



# 电针对2型糖尿病合并肾性高血压大鼠模型的疗效

万斌<sup>1</sup>, 孙丽薇<sup>2</sup>, 刘蓉<sup>1</sup>, 李洪涛<sup>1\*</sup>, 顾为望<sup>3\*</sup>

(1. 广州医科大学附属第一医院, 广州呼吸疾病研究所呼吸疾病国家重点实验室, 广州 510120;  
2. 中山大学医学院遗传学教研室, 广州 510080; 3. 南方医科大学实验动物中心, 广州 510515)

**【摘要】 目的** 观察电针对2型糖尿病合并肾性高血压大鼠模型的疗效,并探索其可能的作用机制,进一步完善针灸在临床急、慢性疾病中的应用。**方法** 将50只Wistar大鼠随机选择10只作为空白组,余下40只用于模型制作,并随机均分为单纯糖尿病组、单纯肾性高血压组、复合模型电针组、复合模型未电针组。大鼠高脂高糖膳食4周后,予快速腹腔注射链脲佐菌素(STZ),制作成单纯2型糖尿病模型,待模型血糖稳定,再用改良的“两肾一夹法”结扎大鼠单侧肾动脉,造成肾动脉狭窄,形成肾性高血压。最后获得稳定的2型糖尿病合并肾性高血压病的复合模型。其中除复合模型未电针组大鼠不予电针治疗外,其余各组大鼠均给予两个周期(2周)的电针治疗。最后,检测各组大鼠电针前后的血压(BP)、空腹血糖(FBG)、肌酐(Cr)、尿素氮(BUN)、糖化血红蛋白(GHbA1c)、肾素(PRA)及血管紧张素II(Ang II)值的变化。**结果** 电针2周后,复合模型电针组与复合模型未电针组相比,BP、FBG、GHbA1c、PRA、Ang II值均降低( $P < 0.01$ ),但Cr和BUN值变化不明显( $P > 0.05$ )。**结论** 电针刺激2型糖尿病合并肾性高血压模型大鼠的双侧足三里穴,能使复合模型大鼠的血糖和血压降低至正常水平,且经单次电针刺激后2-3天内,复合模型大鼠的血糖和血压均能稳定在治疗后水平。另外,针灸疗法较其他治疗方法还具有经济、安全、无副作用等优点,更适合应用于2型糖尿病合并肾性高血压病的早期临床治疗及基础研究。

**【关键词】** 电针; 糖尿病; 肾性高血压病; 足三里; 大鼠

**【中图分类号】** Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2016)06-0622-06

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2016.06.013

## Effect of electroacupuncture on the rat model of type 2 diabetes mellitus combined with renal hypertension

WAN Bin<sup>1</sup>, SUN Li-wei<sup>2</sup>, LIU Rong<sup>1</sup>, LI Hong-tao<sup>1\*</sup>, GU Wei-wang<sup>3\*</sup>

(1. The First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou Institute of Respiratory Diseases, State Key Laboratory of Respiratory Diseases, Guangzhou 510120, China; 2. Department of Medical Genetics, Zhongshan Medical College of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080;  
3. Laboratory Animal Center, Southern Medical University, Guangzhou 510515)

**【Abstract】 Objective** To observe the therapeutic effect of acupuncture therapy for the rat model of type 2 diabetes mellitus (T2DM) combined with renal hypertension and try to explore its mechanism. **Methods** We randomly select 10 Wistar rats as the blank group and 40 rats were used to make the model groups, which were divided into simple diabetes group, simple renal hypertension group, the compound group with electroacupuncture and the compound group without electroacupuncture, with 10 rats in each group. After a high fat and sugar diet for 4 weeks, the Wistar rats were given streptozotocin i. p. injection to establish models of type 2 diabetes mellitus. Renal hypertension was developed by the “2K1C” improved method to make unilateral renal artery ligation-induced renal artery stenosis. Then, electroacupuncture treatment was performed on the rats for 2 weeks except the compound group without electroacupuncture. The changes of values of BP, FBG, Cr, BUN, glycosylated hemoglobin, renin and Ang II were recorded and analyzed. **Results** The values of BP, FBG,

