

· 基础研究 ·

盐酸小檗碱对 2 型糖尿病大鼠心肌损伤的保护作用*

阎文柱¹, 蔡玉文¹, 关洪全¹, 刘学政^{2△}

(1. 辽宁中医药大学中西医结合基础学科, 辽宁沈阳 110032; 2. 辽宁医学院基础学院解剖学教研室, 辽宁锦州 121001)

摘要:目的 探讨盐酸小檗碱对 2 型糖尿病大鼠心肌损伤的保护作用。方法 选择健康雄性 SD 大鼠 60 只, 随机分为 CON 组、T2DM 组、BBR 组和 MET 组, 每组 15 只。CON 组给予清洁级饲料喂养。其余 3 组均给予高脂、高糖饲料喂养 8 周后测量大鼠的体质量和空腹 12 h 血糖水平, 尾静脉注射预冷的链脲佐菌素 25 mg/kg。72 h 后将非空腹血糖浓度大于 11.1 mmol/L 者视为 2 型糖尿病诱导成功; CON 组和 T2DM 组用 0.9% NaCl 2 mL 灌胃; BBR 组用 BBR 100 mg/kg 灌胃; MET 组用二甲双胍 50 mg/kg 灌胃。分别检测心肌糖类物质的变化和葡萄糖转运蛋白 4 (GLUT4) 在心肌的表达。结果 BBR 组大鼠心肌细胞内糖原颗粒积聚和心肌细胞病理变化的程度较 T2DM 组和 MET 组明显减轻, GLUT4 表达较 T2DM 组和 MET 组显著增强 ($P < 0.05$)。结论 小檗碱可延缓 2 型糖尿病大鼠心肌细胞病理变化的进程, 其机制可能与提高心肌细胞 GLUT4 的表达水平有关。

关键词: 肌细胞, 心脏; 葡萄糖转运体 4 型; 糖尿病, 2 型; 盐酸小檗碱

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2011.27.024

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2011)27-2755-03

Study on the protective Effects of berberine on myocardial injury of type 2 diabetic rats*

Yan Wenzhu¹, Cai Yuwen¹, Guan Hongquan¹, Liu Xuezheng^{2△}

(1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang, Liaoning 110032, China;

2. Department of Anatomy, Basic School, Liaoning Medical College, Jinzhou, Liaoning 121001, China)

Abstract: Objective To investigate the protective effects of berberine (BBR) on myocardial of type 2 diabetic rat. **Methods** 60 type 2 diabetic rats were chosen and divided into control group (CON group), model group (T2DM group), berberine group (BBR group) and metformin group (MET group) randomly, 15 in every group. The control group were fed with common diet. And the other three groups were fed with high-fat and high-sugar diet for eight weeks plus intravenous injection of a small dose (25 mg/kg) of streptozotocin (STZ). And then the body mass and blood glucose levels after being starved for 12 h of all the rats were detected. after 72 h, if the blood glucose levels were higher than 11.1 mmol/L, the type 2 diabetics was induced successfully. And then CON group and T2DM group were lavaged with 0.9% NaCl 2 mL, BBR group with BBR 100 mg/kg, MET group with MET 50 mg/kg. after lavaging, the changes of myocardial pathological and GLUT4 expression in the myocardial were measured. **Results** Myocardial cells swelling and accumulation of intracellular glycogen levels of BBR group were more alleviate significantly than that of model one; GLUT4 expression increased significantly in the myocardial of BBR intervention group compared with the model one's ($P < 0.05$). **Conclusion** BBR can slow down the process of pathological changes in myocardial of type 2 diabetes; The effects of BBR on the myocardial of type 2 diabetic rats may be due to enhance the expression level of GLUT4 in myocardial.

