

基础研究

厄贝沙坦可减轻2型糖尿病db/db小鼠心肌组织的炎症反应

叶显朗¹, 黄伟昌¹, 郑彦涛¹, 梁 莺², 龚望球³, 杨翀邈¹, 刘 斌¹南方医科大学珠江医院¹急诊科, ²心血管内科, ³肾内科, 广东 广州 510280

摘要:目的 探讨血管紧张素Ⅱ受体阻滞剂(ARB)厄贝沙坦对2型糖尿病db/db小鼠心肌组织炎症反应的保护作用及其心脏保护机制。方法 10周龄db/db小鼠随机分成模型组、厄贝沙坦治疗组50 mg/(kg·d),同窝出生的10周龄非糖尿病db/+小鼠充当正常对照组。正常组,模型组灌服等体积生理盐水,厄贝沙坦治疗组灌服厄贝沙坦(溶于生理盐水),药物干预16周后,记录心脏质量、体质量,测定空腹血糖、血甘油三酯、血总胆固醇含量,对心脏行HE染色、Western blot、免疫组化和qPCR检测。结果 与正常组db/+小鼠相比,模型组db/db小鼠发生了肥胖、高血糖、高血脂($P<0.01$);心肌组织肌纤维排列紊乱,间质增多,炎症细胞浸润;P-IκBα蛋白水平升高,IκBα蛋白水平降低,P-IκBα/IκBα升高($P<0.001$);NF-κB(P65)活性增强,入核增加($P<0.001$),且促炎细胞因子白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子α(TNF-α)mRNA水平升高($P<0.01$),这些异常均与糖尿病心肌组织炎症反应升高有关。厄贝沙坦的慢性治疗改善心肌病理学变化,并改善了2型糖尿病db/db小鼠高血糖诱导的心肌组织炎症反应指标。结论 厄贝沙坦改善了2型糖尿病db/db小鼠心肌组织炎症反应,其机制可能与抑制心脏血管紧张素Ⅱ的作用和NF-κB信号通路有关。

关键词:厄贝沙坦;糖尿病心肌病;NF-κB;炎症

Irbesartan ameliorates cardiac inflammation in type 2 diabetic db/db mice

YE Xianlang¹, HUANG Weichang¹, ZHENG Yantao¹, LIANG Ying², GONG Wangqiu³, YANG Chongmiao¹, LIU Bin¹¹Department of Emergency Medicine, ²Department of Cardiology, ³Department of Nephrology, Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510280, China

Abstract: Objective To investigate the protective effects of irbesartan against cardiac inflammation associated with diabetes and obesity in the db/db mouse model of type 2 diabetes and explore the underlying mechanisms. **Methods** Twenty-four 10-week-old diabetic db/db mice were equally randomized into irbesartan treatment (50 mg/kg per day) group and model group, using 12 nondiabetic littermates (db/+) as the controls. The mice were treated with irbesartan or saline vehicle for 16 consecutive weeks, after which the heart pathology was observed and the heart weight, body weight, and serum levels of fasting blood glucose (FBG), total cholesterol(TC), and triglycerides(TG) were measured. The expression of nuclear factor-kappaB (NF-κB) p65 in the myocardium was assessed with immunohistochemistry, the protein levels of P-IκBα, IκBα and β-actin were analyzed with Western blotting, and the pro-inflammatory cytokines IL-6 and TNF-α mRNA were detected using quantitative real-time PCR (qPCR). **Results** Compared with db/+ mice, the saline-treated db/db mice developed obesity, hyperglycemia and hyperlipidemia ($P<0.01$). Histopathological examination of the heart tissue revealed inflammatory cell infiltration, increased myocardial interstitium and disorders of myocardial fiber arrangement. The diabetic mice showed increased P-IκBα and decreased IκBα protein levels, enhanced activity and expression of NF-κB in the hearts, and increased mRNA expression of IL-6 and TNF-α in the myocardium. These abnormalities were all associated with increased inflammatory response. Treatment with irbesartan improved the heart architecture and attenuated high glucose-induced inflammation in the diabetic mice. **Conclusion** Treatment with irbesartan attenuates cardiac inflammation in type 2 diabetic db/db mice, and this effect was probably associated with the suppression of cardiac angiotensin II and NF-κB signaling pathway.

Keywords: irbesartan; diabetic cardiomyopathy; nuclear factor-κB; inflammation

糖尿病性心肌病(DCM)作为糖尿病心血管并发症之一,由于其随后出现的心力衰竭并最终增加死亡率,已经受到越来越多的关注。许多研究表明各种不同机

制参与了DCM的形成,包括微血管病变、氧化损伤、心脏肾素血管紧张素系统(RAS)激活,心脏炎症,纤维化及凋亡^[1-4]。其中炎症反应在DCM的发病和进展中起到了关键作用^[5-6],心肌炎症可以直接和间接引起心脏组织损伤^[7]。重视DCM的炎症反应可充分地促进该病的治疗。

db/db小鼠是目前国际上较常用的研究DCM的动物模型之一^[8-10]。在糖尿病中,循环RAS被抑制^[11]。心

收稿日期:2016-12-21

基金项目:广东省科技计划项目(2015A020212021)

