

痒痛酊外擦治疗大鼠糖尿病周围神经病变的实验研究*

张 毅¹, 张 芸², 陈海丰^{1△}, 刘学兰², 黄之镭¹

(1. 云南中医学院中药学院, 云南昆明 650500; 2. 云南省中医医院, 云南昆明 650021)

摘要: **目的** 研究痒痛酊外擦治疗大鼠糖尿病周围神经病变作用。**方法** 选用成熟雄性大鼠,用链尿佐菌素将其造成糖尿病周围神经病变模型,以尾部透皮给药的方法,通过鼠尾镇痛仪记录大鼠鼠尾摆动的反应时间,来判定痒痛酊治疗周围神经病变的作用。以辣椒碱软膏作为阳性药对照,75%乙醇作为阴性对照。**结果** 痒痛酊能明显减少糖尿病周围神经病变大鼠鼠尾摆动的反应时间。**结论** 痒痛酊能改善糖尿病大鼠周围神经病变。

关键词: 痒痛酊; 糖尿病周围神经病变; 药理实验

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2723(2014)03-0008-03

糖尿病周围神经病变(diabetic peripheral neuropathy, DPN)是糖尿病(diabetic mellitus, DM)常见的慢性并发症之一^[1]。现今,糖尿病已被列为继肿瘤和心血管疾病之后排行第 3 危害人们健康的疾病,而其中同时患有 DPN 的糖尿病患者占 55%~85%,由此可见 DPN 发病率之高^[2]。DPN 临床症状多以持续性疼痛、麻木及感觉减退为主要表现,伴有神经传导速度减慢,是糖尿病主要致残因素之一,给患者带来极大痛苦,目前仍缺乏疗效显著的治疗手段^[3]。根据近年来临床上相关的报道表示,运用中医药及针灸等疗法在治疗 DPN 时能够从整体、多层面、多途径等方面进行干预治疗,并且有一定程度上的优势,皆显示具有重要的临床指导意义^[4]。

在用药方面,西医临床多采用控制血糖、调节代谢及改善微循环,以纠正神经缺血缺氧,增加神经传导功能^[5]。而中医根据 DPN 病机特点,多数医家采用“益气养阴,活血祛瘀”为主要治法^[6]。

“痒痛酊”是云南省中医医院用于治疗 DPN 的中药外用经验方,通过临床观察试验,本药直接皮肤给药后能够扩张毛细血管,促进血液流通,改善微循环,增强局部新陈代谢,改善神经传导速度而

达到治疗目的。其中所含主要药材龙血竭,本实验拟通过动物实验,客观评价其临床疗效,为进一步开发、使用本药提供客观的科学依据。

1 实验材料

1.1 试药

“痒痛酊”实验室自制;

辣椒碱软膏: 长春普华制药股份有限公司,批号:020-100724;

链尿佐菌素:美国 sigma 公司,批号:S013-123;

2,4-二硝基氯苯: 上海生化试剂有限公司,批号:0918204A;

柠檬酸: 广东汕头生化试剂有限公司,批号:1001032;

柠檬酸钠:广东汕头生化试剂有限公司,批号:090325;

血糖试剂盒: 四川迈克生物制品有限公司,批号:0611021。

1.2 动物

SD 大鼠,清洁级,体质量 180~200g,雄性,由昆明医学院实验动物学部提供。豚鼠,雌雄各半,由昆明医学院实验动物学部提供。生产许可证: SCXK20010004,批号:0024180。

* 基金项目: 云南省教育厅科学研究基金项目(2010Y454)

收稿日期: 2014-02-27

作者简介: 张毅(1974-),男,云南昆明人,讲师,研究方向:中西医结合基础。

△通信作者: 陈海丰, E-mail: chenhaifeng0701@sina.com

1.3 仪器

台式离心机:型号:TGL-16G,上海安亭科学仪器有限公司;

紫外可见分光光度计:型号:T6,北京普析通用仪器有限公司;

电子天平:型号:PL202-S,余姚市金诺天平仪器有限公司,0.1g;

电热恒温水浴锅:型号:HHS112,江苏省医疗器械厂。

1.4 统计方法

应用 SPSS 统计软件进行统计学处理,数据用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,符合正态分布、方差齐的数据进行方差分析;方差不齐的数据则用非参数检验。计数资料用 χ^2 检验进行分析。

