

贝那普利对糖尿病大鼠心肌细胞外基质重塑中基质金属蛋白酶及转化生长因子表达的影响

符丽娟¹, 王洪新¹, 包翠芬², 隋海娟¹

(辽宁医学院 1. 药理学教研室, 2. 科学实验中心, 辽宁 锦州 121001)

摘要: **目的** 研究贝那普利对糖尿病大鼠心肌基质重塑的作用机制。**方法** SD 大鼠 ip 注射链脲佐菌素制备糖尿病模型。治疗组 ig 给予 BZ 10 mg·kg⁻¹, 连续 12 周。光镜及电镜下观察左心室心肌组织改变, 测定心脏质量指数; Western 印迹法测定左心室心肌组织胶原 I 型及 III 型含量, 基质金属蛋白酶 2 (MMP-2), 金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 表达及转化生长因子 β_1 (TGF- β_1) 和结缔组织生长因子 (CTGF) 表达的变化。**结果** 与正常对照组相比, 糖尿病组大鼠心脏质量指数明显升高, 胶原 I 型及 III 型表达明显增加 ($P < 0.05$), MMP-2 表达减少、TIMP-2 表达增加 ($P < 0.01$), TGF- β_1 和 CTGF 表达明显增强 ($P < 0.05$), 心肌间质纤维增生。大鼠连续 ig 给予贝那普利 12 周后, 心脏质量指数明显降低 [(4.13 ± 0.18) vs (3.42 ± 0.13) mg·g⁻¹]; 胶原 I 型及 III 型表达明显减少 ($P < 0.05$), MMP-2 表达增加, TIMP-2 表达减少 ($P < 0.05$), TGF- β_1 及 CTGF 表达明显减弱 ($P < 0.05$), 心肌间质纤维增生减轻。与正常对照组相比, 贝那普利组大鼠心肌 MMP-2 表达减少, TIMP-2 及 CTGF 表达仍增加。**结论** 贝那普利可能通过抑制糖尿病大鼠心肌组织 TGF- β_1 和 CTGF 表达以及增强基质金属蛋白酶表达, 从而抑制糖尿病心肌间质纤维化, 改善心肌细胞外基质重塑。

关键词: 贝那普利; 糖尿病; 细胞外基质重塑; 基质金属蛋白酶; 转化生长因子 β_1

中图分类号: R966 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-3002(2011)03-0229-06

DOI: 10.3867/j.issn.1000-3002.2011.03.002

糖尿病心肌细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 重塑主要表现为心肌纤维化、细胞外基质中胶原沉积和细胞外基质胶原构型的改变。这种变化使活动于其中的心肌细胞代谢和功能紊乱, 导致心肌细胞肥大、凋亡、变性和坏死^[1]。细胞外基质重塑是导致糖尿病患者心室重构及心脏功能异常的主要病理基础。基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs) 是一组能特异性地降解 ECM 成分的 Zn²⁺ 依赖的酶家族, 目前发现作用于心肌胞外基质的 MMPs 主要有 MMP-2、MMP-9 和膜型 1-MMP。金属蛋白酶类组织抑制剂 (tissue inhibitor of metalloproteinases, TIMPs) 是 MMPs 的特异性抑制因子, 二者为 ECM 降解调节过程中一对重要的拮抗物, 患糖

尿病时各种病理因子可促进胶原合成分泌, 打破 MMPs 和 TIMPs 间的平衡, 改变胶原蛋白分子的结构, 对糖尿病心肌细胞外基质重塑起重要作用^[2]。转化生长因子 β_1 (transforming growth factor- β_1 , TGF- β_1) 是促进心肌间质纤维化形成与发展的关键因子, 与多脏器间质纤维化有关; 结缔组织生长因子 (connective tissue growth factor, CTGF) 则是纤维化过程中的下游效应因子, 可促进纤维细胞的增生和 ECM 的聚积^[3]。贝那普利 (benazepril, BZ) 为血管紧张素转换酶抑制剂 (angiotensin converting enzyme inhibitor, ACEI), 其可通过抑制糖尿病心肌细胞凋亡, 改善心室重构, 保护心脏功能^[4]。本研究建立糖尿病大鼠心肌病模型, 观察 BZ 对糖尿病大鼠心肌 MMP-2, TIMP-2 及 TGF- β_1 , CTGF 表达的影响, 进一步探讨 BZ 对糖尿病心肌细胞外基质重塑的作用机制。

