

网络出版时间: 2021-05-14 16:28 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20210513.1449.017.html>

葡萄籽原花青素对糖尿病小鼠心室重构的保护作用

程雨微¹, 王小云², 查红英³, 凌鑫鑫², 潘 铭², 阮承少², 王君萍⁴, 高 杉², 朱德发¹

摘要 目的 探讨葡萄籽原花青素(GSP)对糖尿病小鼠心脏损伤的保护作用及作用机制。方法 采用腹腔注射四氧嘧啶制备1型糖尿病模型,造模成功后,随机分为模型组、GSP低、中、高剂量组(65、130、195 mg/kg)和二巯双胍(MET)阳性对照组(220 mg/kg)。同时设置空白对照组,各组灌胃给药30 d,对照和模型组给予0.9%氯化钠溶液灌胃。给药期间记录动态血糖、糖耐量和饮食饮水量的变化。连续给药30 d后,采用BL-420S生物机能实验系统检测小鼠心功能并计算心脏重量指数(HWI)和肾脏重量指数(KWI);苏木精-伊红(HE)染色和马松(Masson)染色观察组织病理学变化;酶联免疫吸附法和比色法检测血清学指标的改变;免疫荧光法和Western blot检测心脏组织蛋白表达的变化。结果 与对照组相比,模型组小鼠血糖、糖耐量、饮食饮水量明显升高;血流动力学、病理形态学、血清学指标发生明显异常改变,如心肌组织内皮素A(ETA)明显升高,内皮型一氧化氮合酶(eNOS)明显降低等。与模型组相比,给药组和MET组均能显著改善上述指标。结论 GSP对糖尿病心脏损伤具有一定的保护作用,其机制可能与抗氧化应激和改善内皮功能障碍有关。

关键词 糖尿病;葡萄籽原花青素;心脏损伤;氧化应激;内皮功能障碍

中图分类号 R 285.5

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2021)06-0925-07
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.06.017

糖尿病是以高血糖、高血脂为特征的代谢性疾病^[1],近年来,其发病率逐年增高并呈年轻化趋势,糖尿病诱发的脏器损伤尤其是心血管损伤是导致糖

尿病患者死亡的主要原因^[2],其病死率是非糖尿病人群心血管疾病的2~3倍,其中,糖尿病心肌病(diabetic cardiomyopathy, DCM)是重要并发症之一,是导致糖尿病病人死亡的重要原因^[3]。DCM概念最早是由Rubler和Hamby发现和提出^[4-5],主要表现为心脏微血管病变和心肌细胞代谢紊乱所致的心脏广泛局灶性病变。DCM早期表现为心肌顺应性降低、充盈受限为主的舒张功能不全,晚期变现为收缩功能障碍和全心衰竭。目前已达成共识,DCM是心血管终点事件的独立风险因素,其发生不依赖于高血压、冠状动脉粥样硬化等常见心血管疾病^[6]。

葡萄籽原花青素(grape seed proanthocyanidins, GSP)是从葡萄种子和葡萄皮中提取的一种有效抗氧化剂,具有调节血脂、抗肿瘤、调节血糖、保护心血管的作用^[7]。GSP提取物具有强氧自由基清除能力,其抗氧化活性优于其他常用的抗氧化剂,数据显示GSP抗氧化作用是维生素C的20倍,是维生素E的50倍^[8];生物利用度也高于维生素C、E和β-胡萝卜素等抗氧化剂^[9]。目前有关GSP在体降血糖的研究报道较少,本研究拟通过腹腔注射四氧嘧啶建立1型糖尿病模型,探究GSP对糖尿病小鼠心室重构的保护作用及可能的机制。

1 材料与方法

1.1 动物和材料 SPF级昆明小鼠($n=70$)雄性,体质量(26 ± 2) g,购自北京维通利华实验动物股份有限公司(No: 11001119110375110,许可证号: SCXK京 2016-0011)。四氧嘧啶(ALX,批号: 101847561)购自美国SIGMA化学公司;GSP(批号: H27J9Z64554)购自上海源叶生物科技有限公司;二甲双胍(metformin hydrochloride tablets, MET)(批号: 20190162)购自贵州天安药业股份有限公司。血糖仪(批号: ET80116RB)购自中国台湾翔国科技有限公司。

1.2 糖尿病模型的建立与分组 昆明小鼠适应性喂养3 d后,禁食24 h,自由饮水,每只小鼠按140 mg/kg剂量一次性腹腔注射四氧嘧啶制备糖尿病模

2021-03-29 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81873126)

作者单位: ¹ 安徽医科大学第一附属医院干部内分泌科,合肥 230022

² 安徽医科大学基础医学院药理教研室,合肥 230032

³ 安徽医科大学第二临床医学院,合肥 230601

⁴ 中国科学院合肥肿瘤医院学部,合肥 230031

作者简介: 程雨微,女,住院医师,硕士;

高 杉,男,教授,博士生导师,责任作者, E-mail: aydgs@126.com;