[基金项目] 广东省科技基础条件建设项目(编号: 2014A030304069; 2015A030303016)。

[作者简介] 万斌(1989-),男,湖南常德人,硕士,主要从事疾病模型及比较医学研究, E-mail: wanb-smu@qq.com

[通讯作者] 李洪涛,教授, E-mail: gyhongtao@126.com; 顾为望,教授, E-mail: guww100@163.com

Cr, BUN, glycated hemoglobin, renin and Ang II in the compound group with electroacupuncture showed a significant reduction compared with the compound group without electroacupuncture after 2 weeks ( $P < 0.01$ ), but there was no obvious changes in the values of Cr and BUN ( $P > 0.05$ ). **Conclusions** The blood glucose and blood pressure in the rat model of compound group can be reduced to a normal level with continuous electroacupuncture at bilateral acupoints Zusanli, and it can also be kept at a stable level after single electroacupuncture for 2–3 days. The acupuncture therapy is more suitable for early clinical treatment and can be used in basic research with advantages of economic, safe, no side effect and so on.

**【Key words】** Electroacupuncture; Type 2 diabetes mellitus; Renal hypertension; Acupoint ST36 (Zusanli); Rat  
Corresponding author: LI Hong-tao, E-mail: gyhongtao@126.com; GU Wei-wang, E-mail: guww100@163.com

糖尿病是临床常见的慢性代谢性疾病,主要表现为“三多一少”的症状和体征。按发病类型,临床上一般将其分为 1 型和 2 型两大类,其中又以 2 型为主。持续的高血糖和长期代谢紊乱可导致全身多个组织器官损伤或功能障碍。当血栓停留在肾动脉可导致肾动脉主干或分支狭窄、阻塞,使肾血流量减少从而引起肾性高血压,持续的肾性高血压又能很快导致急慢性的肾衰竭<sup>[1]</sup>。当前,临床治疗糖尿病和肾性高血压病的方法较多,但治疗效果却因人而异,病人往往因个人原因或药物副作用而停止服药,从而达不到临床要求的规律治疗的目的,所以针对 2 型糖尿病合并肾性高血压病早期,寻找一个既能降血糖同时又能控制血压的方法将是临床迫切需要的。因此本研究采用高频电针刺激复合模型大鼠双侧足三里穴,来治疗 2 型糖尿病合并肾性高血压病的方法将为临床上该类疾病的早期治疗及基础研究提供一个新的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

SPF 级 Wistar 雄性大鼠,50 只,8~10 月龄,体重为 360~380 g,由南方医科大学实验动物中心提供【SCXK[粤]2011-0015】,符合国际动物伦理学标准。大鼠饲养于南方医科大学实验动物中心 SPF 级动物实验室【SYXK(粤)2011-0074】,并按实验动物使用的 3R 原则给予人道的关怀。

### 1.2 实验试剂及仪器

链脲佐菌素:(美国 Sigma 公司);胆固醇、胆酸钠等:(河南祥盛公司);大鼠糖化血红蛋白(GHbA1c)、肾素(PRA)、血管紧张素 II(Ang II) ELISA 试剂盒(上海广锐生物科技有限公司)等。

### 1.3 主要仪器及设备

针灸针:北京汉医医疗器械;电针仪:华佗牌 SDZ-II 型;大鼠针灸固定板;手术缝合针线及器械;玻璃分针;PH 值测试仪:德国赛多利斯公司;稳豪型血糖仪及

试纸:美国强生公司;酶标仪:美国赛默飞公司;CODA 无创血压测定分析系统:Kent Scientific 公司等。

## 1.4 方法

### 1.4.1 实验分组及模型建立

将 50 只大鼠随机均分为空白组、单纯糖尿病组、单纯肾性高血压组、复合模型电针组和复合模型未电针组。肾性高血压组大鼠行改良的“两肾一夹法”造模。单纯糖尿病组大鼠需高脂高糖膳食 4 周后,予 28 mg/kg 剂量的链脲菌素(streptozotocin, STZ)溶液腹腔注射造模<sup>[2-4]</sup>。复合模型大鼠在单纯糖尿病模型的基础上,行改良的“两肾一夹法”造模<sup>[5-7]</sup>。

