

Cardioprotective Effect of Linagliptin on Diabetic Wistar Rats

Lihua SONG¹, Jie LIU², Yang BAI³, Yuming DU¹,
Chunhua LING¹, Xiuyuan SU¹ & Xuezhong YU^{2*}

¹ Jilin People's Hospital, Changchun, Jilin, China

² Qingdao Third People's Hospital, Qingdao, Shandong, China

³ First Hospital of Jilin University, Changchun, Jilin, China

SUMMARY. The objective was to study the effect of linagliptin on diabetic rats. A number of Wistar rats were randomly divided into group A (control group, n = 5), group B (linagliptin-treated group, n = 5), group C (diabetic group, n = 15), and group D (diabetes and linagliptin-treated group, n = 15). After linagliptin treatment for 1 week and 4 weeks, cardiac function was evaluated by two-dimensional ultrasonography. The myocardial tissues were examined by different staining methods, including hematoxylin-eosin staining, Sirius red staining and TUNEL staining was made, to compare the differences of morphological observation in each group. The expressions of mRNA in related cells, including Bcl-2, Bax, TNF- α , PAI-1, CTGF and TGF- β 1, were measured by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) and Western blot, respectively, in different groups. Clarifying the expression and transcriptional function of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) in myocardium activated by RT-PCR was done by Western blot and immunofluorescence. At the 4 weeks of medication, left ventricular size (LV) and left ventricle thickness (LT) in group D were significantly lower than those in group C, all $P < 0.05$. Ejection fraction (EF) value in group D was higher than that in group C. The fasting glucose level and heat weight/body weight (HW/BW) of group D were lower than those in group C. From HE staining micrographs, the treatment of LIN made the arrangement of myocardial fibers more regular and the striation of myocardial cells clearer. The Sirius red staining micrographs showed that there was significant accumulation of collagen in group C rats, which indicated that the group C rats had cardiac fibrosis. The phenomenon in group D was alleviated. From TUNEL staining micrographs, at 4 weeks time point, the degree of cardiomyocyte apoptosis in group D was lower than that in group C ($P < 0.01$). The expressions of Bax, TNF- α , PAI-1, CTGF and TGF-1 were decreased by the treatment of linagliptin, which were compared the indicators in group C. While the expression of Bcl-2 in group D rats significantly increased ($P < 0.05$). From myocardial tissue Nrf2 mRNA test and immunofluorescence Nrf2 protein expression test, the results showed that the expression of Nrf2 was significantly down-regulated in the heart of diabetic rats ($P < 0.01$), while this phenomenon in the group D was greatly ameliorated. In conclusion, this study found that the expression of Nrf2 was significantly down-regulated in the heart of diabetic rats, which may explain the mechanism of DCM. Through the treatment of linagliptin, the down-regulated trend of Nrf2 had been effectively ameliorated, which had the effect of anti-oxidative stress on cardiovascular, protective and cardiac functions.

RESUMEN. El objetivo fue estudiar el efecto de la linagliptina en ratas diabéticas. Varias ratas Wistar se dividieron aleatoriamente en grupo A (grupo control, n = 5), grupo B (grupo tratado con linagliptina, n = 5), grupo C (grupo diabético, n = 15) y grupo D (diabetes y grupo tratado con linagliptina, n = 15). Después del tratamiento con linagliptina durante 1 semana y 4 semanas, se evaluó la función cardíaca mediante ecografía bidimensional. Los tejidos del miocardio se examinaron mediante diferentes métodos de tinción, incluida la tinción con hematoxilina-eosina, tinción con rojo de Sirius y tinción con TUNEL, para comparar las diferencias de observación morfológica en cada grupo. Las expresiones de ARNm en células relacionadas, incluyendo Bcl-2, Bax, TNF- α , PAI-1, CTGF y TGF- β 1, se midieron por reacción de detranscripción inversa en cadena de la polimerasa de (RT-PCR) y Western blot, respectivamente, en diferentes grupos. La transferencia de Western y la inmunofluorescencia aclararon la expresión y la función transcripcional del factor 2 relacionado con el factor nuclear eritroide 2 (Nrf2) en el miocardio activado por RT-PCR. A las 4 semanas de medicación, el tamaño del ventrículo izquierdo (LV) y el grosor del ventrículo izquierdo (LT) en el grupo D fueron significativamente más bajos que los del grupo C, todos $P < 0,05$. El valor de la fracción de eyección (EF) en el grupo D fue mayor que el del grupo C. El nivel de glucosa en ayunas y el peso del calor/peso corporal (HW/BW) del grupo D fueron más bajos que los del grupo C. De las micrografías de tinción HE, el tratamiento de LIN hizo que la disposición de las fibras de miocardio sea más regular y la estriación de las células de miocardio sea más clara. Las micrografías de tinción con rojo de Sirius mostraron que había una acumulación significativa de colágeno en ratas del grupo C, lo que indicaba que las

KEY WORDS: cardiovascular protection, diabetic cardiomyopathy, linagliptin, nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2).

* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: yuxuezhong11@16.com

ratas del grupo C tenían fibrosis cardíaca. El fenómeno en el grupo D fue aliviado. A partir de las micrografías de tinción TUNEL, a las 4 semanas, el grado de apoptosis de cardiomiocitos en el grupo D fue menor que en el grupo C ($P < 0.01$). Las expresiones de Bax, TNF-, PAI-1, CTGF y TGF-1 disminuyeron con el tratamiento de linagliptina, que se compararon con los indicadores en el grupo C. Mientras que la expresión de Bcl-2 en ratas del grupo D aumentó significativamente ($P < 0,05$). A partir de la prueba de ARNm de Nrf2 de tejido miocárdico y la prueba de expresión de la proteína Nrf2 de inmunofluorescencia, los resultados mostraron que la expresión de Nrf2 se reguló significativamente hacia abajo en el corazón de las ratas diabéticas ($P < 0.01$), mientras que este fenómeno en el grupo D se mejoró considerablemente. Este estudio encontró que la expresión de Nrf2 estaba significativamente regulada por disminución en el corazón de las ratas diabéticas, lo que puede explicar el mecanismo de DCM. A través del tratamiento con linagliptina, la tendencia a la baja regulación de Nrf2 había sido efectivamente mejorada, lo que tenía el efecto del estrés antioxidante en las funciones cardiovasculares, protectoras y cardíacas.