作者简介:叶显朗,硕士研究生,E-mail: 1058103042@qq.com

通信作者:刘 斌,医学硕士,主任医师,硕士生导师,电话:020-62782200,

E-mail: nysylb@163.com

脏RAS被激活^[3],而心脏RAS的激活是心力衰竭发展中的关键因素^[12-13]。Ang II是RAS的最重要组成部分,其在糖尿病诱导的器官损伤中具有重要作用^[14]。Sarman等^[15]研究发现,慢性的Ang II输注可增加大鼠左室NF- κ B/DNA结合活性。Ang II受体阻断剂(ARB)具有抑制Ang II的作用,已被广泛用作抗高血压药物,拥有阻滞Ang II 1型受体阻滞剂(AT1R)的非血流动力学的心血管保护作用^[16-17]。目前厄贝沙坦对心脏组织Ang II的抑制作用已明确,但其对糖尿病心肌病炎症反应的研究报道极少。本文旨在探讨厄贝沙坦对2型糖尿病db/db小鼠心肌组织炎症反应的保护作用,并初步探讨其心脏保护机制。

1 材料和方法

1.1 动物模型及分组

10周龄db/db小鼠24只,雌雄各半(自发性2型DCM动物模型);同窝出生的10周龄db/+小鼠12只(正常对照组),雌雄各半。动物来源:南京大学-南京生物医药研究院,许可证号:SCXK(苏)2015-0001。(db/db、db/+)小鼠要求同龄、同批;db/+小鼠为正常对照组、db/db小鼠随机分组为模型组、厄贝沙坦治疗组,各组均雌雄各半,根据文献实验结果^[18],厄贝沙坦的剂量考虑为50 mg/(kg·d)。

1.2 主要仪器、药物及试剂

主要仪器:由南方医科大学中医药学院提供;药物:厄贝沙坦(批号:5A173 Sanofi Winthrop industrie)主要试剂:P-I κ B α (Ser32/36)小鼠源单克隆抗体(1:1000;货号:9246S 美国Cell Signaling Technology);I κ B α 小鼠源单克隆抗体(1:1000;货号:4814P 美国Cell Signaling Technology); β -actin小鼠源单克隆抗体(1:1000;货号:E021020 美国Earthox LLC);NF- κ B p65小鼠源单克隆抗体(1:400;货号:6956S 美国Cell Signaling Technology)。PrimeScriptTM RT reagent Kit with gDNA Eraser (Perfect Real Time)(货号:RR047A 大连TaKaRa公司);SYBR[®]Premix Ex TaqTM II(Tli RNaseH Plus)(货号:TRR820A 大连TaKaRa公司)。

1.3 给药方法

根据文献方法做适当修改,简单概述如下:厄贝沙坦溶于生理盐水中每日1次灌服(正常对照组、DCM模型对照组小鼠灌服等容积生理盐水)。实验期间所有动物普通饲料喂养,自由进食、进水,12 h交替照明^[19]。

1.4 检测指标及方法

16周后实验结束时,记录体质量,1%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉,摘除小鼠眼球取血,制备血清,用Olympus AU 600全自动生化分析仪测定空腹血糖(FBG)、血总胆固醇(TC)、血甘油三酯(TG)、取出心脏,PBS冲洗,吸水纸吸干,用电子天平精确称心脏质量,并垂直于心脏

左室长轴横切成3块,被止血钳夹伤的心尖部分,存于冻存管,液氮速冻,-80℃保存,留作Western blotting检测;约1 mm厚度的中间部分,放入4%多聚甲醛固定,常规脱水石蜡包埋、切片,留作HE染色和P65免疫组化检测;余下部分放入RNA保护液,存于液氮罐,留作Real-time Quantitative PCR实验。

1.5 心肌组织HE染色

观察小鼠心脏病理学改变,取材、固定、脱水透明、浸蜡、包埋、切片厚约4 μ m,贴片、染色和封固,光镜下,观察小鼠心肌组织的一般形态结构。

1.6 免疫组化检测

60℃烤石蜡切片,脱蜡,水化,微波修复抗原后,3%过氧化氢灭活内源性过氧化物酶,正常山羊血清封闭非特异性抗原,室温20 min,滴加适当稀释的I抗,4℃过夜,PBST洗片,滴加生物素标记的II抗,37℃20 min,显微镜下控制DAB显色,苏木素复染(30 s),水洗,用盐酸酒精分化3 s,流水浸15 min,脱水、透明,中性树胶封片。显微镜拍照保存。使用Image-Pro Plus 6.0软件作统计分析,以P65阳性区域总积分光密度/总面积(%) [IOD sum/Area sum(%)]测量染色强度,阳性染色越深,该比值越大。

1.7 Western blotting检测

取20 mg心肌组织,加入200 μ L RIPA裂解液和2 μ L PMSF并剪碎其中组织,冰上超声粉碎,12 000 r/min离心30 min,取上清,用BCA法测定蛋白质浓度,以2 μ g/ μ L的标准蛋白为标准品,将样本蛋白浓度稀释50倍,计算出样本浓度,用10% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳,每个泳道蛋白上样量为50 μ g,转移至PVDF膜,5%脱脂牛奶室温封闭1 h;TBST冲洗;将膜放入I抗中4℃过夜,TBST冲洗,II抗中室温孵育1 h,蛋白条带曝光,捕获并记录蛋白质条带。使用Adobe Photoshop CS5进行条带灰度值计算。

