

麦冬和黄连组分配伍对糖尿病大鼠 心肌组织的保护作用

蒋可* 高普 刘剑刚 杨斌

(中国中医科学院西苑医院, 北京市海淀区西苑操场路 1 号, 100091)

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30873257), 中国博士后基金资助项目(20080430534)

* 通讯作者: jiangke126@126.com, (010) 62835630

[摘要] **目的** 探讨麦冬多糖和黄连生物碱组分配伍(简称冬连组分)保护糖尿病大鼠心肌组织的机制。 **方法** 采用 SD 大鼠一次性腹腔注射链脲佐菌素缓冲液诱导糖尿病模型。造模成功大鼠随机分为模型组、二甲双胍组(0.188g/kg)、冬连组分小剂量组(1.35g/kg)、冬连组分大剂量组(6.75g/kg), 每组 10 只, 另选正常 SD 大鼠 10 只为正常组。第 2 天灌胃给药, 二甲双胍和中药组分配成相应浓度、同等体积的溶液, 正常组和模型组灌胃等量蒸馏水。连续灌胃 4 周后测定各组大鼠心脏重量、左心室/体重指数、心肌血管紧张素 II (Ang II)、内皮素(ET)含量及血管紧张素转化酶(ACE)受体在心肌组织的表达。 **结果** 与模型组比较, 冬连组分大剂量组可显著降低大鼠心脏重量、左心室/体重指数、心肌组织 Ang II、ET 含量($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 并抑制心肌 ACE 受体表达。 **结论** 冬连组分通过抑制糖尿病大鼠的心肌组织 ACE 受体表达, 降低心肌组织 Ang II、ET 含量, 保护糖尿病大鼠心肌组织。

[关键词] 冬连组分; 麦冬多糖; 黄连生物碱; 血管紧张素 II; 内皮素; 血管紧张素转化酶

Protective Effect of Donglian Component on the Myocardium Tissue of Diabetic Rats

JIANG Ke, GAO Pu, LIU Jiangang, YANG Bin

(Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091)

ABSTRACT **Objective** To study the mechanism of protective function of Donglian component [compatibility of 麦冬 (Radix Ophiopogonis polysaccharide) with 黄连 (Rhizoma Coptidis alkaloid)] on the myocardium tissue of diabetic rats. **Methods** Healthy male SD rats were made models of diabetes by abdominal injection of streptozotocin (STZ) buffer solution. The successful model rats were randomized into model group, metformin group (0.188g/kg), Donglian small-dose group (1.35g/kg) and large-dose group (6.75g/kg), with 10 in each. Ten healthy rats were normal control. From the second day of modeling, the metformin and Donglian component were made fluid of the specific concentration and same volume were administered by gavage, and the normal group and model group were given the same volume distilled water by gavage, for 4 weeks in succession. Weight of the heart, left ventricle/body weight index, the content of myocardium angiotensin II (Ang II) and endothelin (ET), and the expression of receptor of angiotensin converting enzyme (ACE) in myocardium were determined. **Results** Compared with the modle group, the heart weight, left ventricle/body weight index, and contents of Ang II and ET in Donglian large-dose group were significantly decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$) and the expression of ACE receptor was inhibited. **Conclusion** Donglian component protects the myocardium of diabetic rats through inhibiting the expression of ACE receptor and decreasing the contents of Ang II and ET.

Key Words Donglian component; Radix Ophiopogonis polysaccharide; Rhizoma Coptidis alkaloid; angiotensin II (Ang II); endothelin (ET); angiotensin converting enzyme (ACE)

糖尿病性心肌病(DC)的概念由 Rubler 等在 1972 年首次提出^[1]。1974 年 Hamby 等提出把 DC 作为糖尿病的慢性并发症之一^[2]。该心肌病变具有特异性, 并非继发于冠状动脉的供血障碍。患者早期可无任何症状, 随着病情发展, 患者可出现心绞痛、心律失常和进行性的心功能不全。本研究在既往研究基础上, 总结出 DC 早期病机特点为阴虚内热。我