1 材料与方 法

1.1 药物、试剂及仪器

链脲佐菌素 (streptozotocin, STZ), 货号: H1027S, (Sigma 公司) 和 BZ (美国 Sigma 公司)。多

基金项目: 辽宁省教育厅科学技术研究项目 (20060523); 辽宁省科技厅科技攻关项目 (2009225010-40)

作者简介: 符丽娟 (1966 -), 女, 副教授, 硕士, 主要从事心血管药理学研究。王洪新 (1964 -), 男, 教授, 博士, 硕士生导师, 主要从事心血管药理学研究, E-mail: jyhxwang@hotmail.com

通讯作者: 符丽娟, E-mail: flj1988@163.com, Tel: (0416)4673408

克隆兔抗鼠抗胶原 I 型抗体(编号:bs-0578R)、抗胶原 III 型抗体(编号:bs-0549R)、MMP-2 抗体(编号:bs-0412R)、TIMP-2 抗体(编号:bs-0416R)、TGF- β_1 抗体(编号:bs-0103R)和 CTGF 抗体(编号:bs-0743R)均购自北京博奥森生物技术有限公司;碱性磷酸酶标记的山羊抗兔抗体和 β 肌动蛋白和 NBT/BCIP 显色液购自碧云天试剂公司。DY-1 型电泳仪,上海医疗仪器公司;Mini-REPOTAN II 型电泳槽,美国 Bio-Rad 公司;DYY-III 型电转移槽,北京六一仪器厂;TGL-16G 高速冷冻离心机,日本日立公司,JEOL-1200EX 透射电镜,日本电子公司。

1.2 动物、模型制备及分组

SD 大鼠,24 只,♂,体质量 200~250 g,2 月龄,由辽宁医学院实验动物中心提供,动物许可证号 SCXK(辽)2003-0007。16 只大鼠一次性左下 ip 给予 1% STZ 溶液 $60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[5],临用前用 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的枸橼酸-枸橼酸钠缓冲液(pH 4.5)配制。另 8 只大鼠为正常对照组,注射等量容积枸橼酸-枸橼酸钠缓冲液 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ (pH 4.5)。当天即让大鼠自由进食饮水。注射后 72 h 测血糖及尿糖,将血糖浓度 $>16.7 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,尿糖阳性者定为糖尿病模型(diabetic model, DM)大鼠。然后将糖尿病大鼠随机分为 DM 和 BZ 组, BZ 组 ig 给予 BZ $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[6],共 12 周。

1.3 心脏质量指数检测及心室标本采集

开胸取出大鼠心脏,分别称取心脏质量(heart mass, HM)及左心室质量(left ventricular mass, LVM),计算心脏质量指数(HM index, HMI)及左心室质量指数(LVMI)。HMI ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$) = HM/BM, LVMI = LVH/BM。然后将左心室心肌一半置于 4% 多聚甲醛(pH 7.4)中固定 24 h,常规石蜡包埋,制作切片;一半置于 -70°C 冰箱,用于 Western 印迹检测。

1.4 心肌组织病理检查

1.4.1 光镜观察

取各组大鼠左心室心肌组织块,4% 多聚甲醛固定,梯度乙醇脱水,常规石蜡包埋,制备心肌石蜡切片,HE 染色,中性树胶封片,镜下观察。

1.4.2 电镜观察

每组随机取 2 只大鼠,ip 注射 20% 乌拉坦麻醉,取左室心肌组织块,切成 1 mm^3 大小组织块,超微标本入 3% 戊二醛固定液固定 2 h,1% 锇酸固定 1 h,逐级乙醇、丙酮脱水后,环氧树脂包埋,超薄切片,经铀、铅双重染色后,透射电镜观测各组大鼠心肌超微结构变化。

