

· 基础研究 ·

随意跑轮运动对糖尿病大鼠心肌 NADPH 氧化酶及心脏重塑的影响

单凤军

河南周口师范学院体育学院, 周口 466000

通信作者: 单凤军, Email: shanfengjunzk@126.com

【摘要】 目的 观察随意跑轮运动对糖尿病大鼠心肌烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)氧化酶调节亚基 p47^{phox} 及 p67^{phox} 表达的影响, 初步探讨运动训练抑制糖尿病心脏氧化应激及心脏重塑的可能机制。**方法** 采用随机数字表法将 40 只 SD 大鼠分为正常对照组、模型组及运动组, 后 2 组采用链脲佐菌素进行糖尿病造模。于造模成功 1 周后正常对照组及模型组大鼠均置于鼠笼内安静饲养, 运动组大鼠给予 8 周(5 d/周)随意跑轮运动。于末次训练结束 48 h 后取静脉血测定血糖含量, 利用超声心动图检测心脏结构及功能, 采用 Masson 染色进行心肌组织病理学观察并检测心肌纤维化指数, 将心肌组织匀浆后测定丙二醛(MDA)及活性氧(ROS)含量, 采用 Western blot 技术检测心脏 NADPH 氧化酶 p47^{phox} 及 p67^{phox} 亚基蛋白表达量。**结果** 与正常对照组比较, 模型组血糖含量升高($P<0.05$), 左心室收缩末期直径(LVESD)和左心室舒张末期直径(LVEDD)增加($P<0.05$), 左心室射血分数(LVEF)下降($P<0.05$), 心肌纤维化指数增加($P<0.05$), MDA 及 ROS 含量升高($P<0.05$), p47^{phox} 及 p67^{phox} 亚基蛋白表达量上调($P<0.05$); 与模型组比较, 运动组血糖含量降低($P<0.05$), LVESD 及 LVEDD 下降($P<0.05$), LVEF 升高($P<0.05$), 心肌纤维化指数降低($P<0.05$), MDA 及 ROS 含量下降($P<0.05$), p47^{phox} 及 p67^{phox} 亚基蛋白表达量下调($P<0.05$)。**结论** 随意跑轮运动能通过抑制 NADPH 氧化酶调节亚基 p47^{phox} 及 p67^{phox} 表达, 减轻糖尿病大鼠心脏氧化应激反应, 进而抑制心脏重塑并增强心功能。

【关键词】 运动; 糖尿病心肌病; 氧化应激; NADPH 氧化酶; 调节亚基

基金项目: 河南省重点科技攻关项目(172102310141)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2020.11.002

Effects of voluntary wheel running on the expression of nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate oxidase and cardiac remodeling of the myocardium in diabetes

Shan Fengjun

Physical Education School, Zhoukou Normal College, Zhoukou 466000, China

Corresponding author: Shan Fengjun, Email: shanfengjunzk@126.com

【Abstract】 Objective To explore the effect of voluntary wheel running on the expression of the p47^{phox} and p67^{phox} regulatory subunits of nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase in the myocardia of diabetic rats, and possible molecular mechanisms by which exercise suppresses oxidative stress and improves cardiac remodeling in diabetic cardiomyopathy. **Methods** Forty 8-week-old healthy male Sprague-Dawley rats were randomly divided into a normal control group (NC), a diabetes mellitus sedentary group (DM-Sed) and a diabetes mellitus exercise training group (DM-ExT). A model of diabetes was induced by feeding streptozotocin to the latter two groups. After successful modelling, the animals in the NC and DM-Sed groups were raised quietly in their cages, while the DM-ExT group performed voluntary wheel running 5 days/week for eight weeks. Forty-eight hours after the last running, venous blood samples were taken to determine the content of blood glucose. Cardiac structure and function were detected by echocardiography, and Masson staining and myocardial histopathology generated a myocardial fibrosis index. The rats were sacrificed and malondialdehyde (MDA) and reactive oxygen species (ROS) were measured in their myocardial tissue. The expression of NADPH oxidase's p47^{phox} and p67^{phox} subunit proteins was quantified using western blotting. **Results** Compared with the NC group, the average content of blood glucose, MDA and ROS had increased significantly in the DM-Sed group. The average end-systolic and end-diastolic diameter of the left ventricle had also increased significantly, as had the myocardial fibrosis index, and the expression of the p47^{phox} and p67^{phox} subunit proteins. The average left ventricular ejection fraction had decreased significantly. Compared with the DM-Sed group, the average blood glucose, MDA and ROS levels in the DM-ExT group