朱德发,男,教授,博士生导师,责任作者, E-mail: Zdfa0168@sina.com

型^[10]。对照组小鼠腹腔注射等量的 0.9% 氯化钠溶液,于注射后第 5 天取尾血测空腹血糖,血糖值 10~25 mmol/L 为高血糖模型,即造模成功^[10]。将造模成功小鼠随机分为 5 组,每组 12 只。对照组、模型组每日给予 0.9% 氯化钠溶液灌胃,GSP 低剂量组、GSP 中剂量组、GSP 高剂量组分别给予 65、130、195 mg/kg 的 GSP 灌胃给药,阳性药组给予 220 mg/kg 的 MET 灌胃给药,连续给药 30 d。

1.3 空腹血糖降低和糖耐量实验 给药后每 3 d 取尾血测空腹血糖值至给药周期结束,每周固定时间内记录各组小鼠的饮食量和饮水量。末次给药后禁食 5 h。测定血糖值,15~20 min 灌胃葡萄糖 2.0 g/kg,测定给葡萄糖后 0.5、2 h 的血糖值,观察模型组、对照组与给药组给予葡萄糖后各时间点血糖曲线下面积的变化,从而明确糖耐量的变化。

1.4 血流动力学指标测定 小鼠末次给药后禁食不禁水 12 h 称体质量(body weight, BW),10%水合氯醛(0.035 ml/10 g)腹腔注射麻醉小鼠。然后迅速分离右颈总动脉,将预先浸泡于肝素中的聚乙烯导管插入其中,通过 BL-420S 转换器记录信号。待信号稳定后,将导管继续沿着右颈动脉的方向插入左心室中,记录血流动力学参数左室收缩压(left ventricular systolic pressure, LVSP)、左室舒张末期压(left ventricular end-diastolic pressure, LVEDP)、左心室压力变化最大速率(maximum rate of left ventricular pressure, $\pm dp/dt_{max}$)等血流动力学指标。

1.5 心脏重量指数(heart weight index, HWI)和肾脏重量指数(kidney weight index, KWI)的测定

血流动力学指标采集完成后,颈静脉取血,然后处死小鼠,迅速取出心脏和肾脏,剔除心脏和肾脏周围结缔组织,0.9%氯化钠溶液洗尽残血,滤纸吸干后称量全心重及肾重,并计算 HWI($HWI = \text{全心重}/BW$)和 KWI($KWI = \text{肾重}/BW$)。

1.6 Masson 染色观察心脏组织胶原变化 组织切片常规脱蜡水洗, Bouin 液媒染过夜,流水冲洗至黄色消失,天青石蓝染色液滴染 2~3 min,稍水洗。Mayer 苏木精染色液滴染 2~3 min。酸性乙醇分化数秒,流水冲洗 10 min。丽春红酸性复红液 5~10 min,1%磷钼酸分化 10 min,苯胺蓝或光绿液染 5 min,0.2%冰醋酸浸洗,各梯度乙醇脱水,二甲苯透明,中性树脂封片,镜检。

1.7 免疫荧光检测心肌组织内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)的表达 石蜡切片常规脱水,置柠檬酸钠抗原修复液中。3%

双氧水室温孵育, PBS 冲洗, QuikBlock 免疫封闭液封闭 30 min。轻甩封闭液,滴加 eNOS 一抗(1:200) 4℃孵育过夜。复温 30 min 后 PBS 冲洗。滴加二抗(1:1 000)室温下进行孵育。DAPI 核染 3~5 min,抗荧光猝灭剂封片,避光镜检。

1.8 酶联免疫吸附法和比色法检测血清学指标 采用酶联免疫吸附法检测血清中内皮素-1(endothelin-1, ET-1)、内皮性一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)和糖化血清蛋白的活性,比色法检测血清中一氧化氮(nitric oxide, NO)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)和还原型谷胱甘肽(GSH)的含量。

1.9 Western bolt 测定心脏组织 eNOS、内皮素 A 受体(endothelin-1 A receptor, ETA)的表达 取新鲜心肌组织,加 RIPA (radio-immunoprecipitation assay) 裂解液(含 1% 苯甲基磺酰氟)冰上裂解,4℃离心(12 000 r/min, 10 min)。收集上清液,80℃保存。取上清液,以二喹啉甲酸(BCA)法测定总蛋白浓度。非变性 eNOS 通过 12% 的 SDS 聚丙烯酰胺凝胶分离蛋白,ETA 通过 8% 的 SDS 聚丙烯酰胺凝胶分离蛋白后将蛋白转移到聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上,室温下 5% 脱脂奶粉封闭 1 h,漂洗 3×10 min,加入一抗(eNOS, 1:5 000, 美国 Abcam 公司; ETA, 1:500, 武汉博士德公司) 4℃孵育过夜。次日再漂洗 PVDF 膜 3 次,加入二抗(山羊抗兔, 1:10 000, 上海碧云天公司),室温孵育 1 h。漂洗后 ECL 试剂显色。