1.5 Western 印迹法检测左心室心肌胶原 I 型及 III 型, MMP-2, TIMP-2, TGF- β_1 和 CTGF 蛋白表达

取约 100 mg 左心室心肌,立即放入预冷的 Tris 缓冲液中[TBS, $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$: 1% Triton, 0.1% SDS, 0.5% 去氧胆酸, EDTA 1, Tris 20 (pH 7.4), NaCl 150, NaF 10], 4°C 超声粉碎后, $12\,000 \times g$ 离心 30 min,取上清,用 Lowry 等^[7]法测定蛋白质含量,以牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)为标准品,将各组蛋白浓度调成一致。用 10%~12% SDS-PAGE 分离蛋白质,每个泳道蛋白上样量为 20~50 μg 。为了准确判断目的蛋白带的位置,一个泳道加 Seebright plus 2 预染蛋白标记物。电泳后将 PAGE 凝胶中的蛋白质电转移至聚偏氟乙烯膜上,取出后将膜放入 3% BSA 阻断缓冲液中,封闭 60 min,再用 TBS[Tris $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ (pH 8.0), NaCl $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$] 洗膜 3 次,每次 10 min。将膜放入一抗中(所有一抗均 1:500 稀释), 4°C 过夜。TBS 冲洗后,将膜放入碱性磷酸酶标记的山羊抗兔二抗中(二抗均 1:500 稀释),室温孵育 1~2 h,然后用 TBS 洗膜 3 次,每次 10 min, NBT/BCIP 显色液中避光显色,直至出现,终止反应。对胶原 I 型及 III 型, MMP-2, TIMP-2, TGF- β_1 和 CTGF 进行测定。每个抗体测定时都进行 β 肌动蛋白测定,以保证蛋白上样量的一致性。将蛋白印迹显影图扫描,利用凝胶自动分析成像软件 Chem Image 5500 对蛋白带进行积分吸光度值(integrated absorbance, IA)分析,以 β 肌动蛋白为参照,计算二者 IA 比值表示胶原 I 型及 III 型, MMP-2, TIMP-2, TGF- β_1 和 CTGF 等的表达。

1.6 实验结果数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SPSS11.0 软件进行统计学分析。采用 one-way ANOVA 和 LSD-*t* 检验进行两两比较。

2 结果

2.1 贝那普利对糖尿病大鼠心脏质量指数和左心室质量指数的影响

表 1 结果显示,与正常对照组比较,DM 组大鼠 HMI 和 LVMI 明显增高, BZ 组大鼠 HMI 和 LVMI 均明显低于 DM 组($P < 0.01$)。表明糖尿病大鼠已出现心肌肥厚,主要表现为左心室心肌肥厚, BZ 可减轻糖尿病所致心肌肥厚。

2.2 贝那普利对糖尿病大鼠心肌组织结构的影响

HE 染色显示,正常对照组(图 1A)左室心肌细胞排列有序, DM 组大鼠心肌细胞排列紊乱,可见肌纤维断裂,心肌细胞肥大肿胀,心肌间质及小血管周围纤维增多(图 1B); BZ 组病变减轻(图 1C)。

表 1 贝那普利 (BZ) 对糖尿病模型 (DM) 大鼠心脏质量指数 (HMI) 和左心室质量指数 (LVMI) 的影响

Tab. 1 Effect of benazepril (BZ) on heart mass index (HMI) and left ventricular mass index (LVMI) of diabetic rats

组别	HMI/mg·g ⁻¹	LVMI/mg·g ⁻¹
正常对照	2.93 ± 0.10	2.21 ± 0.13
DM 模型	4.13 ± 0.18 ^{**}	3.38 ± 0.12 ^{**}
BZ	3.42 ± 0.13 [#]	2.67 ± 0.09 ^{##}

DM 模型组和 BZ 组大鼠一次性 ip 给予 1% 链脲佐菌素 60 mg·kg⁻¹ 制备糖尿病大鼠模型。BZ 组大鼠 ig 给予 BZ 10 mg·kg⁻¹, 连续 12 周。x̄ ± s, n = 8. ^{**} P < 0.01, 与正常对照组比较; [#] P < 0.05, ^{##} P < 0.01, 与 DM 模型组比较。

