

# 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

秦裕辉<sup>1</sup>, 李文娟<sup>2</sup>, 张熙<sup>2</sup>, 戴宗顺<sup>2</sup>, 陈晓柳<sup>2</sup>, 周亚莎<sup>2</sup>, 凌艳君<sup>1</sup>, 郑兵<sup>1</sup>

**基金项目:**国家自然科学基金面上项目(No. 81473737); 湖南省教育厅科研基金重点项目(No. 13A072)

**作者单位:**<sup>1</sup>(410006) 中国湖南省长沙市, 湖南省中医药研究院; <sup>2</sup>(410007) 中国湖南省长沙市, 湖南中医药大学

**作者简介:**秦裕辉, 硕士, 博士研究生导师, 研究方向: 中医眼科学和中西医结合眼科学。

**通讯作者:**秦裕辉. dlqyh@sohu.com

**收稿日期:**2014-06-08 **修回日期:**2014-10-13

## Effects of Shuangdanmingmu capsule on blood glucose and retinopathy in rats with diabetic retinopathy

Yu-Hui Qin<sup>1</sup>, Wen-Juan Li<sup>2</sup>, Xi Zhang<sup>2</sup>, Zong-Shun Dai<sup>2</sup>, Xiao-Liu Chen<sup>2</sup>, Ya-Sha Zhou<sup>2</sup>, Yan-Jun Ling<sup>1</sup>, Bing Zheng<sup>1</sup>

**Foundation items:** National Natural Science Foundation of China (No. 81473737); Key Project Foundation of Educational Research of Hunan Educational Committee (No. 13A072)

<sup>1</sup>Hunan Academy of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410006, Hunan Province, China; <sup>2</sup>Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, Hunan Province, China

**Correspondence to:** Yu-Hui Qin. Hunan Academy of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410006, Hunan Province, China. dlqyh@sohu.com

**Received:**2014-06-08 **Accepted:**2014-10-13

### Abstract

• **AIM:** To observe pathological changes of blood glucose, the retina and pancreatic tissue after establishing rats diabetic retinopathy (DR) model, and preliminary evaluate of Shuangdanmingmu capsule on the improvement of retina and pancreas tissue structure.

• **METHODS:** DR rats were fed with Shuangdanmingmu capsule. Then the blood glucose and glycated hemoglobin were determined. Immunohistochemical staining was used to observe the expression of structure of retino and pancreas.

• **RESULTS:** Compared with the control group, the blood glucose and glycates hemoglobin in Shuangdanmingmu group were decreased after 2mo of treatment ( $P < 0.01$ ). The layers tissue of retina was less edema and gradually arranged in Shuangdanmingmu group. The structure of pancreas was clear basically. Fat cells, infiltrati on of lymphocytes and fibrosis hyperplasia appeared in the interacinar and interlobular connective tissue. Some acinar and islet cells of fatty rat pancreatic tissue had fatty or vesicular degeneration.

• **CONCLUSION:** Shuangdanmingmu capsule can decrease blood glucose and glycates hemoglobin in DR rats effectively and improve the ultrastructure of retina and pancreas tissue.

• **KEYWORDS:** diabetic retinopathy; Shuangdanmingmu capsule; blood glucose; retina; pancreas

**Citation:** Qin YH, Li WJ, Zhang X, et al. Effects of Shuangdanmingmu capsule on blood glucose and retinopathy in rats with diabetic retinopathy. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2014;14(11):1943-1945

### 摘要

**目的:** 通过建立大鼠糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)模型, 观察造模后大鼠的血糖以及视网膜和胰腺组织的病理变化, 初步评价双丹明目胶囊对改善 DR 视网膜和胰腺组织结构的效应。

**方法:** 将双丹明目胶囊作用于 DR 大鼠, 通过与正常组、模型对照组、阳性对照组的比较, 观察双丹明目胶囊对 DR 大鼠视网膜和胰腺形态学的影响。

**结果:** 经双丹明目胶囊治疗 2mo 后, 双丹明目组大鼠血糖和糖化血红蛋白与模型对照组比较均明显降低, 血糖差异有显著意义 ( $P < 0.01$ )。双丹明目组病变较模型对照组轻, 光感受器细胞层排列基本整齐, 各层组织细胞内、细胞外水肿现象较模型对照组轻, 毛细血管管腔无闭塞, 周细胞轻度水肿。