1.10 统计学处理 采用 SPSS 15.0 软件进行统计学分析。计数资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。单因素方差分析(One-way ANOVA)比较多组数据组间差异,两组数据组间差异采用 t 检验,计数资料以百分率表示, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 GSP 对糖尿病小鼠动态血糖、糖耐量、糖化血清蛋白的影响 与对照组相比,造模后模型组血糖值明显升高。而经过 GSP 和 MET 治疗后,与模型组相比,各给药组血糖明显降低(图 1A),血糖曲线下面积明显减小,糖耐量值明显降低(图 1B),血清糖化血清蛋白活力明显降低(图 1C),差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

2.2 GSP 对糖尿病小鼠饮食饮水量的影响 与模型组相比,经 GSP 各剂量组和 MET 治疗后,给药组每 10 g 体质量 24 h 动态饮食饮水量明显减少,多饮

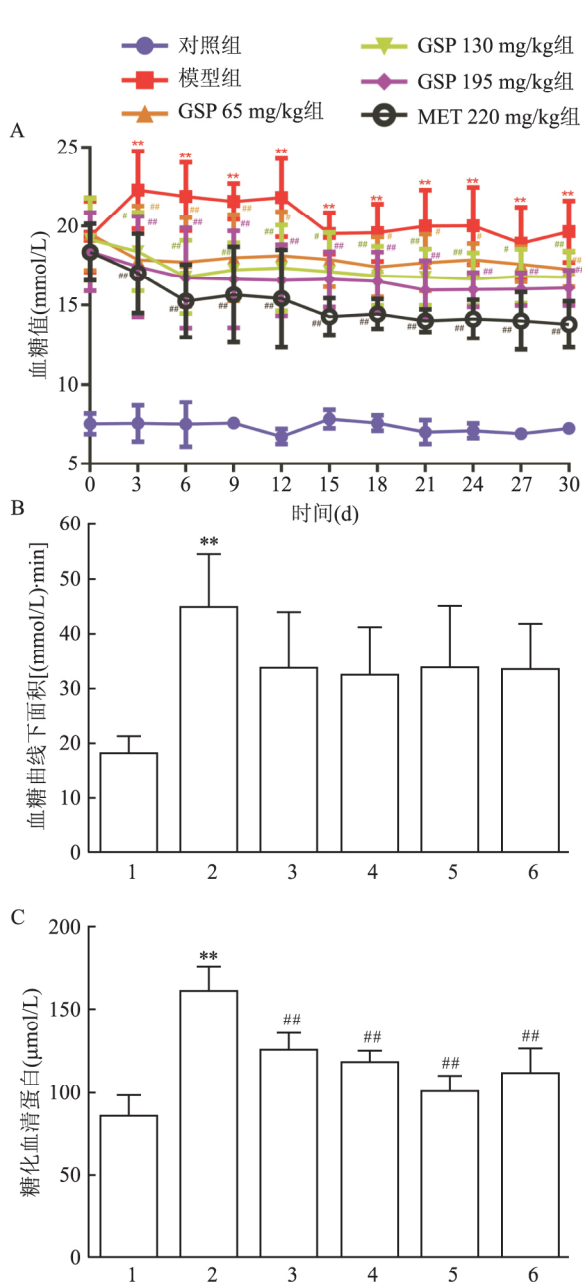


图1 GSP对实验性糖尿病小鼠动态血糖水平、糖耐量和糖化血清蛋白的影响

A: GSP对实验性糖尿病小鼠动态血糖水平的影响; B、C: GSP对实验性糖尿病小鼠糖耐量、糖化血清蛋白的影响; 与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$; 1: 对照组; 2: 模型组; 3: GSP 65 mg/kg组; 4: GSP 130 mg/kg组; 5: GSP 195 mg/kg组; 6: MET 220 mg/kg组

多食症状有所减轻, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见图2。

2.3 GSP对糖尿病小鼠心功能、HWI和KWI的影响 与对照组相比, 模型组小鼠的LVSP、 $\pm dp/dt_{max}$ 、射血分数 (ejection fraction, EF)、心输出量 (CO) 均明显降低, LVEDP明显升高, 见图2。提示