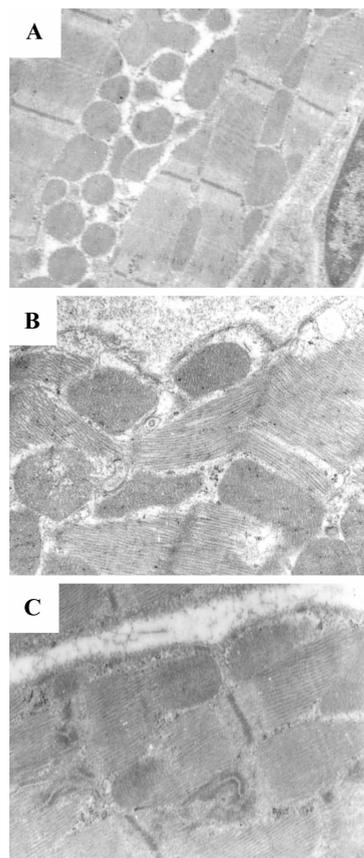


图 2 贝那普利对 DM 大鼠心肌超微结构的影响 (×10 000)。分组处理见表 1。A: 正常对照组; B: DM 模型组; C: BZ 组。

Fig. 2 Effect of benazepril on cardiomyocyte ultrastructure of DM rats.

图 1 贝那普利对 DM 大鼠心肌组织结构的影响 (×400)。分组处理见表 1。A: 正常对照组; B: DM 模型组; C: BZ 组。

Fig. 1 Effect of benazepril on cardiomyocyte structure of DM rats.

图 2 透射电镜显示, DM 组大鼠心肌肌丝成分减少, 局部断裂, 线粒体变性肿胀甚至空泡样改变; 心肌间质纤维增多 (图 2B), 毛细血管基底膜增厚。提示心肌超微结构明显损伤, 心肌间质纤维增生。而 BZ 组大鼠肌原纤维及线粒体结构异常均有改善, 间质胶原减少, 基底膜增厚明显减轻。提示 BZ 可减轻心肌损伤, 改善间质纤维化 (图 2C)。

2.3 贝那普利对糖尿病大鼠心肌胶原 I 型及 III 型表达的影响

与正常对照组比较, DM 组大鼠心肌胶原 I 型 (1.09 ± 0.30 vs 0.35 ± 0.19)、胶原 III 型 (1.73 ± 0.25 vs 0.57 ± 0.22) 表达增加 (P < 0.05)。应用 BZ 后, 大鼠心肌胶原 I 型 (0.49 ± 0.20)、胶原 III 型 (0.67 ± 0.32) 表达明显减少 (P < 0.05, P < 0.01) (图 3)。

2.4 贝那普利对糖尿病大鼠心肌 MMP-2 和 TIMP-2 表达的影响

与正常对照组比较, DM 组大鼠心肌 TIMP-2 表达增加, MMP-2 表达减少 (P < 0.01), BZ 组大鼠 TIMP-2 表达减弱, MMP-2 表达增强 (P < 0.05) (图 4)。

2.5 贝那普利对糖尿病大鼠心肌 TGF-β₁ 和 CTGF 表达的影响

与正常对照组比较, DM 组大鼠心肌 TGF-β₁ 及 CTGF 表达增加 (P < 0.05, P < 0.01), BZ 组大鼠心肌 TGF-β₁ 和 CTGF 表达减少 (P < 0.05) (图 5)。