Key words: myocytes, cardiac; glucose transporter type 4; diabetes mellitus, type 2; berberine

糖尿病是心血管疾病 (cardiovascular disease, CVD) 独立的危险因素。糖尿病对心功能的影响是通过心肌病变使心功能恶化, 糖尿病心肌病可以损伤心脏收缩功能, 加速心力衰竭^[1]。有研究表明, 中药黄连的提取物盐酸小檗碱 (berberine, BBR) 对心血管系统具有广泛的药理作用, 它既可直接作用于心脏, 产生正性肌力和负性频率作用; 又有扩张血管、改善器官血流量、降低血压和抗心律失常作用等^[2]。但 BBR 对糖尿病心肌起保护作用方面的研究尚未见报道。现将用 BBR 干预 2 型糖尿病大鼠, 将其对心肌的影响结果报道如下。

1 材料与与方法

1.1 实验动物 健康雄性 SD 大鼠 60 只, 体质量约 180 ~ 210 g, 由大连医科大学实验动物中心提供, 合格证号: SCXK (辽) 2008-0002。

1.2 试剂与仪器 链脲佐菌素 (streptozotocin, STZ, 美国 Sigma 化学公司, 批号: AB0162-090121)、BBR (东北制药总厂, 批

号: 20090518)、糖原过碘酸-雪夫染色 (periodic acid-schiff stain, PAS) 试剂盒 (珠海贝索生物技术有限公司)、葡萄糖测定试剂盒 (北京北化康泰临床试剂有限公司)、蛋白 Marker (美国 Fermentas LIFE SCIENCE 公司)、多克隆葡萄糖转运蛋白 (glucose transporter type 4, GLUT4) 抗体 (北京博奥森生物技术有限公司) 及碱性磷酸酶标记 IgG (北京中杉金桥生物技术有限公司)。Leica-RM2135 石蜡切片机 (德国) 和 Olympus DP72-BSW 显微镜成像系统 (日本)。

1.3 实验方法

1.3.1 饲料配制 饲料配制由辽宁医学院实验动物中心提供, 普通饲料采用清洁级大鼠维持饲料; 高脂高糖饲料按 10% 猪油、20% 蔗糖和 70% 维持饲料方法配制^[3], 与维持饲料含有等量的蛋白质、维生素和矿物质。为确保饲料的清洁, 每次配制的饲料在半月内喂完, 平时保存于专用冰箱。

1.3.2 配制 2% STZ 溶液 A 液: 2.10 g 柠檬酸溶于双蒸水

* 基金项目: 辽宁省优秀青年科研人才培养基金资助项目 (23050007)。 △ 通讯作者, Tel: 15804165588; E-mail: liuxuezheng168@vip.

表 1 各组大鼠血糖的比较($\bar{x}\pm s$, mmol/L)

组别	n	0 周	3 d	4 周	8 周	12 周
CON 组	15	6.51±0.37	6.56±0.36	6.32±0.33	6.53±0.36	6.54±0.31
BBR 组	15	6.39±2.59	26.40±2.53*	19.36±1.36*#△	14.07±1.37*#	11.31±1.98*#
T2DM 组	15	6.53±2.83	26.66±2.01*	25.18±2.86*	22.98±2.09*	22.18±2.13*
MET 组	15	6.56±2.35	25.66±2.37*	16.76±1.02*#	14.57±0.79*#	12.32±1.12*#

*: $P<0.01$, 与同期 CON 组比较; #: $P<0.05$, 与同期 T2DM 组比较; △: $P<0.05$, 与同期 MET 组比较。

中,定容至 100 mL。B 液:2.94 g 柠檬酸三钠溶于双蒸水中,定容至 100 mL。0.1 mol/L 柠檬酸缓冲液(pH4.5)的配置按 A:B=1:1.32。称取 100.0 mg STZ 溶于 5 mL 0.1 mol/L 柠檬酸缓冲液中,用 0.2 μ m 的滤膜过滤,滤过的溶液放入无菌小瓶内 4 °C 保存备用。

1.3.3 模型的建立 随机选取 15 只大鼠作为 CON 组,给予清洁级饲料喂养。其余均给予高脂、高糖饲料喂养 8 周后,测量大鼠的体质量和空腹血糖水平,尾静脉注射新鲜配制并预冷的 STZ 25 mg/kg^[4]。72 h 后将非空腹血糖浓度大于 11.1 mmol/L 的大鼠视为 2 型糖尿病诱导成功^[5],再将其随机分为 T2DM 组、BBR 组和 MET 组,每组 15 只。每天 CON 组和 T2DM 组用 0.9% NaCl 2 mL、BBR 组用 BBR 100 mg/kg、MET 组用二甲双胍 50 mg/kg 灌胃 1 次。

