

不同阶段糖尿病大鼠胃肠激素变化及凉润通络方的干预作用

李佃贵 戎士玲 王凤丽 张永健

(河北医科大学中医院内分泌科, 河北省石家庄市中山路389号, 050011)

[摘要] **目的** 探讨凉润通络方对糖尿病大鼠胃肠运动功能改善的机制。**方法** 雄性 Wistar 大鼠随机共分为凉润通络组、西沙必利组、模型组、正常组, 每组又分3个治疗阶段, 即预防阶段、早期治疗阶段、治疗阶段。采用链脲佐菌素(STZ)注射制作糖尿病大鼠模型, 造模成功后, 不予降糖药控制血糖, 分别饲养6周、12周和18周后, 各组再给予灌胃治疗。灌胃6周后检测血浆中的胃动素(MOT)、胆囊收缩素(CCK)、生长抑素(SS)、血糖、体重。**结果** 糖尿病模型组大鼠不同阶段血浆中的 MOT 和 CCK 含量随着时间的延长均逐渐升高, SS 血浆含量和体重则逐渐降低。与模型组比较, 凉润通络方组在3个阶段对 MOT、CCK、SS 及体重均有明显改善($P < 0.05$), 而西沙必利组对 SS 及后两个阶段的体重无明显改善($P > 0.05$)。两组各阶段对血糖均无明显影响($P > 0.05$)。**结论** 凉润通络方在改善糖尿病大鼠胃肠功能障碍方面具有优势。

[关键词] 凉润通络方; 糖尿病胃肠功能障碍; 胃动素; 胆囊收缩素; 生长抑素

Changes of Gastrointestinal Hormone in Different Stages of Diabetes of Rats and Intervention of Liangrun Tongluo Recipe

LI Diangui, RONG Shiling, WANG Fengli, et al.

(Chinese Medicine Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011)

ABSTRACT **Objective** To study the mechanism of Liangrun Tongluo Recipe (Recipe of cool and moistening herbs for removing obstruction of meridians and collaterals) in improving gastrointestinal function of diabetic rats. **Methods** Male Wistar rats were randomly divided into four groups: Liangrun Tongluo Recipe group, cisapride group, model group and normal group. Every group had three treatment stages: prevention stage, early treatment stage and treatment stage. The diabetic rat models were made by streptozotocin (STZ) injection. The models were fed for 6 weeks, 12 weeks and 18 weeks respectively, and then they were given gavage treatment. After gavage for 6 weeks, plasma motilin (MOT), cholecystikinin (CCK), somatostatin (SS), blood glucose and body weight were tested. **Results** The content of plasma MOT and CCK of the model group increased gradually, while body weight and the contents of SS decreased gradually. In Liangrun Tongluo Recipe group, MOT, CCK, SS and body weight in the three stage were all improved significantly ($P < 0.05$) as compared with those in the model group, while in cisapride group, SS and body weight in 12 and 18 weeks were not improved significantly ($P > 0.05$). Blood glucose of both groups in 6 weeks, 12 weeks, and 18 weeks was not affected significantly ($P > 0.05$). **Conclusion** Liangrun Tongluo Recipe has the superiority in improving the disturbance of the gastrointestinal function of diabetic rats.

Key Words Liangrun Tongluo Fang (Recipe of cool and moistening herbs for removing obstruction of meridians and collaterals); Diabetic gastrointestinal dysfunction; Motilin (MOT); Cholecystikinin (CCK); Somatostatin (SS)

糖尿病胃肠功能障碍的发病与胃肠激素紊乱密切相关, 糖尿病时的状态对胃肠道的内分泌系统有显著影响。胃动素(MOT)促进餐前胃排空, 由胃肠道M细胞分泌; 胆囊收缩素(CCK)可抑制餐后胃排空, 由胃肠道I细胞分泌; 生长抑素(SS)对胃肠蠕动起抑制作用, 由胃肠道D细胞分泌。但作为对胃肠运动起主要作用的 MOT、CCK、SS 在糖尿病胃肠发病中的相关性少见报道。中医药能够影响胃肠激素的分泌和释放, 进而调节胃肠功能乃至全身的机能状态, 并且可能通过这种机制达到治疗目的。本实验的目的在于观察 MOT、CCK、SS 三者 in 糖尿病胃肠功能障碍发病中的变化和

相互关系, 并探讨凉润通络方对糖尿病大鼠胃肠运动功能的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 清洁级雄性 Wistar 大鼠201只, 体重180~220g, 由河北医科大学实验动物中心提供, 实验动物批准号: DK0505-0158。

