

· 实验研究 ·

温筋通对链脲佐菌素糖尿病大鼠血糖及坐骨神经
终末期糖基化终产物的影响^{*}郭赛珊¹ 唐代屹¹ 梁晓春¹ 张建伟² 孙仁宇² 张 宏²

内容提要 目的 观察中药复方温筋通对糖尿病大鼠血糖、坐骨神经终末期糖基化终产物的影响。方法 采用链脲佐菌素糖尿病大鼠模型 随机分为预防组和治疗组 给予温筋通灌胃 并以氨基胍作为对照 治疗 12 周 观察温筋通对糖尿病大鼠血糖和坐骨神经终末期糖基化终产物的影响。结果 温筋通预防组和治疗组血糖、温筋通预防组和氨基胍组坐骨神经终末期糖基化终产物 均较模型组为低($P < 0.01$);氨基胍组血糖高于温筋通预防组($P < 0.05$),与模型组比较 差异无显著性($P > 0.05$)。结论 温筋通可能通过降低血糖、抑制终末期糖基化终产物在神经组织中的形成 从而预防糖尿病周围神经病变。

关键词 温筋通 糖尿病周围神经病变 糖尿病大鼠 血糖 糖基化终产物

Effect of Wenjingtong Composita on Blood Glucose and Advanced Glycosylation End Products in Sciatic Nerve of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats GUO Sai-shan, TANG Dai-yi, LIANG Xiao-chun, et al *Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing (100730)*

Objective: To investigate the effect of Wenjingtong Composita (WJTC) on blood glucose and advanced glycosylation end products (AGEs) in sciatic nerve of streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. **Methods:** STZ-induced diabetic rats were randomized to WJTC prevention group and WJTC treatment group. The levels of blood glucose and AGEs in sciatic nerve of the animals were checked after 12 weeks' treatment and compared with that of aminoguanidine (AG) treatment group. **Results:** Blood glucose level in the WJTC prevention and treatment group, and AGEs in sciatic nerve of the WJTC prevention group and the AG group were lower than those of the non-treated group ($P < 0.01$). Blood glucose level in the AG group was higher than that in the WJTC prevention group ($P < 0.05$), but was not significantly different from that in the non-treated group ($P > 0.05$). **Conclusion:** WJTC might prevent diabetic peripheral neuropathy by decreasing blood glucose and inhibiting AGEs formation in sciatic nerve in STZ-induced diabetic rats.

Key words Wenjingtong Composita, diabetic peripheral neuropathy, diabetic rat, blood glucose, advanced glycosylation end products

有研究表明,蛋白非酶糖基化与糖尿病神经病变密切相关,实验性糖尿病动物的坐骨神经和股神经非酶糖基化蛋白明显增加,最终糖基化终产物(advanced glycosylation end products, AGEs)大量堆积导致神经组织、血管、雪旺细胞及轴索微丝微管功能和结构的改变^[1~3]。AGEs 抑制剂防治糖尿病神经病变已引起广泛的重视。既往研究表明,中药复方温筋通能够改善糖尿病神经病变患者的肢体临床症状,增加糖尿病神

经病变大鼠坐骨神经传导速度,减轻坐骨神经组织山梨醇的蓄积^[4]。本实验观察该方对链脲佐菌素(STZ)糖尿病大鼠坐骨神经 AGEs 的影响,旨在进一步探讨温筋通对实验性糖尿病神经病变的防治作用。

材料与方法

1 材料

1.1 动物 雄性 Wistar 大鼠,7 周龄,体重(200 ± 20)g,由中国医学科学院实验动物研究所提供。动物证号 医动字第 01-3008。

1.2 试剂及药品 STZ、牛血清白蛋白 V、Ⅶ型胶原酶、氨基胍均为美国 Sigma 公司产品。温筋通口服液由细辛、桂枝、葛根组成,中国医学科学院药用植

^{*} 本课题为国家卫生部科研基金资助课题(No. 98-1-1052)

