

# 洋参御唐丸对大鼠血糖水平、胰岛结构及功能的影响

赵大鹏 谢 宁

(黑龙江省中医药大学, 哈尔滨, 150000)

**摘要** 目的:观察洋参御唐丸对大鼠血糖水平、胰岛结构及功能的影响。方法:将 30 只 OLETF 大鼠根据随机数字表法分为观察组和对照组,每组 15 只;15 只同系非糖尿病的 LETO 大鼠为正常对照组。所有大鼠均为 8 周龄。正常对照组:在 SPF 级条件下标准饲料,单笼饲养;对照组:在正常对照组的基础上以 2 mL 蒸馏水灌胃;观察组:洋参御唐丸溶于蒸馏水中灌胃,疗程 24 周。治疗前后每组处死大鼠,进行血清葡萄糖浓度检测、采用酶联免疫吸附测定法(ELISA 法)检测空腹胰岛素(FINS);并通过 HE 染色和 Masson 复合染色观察胰岛结构的形态学观察。结果:1)胰腺 HE 染色形态学显示治疗后对照组胰岛形状不规则,出现大量的纤维组织增生,胰岛有明显的萎缩;观察组胰岛无明显肥大或萎缩,纤维组织不明显。2)胰腺 Masson 染色形态学显示治疗后,对照组发现大量纤维组织长入胰岛,与外分泌腺界限不明;而观察组仅见胰岛周边有少量纤维组织,未见纤维组织长入胰岛。3)治疗后,与正常对照组比较,对照组和观察组明显升高( $P < 0.05$ ),ISI 降低( $P < 0.05$ )。观察组 FBG、FINS 均低于对照组( $P < 0.05$ ),ISI 高于对照组( $P < 0.05$ )。结论:洋参御唐丸能有效调节 OLETF 大鼠的血糖水平和改善胰岛的功能和结构。

**关键词** 洋参御唐丸;大鼠;血糖水平;胰岛结构;胰岛功能

## Effect of Yangshen Yutang Pill on Blood Glucose and Structure and Function of Pancreas in Rats

Zhao Dapeng, Xie Ning

(Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150000, China)

**Abstract Objective:** To observe the effect of Yangshen Yutang Pill on blood glucose, structure and function of pancreas in rats. **Methods:** Thirty 8-week-old OLETF rats were randomly divided into intervention group and control group with 15 rats in each group and 15 8-week-old syngeneic non-diabetic LETO rats were taken as blank control group. Blank control group: rats were fed at the SPF level with standard feedings and one rat in single cage; control group: 2 mL of distilled water was added compared to the blank control group; the intervention group: Rats took Yangshen Yutang Pill distilled into solution by gavage for 24 weeks. The rats were executed in each group before and after the treatment to test the serum glucose concentration and the fasting insulin (FINS) by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA method) and HE staining and Masson staining were used to observe the morphology of pancreas structure. **Results:** 1) Pancreatic morphology by HE staining showed that the pancreas of rats in the control group after the treatment was irregular in shape with the emergence of a large number of fibrous tissue hyperplasia and there was obvious atrophy in the pancreas but no obvious hypertrophy or atrophy and fibrous tissue in the pancreas of rats in the intervention group. 2) Pancreatic morphology by Masson staining showed that a large number of fibrous tissue appeared in pancreas of rats in the control group and boundaries between pancreas and exocrine glands were ambiguous after the treatment, while only a small amount of fibrous tissue appeared surrounding the pancreas of rats in the intervention group with no fibrous tissue in the pancreas. 3) Compared with the blank control group, the control group and the intervention group were significantly higher after the treatment ( $P < 0.05$ ) and ISI decreased ( $P < 0.05$ ). The FBG and FINS in the intervention group were lower than those in the control group ( $P < 0.05$ ) and ISI was higher than that in the control group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Yangshen Yutang Pill may effectively regulate the blood glucose level of OLETF rats and improve the function and structure of pancreas.

