



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101730532 B

(45) 授权公告日 2012. 05. 30

(21) 申请号 200880023418. 7

(22) 申请日 2008. 06. 27

(30) 优先权数据

0701602-5 2007. 07. 02 SE

(85) PCT申请进入国家阶段日

2010. 01. 04

(86) PCT申请的申请数据

PCT/SE2008/050797 2008. 06. 27

(87) PCT申请的公布数据

W02009/005464 EN 2009. 01. 08

(73) 专利权人 恩特雷斯公司

地址 瑞典斯德哥尔摩

(72) 发明人 斯特凡·G·彼任诺夫斯基

(74) 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司

公司 11227

代理人 顾晋伟 韩宏星

(51) Int. Cl.

A61K 31/194 (2006. 01)

A61K 31/198 (2006. 01)

A61P 9/14 (2006. 01)

(56) 对比文件

W0 2005/123056 A1, 2005. 12. 29, 说明书第 5 页第 7-26 行.

CN 1401758 A, 2003. 03. 12, 说明书第 9 页第 2 段.

W0 2006/046880 A1, 2006. 05. 04, 权利要求 1-3, 50.

W0 95/34301 A1, 1995. 12. 21, 权利要求 1, 6.

杨文. 2420 例体检者的脉压空腹血糖甘油三酯的分析.《心肺血管病杂志》. 2005, 第 24 卷 (第 4 期), 223-224.

审查员 张溪

权利要求书 1 页 说明书 16 页 附图 4 页

(54) 发明名称

已知药理学活性化合物的用途

(57) 摘要

本发明涉及 α -酮戊二酸、其酰胺、盐及它们的混合物在制备用于在有需要的受试者中在体内治疗性提高血管弹性 (尤其是动脉弹性) 的药物制剂或者食物补充剂或饲料补充剂中的新用途。提高血管弹性可用于治疗和 / 或预防高血压、肺动脉高血压、心血管病、视网膜血管病、心力衰竭、动脉粥样硬化、心室肥大、中风、动脉瘤、肾衰竭、肾硬化症和与高血压有关的疾病。

1. α -酮戊二酸钙在制备用于在受试者中提高血管弹性的药物制剂或者食物补充剂或饲料补充剂中的用途。
2. 权利要求 1 的用途,其中所述血管是动脉。
3. 权利要求 1 或 2 的用途,其中所述受试者需要治疗和 / 或预防高血压、肺高血压、视网膜血管病、心室肥大或动脉瘤。
4. 权利要求 1 或 2 的用途,其中所述受试者进行了胃手术。
5. 权利要求 4 的用途,其中所述胃手术是胃旁路手术、胃切除术或胃结扎术。
6. 权利要求 4 的用途,其中所述胃手术是部分胃切除术。
7. 权利要求 1 或 2 的用途,其中所述受试者患有与营养不良相关的病症。
8. 权利要求 1 或 2 的用途,其中所述受试者是老年人。
9. 权利要求 1 或 2 的用途,其中施用给患者的剂量范围为 1-1000mg/kg 体重 / 天的 α -酮戊二酸钙。
10. 权利要求 1 或 2 的用途,其中施用给患者的剂量范围为 10-400mg/kg 体重 / 天的 α -酮戊二酸钙。
11. 权利要求 1 或 2 的用途,其中施用给患者的剂量范围为 10-100mg/kg 体重 / 天的 α -酮戊二酸钙。

已知药理学活性化合物的用途

技术领域

[0001] 本发明涉及已知药理学活性化合物的新用途。更具体而言,本发明涉及 α -酮戊二酸、其酰胺、盐及它们的混合物在制备用于在有此需要的受试者中在体内治疗性提高血管弹性(尤其是动脉弹性)的药物制剂或者食物补充剂或饲料补充剂中的新用途。

背景技术

[0002] 胃手术

[0003] 随着西方世界中肥胖的逐步增加,介入式(invasive)减肥形式作为降低死亡率和改善共存病症之手段的前景日益看好。实际上,一些人倡导介入式减肥是唯一可接受的减肥方式,因为1992年NIH发表的声明中报道了非手术方法在肥胖患者中的成功率为5%或更低。已经表明胃旁路手术能使过高的体重减少高达70%,其中长期体重减轻持续10-14年。

[0004] 近来,Coates和她的同事报道,诸如胃旁路手术的介入式手术可能影响骨骼健康。在对胃旁路手术的25名患者进行的研究中,发现髌转节中骨转换标志物显著提高并且骨矿物质密度降低。

[0005] 已知胃旁路手术还对降低高血压有益,高血压是病态肥胖中常见的问题。在对67名登记为高血压($bp > 160/90\text{mm Hg}$)的病态肥胖患者的随访中,表明胃旁路手术减轻了44名个体(66%)中的术前高血压。

[0006] 疾病中的血管弹性

[0007] 很久以来,众所周知血管弹性(尤其是动脉弹性)与高血压及相关病症有关。已经表明,动脉硬化是非高血压受试者中高血压进展的独立预兆,即动脉硬化是独立于其它已知风险因素的发生高血压的风险因素(Dernellis和Panaretou, Hypertension. 2005 ;45 : 426-431)。视网膜血管病可能是由于高血压性视网膜病引起的,也即由系统性高血压引起。

[0008] 肺高血压(pulmonary hypertension, PH)是指肺动脉、肺静脉或肺毛细血管(总称为肺血管)的血压升高,导致呼吸短促、头晕、昏厥和其它症状,所有这些症状均可由于运动而加重。根据病因,肺高血压可以是运动耐性显著降低的严重疾病,并且可导致右心衰竭。肺动脉高血压(WHO的I类)涉及与肺连接的血管及肺内血管的血管收缩或硬化。这使得心脏更难以将血液泵出通过肺。随着时间的推移,受影响的血管在称为纤维化的过程中变得更硬、更厚。这进一步升高了肺内的血压并且损害其血流。此外,心脏负荷增加可导致右心室肥厚,其可发展为右心室衰竭。

[0009] 动脉瘤是由疾病或血管壁衰弱而引起血管的局部充血扩张(气球样膨胀)。动脉瘤最常见于脑基底动脉(Willis循环)和主动脉(从心脏流出的主要动脉)中,称为主动脉瘤。血管中的膨胀可在任何时候破裂并导致疾病或死亡。动脉瘤越大,其越可能破裂。

[0010] 虽然存在对高血压、肺高血压、心室肥大和动脉瘤的治疗(药物和手术),但是仍然需要具有更好效力和/或更少副作用和/或更好成本效益的改进治疗。

发明内容

[0011] 现在,本发明人显示,肥胖个体在进行胃手术之后其动脉的弹性改变。旁路手术改变了影响动脉结构的养分的吸收(与骨骼系统所见的方式相似),对动脉的弹性和强度具有不良后果。然而,还没有报道对这些副作用的有效治疗。因此,存在对预防胃手术的这些副作用的未满足的需求。此外,还发现相同的治疗可用在需要增加血管弹性的其它受试者(例如老龄受试者)中。

[0012] 因此,本发明提供选自以下的至少一种物质在制备用于在有此需要的受试者中提高血管弹性的药物制剂或者食物补充剂或饲料补充剂中的用途:

[0013] a) α -酮戊二酸(AKG);

[0014] b) α -酮戊二酸的可药用盐;

[0015] c) 氨基酸、二肽或三肽与 α -酮戊二酸形成的酰胺及其可药用盐;以及

[0016] d) α -酮戊二酸或其可药用盐与至少一种氨基酸或其可药用盐的可药用物理混合物。

[0017] 所述血管优选是动脉。

[0018] 在某些实施方案中,所述受试者需要治疗和/或预防高血压、肺动脉高血压、心血管病、视网膜血管病、心力衰竭、动脉粥样硬化、心室肥大、中风、动脉瘤、肾衰竭、肾硬化症或与高血压有关的其它疾病。

[0019] 在一个实施方案中,本发明涉及选自以下的至少一种物质在制备用于在患有营养不良相关病症的个体、已经进行胃手术的个体或老龄个体中治疗对血管弹性及强度的副作用的药物制剂或者食物补充剂或饲料补充剂中的用途: α -酮戊二酸(AKG); α -酮戊二酸的可药用盐;氨基酸、二肽或三肽与 α -酮戊二酸形成的酰胺及其可药用盐;以及 α -酮戊二酸或其可药用盐与至少一种氨基酸的可药用物理混合物。根据又一些实施方案,所述胃手术是胃旁路手术、胃切除术、部分胃切除术或胃结扎术。

[0020] 根据又一些实施方案,使用 α -酮戊二酸或其碱金属盐或碱土金属盐或它们的组合。

[0021] 根据本发明的一个实施方案,使用 α -酮戊二酸钠。根据另一个实施方案,使用 α -酮戊二酸钙。

[0022] 根据又一些实施方案,施用给患者的物质的剂量为 1-1000mg/kg 体重/天、10-400mg/kg 体重/天或 10-100mg/kg 体重/天。

[0023] 在本发明的另一个方面中,提供用于在有此需要的受试者中提高血管弹性的治疗方法,所述方法包括向有此需要的受试者施用有效量的至少一种选自以下的物质:

[0024] a) α -酮戊二酸(AKG);

[0025] b) α -酮戊二酸的可药用盐;

[0026] c) 氨基酸、二肽或三肽与 α -酮戊二酸形成的酰胺及其可药用盐;以及

[0027] d) α -酮戊二酸或其可药用盐与至少一种氨基酸或其可药用盐的可药用物理混合物。

[0028] 所述方法中的血管优选是动脉。

[0029] 施用所述治疗的受试者可以是需要治疗和/或预防高血压、肺动脉高血压、心血管病、视网膜血管病、心力衰竭、动脉粥样硬化、心室肥大、中风、动脉瘤、肾衰竭、肾硬化症

