

经络舒胶囊对糖尿病动物坐骨神经的影响

张永萍, 孔德明, 刘 明, 徐 剑, 曾 真(贵阳中医学院药学院, 贵州 贵阳 550002)

摘要: **目的** 观察经络舒胶囊对糖尿病动物坐骨神经山梨醇(多元醇)代谢通路的影响。**方法** 通过复制链脲佐菌素性糖尿病动物模型, 观察经络舒胶囊对糖尿病后坐骨神经出现的多元醇代谢通路、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)及谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)水平紊乱的改善作用。**结果** (1)经络舒高剂量组对糖尿病后坐骨神经的传导速度及动作电位不应期有明显的保护作用, 可明显提高糖尿病动物模型坐骨神经的传导速度, 缩短其动作电位不应期($P < 0.05$)。(2)对糖尿病大鼠坐骨神经 MDA 及山梨醇水平升高有降低作用($P < 0.01$, $P < 0.05$); 可提高 GSH-PX、SOD 活性($P < 0.01$, $P < 0.05$)。**结论** 经络舒胶囊有一定的抑制糖尿病动物模型坐骨神经多元醇代谢的作用。

关键词: 经络舒胶囊; 糖尿病周围神经病变; 坐骨神经; 糖尿病动物模型

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)06-0582-03

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.06.014

Effects of *Jingluoshu* Capsule on Sciatic Nerve in Diabetic Animals

ZHANG Yongping, KONG Deming, LIU Ming, XU Jian, ZENG Zhen (Pharmacy Department, Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002 Guizhou, China)

Abstract: **Objective** To observe the effects of *Jingluoshu* Capsule on sciatic nerve polyol metabolic pathway in diabetic animals. **Methods** On streptozotocin-induced diabetic animal model, we observed the effect of *Jingluoshu* Capsule on sciatic nerve polyol pathway and on superoxide dismutase(SOD), malondialdehyde(MDA), glutathione peroxidase(GSH-PX) levels. **Results** (1)*Jingluoshu* capsule had obvious effect on increasing conduction velocity and shortening refractory period of sciatic nerve action potential in diabetic animal, and improved the pathological changes of sciatic nerve($P < 0.05$). (2) *Jingluoshu* capsule had an effect on decreasing the levels of MDA and sorbitol in sciatic nerve of diabetic animal, and could enhance the activities of GSH-PX and SOD ($P < 0.01$, $P < 0.05$). **Conclusion** *Jingluoshu* Capsule shows certain inhibitory effect on the hyperactivity of polyol metabolism in the STZ-induced diabetic animals.

Keywords: *Jingluoshu* capsule; Diabetic peripheral neuropathy; Sciatic nerve; Diabetic animal models

糖尿病(Diabetes mellitus, DM)是一种常见的内分泌代谢紊乱性疾病, 其神经病变是糖尿病最常见的慢性并发症之一, 其病理生理机制研究包括氧自由基学

说、山梨醇(多元醇)通路学说、蛋白非酶糖基化学说、己糖胺通路学说等^[1], 而研究最为广泛的是多元醇代谢通路学说^[2]。经络舒胶囊(简称“经络舒”)是贵

收稿日期: 2013-03-24

作者简介: 张永萍, 女, 教授, 研究方向: 主要从事药物新制剂新技术与新剂型研究。Email: zgygpg@126.com。通讯作者: 孔德明, 教授, 研究方向: 从事中西医结合内分泌相关临床与科研。Email: gyzyxydb@sina.com。

基金项目: 贵州省中药现代化科技产业研究开发专项项目(黔科合农字[2005] 5001 号)。

阳中医学院孔德明教授的经验方,由丹参、三七等组成,具有益气养阴、扶正和营、行滞通脉、活络止痛之功效,用于治疗糖尿病外周神经炎、糖尿病植物神经功能紊乱等症^[3]。本实验采用链脲佐菌素复制动物糖尿病模型,探讨经络舒对糖尿病动物多元醇代谢通路的作用与机制。

1 材料与方法

1.1 动物 昆明种雄性小鼠,体质量 18~22 g;Wistar 雄性大鼠,体质量 200~250 g,均由广西医科大学医学实验动物中心提供,合格证号:SYXK(桂)2003-0005。

1.2 药品及试剂 经络舒胶囊,贵阳中医学院中药制剂研究开发中心,批号:20050601;糖脉康颗粒,成都中汇制药有限公司,批号:050617;精蛋白锌胰岛素注射液,中国江苏万帮生化医药股份有限公司,批号:0506208;链脲佐菌素(Streptozotocin, STZ),美国 Sigma 公司,批号:S0130-1G,015K1279;山梨醇,国药集团化学试剂有限公司,批号:050509;丙二醛(MDA)试剂盒、超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)试剂盒,南京建成生物工程研究所。

1.3 仪器 One-Touch 血糖测定仪,美国强生公司;BL-420 生物机能实验系统,成都泰盟科技有限公司;台式高速离心机,上海安亭科学仪器厂;721B 型分光光度计,上海精密仪器仪表公司。

