

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.03.005

烟酰胺核糖抑制小鼠糖尿病心肌病损伤的作用研究 *

吴 萌^{1,2} 吕 平¹ 杨亚丽¹ 李 巍¹ 尹志勇^{1Δ} 李 妍^{1Δ}

(1 第四军医大学西京医院心内科 陕西 西安 710032; 2 杨凌示范区医院心内科 陕西 杨凌 712100)

摘要 目的:探讨烟酰胺核糖(Nicotinamide riboside, NR)在糖尿病小鼠心肌病中的保护作用及其可能机制。**方法:**80只20~25g雄性昆明小鼠随机分为对照组(n=20)、对照+NR组(n=20)、DCM组(n=20)、DCM+NR组(n=20)。链脲佐菌素(STZ)对小鼠腹腔注射诱导1型糖尿病,最后1次STZ注射完成后第5日,血糖仪检测小鼠尾静脉血葡萄糖水平,三次测量随机血糖均 ≥ 16.7 mmol/L的视为糖尿病小鼠。糖尿病小鼠继续喂养12w,小动物超声检测提示心功能减退的为DCM小鼠。从中随机选出20只,腹腔注射NR(1000 mg/kg),2次/日,连续2w,为DCM+NR组。采用小动物超声分别检测各组小鼠心功能,天狼星红染色观察各组小鼠的心肌纤维化程度,Western blot检测心肌组织Atg7、Beclin-1、P62、Sirt3的表达。**结果:**与DCM组相比,DCM+NR组左室射血分数[LVEF(%)]增加($P<0.01$),为DCM组的2.12倍;左室短轴缩短率[LVFS(%)]增加($P<0.01$),为DCM组的2.79倍;左心室收缩末期容积(LV Vol;s)降低($P<0.01$),为DCM组的0.25;左心室舒张末期容积(LV Vol;d)降低($P<0.01$),为DCM组的0.66;心肌纤维化程度减少($P<0.01$),为DCM组的0.63;Atg7、Beclin-1、Sirt3表达增加($P<0.05$),P62表达降低($P<0.01$)。**结论:**NR能够减轻小鼠DCM心肌间质纤维化、改善心功能,Sirt3通路的激活可能参与了NR减轻小鼠DCM损伤的保护作用。

关键词: 烟酰胺核糖;糖尿病心肌病;Sirt3**中图分类号:** R-33; R587.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2018)03-423-05

Nicotinamide Riboside Attenuates Injury of Mouse Diabetic Cardiomyopathy and Possible Mechanism*

WU Meng^{1,2}, LV Ping¹, YANG Ya-li¹, LI Wei¹, YIN Zhi-yong^{1Δ}, LI Yan^{1Δ}

(1 Department of Cardiology, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China;

2 Department of Cardiology, Yang Ling demonstration area hospital, Yangling, Shaanxi, 712100, China)

ABSTRACT Objective: To observe the protective effects and mechanism of Nicotinamide riboside for the injury of mouse diabetic cardiomyopathy. **Methods:** Eighty male Kunming mice (20~25 g) were randomly divided into four groups: control group (n=20), control+NR group (n=20), diabetic cardiomyopathy (DCM) group (n=20) and DCM+NR group (n=20). The mice were intraperitoneally injected with streptozotocin to induce type 1 diabetes. Mice with random blood glucose ≥ 16.7 mmol/L were considered as diabetic mice and they were fed for 12 weeks. Mice with impaired cardiac functions evidenced by echocardiography were chosen as diabetic cardiomyopathy mice and twenty of them were randomly chosen to receive intraperitoneal injection of NR (1000 mg/kg, twice daily) for 2 consecutive weeks, grouped as DCM+NR group. Cardiac functions were evaluated by echocardiography. Myocardial interstitial fibrosis was evaluated by Sirius red staining. Expressions of Atg7, Beclin-1, P62, Sirt3 were detected by Western blotting. **Results:** Compared with those in DCM group, the values of LVEF and LVFS in DCM+NR group were increased: the values of LVEF with 2.12 times to the DCM group, the values LVFS with 2.79 times to the DCM group. While the values of LV Vol; s and LV Vol; d were decreased ($P<0.01$): the LV Vol; s with 0.25 times to the DCM group, the LV Vol; d with 0.63 times to the DCM group. Compared with those in DCM group, myocardial interstitial fibrosis was reduced in DCM+NR group ($P<0.01$) and expressions of Atg7, Beclin-1, Sirt3 were increased ($P<0.01$, $P<0.01$ and $P<0.05$, respectively) and expressions of P62 was decreased ($P<0.05$ and $P<0.01$). **Conclusion:** Nicotinamide riboside could reduce myocardial interstitial fibrosis and improve cardiac function in diabetic cardiomyopathy mice. These protective effects of NR may possibly be through the activation of Sirt3 signal pathway.

