

灯盏花素对糖尿病大鼠视网膜血流动力学变化的影响

马 丽¹, 朱邦豪¹, 周家国¹, 文艳铃²

1. 中山大学基础医学院药理教研室, 广东 广州 510080 2. 中山大学附属第二医院超声科, 广东 广州 510120

摘 要:【目的】探讨糖尿病大鼠视网膜中央动脉(CRA)的血流动力学变化及灯盏花素的防治作用。【方法】用链脲佐菌素(STZ)诱导糖尿病模型后,在第12-13周采用彩色多普勒对各组视网膜中央动脉(CRA)进行血流参数的测量,包括峰值血流速度(PSV)、舒张期最低流速(EDV)、平均血流速度(MV)、阻力指数(RI)和搏动指数(PI)。【结果】糖尿病组大鼠CRA的血流速度较对照组显著降低($P < 0.01$),而阻力指数和搏动指数则显著增高($P < 0.05$)。在灯盏花素治疗组,糖尿病大鼠视网膜血流动力学得到显著改善,与糖尿病组相比CRA的血流速度显著增加($P < 0.01$),阻力指数和搏动指数显著降低($P < 0.05$)。【结论】12周的糖尿病大鼠视网膜已开始出现血流灌注不良和血流减少,但灯盏花素能明显改善糖尿病大鼠的视网膜的血流动力学,增加血流量和灌流量。

关键词:糖尿病视网膜病变;血流动力学;灯盏花素;超声检查,多普勒,彩色

中图分类号:R774.1

文献标识码:A

文章编号:1672-3554(2004)06-0554-03

Effects of Erigeron Breviscapus on Retinal Blood Flow Changes in Diabetic Rats

MA Li¹, ZHU Bang-hao¹, ZHOU Jia-guo¹, WEN Yan-ling²

1. Department of Pharmacology, Zhongshan Medical College, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510080, China;

2. Department of Ultrasound, The Second Affiliated Hospital, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510120, China)

Abstract: 【Objective】To investigate the changes of the retinal blood flow in the diabetic rats by measuring the central retinal artery (CRA) and protective effects of erigeron breviscapus (EB). 【Methods】After the rats were induced diabetes with streptozotocin, the circulatory parameters of the central retinal artery (CRA) were measured using color Doppler imaging, including peak systolic velocity (PSV), end diastolic velocity (EDV), mean velocity (MV), resistive index (RI), and pulsitive index (PI). 【Results】The blood velocity in CRA of the diabetic rats was significantly lower than that of control ($P < 0.01$). However, RI and PI in the diabetic rats were significantly higher ($P < 0.05$). The circulatory parameters in EB-treated diabetic rats were improved significantly. Compared with those in the diabetic rats, the blood velocity in CRA being significantly higher ($P < 0.01$) and RI and PI being significantly lower ($P < 0.05$). 【Conclusion】The decreased blood flow and perfusion of the retina was existed in the 12th week diabetic rat, but erigeron breviscapus can improve the retina hemodynamics and increase the retina blood flow and perfusion.

Key words: diabetic retinopathy; erigeron breviscapus; hemodynamics; ultrasonography, Doppler, color

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2004, 25 (6): 554 - 556 597]

收稿日期 2004-01-15

基金项目 广东省社会发展重点攻关项目 (2002C30106)

作者简介:马 丽(1978-),女,安徽铜陵人,博士生,朱邦豪,副教授,通讯作者。E-mail: sszhu@gzsums.edu.cn

大量研究已表明大血管和微血管的病变是导致糖尿病并发症发生和发展的重要原因^[1]。我室以往的研究发现灯盏花素对糖尿病大鼠胸主动脉内皮细胞有保护作用^[2],即已明确灯盏花素对糖尿病大鼠的大血管有保护作用。灯盏花素是否也有改善和保护糖尿病大鼠微血管的作用呢?目前未见相关报道。糖尿病性视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病微血管并发症之一^[3,4],目前是我国主要的致盲眼病。DR与血管的微循环障碍,血流动力学的改变有很密切的关系^[5],其中视网膜中央动脉是供应视网膜营养的重要枢纽。本文采用彩色多普勒超声技术在体观察了病程持续12周的糖尿病大鼠,正常对照组大鼠和灯盏花素治疗的糖尿病大鼠的视网膜中央动脉血流动力学的变化,探讨了糖尿病大鼠CRA血流动力学的变化及灯盏花素的保护作用。

