



中华中医药学会系列杂志

ISSN 1672-7134
CN 34-1268/R

中医临床

ZHONGYIYAO LINCHUANG ZAZHI **杂志**

CLINICAL JOURNAL OF
TRADITIONAL
CHINESE
MEDICINE



11

2019年11月 第31卷 第11期
Volume31 Number11



ISSN 1672-7134



9 771672 713192

中华中医药学会 主办

Sponsored by

China Association of Chinese Medicine

全国中医药优秀科技期刊

中国期刊全文数据库收录期刊

中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊

中国核心期刊(遴选)数据库收录期刊

中文科技期刊数据库收录期刊

中国台湾华艺线上图书馆收录期刊



文章编号:1672-7134 (2019)11-0613
中图分类号:R259 文献标志码:B DOI:10.16448/j.cjtc.2019.0613

· 实验研究 ·

启元胶囊对糖尿病模型大鼠周围神经病变干预机制*

张文锦, 方朝晖, 赵媛媛, 刘蒙蒙

安徽中医药大学第一附属医院 安徽合肥 230031

摘要 目的:探讨启元胶囊对糖尿病模型大鼠周围神经病变的干预机制。方法:30只SD大鼠随机抽取10只为正常对照组,余20只复制为糖尿病周围神经病变大鼠,最终复制成功17只大鼠随机分为模型组8只,治疗组9只。治疗组予以启元胶囊,0.26 g/kg d灌胃;正常组与模型组予5 mL/kg/d的0.9%氯化钠注射液灌胃处理。连续给药12周。观察大鼠一般情况、空腹血糖测定、大鼠足底热敏反应时间、大鼠机械痛阈值测定、大鼠坐骨神经运动传导速度测定、血清超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)、丙二醛(Malondialdehyde, MDA)、总抗氧化能力(Total antioxidant capacity, T-AOC)含量测定。结果:正常组大鼠的状态可,食量佳,反应灵敏,活动自如,体毛亮泽顺滑。模型组大鼠消瘦、精神不佳、毛发无泽、活动减少甚至不灵活等症状。治疗组大鼠诸症状较模型组改善。模型组大鼠血糖水平较正常组升高($P < 0.05$),治疗组大鼠血糖水平低于模型组($P < 0.05$)。与正常组大鼠比较,模型组大鼠足底热敏反应时间增加($P < 0.05$),机械痛阈值降低($P < 0.05$),坐骨神经运动传导速度减慢($P < 0.05$);与模型组大鼠比较治疗组大鼠足底热敏反应时间减少($P < 0.05$),机械痛阈值升高($P < 0.05$),坐骨神经运动传导速度加快($P < 0.05$)。模型组大鼠血清SOD、T-AOC水平较正常组降低($P < 0.05$),MDA水平较正常组升高($P < 0.05$);治疗组大鼠血清SOD、T-AOC水平高于模型组($P < 0.05$),治疗组大鼠血清MDA水平低于模型组($P < 0.05$)。结论:启元胶囊可以有效改善大鼠周围神经病变症状改善大鼠足底热敏反应时间、机械痛阈值、坐骨神经运动传导速度,其机制可能是通过对血清SOD、T-AOC、MDA水平的调节实现的。

关键词 启元胶囊、糖尿病大鼠、周围神经病变、超氧化物歧化酶、总抗氧化能力、丙二醛

Intervention Mechanism of Qiyuan Capsule on Peripheral Neuropathy in Diabetic Rats

ZHANG Wenjin, ZHAO Yuanyuan, LIU Mengmeng

The First Affiliated Hospital of Anhui University of Chinese Medicine, Anhui Hefei 230031, China