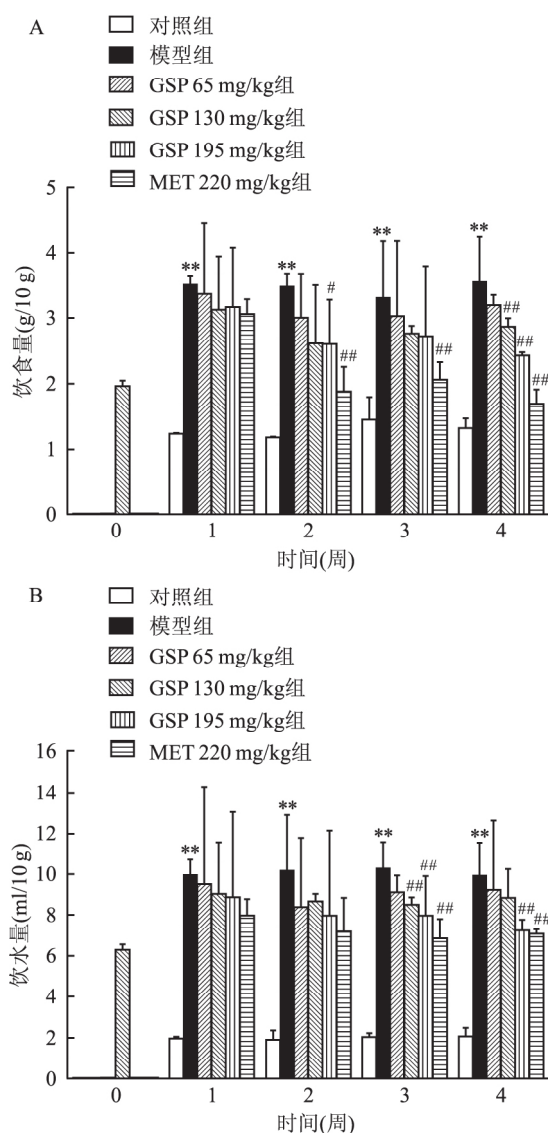


图2 葡萄籽原花青素对实验性糖尿病小鼠实验周期内动态饮食量和饮水量的影响

A: 饮食量; B: 饮水量; 与对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

小鼠出现明显的心功能不全特征。经GSP各剂量组和MET给药治疗后明显改善心功能参数。与对照组相比, 模型组HWI、KWI有所升高, KWI的差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 与模型组相比, 各给药组HWI、KWI有降低的趋势。见图3。提示GSP具有一定的改善心功能不全作用。

2.4 GSP对心脏病理形态学改变的影响 Masson染色结果显示(图4), 与模型组相比, 各给药组能明显减少糖尿病小鼠的心肌胶原沉积, 改善心肌纤维化, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

2.5 GSP对血清ET-1、NO、MDA、GSH含量及SOD活性的影响 与对照组相比, 模型组血清中

表1 GSP对糖尿病小鼠心功能的影响($\bar{x} \pm s$ $n=8 \sim 10$)

项目	对照组	模型组	GSP65 mg/kg 组	GSP130 mg/kg 组	GSP195 mg/kg 组	MET 220 mg/kg 组
射血分数(%)	45.26 ± 8.45	38.65 ± 10.95	42.17 ± 11.12	43.12 ± 4.36	44.15 ± 12.90	45.53 ± 13.06
心输出量(ml)	11 408 ± 1 832	8 503 ± 2 977	8 779 ± 3 277	10 455 ± 3 809	10 771 ± 1 293	11 191 ± 6 673
每搏输出量(ml)	27.09 ± 3.87	21.02 ± 7.39	20.38 ± 7.65	21.76 ± 2.90	22.08 ± 2.47	26.15 ± 13.04
每搏功(J)	0.408 ± 0.055	0.033 ± 0.014 **	0.034 ± 0.014	0.302 ± 0.019 ^{##}	0.309 ± 0.019 ^{##}	0.302 ± 0.013 ^{##}
动脉弹性	2.518 ± 0.330	2.524 ± 2.330	2.568 ± 2.250	3.208 ± 0.390	3.118 ± 0.310	2.505 ± 2.300
左室收缩压(kPa)	8.92 ± 1.24	7.26 ± 1.57*	7.30 ± 1.70	8.39 ± 2.02	8.93 ± 1.24*	8.96 ± 0.86 ^{##}
左室舒张末期压(kPa)	0.38 ± 0.42	0.72 ± 0.31	0.61 ± 0.33	0.52 ± 0.33	0.57 ± 0.29	0.48 ± 0.47
左室压升高率(kPa/s)	606.44 ± 294.52	462.54 ± 113.23	447.82 ± 211.75	592.07 ± 241.73	606.25 ± 40.43 ^{##}	612.08 ± 288.57
左室压下降率(kPa/s)	-513.32 ± 185.32	-385.79 ± 84.94*	-384.34 ± 30.13	-490.19 ± 190.93	-454.62 ± 50.46 ^{##}	-463.30 ± 63.27 ^{##}

与对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{##} $P < 0.05$, ^{###} $P < 0.01$

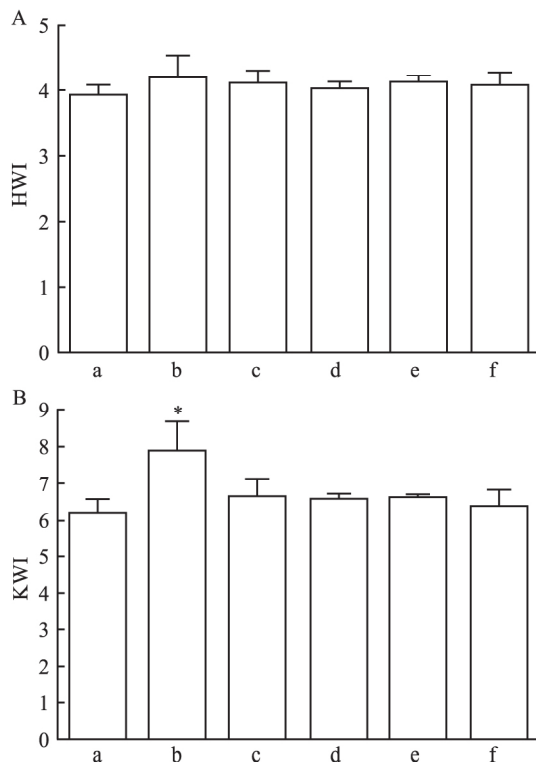


图3 GSP对糖尿病小鼠HWI、KWI的影响

A: HWI; B: KWI; a: 对照组; b: 模型组; c: GSP 65 mg/kg 组; d: GSP 130 mg/kg 组; e: GSP 195 mg/kg 组; f: MET 220 mg/kg 组; 与对照组比较: * $P < 0.05$