Key words: Nicotinamide riboside; Diabetic cardiomyopathy; Sirt3**Chinese Library Classification(CLC):** R-33; R587.2 **Documents code:** A**Article ID:** 1673-6273(2018)03-423-05

前言

糖尿病是心血管疾病的独立危险因素,糖尿病的主要并发症以心血管系统并发症为主要表现,心血管系统并发症也是导

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81570252;81500195)

作者简介:吴萌(1986-),硕士研究生,住院医师,从事糖尿病心肌病研究,电话:15109246833, E-mail: 1104302815@qq.com

Δ 通讯作者:李妍(1974-),博士,副主任医师,主要从事冠心病基础及临床研究,电话:13892890227, E-mail: liyanfmmu@hotmail.com;

尹志勇(1982-),主治医师,讲师,主要从事缺血性心脏病损伤与保护研究,电话:13519167486, E-mail: zhiyong_yin@163.com

(收稿日期:2017-05-28 接受日期:2017-06-23)

致糖尿病患者致死致残的重要原因^[1]。Rubler 等^[2]首次提出了糖尿病心肌病(Diabetic Cardiomyopathy, DCM)的概念,其表现为心肌细胞凋亡增加、心肌间质纤维化^[3]。左室舒张功能受损,后期收缩功能亦受损,最终导致心力衰竭^[4]。有学者认为,糖尿病小鼠自噬下调,线粒体形态异常,心肌纤维减少,心功能恶化,推测自噬减少可能导致 DCM 的原因之一^[7]。目前认为,Atg7、Beclin-1 作为自噬标志物,与自噬呈正相关,P62 可作为另一个自噬标志物,与自噬呈负相关。自噬可以减轻糖尿病状态下各种应激状态(高血糖、高胰岛素血症、氧化应激等)对于机体的损伤^[8]。

NR 是天然存在于牛奶中的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺)的前体物质^[9]。研究表明 NR 能提高组织中的 NAD 水平,从而增加胰岛素敏感性、提高线粒体合成、进而增强 Sirtuin 家族的功能、抵抗高脂饮食损害,Sirtuin 家族是一组具有 NAD⁺ 依赖性的去乙酰基转移酶,广泛参与到衰老、肿瘤、心血管病等生理病理过程^[10,11]。

1 材料和方法

1.1 材料

80 只雄性昆明鼠,(8~12)周龄,体重(20~25)g,由第四军医大学动物中心提供。药品烟酰胺核糖(购自中国汤普森生物有限公司)。二甲基亚砜(DMSO)BCA 蛋白定量试剂盒(购自美国 Sigma 公司),兔抗 Sirt3 抗体(购自美国 Cell Signaling 公司),兔抗 Atg7 抗体,兔抗 P62 抗体(购自英国 Abcam 公司),兔抗 Beclin-1 抗体(购自美国 Cell Signaling 公司),链脲佐菌素 STZ(购自美国 Sigma 公司);鼠抗 GAPDH 抗体(购自中国中杉金桥公司),聚偏二氟乙烯(PVDF)膜(购自美国 Milipore 公司)。Lipofectamine TM2000(购自美国 Milipore 公司)。Visual Sonics Vevo770 型小动物超声仪(购自 Phillips SONOS 5500),荧光显微镜(购自日本 Olympus 株式会社)。