将各组大鼠(除复合模型未电针组)分别固定在针灸固定板上,用刮毛刀除去大鼠两腿外侧部毛发,使用半寸针灸针针刺大鼠双侧足三里穴(图 1 和图 2),进针深度约 7 mm 左右(大鼠足三里穴位于后腿外侧,胫骨嵴的外侧中间)<sup>[8]</sup>。SDZ-II 型电针仪连于两侧针柄上,在高频的连续波强度下,持续脉冲 20 min/d,电针 6 d 后停 1 d,7 d 为一个治疗周期,整个实验进行 2 个治疗周期(2 周)。每个治疗周期完成后各大鼠均需测量 BP、FBG、GHbA1c、PRA、Ang II 值,实验完成后处死大鼠,下腔静脉采血测血清 Cr、BUN 值,分别取胰腺、肾做病理学检查。

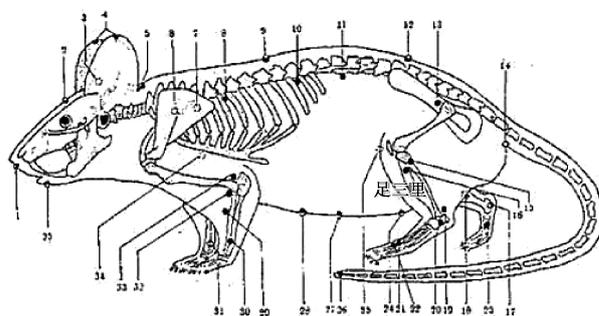


图 1 大鼠全身穴位图(编号 16 为足三里穴)

Fig.1 Location of acupoints all over the body in the rat  
(No. 16 represents Zusanli acupoint)

### 1.4.2 一般行为观察

所有大鼠均用干性饲养笼饲养,观察大鼠精神



图 2 电针大鼠双侧足三里穴

Fig. 2 Electroacupuncture at bilateral acupoints Zusanli of the rats

状态、体重变化、大小便情况等。

#### 1.4.3 FBG 及血压值测定

测定各组大鼠在电针前、电针后 1 周和 2 周的 FBG 值及 BP 值。FBG 值测定:大鼠禁食 12 h 后,经尾静脉采血,予快速血糖仪测得;BP 值的测定:采用 CODA 无创血压测定分析系统测量各组大鼠的 BP 值。每只大鼠均重复测量 3 次后取平均值作为最后血压值。

#### 1.4.4 GHbA1c、PRA、Ang II 值测定

ELISA 试剂盒测定各组大鼠在电针前、电针后 1 周和 2 周的 GHbA1c、PRA、Ang II 值。

#### 1.4.5 Cr、BUN 值测定

电针前,麻醉大鼠,用毛细吸管从大鼠眼眶静脉丛采血 3 mL,分离血清,全自动血液生化分析仪测得各组大鼠电针前的 Cr、BUN 值;电针干预 2 周后,麻醉大鼠,开腹从下腔静脉采血 3 mL,分离血清,测得各组大鼠电针后的 Cr、BUN 值。

#### 1.4.6 组织病理学观察

电针前,随机抽取部分复合模型大鼠,麻醉后开腹,取其胰腺和肾进行 HE 染色。电针 2 周后,所有大鼠均麻醉采血,取胰腺、肾组织,进行 HE 染色。观察电针前后各组大鼠胰腺和肾组织病理学变化。

### 1.5 统计学分析方法

两组间的均数比较采用两独立样本  $t$  检验,不同组间的均数比较均采用重复测量的方差分析。统计结果用均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,检验的显著性水平为  $P < 0.05$ ,所有分析均采用 SPSS 21.0 统计软件。

