

·方药研究·

本文引用:符超君,凌艳君,颜家朝,赵永旺,刘峥嵘,秦裕辉.双丹明目胶囊对糖尿病视网膜病变大鼠血糖血脂及血液流变学的影响[J].湖南中医药大学学报,2018,38(5):489-492.

## 双丹明目胶囊对糖尿病视网膜病变大鼠血糖 血脂及血液流变学的影响

符超君<sup>1</sup>,凌艳君<sup>2</sup>,颜家朝<sup>1</sup>,赵永旺<sup>1</sup>,刘峥嵘<sup>2</sup>,秦裕辉<sup>1\*</sup>

(1.湖南中医药大学,湖南长沙410208;2.湖南省中医药研究院,湖南长沙410006)

**[摘要]** **目的** 观察双丹明目胶囊对糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)大鼠血糖血脂及血液流变学的影响,探讨其可能的治疗机制。**方法** SD大鼠经一次性尾静脉注射STZ(50 mg/kg)诱导DR模型,随机分为模型组,双丹明目胶囊高、中、低组,导升明组,同时以正常大鼠为对照。连续干预30 d后,生化法检测大鼠血糖、血脂水平,全自动血液流变快测仪检测大鼠全血粘度(WBV)、血浆粘度(PV)、红细胞沉降率(ESR)、红细胞压积(HCT)、纤维蛋白原(FIB)等血液流变指标。**结果** 与正常组比较,模型组大鼠血糖、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白(LDL-C)水平均显著升高( $P<0.01$ ),高密度脂蛋白(HDL-C)水平显著下降( $P<0.01$ ),WBV、PV、ESR、HCT、FIB水平均显著升高( $P<0.01$ 或 $P<0.05$ );双丹明目胶囊干预后,模型大鼠血糖、TC、TG、LDL-C水平均下降( $P<0.05$ ),HDL-C上升( $P<0.05$ ),WBV、PV、ESR、HCT、FIB水平均下降( $P<0.05$ )。**结论** 双丹明目胶囊治疗DR的机制可能与有效改善DR大鼠血糖血脂紊乱、血液流变异常状态有关。

**[关键词]** 糖尿病视网膜病变;双丹明目胶囊;血糖;血脂;血液流变学

**[中图分类号]**R285.5;R774.1;R587.1 **[文献标志码]**A **[文章编号]**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2018.05.001

### Effects of Shuangdan Mingmu Capsule on Blood Glucose, Blood Lipid and Blood Rheology in Diabetic Retinopathy Rats

FU Chaojun<sup>1</sup>, LING Yanjun<sup>2</sup>, YAN Jiazhao<sup>1</sup>, ZHAO Yongwang<sup>1</sup>, LIU Zhengrong<sup>2</sup>, QIN Yuhui<sup>1\*</sup>

(1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. Hunan Academy of Chinese medicine, Changsha, Hunan 410006, China)

**[Abstract]** **Objective** To observe the effects of Shuangdan Mingmu capsule on blood glucose, blood lipid and blood rheology, and to explore its possible mechanism of treatment. **Methods** SD rats were injected with STZ (50 mg / kg) into the tail vein to induce diabetic model with retinopathy. The rats were randomly divided into model group, high dose, medium dose and low dose of Shuangdan Mingmu capsule groups and positive drug group, normal rats as controls. After continuous administration for 30 days, the blood glucose and blood lipid of rats were measured by biochemical method. The hemorrheological indexes were tested such as whole blood viscosity (WBV), plasma viscosity (PV), erythrocyte sedimentation rate (ESR), hematocrit (HCT) and fibrinogen (FIB). **Results** Compared with the normal group, the levels of blood glucose, total cholesterol (TC), triglyceride (TG) and low density lipoprotein (LDL-C) in model group increased significantly ( $P<0.01$ ) and high-density lipoprotein (HDL-C) levels decreased significantly ( $P<0.01$ ). The levels of WBV, PV, ESR, HCT, FIB increased obviously ( $P<0.01$  or  $P<0.05$ ). After administration of Shuangdan Mingmu capsule, blood glucose, TC, TG, LDL-C levels of model rats decreased ( $P<0.05$ ), HDL-C increased ( $P<0.05$ ), the

