

左归降糖舒心方通过调控 AMPK/FoxO1/CD36 信号通路 改善 MKR 小鼠糖尿病心肌病脂质沉积

刘秀, 王菊平, 黄家望, 邹俊驹, 向琴, 俞赞丰, 喻嵘*
(湖南中医药大学, 长沙 410208)

[摘要] **目的:**探讨左归降糖舒心方对 MKR 小鼠糖尿病心肌病糖脂代谢紊乱的改善作用及相关机制,重点阐明其对腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)/叉头框蛋白 O1(FoxO1)/白细胞分化抗原 36 簇(CD36)信号通路及脂质沉积的调控作用。**方法:**选取 8 周龄 MKR 雄性小鼠 50 只,高脂饲料喂养 4 周后予以链脲佐菌素(STZ)腹腔注射联合持续高脂饲料喂养构建糖尿病心肌病(DCM)模型,随机分为模型组,左归降糖舒心方低、高剂量组(14.43、28.86 g·kg⁻¹),二甲双胍组(0.25 g·kg⁻¹),采用同龄 FVB 鼠作为正常组。各组分别给予同体积生理盐水及相应浓度的左归降糖舒心方灌胃给药,4 周后检测各组小鼠空腹血糖(FBG)及心功能,麻醉后眼球取血检测空腹胰岛素(FINS)、血脂水平,苏木素-伊红(HE)染色观察心肌组织形态,油红 O 染色观察心脏脂质沉积情况;实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测心肌组织 AMPK、FoxO1、CD36 mRNA 表达;蛋白免疫印迹法(Western blot)检测 AMPK、磷酸化(p)-AMPK、FoxO1、p-FoxO1、CD36 蛋白的表达水平。**结果:**与空白组比较,模型组小鼠 FBG、FINS 水平均显著升高($P<0.01$);甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平升高($P<0.01$);心功能射血分数(EF)值及缩短分数(FS)值显著下降($P<0.01$);HE 染色可见心肌组织心肌细胞明显肥大散乱、间隙增宽;油红 O 染色可见小鼠心肌组织广泛红色沉积区域,并可见细小脂滴聚集;AMPK 的 mRNA 表达含量降低,FoxO1、CD36 的 mRNA 表达显著升高($P<0.01$);心肌组织 p-AMPK/AMPK 表达明显降低,p-FoxO1/FoxO1 及 CD36 蛋白表达水平显著升高($P<0.01$)。与模型组比较,各用药组 FBG 显著降低($P<0.01$),FINS、血脂水平(TG、TC、LDL-C)均明显下降($P<0.05$, $P<0.01$),心功能好转($P<0.05$, $P<0.01$);心肌组织病理形态及脂质沉积情况明显改善;AMPK mRNA 表达含量均显著升高($P<0.01$),FoxO1、CD36 mRNA 表达则显著下调($P<0.01$);小鼠心肌组织 p-AMPK/AMPK 蛋白表达水平均明显升高($P<0.05$),p-FoxO1/FoxO1 均有显著下降($P<0.01$),CD36 蛋白表达水平均下调($P<0.05$, $P<0.01$)。**结论:**左归降糖舒心方对 MKR 小鼠 2 型 DCM 心脏具有保护作用,其机制可能与调控 AMPK/FoxO1/CD36 信号通路相关。

[关键词] 左归降糖舒心方;糖尿病心肌病;MKR 小鼠;腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)/叉头框蛋白 O1(FoxO1)/白细胞分化抗原 36 簇(CD36)信号通路

[中图分类号] R289;R259;R285 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2026)10-0134-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20252506

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.r.20251229.1416.004>

[网络出版日期] 2025-12-30 10:27:45



Zuogui Jiangtang Shuxin Prescription Ameliorates Lipid Deposition in Diabetic Cardiomyopathy of MKR Mice by Regulating AMPK/FoxO1/CD36 Signaling Pathway

LIU Xiu, WANG Juping, HUANG Jiawang, ZOU Junju, XIANG Qin, YU Yunfeng, YU Rong*
(Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the ameliorative effects and related mechanisms of the Zuogui Jiangtang Shuxin prescription (ZJSP) on glucose and lipid metabolism disorders in MKR mice with diabetic cardiomyopathy (DCM), with a focus

[收稿日期] 2025-09-20

[基金项目] 国家自然科学基金区域联合项目(U21A20411);湖南省自然科学基金创新研究群体项目(2024JJ1007);湖南省卫生健康委科研课题(20258052);湖南中医药大学学科建设“揭榜挂帅”项目(22JBZ002);湖南中医药大学“刘良院士工作站”指导项目(24YS003)

