

慢性应激对 2 型糖尿病大鼠血浆去甲肾上腺素、肾上腺素含量影响的实验研究

刘艳民¹ 李杰² 李庆和³ 韩娟³ 苑朝升¹ 李慧吉³

(1 中国人民解放军 272 医院,天津市和平多伦道 185 号,300020; 2 内蒙古师范大学心理系; 3 天津中医药大学)

摘要 目的:从糖尿病多因素致病角度出发,探讨情志因素对 2 型糖尿病发病的作用机制——气机失调证,以及具有理气降逆散结功效的复方中药心身 5 号方的调节作用。方法:采用旋转、拥挤、限制 3 种情志刺激结合腹腔注射少量链脲佐菌素(STZ)的实验方法,制作了 2 型糖尿病大鼠模型,实验动物分为正常组、应激组、STZ 组、应激 + STZ 组和中药组。检测血浆去甲肾上腺素(NE)、肾上腺素(E)含量,同时观察心身 5 号方的调节作用。结果:慢性情志应激可促使 STZ 鼠血浆去甲肾上腺素(NE)、肾上腺素(E)含量升高,其中肾上腺素在应激 + STZ 组有统计学意义($P < 0.01$),中药可降低血浆肾上腺素(E)含量。结论:慢性情志刺激引起实验性 2 型糖尿病大鼠血浆去甲肾上腺素(NE)、肾上腺素(E)含量升高是糖尿病发病机制之一,同时心身 5 号方有明显调节作用。

关键词 慢性应激;糖尿病;去甲肾上腺素;肾上腺素

The Impact of Emotional Stimulation on Serum Epinephrine and Norepinephrine in Rats with Type II Diabetes

Liu Yanmin¹, Li Jie², Li Qinghe³, et al.

(1. The PLA272 Hospital, Add.: No. 185 He Ping Duo Lun Road, Tianjin, post code: 300020; 2. The psychological Faculty of Neimenggu Normal University; 3. Tianjin University of TCM)

Abstract Objective: To explore mechanism of action of emotional stimulation on onset of Type II diabetes, i. e. qi disorder syndrome; and the regulatory action of Xinshen NO. 5, a compound prescription with effect of regulating qi, countering abnormal ascending qi and dispersing accumulation. **Methods:** The DM disease was induced in rats by abdominal injecting of small dosage of STZ on top of psycho physiological stimulation (rotation, restraint and crowding). The subjects were divided to normal group, stress group, STZ group, stimulation plus STZ group and Chinese medical treatment group. The serum epinephrine and norepinephrine levels, and the regulatory action of compound formula Xinshen NO. 5 were observed. **Results:** Chronic emotional stimulation increased serum epinephrine and norepinephrine levels in STZ rats. The stimulation plus STZ group has the highest epinephrine level ($P < 0.01$), which could be down regulated by the Chinese medicine. **Conclusion:** Serum epinephrine and norepinephrine increase caused by emotional stimulation is one of the mechanism of type II diabetes in rats, on which Xinshen NO. 5 has significant preventing effect.

Key Words Chronic emotional stimulation; Diabetes; Norepinephrine; Epinephrine

情志刺激对生物机体生理功能影响是多方面的,尤其与内分泌系统关系密切^[1]。本实验观察了情志刺激对 2 型糖尿病大鼠血浆去甲肾上腺素(NE)、肾上腺素(E)含量的影响,同时观察了具有理气降逆散结功效的复方中药心身 5 号方的调节作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物 健康雄性 Wister 大鼠 120 只,体重 120 ~ 150g。由军事医学科学院第四研究所提供。适应性饲养 1 周。动物室内自然光照,室温保持 24℃,通风良好。饲以全价营养料,自由进食饮水,除实验应激外无其他不良刺激。

1.2 实验动物模型及分组

1.2.1 实验性糖尿病动物模型 120 只大鼠随机分为 2 组,一组为 40 只,另一组为 80 只。80 只大鼠腹腔注射链脲佐菌素(STZ,美国 Sigma 公司产品,溶解在 0.1 mol/L 柠檬酸缓冲液内, pH 为 4.0), 30mg/kg,

1 次/日,连续 2 天(参考《现代药理实验方法与技术》)。余 40 只大鼠注射等量柠檬酸缓冲液,1 次/日,连续 2 天。注射 30 日后测查大鼠空腹血糖,以 9.3mmol/L 为标准(参考《现代药理实验方法与技术》),筛除高血糖鼠,再随机选取 45 只 STZ 鼠和 20 只正常鼠进入应激造模实验。

1.2.2 动物分组 全部动物共分为 5 组,其中 45 只 STZ 大鼠随机分为 3 组,即单纯 STZ 组(无应激)、STZ + 应激组、中药组(STZ + 应激),15 只/组。20 只正常大鼠分为应激组和正常组,10 只/组。

1.2.3 动物模型实验方法 参照 Carter 等^[1]方法,改良后建立本实验应激方法。1)限制:将大鼠放入 20cm × 5cm × 5cm 塑料筒中,水平置于实验台,保证大鼠不受压。以不能回转身为度,但其运动受限制,光线晦暗,限制刺激每周随机择时进行 3 次,每次 45min。2)旋转:利用旧式唱机改装为旋转器,转速为 45r/min,在此转速下离心力最小,避免离心力过大伤害大鼠。旋转时将大鼠置于代谢笼中。旋转刺激每 45 ~ 150min