**[收稿日期]**2018-01-30

**[基金项目]**国家自然科学基金面上项目(81473737);湖南省研究生创新课题(CX2016B353)。

**[作者简介]**符超君,男,在读博士研究生,研究方向:中医防治糖尿病视网膜病变的机制研究。

**[通讯作者]**\* 秦裕辉,男,博士研究生导师,教授,E-mail:dlqyh@sohu.com.

levels of WBV, PV, ESR, HCT, FIB declined ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The mechanism of Shuangdan Mingmu capsule in the treatment of DR might be related to the effective improvement of blood glucose and lipid disorders, and abnormal blood rheology in DR rats.

[**Keywords**] diabetic retinopathy; Shuangdan Mingmu capsule; blood glucose; blood lipid; blood rheology

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病最严重、发生率最高的并发症之一,据报道,约20%~40%的糖尿病患者有不同程度的视网膜病变情况,且发生率随着糖尿病病程的发展而明显增高<sup>[1]</sup>。目前,DR的治疗尚缺乏有效的药物,较公认的治疗药物是西药导升明,但考虑到其依赖性高、副作用较大等缺点以及中药的优势,寻找一种能有效控制DR发生发展的中药复方具有重要的临床价值。

双丹明目胶囊是湖南中医药大学秦裕辉教授结合多年临床经验及现代研究成果而研发的国家准字号新药(国药准字Z20080062),主治肝肾阴虚、瘀血阻络所致的糖尿病视网膜病变,经临床验证,其疗效显著,临床使用安全<sup>[2-3]</sup>。临床和实验研究表明,双丹明目胶囊能明显改善DR患者视网膜病变状况,降低DR模型大鼠视网膜中血管内皮生长因子(VEGF)表达,抑制微血管生成,减缓视网膜损伤<sup>[4-5]</sup>。然而,双丹明目胶囊能否有效改善模型大鼠的血糖血脂紊乱情况以及血液流变状态,尚未进行相关研究。本研究拟在前期基础上,进一步以血糖、血脂及血液流变学指标为切入点,探讨双丹明目胶囊治疗DR的疗效,对于糖尿病微血管病变的临床防治具有借鉴意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 药物

双丹明目胶囊由女贞子、旱墨莲、三七、山茱萸、山药、牡丹皮、茯苓、红土茯苓、牛膝、丹参、泽泻11味药材组成,饮片购自湖南上药九旺医药有限公司。导升明(羟苯磺酸钙)胶囊购自奥地利依比威药品有限公司,批号:170603,制备药物浓度为0.58 mg/mL。

### 1.2 实验动物

SPF级雄性SD大鼠68只,体质量220~240 g,购自湖南斯莱克景达实验动物公司,生产许可证号为SCXK(湘)2013-0004,饲养于湖南省中医药研究院SPF级实验动物中心。大鼠购入后先适应性喂养5 d,期间自由摄食饮水。

### 1.3 试剂与主要仪器

链脲佐菌素(STZ)购自美国Sigma公司;总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白(HDL-C)、低密度脂蛋白(LDL-C)试剂盒购自中生北控生物科技股份有限公司;纤维蛋白原含量测定试剂盒购自北京世帝科学仪器公司;血糖测量仪、血糖试纸购自美国Johnson公司;5417R低温高速离心机购自德国Eppendorf公司;FASCO-3010D全自动血液流变快测仪购自瑞士Roche公司;MK3型酶标仪购自美国Thermo公司。

