

曲美他嗪降低 1 型糖尿病大鼠心肌组织炎症反应和氧化应激水平

赵云跃¹, 钟钧琳², 谢冬梅¹, 李苏华¹, 罗艳婷¹, 彭 隆¹, 朱洁明¹, 刘金来¹

(中山大学附属第三医院 1.心内科,2.超声科,广东 广州 510630)

摘 要:【目的】探讨曲美他嗪对链佐菌素诱导的 1 型糖尿病大鼠心肌组织肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和超氧化物歧化酶-2(SOD-2)蛋白表达、心肌组织氧化应激水平及心脏功能的影响。【方法】选用 6 周龄雄性 SD 大鼠 30 只,随机分为 3 组:正常对照组(N 组);糖尿病对照组(10 只,C 组);糖尿病联合曲美他嗪干预组(TMZ; 15 mg·kg⁻¹·d⁻¹; N = 10, TMZ 组)。将链佐菌素溶解于 0.1 mol/L 柠檬酸缓冲液中,以 40 mg·kg⁻¹ 剂量腹腔注射大鼠,诱导 1 型糖尿病大鼠模型。TMZ 组以曲美他嗪(15 mg·kg⁻¹·d⁻¹)灌胃,持续 16 周。16 周后采用彩色多普勒超声及颈动脉导管检测大鼠心功能及血流动力学指标,Western blot 技术及试剂盒检测 TNF- α 和 SOD 2 蛋白表达及丙二醛(MDA)水平,称量身体质量(BW)、大鼠左室质量(LVW)、全心质量(HW),HE 染色观察心肌组织形态。【结果】与 N 组相比,C 组心脏功能降低;LVW/HW 及 MDA 增高($P < 0.05$),而 SOD-2 表达降低($P < 0.001$)。与 C 组比较,TMZ 组 TNF- α 、MDA、LVDP 和 LVW/HW 降低,SOD 2 升高($P < 0.05$)。曲美他嗪治疗组心肌组织病理形态改变较糖尿病对照组减轻。【结论】心肌组织 TNF- α 表达上调和氧化应激水平升高在糖尿病发生发展中可能起重要作用。曲美他嗪可降低炎症因子 TNF- α 表达、改善氧化应激损伤、减缓心肌重塑和改善心脏舒张功能。

关键词:曲美他嗪;1 型糖尿病;炎症反应;氧化应激;心室重塑

中图分类号:R541

文献标志码:A

文章编号:1672-3554(2016)03-0390-06

Trimetazidine suppresses Inflammatory Response and Oxidative Stress in Cardiac Tissue of Type 1 Diabetic Rats

ZHAO Yun-yue¹, ZHONG Jun-lin², XIE Dong-mei¹, LI Su-hua¹, LUO Yan-ting¹, PENG Long¹,
ZHU Jie-ming¹, LIU Jin-lai¹

(1.Department of Cardiology, The Third Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China;

2.Department of Ultrasonics, the Third Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China)

Corresponding to: LIU Jin-lai; E-mail: lj.lai@medmail.com.cn

Abstract: 【Objective】To investigate the effect of trimetazidine (TMZ) on oxidative stress level, expressions of TNF- α and SOD-2 from myocardial tissue and cardiac function in the rats with type-1 diabetes induced by streptozotocin. 【Methods】Thirty male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly subdivided into three groups: Group N consisted of normal rats (normal control group, $n = 10$). Group C consisted of diabetic rats (diabetic controls, $n = 10$). Diabetes was induced by a single intraperitoneal injection of STZ at 40 mg/kg body weight in 0.1 M citrate buffered saline. Group TMZ consisted of diabetic rats ($n = 10$) received TMZ (15 mg·kg⁻¹·d⁻¹) orally by gavage for 16 weeks. At 16 weeks, the final body weight (BW), heart weight (HW), and left ventricle weight (LVW) were recorded. And cardiac function and hemodynamic index were assessed by color doppler ultrasound and miniature pressure transducer (Millar Micro-Tip) respectively. We also measured MDA level and the expressions of TNF- α and SOD-2 in the myocardial tissue and observed the myocardial morphology by HE staining. 【Results】Compared with group N, LVW/HW, LVW/BW and MDA rose and the cardiac function decreased in group C ($P < 0.05$). There were lower protein expression of SOD-2 ($P < 0.001$) and higher protein expressions of TNF- α in group C than group N ($P < 0.05$). TMZ treatment successfully up-regulated the SOD-2 expression ($P <$