[第一作者] 刘秀,硕士,实验师,从事中医药防治内分泌疾病研究,E-mail:408774592@qq.com

[通信作者] *喻嵘,博士,教授,博士生导师,从事中医药防治内分泌疾病研究,E-mail:yuron@21cn.com

on elucidating its regulatory role on the adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK)/forkhead box protein O1 (FoxO1)/cluster of differentiation 36 (CD36) signaling pathway and lipid deposition. **Methods:** Fifty 8-week-old male MKR mice were fed a high-fat diet for four weeks and then intraperitoneally injected with streptozotocin (STZ) while maintaining a high-fat diet to establish a DCM model. The mice were randomly divided into the model group, the low-dose ($14.43 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) and high-dose ($28.86 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) ZJSP groups, and the metformin group ($0.25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), with age-matched FVB mice as a normal control group. Each group received intragastric administration of normal saline or corresponding concentrations of ZJSP at equal volumes. After four weeks, fasting blood glucose (FBG) and cardiac function were measured. Blood was collected from the eyeballs under anesthesia to detect fasting insulin (FINS) and blood lipid levels. Myocardial tissue morphology was observed by hematoxylin-eosin (HE) staining, and lipid deposition in the heart was assessed using oil red O staining. Real-time quantitative polymerase chain reaction (Real-time PCR) was used to measure the mRNA expression levels of AMPK, FoxO1, and CD36 in myocardial tissues. Western blot was employed to detect the protein expression levels of AMPK, p-AMPK, FoxO1, p-FoxO1, and CD36. **Results:** Compared with the control group, the model group showed significantly increased levels of FBG and FINS ($P < 0.01$), elevated levels of triglycerides (TG), total cholesterol (TC), and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) ($P < 0.01$), and significantly decreased left ventricular ejection fraction (EF) and fractional shortening (FS) values ($P < 0.01$). HE staining revealed marked cardiomyocyte hypertrophy, disarray, and widened intercellular spaces in myocardial tissues. Oil Red O staining showed extensive red deposition areas and fine lipid droplet accumulation in the myocardial tissue. AMPK mRNA expression was decreased, while FoxO1 and CD36 mRNA expressions were significantly increased ($P < 0.01$). The p-AMPK/AMPK protein expression ratio in myocardial tissues was significantly reduced, while the p-FoxO1/FoxO1 protein expression ratio and CD36 protein expression levels were significantly increased ($P < 0.01$). Compared with the model group, all treatment groups exhibited significantly reduced FBG ($P < 0.01$), decreased FINS and blood lipid levels (TG, TC, LDL-C) ($P < 0.05$, $P < 0.01$), improved cardiac function ($P < 0.05$), noticeable amelioration of myocardial histopathological morphology and lipid deposition, increased AMPK mRNA expression ($P < 0.01$), with significantly downregulated FoxO1 and CD36 mRNA expressions ($P < 0.01$), elevated p-AMPK/AMPK protein expression levels in myocardial tissue ($P < 0.05$), significantly decreased p-FoxO1/FoxO1 ratios ($P < 0.01$), and downregulated CD36 protein expression levels ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** ZJSP exerts a protective effect on the heart in type 2 DCM of MKR mice, and its mechanism may be associated with the regulation of the AMPK/FoxO1/CD36 signaling pathway.

[Keywords] Zuogui Jiangtang Shuxin prescription; diabetic cardiomyopathy; MKR mice; adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK)/forkhead box protein O1 (FoxO1)/cluster of differentiation 36 (CD36) signaling pathway

糖尿病心肌病(DCM)是糖尿病严重的并发症之一,在2025年欧洲心脏病学会(ESC)临床共识声明中被定义为在糖尿病存在的情况下,出现收缩性和/或舒张性心肌功能障碍的疾病。糖尿病很少是导致心肌功能障碍的唯一原因,通常与肥胖、动脉高血压、慢性肾脏病和/或冠状动脉疾病共同作用,引起叠加性的心肌损伤^[1]。该病起病隐匿,病理机制复杂,广泛涵盖全身性因素,包括高血糖、胰岛素抵抗、脂代谢紊乱、晚期糖基化终末产物(AGEs)过量产生、肾素-血管紧张素-醛固酮系统的激活及自主神经调节失调^[2]。其中,脂代谢紊乱所致的脂毒性是DCM发生发展的核心机制之一^[3]。脂代谢紊乱-脂质沉积引起的心肌细胞脂毒性可以通过影响胰岛素信号转导、心肌炎症、促进活性氧及线粒体功能障碍等多种途径,可能是DCM发生的基础和关键^[3]。

DCM一般归属于中医学“消渴心病”“消渴心痛”“胸痹心痛”等范畴^[4]。课题组认为“虚、毒、瘀”是为DCM的关键病机,采用以“滋阴益气、活血解毒”立法左归降糖舒心方防治DCM取得显著疗效^[5-6]。左归降糖舒心方由明代医家张景岳创立的

左归丸加减化裁而来,全方由人参、黄芪、生地黄、葛根、山茱萸、丹参、黄连、麦冬、山楂9味药组成,诸药相合,扶正固本,兼祛邪毒,共奏滋阴益气、活血解毒之功。课题组前期研究表明,左归降糖舒心方对DCM有降糖、改善心肌损伤的作用,可下调细胞炎症因子表达、抗心肌细胞凋亡、抑制心肌纤维化^[7-10],但其具体机制尚不明确。本研究将从腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)/叉头框蛋白O1(FoxO1)/白细胞分化抗原36簇(CD36)信号通路出发,通过动物实验研究左归降糖舒心方对MKR小鼠DCM脂质沉积的作用。

1 材料

1.1 动物 MKR转基因2型糖尿病雄性小鼠50只,8周龄,体质量18~22 g,由美国国立卫生研究院糖尿病研究中心LeRoith D提供,在湖南中医药大学第一附属医院实验动物中心饲养,许可证号SYXK(湘)2019-0009,经配种繁殖后用于课题组相关实验研究。FVB鼠8只,8周龄,体质量18~22 g,购自北京华阜生物科技股份有限公司,合格证号SCXK(京)2019-0008,与MKR鼠源自同一遗传背景。以上动物均饲养于湖南中医药大学第一附属

医院实验动物中心,保证动物自由饮水及摄食,温度(22 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,湿度50%~60%。

1.2 伦理 动物实验方案经湖南中医药大学第一附属医院动物伦理委员会批准,伦理审批编号ZYFY20201229。

1.3 药物 左归降糖舒心方:人参(湖南省弘华中药饮片有限公司,产地甘肃,批号TH22050902)18 g、山茱萸(湖南省弘华中药饮片有限公司,产地浙江,批号CK22053106)12 g、丹参(湖南省弘华中药饮片有限公司,产地山东,批号NG22051302)9 g、黄芪(湖南春可回中药饮片有限公司,产地甘肃,批号HH22052405)18 g、葛根(湖南春可回中药饮片有限公司,产地湖南,批号CK22052402)12 g、麦冬(湖南三湘中药饮片有限公司,产地四川,批号HQ22042901)12 g、生地黄(湖南三湘中药饮片有限公司,产地河南,批号HH22053001)15 g、黄连(湖南三湘中药饮片有限公司,产地四川,批号CK22050904)6 g、山楂(亳州市沪谯药业有限公司,产地山东,批号2204190032)9 g。本研究使用的中药饮片购自湖南中医药大学第一附属医院中药房,并经吴勇军副教授鉴定。药液制备方法如下:饮片加8倍量蒸馏水浸泡后,煎煮0.5 h,收集滤液;药渣再加6倍量蒸馏水,继续煎煮0.5 h,合并2次煎煮所得药液,过滤后置于恒温水浴中浓缩,制成质量浓度为 $2\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (以生药计)的药液,经灭菌后置于 4°C 冰箱内保存备用。盐酸二甲双胍片:规格 $0.5\text{ g}\times 20$ 片,中美上海施贵宝制药有限公司,国药准字H20023370。