1 材料与方法

1.1 糖尿病大鼠模型制作

8周龄雄性Wistar大鼠(由中山大学实验动物中心提供),体质量200~250g,36只。链脲菌素(streptozotocin, STZ)溶解于0.1mol/L枸橼酸钠溶液(pH 4.5),按65mg/kg 1次性腹腔注射,诱导糖尿病模型。对照组注入等量溶剂。1周后尾静脉采血,用堡灵曼血糖仪(RefluxR, Boehringer Mannheim, mannheim, 德国)检测血糖,以血糖大于17mmol/L确定为糖尿病模型。糖尿病大鼠再随机分为糖尿病对照组(正常饮水);服用灯盏花素(0.1g/kg)的给药组,同时设正常组,每组12只,

共36只。第12周开始进行各项实验观察,大鼠自由饮水,鼠颗粒饲料喂养,每周检测尿糖、饮水、进食和体质量等情况,每月测血糖1次。灯盏花素由云南万方制药公司提供,纯度大于99.5%,批号020606。

1.2 视网膜中央动脉的血流参数测定

戊巴比妥钠30mg/kg腹腔注射将大鼠麻醉后,用百胜DU6彩色多普勒超声诊断仪(美国产)10MHz电子扫描探头检测大鼠CRA,即将探头置于眼脸上,测量频谱多普勒,在获取5个以上稳定心动周期时,进行各项血流参数的测量;上述操作重复3次,取各项指标平均值。其中测量大鼠眼底CRA的血流动态指数,包括:峰值血流速度(PSV)、舒张期最低流速(EDV)、平均流速(MV),并计算出阻力指数(RI)和搏动指数(PI),计算公式:RI=(PSV-EDV)/PSV,PI=(PSV-EDV)/MV。

1.3 统计学分析

均采用大鼠右眼检测分析。结果呈正态分布,二组间比较采用t检验,所有数据用SPSS11.0 for Windows处理及分析。

2 结果

2.1 大鼠体质量、血糖、尿量和肾指数

第12周时糖尿病大鼠体质量较对照组明显减轻,而血糖水平较对照组显著增加。与糖尿病组相比,灯盏花素组体质量增加、血糖未见明显下降。灯盏花素组大鼠尿量减少约2/3,肾指数(100×肾质量/体质量)降低了27%。糖尿病组肾指数较对照组明显增加(表1)。

表1 大鼠体质量、血糖、尿量和肾指数

Table 1 Body mass, blood glucose, urine volume, and the index of kidney

Group	Body mass(g)	Blood glucose(mmol/L)	Urine volume(mL)	Index of kidney
Control	325 ± 41	5.11 ± 0.35	7 ± 3	0.30 ± 0.02
Diabetic	216 ± 39	24.54 ± 4.46	49 ± 21 ¹⁾	0.48 ± 0.05 ¹⁾
BE-treated diabetic	242 ± 37	20.47 ± 5.72	17 ± 11 ²⁾	0.35 ± 0.03 ²⁾

1) $P < 0.01$, compared with control group; 2) $P < 0.01$, compared with diabetic group

2.2 眼底CRA血流动力学(彩色多普勒)

与对照组相比,糖尿病组搏动指数(PI)显著增大($P < 0.05$),血流阻力指数(RI)显著增加($P < 0.05$),而血流平均流速(MV)显著减缓达1倍以上

($P < 0.01$)。然而,在灯盏花素治疗组糖尿病时的上述变化均得到了显著改善,与糖尿病组相比,RI和PI显著性降低($P < 0.05$),EDV、PSV和MV显著性升高($P < 0.01$)。见表2。

表 2 眼底血流动力学指标

Table 2 Index of the retina hemodynamics

Group	<i>n</i>	PI	RI	EDV (mm · s ⁻¹)	PSV (mm · s ⁻¹)	MV (mm · s ⁻¹)
Control	10	0.61 ± 0.09	0.38 ± 0.03	13.2 ± 4.2	25.1 ± 5.5	19.8 ± 4.7
Diabetic rats	7	0.91 ± 0.26 ¹⁾	0.51 ± 0.13 ¹⁾	5.4 ± 2.3 ²⁾	13.5 ± 5.2 ²⁾	8.8 ± 3.4 ²⁾
EB-treated diabetic rats	6	0.65 ± 0.11 ³⁾	0.40 ± 0.08 ³⁾	10.1 ± 2.2 ⁴⁾	20.5 ± 4.0 ⁴⁾	15.8 ± 3.2 ⁴⁾

