

加减四妙散对 2 型糖尿病模型小鼠血脂血糖的干预作用研究

王金彪¹ 骆天炯^{1,2} 程 坤² 蒋宝平¹

(1.南京中医药大学,江苏南京 210023;2.南京市中医院,江苏南京 210023)

摘要 目的:观察加减四妙散对 2 型糖尿病模型小鼠血脂、血糖及肝脏组织形态学的影响。方法:采用腹腔注射链脲佐菌素(STZ)+高脂饲料喂养制造 2 型糖尿病模型,选取成模小鼠(空腹血糖 FBG \geq 11.1mmol/L)随机分为模型组、二甲双胍组和加减四妙散低、中、高剂量组,另设正常对照组。各组小鼠灌胃给予相应的药物或蒸馏水,每日 1 次,持续 3 周。治疗结束后禁食 12h 测血糖、血脂相关指标,取肝脏组织光镜下观察组织形态学变化。结果:模型组小鼠血糖和血脂含量均显著高于正常对照组($P<0.01$);加减四妙散各剂量组小鼠血糖含量、血清甘油三酯含量均显著低于模型组($P<0.05$, $P<0.01$),而与二甲双胍组比较差异无统计学意义($P>0.05$);加减四妙散中、高剂量组小鼠总胆固醇含量明显低于模型组($P<0.05$, $P<0.01$),高密度脂蛋白胆固醇明显高于模型组($P<0.05$, $P<0.01$);加减四妙散高剂量组小鼠低密度脂蛋白胆固醇明显低于模型组和二甲双胍组($P<0.05$)。各组大鼠肝脏组织病理显示,模型组有部分小鼠出现轻度脂肪变性,全部发生中度或重度水样变性;与模型组比较,加减四妙散中、高剂量组小鼠水样变性程度明显减轻($P<0.01$)。结论:加减四妙散能降低 2 型糖尿病模型小鼠血糖,改善血脂代谢,减轻肝脏组织病理变化。

关键词 糖尿病 加减四妙散 血糖 血脂 肝 病理学 小鼠 实验研究

中图分类号 R587.105 文献标志码 A 文章编号 1672-397X(2016)06-0079-04

糖尿病(Type 2 diabetes mellitus, T2DM)是临床常见疾病,根据国际糖尿病联盟(IDF)全球糖尿病概览(第六版)数据显示,估计全球大约有 3.82 亿人患有糖尿病,约占成年人的 8.3%。目前治疗 2 型糖尿病的常用药物包括双胍类、磺脲类、非磺脲类促泌剂等,但因为糖尿病后期肝肾损害往往限制了临床用药选择,而胰岛素的使用不仅繁琐同时增加患者痛苦,并容易造成低血糖、肥胖等危害。中药治疗 2 型糖尿病具有低血糖发生率低、肝肾损害小等优势^[1-3]。加减四妙散是在四妙散的基础上去牛膝加黄连而成,使方子的重点从下焦上移至中焦,重在清中焦脾胃之湿热而健脾,临床治疗湿热困脾型 2 型糖尿病取得良好效果^[4],本实验制作 2 型糖尿病小鼠模型,观察加减四妙散对 T2DM 模型小鼠血脂、血糖及肝脏组织形态学的影响。

1 实验材料

1.1 实验动物 ICR 小鼠由苏州昭衍新药研究中心有限公司提供,许可证号:SCXK(苏)2013-0003,体重 18~22g,饲养的环境条件为室温 22~25℃,相对湿度 40%~60%,光照/黑暗周期 12h,自由进水、进食。

1.2 药物与试剂 加减四妙散颗粒由江阴天江药业有限公司生产,批号:1411008,药物组成:黄连 3g,黄柏 3g,苍术 6g,薏苡仁 6g;链脲佐菌素(STZ),美国 Sigma 公司,批号:S0130;二甲双胍,江苏苏中药业集团股份有限公司,批号:14050601。血糖试纸,德国罗氏诊断有限公司,批号:473153;总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)试剂盒,均购自南京建成生物工程研究所,批号分别为 20150311、20150327、20150328、20150403。

1.3 饲料 正常饲料和高糖高脂饲料为清洁级颗粒饲料,由上海普路腾生物科技有限公司提供。高糖高脂饲料配方:基础饲料 74%、猪油 10%、蔗糖 7%、酪蛋白 5%、鱼粉 2%、麦芽糊精 2%、氨基酸 0.1%。

