

# 利拉鲁肽对棕榈酸诱导心肌细胞损伤的保护作用

张子钊,段军滢,高怡,王凯,张帆,张跃,李广平

(天津市心血管病离子与分子机能重点实验室,天津医科大学第二医院心脏科,天津心脏病学研究所,天津300211)

**摘要** 目的:探讨利拉鲁肽(lira)对棕榈酸(PA)所致 H9C2 大鼠心肌细胞脂毒性损伤的干预效果及其相关机制。方法:在不同浓度的 PA(0、50、100、150、200、300  $\mu\text{mol/L}$ )和不同时间(6、12、24 h)的条件下分别刺激 H9C2 大鼠心肌细胞( $n=3$ ),建立心肌细胞的脂毒性损伤模型,使用 CCK8 检测确定使 H9C2 细胞脂毒性损伤较大、细胞存活数最多的刺激条件。将成功建立模型的 H9C2 细胞分为对照组(CON)、CON+Lira(1 000 nmol/L)组、CON+PA(150  $\mu\text{mol/L}$ )组和 PA(150  $\mu\text{mol/L}$ )+Lira(1 000 nmol/L)组进行油红 O 染色( $n=3$ ),检测细胞内脂质含量,以明确 PA(150  $\mu\text{mol/L}$ )对心肌细胞有无脂毒性。将 H9C2 细胞根据不同的 PA 浓度(0、50、100、150、200、300  $\mu\text{mol/L}$ )分为 6 个组(CON、PA1、PA2、PA3、PA4 和 PA5)( $n=3$ ),按照不同的 Lira 浓度分为 6 组:CON 组、PA 组(150  $\mu\text{mol/L}$ )、CON+Lira3(1 000 nmol/L)组、PA(150  $\mu\text{mol/L}$ )+Lira1(100 nmol/L)组、PA(150  $\mu\text{mol/L}$ )+Lira2(500 nmol/L)组和 PA(150  $\mu\text{mol/L}$ )+Lira3(1 000 nmol/L)组( $n=3$ ),用蛋白印迹测定凋亡相关蛋白的表达量及其与 PA、Lira 浓度的关系。结果:使用 CCK8 检测并最终确定 PA 为 150  $\mu\text{mol/L}$ 、刺激 12 h 的条件下,H9C2 细胞的脂毒性损伤较大、细胞存活数最多。与 CON 组相比,PA 组(150  $\mu\text{mol/L}$ )的细胞活性明显下降、脂滴明显增加( $t=34.53, P<0.05$ ),经 lira 预处理后脂滴明显减少( $t=19.07, P<0.05$ );与 CON 组相比,随着 PA 浓度的增加,Bax、Caspase-3 蛋白表达明显增加( $F=12.32, 3.307$ , 均  $P<0.05$ ),Bcl-2 蛋白表达明显减少( $F=7.618, P<0.05$ );与 PA 刺激组(150  $\mu\text{mol/L}$ )相比,lira 预处理可以使 Bcl-2 蛋白表达明显增加( $F=7.104, P<0.05$ ),Bax、Caspase-3 蛋白表达明显减少( $F=12.32, 7.104$ , 均  $P<0.05$ )。结论:浓度为 150  $\mu\text{mol/L}$  的 PA 刺激 H9C2 心肌细胞 12 h 后可造成心肌细胞脂毒性损伤模型,lira 可以改善甚至逆转 PA 诱导的 H9C2 心肌细胞脂毒性损伤,其机制可能与抑制炎症、抑制细胞凋亡有关。

**关键词** 利拉鲁肽;H9C2 细胞;脂毒性;心肌保护;凋亡蛋白

中图分类号 R541.9

文献标志码 A

文章编号 1006-8147(2024)05-0410-06

## The protective effect of liraglutide on palmitic acid induced myocardial cell injury

ZHANG Zizhao, DUAN Junying, GAO Yi, WANG Kai, ZHANG Fan, ZHANG Yue, Li Guangping

(Tianjin Key Laboratory of Ionic-Molecular Function of Cardiovascular Disease, Department of Cardiology, Tianjin Institute of Cardiology, the Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China)

