

天降血栓通丸对 2 型糖尿病大鼠血糖、大血管病变的影响

徐彩凤, 马国海

(天津市北辰区中医医院, 天津, 300400)

[摘要] 目的: 研究天降血栓通丸对 2 型糖尿病大鼠血糖、大血管病变的影响。方法: 将 90 只 wistar 大鼠随机分为正常组 15 只与造模组 75 只, 通过高糖高脂饲料 + 链脲佐菌素诱导建立糖尿病大鼠模型, 造模成功后将其随机分为模型组、天降血栓通丸早期干预组、中期干预组、晚期干预组(简称为早期组、中期组、晚期组), 盐酸吡格列酮组(西药组), 每组各 15 只, 分别采用相应药物干预。观察大鼠一般情况, 检测空腹血糖、胰岛素、胰岛素敏感指数、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)水平。结果: 造模组与空白组比较, 胰岛素、胰岛素敏感指标、体质量、第 13 周空腹血糖差异均有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。药物干预后空腹血糖水平 ICAM-1 模型组、各治疗组与空白组比较, 各治疗组与模型组比较, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论: 天降血栓通丸无降糖作用, 其早期干预能有效降低 ICAM-1, 这可能是其对 2 型糖尿病大鼠大血管病变影响的机制之一。

[关键词] 2 型糖尿病大鼠; 血糖; 大血管病变; 天降血栓通丸

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **DOI:** 10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2019.02.061

Clinical effect of Tianjiang Xueshuantong pills on blood glucose and macrovascular complications in rats with type 2 diabetes

XU Caifeng, MA Guohai

(Beichen Hospital of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300400, China)

[Abstract] Objective: To investigate the clinical effect of Tianjiang Xueshuantong pills on blood glucose and macrovascular complications in rats with type 2 diabetes. Methods: A total of 90 Wistar rats were randomly divided into normal group with 15 rats and model group with 75 rats. High-sugar and high-fat feed and streptozotocin were used to establish a rat model of diabetes, and after the model was successfully established, the rats were divided into model group, early-, middle-, and late-stage Tianjiang Xueshuantong pill intervention groups (early-, middle-, and late-stage intervention groups, respectively), and pioglitazone hydrochloride group (Western medicine

基金项目: 天津市北辰区科技发展计划项目(编号: 2015-SHGY-13)

第一作者: 徐彩凤, 女, 医学硕士, 主治医师, 研究方向: 中西医结合诊治糖尿病及其并发症

通讯作者: 马国海, 男, 主任医师, 研究方向: 中西医结合糖尿病及并发症的研究, E-mail: bczyyjk@126.com

参考文献

- [1] 中华医学会呼吸病学分会哮喘组. 咳嗽的诊断与治疗指南(2009 版)[S]. 中华结核和呼吸杂志, 2009, 32(6): 407-413.
- [2] 中华医学会. 临床诊疗指南: 呼吸病学分册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2009.
- [3] 李庆云, 黄绍光, 吴华成, 等. 烟雾致大鼠慢性支气管炎系列模型的建立及病理变化半定量评价[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2002, 1(3): 163-166.
- [4] 闵锐. 疏风宣肺汤治疗单纯型慢性支气管炎迁延期风邪伏肺证的临床观察[D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2017.
- [5] 梅全喜. 现代中药药理[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2016: 43-72.
- [6] 范伏元, 罗姣利. 自拟疏风宣肺汤治疗慢性咳嗽 300 例临床观察[J]. 中医药导报, 2006, 12(2): 33-34, 43.
- [7] 罗姣利. 疏风宣肺汤治疗慢性咳嗽的临床观察及对小鼠镇咳作用的实验研究[D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2007.
- [8] Michael JR, Markewitz BA. Endothelins and the lung[J]. Am J Respir Crit Care Med, 1996(154): 556-581.
- [9] Koh Ono, Jiahui Han. The p38 signal transduction pathway Activation and function[J]. Cellular Signalling, 2000, 12(1): 1-13.
- [10] 王毅鑫, 苏文利, 朱文献, 等. 创伤患者 p38 MAPK 信号通路的变化及其临床意义[J]. 中国急救医学, 2008, 28(3): 201-204.
- [11] Ouwens DM, Ruiter ND, vander Zon G, et al. Growth factors can activate ATF2 via a two-step mechanism: phosphorylation of Thr71 through the Ras-MEK-ERK pathway and of Thr69 through Ral-GDS-Src-p38[J]. EMBO J, 2002(21): 3782-3793.
- [12] 黄翠萍, 张珍祥, 徐永健. p38 蛋白激酶对大鼠肺泡巨噬细胞活化机制的调控[J]. 中国病理生理杂志, 2003, 19(5): 661-663.