were significantly lower. The average end-systolic and end-diastolic diameter of the left ventricle were also smaller, and the myocardial fibrosis index and the p47^{phox} and p67^{phox} subunit protein concentrations were significantly lower as well. **Conclusions** Voluntary wheel running can attenuate oxidative stress on the heart in rats modeling diabetes by inhibiting the expression of NADPH oxidase regulatory subunits p47^{phox} and p67^{phox}, thus improving cardiac remodeling and enhancing cardiac function.

【Key words】 Exercise; Diabetes; Cardiomyopathy; Oxidative stress; Nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate oxidase; Regulatory subunits

Funding: A Henan Province Key Scientific and Technological Research Project (172102310141)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2020.11.002

糖尿病 (diabetes mellitus, DM) 是一种代谢性疾病,其发病率、致残率及死亡率均较高。糖尿病患者由于糖代谢紊乱造成心脏形态与功能异常,临床也称之为糖尿病心肌病,其异于冠心病、高血压性心脏病和心脏瓣膜病等而独立存在,是 DM 患者最严重的并发症之一,同时也是患者发生心血管不良事件及预后不良的独立危险因素^[1]。血糖慢性升高引起活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 产生增多,进而造成心肌细胞氧化应激,并通过介导炎症、凋亡和纤维化等病理过程诱发各种心血管并发症、加速心功能不全进程^[2]。烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate, NADPH) 氧化酶分布于细胞膜,是生理状态下 ROS 的主要来源。NADPH 氧化酶由 4 个亚基组成,其结构亚基由 gp91^{phox} 和 p22^{phox} 亚基构成跨膜部分 (细胞色素 b558),调节亚基 p47^{phox} 和 p67^{phox} 则位于胞浆侧^[3]。高糖可通过增加 NADPH 氧化酶多种亚基 (主要是调节亚基) 表达而上调 NADPH 氧化酶活性,从而导致 ROS 产生增加^[4];抑制 NADPH 氧化酶活性并阻断 ROS 形成可缓解高血糖诱发的心肌损害^[5],这可能也是防治糖尿病心肌病的重要靶点。

中等强度有氧运动是糖尿病患者重要的非药物干预手段,可降低血糖水平及体脂含量,改善胰岛素抵抗以及压力反射敏感性,同时运动对各种原因造成的心血管疾病均具有改善作用,包括减少心血管危险因素、抑制心脏重塑及增强心功能等^[6]。研究还显示^[7],运动可上调心脏组织中超氧化物歧化酶、过氧化氢酶及谷胱甘肽等抗氧化物表达,进而降低 ROS 含量;然而关于运动对糖尿病心脏 NADPH 氧化酶活性及其亚基表达的影响鲜见报道。基于此,本研究通过观察随意跑轮运动对糖尿病心肌病大鼠心肌 NADPH 氧化酶调节亚基 p47^{phox} 及 p67^{phox} 表达的影响,初步探讨运动训练抑制糖尿病心脏氧化应激及心脏重塑的可能机制。