1.1.2 试剂 MOT 放射免疫试剂盒由解放军总医院东雅免疫研究所提供; CCK 放射免疫试剂盒由上海第二军医大学神经生物教研室提供; SS 放射免疫试剂盒由北京海科锐生物技术公司提供; 链脲佐菌素(STZ)为美国 Sigma 公司产品。血糖仪和试纸为 Surestepplus 产品。

1.1.3 药物 凉润通络方组成: 生地黄20g, 百合10g,

白芍10g,木瓜10g,生石膏20g,川芎10g,蒲黄10g,五灵脂10g,延胡索10g,瓜蒌12g,女贞子20g,墨旱莲20g,枳实10g等,以上药物购自河北省中医院中药房。药液制备按常规煎煮取渣,蒸馏浓缩,水煎剂含生药浓度为3.5g/ml,大鼠灌胃35g/kg,每日1次。西沙必利由浙江新制药有限公司生产,5mg/片,制成0.2mg/ml的水溶液,大鼠灌胃1mg/kg,每日1次。

1.2 方法

1.2.1 动物分组 大鼠普通饲料适应性喂养1周,采用单纯随机方法分为4组:凉润通络组、西沙必利组、模型组、正常组,每组又分3个治疗阶段:预防阶段、早期治疗阶段、治疗阶段。正常组大鼠共45只,其余3组每组各52只,其中预防阶段和早期治疗阶段各有60只,治疗阶段有81只。凉润通络组、西沙必利组和模型组的治疗阶段均22只,各组的其它各阶段均15只。

1.2.2 糖尿病模型制备及处理 造模前禁食12h,然后腹腔一次性注射以0.1mmol/L 枸橼酸缓冲液新鲜配制的链脲佐菌素55mg/kg,72h后测晨血糖,非禁食状态下,血糖>14mmol/L,尿糖在(+++)以上,并出现进食、饮水量增加及体重下降症状,视为糖尿病模型成功^[1]。共造模成功137只,成模率87.8%。模型组3个阶段分别为14只、12只及20只;西沙比利组分别为13只、14只及19只;凉润通络组分别为12只、15只及18只。模型成功后,不予降糖药控制血糖,每周监测血糖和体重1次,灌胃前和取标本前再次测定血糖和体重,若血糖值降低至<14mmol/L,则剔除该标本。正常组大鼠给予柠檬酸缓冲液(0.7ml/只)腹腔注射。动物均以复合饲料喂养,自由进食、饮水。分别饲养6周(预防阶段)、12周(早期治疗阶段)和18周(治疗阶段)后,各组再给予灌胃治疗。凉润通络组:给予凉润通络方1ml/100g,每日1次。西沙比利组:将西沙比利1mg/kg溶于

2ml温开水中,每日1次。正常组与模型组均每日灌服温水,每只2ml,每日1次。灌胃6周后,观察各项检测指标。

1.2.3 血浆MOT、CCK、SS含量测定 灌胃6周后,各组大鼠禁食24h,股动脉取血6ml置于30μ 10% EDTA二钠和30μ 抑肽酶塑料管中混匀,4℃离心,置-20℃冰箱保存。血浆MOT、CCK、SS含量采用放射免疫法测定,具体测定方法严格按照试剂盒说明书进行。

1.3 统计学方法

全部数据采用SPSS 11.5统计软件处理,以平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。各组均数的比较采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 一般状况观察

实验期间正常组大鼠体重增加明显,毛色光泽,精神状况良好,动作自如,反应灵敏;糖尿病各组大鼠1周内出现多尿、多饮、多食症状,毛发干枯,色泽黯淡,反应迟钝,活动减少,逐渐消瘦。6周后饮食渐少,12周时以上情况更加明显,个别大鼠出现肢体、尾部感染溃烂、白内障等合并症。实验期间模型组大鼠死亡14只,其中预防阶段4只、早期治疗阶段2只、治疗阶段8只;西沙必利组大鼠死亡12只,其中预防阶段3只、早期治疗阶段2只、治疗阶段7只;凉润通络组大鼠死亡11只,预防阶段2只、早期治疗阶段3只、治疗阶段6只。死亡原因为灌胃、感染、互相撕咬。正常组共45只,无死亡。由于采血量时出现溶血现象,最后受检大鼠数为正常组30只,模型组32只,西沙必利组34只,凉润通络组34只。

2.2 各组大鼠不同治疗阶段治疗前后血糖和体重测定结果

表1示,血糖变化:与正常组治疗前同时间比较,

表1 各组大鼠不同治疗阶段血糖和体重变化比较($\bar{x} \pm s$)