**Abstract Objective:** To explore the protective effect of liraglutide (lira) on palmitic acid (PA) induced H9C2 rat cardiomyocyte lipotoxic injury model and its possible mechanism. **Methods:** First, H9C2 cells were stimulated with different concentrations of PA (0, 50, 100, 150, 200, 300  $\mu\text{mol/L}$ ) and different times (6, 12, 24 hours) to establish a model of lipotoxic injury in cardiomyocytes ( $n=3$ ). CCK8 was used to determine the stimulus conditions that resulted in greater lipotoxic damage to H9C2 cells and the highest number of viable cells. The H9C2 cells that had successfully established the model were divided into control group (CON), CON+Lira (1 000 nmol/L) group, CON+PA (150  $\mu\text{mol/L}$ ) group, and PA (150  $\mu\text{mol/L}$ )+Lira (1 000 nmol/L) group. Oil red O staining was used to detect the intracellular lipid content to determine whether PA (150  $\mu\text{mol/L}$ ) was lipid toxic to cardiomyocytes ( $n=3$ ). According to different PA concentrations, the H9C2 cells was divided into 6 groups (CON, PA1, PA2, PA3, PA4 and PA5) ( $n=3$ ), and different lira concentrations were divided into CON group, PA, CON+Lira3 (1 000 nmol/L) group, PA+Lira1 (100 nmol/L) group, PA+Lira2 (500 nmol/L) group and PA+Lira3 (1 000 nmol/L) group ( $n=3$ ). The expression of apoptosis-related proteins and their relationship with PA and lira concentrations were determined by Western blotting ( $n=3$ ). **Results:** CCK8 was used to detect and finally determine that 150  $\mu\text{mol/L}$  PA and stimulated for 12 h, the lipotoxic damage of H9C2 cells was greater and the number of cell survival was the highest. Compared with CON group, the cell activity decreased and lipid droplets increased significantly in the PA stimulation group (150  $\mu\text{mol/L}$ ) ( $t=34.53, P<0.05$ ), and the lipid droplets decreased after lira pretreatment ( $t=19.07, P<0.05$ ). Compared with the CON group, with the increase of PA concentration, the expression of Bax and Caspase-3 proteins increased significantly ( $F=12.32, 3.307$ , both  $P<0.05$ ), and the expression of Bcl-2 protein decreased significantly ( $F=7.618, P<0.05$ ). Compared with the PA stimulation group, the expression of Bcl-2 protein was significantly increased by lira pretreatment ( $F=7.104, P<0.05$ ), and the expression of Bax and Caspase-3 proteins was significantly decreased

基金项目 国家自然科学基金面上项目 (82270336)

作者简介 张子钊(1998-),男,医师,硕士,研究方向:冠心病介入治疗和心力衰竭的诊治;通信作者:李广平, E-mail: tic\_tjcardiol@126.com。

( $F=12.32, 7.104$ , both  $P<0.05$ ). **Conclusion:** Stimulating H9C2 cardiomyocytes with a concentration of  $150\text{ }\mu\text{mol/L}$  PA for 12 h can induce a model of myocardial cell lipotoxic damage. Lira can improve or even reverse the lipotoxic damage in H9C2 cardiomyocytes induced by PA, which may be related to the inhibition of inflammation and apoptosis.

**Key words** liraglutide; H9C2 cells; lipotoxicity; cardioprotection; apoptotic protein

糖尿病心肌病(diabetic cardiomyopathy, DCM)主要表现为心肌肥大、纤维化,代谢失调和心肌收缩特性异常,是糖尿病患者一种特异的心脏表现<sup>[1]</sup>。DCM是糖尿病的一种独立并发症,因脂肪酸 $\beta$ -氧化增多,在心肌细胞内聚集大量的甘油三酯及游离脂肪酸等脂滴颗粒,明显抑制心肌细胞内酶的活性,使 $\text{Ca}^{2+}$ 在肌浆网中异常分布,导致心肌收缩及舒张功能障碍<sup>[2]</sup>。

利拉鲁肽(liraglutide, lira)是一种胰高血糖素样肽(GLP)-1类似物,广泛用于糖尿病和肥胖症的治疗, GLP-1受体广泛分布在心脏、肺、肾、胰腺,可以调节细胞内钙稳态并保护心肌细胞免受损伤<sup>[3]</sup>。由此,本研究提出假设:lira可能会改善、甚至逆转心肌细胞的脂毒性损伤,进而发挥心脏保护作用,本实验通过棕榈酸(palmitic acid, PA)刺激 H9C2 大鼠心肌细胞的方式,建立 H9C2 大鼠心肌细胞脂毒性损伤模型,探讨 lira 对 H9C2 大鼠心肌细胞脂毒性损伤模型的影响及其可能的机制。

## 1 材料与方法

**1.1 试剂**  $1\times\text{PBS}$  溶液、 $20\times\text{TBST}$ 、 $20\%\text{SDS}$  溶液、 $30\%$  丙烯酰胺、Tris-Base、Tris-HCl (PH6.8)、Tris-HCl (PH8.8)、二甲基亚砷、蛋白酶抑制剂 PMSF、过硫酸铵、脂多糖、油红 O 染色试剂盒、BSA 胎牛血清白蛋白、PA、油酸、CCK-8 试剂盒均购自北京索莱宝公司;BCA 蛋白浓度试剂盒、 $\beta$ -actin 抗体、高糖 DMEM 培养基均购自赛默飞公司;BAX 抗体、BCL-2 抗体、Caspase-3 抗体购自百家公司;HRP 标记山羊抗兔二抗、HRP 标记山羊抗鼠二抗均购自 Affinity 公司, PVDF 膜( $0.45\text{ }\mu\text{m}$ )购自德国 GE Healthcare Life Science 公司;大鼠 H9C2 心肌细胞系购自广州赛库生物;甲醇购自天津永晟精细化工有限公司;胎牛血清购自澳大利亚 Lonsera 公司。

