

实验研究

糖脉康对四氧嘧啶糖尿病小鼠血管神经病变的影响

李 华¹ 王 军² 高丽君² 郭永成³

摘要 目的:观察糖脉康胶囊对糖尿病血管神经并发症的预防与治疗作用。方法:利用四氧嘧啶(ALL)尾静脉注射选择性破坏小鼠胰岛 β 细胞,造成胰岛素分泌低下型糖尿病病理模型,观察糖脉康胶囊对血糖、尾端坏疽、痛阈和学习记忆能力的影响。结果:糖脉康能明显降低 ALL 糖尿病小鼠的血糖值,显著降低尾端坏疽的发生率,提高痛阈,增强学习记忆能力。结论:糖脉康胶囊具有降糖和改善糖尿病血管神经并发症的作用。

主题词 糖尿病/并发症 糖尿病神经病变/中医药疗法 @ 糖脉康胶囊

糖尿病是一组病因和发病机理尚未完全阐明的内分泌代谢疾病,以高血糖为主要标志,因胰岛素分泌绝对或相对不足以及靶细胞对胰岛素敏感性降低,引起糖、蛋白质、脂肪和继发的水、电解质代谢紊乱^[1]。糖脉康胶囊由黄芪、葛根、生地黄、牛膝、丹参等中药组成,具有益气养阴、活血化瘀之功效,临床用于治疗糖尿病及血管神经并发症具有显著疗效。本研究利用四氧嘧啶(ALL)尾静脉注射,选择性破坏小鼠胰岛 β 细胞,造成胰岛素分泌低下型糖尿病模型,观察糖脉康对糖尿病小鼠血糖、周围血管病变以及对痛阈和学习记忆能力的影响。

1 实验材料

1.1 药品与试剂:糖脉康胶囊(简称糖脉康)由河南省中医药研究院制剂室提供。处方:黄芪 300g,葛根 200g,生地黄 200g,怀牛膝 150g,丹参 200g,三七 100g。制备工艺:三七粉碎成细粉,葛根、丹参加 80%乙醇回流提取 2 次,每次 1 小时,滤过,回收乙醇,清膏备用;药渣与生地黄、牛膝、黄芪一起加水煎煮 3 次,每次 2 小时,合并煎液,滤过。滤液与上述浸膏合并,浓缩至相对密度为 1.20~1.25(60℃)的浸膏,加入处述细粉装入胶囊,制成 1000 粒。用 0.5%羧甲基纤维素钠(CMC-Na)将胶囊内容物配成 40%、30%及 20% 3 种浓度的混悬液。降糖灵片(北京制药厂出品,批号 9407210)用 0.5% CMC-Na 配成 6.67%的混悬液。

ALL 为 Sigma 公司产品,临用时用生理盐水配成 0.6%的溶液。血糖测定试剂盒由郑州博赛生物试剂研究所提供,批号 941001。

1.2 仪器:722 型分光光度计由上海第三分析仪器厂生产,UV-265 型紫外分光光度计由日本岛津株式会社生产,MNW-1 型恒温镇痛测定仪由河南医科大学药理教研室研制,跳台条件反射箱按文献[2]自制。

1.3 动物:昆明种小鼠,体重 25~30g,雌雄各半,由河南医科大学实验动物中心提供。

2 实验方法

2.1 模型的制作^[3,4]与分组:实验用昆明种小鼠,雌雄各半,禁食 5h,尾静脉注射 0.6% ALL 溶液(60mg/kg)。2 周后小鼠禁食 5h(不禁水),尾尖取血,葡萄糖氧化酶法测定血糖值,将血清葡萄糖值高于 10.05mmol/L 的小鼠按血糖值平均分为模型对照组、降糖灵对照组、糖脉康高剂量组、中剂量组和低剂量组,另设正常对照组(尾静脉注射等容量生理盐水)。各组按不同浓度灌胃给药,每天 1 次,连续 3 周。

2.2 观测指标与方法:(1)血糖:各组动物分别在造模后 2 周(用药前)禁食不禁水 5h 后尾尖取血,用药后 7、21 天给药后 1h 断尾取血,按血糖试剂盒说明书测定血糖值。(2)痛阈:用药 18 天给药后 1h,热板法^[3]测雌性小鼠痛阈,室温 22±1℃,小鼠每次 1 只置于 55℃的热板上,至出现舔后足所需时间(秒)作为痛阈值。连续测定 3 次,取平均值作为痛反应时间。(3)学习记忆能力:用药 19 天给药后 1h,跳台法^[1]测定小鼠学习记忆能力,将小鼠放入跳台仪中的电栅上,3min 后,电栅通以 36V 的交流电,记录小鼠受电击至跳上跳台的潜伏期和 5min 内小鼠从跳台跳下受电击的次数;24h 后将小鼠放在跳台上,记录小鼠第 1 次从跳台跳下的潜伏期及 5min 内从跳台跳下的次数,以潜伏期除以错误次数作为学习记忆成绩并进行分级。(4)尾端坏疽:用药 20 天,记录各组小鼠体重及发生尾端坏疽的例数。