组别	治疗阶段	鼠数	治疗前		治疗后	
			血糖(mmol/L)	体重(g)	血糖(mmol/L)	体重(g)
正常组	12周预防	10	6.64±0.59	236.2±16.7	6.43±0.72	290.7±19.0
	18周早期治疗	10	6.52±0.43	284.6±17.6	6.39±0.63	359.6±25.3
	24周治疗	10	6.42±0.71	368.6±31.3	6.35±0.59	421.0±36.5
模型组	12周预防	10	23.19±3.95 [#]	188.9±7.7 [#]	24.01±3.36 [#]	176.2±8.0 [#]
	18周早期治疗	10	22.76±4.20 [#]	179.5±8.3 [#]	24.53±3.75 [#]	166.7±8.5 [#]
	24周治疗	12	24.53±3.85 [#]	170.1±8.6 [#]	24.64±3.61 [#]	158.9±8.4 [#]
西沙比利组	12周预防	10	24.18±3.24 [#]	187.5±6.8 [#]	23.80±2.97 [#]	185.5±11.1 ^{#▲}
	18周早期治疗	12	23.43±3.51 [#]	176.7±8.1 [#]	23.66±3.83 [#]	171.7±7.3 [#]
	24周治疗	12	23.81±2.87 [#]	167.7±7.3 [#]	24.13±3.96 [#]	168.1±7.4 [#]
凉润通络组	12周预防	10	22.87±4.21 [#]	186.8±7.1 [#]	23.75±3.21 [#]	185.4±10.7 ^{#▲}
	18周早期治疗	12	24.05±2.64 [#]	178.1±7.6 [#]	23.81±3.90 [#]	182.5±6.9 ^{#▲▼}
	24周治疗	12	24.12±3.40 [#]	172.5±6.9 [#]	24.03±3.49 [#]	186.6±6.1 ^{#▲▼}

注:与正常组同时间比较, [#] $P < 0.01$;与模型组同时间比较, [▲] $P < 0.05$;与西沙比利组同时间比较, [▼] $P < 0.05$ 。

表2 各组大鼠不同治疗阶段血浆 MOT、CCK、SS 变化比较(pg/ml, $\bar{x} \pm s$)

组别	治疗阶段	鼠数	MOT	CCK	SS
正常组	12周预防	10	26.85±3.03	3.07±0.23	29.57±2.38
	18周早期治疗	10	27.02±2.56	3.03±0.41	29.02±5.14
	24周治疗	10	27.48±3.88	3.10±0.51	30.24±5.17
模型组	12周预防	10	59.25±6.31 [#]	5.41±0.29 [#]	13.43±2.15 [#]
	18周早期治疗	10	62.30±5.66 [#]	5.45±0.36 [#]	12.91±2.82 [#]
	24周治疗	12	66.43±5.72 [#]	6.58±0.38 [#]	11.37±1.71 [#]
西沙必利组	12周预防	10	38.55±5.15 ^{#▲}	4.64±0.56 ^{#▲}	14.09±1.89 [#]
	18周早期治疗	12	59.04±6.93 [#]	4.96±0.68 [#]	13.10±2.74 [#]
	24周治疗	12	62.19±7.68 [#]	5.94±1.08 [#]	12.64±2.22 [#]
凉润通络组	12周预防	10	35.56±4.57 ^{#▲}	3.82±0.49 ^{#▲}	20.06±2.23 ^{#▲}
	18周早期治疗	12	45.90±2.86 ^{#▲▼}	4.40±0.23 ^{#▲▼}	18.30±2.64 ^{#▲}
	24周治疗	12	50.79±2.75 ^{#▲▼}	4.98±0.38 ^{#▲▼}	17.90±2.31 ^{#▲}

注:与正常组治疗后同时间比较, [#] $P<0.05$;与模型组治疗后同时间比较, [▲] $P<0.05$;与西沙必利组同时间比较, [▼] $P<0.05$

其他各组明显升高($P<0.01$)。体重变化:与正常组同时间比较,其他各组明显下降($P<0.01$);与模型组治疗后同时间比较,西沙必利组和凉润通络组预防阶段均明显增加($P<0.05$),但两个治疗组预防阶段比较差异无统计学意义($P>0.05$);与模型组及西沙必利组比较,凉润通络组早期治疗和治疗阶段均明显增加($P<0.05$),但模型组与西沙必利组之间比较早期治疗和治疗阶段差异均无统计学意义($P>0.05$)。