**Key Words** Yangshen Yutang Pill; Rats; Blood glucose; Pancreas structure; Pancreas function

中图分类号:R255.4;R285.5 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2017.10.039

2 型糖尿病(T2DM)具有复杂的病因,其中胰岛素抵抗及胰岛 B 细胞功能受损是目前较为公认的主要病因。随之研究的逐日加深,研究人员发现胰腺自身亦存在胰岛素抵抗的问题,因此保护胰腺是治

疗 T2DM 的关键环节。洋参御唐丸源自民间基础方,是历代医贤针对消渴病的病因,并结合临床经验拟订而成,由多种地道名贵中药材科学加工制成,具有滋阴补阳,益气补肾之功。临床不乏文献证实洋

参御唐丸对 T2DM 具有理想的临床疗效,今为进一步研究其治疗机制,我们以 T2DM 模型 OLETF 大鼠为研究对象,探讨洋参御唐丸对血糖水平的影响及其对胰腺形态的保护效应,具体如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 动物 30 只自发性 T2DM 动物模型 OLETF 大鼠和 15 只同系非糖尿病的 LETO 大鼠作为研究对象,购自日本大塚制药株式会社德岛研究所。

1.1.2 药物 洋参御唐丸(西洋参、龟甲、山药、鹿茸、玉竹、葛根、乌梅、黄芪、麦冬、山茱萸等,黑龙江省中西医结合研究所制剂室生产)溶于蒸馏水中,浓度为 0.8 g/mL。

1.1.3 试剂与仪器 DAB 免疫组化试剂盒(ZYMED 公司 美国),葡萄糖检查试剂盒(北京碧云天生物技术研究所,中国),饱和苦味酸溶液(天津市光复精细化工研究所)、75%乙醇、0.9%氯化钠注射液、5%葡萄糖注射液、4%多聚甲醛溶液、液氮、2,3,5-氯化三苯基四氮唑(Sigma)、无水乙醇、苏木素染色液、伊红染色液、链脲佐菌素。

### 1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备 将 30 只 OLETF 大鼠根据随机数字表法分为观察组和对照组,每组 15 只;15 只同系非糖尿病的 LETO 大鼠为正常对照组。实验小鼠下腹部皮肤消毒后,按 35 mg/kg 剂量于右侧腹腔注射链脲佐菌素,72 h 后空腹断尾采血测得血糖值大于或等于 11.1 mmol/L 为糖尿病小鼠,选取造模成功 30 只。

1.2.2 干预方法 1)正常对照组:在 SPF 级条件下标准饲料,单笼饲养;2)对照组:在正常对照组的基础上以 2 mL 蒸馏水灌胃;3)观察组:洋参御唐丸(西洋参、龟甲、山药、鹿茸、玉竹、葛根、乌梅、黄芪、麦冬、山茱萸等,黑龙江省中西医结合研究所制剂室生产)溶于蒸馏水中,浓度为 0.8 g/mL,根据大鼠体重 2.4 g/kg 的计算灌胃剂量,1 次/d。疗程 24 周(即大鼠 32 周龄时结束治疗)。

### 1.2.3 检测指标

1.2.3.1 血清葡萄糖浓度检测 治疗前后每组处死 5 只大鼠,大鼠空腹状态下采血,空腹血糖(FBG)采用于上海荣盛生物公司购买葡萄糖检查试剂盒,根据试剂盒说明书操作,计算葡萄糖值。葡萄糖(mmol/L) = 标本吸光度值/标准液吸光度值 × 校准液浓度(5.55 mmol/L)。

1.2.3.2 胰岛结构的形态学观察 治疗前后每组

处死 5 只大鼠,麻醉后打开腹腔分离出胰腺组织于液氮中保存。取出胰腺于 10% 多聚甲醛中固定,并根据标准组织学技术石蜡包埋,连续切片,4 μm/片,常规 HE 染色,观察各组胰岛结构变化;另外采用酸性复红、丽春红和桔黄的 Masson 复合染色液进行染色,胶原纤维呈绿色。

