

健脾降糖饮对四氧嘧啶糖尿病大鼠 一氧化氮和内皮素的影响

孙丰雷¹, 程益春², 夏丽英², 高 华¹

(1. 广东佛山市中医院, 佛山 528000; 2. 山东省中医药大学, 济南 250014)

摘要: 为探讨中药健脾降糖饮防治糖尿病(DM)慢性并发症的机理, 我们用舌下静脉注射四氧嘧啶(Alloxan)的方法制作糖尿病动物模型, 观察健脾降糖饮对DM大鼠空腹血糖、血液流变、血清一氧化氮(NO)和血浆内皮素(ET)的影响。结果显示健脾降糖饮可显著增加体重、降低血糖、改善血液流变、增加NO和降低ET(P均<0.01)。健脾降糖饮对血清NO和ET的干预可能是该方防治DM慢性并发症的机理之一。

关键词: 糖尿病; 并发症; 一氧化氮(NO); 内皮素(ET); 健脾降糖饮

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2001)05-0034-03

Effects of Jianpijiangtang Solution on Serum Nitric Oxide and Plasam Endothelin of the Rats with Diabetes

SUN Feng-lei¹, CHENG Yi-chun², XIA Li-ying², Gao Hua¹

(1. Foshan Traditional Chinese Medicine Hospital, Foshan 528000;

2. The Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014)

Abstract: To explore the preventive and curative mechanism of Jianpijiangtang Solution(JS) on diabetes rats and its chronic complications, we observed the effect of JS on blood sugar, blood rheology changes, serum nitric oxide(NO) and plasma endothelin (ET) of diabetes rats induced by alloxan. The results showed that JS could improve the blood rheology, decrease blood sugar and plasma ET level, and raise serum NO level. The effects of JS on NO and ET are of great importance in diabetes rats and its chronic complications.

Key words: Diabetes, Nitric Oxide (NO); endothelin(ET); Jianpijiangtang Solution(JS)

收稿日期: 2000-11-07

益气健脾法是治疗糖尿病 (Diabets Mellitus, DM) 及其慢性并发症的重要治法。既往研究表明,在益气健脾原则指导下所拟定的健脾降糖饮对 DM 慢性并发症具有良好的改善作用^[1],为进一步探讨其作用机理,我们采用四氧嘧啶舌下静脉注射制造 DM 大鼠模型,观察了健脾降糖饮对模型动物血清一氧化氮 (Nitric Oxide, NO) 和血浆内皮素 (Endothelin, ET) 的影响,现报告如下。

1 材料和方法

1.1 动物及分组 雄性 Wistar 大鼠,体重 250 ± 18g, 56 只,由山东中医药大学实验动物中心提供。随机分为正常组 (8 只) 及造模组 (48 只),四氧嘧啶造模 7d 后,将 DM 模型大鼠随机分为模型组 (10 只)、健脾降糖饮大剂量组 (10 只)、健脾降糖饮小剂量组 (10 只)、达美康组 (9 只)。

1.2 仪器、试剂及药物 快速血糖仪由北京怡成生物电子有限公司生产, LBY-N6 型旋转式血粘度计由北京普利生仪器中心生产, SX721 分光光度计由上海申化仪表自控公司生产, FJ-2021 γ 计数器由国营二六二厂生产; 四氧嘧啶系美国 Sigma 化学制剂公司^[1] 产品, NO 和 ET 试剂盒分别由南京生物建成生物工程研究所和解放军总医院科技开发中心放免所提供; 达美康由法国施维雅药厂和天津华津制药厂合作生产, 批准文号 (91) 卫药准字 J-11 号; 健脾降糖饮: 生黄芪 30g、黄精 15g、山药 30g、白术 15g、枸杞 15g、天花粉 15g、丹参 15g, 全部中药均由山东中医药大学附属医院中药房提供。

1.3 观察指标 空腹血糖、全血和血浆粘度、血清 NO 和血浆 ET。

1.4 造模和实验方法^[2] 用 2% 戊巴比妥钠做麻醉剂, 每只大鼠腹腔注射 2% 戊巴比妥钠 40mg/kg, 将麻醉后的大鼠固定在大鼠台上, 每只大鼠按 50mg/kg 剂量舌下静脉注射 2% 四氧嘧啶 (Alloxan), 于注射后第 7d, 空腹尾静脉取血, 用快速血糖仪测血糖, 血糖高于 11.1mmol/L 者认定为 DM 模型大鼠。正常组和模型组每日用生理盐水 2ml 灌胃, 大剂量组每日灌服健脾降糖饮水煎浓缩制剂 2ml, 每 ml 含生药 5.14g; 小剂量组每日灌服健脾降糖饮水煎剂 2ml, 每 ml 含生药 2.57g, 达美康组每日灌服达美康混悬液 2ml, 每 ml 含达美康 2.29mg。各组大鼠均自然饮水, 喂饲普通饲料, 共灌胃 8 周。末次给药 12h 后, 尾静脉取血, 用快速血糖仪测血糖; 2% 戊巴比妥钠麻醉, 将大鼠固定, 打开腹腔, 由下腔静脉取血, 用 LBT-N6