们选取具有滋阴清热功效的麦冬、黄连, 取其有效成分麦冬多糖和黄连生物碱组分配伍(简称冬连组分)治疗 DC 的早期病变。现报告如下。

1 材料与方法

1.1 动物

健康 SD 雄性大鼠 50 只(清洁级), 体重 200~220g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 许

可证号:SCXK(京) 2007-0001。

1.2 药物

冬连组分, 0.3g/粒, 由北京同仁堂制药有限公司提取, 生产批号: 070525; 盐酸二甲双胍片, 250mg/片, 北京协和药厂生产, 国药准字: H11020976, 生产批号: 080603。

1.3 试剂

链脲佐菌素(STZ, 批号: 080409); 血管紧张素Ⅱ(Ang Ⅱ, 批号: 080703); 内皮素(ET) 放免试剂盒(批号: 080517); 免疫组织化学试剂盒(批号: 081202)。均购自北京华英生物技术研究所。

1.4 仪器

RX-2000 型全自动生化仪, 美国 TECHNICON 公司生产; SN-682 型 γ放射免疫计数仪, 上海核辐射仪器有限公司生产; Dpx View Pro 型计算机彩色图像处理系统, 丹麦 Delta Pix 公司生产。

1.5 模型制备

大鼠二级动物室饲养7天后, 将STZ 1.5g溶于0.1mol/L 配制的枸橼酸钠溶液(pH 值=4.5), 50mg/kg 给空腹12h 的大鼠一次性腹腔注射, 诱导2型糖尿病模型^[4]。72h 后, 以血糖浓度大于16.5mmol/L 的大鼠选为糖尿病模型, 正常组予以等量同浓度枸橼酸钠溶液腹腔注射。

1.6 分组与给药

将造模成功大鼠按随机数字表法分为5组, 每组10只, 第2天开始灌胃给药。①正常组: 给予普通饮食; ②模型组: 给予高脂饮食; ③二甲双胍组: 高脂饮食, 盐酸二甲双胍片, 0.188g/kg 灌胃; ④冬连组分大剂量组: 高脂饮食, 冬连组分 6.75g/kg 灌胃; ⑤冬连组分小剂量组: 高脂饮食, 灌胃冬连组分 1.35g/kg。高脂饲料为10%脂肪, 2%胆固醇。所有药物用蒸馏水稀释等量倍数灌胃, 每日1次, 连续给药4周。正常组给予等量蒸馏水。在实验的过程中因高血糖和灌胃不当导致大鼠死亡7只, 其中模型组3只、冬连组分小剂量组2只, 二甲双胍组和冬连组分大剂量组各1只。

1.7 指标测定

1.7.1 心脏重量、左心室/体重指数测定 处死前禁食不禁水12h, 氨基甲酸乙酯(20%, 0.7ml/100g)麻醉, 称量体重, 腹主动脉取血测定生化指标, 迅速取出心脏, 吸干血液, 分别除去薄膜称重, 记录心脏重量、左心室/体重指数。

1.7.2 心肌组织 Ang Ⅱ、ET 含量测定 取心肌组织放入0.5mmol/L 乙酸4ml, 煮沸15min, 冷却后匀浆(14000r/min, 10min, 3次), 离心(3000r/min), 取上清液, 用放免法测定 Ang Ⅱ、ET 含量。

1.7.3 心肌组织血管紧张素转化酶(ACE) 表达 取厚度4Hm 心肌组织切片, 脱蜡, 封闭内源性过氧化物酶, 10%正常山羊血清封闭。滴加一抗(1:100), 37℃ 孵育1h。滴加二抗生物素化羊抗兔 IgG, 室温20min; 滴加SABC 复合物, 室温20min, DAB 显色, 苏木素复染; 乙醇脱水、透明、中性胶封片, 显微镜观察。每张切片随机选取5个不同视野, 每组共计25个视野, 以胞浆染成棕褐色为阳性细胞标志, 通过计算机图像分析系统对各组切片的免疫组化结果进行图像分析, 观测其表达情况。