(收稿日期: 2018-07-28)

group), with 15 rats in each group. The rats were treated with corresponding drugs. General status of the rats was observed, and fasting blood glucose (FBG), insulin, insulin sensitivity index (ISI), and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) were measured. Results: There were significant differences between the model group and the normal group in insulin, ISI, body weight, and FBG at week 13 ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). After drug intervention, there were significant differences in FBG and ICAM-1 between the model group/treatment groups and the normal group, as well as between the treatment groups and the model group ($P < 0.05$). Conclusion: Tianjiang Xueshuan-tong pills do not have a hypoglycemic effect, and its early intervention can effectively reduce ICAM-1, which might be one of the mechanisms of action of Tianjiang Xueshuan-tong pills in the treatment of macrovascular complications in rats with type 2 diabetes.

[Key words] rat with type 2 diabetes; blood glucose; macrovascular complication; Tianjiang Xueshuan-tong pill

糖尿病大血管病变是糖尿病常见并发症,是致残、致死的主要因素之一。糖尿病大血管病变主要病理表现为动脉粥样硬化(AS),而慢性炎症反应是 AS 发病的主要机制之一。炎症早期的特征是细胞因子的释放,其会增加血管内皮细胞活化标志物(ICAM-1)的表达^[1]。本文观察天降血栓通丸对糖尿病大鼠血糖、大血管病变的作用,并从影响细胞间黏附分子(ICAM-1)表达的角度探讨其可能的作用机制。

1 实验材料

1.1 动物 90 只 wistar 大鼠,体质量 100~120g,由中国人民解放军军区总医院动物实验中心提供,生产许可证号:SCXK(军 2012-0001),适应性喂养 1 周。

1.2 药物及试剂 盐酸吡格列酮片,天津武田药品有限公司,批准文号:国药准字 1-20040631,规格:15mg/片;天降血栓通丸,由天津市北辰区中医医院提供,批准文号:津药制字(临)z20100938,由人参 100g、蝮蛇 400g、地龙 100g、黄芪 140g、川芎 100g、丹参 140g、赤芍 80g、山楂 200g、水蛭 40g、安息香 20g、葛根 80g、降香 20g、天麻 80g 等组成,制成蜜丸,3g/丸;链脲佐菌素(STZ),购自美国 sigma 公司;ICAM-1(BA2189),购自武汉博士德公司;胰岛素放免测定试剂盒,购自天津九鼎医学生物工程有限公司。

1.3 主要仪器 拜安捷血糖仪及血糖试纸条:拜耳公司;电子秤体重计:河南省恒星电子仪器厂;显微镜:日本奥林巴斯,全自动图像分析仪显微摄影系统、美国 palaroid DMC 数码相机;同济千屏影像工程公司型图像分析软件;德国 Leica 切片机。

2 实验方法

2.1 动物分组、造模及给药 90 只大鼠,随机抽取 15 只为空白组,造模组 75 只。空白组予标准饲料喂养,造模组予高脂高糖饲料(高脂高糖饲料配方:胆固醇 2.5%,蔗糖 20.0%,猪胆酸盐 0.5%,猪油 10.0%,基础饲料 67%)。喂养 8 周后测空腹血糖(FBG)和胰岛素,判断是否出现胰岛素抵抗。造模组随机抽取 15 只作为天降血栓通丸早期干预组(简称早期组),按照人鼠等效剂量予天降血栓通丸干预,以

浓缩为含生药 2.25g/ml 的药液按 22.5g/(kg·d)(相当于临床用量 6.3 倍)的生药量灌胃 4 周,所有动物饲养方法不变,12 周后开始造模,由尾静脉注射 STZ 30mg/kg 1 次。3d 后测随机血糖(尾静脉采血),随机血糖高于 16.7mmol/L,同时出现体质量下降、多食、多饮、多尿则视为糖尿病大鼠造模成功。造模成功后,随机抽取 15 只为模型 2 组,15 只为中药中期干预组(简称中期组),15 只为西药组,根据临床人体剂量的 6.3 倍计算,予剂量为 0.36mg/(kg·d)的盐酸吡格列酮灌胃;中药晚期干预组(简称晚期组)15 只于造模成功后 4 周给药,给药组均灌胃至 24 周。