收稿日期:2015-12-11

基金项目:中国健康促进基金会心脏代谢治疗药物研究基金(20130507)

作者简介:赵云跃,硕士研究生,E-mail:zyymdc@163.com;刘金来,通信作者,主任医师,博士生导师,E-mail:lj.lai@medmail.com.cn

0.05), down-regulated the expression of TNF- α ($P < 0.05$), and reduced MDA level, LVEDP and LVW/HW ($P < 0.05$).
【Conclusion】 The increase of TNF- α protein expression and oxidative stress level may play important roles in the occurrence and development of diabetic cardiomyopathy. Trimetazidine may reduce the protein expression of TNF- α , decrease oxidative stress level and improve cardiac diastolic function.

Key words: trimetazidine; type 1 diabetic; inflammation; oxidative stress; ventricular remodeling

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2016, 37(3):390-395]

糖尿病心肌病是一种独立的糖尿病心血管并发症,是糖尿病常见的慢性并发症之一,其与糖尿病患者的心力衰竭高发生率和高死亡率密切相关,其发病机制十分复杂,至今仍未完全阐明^[1]。目前的研究认为:长期高血糖可通过多种途径激活机体炎症反应,并能引起机体氧化应激水平的升高;氧化应激及炎症反应是引发糖尿病心肌病的关键因素^[2]。而长链脂肪酸 β 氧化的阻断剂之一,3-酮脂酰辅酶A转硫酶抑制剂-曲美他嗪,可有效的改善多种能量代谢紊乱导致的心肌细胞损害,防止晚期心血管事件的发生^[3]。心血管并发症已成为导致糖尿病患者死亡的主要原因之一。然而目前对糖尿病引起的各种心血管并发症的发病机制还未阐释清楚,病情诊断也存在困难,针对性治疗方面还有所欠缺。因此本研究拟对1型糖尿病大鼠予曲美他嗪干预,探讨曲美他嗪对糖尿病大鼠心功能、心肌组织炎症因子表达及氧化应激水平的影响。

1 材料与方法

1.1 1型糖尿病大鼠模型的建立

SPF级雄性6~8周龄Sprague-Dawley (SD)大鼠,体质量180~200 g,30只。购自中山大学动物实验中心。动物实验设计方案经中山大学动物实验中心伦理审核批准(2014)。实验动物在22~25℃清洁级实验室中进行分笼饲养,人工照明,12 h昼夜交替1次,大鼠自由进食、饮水。适应性饲养1周。用随机数字表法将30只大鼠分成正常对照组(N组10只)、糖尿病对照组(C组10只)、曲美他嗪干预组(TMZ组10只)。C组、TMZ组空腹12 h后予STZ 40 mg·kg⁻¹腹腔注射,注射后4 h给食。连续2次测定血糖 ≥ 16.7 mmol/L为1型糖尿病模型成功大鼠。曲美他嗪干预组予15 mg·kg⁻¹·d⁻¹曲美他嗪灌胃,N组和C组分别予等体积的生理盐水灌胃,喂养16周。N组1只大鼠死于肺炎。C组和TMZ组分别有2只大鼠STZ相对剂量过大引

起全身毒性致死。

1.2 主要试剂与仪器

链佐菌素购自美国sigma公司,曲美他嗪由法国施维雅公司赠送,小动物心脏彩超机购自加拿大Visual Sonics公司(广东省人民医院)。兔抗大鼠TNF- α 购自美国Cell Signaling Technology公司;兔抗人GAPDH单克隆抗体购自美国PeproTech公司;HRP偶联羊抗兔IgG二抗购自武汉博士德生物工程有限公司;BioRad蛋白定量试剂盒购自美国Bio-Rad公司;丙二醛检测试剂盒购自南京建南公司。