1.4 方法

1.4.1 模型复制 参照文献方法^[4],取雄性小鼠,静脉注射 200 mg·kg⁻¹ 链脲佐菌素(STZ),72 h 后以 One-Touch 血糖试纸测定尾静脉血糖,血糖水平大于 15 mmol·L⁻¹ 者为 STZ 糖尿病小鼠。参照文献方法^[5],取雄性大鼠,实验前禁食 12 h,然后腹腔注射 STZ(48 mg·kg⁻¹,临用前用枸橼酸缓冲液配制)复制模型,72 h 后以 One-Touch 血糖测定仪测定动物禁食 12 h 的空腹血糖,血糖水平大于 15 mmol·L⁻¹ 者为 STZ 糖尿病大鼠。

1.4.2 动物分组 将小鼠、大鼠分别分为 7 组,即正常对照组,模型组,胰岛素组(剂量为 1U),糖脉康组(剂量为 5 g·kg⁻¹),经络舒高、中、低剂量组(剂量分别为 4, 2, 1 g·kg⁻¹),除胰岛素组动物肌肉注射给药外,其余各组均灌胃给予相应的药物,小鼠灌胃容积为 20 mL·kg⁻¹,大鼠灌胃容积为 10 mL·kg⁻¹ 体质量,

每天 1 次,连续给药 60 d。

1.4.3 小鼠坐骨神经传导速度的测定 参照文献方法^[6-7]进行:末次给药后,小鼠用乌拉坦麻醉后,采用 BL-420 生物机能实验系统处理,记录小鼠坐骨神经动作电位不应期(ms),并计算坐骨神经传导速度[刺激电极到记录电极之间的距离/动作电位不应期(m·s⁻¹)]。

1.4.4 大鼠坐骨神经山梨醇、SOD、MDA、GSH-PX 含量的测定 参照文献方法^[8],末次给药后,大鼠用乌拉坦麻醉后,分离并取出双侧坐骨神经,用生理盐水洗净血液,加 4% 预冷过氯酸 1.5 mL 匀浆,3000 r·min⁻¹ 离心 10 s,3 次,取上清液,采用化学比色法,按照试剂盒说明书检测。

1.5 统计学处理方法 采用 SPSS 17.0 软件,计量资料数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较用单因素方差分析(one-way ANOVA)。

2 结果

2.1 经络舒对 STZ 糖尿病小鼠坐骨神经传导速度的影响 见表 1。与正常对照组比较,模型组小鼠坐骨神经动作电位不应期明显延长,差异有统计学意义($P < 0.05$);传导速度显著减慢,差异有统计学意义($P < 0.01$)。给药 60 d 后,各给药组神经传导均有改善,与模型组比较,胰岛素组、糖脉康组、经络舒高剂量组均能显著缩短动作电位不应期,增快神经传导速度,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1 经络舒对糖尿病小鼠坐骨神经传导速度及动作电位不应期的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 1 The effect of Jingluoshu Capsule on conduction velocity and refractory period of action potentials of the sciatic nerve in diabetic mice

组别	剂量/g·kg ⁻¹	n	动作电位不应期/ms	传导速度/m·s ⁻¹
正常对照组	-	10	0.55±0.10	28.03±5.54
模型组	-	11	0.72±0.16*	21.67±4.55**
胰岛素组	1 U	10	0.57±0.17 [△]	28.64±8.94 [△]
糖脉康组	5	11	0.58±0.13 [△]	27.39±6.79 [△]
经络舒高剂量组	4	12	0.59±0.12 [△]	26.55±5.95 [△]
经络舒中剂量组	2	11	0.67±0.23	25.10±9.13
经络舒低剂量组	1	12	0.71±0.17	22.31±5.51

注:与正常对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较,[△] $P < 0.05$ 。

2.2 经络舒对 STZ 糖尿病大鼠坐骨神经山梨醇、SOD、MDA、GSH-PX 含量的影响 见表 2。与正常对照

组比较,模型组大鼠坐骨神经山梨醇、MDA 水平明显升高,SOD、GSH-PX 含量显著降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。给药 60 d 后,各给药组坐骨神经山梨醇、MDA 水平均有一定程度的降低,与模型组比较,胰岛素组大鼠坐骨神经山梨醇含量显著降低,SOD、GSH-PX 含量显著升高 ($P < 0.05$),而经络舒高剂量组也能显著升高 GSH-PX 含量,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 2 经络舒对糖尿病大鼠坐骨神经山梨醇、SOD、MDA、GSH-PX 含量的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 2 The effect of *Jingluoshu* Capsule on sorbitol, SOD, MDA and GSH-PX level of the sciatic nerve in diabetic Rats

