

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

A61K 31/198

A61K 31/38

A61K 33/30

A61K 31/45

A61P 3/10

A61P 9/00



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 03810151.3

[43] 公开日 2005 年 8 月 3 日

[11] 公开号 CN 1649577A

[22] 申请日 2003.3.10 [21] 申请号 03810151.3

[30] 优先权

[32] 2002. 3. 8 [33] NZ [31] 517721

[32] 2002. 3. 11 [33] NZ [31] 517725

[32] 2002. 3. 12 [33] US [31] 60/364,382

[86] 国际申请 PCT/NZ2003/000042 2003. 3. 10

[87] 国际公布 WO2003/077901 英 2003. 9. 25

[85] 进入国家阶段日期 2004. 11. 5

[71] 申请人 普罗特米克斯公司

地址 新西兰奥克兰

[72] 发明人 G·J·S·库珀 J·R·贝克

[74] 专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司

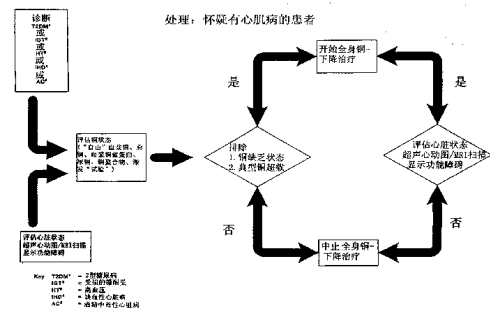
代理人 程伟

权利要求书 6 页 说明书 71 页 附图 26 页

[54] 发明名称 预防和/或治疗心血管疾病和/或相关的心衰

[57] 摘要

一种改善哺乳动物患者损伤组织的组织修复的方法，其中损害的组织选自心肌，血管树和血管树的附属器官，所述的方法含有或包括下列步骤，使患者接触和/或给予患者可有效降低患者体内铜值含量足以改善组织修复的一种或多种药剂。



ISSN 1008-4274

1. 一种改善哺乳动物患者损伤组织的组织修复的方法，其中损害的组织选自心肌，血管树和血管树的附属器官，所述的方法含有或包括下列步骤，使患者接触和/或给予患者可有效降低患者体内铜值含量足以改善组织修复的一种或多种药剂。
5
2. 权利要求 1 中的方法,其中所述的患者不患有 Wilson 病但其铜值含量是升高的。
3. 权利要求 2 中的方法，其中至少有一种铜值状态测定。
4. 权利要求 1 中的方法，其中所述的药剂是 trientive 或三乙撑四胺型铜整合剂。
- 10 5. 权利要求 4 中的方法，其中所述的三乙撑四胺盐酸盐可以一剂或多次用药的方式给药，如果是胃肠外，可在人类患者中提供大约 120 mg/天，如果是口服，在人类患者中提供大约 1200 mg/天。
6. 权利要求 1 中的方法，其中所述的患者是患 2 型糖尿病的人。
7. 权利要求 1 中的方法，其中所述的组织修复的改善来自正常组织干细胞反应的恢复或基本上恢复。
15
8. 权利要求 1 中的方法，其中所述的药剂选自
三乙撑四胺(三烯)，
乙二胺四乙酸(EDTA)，
二乙撑三胺四乙酸(DPTA)，
20 2,2,2 氯化四氢四胺(TETA)，
2,3,2 氯化四氢四胺，
D-青霉胺(DPA)，
1,4,8,11 四氮杂环十四烷(Cyclam)，
5,7,7',12,14,14'六甲基-1,4,8,11 四氮杂环十四烷 (Cyclam S)，
25 2,3 二巯基丙烷-磺酸钠(DMPS)，
N-乙酰基青霉胺(NAPA)，
D-青霉胺(PA)，
去铁乙胺 (Desferroxamine) ，
2,3-二巯基丙醇(BAL)，
30 2,3-二巯基丁二酸(DMSA)，
三硫代钼酸盐，
3-7-二氮杂壬烷-1,9-二胺(BE 6184)，
1,4,8,11-四氮杂环十四烷-1,4,8,11-四乙酸，

- 1,4,8,11-四氮杂二环[6.6.2]十六烷,
 4,11-双(N,N-二乙基-氨基)-1,4,8,11-四氮杂二环[6.6.2]十六烷,
 4,11-双(氨基)-1,4,8,11-四氮杂二环[6.6.2]十六烷,
 褪黑激素,
 5 氯碘羟喹,
 卡普瑞豚 (cuprizone),
 N,N'-二乙基二硫代氨基甲酸盐,
 醋酸锌,
 锌盐,
 10 浴铜灵二磺酸, 浴铜灵二磺酸盐,
 新亚铜试剂(2,9-二甲基-1,10-邻二氮杂菲),
 四硫代钼酸盐,
 三甲氧苄嘧啶,
 三乙撑四胺四氯化氯,
 15 2,3,2-四胺,
 吡啶-2,6-双(硫代羧酸)或吡咯烷二硫代氨基甲酸酯,
 四乙撑五胺,
 N,N,N',N'-四(2-吡啶甲基)乙撑二胺,
 1,4,7,11-四氮十一烷四氯化氯,
 20 四乙撑五胺五氯化氯,
 D-青霉胺(DPA),
 1,10-邻二氮杂菲,
 3,4-二羟基苯甲酸,
 2,2'-二辛可宁酸 (bichinchinonic acid),
 25 diamsar,
 3,4',5,三羟基芪(白藜芦醇),
 巯基葡聚糖,
 o-邻二氮杂菲,
 二硫化四乙基秋兰姆 (安塔布司),
 30 sar,
 钙二乙撑三胺五醋酸三钠(上述的 cpd 盐), 和美噻唑 (1-甲基-2-硫醇咪唑)。

9. 权利要求 1 中的方法, 其中所述的药剂是锌盐。

10. 权利要求 1 中的方法, 其中所述的损害来自以下的任何一种或多种:

- (i) 心肌疾病(心肌病或心肌炎)如特发性心肌病、代谢性心肌病包括糖尿病性心
 35 肌病、酒精性心肌病、药物诱导心肌病、缺血性心肌、和高血压性心肌病;

或

(viii)大血管的动脉粥样硬化病(大血管病)如主动脉、冠状动脉、颈动脉、脑血管动脉、肾动脉、髂动脉、股动脉和腓动脉;

或

5 (ix) 毒性, 药物诱导的和代谢性(包括高血压性和/或糖尿病性)小血管病(微血管病), 如视网膜小动脉、肾小球小动脉、神经滋养血管、心脏小动脉、和相关的肾、心脏和中枢和周围神经系统的毛细血管床;

或

10 (x)大血管如主动脉、冠状动脉、颈动脉、脑血管动脉、肾动脉、髂动脉、股动脉和腓动脉动脉粥样硬化病变的斑块破裂。

11. 权利要求 1 中的方法, 其中所述的患者患有和/或易于发生心衰。

12. 权利要求 11 中的方法, 其中所述的患者患 2 型糖尿病。

13. 一种化合物(a) 本身在体内或(b)在体内至少有一种代谢物, 它是(i)一种铜螯合剂或(ii)另外可减少现有的铜值用于产生一种药学组合物或剂量单位的用途, 其能够减少哺乳动物内的铜水平, 因此可通过降低哺乳动物患者内的铜值引起损伤组织修复的改善, 损伤的组织选自心肌, 血管树和血管树的附属器官。

14. 权利要求 13 中的应用, 其中所述的损害来自选自下面的疾病:

(i) 心肌疾病(心肌病或心肌炎)如特发性心肌病、代谢性心肌病包括糖尿病性心肌病、酒精性心肌病、药物诱导心肌病、缺血性心肌、和高血压性心肌病,

20 或;

(iii)大血管的动脉粥样硬化病(大血管病)

如主动脉、冠状动脉、颈动脉、脑血管动脉、肾动脉、髂动脉、股动脉和腓动脉

或

25 (v) 毒性, 药物诱导的和代谢性(包括高血压性和/或糖尿病性)小血管病(微血管病), 如视网膜小动脉、肾小球小动脉、神经滋养血管、心脏小动脉、和相关的肾、心脏和中枢和周围神经系统的毛细血管床,

或

30 (vi) 和大血管如主动脉、冠状动脉、颈动脉、脑血管动脉、肾动脉、髂动脉、股动脉和腓动脉动脉粥样硬化病变的斑块破裂

15. 权利要求 13 或 14 中的应用, 其中所述的化合物选自

三乙撑四胺(三烯),

乙二胺四乙酸(EDTA),

二乙撑三胺四乙酸(DPTA),

35 2,2,2 氯化四氢四胺(TETA),

- 2,3,2 氯化四氢四胺,
D-青霉胺(DPA),
1,4,8,11 四氮杂环十四烷(Cyclam),
5,7,7',12,14,14'六甲基-1,4,8,11 四氮杂环十四烷 (Cyclam S),
5 2,3 二巯基丙烷-磺酸钠(DMPS),
N-乙酰基青霉胺(NAPA),
D-青霉胺(PA),
去铁乙胺 (Desferroxamine) ,
2,3-二巯基丙醇(BAL),
10 2,3-二巯基丁二酸(DMSA),
三硫代钼酸盐,
3-7-二氮杂壬烷-1,9-二胺(BE 6184),
1,4,8,11-四氮杂环十四烷-1,4,8,11-四乙酸,
1,4,8,11-四氮杂二环[6.6.2]十六烷,
15 4,11-双(N,N-二乙基-氨基)-1,4,8,11-四氮杂二环[6.6.2]十六烷,
4,11-双(氨基)-1,4,8,11-四氮杂二环[6.6.2]十六烷,
褪黑激素,
氯碘羟喹,
卡普瑞踪 (cuprizone),
20 N,N'-二乙基二硫代氨基甲酸盐,
醋酸锌,
锌盐,
浴铜灵二磺酸, 浴铜灵二磺酸盐,
新亚铜试剂(2,9-二甲基-1,10-邻二氮杂菲),
25 四硫代钼酸盐,
三甲氧苄嘧啶,
三乙撑四胺四氯化铝,
2,3,2-四胺,
吡啶-2,6-双(硫代羧酸)或吡咯烷二硫代氨基甲酸酯,
30 四乙撑五胺,
N,N,N',N'-四(2-吡啶甲基) 乙撑二胺,
1,4,7,11-四氮十一烷四氯化铝,
四乙撑五胺五氯化铝,
D-青霉胺(DPA),
35 1,10-邻二氮杂菲,
3,4-二羟基苯甲酸,

- 2,2'-二辛可宁酸 (bicinchinonic acid),
diamsar,
3, 4', 5, 三羟基芪(白藜芦醇),
巯基葡聚糖,
5 o-邻二氮杂菲,
二硫化四乙基秋兰姆 (安塔布司),
sar,
钙二乙撑三胺五醋酸三钠(上述的 cpd 盐), 和美噻唑 (1-甲基-2-硫醇咪唑)。
16. 权利要求 13 中的应用, 其中所述的化合物是三乙撑四胺或三乙撑四胺型铜螯合
10 剂。
17. 权利要求 13 中的应用, 包括药学可接受的赋形剂、稀释剂和/或载体。
18. 权利要求 13 中的应用获得的剂量单位。
19. 治疗哺乳动物患者(如, 人类)的一种方法, 该患者的心肌, 血管树和/或血管树的附
属器官处于正在进展的, 怀疑有或实际具有心肌组织疾病的危险, 该法含有或包括
15 下列步骤, 将哺乳动物患者接触和/或给予哺乳动物患者一种或多种能够降低患者
铜值含量, 因此可更好的促使组织修复的药剂。
20. 权利要求 19 中的方法, 结合确定患者不患有 Wilson 病, 然而其铜值是升高的。
21. 权利要求 19 或 20 中的方法, 其中所述的药剂是铜的螯合剂。
22. 权利要求 21 中的方法, 其中所述的药剂与铜的亲合力高于对铁的亲合力。
- 20 23. 治疗哺乳动物患者(如, 人类)的一种方法, 该患者的心肌, 血管树和/或血管树的附
属器官处于正在进展的, 怀疑有或实际具有心肌组织疾病的危险, 该法含有或包括
下列步骤, 测定患者的铜状态, 如果患者的铜状态升高, 而患者不患有 Wilson 病,
使患者接触和/或给予患者一种或多种能够减少患者铜值, 因此可更好的促使组织
修复的一种或多种药剂。
- 25 24. 权利要求 23 中的方法, 包括连续地监测患者的铜状态。
25. 权利要求 23 或 24 中的方法, 其中所述的测定铜状态是参考细胞外的铜值。
26. 权利要求 23 中的方法, 其中所述的减少患者铜值含量是来自超过非 2 型糖尿病
患者的人类患者典型铜值的升高状态。
27. 权利要求 23 中的方法, 包括诊断和/或监测高血压的步骤。
- 30 28. 权利要求 23 中的方法, 包括诊断酒精中毒的步骤。
29. 权利要求 23 中的方法, 包括诊断和/或监测患者葡萄糖途径异常的步骤。

30. 权利要求 29 中的方法，其中所述的异常是 2 型糖尿病，IGT 和/或 IFG。
31. 权利要求 23 中的方法，包括诊断和/或监测患者的大血管，微血管，毒性和/或代谢性损害的步骤。
32. 权利要求 23 中的方法，其中所述的损害是下面的任何一种或多种：
- 5 (i) 心肌疾病(心肌病或心肌炎)如特发性心肌病、代谢性心肌病包括糖尿病性心肌病、酒精性心肌病、药物诱导心肌病、缺血性心肌、和高血压性心肌病，
 或；
 (xi)大血管的动脉粥样硬化病(大血管病)
 如主动脉、冠状动脉、颈动脉、脑血管动脉、肾动脉、髂动脉、股动脉和腘动
- 10 脉
 或
 (xii) 毒性，药物诱导的和代谢性(包括高血压性和/或糖尿病性)小血管病(微血管病)，如视网膜小动脉、肾小球小动脉、神经滋养血管、心脏小动脉、和相关的肾、心脏和中枢和周围神经系统的毛细血管床，
- 15 或
 (xiii) 和大血管如主动脉、冠状动脉、颈动脉、脑血管动脉、肾动脉、髂动脉、股动脉和腘动脉动脉粥样硬化病变的斑块破裂。

预防和/或治疗心血管疾病和/或相关的心衰

5

本发明涉及预防和/治疗(此后称为“治疗”)哺乳动物(包括人类)的方法,它们的组织易于受铜介导的自由基组织损伤和/或铜介导的正常组织干细胞反应的损伤。本发明尤其可应用在心衰,大血管疾病,微血管疾病和/或毒性的(如,高血压)组织和/或器官疾病(这种疾病的典型代表是心衰,心肌病,心肌梗塞和相关的动脉和器官疾病)和相关的化合物,剂型,应用和方法。

10

背景

本发明涉及在哺乳动物体内,包括,例如人类治疗,预防或改善疾病,紊乱或病症(此后称为“治疗”)的方法,它们的组织易于受铜参与或介导的自由基组织损伤和/或正常的组织干细胞反应受铜参与或介导的损害。本发明尤其可应用在心衰,大血管疾病或损害,微血管疾病或损害,和/或毒性的(如,高血压)组织和/或器官疾病(这种疾病的典型代表是心衰,心肌病,心肌梗塞,和相关的动脉和器官疾病)和相关的化合物,剂型,应用和方法。

15

20 发明的背景

下面的描述包括的信息可用于理解本发明。但并不承认在此提供的任何信息是现有技术或与现在描述或要求的发明有关,或专门或暗含引用的任何出版物或文件是现有技术。

20

葡萄糖是人的主要能量来源。从小肠吸收的葡萄糖,其代谢为产生能量(通过转化为水和二氧化碳),转变为氨基酸和蛋白质或酮酸,并储存为糖原。葡萄糖的代谢是受复杂的激素活动配合所调控的。当所有食入的糖类分解为多种碳水化合物时,最重要的是葡萄糖,几乎可在机体所有的细胞中被代谢。葡萄糖通过易化扩散进入细胞(葡萄糖转运蛋白)。这种易化运输可被一种胰岛素信号非常迅速和有效地促进(葡萄糖转运进肌肉和脂肪细胞可被增加至20倍)。在葡萄糖被转运进细胞浆内后,然后胰岛素可通过将葡萄糖转变为糖原,丙酮酸盐和乳酸盐,和脂肪酸引导其进行分布。糖尿病是一种不同种类的代谢障碍,与升高的血浆葡萄糖浓度和可引起高血糖症的葡萄糖代谢障碍有关。糖尿病中的高血糖症通常来自胰岛素分泌,胰岛素功能的缺陷或两者都缺陷。尽管其发病学仍不清楚,但世界卫生组织(WHO)已经提出了糖尿病的一种分类方法,包括1型糖尿病,2型糖尿病,妊娠糖尿病和其他特殊类型的糖尿病。

以前的术语象IDDM(胰岛素依赖性糖尿病), NIDDM(非胰岛素依赖性糖尿病),和幼年起病性糖尿病或成年起病性糖尿病基本上不再用于描述这些病症。

25

30

35

术语“胰岛素依赖性糖尿病”(IDDM)或“幼年起病性糖尿病”以前包括现在所称的I型糖尿病。I型糖尿病来自胰腺的分泌胰岛素的 β -细胞的自体免疫性破坏。这种自体免疫性破坏有几种标记物,可在体液和组织中检测到,包括胰岛细胞自身抗体,胰岛素自身抗体,谷氨酸脱羧酶的自身抗体(GAD65),和酪氨酸磷酸酶 IA-2 和 IA-2 β 的自身抗体。与遗传因子密切相关。另一方面,在双生子研究中的同病率在50%以下,支持了环境因素包括病毒感染的作用。自体免疫过程在临床检测和征象之前许多年就开始了。 β -细胞的破坏率变化是相当大的,在一些个体中很快速(主要是婴儿和儿童),通常在成人很慢。

术语“非胰岛素依赖性糖尿病”(NIDDM)或“成人发病性糖尿病”以前包括现在所称的2型糖尿病。疾病通常在40岁年龄之后进展。更为普遍的是1型糖尿病,包括患有糖尿病的所有个体的大约90%。2型糖尿病在疾病发病时通常年龄更老一些,并显示多种症状。胰岛素浓度大多是增加的但他们可以是正常或降低的。肥胖很普遍。可引起体重下降的饮食和运动锻炼法可改善高血糖。口服降血糖药也用来降低血糖。尽管如此,有时需要胰岛素来纠正高血糖,特别是患者年纪增加或其 β -细胞衰竭。

两种障碍可被认为具有2型糖尿病的特征。第一种障碍是胰岛素对外周组织的作用能力下降,通常称为“胰岛素抵抗”。胰岛素抵抗的定义是对正常浓度的循环胰岛素的生物学反应下降,表现为原发的基本病理过程。第二种障碍是胰腺 β -细胞的功能障碍,表现为不能产生足够量的胰岛素来克服在外周组织中的胰岛素抵抗。最后,由于 β -细胞功能障碍,胰岛素的产生不足以代偿胰岛素抵抗。普遍的结果是胰岛素相对缺乏。数据支持以下的观点,即胰岛素抵抗是原发的缺陷,发生在胰岛素分泌紊乱之前。对于1型糖尿病,胰岛素抵抗和胰岛素分泌缺陷的基础相信是环境和遗传因素的组合。

妊娠糖尿病通常是无症状的,一般对母亲是没有生命威胁的。其病症与新生儿患病率,新生儿低血糖,巨大胎儿和黄疸的发生率增加有关。即使正常的妊娠也与胰岛素抵抗增加有关,主要在第二个和第三个三月期。Euglycaemia通过增加胰岛素分泌来维持。在不能增加胰岛素分泌的女性当中,就发展为妊娠糖尿病。妊娠糖尿病的病理生理学并不十分清楚,可包括家族糖尿病史,肥胖,既往妊娠并发症和孕妇年龄过高。

其他特殊类型的糖尿病是不同种类的,表现为下列的最大一组: β -细胞功能的遗传缺陷;胰岛素功能的遗传缺陷;外分泌胰腺疾病(如,胰腺炎,创伤/胰腺切除术,肿瘤,囊性纤维化,血色素沉积症,和其他疾病);其他的内分泌病(如,肢端肥大症,柯兴综合征,胰高血糖素瘤,嗜铬细胞瘤,甲亢,生长抑素瘤,醛固酮瘤,和其他疾病);药物或化学诱导的糖尿病(如,来自vacor(作为一种普遍使用的杀虫剂,在1975年上市的急性灭鼠剂,但在1979年由于严重的毒性而退市);与其接触可导致胰腺 β 细胞的破坏,引起生存者发生糖尿病),戊烷脒,烟酸,糖皮质激素,甲状

腺激素, 二氮嗪, β -肾上腺素能激动剂, 噻嗪类, 苯妥英, α -干扰素, 和其他药物); 感染诱导的糖尿病(如, 来自先天性风疹, 巨细胞病毒, 和其他感染); 较少见的免疫介导型糖尿病; 和有时与糖尿病有关的其他遗传综合症(如, 特瓦综合症, 克兰费尔特综合征, 特纳综合症, Wolfram 综合征, 弗里德赖希氏共济失调, 亨廷顿舞蹈症, Lawrence-Moon Beidel 综合征, 肌强直性营养不良, 卟啉症普拉德-威利综合征, 和其他综合症)。病因学和病理生理学是非常不同的, 大部分是很复杂的, 或与胰岛素分泌和功能障碍, 以及在细胞内的信号转导紊乱有关。见“糖尿病诊断和分类专家委员会:委员会报告 2001”, 美国糖尿病协会, *Diabetes Care* 1997;20:1183-97 (1999 修订;2002 年 1 月再版); Lernmark A., “1 型糖尿病” *Clin. Chem.* 45 (8B): 1331-8 (1999); Lebowitz H.E., “2 型糖尿病: 综述” *Clin. Chem.* 45 (8B): 1339-45 (1999)。

绝大多数糖尿病病人可按发病机理分为两个大类, 1 型糖尿病(特征是绝对的胰岛素分泌缺陷)和更常见的 2 型糖尿病 (特征是胰岛素作用抵抗和代偿性胰岛素分泌反应不足的结合)。糖尿病的慢性高血糖症与多种器官, 特别是眼, 肾, 神经, 心脏和血管的长期损害, 功能不全和衰竭有关。糖尿病的长期并发症包括视觉有可能丧失的视网膜病; 引起肾衰的肾病; 有足部溃疡, 截肢和夏柯式关节危险的周围神经病; 和引起胃肠, 泌尿生殖器和心血管症状和性功能障碍的自发性神经病。组织蛋白和其他大分子的糖化和从葡萄糖过量产生多羟基化合物均被认为是慢性高血糖症产生组织损伤的机制。患糖尿病的患者发生动脉粥样硬化性心血管, 外周血管和脑血管疾病的发病率增加。高血压, 脂蛋白代谢异常和牙周病可经常在有糖尿病的人群中发现。

糖尿病是一种慢性疾病, 其特征是存在禁食性高血糖和广泛的不成熟动脉粥样硬化的进展。糖尿病患者由于心血管疾病, 特别是冠状动脉疾病发病率和死亡率增加。糖尿病中血管的并发症可分为微血管, 影响视网膜, 肾和神经和大血管, 主要是影响冠状动脉, 脑血管和外周动脉循环。慢性高血糖症可引起多个蛋白的超糖基化, 是糖尿病的标志。超糖基化蛋白的功能发生变化可引起一系列效应。

流行病学研究已经证实高血糖症是糖尿病发作和进展中最重要的因素, 在胰岛素依赖性和非依赖性糖尿病中均是如此。高血糖症与长期糖尿病并发症有关的机制已经进行了研究, 表明涉及非酶性糖化过程。非酶性糖化是一种葡萄糖与蛋白氨基化学结合的过程, 但不需要酶的帮助。这是一种共价反应, 其中通过 N-糖苷键, 通过一系列 Maillard 描述的化学反应形成糖蛋白复合体。Maillard 反应是很复杂的和多层次的, 可在三个阶段被分析。首先, 形成糖蛋白复合体(Amadori 重排)。它是非酶性糖化的一个早期产物, 一个中间体, 是后面化合物的前体。第二个阶段包括形成大量的中间产物, 其中一些反应性很强, 可进一步继续糖化反应。第三个阶段, 最后一个阶段, 由复杂的多个聚合反应组成, 这些反应发生在第二个阶段形成所谓晚期糖化终产物(AGE) 的异类结构的过程中。相信在 Maillard 反应中专门起主要作用的是葡萄糖的高浓度。但最近的数据显示, 尽管存在糖类是 AGE 化合物的主要前体这

一事实，但大量的中间代谢物包括 α -氧代醛类也参与了非酶性糖化反应。这种中间产物是在糖酵解(丙酮醛)或在多元醇通路的过程中产生的，它们也可通过碳水化合物(乙二醛)的自动氧化而形成。 α -氧代醛类惊人地迅速修饰 AGE，相比经典的 Maillard 反应慢的多。

5 糖化具有生理学和病理生理学的意义。在生理学条件下，可在衰老的过程中检测到糖化，葡萄糖浓度经常升高这种反应明显加快和更为强烈。在糖尿病学中这些过程的重要性表现在两个基本的问题上，蛋白糖化对其结构和功能的作用，将糖化蛋白水平作为综合高血糖的一个参数。非酶性糖化的一个典型实例是形成糖化血红蛋白(更准确地是，HbA1c)。糖尿病中与血糖水平直接有关的非酶性糖化程度，HbA1c 10 的百分比增加是很多的。HbA1c 已是第一个被研究的糖化蛋白，但很快发现多种结构和调控蛋白也涉及非酶性糖化形成糖化终产物。

如上所提到的，在糖化过程中，首先形成早期的糖化产物，后来通过一系列复杂的化学反应重排成为最终的 AGE 结构。用 AGE 进行的蛋白修饰是不可逆的，因为在生物体中没有酶类可水解 AGE 化合物，因此在形成它们的蛋白生命周期中发生 15 积累。实例包括所有类型的胶原，白蛋白，碱性髓磷脂蛋白，眼晶状体蛋白，脂蛋白和核酸。AGE 改变了许多蛋白的功能，可导致糖尿病的多种晚期并发症。过多的糖化的主要生物学效应包括抑制调控分子的结合，糖化蛋白的交联，通过糖化细胞外基质吸收可溶性蛋白，对蛋白水解的易感性下降，酶的的灭活，核酸功能异常，和与免疫复合体形成有关的免疫原性增加。

20 已经有很多文献表明 AGE 可在组织和器官上进行性积累，形成慢性糖尿病并发症如视网膜病变，肾病和进行性动脉粥样硬化。免疫组织化学法已经在试验性和人糖尿病肾病中证明了在肾小球和小管细胞中存在不同的 AGE 化合物。AGE 在动脉粥样硬化中的作用也是很显著的。例如，来自循环中的网状的和不可逆的 LDL 可与血管壁的 AGE 修饰胶原结合。在大多数血管中这种网状的结合可延迟正常穿透血管壁 25 的 LDL 微粒的渗出，因此可增加胆固醇在内膜中的沉积。以后动脉粥样硬化的进展加速。AGE 蛋白的水平反映了两种相反过程的动态平衡，AGE 化合物形成的速率和通过受体降解的速率。AGE 受体参与了衰老，网状和变性的细胞外基质分子以及其他 AGE 分子的清除和改变。但在糖尿病中，AGE 蛋白的积累由于慢性高血糖症和过多的糖化超过了其清除能力。AGE 受体首先在巨噬细胞中被检测到。AGE 蛋白 30 与巨噬细胞受体的结合引起了血管壁稳态的级联事件，其环境是由细胞因子和组织生长因子介导的。已经描述了至少四个不同的 AGE 受体，其中两个属于受体清除剂。如果不同，它们之一与内化改变的 LDL 微粒非常相似。内皮细胞上的受体可发生变化。这些是细胞膜上与 AGE 配体结合的位点(表示为“RAGE”受体)。它们属于免疫球蛋白受体家族，在组织中很普遍。AGE 化合物与 RAGE 的结合可引起细胞应激。 35 现在还不知道 AGE 水平的变化是否可解释对形成并发症的易感性的差异，但已经建立的理论是 AGE 受体中的基因多样性可提供一种解释。

高血糖可诱导血管组织中大量的改变，可潜在地促进动脉粥样硬化的加速。现在三种主要的机制可用来包括在糖尿病动物和人体的脉管系统中所观察到的大多数病理改变：(a) 蛋白和脂类的非酶性糖基化；(b) 氧化应激；和(c) PKC 活化。重要的是这些机制并不是独立的。例如，高血糖诱导的氧化应激可促进 AGE 形成和 PKC 活化，1 型和 2 型糖尿病都是冠状动脉疾病(CAD)，中风，外周动脉疾病的独立危险因素。Schwartz CJ 等人，“动脉粥样硬化病变的发病机理。对糖尿病的意义”，*Diabetes Care* 15:1156-1167 (1992)；Stamler J 等人，“在多危险因素干预试验中监测的男性糖尿病，其他危险因素，和 12 年心血管死亡率”，*Diabetes Care* 16:434-444 (1993)。在北美糖尿病患者中实际上所有的死亡 80%来自动脉粥样硬化，相比较在总北美人群中所有死亡的三分之一来自动脉粥样硬化，所有住院的糖尿病并发症超过 75%要归因于下面的说法：心血管危险因素在预防和治疗糖尿病大血管疾病中的地位，*Diabetes Care* 16:72-78 (1993)。估计在美国有 1600 万人患糖尿病，这些患者中超过 90%是 2 型糖尿病。国家健康统计中心。Health United Stats. Washington, DC: 国家印刷所，1998。世界卫生组织估计全球成人糖尿病的数量将翻倍，从 1997 年的 1.43 亿至 2025 年的 3 亿人，主要是由于饮食和其他的生活方式的因素。

在总体美国人群中心脏疾病死亡率的下降已经归因于心血管危险因素的减少治疗的改善。但，糖尿病患者并没有发生在非糖尿病患者中观察到的经年龄调整后心脏病死亡率的下降，已经有报道在糖尿病妇女中经年龄调整，心脏病的死亡率是增加的。Gu K 等人，“在美国成人中的糖尿病和心脏病死亡率的下降”，*JAMA* 281:1291-1297 (1999)。研究也显示糖尿病患者较年龄和性别相配对的非糖尿病对照有更广泛的冠状动脉和脑血管动脉粥样硬化。Robertson WB, Strong JP, “患有高血压和糖尿病的人中的动脉粥样硬化”，*Lab Invest* 18:538-551 (1968)。也已有报道称糖尿病累及极大量的冠状动脉血管和更为分散的动脉粥样硬化病变的分布。Waller BF 等人，“在 30 岁以后发病的糖尿病中尸检时冠状动脉的状况。分析 229 名具有和没有冠状动脉心脏病临床证据的糖尿病患者，与 183 名对照受试者比较”，*Am J Med* 69:498-506 (1980)。将糖尿病和配对对照的大型研究也显示已形成 CAD，经历心导管治疗急性心肌梗塞，血管成形术或冠状动脉旁路的糖尿病患者明显地具有更严重的近期和远期 CAD。Granger CB 等人，“患有糖尿病和用血栓溶解剂治疗的急性心肌梗塞的患者的转归。心肌梗塞血栓溶解和血管成形术(TAMI)的研究组”，*J Am Coll Cardiol* 21:920-925 (1993)；Stein B 等人，“糖尿病对在经皮腔内经腔冠状动脉血管成形术后早期和晚期转归的影响”，*Circulation* 91:979-989 (1995)；Barzilay JI 等人，“在年龄大于或等于 65 岁的糖尿病患者中冠状动脉疾病和冠状动脉旁路移植[来自冠状动脉手术研究(CASS)记录的报告]”，*Am J Cardiol* 74:334-339 (1994)。尸检和血管镜检查的证据也显示在糖尿病患者中斑块溃疡和血栓形成明显增加。Davies MJ 等人，“缺血性猝死中影响急性冠状动脉血栓存在或缺如的因素”，*Ear Heart J* 10:203-208 (1989)；Silva JA 等人，“不稳定性心绞痛。糖尿病和非糖尿病患者之间血管镜检查结

果的比较”，*Circulation* 92:1731-1736 (1995)。

CAD 在 1 型和 2 型糖尿病中均很常见。在 1 型糖尿病中，仅在 30 岁后可观察到过多的心血管死亡率。Krolewski AS 等人，“在青少年发作的胰岛素依赖糖尿病中冠状动脉疾病的数量和决定因素”，*Am J Cardiol* 59:750-755 (1987)。在这个研究中报道 CAD 的危险在 40 岁后迅速增加，在 55 岁，35% 的患 1 型糖尿病的男性和女性死于 CAD，CAD 死亡率远远超过在年龄相配的非糖尿病同龄组中所观察到的数字。Id. 1 型糖尿病中的糖尿病肾病也增加了形成 CAD 的机率。肾病可引起晚期糖基化终产物(AGE)在循环和组织中的加速积累，并与肾功能损害的严重性是平行的。Makita Z 等人，“糖尿病肾病患者中晚期糖基化终产物”，*N Engl J Med* 325:836-842 (1991)。

在达到终末期肾病的糖尿病患者中，已有报道总死亡率高于有终末期肾病的非糖尿病患者。在透析的第一年中所有糖尿病患者中心肌梗塞的年龄特异性死亡率的相对风险较总人群高 89 倍。Geerlings W, 等人，“欧洲常规透析和移植的综合报道, XXI”，*Nephrol Dial Transplant* 6[Suppl 4]:5-29 (1991)。经历肾移植的糖尿病患者死亡的最常见原因也是 CAD，可解释这些患者中 40% 的死亡原因。Lemmers MJ. Barry JM, “在糖尿病受者肾移植后动脉疾病在发病率和死亡率中的地位”，*Diabetes Care* 1991;14:295-301 (1991)。

对于 2 型糖尿病的人来说，CAD 是死亡的主要原因，无论糖尿病的持续时间。Stamler J 等人，“在多危险因素干预试验中监测的男性糖尿病，其他危险因素，和 12 年心血管死亡率”，*Diabetes Care* 1993; 16:434-444; Donahue RP, Orchard TJ, “糖尿病和大血管并发症。一种流行病学观点”，*Diabetes Care* 15:1141-1155 (1992)。增加的心血管危险在女性中是特别惊人的。Barrett-Connor EL 等人，“为什么糖尿病是女性较男性更强力的致命性缺血心脏病的危险因素？Rancho Bemardo 研究”，*JAMA* 265:627-631 (1991)。

高血糖的程度和持续时间是 2 型糖尿病中微血管并发症的主要危险因素。糖尿病控制和并发症试验研究组，“强化治疗糖尿病对胰岛素依赖糖尿病中长期并发症形成和进展的作用”，*N Engl J Med* 1993;329:977-986)。但在大血管并发症的程度或严重性和糖尿病的持续时间或严重性之间没有明显的关联性，已经有报道在新诊断的 2 型糖尿病患者中 CAD 的患病程度增加。Uusitupa M, Siitonen. O, Aro A 等人，“在中年，新诊断的 2 型糖尿病(非胰岛素依赖性)糖尿病患者中冠状动脉疾病，左心室衰竭和高血压的患病程度”，*Diabetologia* 28:22-27 (1985)。也已经有报道不论有多小的高血糖症，即使是葡萄糖耐量异常也增加了心血管的危险。Fuller JH 等人，“冠状动脉疾病危险和葡萄糖耐受异常，Whitehall 研究”，*Lancet* 1:1373-1376 (1980)。

胰岛素抵抗是一种普遍的病理状态，与遗传倾向，定居的生活方式，衰老有关，据报道是 CAD 加重和产生的一种主要危险因素。Lempiainen P, 等人，“在老年非糖尿病男性中胰岛素抵抗综合症可预示冠状动脉心脏病事件”，*Circulation* 100:123-128 (1999)。异常的胰岛素功能和代偿的高胰岛素血症引起许多前期的致动脉粥样硬化

的异常，称为胰岛素抵抗综合症。据报道胰岛素抵抗与几种已发现的致动脉粥样硬化的危险因素协同可在明显的高血糖症发生之前许多年就可促进动脉粥样硬化。Ferrannini E 等人，“在原发性高血压中的胰岛素抵抗”，*N Engl J Med* 1987;317:350-357; Zavaroni I 等人，“在具有高胰岛素血症和正常葡萄糖耐量的健康人中冠状动脉疾病的危险因素”，*N Engl J Med* 320:702-706 (1989); Peiris AN 等人，“肥胖，脂肪分布和心血管危险”，*Ann Intern Med* 110:867-872 (1989); Reaven GM，“在人类疾病(综合征 X)中胰岛素抵抗的作用：一种延伸的定义”，*Annu Rev Med* 44:121-131 (1993)。

