

# 治疗糖尿病视网膜病变的中药提取物的药理机制研究进展<sup>Δ</sup>

付元元\*, 赵语<sup>#</sup>(重庆医科大学附属大学城医院药学部, 重庆 401331)

中图分类号 R587.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)23-2182-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.23.27

**摘要** 目的:探讨治疗糖尿病视网膜病变(DR)中药提取物的药理作用机制。方法:针对目前国际上公认的DR的病理机制,选取近几年具有代表性的文献进行分析、总结和归纳。结果:DR的病理机制主要包括多元醇代谢通路、蛋白质的非酶糖基化、蛋白激酶C、氧化应激、炎症以及凋亡相关因子等方面,对该病有治疗效果的中药提取物多以黄酮和多糖类化合物为主,药理作用机制复杂。结论:大部分用于临床治疗DR的中药提取物的药理机制仍不十分明确,缺乏深入研究和探讨,今后有必要利用多学科研究成果,从细胞水平阐明药理机制,以便更好地发挥中药整体调节的优势。

**关键词** 中药;中药提取物;糖尿病视网膜病变;作用机制

糖尿病视网膜病变(DR)是糖尿病(DM)常见的严重并发症之一,以视网膜微血管瘤、出血、渗出为主症,后期可因增殖性改变牵拉造成视网膜脱离而失明,其发病率高,是当今成人后天性致盲的主要原因。目前DR的发病机制尚未完全清楚,普遍认为DR是由于长期慢性高血糖引起多种代谢异常,最终导致的一种微血管系统疾病<sup>[1]</sup>。其发病机制主要包括多元醇代谢通路异常、糖基化终末产物积累、蛋白激酶C(PKC)激活、氧化应激以及生长因子和细胞因子过度表达等假说。针对上述发病机制,中药防治DR的优势逐步呈现,学者们就其作用机制也进行了一定的研究。笔者通过对近几年治疗DR的中药提取物的药理作用机制进行综述,为多靶点辨证治疗DR提供可靠的科学依据。

## 1 抑制醛糖还原酶阻断多元醇通路

多元醇通路又称山梨醇通路,由醛糖还原酶(AR)将葡萄糖还原成山梨醇,后者在山梨醇脱氢酶的作用下转化为果糖。DM的长期高血糖导致细胞内的AR活性增高,过度激活多元醇通路,视网膜细胞内的山梨醇和果糖蓄积,引发渗透压增加,活性氧簇(ROS)生成增加,Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶活性降低,细胞内Ca<sup>2+</sup>浓度增加,清除氧自由基的能力下降,影响凋亡控制基因(Bcl-2)、凋亡相关基因(Bax)等表达,诱发细胞凋亡<sup>[2]</sup>。

研究发现,川穹嗪能通过α-肾上腺素受体和电位依赖性钙通道的抑制来控制细胞外钙的进入,同时也抑制细胞内钙的释放,因此被称为“新型的钙离子拮抗剂”<sup>[3]</sup>。牛膝多糖能显著下调Bax表达,上调survivin基因表达,笔者推测可能与抑制AR活性有关<sup>[4]</sup>。川穹嗪与黄芩苷均可抑制AR活性,调节Bcl-2、Bax的表达,延缓DR的发展,体外酶动力学检测这种抑制表现为混合型非竞争性和反竞争性抑制<sup>[3,5]</sup>。此外,小檗碱对AR也有明显的抑制作用<sup>[6]</sup>。

## 2 抑制蛋白质的非酶糖基化过程

体外葡萄糖及其他糖类大分子物质可以引起体内蛋白质、脂类和DNA非酶促的糖基化反应,在血液、细胞和组织内形成糖基化终产物(AGEs)。非酶糖基化是一个缓慢的过程,使体内半衰期较长的胶原蛋白、晶状体蛋白等形成后不易降

解,引起视网膜内AGEs大量堆积<sup>[7]</sup>,导致视网膜微血管内皮细胞功能失调,血管通透性增加,基底膜增厚,周细胞丧失,引起视网膜血流动力学改变<sup>[8]</sup>。研究表明,AGE受体(RAGE)与AGEs结合后可通过增加细胞内氧化应激水平,活化PKC以及激活细胞内多条信号转导途径,包括促分裂素原活化蛋白激酶(MAPK)途径和核转录因子-κB(NF-κB)途径,产生大量炎症因子、生长因子等,导致组织病理学改变<sup>[9]</sup>。