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	n	山梨醇 /μmol·L ⁻¹	MDA /nmol·mg ⁻¹ prot	SOD /U·mg ⁻¹ prot	GSH-PX /U·L ⁻¹
正常对照组	-	10	2.25 ± 1.76	2.88 ± 1.14	74.16 ± 19.09	295.24 ± 33.49
模型组	-	12	4.50 ± 2.38 [*]	5.71 ± 2.65 ^{**}	48.88 ± 23.35 ^{**}	247.86 ± 55.07 [*]
胰岛素组	2 U	10	2.42 ± 1.95 ^Δ	3.67 ± 1.11 ^Δ	70.81 ± 14.94 ^Δ	305.49 ± 41.74 ^Δ
糖脉康组	2.5	11	3.22 ± 1.24	4.23 ± 1.45	57.90 ± 25.00	285.71 ± 38.07
经络舒高剂量组	2.0	10	3.17 ± 1.54	4.49 ± 1.47	55.73 ± 12.46	294.51 ± 41.84 ^Δ
经络舒中剂量组	1.0	12	3.41 ± 1.73	4.84 ± 1.63	54.64 ± 15.25	279.61 ± 45.14
经络舒低剂量组	0.5	11	3.72 ± 1.66	5.09 ± 1.83	49.71 ± 18.58	272.39 ± 37.90

注:与正常对照组比较, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$;与模型组比较, ^Δ $P < 0.05$ 。

3 讨论

山梨醇(多元醇)通路机能亢进可诱导自由基产生过多,引发线粒体发生氧化应激反应损伤。这是因为葡萄糖的氧化代谢产物在过氧化物岐化酶的作用下,生成过氧化氢,又通过谷胱甘肽循环被代谢成水。而山梨醇通路的增强,使谷光甘肽循环所需的还原型辅酶Ⅱ减少,从而导致过氧化氢在细胞内堆积,使细胞线粒体 DNA 链断裂,从而导致细胞功能障碍和死亡^[9]。

山梨醇(多元醇)代谢异常被认为是糖尿病神经病变发生发展的关键因素^[10]。因为长期高血糖时可激活多元醇通路,雪旺氏细胞醛糖还原酶活性增加,将周围神经细胞内的过量葡萄糖还原为山梨醇并部分转换为果糖,大量蓄积在神经细胞内。蓄积的山梨醇直接

产生神经毒性作用,影响蛋白激酶 C 活性,使 Na⁺、K⁺、ATP 酶转运 Na⁺ 和 K⁺ 的能力减弱,细胞膜去极化受阻,细胞内渗透压增高,细胞肿胀、变性、坏死,从而导致神经细胞膜结构和功能的完整性受损,出现神经病变;蓄积的果糖则可促进神经细胞骨架蛋白的糖化,干扰神经的轴浆运输,引起远端感觉神经结构和功能的改变^[11]。

本实验结果显示,经络舒高剂量组能显著缩短 STZ 糖尿病小鼠坐骨神经动作电位不应期,提高神经传导速度,对糖尿病小鼠周围神经早期病变具有防治作用;而对 STZ 糖尿病大鼠坐骨神经山梨醇、SOD、MDA 含量影响不明显,但能明显增加 GSH-PX 含量,提示其作用机制可能与抑制坐骨神经多元醇代谢通路有关。

参考文献:

[1] 番寿蕊,杨红英. 醛糖还原酶与糖尿病慢性并发症病变关系的研究进展[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(1): 75-76.

[2] 杨红,周萍,陆瑛瑛,等. 丹参片对糖尿病患者周围神经病变的影响[J]. 中成药, 2007, 29(12): 18-19.

[3] 李红,刘青,孔德明. 经络舒胶囊治疗糖尿病周围神经病变的临床观察[J]. 贵阳中医学院学报, 2012, 34(3): 24-27.

[4] 罗昱澜,马杰津,黄仁彬,等. 克糖特 2 号对实验性糖尿病小鼠的药效学研究[J]. 中药新药与临床药理, 2007, 18(2): 96-99.

[5] 徐志刚,吴晨光,王丽,等. α- 硫辛酸对糖尿病大鼠坐骨神经氧化应激和细胞凋亡的影响[J]. 江苏大学学报(医学版), 2011, 21(1): 15-18.

[6] 常在,陆茵,李璘,等. 氨基胍改善糖尿病神经病变及作用机制分析[J]. 中国药理学通报, 2005, 21(1): 103-106.

[7] 张晓晨,金锦娣,顾爱良,等. 蛭虵方对糖尿病性周围神经炎的药效学研究[J]. 中成药, 2002, 24(7): 522-526.

[8] 张均田. 现代药理实验方法学[M]. 北京:北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社, 1998: 1015-1017.

[9] 杨美玲,穆景阳,卢华爱,等. 复方丹参片对糖尿病大鼠山梨醇代谢通路的影响[J]. 宁夏医学杂志, 2010, 32(12): 1099-1101.

[10] 张敏,梅元武. 糖尿病性周围神经病[J]. 实用医学进修杂志, 2006, 34(3): 136-139.

[11] 刘瑶霞,陈平. 高血糖神经毒性研究进展[J]. 西部医学, 2009, 10(21): 1805-1808.

(编辑: 邓响潮)