1.2.3.3 胰岛功能的检测 治疗前后每组处死 5 只大鼠,大鼠空腹状态下采血,空腹胰岛素(FINS)采用酶联免疫吸附测定法(ELISA 法)检测大鼠血浆胰岛素水平,具有根据上海西塘生物试剂有限公司购买的胰岛素试剂盒说明书操作,用酶标仪 450 nm 检测 OD 值。计算胰岛素敏感指数(ISI) = Ln(1/(FBG \* FINS)),该指数呈偏态分布,故取自然对数。

1.3 统计学方法 运用软件 SPSS 18.0 进行数据的统计分析,计数资料采用非参数  $\chi^2$  检验,计量资料用( $\bar{x} \pm s$ )表示。计数资料以例数(百分率)表示,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 胰腺 HE 染色形态学改变 正常对照组治疗前后胰岛结构基本正常,治疗前对照组和观察组的大鼠胰岛增大,但仍保持正常胰岛的形态和结构。治疗后对照组胰岛形状不规则,出现大量的纤维组织增生,胰岛有明显的萎缩;观察组胰岛无明显肥大或萎缩,纤维组织不明显。如图 1。

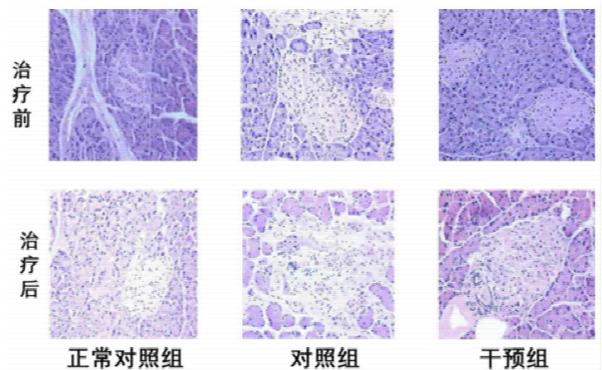


图 1 各组胰腺 HE 染色形态学改变

2.2 胰腺 Masson 染色形态学改变 正常对照组的胰腺结构正常,胰岛与外分泌腺的界限分明,治疗前对照组和观察组的胰腺结构也相对正常,未见明显纤维组织长入胰岛。治疗后,对照组发现大量纤维组织长入胰岛,与外分泌腺界限不明;而观察组仅见胰岛周边有少量纤维组织,未见纤维组织长入胰岛。见图 2。

2.3 治疗前后各组大鼠血糖和功能的影响 治疗前,3 组 FBG、FINS 和 ISI 比较无明显统计学差异( $P > 0.05$ )。治疗后,与正常对照组比较,对照组和观

察组明显升高 ( $P < 0.05$ ), ISI 降低 ( $P < 0.05$ )。观察组 FBG、FINS 均低于对照组 ( $P < 0.05$ ), ISI 高于对照组 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

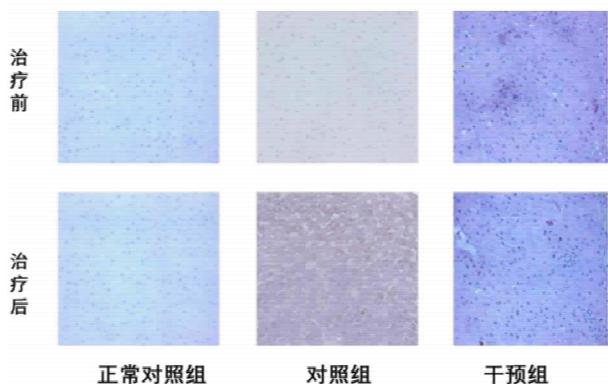


图 2 各组胰腺 Masson 染色形态学改变

表 1 治疗前后各组大鼠血糖和功能的影响

组别	FBG (mmol/L)	FINS (μg/L)	ISI
正常组			
治疗前(8周龄)	5.22 ± 0.84	1.41 ± 0.15	-2.16 ± 0.22
治疗后(32周龄)	5.19 ± 0.98	1.38 ± 0.16	-2.09 ± 0.24
对照组			
治疗前(8周龄)	5.64 ± 0.87	1.53 ± 0.31	-2.13 ± 0.31
治疗后(32周龄)	8.9 ± 0.76	3.44 ± 0.35	-3.40 ± 0.39
观察组			
治疗前(8周龄)	5.66 ± 0.96	1.55 ± 0.34	-2.14 ± 0.26
治疗后(32周龄)	7.74 ± 1.02	2.38 ± 0.24	-2.91 ± 0.32