1.4 试剂 苏木素-伊红(HE)染色试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,货号G1120);油红O染色试剂盒(江苏维尔生物科技有限公司,货号G1261);链脲佐菌素(STZ,美国Sigma公司,货号S0130);甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号分别为A110-1-1、A111-1-1、A113-1-1);空腹胰岛素(FINS)试剂盒(武汉华美生物有限公司,批号CSB-E05071);AMPK、磷酸化(p)-AMPK、FoxO1、p-FoxO1、CD36、 β -肌动蛋白(β -actin)、辣根过氧化物酶(HRP)-山羊抗兔免疫球蛋白G(IgG)(H+L)(武汉爱博泰克生物科技有限公司,批号分别为A7339、AP1345、A2934、AP0892、A19016、AC038、AS014);动物组织总RNA提取试剂盒、逆转录聚合酶链式反应(RT-PCR) EasyTM、实时荧光定量PCR(Real-time PCR) EasyTM-SYBR Green I(成都福际生物技术

有限公司,批号分别为RE-03011、RT-02021、QP-01014)。

1.5 仪器 GA-3型血糖仪(三诺生物传感股份有限公司);H1650R型台式高速冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司);MB-530型多功能酶标分析仪、PW-812型全自动酶标洗板机(深圳市汇松科技发展有限公司);752型紫外可见分光光度计(广东天普生化医药股份有限公司);FSH-2型恒温水浴锅(深圳市新瑞科技有限公司);PSZ-3550型冷冻切片仪(沈阳派诗哲医疗器械有限公司);BA210T型显微镜(麦克奥迪实业集团有限公司);DYY-6C型电泳仪、DYCZ-40D型转膜仪(北京六一生物科技有限公司);CFX96型PCR仪(美国Bio-Rad公司)。

2 方法

2.1 造模及分组 依据文献及课题组前期研究建立DCM模型^[7-8,11],选取50只8周龄雄性MKR小鼠,先以高脂饲料适应性喂养4周,随后连续5 d腹腔注射STZ。STZ溶液以 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 柠檬酸钠缓冲液(pH 4.5)配制,浓度为1%,按 $40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 的剂量注射。注射时注意避光、低温操作,动作轻柔以避免损伤小鼠内脏。STZ注射结束3 d后,连续3次测定下午空腹血糖均 $\geq 11.1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,并经超声心动图检测心功能减退者,判定为DCM造模成功。共成功造模32只,随机分为4组(每组 $n=8$):模型组,二甲双胍(Met)组,左归降糖舒心方高剂量组(ZG-H)、左归降糖舒心方低剂量组(ZG-L)。另设8只同龄FVB小鼠作为正常组。

2.2 药物干预 ZG-L组左归降糖舒心方灌胃剂量为 $14.43\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$,ZG-H组为 $28.86\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$;Met组灌胃剂量为 $0.25\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$;正常组及模型组予以等体积蒸馏水;均1次/d,连续干预4周。

2.3 动物取材 药物干预4周后,各组小鼠禁食不禁水过夜,予以异氟烷吸入麻醉,固定后行超声心动图检查。采用眼球取血法采集血样,室温下静置2 h后离心 10 min (4°C , $3\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,离心半径16.2 cm,下同),分离血清,于 -80°C 冰箱中保存。收集血样后迅速取出心脏切取心肌组织,多聚甲醛固定完毕后,于 4°C 冰箱保存。

2.4 指标检测

2.4.1 空腹血糖检测 药物干预前1 d及干预4周后,各组小鼠禁食8 h,用血糖仪分别进行尾尖采血检测空腹血糖。

2.4.2 血脂、胰岛素的检测 采用全自动生化分析

仪进行检测 TC、TG、LDL-C, ELISA 试剂盒检测空腹胰岛素(FINS)。

2.4.3 HE、油红O染色 取材后,将心脏称质量,将心脏组织置于4%多聚甲醛溶液中固定,经石蜡包埋后切片,HE、油红O染色,于显微镜下观察、拍照。

2.4.4 Real-time PCR 检测心肌组织 AMPK、FoxO1、CD36 的 mRNA 表达量 RNA提取:①取适量的组织块研磨,浓度及纯度检测,逆转录合成 cDNA,配置 PCR 反应体系,进行 Real-time PCR 检测。反应条件:95℃预变性 30 s;PCR 反应:95℃变性 5 s,60℃退火/延伸 30 s(循环 40 次)引物序列见表 1[于美国国家生物技术信息中心(NCBI)上检索目的基因序列,运用 primer5 软件设计引物,由生工生物工程(上海)股份有限公司合成引物]。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

引物	序列(5'-3')	长度/bp
AMPK	上游 CACTGGATGCACTCAACACAAC	122
	下游 TCACTACCTTCCATTCAAAGTCC	
FoxO1	上游 TTTCGTCCTCGAACCAGCTC	119
	下游 TACACCAGGGAATGCACGTC	
CD36	上游 CAAAACCCAGATGACGTGGC	130
	下游 TTCCTCGGGTCTGAGTTAT	
β -actin	上游 CCACCATGTACCCAGGCATT	146
	下游 CAGCTCAGTAACAGTCCGCC	

2.4.5 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测心肌组织 AMPK、p-AMPK、FoxO1、p-FoxO1、CD36 蛋白表达水平 剪取心脏组织 0.025 g,用冰预冷磷酸盐缓冲液(PBS)洗组织,加入放射免疫沉淀法(RIPA)裂解液,研磨组织块。冰上裂解 10 min 后离心(4℃,12 000 r·min⁻¹,15 min),提取总蛋白,蛋白定量法(BCA)定量,经电泳、转膜、封闭处理后,加入 AMPK、p-AMPK、CD36、FoxO1(1:1 000),p-FoxO1(1:500), β -actin(1:10 000)一抗 4℃过夜孵育,洗膜,二抗(1:10 000)37℃孵育 1 h,增强化学发光法(ECL)化学发光液显影成像,Image J 对条带灰度值量化分析,计算各蛋白的相对表达量。

2.5 统计学方法 采用 SPSS 25.0 软件处理得到的实验数据,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多样本计量资料满足正态性及方差齐性则选用单因素方差分析,用最小显著性差异法(LSD)检验进行组间比较;不满足方差齐性采用 Dunnett-T3 检验;不满足正态性时,采用非参数检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 左归降糖舒心方对各组小鼠空腹血糖的影响 造模后给药前,与正常组比较,各造模组小鼠空腹血糖水平均有显著升高($P < 0.01$),各造模组之间血糖水平差异无统计学意义。药物干预 4 周后,与模型组比较,ZG-H、ZG-L 组小鼠空腹血糖显著下降($P < 0.01$)。见表 2。