材料与方法

一、动物及干预

选取 40 只 8 周龄健康清洁级雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠,体重 180~200 g,大鼠均分笼饲养 (5 只/笼),自由进食水,12 h/12 h 明暗光照,饲养环境温度 24~26 ℃,湿度 50%~60%。上述大鼠经适应性喂养 1 周后开始造模,随机选取 30 只大鼠给予高糖高脂饲料 (含 10% 猪油、20% 蔗糖、2.5% 胆固醇、1% 胆酸钠以及 66.5% 普通饲料) 喂养,其余 10 只大鼠给予常规饲料喂养。实验大鼠经高糖高脂饲料喂养 7 周后,于空腹状态下腹腔注射链脲佐菌素 (Streptozotocin, STZ, 美国 Sigma 公司出品)^[8],注射剂量为 40 mg/kg 体重 (将 STZ 溶于 0.1 mol/L、pH 为 4.2 的枸橼酸缓冲液中);常规喂养大鼠则注射等体积枸橼酸缓冲液。于注射后 72 h 采集大鼠尾静脉血,监测非禁食状态血糖水平如大于 16.7 mmol/L 则认为造模成功。在高糖高脂喂养过程中有 6 只大鼠死亡,共有 24 只大鼠建模成功。采用随机数字表法将造模成功大鼠分为模型组及运动组,每组 12 只;将常规饲料喂养大鼠纳入正常对照组,共有 10 只大鼠。正常对照组及模型组大鼠均置于鼠笼内安静饲养,运动组大鼠于造模成功 1 周后进行 8 周随意跑轮运动,即在鼠笼 (规格为 485 mm×350 mm×200 mm) 内安装直径 26 cm、宽 8 cm 并能自由转动的钢质跑轮,运动频率为 5 d/周 (休息日固定跑轮),不控制运动强度及运动时间^[9]。

二、超声心动图检测

于末次训练结束 48 h 后 (避免急性运动的影响) 采用氯胺酮 (75 mg/100 g 体重) 和赛拉嗪 (15 mg/100 g 体重) 溶液麻醉大鼠,选用 Vevo 3100 型小动物超声仪 (加拿大产) 检测大鼠心脏结构及功能,具体检测指标包括:左心室收缩末期直径 (left ventricular end-systolic diameter, LVESD)、左心室舒张末期直径 (left ventricular end-diastolic diameter, LVEDD)、左心室壁厚度 (left ventricular wall thickness, LVWT) 和左心室射血分数 (left ventricular ejection fraction, LVEF)。

三、标本取材

于造模时 (注射 STZ 溶液或枸橼酸钠缓冲液后第 3 天) 以及末次训练结束后 48 h 采集大鼠尾静脉血,

离心制取血浆,利用全自动生化仪测定空腹血糖含量(葡萄糖氧化酶法);随后过量麻醉处死大鼠后打开胸腔,取出心脏,经生理盐水冲洗、滤纸拭干后称重,计算与体重的比值作为心脏质量指数(heart mass index, HMI);分离左心室并将其分为两份,一份投入甲醛中制作病理组织切片,另一份迅速投入液氮中并转移至-80℃低温冰箱中冻存待测。

四、心肌纤维化检测

取各组大鼠心肌组织,用 10% 甲醛溶液固定,经脱水、透明、包埋及切片等一系列处理后制作病理组织切片。经 Masson 染色后,于显微镜下选取 10 个高倍镜($\times 400$)视野,采用 Image Pro Plus 6.0 版图像分析软件测量胶原面积与观察视野面积的比值,即心肌纤维化指数。

五、心肌丙二醛及 ROS 含量检测

采用硫代巴比妥酸法(thiobarbituric acid, TBA)检测大鼠心肌组织中丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量,将心肌组织匀浆后采用 BCA 法测定蛋白浓度,检测 532 nm 处吸光度值;利用荧光探针 H₂DCF-DA 法检测心肌组织 ROS 含量,向匀浆液中加入 10 μ mol/L H₂DCF-DA 避光反应 30 min,再用磷酸盐缓冲液(phosphate buffered solution, PBS)冲洗,采用贝克曼 CytoFLEX 流式细胞仪(美国产)检测各组样本荧光强度,将正常对照组样本荧光值定为 100%,其他各组的荧光值均为与对照组的相对值(倍数)。

六、蛋白表达检测

采用 Western blot 技术检测各组大鼠心肌组织 p47^{phox} 及 p67^{phox} 蛋白表达水平。将各组大鼠心肌组织匀浆后离心(4000 rpm, 4℃)10 min,弃上清液,采用 BCA 法测定总蛋白浓度;取 100 μ g 蛋白经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺(Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)分离后转移至聚偏二氟

乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜上。兔抗鼠一抗(p47^{phox} 稀释比为 1:2000, p67^{phox} 稀释比为 1:1000, Santa Cruz 公司)4℃静置孵育过夜,辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG 二抗(稀释比为 1:5000, 武汉博士德生物工程有限公司)37℃孵育 2 h。待充分洗涤后,配置电化学发光液(electrochemiluminescence, ECL)进行发光成像,利用 ChemiDoc XRS 凝胶成像系统(美国)拍摄并扫描各条带光密度值。将目的蛋白光密度值与内参蛋白 β -actin(稀释比为 1:10000, Santa cruz 公司)光密度值的比值作为该蛋白含量,以各组蛋白含量与正常对照组的比值作为该蛋白相对表达量。

