

- Sci, 2018,23 (3):521-524.
- [6] Gok K, Inal S, Gok A, et al. Comparison of effects of different screw materials in the triangle fixation of femoral neck fractures[J]. J Mater Sci: Mater Med, 2017, 28:81.
- [7] Gok K, Inal S. Biomechanical comparison using finite element analysis of different screw configurations in the fixation of femoral neck fractures[J]. Mech Sci. 2015, 6(2): 173-179.
- [8] 仇培武, 严少荣, 姬钢. 不同排列方式空心螺钉治疗股骨颈骨折的疗效分析 [J]. 局解手术学杂志, 2016, 25 (11):844-848.
- [9] 任栋, 程培焱, 宋朝晖等. 不同数量和空间构型的空心拉力螺钉治疗股骨颈骨折的有限元分析 [J]. 中华创伤杂志, 2017, 33 (9):815-822.
- [10] Samsami S, Saberi S, Sadighi S, et al. Comparison of three fixation methods for femoral neck fracture in young adults: experimental and numerical investigations[J]. J Med Biol Eng, 2015, 35(5):566-579.
- [11] Weng PW, Chen CH, Luo CA, et al. The effects of tibia profile, distraction angle, and knee load on wedge instability and hinge fracture: A finite element study[J]. Med Eng Phys, 2017, 42:48-54.
- [12] Kobayashi E, Wang TJ, Doi H, et al. Mechanical properties and corrosion resistance of Ti-6Al-7Nb alloy dental castings[J]. J Mater Sci Mater Med, 1998, 9 : 567-574.
- [13] Swart E, Roulette P, Leas D, et al. ORIF or Arthroplasty for Displaced Femoral Neck Fractures in Patients Younger Than 65 Years Old: An Economic Decision Analysis[J]. J Bone Joint Surg Am, 2017, 99 : 65-75.
- [14] Krastman P, Van den Bent RP, Krijnen P, et al. Two cannulated hip screws for femoral neck fractures : treatment of choice or asking for trouble [J]. Arch Orthop Trauma Surg, 2006,126 : 297-303.
- [15] 魏志辉, 马坤龙, 张铭华. 4 枚空心钉与动力髋螺钉结合防旋螺钉内固定治疗股骨颈骨折的疗效比较 [J]. 中国骨与关节损伤杂志, 2017, 23(2): 187-188.
- [16] 张晟, 王一民, 王博炜等. InterTan 钉板系统与空心钉固定 Pauwels III 型股骨颈骨折的有限元分析 [J]. 中华创伤骨科杂志, 2013, 5(1) : 13-17.
- [17] Haider T, Schnabel J, Hochpöchler J, et al. Femoral shortening does not impair functional outcome after internal fixation of femoral neck fractures in non-geriatric patients[J]. Arch Orthop Trauma Surg, 2018, 138 (11):1511-1517.
- [18] Pauyo T, Drager J, Albers A, et al. Management of femoral neck fractures in the young patient: A critical analysis review[J]. World J Orthop, 2014, 18, 5(3): 204-217.

(收稿: 2018-07-12 修回: 2018-11-08)

(责任编辑: 马剑雄)