与胰岛素抵抗有关的异常脂血症需要升高的极低密度脂蛋白(VLDL)-甘油三酯水平，很低的 HDL 水平，延迟的富甘油三酯脂蛋白残余物的餐后清除率，以及存在非常能致动脉粥样硬化的，小的致密 LDL 微粒。Grundy SM，“高甘油三酯血症，致动脉粥样硬化的异常脂血症和代谢综合征”，*Am J Cardiol* 81:18B-25B (1998)。这种致动脉粥样硬化的脂蛋白表现型是在 CAD 患者中最常见的脂蛋白异常，形成 CAD 的风险至少与单独的中度至重度高胆固醇血症相同。Austin MA 等人，“致动脉粥样硬化脂蛋白表现型。公认的冠状动脉疾病风险的遗传标记”，*Circulation* 82:495-506 (1990)。胰岛素抵抗患者也显示内皮细胞功能障碍和高凝状态，已出现的慢性亚临床炎症也作为胰岛素抵抗综合征的一部分。C-反应蛋白，一种与心血管事件有关的炎症标记，单独与胰岛素的敏感性有关。Festa A 等人，“慢性亚临床炎症作为胰岛素抵抗综合征的一部分：胰岛素抵抗动脉粥样硬化研究 (IRAS)”，*Circulation* 102:42-47 (2000)。在胰岛素抵抗的患者中致动脉粥样硬化的代谢危险因素跨越葡萄糖耐量的范围持续恶化。Meigs JB 等人，“代谢危险因素跨越非糖尿病葡萄糖耐量的范围持续恶化，Framingham Offspring 研究”，*Ann Intern Med* 128:524-533 (1998)。是否代偿性高胰岛素血症可促进胰岛素抵抗患者中的动脉粥样硬化并不清楚。

胰岛素抵抗患者中观察到的致动脉粥样硬化危险因素现象仅可解释 2 型糖尿病患者中 CAD 过度危险的一部分，表明高血糖本身在加速这些患者的动脉粥样硬化中的作用。因此，继续发展为 2 型糖尿病的胰岛素抵抗个体也容易受高血糖症的致动脉粥样硬化效应。而且，上述高血糖成为致动脉粥样硬化性的阈值尚不清楚，但可能在葡萄糖耐量异常所限定的范围内。Gerstein HC, Yusuf S，“异常血糖症和心血管疾病危险”，*Lancet* 347:949-950 (1996)。在 2 型糖尿病患者中的多群体研究报告显示在中年和老年 2 型糖尿病患者中血糖控制的程度和 CAD 发生率和死亡率之间正性相关。Turner RC 等人，“在非胰岛素依赖糖尿病中冠状动脉疾病的危险因素：英国前瞻性糖尿病研究(UKPDS: 23)”，*BMJ* 316:823-828 (1998); Kuusisto J 等人，“NIDDM 及其代谢控制预测老年患者的冠状动脉心脏病”，*Diabetes* 43:960-967 (1994); Laakso M，“2 型糖尿病中高血糖和心血管疾病”，*Diabetes* 48:937-942 (1999)。

与 1 型和 2 型糖尿病有关的代谢异常也可引起脂蛋白运输，成分和代谢中的极度变化。脂蛋白代谢受几种因素影响，包括糖尿病的类型，血糖控制，肥胖，胰岛

素抵抗，糖尿病肾病的存在和遗传背景。Ginsberg HN, “在非糖尿病和糖尿病状态下脂蛋白的生理学。与动脉粥样硬化发生的关系”, *Diabetes Care* 14:839-855 (1991)。血浆脂蛋白浓度的异常通常在糖尿病个体中可观察到，可促进动脉粥样硬化发生的过程。血糖控制水平是在1型糖尿病患者中脂蛋白水平的主要决定因素。Garg A, “在
5 IDDM 患者中处理异常脂蛋白血症”, *Diabetes Care* 17:224-234 (1994)。在良好至中等程度控制的糖尿病中，脂蛋白水平通常在正常的范围内，而在控制差的1型糖尿病患者中，甘油三酯明显升高，LDL 一定程度升高(通常当 HbA1c 高于 11%时)，HDL 水平降低。与1型糖尿病相比，2型糖尿病中异常脂蛋白血症的病理生理学来自高血糖症和胰岛素抵抗状态之间的复杂关系。与2型糖尿病有关的典型脂蛋白特征包
10 括高甘油三酯，低 HDL 水平和正常的 LDL 水平，最一致的改变是 VLDL 甘油三酯水平的增加。Syvanne M, Taskinen MR, “在非胰岛素依赖性糖尿病中脂类和脂蛋白作为冠状动脉的危险因素”, *Lancet* 350:SI20-SI23 (1997); Ginsberg HN, “糖尿病的异常脂血症：决定普遍的高甘油三酯血症和低 HDL 胆固醇水平的基本机制”, *Diabetes* 45[Suppl 3]:S27-S30 (1996)。HDL 水平典型地较非糖尿病患者大约低 25%至 30%，
15 通常与其它的脂类和脂蛋白异常有关，特别是高甘油三酯水平。在2型糖尿病中的高甘油三酯血症来自很高的禁食和餐后富甘油三酯的脂蛋白，特别是极低密度脂蛋白(VLDL)。具有高甘油三酯血症2型糖尿病 VLDL 的产生过度，其代谢也是异常的。VLDL 的产生增加几乎一律存在于2型糖尿病和高甘油三酯血症的患者中。糖尿病中 VLDL 的产生增加是游离脂肪酸动员增加(因为在脂肪组织中维持储存脂肪要依
20 赖于胰岛素对激素敏感性脂肪酶的抑制)和高葡萄糖水平的结果。因为游离脂肪酸的可利用度是肝产生的 VLDL 的主要决定因素，VLDL 的过度产生和高甘油三酯血症出现了。

致动脉粥样硬化的脂蛋白表现型(Austin MA 等人, “致动脉粥样硬化的脂蛋白表现型。冠状动脉心脏病危险的公认遗传标记”, *Circulation* 82:495-506 (1990)) 一旦
25 VLDL 分泌增加，紧接着出现，主要是通过胆固醇酯转移蛋白的作用和在血浆中出现的脂蛋白组成改变。Ginsberg HN, “胰岛素抵抗和心血管疾病”, *J Clin Invest* 106:453-458 (2000)。脂肪酸流向肝脏增加也引起巨大的富甘油三酯 VLDL 微粒的产生，因为 VLDL 的大小也主要是由可获得的甘油三酯的量决定的。VLDL 的大小是其代谢转归的重要决定因素。巨大的富甘油三酯 VLDL 微粒可低效地转变为 LDL，
30 因此通过非 LDL 通路增加了从循环中的直接清除。另外，巨大的富甘油三酯 VLDL 的过度产生与致动脉粥样硬化的，小的致密的 LDL 亚类有关。

在具有严重高甘油三酯血症的2型糖尿病患者中，脂蛋白脂肪酶(LPL)对 VLDL 的清除率—清除血浆富甘油三酯脂蛋白的限速酶—也被损害了。 Syvanne M, Taskinen MR, “在非胰岛素依赖性糖尿病中脂类和脂蛋白作为冠状动脉的危险因
35 素”, *Lancet* 350:SI20-SI23 (1997)。LPL 需要胰岛素来维持正常组织水平，其活性在控制不好的2型糖尿病患者中是很低的。结果是酶活性不足以满足过度产生的速率，

进一步累积了 VLDL 甘油三酯。甘油三酯的浓度与不成熟的 CAD 有关, 研究已显示富甘油三酯脂蛋白在动脉粥样硬化的进展中具有重要作用。Hodis HN, “心肌缺血和脂蛋白脂酶活性”, *Circulation* 102:1600-1601 (2000)。而且, 与认为在非糖尿病人群中高甘油三酯血症是 CHD 危险因素的争论相反, 几个研究指出在糖尿病患者中升高的甘油三酯水平与增加的 CHD 危险性无关。在糖尿病患者中的高甘油三酯血症经常与 LDL 的密度和亚类(即, 小的致密 LDL)和 HDL₂ 降低的水平有关, 似乎它们可以协同增加总体的危险性。Havel RJ, Rapaport E, “处理原发性高脂血症”, *N Engl J Med* 332:1491-1498 (1995)。

特征为 VLDL 产生增加和清除异常, 已经有报道 2 型糖尿病患者显示过多的餐后脂血和残留物清除异常。由于残留物清除异常引起的过量餐后脂血是致动脉粥样硬化形成的一个因素, 涉及内皮细胞功能障碍和氧化应激的增强。Karpe F, “餐后脂蛋白代谢和动脉粥样硬化形成”, *J Intern Med* 246:341-355 (1999); Zilversmit DB, “动脉粥样硬化形成: 一种餐后现象”, *Circulation* 60:473-485 (1979); Patsch JR 等人, “甘油三酯代谢和冠状动脉疾病的关系。餐后状态的研究”, *Arterioscler Thromb* 1992;12:1336-1345 (1992); Plotnick GD 等人, “在单餐高脂肪饮食后抗氧化的维生素对内皮细胞依赖的肱动脉血管活性的作用”, *JAMA* 278:1682-1686 (1997)。餐后脂血症由一组不均一的不同成分和来源的富甘油三酯微粒组成。尽管在餐后甘油三酯水平 80% 的增加是由乳糜微粒引起的(携带大量的甘油三酯分子), 内源(肝来源的)VLDL 构成了餐后富甘油三酯微粒的 90% 以上。VLDL 的延迟清除可引起部分代谢的 VLDL 残留物的积累, 它们的体积变小, 富含胆固醇酯, 有证据表明这些小的富含胆固醇酯的 VLDL 微粒可引起动脉粥样硬化。

如非糖尿病患者一样, 较低的高密度脂蛋白(HDL)水平在糖尿病患者中是 CHD 的有效指示物。糖尿病中降低的 HDL 水平来自 HDL 的产生减少和代谢增加, 与富甘油三酯脂蛋白的异常代谢有密切关系。在有或没有明显的 2 型糖尿病的胰岛素抵抗患者中, LDL 微粒的成分是发生变化的, 引起小的, 富甘油三酯和胆固醇枯竭的微粒占优势(表现型 B)。小的致密 LDL 微粒占优势与胰岛素抵抗综合征的许多特征有关。在非糖尿病患者中, LDL 亚类表现型 B 与胰岛素抵抗综合症的其他成分有关, 包括向心性肥胖, 高血压, 葡萄糖不耐受, 和高胰岛素血症。Selby JV 等人, “LDL 亚类的表现型和女性的胰岛素抵抗综合症”, *Circulation* 88:381-387 (1993); Reaven GM 等人, “在含有小的, 致密低密度脂蛋白的个体中的胰岛素抵抗和高胰岛素血症”, *Clin Invest* 92:141-146 (1993); Haffner SM 等人, “非州人, 美洲人, 西班牙人和非西班牙白人中的 LDL 大小: 胰岛素抵抗动脉粥样硬化研究”, *Arterioscler Thromb Vase Biol* 19:2234-2240 (1999)。

在糖尿病中小的致密 LDL 的形成类似于小的致密 HDL 的形成增加。胆固醇酯转移蛋白介导了 VLDL 的甘油三酯交换为 LDL 中的胆固醇酯。如果有足够的 LDL 胆固醇酯被来自 VLDL 的甘油三酯替换, 然后当微粒与 LDL 中新获得的甘油三酯的

肝脂酶水解接触, 肝甘油三酯脂酶(HL)对 HDL 的水解反过来可减少 LDL 微粒的大小。Packard CJ, Shepherd J, “脂蛋白的不均一性和载脂蛋白 B 的代谢”, *Arterioscler Thromb Vase Biol* 17:3542-3556 (1997)。小的致密 LDL 与 CAD 危险有关, 不依赖于 LDL 胆固醇的绝对浓度或其他 CAD 的危险因素。小的致密 LDL 微粒更易受氧化修饰。Tribble DL 等人, “低密度脂蛋白的氧化敏感性与其泛醇-10 和 α -维生素 E 的含量有关”, *Proc Natl Acad Sci USA* 91:1183-1187 (1994)。它们也特别易于诱导内皮细胞的功能障碍。Anderson TJ 等人, “人体中内皮细胞依赖的冠状动脉血管舒缩涉及 LDL 对氧化的敏感性”, *Circulation* 93:1647-1650 (1996)。另外, 小的 LDL 微粒对动脉壁的渗透增强。Nielsen LB, “低密度脂蛋白转移进动脉壁内和动脉粥样硬化的危险”, *Atherosclerosis* 123:1-15 (1996)。糖基化过程的氧化修饰。The glycosylation process oxidative modification. Bucala R, 等人, “通过低密度脂蛋白受体鉴定被晚期糖基化终产物阻断摄取的载脂蛋白 B 修饰的主要位点”, *J Biol Chem* 270:10828-10832 (1995); Bucala R 等人, “脂类晚期糖基化: 体内脂类氧化通路”, *Proc Natl Acad Sci USA* 90:6434-6438 (1993)。临床研究已经显示与健康个体相比从糖尿病获得的 LDL 上 AGE 的水平增加。Bucala R 等人, “通过超级糖基化终产物对低密度脂蛋白的修饰促进糖尿病异常脂蛋白血症和肾功能不全”, *Proc Natl Acad Sci USA* 91:9441-9445 (1994)。LDL apoB 的糖基化主要发生在假定的 LDL 受体结合功能区内的正电荷赖氨酸残基上, 该区对于 LDL 受体识别 LDL 是很重要的。Id. LDL 糖基化的增加伴有葡萄糖水平的增加并损害了 LDL 受体介导的 LDL 的清除。糖化的另一个致动脉粥样硬化效应是可增加 LDL 对氧化修饰的敏感性。LDL 的含胺磷脂成分的晚期糖基化伴随着不饱和脂肪酸残基的进行性氧化修饰。因此, 糖化赋予了 LDL 对氧化修饰的敏感性增加, 这被认为是在其动脉粥样硬化发生过程中的一个重要步骤。Lyons TJ, “糖化和氧化: 动脉粥样硬化发病机理中的作用”, *Am J Cardiol* 71:26B-31B (1993); Bowie A 等人, “糖基化的低密度脂蛋白对氧化更敏感: 与糖尿病患者有何联系?”, *Atherosclerosis* 102:63-67 (1993)。用如普伐他丁的药剂降低胆固醇已经被报道可减少糖尿病患者冠状动脉事件的绝对危险性。Goldberg RB 等人, “在具有平均胆固醇水平的糖尿病和葡萄糖不耐受的心肌梗塞幸存者中的心血管事件和采用普伐他丁来降低这些事件: 胆固醇和复发事件(CARE)试验中的亚组分析”, *Circulation* 98:2513-2519 (1998)。但在糖尿病中由胆固醇降低带来的绝对临床益处高于具有 CAD 的非糖尿病患者, 因为糖尿病患者具有更高的复发性 CAD 的绝对危险性和更高的致死率或因为糖尿病患者中的 LDL 胆固醇是更容易致动脉粥样硬化的。Aronson D 等人, “决定已经有急性心肌梗塞的糖尿病患者的病程和转归的机制”, *Ann Intern Med* 126:296-306 (1997)。

美国糖尿病协会对处理糖尿病患者高脂血症的推荐通常是遵循有一些争议的国家胆固醇教育计划的指导方针, 美国糖尿病协会。状态报告。“在患糖尿病的成人中处理异常脂血症”, *Diabetes Care* 21:179-182 (1998)。治疗糖尿病异常脂血症的非药

物性策略包括饮食调整(类似于国家胆固醇教育计划所推荐的), 减少体重, 体育锻炼和改善的血糖控制。Id.在 1 型糖尿病患者中, 最佳的血糖控制应可产生正常或低于正常的脂蛋白水平, 并可防止与脂蛋白糖基化有关的动脉粥样硬化状态。在 2 型糖尿病中血糖控制的改善是有益的, 但经常与脂蛋白异常的逆转无关。采用磺酰脲类, 胰岛素, 二甲双胍或噻唑烷二酮对血糖控制的改善也有帮助。甘油三酯改善的幅度与葡萄糖水平的改变相关而不是治疗的方式。但可改善胰岛素敏感性的药剂如二甲双胍和噻唑烷二酮也可引起更低的甘油三酯。另外, “完美的”血糖控制在许多 2 型糖尿病患者中无法获得。最近相关的出版物就在预防糖尿病的情况下原发性和继发性 CHD 的传统分类进行了争论。Haffner SM, “在患糖尿病的成人中处理异常脂血症”, *Diabetes Care* 21:160-178 (1998); Haffner SM 等人, “在既往有或没有心肌梗塞的 2 型糖尿病和非糖尿病患者中冠状动脉心脏病的死亡率”, *N Engl J Med* 339:229-234 (1998)。理论根据来自与非糖尿病患者相比, 没有 CAD 临床证据的糖尿病患者中很高的事件发生率(大概是因为亚临床的动脉粥样硬化的高发生率), 以及在有临床事件发生的糖尿病患者中的不良预后。这些考虑引起这样的认识即在既往 CAD 的糖尿病患者中 LDL 胆固醇应该降低至少于 100 mg 每 dL。Id.

位于血管壁-血液界面上的内皮细胞参与了许多重要的内环境稳态和保护免受动脉粥样硬化和腔内血栓的细胞功能。内皮细胞功能障碍可促进动脉粥样硬化斑的形成和急性事件的发生。在糖尿病中内皮细胞功能障碍需要在内皮细胞的几个重要功能上发生严重的干扰, 这些干扰可启动和加速动脉粥样硬化过程, 以及临床事件的发生。相信糖尿病可引起细胞间连接脆弱, AGE 则减弱了内皮细胞屏障功能。大动脉的内皮细胞连接是连续的, 其特征是在外侧缘的紧密连接, 可限制大分子的移动到达内皮下间隙。白细胞与血管内皮细胞的粘附也对糖尿病的并发症起作用。在动脉粥样硬化最早期的事件中, 单核白细胞与内皮细胞结合, 随后进入血管壁中。这是通过在血管内皮细胞表面上诱导型粘附分子的表达来介导的。高血糖症可刺激血管细胞粘附分子-1 和 E 选择素的表达。另外, AGE 与 AGE 受体的相互作用据报道可引起氧化应激的诱导, 结果诱导了转录因子 NF-kappaB 和血管细胞粘附分子-1。因此, 糖尿病中动脉粥样硬化过程中的早期事件可通过增强的单核细胞与内皮细胞表面粘附相互作用介导的。内皮细胞依赖性的舒张异常, 这种舒张是通过内皮细胞来源舒张因子(EDRF)的释放介导, 是在动物模型和人类糖尿病中一致的发现, 发生在多种血管床中, 包括冠状动脉。内皮细胞依赖的舒张异常在 1 型和 2 型糖尿病中已经被证明, 在有正常葡萄糖耐量的胰岛素抵抗患者中缺少证据。De Vriese AS 等人, “糖尿病中的内皮细胞功能障碍”, *Br J Pharmacol* 130:963-974 (2000)。

如在此所提到的, 高血糖症被认为是糖尿病内皮细胞功能障碍的原发介质。Williams SB 等人, “在人体体内急性高血糖症减弱了内皮细胞依赖性舒张”, *Circulation* 97:1695-1701 (1998)。类似于在高胆固醇血症中观察到的内皮细胞功能障碍的机制, 高血糖诱导的内皮细胞功能障碍被认为主要是由可灭活 EDRF 的氧自由

基的产生增加引起的。胰岛素抵抗也可引起糖尿病患者中的内皮细胞功能障碍。Steinberg HO 等人,“肥胖/胰岛素抵抗与内皮细胞功能障碍有关。与胰岛素抵抗综合症的关联”, *J Clin Invest* 97:2601-2610 (1996)。

5 糖尿病的特征是在凝血系统和纤溶系统中多种特殊的改变,可联合引起前凝血状态。这些改变包括血小板功能行为的增加,几种凝血成分的水平增加,和纤维蛋白溶解异常。凝血和纤溶系统在动脉粥样硬化中特别重要,因为最重要的作用是附壁血栓可导致斑块进展的后面阶段,因为血栓性阻塞在临床事件的进展中具有重要作用。在绝大多数情况下,对生命有潜在威胁性的事件如不稳定心绞痛或心肌梗塞的进展中的基本原理是血栓在破裂的位置上出现。

10 血小板的高凝集性,包括自发性血小板凝集的存在和常规刺激诱导的血小板凝集性的增加,也可增加心血管事件的危险性。来自糖尿病患者的血小板显示有增强的粘附性和高凝集性。切变力诱导的血小板粘附和凝集在糖尿病患者中也是增加的。Knobler H 等人,“在内皮下切变力诱导的血小板粘附和凝集在糖尿病患者中是增加的”, *Thromb Res* 90:181-190 (1998)。von Willebrand 因子(vWF)参与了血小板和损伤血管壁内皮下膜的最初粘附,是介导血小板和血管壁成分之间止血相互作用的最重要粘附分子之一。vWF 被内皮细胞合成并分泌,很高的 vWF 循环水平被认为是内皮细胞功能障碍的标记物。在糖尿病患者中,vWF 的血浆浓度是升高的,与血管并发症和内皮细胞功能障碍的存在有密切关系。Stehouwer CD 等人,“在非胰岛素依赖性糖尿病中尿白蛋白的分泌,心血管疾病和内皮细胞功能障碍”, *Lancet* 340:319-323 (1992)。流行病学资料也证明了在血浆 vWF 和胰岛素抵抗综合征之间的关系。Conlan MG 等人,“VIII 因子和 von Willebrand 因子与年龄,人种,性别和动脉粥样硬化危险因素的关联。社区动脉粥样硬化危险(ARIC)的研究”, *Thromb Haemost* 70:380-385 (1993)。

25 大量的证据也表明在高的血浆纤维蛋白原水平和增加的 CAD 风险之间有很强烈的独立直接相关性。纤维蛋白原水平在糖尿病中经常是增加的,这种增加与血糖控制差有关系。Kannel WB 等人,“糖尿病,纤维蛋白原,和心血管疾病的危险: Framingham 的经验”, *Am Heart J* 120:672-676 (1990)。内源性纤维蛋白溶解的强度依赖于一种动态的平衡,涉及纤溶酶原激活物,主要是组织型纤溶酶原激活物和抑制剂。组织型纤溶酶原激活物的主要生理抑制剂是纤溶酶原激活物抑制剂-1(PAI-1)。30 由 PAI-1 活性的增加引起的纤维蛋白溶解减弱与已形成 CAD 的患者心肌梗塞增加的危险性有关。Kohler HP, Grant PJ, “纤溶酶原-激活物抑制剂 1 型和冠状动脉疾病”, *N Engl J Med* 342:1792-1801 (2000)。由增加的 PAI-1 水平引起的血浆纤溶活性降低是胰岛素抵抗和高胰岛素血症的特征。已经认识到在 2 型糖尿病高胰岛素血症的血浆中 PAI-1 的浓度一贯是升高的,但也发生在血糖正常的胰岛素抵抗患者中。35 Juhan-Vague I, Alessi MC, “PAI-1, 肥胖, 胰岛素抵抗和心血管事件的危险性”, *Thromb Haemost* 78:656-660 (1997)。已经证明由脂肪组织产生的 PAI-1, 它可能是在

胰岛素抵抗患者中观察到的升高的血浆 PAI-1 水平的一个重要因素。Alessi MC 等人，“人脂肪组织产生的纤溶酶原激活物抑制剂 1：内脏脂肪和血管疾病之间可能的联系”，*Diabetes* 46:860-867(1997)。高血糖症也可增加 PAI-1 的水平因为它可通过对其启动子区域的效应刺激 PAI-1 基因的转录。Chen YQ 等人，“Spl 位点介导葡萄糖在血管平滑肌细胞中对纤溶酶原激活物抑制剂-1 启动子的活化”，*J Biol Chem* 273:8225-8231 (1998)。尽管可能在糖尿病中一些止血的异常是血管原发疾病的部分标志而不是基本的异常，糖尿病患者的凝血和纤维溶解特征与未来心血管事件高危的患者惊人地相似。糖尿病中前凝血状态被认为有助于解释下面的观察，即在有不稳定心绞痛的糖尿病患者的血管镜检查中更频繁地发现冠状动脉内血栓形成，其临床与不利的转归，主要是死亡，非致死性梗死，或复发性不稳定心绞痛相关。Silva JA 等人，“不稳定心绞痛。比较糖尿病和非糖尿病患者之间的血管镜检查结果”，*Circulation* 92:1731-1736 (1995); Aronson D 等人，“决定已有急性心肌梗塞的糖尿病患者的病程和转归的机制”，*Ann Intern Med* 126:296-306 (1997); Malmberg K 等人，“在具有不稳定心绞痛和无 Q 波的心肌梗塞患者中糖尿病对长期预后的影响：OASIS(评估缺血综合征策略的机构)记录的结果”，*Circulation* 102:1014-1019 (2000); Calvin JE 等人，“不稳定心绞痛中的危险分层。Braunwald 分类的预计有效性”，*JAMA* 273:136-141 (1995)。因此，高血糖可诱导大量的血管组织改变，潜在地可促进动脉粥样硬化的加速形成。Acosta J 等人，“补体和糖尿病血管并发症之间联系的分子基础”，*Proc Natl Acad Sci USA* 97:5450-5455 (2000)。

蛋白激酶 C 也参与其中。高血糖的代谢后果可在细胞中表现出来，其中葡萄糖转运基本上不依赖胰岛素。引起的细胞内高血糖症通过活化 PKC 系统与糖尿病并发症的发病机理有关联。Ishii H 等人，“口服 PKC β 抑制剂改善糖尿病中的血管功能障碍”，*Science* 272:728-731 (1996); Koya D, King GL, “蛋白激酶 C 活化和糖尿病并发症的进展”，*Diabetes* 47:859-866 (1998)。周围很高的葡萄糖浓度通过增加甘油二酯(DAG)的形成活化 PKC，DAG 是 PKC 活化的主要内源性细胞辅因子，来自糖酵解的中间体如磷酸二羟丙酮和甘油醛-3-磷酸酯。在脉管系统中 DAG 的升高和随后 PKC 的活化可长期维持。Xia P 等人，“在糖尿病和高半乳糖血症中甘油二酯-蛋白激酶 C 通路长期活化机制的特征”，*Diabetes* 43:1122-1129 (1994)。PKC 是一个具有至少 12 种丝氨酸和苏氨酸激酶异型的家族。尽管在血管组织中又几种 PKC 异型表达，在大鼠糖尿病模型中，在主动脉，心脏和视网膜中 PKC $\beta 2$ 优先活化，在肾小球中 PKC $\beta 1$ 优先活化。Inoguchi T 等人，“在糖尿病大鼠的主动脉和心脏优先升高的蛋白激酶 C 异型 β II 和甘油二酯水平：胰岛细胞移植对血糖控制的差别可逆性”，*Proc Natl Acad Sci USA* 89:11059-11063 (1992); Koya D 等人，“蛋白激酶 C β 异型活化糖尿病大鼠肾小球中转化生长因子- β ，细胞外基质成分，和前列腺素类基因表达的特性”，*J Clin Invest* 100:115-126 (1997)。PKC 系统普遍分布在细胞中，参与几种生长因子的转录和对生长因子应答的信号转导。在血管平滑肌细胞中，PKC 的活化据报道可调

节生长速率, DNA 合成和生长因子受体的更新。PKC 的活化可增加转化生长因子- β (TGF- β)的表达, 后者是最重要的一种生长因子, 通过激活蛋白聚糖和胶原的基因表达, 减少可降解基质蛋白的蛋白水解酶的合成来调节细胞外基质。TGF- β 的表达增加被认为可引起毛细血管基底膜的增厚, 这是在糖尿病几乎所有组织中可观察到的早期结构异常之一。PKC β 选择性抑制剂(LY333531)可减弱 TGF- β 和细胞外基质蛋白如纤维连接蛋白和 IV 型胶原在肾小球的表达。Koya, 见前; Koya D 等人, “在糖尿病 db/db 小鼠, 一种 2 型糖尿病的啮齿类动物模型中用 PKC β 抑制剂治疗可改善加速的糖尿病性肾小球系膜增生”, *FASEB J* 14:439-447 (2000)。高血糖症诱导的 PKC 活化也可引起在平滑肌细胞和其他血管壁细胞上血小板衍生生长因子- β 受体的表达增加(如, 内皮细胞, 单核-巨噬细胞)。Inaba T 等人, “高葡萄糖对血小板衍生生长因子- β 受体表达的增强。血小板衍生生长因子参与糖尿病的血管病”, *Diabetes* 45:507-512 (1996)。

氧化应激被广泛的认为是动脉粥样硬化的一个发病机制。在高血糖症的结局中, 氧化应激已被认为是动脉粥样硬化加速的潜在机制。Baynes JW, Thorpe SR, “在糖尿病并发症中氧化应激的作用: 对老现象的一种新观点”, *Diabetes* 48:1-9 (1999)。重要地是, 在高血糖症诱导的氧化应激和血管损害的其他高血糖依赖机制之间似乎有强烈的致病联系, 也就是 AGE 形成和 PKC 活化。高血糖症可通过几种通路增加氧化应激。一种主要的机制似乎是高血糖症诱导的细胞内活性氧粒子, 由线粒体电子传递链产生的质子电动梯度所产生, 引起的产生增加

404:787-790 (2000)。两种其他的机制也已被建议可能解释高血糖症如何引起活性氧粒子形成增加。一种机制涉及过渡金属催化的游离葡萄糖的自氧化, 如在全细胞系统中所述。通过这种机制, 葡萄糖本身可启动自氧化反应和产生超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)和过氧化氢(H_2O_2)的自由基生成。Wolff SP, “糖尿病和自由基。自由基, 过渡金属和氧化应激在糖尿病和并发症病因学中的作用”, *Br Med Bull* 49:642-652(1993)。其他的机制涉及过渡金属催化的蛋白结合 Amadori 产物的自氧化, 该产物可产生超氧化物和羟基, 以及高度反应性的二羰基化合物。Baynes JW, Thorpe SR, “氧化应激在糖尿病并发症中的作用: 对老现象的一种新观点”, *Diabetes* 48:1-9 (1999)。也有证据高血糖症可能损害天然的抗氧化防御。在正常情况下, 自由基可通过如还原型谷胱甘肽, 维生素 C 和维生素 E 被迅速消除。还原型谷胱甘肽的含量, 以及还原型维生素 E, 在糖尿病患者中已有报道。Yoshida K 等人, “糖尿病中对氧化应激的细胞清除活性减弱: 谷胱甘肽合成的调节和排出”, *Diabetologia* 38:201-210 (1995); Karpen CW 等人, “从 I 型人类糖尿病患者的血小板中产生 12-羟甘碳四烯酸和维生素 E”, *Diabetes* 34:526-531 (1985)。

如在此要注意的是, 在 AGE 抗原决定簇和细胞表面 AGE 受体之间的相互作用可上调氧化应激反应基因和释放氧基团。因此, 高血糖症可同时增强 AGE 的形成和氧化应激, 糖化和氧化化学之间的相互促进的作用能够协同地形成 AGE, 氧化应激

和糖尿病并发症。实际上，在皮肤胶原的糖基氧化产物的水平和糖尿病性视网膜，肾和血管疾病之间存在强烈的相关性。Beisswenger PJ 等人，“在早期糖尿病肾病中胶原相关的戊糖苷水平和晚期糖基化终产物增加”，*J Clin Invest* 92:212-217 (1993)。

氧化应激也参与了血管组织中 DAG-PKC 的活化。Nishikawa T 等人，“将线粒体超氧化物的产生正常化可阻断高血糖损害的三种通路”，*Nature* 404:787-790 (2000)。在高血糖症的情况下产生的氧化剂可活化 PKC。Konishi H 等人，“对 H₂O₂ 反应的酪氨酸磷酸化对蛋白激酶 C 的活化”，*Proc Natl Acad Sci USA* 94:11233-11237(1997)。

CHF 和特发性心肌病的危险在糖尿病中也是增加的。Kannel WB 等人，“糖尿病在充血性心力衰竭中的作用：Framingham 研究”，*Am J Cardiol* 34:29-34 (1974)；Shindler DM 等人，“糖尿病，在左心室功能障碍(SOLVD)试验研究和记录中发病率和死亡率的预测因子”，*Am J Cardiol* 77:1017-1020 (1996)；Ho KK 等人，“心衰的流行病学：Framingham 研究”，*J Am Coll Cardiol* 22:6A-13A (1993)。尽管糖尿病对具有 CHF 的患者的预后影响的数据有限，但几个研究表明在这种情况下糖尿病是不良预后的独立预测因子。在左心室功能障碍研究中，在记录的人群中，糖尿病是有症状心衰患者发病率和死亡率的独立预测因子，无症状患者的射血分数小于或等于 35%。Shindler, 见前。有糖尿病和缺血性心脏病患者中不良预后的一个原因似乎是心肌功能障碍增强导致心衰加速。Grundy SM 等人，“糖尿病和心血管疾病：美国心脏协会卫生保健专家的讲话”，*Circulation* 100:1134-1146 (1999)。

与糖尿病有关的心肌病过程最初表现为左室顺应性下降，左室收缩功能正常。Zarich SW 等人，“通过脉冲多普勒超声心动图检测到在年轻的无症状糖尿病患者中心脏舒张异常”，*J Am Coll Cardiol* 12:114-120 (1988)；Paillole C 等人，“通过多普勒超声心动图在年轻的 I 型(胰岛素依赖性)糖尿病患者中确定了左室充盈异常的普遍性和显著性”，*Am J Cardiol* 64:1010-1016 (1989)；Mildenberger RR 等人，“在年轻的糖尿病患者中临床上无法识别的左室功能障碍”，*J Am Coll Cardiol* 4:234-238 (1984)。在 27%至 69%的无症状糖尿病患者中可发生心脏舒张异常。在几个研究中已经证实，在具有正常的静息射血分数的情况下，射血分数对动力性运动的反应是较低的，表明在许多糖尿病无症状患者中的收缩储备是降低的。Mildenberger, 见前；Shapiro LM 等人，“II 型糖尿病的左室功能：临床特征与左室功能之间的关系”，*Br Heart J* 45:129-132 (1981)；Mustonen JN 等人，“在中年的糖尿病患者中的左室收缩功能”，*Am J Cardiol* 73:1202-1208 (1994)。收缩功能障碍通常出现在长期患有晚期微血管并发症的患者中。Raev DC, “在糖尿病心肌病进展中左室功能损害的更早吗？青年 I 型糖尿病患者的超声心动图研究”，*Diabetes Care* 17:633-639 (1994)。但即使心肌储备下降的亚临床型心肌病在存在心肌缺血或同时存在未受控制的高血压时在临床上也可能变为很重要。Stone PH 等人，“急性心肌梗塞后糖尿病对预后和连续左室功能的影响：冠状动脉疾病和左室舒张功能障碍对不良预后的作用。MTLIS 研究组”，*J*

Am Coll Cardiol 14:49-57 (1989)。

也要理解的是高血压和糖尿病的同时存在对心脏有特别的有害效应。高血压的同时存在已被认为是糖尿病患者中舒张功能障碍表现的一个主要因素。Grossman E, Messerli FH, “糖尿病性和高血压性心脏病”, *Ann Intern Med* 125:304-310 (1996)。
5 在高血压患者中, 糖尿病是 CHF 的重要前身, 在女性较男性相对有更高的危险性。Levy D 等人, “高血压对充血性心衰的促进”, *JAMA* 275:1557-1562 (1996)。CHF 进展的危险性增加的机制并不完全清楚, 但部分与左室体积的过度增加有关。Grossman E 等人, “糖尿病-高血压中的左室体积”, *Arch Intern Med* 152:1001-1004 (1992)。

肥胖, 特征为胰岛素抵抗和高胰岛素血症, 也与增加的左室体积强烈相关, 不
10 依赖于年龄和血压。Lauer MS 等人, “肥胖对左室体积和几何学的影响。Framingham 心脏研究”, *JAMA* 266:231-236 (1991)。而且, 在血压正常的肥胖患者中左室体积与胰岛素抵抗的严重性较表示为体重指数的肥胖本身更为相关。Sasson Z 等人, “胰岛素抵抗是肥胖症中左室体积的一个重要决定因素”, *Circulation* 88:1431-1436(1993)。

在具有正常葡萄糖耐量的高血压患者中, 普遍显示胰岛素抵抗和高胰岛素血症,
15 其左室体积已显示与胰岛素抵抗的程度相关。Ohya Y 等人, “在日本工地人群中的高胰岛素血症和左室几何学”, *Hypertension* 27:729-734 (1996); Verdecchia P 等人, “循环胰岛素和胰岛素生长因子-1 是原发性高血压中左室体积和几何学的独立决定因素”, *Circulation* 100:1802-1807 (1999)。相似的关联在无高血压的胰岛素抵抗患者中也观察到了。Marcus R 等人, “在 Tecumseh 血压研究中增加的左室体积的性别特
20 异性决定因素”, *Circulation* 90:928-936 (1994)。

高血压, 胰岛素抵抗, 高胰岛素血症和 2 型糖尿病通常是相关的, 可引起心血管并发症的高危性。Reaven GM, Laws A, “胰岛素抵抗, 代偿性高胰岛素血症, 和冠状动脉疾病”, *Diabetologia* 37:948-952 (1994); Agewall S 等人, “在高和低冠状动脉危险性的男性中颈动脉壁内膜-中膜厚度与胰岛素介导葡萄糖利用有关”, *Stroke*
25 26:956-960 (1995)。左室体积是心和脑血管发病率的独立于血压或其他危险因素之外的一个有力预测因子, 也是有症状 CHF 进展的一个强有力的危险因素, 人们认为胰岛素抵抗和左室肥大之间的相关性可能解释在胰岛素抵抗患者中有症状 CAD 的危险性增加。

几个报道集中在代谢异常, 包括异常的细胞内 Ca^{2+} 处理, 心肌葡萄糖利用缺陷
30 和 PKC 活化, 作为糖尿病心肌病发病机制的可能解释。另外, AGE 在糖尿病心肌病发病机理中也有一定的地位。与非糖尿病个体相比糖尿病患者的动脉刚性增加, 表现为在年轻的年纪左室顺应性下降。几个学者已经证实糖尿病有几个特征, 在组织水平和胶原水平本身可加速衰老。衰老和糖尿病与胶原的交联和非酶性糖基化有关。这可形成这种概念, 即在正常的衰老过程中糖基化可解释胶原的进行性交联,
35 在糖尿病中以更快的速度引起血管组织机械特性的改变。因此, 在糖尿病中血管和心脏机械特性的紊乱可能是由一种普遍的机制引起的。在与 AGE 形成有关的结构改

变中可改变这种蛋白结构和功能的胶原-胶原的交联导致了组织的僵硬。糖尿病患者中动脉刚性的增加与增加的主动脉和心肌胶原晚期的糖化强烈相关。Airaksinen KE 等人,“糖尿病中动脉弹性的下降:与胶原中荧光晚期糖基化终产物的关系”,*Cardiovasc Res* 27:942-945 (1993)。进一步支持 AGE 假说的证据是观察到可特异抑制 AGE 形成的药剂可有效地防止糖尿病和衰老的病理性僵硬过程。Norton GR 等人,“氨基胍可预防链脲菌素诱发的大鼠糖尿病产生的心肌顺应性下降”,*Circulation* 93:1905-1912 (1996); Huijberts MS 等人,“氨基胍的治疗可增加糖尿病大鼠大动脉的弹性,降低其液体的滤过”,*J Clin Invest* 92:1407-1411 (1993)。例如,用氨基胍,一种 AGE 形成的抑制剂治疗糖尿病大鼠,据报道可增加颈动脉的顺应性,减少主动脉的阻抗,防止心肌顺应性下降。Id.