七、统计学分析

本研究所得数据以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS 20.0 版统计学软件包进行数据分析,3 组间各参数比较选用单因素方差分析(one-way analysis of variance, ANOVA),若 *F* 检验具有统计学意义则使用最小显著差异法(least-significant difference, LSD)进行两两比较, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

结 果

一、各组大鼠血糖、体重及心脏质量比较

与正常对照组比较,模型组大鼠血糖含量升高($P < 0.05$),体重下降($P < 0.05$),心脏质量及 HMI 升高($P < 0.05$);与模型组比较,运动组大鼠血糖含量、心脏质量及 HMI 明显降低($P < 0.05$)。具体数据见表 1。

二、各组大鼠心脏结构及功能比较

与正常对照组比较,模型组大鼠 LVESD、LVEDD 明显增加($P < 0.05$),LVEF 明显降低($P < 0.05$);与模型组比较,运动组大鼠 LVESD 及 LVEDD 明显降低($P < 0.05$),LVEF 显著升高($P < 0.05$)。具体数据见表 2。

表 1 各组大鼠体重、血糖及心脏质量等指标比较($\bar{x} \pm s$)

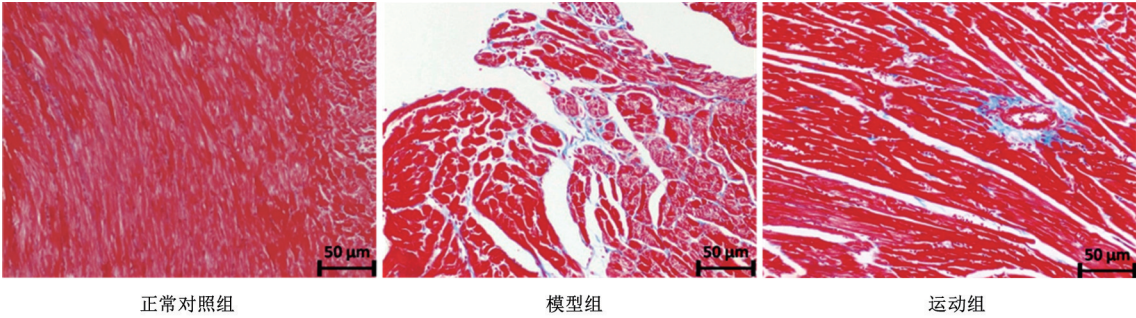
组别	只数	血糖含量(mmol/L)	体重(g)	心脏质量(mg)	HMI(mg/g)
正常对照组	10	4.71 $\pm$ 0.37	277.9 $\pm$ 28.5	1.03 $\pm$ 0.18	3.72 $\pm$ 0.74
模型组	12	20.52 $\pm$ 2.96 ^a	247.4 $\pm$ 25.0 ^a	1.31 $\pm$ 0.31 ^a	5.33 $\pm$ 1.33 ^a
运动组	12	9.60 $\pm$ 1.29 ^{ab}	236.6 $\pm$ 24.1 ^a	1.11 $\pm$ 0.32 ^b	4.77 $\pm$ 1.49 ^{ab}

注:与正常对照组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$

表 2 各组大鼠心脏结构及功能比较($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	LVESD(mm)	LVEDD(mm)	LVWT(mm)	LVEF(%)
正常对照组	10	7.26 $\pm$ 0.69	4.17 $\pm$ 0.37	1.52 $\pm$ 0.36	74.5 $\pm$ 6.9
模型组	12	9.02 $\pm$ 0.88 ^a	5.39 $\pm$ 0.43 ^a	1.61 $\pm$ 0.47	58.7 $\pm$ 7.0 ^a
运动组	12	7.96 $\pm$ 1.03 ^b	4.36 $\pm$ 0.50 ^b	1.59 $\pm$ 0.50	69.8 $\pm$ 8.2 ^b