1.8 实时荧光定量测定

实时荧光定量(qPCR)测定IL-6和TNF- α 的转录水平。用RNAiso Plus(Takara)提取小鼠心脏总RNA。去除基因组DNA,按PrimeScriptTM RT reagent试剂盒(Takara)操作说明进行,10 μ L反应体系。RT Primer Mix合成样品中的各种cDNA,SYBR[®] Green qPCR法,共20 μ L反应体系。qPCR引物由武汉谷歌生物公司合成,IL-6上游引物:5'-TAGTCCTTCCTACCC CAATTTCC-3',下游引物:5'-TTGGTCCTTAGCCA CTCCTTC-3';TNF- α 上游引物:5'-CCTGTAGCCCAC GTCGTAG-3',下游引物:5'-GGGAGTAGACAAGGT ACAACCC-3'; β -actin上游引物:5'-GTGACGTTGAC ATCCGTAAAGA-3',下游引物:5'-GTAACAGTCCGC CTAGAAGCAC-3'。使用SYBR[®] Premix Ex TaqTM II型qPCR,25 μ L体系包括:SYBR酶混合液

(TAKARA) 12.5 μL , PCR 上下游引物 (10 $\mu\text{mol/L}$) 各 1 μL , cDNA 模板 2 μL , dH_2O 8.5 μL 。反应条件: 95 $^{\circ}\text{C}$ 30s, 一个循环; 95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 20 s, 40 个循环; 95 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 55 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 一个循环。mRNA 表达用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 表示。

1.9 统计学方法

采用 SPSS20.0 统计软件进行分析, 计量资料用均值 $\pm$ 标准差表示, 采用单因素方差分析, 方差齐时, 采用 LSD 法进行组间多重比较, 方差不齐时, 采用 Dunnett's T3 方法进行组间多重比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况及生化指标变化

取心脏标本时, 因操作失误, 正常组心脏丢失 1 个。部分小鼠取血量小无法检测出空腹血糖 (FBG)、血总胆固醇 (TC) 或血甘油三酯 (TG) 值。最终各指标完成实验检测的小鼠数量分别为正常组 9 只, 模型组 12 只, 厄贝沙坦治疗组 10 只。小鼠 HWT 各组无差异; 模型组和厄贝沙坦治疗组的 BWT、FBG、TC 和 TG 均高于正常组 (表 1)。

表 1 db/db 小鼠一般情况及生化指标

Tab.1 Effect of irbesartan on heart weight, body weight and serum biochemical parameters in db/db mouse (*Mean $\pm$ SD*)

Group	<i>n</i>	HWT (mg)	BWT (g)	FBG (mmol/L)	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)
db/+	9	125.82 $\pm$ 37.57	23.34 $\pm$ 2.82	6.20 $\pm$ 2.03	2.17 $\pm$ 0.24	0.71 $\pm$ 0.11
db/db	12	131.33 $\pm$ 13.77	44.50 $\pm$ 6.91**	39.59 $\pm$ 6.75**	4.08 $\pm$ 0.66**	1.34 $\pm$ 0.48*
db/db+irbesartan	10	121.58 $\pm$ 18.67	42.87 $\pm$ 6.44**	36.14 $\pm$ 5.55**	3.86 $\pm$ 0.43**	1.18 $\pm$ 0.34*

HWT: Heart weight; BWT: Body weight; FBG: Fasting blood glucose; TC: Total cholesterol; TG: Triglyceride. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs db/+.

2.2 左室心肌组织 HE 染色

HE 染色可见, 正常组小鼠心肌内膜正常、细胞排列整齐、致密, 结构清晰, 细胞外间质较少。模型组小鼠心肌内膜退化、细胞排列紊乱、心肌细胞肥大, 细胞间

隙增大, 间质和血管周围细胞外基质增多, 并有炎症细胞浸润。厄贝沙坦治疗后有所改善, 细胞排列较整齐, 结构较清晰, 炎症细胞浸润、心肌细胞大小、细胞外间质均减少 (图 1)。