葛根素可通过抑制AGEs的形成和RAGE的表达,从而抑制NF-κB的激活,阻断NF-κB所诱导的细胞因子表达的反应链,间接抑制了视网膜血管内皮生长因子的表达,起到保护DM大鼠视网膜的作用<sup>[10]</sup>。槲皮素是较强的蛋白质非酶糖基化的抑制剂,能够有效抑制早期视网膜大鼠AGEs的生成,减少AGEs在视网膜组织的聚集,下调视网膜组织RAGE mRNA的表达,起到抑制AGE-RAGE途径的作用<sup>[11]</sup>。有研究显示,人皂苷可抑制DR大鼠视网膜微血管黏连蛋白合成增多,从而减少AGEs的生成,缓解DM视网膜基底膜的病理改变,但是如何抑制黏连蛋白合成增多,是否通过阻止AGEs的产生,以及AGEs与黏连蛋白等细胞外基质蛋白的表达与DR病程的关系还需进一步研究<sup>[12]</sup>。

高浓度AGEs作用于Müller细胞可使细胞的形态发生改变,细胞的生长受到抑制。由于视网膜Müller细胞具有维持视网膜正常结构、营养视网膜神经等功能,故AGEs使Müller细胞各种生物学功能降低是DR早起视功能下降的重要原因<sup>[13]</sup>。李玉红等<sup>[14]</sup>研究发现,黄芪多糖可能通过抑制DM时Müller细胞上钙离子通道(Kir2.1)蛋白的表达下降来保护DM大鼠视网膜的功能。

## 3 抑制蛋白激酶C激活

大量研究表明,高血糖可提高组织内甘油三酯的含量,从而使PKC系统活化<sup>[15]</sup>。PKC的激活,可以引起视网膜微血管血流动力学的改变,使血流分布异常,增加血管的通透性,引起视网膜缺血,导致毛细血管扩张,促使毛细血管微血管瘤的形成。灯盏花素具有扩张血管、减轻白细胞黏附性、改善微循环、抑制PKC作用,改善DM视网膜的血流动力学的低速高阻状态<sup>[16]</sup>。

## 4 氧化应激与DR抑制物

氧化应激是指机体的促氧化与抗氧化之间平衡失调,倾向于促氧化,导致组织和细胞损害。高糖环境下,在蛋白非酶糖基化过程中机体产生大量的ROS。ROS是最主要的氧化

Δ 基金项目:重庆市卫生局医学科研计划项目(No.2011-2-022)

\* 药师,硕士研究生。研究方向:药物新制剂及应用基础。电话:023-65714812。E-mail:mengxi\_forever@sina.com

<sup>#</sup> 通信作者:副主任药师,硕士研究生导师。研究方向:药物新制剂及应用基础。电话:023-65714812。E-mail:zhaoyuu@hotmail.com

剂,起促氧化作用,可以使细胞内的生物大分子受损,胞膜脂质发生过氧化,发生铰链反应,DNA氧化受损,容易引起细胞凋亡<sup>[17]</sup>。DR发生时,山梨醇等多种途径使谷胱甘肽、维生素E、超氧化物歧化酶和过氧化氢酶的含量降低,这些都是细胞抗氧化作用的重要物质,抗氧化作用下降,细胞更容易在氧化应激中受损<sup>[18]</sup>。

从这一机制来看,维持机体正常的氧化应激水平,便可延缓DR的发生、发展。丹参酮、黄芪总黄酮、葛花总黄酮、川芎嗪均可刺激患者血清SOD活性,降低机体脂质过氧化反应水平,改善血运氧的恢复,维持细胞正常代谢,保护视网膜内皮细胞<sup>[3,19-20]</sup>。葛根素对超氧化物歧化酶和过氧化氢酶有明显的升高作用,抗氧化应激对视网膜的损伤,可能与p38MAPK信号途径有关,但具体机制还不清楚,笔者推测可能与抑制早期DM鼠视网膜上血管内皮生长因子(VEGF)和caspase-3的异常表达有关,从而减轻DM早期血-视网膜屏障破坏和视网膜神经节细胞凋亡<sup>[21]</sup>。

## 5 炎症反应

AGEs蓄积于内皮细胞和基底膜内,使细胞间黏附因子(ICAM-1)表达增加,活化白细胞,白细胞在视网膜微血管发生异常黏附和浸润,导致毛细血管阻塞和血管细胞的死亡,ICAM-1可能是DR发生炎症反应和氧化应激的重要原因。