1.2 方法

1.2.1 实验分组和小鼠 DCM 模型的建立 (8~12)周龄,体重(20~25)g 昆明小鼠,腹腔内注射链脲佐菌素 STZ(50 mg/kg),连续注射 5d。自最后一次 STZ 注射完成后的第 5d,血糖仪检测小鼠尾静脉血糖葡萄糖含量,三次测量随机血糖 ≥ 16.7 mmol/L 为糖尿病小鼠^[12],继续喂养 12w,小动物超声显示心功能减退的小鼠为 DCM 小鼠。随机选出 20 只,腹腔注射 NR(1000 mg/kg),2 次/日,连续 2 w,为 DCM+NR 组。随机选取 20 只 DCM 小鼠,继续喂养 2 w,为 DCM 组。20 只对照组(CON 组),每天腹腔注射同等体积的生理盐水。CON+NR 组,共 20 只,腹腔给药开始时间和 DCM+NR 组小鼠相同,腹腔注 NR(1000 mg/kg),2 次/日,连续 2 w。

1.2.2 小鼠心功能超声检测 小鼠胸部备皮,麻醉后仰卧位固定,利用 Visual Sonics Vevo770 型小动物超声检测系统记录各组小鼠心功能的变化。根据所记录到的 M 型超声图像,用超声分析软件测量各组小鼠的左心室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)、左心室缩短分数(left ventricular fractional shortening, LVFS)、左心室收缩末期容积(LV Vol;s)、左心室舒张末期容积(LV Vol;d)。

1.2.3 心肌细胞纤维化的天狼星红染色 将小鼠麻醉,取出心脏,用 PBS 将心脏残余血液洗净,投入 40 g/L 多聚甲醛中,4℃ 过夜,进行石蜡包埋以及染片。普通光学显微镜(Olympus)观察各组小鼠心脏天狼星红染色结果,红色为胶原纤维。每组内每张切片随机挑选 3 个 200 倍视野进行拍照,应用 Image-Pro Plus6.0 软件得出每张照片红色胶原纤维占整个组织面积的比率即胶原纤维的面积百分比(%)。

1.2.4 Western blot 检测心肌组织蛋白的表达 取小鼠左心室前壁组织加入蛋白裂解液,低温研磨后置于冰上作用 30 min,离心后取上清,吸取上清时切不可触及沉淀物,以牛血清白蛋白为标准,用 Bradford 法进行蛋白定量。取蛋白进行 SDS-PAGE 电泳,然后转膜至 PVDF 膜上。该膜在含脱脂奶粉的封闭液中封闭 37℃ 作用 1 h 后,滴加入 1:1000 的抗 Atg7、Beclin-1、P62、Sirt3 抗体,4℃ 摇床孵育过夜,TBST 液洗 3 次,滴加 HRP 山羊抗兔 IgG 抗体(中杉金桥,1:5000 稀释)孵育 1h,TBST 液洗 3 次。用化学发光法检测目的条带,并用 Bio-image (Bio-Rad)系统记录,以 GAPDH 为内参标化各蛋白表达的水平。

1.3 统计学处理

采用 SPSS16.0 统计软件进行统计学分析,计量资料数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用 GraphPad Prism 5.0 进行统计分析和制图,各组之间比较采用 One-way ANOVA 分析,两两比较采用 Bonferroni 检验, $P \leq 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠一般情况比较

80 只雄性昆明鼠,购自第四军医大学,年龄:8W,体重:(25 $\pm$ 1.056) g;小鼠一般状态可饮水正常,尿量正常;糖尿病小鼠造模成功后,体重,一般状态,饮水,尿量均无明显变化。继续喂养 12 W,正常组小鼠,体重(43 $\pm$ 2.856)g;小鼠体型肥胖,一般状态可,饮水、尿量均正常;糖尿病组小鼠,体重(18 $\pm$ 1.756) g;小鼠消瘦,一般状态差,多饮,多尿,体重下降。

2.2 各组心功能的小动物超声检测仪检测

小动物超声检测仪结果显示,与 CON 组相比,CON+NR (LVEF(83 $\pm$ 2.963)%,LVFS(50.67 $\pm$ 1.778)%,LVVol;s(11.67 $\pm$ 1.736) μ L, LV Vol;d(65 $\pm$ 2.653) μ L)组的心功能无明显差异。与 CON (LVEF (74 $\pm$ 3.055)%,LVFS (35.3 $\pm$ 1.764)%,LVVol;s (29.33 $\pm$ 2.012) μ L, LV Vol;d(69.33 $\pm$ 2.963) μ L)组比较,DCM (LVEF (33 $\pm$ 2.887)%,LVFS (14.33 $\pm$ 1.782)%,LVVol;s (52 $\pm$ 2.309) μ L, LV Vol;d(83 $\pm$ 2.867) μ L)心功能降低,表现为 LV Vol;s 和 LV Vol;d 增大 ($P < 0.01$ 和 $P < 0.05$),LVEF 及 LVFS 均降低 ($P < 0.01$)。与 DCM 组比较,DCM+NR (LVEF (70 $\pm$ 2.646)%,LVFS(40 $\pm$ 1.355)%,LVVol;s(13 $\pm$ 2.082) μ L, LV Vol;d(53 $\pm$ 2.362) μ L)组的 LV Vol;s 和 LV Vol;d 较 DCM 组有降低(分别 $P < 0.01$),LVEF 和 LVFS 均升高($P < 0.01$),见图 1。