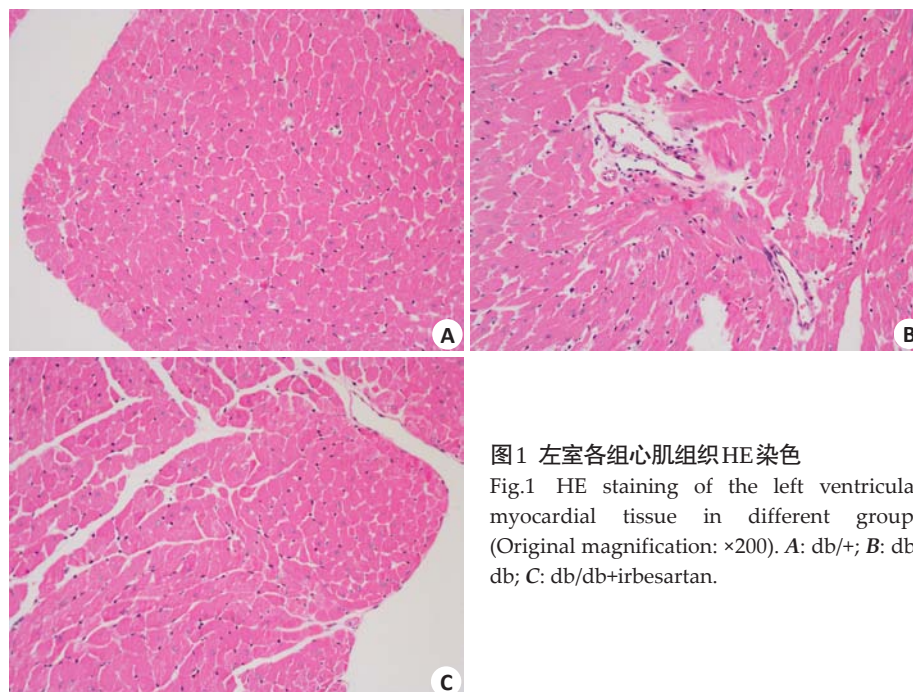


图 1 左室各组心肌组织 HE 染色

Fig.1 HE staining of the left ventricular myocardial tissue in different groups (Original magnification: $\times 200$). A: db/+; B: db/db; C: db/db+irbesartan.

2.3 心肌组织 P-IκBα、IκBα 蛋白表达及半定量分析

与正常组相比,糖尿病组心肌组织 P-IκBα 增加, IκBα 被明显降解, P-IκBα/IκBα 比值升高 $P<0.001$ ($P=0.000002$), 导致 P65 入核激活。厄贝沙坦治疗使其得

到改善 $P<0.001$ ($P=0.000061$ vs db/db; $P=0.000184$ vs db/+), 正常组、模型组和厄贝沙坦治疗组的 P-IκBα/IκBα 比值分别为 0.38 ± 0.07 , 3.04 ± 0.26 , 1.58 ± 0.16 (图2)。

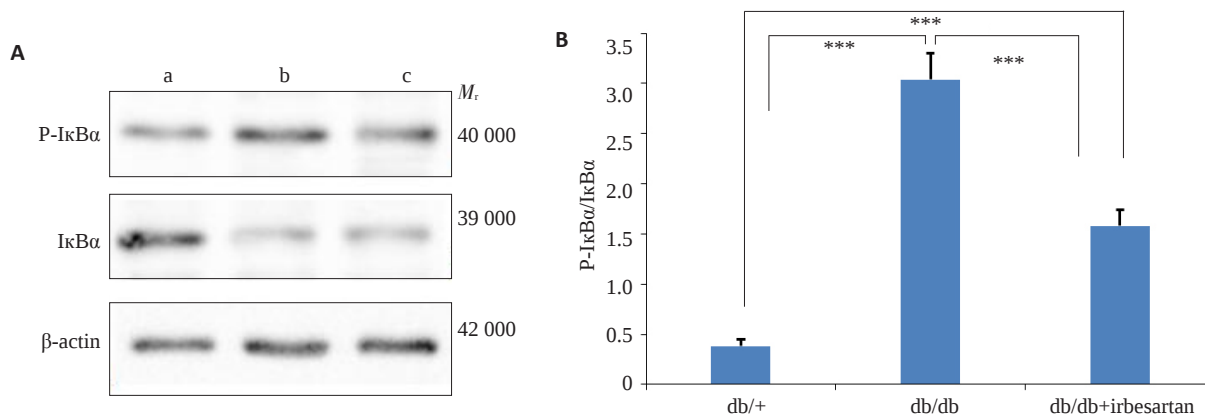


图2 心肌组织 P-IκBα、IκBα 蛋白表达

Fig.2 Effect of irbesartan on P-IκBα and IκBα protein expression in the myocardial tissue. A: Western blotting (a: db/+; b: db/db; c: db/db+irbesartan); B: Semi-quantitative analysis of P-IκBα/IκBα protein expression. *** $P<0.001$ ($n=3$).

2.4 心肌组织 P65 免疫组化及半定量分析

正常组小鼠心肌组织胞质内未见明显棕黄色 P65 表达;模型组心肌组织胞质内棕黄色 P65 表达增加,并入核激活明显 $P<0.001$ ($P=0.000000$ vs db/+);厄贝沙坦治疗后 P65 表达降低,入核激活减少,效果介于两者之

间 $P<0.01$ ($P=0.000046$ vs db/db; $P=0.001458$ vs db/+); 正常组、模型组和厄贝沙坦治疗组的 IOD sum/Area sum (%) 比值分别为 4.49 ± 0.34 , 8.09 ± 0.28 , 5.93 ± 0.85 (图3)。