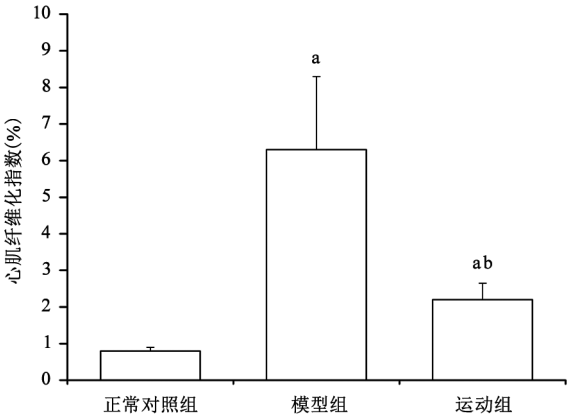
注:与正常对照组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$



注:可见大鼠心肌细胞呈红色,胶原纤维呈蓝色
图1 各组大鼠心肌 Masson 染色情况分析(Masson 染色,×400)

三、各组大鼠心肌纤维化指数比较

各组大鼠心肌 Masson 染色结果见图 1,可见心肌细胞呈红色,胶原纤维呈蓝色;正常对照组心肌细胞形态正常、结构完整、排列紧凑、分布均匀,肌束间有极少量胶原纤维;模型组心肌细胞肿胀肥大,排列稀疏杂乱,心肌间质可见明显胶原沉积及纤维化改变;运动组心肌细胞排列较模型组致密有序,心肌肥大及纤维化程度减轻。各组大鼠心肌纤维化指数见图 2,与正常对照组比较,模型组心肌纤维化指数明显升高($P<0.05$);与模型组比较,运动组心肌纤维化指数明显降低($P<0.05$)。



注:与正常对照组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$
图2 各组大鼠心肌纤维化指数比较

四、各组大鼠心肌 MDA 及 ROS 含量比较

与正常对照组比较,模型组大鼠心肌 MDA 及 ROS 含量均显著升高($P<0.05$);与模型组比较,运动组大鼠心肌 MDA 及 ROS 含量均显著降低($P<0.05$)。具体数据见表 3。

表3 各组大鼠心肌 MDA 及 ROS 含量比较

组别	只数	MDA 含量 (nmol/mg 蛋白)	ROS 含量 (%)
正常对照组	10	1.83±0.66	100.0±35.7
模型组	12	3.39±1.27 ^a	279.6±79.1 ^a
运动组	12	2.25±0.83 ^b	151.0±58.2 ^b

注:与正常对照组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$

五、各组大鼠心肌 p47^{phox} 及 p67^{phox} 蛋白表达比较

与正常对照组比较,模型组心肌 p47^{phox} 及 p67^{phox} 蛋白表达量均明显上调($P<0.05$);与模型组比较,运动组心肌 p47^{phox} 及 p67^{phox} 蛋白表达量均显著下调($P<0.05$)。具体数据见表 4。

表4 各组大鼠心肌 p47^{phox} 及 p67^{phox} 蛋白表达量比较

组别	只数	p47 ^{phox} 表达	p67 ^{phox} 表达
正常对照组	10	1.00±0.23	1.00±0.27
模型组	12	3.15±1.32 ^a	2.87±0.76 ^a
运动组	12	1.79±0.90 ^b	1.45±0.62 ^b

注:与正常对照组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$

讨 论

本研究发现,由 STZ 诱导的糖尿病大鼠,其心脏 NADPH 氧化酶调节亚基 p47^{phox} 及 p67^{phox} 表达均明显上调,而随意跑轮运动在抑制上述亚基表达的同时还能增强心功能。由于氧化应激是糖尿病心肌病的重要病理生理基础,故推测长期运动能通过下调 NADPH 氧化酶活性减轻机体氧化应激反应,进而抑制糖尿病心肌病大鼠心脏重塑、提升心功能并延缓心力衰竭进程。