2.2 指标采集与检测 采用葡萄糖氧化酶法测定血糖,免疫组化法测定 ICAM-1 的表达。免疫组化法步骤:蜡块标本置于载玻片上并烘干,脱蜡后修复,1h 后用 PBS 液冲洗 2min,孵育后 DAB 显色,苏木精复染 1min 后脱水,封片显微镜下观察。

2.3 统计学方法 所有数据用 SPSS 18.0 软件包进行统计学处理。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间均数比较采用方差分析,2 组间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 实验结果

3.1 一般情况 正常组大鼠灵敏、活泼,皮肤有弹性,毛发光亮柔顺;模型组大鼠精神萎靡,倦怠懒惰,反应迟钝,皮肤松弛,毛发无光泽,并出现多饮、多尿、多食等表现;其他组一般状况较模型组好转。其中造模组 1 只造模不成功。

3.2 各组大鼠第 8 周空腹血糖、胰岛素、胰岛素敏感指数水平比较 第 8 周时造模组的胰岛素水平、胰岛素敏感指数水平与空白组比较,差异均有统计学意义。(见表 1)

表 1 各组大鼠第 8 周空腹血糖、胰岛素、 胰岛素敏感指数水平比较($\bar{x} \pm s$)				
组别	只数	空腹血糖 (mmol/L)	胰岛素 (mIU/L)	胰岛素敏感指数 (ISI)
空白组	15	4.2 ± 1.5	20.8 ± 7.5	-(4.4 ± 0.4)
造模组	75	4.4 ± 1.3	48.1 ± 15.7 ^a	-(5.4 ± 0.3) ^b

注:与空白组比较,^a $P < 0.01$,^b $P < 0.05$ 。

3.3 各组大鼠第 12 周体质量比较 第 12 周时,造模组的体质量与空白组比较,差异有统计学意义。(见表 2)

表 2 各组大鼠第 12 周体质量比较($\bar{x} \pm s, g$)

组别	只数	初始	12 周
空白组	15	100.0 $\pm$ 5.0	390.0 $\pm$ 3.7
造模组	74	103.0 $\pm$ 5.0	435.0 $\pm$ 4.8 ^a

注:与空白组比较,^a $P < 0.05$ 。

3.4 各组大鼠不同时间空腹血糖比较 第 13 周时,造模组的空腹血糖与空白组比较,差异有统计学意义,说明造模成功。(见表 3)

表 3 各组大鼠不同时间空腹血糖比较($\bar{x} \pm s, mmol/L$)

组别	只数	第 12 周	第 13 周
空白组	15	4.3 $\pm$ 1.3	5.5 $\pm$ 1.0
造模组	74	4.7 $\pm$ 1.7	27.9 $\pm$ 3.5 ^a

注:与空白组比较,^a $P < 0.05$ 。

3.5 各组大鼠不同时间空腹血糖比较 第 16、24 周时,空腹血糖模型组、各治疗组与空白组比较,西药组与模型组比较,差异均有统计学意义;但各中药组与模型组比较,差异无统计学意义。(见表 4)

表 4 各组大鼠不同时间空腹血糖比较($\bar{x} \pm s, mmol/L$)

组别	只数	第 16 周	第 24 周
空白组	15	5.85 $\pm$ 1.08	5.56 $\pm$ 1.13
模型组	14	28.64 $\pm$ 4.01 ^a	27.89 $\pm$ 3.11 ^a
早期组	15	26.85 $\pm$ 3.91 ^{ac}	28.14 $\pm$ 3.05 ^{ac}
中期组	15	27.52 $\pm$ 4.08 ^{ac}	27.86 $\pm$ 3.11 ^{ac}
晚期组	15	27.83 $\pm$ 4.12 ^{ac}	27.31 $\pm$ 3.54 ^{ac}
西药组	15	14.82 $\pm$ 3.45 ^{ab}	10.11 $\pm$ 4.41 ^{ab}