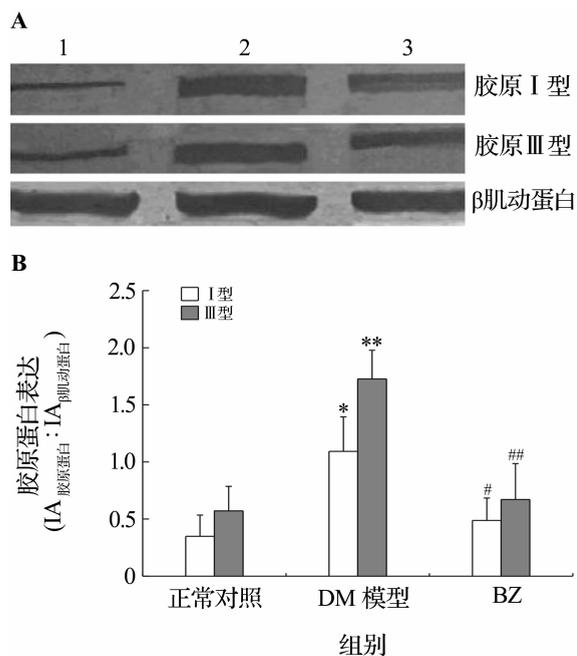


图3 Western 蛋白印迹法检测贝那普利对糖尿病大鼠心机的胶原 I 型及 III 型表达的影响 (A) 及定量分析结果 (B). 条带 1: 正常对照组; 条带 2: DM 模型组; 条带 3: BZ 组. IA: 积分吸光度值. $\bar{x} \pm s, n=3$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与正常对照组比较; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, 与 DM 模型组比较.

Fig.3 Effect of benazepril on cardiomyocyte collagen type I collagen and type III expression in diabetic rats by Western blotting (A) and semiquantitative results (B).

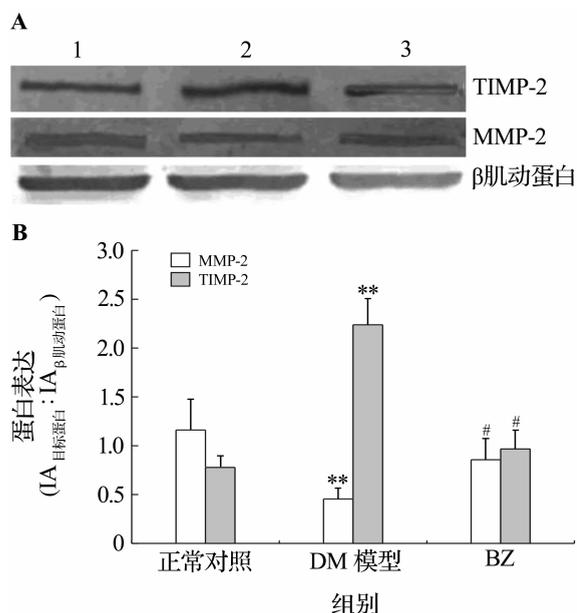


图4 Western 印迹法检测贝那普利对糖尿病大鼠心机的基质金属蛋白酶 2 (MMP-2) 和金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 表达的影响 (A) 及定量分析结果 (B). 条带 1: 正常对照组; 条带 2: DM 模型组; 条带 3: 贝那普利组. $\bar{x} \pm s, n=3$. ** $P < 0.01$, 与正常对照组比较; # $P < 0.05$, 与 DM 模型组比较.

Fig.4 Effect of benazepril on cardiomyocyte matrix metalloproteinases-2 (MMP-2), tissue inhibitor matrix metalloproteinases-2 (TIMP-2) expression in diabetic rats by Western blotting (A) and semiquantitative results (B).

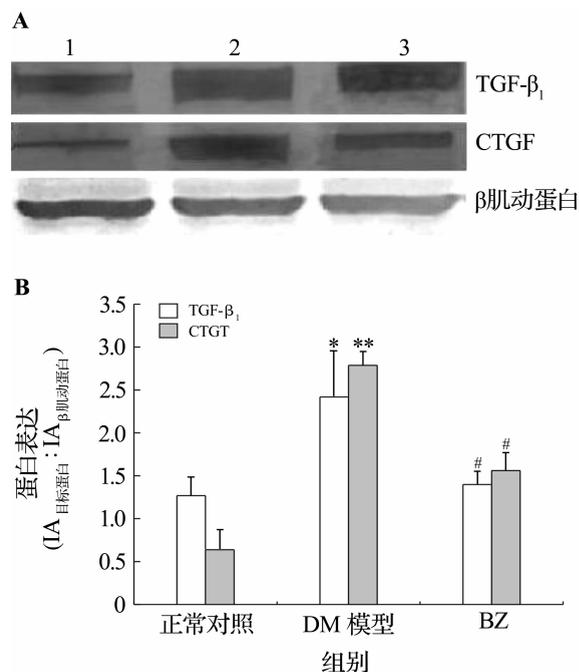


图5 Western 蛋白印迹法检测贝那普利对糖尿病大鼠心肌组织的转化生长因子 β_1 (TGF- β_1), 结缔组织生长因子 (CTGF) 蛋白表达的影响 (A) 及定量分析结果 (B). 条带 1: 正常对照组; 条带 2: DM 模型组; 条带 3: BZ 组. $\bar{x} \pm s, n=3$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与正常对照组比较; # $P < 0.05$, 与 DM 模型组比较.