桃仁对糖尿病大血管纤维化大鼠 蛋白激酶 B 信号通路的影响

周 玉, 刘国涛, 卢增珍, 徐 阳, 王 军

摘要 目的: 观察中药桃仁对 2 型糖尿病大血管纤维化大鼠模型中蛋白激酶 B (AKT) 信号通路的影响。**方法:** 雄性 SD 大鼠 200 只, 随机选取 30 只为空白对照组, 余 170 只采用高脂高糖饲料喂养 - 腹腔注射链脲佐菌素 (STZ) - 高脂高糖饲料持续喂养的方法制备 2 型糖尿病大血管纤维化大鼠模型。造模成功后分为空白对照组 ($n=29$)、模型对照组 ($n=34$)、早期干预组 ($n=34$)、低剂量组 ($n=32$) 和高剂量组 ($n=32$)。空白对照组不予特殊处理, 早期干预组和低剂量组予桃仁颗粒剂水溶液 10 mL/(kg·d) 灌胃, 高剂量组予桃仁颗粒剂水溶液 20 mL/(kg·d) 灌胃, 模型对照组给予 10 mL/(kg·d) 生理盐水灌胃。干预 7 周后分别从各组随机选取 5 只大鼠处死、取材。实时荧光定量 PCR (QPCR) 检测 AKT mRNA 表达; 免疫组织化学、Western blotting 检测股动脉组织 AKT 信号通路关键信号分子 AKT、磷酸化 AKT (p-AKT) 的表达。**结果:** 免疫组化显示, 空白对照组大鼠血管内皮细胞及中膜平滑肌细胞中有散在黄色物质, 呈弱阳性改变, 模型对照组呈强阳性反应, 早期干预组和高剂量组呈弱阳性反应, 低剂量组呈阳性反应。QPCR 检测, 与空白对照组 (1.05 ± 0.05) 比较, 模型对照组 (5.68 ± 0.61)、药物干预组 (4.27 ± 0.32 、 5.33 ± 0.60 、 4.72 ± 0.28) AKT mRNA 表达上调 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与模型对照组比较, 药物干预组 AKT mRNA 表达均上调, 且以早期干预组 (4.27 ± 0.32) 和高剂量组 (4.72 ± 0.28) 为著 ($P < 0.01$); Western blotting 检测, 与空白对照组 (0.16 ± 0.01 、 0.10 ± 0.03) 比较, 模型对照组 (0.38 ± 0.03 、 0.21 ± 0.02)、药物干预组 (0.27 ± 0.04 、 0.18 ± 0.01 ; 0.30 ± 0.05 、 0.17 ± 0.01 ; 0.28 ± 0.03 、 0.19 ± 0.02) AKT、p-AKT 表达均显著上调 ($P < 0.01$); 与模型对照组比较, 药物干预组 AKT、p-AKT 表达均上调 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); 药物干预组两两比较显示, AKT、p-AKT 表达无差异 ($P > 0.05$)。**结论:** 中药桃仁可以

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81473685)

天津中医药大学第一附属医院疮疡及周围血管病科 (天津 300193)

通信作者: 王 军, E-mail: tjzywangjun@126.com

抑制糖尿病大鼠大血管纤维化, 其机制可能和抑制 AKT 信号通路有关。

关键词: 糖尿病大鼠; 血管纤维化; 蛋白激酶 B; 桃仁

中图分类号: Q95-33; R654.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1007-6948(2019)01-0061-07

doi: 10.3969/j.issn.1007-6948.2019.01.013

Effect of Peach Kernel on Protein Kinase B Signaling Pathway in Diabetic Macrovascular Fibrosis Rats ZHOU Yu, LIU Guo-tao, LU Zeng-zhen, et al. *Graduate School of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin (300193), China*

Abstract: Objective To observe the effect of Peach Kernel Granule on protein kinase B (AKT) signaling pathway in type 2 diabetic rats with macrovascular fibrosis. **Methods** There were 200 male SD rats, 30 of which were randomly selected as blank control group. The remaining 170 rats were given high fat and sugar diet - intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ) - continuous feeding with high fat and sugar diet to prepare macrovascular fibrosis model of type 2 diabetes mellitus. Thirty-nine rats were excluded from the loss of death during feeding and modeling, and were eventually divided into blank control group ($n=29$), model control group ($n=34$), early intervention group ($n=34$), low dose group ($n=32$) and high dose group ($n=32$). The blank control group was not given special treatment. The model control group was given 10 mL/(kg·d) normal saline by gavage, the early intervention group and the low dose group were given 10 mL/(kg·d) Peach kernel granule solution by gavage, and the high dose group was given 20 mL/(kg·d) Peach Kernel Granule solution by gavage. The early intervention group began to be intervened until the model of type 2 diabetes mellitus was established. The other groups began to be intervened after the model of type 2 diabetes mellitus macrovascular fibrosis rats was established. The intervention lasted for 7 weeks. At last, five rats were randomly selected from each group for experiment. Real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (QPCR) was used to detect the expression of AKT. Immunohistochemistry and Western blotting were used to detect the expression of AKT and phosphorylated AKT in femoral artery tissue. **Results** Immunohistochemistry showed that yellow substances were scattered in vascular endothelial cells and smooth muscle cells of rats in blank control group, showing weak positive changes, strong positive reactions in model control group, weak positive reactions in early intervention group and high dose group, and positive reactions in low dose group. Compared with the blank control group (1.05 ± 0.05), the expression of mAKT in the model control group (5.68 ± 0.61), and drug intervention groups (4.27 ± 0.32 , 5.33 ± 0.60 , 4.72 ± 0.28) was up-regulated ($P < 0.05$ or $P < 0.01$) Compared with the model control group, the expression of mAKT in the drug intervention groups was up-regulated, especially in the early intervention group (4.27 ± 0.32) and the high dose group (4.72 ± 0.28) ($P < 0.01$). Compared with the blank control group (0.16 ± 0.01 , 0.10 ± 0.03), the expression of AKT and p-AKT in the model control group (0.38 ± 0.03 , 0.21 ± 0.02), and the drug intervention groups (0.27 ± 0.04 , 0.18 ± 0.01 ; 0.30 ± 0.05 , 0.17 ± 0.01 ; 0.28 ± 0.03 , 0.19 ± 0.02) was significantly increased ($P < 0.01$). Compared with the model control group, the expression of AKT and p-AKT in the drug intervention group was significantly increased ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). The expression of AKT and p-AKT showed no difference between the two groups ($P > 0.05$). **Conclusion** Peach kernel can inhibit macrovascular fibrosis in diabetic rats, and its mechanism may be related to the inhibition of AKT signaling pathway.