## 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养及脂毒性模型的建立** 体外培养 H9C2 大鼠心肌细胞系,使用 DMEM 高糖培养基,所有培养基均含有  $10\%$  胎牛血清(FBS)、 $1\%$  青霉素和链霉素。根据不同的 PA 浓度( $0$ 、 $50$ 、 $100$ 、 $150$ 、 $200$ 、 $300\text{ }\mu\text{mol/L}$ )分为 6 组( $n=3$ ),分别对应 CON、PA1、PA2、PA3、PA4 和 PA5,在  $37^{\circ}\text{C}$  含  $5\%\text{CO}_2$  的培养箱中培养细胞系,胰酶消化后重悬细胞,接种

于 6 孔板内,培养箱内培养 24 h,弃去上层培养液, PBS 清洗 3 次后,更换为含 PA 的 DMEM 高糖培养基,分别培养 6、12、和 24 h 后,将  $100\text{ }\mu\text{L}$ /孔的细胞培养基上清液加入 96 孔板中,每孔再加入  $10\text{ }\mu\text{L}$  CCK-8 试剂,孔中避免加入气泡,将 96 孔板放在培养箱( $37^{\circ}\text{C}$ 、 $5\%\text{CO}_2$ )中孵育 30~60 min,观察培养基颜色变为黄色后用酶标仪检测吸光度,计算细胞活力:细胞活力( $\%$ )= $[(\text{加药组})-(\text{对照组})]/[(\text{不加药组})-(\text{对照组})]\times 100\%$ ;其中加药组为有细胞、CCK-8 溶液和药物刺激的孔,对照组为没有细胞但有培养基和 CCK-8 溶液的孔,不加药组为有细胞和 CCK-8 溶液但没有药物刺激的孔,计算出最佳的 PA 浓度以及刺激时间,建立 H9C2 细胞脂毒性模型。

**1.2.2 油红 O 染色观察脂毒性心肌细胞脂滴** 根据 1.2.1 中已建立心肌细胞脂毒性模型的最佳 PA 浓度,将成功建立模型的 H9C2 心肌细胞分为 4 组:对照组(CON)组、CON+Lira( $1\text{ }000\text{ nmol/L}$ )组、CON+PA( $150\text{ }\mu\text{mol/L}$ )组、PA( $150\text{ }\mu\text{mol/L}$ )+Lira( $1\text{ }000\text{ nmol/L}$ )组( $n=3$ ),用以排除 lira 对心肌细胞的损伤作用。PBS 清洗后,使用油红 O 染色试剂盒进行染色,加入 ORO Fixative 固定液等待 30 min,弃去固定液,蒸馏水洗 2 次后加入  $60\%$  异丙醇浸洗 5 min,再加入配制好的 ORO Stain,浸染 20 min,蒸馏水反复清洗至无多余染液,用 Mayer 苏木素染色液复染 1~2 min,弃去染液后水洗 2~5 次,最后加入 ORO Buffer 1 min 后弃去,加蒸馏水覆盖细胞在显微镜下观察。

**1.2.3 免疫蛋白电泳** 将 H9C2 细胞根据不同的 PA 浓度( $0$ 、 $50$ 、 $100$ 、 $150$ 、 $200$ 、 $300\text{ }\mu\text{mol/L}$ )分为 6 组(CON、PA1、PA2、PA3、PA4 和 PA5,  $n=3$ );根据不同 Lira 浓度分为 6 组:CON 组、CON+Lira3( $1\text{ }000\text{ nmol/L}$ )组、PA( $150\text{ }\mu\text{mol/L}$ )组、PA( $150\text{ }\mu\text{mol/L}$ )+Lira1( $100\text{ nmol/L}$ )组、PA( $150\text{ }\mu\text{mol/L}$ )+Lira2( $500\text{ nmol/L}$ )组和 PA( $150\text{ }\mu\text{mol/L}$ )+Lira3( $1\text{ }000\text{ nmol/L}$ )组( $n=3$ ),探讨凋亡蛋白的表达与药物浓度的关系。在 RIPA 裂解缓冲液中提取各组 H9C2 心肌细胞蛋白,采用 BCA 试剂盒定量总蛋白。使用  $12\%\text{SDS}$ -PAGE 分离蛋白,然后将蛋白转移到 PVDF 膜上(德国 GE Healthcare Life Science 公司)。用  $5\%$  的封闭液封闭 1 h,采用一抗 Bax、Bcl-2、Caspase-3( $1:1\text{ }000$ )

和  $\beta$ -actin(1:5 000)在 4℃过夜孵育,二抗室温(1:10 000)孵育 90 min 后,打开 GelCap-Ed,等待降温至 -30℃,将条带置于显色板上,均匀滴加显影液,勿有气泡,曝光。各种蛋白的条带的净光密度计算使用 Image J 软件,用目的蛋白的净光密度/ $\beta$ -actin 蛋白的净光密度来表示目的蛋白的相对表达水平。