李会娟等<sup>[22]</sup>研究显示,川芎嗪注射液可能抑制ICAM-1和白细胞介素(IL)-1B的表达,抑制炎症级联反应损伤,进而减少白细胞活化和单核巨噬细胞在损伤部位积聚。姜黄素除了可减弱AGEs、削弱丙酮醛的作用,减少一氧化氮合酶的表达外,还可通过下调视网膜中巨噬细胞抑制因子的表达来减轻视网膜的炎症改变<sup>[23-24]</sup>。

葛根素作用于AGEs-RAGE通路时激活的NK- $\kappa$ B也是一种重要的促炎症基因转录的调节因子,除了AGEs-RAGE通路异常外,多种因素导致的氧化应激都可以激活NF- $\kappa$ B,从而启动下由基因转录,上调与DR有关的细胞因子、炎症因子、黏附因子的表达<sup>[25]</sup>,导致细胞内的诱生型一氧化氮合酶(iNOS)表达增加,引起细胞内NOS增多,上调环氧合酶(COX)水平,特别是COX-2可以引起前列腺素和VEGF增加,血管通透性增加和白细胞停滞,引起内皮细胞死亡以及TNF- $\alpha$ 水平增高,最终导致视网膜色素上皮细胞损害<sup>[26]</sup>。

川芎嗪可以减少静脉白细胞黏附,减轻微循环中红细胞的聚集,降低血小板黏附率及聚集反应,防止血黏度升高<sup>[27]</sup>。葛根素能通过对ONOO-水平的下调和iNOS表达的抑制来减少DM大鼠色素上皮细胞(RPE)细胞的凋亡<sup>[28-29]</sup>。黄芪多糖之所以能改善DR,可能与抑制视网膜局部细胞因子TNF- $\alpha$ 的表达有关<sup>[30]</sup>。

## 6 细胞因子

### 6.1 VEGF

VEGF是血管内皮细胞促有丝分裂素,广泛存在于视网膜内皮细胞、周细胞及色素上皮细胞中。缺氧可造成DM患者视网膜血管渗漏和新生血管的形成,引起VEGF高表达。高表达的VEGF可上调局部ICAM-1的基因表达,诱发炎症反应,加重视网膜缺血缺氧,造成恶性循环<sup>[31]</sup>。银杏叶提取物可减少DM大鼠视网膜VEGF蛋白表达,抑制DR细胞凋亡<sup>[32]</sup>。

### 6.2 缺氧诱导因子-1 $\alpha$ (HIF-1 $\alpha$ )

川芎嗪能降低AGEs诱导的HIF-1 $\alpha$ 的表达、降低DR中VEGF的生成及新生血管的产生<sup>[33]</sup>;葛根素的抗氧化作用也可

抑制缺氧诱导因子HIF-1 $\alpha$ 和上调凋亡因子Bcl-2的表达,抑制内源性凋亡通路,防止视网膜脱离导致的视功能损害<sup>[34]</sup>。

### 6.3 碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)

邓辉等<sup>[35]</sup>发现,红参通过促进bFGF合成增加和Bcl-2的表达,抑制Bax的表达,减少RGCs的凋亡,促进RGCs的存活。红参还具有抑制VEGF过度表达的作用,而VEGF表达水平与视网膜神经节细胞凋亡数量呈正相关,从而在一定程度上抑制或延缓DR的发生发展<sup>[36]</sup>。

### 6.4 内皮素(ET)

多项研究提示,红花的有效成分红花苷、红花黄色素和灯盏花的有效成分灯盏花素均可以通过调节血管收缩性、改善血流动力学,从而改善DM患者的视功能<sup>[37-38]</sup>,但具体机制还有待研究,笔者推测其机制可能与ET有关。ET是血管内皮细胞分泌的迄今所知体内最强的缩血管物质,血管内皮细胞损伤是增加ET释放的一个重要机制<sup>[39]</sup>。生理水平的ET通过内皮细胞-周细胞间相互作用来调节视网膜血管的管径和局部血流量。但ET过量释放会强烈刺激视网膜周细胞收缩,导致视网膜局部血流动力学和血流量的异常以及局部循环调节功能紊乱。

通过各种机制假说来看,DR的首要诱导因素就是高血糖。高血糖可以使视网膜细胞的结构和功能发生一系列的病理改变,在这过程中多因素、多途径相互影响、协同作用,导致DR发生、发展。对DR有治疗作用的中药提取物多为黄酮类和多糖类,其中具有代表性的异黄酮类葛根素和吡嗪生物碱类川芎嗪可以通过影响多种传导途径,延缓糖尿病视网膜发生发展,这将对新药开发提供方向和依据。