**结论:** 双丹明目胶囊能有效降低 DR 大鼠血糖和糖化血红蛋白含量。双丹明目胶囊能有效改善 DR 大鼠视网膜和胰腺组织结构。

**关键词:** 糖尿病视网膜病变; 双丹明目胶囊; 血糖; 视网膜; 胰腺

**DOI:**10.3980/j.issn.1672-5123.2014.11.07

**引用:** 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. *国际眼科杂志* 2014;14(11):1943-1945

### 0 引言

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病最为常见和严重的并发症, 是严重威胁着人类生存质量的致盲眼病, 也是当今医学领域亟需解决的重大难题。控制血糖虽然是治疗 DR 的基本原则, 但单纯的控制血糖并不能完全阻止 DR 的发展, 目前为止尚无一种药物或治疗方法能完全有效地抑制 DR 的发生发展<sup>[1]</sup>。本研究主要通过建立 DR 大鼠模型, 探讨中药双丹明目胶囊对造模后大鼠的血糖以及视网膜和胰腺组织的病理变化, 初步评价双丹明目胶囊改善 DR 视网膜和胰腺组织结构的效应。

表1 各组大鼠血糖变化 ( $\bar{x} \pm s$ , mmol/L)

组别	造模前	造模后 1wk	造模后 2wk	造模后 1mo	造模后 2mo
正常组	6.51±0.12	6.22±0.43	6.64±0.54	6.44±0.43	6.54±0.09
模型对照组	5.95±0.10	7.10±0.07 <sup>b</sup>	7.19±0.07 <sup>b</sup>	7.30±0.13 <sup>b</sup>	7.84±0.07 <sup>b</sup>
双丹明目组	6.19±0.05	7.14±0.05 <sup>b</sup>	7.16±0.07 <sup>b</sup>	6.96±0.06 <sup>b</sup>	6.61±0.20 <sup>b</sup>
阳性对照组	6.13±0.10	7.14±0.06 <sup>b</sup>	7.18±0.06 <sup>b</sup>	7.28±0.03 <sup>b</sup>	7.74±0.11 <sup>b</sup>

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 正常组。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

1.1.1 动物实验模型的制备 取健康,无眼部疾患,1月龄SD大鼠40只(北京维通利华实验动物有限公司提供,SPF级,远交系),体质量0.25kg左右。采用随机数字法分为A、B、C、D4组,每组10只。分别为:A组:正常组;B组:模型对照组;C组:双丹明目组;D组:阳性对照组。除A组外的30只大鼠进行造模,造模前大鼠禁食10h,自由饮水。链脲佐菌素(Streptozotocin,STZ)50mg/kg的剂量一次性大鼠尾静脉注射。A组大鼠尾静脉注射等量生理盐水。72h后取尾静脉血,强生血糖测试仪测血糖;尿糖试纸定性测尿糖。空腹血糖浓度>16.7mmol/L、尿糖在+++以上者,即为糖尿病大鼠。成模后观察1wk,稳定者为造模成功。然后开始计算病程。

1.1.2 实验材料 双丹明目胶囊:由湖南省中医药研究院药剂科提供,批号:国药准字Z20080062。羟苯磺酸钙(Calcium dobesilate,昊畅):250mg/粒,批号:国药准字H20030809。重组人血管内皮抑制素注射液(恩度):15mg/3mL/支,批号:国药准字S20050088。

### 1.2 方法

1.2.1 给药方法 各组动物自造模后1wk后开始连续灌胃用药8wk。A、B组用生理盐水(10mL/kg,每日1次)灌胃;C组使用双丹明目胶囊溶液灌胃,剂量12.5mL/kg;D组用羟苯磺酸钙溶液(昊畅)灌胃+重组人血管内皮抑制素(恩度)玻璃体内注射<sup>[2]</sup>,昊畅:每日1次,恩度:5g/L,造模后第10d开始玻璃体注射,1次/10d;各组大鼠均不限饮食,每日更换垫料1次,按时通风,保持环境安静。

#### 1.2.2 取材及指标测定

1.2.2.1 血糖及糖化血红蛋白观察 在造模后1,2wk,治疗1,2mo进行血糖的测定。测血糖前1d晚上对动物开始禁食12h。用固定器固定大鼠后在尾尖消毒后断尾,挤出血液滴于试纸上,用血糖仪进行检测,读取显示的血糖值并记录。给药前测糖化血红蛋白1次,处死动物前测糖化血红蛋白1次。