表 2 左归降糖舒心方对各组小鼠空腹血糖的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 2 Effect of Zuogui Jiangtang Shuxin prescription (ZJSP) on fasting blood glucose in each group of mice ($\bar{x} \pm s, n=8$) mmol·L⁻¹

组别	剂量/g·kg ⁻¹	给药前 1 d	给药 4 周后
正常组		4.83±1.03	4.90±0.94
模型组		15.99±1.41 ²⁾	16.11±1.75 ²⁾
ZG-H 组	28.86	16.01±1.43 ²⁾	9.86±1.21 ^{2,4)}
ZG-L 组	14.43	16.03±1.50 ²⁾	12.21±1.67 ^{2,4)}
Met 组	0.25	15.93±1.29 ²⁾	9.33±1.24 ^{2,4)}

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ (表 3-表 7 同)

3.2 左归降糖舒心方对各组小鼠 FINS 水平的影响 与正常组比较,模型组 FINS 水平显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,用药组 FINS 水平均明显下降($P < 0.05, P < 0.01$),用药组组间比较差异无统计学意义。见表 3。

表 3 左归降糖舒心方对各组小鼠 FINS 水平的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 3 Effect of ZJSP on FINS in each group of mice ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	FINS/mU·L ⁻¹
正常组		33.99±0.95
模型组		41.74±2.84 ²⁾
ZG-H 组	28.86	36.96±1.34 ⁴⁾
ZG-L 组	14.43	37.29±2.58 ⁴⁾
Met 组	0.25	38.99±2.90 ³⁾

3.3 左归降糖舒心方对各组小鼠 TG、TC、LDL-C 水平的影响 与正常组比较,模型组 TG、TC、LDL-C 水平显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,ZG-H、ZG-L 组 TG、TC、LDL-C 水平明显下降($P < 0.05, P < 0.01$),Met 组 TG、TC 水平明显下降($P < 0.05, P < 0.01$),且 ZG-H 组效果更为显著。见表 4。

3.4 左归降糖舒心方对各组小鼠心室射血分数(EF)与短缩分数(FS)的影响 药物干预 4 周后行超声心动图评估小鼠心功能,EF 与 FS,结果显示,与正常组比较,模型小鼠 EF 值及 FS 值显著下降($P < 0.01$);与模型组比较,ZG-H、ZG-L 组和 Met 组

表4 左归降糖舒心方对各组小鼠TG、TC、LDL-C水平的影响
($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 4 Effect of ZJSP on TG, TC, LDL-C in each group of mice ($\bar{x} \pm s, n=8$)				
组别	剂量/g·kg ⁻¹	TG	TC	LDL-C
正常组		1.39±0.11	3.72±0.32	1.38±0.18
模型组		2.03±0.15 ²⁾	5.98±0.32 ²⁾	1.83±0.15 ²⁾
ZG-H组	28.86	1.45±0.16 ⁴⁾	4.86±0.42 ⁴⁾	1.53±0.18 ⁴⁾
ZG-L组	14.43	1.70±0.27 ⁴⁾	5.16±0.57 ⁴⁾	1.55±0.15 ³⁾
Met组	0.25	1.82±0.16 ³⁾	4.56±0.59 ⁴⁾	1.75±0.25

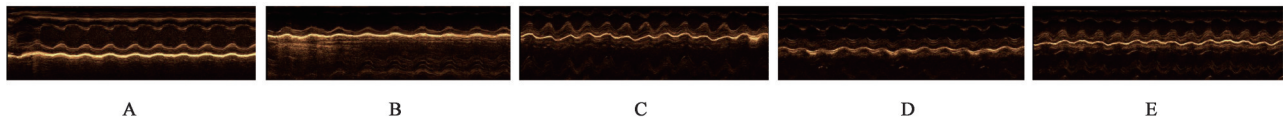
的EF值和FS值明显升高($P<0.05, P<0.01$)。见表5、图1。

3.5 左归降糖舒心方对各组小鼠心肌组织形态影响
正常组小鼠心肌细胞完整,染色均匀,形态结

表5 左归降糖舒心方对各组小鼠EF与FS的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)
Table 5 Effect of ZJSP on EF, FS in each group of mice ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	EF	FS
正常组		85.69±0.98	48.86±1.12
模型组		55.18±11.32 ²⁾	24.66±6.37 ²⁾
ZG-H组	28.86	77.64±6.13 ⁴⁾	40.67±5.53 ⁴⁾
ZG-L组	14.43	71.51±7.68 ³⁾	35.57±5.94 ³⁾
Met组	0.25	78.68±6.13 ⁴⁾	41.61±5.19 ⁴⁾

构良好;与正常组比较,模型组小鼠心肌细胞可见明显肥大散乱、炎性细胞浸润并伴空泡样变性,可观察到部分胞核消失;与模型组比较,各用药组小鼠心肌细胞肥大、散乱状态、炎性细胞浸润有不同程度的减轻。见图2。



注:A. 正常组;B. 模型组;C. ZG-H组;D. ZG-L组;E. Met组(图2-图4同)

图1 左归降糖舒心方对各组小鼠超声心动图的影响

Fig. 1 Effect of ZJSP on echocardiogram in each group of mice

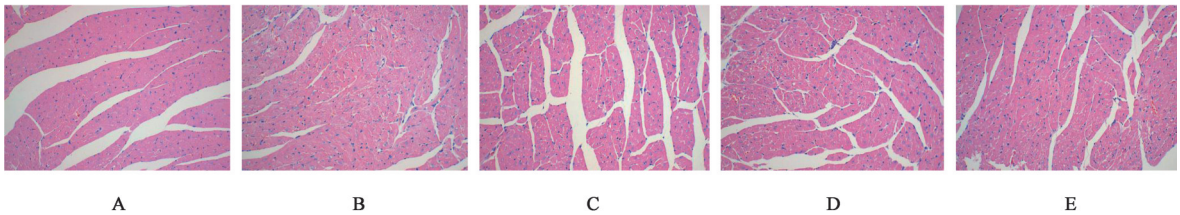


图2 左归降糖舒心方对各组小鼠心肌组织形态影响(HE, ×200)