2.3 统计学方法:糖脉康对 ALL 糖尿病小鼠血糖值、痛觉及体重的影响以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较用 t 检验,尾端坏疽组间比较用 χ^2 检验,小鼠学习能力组间比较用等级秩和检验。

1 郑州大学第一附属医院,郑州市建设东路 1 号(450052)

2 河南省中医药研究院

3 郑州大学第三附属医院

收稿日期:2002-05-16;修回日期:2002-07-08

表 1 糖脉康对 ALL 糖尿病小鼠血糖值的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (1kg·d)	鼠数	给药前 (mmol/L)	给药后(mmol/L)	
				7 天	21 天
正常对照组	10ml	10	5.65±1.57	6.39±1.44	5.89±1.55
(增减值)				0.74±1.73	0.24±1.12
模型对照组	10ml	12	23.22±9.43	22.29±10.13	22.24±12.16
(增减值)				-0.93±2.33	-0.98±3.14
降糖灵组	0.1g	11	23.07±8.70	15.56±9.38	14.13±10.17*
(增减值)				-7.51±4.56△	-8.94±7.23△
糖脉康低剂量	2.0g	13	23.18±8.22	19.68±7.19	17.51±6.83
(增减值)				-3.61±4.04	-5.67±4.89△
糖脉康中剂量	3.0g	12	22.99±7.82	19.43±7.49	17.31±4.31*
(增减值)				-3.56±3.82	-5.68±5.58△
糖脉康高剂量	4.0g	12	23.15±7.89	18.93±7.86	16.88±6.26*
(增减值)				-4.22±3.60△	-6.27±5.71△

与本组给药前比较, * $P<0.05$; 与模型组比较, △ $P<0.05$, △△ $P<0.01$

表 2 糖脉康对 ALL 糖尿病小鼠尾端坏疽的影响

组别	剂量 (1kg·d)	鼠数	尾端坏疽(只)		发生率 (%)
			+	-	
正常对照组	10ml	10	0	10	0
模型对照组	10ml	12	10	2	83.33△
降糖灵组	0.1g	11	7	4	63.64△
糖脉康低剂量	2.0g	13	2	11	15.38△
糖脉康中剂量	3.0g	12	0	12	0*
糖脉康高剂量	4.0g	12	0	12	0*

与模型组比较, + $P<0.05$; 与正常组比较, △ $P<0.05$, △△ $P<0.01$; “+”: 尾端坏疽发生, “-”: 尾端坏疽未发生

表 3 糖脉康给药 18 天后对 ALL 糖尿病小鼠痛觉及体重的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (1kg·d)	鼠数	痛反应 时间(s)	体重增 值(g)
正常对照组	10ml	10	17.35±4.12	4.78±2.23
模型对照组	10ml	12	13.16±2.35△	2.09±2.12△
降糖灵组	0.1g	11	15.24±4.69	3.44±2.99
糖脉康低剂量	2.0g	13	16.88±2.23*	4.43±1.11**
糖脉康中剂量	3.0g	12	17.10±3.12*	4.46±2.23*
糖脉康高剂量	4.0g	12	17.23±2.86*	4.50±1.31**

与模型组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 与正常组比较, △ $P<0.01$; 痛阈测定选用雌性小鼠, 正常对照组 5 只, 其余组各 6 只

表 4 糖脉康对 ALL 糖尿病小鼠学习、记忆能力的影响

组别	剂量 (1kg·d)	鼠数	学习能力					记忆能力				
			0	1	II	III	IV	0	1	II	III	IV
正常对照组	15ml	10	5	3	2	0	0	8	1	0	1	0
模型对照组	15ml	12	0	8	1	1	0	2	2	1	2	1
降糖灵组	0.1g	11	5	0	2	1	0	3	7	1	0	0
糖脉康低剂量	2.0g	13	8	3	1	1	0	9	2	2	0	0
糖脉康中剂量	3.0g	12	6	6	0	0	0	10	1	1	0	0
糖脉康高剂量	4.0g	12	6	6	0	0	0	10	2	0	0	0