### 1.4 造模与干预

68只SD大鼠首先随机分为正常组(10只)和糖尿病组(58只)。糖尿病组在高脂灌胃14 d后,采用一次性尾静脉注射STZ(50 mg/kg)方法建立糖尿病模型,于STZ注射72 h后测定所有大鼠空腹血糖值。根据血糖测定结果,选取 $\geq 16.70$  mmol/L的大鼠作为糖尿病模型大鼠。继续饲养一周后,对所有糖尿病大鼠进行眼底荧光血管造影,选取视网膜具有微血管病变的大鼠视为DR模型成功(48只)。然后,选取45只DR大鼠随机分为模型组,双丹明目胶囊高、中、低剂量组,导升明组,每组9只。双丹明目胶囊高、中、低剂量组分别对应临床等效剂量的2倍、1倍、0.5倍,对应药物剂量分别为11.2、5.6、2.8 g/kg,导升明组等效给药剂量为5.8 mg/kg,正常组与模型组均给予等容量的蒸馏水,持续给药30 d。末次给药后,所有动物进行血糖值测定后麻醉大鼠,腹主动脉取血保存于抗凝管中。

### 1.5 空腹血糖值测定

测定前所有大鼠禁食6 h,采用剪尾取血法剪取大鼠尾部动脉血,血糖仪测定各组大鼠的空腹血糖值。

### 1.6 血脂四项检测

取抗凝管中的血液,于3 000 r/min离心10 min后,取上层血液即为大鼠血浆样本,然后严格按照试剂盒说明书检测血浆中TC、TG、HDL-C、LDL-C的含量。

### 1.7 血液流变学指标检测

采用血液粘度测试仪,取切速  $1\text{ s}^{-1}$ ,自动测定全血粘度(WBV)值;WBV 测试完成后,全血于  $3\ 000\ \text{r/min}$  离心  $10\ \text{min}$  吸取血浆,取切速  $200\ \text{s}^{-1}$ ,测定血浆粘度(PV)值;另吸取  $1\ \text{mL}$  全血置于压积管中静置  $1\ \text{h}$  读数记录红细胞沉降率(ESR)值;ESR 值记录完成后,于  $3\ 000\ \text{r/min}$  离心  $30\ \text{min}$ ,读数记录红细胞压积(HCT);血浆纤维蛋白原(FIB)的测定严格按照试剂盒说明书进行。

### 1.8 数据分析处理

采用 SPSS 17.0 软件进行数据分析,计量资料用“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,组间差异采用单因素方差分析(*Oneway-ANOVA*),*t* 检验,双侧检验,以  $\alpha=0.05$  作为检验水准。

## 2 结果

### 2.1 双丹明目胶囊对 DR 大鼠血糖、血脂四项的影响

与正常组比较,模型组大鼠血糖值、TC、TG、LDL-C 水平均显著升高( $P<0.01$ ),HDL-C 水平显著下降( $P<0.01$ );与模型组比较,双丹明目胶囊高剂量组大鼠血糖值、TC、TG、LDL-C 水平均有不同程度的下降,HDL-C 水平上升,差异均有统计学意义( $P<0.05$ ),且中剂量组也有一定的降血糖效果( $P<0.05$ );然而,导升明组大鼠血糖值、TC、TG、HDL-C、LDL-C 水平均与模型大鼠差异无统计学意义( $P>0.05$ )。结果见表 1。

表 1 各组大鼠血糖、血脂四项结果比较 ( $\bar{x}\pm s$ , mmol/L,  $n=9$ )

组别	血糖	TC	TG	HDL-C	LDL-C
正常组	5.7±0.5	0.87±0.09	0.59±0.05	1.08±0.09	0.77±0.16
DR 模型组	27.5±3.3**	2.43±0.33**	1.45±0.10**	0.39±0.04**	1.43±0.16**
高剂量组	22.7±4.4 <sup>#</sup>	1.98±0.43 <sup>#</sup>	1.05±0.07 <sup>#</sup>	0.68±0.08 <sup>#</sup>	0.98±0.19 <sup>#</sup>
中剂量组	23.4±5.1 <sup>#</sup>	2.17±0.38	1.28±0.09	0.55±0.06	1.15±0.22
低剂量组	25.1±5.7	2.23±0.44	1.41±0.08	0.48±0.05	1.32±0.15
导升明组	27.1±6.3	2.41±0.48	1.44±0.06	0.40±0.04	1.40±0.19
<i>F</i> 值	150.7	144.1	121.9	125.0	98.13
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:与正常组比较,\*\* $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>#</sup> $P<0.05$ 。