## 2 结果

### 2.1 一般行为观察

空白组及单纯肾性高血压组大鼠,精神状态良

好,毛发顺滑干净有光泽,体重随饲养周期增大;而其他三组大鼠体重增长较慢,甚至部分出现体重减轻;另外,复合模型未电针组大鼠与其他组大鼠相比,精神更易紧张,毛发缺少光泽,局部变黄易脱落,抓持时遗尿排便现象较普遍,大便质软甚至稀便,腐臭味明显,尿量及粪量均增加。

### 2.2 大鼠 FBG 和 BP 值变化

#### 2.2.1 FBG 值变化

不同组间的 FBG 值差异均有显著性 ( $P < 0.05$ )。电针 1 周后,单纯糖尿病组和复合模型电针组与电针前相比,两组大鼠空腹血糖均出现明显下降 ( $P < 0.01$ );电针 2 周后,单纯糖尿病组和复合模型电针组大鼠与电针前相比,空腹血糖也出现了明显下降 ( $P < 0.01$ )。空白组、单纯肾性高血压组及复合模型未电针组电针前后,大鼠空腹血糖值均无明显差异 ( $P > 0.05$ )。

#### 2.2.2 BP 值变化

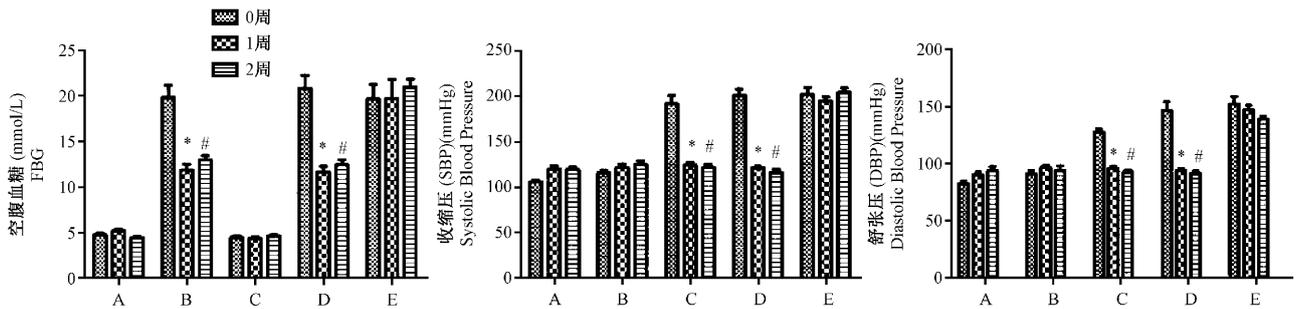
不同组间的 BP 值均有差异 ( $P < 0.05$ )。电针 1 周后,单纯肾性高血压组和复合模型电针组大鼠与电针前相比,收缩压及舒张压均有显著差异 ( $P < 0.01$ );电针 2 周后,单纯肾性高血压组和复合模型电针组大鼠与电针前相比,收缩压及舒张压也均有显著差异 ( $P < 0.01$ )。而空白组、单纯糖尿病组及复合模型未电针组之间收缩压和舒张压均无明显差异 ( $P > 0.05$ )。(图 3)。

### 2.3 大鼠 GHbA1c、PRA、Ang II 值的变化

所有大鼠眼眶静脉采血后,分离血清。测定各组大鼠电针前,1 周后及 2 周的 GHbA1c、PRA、Ang II 值。不同组间的 GHbA1c、PRA、Ang II 值均有差异 ( $P < 0.05$ )。电针 1 周后,单纯糖尿病组和复合模型电针组与电针前相比,两组大鼠 GHbA1c 水平均出现明显下降 ( $P < 0.01$ );电针 2 周后,单纯糖尿病组和复合模型电针组大鼠与电针前相比,GHbA1c 水平也出现了明显下降 ( $P < 0.01$ );另外,电针 1 周后,单纯肾性高血压组和复合模型电针组与电针前相比,两组大鼠 PRA、Ang II 水平也均出现明显下降 ( $P < 0.01$ );电针 2 周后,单纯糖尿病组和复合模型电针组大鼠与电针前相比,PRA、AngII 水平明显下降 ( $P < 0.01$ ) (图 4)。