1.4 指标检测和取材 两周测 1 次大鼠的体质量、断尾采血测量血糖水平。给药 4、8 周,各组随机选取 5 只大鼠禁食、水 12 h 后常规麻醉,断尾取血检测血糖水平并取心脏留待检测;其余留待 12 周处置,方法同上。PAS 反应和 Western blotting 实验分别检测大鼠心机的糖类物质的变化和 GLUT4 的表达。

1.5 统计学处理 应用 SPSS18.0 软件进行统计学数据分析,计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示。数据用重复测量设计资料的方差分析,组间比较采用 *t* 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠的血糖水平 见图 1 和表 1。

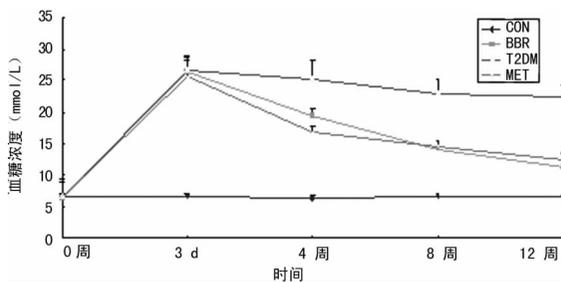


图 1 各组大鼠血糖的变化

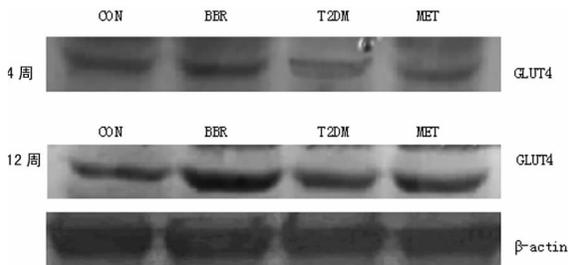


图 3 GLUT4 在各组大鼠心机的表达

2.2 大鼠心机的 PAS 反应 光镜下 CON 组心机纤维排列有序,心机细胞内有少量糖原颗粒(+);T2DM 组大鼠心机细胞肥大,心机肌原纤维排列紊乱,间隙明显增宽,胞质呈紫红色,糖原颗粒极密(++++) ;BBR 组心机纤维排列整齐,无明显

肥大,胞质呈暗红色,糖原颗粒较密(+++);MET 组胞质颜色和糖原颗粒同 T2DM 组接近(++++)。提示 BBR 具有降低心机细胞内糖类物质积聚和改善心机病理变化的作用,见图 2。

2.3 大鼠心机 GLUT4 蛋白表达 见图 3 和表 2。

表 2 各组大鼠心机 GLUT4 蛋白表达比较($\bar{x}\pm s$)

组别	4 周	12 周
CON 组	2.86±0.19	2.85±0.17
T2DM 组	2.83±0.17	2.92±0.18
BBR 组	3.59±0.15*#	3.80±0.13*#
MET 组	3.03±0.17	3.12±0.18

*: $P<0.01$, 与同期 CON 组比较; #: $P<0.01$, 与同期 T2DM 组比较。

3 讨论

有研究表明,胰岛素抵抗、糖尿病和 CVD 可能有着共同的病因学成分,用“共同土壤”假说来描述 2 型糖尿病和胰岛素抵抗,即糖尿病和 CVD 可能来自共同的遗传和环境前体^[6-7]。糖尿病心机病变是由糖尿病状态所导致的一种心脏疾病,与血管及瓣膜病理改变无关,早期表现为无症状的舒张功能障碍,最终将发展为有症状的充血性心力衰竭,心室顺应性下降,收缩功能受损^[8],糖尿病合并心机病可加重患者的预后^[9]。