2 实验方法

2.1 糖尿病周围神经病变动物模型的建立

2.1.1 造模

选用 SD 雄性大鼠 50 只,随机分为 5 组,每组 10 只。将动物禁食不禁水 24h,称量体重,记录。第 1 组作为正常对照组,其余 4 组用于造大鼠糖尿病周围神经病变模型。于禁食 24h 后,按 60mg/kg 向大鼠腹腔注射链脲佐菌素。

2.1.2 血糖验证

在给大鼠腹腔注射链脲佐菌素 72h 后,尾尖采血,选用血糖测定试剂盒(GOD-PAP 法)^[7]测其血糖,用 UV-VIS 分光光度计,检测,结果见表 1。血糖 $>11.1\text{mmol/L}$ 的为糖尿病模型。

表 1 注射链脲佐菌素 72h 后大鼠血糖浓度(mmol/L)($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	注射链脲佐菌素剂量	血糖浓度($\bar{x}\pm s$)
正 常	等体积 NS	8.23 $\pm$ 1.21
模 型	60mg/kg	18.17 $\pm$ 4.28
阳 性	60mg/kg	16.77 $\pm$ 3.67
低剂量	60mg/kg	13.20 $\pm$ 1.70
高剂量	60mg/kg	14.13 $\pm$ 1.71

2.1.3 DPN 模型验证

在 2.1.2 之后,继续饲养大鼠 3 周,然后用光热尾痛测试仪测定其鼠尾摆尾时间,与正常大鼠摆尾时间进行比较,筛选糖尿病周围神经病变(DPN)大

鼠,摆尾反应时间明显大于正常组且具有统计学意义,视为糖尿病大鼠发生周围神经病变,造模成功^[8],结果见表 2。

结果显示,经腹腔注射链脲佐菌素,各组大鼠血糖明显增高,与正常组相比较,具有统计学意义,表明糖尿病大鼠造模成功。

2.2 痒痛酊对 DPN 大鼠周围神经的影响

通过 2.1.1.2,筛选出 DPN 模型大鼠,痒痛酊治疗低、高剂量组,于尾部分别外擦低剂量和高剂量的痒痛酊 0.4mL/次,低剂量为临床治疗剂量,高剂量组浓度为低剂量组 2 倍,1 次/d。阳性对照组,于尾部涂抹阳性对照药辣椒碱软膏,以辣椒碱计,0.2mg/次,1 次/d。乙醇组,于尾部外擦 75%乙醇,0.6mL/次,1 次/d。正常组不做处理。连续用药 3 周,开始用药后每周测大鼠鼠尾摆尾时间,并经过组间比较。实验结果见表 2。

表 2 大鼠摆尾时间统计($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	用药前	用药 1 周后	用药 2 周后
正常	3.51 $\pm$ 0.70	2.86 $\pm$ 0.46 ^{▲▲}	2.95 $\pm$ 0.73 ^{▲▲}
模型	9.50 $\pm$ 2.89 ^{●●}	9.23 $\pm$ 1.58 ^{●●}	8.86 $\pm$ 0.96 [●]
阳性(辣椒碱软膏)	9.70 $\pm$ 2.18 ^{●●}	6.20 $\pm$ 0.88 ^{▲▲}	4.22 $\pm$ 0.54 ^{▲▲}
痒痛酊低剂量	10.77 $\pm$ 1.27 ^{●●}	7.32 $\pm$ 1.54 [▲]	5.07 $\pm$ 0.86 ^{▲▲}
痒痛酊高剂量	10.91 $\pm$ 2.58 ^{●●}	7.09 $\pm$ 1.78 ^{▲▲}	4.13 $\pm$ 0.52 ^{▲▲}

注:与正常组比较:● $P<0.05$,●● $P<0.01$;与模型组比较:▲ $P<0.05$,▲▲ $P<0.01$ 。

用药前各试验组与正常组比较,试验组大鼠摆尾时间较正常组延长,有统计学意义($P<0.01$),而模型组、阳性组、低剂量组与高剂量组之间进行组间比较,无统计学差异($P>0.05$),说明造模成功,说明下一步实验有可比性。

用药 1 周后正常组与模型组比较,模型组大鼠摆尾时间较正常组延长,有统计学意义($P<0.01$),说明糖尿病大鼠周围神经病变的症状持续,模型成功;阳性组与模型组比较,大鼠摆尾时间明显缩短,有统计学意义;痒痛酊高、低剂量组与模型组比较,痒痛酊高、低量组大鼠摆尾反应时间比模型组缩短($P<0.05$)。说明痒痛酊能改善 DPN 大鼠的神经传导速度。