糖尿病心肌病作为独立的糖尿病并发症,受损心脏主要表现包括心室肥厚和间质纤维化,这在本研究中亦得到印证,表现为模型组大鼠心脏质量、HMI、LVESD、LVEDD 以及心肌纤维化指数均显著高于正常对照组水平。心脏肥大最初对于过高的室壁应力具有代偿作用,有利于增加心肌收缩力以维持心功能,但由于血管生成速度相对滞后造成肥大心肌细胞缺血、缺氧,细胞表型发生改变,胎儿蛋白重新激活,最终导致心功能失代偿^[10]。此外,心肌纤维化造成心脏硬度增加、心肌顺应性下降、心肌电不均一性加重,在影响心脏舒缩功能同时还易引发室性心律失常及心源性猝死^[11]。本研究模型大鼠经 8 周随意跑轮运动后,发现其心脏质量、HMI、LVESD、LVEDD 及心肌纤维化指数等均显著降低,LVEF 升高,提示运动干预可抑制糖尿

病大鼠心脏肥大及纤维化,对心功能具有改善作用。Bidasee 等^[12]研究同样证实,糖尿病大鼠表现出左室缩短分数、LVEF、搏出量及心输出量均显著降低,LVESD 增加,而经 3 周跑台运动后大鼠 LVEF 增加,LVESD 下降,由异丙肾上腺素诱导的血液动力学异常得到改善。上述结果提示,多种运动方式均可抑制糖尿病大鼠心脏重塑,进而发挥心脏保护效应。

目前研究发现,有多种因素参与糖尿病性心肌病的发病过程,包括胰岛素抵抗、肾素-血管紧张素系统 (renin-angiotensin system, RAS) 激活增强、炎症反应及氧化应激损伤等^[13]。氧化应激是高血糖诱导心脏结构与功能障碍的关键因素^[2],本研究模型组大鼠心肌 MDA 及 ROS 含量增加也证实了这一点。有文献报道,将培养细胞暴露于高浓度葡萄糖环境中,细胞 ROS 显著增加^[14]。相关糖尿病动物模型研究发现^[15],ROS 是氧化代谢的天然副产物,中等水平 ROS 作为信号分子具有重要调节功能,但高浓度 ROS 可导致细胞凋亡坏死、线粒体功能障碍、胰岛素信号传导受损等;此外 ROS 还可抑制一氧化氮 (nitric oxide, NO) 依赖性血管舒张,从而增强内皮依赖性血管收缩并促进心肌细胞肥大^[16]。本研究中运动组大鼠心肌 MDA 及 ROS 含量均较模型组显著降低,表明运动对糖尿病性心肌病的改善作用可能与减弱机体氧化应激反应有关。尽管临床已采用不同抗氧化剂药物治疗糖尿病性心肌病患者,但均未能减轻心脏功能障碍或改善预后,其原因可能是缺乏适当的措施改善患者心肌 ROS 负荷,而非仅单纯减少全身 ROS 含量^[17];由于运动康复干预对心脏 ROS 具有抑制效应,因此是药物治疗的重要辅助手段。

有学者研究发现,NADPH 氧化酶是糖尿病心脏 ROS 产生的主要靶位^[4]。高血糖可促进 RAS 系统中血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II) 水平升高,继之上调 NADPH 氧化酶亚基表达量及酶活性,进而导致心肌氧化应激反应^[4]。有研究通过靶向抑制小鼠 NADPH 氧化酶亚基发现,NADPH 氧化酶在 Ang II 诱导的心肌肥大及间质纤维化中具有关键作用^[18]。p47^{phox} 亚基对于 NADPH 氧化酶激活必不可少,p47^{phox} 磷酸化能诱导酶构象改变并促进与其他胞浆亚基 (包括 p67^{phox}) 结合,继而与膜亚基 (细胞色素 b558) 结合并产生 O₂⁻^[3-4]。本研究发现,模型组大鼠左心室 p47^{phox} 及 p67^{phox} 表达量均明显上调,这与左心室功能不全相吻合。经 8 周干预后,发现运动组大鼠 p47^{phox} 及 p67^{phox} 表达量均显著下调,表明运动训练能降低 NADPH 氧化酶活性,心脏 NADPH 氧化酶亚基改变可能是糖尿病大鼠心功能改善的原因之一,同时也是运动对糖尿病心肌病发挥心脏保护效应的重要机制。相

关研究发现,高血糖诱导的 Ang II 含量增加可上调 NADPH 氧化酶活性^[4];运动能改善机体血糖控制并下调血浆 Ang II 水平^[19],降低肾交感神经以及动脉血压对 Ang II 的反应性^[20],故推测运动下调 NADPH 氧化酶亚基 p47^{phox} 及 p67^{phox} 表达可能是通过降低血糖以及 Ang II 水平间接介导的。