### 2.4 BUN、Cr 值比较

电针前与电针后 2 周各组之间的肾功能 (BUN、Cr) 均无明显差异 ( $P > 0.05$ ) (表 1)。

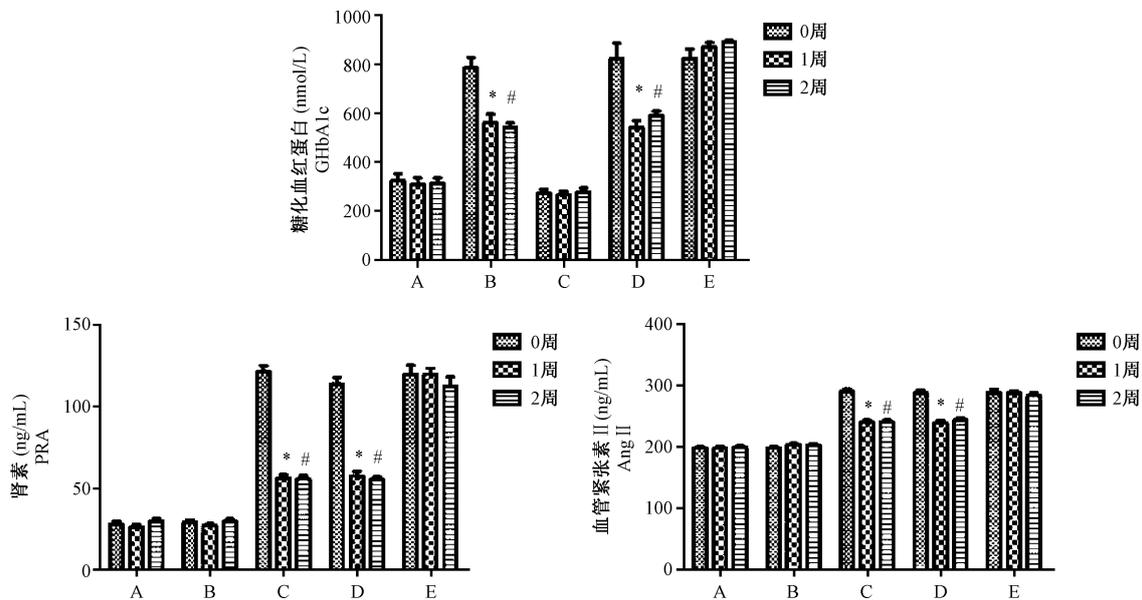


注:A. 空白组;B. 单纯糖尿病组;C. 单纯肾性高血压组;D. 复合模型电针组;E. 复合模型未电针组。(图4同)。与空白组及单纯肾性高血压组比较,空腹血糖(FBG) \*  $P < 0.01$ ;且#  $P < 0.01$ ;与空白组及单纯糖尿病组比较,收缩压(SBP)、舒张压(DBP) \*  $P < 0.01$ ;且#  $P < 0.01$ 。

图3 电针前后各组大鼠空腹血糖、血压值变化

Note. A. Blank group; B. Simple diabetes group; C. Simple renal hypertension group; D. Compound group with electroacupuncture; E. Compound group without electroacupuncture. (The same as in the following Fig. 4). Compared with the blank group and simple renal hypertension group, the changes of FBG show significant differences (\*  $P < 0.01$ ; #  $P < 0.01$ ). Compared with the blank group and simple diabetes group, the change of SBP and DBP show significant differences (\*  $P < 0.01$ ; #  $P < 0.01$ ).

Fig. 3 Changes of the values of FBG and BP after electroacupuncture in each group



注:与空白组及单纯肾性高血压组比较,糖化血红蛋白、肾素、血管紧张素 II 水平 \*  $P < 0.01$ ;且#  $P < 0.01$ 。

图4 电针前后各组大鼠血清 GHbA1c、PRA、Ang II 值变化

Note. Compared with the blank group and simple renal hypertension group, the changes of serum glycosylated hemoglobin, renin and Ang II show significant differences, \*  $P < 0.01$ ; #  $P < 0.01$ .