SOD 活性、GSH 含量明显降低,MDA 含量明显增高,而经 GSP 与 MET 治疗后血清中 SOD 活性明显提高、GSH 含量明显升高,MDA 含量明显降低。见图 4。经 GSP 各剂量组和 MET 治疗后,血清中 ET-1 含量明显降低,NO 含量明显升高,差异有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见图 5。

2.6 GSP 对 eNOS、内皮素 A 受体表达的影响 免疫荧光、ELISA 和 Western blot 结果显示,与对照组相比,eNOS 含量明显降低;与模型组相比,GSP 各剂量组剂量组、MET 组含量明显升高,差异有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。Western blot 显示,与对

照组相比,模型组 ETA 含量明显升高;与模型组相比,各给药组 ETA 的含量明显降低。见图 7。

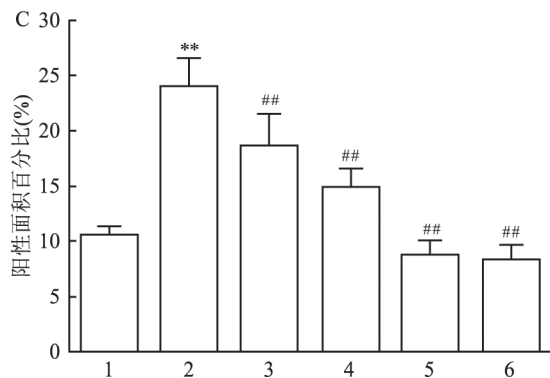
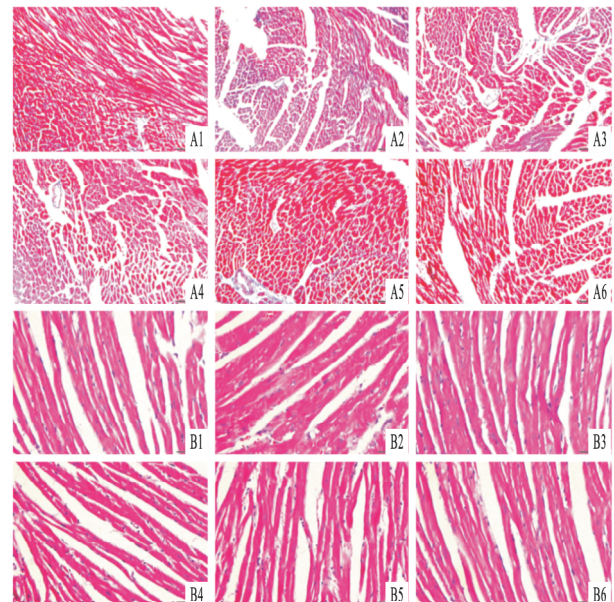


图4 GSP对实验性糖尿病小鼠心脏组织病理形态学的影响

A: Masson 染色代表性图片 $\times 100$; B: Masson 染色心肌纤维代表性图片 $\times 400$; C: Masson 染色半定量分析结果; 1: 对照组; 2: 模型组; 3: GSP 65 mg/kg 组; 4: GSP 130 mg/kg 组; 5: GSP 195 mg/kg 组; 6: MET 220 mg/kg 组; 与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{##} $P < 0.01$