## 7 结语

由于DR发病机制的复杂性以及中药有效成分的多样性、化学结构的不确定性,大部分用于临床治疗DR的中药复方制剂、中成药、复方中药提取物的药理机制尚不十分明确,缺乏深入的研究和探讨,阻碍了中医中药的良性发展。笔者认为,今后要加强对DR有针对性的中药特别是单药及其有效成分的药理研究,在应用中药理论对不同有效成分和药理药效作进一步研究的同时,有必要利用人类基因组学、蛋白质组学、代谢组学研究成果,通过生物芯片等现代技术,将筛选出的有效成分进行多靶标分析,在细胞水平上阐明其作用机制,更好地发挥中药整体调节的优势,结合西医有效的治疗方法及合理的给药途径,这将对DR的多靶点辨证治疗药物的开发具有重要的指导意义。

## 参考文献

- [1] 陈雨,朱晓华.糖尿病视网膜病变发病机制的研究进展[J].国际眼科杂志,2006,7(2):433.
- [2] Asnaghi V, Gerhardinger C, Hoehn T, et al. A role for the polyol pathway in the early neuroretinal apoptosis and glial changes induced by diabetes in the rat[J]. *Diabetes*, 2003,52(2):506.
- [3] 刘长山,孙丽萍,李兆欣,等.川芎嗪对糖尿病鼠醛糖还原酶活性及视网膜细胞凋亡影响[J].实用糖尿病杂志,2007,3(5):20.
- [4] 杨旭东,张杰,包海花.牛膝多糖对糖尿病大鼠视网膜细胞凋亡的影响[J].中国中医眼科杂志,2011,21(1):8.
- [5] 王秀军,刘长山,李兆欣,等.黄芩苷对糖尿病大鼠组织醛糖还原酶活性及视网膜细胞凋亡的影响[J].中国糖尿病

杂志,2008,16(8):507.