1.3 超声心动图检测心功能

采用Visual Sonics高分辨率小动物超声成像系统,探头频率为30 MHz。第16周行经胸超声心动图检查。乙醚鼻罩麻醉大鼠,于乳头肌中段短轴切面采集二维超声心动图和M型超声心动图,测定左室舒张末内径(systolic left ventricular posterior wall, LVPWd)、左室收缩末内径(diastolic left ventricular posterior wall, LVPWs)、射血分数(ejection fraction, EF)和缩短分数(fractional shortening, FS)舒张早期二尖瓣血流速度E峰/舒张晚期二尖瓣血流速度A峰(E/A)。

1.4 左室导管检测

行心脏多普勒超声检测后第二天行左室导管检测。腹腔注射水合氯醛麻醉大鼠,分离左颈总动脉,逆行插入导管,于主动脉处停留,将导管连接生理记录仪,待稳定5 min后测量主动脉收缩压(SBP)和舒张压(DBP)。继续将导管逆行插入至左心室腔内,待稳定15 min后描记左室内容量-压力曲线。测量左室收缩压(LVSP)和舒张末压(LVEDP)、左室压力最大上升和下降速率($\pm dp/dt_{max}$)、心率(heart rate),计算左室松弛时间常数和室壁张力指数。在处理过程中,N组和TMZ组大鼠分别2只和1只在给予水合氯醛麻醉后死亡。

1.5 左室体质量指数(LVW/BW)、左心室质量指数(LVW/HW)测定

实验结束后,测大鼠体质量(body weight,

BW)迅速将大鼠开胸取出心脏、肺脏。冰生理盐水洗净心脏,滤纸吸干后称心脏质量(heart weight, HW),剖取心脏,将左右心房和右心室剪去,剩余部分即为左心室,称左心室质量(left ventricular weight, LVW)。计算 LVW/BW、LVW/HW。剪取左室心尖部,在冰浴中将心肌组织剪成 100 mg 每份,用锡箔纸包好投入液氮中,冻透后储存于-80℃冰箱备用。

1.6 HE 染色光镜观察心肌组织形态学改变及心肌组织丙二醛(MDA)检测

取置于 40 g/L 多聚甲醛中固定的部分心尖部组织,脱水透明浸蜡,石蜡包埋 HE 染色,光镜下观察心肌组织形态学改变。另取心肌组织作 MDA 检测。

1.7 Western blot 法检测心肌组织蛋白表达

取心肌组织,采用总蛋白提取试剂盒提取细胞总蛋白,用 BCA 法对提取的蛋白进行浓度测定。取 50 μg 总蛋白进行 SDS-PAGE。电泳完毕后将蛋白转移到 PVDF 膜上。将膜放入 T-TBS (含 5%脱脂奶粉)封闭 1 h 后,分别加入 I 抗 4℃孵育过夜,TBST 洗膜,然后用 II 抗(1:5 000)室温孵育 1 h,在暗室中用增强化学发光检测试剂显色,拍片晾干,计算机扫描,采用 Bandscan 5.0 软件分析条带的吸光度。目的蛋白相对表达量=目的蛋白吸光度值/内参照 GAPDH。检测蛋白包括肿瘤坏

死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)、超氧化物歧化酶 2(superoxide dismutase-2, SOD 2)。

1.8 统计学处理

所有统计学处理均采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。主要统计数据均进行正态性及方差齐性检验,正态分布数据组间差异性比较采用单因素方差分析,Bonferroni 法进行两组间多重比较。选取检验水准 $\alpha=0.05$, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组大鼠心肌形态学观察及心肌左室重量指数测定