2.3 各组大鼠不同治疗阶段血浆 MOT、CCK、SS 含量变化比较

表2示,血浆 MOT 变化:与正常组比较,其他各组明显升高($P<0.05$);与模型组比较,凉润通络组各治疗阶段均明显下降($P<0.05$),西沙必利组预防阶段明显下降($P<0.05$),但西沙必利组早期治疗和治疗阶段差异均无统计学意义($P>0.05$);凉润通络组与西沙必利组之间比较,各治疗阶段差异均有统计学意义($P<0.05$)。

血浆 CCK 变化:与正常组比较,其他各组明显升高($P<0.05$);与模型组比较,凉润通络组各治疗阶段均明显下降($P<0.05$),西沙必利组预防阶段明显下降($P<0.05$),但西沙必利组早期治疗和治疗阶段差异均无统计学意义($P>0.05$);凉润通络组与西沙必利组比较各治疗阶段差异均有统计学意义($P<0.05$)。

血浆 SS 变化:与正常组比较,其他各组明显下降($P<0.05$);与模型组比较,凉润通络组各治疗阶段均明显升高($P<0.05$),西沙必利组各治疗阶段差异均无统计学意义($P>0.05$);凉润通络组与西沙必利组比较各治疗阶段差异均无统计学意义($P>0.05$)。

3 讨论

胃肠道是人体最大的内分泌器官,20多种不同的

神经内分泌细胞分泌80多种多肽,其中多种激素可影响胃肠道动力,尤其是对胃排空。MOT 主要存在于十二指肠和空肠黏膜的 M₀ 内分泌细胞,空腹状态下呈周期性释放。MOT 的生理作用是引发消化间期胃肠移动性复合肌电活动(MMC)Ⅲ期^[2],从而起肠道清道夫的作用,以有效清除胃肠道内食糜、残渣以及不能消化的固形成分。近年来发现,MOT 的升高与糖尿病所致的胃肠动力学改变相关^[3]。CCK 对消化系统和神经系统功能起重要调节作用,可通过激活抑制性迷走—迷走反射途径,导致胃体部松弛,抑制固体和液体胃排空。还有研究提示,糖尿病患者空腹和餐后血浆 CCK 含量均显著降低^[4]。SS 广泛分布于中枢神经系统和胃肠组织,由 D 细胞分泌,主要生理作用是抑制胃肠运动和各種胃肠激素的释放。胃肠组织中 SS 含量越高,其对胃肠运动抑制程度越高;相反胃肠组织中 SS 含量越低,则胃肠受抑程度就越低^[5]。

研究结果显示,糖尿病大鼠血浆中的 MOT 和 CCK 含量随着时间的延长均逐渐升高,SS 血浆含量则逐渐降低。糖尿病大鼠血浆 MOT 逐渐升高的原因,考虑糖尿病状态时血糖升高,可能减少胃肠激素分泌的抑制,而使 MOT 升高;其次,可能因为胃排空延迟所致的胃潴留,胃壁持续扩张和松弛,使 MOT 释放增加,血浆 MOT 代偿性升高^[6]。SS 在血浆中含量下降,对胃肠激素释放的抑制减弱,这与 CCK 含量增高相符。CCK 在血浆中含量逐渐升高,抑制胃肠运动作用加强,故胃排空障碍逐渐加重。从以上变化可以看出,虽然促进胃排空的 MOT 分泌增多,但仍然出现了胃排空延迟和小肠传输功能障碍,考虑可能是由于糖尿病植物神经病变,使得 MOT 通过胆碱能神经引发胃肠运动受阻,或者糖尿病时的 MOT 活性可能下降,降低了对胃肠平滑肌的直接作用,还或可能存在 MOT

抵抗^[7]。促进胃肠运动的 MOT 和抑制胃肠运动 CCK、SS 分泌和功能紊乱,导致了抑制胃肠运动的功能占主导地位,出现了糖尿病胃排空和小肠传输功能的障碍。因此, MOT、CCK 和 SS 三者分泌和功能异常与糖尿病胃肠功能障碍密切相关。