已尝试采用通常的两种方法来用药物以较高或较低的功效来影响非酶性糖化的过程和 AGE 产物的形成。第一种方法是通过北美黄连碱:氨基胍盐酸盐或类似物抑制早期至晚期的糖化终产物的重排。第二种方法是用取代的噻唑盐来阻断已经存在的 AGE 产物。氨基胍的药理活性可使动物模型中的一些微血管并发症不发生或延缓。尽管氨基胍作用的机制并没有完全清楚,但它可抑制可引起糖化终产物形成的一系列化学反应中的一些阶段。尽管有了第一步令人鼓舞的结果,在 2 型糖尿病患者中氨基胍的临床试验已经由于副作用而暂停。见,例如, Brownlee M.,“糖化的阴性结果”,*Metabolism* 2000; 49(suppl 1): 9-13; Singh R, Barden A, Mori T, Beilin L.,“晚期糖化终产物:综述”,*Diabetologia* 2001; 44: 129-146; Vlassara H, Bucala R, Striker L.,“AGE 的致病效应:对糖尿病和衰老的生化,生物学和临床意义”,*Lab Invest* 1994;70:138-151; Lyons T, Jenkins AJ.,“在糖尿病并发症进展中的糖化,氧化和脂质氧化:‘羰基应激’假设”,*Diabetes Rev* 1997;5:365-391。

如在此所指出的,要理解糖尿病在发达国家是患病的一个主要来源。在其共患病中,动脉粥样硬化可能是最重要的。由于胰岛素的可利用度糖尿病中所有死亡的相当于四分之三直接要归因于 CAD。在 1 型糖尿病患者中,在 50 岁时相当于三分之一死于 CAD。在糖尿病中许多已知的 CAD 危险因素,如高血压,向心性肥胖和异常脂血症较普通人群更为普遍。因此,糖尿病表现的有主要威胁性的高血压,向心性肥胖和异常脂血症,在糖尿病患者中较普通人群更为普遍。因此糖尿病在发达世界中的 CAD 负担中表现为一个主要的威胁因素,糖尿病患者中大多数 CAD 形成危险并不能很容易的使用传统的危险因素分析来量化。如所指出的,在高血糖和 CAD 之间的关系是争论的主题,因为血清血糖并不能一贯地预测 CAD 的存在。但最近的预期数据很清晰地在长期平均葡萄糖水平的标记物(HbA1c)和心血管发病率和死亡率之间建立了联系。已经确定的高血糖症的结局,如细胞毒性,细胞外基质产生增加和血管功能障碍,所有这些在糖尿病诱导的血管疾病的发病机制中都有含义,AGE 的形成与糖尿病的血管和肾脏并发症有直接的相关性。

糖尿病患者特别易于形成心血管疾病,尤其是动脉粥样硬化的发病和死亡。动

脉粥样硬化是主动脉和大血管壁的一种疾病，被认为是连接血管内腔的内膜层细胞损伤启动的。疾病进展的特征是脂类浸润进血管壁中，形成称为动脉粥样化斑块的纤维组织形成。动脉粥样硬化的临床症状并不经常发生，直至腔的一半以上被斑块阻塞(封闭)，典型地是在生命的 50 和 60 岁的两个十年中。因此，对血浆脂类在健康和 CHD 发生中的作用的研究在过去几十年中是对 CHD 的主要研究。目前肯定的证据证明了这样一个前提，即下面的这些都是重要的危险因素：家族史，较高的低密度脂蛋白(HDL)胆固醇血浆浓度和较低的高密度脂蛋白(HDL)胆固醇浓度（分别和共同地），高的 apoB(LDL 微粒的主要蛋白分段)血浆浓度，高的血浆脂蛋白(a) (Lp(a))浓度，高的血浆纤维蛋白原浓度，高血压，糖尿病，肥胖，增加的同型半胱氨酸血浆浓度(all these themselves)

糖尿病中动脉粥样硬化的发病机理并不完全清楚，传统的危险因素如吸烟，肥胖，血压和血清脂类都不能完全解释这种过分的风险。在动脉粥样硬化发病机理中的重要特征似乎包括血管内皮细胞损伤，血小板粘附和活化，纤维蛋白沉积，细胞增殖，和低密度脂蛋白胆固醇的积累。纤维蛋白沉积是动脉粥样硬化病变中的一个不变的特征。因此，止血的紊乱引起纤维蛋白形成的加速(高凝性)和延迟的纤维蛋白清除(纤维蛋白溶解异常)可促进动脉粥样硬化的进展。机能亢进的血小板，高凝性和纤维蛋白溶解异常也可促进在破裂的动脉粥样硬化病变部位血栓的形成，并引起动脉粥样硬化发展中的最后闭塞结果。

尽管在糖尿病患者中血小板计数是正常的，多个研究提供了血小板活性增加，活化增强的证据。另外，对血小板和内皮下结构的粘附很重要的 von Willebrand 因子(vWF)血浆水平的增加，在糖尿病患者中已有报道。机能亢进的血小板可形成微团聚体，引起毛细血管的微栓塞。在糖尿病患者中，由此引起了在临床上检测到微血管病之前长期发生的相对组织缺氧。据推测由机能亢进的血小板引起的大血管的血管滋养管的微栓塞也可以是动脉粥样硬化进展的初始事件。对内皮损伤反应活化的血小板分泌的促有丝分裂，氧化或缩血管物质可放大和加速动脉粥样硬化的进展。在动脉循环中的急性血栓形成也是由血小板触发的。

在糖尿病中引起高凝性的止血紊乱已在大量的研究中被观察到。除改变的筛选测定外，已经偶尔描述过几种凝血因子和抑制剂的改变。当研究高凝性和动脉粥样硬化之间关系时遇到的一个问题是打算检测高凝性的实验室检查的数量和在一个指定受试者中这些检查的广泛变异性。分组研究的结果显示在被分析的不同凝血因子中，纤维蛋白原，VII 因子和 vWF 浓度的增加，对冠状动脉粥样硬化有预测价值，可被认为是心血管事件的危险因素。这些因子的增加可参与动脉粥样硬化的发病机制中，主要是冠状动脉。

纤维蛋白原是已经在流行病学研究中被最广泛研究的一个参数。在纤维蛋白原的血浆浓度，纤维蛋白原的量和存在血管壁中的纤维蛋白和动脉粥样硬化严重性之间已经建立了联系。这些关系在糖尿病患者中更为显著。也在糖尿病患者中观察到

了很高的纤维蛋白原浓度，特别是在有蛋白尿的患者中。在纤维蛋白原和胰岛素抵抗之间的关系仍有争论。游离的脂肪酸已经被认为可解释纤维蛋白原-胰岛素抵抗的关系，因为游离脂肪酸和纤维蛋白原的同时增加可见于多种临床和实验条件下。这种关系也可来自伴随动脉粥样硬化的炎症反应。

5 VII 因子是在肝内合成的维生素 K 依赖的蛋白。它是启动血液凝固中的关键酶。Northwick Park Heart 研究和 PROCAM 研究已经显示在增加的 VII 因子和心血管死亡率之间有正相关。VII 因子的血浆浓度与几种环境因素密切相关，主要是甘油三酯和胆固醇水平。这些关联高度依赖于饮食的摄取。VII 因子中的增加已经在糖尿病中被描述，在有微蛋白尿的患者中更为显著。就胰岛素抵抗对升高 VII 因子的作用仅
10 有有限的的数据。VII 因子和胰岛素和胰岛素原之间的关系被描述为非常微弱或仅存在于女性中。受富甘油三酯脂蛋白代谢效率影响的 VII 因子可以这种方式在胰岛素抵抗中被修饰。

vWF 的血浆浓度增加已经显示可预测心肌梗塞幸存者的再梗塞和死亡率，预测健康人和心绞痛患者中的心脏事件。欧洲血栓协作研究显示 vWF 的预测性不受其他
15 典型冠状动脉危险因素如，体重指数，脂质紊乱或吸烟的调整影响。由于类似纤维蛋白原 vWF 的水平依赖于急性相反应，vWF 与纤维蛋白原或 C 反应蛋白水平正相关，如果 vWF 是不考虑纤维蛋白原水平的一个危险因素，就不得不进行评估。在 2 型糖尿病中，vWF 水平在微蛋白尿的患者中更高。vWF 与胰岛素抵抗相关性很差，或根本不相关。

20 高凝性也可从凝血系统活化标记物的水平增加来判断，表示凝血酶产生增加。当在糖尿病中从凝血酶原形成凝血酶时，凝血酶原片段 1+2 的释放增加。一旦被活化，凝血酶迅速地被抗凝血酶灭活，形成凝血酶-抗凝血酶复合物，进入循环，被肝清除。多个研究已经证实在糖尿病中升高的凝血酶-抗凝血酶复合物。当纤维蛋白原通过凝血酶被转变为纤维蛋白时，纤维蛋白肽 A 被释放。因此，在凝血的过程中纤维
25 蛋白肽 A 的水平是增加的。在糖尿病中测定纤维蛋白肽 A 已产生了许多结果，从升高到正常。

纤溶系统是天然的血栓形成防御系统。在纤溶酶原激活物和抑制物之间存在着平衡，这种平衡的损害是由组织纤溶酶原激活物(t-PA)释放的减少或纤溶酶原抑制物
30 1(PAI-1)的水平增加引起的。PAI-1 是一种丝氨酸蛋白酶抑制物，有证据表明它是纤溶系统的主要调节物。它可结合并迅速地抑制单链和双链 t-PA 和尿激酶。t-PA 和 PAI-1 迅速地形成无活性的不可逆复合物。

纤溶系统的异常已经在 1 型和 2 型糖尿病中被描述。如在 2 型糖尿病中所描述的，纤溶异常通常伴随着血浆 PAI-1 的水平增加和 t-PA 抗原的浓度增加，主要表现为 t-PA/PAI-1 复合物。在 1 型糖尿病中结果是混杂的，纤溶减弱，正常和增强都有
35 报道。在 2 型糖尿病患者中多种危险因素与纤溶异常独立相关：肥胖，高血压，异常脂血症，葡萄糖不耐受，高胰岛素血症和胰岛素抵抗。这些因素经常趋向于汇聚

在一起,大量的研究尝试在测定糖尿病中纤溶活性时分析上述危险因素的独立贡献,但这些工作已经由于它们之间的复杂关系而被中止。在非糖尿病患者中,胰岛素抵抗与胰岛素的增加是平行的,都与甘油三酯的水平有关系。因此,这些变量的任何一个或多个都可能解释与 PAI-1 的相互关系。通过在 2 型糖尿病中的对比,胰岛素抵抗,胰岛素浓度和甘油三酯水平在解释 PAI-1 增加时不太密切地相互依赖。

纤溶异常不仅倾向于发生血栓形成,也在动脉粥样硬化病变的形成和进展具有一定的作用。在动脉粥样硬化病变中已经证明了 PAI-1 的合成增加。在病变破裂的过程中这可引起纤维蛋白的沉积,引起病变的进展。病变内的 PAI-1 可抑制纤溶酶的形成,在细胞外基质蛋白的断裂中扮演重要的作用,直接起作用或通过活化金属蛋白酶。这可导致动脉粥样硬化病变的稳定和进一步生长。

纤溶系统的改变在微血管病中应有重要的作用。尿激酶和纤溶酶是潜在的金属蛋白酶,如可蛋白水解细胞外基质蛋白的胶原酶的激活物。PAI-1 的增加可导致在微血管病中观察到的基底膜增厚。

高胰岛素血症也与非糖尿病患者中的心血管疾病有关。在那些 2 型糖尿病患者中,高胰岛素血症的程度与 PAI-1 的活性平行,胰岛素已被认为是 PAI-1 的一个主要的生理调节物。尽管胰岛素和 PAI-1 有人群相关性,和体外胰岛素对 PAI-1 产生的效应,但没有显示在人体内胰岛素对 PAI-1 水平有直接效应,不管是胰岛素静脉输注或通过口服葡萄糖负载为了产生门静脉高胰岛素血症。因此,在人类很少证据能显示可在体内引起胰岛素浓度增加的干预措施可增加 PAI-1。在另一方面,通过锻炼,减轻体重和药物二甲双胍降低胰岛素水平和胰岛素抵抗显示可降低 PAI-1。在 2 型糖尿病中大约 30%禁食的免疫反应性胰岛素浓度由胰岛素原样分子组成。因此,在这些患者中 PAI-1 的水平升高是胰岛素前体的结果而不是胰岛素本身。

高血糖症是纤溶异常的另一危险因素。葡萄糖可直接增加人内皮细胞中 PAI-1 的产生。在 2 型糖尿病中在葡萄糖浓度和 PAI-1 之间存在显著的相关,并已经被观察到。有人已经认为胰岛素抵抗或高胰岛素血症可通过对脂质代谢的作用影响 PAI-1 的合成。在糖尿病患者中,异常脂血症,特别是在高甘油三酯和低高密度脂蛋白水平时是普遍的。据报道体外研究已经证明了在 PAI-1 合成中多种脂蛋白的效应。来自高甘油三酯血症患者的极低密度脂蛋白将内皮细胞产生的 PAI-1 增加程度高于正常甘油三酯的患者。氧化的低密度脂蛋白也可如脂蛋白(a)一样刺激内皮细胞的 PAI-1 合成。脂蛋白(a),低密度脂蛋白和高密度脂蛋白也可以剂量依赖的方式抑制 t-PA 从人内皮细胞中的分泌。

总之,在糖尿病患者中有显著的长期血小板活化,凝血增强和纤溶异常的实验室证据。这些止血紊乱有助于特别是冠状动脉粥样硬化和血栓的进展。

在机体中天然存在这一些金属,许多对细胞是很重要的(如, Cu, Fe, Mn, Ni, Zn)。但,所有金属在更高的浓度下都是有毒性的。这些金属成为有毒性的一个原因是因为它们可产生氧化应激,特别是氧化还原有效转变金属,可吸收或释放电子(如,

5 Fe²⁺/³⁺, Cu⁺/²⁺)可产生能引起损害的自由基(Jones 等人, “从铬酸盐和谷胱甘肽的反应中分离的铬(V)中间体产生羟基的证据”, *Biochim. Biophys. Acta* 286: 652-655 (1991); Li, Y.和 Trush, M.A. 1993. “铜氧化氢醌产生的 DNA 损害: 对 Cu(II)/Cu(I)氧化还原循环和活性氧产生的作用”, *Carcinogenes* 7: 1303—1311 (1993)。这些金属成为有毒性的另一个原因是因为它们替换了酶中的其他重要金属, 或破坏了这些分子的功能。一些金属离子(如, Hg⁺和 Cu⁺)对硫醇基是非常有反应性的, 可干预蛋白结构和功能。如在此所注意的, 患 2 型糖尿病或葡萄糖机制异常的人特别地处于心衰先兆, 心衰本身和动脉粥样硬化其他疾病的合并危险中。已有报道在西方国家, 超过 50% 的 2 型糖尿病患者死于心血管疾病的影响。见 Stamler 等人, *Diabetes Care* 16:434-44

10 (1993)。也已经有报道由葡萄糖耐量试验所确定的即使较低程度的葡萄糖不耐受(葡萄糖耐量异常, 或“IGT”)仍带来了猝死的危险增加。见, Balkau 等人, *Lancet* 354:1968-9 (1999)。很长时间, 假设这反映了在糖尿病患者中冠状动脉粥样硬化和心肌梗塞的发生率增加。但, 证据正在显示在缺少动脉粥样硬化性冠状动脉疾病的情况下糖尿病可引起特异性心衰或心肌病。

15 通常可通过测量射血分数来评价心功能。每次搏动正常的左室至少射出其舒张末期容量的 50%。有心脏收缩性心衰的患者通常其左室射血分数小于 30%, 舒张末期容量代偿性的增加。对没有明显的充血性心衰的糖尿病患者的血液动力学研究已经观察到正常的左室收缩功能(LV 射血分数), 但舒张功能异常, 表明左室舒张或充盈异常。见 Regan 等人, *J. Clin. Invest.* 60:885-99 (1977)。在一个最近的研究中, 60%

20 没有临床可查心脏病的 2 型糖尿病男性据报道如超声心动图所测定的那样具有舒张期充盈异常。见, Poirier 等人, *Diabetes Care* 24:5-10 (2001)。例如可通过无创性检测来进行诊断。在没有二尖瓣狭窄的情况下, 由多普勒超声心动图所测定的二尖瓣舒张期血流是左室充盈的直接检测指标。最普遍使用的测量指标是 A/E 比例。正常舒张早期的充盈是迅速的, 其特征是 E-波速度在 1m/sec 左右。舒张晚期的充盈由于心房收缩仅有很小的分量, A 波速度可能在 0.5m/sec 左右。这得到正常的 A/E 比例

25 大约为 0.5。具有舒张期功能障碍, 舒张早期的充盈受影响, 心室收缩增加以代偿, A/E 比例增加至超过 2.0。

治疗糖尿病性心肌病是很困难的, 选择有限。血糖水平的密切控制可预防或逆转心肌衰竭, 尽管这仅在心室衰竭的早期可成为现实。血管紧张素转换酶抑制剂如

30 卡托普利可改善心衰的存活率, 特别是在具有严重舒张期心衰和最低射血分数的患者。但有很多治疗糖尿病性心肌病的治疗方法不被推荐。例如, 影响肌肉收缩力的药物被设计用来改善衰竭心脏的收缩能力。具有纯粹舒张期功能障碍的心脏收缩也是正常的, 相信影响肌肉收缩力的药物会增加心律失常的危险性。另外, 似乎使用减少后负荷和心室排空的血管舒张药物也没有合理的理由, 因为射血分数和舒张末期容量也是正常的。后负荷的减少可因为产生了一定程度的流出阻塞而使心功能更加恶化。

35

利尿剂是心衰治疗的主要药物，可控制盐类和水分的潴留，并减少充盈压。但，在舒张期功能障碍是禁忌的，受累的心脏泵功能依赖于高的充盈压以维持心输出量。静脉扩张药如硝酸盐类，可通过减少前负荷和充盈压而非常有效地处理收缩期心衰，被认为很难被有舒张期心衰的患者耐受。射血分数和收缩末期容量经常是正常的，前负荷的任何减少都可导致心输出量的显著下降。最后，也涉及在心衰中使用 β -阻

5 制剂的问题，因为他们能够潜在的损害泵功能。也涉及关于 β -阻滞剂对糖尿病患者的应用，该患者由于严重高血糖症的危险性增加用磺脲药和胰岛素进行治疗。因此，应该理解的是解释糖尿病长期并发症，包括心脏病和症状的机制，是复杂的，已长期被研究，但没有发现清楚的，安全的和有效的治疗干预措施。需要在此所描述的

10 这种治疗方法。

本发明

心脏是所有机体器官中最易受过早老化和自由基氧化应激的器官。

在我们的研究中(使用链脲酶素-糖尿病(STZ)大鼠模型)，我们发现了在严重糖尿病大鼠中心衰疾病和大血管疾病的高发频率。

15

我们相信，但不限于用特异地铜螯合剂和可减少铜值(特别是当它们不能去除其他过渡金属(如：铁，锌和锰)和成为必须金属)的其他药剂(如：可预防吸收铜的锌)来治疗，将有益于更多数量和范围的人群，倘若排除了其自身的铜缺乏状态。我们不限定的假设是不与细胞内在性结合的铜值(特别是不在细胞内与细胞结合的铜(II)不能与可获得的还原物质一起介导损害性自由基的产生，这些自由基在组织损伤和

20 损害介导这些组织修复的干细胞中有一定作用。

通过实例，关系到正常心肌组织，作为自由基存在的结果造成的损害，我们相信可引起心衰和/或心肌病，和我们相信这些自由基持续的压力可损害干细胞，这些干细胞可介导心肌修复回其正常的健康状态。关于这些损害和修复的异常，我们建议将减少现有的游离铜值作为一种适当的预防和/或治疗方式。

25

就哺乳动物中的铜值可利用度(包括人)而言，可鉴别出那些其铜水平“升高”超过这些哺乳动物普通群体之外的那些哺乳动物患者。在此提到的与铜值存在有关的“升高”将包括当如下面 Merck & Co Inc 所述的测定时，血清游离铜在至少 10 mcg/dL 的人。

游离铜的测定[等于总血浆铜减去血浆铜蓝蛋白结合的铜]可采用为 SYPRINE®(三乙撑四胺盐酸盐)胶囊的 Merck & Co Inc 数据表(www.Merck.com)中所公开的步骤进行，其中他们声称关于将三乙撑四胺盐酸盐用于 Wilson 病的过度铜值中：

30

“监测治疗的最可靠指数是测定血清中的游离铜，相当于定量测定的总铜和血浆铜蓝蛋白结合的铜之间的差异。充分治疗的患者通常血清中的游离铜少于 10 mcg/dL。

35

用 24 小时尿铜分析定期地监测治疗(即, 每 6-12 个月)。必须在无铜的玻璃器皿中收集尿。由于低铜饮食应该可将铜的吸收保持在每天 1 毫克以下, 如果在 24 小时收集的尿中存在的铜为 0.5 至 1.0 毫克, 患者可能处于所需的铜负平衡状态”

5 二氮杂辛烷-1,8-二胺; 1,4,7,10-四氮杂癸烷; 三亚乙基四胺; TETA; TECZA 和三烯。

我们相信, 但不限于, 现有游离铜的减少可对预防此后举例类型的大血管, 微血管和/或有毒/代谢疾病和在组织修复过程中产生作用。这不依赖于患者的葡萄糖代谢。

10 我们也相信, 但不限于, 氧化还原活性的过渡金属离子在心血管的积累可对糖尿病中许多不良转归起作用。在生理条件下, 对靶器官的损伤可被远处干细胞所感受, 它们可迁移至损伤部位, 经历交替的干细胞分化; 这些事件可促进结构和功能的修复。但, 糖尿病患者心脏或血管组织中氧化还原活性过渡金属, 特别是铜的累积伴随着正常组织再生的抑制, 这种再生所有受干细胞迁移的影响。铜的组织水平的升高抑制这些未分化细胞的正常生物学行为。在糖尿病或葡萄糖耐量异常时发生的病症可引起正常组织反应的异常, 其中正常干细胞反应受抑制, 这些病症包括

15 以下:

1. 心衰
2. 急性心肌梗塞
3. 创伤愈合和溃疡
- 20 4. 由感染引起的组织损伤
5. 糖尿病性肾损害
6. 心脏再生损害
7. 血管再生损害
8. 附属器官再生损害

25 降低糖尿病(即, IGT 或 2 型糖尿病)患者铜值的治疗有可能证明有效的疾病至少包括以下几种:

1. 糖尿病时的心衰

30 在心脏移植的几天内可发生明显的心脏组织再生。可能的机制是干细胞从心脏外部位迁移至心脏, 随后这些细胞分化为多种特定的心脏细胞, 包括心肌, 内皮和冠状动脉血管细胞。我们相信, 但不限于, 心脏组织中的铜累积可能严重地损害了它们的再生反应: 因此在治疗糖尿病心衰时采用过渡金属铜螯合剂进行急性静脉治疗有作用。

2. 糖尿病时的心肌梗塞

35 心肌梗塞伴随着心室心肌细胞的增殖。当在糖尿病时发生 MI, 氧化还原活性过渡金属的组织水平升高抑制了正常的干细胞反应, 导致损伤组织的结构和功能修复异常。据报道在心脏移植后 4 天, 心脏中就有 20% 的细胞是由从心室外部位迁移来

的干细胞所替代的⁴。这些观察使我们相信在糖尿病时治疗 AMI 可通过急性(如果需要,胃肠外给予)以及随后长期给予螯合剂而改善。我们认为糖尿病中心功能受损的机制可能是积累的过渡金属对组织动力学的毒性效应,依次通过抑制正常的干细胞反应导致组织再生受损,这种干细胞反应通过从远隔部位迁移至损伤组织介导生理性组织再生。

3. 糖尿病时的创伤愈合和溃疡

正常组织修复的过程需要动员干细胞的介入,例如,它可影响血管多层的修复。我们相信,但不限于在血管组织中过渡金属(特别是铜)的积累可引起糖尿病的组织行为特征异常,包括在手术或创伤后创伤修复的异常,形成溃疡的过度倾向性和已

10 形成溃疡的不良愈合。我们相信但不限于,在进行手术前或在创伤性组织损伤时,用铜螯合剂治疗糖尿病可能是有益的。我们进一步相信如果在手术前将过多的过渡金属从血管中去除,糖尿病时的手术获得较好的预后是可能的。在实际手术之前可用急性的方法(采用胃肠外治疗)或更长期的方法(采用口服治疗)来达到这种目的。

4. 感染引起的和在糖尿病时或葡萄糖耐量异常时发生的软组织损伤

15 我们相信,但不限于,在感染后正常组织修复的过程需要动员干细胞的介入,干细胞可迁移至组织损伤的部位来影响组织再生和修复,例如,修复血管多层。因此可以得出结论这种组织损伤的修复可被抑制的干细胞反应而损害,如组织,例如血管壁中氧化还原活性过渡金属(特别是铜)的增强引起的损害。

5. 糖尿病时发生的肾损害

20 我们相信,但不限于,糖尿病肾中干细胞反应的损害可引起糖尿病肾病和肾衰。我们相信,也不限于,应用一种铜螯合剂治疗有肾衰的糖尿病可通过使干细胞迁移和正常分化恢复正常的组织愈合而改善器官的再生。

我们再次相信,但不限于,细胞外铜值的减少即使在非糖尿病哺乳动物中,和没有葡萄糖途径异常的哺乳动物中也是有益处的,因为这样较低的水平可引起铜介

25 导的组织损伤减少或通过恢复正常组织干细胞反应而改善组织修复或两者都可引起。

6. 心脏再生损害

我们相信,但不限于,在心脏组织中铜的累积可抑制来自心脏以外组织的干细胞迁移所引起的正常组织再生,随后这些细胞分化成多种特定的心脏细胞,包括心

30 肌,内皮和冠状动脉血管细胞。我们再次相信,但不限于,细胞外铜值的减少将减少或消除由正常干细胞反应抑制引起的组织再生受损。

7. 血管再生损害

血管再生的过程需要动员的干细胞的介入,它可影响血管多层的修复。我们相信,但不限于过渡金属(特别是铜)在血管组织中的累积可通过抑制未分化干细胞的

35 迁移和正常组织的干细胞反应而引起组织再生的受损。我们再次进一步相信,但不限于,细胞外铜值的减少是有益处的,因为这样较低的水平将通过恢复正常的组织

干细胞反应使血管再生的异常减少。

8. 附属器官再生损害

我们相信，但不限于，过渡金属(特别是铜)在心血管树附属器官组织中(如，视网膜，肾，神经等)的积累可通过抑制干细胞的迁移，因此抑制这些干细胞的正常生理行为而引起组织再生的损害。可以得出结论的是细胞外铜值的减少可通过恢复正常的组织干细胞反应有益于减少或消除组织再生的损害。

发明内容

心脏是所有机体器官中最易受过早衰老和自由基氧化应激的器官。已经证实了在严重糖尿病动物中心衰心肌病和大血管疾病的高发频率，也已经如在此所描述和声明的那样发现了用可减少铜值的特殊铜螯合剂和其他药剂(即，可防止吸收铜的锌)的治疗，并不能优选地引起其他过渡金属(如，铁，锌和锰)的耗竭，或必需金属可使显著数量和范围的人群受益。优选地，在治疗之前确定不存在铜缺乏状态或不合乎需要的低铜值。不要用任何特殊的理论或机制来限制，相信铜值，特别是，例如铜(II)，在细胞内不内在结合，可用来与可现有的还原物质一起介导产生损伤性的自由基，在组织损伤和介导这种组织修复的干细胞损伤中都有一定作用。

通过实例，关于正常的心肌组织，相信自由基存在的造成的损害可在糖尿病和非糖尿病中引起心衰和/或心肌病。这种自由基持续的作用也被相信可损害干细胞介导心肌修复为其正常健康状态。就这种损害和修复的受损而言，本发明提供了根据需要降低现有的游离铜值作为一种适当的预防和/或治疗方法。

根据在哺乳动物(包括人类)中的现有铜值，可鉴别那些其铜水平“升高”超出这些哺乳动物普通群体水平的哺乳动物患者。提到在此与铜值存在有关的“升高”，当如在此所描述的那样测定时，将包括血清游离铜至少为大约 10 mcg/dL 的人。游离铜的测定相当于总血浆铜减去血浆铜蓝蛋白结合的铜，可采用多种方法来进行。一种优选的方法在 SYPRINE®(三乙撑四胺盐酸盐)胶囊，一种用于治疗 Wilson 病的化合物，的 Merck & Co Inc 数据表(www.Merck.com)中公开，其中采用 24 小时尿铜分析来测定血清中的游离铜，通过计算定量测定的总铜和血浆铜蓝蛋白铜之间的差值。三乙撑四胺的可选名称包括 N,N'-双(2-氨基乙基)-1,2-乙烷二-胺；三乙烯四胺；1,8-二氨基-3,6-二氮杂辛烷；3,6-二氮杂辛烷-1,8-二胺；1,4,7,10-四氮杂癸烷；三亚甲基四胺；TETA；TECZA 和三烯。

不需要用任何特殊的理论或机制来限制，相信现有游离铜的减少有助于预防此后要举例的大血管，微血管和/或有毒性的/代谢性疾病类型，以及有助于组织修复过程。这不依赖于患者的葡萄糖代谢，因此可应用于糖尿病和类似的非糖尿病，以及那些具有或不具有葡萄糖水平或代谢受损或异常的患者。

也相信，再次不被任何特殊的理论或机制限制，氧化还原活性过渡金属的心血管积累是糖尿病中许多不良转归和长期并发症的原因。在生理条件下，对靶器官的

损伤可被远处的干细胞察觉, 它可迁移至损伤部位, 然后经历可选择的干细胞分化。这些事件可促进结构性和功能性的修复。但, 氧化还原活性过渡金属, 特别是铜在糖尿病患者心脏或血管的积累伴随着正常组织再生的抑制, 这种再生受干细胞的迁移影响。铜组织水平的升高可抑制这些未分化细胞的正常生物学行为。在糖尿病或葡萄糖耐量异常的情况下发生的病症, 例如, 其中正常干细胞反应的抑制可引起正常组织反应的异常, 包括心衰, 急性心肌梗塞, 创伤愈合和溃疡, 由感染引起的组织损伤, 糖尿病性肾损害, 心脏再生损害, 血管再生损害和附属器官再生损害。其中在糖尿病患者(如, 患有 IGT 或 2 型糖尿病)中降低铜值的治疗证明有效的病症包括, 例如糖尿病时的心衰, 糖尿病时的心肌梗塞, 糖尿病时的创伤愈合和溃疡, 感染引起的软组织损害和糖尿病时或葡萄糖耐量异常时发生的软组织损害, 糖尿病时发生的肾损害, 心脏再生损害, 血管再生损害和附属器官再生损害。

关于糖尿病时的心衰, 在心脏移植几天内可发生显著的的心脏组织再生。一种可能的机制是心脏外部位的干细胞迁移至心脏, 随后这些细胞分化成为多种特定的心脏细胞, 包括心肌, 内皮和冠状动脉血管细胞。不希望被任何特殊的理论或机制限制, 相信在心脏组织中的铜积累可能严重地损害这些再生反应, 这对于在糖尿病心衰治疗中采用过渡金属铜螯合剂的治疗, 包括急性静脉治疗有一定的理论意义。

例如, 就糖尿病时的心肌梗塞(MI)而言, 要理解的是 MI 伴随着心室心肌细胞的增殖。当 MI 发生在糖尿病时, 氧化还原活性过渡金属的组织水平升高可抑制正常的干细胞反应, 引起损伤组织结构性和功能性修复的受损。据报道, 在心脏移植后 4 天, 从心室外部位迁移的干细胞就可替换心脏中达到 20%的细胞。相信糖尿病时 AMI 的治疗, 例如可通过急性(如果需要, 胃肠外给予)以及随后长期给予螯合剂而改善。不希望被任何特殊的理论或机制限制, 也相信糖尿病时心脏功能的损害的特征, 至少部分是过渡金属积累对组织动力学的毒性效应, 依次通过抑制正常的干细胞反应导致组织再生受损, 这种干细胞反应通过从远隔部位迁移至损伤组织介导生理性组织再生。

关于在糖尿病时的创伤愈合和溃疡, 正常组织修复的过程需要动员干细胞的介入, 例如它可影响血管多层的修复。不希望被任何特殊的理论或机制限制, 相信过渡金属(特别是铜)在血管组织中的积累可引起异常的糖尿病组织行为特征, 例如包括在手术或创伤后的创伤修复受损, 形成溃疡的过度倾向性和已形成溃疡的不良愈合。不希望被任何特殊的理论或机制限制, 相信在进行手术前或例如在创伤性组织损害的情况下, 用铜螯合剂治疗糖尿病将是有益的。进一步相信如果在手术前, 例如血管内的过多过渡金属被去除或减少, 糖尿病时的手术将有更好的预后是可能的。在实际手术之前可用急性的方法(例如采用胃肠外治疗)或更长期的方法(例如采用口服治疗)来达到这种目的。

例如, 关于感染引起的和在糖尿病时或葡萄糖耐量异常时发生的软组织损伤, 不希望被任何特殊的理论或机制限制, 相信在感染后正常组织修复的过程需要动员

干细胞的介入, 这些干细胞迁移至组织损伤的部位来影响组织的再生和修复, 例如血管多层的修复, 这些组织损伤的修复可被抑制的干细胞反应而损害, 如血管壁中氧化还原活性过渡金属(特别是铜)的增强引起的损害。用铜螯合剂或其他可去除铜的药剂治疗将改善这些情况。

5 关于糖尿病时的肾损害, 再次不希望受任何特殊的理论或机制的限制, 相信糖尿病肾中损害的干细胞反应可引起糖尿病肾病和肾衰。通过给予铜螯合剂治疗有肾衰的糖尿病将通过允许干细胞迁移和正常分化恢复正常组织愈合而改善器官再生。而且, 细胞外铜值的减少也被认为在非糖尿病哺乳动物, 即使在没有葡萄糖途径异常的哺乳动物是有益的, 因为这种较低的水平可引起铜介导的组织损伤减少或通过

10 恢复正常组织干细胞反应而改善组织修复或两者都可引起。

关于心脏再生损害, 再次不希望被任何特殊的理论或机制限制, 相信在心脏组织中的铜累积可抑制正常的组织再生, 这种再生是受下面的过程影响的, 即干细胞从心脏外部位迁移至心脏, 随后这种细胞分化为多种特定的心脏细胞, 包括心肌, 内皮和冠状动脉血管细胞。细胞外铜值的减少将减少或消除由正常干细胞反应抑制