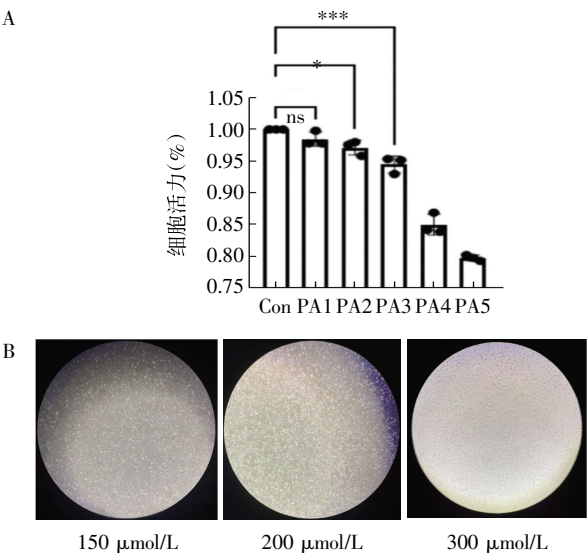
1.3 统计学处理 所有实验均重复 3 次,数据符合正态分布,计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示,使用 prism8.0.1、SPSS 25.0 等软件进行数据的统计分析与图像绘制。两组样本均数比较使用  $t$  检验分析,多组样本均数比较使用单因素方差分析, $P<0.05$  为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度 PA 刺激 H9C2 心肌细胞后细胞活性的结果 与 CON 组相比,PA 为 150  $\mu\text{mol/L}$  时,细胞损伤大( $P<0.05$ ),且显微镜下观察细胞贴壁良好,无明显漂浮,说明存活数量最多,PA 在 200  $\mu\text{mol/L}$  以及 300  $\mu\text{mol/L}$  组细胞活力明显下降,显微镜下观察大部分细胞均漂浮,发生不可逆死亡,见表 1、图 1。

表 1 不同浓度的 PA 刺激 H9C2 细胞 12 h 后的吸光度( $n=3,\bar{x}\pm s$ )  
Tab.1 Absorbance of H9C2 cells after stimulation by different concentrations of PA for 12 h( $n=3,\bar{x}\pm s$ )

PA 浓度( $\mu\text{mol/L}$ )	OD 值	PA 浓度( $\mu\text{mol/L}$ )	OD 值
0	0.451±0.002	150	0.426±0.004
50	0.444±0.002	200	0.383±0.004
100	0.438±0.003	300	0.359±0.001



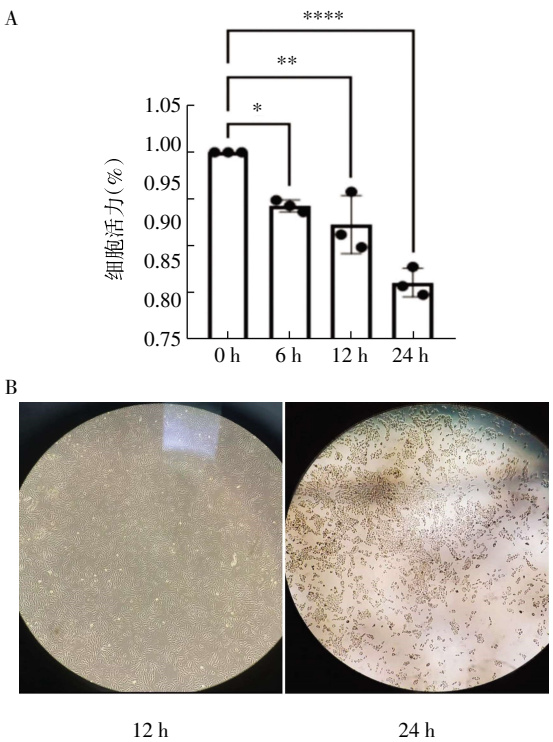
注:PA1~PA5 对应的 PA 浓度分别为 50、100、150、200、300  $\mu\text{mol/L}$ ;  
A:不同浓度的 PA 刺激 H9C2 细胞 12 h 后各组细胞活性的比较;  
B:不同浓度的 PA 刺激 H9C2 细胞 12 h 后各组细胞形态(4 $\times$ );  
\* $P<0.05$ , \*\* $P<0.001$ ; ns:差异无统计学意义

图 1 不同浓度的 PA 刺激 H9C2 细胞 12 h 后各组细胞活性  
Fig.1 Cell activity in each group after different concentrations of PA stimulated H9C2 cells for 12 h

2.2 不同刺激时间 PA 对 H9C2 心肌细胞活性的影响 与 CON 组相比,PA 与 DMEM 共培养 12 h 组的 H9C2 细胞的活力明显下降( $P<0.05$ ),显微镜下观察细胞贴壁良好,无明显漂浮细胞,而 PA 刺激 24 h 组细胞活力明显下降,显微镜下观察细胞大部分漂浮,发生不可逆死亡,见表 2 和图 2、3。

表 2 不同时间梯度 PA(150  $\mu\text{mol/L}$ )刺激 H9C2 细胞吸光度( $n=3,\bar{x}\pm s$ )  
Tab.2 Absorbance of H9C2 cells stimulated by PA (150  $\mu\text{mol/L}$ ) at different time gradients ( $n=3,\bar{x}\pm s$ )