Fig.5 Effect of benazepril on cardiomyocyte transforming growth factor- β_1 (TGF- β_1), connective tissue growth factor (CTGF) expression in diabetic rats by Western blotting (A) and semiquantitative results (B).

3 讨论

正常心脏细胞外基质的主要成分为胶原,由心肌间隙中成纤维细胞产生和分泌的胶原纤维组成,分布于心脏细胞外基质中的胶原主要为胶原 I 型及 III 型。Searls 等^[8]研究表明,糖尿病时心肌成纤维细胞过度增生,可导致胶原合成增多,表现为胶原 I 型及 III 型增多,比例升高。本实验中糖尿病病程 12 周时,糖尿病大鼠心肌胶原 I 型及 III 型表达明显增多,HMI 和 LVMI 较正常对照组明显增高,病理结果显示心肌间质纤维增生;表明此时糖尿病大鼠已存在心肌间质纤维化及细胞外基质重构。

Van Linthout 等^[9]证实,在 STZ 诱导的糖尿病仓鼠中可观察到 MMP-2 mRNA 的表达,其前体以及活化的 MMP-2 的含量均有减少,同时伴 TIMP-2 含量增多。本研究显示,糖尿病大鼠 12 周时心肌 MMP-2 表达减少,同时 TIMP-2 表达增加。表明糖尿病病程 12 周时 MMP-2 的活性减弱,TIMPs 的生物活性相对增强;并且左室心肌胶原 I 型及 III 型含量明显增加。提示 MMPs 与 TIMPs 二者平衡的失

调可使细胞外基质胶原合成和降解的平衡偏移,结果导致细胞外基质胶原含量的增多。

有研究显示糖尿病过程中心肌组织内 TGF- β_1 含量增多^[10]。增多的 TGF- β_1 在 ECM 和毛细血管基底膜处与间质蛋白相结合,通过其 I 型受体介导心脏成纤维细胞内 DNA 合成,增加各种 ECM 成分,包括胶原 I 型及 III 型等。此外,有研究发现 TGF- β_1 可增加纤溶酶原激活物抑制剂 PAI-1 的分泌,抑制纤溶酶原激活而影响 MMP 活性,导致 ECM 降解减少^[11-12]。本研究中病程 12 周时,糖尿病大鼠左心室心肌 TGF- β_1 明显增多,提示 TGF- β_1 在心肌组织中过表达是导致糖尿病大鼠心肌胶原含量增多的原因之一。TGF- β_1 可通过 CTGF 依赖性途径诱导胶原合成,刺激 ECM 合成,而 CTGF 则维持纤维化的发展^[13],具体作用机制还有待进一步研究。Way 等^[14] 研究发现,STZ 诱导的糖尿病小鼠心肌中,CTGF mRNA 的表达量是正常对照组动物的 2.4 倍。Cheng 等^[15] 研究发现,糖尿病大鼠心肌细胞 CTGF 基因及蛋白表达亦增加,并参与了心肌纤维化进程。本研究显示,糖尿病大鼠左心室心肌 CTGF 与 TGF- β_1 表达均明显增加,表明糖尿病心肌损害与 CTGF 过度表达有关,CTGF 与 TGF- β_1 参与了糖尿病心肌纤维化的发生。且 TGF- β_1 及 CTGF 的上调,可影响 MMP2, TIMP-2 表达,促使细胞外基质胶原降解受抑制,导致细胞外基质中胶原沉积相对增多。