ABSTRACT Objective: To explore the intervention mechanism of Qiyuan Capsule on peripheral neuropathy in diabetic rats. Methods: Thirty SD rats were randomly selected as normal control group, and the remaining 20 were replicated as diabetic peripheral neuropathy rats. Finally, 17 rats were successfully replicated and randomly divided into model group (8 rats) and treatment group (9 rats). The treatment group was given Qiyuan capsule, 0.26 g/kg day by gavage, while the normal group and model group were given 0.9% sodium chloride injection of 5 mL/kg/d by gavage. The drug was administered continuously for 12 weeks. The general condition of rats, determination of fasting blood sugar, time of thermosensitive reaction of rat sole, determination of mechanical pain threshold, determination of motor conduction velocity of rat sciatic nerve, determination of serum SOD, MDA and T-AOC were observed. Results: The rats in the normal group were in good condition, fed well, responded sensitively, moved freely and had smooth body hair. In the model group, the rats were emaciated, mentally retarded, hairless, less active or even inflexible. The symptoms in the treatment group were better than those in the model group. The blood sugar level of the model group was higher than that of the normal group ($P < 0.05$), and that of the treatment group was lower than that of the model group ($P < 0.05$).

* 基金项目: 国家自然科学基金立项项目(编号: 81603574, 81573944, 81774286); 安徽省自然科学基金(1708085QH213); 国家中医临床研究基地业务建设第二批科研专项(编号: JDZX2015123); 国家重点研发计划“中医药现代化研究”重点专项(编号: 2018YFC1704202); 方朝晖安徽省名中医工作室(编号: 2019-8-515)

作者简介: 张文锦, 住院医师; 研究方向: 中医药防治代谢内分泌疾病研究。E-mail: zhang0551wenjin@163.com

通讯作者: 方朝晖, 主任医师; 研究方向: 中医药防治代谢内分泌疾病研究; E-mail: fangzhaohui9097@163.com



Compared with the normal group, the time of plantar thermosensitivity increased ($P < 0.05$), the threshold of mechanical pain decreased ($P < 0.05$), and the motor conduction velocity of sciatic nerve slowed down ($P < 0.05$); compared with the model group, the time of plantar thermosensitivity decreased ($P < 0.05$), the threshold of mechanical pain increased ($P < 0.05$), and the sciatic nerve motor conduction velocity decreased ($P < 0.05$). The motor conduction velocity of bone nerve increased ($P < 0.05$). The levels of serum SOD and T-AOC in the model group were lower than those in the normal group ($P < 0.05$), and the levels of MDA in the treatment group were higher than those in the model group ($P < 0.05$), while the levels of serum MDA in the treatment group were lower than those in the model group ($P < 0.05$). Conclusion: Qiyuan capsule can effectively improve the symptoms of peripheral neuropathy in rats and improve the thermosensitive reaction time, mechanical pain threshold and sciatic nerve motor conduction velocity. Its mechanism may be through regulating the levels of SOD, T-AOC and MDA in serum.

KEYWORDS Qiyuan capsule; Diabetic rats; Peripheral neuropathy; SOD; T-AOC; MDA

糖尿病是由于胰岛素绝对或相对分泌不足和(或)胰岛素抵抗,引起的以高血糖为特征的一组代谢性疾病。随着城市化的发展和生活水平的改善,糖尿病患者逐年上升并且呈年轻化,调查显示目前18岁及以上人群糖尿病患病率为10.4%^[1]。糖尿病患者的年轻化意味着长程患者数量的增加,同时大大增加了患者的并发症发生风险。尤其是周围神经病变,病程达十年以上者,发生神经病变的风险会大大增加。研究显示,大约有30%~50%的糖尿病患者会出现周围神经病变^[2]。西医对于糖尿病周围神经病变的主要治疗方法为营养周围神经,但多需联合中医治疗以达到更好的疗效^[3]。

糖尿病周围神经病变属于中医学“痹证”、“血痹”、“痿证”的范畴。其病因病机多以气虚、阴虚为本,合并痰浊、瘀血夹杂其中,为本虚标实之症。消渴病机多为阴虚燥热,当消渴日久,燥热内生,炼津为痰,并阴虚、气耗、血瘀,阻于血脉,致使经络闭塞,而发为本病^[4]。启元胶囊是由桑叶、黄芪、苦瓜、麦门冬,经现代工艺提取制成的胶囊剂。针对糖尿病“阴虚为本”之病机,具有补气养阴之功。前期临床研究证实启元胶囊可改善2型糖尿病及糖尿病前期人群的症状,降低其血糖水平,改善患者临床不适症状,增强机体胰岛敏感性^[5]。在此基础上开展本次研究,进一步探讨启元胶囊对糖尿病模型大鼠及其周围神经病变的干预效果和机制。