正常对照组大鼠心肌细胞结构清晰,肌丝排列整齐;糖尿病对照组大鼠心肌排列紊乱,肌丝扭曲。TMZ 心肌组织改变较糖尿病对照组明显减轻,细胞排列较整齐(图 1)。与正常对照组相比,糖尿病组及曲美他嗪组 LV/BM 增高($P < 0.001$),体质量显著降低($P < 0.001$);曲美他嗪组与糖尿病组之间无明显差异。糖尿病对照组 LV/HW 与正常对照组相比明显上升($P < 0.05$);曲美他嗪组 LV/HW 低于糖尿病对照组($P < 0.05$,表 1)。

2.2 心脏多普勒彩超及左室颈动脉导管检测

与正常对照组相比,糖尿病组及 TMZ 组

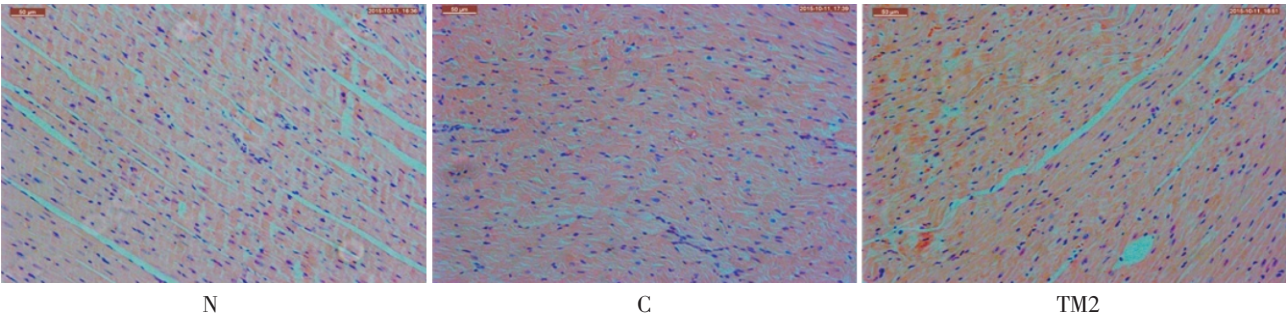


图 1 曲美他嗪对糖尿病大鼠心肌组织形态学影响(×100)

Fig.1 The HE staining of cardiac tissue(×100)

表 1 曲美他嗪对左室质量指数影响

Table 1 The effect of trimetazidine on left ventricle mass index

Group					
	N(n=9)	C8(n=8)	TMZ(n=8)	F	P
LV/AH(mg/mg)	0.719 ± 0.025	0.745 ± 0.035 ¹⁾	0.704 ± 0.019 ³⁾	4.713	0.020
LV/BW(mg/g)	2.0 ± 0.31	2.8 ± 0.36 ²⁾	2.7 ± 0.18 ²⁾	18.960	0.000
BW(g)	433 ± 52	248 ± 50 ²⁾	232 ± 57 ²⁾	38.330	0.000

1) $P < 0.01$, 2) $P < 0.001$ vs N; n, animals in each group; 3) $P < 0.05$ vs C

表 2 彩色多普勒超声检测曲美他嗪对心功能的效果

Table 2 The effect of trimetazidine on cardiac fuction measured by Color doppler ultrasound ($\bar{x} \pm s$)

Group	N (<i>n</i> = 9)	C8 (<i>n</i> =8)	TMZ (<i>n</i> = 8)	<i>F</i>	<i>P</i>
HR (bpm)	388 ± 43	366 ± 40	355 ± 53	1.166	0.330
E/A	1.78 ± 0.34	1.57 ± 0.33	1.65 ± 0.29	0.928	0.410
EF%	66.6 ± 4.8	59.4 ± 4.3 ¹⁾	58.5 ± 6.2 ¹⁾	6.423	0.006
FS%	39.1 ± 4.2	33.5 ± 4.2 ¹⁾	32.8 ± 4.4 ¹⁾	5.660	0.010
LVPW;d(mm)	2.07 ± 0.30	1.76 ± 0.13 ¹⁾	1.73 ± 0.19 ¹⁾	6.170	0.008
LVPW;S(mm)	2.75 ± 0.26	2.33 ± 0.29 ¹⁾	2.37 ± 0.24 ¹⁾	6.660	0.006
IVS;d(mm)	1.74 ± 0.28	1.51 ± 0.19	1.54 ± 0.15	2.861	0.079
IVS;s(mm)	2.74 ± 0.46	2.41 ± 0.31	2.28 ± 0.20 ¹⁾	3.730	0.040