1.8 统计学方法

采用SPSS 12.0 统计分析软件处理, 计量数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 冬连组分对糖尿病模型大鼠心脏重量、左心室/体重指数、Ang Ⅱ、ET 的影响

表1 示, 与正常组比较, 模型组大鼠心脏重量、左心室/体重指数增加, 模型组大鼠心肌 Ang Ⅱ、ET 含量明显升高($P < 0.01$)。与模型组比较, 二甲双胍及冬连组分大剂量组均能降低心脏重量、左心室/体重指数及 Ang Ⅱ、ET 含量($P < 0.05$)。

2.2 冬连组分对糖尿病模型大鼠心肌ACE 免疫组化影响

图1 示, 正常组动脉管壁中偶有棕色颗粒表达。图2 示, 模型组动脉管壁中棕色颗粒表达明显增多;

表1 各组大鼠心脏重量、左心室/体重指数、Ang Ⅱ、ET 的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	心脏重量(g)	左心室/体重指数	Ang Ⅱ (ng/g)	ET (pg/g)
正常组	10	0.82±0.42	2.09±0.19	1.34±0.23	63.74±5.32
模型组	7	1.01±0.13*	3.57±0.67*	2.62±0.07*	78.56±6.29*
二甲双胍组	9	0.85±0.17△	3.01±0.04△	1.56±0.29△	62.13±6.67△
冬连组分小剂量组	8	0.94±0.29	3.27±0.58	1.64±0.48	65.88±7.41
冬连组分大剂量组	9	0.84±0.36△	2.90±0.37△	1.49±0.15△	58.82±9.43△

注: 与正常组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, △ $P < 0.05$

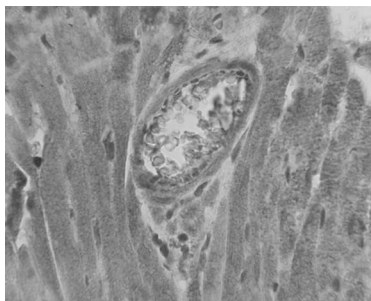


图1 正常组大鼠动脉管壁
棕色颗粒表达(×400)

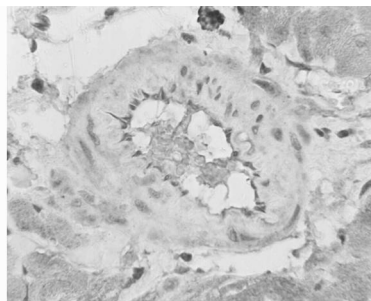


图2 模型组大鼠动脉管壁
棕色颗粒表达(×400)

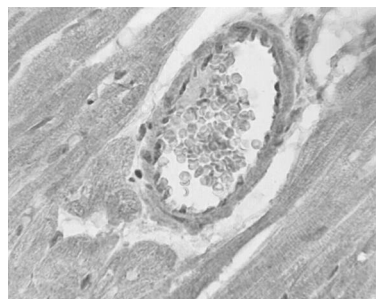


图3 二甲双胍组大鼠动脉管壁
棕色颗粒表达(×400)



图4 冬连组分小剂量组大鼠动脉
管壁棕色颗粒表达(×400)

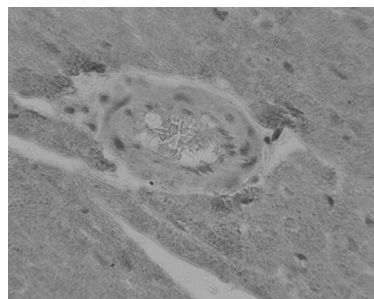


图5 冬连组分大剂量组大鼠动脉
管壁棕色颗粒表达(×400)

图3示,二甲双胍组动脉管壁中棕色颗粒的表达较模型组减少。图4示,冬连组分小剂量组动脉管壁中棕色颗粒的表达较模型组减少,但较大剂量组和二甲双胍组表达增多;图5示,冬连组分大剂量组动脉管壁中棕色颗粒的表达较模型组减少非常明显。提示造模后ACE受体表达明显增多,治疗组各组均能抑制ACE受体表达,其中以冬连组分大剂量组效果最好。