15 所引起的组织再生的损害。

关于血管再生的损害, 血管再生的过程相信需要动员干细胞的介入, 可影响血管多层的修复。不希望被任何特殊的理论或机制限制, 相信过渡金属(特别是铜)在血管组织中的积累可通过抑制未分化干细胞的迁移和正常的组织干细胞反应引起组织再生的损害。细胞外铜值的减少是有益的, 因为这种较低的水平可通过恢复正常的

20 的组织干细胞反应来减少血管再生的损害。

对于附属器官的再生损害, 相信, 不希望受任何特殊的理论或机制限制, 过渡金属(特别是铜)在心血管树的附属器官组织(如, 视网膜, 肾, 神经等)中的累积可通过抑制干细胞的迁移, 因而抑制这些干细胞的正常生理行为而引起组织再生的损害。细胞外铜值的减少可有利于通过恢复正常的组织干细胞反应而减少或消除组织再生的

25 的损害。

本发明的一个目的是提供可缓解, 预防或治疗心血管树(包括心脏)和附属器官(如; 视网膜, 肾, 神经等)任何一种或多种可被升高的非细胞内游离铜值水平加剧的疾病状态的治疗方法和相关方法, 应用和药学组合物。心血管树和附属器官的疾病包括, 但不限于下面的任何一种或多种:

30 心肌疾病(心肌病或心肌炎)如特发性心肌病、代谢性心肌病包括糖尿病性心肌病、酒精性心肌病、药物诱导心肌病、缺血性心肌、和高血压性心肌病; 大血管的动脉粥样硬化病(大血管病)如主动脉、冠状动脉、颈动脉、脑血管动脉、肾动脉、髂动脉、股动脉和腘动脉;

毒性, 药物诱导的和代谢性(包括高血压性和/或糖尿病性)小血管病(微血管病),

35 如视网膜小动脉、肾小球小动脉、神经滋养血管、心脏小动脉、和相关的肾、心脏和中枢和周围神经系统的毛细血管床; 和大血管如主动脉、冠状动脉、颈动脉、

脑血管动脉、肾动脉、髂动脉、股动脉和腘动脉动脉粥样硬化病变的斑块破裂。

本发明也涉及任何这种疾病及其治疗，无论(如果没有特别说明)哺乳动物患者具有任何糖尿病和/或葡萄糖异常状态。

因此包含在可被本发明方法有效靶向的患者疾病的种类中的疾病是，例如在下面的不完全列表中的任何一种或多种：糖尿病性心肌病，糖尿病性急性冠状动脉综合征(如：心肌梗塞-MI)，糖尿病高血压性心肌病，与葡萄糖耐量异常(IGT)有关的急性冠状动脉综合征，与禁食葡萄糖异常(IFG)有关的急性冠状动脉综合征，与IGT有关的高血压性心肌病，与IFG有关的高血压性心肌病，与IGT有关的缺血性心肌病，与IFG有关的缺血性心肌病，与冠状动脉心脏病(CHD)有关的缺血性心肌病，不与葡萄糖代谢的任何异常有关的急性冠状动脉综合征，不与葡萄糖代谢的任何异常有关的高血压性心肌病，不与葡萄糖代谢的任何异常有关的缺血性心肌病(无论是否这种缺血性心肌病与冠状动脉心脏病有关)，和血管树的任何一种或多种疾病，包括，例如，主动脉，颈动脉，脑血管动脉，冠状动脉，肾动脉，视网膜动脉，神经滋养血管，髂动脉，股动脉，腘动脉，小动脉树和毛细血管床的疾病状态。

不希望被任何特殊的理论或机制所限制，相信在前面所述的糖尿病状态或葡萄糖代谢异常状态中，在动脉树末梢区域中的糖尿病并发症可被本发明的治疗方法调节，同时可改善更多的近侧病症。

对于非糖尿病患者，整个身体铜值含量升高引起的并发症，近端多于末梢。但这种损害的干预和/或修复是可能的(包括，至主动脉，颈动脉，脑血管，冠状动脉，肾动脉，视网膜动脉，神经滋养血管，髂动脉，股动脉，腘动脉，小动脉树和毛细血管床)，相信可被本发明的治疗方法改善。

如在此所使用的术语“糖尿病性”是指患2型糖尿病或葡萄糖耐量异常(IGT)的人或其他哺乳动物，或任何其他形式的糖尿病或葡萄糖代谢异常，其中去除过多的或不需要的铜是有治疗价值的。

如在此所使用的术语“心肌病”和其使用的上下文环境允许包含心肌病和相关的心衰。

如在此所使用的术语“施加给患者”或“应用”包含保证活性化合物或代谢产物在体内存在的任何主动或被动方式，无论涉及给予哺乳动物，患者或人一次或多次用药。优选地给药方式是口服。但，也可考虑所有其他的给药方式(特别是胃肠外，例如，静脉，肌肉内等)。

如在此所使用的，“治疗有效量”是指一种药剂的预定量，将要或计算可达到所需的反应，例如一种治疗性或预防性或改善性的反应，例如一种组织，系统，动物或人类的生物学或医学反应，这是研究者，兽医，医生或其他临床医生确定的。

“药学可接受的”的含义是，例如一种载体，稀释剂或赋形剂，可与剂型的其他成分相容，通常可安全地用于接受者，或在应用中不引起不希望的身体副作用。

如在此所使用的，“哺乳动物”有其通常的含义，包括灵长类(如，人类和非人

灵长类), 实验动物(如: 啮齿类如小鼠和大鼠), 家畜(如牛, 猪, 羊和马), 和家畜(如狗和猫)。

术语“升高”具有以前所提到的含义, 同时“正常”例如, 就接受前面提到的 Merck & Co Inc.已经公开的测定的人类患者铜值状态而言, 是指血清游离铜少于 10 5 mcg/dL 的患者。

如在此所使用的“铜缺乏”是指铜缺乏的诊断通常是在很低的血清铜水平(<65 $\mu\text{g}/\text{dL}$)和很低的血浆铜蓝蛋白水平(<18 mg/dL)基础上获得的。在妊娠或应激条件下血清铜水平是升高的, 因为血浆铜蓝蛋白是急性期反应物。如在此所使用的, 术语“处理”或“治疗”一种哺乳动物中的一种病症, 紊乱和/或疾病, 的含义是, 在这些情况下允许, (i) 预防病情或疾病, 也就是, 消除疾病的一种或多种临床症状; (ii) 抑制疾病的病情或疾病, 也就是, 消除一种或多种临床症状的发生或进展; 和/或(iii) 缓解病情或疾病, 也就是, 引起一种或多种临床症状的消失。

如在此所使用的“与...关联”简单说其含义是两种情况都存在, 不应解释为一种情况必定与另一种情况有因果关系的联系。

术语“螯合的铜”包括以其可螯合的任何形式, 包括不同的氧化态如铜(II)。因此术语“铜值”(例如, 基础元素, 盐类等)的含义是在体内可进行这种螯合作用的任何合适的形式(例如, 与细胞内组织相对应, 在细胞外组织中可能与细胞外表面和/或胶原结合)和/或能够被其他方式降低的形式(例如, 锌的应用)。

适合哺乳动物应用治疗一种或多种病情, 紊乱和/或疾病的一些优选的铜值螯合剂包括, 例如(其中适合为一种盐类如, 例如合适的避免低血钙症的钙钠盐): 三乙撑四胺(三烯), 乙二胺四乙酸(EDTA), 二乙撑三胺四乙酸(DPTA), 2,2,2 氯化四氢四胺(TETA), 2,3,2 氯化四氢四胺, D-青霉胺(DPA), 1,4,8,11 四氮杂环十四烷(Cyclam), 5,7,7',12,14,14'六甲基-1,4,8,11 四氮杂环十四烷 (Cyclam S), 2,3 二巯基丙烷-磺酸钠(DMPS), N-乙酰基青霉胺(NAPA), D-青霉胺(PA), 去铁乙胺(Desferroxamine), 2,3-二巯基丙醇(BAL), 2,3-二巯基丁二酸(DMSA), 三硫代钼酸盐, 3-7-二氮杂壬烷-1,9-二胺(BE 6184), 1,4,8,11-四氮杂环十四烷-1,4,8,11-四乙酸, 1,4,8,11-四氮杂二环[6.6.2]十六烷, 4,1 1-双(N,N-二乙基-氨基)-1,4,8,11-四氮杂二环[6.6.2]十六烷, 4,11-双(氨基)-1,4,8,11-四氮杂二环[6.6.2]十六烷, 褪黑激素, 氯碘羟喹, 卡普瑞脘(cuprizone), N,N'-二乙基二硫代氨基甲酸盐, 醋酸锌, 锌盐, 浴铜灵二磺酸, 浴铜灵二磺酸盐, 30 新亚铜试剂(2,9-二甲基-1, 10-邻二氮杂菲), 四硫代钼酸盐, 三甲氧苄嗪, 三乙撑四胺四氯化氯, 2,3,2-四胺, 吡啶-2,6-双(硫代羧酸)或吡咯烷二硫代氨基甲酸酯, 四乙撑五胺, N,N,N',N'-四(2-吡啶甲基) 乙撑二胺, 1,4,7,11-四氮十一烷四氯化氯, 四乙撑五胺五氯化氯, D-青霉胺(DPA), 1,10-邻二氮杂菲, 3,4-二羟基苯甲酸, 2,2'-二辛可宁酸(bicinchinonic acid), diamsar, 3, 4', 5, 三羟基芪(白藜芦醇), 巯基葡聚糖, 35 o-邻二氮杂菲, 二硫化四乙基秋兰姆(安塔布司), sar, 钙二乙撑三胺五醋酸三钠(上述的 cpd 盐), 和美噻唑(1-甲基-2-硫醇咪唑)。

在另一个方面，能够降低患者铜值含量的一种或多种药剂，如果是螯合剂，与铜值的亲和力优于其他痕量金属(如铁，锌和/或锰)的值。仍然在另一个方面，与铜值的优势亲和力是超过正常健康哺乳动物核素 100%至 500%的过量铜，可被控制到正常水平或接近这种正常的水平，而不引起这些其他的过渡金属如铁，锌和/或锰的耗竭或过多减少。特别不希望诱导这些过渡金属缺乏的疾病，例如，贫血。

5 可通过多种途径使用任何铜螯合剂(例如，三乙撑四胺)包括，胃肠外和口服。采用这种药剂，口服用药的速率大约为胃肠外应用的 10 倍。这将克服任何降低的生物利用度。采用三乙撑四胺，合适的胃肠外剂量男性为大约 120mg/天。

因此，在螯合剂是三乙撑四胺盐酸盐(不管赋形剂，稀释剂，载体和媒质)时，例如在人患者中的剂量，如果是胃肠外，要提供大约 120 mg/天，如果口服，大约 1200 mg/天。

可选择地(和/或另外)能够减少铜值的药剂是锌盐(优选为一种有香味道的水溶液)或三硫代钼酸盐(也是一种螯合剂)。适合的锌盐包括，例如：醋酸锌；氯化锌；硫酸锌；柠檬酸循环中间体锌盐，如柠檬酸盐，异柠檬酸盐，酮戊二酸盐，琥珀酸盐，苹果酸盐；和葡糖酸锌(zinc glucoante)。

15 采用在此提到的优选螯合剂，或其他螯合剂，和合适的锌盐包括那些在此提到的那些，或其他的锌盐，可能从整体上在机体中选择性降低铜值(并不达到其他过渡金属的枯竭状态)，即使相信在细胞组织内铜值有少量的降低。相信减少主要在细胞外(例如间质，在细胞的外部和/或在胶原上)。

20 在一个方面，本发明是一种改善哺乳动物患者损伤组织的组织修复的方法，其中损害的组织选自心肌，血管树和血管树的附属器官，所述的方法含有或包括下列步骤，使患者接触和/或给予患者可有效降低患者体内铜值含量足以改善组织修复的药剂。

在另一个方面，不患有 Wilson 病的患者仍然具有升高的铜值含量。仍在另一个方面，至少有一种铜值状态测定。

仍然在另一个方面，药剂是三乙撑四胺或三乙撑四胺型铜螯合剂。

三乙撑四胺盐酸盐可以多次用药或一次用药的方式给药，如果是胃肠外，可在人类患者中提供至少大约 120 mg/天，如果是口服，至少在人类患者中可提供大约 1200 mg/天。

30 在一个方面，患者是患 2 型糖尿病的人。

相信组织修复的改善来自恢复或基本上恢复正常的组织干细胞反应，尽管不希望被此机制所约束。

药剂可选自，例如三乙撑四胺(三烯)，乙二胺四乙酸(EDTA)，二乙撑三胺四乙酸(DPTA)，2,2,2 氯化四氢四胺(TETA)，2,3,2 氯化四氢四胺，D-青霉胺(DPA)，1,4,8,11 四氮杂环十四烷(Cyclam)，5,7,7',12,14,14'六甲基-1,4,8,11 四氮杂环十四烷 (Cyclam S)，2,3 二巯基丙烷-磺酸钠(DMPS)，N-乙酰基青霉胺(NAPA)，D-青霉胺(PA)，去

铁乙胺 (Desferroxamine), 2,3-二巯基丙醇(BAL), 2,3-二巯基丁二酸(DMSA), 三硫代钼酸盐, 3-7-二氮杂壬烷-1,9-二胺(BE 6184), 1,4,8,11-四氮杂环十四烷-1,4,8,11-四乙酸, 1,4,8,11-四氮杂二环[6.6.2]十六烷, 4,1-双(N,N-二乙基-氨基)-1,4,8,11-四氮杂二环[6.6.2]十六烷, 4,11-双(氨基)-1,4,8,11-四氮杂二环[6.6.2]十六烷, 褪黑激素, 氯碘羟喹, 卡普瑞脘 (cuprizone), N,N'-二乙基二硫代氨基甲酸盐, 醋酸锌, 锌盐, 浴铜灵二磺酸, 浴铜灵二磺酸盐, 新亚铜试剂(2,9-二甲基-1,10-邻二氮杂菲), 四硫代钼酸盐, 三甲氧苄嘧啶, 三乙撑四胺四氯化氮, 2,3,2-四胺, 吡啶-2,6-双(硫代羧酸)或吡咯烷二硫代氨基甲酸酯, 四乙撑五胺, N,N,N',N'-四(2-吡啶甲基)乙撑二胺, 1,4,7,11-四氮十一烷四氯化氮, 四乙撑五胺五氯化氮, D-青霉胺(DPA), 1,10-邻二氮杂菲, 3,4-二羟基苯甲酸, 2,2'-二辛可宁酸 (bicinquinonic acid), diamsar, 3, 4', 5, 三羟基芪(白藜芦醇), 巯基葡聚糖, o-邻二氮杂菲, 二硫化四乙基秋兰姆 (安塔布司), sar, 钙二乙撑三胺五醋酸三钠(上述的 cpd 盐), 和/或 美噻唑 (1-甲基-2-硫醇咪唑)。

药剂也可以是锌盐。

要被改善, 处理和/或预防的损害, 例如可以是来自下列任何之一或多种的损害:

15 (i) 心肌疾病(心肌病或心肌炎)如特发性心肌病、代谢性心肌病包括糖尿病性心肌病、酒精性心肌病、药物诱导心肌病、缺血性心肌、和高血压性心肌病; (ii)大血管的动脉粥样硬化病(大血管病)如主动脉、冠状动脉、颈动脉、脑血管动脉、肾动脉、髂动脉、股动脉和腓动脉; (iii) 毒性, 药物诱导的和代谢性(包括高血压性和/或糖尿病性)小血管病(微血管病), 如视网膜小动脉、肾小球小动脉、神经滋养血管、心脏小动脉、和相关的肾、心脏和中枢和周围神经系统的毛细血管床; (iv)大血管如主动脉、冠状动脉、颈动脉、脑血管动脉、肾动脉、髂动脉、股动脉和腓动脉动脉粥样硬化病变的斑块破裂。

患者可能患有和/或易于发生心衰。患者可能患有糖尿病或葡萄糖代谢异常, 例如 2 型糖尿病。

25 在另一个方面, 发明是应用一种化合物(a) 本身在体内或(b)在体内至少有一种代谢物, 它是(i)一种铜螯合剂或(ii)另外可减少现有的铜值, 以产生一种药学组合物或剂量单位, 能够减少哺乳动物内的铜水平, 因此可通过降低哺乳动物患者内的铜值引起损伤组织组织修复的改善, 损伤的组织选自心肌, 血管树和血管树的附属器官。

30 损害可是来自一种疾病, 例如选自下面的疾病: (i) 心肌疾病(心肌病或心肌炎)如特发性心肌病、代谢性心肌病包括糖尿病性心肌病、酒精性心肌病、药物诱导心肌病、缺血性心肌、和高血压性心肌病; (ii)大血管的动脉粥样硬化病(大血管病)如主动脉、冠状动脉、颈动脉、脑血管动脉、肾动脉、髂动脉、股动脉和腓动脉; (iii) 毒性, 药物诱导的和代谢性(包括高血压性和/或糖尿病性)小血管病(微血管病), 如视网膜小动脉、肾小球小动脉、神经滋养血管、心脏小动脉、和相关的肾、心脏和 35 中枢和周围神经系统的毛细血管床; (iv)大血管如主动脉、冠状动脉、颈动脉、脑

血管动脉、肾动脉、髂动脉、股动脉和腓动脉动脉粥样硬化病变的斑块破裂。

化合物可选自，例如三乙撑四胺(三烯)，乙二胺四乙酸(EDTA)，二乙撑三胺四乙酸(DPTA)，2,2,2 氯化四氢四胺(TETA)，2,3,2 氯化四氢四胺，D-青霉胺(DPA)，1,4,8,11 四氮杂环十四烷(Cyclam)，5,7,7',12,14,14'六甲基-1,4,8,11 四氮杂环十四烷
5 (Cyclam S)，2,3 二巯基丙烷-磺酸钠(DMPS)，N-乙酰基青霉胺(NAPA)，D-青霉胺(PA)，去铁乙胺(Desferroxamine)，2,3-二巯基丙醇(BAL)，2,3-二巯基丁二酸(DMSA)，三硫代钼酸盐，3-7-二氮杂壬烷-1,9-二胺(BE 6184)，1,4,8,11-四氮杂环十四烷-1,4,8,11-四乙酸，1,4,8,11-四氮杂二环[6.6.2]十六烷，4,1 1-双(N,N-二乙基-氨基)-1,4,8,11-四氮杂二环[6.6.2]十六烷，4,11-双(氨基)-1,4,8,11-四氮杂二环[6.6.2]十六烷，褪黑激素，
10 氯碘羟喹，卡普瑞腺(cuprizone)，N,N'-二乙基二硫代氨基甲酸盐，醋酸锌，锌盐，浴铜灵二磺酸，浴铜灵二磺酸盐，新亚铜试剂(2,9-二甲基-1,10-邻二氮杂菲)，四硫代钼酸盐，三甲氧苄嘧啶，三乙撑四胺四氯化氯，2,3,2-四胺，吡啶-2,6-双(硫代羧酸)或吡咯烷二硫代氨基甲酸酯，四乙撑五胺，N,N,N',N'-四(2-吡啶甲基)乙撑二胺，1,4,7,11-四氮十一烷四氯化氯，四乙撑五胺五氯化氯，D-青霉胺(DPA)，1,10-邻二氮杂菲，
15 3,4-二羟基苯甲酸，2,2'-二辛可宁酸(bicinchinonic acid)，diamsar，3, 4', 5, 三羟基芪(白藜芦醇)，巯基葡聚糖，o-邻二氮杂菲，二硫化四乙基秋兰姆(安塔布司)，sar，钙二乙撑三胺五醋酸三钠(上述的cpd盐)，和/或美噻唑(1-甲基-2-硫醇咪唑)。

优选化合物是三乙撑四胺或三乙撑四胺型铜螯合剂。优选的应用涉及药学可接受
20 的赋形剂，稀释剂和/或载体。

发明也是一种由应用生成的剂量单位。

在另一个方面，发明是治疗哺乳动物患者(如，人类)的一种方法，该患者的心肌，血管树和/或血管树的附属器官处于正在进展的，怀疑有或具有实际组织损害的危险中，该法含有或包括下列步骤，将哺乳动物患者接触和/或给予哺乳动物患者一
25 种或多种能够降低患者铜值含量，因此可更好的促使组织修复的药剂。在一个相关的方面，不患有Wilson病的患者仍有升高的铜值。优选的药剂是铜的螯合剂。也优选但不必需的是药剂与铜的亲合力比铁高。

仍在另一个方面，发明是治疗哺乳动物患者(例如，人类)的一种方法，该患者的心肌，血管树和/或血管树的附属器官处于正在进展的，怀疑有或具有实际组织疾病的危险中，该法含有或包括下列步骤，测定患者的铜状态，如果患者的铜状态升高，例如患者不患有Wilson病，使患者接触和/或给予患者一种或多种能够减少患者
30 铜值，因此可更好的促使组织修复的药剂。

方法涉及连续或周期性评价或监测患者的铜状态。

铜状态的测定可根据细胞外的铜值。

降低患者铜值含量可以是来自，但不是必需地，患2型糖尿病或其他疾病，障碍或病情的人类患者较非患者典型铜值的升高状态。
35

方法可包括诊断和/或评价或监测葡萄糖水平的步骤。

方法可包括诊断和/或评价或监测餐后血糖的步骤。

方法包括诊断和/或评价或监测肾功能的步骤。

方法包括诊断和/或评价或监测高血压的步骤。

5 方法包括诊断和/或评价或监测胰岛素抵抗的步骤。

方法包括诊断和/或评价或监测葡萄糖耐量异常的步骤。

方法包括诊断和/或评价或监测肥胖的步骤。

方法包括诊断酒精中毒的步骤。

方法包括诊断和/或评价或监测患者葡萄糖途径异常的步骤。

10 在一个方面，异常是2型糖尿病，IGT和/或IFG。

方法也包括诊断和/或评价或监测患者大血管，微血管，毒性和/或代谢性损害的步骤。

要被预防，治疗或改善的损害可来自以下或与以下相关的一种或多种损害：(i) 心肌疾病(心肌病或心肌炎)如特发性心肌病、代谢性心肌病包括糖尿病性心肌病、
15 酒精性心肌病、药物诱导心肌病、缺血性心肌、和高血压性心肌病；(ii)大血管的动脉粥样硬化病(大血管病)如主动脉、冠状动脉、颈动脉、脑血管动脉、肾动脉、髂动脉、股动脉和腘动脉；(iii) 毒性，药物诱导的和代谢性(包括高血压性和/或糖尿病性)小血管病(微血管病)，如视网膜小动脉、肾小球小动脉、神经滋养血管、心脏小动脉、和相关的肾、心脏和中枢和周围神经系统的毛细血管床；(iv)大血管如主
20 动脉、冠状动脉、颈动脉、脑血管动脉、肾动脉、髂动脉、股动脉和腘动脉动脉粥样硬化病变的斑块破裂。

在另一个方面，本发明提供了治疗哺乳动物患者(如，人类)的一种方法，该患者的心肌，血管树和/或依赖其的器官处于正在进展的，怀疑有或具有实际组织损害的危险中，该法含有或包括下列步骤，将哺乳动物患者接触和/或给予患者一种或多
25 种能够降低患者铜值含量的药剂。

在另一个方面，本发明提供了治疗哺乳动物患者(如，人类)的一种方法，该患者的心肌，血管树和/或血管树的附属器官处于正在进展的，怀疑有或具有实际组织损害的危险中，该法含有或包括下列步骤，测定患者的铜状态，如果患者的铜状态不期望地升高或高于正常患者的水平，例如患者不患有 Wilson 病，使患者接触和/
30 或给予患者一种或多种能够减少患者铜值含量的药剂。该法也涉及周期性或连续性的评价或监测患者的铜状态。测定铜状态期望可根据细胞外的铜值。

优选接触或应用是采用在此所提到的规定的，优选的和/或举例例证的一种或多种药剂。

在另一个方面，本发明是应用一种化合物(a) 本身在体内或(b)在体内至少有一种代谢物，它是一种铜螯合剂或另外可减少现有的铜值，以产生一种药组合物，
35 能够减少哺乳动物内的铜水平(例如，分别在心脏组织中和/或大血管壁中)，以治疗

(例如通过修复这些组织)在此所提到的任何一种或多种疾病(例如, 不是 Wilson 病)。

在另一个方面, 本发明是改善哺乳动物患者组织修复的一种方法, 该患者不患有 Wilson 病, 然而其机体铜值含量是升高的, 所述的方法由含有或包括下列步骤, 使患者接触和/或给予患者一种或多种能够有效降低患者体内铜值含量, 足以通过恢
5 复或实际上恢复正常组织干细胞反应而改善组织修复的药剂。在另一个方面, 至少有一种铜值状态测定。

在另一个方面, 本发明提供了治疗哺乳动物(如, 人类)的一种方法, 该动物处于正在进展的, 怀疑有或具有实际的糖尿病心肌病的危险中, 该法含有或包括下列步骤, 使哺乳动物患者接触和/或给予患者一种或多种能够降低患者铜值含量的药
10 剂。

这种药剂含有或包括铜螯合剂和/或包含能够降低患者铜值含量(例如, 锌(例如, 一种合适的盐类如葡糖酸盐)或易于预防患者吸收铜的三硫代钼酸盐(也是一种铜螯合剂))的化合物或组合物。

方法包括在使患者与药剂接触或应用药剂之前, 同时和/或随后, 评价或监测患者铜值的一个或多个附加步骤。
15

方法也包括, 例如诊断患者为糖尿病。

在另一个方面, 本发明提供了治疗哺乳动物(如, 人类)的一种方法, 该动物处于正在进展的, 怀疑有或具有实际的糖尿病急性心肌梗塞的危险中, 该法含有或包括下列步骤, 使哺乳动物患者接触和/或给予哺乳动物患者一种或多种能够降低患者
20 铜值含量的药剂。这种药剂含有或包括铜螯合剂和/或包含能够降低患者铜值含量(例如, 锌(例如, 一种合适的盐类如葡糖酸盐)或易于预防患者吸收铜的三硫代钼酸盐(也是一种铜螯合剂))的化合物或组合物。

方法包括在使患者与药剂接触或应用药剂之前, 同时和/或随后, 评价或监测患者铜值的一个或多个附加步骤。方法也包括, 例如诊断患者为糖尿病。

25 仍然在另一个方面, 本发明提供了治疗哺乳动物(如, 人类)的一种方法, 该动物处于正在进展的, 怀疑有或具有实际的糖尿病高血压性心肌病的危险中, 该法含有或包括下列步骤, 使哺乳动物患者接触和/或给予患者一种或多种能够降低患者铜值含量的药剂。这种药剂含有或包括铜螯合剂和/或包含能够降低患者铜值含量(例如, 锌(例如, 一种合适的盐类如葡糖酸盐形式)或易于预防患者吸收铜的三硫代钼
30 酸盐(也是一种铜螯合剂))的化合物或组合物。方法包括在使患者与药剂接触或应用药剂之前, 同时和/或随后, 评价或监测患者铜值的一个或多个附加步骤。方法也包括, 例如诊断患者为糖尿病。

35 仍然在另一个方面, 本发明提供了治疗哺乳动物(如, 人类)的一种方法, 该动物处于正在进展的, 怀疑有或具有实际的与葡萄糖耐量异常(IGT)有关的急性心肌梗塞(AMI)的危险中, 该法含有或包括下列步骤, 使哺乳动物患者接触和/或给予患者一种或多种能够降低患者铜值含量的药剂。这种药剂含有或包括铜螯合剂和/或包含

能够降低患者铜值含量(例如, 锌(例如, 一种合适的盐类如葡糖酸盐形式)或易于预防患者吸收铜的三硫代钼酸盐(也是一种铜螯合剂))的化合物或组合物。方法包括在使患者与药剂接触或应用药剂之前, 同时和/或随后, 评价或监测患者铜值的一个或多个附加步骤。方法也包括, 例如诊断患者为糖尿病。该法也包括诊断患者为心肌梗塞和/或葡萄糖耐量异常的一个或两个附加步骤。

在另一个方面, 本发明提供了治疗哺乳动物(如, 人类)的一种方法, 该动物处于正在进展的, 怀疑有或具有实际的与禁食葡萄糖异常(IFG)有关的急性心肌梗塞的危险中, 该法含有或包括下列步骤, 使哺乳动物患者接触和/或给予哺乳动物患者一种或多种能够降低患者铜值含量的药剂。这种药剂含有或包括铜螯合剂和/或包含能够降低患者铜值含量(例如, 锌(例如, 一种合适的盐类如葡糖酸盐形式)或易于预防患者吸收铜的三硫代钼酸盐(也是一种铜螯合剂))的化合物或组合物。方法包括在使患者与药剂接触或应用药剂之前, 同时和/或随后, 评价或监测患者铜值的一个或多个附加步骤。方法也包括, 例如诊断患者为糖尿病。该法也包括诊断心肌梗塞和/或禁食葡萄糖异常患者的一个或两个附加步骤。

仍然在另一个方面, 本发明提供了治疗哺乳动物(如, 人类)的一种方法, 该动物处于正在进展的, 怀疑有或具有实际的与 IGT 有关的高血压性心肌病的危险中, 该法含有或包括下列步骤, 使哺乳动物患者接触和/或给予哺乳动物患者一种或多种能够降低患者铜值含量的药剂。这种药剂含有或包括铜螯合剂和/或包含能够降低患者铜值含量(例如, 锌(例如, 一种合适的盐类如葡糖酸盐形式)或易于预防患者吸收铜的三硫代钼酸盐(也是一种铜螯合剂))的化合物或组合物。方法也包括在使患者与药剂接触或应用药剂之前, 同时和/或随后, 评价或监测患者铜值的一个或多个附加步骤。方法也包括, 例如诊断患者为糖尿病。该法也包括诊断患者为高血压和/或易于发生 IGT 和/或患有急性高血压性心肌病的一个或多个附加步骤。

仍然在另一个方面, 本发明提供了治疗哺乳动物(如, 人类)的一种方法, 该动物处于正在进展的, 怀疑有或具有实际的与 IFG 有关的高血压性心肌病的危险中, 该法含有或包括下列步骤, 使哺乳动物患者接触和/或给予哺乳动物患者一种或多种能够降低患者铜值含量的药剂。这种药剂含有或包括铜螯合剂和/或包含能够降低患者铜值含量(例如, 锌(例如, 一种合适的盐类如葡糖酸盐形式)或易于预防患者吸收铜的三硫代钼酸盐(也是一种铜螯合剂))的化合物或组合物。方法也包括在使患者与药剂接触或应用药剂之前, 同时和/或随后, 评价或监测患者铜值的一个或多个附加步骤。方法也包括, 例如诊断患者为糖尿病。该法进一步包括诊断患者为高血压和/或易于发生 IFG 和/或患有急性高血压性心肌病的一个或多个附加步骤。

仍然在另一个方面, 本发明提供了治疗哺乳动物(如, 人类)的一种方法, 该动物处于正在进展的, 怀疑有或具有实际的与 IFG 有关的急性高血压性心肌病的危险中, 该法含有或包括下列步骤, 使哺乳动物患者接触和/或给予哺乳动物患者一种或多种能够降低患者铜值含量的药剂。这种药剂含有或包括铜螯合剂和/或包含能够降

低患者铜值含量(例如, 锌(例如, 一种合适的盐类如葡糖酸盐形式)或易于预防患者吸收铜的三硫代钼酸盐(也是一种铜螯合剂))的化合物或组合物。方法也包括在使患者与药剂接触或应用药剂之前, 同时和/或随后, 评价或监测患者铜值的一个或多个附加步骤。方法也包括, 例如诊断患者为糖尿病。该法进一步包括诊断患者为高血压和/或处于 IFG 和/或患有高血压性心肌病的一个或多个附加步骤。

在另一个方面, 本发明提供了治疗哺乳动物(如, 人类)的一种方法, 该动物处于正在进展的, 怀疑有或具有实际的与 IGT 有关的缺血性心肌病的危险中, 该法含有或包括下列步骤, 使哺乳动物患者接触和/或给予哺乳动物患者一种或多种能够降低患者铜值含量的药剂。这种药剂含有或包括铜螯合剂和/或包含能够降低患者铜值含量(例如, 锌(例如, 一种合适的盐类如葡糖酸盐形式)或易于预防患者吸收铜的三硫代钼酸盐(也是一种铜螯合剂))的化合物或组合物。方法也包括在使患者与药剂接触或应用药剂之前, 同时和/或随后, 评价或监测患者铜值的一个或多个附加步骤。方法也进一步包括, 例如诊断患者为糖尿病。该法也包括测定患缺血性疾病和/或患 IGT 和/或患缺血性心肌病患者的附加步骤。

仍然在另一个方面, 本发明提供了治疗哺乳动物(如, 人类)的一种方法, 该动物处于正在进展的, 怀疑有或具有实际的与 IFG 有关的缺血性心肌病的危险中, 该法含有或包括下列步骤, 使哺乳动物患者接触和/或给予哺乳动物患者一种或多种能够降低患者铜值含量的药剂。这种药剂含有或包括铜螯合剂和/或包含能够降低患者铜值含量(例如, 锌(例如, 一种合适的盐类如葡糖酸盐形式)或易于预防患者吸收铜的三硫代钼酸盐(也是一种铜螯合剂))的化合物或组合物。方法包括在使患者与药剂接触或应用药剂之前, 同时和/或随后, 评价或监测患者铜值的一个或多个附加步骤。方法也包括, 例如诊断患者为糖尿病。该法包括诊断患者为缺血性和/或患 IFG 和/或患缺血性心肌病的一个或多个附加步骤。该法包括诊断患者为缺血性疾病和/或患冠状动脉心脏病(CHD)和/或患缺血性心肌病的一个或多个附加步骤。

在另一个方面, 本发明提供了治疗哺乳动物(如, 人类)的一种方法, 该动物处于正在进展的, 怀疑有或具有实际的与冠状动脉心脏病(CHD)有关的缺血性心肌病的危险中, 该法含有或包括下列步骤, 使哺乳动物患者接触和/或给予哺乳动物患者一种或多种能够降低患者铜值含量的药剂。这种药剂含有或包括铜螯合剂和/或包含能够降低患者铜值含量(例如, 锌(例如, 一种合适的盐类如葡糖酸盐形式)或易于预防患者吸收铜的三硫代钼酸盐(也是一种铜螯合剂))的化合物或组合物。方法包括在使患者与药剂接触或应用药剂之前, 同时和/或随后, 评价或监测患者铜值的一个或多个附加步骤。方法也包括, 例如诊断患者为糖尿病。该法包括诊断患者患有急性心肌梗塞的一个或多个附加步骤。

在另一个方面, 本发明提供了治疗哺乳动物(如, 人类)的一种方法, 该动物处于正在进展的, 怀疑有或具有实际的不与葡萄糖代谢的任何异常有关的急性心肌梗塞的危险中, 该法含有或包括下列步骤, 使哺乳动物患者接触和/或给予哺乳动物患

者一种或多种能够降低患者铜值含量的药剂。这种药剂含有或包括铜螯合剂和/或包含能够降低患者铜值含量(例如, 锌(例如, 一种合适的盐类如葡糖酸盐形式)或易于预防患者吸收铜的三硫代钼酸盐(也是一种铜螯合剂))的化合物或组合物。方法包括在使患者与药剂接触或应用药剂之前, 同时和/或随后, 评价或监测患者铜值的一个或多个附加步骤。该法包括, 例如诊断患者为高血压性和/或患高血压性心肌病的一个或多个附加步骤。

在另一个方面, 本发明提供了治疗哺乳动物(如, 人类)的一种方法, 该动物处于正在进展的, 怀疑有或具有实际的不与葡萄糖代谢的任何异常有关的高血压性心肌病的危险中, 该法含有或包括下列步骤, 使哺乳动物患者接触和/或给予哺乳动物患者一种或多种能够降低患者铜值含量的药剂。这种药剂含有或包括铜螯合剂和/或包含能够降低患者铜值含量(例如, 锌(例如, 一种合适的盐类如葡糖酸盐形式)或易于预防患者吸收铜的三硫代钼酸盐(也是一种铜螯合剂))的化合物或组合物。方法包括在使患者与药剂接触或应用药剂之前, 同时和/或随后, 评价或监测患者铜值的一个或多个附加步骤。该法也包括, 例如诊断患者为糖尿病。该法也包括诊断患者为, 例如高血压性和/或患高血压性心肌病的一个或多个附加步骤。

仍然在一个深入的方面, 本发明提供了治疗哺乳动物(如, 人类)的一种方法, 该动物处于正在进展的, 怀疑有或具有实际的不与葡萄糖代谢的任何异常有关的缺血性心肌病(不管这种缺血性心肌病与冠状动脉心脏病是否有关)的危险中, 该法含有或包括下列步骤, 使哺乳动物患者接触和/或给予哺乳动物患者一种或多种能够降低患者铜值含量的药剂。这种药剂含有或包括铜螯合剂和/或包含能够降低患者铜值含量(例如, 锌(例如, 一种合适的盐类如葡糖酸盐形式)或易于预防患者吸收铜的三硫代钼酸盐(也是一种铜螯合剂))的化合物或组合物。方法包括在使患者与药剂接触或应用药剂之前, 同时和/或随后, 评价或监测患者铜值的一个或多个附加步骤。该法也包括, 例如诊断患者为糖尿病。该法包括诊断患者, 例如患有缺血性疾病和/或缺血性心肌病的一个或多个附加步骤。