1.4 主要仪器 分析天平,Shimadzu corporation, Japan,AY120 型;天平,sartorius B,71250 赛多利斯科学仪器有限公司;卓越型血糖仪,13000 South Memorial Parkway, Huntsville, AL35807, 美国;TGL-16G 离心机,上海安亭科学仪器厂;酶标仪,spectra Max 190,美国 MD 公司。

基金项目:南京市卫生局课题(YKK13097)

2 实验方法

2.1 造模 参考文献[5]的方法。小鼠适应性饲养1周后,随机分为正常对照组和造模组。正常对照组小鼠饲喂普通饲料;造模组小鼠饲喂高脂饲料3周后,禁食不禁水12h,于左下腹一次性注射浓度为100mg/kg链脲佐菌素(STZ,临用前溶解于0.1mol/L柠檬酸钠缓冲液,pH4.4),按照小鼠体重以0.1mL/10g的剂量注射,继续以高脂饲料饲养1周后,尾端采血测定空腹血糖值(FBG), $FBG \geq 11.1\text{mmol/L}$,且有多饮、多尿、多食、体重增加不明显等症状为造模成功。

2.2 分组与给药 将造模成功的小鼠随机分为模型组、加减四妙散低剂量组(0.65g/kg)、加减四妙散中剂量组(1.30g/kg)、加减四妙散高剂量组(2.60g/kg)、二甲双胍组(0.70g/kg),每组10只,另设正常对照组10只。模型组及正常对照组灌胃给予蒸馏水,加味四妙散高、中、低剂量组和二甲双胍组灌胃给相应的药物,灌胃量为20mL/kg,每天1次,连续3周。

2.3 指标观察

2.3.1 空腹血糖检测 各组小鼠于给药0、10、21d后,禁食不禁水12h,尾端采血,用便携式血糖仪检测血糖含量。

2.3.2 血脂指标检测 末次给药后,各组小鼠禁食,测完血糖值后,眼眶取血,3000r/min离心10min,取上清液,按试剂盒说明书操作酶标仪测定血清中TC、TG、HDL-C、LDL-C含量。

2.3.3 肝组织形态学观察 取血后各组分别随机取8只小鼠,处死后取肝脏组织,用4%中性多聚甲醛固定,石蜡切片,常规HE染色,光学显微镜观察其组织形态学变化。脂肪变性:肝细胞体积增大,胞浆内出现大小不等的脂肪滴,制片过程中脂肪滴被有机溶剂溶解而呈圆形空泡状,大者可充满整个肝细胞。水样变性:肝细胞、胞核均可增大,胞质浅染,细胞质内出现的红染细颗粒状物,其极期称为气球样变。脂肪变性、水样变性按无、轻、中、重予以分级,分级标准参考文献[6]。

2.4 统计学方法 采用SPSS 17.0统计软件进行统计学分析,实验数据用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用独立样本t检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 实验结果

3.1 各组小鼠治疗前后空腹血糖比较 与正常对照组比较,模型组小鼠空腹血糖含量显著升高($P < 0.01$),说明造模成功。与治疗前比较,各给药组小鼠治疗10d、21d时空腹血糖均明显降低($P < 0.05, P < 0.01$)。与模型组比较,治疗第10、21天时加减四妙散低、中、高剂量组和二甲双胍组小鼠空腹血糖含量均显著下降($P < 0.05, P < 0.01$);二甲双胍组10、21d血糖水平与加减四妙散各剂量组比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

3.2 各组小鼠血脂指标比较 与正常对照组比较,模型组小鼠血清TG、TC、LDL-C含量显著升高($P < 0.01$),HDL-C含量显著降低($P < 0.05$)。与模型组比较,加减四妙散各剂量组小鼠血清TG含量均显著降低($P < 0.01$);加减四妙散中、高剂量组小鼠血清TC含量显著降低($P < 0.05, P < 0.01$),HDL-C含量显著升高($P < 0.05, P < 0.01$);加减四妙散高剂量组小鼠血清LDL-C含量显著降低($P < 0.05$)。二甲双胍组小鼠血清TC、TG含量明显低于模型组($P < 0.05, P < 0.01$),LDL-C含量明显高于加减四妙散高剂量组($P < 0.05$)。见表2。

3.3 各组小鼠肝组织病理变化 与正常对照组比较,模型组小鼠肝脏水样变性程度明显加重($P < 0.01$),全部发生中度或重度水样变性。加减四妙散中、高剂量组小鼠均未发生脂肪变性和重度水样变性,水样变性程度明显轻于模型组($P < 0.01$);加减四妙散