1. 中国医学科学院中国协和医科大学北京协和医院中医科(北京 100730) 2. 中国医学科学院中国协和医科大学基础研究所病理生理研究室

物研究所负责加工,每毫升含生药 1.5g。

1.3 仪器 One Touch II 血糖仪为美国 Lifescan 公司产品;高速冷冻离心机、MPF-4 型荧光分光光度计、722 型分光光度计均为日本日立公司产品;台式离心机(TGL-160)为上海医疗器械三厂产品。

2 方法

2.1 动物模型的建立 将雄性 Wistar 大鼠适应性饲养 1 周后,实验组将 STZ 临用前用 0.1mmol/L 枸橼酸缓冲液(pH 4.2, 4℃)配成 1% 浓度,按 60mg/kg 体重剂量左下腹腔单次注射,72h 后取尾血测血糖,凡血糖 ≥ 16.7 mmol/L 作为糖尿病大鼠。

2.2 动物分组及处理 将入选动物喂养 3 天后随机分为 4 组,即模型组、氨基胍组、温筋通预防组(预防组)、温筋通治疗组(治疗组),每组 10 只,并以体重、鼠龄相匹配的正常大鼠 10 只作为正常对照组。氨基胍组予氨基胍 $100\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 灌胃;温筋通预防组(造模成功后立即开始灌胃)和治疗组(造模成功 1 个月开始灌胃)予温筋通 $10\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 灌胃,模型组、正常对照组同时灌服等量自来水。给药 12 周后断头处死,剥离尽可能长的坐骨神经。

2.3 指标检测 取尾血采用美国 One Touch II 血糖仪测定血糖。坐骨神经 AGEs 相对含量测定参照文献^[5]方法,测定坐骨神经 AGEs 荧光强度。将坐骨神经 100mg 剪碎,经组织匀浆、去脂、水化、冲洗后,加入含 VII 胶原酶的 HEPES 液,在 37℃ 中振荡消化 24h,离心后取上清液用 MPF-4 型荧光分光光度计在 370/440nm(激发波/发射波)波长下测定荧光强度,以空白 HEPES 缓冲液荧光值为 1 个任意荧光单位(arbitrary units of fluorescence, AUF),样品荧光强度依此折算。用 Lowry 比色法测定上清液总蛋白含量。坐骨神经 AGEs 相对含量采用样本 AGEs 荧光强度(AUF)除以样本总蛋白含量(mg)计算。

2.4 统计学方法 用 SPSS 软件包(Version 8.0)两组资料的比较用 t 检验,多组资料采用单因素方差分析,方差齐性用 Student-Newman-Keuls 检验,方差不齐用 t' 检验。

结 果

连续给药 12 周后,正常对照组大鼠表现为精神状态良好,体重增加,动作自如。模型组出现典型的多饮、多尿,消瘦明显,毛竖无光泽,蜷卧拱背。预防组、治疗组、氨基胍组也有类似表现,但程度较模型组轻。整个观察过程中,正常对照组未出现动物死亡,模型组预防组各死亡 2 只,治疗组、氨基胍组各死亡 3 只(其

死亡原因与动物尾部感染和灌胃有关)。

第 12 周末,模型组、治疗组、氨基胍组大鼠体重较正常对照组明显降低($P<0.01$),预防组体重较模型组增加($P<0.01$);各糖尿病组大鼠血糖、坐骨神经 AGEs 相对含量均较正常对照组明显升高($P<0.01$);预防组和治疗组血糖、氨基胍组和预防组 AGEs 相对含量均较模型组明显降低($P<0.01$);氨基胍组血糖高于预防组($P<0.05$),与模型组比较差异无显著性($P>0.05$),见表 1。

表 1 12 周末各组大鼠体重、血糖、坐骨神经 AGEs 含量比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	体重(g)	血糖(mmol/L)	坐骨神经 AGEs 相对含量 (AGE/mg·prot)
正常对照	10	404.2 \pm 50.9	5.24 \pm 0.94	75.94 \pm 12.15
模型	8	197.6 \pm 25.5*	21.13 \pm 1.76*	170.06 \pm 27.71*
氨基胍	7	258.0 \pm 68.6*	19.01 \pm 1.90*	117.31 \pm 10.35*△
预防	8	318.4 \pm 61.1 [△]	15.81 \pm 0.82*△▲	115.08 \pm 14.16*△
治疗	7	227.3 \pm 32.6*	17.69 \pm 1.40*△	136.43 \pm 18.24*