糖尿病大鼠心机组织中有多种糖代谢关键酶表达及活性异常,影响糖酵解和三羧酸循环的正常进行,导致心机能量供应不足和功能下降,高血糖可直接参与心机损伤的过程^[10],能直接引起心机细胞坏死^[11]。BBR 的胰岛素增敏作用优于二甲双胍^[12],有利于心机摄取和利用葡萄糖,改善能量供应状态。糖尿病时常伴有明显的炎症反应,炎症介质的数量明显增加^[13],BBR 能显著降低炎症早期的毛细血管通透性,抑制渗出及水肿,对炎症晚期的纤维结缔组织增生也有一定的抑制作用^[14],经 BBR 治疗后炎症因子高敏 C 反应蛋白、白介素-6、肿瘤坏死因子- α 明显降低,并与心功能改善相关^[15]。BBR 能降低糖尿病大鼠心机质量与体质量的比率,减轻糖尿病大鼠心机细胞肥大和纤维结缔组织增生^[16]。

有研究证明,BBR 是一种无细胞毒和致突变作用、安全系数高、应用范围广泛的药物^[17]。本研究结果表明,BBR 降糖作用明显,BBR 灌胃处理后,糖尿病大鼠的病情明显好转。PAS 结果显示,BBR 组心机细胞内糖类物质的积聚程度和心机细胞的病理变化均较 T2DM 和 MET 组明显减轻,表明 BBR 具有促进 2 型糖尿病大鼠心机细胞摄取、利用葡萄糖和改善心机病理变化的作用。葡萄糖转运进入细胞是心机葡萄糖氧化的主要限速步骤,这一过程依赖细胞膜上特定转运蛋白即 GLUT4 完成,膜上 GLUT4 数量增多,则外源性葡萄糖被摄取率随之升高、氧化率增加。因此,GLUT4 在心机细胞膜上的表达量决定了细胞葡萄糖氧化速率^[18]。BBR 组的 GLUT4 蛋白表达与同期 T2DM 和 MET 组相比明显增强,提示 BBR 改

善 2 型糖尿病大鼠心肌细胞病理变化作用的机制可能与增强 GLUT4 蛋白的表达^[19]和胰岛素增敏作用有关。关于 BBR 对 2 型糖尿病大鼠心肌作用的机制值得进一步研究。

参考文献:

- [1] 池洪杰,王哲. 2 型糖尿病和心力衰竭[J]. 中国医药导刊, 2006,8(4):258-260.
- [2] Zeng XH,Zeng XJ,Li YY. Efficacy and safety of berberine for congestive heart failure secondary to ischemic or idiopathic dilated cardiomyopathy [J]. Am J Cardiol, 2003,92(2):173-176.
- [3] 燕娟,郭巍伟,梁执群,等. 2 型糖尿病大鼠模型的建立及其验证[J]. 临床和实验医学杂志,2009,8(5):5-6.
- [4] 向雪松. 2 型糖尿病大鼠模型的建立及其在辅助降血糖功能评价中的应用[D]. 北京:中国疾病预防控制中心营养与食品安全所,2010.
- [5] Srinivasan K,Viswanad B,Asrat L,et al. Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: a model for type 2 diabetes and Pharmacological screening [J]. Pharmacol Res,2005,52(2):313-320.
- [6] 陈广,陆付耳,王增四,等. BBR 改善 2 型糖尿病大鼠胰岛素抵抗与 PI-3K、GLUT4 蛋白相关性的研究[J]. 中国药理学通报,2008,24(8):1007-1010.
- [7] Stern MP. Diabetes and cardiovascular disease: the "common soil" hypothesis[J]. Diabetes,1995,44(4):369-374.
- [8] Sharma V,McNeill JH. Diabetic cardiomyopathy: where are we 40 years later[J]. Cardiol,2006,22(4):305-308.
- [9] 陆再英,钟南山. 内科学[M]. 7 版. 北京:人民卫生出版社,2008:776.