2.3 心肌细胞纤维化的天狼星红染色

与 CON 组比较,CON+NR 组的纤维化程度无明显变化,DCM 组小鼠心肌纤维化程度增加($P < 0.01$)。与 DCM 组比较,DCM+NR 组心肌纤维化程度减轻($P < 0.01$),见图 2。

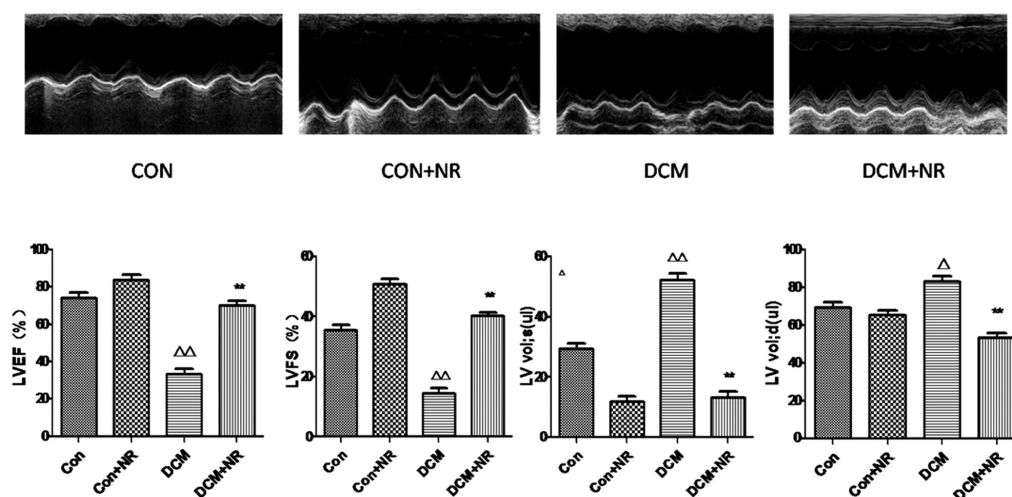


图1 各组心功能的小动物超声检测仪检测(Δ $P<0.05$, $\Delta\Delta$ $P<0.01$ VS CON; $*$ $P<0.05$, $**P<0.01$ VS DCM)

Fig.1 Detection of cardiac function in small animals by ultrasonic detector(Δ $P<0.05$, $\Delta\Delta$ $P<0.01$ VS CON; $*$ $P<0.05$, $**P<0.01$ VS DCM)