表1 各组小鼠治疗前后空腹血糖含量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	剂量(g/kg)	空腹血糖值(mmol/L)		
			治疗前	治疗10d	治疗21d
正常对照组	10		4.56±0.81**	4.31±0.63**	5.00±0.67**
模型组	10		14.65±4.55	15.84±8.24	12.20±6.34
二甲双胍组	10	0.70	13.58±4.23	8.83±2.17**	6.05±1.08***
加减四妙散低剂量组	10	0.65	13.78±5.26	9.39±0.84**	6.74±3.60**
加减四妙散中剂量组	10	1.30	15.21±6.23	7.50±4.31**	7.08±0.71**
加减四妙散高剂量组	10	2.60	12.96±2.56	6.36±1.01***	6.61±1.09**

注:与本组治疗前比较,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$;与模型组治疗同时期比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

表2 加味四妙散对2型糖尿病小鼠血清中TC及TG含量的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	剂量(g/kg)	TC(mmol/L)	TG(mmol/L)	HDL-C(mmol/L)	LDL-C(mmol/L)
正常对照组	10		3.58±0.80**	0.63±0.17**	13.74±2.31*	0.37±0.15**
模型组	10		9.01±3.17	1.15±0.082	10.73±2.20	1.51±0.83
二甲双胍组	10	0.70	5.72±0.34*	0.68±0.064**	12.85±1.94	0.91±0.13
加减四妙散低剂量组	10	0.65	7.86±0.68	0.81±0.22**	12.70±2.71	1.15±0.21
加减四妙散中剂量组	10	1.30	5.44±0.76*	0.61±0.12**	14.33±3.49*	0.93±0.16
加减四妙散高剂量组	10	2.60	4.58±1.16**	0.60±0.084**	15.28±2.69**	0.74±0.13**

注:与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与二甲双胍组比较,# $P < 0.05$ 。

低剂量组、二甲双胍组未有脂肪变性但其中 25% 的动物出现重度水样变性,水样变性程度与模型组比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 3。肝组织病理图片可见,模型组小鼠肝细胞整体体积、胞核均增大,肝索形态消失,肝细胞排列紊乱,肝细胞内可见明显脂肪形成空泡。加减四妙散低剂量组与二甲双胍组小鼠肝细胞体积、胞核增大,细胞排列紊乱,可见大量脂滴空泡,二甲双胍组局部可见炎症细胞浸润。加减四妙散中剂量与高剂量组肝细胞增大不明显,脂滴空泡数目相对较少,其中高剂量组细胞排列成序,可见肝窦结构。见图 1。

4 讨论

2 型糖尿病是临床常见的内分泌系统疾病,患者多因长期的糖分、脂质代谢紊乱,引起心、脑、肾等多脏器损害,发展到后期并发症多,治疗困难,因此控制血糖、血脂是 2 型糖尿病治疗和预防并发症的要点之一。

流行病学显示,人群的空腹血糖和餐后血糖每增加 1mmol/L,相应的心血管事件发生率分别增加 8% 和 5%^[7]。另有多项 meta 分析显示合理地降糖治疗可减少 DM 大血管并发症^[8]。可见持续高血糖状态是糖尿病预后差的重要原因,控制血糖是控制糖尿病进展、预防并发症的重要手段。本研究结果表明,加减四妙散可以显著降低 2 型糖尿病模型小鼠空腹血糖,其降糖作用与二甲双胍相近,在使用 10d 后即能表现出明显降糖效果,20d 后仍能稳定地降糖。有研究表明,2 型糖尿病患者脂代谢紊乱类型以高甘油三酯血症最常见,TG 对冠心病、脑卒中等大血管病变作用更大,与脂肪肝关系密切;而 TC 与糖尿病肾病等微血管病变密切相关^[9]。同时,高 TG 血症在一定程度上可以反映胰岛素抵抗^[10]。国内也有相关报道,证明中国成人超重和肥胖显著增加糖尿病发病风险^[11],男女 BMI 水平与糖尿病发病风险存在线性相关。血浆高密度脂蛋白(HDL)是通过载脂蛋白 ApoA-I 介导胆固醇逆向运转,呈现出抗动脉粥样硬化功能,而低密度脂蛋白 LDL 是评估 AS 的独立因素^[12],因此调控高、低密度脂蛋白对预防二型糖尿病并发心血管意外有重要意义。本研究结果表