- [10] Grandi AM,Piantanida E,Franzetti I,et al. Effect of glycaemic control on left ventricular diastolic function in type 1 diabetes mellitus[J]. Am J Cardiol,2006,97(1):71-76.
- [11] 李庆凤,苏珂. 糖尿病心肌病发病机制的研究进展[J]. 中华全科医学,2011,9(2):291-292.
- [12] 殷峻,陈名道,唐金凤,等. BBR 对实验大鼠糖脂代谢的影响[J]. 中华糖尿病杂志,2004,12(3):215-216.
- [13] Cai L,Wang L,Li Y,et al. Inhibition of superoxide generation and associated nitrosative damage is involved in metallothionein prevention of diabetic cardiomyopathy [J]. Diabetes,2005,54(6):1829-1837.
- [14] 尚文斌,刘佳,于希忠,等. BBR 对肥胖小鼠炎症因子分泌和炎症信号通路的作用[J]. 中国中药杂志,2010,35(11):1474-1477.
- [15] 成永霞,邵芳,周庆国,等. 小檗碱对慢性心力衰竭患者心功能及炎症因子的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2008,6(8):887-888.
- [16] 周吉银,周世文. 小碱又糖尿病大鼠心肌 PPARS 表达的影响[J]. 中国现代医药卫生,2008,18(10):1318-1324.
- [17] 周吉银,周世文. BBR 降糖调脂作用的研究进展[J]. 解放军药学学报,2007,23(3):201-204.
- [18] 文重远,吴勇,李燕,等. 2 型糖尿病大鼠心肌葡萄糖转运体 4 的变化及其对葡萄糖和脂肪酸代谢的影响[J]. 中华医学杂志,2005,85(21):1460-1463.
- [19] 陈广,陆付耳,徐丽君. 黄连解毒汤对 2 型糖尿病大鼠靶组织葡萄糖转运子 4 的影响[J]. 中西医结合学报,2007,5(4):412-415.

(收稿日期:2011-06-20 修回日期:2011-07-18)

(上接第 2754 页)

宫腔粘连的患者均在宫腔镜下行 TCRA 术,治愈 39 例(60.0%),有效 12 例(16.5%),无并发症发生,与文献[12]报道基本一致。

综上所述,宫腔粘连病因主要是人工流产等宫腔操作及宫内感染。宫腔镜检查是诊断宫腔粘连的“金标准”,而宫腔镜下 TCRA 是目前的主要治疗方法,结合术后雌孕激素以及宫内介质的应用,治疗宫腔粘连取得一定疗效。规范人工流产清宫等宫腔操作,引导妇女良好避孕,是预防宫腔粘连的根本。

参考文献:

- [1] 曹泽毅. 中华妇产科学[M]. 2 版,北京:人民卫生出版社,1999:2133-2134.
- [2] 夏恩兰. 妇科内镜学[M]. 北京:人民卫生出版社,2001:103-107.
- [3] 夏良斌,李爱斌,杨菁,等. 宫腔镜术后宫腔持续放置球囊导尿管治疗重度宫腔粘连 312 例疗效分析[J]. 实用医学杂志,2006,22(16):1870-1871.
- [4] Nishi Y,Takeshita T. Asherman syndrome[J]. Nippon Rinsho,2006,Suppl 2:S418-421.
- [5] Salzani A,Yela DA,Gabiatti JR,et al. Prevalence of uterine synechia after abortion evacuation curettage[J]. Sao

Paulo Med J,2007,125(5):261-264.

- [6] Dalton VK,Saunders NA,Harris LH,et al. Intrauterine adhesions after manual vacuum aspiration for early pregnancy failure. Fertil Steril[J]. 2006,85(6):e11823-1823.
- [7] 牟晓玲,唐良茗,曹毅. 宫腔镜诊治 110 例宫腔粘连的临床分析[J]. 重庆医学,2011,40(16):568-570.
- [8] Yasmin H,Nasir A,Noorani KJ. Hystroscopic management of Ashermans Syndrome [J]. J Pak Med Assoc, 2007,57(11):553-555.
- [9] Farhi J,Bar Hava I,Homburg R,et al. Induced regeneration of endometrium following curettage for abortion: a comparative study[J]. Hum Reprod,1993,8(7):1143
- [10] 张莘,张丙忠,冯淑英,等. 补佳乐用于防止再次宫腔粘连的疗效观察[J]. 中国妇幼保健,2010,25(4):559-560.
- [11] Kodaman PH,Arici A. Intra-uterine adhesions and fertility outcome:how to optimize success[J]. Curr Opin Obstet Gynecol,2007,19(3):207-214.
- [12] 葛春晓,裴德恩,左怀之,等. 宫腔镜手术为主综合治疗重度宫腔粘连 27 例临床研究[J]. 中国微创外科杂志,2004,4(1):52-53.

(收稿日期:2011-06-09 修回日期:2011-07-19)