1)*P* < 0.05 VS N; *n*, animals in each group

表 3 曲美他嗪对血流动力学改变

Table 3 The effect of trimetazidine on hemodynamics parameters ($\bar{x} \pm s$)

Group	N (<i>n</i> = 7)	C(<i>n</i> = 8)	TMZ(<i>n</i> = 7)	<i>F</i>	<i>P</i>
LVSP(mmHg)	110 ± 18	87 ± 15	82 ± 16	5.932	0.010
LVEDP(mmHg)	0.1 ± 2.9	11.5 ± 4.4 ¹⁾	4.6 ± 5.4 ²⁾	13.080	0.000
dp/dt _{max} (KPa/s)	2425 ± 701	1892 ± 427	1937 ± 695	1.679	0.213
−dp/dt _{max} (KPa/s)	2379 ± 546	1481 ± 533 ¹⁾	1648 ± 501	5.959	0.010

1) *P* < 0.05 vs N, 2) *P* < 0.05 vs C, *n*, animals in each group

EF%,FS%, LVPW (d), LVPW (s) 降低 (*P* < 0.05);糖尿病组及 TMZ 组之间未见统计学差异(*P* > 0.05)。与正常组相比,糖尿病对照组 LVEDP 明显升高(*P* < 0.001);TMZ 组 LVEDP 明显低于比糖尿病对照组(*P* < 0.05,表 2、3)。

2.3 TNF-α 蛋白表达

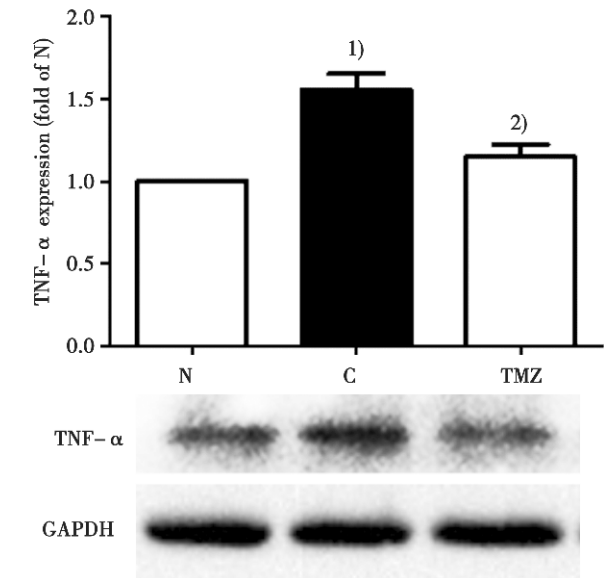
糖尿病对照组心肌组织 TNF-α 表达较正常对照组增高 (1.56 ± 0.17vs 1 倍,*P* < 0.001)。TMZ 组心肌组织 TNF-α 低于糖尿病对照组 (1.15 ± 0.13 vs 1.56 ± 0.17 倍,*P* < 0.001,图 2)。

2.4 SOD 2 蛋白表达及 MDA 水平

糖尿病对照组 SOD 2 表达显著低于正常对照组(0.40 ± 0.12 vs 1 倍,*P* < 0.001);与糖尿病对照组相比,TMZ 组 SOD 2 表达增强 (0.64 ± 0.18 vs 0.40 ± 0.12 倍, *P* < 0.05)。同时糖尿病对照组 MDA 水平高于正常对照组(9.8 ± 2.8 vs 4.9 ± 2.2, *P* < 0.01);而 TMZ 组 MDA 低于糖尿病对照组(6.6 ± 2.3 vs 9.8 ± 2.8,*P* < 0.05;如图 3)。