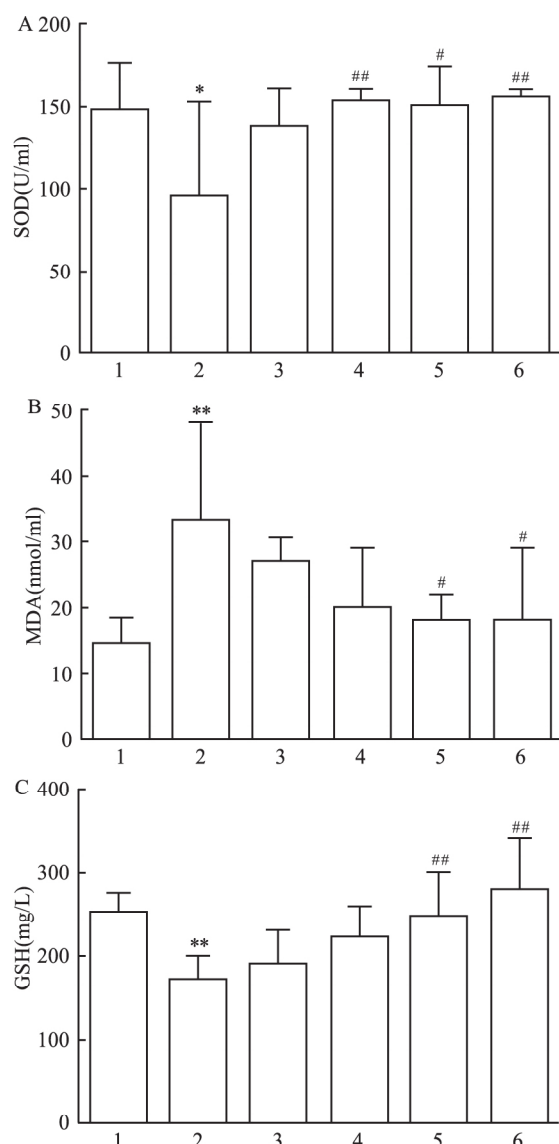


图5 GSP对实验性糖尿病小鼠血清MDA、GSH含量及SOD活性的影响

A: 血清中SOD的活力; B: 血清中MDA的含量; C: 血清GSH的含量; 1: 对照组; 2: 模型组; 3: GSP 65 mg/kg组; 4: GSP 130 mg/kg组; 5: GSP 195 mg/kg组; 6: MET 220 mg/kg组; 与对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

3 讨论

在糖尿病中,慢性高血糖会产生多种并发症,不仅会导致微血管病变,也会构成大血管和心肌的病变。目前,心肌异常与糖尿病之间的因果关系已得到很好的证实^[10]。GSP作为自然界广泛存在的多酚类化合物,其对心血管系统的活性已逐渐被人们认识。既往研究^[7]显示GSP可通过其强大的抗氧化、改善内皮功能障碍以及降低动脉粥样硬化风险指数、改善脂质特性等药理学效应而发挥心肌保护作用。

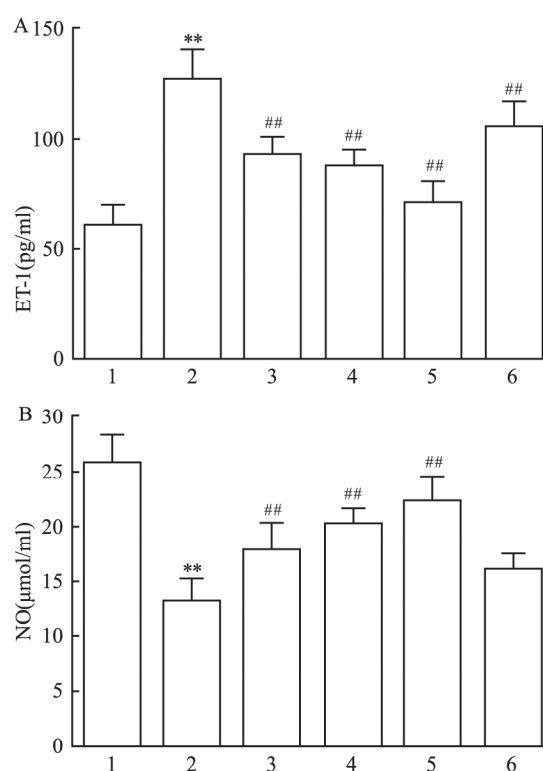


图6 GSP对实验性糖尿病小鼠血清ET-1和NO含量的影响

A: 血清ET-1含量; B: 血清NO含量; 1: 对照组; 2: 模型组; 3: GSP 65 mg/kg组; 4: GSP 130 mg/kg组; 5: GSP 195 mg/kg组; 6: MET 220 mg/kg组; 与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: ## $P < 0.01$

用。本研究中,与对照组相比,模型组动态血糖、糖耐量、糖化血清蛋白、饮食饮水量均明显升高,且差异有统计学意义,提示造模成功。研究结果显示,与模型组相比,GSP组心肌细胞横截面积、心肌纤维宽度、心肌胶原沉积含量均明显减小,表明GSP可改善心肌及心肌血管周纤维化,抑制心脏损伤的发生和发展。

DCM以心肌代谢紊乱、心肌纤维化为基础的病变,发生心肌结构异常,最终导致心室肥厚扩大、舒张和收缩功能障碍等。其心功能不全的临床过程是由亚临床异常(如左室纤维化和舒张功能障碍)发展为严重舒张性心力衰竭(射血分数异常),并最终发展为收缩功能障碍伴射血分数的降低^[10]。DCM发生、发展过程中,氧化应激损伤扮演重要角色,表现为活性氧(ROS)蓄积触发细胞膜脂质过氧化、激酶过度磷酸化和DNA突变,引起心肌细胞结构和功能异常,并导致心肌细胞不可逆损伤和凋亡发生。SOD和GSH是体内重要的内源性抗氧化剂,而MDA是脂质过氧化反应的主要终产物。因此,测定心肌中SOD活性、GSH含量以及MDA含量可以反