△与正常组比较, $P<0.05$; *与模型对照组比较, $P<0.05$

3 实验结果

3.1 对血糖值的影响: 表 1 示, 糖脉康及降糖灵均能显著降低 ALL 糖尿病小鼠的血糖值, 降糖灵及糖脉康中、高剂量给药 21 天后与给药前比较, 差异均有显著性($P<0.05$); 降糖灵组给药 7 天、21 天后血糖与模型组比较, 差异有显著性(P 均 <0.01), 糖脉康给药 7 天后仅高剂量组差异有显著性($P<0.05$), 给药 21 天后各剂量组与模型组比较, 差异均有显著性($P<0.05$)。

3.2 对尾端坏疽的影响: 表 2 示, 小鼠静脉注射 ALL 后, 模型对照组动物绝大部分断尾处出现干性坏疽, 并随着时间的延长而逐渐向上发展; 糖脉康高、中剂量组无一例发生尾端坏疽; 降糖灵虽能降低糖尿病小鼠尾端坏疽的发生率, 但无统计学意义。

3.3 糖脉康对痛阈和体重的影响: 表 3 示, 用 ALL 尾静脉注射造成小鼠糖尿病模型, 32 天后测小鼠痛阈及体重。结果表明, 模型对照组小鼠与正常对照组比较, 痛反应时间明显缩短, 体重增值显著减少(P 均 <0.01), 糖脉康高、低剂量能显著延长 ALL 糖尿病小鼠的痛反应时间, 提高痛阈, 增加小鼠体重($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 而降糖灵对糖尿病小鼠的痛觉及体重无明显影响。

3.4 糖脉康对 ALL 糖尿病小鼠学习、记忆能力的影响: 表 4 示, 小鼠学习记忆功能测定结果表明, 模型对照组小鼠学习记忆能力明显低于正常对照组, 糖脉康能明显改善 ALL 糖尿病小鼠的学习记忆能力, 而降糖灵对此无明显影响。

4 讨论

利用四氧嘧啶尾静脉注射, 选择性地破坏小鼠胰岛 β 细胞, 使胰岛素分泌减少而导致糖尿病, 此种动物模型是目前研究糖尿病的较为普遍的方法。主要优点有: (1) 实验性糖尿病近似人类糖尿病; (2) 胰岛外分泌部不受损伤; (3) 几乎所有常用实验动物都可用来进行研究; (4) 胰岛的 β 细胞不是功能消失, 而是功能不同程度的降低, 有利于研究胰岛组织再生和功能恢复; (5) 动物不必注射胰岛素即可存活很长时间。

糖尿病患者致残多见于下肢血管病变, 尤其是糖尿病足坏疽伴感染者, 主要由于下肢血管动脉粥样硬化, 内皮细胞损伤, 微血管的基底膜增厚, 血液中红细胞、血小板聚集和粘附功能增强, 血液粘度增加, 血管腔狭窄或阻塞, 造成末端缺血、缺氧和坏死。本实验发现, 糖尿病小鼠未出现临床上常见的肢体坏疽现象, 而出现尾端坏疽, 其原因可能有两个方面: (1) 正常情况下, 小鼠尾端与肢体相比, 微循环功能与血液供应较差, 因此, 在糖尿病病理情况下首先被累及; (2) 在测定

血糖时,采用尾端取血,人为地造成损伤,而糖尿病小鼠由于其微循环障碍而致组织缺氧,伤口不易愈合,且易发生感染而加重尾端坏疽的病变。糖脉康高、中、低剂量组糖尿病小鼠无一例发生尾端坏疽,降糖灵虽能降低糖尿病小鼠尾端坏疽的发生率,但无统计学意义,说明糖尿病小鼠尾端坏疽的发生与血糖水平无相关性,可能与糖脉康改善微循环、降低血液粘度等有关。这方面机理有待进一步深入研究。

糖尿病小鼠学习记忆能力明显低于正常小鼠,糖脉康能明显改善 ALL 糖尿病小鼠的学习记忆能力,而降糖灵则无明显影响。临床观察表明,糖尿病患者的全血粘度、血浆粘度及纤维蛋白原水平明显增高,血液流变性的改变可引起血管壁的损伤,并有助于糖尿病性微血管病变和动脉粥样硬化的发生,而神经系统的微血管病变、供血不足将导致学习记忆功能障碍。常用降糖药降糖灵虽能使血糖显著降低,但不能明显改善糖尿病小鼠的学习记忆功能障碍,提示糖脉康改善学习记忆功能障碍的作用机制是由于改善神经系统微循环状态,而与其降血糖作用无直接关系,其详细机理有待进一步研究探讨。