在一个深入的方面, 本发明提供了治疗处于正在进展的, 怀疑有或具有实际的心肌病危险的人的一种方法, 该法含有或包括下列步骤, 根据以下对人进行分类: (a) 是否患有 2 型糖尿病, 葡萄糖耐量异常(IGT)和禁食葡萄糖异常(IFG)中的一种或多种, 和/或(b)铜状态, 和(如果患者(a)患 2 型糖尿病和/或(IGT)和/或 IFG, 和/或(b)是非生化性或临床性或不希望的铜缺乏)给予患者一种治疗方案, 目的是减少铜值的存在。就心功能而言也是保证患者受益于铜减少治疗方案的一个步骤。

在一个深入的方面, 本发明提供了治疗处于正在进展的, 怀疑有或具有实际的急性心肌梗塞危险的人的一种方法, 该法含有或包括下列步骤, 根据以下对人进行分类: (a) 是否患有 2 型糖尿病, 葡萄糖耐量异常(IGT)和禁食葡萄糖异常(IFG)中的一种或多种, 和/或(b)铜状态, 和(如果患者(a)患 2 型糖尿病和/或(IGT)和/或 IFG, 和/或(b)是非生化性或临床性或不希望的铜缺乏)给予患者一种铜螯合和/或其他的铜值

减少治疗方案，目的是减少铜的存在。就心功能而言也是保证患者受益于铜减少治疗方案的一个步骤。步骤(i)也包括参考(c)心功能。对患者可选择地和/或附加的益处可参考心功能来评价。

5 在另一个方面，本发明提供了治疗处于正在进展的，怀疑有或具有实际的高血压性心肌病危险的人的一种方法，该法含有或包括下列步骤，根据以下对人进行分类：(a) 是否高血压，和/或(b)铜状态；和给予患者一种铜螯合和/或其他的铜值减少治疗方案，目的是减少铜的存在，同时优选保证患者没有或不发展为铜缺乏。步骤(i)也包括参考(b)铜状态和/或(c)心功能之一或两者。就心功能而言，也是保证患者受益于铜螯合治疗方案的一个步骤。

10 在一个深入的方面，本发明提供了治疗处于正在进展的，怀疑有或具有实际的缺血性心肌病危险的人的一种方法，该法含有或包括下列步骤，根据以下对人进行分类：(a) 是否遭受局部缺血，和/或(b)铜状态；和给予患者一种铜螯合和/或其他的铜值减少治疗方案，目的是减少铜的存在，同时优选保证患者没有或不发展为铜缺乏。

15 仍然在另一个方面，本发明提供了治疗处于正在进展的，怀疑有或具有实际的心肌病危险的人的一种方法，该法含有或包括下列步骤，将人至少根据以下分类为候选患者：(a) 是否患 2 型糖尿病，(IGT)，禁食葡萄糖异常，和(b)心功能，和给予患者一种铜螯合和/或其他的铜值减少治疗方案，目的是减少铜的存在，同时优选保证患者没有或不发展为铜缺乏。就心功能而言，也是保证患者受益于铜螯合治疗方案的一个步骤。

20 在一个深入的方面，本发明提供了治疗处于正在进展的，怀疑有或具有实际的(I)动脉，(II)动脉和冠状动脉和/或其他器官，和/或(III)心肌疾病危险的人或其他哺乳动物的一种方法，该法含有或包括下列步骤，将人或其他哺乳动物分类为候选患者，和给予患者一种铜螯合和/或其他的铜值减少治疗方案，目的是减少铜的存在。步骤(i)也包括测定人或其他哺乳动物的铜状态。就心脏和/或动脉功能而言，也是保证患者受益于铜螯合和/或其他铜值减少治疗方案的一个步骤。

25 在另一个方面，能够减少患者铜值含量的一种或多种药剂，如果是螯合剂，与铜值的亲和力优于其他痕量金属(如铁，锌和/或锰)的值。优选与铜值的优势亲和力是超过正常健康哺乳动物核素大约 100%至大约 500%的过量铜，可被控制到正常水平或接近这种正常的水平，而不引起铁，锌和/或锰的耗竭或过多减少。使用如在此所提到的螯合剂和合适的锌盐，可能从整体上在机体中选择性降低铜值，即使相信在细胞组织内铜值有少量的降低。不被这种机制所约束，相信减少主要在细胞外(例如间质，在细胞的外部和/或在胶原上)。

35 在另一个方面，本发明提供了一种治疗方法，例如包括附属图表图 3 或 4 中的方法学。

在一个深入的方面，本发明提供了一种治疗患 2 型糖尿病或葡萄糖耐量异常的

人的一种方法，所述的人处于正在进展的，怀疑有或具有实际的心肌病的危险，该法含有或包括下列步骤，给予患者一种铜螯合治疗方案，目的是减少螯合铜在心脏中的存在，同时至少必要时已经监测和/或评价或监测患者避免铜缺乏。患者也可能被或已经分类保证患者如果铜缺乏，治疗方案不开始和/或不继续。

5 在一个深入的方面，本发明提供了治疗患 2 型糖尿病或异常葡萄糖耐量的人，所述的人处于正在进展的，怀疑有或具有实际的大血管疾病的危险，该法含有或包括下列步骤，给予患者全身一种铜含量降低治疗方案。患者也可能被或已经分类保证患者如果铜缺乏，治疗方案不开始和/或不继续。

10 仍然在一个深入的方面或一个优选方案，本发明提供了治疗处于正在进展的，怀疑有或具有实际的心肌病相关心衰危险的人的一种方法，该法含有或包括下列步骤，减少这个患者的螯合和/或其他铜值的水平，优选不让该患者产生不希望的铜值或铜缺乏。

15 仍然在一个深入的方面，本发明提供了治疗处于正在进展的，怀疑有或具有实际的动脉树的大血管疾病危险的人的一种方法，该法含有或包括下列步骤，减少这个患者大血管壁中的螯合铜水平，不让该患者产生不希望的铜值或铜缺乏。

20 仍然在另一个方面，本发明提供了治疗处于正在发展的，怀疑有或具有实际的心肌病危险的人的一种方法，该法含有或包括下列步骤，将该人归类为有正在进展的，怀疑有或具有实际的心肌病危险的，给予该患者一种铜螯合治疗方案，目的是减少铜的存在。铜螯合治疗方案包括或被评价或监测以保证患者没有或不形成无希望的铜值或铜缺乏。分类参考心功能的初始检查，当心功能低于正常时，患者为铜螯合治疗方案被分类。心功能的评价或监测也可延续至铜螯合治疗方案中或超出之外。分类包括确定患者患有 2 型糖尿病或异常葡萄糖耐量。分类也涉及在铜螯合治疗方案的任何开始或基本持续时间之前参考患者的铜状态，以保证患者没有或不形成不需要的铜状态或铜缺乏。

25 在前面的任何一个步骤中，可出现或涉及下面的情况(任何一种，一些或全部)。化合物可以是一种铜螯合剂，在哺乳动物中它实际上没有能力产生显著量的自由基，也可在使用用药方案的哺乳动物中，在哺乳动物中不会将铜螯合至耗竭状态。使用的是对于患典型铜超载的患者，具有将该患者的铜水平减少至正常的效应的一种较小用药方案。使用的是不能或不减少患者正常铜水平至铜缺乏的一种用药方案(依赖于剂量单位和/或频率)。该方案可与拮抗果糖胺氧化酶的方案一起应用(连续，同时或其他方式)。剂量单位是铜减少治疗方案的剂量单位。治疗方案可与在 WO 00/18392 中公开的任何一种治疗方案一起使用。这种应用涉及药学可接受的稀释剂和/或载体。该组合物可用于在此引用，建议或鉴定的方法中。

本发明也提供来自或为任何应用提供的剂量单位。

35 本发明的一个目的是提供可改善，预防或治疗可被升高的非细胞内游离铜值水平加剧的心血管树(包括心脏)和附属器官(如：视网膜，肾，神经等)的任何一种或多

种疾病状态的治疗方法和相关方法，应用和药学组合物。

在此对心血管树疾病和附属器官疾病的参考包括下列的任何一种或多种

(i) 心肌疾病(心肌病或心肌炎)如特发性心肌病、代谢性心肌病包括糖尿病性心肌病、酒精性心肌病、药物诱导心肌病、缺血性心肌、和高血压性心肌病，

5 或；

(ii) 大血管的动脉粥样硬化病(大血管病)

如主动脉、冠状动脉、颈动脉、脑血管动脉、肾动脉、髂动脉、股动脉和腘动脉

或

10 (iii) 毒性，药物诱导的和代谢性(包括高血压性和/或糖尿病性)小血管病(微血管病)，如视网膜小动脉、肾小球小动脉、神经滋养血管、心脏小动脉、和相关的肾、心脏和中枢和周围神经系统的毛细血管床，

或

(iv) 和大血管如主动脉、冠状动脉、颈动脉、脑血管动脉、肾动脉、髂动脉、15 股动脉和腘动脉动脉粥样硬化病变的斑块破裂

本发明涉及任何这种疾病和其治疗，不论(如果没有其他说明)哺乳动物患者的任何糖尿病性和/或葡萄糖异常状态。因此包括在患者疾病分类内的，可被本发明的方法有效靶向的是下面的非详尽列表中的任何一种或多种疾病：

糖尿病性心肌病，

20 糖尿病性急性冠状动脉综合征(如：心肌梗塞- MI)，

糖尿病性高血压心肌病，

与异常葡萄糖耐量(IGT)有关的急性冠状动脉综合征，

与异常禁食葡萄糖(IFG)有关的急性冠状动脉综合征，

与 IGT 有关的高血压性心肌病，与 IFG 有关的高血压性心肌病，

25 与 IGT 有关的缺血性心肌病，与 IFG 有关的缺血性心肌病，

与冠状动脉心脏病(CHD)有关的缺血性心肌病，

与葡萄糖代谢的任何异常无关的急性冠状动脉综合征，

与葡萄糖代谢的任何异常无关的高血压性心肌病，

与葡萄糖代谢的任何异常无关的缺血性心肌病(不管这种缺血性心肌病是否与30 冠状动脉心脏病有关)，和

任何一种或多种血管树疾病，例如，主动脉，颈动脉，脑血管，冠状动脉，肾动脉，神经滋养血管，髂动脉，股动脉，腘动脉，小动脉树和毛细血管床的疾病状态。

我们相信，但不希望被限制，在前面提到的糖尿病疾病状态或葡萄糖代谢异常35 状态中，在动脉树的远隔部位中的糖尿病并发症可被本发明的治疗方案所调节，同时可更好的改善近端的情况。

对于非糖尿病患者，全身铜值含量升高引起的并发症近端多于远端，但这种损害的调节和/或修复是可能的(包括或到达主动脉，颈动脉，脑血管，冠状动脉，肾动脉，视网膜动脉，神经滋养血管，髂动脉，股动脉，腘动脉，小动脉树和毛细血管床)我们相信可被本发明的治疗方案所改善。

5 如在此所使用的与“包括”不相连的术语“含有”，其含义是具有，是或含有。如在此所使用的术语“和/或”的含义是“和”和“或”。

如在此所使用的，添加“(s)”作为字的一部分包含该字的单数和复数。

如在此所使用的术语“糖尿病”是指患 II 型糖尿病或异常葡萄糖耐量(IGT)的人或其他哺乳动物。

10 如在此和上下文中所使用的术语“心肌病”允许包含心肌病和相关的心衰。

如在此所使用的术语“使患者接触”或“应用于患者”包括任何主动或被动的的方式，保证活性化合物或代谢物在体内的存在，不管涉及给予哺乳动物，患者或人的用药是一次或多次。优选给予的方式是口服，尽管其他方式也可以考虑(特别是胃肠外，如静脉，肌肉内等)。

15 如在此所使用的，“治疗有效量”是指计算可达到所需治疗效应的药剂的预定量。

如在此所使用的，“药学可接受的载体”或“药物可接受的赋形剂”是指在应用中不引起生理副反应的载体，和其中或从中一种治疗性药剂充分被负载或可递送治疗有效量的载体。

20 如在此所使用的，“哺乳动物”有其普遍的含义，并包括灵长类(如：人和非人灵长类)，试验动物(如：啮齿类如小鼠和大鼠)，家畜(如牛，猪，羊和马)，和家畜(如狗和猫)。

术语“升高”具有以前确定的含义，同时，例如关于人类患者的铜值状态，术语“正常”的含义是接受前面所提到的 Merck & Co Inc.已经公开的测定法，血清游离铜少于 10 mcg/dL 的患者。

25 如在此所使用的“铜缺乏”的含义是铜缺乏的诊断通常是在很低的铜血清水平(<65 $\mu\text{g}/\text{dL}$)和很低的血浆铜蓝蛋白水平(<18 mg/dL)的基础上做出的。在妊娠或应激情况下铜的血清水平是升高的，因为血浆铜蓝蛋白是一种急性期反应物。

30 如在此所使用的，术语“治疗”或“处理”哺乳动物的病情和/或疾病的含义，在文中可如下列，

(i) 预防病情或疾病，也就是，避免疾病的任何临床症状；

(ii) 抑制病情或疾病，也就是，阻止临床症状的形成或进展；和/或

(iii) 缓解病情或疾病，也就是，引起临床症状的消退。

35 如在此所使用的“与……相连”简单的含义是包括两种情况，不应被理解为一种情况必须与另一个有因果的联系。

术语“螯合的铜”包括任何螯合形式的铜，包括不同的氧化态如铜(II)。因此术语

“铜值” [例如：可以是基础元素，盐类等]的含义是在体内可进行这种螯合作用的任何合适的形式(例如，在细胞外组织中[与细胞内组织内相对应，可能与细胞外表面和/或胶原结合])和/或能够被其他方式降低(例如，锌的应用)。

- 5 适合哺乳动物应用的一些优选的铜值螯合剂包括(其中适合为一种盐类如可避免低血钙的合适的钙钠盐):
- 三乙撑四胺(三烯),
 - 乙二胺四乙酸(EDTA),
 - 二乙撑三胺四乙酸(DPTA),
 - 2,2,2 氯化四氢四胺(TETA),
 - 10 2,3,2 氯化四氢四胺,
 - D-青霉胺(DPA),
 - 1,4,8,11 四氮杂环十四烷(Cyclam),
 - 5,7,7',12,14,14'六甲基-1,4,8,11 四氮杂环十四烷 (Cyclam S),
 - 2,3 二巯基丙烷-磺酸钠(DMPS),
 - 15 N-乙酰基青霉胺(NAPA),
 - D-青霉胺(PA), 去铁乙胺 (Desferroxamine) ,
 - 2,3-二巯基丙醇(BAL),
 - 2,3-二巯基丁二酸(DMSA),
 - 三硫代钼酸盐,
 - 20 3-7-二氮杂壬烷-1,9-二胺(BE 6184),
 - 1,4,8,11-四氮杂环十四烷-1,4,8,11-四乙酸,
 - 1,4,8,11-四氮杂二环[6.6.2]十六烷,
 - 4,11-双(N,N-二乙基-氨基)-1,4,8,11-四氮杂二环[6.6.2]十六烷,
 - 4,11-双(氨基)-1,4,8,11-四氮杂二环[6.6.2]十六烷,
 - 25 褪黑激素,
 - 氯碘羟喹,
 - 卡普瑞踪 (cuprizone),
 - N,N'-二乙基二硫代氨基甲酸盐,
 - 醋酸锌,
 - 30 锌盐,
 - 浴铜灵二磺酸,
 - 浴铜灵二磺酸盐,
 - 新亚铜试剂(2,9-二甲基-1,10-邻二氮杂菲),
 - 四硫代钼酸盐,
 - 35 三甲氧苄嗪,
 - 三乙撑四胺四氯化氮,

- 2,3,2-四胺,
 吡啶-2,6-双(硫代羧酸)或吡咯烷二硫代氨基甲酸酯,
 四乙撑五胺,
 N,N,N',N'-四(2-吡啶甲基)乙撑二胺,
 5 1,4,7,11-四氮十一烷四氯化氯,
 四乙撑五胺五氯化氯,
 D-青霉胺(DPA),
 1,10-邻二氮杂菲,
 3,4-二羟基苯甲酸,
 10 2,2'-二辛可宁酸 (bichinchinonic acid),
 diamsar,
 3,4',5,三羟基芪(白藜芦醇),
 巯基葡聚糖,
 o-邻二氮杂菲,
 15 二硫化四乙基秋兰姆 (安塔布司),
 sar,
 钙二乙撑三胺五醋酸三钠(上述的 cpd 盐), 和
 美噻唑 (1-甲基-2-硫醇咪唑)。

20 优选减少患者铜值的一种或多种药剂, 如果是一种螯合剂, 与铜值的亲和力优于其他痕量金属(如铁, 锌和/或锰)的值。优选与铜值的优势亲和力是超过正常健康哺乳动物核素大约 100%至大约 500%的过量铜, 可被控制到正常水平或接近这种正常的水平, 而不引起铁, 锌和/或锰的耗竭或过多减少。不诱导这种过渡金属缺乏疾病如, 贫血是特别重要的。

25 给予任何铜螯合剂(如: 三乙撑四胺)可以通过多种途径包括胃肠外和口服。使用这种药剂口服使用的用药速率为大约胃肠外应用的 10 倍, 因为药物的生物利用度很低。使用三乙撑四胺, 合适的胃肠外剂量男性为大约 120mg/天。

因此当螯合剂为三乙撑四胺盐酸盐(无论有无赋形剂, 稀释剂, 载体和媒质)时, 人类患者中的用药剂量, 如果是胃肠外, 要提供大约 120 mg/天, 如果是口服, 大约为 1200 mg/天。

30 可选择地(和/或另外)能够降低铜值的药剂是锌盐(优选为一种有香味的水溶液)或三硫代钼酸盐 (也是一种螯合剂)。合适的锌盐包括

- 醋酸锌
- 氯化锌
- 硫酸锌
- 35 • 柠檬酸循环中间体的锌盐; 如柠檬酸盐, 异柠檬酸盐, 酮戊二酸盐, 琥珀酸盐, 苹果酸盐

- 葡糖酸锌 (zinc glucoante)

使用在此提到的优选螯合剂和合适的锌盐, 可能从整体上在机体中选择性降低铜值(我们相信并不达到其他过渡金属的枯竭状态), 即使相信在细胞组织内铜值有少量的降低; 减少主要在细胞外(例如间质, 在细胞的外部和/或在胶原上)。

5 在第一个方面, 本发明是改善哺乳动物患者组织修复的方法, 该患者的组织损害选自心肌, 血管树和血管树的附属器官, 所述的方法含有或包括下列步骤, 使患者接触, 和/或使用可降低患者机体的铜值含量足以改善组织修复的一种或多种药剂。

优选不患有 Wilson 病但铜值含量升高的患者。

10 优选至少有一种铜值状态测定。

在一个优先实例中, 药剂是 trientive 或三乙撑四胺型铜螯合剂。

优选的三乙撑四胺盐酸盐可以多次用药或一次用药的方式给药, 如果是胃肠外, 可在人类患者中提供至少大约 120 mg/天, 如果是口服, 至少在人类患者中可提供大约 1200 mg/天。

15 优选患者是患有 2 型糖尿病的人。

我们相信组织修复的改善来自正常组织干细胞反应的恢复或基本上恢复。

药剂选自

三乙撑四胺(三烯),

乙二胺四乙酸(EDTA),

20 二乙撑三胺四乙酸(DPTA),

2,2,2 氯化四氢四胺(TETA),

2,3,2 氯化四氢四胺,

D-青霉胺(DPA),

1,4,8,11 四氮杂环十四烷(Cyclam),

25 5,7,7',12,14,14'六甲基-1,4,8,11 四氮杂环十四烷 (Cyclam S),

2,3 二巯基丙烷-磺酸钠(DMPS),

N-乙酰基青霉胺(NAPA),

D-青霉胺(PA),

去铁乙胺 (Desferroxamine) ,

30 2,3-二巯基丙醇(BAL),

2,3-二巯基丁二酸(DMSA),

三硫代钼酸盐,

3-7-二氮杂壬烷-1,9-二胺(BE 6184),

1,4,8,11-四氮杂环十四烷-1,4,8,11-四乙酸,

35 1,4,8,11-四氮杂二环[6.6.2]十六烷,

4,11-双(N,N-二乙基-氨基)-1,4,8,11-四氮杂二环[6.6.2]十六烷,

- 4,11-双(氨甲基)-1,4,8,11-四氮杂二环[6.6.2]十六烷,
褪黑激素,
氯碘羟喹,
卡普瑞腺 (cuprizone),
5 N,N'-二乙基二硫代氨基甲酸盐,
醋酸锌,
锌盐,
浴铜灵二磺酸,
浴铜灵二磺酸盐,
10 新亚铜试剂(2,9-二甲基-1,10-邻二氮杂菲),
四硫代钼酸盐,
三甲氧苄嗪,
三乙撑四胺四氯化氯,
2,3,2-四胺,
15 吡啶-2,6-双(硫代羧酸)或吡咯烷二硫代氨基甲酸酯,
四乙撑五胺,
N,N,N',N'-四(2-吡啶甲基)乙撑二胺,
1,4,7,11-四氮十一烷四氯化氯,
四乙撑五胺五氯化氯,
20 D-青霉胺(DPA),
1,10-邻二氮杂菲,
3,4-二羟基苯甲酸,
2,2'-二辛可宁酸 (bichinchinonic acid),
diansar,
25 3,4',5,三羟基芪(白藜芦醇),
巯基葡聚糖,
o-邻二氮杂菲,
二硫化四乙基秋兰姆 (安塔布司),
sar,
30 钙二乙撑三胺五醋酸三钠(上述的 cpd 盐), 和美噻唑 (1-甲基-2-硫醇咪唑)。
药剂是一种锌盐。
损害优选来自下面的任何一种或多种:
(i) 心肌疾病(心肌病或心肌炎)如特发性心肌病、代谢性心肌病包括糖尿病
性心肌病、酒精性心肌病、药物诱导心肌病、缺血性心肌、和高血压性
35 心肌病;
或

(ii) 大血管的动脉粥样硬化病(大血管病)如主动脉、冠状动脉、颈动脉、脑血管动脉、肾动脉、髂动脉、股动脉和腘动脉;

或

5 (iii) 毒性, 药物诱导的和代谢性(包括高血压性和/或糖尿病性)小血管病(微血管病), 如视网膜小动脉、肾小球小动脉、神经滋养血管、心脏小动脉、和相关的肾、心脏和中枢和周围神经系统的毛细血管床;

或

(iv) 大血管如主动脉、冠状动脉、颈动脉、脑血管动脉、肾动脉、髂动脉、股动脉和腘动脉动脉粥样硬化病变的斑块破裂。

10 患者可能患有和/或易于发生心衰。

患者可能(优选)患有2型糖尿病。

在另一个方面, 发明是应用一种化合物(a) 本身在体内或(b)在体内至少有一种代谢物, 它是(i)一种铜螯合剂或(ii)另外可减少现有的铜值, 以产生一种药学组合物或剂量单位, 能够减少哺乳动物内的铜水平, 因此可通过降低哺乳动物患者内的铜值引起损伤组织组织修复的改善, 损伤的组织选自心肌, 血管树和血管树的附属器

15 官。

损害可是来自选自下面的一种疾病:

(i) 心肌疾病(心肌病或心肌炎)如特发性心肌病、代谢性心肌病包括糖尿病性心肌病、酒精性心肌病、药物诱导心肌病、缺血性心肌、和高血压性心肌病;

20 或

(ii)大血管的动脉粥样硬化病(大血管病)如主动脉、冠状动脉、颈动脉、脑血管动脉、肾动脉、髂动脉、股动脉和腘动脉;

或

25 (i) 毒性, 药物诱导的和代谢性(包括高血压性和/或糖尿病性)小血管病(微血管病), 如视网膜小动脉、肾小球小动脉、神经滋养血管、心脏小动脉、和相关的肾、心脏和中枢和周围神经系统的毛细血管床;

或

(ii)大血管如主动脉、冠状动脉、颈动脉、脑血管动脉、肾动脉、髂动脉、股动脉和腘动脉动脉粥样硬化病变的斑块破裂。

30 化合物优选选自

三乙撑四胺(三烯),

乙二胺四乙酸(EDTA),

二乙撑三胺四乙酸(DPTA),

2,2,2 氯化四氢四胺(TETA),

35 2,3,2 氯化四氢四胺,

D-青霉胺(DPA),

- 1,4,8,11 四氮杂环十四烷(Cyclam),
 5,7,7',12,14,14'六甲基-1,4,8,11 四氮杂环十四烷 (Cyclam S),
 2,3 二巯基丙烷-磺酸钠(DMPS),
 N-乙酰基青霉胺(NAPA),
 5 D-青霉胺(PA),
 去铁乙胺 (Desferroxamine) ,
 2,3-二巯基丙醇(BAL),
 2,3-二巯基丁二酸(DMSA),
 三硫代钼酸盐,
 10 3-7-二氮杂壬烷-1,9-二胺(BE 6184),
 1,4,8,11-四氮杂环十四烷-1,4,8,11-四乙酸,
 1,4,8,11-四氮杂二环[6.6.2]十六烷,
 4,11-双(N,N-二乙基-氨基)-1,4,8,11-四氮杂二环[6.6.2]十六烷,
 4,11-双(氨基)-1,4,8,11-四氮杂二环[6.6.2]十六烷,
 15 褪黑激素,
 氯碘羟喹,
 卡普瑞腺 (cuprizone),
 N,N'-二乙基二硫代氨基甲酸盐,
 醋酸锌,
 20 锌盐,
 浴铜灵二磺酸,
 浴铜灵二磺酸盐,
 新亚铜试剂(2,9-二甲基-1,10-邻二氮杂菲),
 四硫代钼酸盐,
 25 三甲氧苄嗪,
 三乙撑四胺四氯化氯,
 2,3,2-四胺,
 吡啶-2,6-双(硫代羧酸)或吡咯烷二硫代氨基甲酸酯,
 四乙撑五胺,
 30 N,N,N',N'-四(2-吡啶甲基) 乙撑二胺,
 1,4,7,11-四氮十一烷四氯化氯,
 四乙撑五胺五氯化氯,
 D-青霉胺(DPA),
 1,10-邻二氮杂菲,
 35 3,4-二羟基苯甲酸,
 2,2'-二辛可宁酸 (bichinchinonic acid),

- diamsar,
3, 4', 5, 三羟基芪(白藜芦醇),
巯基葡聚糖,
o-邻二氮杂菲,
5 二硫化四乙基秋兰姆 (安塔布司),
sar,
钙二乙撑三胺五醋酸三钠(上述的 cpd 盐), 和美噻唑 (1-甲基-2-硫醇咪唑)。
优选化合物是三乙撑四胺或三乙撑四胺型铜螯合剂。
优选应用涉及药学可接受的赋形剂, 稀释剂和/或载体。
- 10 发明也是来自应用的一种剂量单位。
在另一个方面, 发明是治疗哺乳动物患者(如; 人)的一种方法, 该患者处于正在进展的, 怀疑有或具有实际的, 对心肌, 血管树和/或血管树附属器官的组织损害危险中, 该法含有或包括以下的步骤, 将哺乳动物患者接触和/或给予哺乳动物患者一种或多种能够降低患者铜值含量因此可更好地促进组织修复的药剂。
- 15 优选患者不患有 Wilson 病但铜值升高。
优选药物是铜螯合剂。
优选药剂与铜的亲合力超过与铁的亲合力。
仍然在另一个方面, 发明是治疗哺乳动物患者(如; 人)的一种方法, 该患者处于正在进展的, 怀疑有或具有实际的, 对心肌, 血管树和/或血管树附属器官的组织疾病危险中, 该法含有或包括以下的步骤, 测定患者的铜状态, 如果患者的铜状态升高, 而患者不患有 Wilson 病, 则将哺乳动物患者接触和/或给予哺乳动物患者一种或多种能够降低患者铜值含量因此可更好地促进组织修复的药剂。
- 20 方法涉及连续监测患者的铜状态。
测定铜状态可参考细胞外的铜值。
- 25 优选降低患者的铜值是来自己超过非患有 2 型糖尿病患者典型铜值的 2 型糖尿病人类患者典型铜值的升高状态。
该法包括诊断和/或监测高血压的步骤。
该法包括诊断酒精中毒的步骤。
该法包括诊断和/或监测患者葡萄糖途径异常的步骤。
- 30 优选的异常是 2 型糖尿病, IGT 和/或 IFG。
该法包括诊断和/或监测患者中的大血管, 微血管, 毒性和/或代谢性改变的步骤。
损害可以是下面的任何一种或多种:
(i) 心肌疾病(心肌病或心肌炎)如特发性心肌病、代谢性心肌病包括糖尿病性心肌病、酒精性心肌病、药物诱导心肌病、缺血性心肌、和高血压性心肌病;
- 35 或
(v)大血管的动脉粥样硬化病(大血管病)如主动脉、冠状动脉、颈动脉、脑血管

动脉、肾动脉、髂动脉、股动脉和脬动脉；

或

(vi) 毒性，药物诱导的和代谢性(包括高血压性和/或糖尿病性)小血管病(微血管病)，如视网膜小动脉、肾小球小动脉、神经滋养血管、心脏小动脉、和相关的眼、
5 肾、心脏和中枢和周围神经系统的毛细血管床；

或

(vii)大血管如主动脉、冠状动脉、颈动脉、脑血管动脉、肾动脉、髂动脉、股动脉和脬动脉动脉粥样硬化病变的斑块破裂。

在另一个方面，本发明包括治疗哺乳动物患者(如；人)的一种方法，该患者处
10 于正在进展的，怀疑有或具有实际的对其心肌，血管树和/或其附属器官的疾病危险中，
该法含有或包括以下的步骤，将哺乳动物患者接触和/或给予哺乳动物患者一种或多
种能够降低患者铜值含量的药剂。

在另一个方面，本发明包括治疗哺乳动物患者(如；人)的一种方法，该患者处
15 于正在进展的，怀疑有或具有实际的对其心肌，血管树和/或血管树附属器官的疾病危
险中，该法含有或包括以下的步骤，测定患者的铜状态，如果患者的铜状态高于正
常患者，而患者不患有 Wilson 病，则将哺乳动物患者接触和/或给予哺乳动物患者一
种或多种能够降低铜值含量的药剂。

优选该法涉及连续监测患者的铜状态。

优选铜值的测定参考细胞外铜值。

20 优选使用如此后规定的，优选的和/或举例例证的任何一种或多种药剂处理或应
用。

在另一个方面，本发明是应用一种化合物(a) 本身在体内或(b)在体内至少有一
种代谢物，它是一种铜螯合剂或另外可减少现有的铜值，以产生一种药学组合物，
能够减少哺乳动物内的铜水平(例如，分别在心脏组织和/或在大血管壁中)，治疗(修
25 复这些组织)在此所定义的任何一种或多种疾病(非 Wilson 病)的用途。

在另一个方面，本发明是改善哺乳动物患者组织修复的一种方法，该患者不患
有 Wilson 病，然而其机体铜值含量是升高的，所述的方法由含有或包括下列步骤，
使患者接触和/或给予患者一种能够有效降低患者体内铜值含量，足以通过恢复或实
实际上恢复正常组织干细胞反应而改善组织修复的药剂。

30 优选至少有一种铜值状态测定。

在另一个方面，本发明包括治疗哺乳动物患者(如；人)的一种方法，该患者处
于正在进展的，怀疑有或具有实际的糖尿病性心肌病危险中，该法含有或包括以下
的步骤，使哺乳动物患者接触和/或给予哺乳动物患者一种或多种能够降低患者铜值
含量的药剂。

35 这种药剂含有或包括铜螯合剂和/或包含能够降低患者铜值含量(例如，锌(例如，
一种合适的盐类如葡糖酸盐)或易于预防患者吸收铜的三硫代钼酸盐(也是一种铜螯

合剂))的化合物或组合物。

方法包括在使患者与药剂接触或应用药剂之前，同时和/或随后，监测患者铜值的一个或多个附加步骤。

优选所述的方法也包括诊断患者为糖尿病。

5 在另一个方面，本发明包括治疗哺乳动物患者(如：人)的一种方法，该患者处于正在进展的，怀疑有或具有实际的糖尿病性急性心肌梗塞危险中，该法含有或包括以下的步骤，使哺乳动物患者接触和/或给予哺乳动物患者一种或多种能够降低患者铜值含量的药剂。

10 这种药剂含有或包括铜螯合剂和/或包含能够降低患者铜值含量(例如，锌(例如，一种合适的盐类如葡糖酸盐)或易于预防患者吸收铜的三硫代钼酸盐(也是一种铜螯合剂))的化合物或组合物。

方法包括在使患者与药剂接触或应用药剂之前，同时和/或随后，监测患者铜值的一个或多个附加步骤。

优选所述的方法包括诊断患者为糖尿病。

15 仍然在另一个方面，本发明包括治疗哺乳动物患者(如：人)的一种方法，该患者处于正在进展的，怀疑有或具有实际的糖尿病性高血压性心脏病危险中，该法含有或包括以下的步骤，使哺乳动物患者接触和/或给予哺乳动物患者一种或多种能够降低患者铜值含量的药剂。

20 这种药剂含有或包括铜螯合剂和/或包含能够降低患者铜值含量(例如，锌(例如，一种合适的盐类如葡糖酸盐)或易于预防患者吸收铜的三硫代钼酸盐(也是一种铜螯合剂))的化合物或组合物。

方法包括在使患者与药剂接触或应用药剂之前，同时和/或随后，监测患者铜值的一个或多个附加步骤。

优选所述的方法包括诊断患者为糖尿病。

25 还是在另一个方面，本发明包括治疗哺乳动物患者(如：人)的一种方法，该患者处于正在进展的，怀疑有或具有实际的与葡萄糖耐量异常(IGT)有关的急性心肌梗塞(AMI)危险中，该法含有或包括以下的步骤，使哺乳动物患者接触和/或给予哺乳动物患者一种或多种能够降低患者铜值含量的药剂。

30 这种药剂含有或包括铜螯合剂和/或包含能够降低患者铜值含量(例如，锌(例如，一种合适的盐类如葡糖酸盐)或易于预防患者吸收铜的三硫代钼酸盐(也是一种铜螯合剂))的化合物或组合物。

方法包括在使患者与药剂接触或应用药剂之前，同时和/或随后，监测患者铜值的一个或多个附加步骤。

优选所述的方法包括诊断患者为糖尿病。

35 该法包括诊断患者心肌梗塞和/或葡萄糖耐量异常的一个或两个附加步骤。

在另一个方面，本发明包括治疗哺乳动物患者(如：人)的一种方法，该患者处

于正在进展的, 怀疑有或具有实际的与禁食葡萄糖异常(IFG)有关的急性心肌梗塞危险中, 该法含有或包括以下的步骤, 使哺乳动物患者接触和/或给予哺乳动物患者一种或多种能够降低患者铜值含量的药剂。

5 这种药剂含有或包括铜螯合剂和/或包含能够降低患者铜值含量(例如, 锌(例如, 一种合适的盐类如葡糖酸盐)或易于预防患者吸收铜的三硫代钼酸盐(也是一种铜螯合剂))的化合物或组合物。

方法包括在使患者与药剂接触或应用药剂之前, 同时和/或随后, 监测患者铜值的一个或多个附加步骤。

优选所述的方法包括诊断患者为糖尿病。

10 该法包括诊断患者心肌梗塞和/或禁食葡萄糖异常的一个或两个附加步骤。

该法包括诊断患者心肌梗塞和/或葡萄糖耐量异常的一个或两个附加步骤。

15 仍然在另一个方面, 本发明包括治疗哺乳动物患者(如; 人)的一种方法, 该患者处于正在进展的, 怀疑有或具有实际的与 IGT 有关的高血压性心肌病危险中, 该法含有或包括以下的步骤, 使哺乳动物患者接触和/或给予哺乳动物患者一种或多种能够降低患者铜值含量的药剂。

这种药剂含有或包括铜螯合剂和/或包含能够降低患者铜值含量(例如, 锌(例如, 一种合适的盐类如葡糖酸盐)或易于预防患者吸收铜的三硫代钼酸盐(也是一种铜螯合剂))的化合物或组合物。

20 方法包括在使患者与药剂接触或应用药剂之前, 同时和/或随后, 监测患者铜值的一个或多个附加步骤。

优选所述的方法包括诊断患者为糖尿病。

该法优选包括诊断患者为高血压性和/或处于 IGT 和/或患实际的高血压性心肌病的附加步骤。

该法包括诊断患者心肌梗塞和/或葡萄糖耐量异常的一种或两种附加步骤。

25 还是在另一个方面, 本发明包括治疗哺乳动物患者(如; 人)的一种方法, 该患者处于正在进展的, 怀疑有或具有实际的与 IFG 有关的高血压性心肌病危险中, 该法含有或包括以下的步骤, 使哺乳动物患者接触和/或给予哺乳动物患者一种或多种能够降低患者铜值含量的药剂。