Key words: Diabetic rats; vascular fibrosis; protein kinase B; peach kernel

糖尿病后期合并肾、视网膜、神经等并发症是糖尿病的主要危害, 其中下肢血管病变是糖尿病诸多慢性并发症中的一种^[1], 主要病因是动脉粥样硬化。血管纤维化是其组织学改变的主要特征之一^[2]。前期研究发现糖尿病足患者血管病变是以内膜的纤维性增厚为主, 脂质沉积以纤维成

分所占比例大^[3]。机体纤维化的过程主要是细胞外基质的沉积和降解出现失衡, 成纤维细胞等活化成熟分泌胶原、纤维连接蛋白等细胞外基质过多导致。此过程受多种基因及信号通路的调控, 蛋白激酶 B (protein kinase B, 亦称 AKT) 信号通路是介导组织纤维化的重要通路^[4-5], 这一通路是否

介导糖尿病大血管纤维化, 有待于研究。本研究将从 AKT 信号通路角度, 以其关键分子 AKT 和 p-AKT 为切入点, 并用中药桃仁为干预因素, 研究糖尿病大鼠大血管纤维化的可能机制。

1 材料与方法

1.1 动物 雄性 SD 大鼠 200 只, 清洁级, 2 月龄, 体质量 (180 ± 20) g。由天津实验动物中心提供, 动物合格证号为 SCXK-(军) 2012-0004。

1.2 药物 桃仁颗粒由天津中医药大学第一附属医院颗粒剂药房制备, 1 g 颗粒剂相当于生药 20 g。3 g 桃仁颗粒剂溶解于 200 mL 蒸馏水中, 形成含生药 0.3 g/mL 的药液备用。大鼠的等效剂量约为人体的 6 倍, 按人体重 60 kg 计算, 当人桃仁用量为 30 g/d 时, 即 0.5 g/(kg · d), 大鼠生药用剂量

约为 3.0 g/(kg · d), 即颗粒剂水溶液 10 mL/(kg · d)。

1.3 主要试剂与仪器 AKT、p-AKT 一抗: 北京博奥森生物技术有限公司。β-actin 内参抗体: 天津赛尔生物有限公司。辣根过氧化酶 (HRP) 标记二抗: 天津赛尔生物有限公司。Epgiadients PCR 仪: Eppendorf 公司。ABI7500 fast 荧光定量 PCR 仪: Life Technologies 公司。转膜仪: 上海东玺制冷仪器设备有限公司。灌胃针、各型注射器、10 mL 玻璃瓶、载玻片、止血钳、刀柄、刀片、剪刀、镊子、试管、吸管、EP 管等由海门市春博生物实验器材厂提供。

1.4 动物造模及分组给药

1.4.1 造模 2 型糖尿病大血管纤维化大鼠造模方法见表 1。

表 1 2 型糖尿病大血管纤维化大鼠造模流程图

	第 1 周	第 2-5 周	第 5 周 +12 h	第 6 周	第 7-10 周	第 10 周	第 11~17 周
处理	适应性喂养	高脂高糖饲料喂养	腹腔注射 STZ 35 mg/kg	第 3、7 d 测血糖	高脂高糖饲料喂养	造模组随机选取 3 只, 空白对照组随机选取 1 只处死, 取股动脉进行 HE 染色	分组并干预
目的	适应动物房环境及饲料	诱导胰岛素抵抗	2 型糖尿病鼠造模	确认血糖 >16.7 mmol/L 者, 为 2 型糖尿病鼠造模成功	造 2 型糖尿病大血管纤维化鼠模型: 通过持续高脂高糖饲料喂养, 使 2 型糖尿病鼠大血管纤维化	明确 2 型糖尿病大血管纤维化大鼠造模是否成功	根据不同组别进行干预处理