血液粘度计测全血和血浆粘度, 用 SX721 分光光度计和 FJ-2021 γ 计数器分别检测血清 NO 和血浆 ET 水平, 各项操作均严格按照药盒说明书进行操作。

1.5 统计学方法 所得数据用 PEMS 软件处理, 均采用 q 检验 (Newsmarr-Keuls 法)。

2 结果

2.1 各组体重和空腹血糖比较 见表 1

表 1 各组体重、空腹血糖比较 ($\bar{x} \pm s$)

	<i>n</i>	体重 (g)	空腹血糖 (mmol/L)
正常组	8	321.30 ± 6.71	6.19 ± 0.60
模型组	8	235.49 ± 4.72 [△]	20.32 ± 1.67 [△]
大剂量组	10	298.90 ± 8.47 [△]	14.53 ± 1.05 [△]
小剂量组	9	277.60 ± 6.43 [△] ☆	18.51 ± 1.94 [△] ☆
达美康组	8	258.53 ± 5.16 [△] ○	18.75 ± 1.14 [△] ☆

注: 与正常组比较 $\Delta P < 0.01$; 同模型组比较^{*} $P < 0.01$; 同大剂量组比较[☆] $P < 0.01$; 同小剂量组比较[○] $P < 0.01$ (下同)

模型组体重明显下降, 大小剂量中药组体重较模型组明显为高 ($P < 0.01$), 但仍未恢复到正常水平; 健脾降糖饮大剂量组血糖较模型组明显降低 ($P < 0.01$), 但仍高于正常组 ($P < 0.01$)。说明健脾降糖饮具有改善糖尿病模型动物血糖代谢和增加动物体重的作用。

2.2 各组血液流变学比较 如表 2 所示, 健脾降糖饮可明显改善全血及血浆粘度, 大剂量组改善尤为明显, 同模型组比较, 其高、低切变率下之全血、血浆粘度均有显著差异 ($P < 0.01$), 小剂量组和达美康组的血液流变学亦有一定程度的改善, 其低切变率全血粘度同模型组比较有显著差异 ($P < 0.01$)。说明健脾降糖饮具有改善血液流变学的作用。

表 2 各组血液流变学比较 ($\bar{x} \pm s$)

	<i>n</i>	全血粘度		血浆粘度	
		高切变率	低切变率	高切变率	低切变率
正常组	8	4.93 ±0.97	14.66 ±3.05	1.27 ±0.06	1.59 ±0.16
模型组	8	6.33 ±0.66 [△]	28.36 ±1.49 [△]	1.43 ±0.11 [△]	1.87 ±0.16 [△]
大剂量组	10	4.99 ±0.92 [*]	17.31 ±8.46 [*]	1.33 ±0.07 [*]	1.72 ±0.22 [*]
小剂量组	9	6.28 ±0.68 ^{△☆}	20.31 ±4.25 [*] ☆	1.42 ±0.08 ^{△☆}	1.85 ±0.23 ^{△☆}
达美康组	8	6.31 ±1.71 ^{△☆}	24.67 ±4.92 [*] ☆○	1.41 ±0.06 ^{△☆}	1.84 ±0.21 ^{△☆}

注: 高切变率: 30s⁻¹ (mPa·s), 低切变率: 5s⁻¹ (mPa·s)。

2.3 各组血清 NO、血浆 ET 的比较 由表 3 可以看出: (1) 模型组血清 NO 水平较正常组明显降低 ($P < 0.01$), 大小剂量健脾降糖饮均可使糖尿病动物模型血清 NO 水平升同; (2) DM 模型大鼠血浆 ET 明显升高, 健脾降糖饮和达美康均显示出一定程度的降低

血浆ET的作用,健脾降糖饮作用较达美康明显为强;(3)健脾降糖饮增高DM模型大鼠血清NO的降低血浆ET的作用均呈现出一定的量效关系。

表3 各组血清NO、血浆ET比较($\bar{x} \pm s$)

	n	NO($\mu\text{mol/l}$)	ET(pg/ml)
正常组	8	100.13 $\pm$ 1.30	39.38 $\pm$ 5.37
模型组	8	77.13 $\pm$ 5.79 [△]	96.67 $\pm$ 4.56 [△]
大剂量组	9	97.44 $\pm$ 8.29 [△]	54.18 $\pm$ 1.89 [△]
小剂量组	9	85.44 $\pm$ 6.71 ^{△**}	63.37 $\pm$ 0.75 ^{△*}
达美康组	8	76.83 $\pm$ 5.03 ^{△*○}	91.59 $\pm$ 3.89 ^{△*○*}