糖尿病属中医学“消渴”范畴,阴虚燥热血瘀是消渴的主要病理基础,贯穿本病的始终。糖尿病胃肠功能障碍根据其临床表现属于“胃胀”、“痞满”、“呕吐”范畴,其病机亦不外乎病程日久,阴虚燥热血瘀更甚,阴津亏虚,不能输精于五脏六腑,滋润皮、肉、筋、骨、脉,致使胃肠肌肉失养而变薄,影响其受纳、推动、腐熟之功,出现早饱、纳差、腹胀、恶心、呕吐等症状。即阴亏燥热血瘀是本病的主要病机,故我们提出了凉润通络法,润而不滋腻,凉而不伤阴,通络而不破血。方中选用生地黄、百合甘寒生津,伍白芍、木瓜酸甘化阴,合用则补益阴血,滋润胃体;生石膏为外感热入阳明胃经之药,清透肺胃,疗效颇佳;白芍与川芎相配,辛柔和血,通行脉络;蒲黄、五灵脂合用,《名医方论》谓其有“推陈致新”之功。此类药物持续服用,可使瘀血暗消于无形,而无破血伤正之弊;延胡索为气中血药,使气运血行;瓜蒌、枳实开痞散结、通降胃气;《冯氏锦囊秘录》有“滋水者滋土”之谈,故方中重用二至丸。诸药合用,凉润通络,胃热得清,胃燥得润,胃络得通,胃体得养,使得胃肠受纳、腐熟、推动、消化功能恢复。前期临床观察证实,凉润通络方能够调节糖尿病胃轻瘫患者的胃泌素水平,改善胃电参数和节律,促进胃排空^[8]。灌服凉润通络方后,凉润通络组能够改善糖尿病大鼠的胃肠功能,阻止体重的下降,凉润通络组大鼠血浆中 MOT、CCK 含量明显下降,血浆 SS 含量增加。而西沙必利组仅见12周时血浆中 MOT、CCK 含量下降。凉润通络方治疗前后血糖无明显差异,说明其改善糖尿病胃肠功能障碍的机制并非来自药物的降糖作用。凉润通络方为复方制剂,同步影响血液、胃窦、十二指肠中多种胃

肠激素的分泌和释放,作用靶点较宽,这也是中药优于西药之处。对于不同阶段的糖尿病大鼠,凉润通络方的治疗效果也不同。预防阶段和早期治疗阶段治疗效果显著,各项指标有所恢复,24周时治疗效果欠佳,各项指标恢复差。提示早期应用中药治疗可改善糖尿病胃肠功能,减轻胃肠功能的紊乱。通过影响胃肠激素来调节胃肠机能,是其改善糖尿病胃肠功能障碍的主要机理之一,其具体机制有待进一步研究。

参考文献

- [1]汪谦. 现代医学实验方法[M]. 北京:人民卫生出版社, 1997:926-928.
- [2]Konturek JW, Thor P, Maczka M, et al. Role of cholecystokinin in the control of gastric emptying and secretory response to a fatty meal in normal subjects and duodenal ulcer patients[J]. Scand J Gastroenterol, 1994, 29(7):583-590.
- [3]Liddle RA, Gertz BJ, Kanayama S, et al. Effects of a novel cholecystokinin(CCK) receptor antagonist, MK-329, on gallbladder contraction and gastric emptying in humans. Implications for the physiology of CCK[J]. J Clin Invest, 1989, 84(4):1220-1225.
- [4]Bucceri AM, Calogero AE, Brogna A. Gallbladder and gastric emptying: relationship to cholecystokininemia in diabetics [J]. Eur J Intern Med, 2002, 13(2):123-128.
- [5]谭余庆,霍海如,周爱香,等. 桂枝汤对胃肠运动双向调节作用的实验研究Ⅳ. 对生长抑素含量的影响[J]. 中药药理与临床, 1998, 14(3):1-3.
- [6]罗金艳. 胃排空功能的研究[J]. 中华内科杂志, 1991, 30(6):340-342.
- [7]Frazee LA, Mauro LS. Erythromycin in the treatment of diabetic gastroparesis[J]. Am J Ther, 1994, 1(4):287-295.
- [8]戎士玲,李佃贵,范红梅,等. 凉润通络中药对糖尿病胃轻瘫患者血清胃泌素及体表胃电图的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2004, 24(11):976-978.

(收稿日期:2008-08-28;修回日期:2008-11-25)

[编辑:叶晨]

(上接第821页)

热、汗出,故请主任医师指导治疗。

主任医师:该患者肝癌未见转移,因此肿瘤致热可能性不大。应为出血引起的体温调节中枢紊乱所致的高热。甘温除热原则正确。中医认为,“气为血之帅,血为气之母”;“有形之血不可速生,无形之气所当急固”。大热为失血所致,大汗、心悸而烦为血脱而生,故急当益气固脱。方用独参汤以济其急。处方:高丽参45g,浓煎,频灌服。

3 后记

按主任医师意见服独参汤1个小时后,热渐退,汗止,连服3日病危解除,停用独参汤。停药后继有38℃以下低热,主任医师考虑患者舌红苔少,又值三伏酷暑,以王孟英清暑益气汤为法,处方:西洋参18g,麦冬15g,五味子6g,丝瓜络10g,荷叶1张,西瓜翠衣60g,煎药代茶饮,1周后热退净,血糖恢复正常而出院。

(收稿日期:2008-11-06)

[编辑:洪涛]