### 3 讨论

有研究显示小鼠接受胰岛素受体基因敲除后可出现不同程度的胰岛素抵抗<sup>[1]</sup>, 而因 β 细胞功能受损导致胰岛素抵抗时可同时出现 β 细胞分泌胰岛素不足<sup>[24]</sup>。由此我们有理由相信胰岛素抵抗及 β 细胞功能减退是 T2DM 发病机制的重要环节, 随着糖尿病的发生发展, 胰腺的形态逐渐发生变化, 而此类形态改变是影响胰岛功能的基础。本研究以 OLETF 大鼠为研究对象, 该大鼠是目前国内外首推观察糖尿病的理想模型<sup>[5,9]</sup>, 本研究对 T2DM 模型、正常对照组大鼠进行胰腺形态学观察, 结果发现正常大鼠胰岛结构规则, 整齐, 而患有 T2DM 的大鼠胰岛形状不规则, 出现大量的纤维组织增生, 胰岛有明显的萎缩, 这说明 T2DM 的发生的确实伴随着胰岛结构的明显改变, 因此我们认为某种干预措施如若可以改善胰岛的形态结构, 应可以一定程度治疗 T2DM。

T2DM 属于中医学“消渴病”的范畴, 洋参御唐丸源自民间基础方, 是历代医贤针对消渴病的病因, 并结合临床经验拟订而成, 由多种地道名贵中药材

科学加工制成, 方中西洋参有滋阴益气圣药功效, 清代医家张锡纯在其《医学衷中参西录》一书中写到: “西洋参性凉而补, 凡欲用人参而不受人参之温者, 皆可以此代之”。黄芪有益气之功, 入脾肺经且有生血止渴的作用。龟甲有滋阴潜阳作用, 元医家朱丹溪认为龟甲大补阴血之上品。玉竹有养阴益胃生津的功效, 女贞子可清虚热, 而山药有进一步健脾胃之功, 山茱萸在补阳的同时可助精, 而白芍可敛阴, 乌梅亦可如肺经, 有生津止渴的作用, 加之鹿茸有补阳调冲任的作用。诸药合用共奏益气健脾、养阴生津止渴的功效, 与消渴病的病机相互呼应<sup>[10-15]</sup>。众所周知对于临床对于 T2DM 患者主要监测指标及血糖水平, 我们对不同组大鼠进行了长达 32 周的血糖水平的监测, 结果显示对照组和观察组大鼠的血糖水平有上调趋势, 这与国内外文献描述 T2DM 模型 OLETF 大鼠随着周龄的延长, T2DM 患病率逐渐增加的研究结果一致, 而在经过一段时间的干预后服用洋参御唐丸后观察组大鼠血糖水平明显低于未接受干预的大鼠, 这一结果表明我们不但成功饲养了 OLETF 大鼠, 且同时证实了洋参御唐丸可理想控制 T2DM 大鼠的血糖, 促使机体减少对葡萄糖吸收, 我们再对 3 组大鼠胰岛形态学观察时发现经过洋参御唐丸干预后大鼠胰岛的病理学表征逐渐恢复, 这说明洋参御唐丸可减轻胰岛的负担, 可纠正受损的胰岛功能, 恢复其调控机体血糖的能力, 减少胰岛的病理学损害。在形态学染色中我们发现观察组大鼠胰岛的纤维化变性程度逐渐减弱, 比较未干预大鼠可充分说明洋参御唐丸可维持胰岛的正常结构, 以实现预防糖尿病的目的。