3 讨论

DM慢性并发症已成为DM患者致死、致残的主要原因,高血糖、高血压、高血脂以及病程、肥胖和遗传等被认为是其主要危险因素,但DM血管并发症发生、发展的确切机制尚未完全阐明。NO和ET-1是由内皮细胞分泌的具有拮抗作用的一对血管活性物质,研究认为,二者与DM的慢性并发症的发生、发展密切相关。

NO是由NO合酶(NO Synthase, NOS)催化L-精氨酸(L-Arginine, L-Arg)合成的一种可溶于水的活性气体小分子。NO和循环系统的功能密切相关,具有调节血管张力,调节器官血流量和血压,抑制血小板、淋巴细胞、中性粒细胞成分粘附于血管内皮细胞,抑制血管下内皮细胞增殖,抑制血小板活性等作用。NO在DM时的变化是一个随病程动态改变的过程,即早期合成增加而晚期合成减少^[3],近年较多研究表明,NO合成减少或活性下降是DM环境下内皮依赖血管舒张受损和DM慢性并发症的重要原因。NO合成底物不足^[4],NOS辅因子缺乏^[5]和内源性的NOS抑制物增多^[6],是NO合成减少的主要原因。ET是迄今所发现的作用最强、持续最久的缩血管多肽,以旁分泌和自分泌方式调节血管紧张度,参与血压的长期调节,亦可促进血管平滑肌细胞(VSMC)增殖,促进血栓形成,调节心脏的代谢和内分泌功能。DM患者ET升高,与HbA1c成正相关^[7]。

DM慢性并发症可隶属于祖国医学“消渴病”多种“变证”的范畴,脾气不足,气虚血瘀是多种“变证”共同的常见重要病机。故其治当扶正祛邪,标本兼

顾,益气健脾,补气活血当为其重要治法。健脾降糖饮是程益春教授的验方,全方以健运脾气,调补后天立法。方中生黄芪益气健脾,用为君药,药取生者,为防其温燥伤阴;黄精、山药均入肺、脾、肾三脏,可益气养阴,平补三脏,而以健脾益气为主;白术味苦、甘,性温,功善健脾燥湿,同黄精、山药共为臣药;枸杞子养肝、滋肾,偏补肝肾阴精,天花粉清热生津,丹参和血活血,三药共为佐使之用。诸药配伍,气血同调,脾肾双补,正邪兼顾,而以益气健脾为主,以生补气活血之效。既往研究表明,健脾降糖饮可降低鸢鹑高脂模型脂质过氧化物,增高四氧嘧啶小鼠超氧化物歧化酶(SOD)水平,并能有效降低DM模型动物空腹血糖^[1]。本研究进一步证实,健脾降糖饮可降低四氧嘧啶大鼠空腹血糖,改善其血液流变学特性,并能升高血清NO,降低血浆ET,从而对心血管系统显示出良好的保护作用,但其升高NO,降低ET的确切机制尚待进一步研究。

参考文献:

- [1] 程益春,钱秋海,毛淳,等. 益气健脾法治疗糖尿病的临床与实验研究[J]. 山东中医学院学报, 1994, 18(4): 21-27.
- [2] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方药学[M]. 第二版,北京:人民卫生出版社,1989. 1275-1277.
- [3] Wascher TC, Graier WF, Bahadori B. Time course of endothelial dysfunction in diabetes mellitus [J]. Circulation, 1994, 90: 1109.
- [4] Piper GM. Reversal by L-arginine of a dysfunction arginine/nitric oxide pathway in the endothelium of the genetic diabetic BB rats [J]. Diabetologia, 1997, 40: 910-915.
- [5] Wu G, Neuringer CJ. Impaired arginine metabolism and NO synthesis in coronary endothelial cells of spontaneously diabetic BB rats [J]. Am J physiol, 1995, 269: H1312- H1318.
- [6] Xiong Y, Lu R, di Yj, et al. Elevation of endogenous inhibitor of nitric oxide synthase in diabetic rat serum [J]. Acta Pharmacol sin, 1997, 18: 511-514.
- [7] 黄敬泽,张阔珍. 血管内皮细胞、血浆内皮素值与糖尿病患者微血管病变的相关性及评估[J]. 中国糖尿病杂志, 1999, 7(2): 70-72.