2 型糖尿病大血管纤维化大鼠造模成功标志: 造模组出现平滑肌细胞排列紊乱, 内皮细胞肿胀, 内膜、中膜层明显增厚, 血管腔狭窄, 并见大量泡沫细胞, 纤维帽, 弹力纤维断裂, 胶原纤维玻璃样变, 甚至出现胆固醇结晶, 钙盐沉着等, 证实糖尿病大血管纤维病变造模成功。

1.4.2 分组给药: 最终除去意外死亡、造模失败和验证造模是否成功损耗大鼠共 39 只, 剔除试验。最终分组: 空白对照组 (n=29)、模型对照组 (n=34)、早期干预组 (n=34)、高剂量组 (n=32)、低剂量组 (n=32)。除空白对照组不予干预外, 其余各组分别给予生理盐水 10 mL/(kg · d) 灌胃、桃仁颗粒剂水溶液 10 mL/(kg · d) 灌胃 (早期干预组从 2 型糖尿病模型制作成功开始药物干预)、桃仁颗粒剂水溶液 20 mL/(kg · d) 灌胃、桃仁颗粒剂水溶液 10 mL/(kg · d) 灌胃, 连续干预 7 周。每组采用简单随机数字表法随机选取 5 只大鼠, 用 10% 的水合氯醛 0.3 g/100 g 麻醉, 根据股动脉搏动情

况, 确定股动脉的位置和走行方向。将皮肤沿股动脉走向纵向切开, 用纹式钳把周围组织钝性分离, 以暴露股动脉鞘。用眼科镊沿着血管走向钝性分离出股动脉约 4~5 cm, 两端剪断。PBS 冲洗, 平均分成两部分, 一部分采用 4% 多聚甲醛进行固定, 另一部分置于无菌冻存管中, -80 °C 冰箱保存。

1.5 检测指标 (1) 大鼠股动脉病理学改变。将取材得到的一部分组织采用 4% 多聚甲醛进行固定, 石蜡包埋, 常规组织切片及 HE 染色, 光学显微镜下观察股动脉的病理学改变。(2) 实时荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR, QPCR) 检测大鼠股动脉 AKT mRNA 表达。提取总 RNA (Trizol 法提取), 反转录, 反应体系为 25 μL, 12.5 μL SYBR Mix, 1 μL cDNA, 上下游引物各 1 μL, ddH₂O 体积 9.5 μL, 合计 25 μL。仪器为 ABI Step-plus 系统。GAPDH 作为内参。AKT 引物序列上游为: AGCATGGAGTGTGTGGACAG, 下游为: TACAGATGATCCATGCGGGG, 长度 150 bp。

Gapdh 内参上游: TGTGAACGGATTTGGCCGTA, 下游: GATGGTGATGGGTTTCCCGT, 长度 208 bp。

(3) 免疫组化检测 AKT 表达。采用 SP 法, 按照试剂盒说明书进行。依次对切片进行脱蜡、梯度酒精水化、抗原修复、血清封闭、一抗孵育、二抗标记、DAB 显色、苏木素复染、脱水、透明、干燥、封片等主要步骤。(4) Western blotting 检测 AKT 及 p-AKT 表达。常规方法低温研磨提取组织上清, 利用 BCA 蛋白定量法对各样本的蛋白浓度进行定量。SDS-PAGE 凝胶电泳、转膜、封闭。加入一抗 AKT (1:1000), p-AKT (1:1000), 4 ℃ 过夜, 缓慢摇动。洗去非特异结合的一抗。加入辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的二抗, 室温孵育 1 h, 缓慢摇动。洗去非特异结合的二抗。二抗孵育完毕后, 按照 ECL 发光液试剂盒说明书均匀滴加显色液, 放入凝胶成像仪中显影。蛋白条带用 Image Lab 软件分析。比较各组蛋白条带灰度值的大小。

1.6 统计学方法 统计计算均用 SPASS 20.0 统计

软件进行, 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。本研究数据不符合正态性或方差不齐, 采用多组独立样本非参数检验 (Kruskal-Wallis H 检验), $P < 0.05$ (双侧检验) 认为差异具有统计学意义。组间两两比较先将数据进行排秩, 以秩次作为测量变量, 用 LSD 法两两比较, $P < 0.05$ (双侧检验) 认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠股动脉 HE 染色 空白对照组大鼠股动脉血管平滑肌细胞排列规则。模型对照组大鼠股动脉血管平滑肌细胞排列紊乱, 可见大量泡沫细胞、纤维帽及胆固醇结晶, 血管内皮细胞肿胀, 内膜、中膜层明显增厚; 早期干预组血管平滑肌细胞排列较规则, 血管内皮细胞见肿胀, 内膜、中膜层增厚; 低剂量组血管平滑肌细胞排列不规则, 多数血管内皮细胞肿胀, 内膜、中膜层明显增厚; 高剂量组血管平滑肌细胞排列较规则, 部分血管内皮细胞肿胀, 血管内膜、中膜层增厚。见图 1。