表 3 加味四妙散对 2 型糖尿病小鼠肝组织病理的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数 (只)	剂量 (g/kg)	脂肪变性				与模型组比较 P 值	水样变性				与模型组比较 P 值
			无	轻	中	重		无	轻	中	重	
正常对照组	8		8	0	0	0	>0.05	8	0	0	0	<0.01
模型组	8		6	0	2	0		0	0	4	4	
二甲双胍组	8	0.70	7	1	0	0	>0.05	0	4	2	2	>0.05
加减四妙散低剂量组	8	0.65	8	0	0	0	>0.05	0	4	2	2	>0.05
加减四妙散中剂量组	8	1.30	8	0	0	0	>0.05	0	6	2	0	<0.01
加减四妙散高剂量组	8	2.60	8	0	0	0	>0.05	0	6	2	0	<0.01

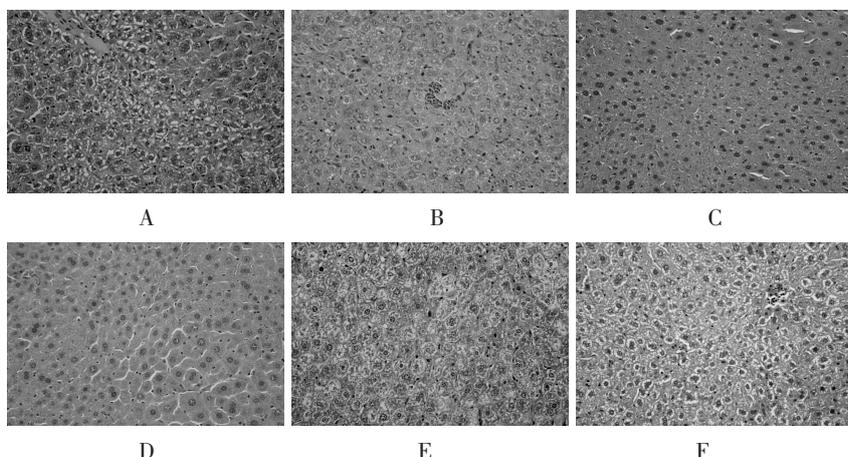


图 1 各组小鼠肝脏病变程度(HE,×400)

注:A.加减四妙散低剂量组;B.加减四妙散中剂量组;C.加减四妙散高剂量组;D.正常对照组;E.模型组;F.二甲双胍组。

明,加减四妙散对 2 型糖尿病模型小鼠的血清 TC、TG、HDL-C、LDL-C 均有明显的调节作用,可推测其对 2 型糖尿病并发症的控制和改善预后有良好的作用。肝脏组织形态学研究表明,加减四妙散能抑制 2 型糖尿病模型小鼠肝脏肿大,减轻肝脏组织病理变化,有效延缓糖尿病引起的肝脏损伤。

加减四妙散是我们根据肥人多痰多湿理论研制的针对肥胖型 2 型糖尿病患者的中药制剂,以清热燥湿健脾立法,体现了中医辨证论治的特点。四妙散(丸)出自《成方便读》,由二妙散(苍术、黄柏)加牛膝(三妙散)再加薏苡仁组成,具有清热利湿之功,主治湿热痿症。我们在四妙散的基础上去牛膝加黄连,重在清中焦脾胃之湿热而健脾。方中黄连为君,清热燥湿、泻火解毒,用于湿热中阻,气机不畅,脘腹痞满之症。现代研究也证明黄连素不仅能有效降低糖尿病模型小鼠空腹血糖,改善胰岛素敏感性,还能调节脂代谢^[13]。黄柏为臣,君臣相须为用,增强了清中焦脾胃湿热之功。苍术性温,与黄连、黄柏二味相伍,以防苦寒败胃。薏苡仁甘淡利湿,为水湿开下窍,同时又能健脾益气,使中焦强而水湿自去。全方共奏清热燥湿、健脾利湿之功用。下一步将对加减四妙散降糖、降脂的作用机制做深入研究。

中药单药有效成分治疗溃疡性结肠炎机制研究进展

支煜璐 陈四清

(南京中医药大学附属医院,江苏南京 210029)