资料与方法

1 实验动物

选择SPF级SD大鼠30只,鼠龄6周,体重在180~220g之间,于安徽医科大学动物实验中心[SYXK(皖):2017-006]动物房内分笼饲养,房间干燥,采光、通风良好,温度控制在18~25℃之间,湿度40~70℃,自由摄食饮水。高糖饲料由安徽医科大学实验动物

中心加工配制。

2 仪器及试剂

肌电图仪器(上海海神医疗电子仪器)、血糖仪及配套试纸(美国强生公司)、全自动酶标仪(BIO-RAD)、-86℃超低温冰箱(安徽中科都菱电器股份有限公司)、MDA试剂盒(南京建成科技有限公司)、SOD试剂盒(南京建成科技有限公司)、T-AOC试剂盒(南京建成科技有限公司)、STZ链脲佐菌素(上海源叶生物科技有限公司)。

3 动物造模及分组

将30只SD大鼠用普通饲料适应性喂养一周后,随机抽取10只为正常对照组,继予普通饲料喂养,余20只改高糖饲料继续喂养4周,4周后禁食12h过夜,于次日进行STZ造模,造模时,单次于大鼠左下腹腔注射浓度为2%的STZ溶液35mg/kg,于72h后清晨,于尾尖取血测大鼠空腹血糖 ≥ 16.7 mmol/L即为DM大鼠造模成功。继续予高糖饲料喂养4周,以足底热敏反应时间延长及机械痛阈降低作为糖尿病周围神经病变大鼠造模成功的标志。最终复制成功17只大鼠随机分为模型组8只,治疗组(启元胶囊)9只。

4 干预措施

治疗组依据《药理实验方法学》^[6]予以启元胶囊(湖南希尔天然药业有限公司,国食健字G20160284,0.65g/粒),0.26g/kg d灌胃;正常组与模型组予5mL/kg/d的0.9%氯化钠注射液灌胃处理。连续给药12周。

5 观察指标

大鼠一般情况、空腹血糖测定、大鼠足底热敏反应时间、大鼠机械痛阈值测定、大鼠坐骨神经运动传导速度测定、血清超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)、丙二醛(Malondialdehyde, MDA)、总抗氧化能力(Total antioxidant capacity, T-AOC)含量测定。

6 统计学方法

采用SPSS22.0版进行统计学分析,正态分布计



量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,非正态分布的数据可通过对数变换等使其接近正态分布;多个均数间比较采用方差分析,两样本比较采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

结果

1 大鼠一般情况的影响

正常组大鼠的状态可,食量佳,反应灵敏,活动自如,体毛亮泽顺滑。模型组大鼠消瘦、精神不佳、毛发无泽、活动减少甚至不灵活等症状。治疗组大鼠诸症状较模型组改善。

2 对大鼠血糖的影响

模型组大鼠血糖水平较正常组升高 ($P < 0.05$);治疗组大鼠血糖水平低于模型组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见表 1。

表 1 大鼠血糖的影响 ($\bar{x} \pm s$)

	正常组	模型组	治疗组
血糖 (mmol/L)	4.76 ± 0.32	20.37 ± 1.58*	16.01 ± 1.22#

注:与正常组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,# $P < 0.05$ 。

3 对大鼠足底热敏反应时间、机械痛阈值、坐骨神经运动传导速度的影响

与正常组大鼠比较,模型组大鼠足底热敏反应时间增加 ($P < 0.05$),机械痛阈值降低 ($P < 0.05$),坐骨神经运动传导速度减慢 ($P < 0.05$);与模型组大鼠比较治疗组大鼠足底热敏反应时间减少 ($P < 0.05$),机械痛阈值升高 ($P < 0.05$),坐骨神经运动传导速度加快 ($P < 0.05$),见表 2。