组别	OD 值
0 h	0.451±0.002
6 h	0.425±0.002
12 h	0.416±0.010
24 h	0.388±0.004



注:A:不同时间梯度的 PA 刺激 H9C2 心肌细胞后的细胞活性的比较;B:不同时间梯度的 PA 刺激 H9C2 心肌细胞后的细胞形态(4 $\times$ );\* $P<0.05$ ; \*\* $P<0.01$ ; \*\*\* $P<0.001$

图 2 不同时间梯度的 PA 刺激 H9C2 心肌细胞后的细胞活性  
Fig.2 Cell activity of H9C2 cardiomyocytes stimulated by PA at different time gradients

2.3 不同组别的油红 O 染色实验结果 如图 3 所示,与 CON 组相比,PA 刺激组(150  $\mu\text{mol/L}$ )中 H9C2 细胞内脂滴数量增多,脂滴大小明显增加,颜色为橘红色;与 CON 组相比,CON+Lira(1 000 nmol/L)组细胞内脂滴未见明显改变,与 PA 刺激组(150  $\mu\text{mol/L}$ )相比,Lira(1 000 nmol/L)预处理后 H9C2 心肌细

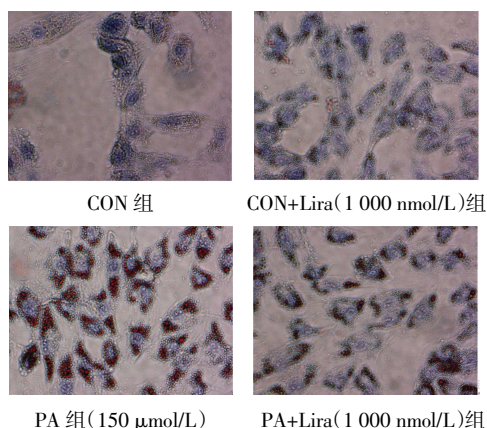
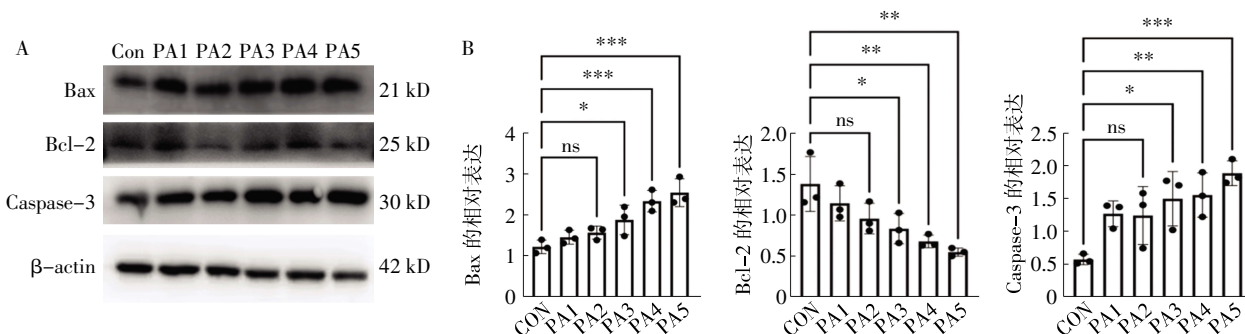


图3 各组细胞内脂滴染色(油红O染色,40×)

Fig.3 Intracellular lipid droplet staining in each group (Oil Red O staining,40×)

胞内脂滴明显减少,颜色变浅。与 CON 组相比,PA 组(150  $\mu\text{mol/L}$ )的细胞活性明显下降、脂滴明显增加( $t=34.53, P<0.05$ ),经 lira 预处理后脂滴明显减少( $t=19.07, P<0.05$ )。

2.4 不同浓度 PA 刺激 H9C2 心肌细胞后凋亡相关蛋白表达结果 与 CON 组相比,随着 PA 刺激浓度逐渐增大,Bax、Caspase-3 蛋白表达明显增加( $F=12.32, 3.307$ , 均  $P<0.05$ ),Bcl-2 蛋白表达明显减少( $F=7.618, P<0.05$ )。与 CON 组相比,PA3 组的 Bcl-2 蛋白表达量减少明显( $t=2.857, P<0.05$ );Bax 蛋白表达量增加明显( $t=2.875, P<0.05$ );Caspase-3 表达量增加明显( $t=3.684, P<0.05$ ),见图 4。