3 讨 论

目前糖尿病发病率急剧增加, 据目前统计有

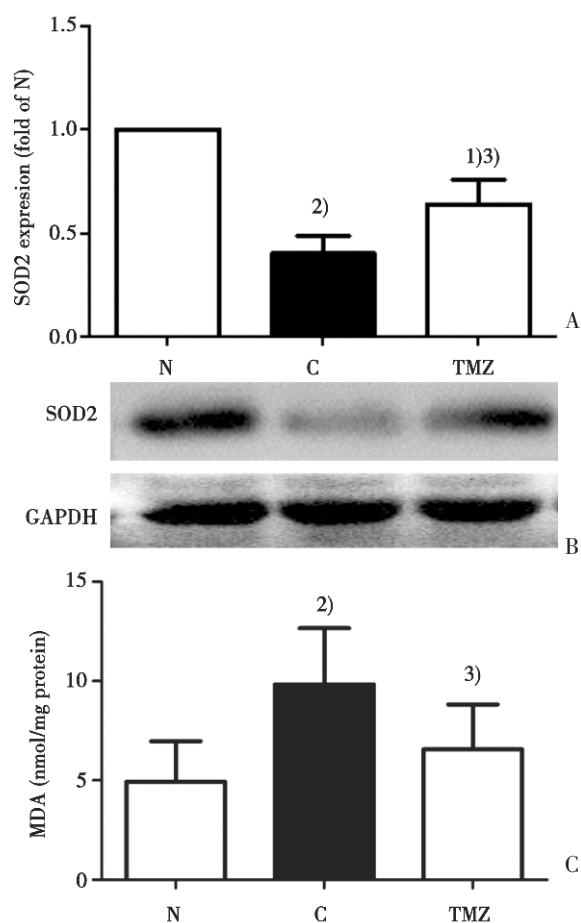


1)*P* < 0.001 vs N, 2)*P* < 0.001 vs C, *n* = 5 animals in each group (*P* = 0.000, *F* = 27.520).

图 2 曲美他嗪对糖尿病大鼠心肌组织 TNF-α 表达的影响

Fig.2 The effects of trimetazidine on TNF-α expressions in cardiac tissue

18 亿患者,预测 2025 年全球将会增加到 30 亿^[4]。糖尿病患者发生心衰的风险是正常人的 2 ~ 3 倍,糖尿病也可促进心梗、高血压和房颤诱发的心衰



A: 1) $P < 0.01$, 2) $P < 0.001$ vs N; 3) $P < 0.05$ vs C. $n = 5$ animals in each group ($P = 0.000$, $F = 29.230$). B: 2) $P < 0.01$ vs N, 3) $P < 0.05$ vs C. $n = 9$ animals in each group, C: $n = 8$ animals in each group, ($P = 0.001$, $F = 8.174$).

图3 曲美他嗪对糖尿病大鼠心肌组织 SOD 2 表达及 MDA 水平影响

Fig.3 The effects of trimetazidine on the protein expressions of SOD 2 and MDA content in myocardial tissue in each group

病情进展^[4]。另外糖尿病引起的非缺血性心肌病也越来越引起人们的重视,其早期临床特征是左室舒张功能障碍,晚期以收缩功能障碍为主^[5]。

目前研究发现,糖尿病的发生往往伴随氧化应激及炎症反应的增强,而氧化应激和炎症反应又存在相互促进作用^[6-8]。氧化应激增强可以诱发心肌细胞凋亡及纤维细胞胶原原纤维的分泌,继而引起心肌收缩功能降低及舒张顺应性下降^[9-10]。炎症反应同样也会诱发心肌细胞凋亡,引起心肌代谢紊乱^[11]。减轻糖尿病患者的炎症反应及氧化