### 参考文献

- [1] Matveyenko AV, Butler PC. Beta-cell deficit due to increased apoptosis in the human islet amyloid polypeptide transgenic (HIP) rat recapitulates the metabolic defects present in type 2 diabetes [J]. Diabetes, 2006, 55(7): 2106-2114.
- [2] Liu S, Okada T, Assmann A, et al. Insulin signaling regulates mitochondrial function in pancreatic beta-cells [J]. PLoS One, 2009, 4(11): e7983.
- [3] 伍一鸣, 陈程, 张俊清. 过氧化物酶增殖体激活受体-γ 辅助激活因子 1 mRNA 在 OLETF 大鼠组织表达的变化 [J]. 首都医科大学学报, 2010, 31(5): 623-627.
- [4] 王念鸿, 张俊清, 刘林, 等. 过氧化物酶增殖体激活受体-γ 辅助激活因子 1 在 OLETF 大鼠肝脏糖代谢中的作用 [J]. 实用医学杂志, 2016, 32(17): 2799-2802.
- [5] 李佳, 薛耀明, 潘永华, 等. 六味地黄丸对自发性糖尿病 OLETF 鼠脂代谢的影响 [J]. 广东医学, 2009, 30(5): 696-697.

(下接第 2437 页)

化疗性静脉炎临床表现为局部给药静脉及周围组织红肿,疼痛,静脉颜色加深,条索样改变,根据其临床表现曾定伦主任中医师提出该病“热壅血瘀”的中医病机:静脉穿刺及药物毒性等原因导致脉络创伤,湿热毒邪外侵,脉道不利,阻塞不通,气血瘀滞;瘀血阻滞,血行不畅,不通则痛;气血运行不畅,津液输布受阻则肿胀;瘀血内蕴,蕴久化热,则局部发热、发红。针对其中医病机,曾老师以“清热解毒,消肿软坚、活血化瘀”立法创制“护脉散”。本方据古方《兰室秘藏·疮疡门》“保生救苦散”为基础,原方由:寒水石、大黄、黄柏三味药物组成,曾老师易寒水石为芒硝,取黄芩、黄连代黄柏,加白芷,制成“护脉散”局部外敷治疗本病。本方中生大黄外用能凉血消肿,逐瘀通经,黄连、黄芩清热解毒,凉血消肿,芒硝外用取其清热消肿之功,更重要的是芒硝有软坚散结之效,对于静脉炎发生过程中组织充血,肿胀及血管壁条索状改变疗效显著,曾老师将寒水石改为石膏,并在该方中重用,加辛散通络止痛之白芷,迅速缓解静脉炎“肿,痛”症状,体现出老中医独特的临床思辨能力。

本研究结果显示“护脉散”能有效阻断和改善化疗性静脉炎血管内皮细胞损伤、炎性细胞浸润,减轻血管周围组织水肿和血管内血栓形成,从而有效预防和治疗化疗性静脉炎,疗效优于多磺酸粘多糖乳膏,具有临床应用价值。

#### 参考文献

- [1] Gasparini G, Caffo O, Barni S, et al. Vinorelbine is an active antiproliferative agent in pretreated advanced breast cancer patients: a phase II study [J]. *J Clin Oncol*, 1994, 12(10):2094-2101.
- [2] 邱敏, 邹文娟, 陶劲, 等. 护脉散治疗化疗性静脉炎的疗效观察 [J]. *中国药房*, 2015, 26(29):4092-4094.