Fig. 2 Effect of ZJSP on myocardial tissue morphology in each group of mice (HE, ×200)

3.6 左归降糖舒心方对各组小鼠心肌组织脂质沉积的影响
经油红O染色后,各组小鼠心肌组织中脂质蓄积区域被染成红色,细胞核呈蓝色。结果显示,与正常组比较,模型组小鼠心肌细胞可见广泛红色沉积区域,并可见细小脂滴聚集;与模型组比

较,各用药组小鼠的心肌细胞红色沉积均不同程度减轻,脂滴聚集明显减少,其中左归降糖舒心方高剂量组及二甲双胍治疗组油红O着色显著减弱,表明左归降糖舒心方及二甲双胍对心肌脂质沉积有改善作用。见图3。

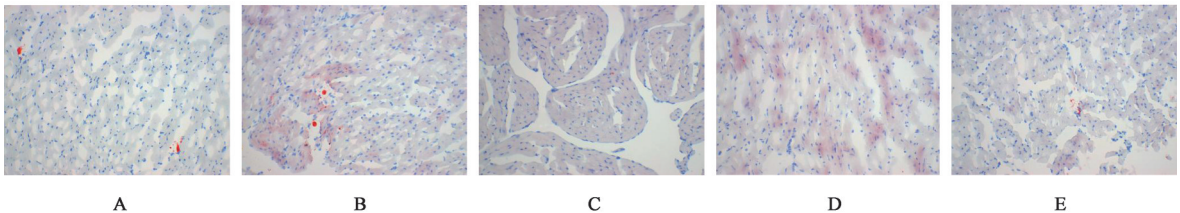


图3 左归降糖舒心方对各组小鼠心肌组织脂质沉积的影响(油红O, ×200)

Fig. 3 Effect of ZJSP on lipid deposition in myocardial tissue in each group of mice (oil red O, ×200)

3.7 左归降糖舒心方对各组小鼠AMPK、FoxO1、CD36 mRNA表达的影响
与正常组比较,模型组AMPK mRNA表达显著降低($P<0.01$), FoxO1、

CD36 mRNA表达显著升高($P<0.01$);与模型组比较,各用药组AMPK mRNA表达均显著升高($P<0.01$), FoxO1、CD36 mRNA含量均显著下降

($P<0.01$)。见表6。

表6 左归降糖舒心方对各组小鼠 AMPK、FoxO1、CD36 mRNA 表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 6 Effect of ZJSP on AMPK, FoxO1, CD36 mRNA in each group of mice ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	AMPK	FoxO1	CD36
正常组		1.07±0.10	0.98±0.31	1.13±0.20
模型组		0.47±0.06 ²⁾	2.17±0.29 ²⁾	2.54±0.32 ²⁾
ZG-H组	28.86	0.99±0.14 ⁴⁾	1.20±0.13 ⁴⁾	1.85±0.09 ⁴⁾
ZG-L组	14.43	0.75±0.14 ⁴⁾	1.17±0.24 ⁴⁾	1.68±0.44 ⁴⁾
Met组	0.25	0.94±0.10 ⁴⁾	1.00±0.20 ⁴⁾	1.65±0.42 ⁴⁾

3.8 左归降糖舒心方对各组小鼠 p-AMPK/AMPK、p-FoxO1/FoxO1、CD36 蛋白相对表达的影响 与正常组比较,模型组小鼠心肌组织 p-AMPK/AMPK 表达显著降低($P<0.01$),p-FoxO1/FoxO1 及 CD36 表达水平显著升高($P<0.01$);与模型组比较,各用药组小鼠心肌组织 p-AMPK/AMPK 表达活性明显升高($P<0.05, P<0.01$),p-FoxO1/FoxO1、CD36 蛋白表达水平明显下降($P<0.05, P<0.01$)。见图4、表7。

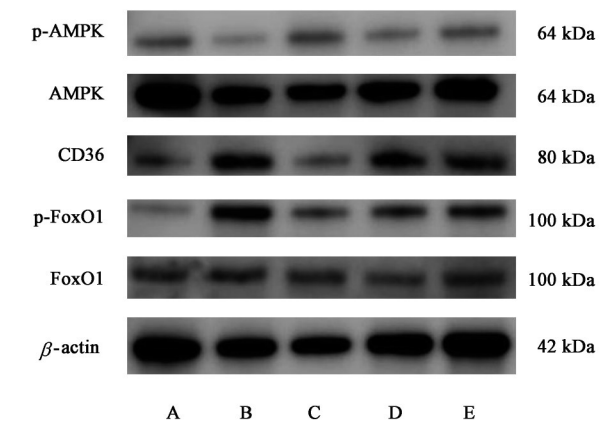


图4 各组小鼠 AMPK、p-AMPK、FoxO1、p-FoxO1、CD36 蛋白表达电泳

Fig. 4 Electrophoresis of AMPK, p-AMPK, FoxO1, p-FoxO1, CD36 protein expression in each group of mice

4 讨论

DCM是在糖尿病存在的情况下,出现收缩性或舒张性心肌功能障碍的疾病^[1],可诱发心力衰竭、心律失常、心源性休克和猝死,已成为糖尿病患者的主要致死病因之一^[12-14]。尽管近几十年来DCM已受到广泛研究,但其发病机制复杂,涉及高血糖、胰岛素抵抗、氧化应激、内质网应激、炎症反应、脂质沉积及AGEs水平升高等多方面因素^[15-16],目前对其认识仍不充分。现阶段DCM的临床治疗主要着眼于纠正糖脂代谢紊乱、保护心肌细胞及预防心力

表7 左归降糖舒心方对各组小鼠 p-AMPK/AMPK、p-FoxO1/FoxO1、CD36 蛋白相对表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 7 Effect of ZJSP on relative expression levels of AMPK, p-AMPK, FoxO1, p-FoxO1, CD36 in each group of mice ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	p-AMPK/AMPK	p-FoxO1/FoxO1	CD36/β-actin
正常组		1.11±0.12	0.54±0.06	0.21±0.04
模型组		0.33±0.05 ²⁾	1.60±0.24 ²⁾	1.04±0.04 ²⁾
ZG-H组	28.86	1.00±0.11 ⁴⁾	0.73±0.08 ⁴⁾	0.64±0.12 ⁴⁾
ZG-L组	14.43	0.85±0.05 ⁴⁾	0.84±0.42 ⁴⁾	0.88±0.14 ³⁾
Met组	0.25	2.45±0.82 ³⁾	0.81±0.20 ⁴⁾	0.66±0.07 ⁴⁾