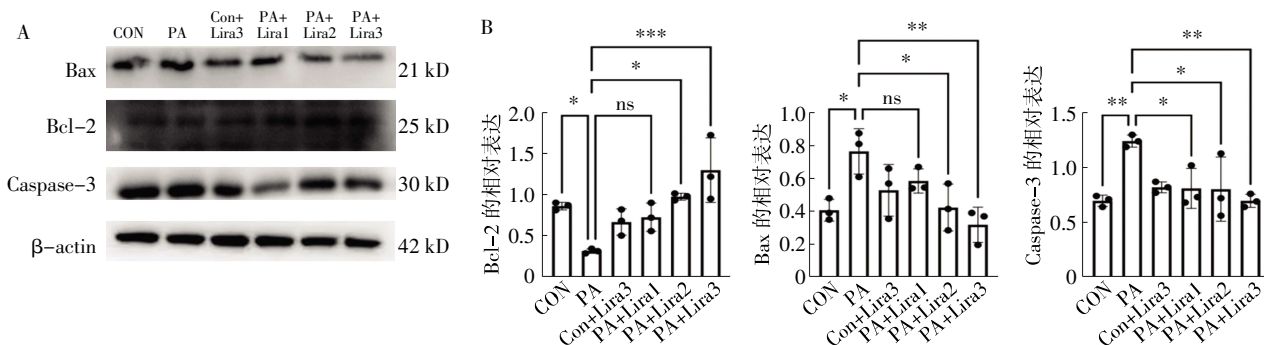
注:PA 1~PA 5 对应的 PA 的浓度分别为 50、100、150、200 和 300  $\mu\text{mol/L}$ ; \* $P<0.05$ ; \*\* $P<0.01$ ; \*\*\* $P<0.001$ ; ns: 无显著统计学差异

图4 不同浓度 PA 刺激 H9C2 细胞后 Bax、Bcl-2、Caspase-3 的蛋白表达水平比较

Fig.4 Comparison of the protein expression levels of Bax, Bcl-2 and Caspase-3 in H9C2 cells after stimulation with different concentrations of PA

2.5 不同浓度 Lira 预处理后 H9C2 心肌细胞脂毒性模型中各种凋亡相关蛋白的表达量 如图 5 所示,与浓度为 150  $\mu\text{mol/L}$  PA 刺激组相比,lira 预处理可使 Bcl-2 蛋白表达明显增加( $F=7.104, P<$

0.05),Bax、Caspase-3 蛋白表达明显减少( $F=12.32、7.104$ , 均  $P<0.05$ ),且随着 lira 浓度增加,Bcl-2 蛋白表达增加、Bax、Caspase-3 蛋白表达减少越明显( $P<0.05$ )。



注:分组为对照组(CON 组)、对照组+利拉鲁肽 3(1 000 nmol/L)组[CON+Lira3(1 000 nmol/L)组]、棕榈酸(150  $\mu\text{mol/L}$ )组[PA(150  $\mu\text{mol/L}$ )组]、棕榈酸(150  $\mu\text{mol/L}$ )+利拉鲁肽 1(100 nmol/L)组[PA(150  $\mu\text{mol/L}$ )+Lira1(100 nmol/L)组]、棕榈酸(150  $\mu\text{mol/L}$ )+利拉鲁肽 2(500 nmol/L)组[PA(150  $\mu\text{mol/L}$ )+Lira2(500 nmol/L)组]和棕榈酸(150  $\mu\text{mol/L}$ )+利拉鲁肽 3(1 000 nmol/L)组[PA(150  $\mu\text{mol/L}$ )+Lira3(1 000 nmol/L)组]; \* $P<0.05$ ; \*\* $P<0.01$ ; \*\*\* $P<0.001$ ; ns: 差异无统计学意义

图5 不同浓度 Lira 刺激的 H9C2 细胞 Bcl-2、Bax、Caspase-3 的蛋白表达

Fig.5 Protein expression of Bcl-2, Bax and Caspase-3 in H9C2 cells stimulated by different concentrations of Lira

### 3 讨论

糖尿病是全世界发病和死亡的主要原因之一<sup>[4]</sup>,患者处于长期高血糖状态会引起不同器官的长期损害和功能障碍<sup>[5]</sup>。DCM 是糖尿病导致心血管损害的重要表现,心脏中的有毒脂质积累是 DCM 的标志<sup>[6]</sup>,容易发生心力衰竭,尤其是射血分数保留型心力衰竭<sup>[7]</sup>。已有研究表明,DCM 的机制可能与氧化应激、炎症、胰岛素敏感性和信号转导水平的变化以及心脏代谢通路改变等有关<sup>[8]</sup>,但确切机制尚未完全阐明。

研究表明,血液中高浓度葡萄糖会导致心肌细胞脂肪酸增加,引起胰岛素抵抗和氧化应激<sup>[9]</sup>。据报道,这种脂毒性主要损害舒张功能<sup>[10]</sup>。

Lira 是一种长效 GLP-1 受体激动剂,用于治疗 2 型糖尿病,已被证明可以有效治疗血糖无法控制的心血管疾病<sup>[11]</sup>,其对心血管的保护是通过调节血管紧张素(Ang)Ⅱ/血管紧张素受体(AT1R/AT2R)和 GLP-1 受体的表达来介导的<sup>[12]</sup>。一项临床研究显示 GLP-1 受体激动剂在糖尿病患者心血管结局方面的良好结果<sup>[13]</sup>。

研究表明 GLP-1 类似物逆转了肥胖症小鼠模型的分子病理学和心功能障碍,但是尚未在细胞水平证明其保护作用<sup>[14]</sup>。本研究从细胞水平研究 lira 对 PA 诱导心肌细胞脂毒性损伤的保护作用,特别是对细胞凋亡的保护作用。