或与高血压有关的其它疾病的受试者。

[0030] 根据本发明,出乎意料地发现 α -酮戊二酸 (AKG); α -酮戊二酸的可药用盐;氨基酸、二肽或三肽与 α -酮戊二酸形成的酰胺及其可药用盐;以及 α -酮戊二酸或其可药用盐与至少一种氨基酸或其可药用盐的可药用物理混合物可用于在体内对进行了胃手术的个体中对血管弹性和强度的副作用进行治疗性处理。根据又一些实施方案,所述胃手术是胃旁路手术、胃切除术、部分胃切除术或胃结扎术。

[0031] 在又一个实施方案中,本发明涉及用于治疗已经进行胃手术的个体中对血管弹性和强度的副作用的方法,所述方法包括向有此需要的受试者施用有效量的至少一种选自以下的物质: α -酮戊二酸 (AKG); α -酮戊二酸的可药用盐;氨基酸、二肽或三肽与 α -酮戊二酸形成的酰胺及其可药用盐;以及 α -酮戊二酸或其可药用盐与至少一种氨基酸的可药用物理混合物。

[0032] 根据又一些实施方案,所述胃手术是胃旁路手术、胃切除术、部分胃切除术或胃结扎术。

[0033] 在又一个实施方案中,本发明涉及治疗患有与营养不良相关的病症的个体或老龄个体中对血管弹性和强度的副作用的方法,所述方法包括向需要这种治疗或预防的受试者施用有效量的至少一种选自以下的物质: α -酮戊二酸 (AKG); α -酮戊二酸的可药用盐;氨基酸、二肽或三肽与 α -酮戊二酸形成的酰胺及其可药用盐;以及 α -酮戊二酸或其可药用盐与至少一种氨基酸的可药用物理混合物。

[0034] 根据又一些实施方案,使用 α -酮戊二酸或其碱金属盐或碱土金属盐或者它们的组合。

[0035] 根据本发明的一个实施方案,使用 α -酮戊二酸钠。根据另一个实施方案,使用 α -酮戊二酸钙。

[0036] 根据又一些实施方案,在本发明方法中施用给患者的物质的剂量为 1-1000mg/kg 体重/天、10-400mg/kg 体重/天或 10-100mg/kg 体重/天。

[0037] 附图说明

[0038] 在下述说明书中借助优选实施方案、实施例研究和附图进一步解释本发明:

[0039] 图 1 显示施用 AKG(+AKG) 或载体(-AKG) 的旁路手术大鼠 (B) 和假手术大鼠 (S) 的主动脉节段的弹性回缩力记录值。用力传感器进行记录,所述力传感器与 A/D 转换器相连,采样速度为 1000 个样品/秒。每个点表示平均值 $\pm$ SE。平均值之间的显著性差异如下:a 和 d = $p < 0.05$, b = $p < 0.01$, c = $p = 0.01$ 。分配到四个组中的动物如下:B-AKGn = 6, B+AKG n = 11, S-AKG n = 12 以及 S+AKG n = 12。

[0040] 图 2 显示进行一系列拉伸/松弛循环的主动脉节段的典型实验图。所施加的最大拉伸力为在大鼠主动脉中所测的 (13-14kPa) 约 0.14%。注意将第一个拉伸/松弛循环的线的斜率与第二个和第三个循环的线的斜率相比较。此斜率代表主动脉节段中固有的弹性回缩力(为手动施加张力的约 16%)。明显地,在此范围内重复拉伸/松弛循环导致弹性降低。

[0041] 图 4 显示第一个拉伸系列:以对照和 (A) Na-AKG 以及 (B) Ca-AKG 处理的小鼠的主动脉节段的弹性回缩力记录值。用力传感器进行记录,所述力传感器与 A/D 转换器相连,采样速度为 1000 个样品/秒。每个点表示平均值 $\pm$ SE。平均值之间的显著性差异如下:a =

$P < 0.05$, $b = P < 0.01$, $c = P < 0.001$ 。分配到三个组中的动物均为 $n = 6$ 。

[0042] 图 5 显示第二个拉伸系列：以对照和 (A) Na-AKG 以及 (B) Ca-AKG 处理的小鼠的主动脉节段的弹性回缩力记录值。用力传感器进行记录, 所述力传感器与 A/D 转换器相连, 采样速度为 1000 个样品 / 秒。每个点表示平均值 $\pm$ SE。平均值之间的显著差异如下: $a = P < 0.05$, $b = P < 0.01$, $c = P < 0.001$ 。分配到三个组中的动物均为 $n = 6$ 。

[0043] 发明详述

[0044] 本发明的一个目的是提供可用于在有此需要的受试者中提高血管弹性的有效且安全的治疗。在一个优选的实施方案中, 弹性提高的血管是动脉, 但是静脉、毛细血管、小静脉和小动脉的弹性也可通过本发明来提高。

[0045] 因为血管弹性 (尤其是动脉弹性) 与高血压和肺动脉高血压之间具有确定的关联, 因此所提供的提高血管弹性的治疗可用于制备用于治疗 and / 或预防高血压和肺动脉高血压的药物。又已知高血压是心血管病、视网膜血管疾病、心力衰竭、中风、动脉粥样硬化、肾衰竭、肾硬化症和其它疾病的发病因素。同样, 已知肺动脉高血压是右心室肥大的发病因素。因此, 所提供的提高血管弹性的治疗可用于制备药物, 所述药物用于治疗 and / 或预防高血压和肺动脉高血压作为发病因素或风险因子的所述疾病和病症以及其它高血压和肺动脉高血压作为发病因素或风险因子的其他疾病和病症。所提供的治疗还可以用于制备用于治疗 and / 或预防其中已知血管弹性受损的其它病症的药物。

[0046] 本发明的另一个目的是提供对胃手术引起的对血管弹性和强度之副作用的有效和安全的治疗。

[0047] 与本发明相关的各种语法形式的术语“治疗”指预防、治愈、逆转、减弱、减轻、改善、抑制、最小化、制止或停止受治病症的副作用。

[0048] 与本发明上下文中的胃手术相关的术语“副作用”指胃手术后出现的对血管性能 (例如动脉弹性和 / 或强度) 的不良影响。例如, 胃旁路手术后可见动脉弹性降低。

[0049] 术语“营养不良”意指由饮食不充分或不足而引起的医学病症, 通常是由养分摄入不足、吸收不良或过量丢失引起的。

[0050] 即便饮食充分, 与营养不良有关的某些病症也会出现。例如, 可能由于年老或其它疾病而使胃肠道功能受损。在这样的情形下, 消化受损可能是由于例如胃、肠、胰腺等中宿主消化酶或其产生不足; 胆汁形成不足; 胃 pH 不适当 (HCl 产生受损) 或其它原因引起的。由于年老、饮食 (例如不耐受麸质) 或疾病破坏绒毛引起的绒毛萎缩可能是吸收受损引起的营养不良的直接原因。涉及细菌过度生长或缺少消化道细菌的病症也可能是营养不良的原因。几种其它原因也造成营养不良, 例如肠癌、手术、毒素、遗传、循环 (血液和淋巴) 问题、厌食等。在任何情形下, 营养不良和与营养不良有关的病症均可导致恶病质 (cachexia) 并且降低生命机能。

[0051] 本发明上下文中的术语“老龄”意指生物 (例如人) 中与年龄相关的衰退开始变得明显的年龄段。在人的情形下, 老龄可被定义为 40 岁以上, 优选 50 岁以上, 更优选 60 岁以上, 或者最优选 65 岁以上。

[0052] “提高血管弹性”意指血管弹性变大, 即血管硬度变小。该术语还包括血管的抗张强度提高。

[0053] 与本发明相关的胃手术的实例包括但不限于胃旁路手术、胃切除术、部分胃切除

术和胃结扎术。

[0054] 因此,根据本发明的一个方面,提供了选自以下的至少一种物质在制备用于提高血管弹性(例如用于治疗 and / 或预防高血压、肺动脉高血压、心血管病、视网膜血管病、心力衰竭、动脉粥样硬化、心室肥大、中风、动脉瘤、肾衰竭、肾硬化症和与高血压有关的疾病)的药物制剂或者食物补充剂或饲料补充剂中的用途: α -酮戊二酸(AKG); α -酮戊二酸的可药用盐;氨基酸或二肽或三肽与 α -酮戊二酸形成的酰胺及其可药用盐;以及 α -酮戊二酸或其可药用盐与至少一种氨基酸或其可药用盐的可药用物理混合物。

[0055] 在一个优选的实施方案中,所述药物制剂涉及提高动脉的弹性。

[0056] 在一个实施方案中,所述药物制剂涉及已经进行胃手术的受试者。

[0057] 在一个实施方案中,所述药物制剂涉及患有与营养不良有关的病症的受试者。

[0058] 在一个实施方案中,所述药物制剂涉及老龄受试者。

[0059] 根据本发明的一个实施方案,使用 α -酮戊二酸或其碱金属盐或碱土金属盐或它们的组合。

[0060] 优选地,使用 α -酮戊二酸钠。甚至更优选地,使用 α -酮戊二酸钙。 α -酮戊二酸钠在肠内施用之后吸收较快,峰值血液水平较高,而 α -酮戊二酸钙在肠内施用之后吸收较慢,作用较持久。实施例2显示在某些病症中 α -酮戊二酸钙的效果比 α -酮戊二酸钠的好。