应激水平不仅可能保护心肌而且还可能改善心肌代谢,进而保护心脏功能。

曲美他嗪作为一种长链脂肪酸 β 氧化抑制剂,被认为可以一定程度上逆转糖尿病心肌病对游离脂肪酸的过度依赖,实现一定程度上的游离脂肪酸氧化向葡萄糖氧化的转变,从而改善心肌的氧化^[12]。同时已有临床试验证明曲美他嗪可改善缺血性心肌病病人及心衰病人心脏收缩和舒张功能^[13-19]。曲美他嗪可改善伴糖尿病的特发性扩心病病人收缩功能和舒张功能,一定程度上减轻 CRP 和 BNP 的升高^[20]。Belardinelli R 的研究中曲美他嗪可以改善内皮素依赖的舒张反应,降低血清丙二醛和过氧化物^[21]。我们的实验证明曲美他嗪可提高糖尿病大鼠心肌组织 SOD 2 表达,降低 MDA 水平。这说明曲美他嗪可以一定程度上改善心肌组织氧化应激水平。另外,我们发现曲美他嗪降低心肌组织 TNF- α 蛋白表达。TNF- α 是主要的促炎因子,可激活下游炎症因子的产生,对心肌造成损伤。给予曲美他嗪治疗后, TMZ 大鼠左室质量/全心质量降低,说明曲美他嗪在抵抗糖尿病大鼠心肌重塑中发挥一定作用。同时, TMZ 组大鼠 LVEDP 比糖尿病对照组降低,说明曲美他嗪有改善糖尿病大鼠心肌舒张功能作用。糖尿病大鼠 TNF- α 、MDA 和左室质量指数增高, SOD 2 降低,说明炎症反应、氧化应激及心肌重塑共同参与了糖尿病心肌病的发生发展。另外我们的研究中曲美他嗪并未改善糖尿病大鼠心肌收缩功能。这与之前的临床研究^[13-19]有所差异,我们认为这可能要归因于病因的差异。之前的临床研究中试验者大多是冠心病病人或伴有轻度心肌缺血病人,其心肌代谢中对氧的缺乏明显重于糖尿病病人。Joseluis Winter 的研究中也提示在非缺血性心衰中,曲美他嗪并未有效的提高病人的 LVEF^[22]。对于曲美他嗪是否可以改善非缺血患者心脏血流动力学仍需进一步探索。

总之,我们的研究表明糖尿病大鼠 16 周可出现心肌结构和功能改变,伴随大鼠心肌组织 TNF- α 蛋白表达及 MDA 水平提高, SOD 2 蛋白表达降低。心肌组织 TNF- α 表达和氧化应激水平升高在糖尿病发生发展中可能起重要作用。曲美他嗪可改善糖尿病大鼠心肌舒张功能。曲美他嗪保护心肌作用可能与降低炎症因子 TNF- α 表达、改善氧化应激损伤及减缓心肌重塑有关。