细胞凋亡是最常见的细胞死亡方式,发生在发育、组织重塑、细胞稳态、防御过程和免疫反应过程中,其中 Bcl-2 是凋亡过程中的一种保护蛋白,Bax 则是一种促进凋亡蛋白<sup>[15]</sup>。本研究中,在 PA 诱导的 H9C2 心肌细胞脂毒性模型随着 PA 浓度逐渐增大,细胞凋亡越明显,lira 可以改善甚至逆转细胞凋亡,在低浓度 lira(100 nmol/L)组中虽然也观察到上述表现,但是与模型组相比没有统计学差异,提示 lira 对脂毒性心肌细胞模型的保护作用可能与药物浓度有关。

综上所述,lira 可以改善甚至逆转 PA 导致的 H9C2 心肌细胞凋亡,并且对心肌细胞脂毒性有一定的保护作用,在关于 lira 与 PA 诱导的胰岛微血管内皮细胞损伤的研究中发现 PA 能够降低 GLP-1R 和磷酸化 PKA 水平,显著下调 GTPCH1 和内皮型一氧化氮合酶(eNOS)的蛋白水平,并且 lira 可以恢复 PA 诱导的 GLP-1R/PKA 和 GTPCH1/eNOS 信号通路的损伤<sup>[20]</sup>,与本研究 PA 诱导的心肌细胞脂毒性相似,所以推测 lira 对 PA 诱导的 H9C2 心肌细胞脂毒性的保护作用可能通过 GLP-1R/PKA 和

GTPCH1/eNOS 信号通路介导。还有研究表明 lira 改善心脏内质网应激反应,并通过 AMP 活化蛋白激酶依赖性机制改善了高脂饮食动物的心脏功能,lira 对 PA 诱导的 H9C2 心肌细胞脂毒性的保护作用可能与内质网应激和 AMP 活化蛋白激酶有关<sup>[21]</sup>。有数据表明,促  $\alpha$  细胞数量的增加和胰岛内 GLP-1 系统的激活构成了一种自我防御机制,用于增强  $\beta$  细胞存活以对抗脂质超载,lira 对心肌细胞的保护机制与促  $\alpha$  细胞数量的增加和胰岛内 GLP-1 系统的恢复相关,具体机制需要进一步探讨。

#### 参考文献:

- [1] PAOLILLO S, MARSICO F, PRASTARO M. Diabetic cardiomyopathy: definition, diagnosis, and therapeutic implications [J]. *Heart Fail Clin*, 2019, 15(3): 341-347.
- [2] DILLMANN W H. Diabetic cardiomyopathy: what is it and can it be fixed? [J]. *Circ Res*, 2019, 124(8): 1160.
- [3] LI SL, WANG Z M, XU C, et al. Liraglutide attenuates hepatic ischemia-reperfusion injury by modulating macrophage polarization [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 869050.
- [4] PAPATHEODOROU K, BANACH M, EDMONDS M, et al. Complications of diabetes [J]. *J Diabetes Res*, 2015, 2015: 189525.
- [5] MAYFIELD J. Diagnosis and classification of diabetes mellitus [J]. *Diabetes Care*, 2013, 36(Suppl 1): S67-S74.
- [6] NORDESTGAARD B G. Triglyceride-rich lipoproteins and atherosclerotic cardiovascular disease: new insights from epidemiology, genetics, and biology [J]. *Circ Res*, 2016, 118(4): 547-563.
- [7] VIIGIMAA M, SACHINIDIS A, TOUMPOURLEKA M, et al. Macrovascular complications of type 2 diabetes mellitus [J]. *Curr Vasc Pharmacol*, 2020, 18(2): 110-116.
- [8] HANSEN S S, AASUM E, HAFSTAD A D. The role of NADPH oxidases in diabetic cardiomyopathy [J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2018, 1864(5 Pt B): 1908-1913.
- [9] RENDRA E, RIABOV V, MOSSEL D M, et al. Reactive oxygen species (ROS) in macrophage activation and function in diabetes [J]. *Immunobiology*, 2019, 224(2): 242-253.
- [10] PRAKOSO D, DE BLASIO M J, TATE M, et al. Gene therapy targeting cardiac phosphoinositide 3-kinase (p110 $\alpha$ ) attenuates cardiac remodeling in type 2 diabetes [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2020, 318(4): H840-H852.
- [11] 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): 624-638.
- [12] NAKAMURA K, MIYOSHI T, YOSHIDA M, et al. Pathophysiology and treatment of diabetic cardiomyopathy and heart failure in patients with diabetes mellitus [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(7): 3587.
- [13] BASU R, OUDIT G Y, WANG X, et al. Type 1 diabetic cardiomyopathy in the Akita (Ins2WT/C96Y) mouse model is characterized by lipotoxicity and diastolic dysfunction with preserved systolic function [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2009, 297(6): H2096-H2108.