衰竭,然而尚无针对该病的特异性靶向治疗方案,因此DCM所致心力衰竭的发病率和死亡率依然居高不下^[17]。中医药在防治糖尿病及其并发症特别是DCM方面积累了丰富的临床经验,并表现出较高安全性和较低毒副作用的优势。

导师课题组认为虚、毒、瘀是DCM病机的重要特点。清代张锡纯在《医学衷中参西录》中指出:“消渴一证,皆起于中焦而及于上下”,其病机为“元气不升,大气下陷,脾不散精”。金元时期李杲于《脾胃论·脾胃盛衰论》中强调:“百病皆由脾胃衰而生”,脾虚则气血生化不足,正气亏虚,易致疾病。脾气健旺则心气充;若脾运失职,散精功能受阻,饮食精微不归正化,反成糖毒、脂毒、蛋白毒等浊秽之物蓄积血中,正如《诸病源候论·鬼丹火候》所言:“正谷不化反浊秽为毒”,从而导致血糖升高。在糖尿病迁延至DCM及其演变过程中,脾虚渐重,浊毒蓄积不去,持续侵蚀心络。病程日久,浊毒内蕴,壅滞成瘀,毒与瘀作为病理产物进一步损伤心体心络,致使心主血脉功能障碍。心气本虚,加之络脉瘀阻,气血耗伤,促使“蓄其毒邪,浸渍脏腑”,不断侵蚀脏腑脉络,因而病势深重,缠绵难愈。因此治疗当以滋阴益气、活血解毒为法则。方药左归降糖舒心方由人参、黄芪、麦冬、生地黄、葛根、山茱萸、黄连、丹参等药物组成,其中人参、黄芪为君,益气健脾,助脾气升清散精;生地黄、葛根为臣,养阴升清,辅君药输布津液;麦冬、山茱萸、黄连、丹参、山楂为佐,共奏养阴清热、活血解毒、化浊通络之效,全方扶正祛邪,共成滋阴益气、活血解毒之功。现代药理学证明,丹参能有效改善脂质代谢,减轻心肌细胞氧化应激后损伤等,发挥心肌保护作用^[18];黄芪配伍丹参可有效改善微循环、缓解血管损伤,并能减少心肌细胞凋亡^[19];麦冬提取物可有效对抗心肌缺血,改善微循环,改善心肌超微结构异常,且

能降低血糖^[20]。人参中的重要活性成分人参皂苷Rg₃可降低TG及LDL水平,缩小血管内斑块,改善心室重构^[21];山茱萸多糖能改善心脏EF及心室FS、改善心功能,且能抗氧化、抗衰老^[22];生地黄中所含的地黄多糖可降低血糖、INS及血脂水平,改善葡萄糖耐量^[23];黄连所含的黄连素、小檗碱等活性成分可改善心肌结构及心肌纤维化,增加心肌收缩力、缓解心力衰竭^[24]。以上表明,左归降糖舒心方可降血糖、抗脂质过氧化、减轻炎症反应、抑制心肌细胞凋亡,从而防治DCM。

本研究通过建立DCM小鼠模型,深入探讨中药复方左归降糖舒心方改善DCM的作用机制,以期为该方在临床防治DCM中的应用提供实验依据。研究表明,DCM除表现为典型的高血糖和高胰岛素血症外^[25],还可出现心功能异常。本研究证实,左归降糖舒心方干预4周后不仅可降低DCM模型小鼠的空腹血糖和FINS水平,还能改善其心功能,提高左心室EF和左室FS,同时HE染色结果显示该方能减轻DCM小鼠心肌细胞的病理损伤,表明左归降糖舒心方在调控血糖、FINS、心功能及心肌组织病理方面具有良好疗效。大量研究显示,TG升高常与高胆固醇和高LDL水平并存,而高TG可促进糖尿病的发生与发展^[26]。当疾病进展至DCM时,主要特征为心肌细胞脂代谢异常引起的脂质摄取增多和脂质沉积。持续脂质沉积可引发脂毒性,成为DCM患者能量代谢障碍的主要原因之一,最终导致心肌重构和心功能不全^[27-28]。而在DCM脂毒性进程中,AMPK/FoxO1/CD36信号通路起关键调控作用^[29]。AMPK是一种核心的能量感受信号分子,在高糖状态下,其活化不仅能参与降糖、促脂解与抑脂合成以调节能量代谢,还可通过负向调控氧化应激、炎症、细胞凋亡与铁死亡,并参与自噬调节,从而发挥减轻心肌损伤的作用^[30]。研究显示,骨骼肌中AMPK的激活可改善机体胰岛素抵抗^[31];AMPK亦可调节大鼠心肌细胞中的蛋白水解过程^[32]。FoxO1涉及细胞能量代谢的许多通路,是导致胰岛素抵抗糖脂代谢通路异常至关重要的因素^[33];研究发现高脂饮食诱导的糖尿病小鼠心脏组织中FoxO1存在过度表达,FoxO1的过度活化可降低血清游离脂肪酸代谢酶活性,诱导脂肪在细胞积累,细胞中FoxO1的缺失在其代谢底物的使用上显示了从脂肪酸到葡萄糖的转变,减少了心脏中脂质积累^[34],FoxO1在DCM心脏中过表达,可促进脂肪酸进入心肌细胞^[35];而CD36抑制剂(磺基-N-琥珀

酰亚胺基-油酸酯)可消除FoxO1对脂肪酸摄取利用的增强作用,表明CD36是FoxO1调节脂肪酸代谢的主要下游介质,且有实验证实FoxO1可通过上调脂肪酸转运蛋白CD36的表达来进一步增加心肌对长链脂肪酸等脂质的摄取,引起细胞的凋亡及心脏功能受损,加剧心脏脂质紊乱^[36];说明AMPK/FoxO1/CD36介导了脂质过剩环境下的心肌细胞的脂质沉积,因此被认为是代谢干预的重要靶点。本研究发现,DCM模型小鼠的TG、TC和LDL-C水平均较正常小鼠显著升高,组织病理学显示心肌细胞内存在脂滴积聚,且AMPK的mRNA、蛋白表达及磷酸化水平均显著降低,FoxO1、CD36的mRNA与蛋白表达及FoxO1磷酸化水平则显著上升。经左归降糖舒心方治疗后,DCM小鼠血清中TG、TC和LDL-C水平明显改善,心脏组织中脂滴积聚减少,同时AMPK、FoxO1和CD36的mRNA及蛋白表达得以逆转,提示左归降糖舒心方在防治DCM中可能通过调控AMPK-FoxO1-CD36信号轴发挥重要作用。