[0061] 在又一个方面中,本发明涉及用于提高血管弹性(例如用于治疗 and / 或预防高血压、肺动脉高血压、心血管病、视网膜血管病、心力衰竭、动脉粥样硬化、心室肥大、中风、动脉瘤、肾衰竭、肾硬化症和与高血压有关的疾病)的方法,所述方法包括向需要这种治疗或预防的受试者施用有效量的至少一种选自以下的物质: α -酮戊二酸(AKG); α -酮戊二酸的可药用盐;氨基酸或二肽或三肽与 α -酮戊二酸形成的酰胺及其可药用盐;以及 α -酮戊二酸或其可药用盐与至少一种氨基酸或其可药用盐的可药用物理混合物。

[0062] 根据某些实施方案,所述受试者已进行了胃手术、患有与营养不良相关的病症,或者是老龄受试者。

[0063] 根据这些方面的一些实施方案,施用 α -酮戊二酸或其碱金属盐或碱土金属盐或其组合。优选地,施用 α -酮戊二酸钠。更优选地,施用 α -酮戊二酸钙。

[0064] 可将本发明所用的活性成分的药物制剂施用给脊椎动物,包括哺乳动物和鸟类,例如啮齿动物,比如小鼠、大鼠、豚鼠或兔;鸟类,例如火鸡、母鸡或小鸡以及其它肉鸡和散养动物(free going animal);牛、马、猪或小猪以及其它农场动物;狗、猫和其它宠物,尤其是人。

[0065] 根据待治疗的脊椎动物的种类、需要所述方法治疗的脊椎动物的病症和待治疗的具体适应症,可以不同方式进行施用。

[0066] 在一个实施方案中,以食物补充剂或饲料补充剂(例如饮食补充剂和 / 或固体食物和 / 或饮料形式的成分)进行施用。其它的实施方案可以是混悬液或溶液,例如下文中进一步描述的饮料。此外,所述形式可以是胶囊或片剂,例如咀嚼片或可溶片(例如泡腾片)以及粉末和本领域技术人员公知的其它干形式,例如丸剂(例如微丸)和颗粒。

[0067] 可以胃肠外、直肠或口服的食物补充剂或饲料补充剂进行施用,如上文所述。胃肠外载体包括氯化钠溶液、林格氏葡萄糖、葡萄糖和氯化钠、乳酸林格氏液或不挥发油。

[0068] 所述食物补充剂和饲料补充剂还可被乳化。然后,可将活性治疗成分与赋形剂混合,所述赋形剂是可药用的并且与该活性成分相容。合适的赋形剂是例如水、盐水、葡萄糖、甘油、乙醇等以及其组合。此外,必要时,所述组合物可含有少量的能增强活性成分效力的辅助物质,例如润湿剂或乳化剂、pH 缓冲剂。

[0069] 不同形式的胃肠外用食物补充剂或饲料补充剂可以例如固体食物、液体或冻干或其它干制剂形式提供。其可包含具有不同缓冲剂(例如 Tris-HCl、醋酸盐、磷酸盐)、pH 和离子强度的稀释剂;添加剂(例如白蛋白或明胶),以防止表面吸附;去污剂(例如吐温 20、吐温 80、普流尼克 F68、胆酸盐);增溶剂(例如甘油、聚乙二醇)、抗氧化剂(例如抗坏血酸、偏亚硫酸钠);防腐剂(例如 Thimerosal、苧醇、尼泊金);填充物质(bulking substance)或张力调节剂(例如乳糖、甘露醇);与组合物共价连接的聚合物(例如聚乙二醇);与金属离子的配合物;或者将所述材料掺入到聚合物化合物(例如聚乳酸、聚羟基乙酸、水凝胶等)的颗粒制剂之内或之上;或掺入到脂质体、微乳、胶束、单层囊泡或多层囊泡、红细胞血影或球状体之上。

[0070] 在一个实施方案中,在本发明任何方法中以饮料或干组合物的形式施用食物补充剂或饲料补充剂。

[0071] 饮料包含有效量的活性成分与营养学上可接受的水溶性载体,例如矿物质、维生素、碳水化合物、脂肪和蛋白质。如果以干形式提供饮料,则所有这些成分以干形式提供。所提供的准备用于消费的饮料还包含水。最终的饮料溶液还可具有可控的张力和酸度,例如符合上文段落一般推荐的缓冲溶液。

[0072] PH 范围优选为约 2-5,尤其是约 2-4,以防止细菌和真菌生长。还可使用 pH 约 6-8 的无菌饮料。

[0073] 所述饮料可单独提供,或与一种或多种治疗有效的组合物相组合提供。

[0074] 根据又一个实施方案,作为经口服和直肠使用之药物的药物制剂可以为片剂、锭剂、胶囊、粉末、水性混悬剂或油性混悬剂、糖浆剂、酏剂、水溶液等的形式,其含有与可药用载体和/或添加剂(例如可用于本发明公开的方法和用途中的稀释剂、防腐剂、增溶剂、乳化剂、佐剂和/或载体)混合的活性成分,。

[0075] 此外,本文所用的“可药用载体”是本领域技术人员众所周知的,可包括但不限于 0.01-0.05M 磷酸盐缓冲液或 0.8% 盐水。另外,这样的可药用载体可以是含水或不含水的溶液、混悬液和乳液。非水溶剂的实例是丙二醇、聚乙二醇、植物油(例如橄榄油)和注射用有机酯(例如油酸乙酯)。含水载体包括水、醇/水溶液、乳液或混悬液,包括盐水和缓冲介质。胃肠外载体包括氯化钠溶液、林格氏液葡萄糖、葡萄糖和氯化钠、乳酸林格氏液或不挥发性油。还可存在防腐剂和/或其它添加剂,例如抗微生物剂、抗氧化剂、螯合剂、惰性气体等。

[0076] 在氨基酸或二肽或三肽与 α -酮戊二酸形成的酰胺中,所述氨基酸或形成二肽或三肽的氨基酸可以是作为天然肽中成分存在的任意氨基酸。这同样适用于 α -酮戊二酸或其盐与至少一种氨基酸的可药用物理混合物。优选地,所述氨基酸选自精氨酸、鸟氨酸、亮氨酸、异亮氨酸和赖氨酸。

[0077] 所述氨基酸优选以其 L-构型使用。

[0078] α -酮戊二酸与氨基酸、二肽或三肽形成的酰胺的实例包括但不限于 α -酮戊二

酸与选自谷胺酰胺、谷氨酸、精氨酸、鸟氨酸、赖氨酸、脯氨酸、异亮氨酸和亮氨酸的氨基酸所形成的酰胺； α -酮戊二酸与谷胺酰胺和谷氨酸、精氨酸、鸟氨酸、赖氨酸、脯氨酸、异亮氨酸和亮氨酸中任一种的二肽所形成的酰胺；以及 α -酮戊二酸与谷氨酸和精氨酸、鸟氨酸、赖氨酸、脯氨酸、异亮氨酸和亮氨酸中任一种的二肽所形成的酰胺。

[0079] α -酮戊二酸或其盐与至少一种氨基酸的物理混合物的实例包括但不限于选自 α -酮戊二酸及其钠盐、钾盐、钙盐和镁盐的至少一种与谷胺酰胺、谷氨酸、精氨酸、鸟氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、赖氨酸和脯氨酸中任一种以及所述氨基酸之任意组合的混合物。

[0080] 一般而言，所述物理混合物中 α -酮戊二酸或其盐与氨基酸的摩尔比为 1 : 0.01 至 1 : 2，优选为 1 : 0.1 至 1 : 1.5，最优选为 1 : 0.2 至 1 : 1.0。

[0081] 根据待使用的活性成分；待治疗的病症；待治疗患者的年龄、性别、体重等，待施用的剂量可不同，但是，剂量范围通常为 1-1000mg/kg 体重 / 天，或 10-400mg/kg 体重 / 天，优选 10-100mg/kg 体重 / 天。

[0082] 上述的实施方案可彼此自由组合。因此，对上文所述的和权利要求中的细节和特殊情况作适当修改后，同样适用于本发明的任意其它实施方案。虽然根据所公开的某些实施方案描述了本发明，但是技术人员可以预见到未具体描述的其它实施方案、改动或组合，这些也包含在所附权利要求的范围内。

[0083] 本发明所引用的所有参考文献在此通过引用以整体并入本文。

[0084] 本文所用的表述“包含”、“包括”、“含有”应当理解为包括但不限于所述项目。

[0085] 现在通过实施例进一步举例说明本发明，所述实施例不应解释为限制本发明的范围。

实施例

[0086] 实施例 1

[0087] 本研究的目的在于解决 1) 大鼠中将食管与十二指肠相连的旁路手术对动脉弹性的影响；2) 该手术对血压的长期影响；以及 3) AKG 摄入在逆转旁路手术所致任何动脉弹性改变方面的任何有益作用。

[0088] 动物和主动脉的准备

[0089] 使用于隆德大学比较生理学系的动物设施中饲养的成年雄性 Sprague Dawley 大鼠。在相同条件下饲养动物，12/12 光周期，动物体重为 $479 \pm 5\text{g}$ 。大鼠随意进食啮齿动物的粒料 (Altromin no. 1314 Spezialfutterwerke, Lage, 德国) 并且自由饮水。如下将大鼠分组：旁路手术，不施用 AKG (B-AKG) ($n = 6$)；旁路手术，施用 AKG (B+AKG) ($n = 11$)；假手术，不施用 AKG (S-AKG) ($n = 12$)；假手术，施用 AKG (S+AKG) ($n = 12$)。

[0090] 将大鼠暴露于 95% CO_2 中并用颈椎脱臼法处死大鼠。根据当地和国家规定处死大鼠。

[0091] 仔细清洗剥离的腹主动脉部分（位于右髂总动脉和左髂总动脉前方）以除去粘附组织。将主动脉切成约 6-9mm 的段，其静止时的直径是 3-4mm，然后将每段的一端牢固地连接在力传感器上，另一端与固定件上的金属钉相连，如 Harrison 等 Reprod Fertil Dev. 1997;9(7):731-40, Harrison and Flatman Am J Physiol. 1999 Dec;277(6 Pt 2):R1646-53 中所述。主动脉段的重量范围为 8-25mg (平均为 14.32mg)，平均直径为