30 这种药剂含有或包括铜螯合剂和/或包含能够降低患者铜值含量(例如, 锌(例如, 一种合适的盐类如葡糖酸盐)或易于预防患者吸收铜的三硫代钼酸盐(也是一种铜螯合剂))的化合物或组合物。

方法包括在使患者与药剂接触或应用药剂之前, 同时和/或随后, 监测患者铜值的一个或多个附加步骤。

优选所述的方法包括诊断患者为糖尿病。

35 该法包括诊断患者为高血压性和/或处于 IFG 和/或患有高血压性心脏病的一个或多个附加步骤。

在另一个方面，本发明包括治疗哺乳动物患者(如：人)的一种方法，该患者处于正在进展的，怀疑有或具有实际的与 IGT 有关的缺血性心肌病危险中，该法含有或包括以下的步骤，使哺乳动物患者接触和/或给予哺乳动物患者一种或多种能够降低患者铜值含量的药剂。

- 5 这种药剂含有或包括铜螯合剂和/或包含能够降低患者铜值含量(例如，锌(例如，一种合适的盐类如葡糖酸盐)或易于预防患者吸收铜的三硫代钼酸盐(也是一种铜螯合剂))的化合物或组合物。

方法包括在使患者与药剂接触或应用药剂之前，同时和/或随后，监测患者铜值的一个或多个附加步骤。

- 10 优选所述的方法包括诊断患者为糖尿病。

该法包括确定患者患有缺血性疾病和/或处于 IGT 和/或患有缺血性心脏病的附加步骤。

- 还是在另一个方面，本发明包括治疗哺乳动物患者(如：人)的一种方法，该患者处于正在进展的，怀疑有或具有实际的与 IFG 有关的缺血性心肌病危险中，该法
15 含有或包括以下的步骤，使哺乳动物患者接触和/或给予哺乳动物患者一种或多种能够降低患者铜值含量的药剂。

这种药剂含有或包括铜螯合剂和/或包含能够降低患者铜值含量(例如，锌(例如，一种合适的盐类如葡糖酸盐)或易于预防患者吸收铜的三硫代钼酸盐(也是一种铜螯合剂))的化合物或组合物。

- 20 方法包括在使患者与药剂接触或应用药剂之前，同时和/或随后，监测患者铜值的一个或多个附加步骤。

优选所述的方法包括诊断患者为糖尿病。

该法包括诊断患者为缺血性和/或处于 IFG 和/或患有缺血性心脏病的的一个或多个附加步骤。

- 25 该法包括诊断患者患缺血性疾病和/或患冠状动脉心脏病(CHD)和/或患缺血性心肌病的一个或多个附加步骤。

- 在另一个方面，本发明包括治疗哺乳动物患者(如：人)的一种方法，该患者处于正在进展的，怀疑有或具有实际的与冠状动脉心脏病(CHD)有关的缺血性心肌病危险中，该法含有或包括以下的步骤，使哺乳动物患者接触和/或给予哺乳动物患者
30 一种或多种能够降低患者铜值含量的药剂。

这种药剂含有或包括铜螯合剂和/或包含能够降低患者铜值含量(例如，锌(例如，一种合适的盐类如葡糖酸盐)或易于预防患者吸收铜的三硫代钼酸盐(也是一种铜螯合剂))的化合物或组合物。

- 方法包括在使患者与药剂接触或应用药剂之前，同时和/或随后，监测患者铜值
35 的一个或多个附加步骤。

优选所述的方法包括诊断患者为糖尿病。

该法包括诊断患者为急性心肌梗塞的一个或多个附加步骤。

在另一个方面，本发明包括治疗哺乳动物患者(如：人)的一种方法，该患者处于正在进展的，怀疑有或具有实际的与任何葡萄糖途径异常无关的急性心肌梗塞危险中，该法含有或包括以下的步骤，使哺乳动物患者接触和/或给予哺乳动物患者一种或多种能够降低患者铜值含量的药剂。

这种药剂含有或包括铜螯合剂和/或包含能够降低患者铜值含量(例如，锌(例如，一种合适的盐类如葡糖酸盐)或易于预防患者吸收铜的三硫代钼酸盐(也是一种铜螯合剂))的化合物或组合物。

方法包括在使患者与药剂接触或应用药剂之前，同时和/或随后，监测患者铜值的一个或多个附加步骤。

该法包括诊断患者为高血压性和/或患高血压性心肌病的一个或多个附加步骤。

在另一个方面，本发明包括治疗哺乳动物患者(如：人)的一种方法，该患者处于正在进展的，怀疑有或具有实际的与任何葡萄糖途径异常无关的高血压性心肌病危险中，该法含有或包括以下的步骤，使哺乳动物患者接触和/或给予哺乳动物患者一种或多种能够降低患者铜值含量的药剂。

这种药剂含有或包括铜螯合剂和/或包含能够降低患者铜值含量(例如，锌(例如，一种合适的盐类如葡糖酸盐)或易于预防患者吸收铜的三硫代钼酸盐(也是一种铜螯合剂))的化合物或组合物。

方法包括在使患者与药剂接触或应用药剂之前，同时和/或随后，监测患者铜值的一个或多个附加步骤。

优选所述的方法包括诊断患者为糖尿病。

该法包括诊断患者为高血压性和/或患高血压性心肌病的一个或多个附加步骤。

还是在另一个方面，本发明包括治疗哺乳动物患者(如：人)的一种方法，该患者处于正在进展的，怀疑有或具有实际的与任何葡萄糖途径异常无关的缺血性心肌病危险中，该法含有或包括以下的步骤，使哺乳动物患者接触和/或给予哺乳动物患者一种或多种能够降低患者铜值含量的药剂。

这种药剂含有或包括铜螯合剂和/或包含能够降低患者铜值含量(例如，锌(例如，一种合适的盐类如葡糖酸盐)或易于预防患者吸收铜的三硫代钼酸盐(也是一种铜螯合剂))的化合物或组合物。

方法包括在使患者与药剂接触或应用药剂之前，同时和/或随后，监测患者铜值的一个或多个附加步骤。

优选所述的方法包括诊断患者为糖尿病。

该法包括诊断患者患缺血性疾病和/或缺血性心肌病的一个或多个附加步骤。

在一个深入的方面，本发明包括治疗处于正在进展的，怀疑有或具有实际的心肌病危险的人的一种方法，该法含有或包括下列步骤：

(i) 根据以下对人进行分类：

(a) 是否患有 II 型糖尿病, 葡萄糖耐量异常(IGT)和禁食葡萄糖异常(IFG)中的一种或多种, 和/或

(b)铜状态, 和

5 (ii) (如果患者(a)患 II 型糖尿病和/或(IGT)和/或 IFG, 和/或(b) 是非生化性或临床性的铜缺乏)给予患者一种治疗方案, 目的是减少铜值的存在。

优选步骤(iii)就心功能而言是保证患者受益于铜减少治疗方案的一个步骤。

在一个深入的方面, 本发明包括治疗处于正在进展的, 怀疑有或具有实际的急性心肌梗塞危险的人的一种方法, 该法含有或包括下列步骤:

(i) 根据以下对人进行分类:

10 (a) 是否患有 II 型糖尿病, 葡萄糖耐量异常(IGT)和禁食葡萄糖异常(IFG)中的一种或多种, 和/或

(b)铜状态, 和

(ii) (如果患者(a)患 II 型糖尿病和/或(IGT)和/或 IFG, 和/或(b) 是非生化性或临床性的铜缺乏)给予患者一种铜螯合和/或其他铜值减少治疗方案, 目的是减少铜值的存在。

15 优选步骤(i)也包括参考(c)心功能。对患者可选择地和/或附加的益处可参考心功能来评价。

在另一个方面, 本发明包括治疗处于正在进展的, 怀疑有或具有实际的高血压性心肌病危险的人的一种方法, 该法含有或包括下列步骤:

(i) 根据以下对人进行分类:

20 (a) 是否高血压, 和/或(b)铜状态; 和

(ii) 给予患者一种铜螯合和/其他的铜值减少治疗方案, 目的是减少铜的存在, 同时优选保证患者没有或不发展为铜缺乏。

优选步骤(i)也包括参考(b)铜状态和/或(c)心功能之一或两者。

优选步骤(iii)就心功能而言, 是保证患者受益于铜螯合治疗方案的一个步骤。

25 在一个深入的方面, 本发明提供了治疗处于正在进展的, 怀疑有或具有实际的缺血性心肌病危险的人的一种方法, 该法含有或包括下列步骤:

(i) 根据以下对人进行分类:

(a) 是否遭受局部缺血, 和/或(b)铜状态; 和

30 (ii) 给予患者一种铜螯合和/其他的铜值减少治疗方案, 目的是减少铜的存在, 同时优选保证患者没有或不发展为铜缺乏。

仍然在另一个方面, 本发明提供了治疗处于正在进展的, 怀疑有或具有实际的心肌病危险的人的一种方法, 该法含有或包括下列步骤:

(i) 将人至少根据以下分类为候选患者:

35 (a) 是否患 II 型糖尿病, (IGT), 禁食葡萄糖异常和/或高血压性葡萄糖耐量异常, 和

(b)心功能, 和

(ii) 给予患者一种铜螯合和/或其他的铜值减少治疗方案，目的是减少铜的存在，同时优选保证患者没有或不发展为铜缺乏。

优选步骤(iii)就心功能而言，是保证患者受益于铜螯合治疗方案的一个步骤。

5 在一个深入的方面，本发明提供了治疗处于正在进展的，怀疑有或具有实际的(I)动脉，(II)动脉和冠状动脉和/或其他器官，和/或(III)心肌疾病危险的人或其他哺乳动物的一种方法，该法含有或包括下列步骤：

(i) 将人或其他哺乳动物分类为候选患者，和

(ii) 给予患者一种铜螯合和/或其他的铜值减少治疗方案，目的是减少铜的存在。

优选步骤(i)包括测定人或其他哺乳动物的铜状态。

10 就心脏和/或动脉功能而言，步骤(iii)是保证患者受益于铜螯合和/或其他铜值减少治疗方案的一个步骤。

优选能够减少患者铜值含量的一种或多种药剂，如果是螯合剂，与铜值的亲和力优于其他痕量金属(如铁，锌和/或锰)的值。优选与铜值的优势亲和力是超过正常健康哺乳动物核素大约 100%至大约 500%的过量铜，可被控制到正常水平或接近这种正常的水平，而不引起铁，锌和/或锰的耗竭或过多减少。

15 使用如在此所提到的优选螯合剂和合适的锌盐，可能从整体上在机体中选择性降低铜值，即使相信在细胞组织内铜值有少量的降低，也就是，减少主要在细胞外(例如间质，在细胞的外部和/或在胶原上)。

20 在另一个方面，本发明包括一种治疗方法，依赖于附属图表图 3 或 4 中的方法学。

在一个深入的方面，本发明包括一种治疗患 II 型糖尿病或葡萄糖耐量异常的人的一种方法，所述的人处于正在进展的，怀疑有或具有实际的心肌病的危险，该法含有或包括下列步骤，给予患者一种铜螯合治疗方案，目的是减少螯合铜在心脏中的存在，同时至少必要时已经监测和/或评价或监测患者避免铜缺乏。

25 优选患者已经分类保证患者如果铜缺乏，治疗方案不开始和/或不继续。

在一个深入的方面，本发明包括治疗患 II 型糖尿病或异常葡萄糖耐量的人，所述的人处于正在进展的，怀疑有或具有实际的大血管疾病的危险，该法含有或包括下列步骤，给予患者全身一种铜含量降低治疗方案。

优选如果患者铜缺乏，已经将患者分类以确保治疗方案不开始和/或终止。

30 仍然在一个深入的方面或一个优选方案，本发明包括治疗处于正在进展的，怀疑有或具有实际的心肌病相关心衰危险的人的一种方法，该法含有或包括下列步骤，减少这个患者的螯合和/或其他铜值的水平，优选不让该患者产生铜缺乏。

35 仍然在一个深入的方面，本发明包括治疗处于正在进展的，怀疑有或具有实际的动脉树大血管疾病危险的人的一种方法，该法含有或包括下列步骤，减少这个患者大血管壁中的螯合铜水平，不让该患者产生铜缺乏。

还是在另一个方面，本发明包括治疗处于正在发展的，怀疑有或具有实际的心

肌病危险的人的一种方法，该法含有或包括下列步骤：

(iii) 将该人归类为有正在进展的，怀疑有或具有实际的心肌病危险，和

(iv) 给予该患者一种铜螯合治疗方案，目的是减少铜的存在。

优选所述的铜螯合治疗方案进行监测以保证患者没有或不形成铜缺乏。

5 优选分类参考心功能的初始检查，当心功能低于正常时，患者被归类于铜螯合治疗方案中。

优选心功能的监测延续至铜螯合治疗方案中或超出之外。

优选所述的分类包括确定患者患有 II 型糖尿病或异常葡萄糖耐量。

10 优选所述的分类涉及在铜螯合治疗方案的任何开始或基本持续时间之前参考患者的铜状态，以保证患者没有或不形成铜缺乏。

在前面的任何一个步骤中，可出现下面的优选情况(任何一种，一些或全部)：

优选所述的化合物是一种铜螯合剂，在哺乳动物中它实际上没有能力产生显著量的自由基，也可在使用用药方案的哺乳动物中，在哺乳动物中不会将铜螯合至耗竭状态。

15 优选使用的是对于患典型铜超载的患者，具有将该患者的铜水平减少至正常的效应的一种较小用药方案。

优选使用的是不能或不减少患者正常铜水平至铜缺乏的一种用药方案(即：依赖于剂量单位和/或频率)。

优选的方案可与拮抗果糖胺氧化酶的方案一起应用(连续，同时或其他方式)。

20 优选的剂量单位是铜减少治疗方案的剂量单位。

治疗方案可与在 WO 00/18392 中公开的任何一种治疗方案一起使用。

优选所述的这种应用涉及药学可接受的稀释剂和/或载体。

优选的组合物可用于以前所定义的方法中。

本发明也包括来自任何应用的剂量单位。

25 本发明优选的形式现在根据下面图表中的任何一个或多个进行描述，

附图说明

图 1 是显示相信由本发明所提出的通路的图表。

30 图 2 是我们假设的用于 II 型糖尿病或葡萄糖耐量异常患者的心肌病和大血管病的机制，这样一种假设显示了可能依赖于的果糖胺氧化酶/超氧化物歧化酶，一种前体产生一种可产生有害自由基的铜催化反应(Haber-Weiss 反应)。

图 3 是根据本发明对怀疑患有心肌病的患者的方法学。

图 4 是图 3 的相似的图表，但此次涉及怀疑患有大血管病的患者。

图 5 是显示在试验期间动物体重改变的图表。

35 图 6 显示在试验期间改变的动物葡萄糖水平。

图 7 是显示心输出量的图表。

图 8 是显示冠脉血流量的图表。

图 9 是显示对最终心脏重量正常化的冠脉血流量的图表。

图 10 是显示主动脉血流量的图表。

图 11 是显示每个心动周期(收缩)心室中形成的压力最大正性变化速率的图表。

5 图 12 是显示每个心动周期(舒张)心室最大压力下降速率的图表。

图 13 显示了在每次后负荷功能残存心脏的百分比。

图 14 图解显示取出的心脏如何与改良的仪器连接在一起。

图 15 图解详细显示了图 14 中所绘心脏(图引用自 Grupp I 等人, *Am J Physiol* (1993) 34: H1401-1410)。

10 图 16 显示了糖尿病和非糖尿病动物对三乙撑四胺的增加剂量或等量盐水反应的尿液排泄量, 其中所述的对三乙撑四胺增加剂量(底部; 0.1, 1.0, 10, 100 mg.kg⁻¹ 在 75μl 盐水中, 然后在箭头显示的时间注射 125 μl 盐水冲洗)或等体积盐水(顶部)反应的糖尿病和非糖尿病动物尿液排泄量, 每个点代表 15 分钟的尿液收集时间(详见方法); 误差线显示 SEM, 如果差异显著就注 P<0.05。

15 图 17 显示了在接受增加剂量的三乙撑四胺或等体积盐水的非糖尿病和糖尿病大鼠中的尿液排泄量, 其中所述的接受增加剂量的三乙撑四胺(底部; 0.1, 1.0, 10, 100 mg.kg⁻¹ 在 75μl 盐水中, 然后在箭头显示的时间注射 125 μl 盐水冲洗)或等体积盐水的糖尿病(顶部)和非糖尿病大鼠(底部)的尿液排泄量, 每个点代表 15 分钟的尿液收集时间(详见方法); 误差线显示 SEM, 如果差异显著就注 P<0.05。

20 图 18 显示了在接受增加剂量的三乙撑四胺或等体积盐水的糖尿病和非糖尿病大鼠的尿铜排泄量, 其中所述的接受增加剂量的三乙撑四胺(0.1, 1.0, 10, 100 mg.kg⁻¹ 在 75μl 盐水中, 然后在箭头显示的时间注射 125 μl 盐水冲洗)或等体积盐水的糖尿病(顶部)和非糖尿病大鼠(底部)的尿铜排泄量, 每个点代表 15 分钟的尿液收集时间(详见方法); 误差线显示 SEM, 如果差异显著就注 P<0.05。

25 图 19 显示了图 18 中相同的信息, 表现了每克体重的尿铜排泄量, 其中所述的对增加剂量的三乙撑四胺(底部; 0.1, 1.0, 10, 100 mg.kg⁻¹ 在 75μl 盐水中, 然后在箭头显示的时间注射 125 μl 盐水冲洗)或等体积盐水(顶部)反应的糖尿病和非糖尿病动物每克体重的尿铜排泄量, 每个点代表 15 分钟的尿液收集时间(详见方法); 误差线显示 SEM, 如果差异显著就注 P<0.05。

30 图 20 显示了给予盐水或药物的非糖尿病和糖尿病动物中排泄的总铜量, 其中所述给予盐水(黑条, n = 7)或三乙撑四胺(阴影条, n = 7)的非糖尿病动物和给予盐水(灰条, n = 7)或三乙撑四胺(白条, n = 7)的糖尿病动物的总尿铜排泄量 (umol); 误差线显示 SEM, 如果差异显著就注 P<0.05。

35 图 21 显示了接受三乙撑四胺或盐水的动物中每克体重排泄的总铜量, 其中所述的是接受三乙撑四胺(非糖尿病: 阴影条, n = 7; 糖尿病: 白条, n = 7)或盐水(非糖尿病: 黑条, n = 7; 糖尿病: 灰条, n = 7)的动物中每克体重排泄的总尿铜排泄量

($\mu\text{mol.gBW}^{-1}$); 误差线显示 SEM, 如果差异显著就注 $P<0.05$ 。

图 22 显示了接受增加剂量的三乙撑四胺或等体积盐水的糖尿病和非糖尿病动物尿液中的铁排泄量, 其中所述的接受增加剂量的三乙撑四胺(0.1, 1.0, 10, 100 mg.kg^{-1} 在 75 μl 盐水中, 然后在箭头显示的时间注射 125 μl 盐水冲洗)或等体积盐水的糖尿病(顶部)和非糖尿病大鼠(底部)的尿铁排泄量, 每个点代表 15 分钟的尿液收集时间(详见方法); 误差线显示 SEM, 如果差异显著就注 $P<0.05$ 。

图 23 显示了接受三乙撑四胺或盐水的糖尿病和非糖尿病动物每克体重的尿铁排泄量, 其中所述的对增加剂量的三乙撑四胺(底部; 0.1, 1.0, 10, 100 mg.kg^{-1} 在 75 μl 盐水中, 然后在箭头显示的时间注射 125 μl 盐水冲洗)或等体积盐水(顶部)反应的糖尿病和非糖尿病动物每克体重的尿铁排泄量, 每个点代表 15 分钟的尿液收集时间(详见方法); 误差线显示 SEM, 如果差异显著就注 $P<0.05$ 。

图 24 显示了给予盐水或药物的非糖尿病和糖尿病动物的总尿铁排泄量, 其中所述给予盐水(黑条, $n=7$)或三乙撑四胺(阴影条, $n=7$)的非糖尿病动物和给予盐水(灰条, $n=7$)或三乙撑四胺(白条, $n=7$)的糖尿病动物的总尿铁排泄量 (μmol); 误差线显示 SEM, 如果差异显著就注 $P<0.05$ 。

图 25 显示了接受三乙撑四胺或盐水的动物中每克体重排泄的总尿铁排泄量, 其中所述的是接受三乙撑四胺(非糖尿病: 阴影条, $n=7$; 糖尿病: 白条, $n=7$)或盐水(非糖尿病: 黑条, $n=7$; 糖尿病: 灰条, $n=7$)的动物中每克体重排泄的总尿铁排泄量 ($\mu\text{mol.gBW}^{-1}$); 误差线显示 SEM, 如果差异显著就注 $P<0.05$ 。

图 26 比较接受三乙撑四胺或盐水的动物中铜和铁排泄量的图表, 这是采用混合线性模型的一种统计分析。

对结果的介绍

组织铜的增加已经被认为是引起糖尿病神经损害的机制。因此我们假设痕量金属的组织累积在其他组织中的糖尿病损害机制中具有一定作用。来自我们以前研究的组织学证据显示, 根据组织学的判断, 用三乙撑四胺治疗 6 个月似乎可保护糖尿病 Wistar 大鼠的心脏免受糖尿病损害(心肌病)的发展。在本研究中, 我们调查了要在尿中排泄铜和铁所需的三乙撑四胺的剂量, 也调查了这些金属在糖尿病和非糖尿病动物中排泄量之间的任何可能差异。

目的

1. 为了比较急性静脉输入增加剂量的三乙撑四胺后正常和糖尿病大鼠尿中铜和铁的排泄曲线。
2. 为了确定急性静脉输入三乙撑四胺没有急性的心血管副作用。

方法

在本研究中所使用的所有方法是由 Auckland 大学动物伦理委员会所批准的, 并符合新西兰动物保护法令和规章。

糖尿病的诱导

雄性 Wistar 大鼠($n = 28, 303 \pm 2.9$ g)被随机分成糖尿病和非糖尿病组。在麻醉诱导后(5%氟烷和 $21.\text{min}^{-1} \text{O}_2$), 糖尿病组的动物经尾静脉给药接受 0.5ml 盐水链脲酶素(STZ, $55\text{mg}.\text{kg}^{-1}$ 体重, Sigma; St. Louis, MO)的单次静脉用药。非糖尿病动物接受等体积的盐水。注射后, 糖尿病和非糖尿病大鼠以随意配对的方式圈养, 并提供正常大鼠食物(一餐 86 丸; New Zealand Stock Feeds, Auckland, NZ)任意给予去离子水。在 STZ/盐水注射后第 3 天测定血糖和体重, 然后在研究过程中每周进行一次。通过烦渴, 多尿和高血糖($> 11 \text{mmol}.\text{l}^{-1}$, Advantage II, Roche Diagnostics, NZ Ltd)来鉴别糖尿病。

10 试验步骤

给予 STZ 后 6 至 7 周(均数 = 44 ± 1 天), 动物进行对照或药物试验步骤。所有的动物在手术之前禁食过夜, 但持续任意给予去离子水。通过给予 3 - 5% 氟烷和 $21.\text{min}^{-1} \text{O}_2$ 诱导和维持手术麻醉。股动脉和静脉分别用固态血压传感器(Mikrotip™ 1.4F, Millar Instruments, Texas, USA)和充满盐水的 PE0 导管插管。通过腹中线切口暴露输尿管, 采用聚乙烯导管(外径 0.9mm, 内径 0.5mm)插管, 并缝合关闭伤口。气管插管, 以 70-80 次呼吸. min^{-1} 用添加 O_2 的空气给动物通气(压力控制呼吸机, Kent Scientific, Connecticut, USA)。调整呼吸速率和潮末期压力 (10-15 cmH_2O), 维持潮末期 CO_2 在 35-40 mmHg (SC-300 CO_2 监控器, Pryon Corporation, Wisconsin, USA)。在手术和实验过程中通过加热垫维持体温在 37°C 。通过以 $5 \text{ml}.\text{kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$ 的速率静脉输注 $154 \text{mmol}.\text{l}^{-1} \text{NaCl}$ 溶液来补充估计的液体损失量。

在手术和 20 分钟的稳定期后, 开始试验步骤。在 60 秒内静脉注入三乙撑四胺, 每小时增加剂量浓度(0.1, 1.0, 10 和 $100 \text{mg}.\text{kg}^{-1}$ 在 $75\mu\text{l}$ 盐水中, 然后用 $125 \mu\text{l}$ 盐水冲洗)。对照动物接受等体积的盐水。在试验过程中在预先称重的聚乙烯 epindorph 管中每 15 分钟的等分时间收集尿液。在试验结束时, 通过心脏穿刺获取末次血样本, 分离的血清储存在 -80°C 直至未来分析时。通过迅速开胸去掉心脏, 并如下进行处理。

数据采集

在试验过程中使用 PowerLab/16s 数据采集模块(AD Instruments, Australia)连续监测所有的平均动脉压(MAP), 心率(HR, 从 MAP 波形中获取), 氧饱和度(Nonin 8600V 脉搏氧饱和度仪, Nonin Medical Inc., Minnesota, USA)和核心体温。校准的信号显示在显示屏上, 并以每个变量的 2s 平均值存储至磁盘上。

尿液和组织分析

装置: 装备了 PE HGA-600 石墨熔炉和 PE AS-60 熔炉自动取样器的 Perkin Elmer(PE)3100 型原子吸收分光光度计用来进行尿液的 Cu 和 Fe 测定。使用氩本底校正。使用 Cu 或 Fe 空心阴极灯(Perkin Elmer Corporation) 并在 10 W (Cu)或 15 W (Fe) 进行操作。324.8 nm 原子谱线用于 Cu, 248.3 nm 原子谱线用于 Fe。Cu 和 Fe 的缝

隙宽度为 0.7nm。热分解性包被的石墨管用来进行所有的分析。注射体积为 20 μ L。
典型石墨熔炉温度程序如下所示。

GF-AAS 温度程序

步骤 <i>e</i>	Temp / °C	Ramp / s	Hold/s	Int. Flow / mL min ⁻¹
干燥	90	1	5	300
	120	60	5	300
预处理	1250*	20	10	300
	20	1	10	300
原子化-Cu / Fe	2300/2500	1	8	0
后处理	2600	1	5	300

5 * 使用 1050 °C 的预处理温度来进行组织消化分析

也在 Hill 实验室(Hamilton, New Zealand)使用 PE Sciex Elan-6000 或 PE Sciex Elan-6100 DRC ICP-MS 测定组织消化水解液中的 Cu, Fe 和 Zn。操作参数如下表所概括。

ICP-MS 的仪器操作参数

参数	值
10 感应耦合等离子体	
射频功率	1500W
氩等离子体气体流速	15 l.min ⁻¹
氩辅助气体流速	1.2 l.min ⁻¹
15 氩 nebuliser 气体流速	0.89 l.min ⁻¹
界面	
采样器锥体和节流口径	Ni / 1.1 mm
分离器锥体和节流口径	Ni / 0.9 mm
20 数据采集参数	
扫描模式	峰值跳跃
采样时间	30ms (Cu, Zn) / 100ms
(Fe)	
扫描/重复	20
25 重复次数	3
样品摄入速率	1 ml.min ⁻¹

有使用的试剂是现有的最高纯度，至少是分析极。Cu 和 Fe 的 GF-AAS 标准工作

溶液通过逐步稀释 $1000 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (Spectrosol 标准溶液; BDH)进行制备。水用 Millipore Milli-Q 超纯水系统进行纯化达到电阻系数为 $18 \text{ M}\Omega$ 。标准参考物质 1577b 牛肝从 National Institute of Standards and Technology 获得, 并用来评价组织消化的效率。获得的结果报告如下。

NIST SRM 1577b 牛肝的 GF-AAS 和 ICP-MS 结果*

元素 <i>t</i>	鉴定值	GF-AAS	ICP-MS
Cu	160±8	142±12	164±12
Fe	184±15	182±21	166±14
Zn	127±16	-	155±42

* 以 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 干燥物测定

5

样品预处理:

尿液 尿液收集在预先称重的 1.5ml 微检测管中(eppendorf)。重新称重后, 尿样本被离心, 上清液用 0.02 M 69% Aristar 级 HNO_3 稀释 25:1。在进行 GF-AAS 分析前样本储存在 4°C 。如果必须将样本储存超过两周的时间, 就要冷冻并保存在 -20°C 。

10 **心脏**:从动物中去除心脏后, 清除心脏的多余组织, 在缓冲液中冲洗去掉多余的血液, 吸干并记录心室湿重。使用钛器械, 一段左心室肌肉被切下, 并置于预先称重的 5.0 ml 聚苯乙烯管中。样本冻干过夜, 在加入 0.45 ml 69% Aristar 级 HNO_3 前持续称重。样本管在 65°C 水浴加热 60 分钟。样本用 Milli-Q H_2O 加至 4.5ml。得到的溶液以 2:1 稀释 HNO_3 浓度降至 ICP-MS 分析所允许的最大值以下。

15 **血清**: 末次血标本离心, 处理血清, 和每次的尿液储存起来直至分析。从末次血标本的血清中痕量金属含量, 和在试验最后一个小时收集的尿液, 采用下面的方程计算肾清除率:

$$\text{痕量金属的肾清除率 } (\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}) = \frac{\text{尿中的金属浓度}(\mu\text{g}\cdot\mu\text{l}^{-1}) * \text{尿流速率}(\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1})}{\text{血清中的金属浓度}(\mu\text{g}\cdot\mu\text{l}^{-1})}$$

20

统计分析

所有的值均表示均数±SEM, P 值 <0.05 被认为是有统计学显著性。最初采用 Student 非配对检验来检测糖尿病和对照组之间的体重和葡萄糖差异。为了在药物暴露期间比较反应, 采用方差分析来进行统计学分析(Statistica for Windows v.6.1, SAS Institute Inc., California, USA)。随后采用混合模型重复测量的 ANOVA 设计进行统计学分析。

采用混合线性模型的统计学分析

30 每个剂量水平的数据采用混合线性模型(PROC MIXED; SAS, Version 8)进行分析。模型包含糖尿病, 药物, 其相互作用作为固定作用, 时间作为重复测量指标, 大鼠作为数据集的受试者。假设在受试者之间是具有完全独立性的。整个

模型采用最大似然估计法(REML)将每个数据集拟合为混合线性模型(即, 固定和随机效应模型)。混合模型是标准线性模型的广泛化, 广泛化就是你可以分析从几个变量来源而不是仅仅一个产生的数据。对所有检验使用 0.05 的显著性水平。

结果

5 STZ 对血糖和体重的效应 (表 1)

在注射 STZ 后三天血糖增加至 $25 \pm 2 \text{ mmol.l}^{-1}$ 。尽管每天摄取的食物更多, 在 STZ/盐水注射后 44 天中, 糖尿病动物的体重仍然丢失, 同时非糖尿病动物的体重持续增加。在试验日糖尿病和非糖尿病动物的血糖水平分别为 24 ± 1 和 $5 \pm 0 \text{ mmol.l}^{-1}$, 体重分别为 $264 \pm 7 \text{ g}$ 和 $434 \pm 9 \text{ g}$ 。

10

	糖尿病	非糖尿病
STZ/盐水之前的体重	$303 \pm 3 \text{ g}$	$303 \pm 3 \text{ g}$
STZ/盐水后 3 天的血糖	$*25 \pm 2 \text{ mmol.l}^{-1}$	$5 \pm 0.2 \text{ mmol.l}^{-1}$
每天的食物消耗	$*5.8 \pm 1 \text{ g}$	$2.8 \pm 1 \text{ g}$
试验日的血糖	$*24 \pm 1 \text{ mmol.l}^{-1}$	$5 \pm 0.2 \text{ mmol.l}^{-1}$
试验日的体重	$*264 \pm 7 \text{ g}$	$434 \pm 9 \text{ g}$

表 1. 糖尿病与非糖尿病动物血糖, 体重和食物消耗的比较

糖尿病动物 $n = 14$, 非糖尿病动物 $n = 14$ 。数值显示为均数 \pm SEM。星号表示有显著性差异($P < 0.05$)。

输注过程中的心血管变量

15 在输注前的对照期 MAP 的基线水平在非糖尿病和糖尿病动物之间的差异不显著 ($99 \pm 4 \text{ mmHg}$)。糖尿病的 HR 显著低于非糖尿病动物(分别为 287 ± 11 和 $364 \pm 9 \text{ bpm}$, $P < 0.001$)。除了在最高剂量, 输注三乙撑四胺或盐水对这些变量无作用, 其中 MAP 在给药后 2 分钟降至最大 $19 \pm 4 \text{ mmHg}$, 10 分钟内返回用药前水平。在整个试验中在所有动物中体温和氧饱和度保持稳定。

20 尿液排泄

除了对最高剂量药物 (100 mg.kg^{-1}) 或等体积盐水的反应以外, 糖尿病动物排泄的尿量一直显著高于非糖尿病动物(图 16)。给予 100 mg.kg^{-1} 剂量的三乙撑四胺也可增加非糖尿病动物的尿排泄量, 高于接受等体积盐水的非糖尿病动物(图 17)。这种效应在糖尿病动物中未观察到。

25 Cu 和 Fe 的尿排泄

剂量反应曲线分析显示, 在所有的剂量, 接受药物的糖尿病和非糖尿病动物排泄的 Cu 较接受等体积盐水的动物多(图 18)。为了对糖尿病动物较慢的全身生长效应提供一些校正, 并因此可使糖尿病和非糖尿病动物之间进行更适合的比较, 痕量元素的排泄也根据每克体重来计算。图 19 显示糖尿病动物对每个药物剂量反应每克
30 体重排泄的铜明显高于非糖尿病动物。相同的模式在对盐水的反应中也观察到, 但

效应并不总是明显的。

在整个试验期间，给予三乙撑四胺的非糖尿病和糖尿病动物排泄的总铜较其分别的盐水对照相比是显著增加的(图 20)。接受药物的糖尿病动物较接受药物的非糖尿病动物每克体重排泄的总铜也较多。相同的显著性趋势也见于对给予盐水的反应中(图 21)。

盐水的量(图 22)。每克体重的分析显示接受盐水的糖尿病动物较非糖尿病动物排泄的铁显著地多，但这种趋势在接受三乙撑四胺的糖尿病和非糖尿病动物中并不明显(图 23)。在接受药物的糖尿病和非糖尿病动物中总铁的排泄量予接受盐水的动物不同(图 24)。与剂量反应曲线分析一致，每克体重的总铁排泄量接受盐水的糖尿病动物显著高于非糖尿病动物，但这种差异未见于对三乙撑四胺的反应中(图 25)。

Cu 和 Fe 的血清含量和肾清除率(表 2)

接受药物的糖尿病动物和接受盐水的糖尿病动物相比尽管血清铜含量没有明显的差异，但肾清除率有明显的增加。相同的模式可见于非糖尿病动物，尽管这种趋势在统计学上不显著($P = 0.056$)。药物或状态(糖尿病与非糖尿病相比)对血清铁或铁的肾清除率没有作用。

表 2. 接受药物或盐水的糖尿病和非糖尿病动物中 Cu 和 Fe 的血清含量和肾清除率

	1.1.a.a.1 糖尿病		1.1.a.a.2 非糖尿病	
	三乙撑四胺 $n = 6$	盐水 $n = 7$	三乙撑四胺 $n = 4$	盐水 $n = 7$
血清 Cu ($\mu\text{g}\cdot\mu\text{l}^{-1} \times 10^{-4}$)	7.56 ± 0.06	9.07 ± 1.74	7.11 ± 0.41	7.56 ± 0.62
血清 Fe ($\mu\text{g}\cdot\mu\text{l}^{-1} \times 10^{-4}$)	35.7 ± 7.98	63.2 ± 16.4	33.6 ± 1.62	31.4 ± 8.17
Cu 的肾清除率 ($\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$)	*28.5 ± 4.8	1.66 ± 0.82	19.9 ± 6.4	0.58 ± 0.28
Fe 的肾清除率 ($\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$)	0.25 ± 0.07	0.38 ± 0.15	0.46 ± 0.22	0.11 ± 0.03

数值显示为均数 ± SEM。星号表示在接受三乙撑四胺的糖尿病动物和接受等体积盐水的糖尿病动物之间有显著性的差异 ($P < 0.05$)。

心脏组织的金属含量(表 3)

糖尿病动物心脏湿重显著小于非糖尿病动物，同时心脏/体重比例增加。也分析心脏组织的 Cu 和 Fe 含量。在接受盐水或三乙撑四胺的糖尿病和非糖尿病动物之间铜含量没有显著的差异。给予盐水的非糖尿病动物的铁含量显著高于给予盐水的糖尿病动物。

表 3: 糖尿病和非糖尿病动物心脏重量，心脏重量/体重比例和心脏组织的痕量金属含量的比较

	糖尿病	非糖尿病
心脏湿重	*0.78 ± 0.02 g	1.00 ± 0.02 g
心脏重量/体重	*2.93 ± 0.05 mg.g ⁻¹	2.30 ± 0.03 mg.g ⁻¹
Cu 含量 μg.g ⁻¹ 干组织		
三乙撑四胺治疗	24.7 ± 1.5	27.1 ± 1.0
盐水治疗	21.3 ± 0.9	27.2 ± 0.7
Fe 含量 μg.g ⁻¹ 干组织		
三乙撑四胺治疗	186 ± 46	235 ± 39
盐水治疗	¶180 ± 35	274 ± 30

糖尿病动物: n = 14; 非糖尿病动物: n = 14。数值显示为均数± SEM。星号表示在糖尿病和非糖尿病动物之间有显著的差异(P < 0.05)。 ¶表示在接受盐水的糖尿病和非糖尿病动物之间有显著的差异(P < 0.05)。

1.1.a.a.2.1 混合线性模型应用于试验分析的结果(图 27).