- [3] 邱敏, 应坚, 刘莉. 护脉膏预防化疗性静脉炎临床疗效观察 [J]. *中医临床研究*, 2014, 6(2):29-31.
- [4] Herter J, Zarbock A. Integrin regulation during leukocyte recruitment [J]. *The Journal of Immunology*, 2013, 190(9):4451-4457.
- [5] Schnoor M, Alcaide P, Voisin M B, et al. Crossing the vascular wall: common and unique mechanisms exploited by different leukocyte subsets during extravasation [J]. *Mediators of inflammation*, 2015:1-23.
- [6] Voisin M B, Nourshargh S. Neutrophil transmigration: emergence of an adhesive cascade within venular walls [J]. *Journal of innate immunity*, 2013, 5(4):336-347.
- [7] 马丽娟, 王卓, 胡晋红. 西咪替丁对长春瑞滨所致输液性静脉炎的防治作用 [J]. *药学服务与研究*, 2009, 9(5):340-343.
- [8] Kohno E, Murase S, Nishikata M, et al. Methods of preventing vinorelbine-induced phlebitis: an experimental study in rabbits [J]. *International journal of medical sciences*, 2008, 5(4):218.
- [9] Shum E, Halmos B, Cheng H, et al. Vinorelbine-induced phlebitis is common in patients receiving adjuvant chemotherapy for non-small cell lung cancer (NSCLC) [C]//ASCO Annual Meeting Proceedings. 2016, 34(15):3-7.
- [10] 麦荣国, 覃彪民. 瘀肿消贴治疗急性软组织损伤的临床价值 [J]. *中国医药*, 2012, 7(4):419-420.
- [11] Konaka K, Moriyama K, Okada N, et al. Ephedra protects vascular endothelium cells from vinorelbine-induced cytotoxicity by preserving endothelial nitric oxide synthase activity [J]. *Traditional & Kamppo Medicine*, 2015, 2(2):74-80.
- [12] 周秀敏, 朱丽杰, 张秀梅, 等. 中医药防治化疗性静脉炎的新进展 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2013, 22(3):338-340.
- [13] 王红, 吴婷婷, 卢慧芳, 等. 长春瑞滨致家兔化疗性静脉炎血清 TNF- $\alpha$  变化趋势研究 [J]. *护理学杂志:外科版*, 2015, 30(1):48-49.
- [14] 张小来, 叶希平, 陈晓蓉, 等. 热敷法预防家兔化疗性静脉炎效果观察及机制探讨 [J]. *山东医药*, 2013, 53(22):22-24.
- [15] 周留勇, 尤建良, 单珍珠, 等. 复脉膏外敷防治长春瑞滨致兔耳缘静脉损伤的病理实验研究 [J]. *四川中医*, 2014, 32(5):58-61.

(2016-07-15 收稿 责任编辑:洪志强)

(上接第 2433 页)

- [6] 钱毅, 薛耀明, 李佳, 等. 六味地黄丸对自发性 2 型糖尿病大鼠血浆脂联素水平的影响 [J]. *南方医科大学学报*, 2008, 28(1):34-36.
- [7] Hanifi-Moghaddam P, Kappler S, Seissler J, et al. Altered chemokine levels in individuals at risk of Type 1 diabetes mellitus [J]. *Diabet Med*, 2006, 23(2):156-163.
- [8] 毛淑梅, 李承德, 王琳, 等. 黄芪多糖对糖尿病大鼠胰岛  $\beta$  细胞超微结构及 Fas 表达的影响 [J]. *中国药理学通报*, 2010, 26(6):791-793.
- [9] 杨宏莉, 张宏馨, 李兰会, 等. 山药多糖对 2 型糖尿病大鼠降糖机理的研究 [J]. *河北农业大学学报*, 2010, 33(3):100-103.
- [10] 赵大鹏, 隋艳波, 栾仲秋, 等. 洋参御糖方对糖尿病大鼠糖脂代谢的干预作用 [J]. *中医药信息*, 2013, 30(2):44-45.

- [11] 谢宁, 王小博, 吴颂. 洋参御糖丸对 STZ-DM 大鼠血脂影响的实验研究 [J]. *长春中医药大学学报*, 2008, 24(2):133-134.
- [12] 暴鹏. 洋参御糖丸对 STZ-2DM 大鼠 TNF- $\alpha$ 、IL-6 以及 GLUT 4 等表达调节的实验研究 [D]. 哈尔滨:黑龙江中医药大学, 2007.
- [13] 赵大鹏, 栾仲秋, 隋艳波, 等. 洋参御糖丸对糖尿病肾病模型大鼠肾组织 TGF- $\beta_1$ 、Smad2/3 表达的影响 [J]. *中医药学报*, 2014, 42(6):63-65.
- [14] 潘善余. 糖尿病从脾论治探讨 [J]. *浙江中医杂志*, 2004, 39(1):6-7.
- [15] 王德惠, 吴贤顺, 李晋宏, 等. 从脾虚“脾不散精”或“散精障碍”探讨糖尿病的中医病机 [J]. *中医杂志*, 2014, 55(22):1906-1908.

(2017-03-10 收稿 责任编辑:王明)