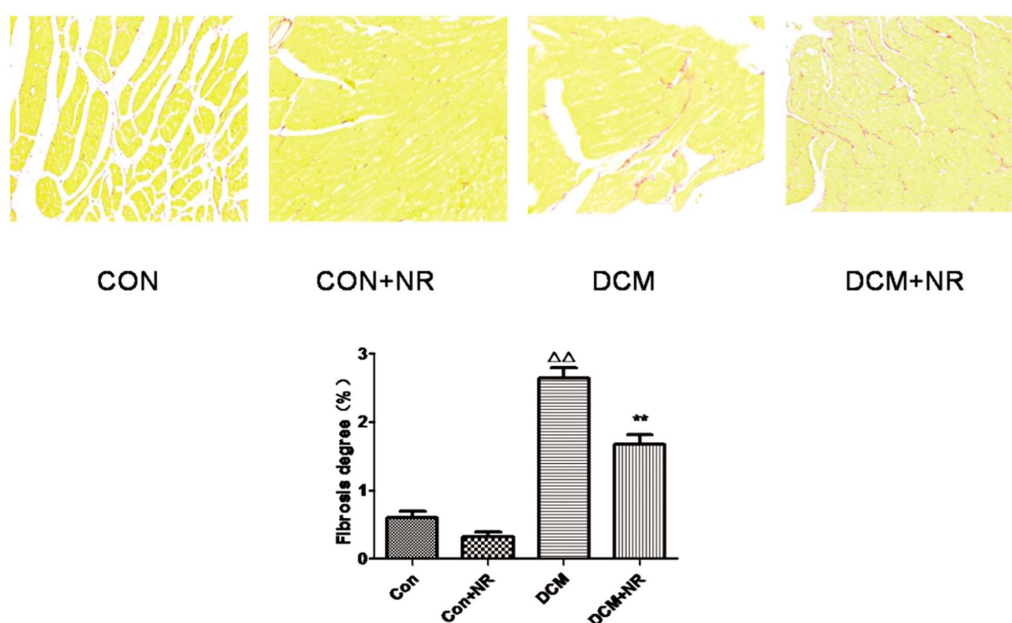


图2 各组心肌间质纤维化的程度(Δ $P<0.05$, $\Delta\Delta$ $P<0.01$ VS CON; $*$ $P<0.05$, $**P<0.01$ VS DCM)

Fig.2 The degree of interstitial fibrosis in each group(Δ $P<0.05$, $\Delta\Delta$ $P<0.01$ VS CON; $*$ $P<0.05$, $**P<0.01$ VS DCM)

2.4 各组心肌组织蛋白表达的 Western blot 检测

CON 组和 CON+NR 组的 Atg7, P62 蛋白表达水平差异无统计学意义。与 CON 组比较, DCM 组 Atg7, Beclin-1, Sirt3 蛋白

表达水平降低($P<0.01$), P62 表达升高($P<0.01$)。与 DCM 组比较, DCM+NR 组 Atg7, Beclin-1 蛋白表达增加($P<0.01$), Sirt3 蛋白表达增加($P<0.05$); P62 蛋白表达降低($P<0.01$), 见图 3。

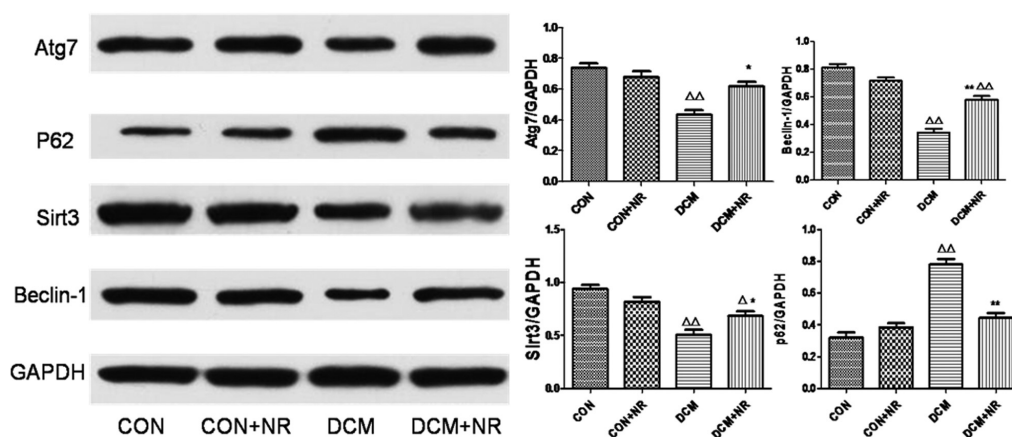


图3 各组心肌组织蛋白表达的 Western blot 检测(Δ $P<0.05$, $\Delta\Delta$ $P<0.01$ VS CON; $*$ $P<0.05$, $**P<0.01$ VS DCM)

Fig.3 Blot protein expression of myocardial tissue in each group by Western(Δ $P<0.05$, $\Delta\Delta$ $P<0.01$ VS CON; $*$ $P<0.05$, $**P<0.01$ VS DCM)