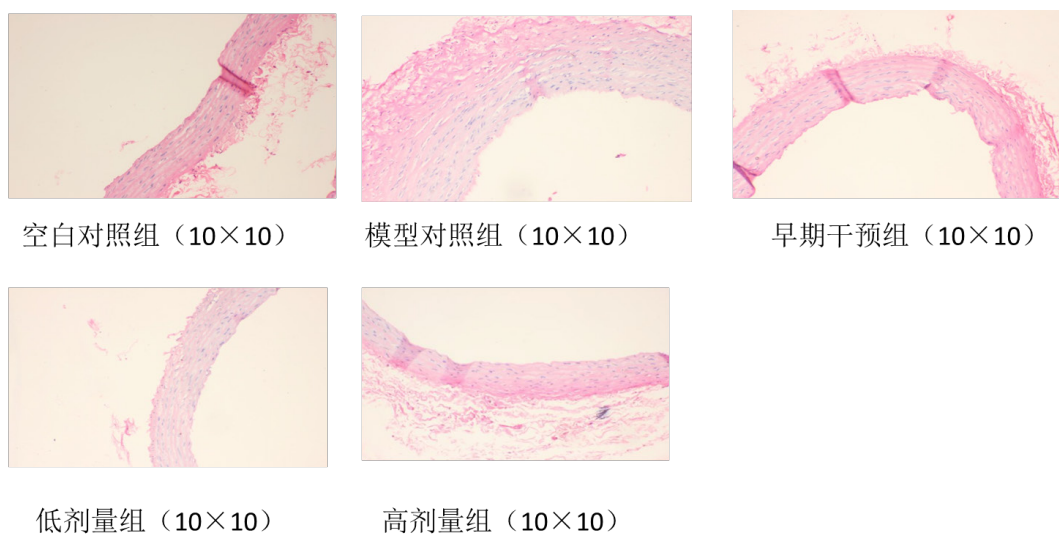


图 1 各组股动脉 HE 染色

2.2 QPCR 检测大鼠股动脉 AKT mRNA 表达 与空白对照组比较, 模型对照组、药物干预组 AKT mRNA 表达上调 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与模型对照组比较, 药物干预组 AKT mRNA 表达均上调, 且以早期干预组和高剂量组为著 ($P < 0.01$), 见表 2。

2.3 免疫组织化学检测股动脉中 AKT 蛋白表

达 空白对照组大鼠血管内膜、血管内皮细胞及中膜平滑肌细胞中有散在黄色物质, 呈弱阳性改变; 模型对照组可见大量棕黄色物质表达呈强阳性反应; 中药干预 7 周后, 早期干预组和高剂量组可见散在黄色物质呈弱阳性反应, 提示 AKT 表达下降; 低剂量组可见黄色物质表达呈阳性反应, 提示 AKT 表达下降, 见图 2。

表 2 各组大鼠股动脉 AKT mRNA 的表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

	<i>n</i>	AKT1 mRNA
空白对照组	5	1.05 ± 0.05
模型对照组	5	5.68 ± 0.61 ^{aa}
早期干预组	5	4.27 ± 0.32 ^{aa, bb}
低剂量组	5	5.33 ± 0.60 ^{a, b}
高剂量组	5	4.72 ± 0.28 ^{aa, bb}
H		19.695
P		0.001