3 讨论

消渴病心病这一病名首见于《糖尿病及其并发症中西医诊治学》(吕仁和主编)。历代医家所述的消渴继发心痛、胸闷等皆属于此范畴。如《灵枢·本脏》云:“心脆则善病消瘵热中”。张仲景《伤寒论》云:“消渴,气上撞心,心中痛热”。巢元方《诸病源候论》云:“消渴重,心中痛”。该病名提示消渴病心病病位在心。我们总结出的消渴病心病其早期病机特点为阴虚内热。阴虚内热,导致心阴耗伤,心气亏虚,气虚则血行不畅,心脉痹阻,遂形成消渴病心病。由于其早期发病较为隐匿,易被忽视,一旦出现症状,则治疗较非消渴病心病难度大。

冬连组分方中麦冬养阴润燥,清热生津,疗消渴阴虚之本,是为君药,黄连清热泻火,配伍麦冬增强清热之力,使火去而津液自复,为臣药。配方君臣有序,补虚而泻实,在其他药物佐助下,共奏滋阴清热

之功效。现代研究表明,麦冬的有效成分麦冬多糖具有降低血糖^[5]、抗心肌缺血和抗心律失常作用^[6]。黄连的有效成分黄连生物碱有抗心律失常、降血糖、降血脂、抗血小板聚集等作用。

近年来关于糖尿病心肌病变的发病机理研究主要集中于心肌细胞的能量代谢障碍、肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)激活、细胞外基质(ECM)增生、心肌细胞膜完整性受损、钙转运机制异常以及氧自由基清除的异常等。其中的肾素-血管紧张素系统(RAS)与维持和修复心肌的结构有关^[3]。RAS中的Ang II和ACE是DC发生发展的主要基质。

本研究发现,STZ糖尿病大鼠心肌组织中ACE活性明显升高,Ang II含量增加。Ang II是RAS的最主要组分,可直接作用于心肌细胞,导致心肌肥厚,并促进血管内皮细胞ET的产生;ET可以促进血管平滑肌的生长,刺激心肌纤维组织增生,致使血管收缩-舒张失衡,血液流速降低引发糖尿病性心肌病变^[7]。ACE是RAS的关键酶,能水解血管紧张素I(Ang I)产生Ang II,使Ang II明显增多,导致Ang II在心肌间质组织的聚积。另一方面引起缓解肽代谢,最终导致心脏激素调节不平衡和心脏疾病的进展。

(下转第150页)

浊达到降低血脂,改善血液流变学达到保护血管内皮的目的,其可能是干预AS进程的一个途径;二是能明显抑制AS大鼠主动脉内皮细胞hs-CRP的表达,减少ICAM-1、VCAM-1的基因表达,通过其抗炎作用保护血管内皮,防止AS。而且在降低炎症因子表达方面优于辛伐他汀,显示出小陷胸汤加味方通过清热祛痰,化瘀通络达到了抑制AS炎症机制的目的,对血脂、血液流变学,以及血液中炎症因子的干预作用,表明小陷胸汤加味方可能能够用于治疗AS形成的冠心病、脑梗死属于痰瘀阻滞者,本研究仅初步揭示其药理学依据,其临床效果尚需进一步临床试验证实。

参考文献

- [1]冀友瑞,史载祥.血管紧张素Ⅱ的致炎作用及其在动脉粥样硬化中的作用[J].心血管病学进展,2005,26(9):105-108.
- [2]杨晓玲,赵迅霞,王菲,等.实验大鼠动脉粥样硬化模型的建立[J].宁夏医学院学报,2007,29(4):350-351.
- [3]吴敬华,吴宗贵,张华.辛伐他汀与罗格列酮对动脉粥样硬化大鼠CD40和CD40L表达的影响[J].上海医学,2005,28(4):281-283.
- [4]刘平,赵玉霞,张运,等.黄豆苷元干预老年冠心病患者血清炎症因子的临床观察[J].中国中西医结合杂志,2006,

26(1):42-45.