综上所述,左归降糖舒心方能有效改善DCM小鼠的心功能并改善心肌损伤,其作用机制可能与调控AMPK-FoxO1-CD36信号轴、抑制心脏脂质沉积有关。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] SEFEROVIĆ P M, PAULUS W J, ROSANO G, et al. Diabetic myocardial disorder. A clinical consensus statement of the heart failure association of the ESC and the ESC working group on myocardial & pericardial diseases[J]. Eur J Heart Fail, 2024, 26(9): 1893-1903.
- [2] QUAIYOOM A, KUMAR R. An overview of diabetic cardiomyopathy [J]. Curr Diabetes Rev, 2024, 20(5): e121023222139.
- [3] 宋小刚,陈子仪,马霞,等. 脂毒性在糖尿病心脏病发病中作用的研究进展[J]. 中国病理生理杂志, 2022, 38(11): 2106-2112.
SONG X G, CHEN Z Y, MA X, et al. Progress in role of lipotoxicity in pathogenesis of diabetic cardiomyopathy [J]. Chin J Pathophysiol, 2022, 38(11): 2106-2112.
- [4] 杨洛琦,谢连娣,周莉君. 从藏象理论探析糖尿病心脏病 [J]. 陕西中医, 2022, 43(10): 1423-1426.
YANG L Q, XIE L D, ZHOU L J. Treatment of the diabetic cardiomyopathy based on the Chinese medicine viscera manifestation theory [J]. Shaanxi J Tradit Chin Med, 2022, 43(10): 1423-1426.
- [5] 钱秋海,倪青,杨文军. 糖尿病心脏病病证结合诊疗指南

- (2021-12-31)[J]. 世界中医药, 2022, 17(12): 1641-1653.
- QIAN H Q, NI Q, YANG W J. Diabetes-induced cardiomyopathy diagnosis and treatment guidelines (2021-12-31)[J]. World Chin Med, 2022, 17(12): 1641-1653.
- [6] 苏丽清, 喻嵘, 吴勇军, 等. 糖尿病心肌病从“久病入络”论治探讨[J]. 湖南中医药大学学报, 2017, 37(8): 838-841.
- SU L Q, YU R, WU Y J, et al. Study on treatment of diabetic cardiomyopathy from theory of "persistent illness entering collaterals" [J]. J Hunan Univ Chin Med, 2017, 37(8): 838-841.
- [7] 黄娟, 王一阳, 肖凡, 等. 左归降糖舒心方调控TLR4/NF- κ B通路抑制糖尿病心肌病小鼠心肌纤维化的机制研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2024, 44(5): 729-736.
- HUANG J, WANG Y Y, XIAO F J, et al. Mechanism of Zuogui Jiangtang Shuxin formula in inhibiting myocardial fibrosis in mice with diabetic cardiomyopathy by regulating TLR4/NF- κ B pathway[J]. J Hunan Univ Chin Med, 2024, 44(5): 729-736.
- [8] 廖心悦, 向琴, 骏骏, 等. 左归降糖舒心方对糖尿病心肌病MKR鼠FoxO1/ β -MHC的影响[J]. 时珍国医国药, 2023, 34(6): 1302-1305.
- LIAO X Y, XIANG Q, ZOU J J, et al. The effect of Zuogui Jiangtang Shuxin formula on FoxO1/ β -MHC in MKR rats with diabetic cardiomyopathy[J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2023, 34(6): 1302-1305.
- [9] 田娜, 喻嵘, 张薇薇, 等. 左归降糖舒心方调控自噬对糖尿病转基因MKR鼠心肌损伤的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2023, 29(5): 747-752.
- TIAN N, YU R, ZHANG W W, et al. Effects of Zuogui Jiangtang Shuxin recipe on autophagy on myocardial injury in diabetes transgenic MKR mice[J]. J Basic Chin Med, 2023, 29(5): 747-752.
- [10] 苏丽清, 喻嵘, 吴勇军, 等. 左归降糖舒心方对糖尿病心肌病MKR鼠心肌细胞损伤和凋亡的影响[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2022, 24(2): 554-562.
- SU L Q, YU R, WU Y J, et al. The effect of the Zuogui Jiangtang Shuxin Formula on myocardial cell damage and apoptosis in MKR rats with diabetic cardiomyopathy[J]. Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol, 2022, 24(2): 554-562.
- [11] ZHANG G L, LIU Y, LIU Y F, et al. Teneligliptin mitigates diabetic cardiomyopathy by inhibiting activation of the NLRP3 inflammasome[J]. World J Diabetes, 2024, 15(4): 724-734.
- [12] ZHAO X, LIU S, WANG X, et al. Diabetic cardiomyopathy: Clinical phenotype and practice [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2022, 13: 1032268.
- [13] ZHANG X, YOU L Y, ZHANG Z Y, et al. Integrating pharmacological evaluation and computational identification for deciphering the action mechanism of Yunpi-Huoxue-Sanjie formula alleviates diabetic cardiomyopathy[J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 957829.
- [14] SONG K, LIANG D, XIAO D, et al. Role of bariatric surgery in improving diabetic cardiomyopathy: Molecular mechanisms and therapeutic perspectives (Review) [J]. Mol Med Rep, 2024, 30(5): 199.
- [15] AVAGIMYAN A, POPOV S, SHALNOVA S. The pathophysiological basis of diabetic cardiomyopathy development[J]. Curr Probl Cardiol, 2022, 47(9): 101156.
- [16] SONG Z, WANG J, ZHANG L. Ferroptosis: A new mechanism in diabetic cardiomyopathy [J]. Int J Med Sci, 2024, 21(4): 612-622.
- [17] SHOU Y, LI X, FANG Q, et al. Progress in the treatment of diabetic cardiomyopathy, a systematic review [J]. Pharmacol Res Perspect, 2024, 12(2): e1177.
- [18] 冯甜. 丹参-山楂药对治疗缺血性心脏病的药效物质基础研究[D]. 西安: 中国人民解放军空军军医大学, 2025.
- FENG T. Study on the pharmacodynamic material basis of Danshen-Hawthorn pair in the treatment of ischemic heart disease [D]. Xi'an: Air Force Military Medical University of the Chinese People's Liberation Army, 2025.
- [19] 郑文, 曹兰秀, 杜旭辉. 黄芪常用对药配伍机制研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2023, 25(10): 205-209.
- ZHENG W, CAO X L, DU X H, et al. Progress in the compatibility mechanism of Huangqi (Astragali Radix) [J]. J Liaoning Univ Tradit Chin Med, 2023, 25(10): 205-209.
- [20] 薛伟航, 徐婷莉, 王华雨, 等. 麦冬化学成分和药理作用研究进展及其质量标志物(Q-Marker)的预测分析[J]. 中华中医药学刊, 2026, doi: 21. 1546. r. 20250522. 1417. 042.
- XUE W H, XU T L, WANG H Y, et al. Research progress of chemical composition, pharmacological action and predictive analysis of quality markers of *Ophiopogon japonicus* [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2026, doi: 21. 1546. r. 20250522. 1417. 042.
- [21] 刘倩倩, 樊官伟. 人参皂苷Rg₃现代药理作用及作用机制的研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2022, 20(13): 2375-2381.
- LIU Q Q, FAN G W. Research progress on the modern pharmacological effects and mechanism of ginsenoside Rg₃ [J]. Chin J Integr Med Cardio Cerebrovasc Dis, 2022, 20(13): 2375-2381.
- [22] 张立攀, 王俊朋, 李冰, 等. 山茱萸多糖的分离纯化、结构表征及体外降糖活性研究[J]. 食品工业科技, 2026, 47(6): 60-70.
- ZHANG L P, WANG P J, LI B, et al. Isolation, purification, and in vitro hypoglycemic activity of polysaccharides from *Cornus officinalis* [J]. Sci Technol Food Ind, 2026, 47(6): 60-70.
- [23] 冯卫生. 地黄化学成分及药理作用研究进展[J]. 中医学报, 2025, 40(10): 2035-2055.
- FENG W S. Research progress on chemical composition and pharmacological effects of Dihuang (*Rehmannia glutinosa* Libosch.) [J]. Acta Chin Med, 2025, 40(10): 2035-2055.
- [24] 武鑫华, 荀思佳, 吴文轩, 等. 黄连的化学成分及药理作用研