表 2 对大鼠足底热敏反应时间、机械痛阈值、坐骨神经运动传导速度的影响 ($\bar{x} \pm s$)

	足底热敏反应时间/s	机械痛阈值/g	坐骨神经运动传导速度/ $m \cdot s^{-1}$
正常组	13.27 ± 1.61	75.31 ± 2.56	58.72 ± 3.12
模型组	21.56 ± 2.53*	35.62 ± 3.08*	27.63 ± 4.04*
治疗组	18.31 ± 1.06#	54.36 ± 3.11#	51.29 ± 2.07#

注:与正常组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,# $P < 0.05$ 。

3 对大鼠血清 SOD、MDA、T-AOC 含量的影响

模型组大鼠血清 SOD、T-AOC 水平较正常组降低 ($P < 0.05$),模型组大鼠血清 MDA 水平较正常组升高 ($P < 0.05$);治疗组大鼠血清 SOD、T-AOC 水平高于模型组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),治疗组大鼠血清 MDA 水平低于模型组 ($P < 0.05$),见表 3。

讨论

糖尿病周围神经病变是糖尿病并发症中最常见的类型,发生率高达 50%,其中糖尿病远端对称性多发

表 3 对大鼠血清 SOD、MDA、T-AOC 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	SOD (U/mL)	MDA (nmol/L)	T-AOC (u/mL)
正常组	132.12 ± 11.31	10.21 ± 0.13	7.38 ± 1.31#
模型组	101.36 ± 10.27*	17.67 ± 1.29*	5.02 ± 0.57*
治疗组	125.32 ± 10.18#	14.78 ± 0.62#	7.36 ± 0.92#

注:与正常组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,# $P < 0.05$ 。

性周围神经病变是指四肢对称性的、由下肢向上肢蔓延的、感觉和运动多发性的慢性神经病变,在糖尿病周围神经病变中占比 90% 以上^[7]。糖尿病周围神经病变的发病机制复杂,常常是多种因素共同作用,而高血糖是发病的独立危险因素,除此之外,氧化应激也参与了糖尿病周围神经病变的发病过程,其中过氧化物的过度产生是激活糖尿病周围神经病变发病机制的初始以及关键性因素^[8]。糖尿病患者体内长期的高血糖环境使得机体的糖、脂、蛋白紊乱,长此以往,多元醇通路活性增加、氨基己糖过量表达、PKC 通路激活,糖基化终末产物大量堆积,最终氧化应激产生过量的活性氧自由基 (ROS),激活神经细胞凋亡程序,最终损伤神经系统,导致糖尿病周围神经病变的发生^[9]。

MDA 和 SOD 是机体内最常见的氧化应激指标,T-AOC 是机体抗氧化物质及对抗过氧化损伤能力的总和,可代表酶性、非酶性抗氧化物的总体水平。SOD 是生物体内一种重要的抗氧化酶,可清除体内氧自由基,具有防止细胞损伤的作用,主要用于反映机体的抗氧化能力^[10]。高血糖环境能减慢机体血液流速,致使组织细胞缺血缺氧,也能提高自由基含量,SOD 能通过催化超氧自由基的歧化反应来清除自由基,是抗自由基损害的主要防御酶,故血清 SOD 水平能反映出机体自由基含量和细胞损坏程度^[11]。MDA 是过氧化脂质代谢产物,其含量的高低可间接反映氧化应激对机体细胞的损伤程度^[12]。MDA 能与含游离氨基酸的蛋白质发生交联形成 Schiff 碱基,致血管基膜增厚,同时降低结缔组织中的透明质,使其失去黏性,破坏细胞间的填充粘合质,以增加微血管通透性^[13]。研究证明,糖尿病周围神经病变患者氧化应激水平明显升高,SOD 水平降低、MDA 水平升高,总抗氧化能力下降^[14]。本次研究发现在合并周围神经病变的糖尿病模型大鼠中,存在血清 SOD、T-AOC 水平的降低和 MDA 水平的升高,在给予启元胶囊干预治疗后随着周围神经病变损伤的减轻,降低的血清 SOD、T-AOC 和升高的 MDA 水平也得到有效的纠正,启元胶囊可能是通过调节大鼠体内的氧化应激实现对糖尿病周围神经病变的治疗。