注：与空白对照组相比，^a*P*<0.05，^{aa}*P*<0.01；与模型对照组相比，^b*P*<0.05，^{bb}*P*<0.01

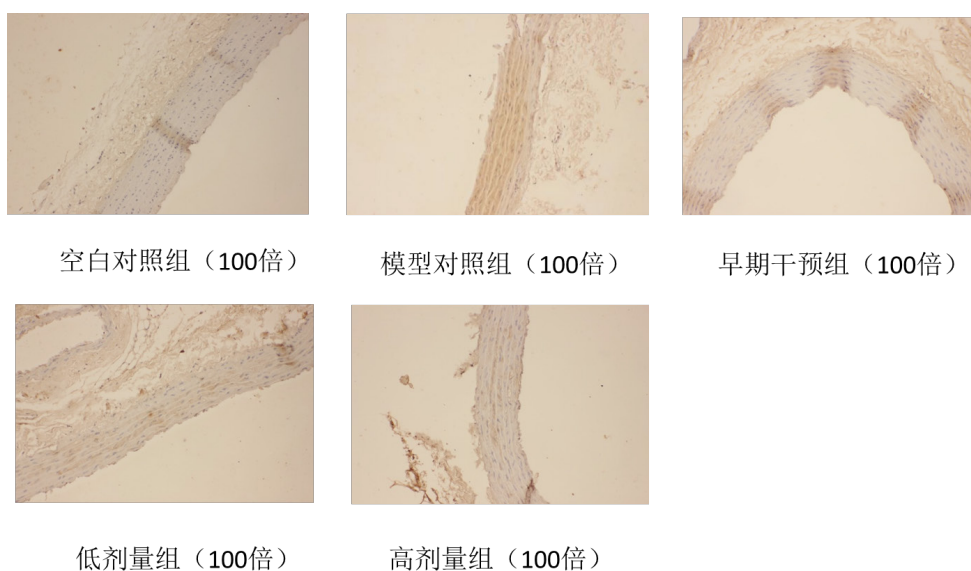


图 2 免疫组织化学检测各组股动脉中 AKT 蛋白表达

2.4 Western blotting 检测股动脉中 AKT、p-AKT 蛋白表达 与空白对照组比较，模型对照组、药物干预组 AKT、p-AKT 表达均显著上调 (*P*<0.01)；与模型对照组比较，药物干预组 AKT、p-AKT 表

达均上调 (*P*<0.01 或 *P*<0.05)；药物干预组两两比较显示，AKT、p-AKT 表达无差异 (*P*>0.05)，见表 3、图 3。

表 3 治疗后各组大鼠股动脉 AKT 和 p-AKT 蛋白表达的比较 ($\bar{x} \pm s$)

	<i>n</i>	Akt1/β-actin	p-Akt1/β-actin
空白对照组	5	0.16 ± 0.01	0.10 ± 0.03
模型对照组	5	0.38 ± 0.03 ^a	0.21 ± 0.02 ^a
早期干预组	5	0.27 ± 0.04 ^{a, bb}	0.18 ± 0.01 ^{a, bb}
低剂量组	5	0.30 ± 0.05 ^{a, bb}	0.17 ± 0.01 ^{a, bb}
高剂量组	5	0.28 ± 0.03 ^{a, bb}	0.19 ± 0.02 ^{a, b}
H		18.217	16.997
P		0.001	0.002

注：与空白对照组相比，^a*P*<0.01；与模型对照组相比，^b*P*<0.05，^{bb}*P*<0.01

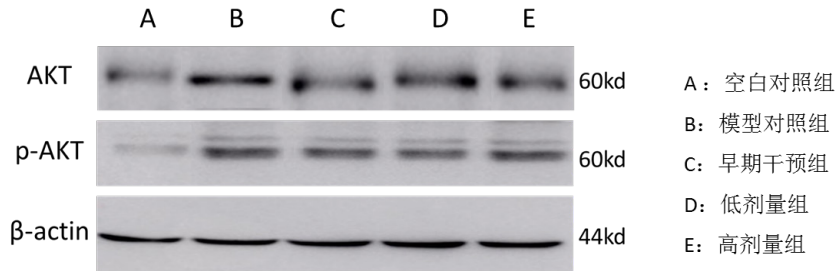


图 3 Western blotting 检测各组大鼠股动脉中 AKT、p-AKT 的表达

3 讨论

糖尿病大血管病变是糖尿病后期严重的并发症，髂动脉、股动脉以及下行大血管的动脉粥样硬化、狭窄、堵塞造成了下肢的缺血，严重影响患者的运动能力和生活质量。糖尿病大血管病变的病理改变主要为内膜、中膜层厚度增加，管腔狭窄，管壁顺应性降低，内膜粥样斑块形成致管腔进一步狭窄，直至完全闭塞，产生临床症状。其中血管纤维化是病变发生发展过程中的重要表现形式，它的发生与长期慢性的高血糖、脂质代谢紊乱、内皮功能紊乱、血液流变学改变等多种因素有关。研究显示，高血糖与高血脂的毒性作用、蛋白质非酶糖基化、内皮功能障碍等因素联合作用于血管壁，导致平滑肌细胞增殖，胶原过度表达，这种高糖诱导的过度表达与血管纤维化、硬化高度相关^[6]。