- [6] 刘长山,王秀军,柳林,等.黄连素对醛糖还原酶活性的抑制及其防治DN的意义[J].辽宁实用糖尿病杂志,2002,10(3):22.
- [7] Wautier J L, Guillausseau P J. Advanced glycation end products, their receptors and diabetic angiopathy[J]. *Diabetes and Metabolism*,2001,27(5Pt1):535.
- [8] Stitt A W, Li Y M, Gardiner T A, et al. Advanced glycation end products (AGEs) co-localize with AGE receptors in the retinal vasculature of diabetic and of AGE-infused rats[J]. *The American Journal of Pathology*,1997,150(2):523.
- [9] Mamputu J C, Renier G. Signalling pathways involved in retinal endothelial cell proliferation induced by advanced glycation end products: inhibitory effect of gliclazide[J]. *Diabetes, Obesity and Metabolism*,2004,6(2):95.
- [10] 陈放,刘开扬,徐珊,等.葛根素对STZ诱导的糖尿病大鼠视网膜的保护作用及机制研究[J].中国药理学通报,2011,27(9):1279.
- [11] 耿燕,薛丽丽,刘超,等.脂质体槲皮素对糖尿病大鼠视网膜糖基化终产物生成及受体表达的影响[J].中华临床医师杂志:电子版,2010,4(12):56.
- [12] 苑维,金明,潘琳,等.红参对糖尿病大鼠视网膜微血管病变细胞外基质的影响[J].中国中医眼科杂志,2004,14(4):200.
- [13] 汪峻岭,刘瑶,郑杰.糖基化终产物对体外培养兔视网膜Müller细胞的影响[J].现代医院,2007,5(7):397.
- [14] 李玉红,柯敏,张分队.黄芪多糖对2型糖尿病早期大鼠视网膜Müller细胞Kir2.1表达的影响[J].武汉大学学报:医学版,2008,29(2):177.
- [15] Das Evcimen N, King G L. The role of protein kinase C activation and the vascular complications of diabetes[J]. *Pharmacological Research: the Official Journal of the Italian Pharmacological Society*,2007,55(6):498.
- [16] 马丽,朱邦豪,周家国,等.灯盏花素对糖尿病大鼠视网膜血流动力学变化的影响[J].中山大学学报:医学科学版,2004,25(6):554.
- [17] Baskol G, Gumus K, Oner A, et al. The role of advanced oxidation protein products and total thiols in diabetic retinopathy[J]. *European Journal of Ophthalmology*,2008,18(5):792.
- [18] Takamura Y, Tomomatsu T, Kubo E, et al. Role of the Polyol Pathway in High Glucose-Induced Apoptosis of Retinal Pericytes and Proliferation of Endothelial Cells[J]. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*,2008,49(7):3216.
- [19] 于丹,李静秋,杨岚,等.丹参通过糖尿病小鼠血-眼屏障与防治视网膜病变实验研究[J].中国实用眼科杂志,2011,29(9):983.
- [20] 艾明,杨芳,孙明,等.葛花总黄酮对糖尿病小鼠视网膜MDA,SOD的影响[J].临床眼科杂志,2012,20(4):374.
- [21] 李永浩,吕林,陈凌燕,等.P38丝裂素活化蛋白激酶信号通路阻断对糖尿病鼠早期视网膜屏障和视网膜节细胞的保护作用[J].中华眼底病杂志,2010,26(2):139.
- [22] 李会娟,沈和荣,邵桂芳,等.川芎嗪对糖尿病大鼠视网膜病变IL-1 $\beta$ 和ICAM-1表达的影响[J].现代中西医结合杂志,2012,21(36):4016.
- [23] 刘娟,游志鹏.姜黄素对糖尿病大鼠视网膜中巨噬细胞游走抑制因子表达的影响[J].眼科研究,2010,28(012):1139.
- [24] Mrudula T, Suryanarayana P, Srinivas P, et al. Effect of curcumin on hyperglycemia-induced vascular endothelial growth factor expression in streptozotocin-induced diabetic rat retina[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*,2007,361(2):528.
- [25] 陈放,刘开扬,徐珊,等.葛根素对糖尿病大鼠视网膜的保护及对NF- $\kappa$ B表达的抑制[J].中国药理学与毒理学杂志,2011,25(3):296.
- [26] Zheng L, Szabó C, Kern T S. Poly (ADP-ribose) polymerase is involved in the development of diabetic retinopathy via regulation of nuclear factor- $\kappa$  B[J]. *Diabetes*,2004,53(11):2960.
- [27] 朱学军,陈瑞华,黄焱,等.川芎嗪防治糖尿病大鼠糖尿病视网膜病发展的实验性研究[J].眼科,2002,11(2):103.
- [28] Hao L N, Wang M, Ma J L, et al. Puerarin decreases apoptosis of retinal pigment epithelial cells in diabetic rats by reducing peroxynitrite level and iNOS expression[J]. *Sheng Li Xue Bao*,2012,64(2):199.
- [29] Chang Y, Hsieh C Y, Peng Z A, et al. Neuroprotective mechanisms of puerarin in middle cerebral artery occlusion-induced brain infarction in rats[J]. *J Biomed Sci*,2009,16(9):1.
- [30] 吴璧,王保华,欧阳静萍.黄芪多糖对遗传性糖尿病kky小鼠视网膜中TNF- $\alpha$ 表达的影响[J].时珍国医国药,2007,18(5):1031.
- [31] Li H, Hu XL. Role of vascular endothelial growth factor in the progress of diabetic retinopathy[J]. *Int J Ophthalmol*,2008,8(5):990.
- [32] 李才锐,孙曙光,姜德咏,等.银杏叶提取物治疗早期糖尿病视网膜病观察[J].国际眼科杂志,2006,6(1):78.
- [33] 陈忠平,姜德咏,唐罗生,等.川芎嗪对糖基化终末产物诱导人视网膜色素上皮细胞表达低氧诱导因子-1 $\alpha$ 的影响[J].中华眼底病杂志,2006,22(1):55.
- [34] 姚鹏,杨惠婷,滕岩,等.葛根素对糖尿病视网膜病变中Bcl-2表达的影响[J].国际眼科杂志,2011,11(5):788.
- [35] 邓辉,金明,潘琳,等.红参对糖尿病视网膜神经节细胞的神经保护作用[J].中国中医眼科杂志,2004,14(2):63.
- [36] 邓辉,金明,潘琳,等.红参对糖尿病大鼠视网膜血管内皮细胞生长因子表达及神经节细胞凋亡的影响[J].中日友好医院学报,2010,24(2):94.
- [37] 廖琳,李燕,杨秋萍,等.灯盏花素对糖尿病大鼠视网膜VEGF表达的影响[J].昆明医学院学报,2008,29(4):40.
- [38] 高凌,李春蕊.红花注射液对糖尿病患者视网膜中央动脉血流动力学的影响[J].中国临床康复,2004,25(8):494.
- [39] 胡蜀红,张建华,蔡仕林.糖尿病视网膜病变与血浆内皮素的关系[J].临床荟萃,2003,18(12):677.

(收稿日期:2013-10-28 修回日期:2014-04-03)