3.75±0.08mm。

[0092] 将主动脉节段浸在充氧的恒温控制箱(37℃)中,所述控制箱的内部深度和直径分别为5.5和3.2cm,盛有44ml磷酸盐缓冲液(0.15M PBS, pH 7.4),其中含有136.91mM NaCl、2.68mM KCl、8.08mM Na₂HPO₄以及1.66mM NaH₂PO₄。利用FT03力位移传感器(Grass Instrument, West Warwick, RI)测力,所述力位移传感器与自制的桥式放大器相连,所述桥式放大器与8S PowerLab A/D转换器(AD Instruments, Chalgrove, Oxfordshire, UK)连接。所述转换器的功能范围(functional range)为0-0.05kg,其中置信力(reliable force)为2mg,等于所述功能范围的0.004%。所述8S PowerLab A/D转换器与运行Chart5 v. 5.4软件(AD Instruments, 澳大利亚)的iBook G4相连。以每秒40000个数据样品的采样速度(40KHz)进行数据记录,所述放大器的输入阻抗为200MΩ 差分。

[0093] 力的测定

[0094] 将主动脉节段垂直悬挂,一式三份。利用固定在前置放大单元上的补偿度盘将未张拉的主动脉节段的记录信号调节至零。然后对每个主动脉节段施加约5次逐步增加的张力(每次为约0.09N),直到达到0.49N的最终最大张力(利用FT03Grass力传感器测定)。这一最终张力水平远未接近在主动脉节段中记录的生理最大力。然后使主动脉节段彻底松弛,然后再重复施加逐步增加的张力2次。随后取出主动脉节段,称重。采用每秒1000个数据样品的记录速度。

[0095] 在逐步增加的张力之后,可见记录图立即出现非常小的下降,因为主动脉组织表现出一定程度的弹性回缩。测量这种记录图中经过单位时间的下降。

[0096] 张力计算

[0097] 拉普拉斯方程假设空圆柱体壁上的张力(T)与圆柱体半径(r)和圆柱体内的流动所引起的对壁的压力(p)成正比,从而 $T = p \times r$ 。如果假设主动脉节段壁上的张力等于力传感器所记录的作为手动拉伸结果的张力,那么导致这种张力增加的压力可利用拉普拉斯方程和所测量的每个主动脉节段的半径来计算。

[0098] 统计学分析

[0099] 数据以平均值±SE表示。利用student配对t-检验和额外的高斯正态分布检验来检测平均值之间差异的统计学显著性。发现数据呈正态分布并且方差齐性。认为P值>0.05的差异不具有显著性。

[0100] 结果

[0101] 张力和压力测定

[0102] 通常,在完全张拉时,施加给主动脉节段的张力为约0.034N/mg湿重(0.49N最大张力/14.32mg平均组织重量)。因此,利用拉普拉斯方程和1.87mm的平均主动脉半径,所得到的压力为0.018kPa级别。这样的压力增加为通常在人动脉中所测(10kPa)的0.18%,为在大鼠中所测(13-14kPa)的约0.14%(Carroll等2006;Duka等2006)。

[0103] 手动步骤的平均张力增加为0.09N(4.95×10^{-3} N/mg湿重),通常,主动脉节段的回缩力为0.015N,为手动施加的张力的约16%。

[0104] 假手术对照大鼠

[0105] 对照的主动脉的弹性显著高于旁路手术大鼠(P=0.007;B-AGK组和S-AGK组分别为 $1.9 \times 10^{-7} \pm 0.2 \times 10^{-7}$ N/ms/mg湿重和 $4.9 \times 10^{-7} \pm 0.8 \times 10^{-7}$ N/ms/mg湿重)。在对照组

中, AKG 摄入对此现象没有影响 ($P = 0.44$)。

[0106] 旁路手术大鼠

[0107] 摄入和未摄入 AKG 的旁路手术大鼠的主动脉弹性均显示低于对照大鼠 ($P = 0.037$; B+AKG 组和 S-AKG 组分别为 $3.1 \times 10^{-7} \pm 0.4 \times 10^{-7} \text{N/ms/mg 湿重}$ 和 $4.9 \times 10^{-7} \pm 0.8 \times 10^{-7} \text{N/ms/mg 湿重}$)。在旁路手术大鼠中, AKG 摄入具有显著影响, 使动脉弹性提高至对照大鼠与旁路手术大鼠 (B-AKG) 之间的水平; $P = 0.047$; B-AKG 组和 B+AKG 组分别为 $1.9 \times 10^{-7} \pm 0.2 \times 10^{-7} \text{N/ms/mg 湿重}$ 和 $3.1 \times 10^{-7} \pm 0.4 \times 10^{-7} \text{N/ms/mg 湿重}$ (见图 1)。

[0108] 拉伸系列

[0109] 在所研究的所有动脉中, 最初的拉伸系列 (例如施加张力, 然后松弛) 导致在随后施加张力的情形下弹性降低。此作用可与预计出现血压突然增加的损伤种类相比较 (见图 2)。

[0110] 讨论

[0111] 本研究结果清楚地表明, 旁路手术对动脉弹性具有不利的影响。此外, 据我们所知, 这是首次记载这样的手术可导致动脉弹性显著改变。利用与血压突然升高相当的拉伸也可发生相似的改变。

[0112] 旁路手术

[0113] 在此实验中, 旁路手术大鼠均不肥胖, 或与假手术对照组存在任何不同。两组均进行手术, 所以与手术相关的任何应力对它们来说是共有的。然而, 就使食管与十二指肠连接的手术旁路术而言, 组与组之间不同。此类型的旁路手术可与 Roux-en-Y 胃旁路手术相比较, 在所述 Roux-en-Y 胃旁路手术中, 以允许一部分胃 (近端部分)、胰腺、胆和十二指肠分泌的方式绕过大部分胃和十二指肠。这是目前选择减肥手术来治疗病态肥胖的最常见方法 (Adrian 等 2003)。

[0114] 预计胃旁路手术能限制食物摄入, 从而防止肥胖。此效果非常明显 (Coates et al 2004, Cowan and **Buffington** 1998, Fernstrom et al 2006), 但是还必须考虑生理后果。

[0115] 除了作为食物贮库和机械性分解食物以外, 胃还是消化和分泌的场所。当食物进入胃时, 有一个来自唾液的消化酶仍然起作用的阶段。在消化中缺少该阶段可尤其影响淀粉的分解。尽管这样使产生的能量较少, 但是在消化中这不应当是必不可少的或出现大问题。一般而言, 对于食物颗粒的机械分解而言也是这样。

[0116] 一个更严重的方面是失去胃分泌。胃中的主要成分是胃蛋白酶和脂肪酶、内因子和盐酸。胃蛋白酶是蛋白质分解必不可少的, 该酶需要盐酸将分泌的胃蛋白酶原激活为胃蛋白酶。因此, 缺少胃可严重影响氨基酸吸收, 造成氨基酸缺乏。另一个方面是与酶结合的矿物质和维生素的释放。如果微量营养素不释放出来, 那么它们不能沿消化道进一步吸收。来自胃的脂肪酶分解甘油三酯, 但是即使这不发生, 甘油三酯仍然会遇到来自胰腺的脂肪酶, 对脂肪酸的需求应该能满足。

[0117] 然而, 在没有胃的情形下, 对胰腺分泌或胆汁的调节可能下降, 因为进入到十二指肠的溶液的酸度调节这种分泌。胃还调节在任意指定的时间进入到十二指肠的食物量。转运取决于碳水化合物、蛋白质或脂肪的含量, 其中在任意指定的时间通过的脂肪的量最小,

碳水化合物的量最大。此机制保证有效消化并且调节通过肠的运动速度。借助旁路手术,该机制被消除,总体消化受损。随着酸度和流速的改变,某些成分可能吸收不良或吸收减少。

[0118] 维生素 B12 是从蛋白质中释放的,内因子在胃中分泌。内因子对回肠中 B12 的吸收是必不可少的。正常情况下,维生素 B12 含量丰富,但是手术后,突然就可能不是这样。还报道,在人中,70%旁路手术患者在手术后随访时出现维生素 B12 缺乏 (Lynch 等 2006, Shah 等 2006)。这些作者还报道了贫血,这可能部分是由于铁缺乏 (当环境酸性不足时尤其是从蛋白质中释放较少造成的) 引起,部分是由于维生素缺乏引起。还报道了旁路手术后钙和叶酸缺乏 (Lynch 2006, Parkes 2006, Shah 2006)。不清楚这是否是由于没有十二指肠而造成的吸收不良引起的,还是由于这两种物质的利用度更低造成的。在本发明的大鼠研究中,十二指肠应当能起作用,但是流动性和 pH 的改变可影响养分在其余肠中的分解,并表现不同的吸收模式。高渗物质流入肠道中可显著影响流动性。这得到以下假设的支持:高渗食物流入小肠中可能是一些胃旁路患者中“倾倒综合征”(可导致呕吐)的原因 (Lynch 等 2006)。

[0119] 在我们的研究中,利用假手术大鼠作为对照组来考虑了手术的应激作用。此外,在手术之前,任何大鼠均无肥胖或具有高血压,我们可假设在旁路手术之前动脉具有正常的弹性。