### 2.2 双丹明目胶囊对 DR 大鼠血液流变学指标的影响

与正常组比较,DR 模型组大鼠 WBV、PV、ESR、HCT、FIB 水平均显著升高( $P<0.01$  或  $P<0.05$ );在给

予高剂量的双丹明目胶囊干预后,大鼠上述指标均得到不同程度的逆转( $P<0.05$ );此外,导升明也有改善模型大鼠血液流变状态的功效( $P<0.01$  或  $P<0.05$ )。结果见表 2。

表 2 各组大鼠血液流变学指标检测结果比较 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=9$ )

组别	WBV/mPa·s <sup>-1</sup>	PV/mPa·s <sup>-1</sup>	ESR/mm·h <sup>-1</sup>	HCT/%	FIB/g·L <sup>-1</sup>
正常组	27.8±6.2	1.60±0.12	1.22±0.43	48.6±6.7	3.81±0.40
DR 模型组	42.4±8.5**	1.91±0.21*	2.24±0.34**	67.8±5.9**	4.62±0.61*
高剂量组	39.7±8.8 <sup>#</sup>	1.71±0.16 <sup>#</sup>	1.65±0.47 <sup>#</sup>	54.1±7.2 <sup>#</sup>	3.94±0.46 <sup>#</sup>
中剂量组	35.8±9.2	1.78±0.21	1.75±0.33	57.7±7.6	4.02±0.41
低剂量组	35.6±8.3	1.77±0.25	1.82±0.35	60.3±6.4	4.25±0.51
导升明组	35.5±6.7 <sup>##</sup>	1.64±0.22 <sup>#</sup>	1.68±0.37 <sup>#</sup>	49.9±6.5 <sup>##</sup>	3.89±0.56 <sup>#</sup>
<i>F</i> 值	54.89	11.87	47.87	23.04	14.27
<i>P</i> 值	0.004	0.046	0.009	0.007	0.029

注:与正常组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>#</sup> $P<0.05$ ,<sup>##</sup> $P<0.01$ 。

## 3 讨论

DR 是糖尿病微血管病变中最常见、也是最严重的并发症之一,临床多以视网膜微血管生成、出血、水肿、渗出等为主要特征<sup>[6]</sup>。DR 的中医病机可理解为肝肾阴虚、瘀血阻络,其中阴虚为本、肾虚为根、血瘀为标。中医治疗 DR 以滋阴、补肾、活血为基本法则,双丹明目胶囊则是基于此理法并结合多年临床经验成方,临床疗效显著。前期研究表明,双丹明目胶囊能减缓 DR 患者视网膜病变程度,改善 DR 大鼠视网膜微血管损伤,通过抑制视网膜 VEGF 表达而减少微血管的生成,保护视网膜组织。本研究在前期临床和实验基础上,以 DR 模型大鼠为研究对象,探讨双丹明目胶囊对 DR 大鼠血糖血脂及血液流变学的影响。

血糖值作为糖尿病的核心指标,与糖尿病患者视网膜病变的发生率密切相关,DR 多发生于长时间未能有效控制血糖值的情况下<sup>[7]</sup>。脂类代谢紊乱是导致胰岛素抵抗产生的重要原因,是 2 型糖尿病及其并发症后期发生发展至不可控的关键因素<sup>[8]</sup>。血糖血脂的紊乱程度是影响糖尿病并发症,尤其是微血管并发症治疗的重要阻力。然而,治疗 DR 的临床首选药物导升明无降糖降脂效果,必须与其他西药联用以控制血糖值,而这加重了药物的依赖性及其潜在的风险性<sup>[9]</sup>。中药立足于整体,能多环节、多途径作用于疾病,改善患者依从性,增加用药安全。本