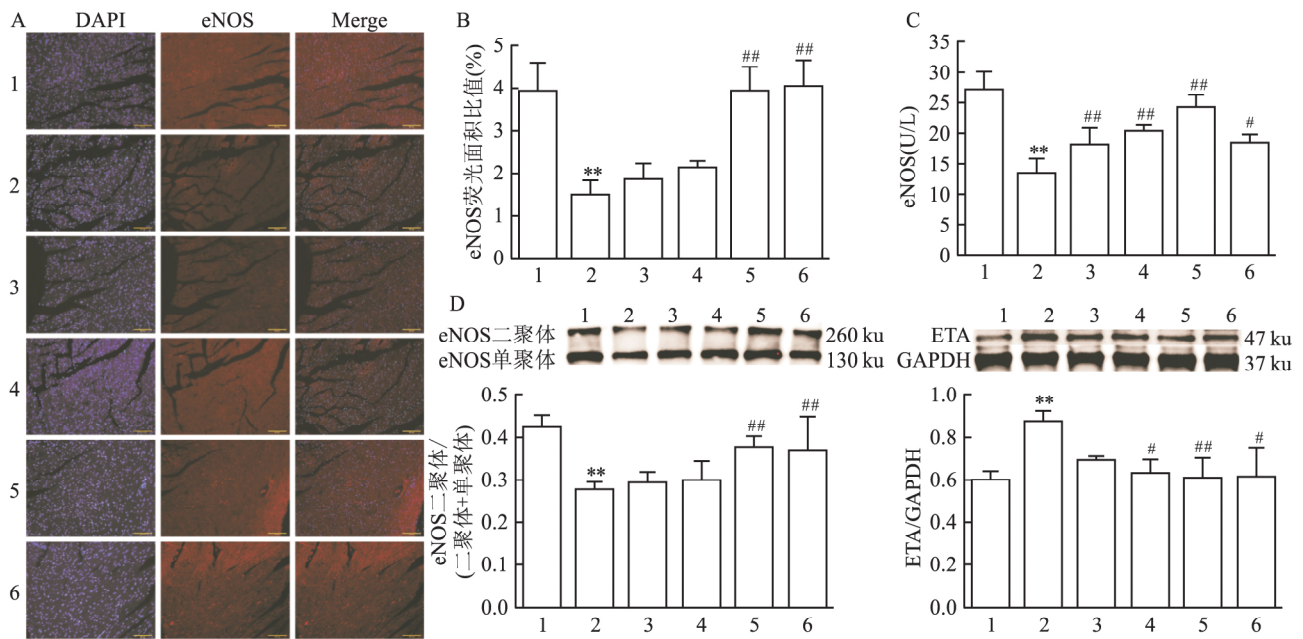


图7 GSP对实验性糖尿病小鼠eNOS和ETA表达的影响

A: eNOS免疫荧光代表图 $\times 200$; B: 对免疫荧光的量化分析结果; C: 血清中eNOS的ELISA检测结果; D: 心肌组织eNOS和ETA的Western blot代表性图片及其量化分析结果; 1: 对照组; 2: 模型组; 3: GSP 65 mg/kg组; 4: GSP 130 mg/kg组; 5: GSP 195 mg/kg组; 6: MET 220 mg/kg组; 与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

映机体中氧自由基水平及脂质过氧化反应程度^[11]。本研究结果表明,与对照组相比,模型组血清MDA含量明显增加、SOD活性明显降低、GSH含量明显下降,差异具有统计学意义($P < 0.01$)。而经各GSP剂量组、MET组给药治疗后,能明显降低血清MDA含量,提高血清SOD活性和GSH含量。提示GSP可能通过抗氧化应激发挥保护作用,这种作用可能与其独特的分子结构及分子结构中大量酚羟基的存在有关。

一氧化氮(NO)、前列环素和内皮衍生的超极化因子(EDHF)等都是内皮细胞释放的自体活性物质,具有舒张血管和保护心脏等生物学活性。研究显示机体在高糖刺激下,组织会生成过多的糖基化终末产物(AGEs)^[12],AGEs堆积会损伤内皮细胞,表现舒张因子NO合成降低,收缩因子ET-1生成增加,导致内皮细胞功能紊乱、心血管功能障碍和心血管重构发生发展^[13]。研究表明,内皮细胞功能紊乱与氧化应激之间存在着紧密联系。氧化应激产生的ROS与NO发生化学反应,使NO生物学活性降低或丧失,从而引起包括内皮细胞功能紊乱。尤为重要的是超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)与NO发生化学反应,可生成过氧化性更强的氧亚硝基根离子($ONOO^{\cdot-}$)后者通过氧化四氢生物蝶呤为二氢生物蝶呤而导致eNOS脱偶联,脱偶联的eNOS是一个内源性的氧自

由基发生器,从而加速内皮细胞损伤功能紊乱^[14-15]。本研究中,与对照组相比,模型组NO与eNOS含量下降,而ET-1含量增加,而经GSP各剂量组给药治疗后,NO与eNOS含量有所提高,ET-1含量明显下降。这表明GSP可以通过改善内皮功能紊乱来发挥心脏保护作用。