3 讨论

在现代生活中,随着人们生活水平的提高,饮食习惯的改变,生活方式的改变,目前糖尿病的发病率明显升高,预计到2025年,全球将有3.80亿人受到糖尿病的困扰,中国是世界上的人口大国,到2013年,中国的糖尿病患者已达世界首位,而随之带来的经济负担,生活压力的增加及身体所承受疾病的折磨也是令人担忧的。糖尿病本身并不可怕,可怕的是随着病情的进展,病程的延长,可出现一系列并发症,包括糖尿病视网膜病变,糖尿病肾病,糖尿病周围神经病变,糖尿病大血管病变,糖尿病心肌病变等各种并发症;将给患者带来巨大的经济压力,病人也将承受着疾病的折磨,特别是1型糖尿病患者,病人发病年轻,通常在30岁前患病,而且更多的是在16岁之前发病;起病急,多饮、多尿、多食,体力减少,明显消瘦;而且易发生糖尿病酮症酸中毒,且肾病,视网膜病变等发生早而多;所以治疗糖尿病刻不容缓,治疗糖尿病的各种并发症也不容懈怠。在糖尿病的各种并发症中心血管系统并发症是导致糖尿病患者致死致残的重要原因^[1]。随着糖尿病病人的增加,糖尿病心肌病的发生率也迅速上升。糖尿病心肌病是糖尿病状态下一组独立的心肌病变,被视为糖尿病独立的并发症。早期有研究表明,糖尿病患者有心肌纤维化的变化^[13],DCM是以心肌间质纤维化、心肌细胞凋亡增加以及左心室功能不全为特征的一种代谢性疾病^[14]。此外,由于心肌细胞的丢失,胶原沉积增加,心室壁的顺应性降低,最终导致心室舒张功能障碍^[15]。DCM早期可没有心功能的改变,但随着时间的推移,疾病的发展,可出现心功能的减退^[16]。目前对于DCM的治疗没有特异性的方法,主要针对糖尿病基础病的治疗,心肌细胞的保护和相关临床症状的治疗^[16]。我们的实验结果表明,与正常组小鼠相比,DCM组小鼠心功能下降,表现为左室射血分数及左室短轴收缩率下降,左心室舒张末期容积及左心室收缩末期容积增加;与DCM组相比,DCM+NR组左室射血分数及左室短轴收缩率增加,左心室收缩末期容积和左心室舒张末期容积降低。与正常组小鼠相比,DCM组小鼠心肌纤维化程度增加;与DCM组相比,DCM+NR组心肌纤维化程度减少。证实了,NR对于改善DCM小鼠心脏功能有保护作用。

自噬是真核细胞所特有的生命现象,是依赖溶酶体的能有效降解变性蛋白及老化细胞器的代谢通路^[17]。自噬是一种重要的动力循环系统,广泛存在于全身各系统中细胞进行自我保护和更新的重要机制,维持细胞内物质及能量代谢平衡。生理状态下,细胞自噬对于保持正常心脏结构和功能有着重要意义^[18]。自噬可以抵御外界的不良环境,在多种疾病中起着重要作用,然而自噬有着双重作用,自噬广泛参与到心血管系统疾病中:参与到心肌肥大、心力衰竭,动脉粥样硬化,心肌的缺血再灌注损伤,衰老心肌中,在不同的状态下所起的作用也不尽相同。有研究证实,自噬参与到心力衰竭过程中发生的心肌肥大和心室重构,参与到心衰的发生和发展,在心力衰竭过程中,自噬可保护心肌,但若是过度激活自噬,也可引起细胞死亡,进一步恶化心功能。