综上所述,本研究表明,规律运动能通过抑制 NADPH 氧化酶调节亚基 p47^{phox} 及 p67^{phox} 表达,减轻糖尿病大鼠心脏氧化应激反应,进而抑制心脏重塑并增强心功能,提示规律运动训练是糖尿病心肌病患者非药物治疗的重要手段,值得临床进一步研究、推广。

参 考 文 献

- [1] Tarquini R, Pala L, Brancati S, et al. Clinical approach to diabetic cardiomyopathy: a review of human studies [J]. *Curr Med Chem*, 2018, 25 (13): 1510-1524. DOI: 10.2174/0929867324666170705111356.
- [2] Faria A, Persaud SJ. Cardiac oxidative stress in diabetes: mechanisms and therapeutic potential [J]. *Pharmacol Ther*, 2017, 172: 50-62. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2016.11.013.
- [3] Garcia-Redondo AB, Aguado A, Briones AM, et al. NADPH oxidases and vascular remodeling in cardiovascular diseases [J]. *Pharmacol Res*, 2016, 114: 110-120. DOI: 10.1016/j.phrs.2016.10.015.
- [4] Hansen SS, Aasum E, Hafstad AD. The role of NADPH oxidases in diabetic cardiomyopathy [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2018, 1864 (5B): 1908-1913. DOI: 10.1016/j.bbadis.2017.07.025.
- [5] Zhang Y, Murugesan P, Huang K, et al. NADPH oxidases and oxidase crosstalk in cardiovascular diseases: novel therapeutic targets [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2020, 17 (3): 170-194. DOI: 10.1038/s41569-020-0260-8.
- [6] Pedersen BK, Saltin B. Exercise as medicine-evidence for prescribing exercise as therapy in 26 different chronic diseases [J]. *Scand J Med Sci Sports*, 2015, 25 (S3): 1-72. DOI: 10.1111/sms.12581.
- [7] Wang SQ, Li D, Yuan Y. Long-term moderate intensity exercise alleviates myocardial fibrosis in type 2 diabetic rats via inhibitions of oxidative stress and TGF- β 1/Smad pathway [J]. *J Physiol Sci*, 2019, 69 (6): 861-873. DOI: 10.1007/s12576-12019-00696-3.
- [8] 上官若男, 焦艺科, 尚画雨, 等. 8 周游泳运动对 2 型糖尿病大鼠心肌间质纤维化的影响 [J]. *中国康复医学杂志*, 2018, 33 (2): 158-164. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1242.2018.02.007.
- [9] 赵燕, 付玉. 自主跑轮运动对慢性不可预见性轻度应激大鼠抑郁样行为及神经内分泌因子近日节律的影响 [J]. *中国病理生理杂志*, 2017, 33 (10): 1751-1758. DOI: 10.3969/j.issn.1000-4718.2017.10.004.
- [10] Nakamura M, Sadoshima J. Mechanisms of physiological and pathological cardiac hypertrophy [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2018, 15 (7): 387-407. DOI: 10.1038/s41569-018-0007-y.
- [11] Wang R, Lin J, Bagchi RA. Novel molecular therapeutic targets in cardiac fibrosis: a brief overview [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2019, 97 (4): 246-256. DOI: 10.1139/cjpp-2018-0430.
- [12] Bidasee KR, Zheng H, Shao CH, et al. Exercise training initiated after the onset of diabetes preserves myocardial function: effects on expression of beta-adrenoceptors [J]. *J Appl Physiol*, 2008, 105 (3): 907-914. DOI: 10.1152/japplphysiol.00103.2008.