Fig. 4 Changes of the values of serum GHbA1c, PRA, Ang II after electroacupuncture in each group

表1 不同组别的大鼠电针前与电针后 2 周肾功能指标的变化(BUN、Cr) (mmol/L,  $\bar{x} \pm s$ )

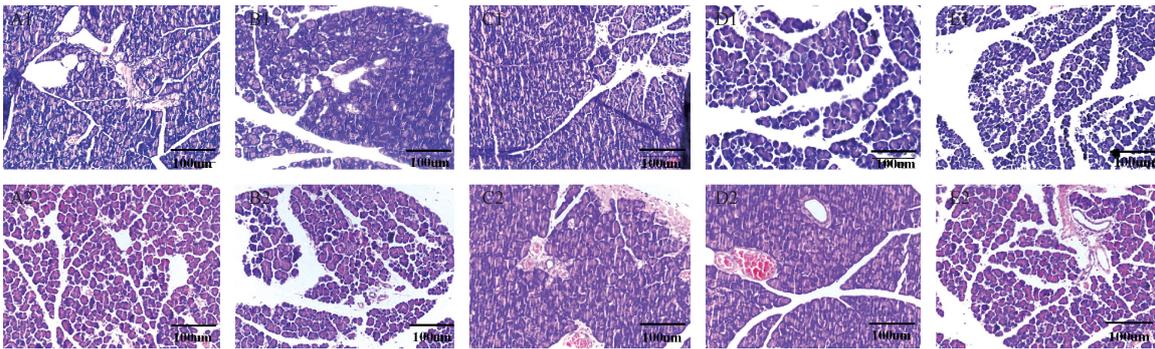
Tab. 1 Changes of the functional parameters in kidneys among different groups before and 2 weeks after electroacupuncture

组别/ Groups	0 周 0 week		2 周 2 weeks	
	BUN	Cr	BUN	Cr
空白组 Blank group	6.41 ± 0.63	32.80 ± 7.86	6.12 ± 0.86	34.24 ± 5.40
单纯糖尿病组 Simple diabetes group	6.30 ± 0.87	31.56 ± 5.36	6.65 ± 1.07	35.41 ± 5.22
单纯肾性高血压组 Simple renal hypertension group	6.26 ± 1.01	32.60 ± 6.61	6.49 ± 0.96	37.23 ± 6.16
复合模型电针组 Compound group with electroacupuncture	6.30 ± 1.11	38.20 ± 7.26	6.32 ± 0.92	36.96 ± 8.23
复合模型未电针组 Compound group without electroacupuncture	6.65 ± 0.95	31.55 ± 4.16	6.38 ± 0.99	33.37 ± 5.36

## 2.5 病理学观察

### 2.5.1 胰腺 HE 染色

电针前与电针 2 周后各组大鼠胰腺的病理学改变。结果显示:空白组和单纯肾性高血压组大鼠在电针前后胰岛细胞形态未发生改变,细胞数量多且胞浆丰富;而在其余三组中,电针前后均有胰岛细胞形态改变,表现为胰岛细胞体积增大及不同程度的空泡变性,同时部分胰岛细胞还见核固缩坏死,但是复合模型未电针组大鼠的胰岛萎缩坏死程度明显较单纯糖尿病组和复合模型电针组的大鼠更重(图 5)。



注:编号 A1、B1、C1、D1、E1 分别代表空白组、单纯糖尿病组、单纯肾性高血压组、复合模型电针组和复合模型未电针组大鼠的电针前胰腺 HE 染色结果;编号 A2、B2、C2、D2、E2 分别代表电针 2 周后的胰腺 HE 染色结果。(图 6 同)。

图 5 电针前与电针 2 周后各组大鼠胰腺的病理学改变(×200)