1.2.2.2 病理组织学观察 20g/L戊巴比妥钠过量麻醉后断头法处死动物,即刻摘除眼球及胰腺以10%福尔马林固定24h,酒精脱水,石蜡包埋,4 $\mu$ m垂直于视网膜作连续切片,HE染色。光镜观察比较各组胰腺及视网膜组织血管及内皮细胞数。每组各取20张切片,每张病理切片分别对3个视野进行观察计数,比较各组之间内皮细胞数和血管数量的差异。

统计学分析:所有实验数据采用SPSS 16.0系统软件处理。计量资料实验数据以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,先进行正态性分布及方差齐性检验,若满足正态性和方差齐性,多组比较采用方差分析(LSD法及Dunnett法)。不满足正态性和方差齐性时,则用非参数多重比较。计数资料

采用 $\chi^2$ 检验,方差不齐者进行秩和检验。 $P < 0.05$ 认为有统计学意义,以 $P < 0.01$ 为有显著性统计学意义。

## 2 结果

2.1 各组大鼠血糖变化 通过对大鼠血糖的检测显示,各组造模前血糖差异无明显差异( $P > 0.05$ ),造模后1,2wk各手术组较正常组血糖明显升高,各手术组间血糖无明显差异( $P > 0.05$ )。造模1mo后双丹明目组大鼠血糖降低,其余各手术组血糖继续升高。经双丹明目胶囊治疗2mo后,大鼠血糖与模型对照组比较均明显降低,与模型对照组相比血糖差异有显著意义( $P < 0.01$ )。造模前及治疗1,2wk;1,2mo时各组血糖值及血糖变化曲线见表1。

2.2 各组糖化血红蛋白变化 通过对大鼠糖化血红蛋白的检测显示,各组造模前糖化血红蛋白差异无明显差异( $P > 0.05$ )。经双丹明目胶囊治疗2mo后,大鼠糖化血红蛋白与模型对照组比较均明显降低,与模型对照组相比糖化血红蛋白差异有显著意义( $P < 0.01$ )。造模前及治疗2mo时各组糖化血红蛋白值见表2。

2.3 HE染色光镜下观察视网膜 给药2mo后,模型对照组视网膜各层组织均出现程度不等细胞、细胞间水肿等现象。光感受器细胞层细胞结构较紊乱。外核层、外丛状层、内核层、内丛状层出现细胞内、细胞间水肿。部分毛细血管管腔闭塞,周细胞水肿。节细胞出现肿胀、胞浆脱失、溶解现象,节细胞数量有所减少。双丹明目组和阳性对照组形态表现相似,光感受器细胞层排列基本整齐,各层组织细胞内、细胞外水肿现象较模型对照组轻,毛细血管管腔无闭塞,周细胞轻度水肿。部分节细胞出现肿胀溶解现象(图1)。

2.4 HE染色光镜下观察胰腺 模型对照组大鼠胰岛细胞间和胰腺小叶间的结缔组织内出现脂肪细胞的堆积,发生炎症细胞的浸润,以淋巴细胞为主;显示成纤维细胞的增生,甚至纤维化。部分腺泡细胞出现脂肪变性。腺泡细胞体积增大,胞浆结构不清并可见许多小空泡,部分腺泡细胞发生萎缩,体积缩小,胞浆减少,核浓缩深染。双丹明目组大鼠胰组织结构基本清晰,胰岛细胞间和胰腺小叶间的结缔组织内可见脂肪细胞,胰岛边缘少量炎症细胞浸润。腺泡细胞体积未见明显增大。阳性对照组大鼠胰岛细胞间和胰腺小叶间的结缔组织内出现脂肪细胞的堆积,发生炎症细胞的浸润,以淋巴细胞为主;显示成纤维细胞的增生,甚至纤维化。部分腺泡细胞出现脂肪变性(图2)。

## 3 讨论

糖尿病视网膜病变是糖尿病最常见的微血管并发症和成年人后天性失明的主要原因<sup>[3]</sup>。目前认为糖尿病患者存在明显的血管内皮细胞结构和功能损伤,并认为其可能是微血管病变发生、发展的主要原因<sup>[4]</sup>。本实验从中医“肾虚血瘀”的角度,探讨双丹明目胶囊对于DR模型大鼠血糖及视网膜血管和胰腺组织的干预作用。