用药 2 周后正常组大鼠摆尾时间与模型组比

较,模型组大鼠摆尾时间仍然高于正常组($P<0.05$),说明模型组 DPN 大鼠周围神经病变的症状在造模 2 周后依然持续;各给药组与模型组比较,大鼠摆尾时间均明显缩短($P<0.01$),有统计学意义。

2.3 结论

实验结果显示,中药复方制剂痒痛酊,可以缩短 DPN 大鼠摆尾时间,可能与改善 DPN 大鼠的周围神经传导速度有关,为痒痛酊临床治疗患者因糖尿病而诱发周围神经病变并发症,提供一定实验依据。

3 讨论

在检验痒痛酊对大鼠糖尿病周围神经病变的作用时,本实验采取的是间接测定法,即通过大鼠对疼痛的反应时间的长短来判定其神经传导速度的快慢,而更好的方法是直接测定大鼠的神经传导速度,从而更直观地反映其实验效果,这可以作为进一步深入研究的方向。

本次实验用药采用的是云南省中医医院使用痒痛酊,尽管酒精外擦有促进血液循环,增加组织供血的作用,但有些患者对酒精过敏,不能使用酊剂,这样,痒痛酊的使用范围受到一定的限制,为了使更多的患者的 DPN 症状能够得到治疗和改善,可以考虑将痒痛酊进行剂型改良,如制成软膏剂,贴剂或植入剂等。这样,就能让更多的 DPN 患者受益。

痒痛酊的活性成分及其作用机制还没有得到

具体阐明,尤其川乌中的乌头碱还是属于有毒成分,更多的安全评价还有待进一步深入研究。改善神经传导速度的活性成分还有待提取分离,筛选出活性成分,可以简化其制备过程,简化程序,节约成本,更重要的是使其靶向作用更强。

参考文献:

- [1] 钟锦均. 参芎葡萄糖注射液治疗糖尿病周围神经病变的疗效观察 [J]. 现代中西医结合杂志, 2011, 20(29): 3681-3682
- [2] Piechota G, Malkiewicz J, Kavwat ZD. Diabetes mellitus type 2 as a cause of disability [J]. Praegl Epidemiol, 2004. 58 (4): 677-682.
- [3] 邓红玲, 张金红. 中西医结合治疗糖尿病周围神经病变临床疗效观察 [J]. 云南中医学院学报, 2013, 36(2): 76-78
- [4] 蔡洁, 董继宏, 汪昕. 糖尿病周围神经病变发病机制的研究进展 [J]. 中国临床医学, 2007, 14(3): 302-305.
- [5] 邵义文, 严群超, 朱媛. 中药对糖尿病并发症的治疗现状 [J]. 广东药学院学报, 2009, 25(1): 108-111.
- [6] 黄达, 李鸣镝, 林兰. 中医药治疗糖尿病周围神经病变研究进展 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2013, 19 (6): 719-721.
- [7] 关文锦. 3 种方法检测血糖结果比较. 检验医学与临床 [J]. 2010, 7(14): 1506-1507.
- [8] 徐淑云, 汴如濂, 陈修. 药理实验方法学 [M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 1518-1519.

(编辑: 杨阳)

Experimental Research on Dantong Tincture in Curing Diabetic Peripheral Neuropathy by Applying Outside

ZHANG Yi¹, ZHANG Yun², CHEN Hai-feng¹, LIU Xue-lan², HUANG Zhi-pu¹,

(1. Faculty of Pharmacy, Yunnan University of TCM, Kunming 650500, China;

2. Yunnan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650021, China)

ABSTRACT: **Objective** To apply Dantong tincture outside to treat rats with diabetic peripheral neuropathy. **Methods** Synchronized to the tail skin trans-dermal delivery methods. By the reaction time of tail swing of rats recorded by the analgesic instrument can determine the treatment of diabetic peripheral neuropathy by Dantong tincture. Capsaicin ointment acts as positive control, 75% ethanol as negative control, healthy male rats as normal control group. **Results** Dantong tincture can significantly reduce the pain of diabetic peripheral neuropathy and the response time of tail swing of rats, with capsaicin group produce the same effect of improving nerve conduction velocity in rats. **Conclusion** Dantong tincture can cure diabetic peripheral neuropathy.

KEY WORDS: Dantong tincture; diabetic peripheral neuropathy; pharmacological experiment