Note. No. A1, B1, C1, D1, E1 represent pancreatic tissues in the blank, simple diabetes, simple renal hypertension, the compound group with electroacupuncture and the compound group without electroacupuncture before electroacupuncture, respectively. No. A2, B2, C2, D2, E2 represent the pancreatic tissues at 2 weeks after electroacupuncture. (The same as in the following Fig. 6) HE staining, ×200

Fig. 5 Pathological changes of the pancreas in each group before and at 2 weeks after electroacupuncture

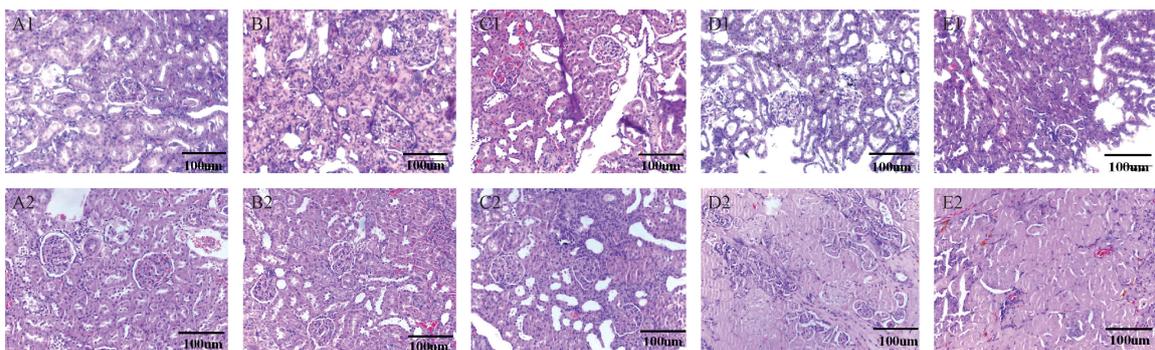


图 6 电针前与电针 2 周后各组大鼠左肾的病理学改变(×200)

Fig. 6 Pathological changes of the left kidney in each group before and 2 weeks after electroacupuncture.

## 3 讨论

糖尿病(DM)是一种临床常见的慢性病,按其发病类型,可将其分为 1 型和 2 型两大类。2 型糖尿病的发病人群以中老年为主,常易导致各器官的急、慢性并发症。持续进展性的高血糖和长期的代

### 2.5.2 肾脏的 HE 染色

电针前与电针 2 周后各组大鼠肾脏的病理学改变。结果显示:电针前后单纯肾性高血压组、复合模型电针组及复合模型未电针组大鼠的左侧肾小管及肾小球均出现不同程度的萎缩,肾小管萎缩、消失较明显,同时伴有肾间质纤维化,但复合模型未电针组大鼠的左肾萎缩较其余两组更明显;另外,这三组大鼠的右侧肾脏均发现明显的代偿性增大,表现为肾小管细胞增生、肥大为主。而空白组和单纯糖尿病组的大鼠电针前后均未见明显的肾脏病变(图 6)。

谢紊乱可导致动脉粥样硬化和血管狭窄,而肾动脉狭窄,肾血流量减少又能激活肾素血管紧张素醛固酮系统,使血压持续升高,最终形成急慢性肾衰竭<sup>[9-10]</sup>。

现今临床治疗糖尿病和高血压的方法仅仅是通过药物对症治疗,但是从多年的临床观察来看,其治

疗效果却不甚满意,甚至会产生多种或轻或重的并发症。针灸疗法是一种中医疗法被认为是一种经济、环保、无毒、实用、副作用少的治疗手段,并且它对某些代谢性疾病及慢性病的疗效显著,并能达到增加患者生存率及生活质量,降低严重并发症的发生率的作用<sup>[11-12]</sup>。