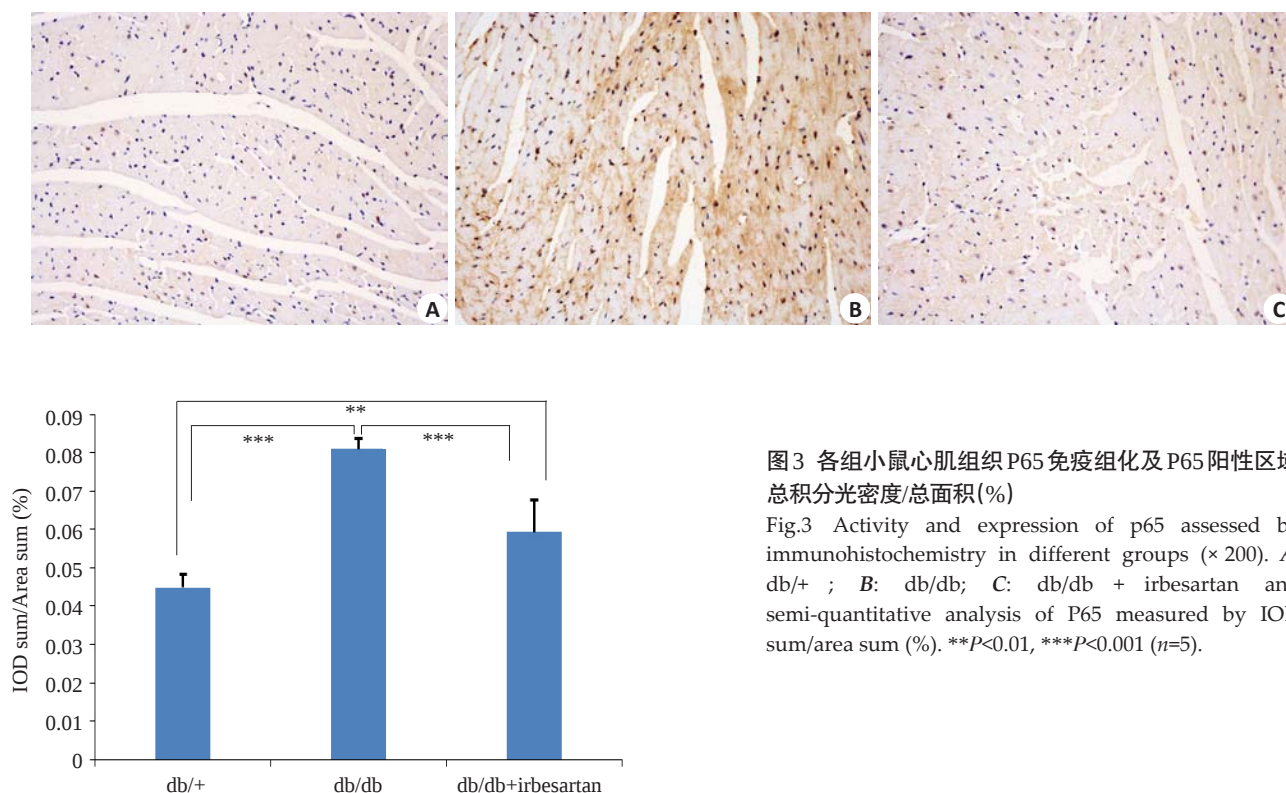


图3 各组小鼠心肌组织 P65 免疫组化及 P65 阳性区域总积分光密度/总面积 (%)

Fig.3 Activity and expression of p65 assessed by immunohistochemistry in different groups ($\times 200$). A: db/+; B: db/db; C: db/db + irbesartan and semi-quantitative analysis of P65 measured by IOD sum/area sum (%). ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ ($n=5$).

2.5 心肌组织 IL-6、TNF- α mRNA 的表达

与正常组相比,模型组 IL-6 和 TNF- α mRNA 水平均明显升高 $P<0.01$ (IL-6: $P=0.003157$; TNF- α : $P=$

0.000246)。与模型组比较,厄贝沙坦治疗组的 db/db 小鼠心肌组织 IL-6 和 TNF- α mRNA 水平均有所下降 $P<0.01$ (IL-6: $P=0.004188$; TNF- α : $P=0.001170$,图4)。

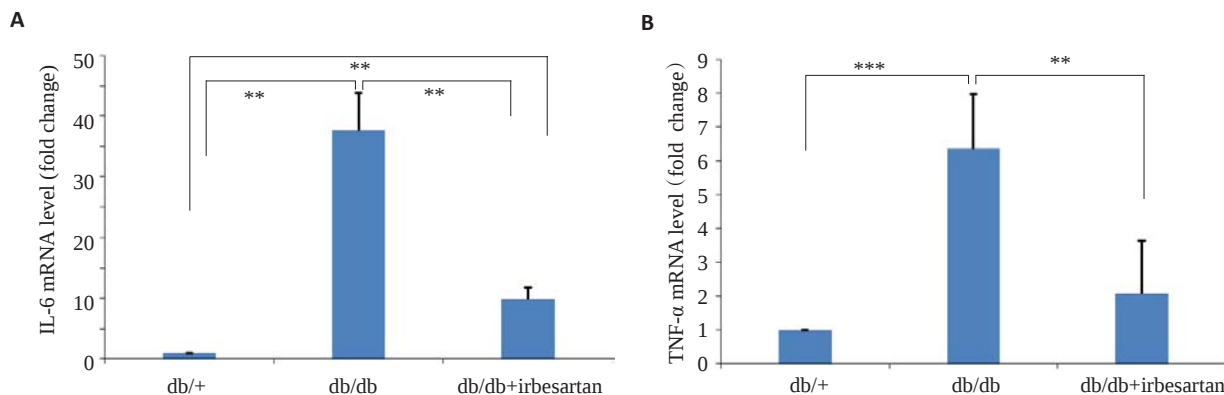


图4 各组小鼠心肌组织 IL-6、TNF- α mRNA 表达

Fig.4 Expression of IL-6 (A) and TNF- α (B) mRNA in the myocardial tissues. ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ ($n=4$).