NR是天然存在于牛奶中的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺)的前体物质,因其无

毒性,细胞穿透性强,不易被血清水解酶灭活,是良好的外源性NAD⁺补充物质^[9]。NR易被摄取,在不同哺乳细胞系可使NAD⁺升高50%-170%,NR进入细胞内,NR激活启动其代谢,最终生成NAD⁺烟酰胺核糖进入细胞后,被烟酰胺核糖激酶分解为烟酰胺单核苷酸,烟酰胺单核苷酸再经过烟酰胺单核苷酸腺苷酰基转移酶分解为NAD⁺发挥重要作用^[19],有文献报道,NR可通过升高细胞线粒体内的NAD⁺水平,进一步激活线粒体乙酰化SIRT3,抵抗噪音诱发的听力丧失和螺旋神经节神经突的退化^[20]。研究表明,给予饮食补充NR,可通过调节线粒体功能等改善高脂饮食引起的小鼠代谢紊乱^[21]。Sirtuin家族是一组具有NAD⁺依赖性的去乙酰基转移酶,广泛参与到衰老、肿瘤、心血管病等生理病理过程^[10,11]。SIRT3广泛作用与多种蛋白,参与多种细胞生物过程,SIRT3是其中惟一发现与人类长寿相关的重要信号分子。Sirt3具有心肌保护作用^[22],SIRT3定位于线粒体中,是调节线粒体蛋白去乙酰化的重要酶。NAD⁺是SIRT3催化去乙酰化反应的辅助因子,由于SIRT3的Km值较高,因此NAD⁺水平是SIRT3发挥去乙酰化作用的重要限制因子^[23]。有研究指出^[24],在离体和在体细胞中,Sirt1能使Atg7、Atg8去乙酰化,进而促进细胞自噬。说明Atg蛋白产物上有赖氨酸乙酰化位点,因而Sirt3可能作用于该类蛋白而调节自噬^[25],可通过促进细胞内自噬而保护受损心肌,我们的实验结果表明,与正常组相比,DCM组自噬相关蛋白Atg7、Beclin-1表达降低,Sirt3的表达亦降低,P62表达增加,与DCM组相比,DCM+NR组自噬相关蛋白Atg7、Beclin-1表达增加,Sirt3表达增加,P62表达降低。证实了NR可通过SIRT3的表达促进自噬蛋白的表达,对糖尿病心肌病的损伤有保护作用。

本研究证实小鼠DCM心肌组织心功能减低、心肌间质纤维化增加,Sirt3表达下降,NR可以减轻小鼠DCM的心肌间质纤维化、改善心功能。同时,NR能够上调Sirt3的表达,提示Sirt3通路的激活可能参与了NR减轻小鼠DCM损伤的保护作用,为临床治疗DCM提供了新的思路。

参考文献(References)

- [1] Reddy V S, Reddy G B. Role of crystallins in diabetic complications [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1860(1 Pt B): 269-277
- [2] 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
- [3] Westermann D, Rutschow S, Jager 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): 641-646
- [4] Fein F S. Diabetic cardiomyopathy [J]. *Diabetes Care*, 1990, 13(11): 1169-1179
- [5] Statsenko M E, Turkina S V, Shalaeva S S, et al. Impaired cardiac structural and functional parameters in patients with chronic heart failure and diabetic cardiac autonomic neuropathy[J]. *Ter Arkh*, 2013, 85(10): 23-28
- [6] Xie Z, Lau K, Eby B, et al. Improvement of cardiac functions by chronic metformin treatment is associated with enhanced cardiac autophagy in diabetic OVE26 mice[J]. *Diabetes*, 2011, 60(6): 1770-1778
- [7] 屈岭,梁晓春.自噬对糖尿病慢性并发症的影响[J].*基础医学与临床*,