摘要 溃疡性结肠炎(UC)被 WHO 列为现代难治病之一,近年来中药单药有效成分治疗 UC 实验研究日益增多,研究表明中药单药有效成分改善 UC 的作用机制主要集中在调节免疫功能、改善凝血功能及抗氧化作用等方面。目前对于单味中药及其有效成分治疗 UC 的作用机制尚缺乏深层次的研究,仍有待于今后进一步完善。

关键词 中药有效成分 溃疡性结肠炎 综述 实验研究

中图分类号 R259.746.2 **文献标志码** A **文章编号** 1672-397X(2016)06-0082-04

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种以大肠黏膜及黏膜下层的炎症和溃疡形成为特点的病因未明的慢性炎症性疾病。主要临床症状为腹痛、腹泻、黏液脓血便和里急后重,部分患者还可能出现肠外反应,如皮肤损伤、口腔溃疡、关节炎,以及肝胆类疾病。该病缠绵难愈,极易复发,且有癌变倾向,被 WHO 列为现代难治病之一^[1]。UC 属于中医学“痢疾”、“休息痢”等范畴。目前对于 UC 的发病机制尚不明确,但普遍认为其发生、发展与免疫功能、凝血功能、脂质过氧化等因素密切

相关^[2]。近年来对中药单药有效成分防治 UC 作用机制的研究不断深入,在调节免疫功能、改善凝血功能及抗氧化作用等方面取得了一定的进展。现将近年来中药单药有效成分治疗 UC 的实验研究进展概述如下。

1 调节免疫功能

大量研究表明,体液或细胞免疫功能的异常与 UC 发病密切相关。溃疡性结肠炎患者常合并免疫性疾病,如类风湿性脊柱炎、硬化性胆管炎等^[3],免疫机制被公认为溃疡性结肠炎发病的重要因素,中

参考文献

- [1] 仝小林,倪青,连凤梅,等.糖敏灵丸治疗 2 型糖尿病随机双盲平行对照多中心临床试验[J].中国临床药理学杂志,2009,25(2):104.
- [2] 贾全来,赵继文.清热益气汤配伍治疗 2 型糖尿病临床观察 45 例[J].中国社区医师,2014,30(4):83.
- [3] 贺仲晨.自拟消渴降糖方治疗 2 型糖尿病疗效观察[J].现代中西医结合杂志,2013,22(28):3130.
- [4] 高翌,冉颖卓.“四妙颗粒”对 2 型糖尿病湿热困脾型患者血糖和血脂的影响[J].江苏中医药,2009,41(12):20.
- [5] 黄昕,崔磊,曹谊林.STZ 诱导裸鼠糖尿病模型的建立及观察[J].组织工程与重建外科杂志,2007,3(4):186.
- [6] 周剑莉.肝脂肪变性和肝细胞水样变的一种诊断实验法[J].医学信息(上旬刊),2011,24(4):2065.
- [7] 沈晓霞,安雅莉,GREGG E W.等.大庆糖尿病预防研究 23 年的随访结果-空腹及餐后血糖均能预测糖耐量减低人群中发生的心血管事件的发生[G].2008 内分泌代谢性疾病系列研讨会暨中青年英文论坛论文集汇编,2008.
- [8] RAY K K,SESHASAI S R,WIJESURIYA S,et al.Effect of intensive control of glucose on cardiovascular outcomes and death in patients with diabetes mellitus:a meta-analysis of randomised controlled trials [J].Lancet,2009,373(9677):1765.
- [9] 谷成英,王爱华,曾艺鹏,等.脂代谢紊乱对 2 型糖尿病患者并发症合并症的影响[J].中国现代医学杂志,2009,19(8):1253.
- [10] 李小英,黄韵.代谢综合征发病机制研究进展[J].中国实用内科杂志,2008,28(11):915.
- [11] 王超.中国成人超重和肥胖及主要危险因素对糖尿病发病的影响[D].北京:北京协和医学院,2014.
- [12] 焦晓宁,韩玉冰.血清 LDL-C、HCY 和 hs-CRP 联合检测在动脉粥样硬化诊断中的价值[J].中国当代医药,2014,21(31):96.
- [13] 张茜,肖新华,王彤,等.黄连素降糖调脂机制的研究[J].中国实验动物学报,2011,19(1):29.

第一作者:王金彪(1991—),男,硕士研究生,从事糖尿病的中医药诊疗研究。

通讯作者:骆天炯,医学博士,主任医师,硕士研究生导师。969914725@qq.com

收稿日期:2015-10-20

编辑:吴宁