3 讨论

高血糖诱导的心肌组织炎症反应对心脏损伤至关重要,因此,降低心肌组织炎症反应有利于糖尿病性心肌病的治疗^[5, 20-21]。我们目前的研究旨在探究厄贝沙坦抑制高血糖诱导的心肌炎症反应是否可能与抑制心脏 Ang II 的作用和 NF- κ B 通路有关。本研究中 db/db 小鼠心肌组织 NF- κ B 通路被激活,诱导了 IL-6、TNF- α mRNA 表达,促进了心肌组织炎症反应;厄贝沙坦的慢性治疗抑制了 db/db 小鼠心肌组织 NF- κ B 通路,并下调 IL-6、TNF- α mRNA 表达,改善了心肌组织炎症反应,但均未明显恢复至正常水平,可能与 ARB 仅能抑制心脏细胞外 Ang II 的作用有关^[3]。心脏 RAS 与 NF- κ B 通路可能共同参与了高血糖诱导的心肌组织炎症反应,而且心脏 RAS 可能是 NF- κ B 通路的上游靶点之一。

有研究表明,在 12 周龄时,2 型糖尿病 db/db 小鼠会形成肥胖、高血糖、高血脂等代谢异常情况^[9]。本研究中,一般情况及生化指标检测显示,2 型糖尿病 db/db 小鼠也出现了上述严重的代谢异常情况,即肥胖、高血糖、高血脂,而厄贝沙坦治疗后,db/db 小鼠 BWT、FBG、TC 和 TG 水平均未下降。这些结果表明,厄贝沙坦的慢性治疗对 db/db 小鼠的糖脂代谢不产生影响。

NF- κ B 是一种重要的转录因子和关键炎症基因调节剂,阻断 NF- κ B 通路具有多重的抗炎作用。Watanabe 等^[22]研究发现,厄贝沙坦可抑制心肌梗死伴肾衰竭大鼠心脏的炎症,减少心脏炎症相关蛋白 NF- κ B 的激活,改善心功能障碍,发挥了心脏保护作用。Wen 等^[23]发现,具有抗炎作用的雷公藤内酯通过抑制 NF- κ B 的活性和表达,明显改善了心脏炎症和纤维化,最终改

善了 DCM 的大鼠左室功能。而 I κ B α 是一种关键蛋白,在静息期,NF- κ B 未被激活时与 I κ B α 形成一个复合物,以无活性状态存在于细胞质中。当炎症因子存在的情况下,NF- κ B 被激活,I κ B α 被磷酸化,随后被泛素-蛋白酶体途径降解。NF- κ B 和 I κ B α 解聚后,其核定位序列被暴露,从而被转运到细胞核内促进 NF- κ B 依赖的基因转录^[24]。因此,通过 Western blot 检测 I κ B α 是否被磷酸化激活而显著降解,是检测 NF- κ B 是否激活的一个重要指标,而 P65 的免疫组化结果更能直观反映 NF- κ B 的激活和表达情况。本研究 Western blot 和 P65 免疫组化结果显示:与正常组相比,模型组小鼠心肌组织的 P-I κ B α 蛋白水平升高,I κ B α 蛋白水平降低,P-I κ B α /I κ B α 明显升高,大量 P65 释放入核激活。说明 2 型糖尿病 db/db 小鼠心肌组织 NF- κ B 通路被激活,这与 Khanra 等在 2 型糖尿病大鼠模型心脏组织中的发现一致^[25]。与模型组比较,厄贝沙坦治疗组的 db/db 小鼠心肌组织的 P-I κ B α 蛋白水平减低,I κ B α 蛋白水平升高,P-I κ B α /I κ B α 明显降低,P65 释放入核激活受到抑制。提示厄贝沙坦的慢性治疗可以抑制 2 型糖尿病心肌组织 NF- κ B 信号通路。

有研究表明,ARB 通过抑制心脏组织促炎细胞因子白细胞介素(IL)-1 β 蛋白含量,减少心脏炎症,改善 DCM 的心力衰竭^[26]。Westermann 等^[27]研究证实,P38 药理学抑制心肌组织促炎细胞因子 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的蛋白质含量,可预防心脏炎症并改善 DCM 的左室功能障碍。也有人报道,实验性 DCM 的心脏功能障碍与心脏炎症有关,白介素转化酶抑制剂治疗减轻了心脏功能障碍和心脏炎症,表明基于抗细胞因子的疗法可能有益于 DCM^[28]。可见抑制心肌组织促炎细胞因子表达可