注:与正常对照组比较,* $P<0.01$;与模型组比较,△ $P<0.01$;与氨基胍组比较,▲ $P<0.05$

讨 论

高浓度葡萄糖可使神经组织内蛋白质发生非酶糖基化,轴突的逆行运输出现障碍,干扰神经细胞蛋白质的合成,导致快、慢轴突异常,蛋白质运输减少,轴突萎缩,最终形成神经细胞结构和功能的损害,神经传导障碍^[1,2]。此外,过多的 AGEs 也可通过损害神经内膜血流供给或直接改变细胞内基质的成分影响神经内膜的微环境。而且,现认为细胞内基质蛋白具有营养神经的作用,而基质蛋白非酶糖基化使其对周围神经纤维的营养作用受到损害^[6]。氨基胍被公认为 AGEs 抑制剂,可减轻实验性糖尿病大鼠的慢性并发症,改善糖尿病大鼠神经传导速度,减轻神经纤维脱髓鞘及轴突变性等改变^[5],但目前仍处于实验阶段。因此,从中药中寻找 AGEs 抑制剂将有广阔的应用前景。

温筋通由细辛、桂枝和葛根 3 味药组成,取细辛辛温芳香走窜,行表达里,舒筋止痛为君药;配桂枝辛温芳香通达一身之阳气,温经通脉为臣药;配葛根甘辛平生津止渴以防细辛、桂枝辛散太过伤及津液为佐药,共奏温经通脉之功。临床应用该方能改善糖尿病神经病变患者肢体凉、麻、痛的症状。实验研究初步证实该方能够改善糖尿病大鼠坐骨神经传导速度,减轻坐骨神经组织红细胞山梨醇的蓄积^[4]。本研究表明温筋通可明显减少糖尿病大鼠坐骨神经 AGEs 含量,其作用与氨基胍相似,其预防给药组降血糖作用优于氨基胍。

众所周知,一个理想的药物应当是能够作用于与

发病机制相关的多靶点的制剂,这也正是中药的优势所在。本实验结果证实温筋通能够减轻 AGEs 在神经组织的积聚,但有文献报道当血糖增高大于 11mmol/L 时醛糖还原酶几乎全部被糖基化而其活性增高⁽⁷⁾。结合以往的研究⁽⁴⁾,因此推测该方的作用机理可能与降低血糖,抑制醛糖还原酶糖基化,减少 AGEs 生成有关。但其确切的作用机理有待进一步研究。

参 考 文 献

1. Brownlee M. Glycation products and the pathogenesis of diabetic complications. *Diabetes Care* 1992; 5(12):1835—1843.
2. Tomlinson DR. The pharmacology of diabetic neuropathy. *Diabetes Metab Rev* 1992; 8(1):67—84.

3. Hotta N, Kakuta H, Fukasawa H, et al. Effect of nickeritol on streptozocin-induced diabetic neuropathy in rats. *Diabetes* 1992; (5):587—591.
4. 梁晓春,郝伟欣,贾力,等.桂辛通对糖尿病大鼠山梨醇及神经传导速度的影响. *中国中药杂志* 1999; 24(12):4—6.
5. Kumarji K, Umar S, Bansal V, et al. Inhibition of diabetes-associated complications by nucleophilic compounds. *Diabetes* 1991; 40:1079—1084.
6. Stevens MJ. Nitric oxide as a potential bridge between the metabolic and vascular hypotheses of diabetic neuropathy. *Diabet Med* 1995; 12(4):292—295.
7. Srivastava SK. Activation of aldose reductase by nonenzymatic glycosylation. *Prog Biol Res* 1989; 304:171.