[0120] 在人中,旁路手术后出现血压降低 (Coates, Buffington 1998, Fernstrom et al 2006, Foley et al 1992)。这很可能主要是由于体重减轻引起的,但是也可能部分地由于代谢和激素平衡的改变造成。因此,在我们的旁路手术大鼠中出现的动脉弹性改变不大可能是高血压造成的,因为预计血压稍微降低或保持正常。

[0121] 手术后,我们的测量清楚地表明动脉弹性降低。

[0122] 现在的问题是手术后发生了什么? 什么可影响动脉壁? Gokce 等 (2005) 报道了通过体重减轻来长期提高内皮依赖性流动所介导的舒张,在胃旁路手术患者中,此提高显著好于药物治疗的重量减轻。在我们的手术之前不超重的大鼠中,我们仅考查机体吸收营养物的变化和代谢与激素平衡的影响。

[0123] 可影响血压的阳离子 (例如钙和钾) 在很大程度上与带电荷的蛋白质结合,并且很可能以低于正常的浓度存在。

[0124] 可能在其它方面得到解释。如果蛋白质不被分解或仅仅部分分解,那么运输到肠的氨基酸将不足。这必然影响蛋白质的转换。在动脉壁中,弹性部分地归因于所述壁中的结缔组织。该组织始终在重塑,如果受到损伤,其将被修复。如果用于重塑或修复的氨基酸的量不足,那么随着时间的推移,壁将失去其弹性。造成此结果的另一个因素可能是由于消化道发出的信号不同而引起不同的激素平衡。这可能归因于导致以下情况的相同原因:在胃旁路的人中,可见骨转换增加并且骨吸收增加,然后骨质量降低。部分原因可能是健康转换所需的蛋白质不能被胃旁路大鼠消化。较高的骨转化还证明激素调节的循环被重新编程。如果弹性降低,将是弹性纤维的结构或百分比导致了这种总体改变。

[0125] 拉伸作用

[0126] 血管壁内的流体压力 P 等于所述壁的张力 T 除以曲率半径 r 再加上外压 p_n , 即 $P = p_n + T(1/r)$, 如拉普拉斯定律所定义。如果选择忽略外压和来自周围组织的任何支持,仅处理合理尺寸的圆柱体静脉或动脉,那么所述方程可简化为 $P = T/r$ 。此外,众所周知

的是,所形成的张力取决于血管壁的厚度,也就是说,取决于构成血管壁的膜和肌肉组织的量。因此,如果维持恒定的压力,那么根据简化的方程预计,血管壁的厚度应当随血管半径而改变。然而,现实中,循环系统内的压力不是恒定的,实际上其由于摩擦损失而下降。但是,尽管如此,较大和较小血管在一定时期仍符合简化方程设定的规律,其中壁厚与血管尺寸成比例。

[0127] AKG 作用

[0128] 已知某些氨基酸在肠壁内代谢 - 指出将 AKG 优先用于 AA,因此,与旁路不施用 AKG 的旁路大鼠相比较而言,在旁路大鼠中补充 AKG 可增加 AA 吸收。

[0129] 结论

[0130] 该研究的结果表明,此类型的旁路手术显著影响动脉弹性。

[0131] AKG 摄入对旁路手术大鼠中动脉弹性具有正影响,但是对照中不具有此正影响。

[0132] 在对照和旁路手术大鼠中,突发的高被动张力对动脉弹性都具有持久的作用,使血管更不易出现血压突然改变。

[0133] 实施例 2

[0134] 方法

[0135] 本研究的目的是阐明实施例 1 的研究中所观察到的作用是否局限于已进行胃手术的受试者。现在,研究了由于更一般的原因(即年龄增长)而需要增加动脉弹性的实验受试者。

[0136] 当地伦理许可

[0137] 本研究获得了隆德大学动物实验伦理审查委员会的批准(伦理许可 M14-05),并且是根据涉及实验动物保护的欧洲共同体规则进行的。

[0138] 动物和主动脉的准备

[0139] 将雌性 NMRI 小鼠(实验开始时为 50 周龄)饲养在瑞典隆德大学的细胞和有机体生物学系的动物设施中。在相同条件下饲养动物,12/12 小时光周期。小鼠随意进食啮齿动物的粒料(Altromin no.1314Spezialfutterwerke,Lage,德国)并且自由饮水。将小鼠随机分到三组中的一个组中,饲养 182 天,直到它们达到 76 周龄,此时它们的体重为 $28 \pm 7g$ 。第一组中的小鼠进食啮齿动物粒料和 (2% w/v) Na_2 -AKG $2H_2O$ ($n = 6$),而第二组中的小鼠进食啮齿动物粒料和 (2% w/v) Ca -AKG H_2O ($n = 6$)。分到第三组中的小鼠仅仅进食啮齿动物粒料,被认为是对照组 ($n = 6$)。作为食物补充剂食用的 AKG 水平为小鼠的自愿食物摄入量的 2%,每天的食物摄入量为体重的约 10-15%。

[0140] 将小鼠暴露于 95% CO_2 中进行麻醉,采用颈椎脱臼法处死小鼠。仔细清洗剥离的腹主动脉部分(位于右髂总动脉和左髂总动脉前方)以除去粘附组织。将主动脉切成约 4.5mm 的段,其中静止时的直径是 1mm,然后将各段的一端牢固地连接在力传感器上,另一端与固定件上的金属钉相连,如 Harrison et al. Reprod Fertil Dev. 1997 ;9(7) :731-40, Harrison and Flatman Am J Physiol. 1999 Dec ;277(6Pt 2) :R1646-53 中所述。利用能记录重量的天平(精确至 0.01mg)称量主动脉节段的重量平均为 2.75mg。

[0141] 将主动脉节段浸在充氧气的恒温控制箱(37℃)中,所述控制箱的内部深度和直径分别为 5.5 和 3.2cm,盛有 44ml 磷酸盐缓冲液(0.15M PBS, pH 7.4),其中含有 136.91mM NaCl、2.68mM KCl、8.08mM Na_2HPO_4 以及 1.66mM NaH_2PO_4 。利用 FT03 力位移传感

器 (GrassInstrument, West Warwick, RI) 测力, 所述力位移传感器与自制的桥式放大器相连, 所述桥式放大器的接口与 8S PowerLab A/D 转换器 (ADInstruments, Chalgrove, Oxfordshire, U K) 连接。所述转换器的功能范围为 0-0.05kg, 其中置信力为 2mg, 等于所述功能范围的 0.004%。所述 8S PowerLab A/D 转换器与运行 Chart5v.5.4 软件 (ADInstruments, 澳大利亚) 的 iBook G4 running 相连。以每秒 40.000 个数据样品的采样速度进行数据记录 (40KHz), 所述放大器的输入阻抗为 200M Ω 差分。

[0142] 力的测定

[0143] 将主动脉节段垂直悬挂, 一式三份。利用固定在前置放大单元上的补偿度盘将未张拉的主动脉节段的记录信号调节至零。然后对每个主动脉节段施加约 5 次逐步增加的张力 (每次为约 0.09N), 直到达到 0.49N 的最终最大张力 (利用 FT03Grass 力传感器测定)。这一最终张力水平远未接近在主动脉节段中记录的生理最大力。然后使主动脉节段彻底松弛, 然后紧密地再重复施加逐步增加的张力 2 次。随后取出主动脉节段, 称重。

[0144] 在逐步增加张力之后, 可见记录图立即出现非常小的下降, 因为主动脉组织表现出一定程度的弹性回缩。这种记录图的下降是随时间利用作为 Chart v.5.4 软件 (AD Instruments, 澳大利亚) 一部分的平均斜率计算来测量的。平均斜率 (μ g/ms) 是图选择中的数据点的时间导数, 可由最佳拟合的最小方差线计算。

[0145] 张力计算

[0146] 拉普拉斯方程假设空圆柱体壁上的张力 (T) 与圆柱体半径 (r) 和圆柱体内的流动所引起的对壁的压力 (p) 成正比, 从而 $T = p \times r$ 。如果假设主动脉节段壁上的张力等于力传感器所记录的作为手动拉伸结果的张力, 那么导致这种张力增加的压力可利用拉普拉斯方程和所测量的每个主动脉节段的半径来计算。

[0147] 因此, 将由每个主动脉样品得到的平均斜率 (μ g/ms) 的测量值转换为牛顿 (N/ms), 然后根据样品重量进行调整, 得到以 N/ms/mg 湿重表示的最终弹性回缩力值。

[0148] 统计学分析

[0149] 数据以平均值 $\pm$ SE 表示。利用单因素 ANOVA 和额外的高斯正态分布检验来检测平均值之间差异的统计学显著性。发现数据呈正态分布并且方差齐性。认为 P 值 > 0.05 的差异不具有显著性。

[0150] 结果

[0151] 张力测定

[0152] 通常, 当完全拉伸时, 施加给主动脉节段的张力为 0.178N/mg 湿重 (0.49N 最大张力 / 2.75mg 平均组织重量)。因此, 利用拉普拉斯方程和 1.0mm 的平均主动脉半径, 所得到的压力为 0.178kPa 的级别。

[0153] 手动步骤的平均张力增加为 0.09N (4.95×10^{-3} N/mg 湿重), 通常, 主动脉节段的回缩力为 0.015N, 为手动施加的张力的约 16%。

[0154] 对照小鼠

[0155] 就第一个系列和第二个系列的拉伸而言, 对照的主动脉弹性分别为 $3.3 \times 10^{-5} \pm 7.8 \times 10^{-7}$ N/ms/mg 湿重和 $3.4 \times 10^{-6} \pm 9.4 \times 10^{-7}$ N/ms/mg 湿重。第二个系列与第一个系列相比, 重复拉伸方案导致弹性回缩力下降约 90% (图 5)。

[0156] Na-AMG 小鼠 (A)