5 铜

在所有剂量水平糖尿病大鼠排泄的铜水平明显高于非糖尿病大鼠。糖尿病大鼠与非糖尿病大鼠相比基线铜排泄水平也明显较高。在所有剂量水平药物与盐水相比可引起更显著的铜排泄。在药物和盐水组铜排泄的基线水平无差异。在 1.0 mg.kg⁻¹ 剂量水平和上述的水平模型的相互作用是很显著的。显著相互作用的存在表明一种效应的影响随其他效应的水平而变化。因此，糖尿病和药物因素之间显著相互作用的结果是铜的排泄增加超过预计的这两种因素的相加效应。

铁

仅在盐水组中的糖尿病大鼠在所有剂量水平排泄的铁水平明显较高。这导致了模型的所有因素在所有剂量水平均是显著的。

15 概述

静脉给予三乙撑四胺对心血管系统和尿铜和铁排泄的急性作用在麻醉的糖尿病(链脲霉素诱导的 6 周糖尿病)和非糖尿病大鼠中进行研究。动物被分配为四组之一: 糖尿病 + 三乙撑四胺, 糖尿病 + 盐水, 非糖尿病 + 三乙撑四胺, 非糖尿病 + 盐水。每小时以增加浓度(0.1, 1.0, 10, 100 mg.kg⁻¹)的剂量给予药物, 或等体积盐水, 在试验过程中每 15 分钟收集尿液。获取末次血标本和心脏组织。

尿标本的分析显示下列的主要观点:

- 在所有药物剂量下, 接受药物的糖尿病和非糖尿病动物排泄的 Cu(μmol) 高于接受等体积盐水的动物。
- 当以每克体重被分析时, 在每个剂量的三乙撑四胺, 糖尿病动物排泄的铜 (μmol.gBW⁻¹) 显著高于非糖尿病动物。相同的模式也见于对盐水的反应单这种作用在每个剂量并不显著。

- 在大多数剂量下，在糖尿病动物中铁的排泄(μmol)，给予盐水的动物高于给予药物的动物。在非糖尿病动物中，对应用盐水和三乙撑四胺反应的铁排泄量之间无差异。
 - 每克体重的分析显示在接受三乙撑四胺的非糖尿病和糖尿病动物的铁排泄量之间无差异。接受盐水的糖尿病动物每克体重排泄的铁高于接受盐水的非糖尿病动物。
 - 心脏组织的分析显示在糖尿病和非糖尿病动物之间的总铜含量无显著差异，药物对心脏铁和铜的含量也无作用。
 - 肾清除率的计算显示接受三乙撑四胺的糖尿病动物与接受盐水的糖尿病动物相比铜的清除率显著增加。相同的趋势见于非糖尿病动物，但效应不显著。三乙撑四胺对铁的肾清除率无作用。
- 10 总之，在急性输入三乙撑四胺后没有观察到心血管副作用。三乙撑四胺的治疗可有效地增加糖尿病和非糖尿病动物的铜排泄量。在应用三乙撑四胺后糖尿病动物每克体重尿铜的排泄量高于非糖尿病动物。在糖尿病或非糖尿病动物中三乙撑四胺的治疗并不增加铁的排泄。
- 15

三乙撑四胺 (trientine) 恢复 STZ 糖尿病大鼠心功能的功效

介绍

组织铜的增加已经被认为是引起糖尿病神经损害的机制。因此我们假设痕量金属的组织累积在其他组织中的糖尿病损害机制中具有一定作用。来自我们以前研究的组织学证据显示, 根据组织学的判断, 用三乙撑四胺治疗 6 个月似乎可保护糖尿病 Wistar 大鼠的心脏免受心脏损害(糖尿病性心肌病)的发展。但这种组织血改善是否转化为心功能的改善还不清楚, 这个发现将进一步支持在临床应用中使用三乙撑四胺治疗。

10 目的

本研究的目的是使用单独工作的啮齿类动物心脏模型来比较三乙撑四胺治疗和非治疗的 STZ 糖尿病和正常大鼠的心功能。

方法

动物

15 在这些试验中使用的动物所接受的护理符合"实验室动物护理原则"(国家医学研究学会), 研究受 Auckland 大学动物伦理学委员会批准。

重 330-430g 的雄性 albino Wistar 大鼠如下分配为四个试验组:

试验组

组	代码	N	治疗
组 A	STZ	8	糖尿病 13 周
组 B	STZ/D7	8	糖尿病 13 周 (药物治疗第 7-13 周)
组 C	假手术	9	非糖尿病对照
组 D	假手术/D7	11	非糖尿病对照 (药物治疗第 7-13 周)

STZ = 链脲霉素

D7 = 三乙撑四胺连续治疗 7 周, 从开始试验后 6 周开始。

20

通过静脉输入链脲霉素(STZ; Sigma; St. Louis, MO)诱导糖尿病。所有大鼠短暂吸入麻醉(诱导: 5% 氟烷和 2L/min 氧, 以 2% 氟烷和 2L/min 氧维持)。被分配在两个糖尿病组的大鼠然后通过单次静脉快速注射经尾静脉给予 0.5ml 0.9% 盐水中的 STZ (57mg/kg 体重)。非糖尿病伪动物单独接受等体积 0.9% 盐水。糖尿病和非糖尿病大鼠以随意配对的方式圈养, 并提供正常大鼠食物(一餐 86 丸; New Zealand Stock Feeds, Auckland, NZ)任意给予去离子水。每笼有两个水瓶以保证每个动物有同等接触水或药物的机会。动物在 21°C 和 60% 的湿度在每天更换锯末地板的标准鼠笼中进行圈养。测定尾尖毛细血管血标本(Advantage II, Roche Diagnostics, NZ Ltd)的血糖。在当天同

一时间对所有组进行采样。在 STZ 或盐水注射后第 3 天测定血糖和体重，然后在研究过程中每周进行一次。通过烦渴，多尿和高血糖($> 11 \text{ mmol.l}^{-1}$)来证实糖尿病。

在药物处理糖尿病组，三乙撑四胺在每个笼的饮用水中以 50mg/L 的浓度进行预处理。一旦形成糖尿病，每只动物每天消耗大约 260ml 水，产生的每只动物每天总用药剂量大约为 13mg。含有三乙撑四胺的饮用水从第 7 周开始连续给予直至在第 13 周末被处死。在假手术/D7 非糖尿病组，每天的饮水少于糖尿病动物，在其饮用水中的药物浓度每周调整以便它们与对应的 STZ/D7 组大约消耗相同的剂量。我们初步的研究和单独的报道(Rodrigues B 等人, Diabetes (1988) 37(10): 1358-64)已显示这些糖尿病动物在开始将药物给予这组时已经形成了心肌病。

在试验的最后一天，动物被麻醉(5%氟烷和 $2\text{L.min}^{-1} \text{ O}_2$)，经尾静脉给予肝素(500 IU.kg^{-1}) (Weddel Pharmaceutical Ltd., London)。然后从下腔静脉抽取 2ml-血样本，然后迅速切除心脏，并浸泡在冰-冷的 Krebs-Henseleit 碳酸氢盐缓冲液中以抑制收缩性。然后将心脏置于隔离的心脏灌注器中。

15 灌注

心脏的主动脉根立即结扎在灌注器的主动脉套管上。在流体静水压为 $100\text{cmH}_2\text{O}$ 和 37°C 下进行逆行(Langendorff)灌注，并持续 5 分钟，同时通过肺静脉完成左心房的插管。然后将灌注缓冲液从主动脉向左心房以 $10\text{cmH}_2\text{O}$ 的充盈压开放，非工作(Langendorff)标本转变为工作的心脏模型。左心室自然地以 $10\text{cmH}_2\text{O}$ 的充盈压向左心房开放。左心室自然地以 $76 \text{ cmH}_2\text{O}$ (55.9mmHg)的流体静水压(后负荷)射入主动脉插管中。灌注缓冲液是 Krebs-Henseleit 碳酸氢盐缓冲液(mM: KCl 4.7, CaCl_2 2.3, KH_2PO_4 1.2, MgSO_4 1.2, NaCl 118, 和 NaHCO_3 25), pH 7.4 含有 11mM 葡萄糖，并连续地用 95% O_2 :5% CO_2 吹气。缓冲液也连续地在线过滤(最初 $8\mu\text{m}$ ，然后是 $0.4\mu\text{m}$ 醋酸纤维素滤膜; Sartorius, Germany)。整个灌注仪器的温度通过水套维持，缓冲液的温度连续地被监测，并通过灌注调整维持心脏在 37°C 。

压力监测和调幅

一只改良的 24g 塑料静脉插管(Becton Dickson, Utah, USA)采用标准的导入针经心尖插入进左心室中。这个插管随后与 SP844 压电压力传感器(AD Instruments, Australia)连接以连续地监测左心室压力。主动脉压通过与压力传感器(Statham Model P23XL, Gould Inc., CA, USA)连接的主动脉插管侧臂被连续监测。心脏以 300bpm 的速率通过与主动脉和肺静脉插管连接的电极，使用阈值上电压从方波发生器以 5ms 持续时间的脉冲被调幅(Digitimer Ltd, Heredfordshire, England)。

35 主动脉血流量的测定

主动脉血流量通过一个在线流量计数器来进行记录(Transonic T206, Ithaca, NY,

USA)冠状动脉血流量通过在试验步骤的每个时间点 30 秒定时收集冠状动脉静脉流出物而测定。

心脏工作装置

- 5 这种心脏工作装置是最初由 Neely JR 等人, (1967) Am J Physiol, 212: 804-14 所描述的仪器的变化体。我们改良的仪器可允许在不同的前负荷压力下测量心功能(图 14 和图 15)。这可通过构造装置而实现, 这样朝向心脏的缓冲液流入高度将可以可重复的方式通过一系列渐进的步骤来改变。如在前负荷的情况下, 主动脉的流出管在高度上也可增加以提供一系列确定的后负荷压力。为了与已公布的习惯一致, 为在结果中表示, 后负荷高度已转换为 mmHg。

数据采集

采集所有来自压力传感器和流量探头的数据(Powerlab 16s 数据采集器; AD Instruments, Australia)。这种装置的数据处理功能被用来计算两个压力波(心室和主动脉)的第一个导数。最后得到的心功能数据包括:

- 15 心输出量*; 主动脉流量; 冠状动脉流量; 形成的左心室/主动脉压峰值; 心室压最大速率发生 (+dP/dt)**; 心室压舒张的最大速率(-dP/dt)**; 主动脉压最大速率发生(主动脉+dP/dt); 主动脉舒张的最大速率(主动脉-dP/dt)。

[*心输出量(CO)是由心脏在每个单位时间泵出的缓冲液量, 由泵出主动脉和泵进冠状动脉血管中的缓冲液组成。这是心功能的总体指示器。

- 20 ** +dP/dt 是心室(或主动脉压)的改变速率, 与心室的收缩强度(收缩性)良好相关。它可用来比较在相同的前负荷时不同心脏的收缩能力(医学生理学的教科书, Ed. A.Guyton. Saunders company 1986)。 -dP/dt 是公认的心室舒张率的测量指标]。

实验步骤

- 25 试验分为两部分, 第一部分具有“固定的后负荷”和“可变的前负荷”, 紧跟着第一部分的第二部分具有“固定的前负荷”和“可变的后负荷”。

I) 固定的后负荷和改变的前负荷

- 在完成最初的插管后, 心脏最初可在 10cmH₂O 动脉充盈压和 76cmH₂O 后负荷下平衡 6 分钟。在这个期间, 插入左心室压力传感器插管, 调幅单位开始。一旦心脏稳定, 动脉充盈压则减少至 5cm H₂O 水柱, 然后在一系列的 7 个步骤中每步增加 2.5cmH₂O 进行性地增加至最大 20cmH₂O。在每个充盈压下前负荷维持 2 分钟, 期间压力迹线观察至稳定, 并测量冠状动脉血流量。在完成可变的前负荷试验时, 立即开始进行试验的可变后负荷部分。

II) 固定的前负荷和改变的后负荷

- 35 在试验的这一部分期间, 充盈压(前负荷)设定在 10cm H₂O, 然后后负荷从 76cm H₂O (55.9 mmHg)以每步 8cm H₂O (5.88mmHg)增加; 每步的持续时间为 2 分钟。每

个单独的心脏最终处于的最大高度(后负荷)可通过达到最大后负荷高度 145cm H₂O (106.66 mmHg)或主动脉血流量变为 0ml/min 时测定的高度而测定。在后者的情况下,心脏被认为“功能衰竭”。为了保证这种衰竭是真正功能性的,不是由于其他原因引起的(如,持续的缺血或瓣膜损害)所有心脏被返回至初始灌注条件(前负荷 10cm H₂O; 后负荷 75 cm H₂O) 4 分钟以证明泵功能被恢复。

在本期结束时,心脏被逆向输注 4ml 冷 KCL (24mM)而被停止运动。心房和血管残余物然后被切除,心脏被吸干和称重。心室在心尖和房室沟之间的中线被切开。采用千分尺(Absolute Digimatic, Mitutoyo Corp, Japan)测量心室壁厚度。

10 分析

通过将试验步骤中每步产生的电子示踪稳定部分的 1 分钟间隔平均,选取来自 Powerlab 的数据。然后来自每组的结果合并,分析组间多种心功能参数的差异(心输出量,左心室+/-dP/dt)。

研究在不同前负荷条件下重复观察间的差异,并采用混合模型方法对重复的测量值在研究组间进行对比(SAS v8.1, SAS Institute Inc, Gary NC)。采用最大似然法输入遗漏随机数据。采用 Tukey 法进一步检验显著性均数和相互作用效应以保持对事后检验的配对 5%误差率。所有检验均是双尾的。采用 Proc Lifetest (SAS V8.2)完成生存率分析。使用单向方差分析来检验不同权重参数的组间差异。Tukey 检验被用来比较每组和另一组。

20 结果

动物

在试验结束时,糖尿病动物大约较其对应年龄的配对正常动物小 50%。在试验期结束时动物的重量可见表 4。

表 4. 初始和最终的动物体重(均数 ± SD)

	数量(n)	治疗	初始重量 (g)	最终重量 (g)
组 A	8	STZ	361 ± 12	221 ± 27 [*]
组 B	8	STZ/D7	401 ± 33	290 ± 56 [*]
组 C	9	假手术	361 ± 16	574 ± 50
组 D	11	假手术/D7	357 ± 7	563 ± 17

25

*P < 0.05

每个试验组重量变化百分比的图形见图 5, 其中所述的箭头表示三乙撑四胺治疗的开始。

糖尿病状态

图 6 中表示了四组大鼠的血糖值。通常，在注射 STZ 后 3-5 天糖尿病形成和被证实。假手术和假手术/D7 对照组在整个试验过程中均保持为血糖正常。每个治疗组与其各自合适的未处理比较组相比，用药物治疗对血糖曲线($p=ns$)的影响无差异。

5 心重量

表 5 中显示了最终的心重量和心室壁厚度。在糖尿病动物中治疗在“心:体重”比例方面产生了很小但显著的改善。在治疗的糖尿病和未治疗的糖尿病相比中，有“心室壁厚度:体重”比例改善的趋势，但这种趋势并未达到显著性。

表 5 最终的心重量(g)和每克动物体重(BW) (均数± SD)

		壁厚度(mm)	per BW(mm)/(g)
假手术	1.58±0.13 [§]	0.0028±0.0002 [§]	3.89±0.38 [§]
STZ/D7	1.18±0.24]ns	0.0041±0.0005]*	3.79±0.52]ns
STZ	1.03±0.17]]*	0.0047±0.0004]*	3.31±0.39]ns
假手术/D7	1.58±0.05 [§]	0.0028±0.0001 [§]	4.03±0.1 [§]

10 * P<0.05

§ = 与 STZ 和 STZ/D7 组有显著性 $p<0.05$

I 部分结果

图 7 至 12 的下列图形代表了动物在经历动脉充盈压增加(5-20 cmH₂O, 前负荷)和恒定后负荷 75cm H₂O (55.9 mmHg)时的心功能参数。所有的结果均为均数±sem。
 15 在每个图形中为了清晰，如果未另外说明，仅显示涉及 STZ/D7 与其他组的显著性差异：*表示对 STZ v STZ/D7 $p<0.05$, #表示对 STZ/D7 v 假手术/D7 $p<0.05$, 如果未说明，STZ/D7 v 假手术或假手术/D7 不是显著的。心输出量(图 7)是主动脉血流量(图 10)和冠状动脉血流量的总和，显示在图 8 中。由于对照心脏和实验组有显著性不同的最终重量，冠状动脉血流量也表示(图 9)为对心脏重量标准化的血流量[注意冠
 20 状动脉血流量通常与心肌质量成比例，因此与心脏重量成比例]。

压力曲线的第一个导数给出了每个心动周期中心室压力形成中的变化率，最大正性变化率 (+dP/dt)的值在图 11 中进行作图。对应的最大舒张率(-dP/dt)在图 12 中。从主动脉压插管中得到的数据发现了显示心功能改善的相似结果(结果未显示)。

II 部分结果

25 在恒定的前负荷和增加后负荷的条件下，评价心脏应对附加后负荷工作的能力。功能性存活的图表，也就是在每个后负荷残存心脏的数量仍然具有的高于 0ml/min 的主动脉输出量见图 13 和表 6。

表 6. 在每个后负荷压的心脏存活率

30 存活的数量

(主动脉血流量>0mls/min)

每个后负荷时的运转百分比

后负荷 (mmHg)	STZ	STZ/D7	假手术	假手术/D7	STZ	STZ/D7	假手术	假手术/D7
55.9	8	8	9	11	100%	100%	100%	100%
61.8	8	8	9	11	100%	100%	100%	100%
67.7	8	8	9	11	100%	100%	100%	100%
71.4	6	8	9	11	75%	100%	100%	100%
77.2	5	8	9	11	63%	100%	100%	100%
83.1	4	7	9	11	50%	88%	100%	100%
88.3	3	7	9	11	38%	88%	100%	100%
94.9	1	5	9	11	13%	62.5%	100%	100%
100.8	0	3	9	11	0%	37%	100%	100%
106.7	0	1	9	9	0%	13%	100%	82%

概述

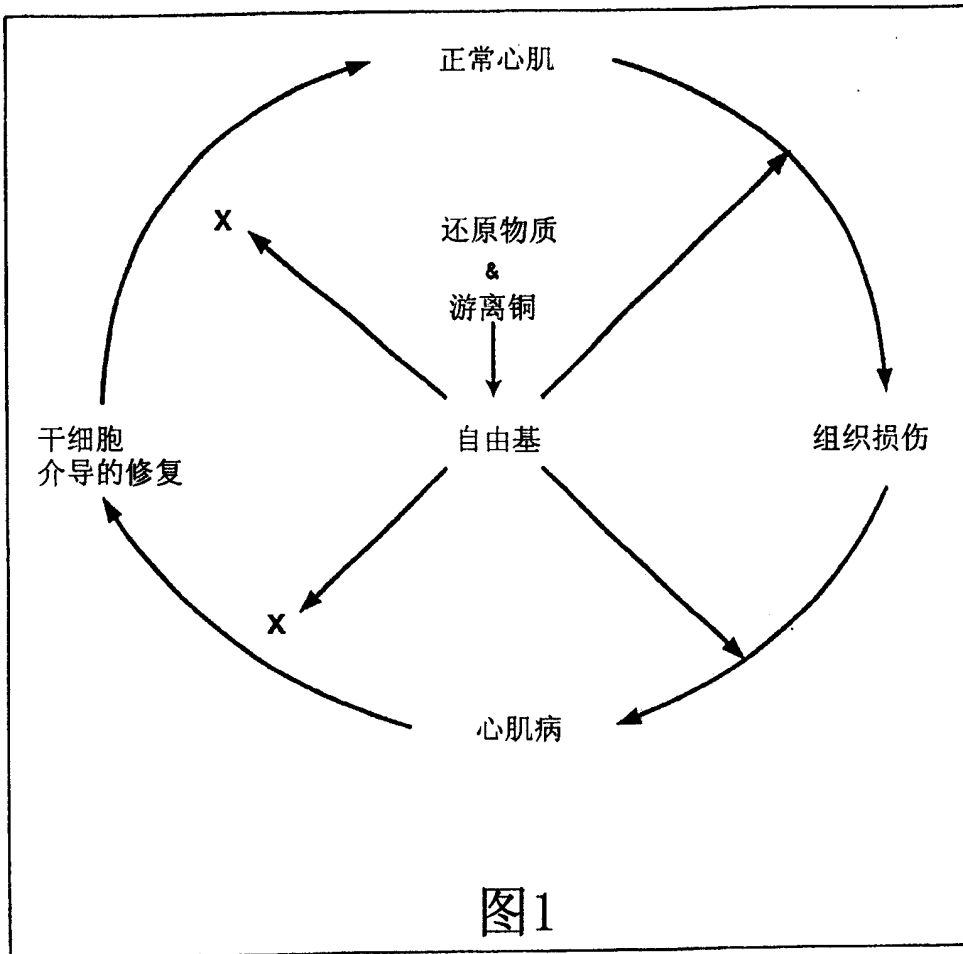
- 用三乙撑四胺治疗对两个糖尿病组中的血糖浓度没有显著的影响(如预期)。
- 5 □ 与未治疗的糖尿病组相比三乙撑四胺治疗的糖尿病组中(心脏重量)/(体重)比例有很小但显著的改善。
 - 当前负荷增加,同时后负荷保持恒定,心输出量恢复至假手术值。主动脉和绝对的冠状动脉血流量在药物治疗组都改善了。
 - 心室收缩和舒张的指标在药物治疗组和未治疗糖尿病组都是显著改善的,两组相比为相当的数值。这种改善恢复功能的程度在药物治疗和假手术对照组之间无显著的差异。
 - 主动脉传感器对压力改变的测定值也显示药物治疗的糖尿病组与未治疗的糖尿病(数据未显示)相比功能有改善。
 - 当在前负荷恒定时后负荷增加,观察到药物治疗糖尿病组与未治疗糖尿病组相比在更高的后负荷下心脏工作的能力有极大地改善。当未治疗的糖尿病心脏超过50%衰竭时,约90%的三乙撑四胺治疗的糖尿病心脏仍然在工作。
 - 与未治疗的糖尿病心脏相比较,药物治疗的糖尿病心脏的反应显示在几种变量上有显著的改善:心输出量,主动脉血流量,冠状动脉血流量,以及心室收缩和舒张指数。药物对正常动物的治疗对心脏功能无副作用。

20 结论:

这些以前的数据表明用三乙撑四胺治疗 STZ 糖尿病大鼠可极大地改善心功能的几个测量指标。

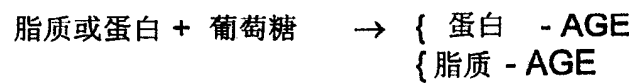
结论:

- 25 在既往形成6周时间的糖尿病 Wistar 大鼠中口服三乙撑四胺7周可在对心功能引起整体性的改善。这种改善可通过改善的收缩功能(+dP/dT)和心室刚性降低(-dP/dT)而证明。三乙撑四胺治疗糖尿病心脏耐受后负荷增加的总体能力也基本上被改善。

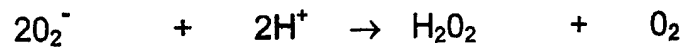


假设

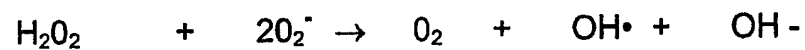
1. 糖氧化产物离子 (AGE*形成)



2. 超氧化物歧化酶



3. Haber-Weiss 反应 (铜盐催化剂)



*AGE = 高级糖基化终产物

图2

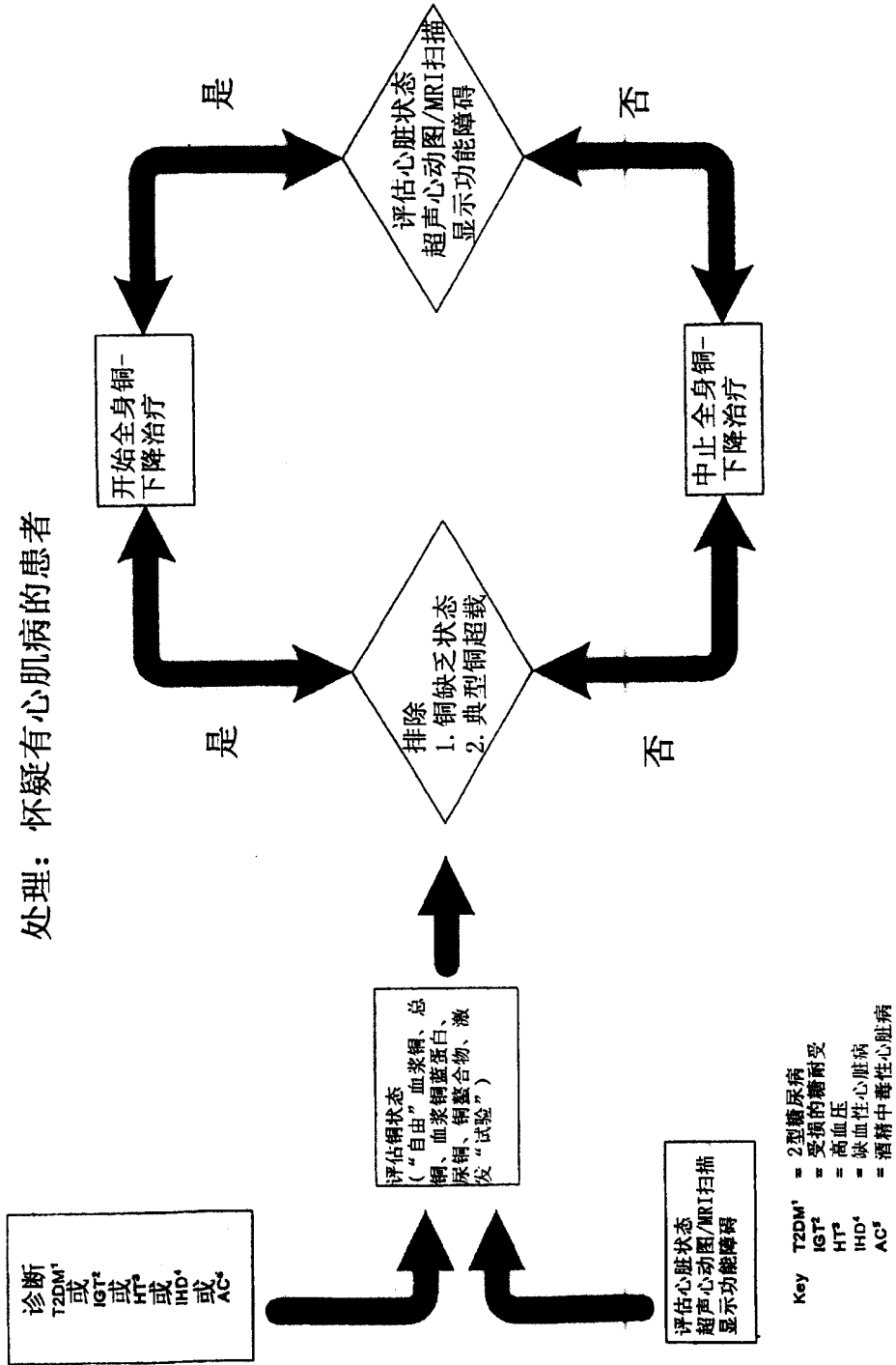


图3

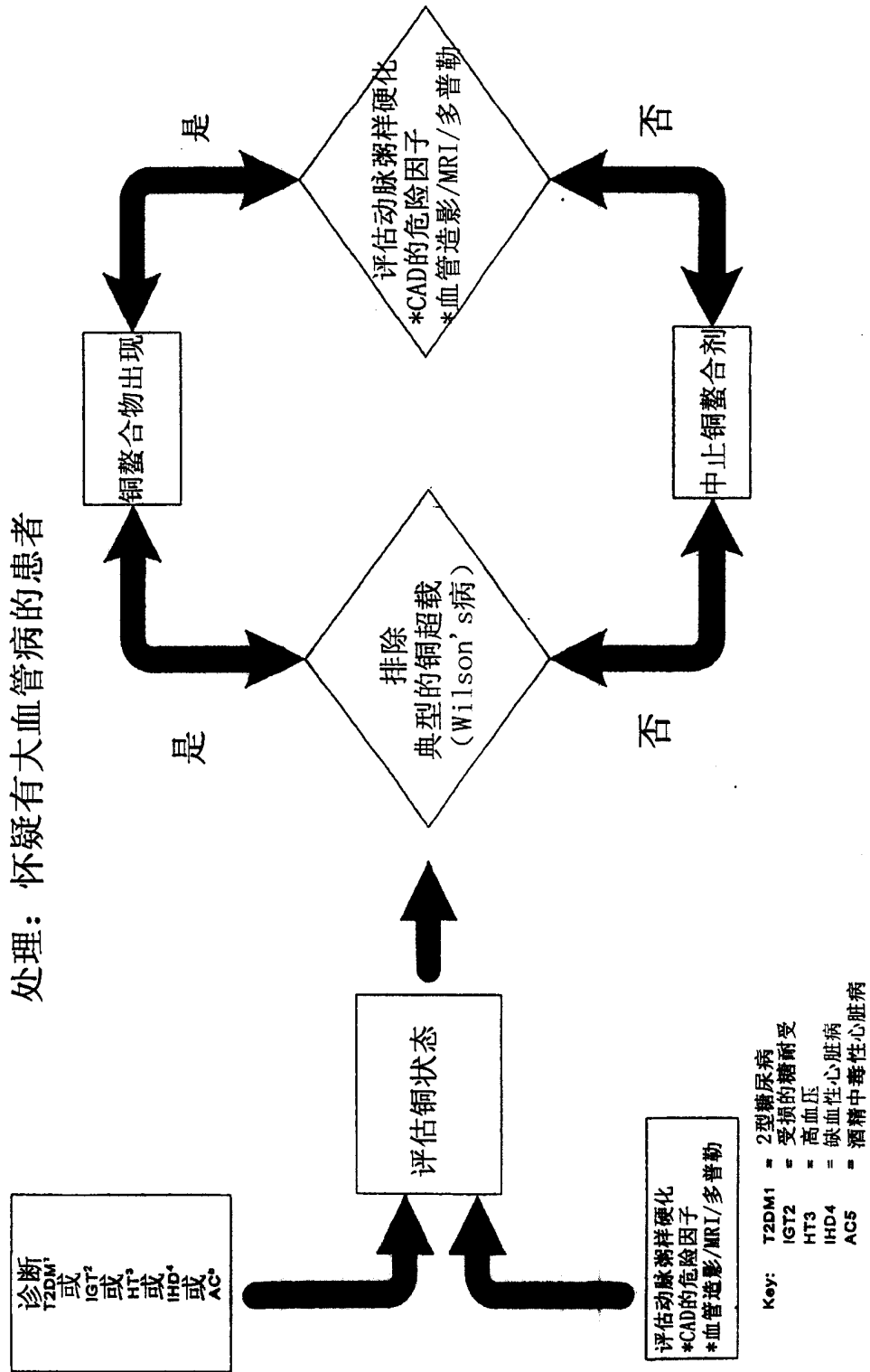


图4

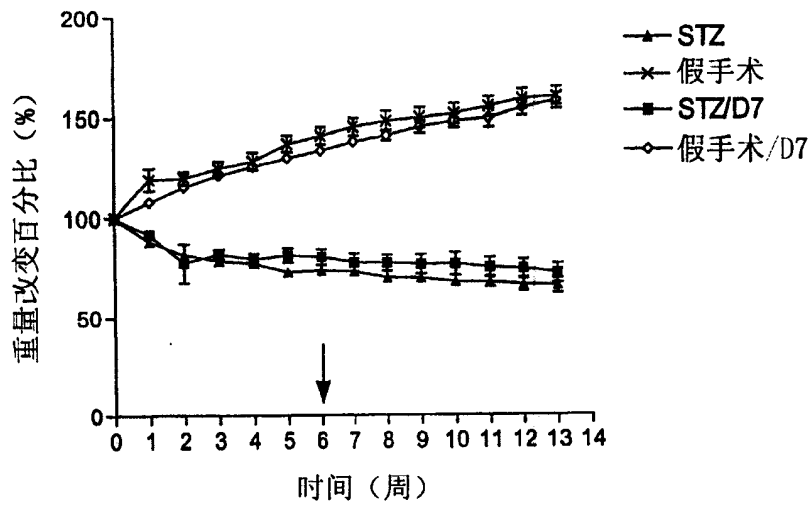


图5

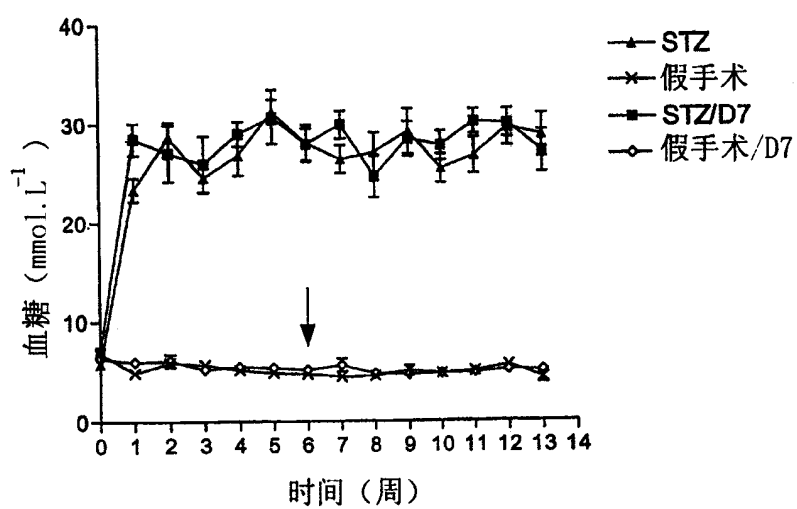
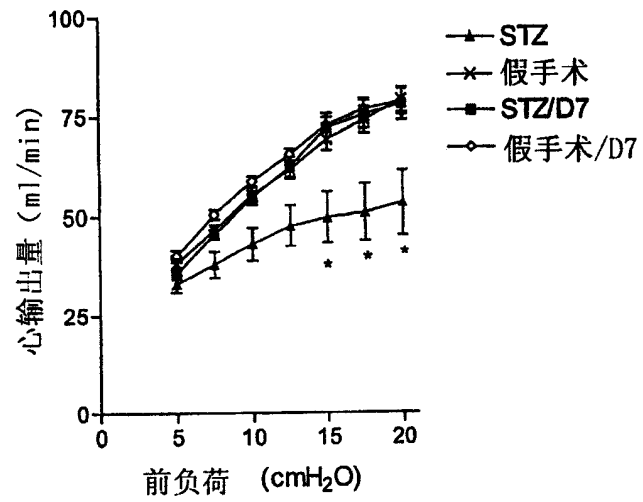
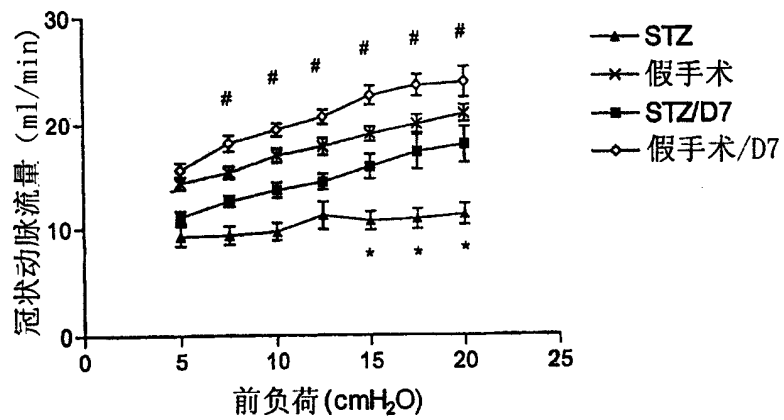


图6



* p<0.05: STZ v STZ/D7

图7



* p<0.05: STZ v STZ/D7, # p<0.05: STZ/D7 v 假手术/D7.

