较, 模型组动物的纤溶酶溶解活性单位明显降低, 表明糖尿病导致机体纤溶活性下降; JM 及 DXM 对纤溶活性单位无明显的影 响。

表 2 JM 对糖尿病动物纤溶活性的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	例数(n)	剂量(g/kg)	纤溶酶溶解活性单位(U)
正常对照组	8		65.4±7.5**
模型组	6		47.8±11.2
JM 高组	9	2.88	51.5±8.9
JM 中组	8	1.44	51.1±9.7
JM 小组	6	0.72	49.6±10.7
DXM 组	9	48mg	51.4±8.2

2.3 对糖尿病动物血浆内 α 颗粒膜蛋白 140 的影响 α 颗粒膜蛋白 140 为体内血小板活化程度的指标, 由表 3 可见, 糖尿病动物的 α 颗粒膜蛋白 140 明显增高, 经 JM 及 DXM 治疗后, 则具有明显降低的作用, 但 DXM 作用更强。

表 3 JM 对血浆内 α 颗粒膜蛋白 140 影响($\bar{x} \pm s$)

组别	例数(n)	剂量(g/kg)	GMP-140(ng/ml)
正常对照组	8		5.6±3.1**
模型组	6		19.4±5.2
JM 高组	9	2.88	14.2±4.2*
JM 中组	8	1.44	17.5±6.7
JM 小组	6	0.72	17.9±6.5
DXM 组	9	48mg	10.2±4.3**

2.4 对糖尿病家兔血小板粘附反应的影响 与正常对照组比较, 模型组血小板粘附率是明显增高的, 经治疗后 DXM 组明显降低(P<0.05), JM 各组与模型组比较无统计学意义。

表 4 JM 对血小板粘附率的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	例数(n)	剂量(g/kg)	血小板粘附率%
正常对照组	8		26.4±4.9*
模型组	6		36.7±7.8
JM 高组	9	2.88	32.5±5.8
JM 中组	8	1.44	32.6±6.4
JM 小组	6	0.72	35.1±5.6
DXM 组	9	48mg	26.9±4.3*

3 讨论

3.1 三高因素(毛细血管高通透性、血液高粘滞性、血小板高活性)在糖尿病视网膜病变(DR)的发生发展中起主要作用。本实验采用糖尿病家兔模型, 通过维持较长时间的高血糖状态, 造成视网膜病变, 并对其血液中血粘滞性(红细胞柔韧性、优球蛋白溶解时间)、血小板活性(GMP-140、血小板聚集性)等指标作了检测。结果表明: 糖尿病家兔模型组动物红细胞滤过率、纤维酶溶解活性明显降低, 与正常组比较差异有显著性意义, 说明模型组动物确实存在血液高粘滞性改变; 此外模型组动物血浆内 GMP-140 明显提高, 血小板聚集性明显增强, 与正常组比较差异有显著性意义, 说明模型组动物也存在血小板高活性的病理改变, 由于血液粘度增加, 血小板活性增强, 极易导致小血管栓塞, 从而导致 DR 的发生与发展。

3.2 降糖明目胶囊具有滋补肝肾、活血明目作用, 本实验结果表明: 经药物治疗后, JM 高组能提高红细胞滤过率, 增强红细胞的柔韧性; 对血浆内 GMP-140 含量有降低作用; DXM 对血小板粘附率有明显降低作用而 JM 各组有一定的作用趋势。

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, 1993. 189.