内择时进行1次,每次15~20min。旋转刺激隔日进行1次。3)拥挤:标准大鼠饲养笼,按应激组15只/笼,非应激组5只/笼喂养。刺激贯穿于实验全过程,持续6周。

2 中药制备及给药方法

心身5号由旋覆花、代赭石、陈皮、茯苓、半夏、竹茹、丹参、赤芍、降香、乌药、瓜蒌、远志、炙枇杷叶、合欢皮、知母、苍术、龙齿、黄芩组成,自动煎煮机煎煮,浓缩后置于-20℃冰箱贮藏备用。中药组大鼠灌胃2mL/次(其生药浓度为960g/L),2次/日至实验结束,余组大鼠给予等量生理盐水灌胃,2次/日。

3 实验指标测定

3.1 血浆去甲肾上腺素(NE)、肾上腺素(E)含量测定 采用高效液相色谱——电化学方法。取全血5mL,加入EDTA保护剂60μL,离心,取血浆2mL加入内标DHBA,Na₂SO₃,EDTA·Na₂,Tris-HCl,氧化铝,充分混匀15min,离心,吸去上清,用纯水洗3次,冷冻干燥,加入盐酸,混匀,取上清进样。

3.2 色谱条件 1)仪器:日本岛津LC-6A高效液相色谱仪;CTO-6A柱温箱;ECD电化学检测仪;C₁₈色谱柱。2)流动相为磷酸盐缓冲液,流速:0.8mL/min,灵敏度:AUF5 2。

4 统计学方法

所有实验数据均以($\bar{x} \pm SD$)表示,计算机统计软件SPSS10.0版本处理,采用多组间单因素方差分析进行统计。

5 实验结果

血浆去甲肾上腺素(NE)、肾上腺素(E)含量比较,见表1。

表1 血浆去甲肾上腺素、肾上腺素含量比较($\bar{x} \pm SD$)

组别	例数	NE(ng/mL)	E(ng/mL)
正常组	10	4.86 ± 1.168	3.81 ± 0.773
应激组	10	4.71 ± 2.156	4.59 ± 1.392
单纯STZ组	10	4.99 ± 1.502	4.42 ± 1.067
STZ+应激组	10	5.77 ± 1.886	6.99 ± 1.964 ^{▲▲◆◆}
中药组	10	5.64 ± 1.223	5.19 ± 1.324 [*]

血浆NE含量各组之间比较无统计学意义,但STZ+应激组呈升高趋势。对血浆E比较发现,应激组大鼠血浆E含量有升高趋势,与正常组比较无统计学意义($P > 0.05$)。与单纯STZ组相比,STZ+应激大鼠血浆E升高较显著($P < 0.01$),提示应激可增加STZ大鼠血浆中E含量。与STZ+应激大鼠相比,中药组大鼠血浆E含量减少($P < 0.05$),表明中药具有降低STZ大鼠血浆E的作用。

6 讨论

肾上腺素、去甲肾上腺素对糖代谢均有影响,尤其肾上腺素更明显。当不良情志刺激时,引起交感神经兴奋,在肝内的交感神经末梢分泌去甲肾上腺素,直接加速肝糖原的分解,促进肝糖输出增多,血糖升高。肾上腺素可使肝和肌肉的细胞膜上腺苷酸环化酶激活,细胞内cAMP增多,进而激活磷酸化酶,促进肝糖原分解,结果导致血糖升高^[2]。儿茶酚胺可参与糖异生的调节,它可作用于肝细胞膜上的α受体,通过Ca²⁺-蛋白激酶体系,促进丙酮酸激酶磷酸化,而抑制丙酮酸激酶的活性,又通过Ca²⁺激活线粒体中的丙酮酸羧化酶和磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶,促进糖异生过程。儿茶酚胺还可直接抑制肌肉葡萄糖的摄取和利用。此外,儿茶酚胺还能通过促进肠道对葡萄糖吸收,抑制胰岛素分泌,促进胰高血糖素分泌等途径使血糖升高。

Kuhn等^[3]系列研究结果证明,具有糖尿病倾向的动物模型鼠E释放的升血糖效应较正常鼠更为明显,且伴有血浆胰岛素浓度降低。本实验结果发现实验性应激可引起正常大鼠血中肾上腺素水平显著上升,STZ+应激组血中肾上腺素水平增加更显著,说明应激引起交感神经-肾上腺髓质系统兴奋,导致具有胰腺病理缺陷的STZ鼠对应激刺激的肾上腺素能反应敏感性增加,E持续大量的释放,进入血液循环中,产生升血糖的作用,同时应激也可通过神经传导直接作用胰腺,抑制胰岛素的分泌。本实验中去甲肾上腺素各组之间无明显差异,但STZ+应激组有升高趋势。推测可能与中枢去甲肾上腺素释放作用有关,确切的机制尚待进一步研究。

针对心身疾病共同的病机为气机失调(主要以气滞、气逆为主)及由其所产生的瘀血、寒结、热结或寒热互结的基本病理变化,同时结合糖尿病自身的病机特点为阴虚燥热,课题组提出理气降逆,散结活血,滋阴清热为糖尿病的基本治则,并拟定心身5号方药。实验结果表明心身5号具有降低STZ大鼠血浆E的作用。本实验说明心身5号既可整体调整气机,又对具体疾病有所专攻,是治疗心身疾病糖尿病的有效临床方剂。

参考文献

- [1]唐己婷,陈家旭.束缚应激与中医肝病的关系.中国医药学报,2002,17(2):82-85.
- [2]朱禧星.现代糖尿病学[M].第1版.上海:上海医科大学出版社,2000:42,58-59,78,113.
- [3]Kuhn C M, et al. Physiol Biochem Behav, 1987, 26:491-495.

(2011-08-08 收稿)