- [5]杨胜利,刘惠亮,何作云.炎症和急性冠脉综合征[J].中国危重病急救医学,2004,16(9):570-572.
- [6]周明学,徐浩,陈可冀,等.活血解毒中药有效部位对ApoE基因敲除小鼠动脉粥样硬化斑块炎症反应的影响[J].中西医结合心脑血管病杂志,2002,5(12):1202-1205.
- [7]周盛.瓜蒌研究进展[J].山东医药工业,2002,21(6):27-29.
- [8]张红,王兴臣,高晓昕.水蛭临床和实验研究进展[J].中国中医药信息杂志,2009,16(5):98-100.
- [9]刘向敏.活血化瘀治疗高黏血症临床疗效分析[J].中西医结合心脑血管病杂志,2009,7(3):349-350.
- [10]洪行球,沃兴德,何一中,等.半夏降血脂作用研究[J].浙江中医学院学报,1995,19(2):28-29.
- [11]杜铁良.复方姜黄微囊调脂作用及机理的实验研究[J].中国中医药信息杂志,1996,18(5):26-28.
- [12]林梅瑟,陈碧新,赵志光,等.姜黄素对动脉粥样硬化家兔核转录因子- κ B的影响[J].中国中西医结合急救杂志,2007,14(3):95-98.
- [13]赵咏梅,李发荣,杨建雄,等.连翘苷降血脂及抗氧化作用的实验研究[J].天然产物研究与开发,2005,17(2):157-159.

(收稿日期:2009-10-16;修回日期:2010-05-31)

[编辑:行之]

(上接第146页)

本研究结果表明,动物造模后,模型组心脏重量及左心室/体重指数增加,这种心系数的变化间接的反映了心室壁病理性肥厚的程度。说明此时可能已发生糖尿病心肌损伤的典型改变——心肌肥厚。冬连组分大剂量组效果最好,可显著降低大鼠心脏重量、左心室/体重指数,对大鼠心肌组织AngⅡ、ET含量也有显著降低作用,并抑制心肌ACE受体表达。说明冬连组分可延缓糖尿病大鼠心肌肥厚的进程,纠正血管收缩-舒张及心脏激素调节失衡状态,改善心肌收缩和舒张功能,最终达到改善实验性DC大鼠的目的。

综上所述,抑制糖尿病大鼠的心肌组织ACE受体表达,降低心肌组织AngⅡ、ET含量,是冬连组分保护糖尿病大鼠心肌组织的可能机制。冬连组分是麦冬多糖和黄连生物碱组分配伍而成,其多途径、多层次、多靶点的机制有待进一步研究。

参考文献

- [1]Rullber S, Dulgush J, Yuceogl YZ, et al. New type of cardiomyopathy associated with diabetic Glomerulosclerosis[J]. Am J Cardiol, 1972, 30(6):595.
- [2]Hamblby RI, Zonerach S, Sheman L. Diabetic cardiomyopathy[J]. JAMA, 1974, 229(13):1749-1754.
- [3]安潍洲,龚敏.糖尿病心肌病发病机理的研究进展[J].辽宁实用糖尿病杂志,2004,12(3):53-54.
- [4]徐叔云,卞如谦,陈修.药理实验方法学[M].2版,北京:人民卫生出版社,1991:1275-1278.
- [5]王智杰,荀小林.麦冬降血糖作用的药效学研究[J].中医药学刊,2003,21(6):898-899.
- [6]程金波,卫洪吕,章忱,等.麦冬提取物抗犬心肌缺血的药效学实验研究[J].中国病理生理杂志,2001,17(8):810.
- [7]郭登洲,王月华,边东,等.活血化痰消癥中药对糖尿病肾病大鼠血管紧张素系统的影响[J].中医杂志,2010,51(1):77-78.
- [8]杜昕.肾素-血管紧张素系统研究的新进展[J].中国心血管病研究杂志,2007,5(4):306-307.

(收稿日期:2009-12-04;修回日期:2010-04-20)

[编辑:行之]