PI3K/AKT 信号通路由 PI3K 和 AKT 两部分组成，PI3K 普遍存在于体内各类细胞，在细胞存活与分化、细胞生长、运动和凋亡等多种生理和病理过程中起重要作用^[7]。AKT 是 PI3k 下游中一种丝氨酸/苏氨酸激酶，是原癌基因 c-akt 编码的一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶，有 AKT1、AKT2、AKT3 个异构体。AKT 的氨基酸末端具有 PH 结构域，能与细胞膜附近的 PI(3, 4, 5)P3 结合形成复合体，复合体与 3-磷脂酰肌醇依赖性蛋白激酶 1(3-phosphoinositide-dependent protein kinase 1, PDK1) 结合可促进 AKT 的氨基酸末端的 PH 结构域磷酸化。p-AKT 是 AKT 的磷酸化状态，AKT 只有转变为 p-AKT 才能发挥生物学功能。

大量文献研究表明，PI3K/AKT 信号通路和组织纤维化密切相关^[8]。AKT 信号通路的激活刺激下游间质纤维结缔组织（细胞外基质）增生，成纤维细胞产生细胞外基质蛋白，细胞外基质产生和降解失衡，细胞外基质异常沉积，即发生纤维化的病理改变。如 PI3K-AKT-m TOR 通路在肺组

织纤维化过程中具有重要作用^[9]，NGF 可通过抑制 PI3K/AKT 信号通路的激活，促进 LX2 细胞凋亡进一步导致肝纤维化^[10]，苦参碱调控 p-AKT/AKT 蛋白表达抑制大鼠心肌肥厚的作用^[11]。

本次研究结果显示，在糖尿病大鼠股动脉纤维化模型中，模型对照组大鼠股动脉 AKT mRNA 表达较空白对照组明显升高，使用中药干预后有不同程度的下降，并且以早期干预组和高剂量组下降明显，两者相比无统计学差异。低剂量组也有下降，但下降不明显。同时，通过免疫组化和 Western blotting 方法对 AKT 和 p-AKT 进行检测，得到了基本一致的结果。因此可以得出，在糖尿病大鼠纤维化模型中，纤维化的产生和 AKT 信号通路相关。中药桃仁干预可抑制这一过程，具体来看，中药低剂量（10 mL/(kg·d)）早期干预和高剂量（20 mL/(kg·d)）干预效果较好，两者相比无明显差异。关于桃仁在糖尿病大血管纤维病变的作用，我们前期研究中发现，以桃仁为主药的桃核承气汤能抑制 TOLL 样受体通路表达，从而降低糖尿病大血管纤维化^[12-13]。也有研究表明，桃仁在其他组织器官中抗纤维化的作用，如在肝纤维化的研究中，桃仁煎剂提取物能通过抑制 I、III 型胶原的沉积，促进肝内已沉积的胶原纤维的降解和吸收，达到预防肝纤维化和逆转肝纤维化的作用^[14]。桃仁中主要成分是苦杏仁苷，可有效改善组织纤维病变^[15]。因此我们推测，桃仁同样可以阻断糖尿病大血管纤维化，机理可能是通过抑制 PI3K/AKT 信号通路的激活，下调血管组织中 AKT 及 p-AKT 的表达来实现。本研究得到了初步的验证。

中医角度，中药桃仁具有活血化瘀、润肠通便、止咳平喘等功效，用于周围血管疾病常取其活血化瘀的功效，是临床上活血化瘀剂中的常用药物。周围血管病变的病机常以脉络瘀阻为主，治疗也常常使用活血化瘀剂，配伍理气药如枳壳、香附^[16]；

配伍其他活血化瘀药如赤芍、红花^[16]以加强功效。目前现代药理研究桃仁常以其所含单体为主,但以桃红四物汤、桃核承气汤等为代表的经典方的整体药理研究值得进一步研究。