改善心肌组织炎症反应。我们的qPCR的研究结果表明,与正常组相比,模型组的IL-6、TNF- α mRNA表达水平升高。说明2型糖尿病诱导了心肌组织IL-6、TNF- α mRNA表达,促进了心肌组织炎症反应。与模型组比较,厄贝沙坦治疗组的IL-6、TNF- α mRNA表达水平降低,而且厄贝沙坦的慢性治疗可以抑制2型糖尿病心肌组织NF- κ B信号通路。提示厄贝沙坦的慢性治疗抑制了心肌组织促炎细胞因子IL-6、TNF- α mRNA表达,改善心脏炎症反应,其机制可能与NF- κ B通路有关。本研究的心脏病理形态学观察亦显示,未治疗的糖尿病小鼠心肌组织炎症细胞浸润明显,肌纤维结构模糊,排列紊乱,间隙增大,而厄贝沙坦慢性治疗后,改善了2型糖尿病db/db小鼠心肌组织病理学变化。

在本实验中,我们还发现厄贝沙坦的慢性治疗虽然改善了DCM的心肌组织炎症反应和病理学变化,但均未明显恢复至正常水平,包括P-I κ B α 、I κ B α 蛋白表达, P65的免疫组化,IL-6、TNF- α mRNA的表达等半定量指标。已知高血糖可激活心脏RAS系统^[3]。Ang II是RAS的最重要组成部分,其在糖尿病诱导的器官损伤中具有重要作用^[14]。研究表明,高葡萄糖诱导的Ang II在心肌细胞内完全保留并移位到细胞核,而心脏成纤维细胞在细胞内和细胞外均合成Ang II,而细胞内Ang II的作用不被ARB阻断,因此,ARB仅阻断由心脏成纤维细胞胞外合成的和由胞内合成分泌在细胞外部分的Ang II的作用,表明这些药物在高血糖状态中对心脏产生的Ang II的作用仅有部分功效^[29]。即ARB仅能部分抑制DCM中的心脏RAS活化^[3]。Nakano等^[22]研究发现厄贝沙坦抑制心肌梗死伴肾衰竭大鼠心脏的炎症,减少了心脏炎症相关蛋白NF- κ B的激活,发挥了心脏保护作用。有人报道,在糖尿病心脏中,NF- κ B信号通路和RAS被强烈激活,从而促进心肌炎症反应^[7]。同时也有人报道,慢性的Ang II输注增加大鼠左室NF- κ B/DNA结合活性,而NF- κ B抑制剂吡咯烷二硫代氨基甲酸酯(PDTC)消除了Ang II诱导的NF- κ B活化和随后的TNF- α 基因表达的增加,减弱了Ang II诱导的左室重塑^[15]。可见,Ang II的作用和NF- κ B信号通路关系密切。提示心脏RAS与NF- κ B通路可能共同参与了2型糖尿病高血糖诱导的心肌组织促炎细胞因子的产生。ARB可部分抑制的心脏RAS可能是NF- κ B通路的上游靶点之一。因此出现了厄贝沙坦的慢性治疗虽然改善了DCM的心肌组织炎症反应和病理学变化,但均未明显恢复至正常水平。

总之,厄贝沙坦的慢性治疗对心脏具有保护作用,ARB可能通过部分抑制心脏RAS,抑制Ang II的作用,影响了NF- κ B(P65)的转录活性,进而抑制促炎细胞因子IL-6、TNF- α mRNA转录表达,减轻DCM心肌组织

炎症反应,从而改善心肌组织的病理学变化,为临床干预DCM的发生和发展提供基础理论依据。但心脏RAS与NF- κ B通路两者之间的相互作用机制尚有待进一步探讨,此外,小鼠施用胰岛素辅助性治疗可能是人类DCM的更好模型,因此必须评估胰岛素治疗对ARB效应的影响。

参考文献:

- [1] Rani N, Bharti S, Bhatia J, et al. Chrysin, a PPAR- γ agonist improves myocardial injury in diabetic rats through inhibiting AGE-RAGE mediated oxidative stress and inflammation[J]. Chem Biol Interact, 2016, 250: 59-67.
- [2] Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders[J]. Nature, 2006, 444(7121): 860-7.
- [3] Dong B, Yu QT, Dai HY, et al. Angiotensin-converting enzyme-2 overexpression improves left ventricular remodeling and function in a rat model of diabetic cardiomyopathy[J]. J Am Coll Cardiol, 2012, 59(8): 739-47.
- [4] Thomas CM, Yong QC, Rosa RM, et al. Cardiac-specific suppression of NF- κ B signaling prevents diabetic cardiomyopathy via inhibition of the renin-angiotensin system[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2014, 307(7): H1036-45.
- [5] Khan S, Zhang D, Zhang Y, et al. Wogonin attenuates diabetic cardiomyopathy through its anti-inflammatory and anti-oxidative properties[J]. Mol Cell Endocrinol, 2016, 428: 101-8.
- [6] Lorenzo O, Picatoste B, Ares-Carrasco S, et al. Potential role of nuclear factor κ B in diabetic cardiomyopathy [J]. Mediators Inflamm, 2011: 652097.
- [7] Frati G, Schirone L, Chimenti I, et al. An overview of the inflammatory signalling mechanisms in the myocardium underlying the development of diabetic cardiomyopathy[J]. Cardiovasc Res, 2017, 113(4): 378-88.
- [8] Bugger H, Abel ED. Rodent models of diabetic cardiomyopathy[J]. Dis Model Mech, 2009, 2(9/10): 454-66.
- [9] Plante E, Menaouar A, Danalache BA, et al. Oxytocin treatment prevents the cardiomyopathy observed in obese diabetic male db/db mice[J]. Endocrinology, 2015, 156(4): 1416-28.
- [10] He Q, Pu J, Yuan A, et al. Liver X receptor agonist treatment attenuates cardiac dysfunction in type 2 diabetic db/db mice [J]. Cardiovasc Diabetol, 2014, 13: 149.
- [11] Giacchetti G, Sechi LA, Rilli S, et al. The renin-angiotensin-aldosterone system, glucose metabolism and diabetes [J]. Trends Endocrinol Metab, 2005, 16(3): 120-6.
- [12] Sun Y. Intracardiac renin-angiotensin system and myocardial repair/remodeling following infarction[J]. J Mol Cell Cardiol, 2010, 48 (3): 483-9.
- [13] Zhang Y, Shao L, Ma A, et al. Telmisartan delays myocardial fibrosis in rats with hypertensive left ventricular hypertrophy by TGF- β 1/Smad signal pathway[J]. Hypertens Res, 2014, 37(1): 43-9.
- [14] Connelly KA, Boyle AJ, Kelly DJ. Angiotensin II and the cardiac complications of diabetes mellitus[J]. Curr Pharm Des, 2007, 13 (26): 2721-9.
- [15] Sárman B, Skoumal R, Leskinen H, et al. Nuclear factor-kappaB

- signaling contributes to severe, but not moderate, angiotensin II-induced left ventricular remodeling[J]. *J Hypertens*, 2007, 25(9): 1927-39.
- [16] Nagasawa K, Takahashi K, Matsuura N, et al. Comparative effects of valsartan in combination with cilnidipine or amlodipine on cardiac remodeling and diastolic dysfunction in Dahl salt-sensitive rats[J]. *Hypertens Res*, 2015, 38(1): 39-47.
- [17] Akazawa H, Yabumoto C, Yano M, et al. ARB and cardioprotection [J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2013, 27(2): 155-60.
- [18] Liu X, Xu Q, Wang X, et al. Irbesartan ameliorates diabetic cardiomyopathy by regulating protein kinase D and ER stress activation in a type 2 diabetes rat model[J]. *Pharmacol Res*, 2015, 93: 43-51.
- [19] 龙海波, 张 辉, 钟 娟, 等. 肾康丸对早期糖尿病肾病大鼠足细胞损伤的保护作用[J]. *南方医科大学学报*, 2008, 28(7): 1268-72.
- [20] Fang Q, Wang J, Wang L, et al. Attenuation of inflammatory response by a novel chalcone protects kidney and heart from hyperglycemia-induced injuries in type 1 diabetic mice[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2015, 288(2): 179-91.
- [21] Raja L, Palanivelu S, Panchanatham S. Anti-inflammatory property of Kalpaamruthaa on myocardium in type 2 diabetes mellitus induced cardiovascular complication [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2013, 35(1): 119-25.
- [22] Watanabe R, Suzuki J, Wakayama K, et al. Angiotensin II receptor blocker irbesartan attenuates cardiac dysfunction induced by myocardial infarction in the presence of renal failure[J]. *Hypertens Res*, 2016, 39(4): 237-44.
- [23] Wen HL, Liang ZS, Zhang R, et al. Anti-inflammatory effects of triptolide improve left ventricular function in a rat model of diabetic cardiomyopathy[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2013, 12: 50.
- [24] Ting AY, Endy D. Signal transduction. Decoding NF-kappaB signaling[J]. *Science*, 2002, 298(5596): 1189-90.
- [25] Khanra R, Dewanjee S, K Dua T, 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.
- [26] Westermann D, Rutschow S, Jäger S, et al. Contributions of inflammation and cardiac matrix metalloproteinase activity to cardiac failure in diabetic cardiomyopathy: the role of angiotensin type 1 receptor antagonism[J]. *Diabetes*, 2007, 56(3): 641-6.
- [27] Westermann D, Rutschow S, Van Linthout S, et al. Inhibition of p38 mitogen-activated protein kinase attenuates left ventricular dysfunction by mediating pro-inflammatory cardiac cytokine levels in a mouse model of diabetes mellitus[J]. *Diabetologia*, 2006, 49 (10): 2507-13.
- [28] Westermann D, Van Linthout S, Dhayat S, et al. Cardioprotective and anti-inflammatory effects of interleukin converting enzyme inhibition in experimental diabetic cardiomyopathy [J]. *Diabetes*, 2007, 56(7): 1834-41.
- [29] Singh VP, Baker KM, Kumar R. Activation of the intracellular renin-angiotensin system in cardiac fibroblasts by high glucose: role in extracellular matrix production[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2008, 294(4): H1675-84.

(编辑:吴锦雅)