(收稿 2001-04-11 修回 2001-07-23)

华蟾素注射液穴位注射治疗肿瘤疼痛 17 例临床观察

施 俊 许 玲 魏品康

我们于 2000 年 1 月~2001 年 3 月,对 17 例晚期消化道肿瘤导致疼痛的患者,应用华蟾素注射液足三里穴位注射治疗,效果较为满意,现报道如下。

临床资料 32 例患者均经临床及影像学、病理学证实为Ⅲ期及Ⅳ期消化道晚期肿瘤患者,不能或不愿接受手术及放、化疗,其中胃癌 14 例,胰腺癌 10 例,肝癌 5 例,结肠癌 3 例。按癌症疼痛程度分析法(李佩文,赵建成.恶性肿瘤并发症实用疗法.北京:中国中医药出版社,1995:503)评估:0 级:无痛;Ⅰ级(轻度):虽有疼痛但可忍受,能正常生活,睡眠不受干扰;Ⅱ级(中度):疼痛明显,不能忍受,要求服用止痛剂,睡眠受到干扰;Ⅲ级(重度):疼痛剧烈,不能忍受,需要止痛剂,睡眠受到严重干扰,可伴有植物神经功能紊乱或需取被动体位。全部病例均有不同程度的疼痛,卡氏评分 20~50 分。采用抽信封法随机分为两组,即华蟾素注射液穴位注射组(17 例,下称治疗组)和生理盐水穴位注射组(15 例,下称对照组)。治疗组男 10 例,女 7 例,年龄 49~78 岁,平均 63.2 岁,其中轻、中、重度疼痛各 5、7、5 例;对照组男 9 例,女 6 例,年龄 50~81 岁,平均 64.7 岁,轻、中、重度疼痛各 3、6、6 例。经统计学分析两组间差异无显著性。

治疗方法 治疗组以双侧足三里穴为进针点,抽取华蟾素注射液(安徽金蟾药业总公司生产,每毫升含 0.5g 原生药,含吲哚类生物碱、蟾蜍毒配基等有效成分,批号:000110)2ml,常规消毒快速进针,提插捻转,得气回抽无回血后匀速推入药液,每侧 1ml,快速起针,隔日 1 次,连续 10 次为 1 个疗程。对照组将等量生理盐水按上述方法注入足三里穴,隔日 1 次,10 次为 1 个疗程。在治疗期间所有患者不使用其他止痛药物。

结 果 疗效标准:按照前述分析法评估。显效:疼痛减轻Ⅱ级以上;有效:疼痛减轻Ⅰ级;无效:疼痛未减轻或加剧。生活质量:按照卡氏评分标准用药 1 个疗程后增加≥10 分为改善,无变化为稳定,减少≥10 分为下降。毒副反应:毒性反应分度按 WHO 分度标准。

止痛效果 治疗组显效 5 例,有效 6 例,无效 6 例,总有效率 64.70%,止痛起效平均时间(20.62±7.15)min,止痛效果持续时间 1~48h,平均(25.13±3.99)h。对照组显效 2 例,有效 3 例,无效 10 例,总有效率 33.33%;止痛起效平均时间(31.42±8.06)min,止痛效果持续时间 0.5~24h,平均(9.47±1.97)h。两组止痛持续时间比较,经 *t* 检验, *P*<0.05。

生活质量卡氏评分 治疗组改善 7 例(41.18%),稳定 6 例(35.29%),下降 4 例(23.53%);对照组改善 2 例(13.33%),稳定 6 例(40.00%),下降 7 例(46.67%)。

毒副反应 治疗组心律失常 1 例,荨麻疹 1 例;对照组未观察到明显毒副反应。两组未见明显的肝肾功能损害。

讨 论 癌痛治疗使用阿片类药物易产生耐药性和依赖性,常出现多种副反应。蟾酥作为一种天然止痛药物,已为现代药理研究所证实。华蟾素是中华大蟾蜍皮水溶性成分制成的注射液,临床报道显示静脉滴注具有抑瘤止痛效果。足三里是常用针刺镇痛穴位,而穴位注射可延长药物作用时间,减小用药量,减少药物积蓄和毒副作用,可反复使用,简便易行。本研究观察到华蟾素注射液足三里穴位注射镇痛较为理想,且毒副作用较小,安全可靠,是治疗肿瘤疼痛的一条可行途径。蟾酥毒药理研究具有洋地黄样作用,虽然穴位注射剂量较小,但对于体质特异患者仍可能引起心律失常,有心脏疾患的患者应慎用。

(收稿 2001-09-05 修回 2001-10-20)