参考文献

- [1] Khanra R, Dewanjee S, Dua T K, et al. Abroma augusta L. (Malvaceae) leaf extract attenuates diabetes induced nephropathy and cardiomyopathy via inhibition of oxidative stress and inflammatory response [J]. J Transl Med 2015, 13: 6.
- [2] Yu D, Shang J, Cai Y, et al. Derivation and external validation of a risk prediction algorithm to estimate future risk of cardiovascular death among patients with type 2 diabetes and incident diabetic nephropathy: prospective cohort study [J]. BMJ Open Diabetes Res Care 2019, 7(1): e000735.
- [3] Lehrke M, Marx N. Diabetes mellitus and heart failure [J]. Am J Cardiol 2017, 120(1s): S37-47.
- [4] Rubler S, Dlugash J, Yuceoglu Y Z, et al. New type of cardiomyopathy associated with diabetic glomerulosclerosis [J]. Am J Cardiol 1972, 30(6): 595-602.
- [5] Hamby R I, Zoneraich S, Sherman L. Diabetic cardiomyopathy [J]. JAMA 1974, 229(13): 1749-54.
- [6] Jia G, Whaley-Connell A, Sowers J R. Diabetic cardiomyopathy: a hyperglycaemia- and insulin-resistance-induced heart disease [J]. Diabetologia 2018, 61(1): 21-8.

- [7] Lee J W , Kim Y I , Im C N , et al. Grape Seed Proanthocyanidin-inhibits mucin synthesis and viral replication by suppression of AP-1 and NF- κ B via p38 MAPKs/JNK signaling pathways in respiratory syncytial virus-infected A549 cells [J]. *J Agric Food Chem* 2017 65(22) : 4472 – 83.
- [8] Waqas M K , Akhtar N , Mustafa R , et al. Dermatological and cosmeceutical benefits of Glycine max (soybean) and its active components [J]. *Acta Pol Pharm* , 2015 72(1) : 3 – 11.
- [9] Ilic M , Ilic I , Stojanovic G , et al. Association of the consumption of common food groups and beverages with mortality from cancer , ischaemic heart disease and diabetes mellitus in Serbia , 1991 – 2010: an ecological study [J]. *BMJ Open* 2016 6(1) : e008742.
- [10] Jia G , Hill M A , Sowers J R. Diabetic cardiomyopathy: an update of mechanisms contributing to this clinical entity [J]. *Circ Res* , 2018 122(4) : 624 – 38.
- [11] Zhang P Y , Xu X , Li X C. Cardiovascular diseases: oxidative damage and antioxidant protection [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2014 18(20) : 3091 – 6.
- [12] Choi Y S , Lee K H. Insulin effect on bupivacaine-induced cardiotoxicity in rabbits [J]. *Korean J Anesthesiol* 2011 61(6) : 493 – 8.
- [13] Muñoz M , López-Oliva M E , Rodríguez C , et al. Differential contribution of Nox1 , Nox2 and Nox4 to kidney vascular oxidative stress and endothelial dysfunction in obesity [J]. *Redox Biol* 2020 , 28: 101330.
- [14] Fetterman J L , Holbrook M , Westbrook D G , et al. Mitochondrial DNA damage and vascular function in patients with diabetes mellitus and atherosclerotic cardiovascular disease [J]. *Cardiovasc Diabetol* 2016 15: 53.
- [15] Zhao J , Chen H , Liu N , et al. Role of hyperhomocysteinemia and hyperuricemia in pathogenesis of atherosclerosis [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2017 26(12) : 2695 – 9.

The protective effects of grape seed proanthocyanidins on cardiac remodeling in diabetic mice

Cheng Yuwei¹ , Wang Xiaoyun² , Zha Hongying³ , et al

(¹Dept of Endocrinology , The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University , Hefei 230022;

²Dept of Pharmacology , Basic Medical College , Anhui Medical University , Hefei 230032;

³The Second Clinical Medical College of Anhui Medical University , Hefei 230032)

Abstract Objective To investigate the protective effect of grape seed proanthocyanidins (GSP) on heart injury and its possible mechanism in diabetic mice. **Methods** Diabetic mice was induced by intraperitoneal injection of alloxan. The mice were randomly divided into model group , GSP low , middle and high dose group (65 , 130 , 195 mg/kg) and metformin positive control group (220 mg/kg) . Meanwhile , the control group was set up. The control group and model group were given normal saline. Dynamic blood glucose , glucose tolerance and water intake were recorded during the administration. At the end of the experiment , BL-420S was used to detect the hemodynamics of mice; the heart weight and kidney weight index were calculated; pathological changes were observed by pathological staining; serological indexes were detected by enzyme-linked immunosorbent assay and colorimetry; protein expression in heart tissue was observed by immunofluorescence and western blotting. **Results** Compared with the control group , the blood glucose , glucose tolerance , diet and drinking water were significantly higher in the model group; the cardiac function , pathomorphology , serological indexes had changed abnormally , such as the increase of endothelin-1 A receptor(ETA) and the decrease of the endothelial nitric oxide synthase(eNOS) . GSP and metformin could significantly improve the above indicators. **Conclusion** GSP has protective effect on heart injury in diabetic mice , and its mechanism may be related to anti-oxidant stress and improvement of endothelial dysfunction.

Key words diabetes; grape seed proanthocyanidins; heart injury; oxidative stress; endothelial dysfunction