古代中医对糖尿病周围神经病变也早有记载,如《丹溪心法》中有消渴病日久“腿膝枯细,骨节酸疼”的记载。历代医家将本病归属于祖国医学“痹证”、“血痹”、“痿证”等范畴。《糖尿病周围神经病变中医诊疗规范初稿》^[15]中认为本病的中医病名以使用“消渴痹证”为宜。究其病因,糖尿病周围神经病变发病主要由于素体阴虚,病久失治,复感外邪等多种因素相加,出现气阴两虚之症,导致气血不畅,浊邪瘀滞,壅塞脉络,促进了疾病的发展。启元胶囊具有补气养阴之功,可以有效改善患者临床症状以及降低血糖水平。该药由桑叶、苦瓜、黄芪、麦冬,经现代工艺提取制成。桑叶中所含桑酮碱^[16]以及桑叶多糖^[17]不仅可以降低糖尿病模型大鼠随机血糖,同时可以改善大鼠肝脏胰岛素抵抗^[16]和胰腺组织氧化应激损伤^[17]。进一步的桑叶多成分研究,发现各成分之间在糖尿病大鼠中具有协同降血糖效应^[18]。在桑叶和苦瓜联用的降糖机制研究中发现,叶和苦瓜联用可对糖尿病小鼠起到良好的辅助降糖作用^[19]。苦瓜提取物具有较强的抗氧化作用,能清除体内自由基,修复自由基引发的细胞膜破损^[20]。同时可调节高血糖大鼠体内MDA含量,提高SOD含量及胰岛素水平,对高血糖动物有降血糖作用^[21]。对于糖尿病并发症,苦瓜提取物对鼠糖尿病大鼠的早期肾损伤有一定保护作用,其作用机制可能与其抗氧化应激作用有关^[22]。现代药理研究认为黄芪具有抗炎、改善新生血管功能、保护神经等功效。研究证实黄芪甲苷能够有效降低实验性糖尿病大鼠血糖、血脂水平,改善抗氧化酶活性,抑制氧化应激损伤^[23]。麦冬可通过抑制细胞凋亡及胰岛中NF-κB的表达保护β细胞,促进C肽分泌^[24],改善糖尿病大鼠血糖水平。

综上,本次研究证实糖尿病周围神经病变大鼠存在血清SOD、T-AOC水平的降低和MDA水平的升高,启元胶囊可以有效改善大鼠周围神经病变症状改善大鼠足底热敏反应时间、机械痛阈值、坐骨神经运动传导速度,其机制可能是通过对血清SOD、T-AOC、MDA水平的调节实现的。

参 考 文 献

[1] Wang L, Gao P, Zhang, M, et al.Prevalence and Ethnic Pattern of Diabetes and Prediabetes in China in 2013[J].JAMA, 2017, 317 (24): 2515-23.

[2] Avishai E, Yeghiazaryan K, Golubnitschaja O.Impaired wound healing: facts and hypotheses for multi-professional considerations in predictive, preventive and personalised medicine[J]. Epma Journal, 2017, 8 (1): 23-33.

[3] 张文锦,赵进东,郭呈林,等. 荟萃分析灯盏花素联合甲钴胺治疗糖尿病周围神经病变的安全性及有效性[J]. 中成药, 2016, 38 (05): 996-1005.

[4] 李世倩,崔云竹. 糖尿病周围神经病变的中医研究进展[J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19 (43): 77-78.

[5] 赵媛媛,方朝晖,王燕俐,等. 启元胶囊干预2型糖尿病及糖尿病前期人群临床疗效及安全性评价[J]. 中医药临床杂志, 2018, 30 (12): 2261-2263.