本研究证实了桃仁对糖尿病大血管纤维化的抑制作用,对临床用药具有一定的指导意义,但是具体机制有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南 (2017 年版)[J]. 中华糖尿病杂志, 2018, 10(1):26-34.
- [2] Tunon J, Ruiz-Ortega M, Egido J. Regulation of matrix proteins and impact on vascular structure[J]. Curr Hypertens Rep, 2000, 2(1):106-113.
- [3] 张庚扬, 范英昌, 金树梅, 等. 糖尿病足辨证分型与病理学相关性研究[J]. 天津中医药, 2006, 23(2):115-117.
- [4] 谷雪, 付文娟, 孙芳初, 等. PI3K/Akt 信号通路和放射性肝损伤的关系研究[J]. 解放军预防医学杂志, 2018, 36(12):1581-1584.
- [5] 王乙安, 陈静, 赵恒, 等. PI3K/AKT/Survivin 通路在大鼠腹膜纤维化中的作用机制[J]. 广东医学, 2018, 39(21):3165-3169.
- [6] Yu Y, Lyons TJ. A lethal tetrad in diabetes: hyperglycemia, dyslipidemia, oxidative stress, and endothelial dysfunction[J]. Am J Med Sci, 2005, 330(5):227-232.
- [7] Coelho RP, Yuelling LM, Fuss B, et al. Neurotrophin-3 targets the translational initiation machinery in oligodendrocytes[J]. Glia, 2009, 57(16):1754-1764.
- [8] 严冬梅, 李敏军, 刘友平, 等. 内质网应激下肝癌细胞 Akt 和 ERK 通路间的 cross-talk 研究[J]. 中国现代医学杂志, 2011, 21(20):2361-2364.
- [9] 董洪亮, 刘乃国, 苗双, 等. 1, 25-(OH)₂D₃ 对肺纤维化大鼠中 PI3K、AKT、mTOR 表达的影响及其机制研究[J]. 中国现代医学杂志, 2018, 19(10):1-6.
- [10] 蔡凤桃, 张学荣, 孙林, 等. 眼镜蛇毒 NGF 通过 PI3K/Akt 促人肝星状细胞凋亡的机制研究[J]. 中国药理学通报, 2018, 01(19):23-27.
- [11] 付岩, 杨文成, 魏世杰, 等. 苦参碱调控 p-Akt/Akt 蛋白表达抑制大鼠心肌肥厚的作用[J]. 中国医院药学杂志, 2014, 07(07):505-509.
- [12] 徐阳, 王军. 桃核承气汤对大鼠糖尿病大血管 Toll 样受体表达的影响[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2017, 23(01):60-64.
- [13] 徐阳, 王军, 武海阔. 桃核承气汤对糖尿病大鼠大血管纤维病变 Toll 样受体通路作用研究[J]. 天津中医药, 2016, 33(05):299-302.
- [14] 张晓平, 陈建明, 强世平, 等. 山桃仁水煎提取物对肝纤维化小鼠血清 I、III 型前胶原的降解作用[J]. 福建中医药, 2002, 33(04):36-37.
- [15] 李雪梅, 冯琴, 彭景华, 等. 苦杏仁苷对二甲甲基亚硝酸诱导的大鼠肝纤维化的防治作用[J]. 中西医结合肝病杂志, 2011, 21(04):221-223+259.
- [16] 贾磊, 陈德兴, 文小平. 基于关联规则的王清任桃仁用药配伍挖掘[J]. 上海中医药大学学报, 2011, 25(4):86-88.

(收稿: 2018-07-06 修回: 2018-12-02)

(责任编辑: 孟庆才)

·作者须知·

统计学方法记述要求

统计学符号一律按 GB 3358-1982《统计学名词及符号》的有关规定,采用斜体排印。常用的符号有:(1)样本的算术平均数 \bar{x} (中位数仍用 M), (2)标准差用 s, (3)标准误用 s_x , (4)t 检验用 t, (5)F 检验用 F, (6)卡方检验用希文小写 χ^2 , (7)相关系数用 r, (8)自由度用希文小写 ν , (9)概率用 P。对于定量资料,应根据所采用的设计类型、资料特点和分析目的,选用合适的统计学分析方法,不应盲目套用 t 检验和单因素方差分析;对于定性资料,应根据所采用的设计类型、定性变量的性质和频数所具备的条件及分析目的,选用合适的统计学分析方法,不应盲目套用 χ^2 检验。对于回归分析,应结合专业知识和散点图,选用合适的回归类型,不应盲目套用简单直线回归分析;对具有重复实验数据检验回归分析资料,不应简单化处理;对于多因素、多指标资料,要在一元分析的基础上,尽可能运用多元统计分析方法,以便对因素之间的交互作用和多指标之间的内在联系做出全面、合理的解释和评价。统计学方法的记述不能笼统记录为 SPSS 或 SAS 软件,而应写明所用统计学方法的具体名称,如:成组设计资料均数比较的 t 检验、两因素析因设计资料的方差分析、多个均数之间两两比较的 q 检验等,必要时给出统计量的具体值(如: $t=4.35$, $\chi^2=5.33$, $F=12.09$ 等);在用不等式表示 P 值时,一般情况下选用 $P>0.05$ 、 $P<0.05$ 和 $P<0.01$ 3 种表达方式,无须再细分。当涉及到总体参数(如总体均数、总体率等)时,在给出显著性检验结果的同时,再给出 95% 可信区间。