- [13] Alonso N, Moliner P, Mauricio D. Pathogenesis, clinical features and treatment of diabetic cardiomyopathy[J]. Adv Exp Med Biol, 2018, 1067:197-217. DOI:10.1007/5584_2017_105.
- [14] Yu T, Sheu SS, Robotham JL, et al. Mitochondrial fission mediates high glucose-induced cell death through elevated production of reactive oxygen species[J]. Cardiovasc Res, 2008, 79(2):341-351. DOI:10.1093/cvr/cvn104.
- [15] Boudina S, Bugger H, Sena S, et al. Contribution of impaired myocardial insulin signaling to mitochondrial dysfunction and oxidative stress in the heart[J]. Circulation, 2009, 119(9):1272-1283. DOI:10.1161/CIRCULATIONAHA.108.792101.
- [16] Su H, Pistolozzi M, Shi X, et al. Alterations in NO/ROS ratio and expression of Trx1 and Prdx2 in isoproterenol-induced cardiac hypertrophy[J]. Acta Biochim Biophys Sin, 2017, 49(11):1022-1028. DOI:10.1093/abbs/gmx102.
- [17] Kasznicki J, Drzewoski J. Heart failure in the diabetic population-pathophysiology, diagnosis and management[J]. Arch Med Sci, 2014, 10(3):546-556. DOI:10.5114/aoms.2014.43748.
- [18] Bendall JK, Cave AC, Heymes C, et al. Pivotal role of a gp91(phox)-containing NADPH oxidase in angiotensin II-induced cardiac hypertrophy in mice[J]. Circulation, 2002, 105(3):293-296. DOI:10.1161/hc0302.103712.
- [19] Nunes-Silva A, Rocha GC, Magalhaes DM, et al. Physical exercise and ACE2-Angiotensin-(1-7)-Mas receptor axis of the renin angiotensin system[J]. Protein Pept Lett, 2017, 24(9):809-816. DOI:10.2174/0929866524666170728151401.
- [20] Zheng H, Sharma NM, Liu X, et al. Exercise training normalizes enhanced sympathetic activation from the paraventricular nucleus in chronic heart failure; role of angiotensin II[J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2012, 303(4):R387-394. DOI:10.1152/ajpregu.00046.2012.

(修回日期:2020-10-19)

(本文编辑:易 浩)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊对来稿中统计学处理的有关要求

1. 统计研究设计:应交代统计研究设计的名称和主要做法。如调查设计(分为前瞻性、回顾性或横断面调查研究);实验设计(应交代具体的设计类型,如自身配对设计、成组设计、交叉设计、析因设计、正交设计等);临床试验设计(应交代属于第几期临床试验,采用了何种盲法措施等)。主要做法应围绕4个基本原则(随机、对照、重复、均衡)概要说明,尤其要交代如何控制重要非试验因素的干扰和影响。

2. 资料的表达与描述:用 $(\bar{x} \pm s)$ 表达近似服从正态分布的定量资料,用 $M(Q_R)$ 表达呈偏态分布的定量资料;用统计表时,要合理安排纵横标目,并将数据的含义表达清楚;用统计图时,所用统计图的类型应与资料性质相匹配,并使数轴上刻度值的标法符合数学原则;用相对数时,分母不宜小于20,要注意区分百分率与百分比。

3. 统计分析方法的选择:对于定量资料,应根据所采用的设计类型、资料所具备的条件和分析目的,选用合适的统计分析方法,不应盲目套用 t 检验和单因素方差分析;对于定性资料,应根据所采用的设计类型、定性变量的性质和频数所具备的条件以及分析目的,选用合适的统计分析方法,不应盲目套用 χ^2 检验。对于回归分析,应结合专业知识和散布图,选用合适的回归类型,不应盲目套用简单直线回归分析,对具有重复实验数据的回归分析资料,不应简单化处理;对于多因素、多指标资料,要在一元分析的基础上,尽可能运用多元统计分析方法,以便对因素之间的交互作用和多指标之间的内在联系进行全面、合理的解释和评价。

4. 统计结果的解释和表达:当 $P < 0.05$ (或 $P < 0.01$)时,应说明对比组之间的差异有统计学意义,而不应说对比组之间具有显著性(或非常显著性)的差别;应写明所用统计分析方法的具体名称(如:成组设计资料的 t 检验、两因素析因设计资料的方差分析、多个均数之间两两比较的 q 检验等),统计量的具体值(如 $t = 3.45$, $\chi^2 = 4.68$, $F = 6.79$ 等),应尽可能给出具体的 P 值(如 $P = 0.0238$);当涉及到总体参数(如总体均数、总体率等)时,在给出显著性检验结果的同时,再给出95%可信区间。