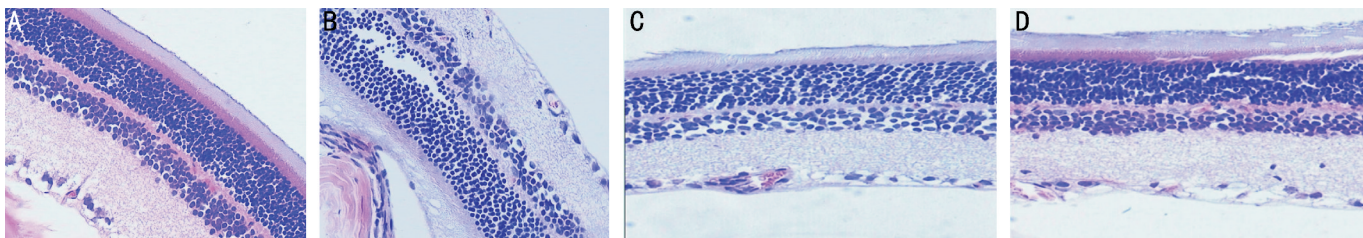


图1 HE染色光镜下观察视网膜 A:正常组:光感受器细胞层排列整齐,各层细胞无水肿、肿胀。毛细血管管腔无闭塞,内皮细胞、周细胞完整无水肿;B:模型对照组:各层细胞均出现不等细胞内、细胞间水肿等现象。光感受器细胞结构较紊乱。部分毛细血管管腔闭塞,周细胞水肿;C:双丹明目组:光感受器细胞层排列基本整齐,各层组织细胞内、细胞外水肿现象较轻,毛细血管管腔无闭塞,周细胞轻度水肿;D:阳性对照组:光感受器身细胞层排列基本整齐,各层组织细胞内、细胞外水肿现象较轻,毛细血管管腔无闭塞,周细胞轻度水肿。

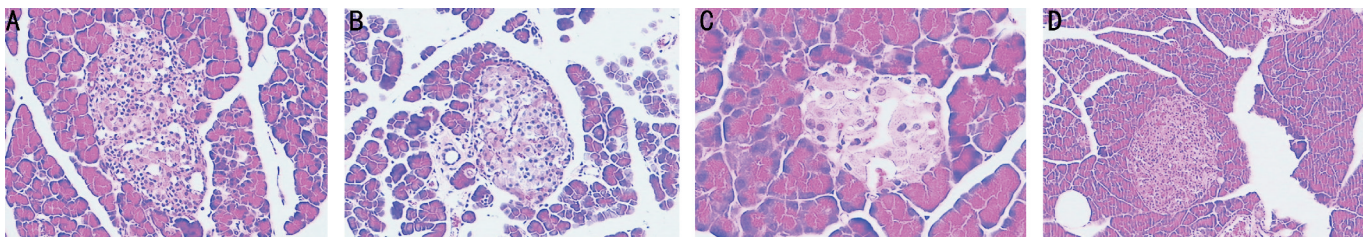


图2 HE染色光镜下观察胰腺 A:正常组:大鼠胰组织结构清晰,内外分泌部的胰岛与外分泌部的胰腺腺泡清晰可辨;B:模型对照组:大鼠胰岛细胞间和胰腺小叶间的结缔组织内出现脂肪细胞的堆积,发生炎性细胞的浸润,以淋巴细胞为主;显示成纤维细胞的增生,甚至纤维化;C:双丹明目组:大鼠胰组织结构基本清晰,胰岛细胞间和胰腺小叶间的结缔组织内可见脂肪细胞,胰岛边缘少量炎性细胞浸润。腺泡细胞体积未见明显增大;D:阳性对照组:大鼠胰岛细胞间和胰腺小叶间的结缔组织内出现脂肪细胞的堆积,发生炎性细胞的浸润,以淋巴细胞为主。

表2 各组大鼠糖化血红蛋白变化 ( $\bar{x} \pm s, \%$ )

组别	造模前	造模后 2mo
正常组	4.99±0.27	5.17±0.05
模型对照组	5.14±0.19	10.11±0.88 <sup>b</sup>
双丹明目组	5.24±0.39	7.78±0.61 <sup>b,d</sup>
阳性对照组	5.19±0.23	9.98±0.98 <sup>b,d,f</sup>