PI: pulsitive index; RI: resistive index; EDV: end diastolic velocity; PSV: peak systolic velocity; MV: mean velocity. Compared with control group, 1) $P < 0.05$, 2) $P < 0.01$; compared with diabetic group, 3) $P < 0.05$, 4) $P < 0.01$



图 1 12 周大鼠视网膜中央动脉的彩色多普勒超声检查血流参数

Fig. 1 The circulatory parameters of CRA in the 12th week rats assessed by color Doppler ultrasonography

3 讨论

视网膜血管病变是 DR 的病理特征之一,而视网膜微循环障碍则是导致 DR 的重要发病因素。DR 产生早期的一个重要指标是眼底平均循环时间延长,如 PKC 抑制剂—LY333531 可减轻眼底平均循环时间延长,证明其对 DR 有效并已在海外进入了三期临床实验^[6]。因此目前寻找能够改善视网膜微循环的药物是近来防治 DR 的一个热点。灯盏花素是从菊科植物灯盏细辛中提取的主要成分,具有扩张血管的功用,我室以前的实验结果显示灯盏花素对糖尿病大鼠的主动脉内皮有保护作用,本研究表明其对糖尿病引起的眼底循环障碍也有改善作用:

3.1 对糖尿病大鼠血糖的作用

因高血糖是糖尿病血管并发症产生的主要诱因^[7],本实验检测了各组糖尿病大鼠的血糖,观察灯盏花素是否对血糖有影响,实验结果显示其对糖尿病大鼠没有降血糖作用。提示灯盏花素改善 DR 的作用机理不是通过降低血糖这一途径,而可能是阻断了高糖引起糖尿病血管病变这一过程的中间环节。

3.2 对糖尿病大鼠视网膜的血流动力学作用

通过观察各组糖尿病大鼠视网膜中央动脉的血流变化,实验结果显示糖尿病大鼠和正常相比,RI 和 PI 显著升高,PSV、EDV 和 MV 显著降低。PSV^[8] 峰值血流速度,即收缩期最高血流速度,反映了血管充盈程度和血流供应强度;PI 反映了血管壁的弹性;RI^[9] 反映了视网膜血管床的前毛细血管和毛细血管的收缩和血管远端组织的血流灌注状态。实验结果显示糖尿病大鼠的血流流变学呈低流速,低灌注和高阻力的病理改变,这解释了糖尿病状态下微循环障碍和新生血管的现象。本实验结果也提示灯盏花素可明显改善糖尿病大鼠视网膜微血管低流速和高阻力的病理改变。降低 PI 和 RI, 升高 PSV、EDV 和 MV, 说明灯盏花素能够增加血液流速和降低血管阻力,改善糖尿病微循环的血流动力学。这可能与灯盏花素扩张微血管,减少血管阻力有关。近来研究发现去除高糖和氧后,NO 能够增加血流量和阻止血小板的聚集^[10]。灯盏花素有可能通过某种途径促进内皮细胞分泌 NO,从而增加血流量和灌流量。

总之,上述结果提示灯盏花素能够改善糖尿病视网膜的血流动力学的低流速和高阻力状态,降低血管阻力,增加血流量和灌注量,这对于改善糖尿病的视网膜的微循环障碍十分有利,其相关机理仍

(下转第 597 页 to page 597)

甘油三脂、体重指数、血压水平等临床资料均相似而排除传统引起 PAI-1 升高的危险因素后发现, DD 基因型血浆 PAI-1 活性显著高于 ID 型、II 型; 而 ID 型也显著高于 II 型。表明 ACE D 等位基因与血浆 PAI-1 水平增高有关, ACE 基因 DD 型可能引起血浆 PAI-1 水平增高, ACE 基因 I/D 多态性可能通过纤溶受损而影响了 MI 的发病, ACE 基因 I/D 多态性及其对纤溶活性的影响在 MI 的发病中可能具有重要意义。