参考文献

- [1] FANG ZY, PRINS JB, MARWICK TH. Diabetic cardiomyopathy: evidence, mechanisms, and therapeutic implications [J]. *Endocr Rev*, 2004, 25(4): 543–567.
- [2] RAJESH M, BATKAI S, KECHRID M, et al. Cannabinoid 1 receptor promotes cardiac dysfunction, oxidative stress, inflammation, and fibrosis in diabetic cardiomyopathy[J]. *Diabetes*, 2012, 61(3): 716–727.
- [3] FRAGASSO G, ROSANO G, BAEK SH, et al. Effect of partial fatty acids oxidation inhibition with trimetazidine on survival in heart failure: results from an international multicentre retrospective cohort study [J]. *Int J Circulation*, 2013, 163(3): 320–325.
- [4] KING H, AUBERT RE, HERMAN WH. Global burden of diabetes, 1995–2025: prevalence, numerical estimates, and projections[J]. *Diabetes Care*, 1998, 21(9): 1414–1431.
- [5] YEUNG EH, PANKOW JS, ASTOR BC, et al. Increased risk of type 2 diabetes from a family history of coronary heart disease and type 2 diabetes[J]. *Diabetes Care*, 2007, 30(1): 154–156.
- [6] ZHANG L, ZALEWSKI A, LIU Y, et al. Diabetes–induced oxidative stress and low–grade inflammation in porcine coronary arteries [J]. *Circulation*, 2003, 108(4): 472–478.
- [7] FROHNERT BI, LONG EK, HAHN WS, et al. Glutathionylated lipid aldehydes are products of adipocyte oxidative stress and activators of macrophage inflammation[J]. *Diabetes*, 2014, 63(1): 89–100.
- [8] CASTELLO L, FROIO T, MAINA M, et al. Alternate–day fasting protects the rat heart against age–induced inflammation and fibrosis by inhibiting oxidative damage and NF–kB activation[J]. *Free Radic Biol Med*, 2010, 48(1): 47–54.
- [9] LIU X, GAI Y, LIU F, et al. Trimetazidine inhibits pressure overload–induced cardiac fibrosis through NADPH oxidase–ROS–CTGF pathway [J]. *Cardiovasc Res*, 2010, 88(1): 150–158.
- [10] KUMAR D, LOU H, SINGAL PK. Oxidative stress and apoptosis in heart dysfunction[J]. *Herz*, 2002, 27(7): 662–668.
- [11] BOURAS G, GIANOPOULOS G, HATZIS G, et al. Inflammation and chronic heart failure: from biomarkers to novel anti–inflammatory therapeutic strategies [J]. *Med Chem*, 2014, 10(7): 682–699.
- [12] KANTOR PF, LUCIEN A, KOZAK R, et al. The antianginal drug trimetazidine shifts cardiac energy metabolism from fatty acid oxidation to glucose oxidation by inhibiting mitochondrial long–chain 3–ketoacyl coenzyme a thiolase[J]. *Circ Res*, 2000, 86(5): 580–588.
- [13] FRAGASSO G, SALERNO A, LATTUADA G, et al. Effect of partial inhibition of fatty acid oxidation by trimetazidine on whole body energy metabolism in patients with chronic heart failure[J]. *Heart*, 2011, 97(18): 1495–1500.
- [14] FRAGASSO G, PERSEGHIN G, DE COBELLI F, et al. Effects of metabolic modulation by trimetazidine on left ventricular function and phosphocreatine/adenosine triphosphate ratio in patients with heart failure[J]. *Eur Heart J*, 2006, 27(8): 942–948.
- [15] BELARDINELLI R, CIANCI G, GIGLI M, et al. Effects of trimetazidine on myocardial perfusion and left ventricular systolic function in type 2 diabetic patients with ischemic cardiomyopathy [J]. *J Cardiovasc Pharmacology*, 2008, 51(6): 611–615.
- [16] BELARDINELLI R, LACALAPRICE F, FACCENDA E, et al. Trimetazidine potentiates the effects of exercise training in patients with ischemic cardiomyopathy referred for cardiac rehabilitation [J]. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabilitation and Exercise Physiology*, 2008, 15(5): 533–540.
- [17] EL–KADY T, EL–SABBAN K, GABALY M, et al. Effects of trimetazidine on myocardial perfusion and the contractile response of chronically dysfunctional myocardium in ischemic cardiomyopathy: a 24–month study[J]. *Am J Cardiovasc Drugs*, 2005, 5(4): 271–278.
- [18] FRAGASSO G, PALLOSHI A, PUCCETTI P, et al. A randomized clinical trial of trimetazidine, a partial free fatty acid oxidation inhibitor, in patients with heart failure[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2006, 48(5): 992–998.
- [19] FRAGASSO G, PIATTI MD PM, MONTI L, et al. Short– and long–term beneficial effects of trimetazidine in patients with diabetes and ischemic cardiomyopathy [J]. *Am Heart J*, 2003, 146(5): E18.
- [20] ZHAO P, ZHANG J, YIN XG, et al. The effect of trimetazidine on cardiac function in diabetic patients with idiopathic dilated cardiomyopathy [J]. *Life Sci*, 2013, 92(11): 633–638.
- [21] BELARDINELLI R, SOLENGHI M, VOLPE L, et al. Trimetazidine improves endothelial dysfunction in chronic heart failure: an antioxidant effect [J]. *Eur Heart J*, 2007, 28(9): 1102–1108.
- [22] WINTER JL, CASTRO PF, QUINTANA JC, et al. Effects of trimetazidine in nonischemic heart failure: a randomized study[J]. *J Card Fail*, 2014, 20(3): 149–154.