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 正常组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 模型对照组; <sup>f</sup> $P < 0.01$  vs 双丹明目组。

糖尿病属于传统医学消渴病的范畴,DR 现代中医称为消渴目病,古代中医对 DR 虽无明确记载,但对其相关内容的记载散见于古医籍中,如明代戴原礼撰《秘传证治要诀及类方》一书中提到“三消久之,精血既亏或目无所见,或手足偏废如风疾非风,然此症消肾得之为多”。认为目无所见乃精血亏虚所致。糖尿病性视网膜病变发病机制复杂,中医对 DR 的发病机制认识多从以下两方面论述,一是阴虚燥热,精血亏损;二是久病入络,以血瘀为主。近年来随着对 DR 发病机制、病理等研究不断深入,中医发病机制及证型研究亦不断深入。不少医家认为本病是因虚致瘀变生而来:如李氏等认为糖尿病初起多阴虚燥热。久则气阴两虚,瘀血阻络,失其常度,而成本病,且有视网膜内新生血管形成。

按本病的自然病程和转归,从临床和病理学的观察,将 DR 按是否发生新生血管这一标志分增殖型和非增殖型两类,并按临床病理表现的轻重,在两型内各分为不同的期别。非增殖性 DR 系糖尿病视网膜病变的早期阶段。糖尿病时异常的组织氧合作用,首先引起微血管功能改变<sup>[5]</sup>,并导致视网膜血管扩张。长期血管扩张导致微动脉瘤和血管结构上的改变;周细胞变性、基底膜增厚和内皮细胞增生,这些改变为非增殖性 DR 的特征。高血糖症与 DR 发生的关系,尚无肯定的结论。大多数人认为,糖尿病的并发症(包括 DR)是长期高血糖所引起的结果。Frank 提出一种假说:糖尿病的晚期并发症是由于慢性高血糖症作

用于不同的代谢途径所致,在不同的器官组织中,受影响的代谢途径可以部分或完全不同。在一些血糖控制很好的患者中,并发症进展很快,而另一些血糖控制不良的患者却进展缓慢,甚至不出现并发症,则与这些患者代谢途径的活性(受遗传或其它因素控制)不同有关。不同的组织器官,其代谢途径的差异及酶活性不同,致使某些器官对发生糖尿病并发症的易感性不同。近几年来,人们在研究高血糖的基础上,已形成了一个具有说服力的理论,即慢性高血糖引起肌体内多种蛋白质发生非酶糖化,形成糖化终末产物(advanced glycation end products, AGEs),各种糖基化蛋白的过量堆积,导致各系统的慢性病变和功能丧失。

本实验选用 SD 大鼠通过尾静脉 STZ 造模后形成 DR 大鼠模型,然后对其进行不同药物给药,研究发现 2mo 后给药组大鼠血糖和糖化血红蛋白均下降,且双丹明目胶囊能有效地改善糖尿病大鼠视网膜微血管改变,减轻视网膜各层结构水肿、坏死情况,改善胰腺超微结构改变。

总之,本研究结果表明,双丹明目胶囊具有降低 DR 大鼠血糖及改善视网膜和胰腺组织结构的作用。有关双丹明目胶囊对于延缓糖尿病病程进展以及胰腺具体的保护作用机制,尚有待进一步深入研究。

#### 参考文献

- 1 路露,徐延山.577nm 多点扫描矩阵激光治疗糖尿病性视网膜性黄斑水肿的疗效观察.天津医科大学学报 2011;13(3):416-419
- 2 陈丽娟,苗林.重组人血管内皮抑素对脉络膜新生血管的抑制作用.眼科新进展 2012;32(10):922-925
- 3 Sogawa K, Nagaoka T, Tanano I, et al. Association between diabetic retinopathy and flow-mediated vasodilation in type 2 DM. *Curr Eye Res* 2012;37(5):446
- 4 Nagaoka T, Sato E, Takahashi A, et al. Impaired retinal circulation in patients with type 2 diabetes mellitus: retinal laser doppler velocimetry study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(12):6729-6734
- 5 应长江,周晓燕,李伟.辣椒素对大鼠糖尿病肾病的影响及其作用机制.中国老年性杂志 2012;32(9):3707-3709