[0157] 就第一个系列和第二个系列的拉伸而言,摄入 Na- AKG 小鼠的主动脉节的弹性分别为 $4.3 \times 10^{-5} \pm 1.6 \times 10^{-6} \text{N/ms/mg}$ 湿重和 $3.7 \times 10^{-6} \pm 1.1 \times 10^{-6}$

[0158] N/ms/mg 湿重。与对照小鼠相比较而言,Na- AKG 摄入对动脉弹性具有显著影响(见图 4)。第二个系列与第一个系列相比,重复拉伸方案导致弹性回缩力下降 91%(图 5)。

[0159] Ca- AKG 小鼠 (B)

[0160] 就第一个系列和第二个系列的拉伸而言,摄入 Ca- AKG 小鼠的主动脉节的弹性分别为 $6.4 \times 10^{-5} \pm 2.7 \times 10^{-6} \text{N/ms/mg}$ 湿重和 $3.8 \times 10^{-6} \pm 1.2 \times 10^{-6} \text{N/ms/mg}$ 湿重。与对照小鼠相比较而言,Ca- AKG 摄入对动脉弹性具有显著影响(见图 4)。第二个系列与第一个系列相比,重复拉伸方案导致弹性回缩力下降 94%(图 5)。

[0161] 拉伸系列和动脉坚韧性 (robustness)

[0162] 在所研究的所有动脉中,最初的拉伸系列(例如施加张力,然后松弛)导致后续施加张力时的弹性下降。此作用可与预计使血压突然升高的损伤类型相比较(见图 5)。

[0163] 表 1:动脉节段对拉伸的坚韧性。承受逐渐达到的 0.49N 的最大张力而未发生破裂的所切割主动脉节段的连续拉伸数(一式三份)。

[0164]

	第一次重复	第二次重复	平均 (%)
对照	六分之四	六分之四	66.7
Na- AKG (A)	六分之四	六分之五	75.0
Ca- AKG (B)	六分之四	六分之五	75.0

[0165] [0165] 讨论

[0166] 本研究的结果清楚地表明, α -酮戊二酸盐处理对老龄小鼠的动脉弹性具有有益作用。此外,据我们所知,这是首次报道能以大动脉的硬度为目标的治疗。

[0167] 动物

[0168] 在本研究中,选择其周龄可与老龄人受试者的年龄具有可比性的成年动物。在本研究中,在从小鼠中剥离主动脉时,很明显发生了动脉沉积,使得主动脉看上去几乎为白色至半透明的,甚至在剥离后,它们仍保持管状形态。

[0169] 血压和张力

[0170] 在 6 月龄及以上的大鼠中,记录通过腹主动脉或髂动脉或颈动脉插管而获得的血压,平均值为 119mmHg(上限为 150mmHg,下限为 92mmHg)(Durant,1927)。该作者还描述了年龄与直到 6 月龄的血压之间的关联,6 个月后记录的血压不再进一步升高,尽管体重进一步增加。小型啮齿动物中的此血压值非常接近人受试者的静息血压,收缩压通常为 120mmHg(16kPa)。此外,在本研究中动脉节段的压力升高值为在人动脉中通常表现出的 1.8%,为在大鼠中所测量的(13-14kPa)约 1.4%(Carroll 等 2006 ;Duka 等 2006)。

[0171] 主动脉层(aortic media)中含有成层的平滑肌细胞,它们沿切线方向与弹性层连接;通过改变弹性纤维与胶原纤维之间力的分布,平滑肌紧张性的改变提供了硬度的动态或功能性调节(McEniery 等 2007)。实际上,在较低水平的动脉压下,主动脉壁内产生的应力主要由弹性纤维承担,而在较高水平的动脉压下,所述应力通常由更具刚性的胶原纤维承担。因此,老化的一个作用是在较低水平的动脉压力下使胶原纤维参与,结果同时升高脉压。

[0172] 动脉中所产生的张力取决于血管壁的厚度,也就是说,取决于壁中含有的结缔组

组织和肌肉组织的量。因此,如果维持恒定的压力,那么拉普拉斯方程预测血管壁的厚度应当随血管半径而变化。然而,现实中,循环系统内的压力不是恒定的,实际上其通过摩擦损失而降低。尽管如此,在一定时间内,根据简化方程,较大和较小血管符合拉普拉斯定律。

[0173] 拉普拉斯方程表明,血管壁内的流体压 P 等于壁的张力 T 除以曲率半径 r 再加上外压 p_n ,即 $P = p_n + T(1/r)$ 。如果选择忽略外压和来自周围组织的任何支持,仅处理合理尺寸的圆柱体动脉,那么所述方程可简化为 $P = T/r$ 。在本研究中,主动脉节段是从腹主动脉(在右髂总动脉和左髂总动脉前方)中剥离出来的,并且其直径使它们满足拉普拉斯定律的要求。老化的动脉

[0174] 老化以不同方式影响生物体中器官、组织和细胞类型,其可以多种方式被认为是功能下降的微分速率(Calabresi 等 2007)。在大动脉的血管壁内,出现与年龄有关的结构改变,包括中膜的硬化和加厚以及内腔直径增大(Marin&Rodriguez-Martinez,1999 ;Dao 等 2005),并且这些改变沿动脉树常常是不同的(Hajdu 等 1990 ;Moreau 等 1998 ;Laurant 等 2004)。在老龄大鼠的主动脉中,平滑肌细胞数量改变、胶原沉积增加以及弹性蛋白的结构改变均是特征性的表现(Jacob,2003 ;Dao 等 2005)。实际上,许多研究报道了平滑肌细胞数量随着年龄增长而下降(Cliff,1970 ;Orlandi et al.1993),动脉中 I 型和 III 型胶原增加以及弹性蛋白密度相对降低(Jacob,2003 ;Dao 等 2005 ;Marin,1995)。

[0175] 值得注意的是,本研究所采用的拉伸方法表明,第二个系列的重复拉伸的弹性回缩程度比第一个系列的重复拉伸弱得多。这一点表明并强调,老龄主动脉节段具备或缺少应对相当于 0.178kPa 血压提高的相对温和拉伸期的能力。因此,第二拉伸可看作坚韧性的指标,在此情形下,所述坚韧性似乎不存在于老龄小鼠主动脉节段中。在人中,到 60 岁时,每一个体平均发生二十亿次主动脉应力循环(平均心率 $\times$ 年龄)(McEniery et al.2007),其中由这些应力循环引起的损伤需要立即调节和修复,涉及血管壁的弹性蛋白、胶原和平滑肌组分。在本研究中,不可能调节平滑肌紧张性,也没有任何机会来修复弹性蛋白和胶原纤维,因此事实是在第一个系列拉伸后,对照主动脉失去了几乎 90%弹性回缩力(N/ms/mg 湿重),对 AKG 处理的小鼠而言,发现在第二个系列中弹性回缩水平相似,这表明了老龄小鼠的大血管回缩力是多么脆弱。

[0176] 动脉弹性回缩力和 AKG

[0177] 虽然已经报道传统的抗高血压剂会降低动脉硬化(主要借助降低平均血压的间接作用),但外周动脉对随年龄所致硬化的相对不敏感通常被归因于弹性蛋白与平滑肌和胶原的比例低得多,虽然其也可反映其它生物学过程,例如动脉自身重塑的能力(McEniery 等 2007)。

[0178] α -酮戊二酸是 Krebs 循环中的限速中间体,其在细胞能量代谢中起到关键作用。它还发挥谷氨酸源和谷氨酰胺源的功能,并刺激蛋白质合成和抑制蛋白质降解(Hammarqvist 等,1991)。就胶原代谢而言,AKG 不仅用作脯氨酰-4-水解酶(其催化 4-羟基脯氨酸的形成,所述 4-羟基脯氨酸是形成胶原三螺旋所必需的)的辅因子,而且还通过增加来自谷氨酸的脯氨酸池来促进胶原合成(Son 等 2007)。

[0179] 与 Na-AKG 组相比较而言, Ca-AKG 组的作用更好,这可通过 Ca-AKG 盐中所提供的 AKG 可用性更长久来解释。Ca 盐起到缓慢释放 AKG 离子的作用,控制 AKG 离子在肠腔的出现,因为其溶解度为 2g/100ml,而 Na-AKG 的溶解度为 Ca-AKG 的 50 倍。因此, Na-AKG 形式

的 AKG 阴离子可更快被利用。在此情形下,当血液水平超过约 $10 \mu\text{g/ml}$ 时,大部分 AKG 简单地转化为能量。肠内施用 Na-AKG 后,AKG 的血液水平可容易地超过 $10 \mu\text{g/ml}$ 。肠内施用 Ca-AKG 后,则不会或很少会观察到此现象。当以 Ca-AKG 形式提供 AKG 时,其释放缓慢并且释放时间更长,因此有更多时间来转化为脯氨酸和其它氨基酸,而不是转化为能量。

[0180] 近来,AKG 被认为是 G 蛋白偶联受体 (CPR99) 的天然配体,目前已知所述受体在肾、睾丸和平滑肌中表达 (He 等,2004)。作为 G 蛋白偶联受体的配体,AKG 可将 TCA 循环中间体与代谢状态和蛋白质 / 胶原合成二者之间形成关联,实际上这可能被证实为在本发明中所观察的对主动脉壁弹性的有益作用的内在原因。

[0181] 结论

[0182] 本研究的结果表明 AKG 不仅有效增加已进行胃手术的受试者中动脉弹性 (实施例 1),而且有效增加动脉弹性降低的其它受试者的动脉弹性。在此情形下,所述受试者是老龄啮齿动物,其被认为是动脉弹性降低的人受试者的相关模型,所述人受试者通常为老龄受试者。

[0183] 参考文献

[0184] Brolin R E Bariatric surgery and long-term control of morbid obesity JAMA 288:2793-2796,2002