在学习记忆能力的统计学处理方面,本文没有采用常规的统计方法,即将潜伏期和错误次数的均数分别进行组间 t 检验,而是将两者综合处理进行学习记忆能力分级,用等级秩和检验。因用跳台法测学习记忆能力时,其潜伏期经常出现大于 5min 的现象。根据统计学,有小于或大于不定值的资料时,不宜用均数作 t

检验,而应改用其它统计方法,如等级秩和检验等。

临床观察表明,长期而未加控制的糖尿病患者多合并神经病变,出现肢端感觉异常、自发性疼痛及痛觉过敏等症状,可能与山梨醇/肌醇等代谢障碍、神经微血管病变及维生素缺乏有关。王静报道^[5]糖尿病大鼠在病程达 4 周时,痛阈约降至原来的一半左右,与下丘脑、垂体及胰腺等组织 β -内啡肽的含量下降相一致,并认为糖尿病大鼠痛阈降低可能是 β -内啡肽的镇痛能力减弱所致。关于糖尿病大鼠痛阈降低与脑组织中 β -内啡肽含量的关系,国外的研究结果亦不尽相同,因此,其痛阈降低的机制可能并非单一因素所致。本实验结果表明,四氧嘧啶糖尿病小鼠自造模 4 周后,痛阈明显低于正常对照组,与王静报道的结果基本一致;糖脉康能显著提高糖尿病小鼠的痛阈,而降糖灵对糖尿病小鼠的痛阈无明显影响,说明糖脉康提高痛阈的作用并非由于降低血糖所致,其机理有待进一步深入研究。

参考文献

- 1 陈灏珠主编. 内科学. 第 4 版. 北京:人民卫生出版社,1992:714.
- 2 张均田主编. 现代药理实验方法学. 北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社,1998:1020—1021.
- 3 徐叔云, 卞如濂, 陈修主编. 药理实验方法学. 第 2 版. 北京:人民卫生出版社,1982:508—509,987—989.
- 4 陈奇主编. 中药药理研究方法学. 北京:人民卫生出版社,1994:1085—1086.
- 5 王静. 糖尿病大鼠下丘脑、垂体及胰腺等组织 β -内啡肽含量与病程的关系. 中华内分泌代谢杂志,1991,7(3):156.

中医杂志医海林音像书店向您推荐以下医学光盘

新出版 VCD

小针刀(2盘)370 元
注射止痛法(2盘)350 元
脑卒中的外科治疗 38 元
骨折临床常用检查方法 38 元
老年糖尿病的防治 38 元
前列腺增生症的诊断和治疗 38 元
皮肤良性肿瘤的鉴别和治疗 38 元
急性缺血性脑梗死的诊断和治疗 38 元
急性胰腺炎的鉴别和治疗 38 元
急性白血病的分类诊断与治疗 38 元
再生障碍性贫血 38 元
心血管活动的神经体液调节 38 元
有机磷酯类中毒及解救 38 元
老年常见急症的诊治 38 元
脂肪肝的预防与治疗 38 元
肺结核的诊断和治疗 38 元
甲型肝炎的诊断和治疗 38 元
乙型肝炎的诊断和治疗 48 元
丙型肝炎的诊断和治疗 38 元
消化性溃疡 38 元
慢性肺源性心脏病 38 元
水、电解质代谢、酸碱平衡失调 38 元
心肌梗塞 38 元 外科感染 38 元
面部除皱术 38 元 腹壁整形 38 元
原发性高血压 38 元
慢性肾功能衰竭的诊断和治疗 38 元
原发性肾小球肾炎的诊断和治疗 38 元
糖尿病的诊断与治疗 38 元
急性心肌梗死的诊断和治疗 38 元
急性心力衰竭的诊断和治疗 38 元
慢性阻塞性肺病的诊断治疗 38 元