肾素-血管紧张素系统 (renin-angiotensin system, RAS) 的过度激活,血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II) 的异常作用与糖尿病心肌病密切相关^[16-18]。本课题前期研究结果显示,12 周时糖尿病大鼠心肌 Ang II 明显升高^[4];本实验发现糖尿病大鼠心肌 TGF- β_1 和 CTGF 表达也随之增强,而 MMP-2 表达减少,TIMP-2 表达增多,导致胶原 I 型及 III 型表达增加。应用 BZ 后,大鼠心肌组织 TGF- β_1 和 CTGF 表达均明显降低,MMP-2 表达增多,TIMP-2 减少,且心肌中胶原 I 型及 III 型含量降低。提示 Ang II 可通过刺激 TGF- β_1 , CTGF 的表达参与糖尿病心肌纤维化的发生发展。BZ 通过减少 Ang II 形成^[4],下调 TGF- β_1 及 CTGF 表达,增加 MMP-2 表达,从而减少心肌胶原含量,减轻心肌间质纤维化,改善糖尿病心肌细胞外基质重构。

综上所述,糖尿病心肌细胞外基质重塑与 TGF- β_1 及 CTGF 过度表达有关,BZ 通过减少 Ang II 的形成,抑制 TGF- β_1 及 CTGF 表达减少,进而影响 MMP-2 和 TIMP-2 活性,抑制糖尿病心肌细胞外基质重构。

参考文献:

- [1] Vaughan TB, Bell DS. Diabetic cardiomyopathy [J]. *Heart Fail Clin*, 2006, **2**(1):71-80.
- [2] Li Q, Sun SZ, Wang Y, Tian YJ, Liu MH. The roles of MMP-2/TIMP-2 in extracellular matrix remodelling in the hearts of STZ-induced diabetic rats [J]. *Acta Cardiol*, 2007, **62**(5):485-491.
- [3] Matsui Y, Sadoshima J. Rapid upregulation of CTGF in cardiac myocytes by hypertrophic stimuli: implication for cardiac fibrosis and hypertrophy [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2004, **37**(2):477-481.
- [4] 符丽娟,王洪新,包翠芬. 贝那普利对糖尿病大鼠心肌细胞凋亡及左心室重构的影响 [J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2010, **24**(3):185-190.
- [5] Thomas G, Ramwell PW. Streptozotocin: a nitric oxide carrying molecule and its effect on vasodilation [J]. *Eur J Pharmacol*, 1989, **161**(2-3):279-280.
- [6] Singh VP, Le B, Khode R, Baker KM, Kumar R. Intracellular angiotensin II production in diabetic rats is correlated with cardiomyocyte apoptosis, oxidative stress, and cardiac fibrosis [J]. *Diabetes*, 2008, **57**(12):3297-3306.
- [7] Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent [J]. *J Biol Chem*, 1951, **193**(1):265-275.
- [8] Searls YM, Smirnova IV, Fegley BR, Stehno-Bittel L. Exercise attenuates diabetes-induced ultrastructural changes in rat cardiac tissue [J]. *Med Sci Sports Exerc*, 2004, **36**(11):1863-1870.
- [9] Van Linthout S, Seeland U, Riad A, Eckhardt O, Hohl M, Dhayat N, et al. Reduced MMP-2 activity contributes to cardiac fibrosis in experimental diabetic cardiomyopathy [J]. *Basic Res Cardiol*, 2008, **103**(4):319-327.
- [10] Khan R, Sheppard R. Fibrosis in heart disease: understanding the role of transforming growth factor-beta in cardiomyopathy, valvular disease and arrhythmia [J]. *Immunology*, 2006, **118**(1):10-24.
- [11] Rosenkranz S. TGF-beta1 and angiotensin networking in cardiac remodeling [J]. *Cardiovasc Res*, 2004, **63**(3):423-432.
- [12] Singh R, Song RH, Alavi N, Pegoraro AA, Singh AK, Leehey DJ. High glucose decreases matrix metalloproteinase-2 activity in rat mesangial cells via transforming growth factor-beta1 [J]. *Exp Nephrol*, 2001, **9**(4):249-257.
- [13] Brooks BA, Franjic B, Ban CR, Swaraj K, Yue DK, Celermajer DS, et al. Diastolic dysfunction and abnormalities of the microcirculation in type 2 diabetes [J]. *Diabetes Obes Metab*, 2008, **10**(9):739-746.