[0185] Brolin R E Critical analysis of results weight loss and quality of data Am J Clin Nutr 55 556S-559S,1992

[0186] Carroll J F, W J Zenebe and T B Strange Cardiovascular function in a rat model of diet-induced obesity Hypertension 48 65-72,2006

[0187] Cliff W J The aortic tunica media in aging rats Exp Mol Pathol 13 172-189,1970

[0188] Coates P S, J D Fernstrom, M H Fernstrom, P R Schauer and S L Greenspan

[0189] Gastric bypass surgery for morbid obesity leads to an increase in bone turnover and a decrease in bone mass J Clin Endocrinol Metab 89 1061-1065,2004

[0190] Dao H H, R Essalihi, C Bouvet and P Moreau Evolution and modulation of age-related medial elastocalcinosis impact on large artery stiffness and isolated systolic hypertension Cardiovasc Res 66 307-317,2005

[0191] Duka A, I Duka, G Gao, S Shenouda, I Gavras and H Gavras Role of bradykinin B_1 and B_2 receptors in normal blood pressure regulation Am J Physiol Endocrinol Metab 291 E268-E274,2006

[0192] Durant R R Blood pressure in the rat Am J Physiol Endocrinol Metab 81 679-685,1927

[0193] Flanebaum, L & Belsley, S J Gastrointest Surg 11,500-507 (2007)

[0194] Flegal K M, M D Carroll, C L Ogden and C L Johnson Prevalence and trends in obesity among US adults, 1999-2000 JAMA 288 1723-1727,2002

[0195] Foley E F, P N Benotti, B C Borlase, J Hollingshead and G L Blackburn Impact of gastric restrictive surgery on hypertension in the morbidly obese Am J Surg 163 294-297,1992

- [0196] Gokce, N et al Am J Cardiol 95, 266–268 (2005)
- [0197] Hajdu M A, D D Heistad, J E Siems and G L Baumbach Effects of aging on mechanics and composition of cerebral arterioles in rats Circ Res 66 1747–1754, 1990
- [0198] Harrison, A P & Flatman, J A Am J Physiol, 277, R1646–R1653 (1999)
- [0199] Jacob M P Extracellular matrix remodelling and matrix metalloproteinases in the vascular wall during aging and in pathological conditions Biomed Pharmacother 57 195–202, 2003
- [0200] Kristensen, N B, Jungvid, H, Fernandez, J A & Pierzynowski, S G J Animal Physiol Animal Nutr 86, 239–245 (2002)
- [0201] Laurant P, M Adrian and A Berthelot Effect of age on mechanical properties of rat mesenteric small arteries Can J Physiol Pharmacol 82 269–275, 2004
- [0202] Marín J Age-related changes in vascular responses a review Mech Ageing Dev 79 71–114, 1995
- [0203] Marín J, M A Rodriguez-Martínez Age-related changes in vascular responses–Exp Gerontol 34 503–512, 1999
- [0204] McEniery C M, I B Wilkinson and A P Avolio Age, hypertension and arterial function Clin Exp Pharm Physiol 34 665–671, 2007
- [0205] Moreau P, L V d'Uscio and T F Luscher Structure and reactivity of small arteries in aging Cardiovasc Res 37 247–253, 1998
- [0206] Orlandi A, A Mauriello, B Marino and L G Spagnoli Age-related modifications of aorta and coronaries in the rabbit a morphological and morphometrical assessment Arch Gerontol Geriatr 17 37–53, 1993
- [0207] Patterson E J, D G Davis, Y Khajanchee and L L Swanstrom Comparison of objective outcomes following laparoscopic Nissen fundoplication vs laparoscopic gastric bypass in the morbidly obese with heartburn Surg Endosc 17 1561–1565, 2003
- [0208] Pories, W J et al Annals of Surgery 222, 339–352 (1995)
- [0209] Son E D, G H Choi, H Kim, B Lee, I S Chang and J S Hwang Alpha-Ketoglutarate stimulates procollagen production in cultured human dermal fibroblasts, and decreases UVB-induced wrinkle formation following topical application on the dorsal skin of hairless mice Biol Pharm Bull 30 1395–1399, 2007