类风湿关节炎的诊断与治疗 48 元
外科手术基本技术 38 元
腰椎间盘突出症(西医为主)38 元
皮炎和湿疹的诊断与治疗 38 元
银屑病的诊断与治疗 38 元
淋病的诊断与治疗 38 元
病毒性皮肤病的诊断与治疗 38 元
真菌性皮肤病的诊断与治疗 38 元
生殖器疱疹的诊断与治疗 38 元
女性生殖道常见性病的诊治 38 元
白内障的诊断和治疗 38 元
全身骨格检查 38 元
神经系统阳性体征 38 元
痔 38 元 复苏术 38 元
心脏体格检查 38 元
常用专科护理技术 58 元
常用护理技术操作(2盘)100 元
人工流产 38 元 正常分娩 38 元
不孕症 38 元 异位妊娠 38 元
宫腔镜的临床应用 38 元
产褥感染 38 元 产褥出血 38 元
性病的防治 38 元
尖锐湿疣的诊断与治疗 38 元
妇产科超声诊断(上、下)76 元
小儿常见病的推拿治疗 38 元
小儿肥胖症 38 元 新生儿窒息 38 元
小儿精神神经发育过程 38 元
中医舌诊 48 元 拔罐法 38 元
常用穴位取穴法 38 元
经外奇穴的部位和临床应用 38 元
针灸方法 38 元 脑穴疗法 38 元
颈椎病的诊断与治疗 38 元

中风的康复治疗 38 元
耳针疗法 38 元
常见腰痛病推拿治疗 38 元
足部按摩 38 元 八纲辨证 38 元
推拿手法治疗颈椎病 48 元
肿瘤的鉴别与治疗 38 元
口腔检查与口腔卫生保健 38 元
新出版解剖学
运动系统解剖(骨、关节)48 元
运动系统解剖(肌肉)48 元
呼吸系统解剖 48 元
心血管系统解剖 38 元
感觉器解剖 38 元
淋巴系统解剖 38 元
神经系统解剖(中枢神经)38 元
神经系统解剖(脑神经)48 元
神经系统解剖(脊神经)38 元
诊断学
骨关节疾病的影像学诊断 38 元
肝、胆、胰病的影像学诊断 38 元
临床常用诊断技术(2盘)150 元
心电图向量与心电图 50 元
体检诊断学(2盘)100 元
舌下络脉诊法 50 元
体格检查手法操作规范 50 元
超声检查 50 元
心脏检查 35 元
腹部检查 30 元
肺部检查 30 元
肺功能检查 38 元
呼吸系统疾病的几种常用治疗方法 50 元

脊柱与四肢体格检查 38 元
皮肤病诊断 38 元
眼科检查法 38 元
新出版护理学基础操作
出入院护理、生命体征观察 38 元
搬运法、舒适与安全 38 元
无菌技术、隔离技术 38 元
口腔卫生、头发护理 38 元
皮肤护理 38 元
晨间护理、晚间护理 38 元
鼻饲法、洗胃法 38 元
灌肠术、导尿管 38 元
口服给药法、吸入法 38 元
注射法、静脉输液和输血 38 元
中国肛肠病学
总论 50 元 痔 50 元 肛瘘 50 元
肛周脓肿 50 元 肛裂 50 元
中国基础、针灸、按摩
阴阳 50 元 五行 50 元 六淫 50 元
七情 50 元 藏象 50 元
金匱要略 50 元
脉诊 50 元 舌诊 50 元
舌体内脏部位的九区分法 50 元
舌下络脉诊法 50 元
中医四诊 35 元
邱茂良授针手法 50 元
耳穴的取法 50 元
小儿指纹诊法 50 元
针灸推拿应用精选 45 元
实用针灸 45 元
针挑疗法 50 元
中国髋膝针疗法 35 元

针刺治疗腰痛 50 元
针刺治疗颈肩肘腕痛 50 元
针刺透刺治疗腱鞘炎 50 元
耳穴的激光疗法 50 元
臂脉铺灸 50 元 头针 50 元
经络灸法 50 元
实用电针疗法(3盘)150 元
中国针灸实用疗法(2盘)100 元
实用推拿手法 50 元
常见肩部伤筋的推拿治疗 38 元
腰椎间盘突出症归位操(2盘)90 元
腰椎间盘突出症的治疗 50 元
杨天鹏理筋手法 50 元
河南正骨 50 元 学按摩(2盘)80 元
腰椎小关节紊乱腰椎间盘突出 40 元
漏肩风的防治 50 元
中医护理保健按摩 50 元
阳痿早泄的治疗 50 元
急性腰扭伤 50 元

以上音像制品全部免邮资,详细目录,函索即寄。

欲购者汇款地址:北京东直门内南小街 16 号中医杂志社,收款人:北京医海林音像书店,邮编:100700。

本店地址:北京东直门内南小街 16 号,中国中医研究院基础所楼 5 层 517 房间(星期六、日休息)。联系人:曹阿京。电话:(010)64014411 转 3038。64035632。传 真:(010)86472013

E-mail:jtcn@public3.bta.net.cn (广告编号:20021217)