[6] 魏伟,吴希美,李元建. 药理实验方法学(第4版)[M]. 北京:人民卫生出版社, 2010: 212.

[7] Finnerup NB, Attal N, Haroutounian S, et al.Pharmacotherapy for neuropathic pain in adults: A systematic review and meta-analysis[J].Lancet eurol, 2015, 14 (2): 162-173.

[8] Ceriello A.New insights on oxidative stress and diabetic complications may lead to a “causal” antioxidant therapy[J].Diabetes Care, 2003, 26 (5): 1589-1596.

[9] 张露. 糖痹康对糖尿病小鼠周围神经 PTEN 介导 DNA 氧化损伤的作用与机制研究[D]. 北京中医药大学, 2018.

[10] Rider L, Diakonova M. Adapter protein SH2B1 beta binds filaminA to regulate prolactin-dependent cytoskeletal reorganization and cell motility[J].Mol Endocrinol, 2011, 25 (7): 1231-1243.

[11] Mohammedi K, Bellili-Mu oz N, Marklund SL, et al.Plasma extra cellular superoxide dismutase concentration, allelic variations in the SOD3 gene kkan risk of myocardial infarction and all-cause mortality in people with type 1 and type 2 diabetes[J]. Cardiovasc Diabetol, 2015, 14 (1): 1-10.

[12] 潘永梅,王蕊,魏艳静,等. 补骨脂素对去卵巢痴呆大鼠脑组织中SOD和MDA含量的影响[J]. 中医临床研究, 2016, 8(20): 4-6.

[13] 朱禧星. 现代糖尿病学[M]. 第1版. 上海:上海医科大学出版社, 2000.318-319.

[14] 杨昕,刘志民. 氧化应激和炎性反应与初诊2型糖尿病合并周围神经病变的关系[J]. 现代中西医结合杂志, 2017, 26 (4): 346-349.

[15] 庞国明,闰镛,朱璞,等. 糖尿病周围神经病变中医诊疗规范初稿. 中华中医药杂志, 2010, 25 (2): 261-264.

[16] 孙鑫,马志,孟庆海,等. 桑酮碱对2型糖尿病 db/db 小鼠血糖及肝脏胰岛素抵抗的影响[J]. 中成药, 2017, 39 (05): 885-890.

[17] 任春久,孙永亮,李伟庆,等. 桑叶多糖 MLP II 对糖尿病大鼠胰腺组织氧化应激的保护作用[J]. 蚕业科学, 2017, 43 (04): 671-676.

[18] 王德萍,鱼晓敏,安馨,等. 桑叶多组分协同降血糖作用[J]. 现代预防医学, 2018, 45 (16): 2924-2928.

[19] 彭晓蝶,秦樱瑞,黄先智,等. 桑叶-苦瓜混合粉对糖尿病小鼠的降糖作用[J]. 现代食品科技, 2017, 33 (4): 31-37.

[20] 王颖,张桂芳,徐炳政,等. 苦瓜提取物对糖尿病小鼠的抗氧化作用[J]. 中国老年学杂志, 2014, 34 (3): 699-701.

[21] 苟小林,王志敏,郭建刚. 苦瓜提取物对高血糖动物血糖、血脂水平的影响研究[J]. 陕西中医, 2010, 31 (4): 494-496.

[22] 翟玉荣,刘波. 苦瓜提取物对糖尿病大鼠早期肾损伤的保护作用[J]. 中国老年学杂志, 2015, 35 (9): 2358-2360.

[23] 韩冬. 黄芪甲苷对实验性糖尿病大鼠降糖、调脂和抗氧化作用的研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2016, 25 (4): 360-364.

[24] 沙建平,马红英,等. 麦冬对糖尿病大鼠胰岛β细胞的保护作用[J]. 成都中医药大学学报, 2014, 37 (3): 23-24+40.

收稿日期:2019-08-26 审稿:汪新安 编校:程远林