研究结果确证了导升明无降糖降脂作用,并发现双丹明目胶囊能有效改善 DR 大鼠的血糖血脂紊乱状态,具有独特的治疗优势。

DR 的发生发展是多因素协同作用的结果,研究表明,糖尿病患者普遍存在血液流变学指标的改变,而 DR 的发生与血液流变性紊乱密切相关<sup>[10]</sup>。糖尿病患者红细胞聚集性增强,压积增大,易导致视网膜微血管中微血栓形成,阻塞微血管并形成微血管瘤,进一步加重视网膜组织缺血缺氧,加速疾病的恶化<sup>[11]</sup>。纠正患者血液流变性异常可显著降低 DR 的发生率,是 DR 治疗的靶点之一<sup>[12]</sup>。本实验结果表明,双丹明目胶囊和导升明均能显著降低 DR 大鼠 WBV、PV、ESR、HCT、FIB 水平,降低血液粘度,抑制红细胞聚集,其治疗作用可能是通过改善大鼠血液流变异常状态实现的。

综上,本研究发现双丹明目胶囊能有效改善 DR 疾病下血糖血脂紊乱、血液流变异常状态,其可能与双丹明目胶囊保护视网膜组织、治疗 DR 的机制有关。本研究对于糖尿病微血管并发症的中医药防治有一定的借鉴价值,但药物更多深入的疗效机制仍有待进一步研究。

#### 参考文献:

[1] HUANG O S, TAY W T, ONG P G, et al. Prevalence and determinants of undiagnosed diabetic retinopathy and vision-threatening retinopathy in a multiethnic Asian cohort: the Singapore Epidemiology of Eye Diseases (SEED) study[J]. *Br J Ophthalmol*, 2015,99(12):1614-1621.

[2] 涂良钰,王文长,王育良,等.双丹明目胶囊治疗糖尿病视网膜病变的临床研究[J].*中国新药杂志*,2009,24(18):2331-2336.

[3] 秦裕辉,李 芳,涂良钰,等.双丹明目胶囊治疗糖尿病视网膜病变的多中心临床研究[J].*湖南中医药大学学报*,2010,30(1):46-51.

[4] 秦裕辉,李文娟,张 熙,等.双丹明目胶囊对糖尿病视网膜病变大鼠视网膜 VEGF 和 VEGFR 蛋白表达的影响[J].*湖南中医药大学学报*,2015,35(6):1-3.

[5] 秦裕辉,李文娟,张 熙,等.双丹明目胶囊对糖尿病视网膜病变大鼠血糖及视网膜功能的影响[J].*国际眼科杂志*,2014,14(11):1943-1945.

[6] DOW C, MANCINI F, RAJAABELINAK, et al. Diet and risk of diabetic retinopathy: a systematic review[J]. *Eur J Epidemiol*,2018,33(2):141-156.

[7] 生 侠,谢 青,刘彩霞,等.糖尿病视网膜病变患者血糖及凝血指标的变化[J].*中国现代医学杂志*,2017,27(12):133-136.

[8] ELEAZU C O, ELEAZU K C, IROAGANACHI M A. Effect of cocoyam (*Colocasia esculenta*), unripe plantain (*Musa paradisiaca*) or their combination on glycosylated hemoglobin, lipogenic enzymes, and lipid metabolism of streptozotocin-induced diabetic rats[J]. *Pharm Biol*,2016,54(1):91-97.

[9] JAVADZADEH A, GHORBANIHAGHJO A, ADL FH, et al. Calcium dobesilate reduces endothelin-1 and high-sensitivity C-reactive protein serum levels in patients with diabetic retinopathy[J]. *Mol Vis*, 2013,19:62-68.

[10] 杨洁文,范红娟,赵自冰.健目冲剂对单纯性糖尿病视网膜病变患者血液流变性的影响[J].*中国中医急症*,2009,18(8):1261-1262.

[11] WU J, WANG R, YEZ, et al. Protective effects of methanolic saline on diabetic retinopathy via anti-inflammation in a streptozotocin-induced diabetic rat model[J]. *BiochemBiophys Res Commun*, 2015,466(2):155-162.

[12] 何剑峰,杜 娟,唐柳萍,等.糖尿病大鼠视网膜微血管变化与血液流变学的关系[J].*中国临床康复*,2005,31(9):93-95.

(本文编辑 杨 瑛)