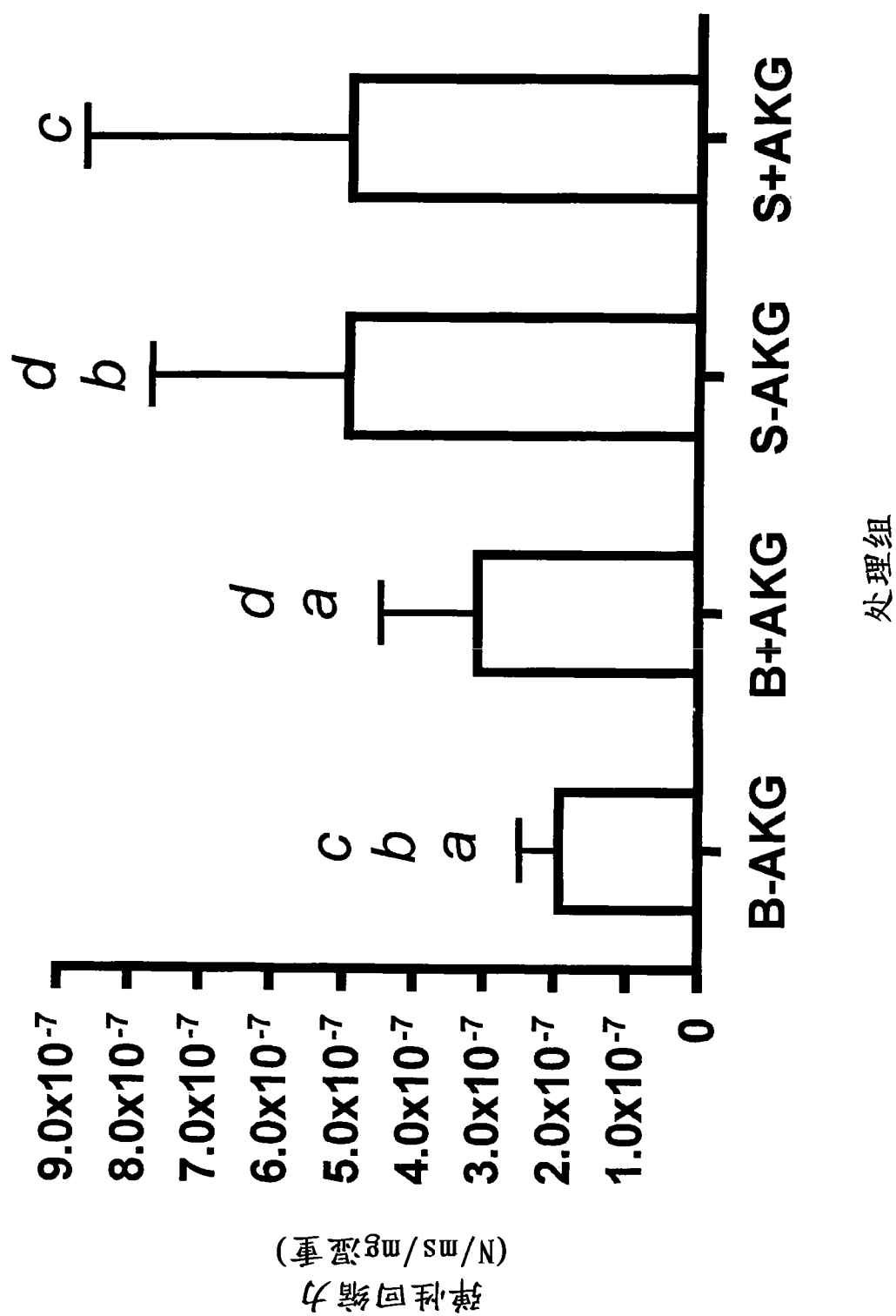


图 1

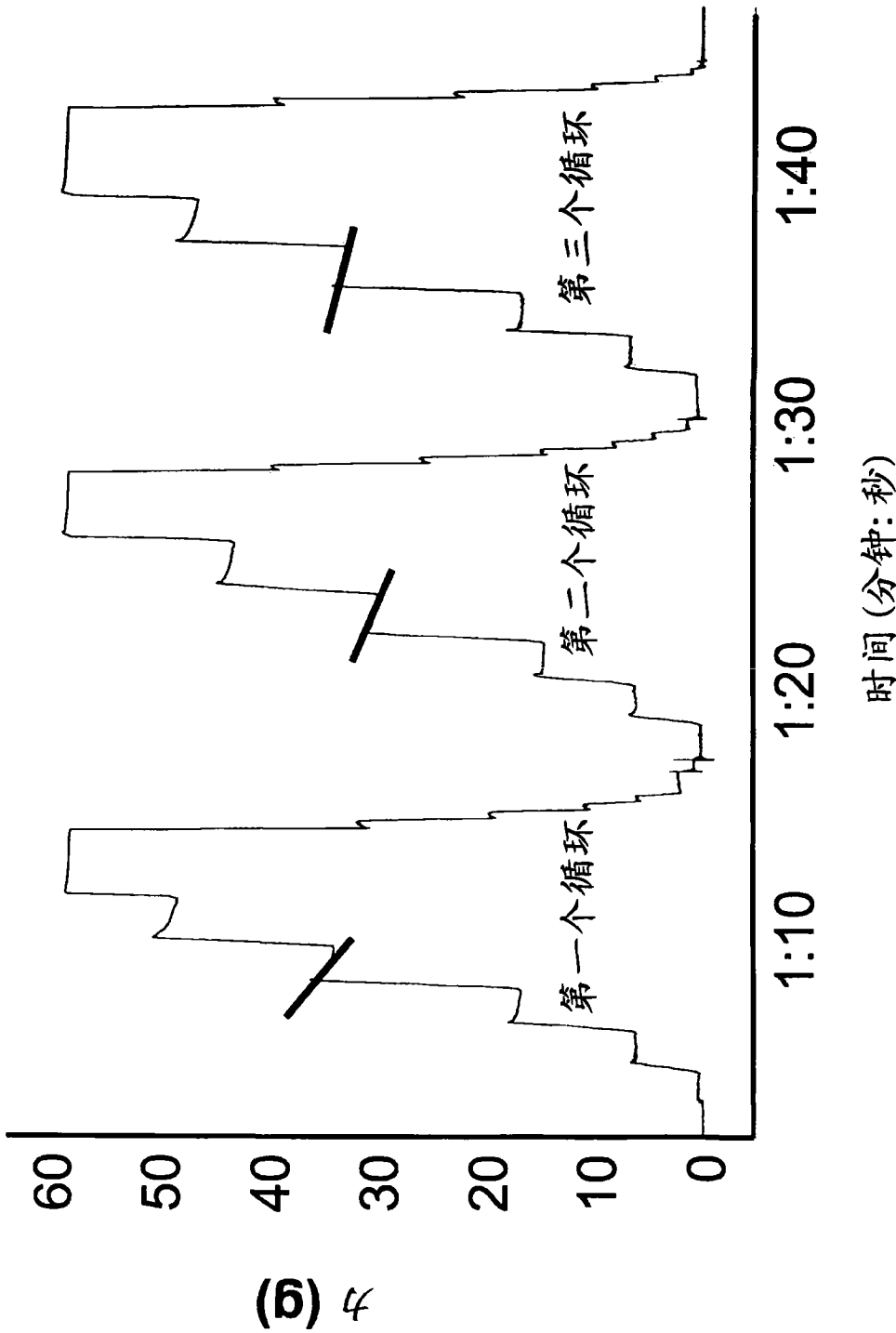


图 2

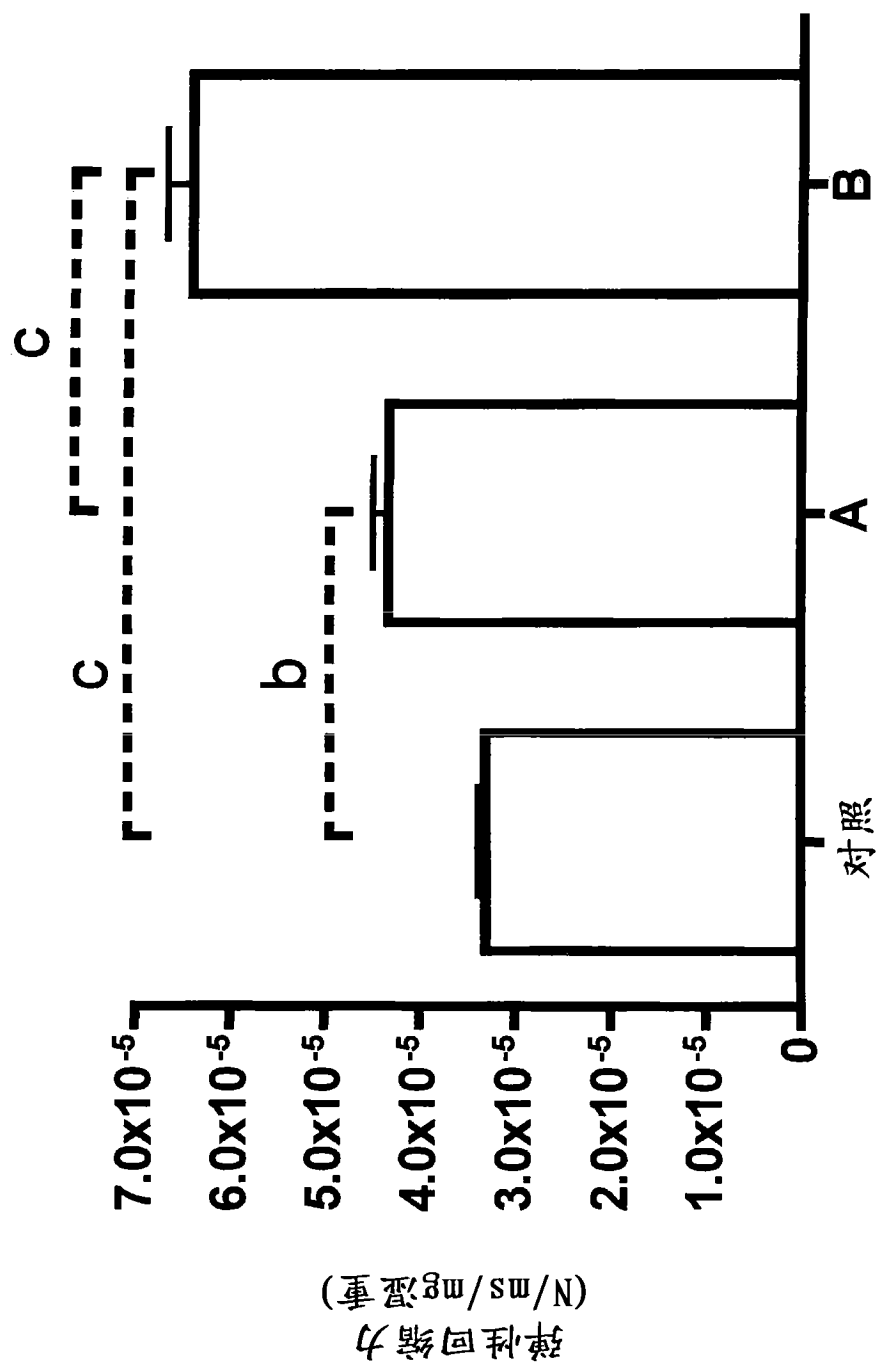


图 4

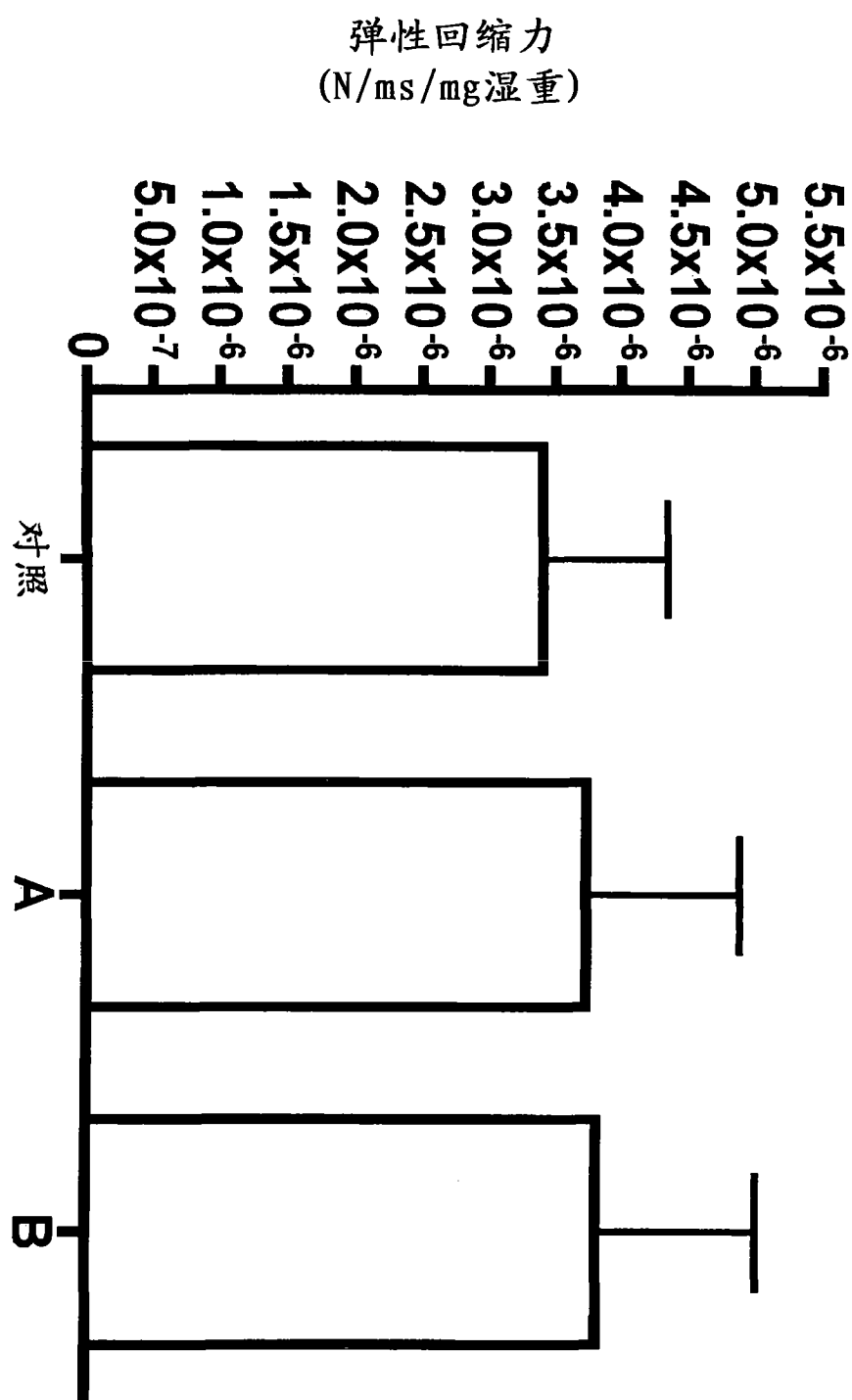


图 5