实验中选用 8~10 月龄的中年大鼠进行实验,能更好的模拟出人类 2 型糖尿病发病年龄的特点,运用本实验方法建立的 2 型糖尿病合并肾性高血压的大鼠模型,存活率及成模率均较高。另一方面,实验中当针灸刺激复合模型大鼠两侧足三里穴后,复合模型大鼠的 GHbA1c、PRA、Ang II 水平均降低,而三者又都是维持机体血糖或血压的重要物质,针灸后三者水平降低,表明针灸对糖尿病和高血压病的进展起到了良好的干预作用。同时,针灸治疗能减少患者长期服药而产生的并发症,更容易被病人接受。

综上所述,本实验通过给予 2 型糖尿病合并肾性高血压大鼠电针治疗,一定程度上对 2 型糖尿病合并肾性高血压病的进展起到了干预作用,同时各种检测结果也均与该病临床治疗结果相符。所以本实验的进行,可为 2 型糖尿病合并肾性高血压疾病的早期临床治疗研究及基础研究提供一个可靠的新方法。

#### 参 考 文 献

- [ 1 ] Liu Y, Liu Y, Li HY, et al. Effect and mechanisms of zinc supplementation in protecting against diabetic cardiomyopathy in a rat model of type 2 diabetes [J]. *Bosn J Basic Med Sci*, 2015, 15 (1): 14-20.
- [ 2 ] Nekoeian AA, Khalili A, Khosravi MB, et al. Oleuropein offers Cardioprotection in rats with simultaneous type 2 diabetes and renal Hypertension [J]. *Indian J Pharmacol*, 2014, 46(4): 398-403.
- [ 3 ] Bhandari U, Kumar V, Kumar P, et al. Protective effect of pioglitazone on cardiomyocyte apoptosis in low dose streptozotocin and high fat diet induced type 2 diabetes in rats [J]. *Indian J Med Res*, 2015, 142(5): 598-605.
- [ 4 ] Santuzzi CH, Tiradentes RV, Mengal V, et al. Combined aliskiren and L-arginine treatment has anti-hypertensive effects and prevents vascular endothelial dysfunction in a model of renovascular hypertension [J]. *Braz J Med Biol Res*, 2015, 48(1): 65-76.
- [ 5 ] 秦秋华, 蒋伟哲, 施晓霞, 等. 肾性高血压大鼠模型制备方法的改进 [J]. *广西医科大学学报*, 2011, 28(5): 671-673.
- [ 6 ] 万斌, 孙丽薇, 张巧香, 等. 2 型糖尿病合并肾性高血压模型的建立及评价 [J]. *动物医学进展*, 2016, 37(5): 53-59.
- [ 7 ] Zeinivand M, Rahmani MR, Allatavakoli M, et al. Effect of co-administration of morphine and nicotine on cardiovascular function in two-kidney one clip hypertensive (2K1C) rats [J]. *Bosn J Basic Med Sci*, 2013, 13(3): 140-145.
- [ 8 ] Tzeng CY, Lee YC, Ho TY, et al. Intracellular signaling pathways associated with the glucose-lowering effect of ST36 electroacupuncture in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Acup Med*, 2015, 33(5): 395-399.
- [ 9 ] Nair AR, Ebenezer PJ, Saini Y, et al. Angiotensin II-induced hypertensive renal inflammation is mediated through HMGB1-TLR4 signaling in rat tubulo-epithelial cells. *Experimental Cell Research* [J]. 2015, 335(2): 38-247.
- [ 10 ] Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Diabetes mellitus and renal failure: Prevention and management [J]. *J Res Med Sci*, 2015, 20(11): 1112-1120.
- [ 11 ] Su Z, Robinson A, Hu L, et al. Acupuncture plus low-frequency electrical stimulation attenuates diabetic myopathy by enhancing muscle regeneration [J]. *PLoS One*. 2015, 10(7): e0134511.
- [ 12 ] Chung JY, Yoo DY, Im W, et al. Electroacupuncture at the Zusanli and Baihui acupoints ameliorates type-2 diabetes-induced reductions in proliferating cells and differentiated neuroblasts in the hippocampal dentate gyrus with increasing brain-derived neurotrophic factor levels [J]. *J Vet Med Sci*, 2015, 77(2): 167-173.

[ 收稿日期 ] 2016-10-09