- 究进展[J]. 中医药学报, 2024, 52(7):110-116.
- WU X H, XUN S J, WU W X, et al. Research progress on the chemical components and pharmacological effects of Huanglian [J]. Acta Chin Med Pharmacol, 2024, 52 (7) : 110-116.
- [25] STANTON A M, VADUGANATHAN M, CHANG L S, et al. Asymptomatic Diabetic Cardiomyopathy: An underrecognized entity in type 2 diabetes[J]. Curr Diab Rep, 2021, 21(10):41.
- [26] WANG Y, FANG Y, VRABLIK M. Homeostasis model assessment for insulin resistance mediates the positive association of triglycerides with diabetes [J]. Diagnostics (Basel), 2024, 14(7):733.
- [27] ZHENG D M, AN Z N, GE M H, et al. Medium & long-chain acylcarnitine's relation to lipid metabolism as potential predictors for diabetic cardiomyopathy: A metabolomic study [J]. Lipids Health Dis, 2021, 20(1):151.
- [28] XU Z, QIN Y, LV B, et al. Intermittent fasting improves high-fat diet-induced obesity cardiomyopathy via alleviating lipid deposition and apoptosis and decreasing m6A methylation in the heart[J]. Nutrients, 2022, 14(2):251.
- [29] CAI H, CHEN S, LIU J, et al. An attempt to reverse cardiac lipotoxicity by aerobic interval training in a high-fat diet- and streptozotocin-induced type 2 diabetes rat model[J]. Diabetol Metab Syndr, 2019, 11:43.
- [30] 廖方廉, 陈小凤, 向翰怡, 等. AMP活化的蛋白质激酶在糖尿病心脏病中的作用及其相关干预策略[J]. 生物化学与生物物理进展, 2025, 52(10):2550-2567.
- LIAO F J, CHEN X F, XIANG H Y, et al. Role of AMP-activated protein kinase in diabetic cardiomyopathy and its related intervention strategies [J]. Prog Biochem Biophys, 2025, 52(10):2550-2567.
- [31] GUO Y, XU N, MENG Q, et al. Mechanisms of *Inonotus obliquus* (Fr.) Pilát polysaccharides in ameliorating lipid-induced skeletal muscle insulin resistance via PI3K/Akt and AMPK/ACC1/CPT1 signaling pathways [J]. J Ethnopharmacol, 2025, 349:119938.
- [32] LIU J, SUN Q, SUN X, et al. Therapeutic effects of salvianolic acid B on angiotensin II -induced atrial fibrosis by regulating atrium metabolism via targeting AMPK/FoxO1/miR-148a-3p axis[J]. J Cardiovasc Transl Res, 2023, 16(2):341-357.
- [33] CHISTIakov D A, OREKHOV A N, BOBRYshev Y V. The impact of FOXO-1 to cardiac pathology in diabetes mellitus and diabetes-related metabolic abnormalities[J]. Int J Cardiol, 2017, 245:236-244.
- [34] WANG S, TIAN C, GAO Z, et al. Research status and trends of the diabetic cardiomyopathy in the past 10 years (2012-2021) : A bibliometric analysis [J]. Front Cardiovasc Med, 2022, 9:1018841.
- [35] PENG M, XIA T, ZHONG Y, et al. Integrative pharmacology reveals the mechanisms of Erzhi Pill, a traditional Chinese formulation, against diabetic cardiomyopathy [J]. J Ethnopharmacol, 2022, 296:115474.
- [36] PHAM T K, NGUYEN T, YI J M, et al. Evogliptin, a DPP-4 inhibitor, prevents diabetic cardiomyopathy by alleviating cardiac lipotoxicity in db/db mice[J]. Exp Mol Med, 2023, 55(4):767-778.
- [责任编辑 周冰冰]