(下转第 444 页)



- 及治疗的研究进展[J]. 实用中医内科杂志, 2022, 36(1): 16-19.
- [12] 楼茜欣, 唐梅文, 唐燕, 等. 腹泻型肠易激综合征中医治疗进展[J]. 辽宁中医杂志, 2020(10): 3.
- [13] 董玉玺, 王静. 中西医结合治疗肠易激综合征临床研究进展[J]. 实用中医药杂志, 2022, 38(7): 1264-1266.
- [14] BLACK C J, FORD A C. Global burden of irritable bowel syndrome: trends, predictions and risk factors[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2020, 17(8): 473-486.
- [15] VASANT D H, PAINE P A, BLACK C J, et al. British Society of Gastroenterology guidelines on the management of irritable bowel syndrome[J]. *Gut*, 2021, 70(7): 1214-1240.
- [16] PIMENTEL M. Evidence-based management of irritable bowel syndrome with diarrhea[J]. *Am J Manag Care*, 2018, 24(3 Suppl): S35-S46.
- [17] 覃尚红, 梁丽, 周成华, 等. 胃肠起搏联合认知行为疗法治疗老年腹泻型肠易激综合征患者临床疗效观察[J]. 内科, 2022, 17(2): 213-216.
- [18] HARRIS L A, BAFFY N. Modulation of the gut microbiota: a focus on treatments for irritable bowel syndrome[J]. *Postgrad Med*, 2017, 129(8): 872-888.
- [19] MAMIEVA Z, POLUEKTOVA E, SVISTUSHKIN V, et al. Antibiotics, gut microbiota, and irritable bowel syndrome: what are the relations?[J]. *World J Gastroenterol*, 2022, 28(12): 1204-1219.
- [20] PIMENTEL M, LEMBO A. Microbiome and its role in irritable bowel syndrome[J]. *Dig Dis Sci*, 2020, 65(3): 829-839.
- [21] BONETTO S, FAGOONEE S, BATTAGLIA E, et al. Recent advances in the treatment of irritable bowel syndrome[J]. *Pol Arch Intern Med*, 2021, 131(7-8): 709-715.
- [22] PAULA H, GROVER M, HALDER S L, et al. Non-enteric infections, antibiotic use, and risk of development of functional gastrointestinal disorders[J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2015, 27(11): 1580-1586.
- [23] KROGSGAARD L R, EENSBRØ A L, BYTZER P. Antibiotics: a risk factor for irritable bowel syndrome in a population-based cohort[J]. *Scand J Gastroenterol*, 2018, 53(9): 1027-1030.
- [24] 徐志伟, 吴皓萌, 敖海清, 等. 肠易激综合征的舌象研究[J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(10): 4.
- [25] 张开波, 李鲜, 张璐鹏, 等. 腹泻型肠易激综合征的中西医研究现状[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2021, 29(4): 298-302.

(2024-04-15 收稿)

(上接第 414 页)

- [14] VANDEMARK C, NGUYEN J, ZHAO Z Q. Cardiovascular protection with a long-acting GLP-1 receptor agonist liraglutide: an experimental update[J]. *Molecules*, 2023, 28(3): 1369.
- [15] ZHANG L H, PANG X F, BAI F, et al. Preservation of glucagon-like peptide-1 level attenuates angiotensin II-induced tissue fibrosis by altering AT1/AT2 receptor expression and angiotensin-converting enzyme 2 activity in rat heart[J]. *Cardiovasc Drug Ther*, 2015, 29(3): 243-255.
- [16] MARSO S P, DANIELS G H, BROWN-FRANSEN K, et al. Liraglutide and cardiovascular outcomes in type 2 diabetes[J]. *NEJM*, 2016, 375(4): 311-322.
- [17] NOYAN-ASHRAF M H, SHIKATANI E A, SCHUIKI I, et al. A glucagon-like peptide-1 analog reverses the molecular pathology and cardiac dysfunction of a mouse model of obesity[J]. *Circulation*, 2013, 127(1): 74-85.
- [18] MOLAEI P, VASEGHI S, ENTEZARI M, et al. The effect of neuroaid (MLC901) on cholestasis-induced spatial memory impairment with respect to the expression of bax, bcl-2, bad, pgc-1 $\alpha$  and tfam genes in the hippocampus of male wistar rats [J]. *Neurochem Res*, 2021, 46(8): 2154-2166.
- [19] LE Y, WEI R, YANG K, et al. Liraglutide ameliorates palmitate-induced oxidative injury in islet microvascular endothelial cells through GLP-1 receptor/PKA and GTPCH1/eNOS signaling pathways[J]. *Pept Sci*, 2020, 124: 170212.
- [20] NOYAN-ASHRAF M H, SHIKATANI E A, SCHUIKI I, et al. A glucagon-like peptide-1 analog reverses the molecular pathology and cardiac dysfunction of a mouse model of obesity[J]. *Circulation*, 2013, 127(1): 74-85.
- [21] HUANG C, YUAN L, CAO S. Endogenous GLP-1 as a key self-defense molecule against lipotoxicity in pancreatic islets[J]. *Int J Mol Med*, 2015, 36(1): 173-185.

(2024-01-18 收稿)