参考文献:

- [1] Roncaglioni M C, Santoro L, D'Avanzo B, *et al.* For the GISSI-EFRIM Investigators. Role of family history in patients with myocardial infarction. An Italian case-control study[J]. *Circulation*, 1992, 85(6): 2065-72.
- [2] Cambien F, Costerousse O, Tiret L, *et al.* Plasma level and gene polymorphism of angiotensin-converting enzyme in relation to myocardial infarction[J]. *Circulation*, 1994, 90(2): 669-76.
- [3] Nakai K, Itoh C, Miura Y, *et al.* Deletion polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene is associated with serum ACE concentration and increased risk for coronary artery disease in the Japanese [J]. *Circulation*, 1994, 90(5): 2199-202.
- [4] Ueda S, Elliott H L, Morton J J, *et al.* Enhanced pressor

response to angiotensin I in normotensive men with the ACE deletion allele [J]. *Hypertension*, 1995, 25(6): 1266-9.

- [5] Vaughan D E, Lazos S A, Tong K. Angiotensin II regulates the expression of plasminogen activator inhibitor-1 in cultured endothelial cells. A potential link between the renin-angiotensin system and thrombosis[J]. *J Clin Invest*, 1995, 95(3): 995-1001.
- [6] Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, *et al.* An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels [J]. *J Clin Invest*, 1990, 86(4): 1343-6.
- [7] Wright R A, Flapan A D, Alberti K G, *et al.* Effects of captopril therapy on endogenous fibrinolysis in men with recent, uncomplicated myocardial infarction [J]. *J Am Coll Cardiol*, 1994, 24(1): 67-73.
- [8] Brown N J, Gainer J V, Nadeau J H, *et al.* Plasminogen activator inhibitor antigen is increased in hypertensive African Americans with the ACE D allele [J]. *Circulation*, 1999, 92 (Suppl. 1): 446-552.
- [9] Matswbara Y, Hayakawa T, Tsuda T, *et al.* Angiotensin converting enzyme insertion/deletion polymorphism is associated with plasma antigen levels of plasminogen activator inhibitor-1 in healthy Japanese population [J]. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2002, 11(2): 115-20.

(编辑 黄小延)

(上接第 556 页 from page 556)

需进一步研究。

参考文献:

- [1] Doppler sonography for the assessment of vascular complications [J]. *Eur J Ultrasound*, 1998, 7 (1): 15-22.
- [2] Zhu B H, Guan Y Y, He H, *et al.* Erigeron breviscapus prevents defective endothelium dependent relaxation in diabetic rat aorta[J]. *Life Sci*, 1999, 65(15): 1553-9.
- [3] Stitt A W. The role of advanced glycation in the pathogenesis of diabetic retinopathy [J]. *Exp Mol Pathol*, 2003, 75(1): 95-108.
- [4] Warpeha K M, Chakravarthy U. Molecular genetics of microvascular disease in diabetic retinopathy[J]. *Eye*, 2003, 17(3): 305-11.
- [5] Deng D, Evans T, Downey D, *et al.* Diabetes-induced vascular dysfunction in the retina: role of endothelins [J]. *Diabetologia*, 1999, 42 (10): 1228-34.

Ishii H, Jirousek M R, Koya D, *et al.* Melioration of vascular dysfunctions in diabetic rats by an oral PKC B inhibitor[J]. *Science*, 1996 272 :728- 31.

- [7] Ishii H, Koya D, King G L. Protein kinase C activation and its role in the development of vascular complications in diabetes mellitus [J]. *J Mol Med*, 1998, 76(1): 21-31.
- [8] 王梅, 蓝育青, 刘嫣芬, 等. 糖尿病大鼠视网膜血流变化的彩色多普勒分析[J]. *中山大学学报 (医学科学版)*, 2003, 24 (4): 371-4.
- [9] Evans T, Xi D D, Mukherjee K, *et al.* Endothelins, their receptors, and retinal vascular dysfunction in galactose-fed rats [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2000, 48(2): 75-85.
- [10] Goldstein I M, Ostwald P, Roth S. Nitric oxide: a review of its role in retinal function and disease[J]. *Vision Res*, 1996, 36(18): 2979-94.

(编辑 黄小延)