- 2013, (05): 631-634
- Qu Ling, Liang Xiao-chun. Effect of autophagy on diabetic chronic complications[J]. Basic & Clinical Medicine, 2013, (05): 631-634
- [8] Bieganski P, Brenner C. Discoveries of nicotinamide riboside as a nutrient and conserved NRK genes establish a Preiss-Handler independent route to NAD⁺ in fungi and humans [J]. Cell, 2004, 117(4): 495-502
- [9] Pillai V B, Sundaresan N R, Jeevanandam V, et al. Mitochondrial SIRT3 and heart disease[J]. Cardiovasc Res, 2010, 88(2): 250-256
- [10] Brown K, Xie S, Qiu X, et al. SIRT3 reverses aging-associated degeneration[J]. Cell Rep, 2013, 3(2): 319-327
- [11] 冯娜, 徐英进, 董曦, 等. 磁标记内皮祖细胞移植对糖尿病大鼠肾功能改善的作用: MRI 成像验证 [J]. 中国组织工程研究, 2017, (05): 713-717
- Feng Na, Xu Ying-jin, Dong Xi, et al. Effect of magnetic endothelial progenitor cell transplantation on renal function of diabetic rats: a MRI imaging verification [J]. Chinese Journal of Tissue Engineering Research, 2017, (05): 713-717
- [12] Gherasim L, Tasca C, Havriliuc C, et al. A morphological quantitative study of small vessels in diabetic cardiomyopathy [J]. Morphol Embryol (Bucur), 1985, 31(3): 191-195
- [13] Ward M L, Crossman D J. Mechanisms underlying the impaired contractility of diabetic cardiomyopathy [J]. World J Cardiol, 2014, 6(7): 577-584
- [14] Gill C, Mestrl R, Samali A. Losing heart: the role of apoptosis in heart disease--a novel therapeutic target?[J]. FASEB J, 2002, 16(2): 135-146
- [15] 郑锡锋, 吴铿. 糖尿病心脏病临床诊治进展 [J]. 中国医学创新, 2014, (14): 149-152
- Zheng Xi-feng, Wu Keng. The Progress of Clinical Diagnosis and Treatment in Diabetic Cardiomyopathy [J]. Medical Innovation of China, 2014(14): 149-152
- [16] Levine B, Klionsky D J. Development by self-digestion: molecular mechanisms and biological functions of autophagy [J]. Dev Cell, 2004, 6(4): 463-477
- [17] Martinet W, Knaapen M W, Kockx M M, et al. Autophagy in cardiovascular disease[J]. Trends Mol Med, 2007, 13(11): 482-491
- [18] Chi Y, Sauve A A. Nicotinamide riboside, a trace nutrient in foods, is a vitamin B3 with effects on energy metabolism and neuroprotection [J]. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2013, 16(6): 657-661
- [19] Brown K D, Maqsood S, Huang J Y, et al. Activation of SIRT3 by the NAD(+) precursor nicotinamide riboside protects from noise-induced hearing loss[J]. Cell Metab, 2014, 20(6): 1059-1068
- [20] Canto C, Houtkooper R H, Pirinen E, et al. The NAD (+) precursor nicotinamide riboside enhances oxidative metabolism and protects against high-fat diet-induced obesity [J]. Cell Metab, 2012, 15 (6): 838-847
- [21] Ahn B H, Kim H S, Song S, et al. A role for the mitochondrial deacetylase Sirt3 in regulating energy homeostasis[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(38): 14447-14452
- [22] Canto C, Auwerx J. Targeting sirtuin 1 to improve metabolism: all you need is NAD(+)?[J]. Pharmacol Rev, 2012, 64(1): 166-187
- [23] Jing E, Emanuelli B, Hirschey M D, et al. Sirtuin-3 (Sirt3) regulates skeletal muscle metabolism and insulin signaling via altered mitochondrial oxidation and reactive oxygen species production [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011, 108(35): 14608-14613
- [24] 郭云斌, 刘新伟, 刘玲. Sirt3 在心肌保护方面的研究进展[J]. 临床麻醉学杂志, 2012, (10): 1024-1025
- Wu Yun-bin, Liu Xin-wei, Liu Ling. Research progress of Sirt3 in myocardial protection[J]. J Clin Anesthesiol, 2012, (10): 1024-1025

(上接第 466 页)

- [15] Zhang J, Wang Z, Wang Y, et al. The effect of dexmedetomidine on inflammatory response of septic rats [J]. BMC Anesthesiology, 2015, 15 (1): 68
- [16] Jaime A Riquelmea, Francisco Westermeier, Andrew R. Dexmedetomidine protects the heart against ischemia-reperfusion injury by an endothelial eNOS/NO dependent mechanism[J]. Pharmacological Research, 2016, (103): 318-327
- [17] 张佳雷, 张晓玲. 右美托咪啶在心脏直视手术患者体外循环期的应用效果[J]. 中国实用医刊, 2016, 43(13): 10-16
- Zhang Jia-lei, Zhang Xiao-ling. Effects of dexmedetomidine during cardiopulmonary bypass in patients undergoing open heart surgery[J]. Chinese Clinical Practical Medicine, 2016, 43(13): 10-16
- [18] Cho JS, Shim JK, Soh S, et al. Perioperative dexmedetomidine reduces the incidence and severity of acute kidney injury following valvular heart surgery[J]. Kidney International, 2016, 89(3): 693-700
- [19] S H Lee, Y S Choi, G R Hong, et al. Echocardiographic evaluation of the effects of dexmedetomidine[J]. Anaesthesia, 2015, 70: 1052-1059
- [20] Amanda Jasudavicius, Ramiro Arellano, Janet Martin, et al. A systematic review of transthoracic and transesophageal echocardiography in non-cardiac surgery: implications for point-of-care ultrasound education in the operating room [J]. Canadian Journal of Anesthesia, 2016, 63(4): 480-487