注:与空白组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$,^c $P > 0.05$ 。

3.6 各组大鼠 ICAM-1 比较 ICAM-1 模型组与各治疗组比较,模型组、各治疗组与空白组比较,差异均有统计学意义。(见表 5)

表 5 各组大鼠 ICAM-1 比较($\bar{x} \pm s, ng/ml$)

组别	只数	ICAM-1
空白组	15	18.65 $\pm$ 4.01
模型组	14	92.34 $\pm$ 8.07 ^a
早期组	15	45.12 $\pm$ 6.61 ^{ab}
中期组	15	78.80 $\pm$ 7.74 ^{ab}
晚期组	15	82.56 $\pm$ 9.23 ^{ab}
西药组	15	58.99 $\pm$ 6.41 ^{ab}

注:与空白组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$ 。

4 讨 论

糖尿病大血管病变的病理基础是动脉粥样硬化,炎症反应贯穿动脉粥样硬化病变发生、发展全过程。在动脉粥样硬化的形成过程中,黏附分子介导的炎症过程起到了极

其重要的作用^[2]。其中,ICAM-1 研究较多,ICAM-1 属于免疫球蛋白超家族成员,主要表达于血管内皮细胞,能促进炎症细胞浸润、黏附于内皮,诱导血管内皮的炎性损伤。ICAM-1、VCAM-1 是 AS 早期的病理变化及斑块进展的潜在机制,并与 AS 的严重程度有关^[3]。ICAM-1 的水平表达是动脉粥样硬化病理变化的重要指标之一。现代药理研究发现,多种活血化瘀药物能增加抑制炎症、保护血管内皮,抗血小板聚集等作用^[4]。活血化瘀中药可以用来防治动脉粥样硬化的发生发展^[5-7]。

天降血栓通丸在活血化瘀治法指导下,由补阳还五汤加减化裁而成,在活血药物上加用补气药物,使祛瘀不伤正,气行血则行。方中虻蛇为君药,活血通络;降香辛温,入肝脾经理气止血,行瘀定痛;泽泻、茯苓芳香化湿,健脾行气;人参大补元气,益气升阳,与黄芪相须为用,补气之力更强,助君药活血化瘀通络,亦为臣药,且虻蛇得参、芪益气活血而不伤正。赤芍、丹参、川芎养血活血;山楂补肾活血化瘀,共为佐药。诸药合用,切中病机,药专力宏,共奏活血化瘀、行气通脉之功。

本实验结果显示,天降血栓通丸早、中、晚期组与模型组比较,血糖差异无统计学意义,说明本药对血糖无影响;模型组与空白组比较,ICAM-1 水平明显增高,天降血栓通丸早、中、晚期组与模型组比较,ICAM-1 水平差异有统计学意义,天降血栓通早期组下调最显著,说明早期干预可以有效抑制 ICAM-1 的表达,从而抑制主动脉的炎性反应,具有保护血管内皮细胞的功能,这可能是其延缓 2 型糖尿病大鼠大血管病变发生发展的机制之一。

参考文献

[1] Gustavsson C, Agardh CD, Zetterquist AV, et al. Vascular cellular adhesion molecule-1 (VCAM-1) expression in mice retinal vessels is affected by Hyperglycemia and hyperlipidemia[J]. Plos One, 2010, 5(9): 12699.

[2] 秦玲, 赵学忠, 张志国, 等. 急性冠脉综合征患者细胞黏附分子和 C 反应蛋白的变化[J]. 吉林大学学报:医学版, 2005, 31(5): 799-801.

[3] Davies MJ, Gordon JL, Gearing AJ, et al. The expression of the adhesion molecules ICAM-1, VCAM-1, PECAM, and E-selectin in human atherosclerosis[J]. J Pathol, 1993, 171(3): 223-229.

[4] 陈晨, 刘倩, 高华. 活血化瘀药药理作用研究进展[J]. 中国药事, 2011, 25(6): 603-605.

[5] 蔡春霞, 郭玉成. 活血化瘀方药防治动脉粥样硬化的研究近况[J]. 河北医药, 2003, 9(8): 760-761.

[6] 贾俊兵, 王强. 中医药在动脉粥样硬化中的抗炎作用研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2009, 18(32): 4038-4040.

[7] 王楠, 万建波, 李铭源, 等. 三七治疗动脉粥样硬化的研究进展[J]. 中草药, 2008, 39(5): 787-790.

(收稿日期: 2018-07-13)