- [14] Way KJ, Isshiki K, Suzuma K, Yokota T, Zvagelsky D, Schoen FJ, *et al.* Expression of connective tissue growth factor is increased in injured myocardium associated with protein kinase C beta2 activation and diabetes [J]. *Diabetes*, 2002, **51**(9):2709-2718.
- [15] Cheng M, Gao HQ, Xu L, Li BY, Zhang H, Li XH. Cardioprotective effects of grape seed proanthocyanidins extracts in streptozocin induced diabetic rats [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2007, **50**(5):503-509.
- [16] Connelly KA, Boyle AJ, Kelly DJ. Angiotensin II and the cardiac complications of diabetes mellitus[J]. *Curr Pharm Des*, 2007, **13**(26):2721-2729.
- [17] Tsutsui H, Matsushima S, Kinugawa S, Ide T, Inoue N, Ohta Y, *et al.* Angiotensin II type 1 receptor blocker attenuates myocardial remodeling and preserves diastolic function in diabetic heart[J]. *Hypertens Res*, 2007, **30**(5):439-449.
- [18] Xu J, Carretero OA, Lin CX, Cavaasin MA, Shesely EG, Yang JJ, *et al.* Role of cardiac overexpression of ANG II in the regulation of cardiac function and remodeling postmyocardial infarction[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007, **293**(3):H1900-H1907.

Effects of benazepril on expression of matrix metalloproteinase and transforming growth factors in myocardial extracellular matrix remodeling of diabetic rats

FU Li-juan¹, WANG Hong-xin¹, BAO Cui-fen², SUI Hai-juan¹

(1. Department of Pharmacology, 2. Center of Scientific Experiments, Liaoning Medical University, Jinzhou 121001, China)

Abstract: OBJECTIVE To study the mechanism of benazepril (BZ) on myocardial extracellular matrix remodeling of diabetic rats. **METHODS** Diabetic animal models were induced by injecting streptozotocin into Sprague-Dawley rats. BZ 10 mg·kg⁻¹ was ip given to rats in BZ group, once daily, for 12 weeks. The left ventricular myocardium was observed with the light microscope and electronmicroscope. Heart mass indexes were detected. Collagen type I and type III, matrix metalloproteinases (MMP-2), tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP-2), transforming growth factor-β₁ (TGF-β₁) and connective tissue growth factor (CTGF) were detected by Western blotting. **RESULTS** Compared with normal control group, the heart mass indexes and the expression of collagen type I and type III were higher in diabetes group ($P < 0.05$). TIMP-2 protein in diabetes group were significantly higher while the expression of MMP-2 was significantly lower ($P < 0.01$). The expression of TGF-β₁ and CTGF was obviously strengthened ($P < 0.05$). Myocardial interstitial fibrosis occurred in diabetic rats. After benazepril was used for 12 weeks, compared with diabetes group, the heart mass indexes obviously decreased from (4.13 ± 0.18) mg·g⁻¹ to (3.42 ± 0.13) mg·g⁻¹. The expression of collagen type I and type III was lower ($P < 0.05$). The expression of MMP-2 increased, the expression TIMP-2 decreased ($P < 0.05$), and the expression of TGF-β₁ and CTGF was degraded significantly ($P < 0.05$). Myocardial interstitial fibrosis was also lessened. Compared with normal control group, MMP-2 expression decreased, but the expression of TIMP-2 and CTGF still increased in BZ group. **CONCLUSION** BZ could inhibit the myocardial interstitial fibrosis of diabetic rats, improve myocardial extracellular matrix remodeling by inhibiting of TGF-β₁ and CTGF expression and upregulating MMP-2 expression.

Key words: benazepril; diabetes; extracellular matrix remodeling; matrix metalloproteinase; transforming growth factor-β₁

Foundation item: The project supported by Scientific Technology Item of Liaoning Education Department (20060523); and by Tackle Key Project in Science and Technology of Liaoning Province (2009225010-40)

Corresponding author: FU Li-juan, E-mail: flj1988@163.com, Tel: (0416)4673408

(来稿日期: 2010-10-08 接受日期: 2011-02-23)

(本文编辑: 乔虹)