图8

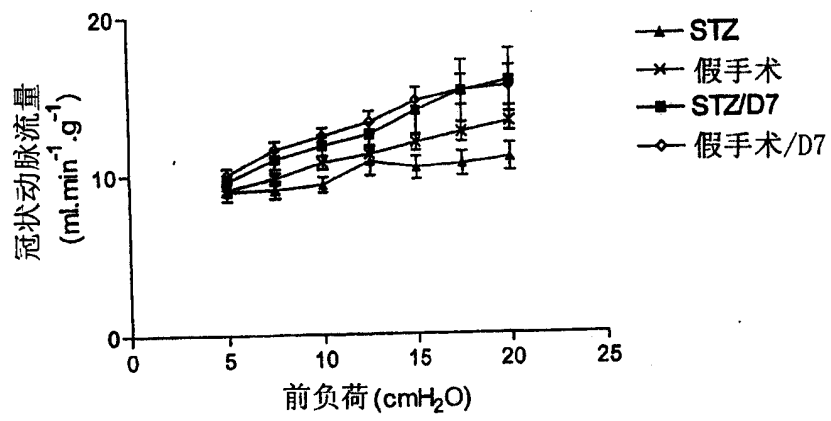
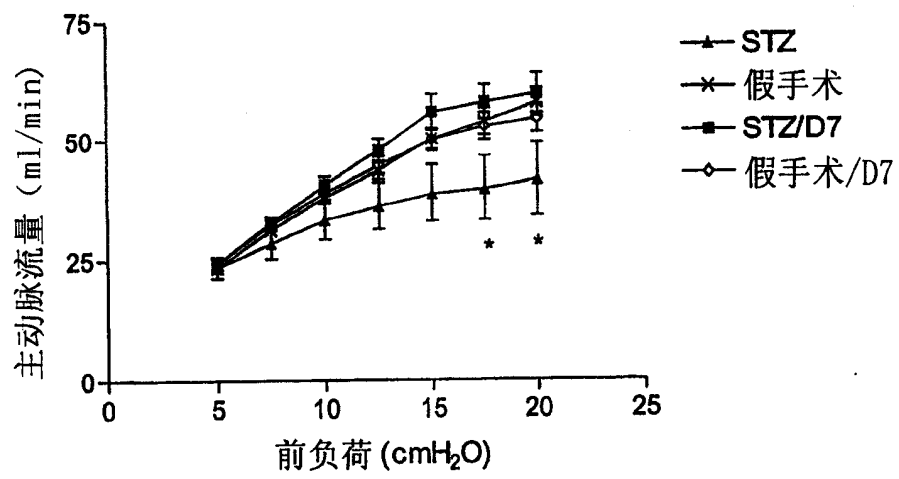
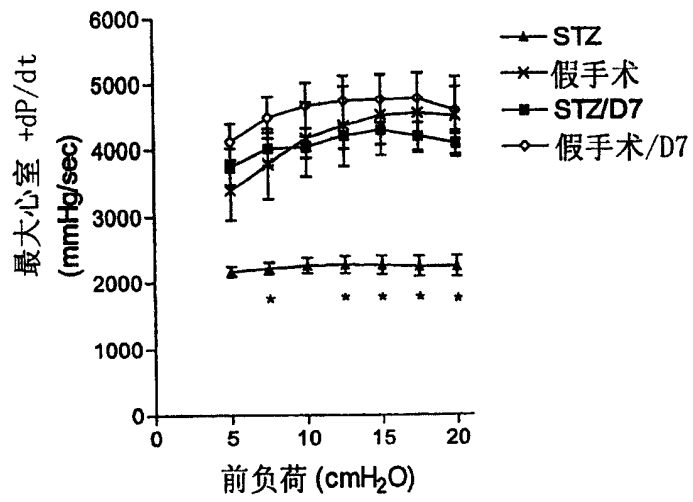


图9



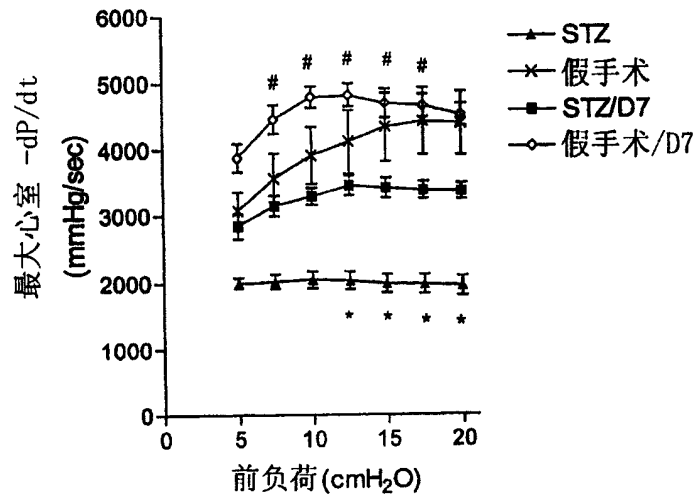
* p<0.05: STZ v STZ/D7

图10



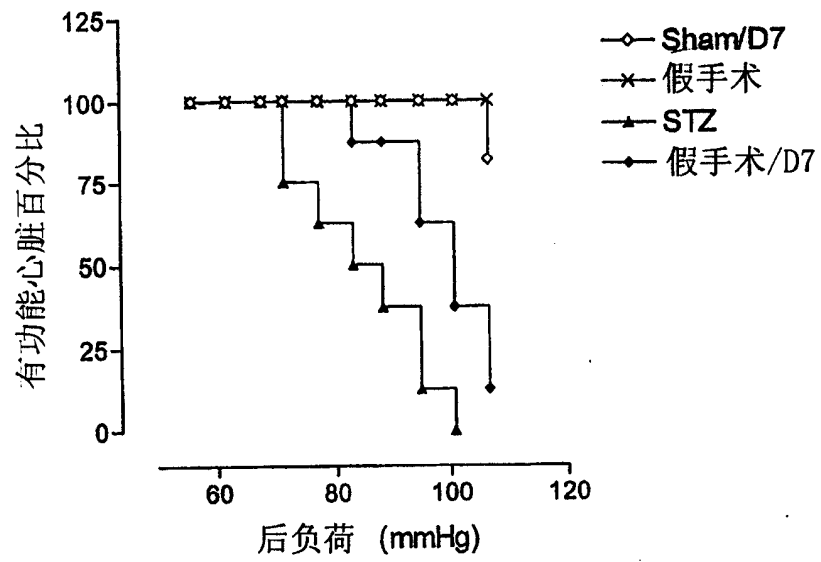
p<0.05: STZ v STZ/D7

图11



p<0.05: STZ v STZ/D7, #.p<0.05: STZ/D7 v 假手术/D7.

图12



Wilcoxon $p < 0.05$ for STZ v STZ/D7

图13

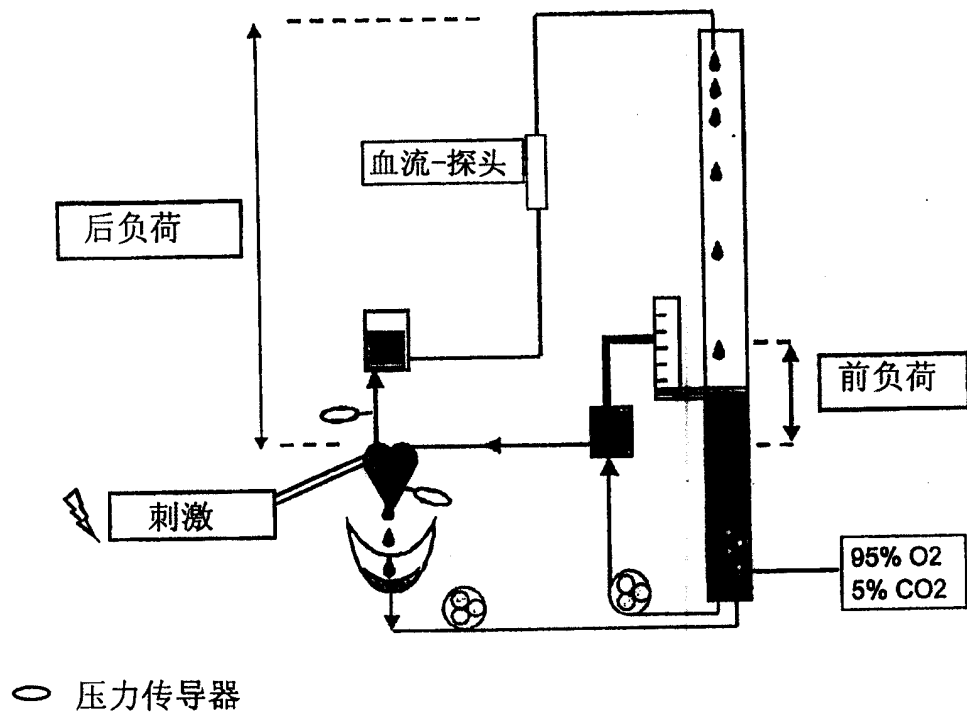


图14

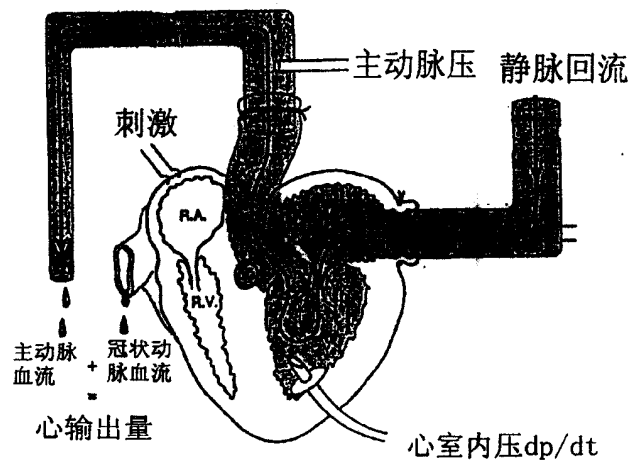


图15

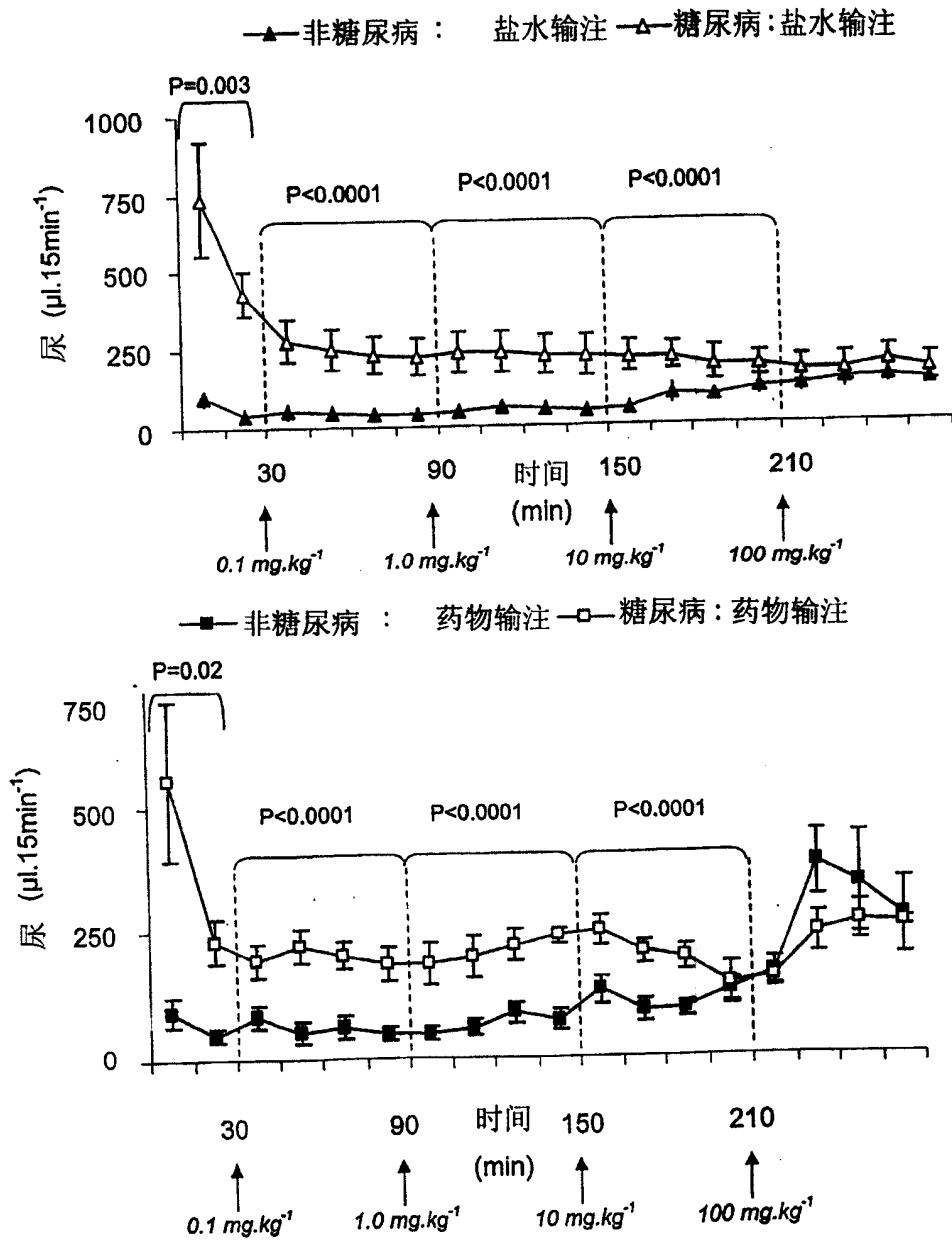


图16

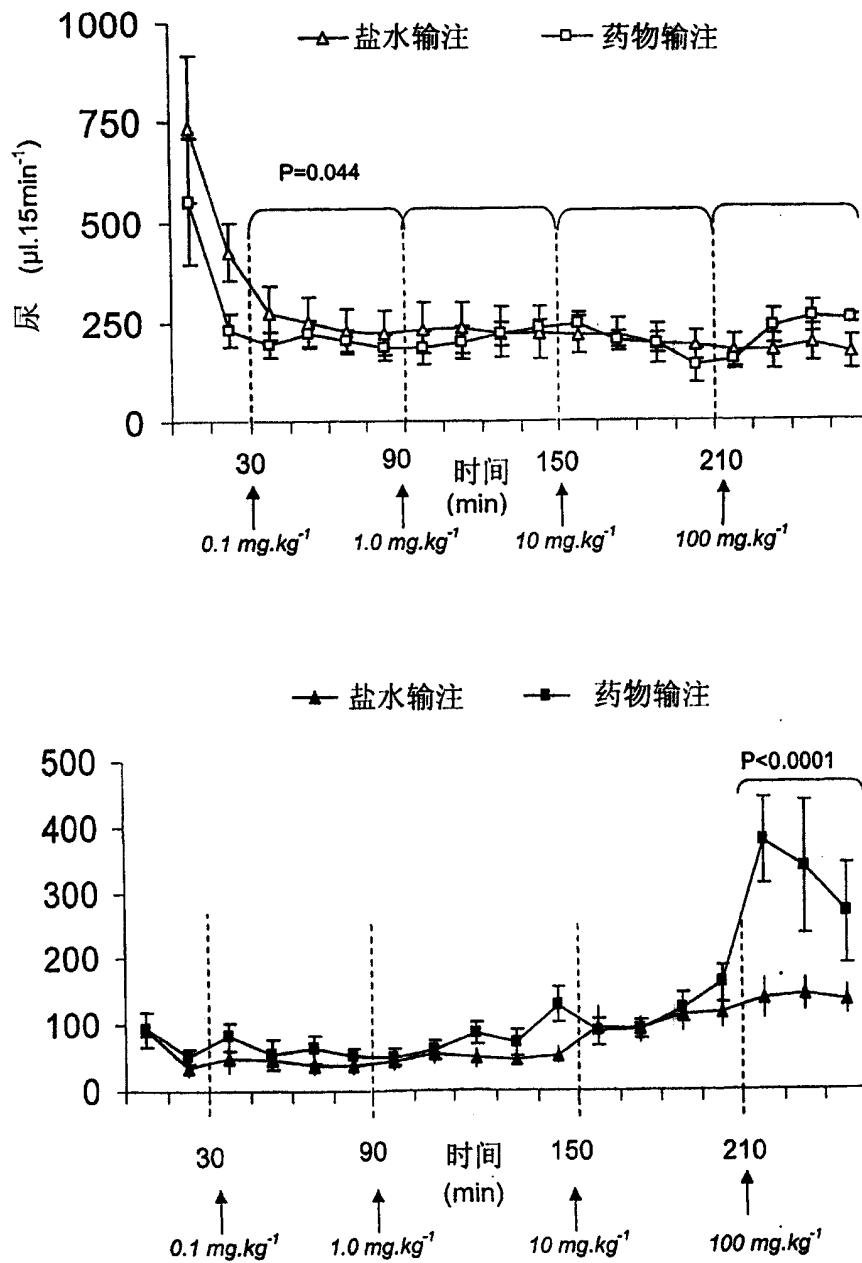


图17

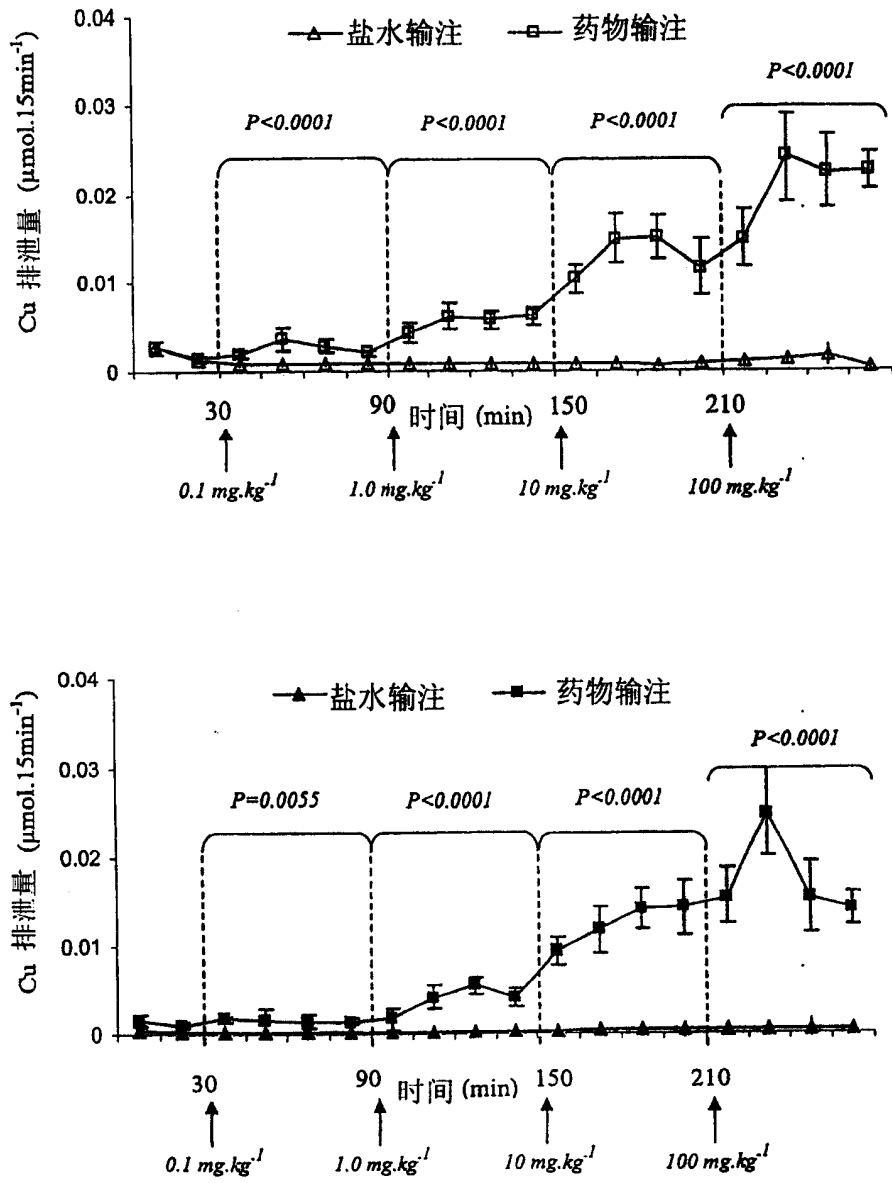


图18

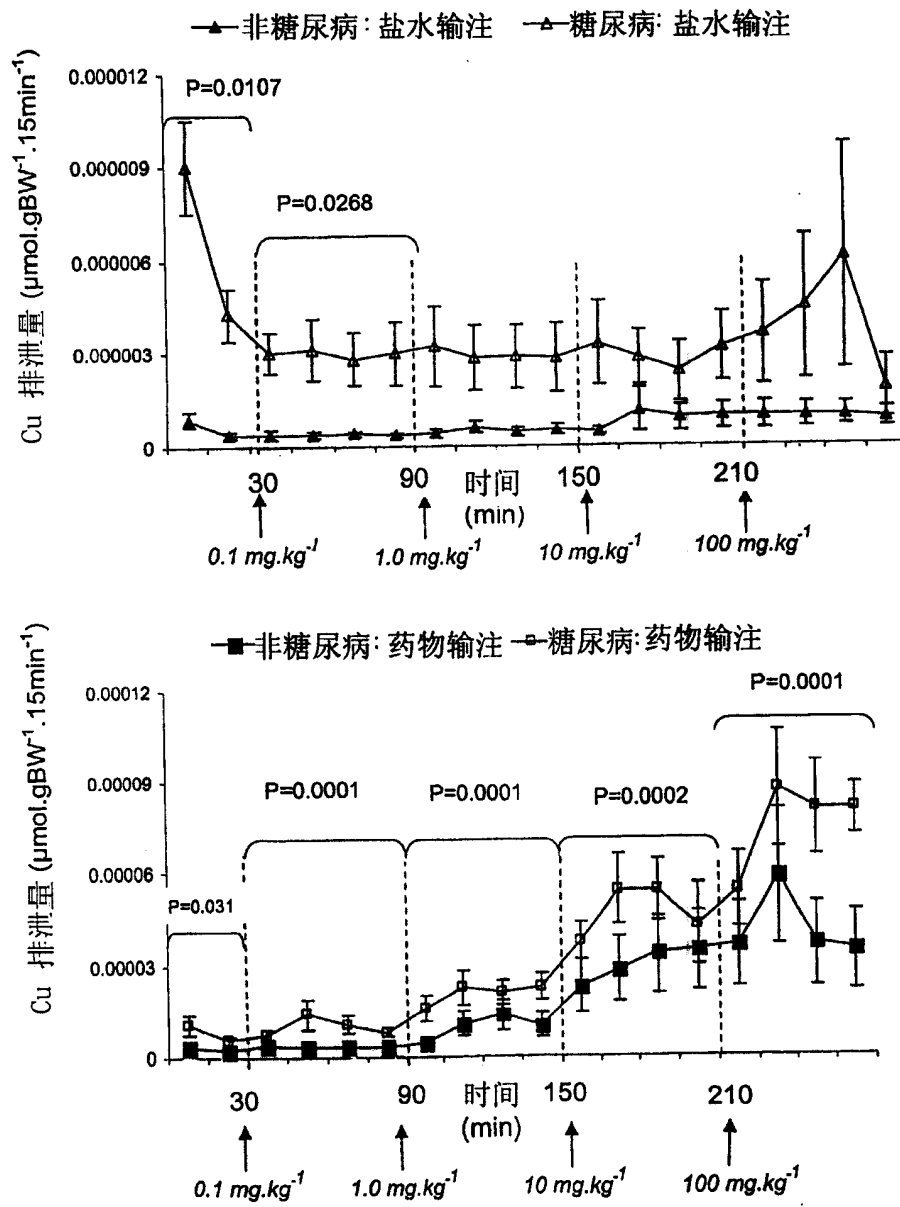


图19

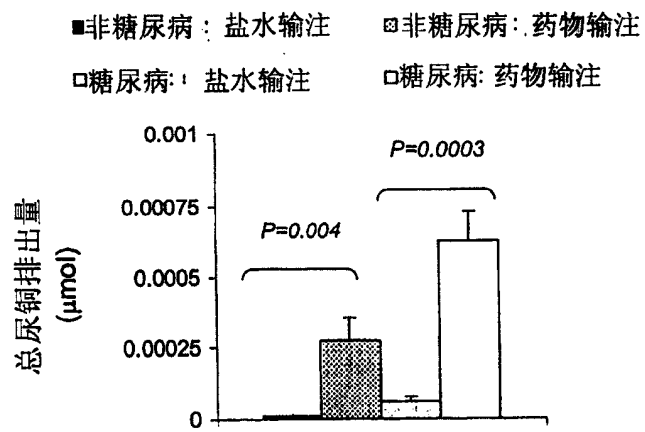


图20

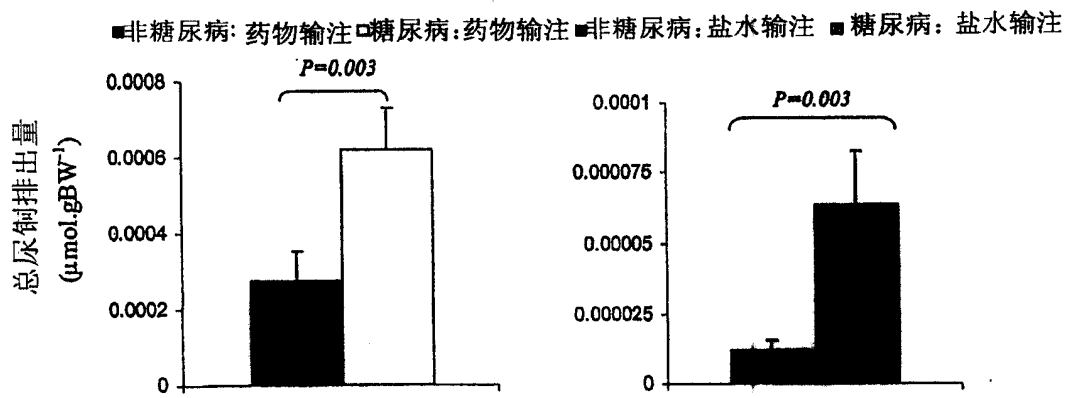


图21

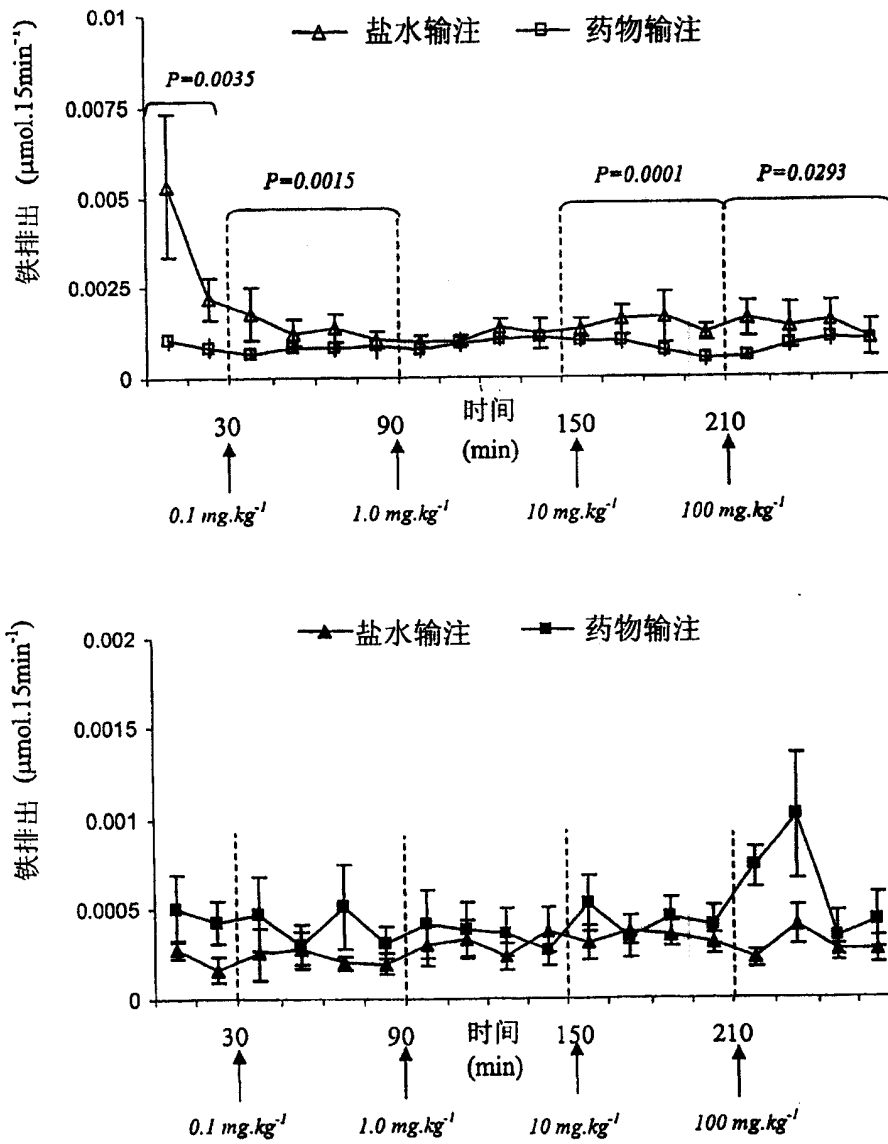


图22

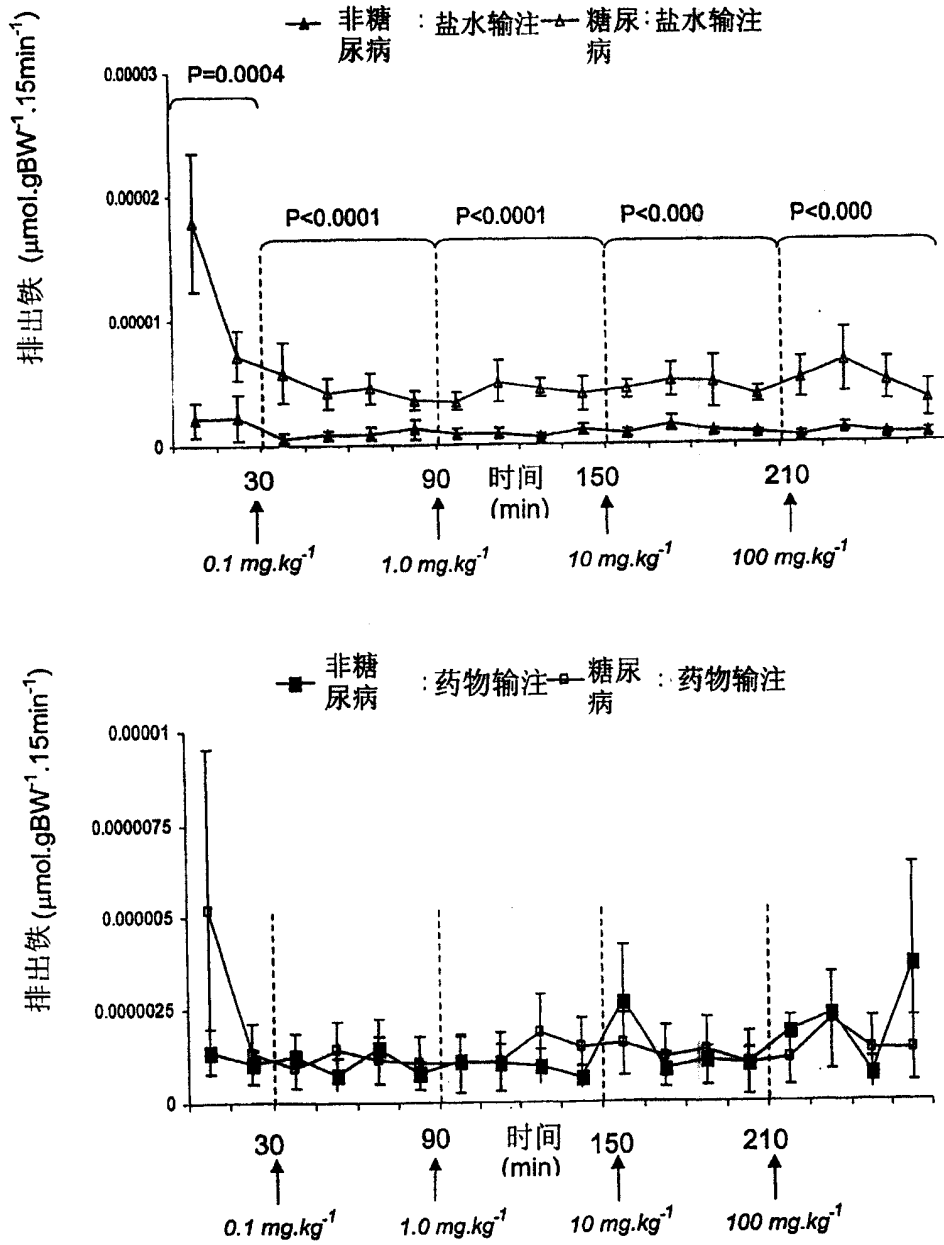


图23

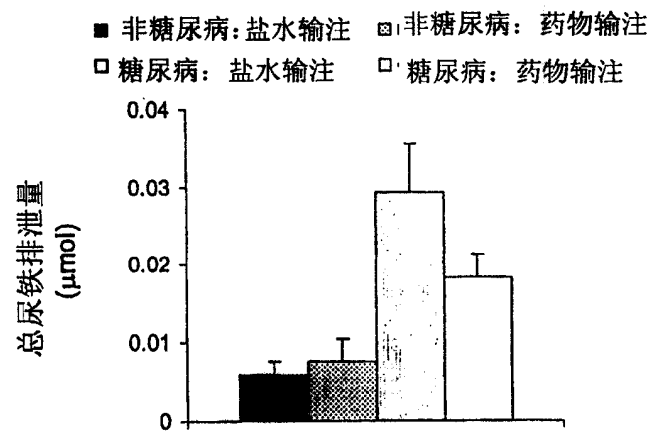


图24

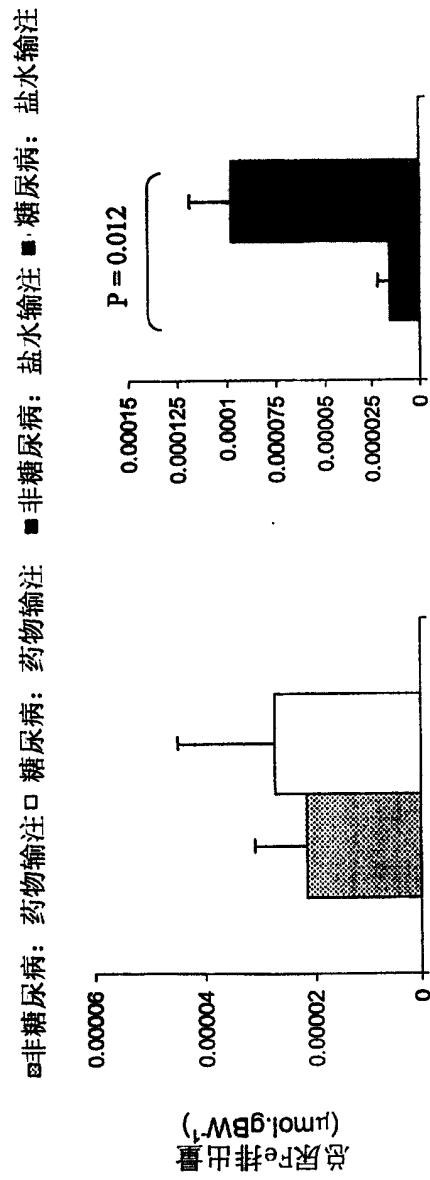


图25

Cu 排出量		剂量水平		
混合模型作用	基线	0.1 mg.kg ⁻¹	1.0 mg.kg ⁻¹	10 mg.kg ⁻¹
糖尿病 (正常/糖尿病 大鼠)	$F_{1,24} = 18.52$ $P = 0.0002$	$F_{1,24} = 19.82$ $P = 0.0002$	$F_{1,24} = 21.82$ $P < 0.0001$	$F_{1,24} = 9.93$ $P < 0.0001$
药物 (药物/盐水)	NS $F_{1,24} = 1.73$	$F_{1,24} = 24.94$ $P < 0.0001$	$F_{1,24} = 78.36$ $P < 0.0001$	$F_{1,24} = 135.36$ $P < 0.0001$
反应	$F_{1,24} = 0.16$ NS	$F_{1,24} = 3.58$ NS	$F_{1,24} = 7.16$ $P < 0.0132$	$F_{1,24} = 6.02$ $P < 0.0218$
样品时间 (重复测量)	t_1, t_2	t_1, t_2, t_3, t_4	t_1, t_2, t_3, t_4	t_1, t_2, t_3, t_4
I ¹²⁵ Ie 排出量		剂量水平		
混合模型作用	基线	0.1 mg.kg ⁻¹	1.0 mg.kg ⁻¹	10 mg.kg ⁻¹
糖尿病 (正常/糖尿病 大鼠)	$F_{1,23} = 12.87$ $P = 0.0016$	$F_{1,23} = 15.82$ $P = 0.0006$	$F_{1,24} = 22.68$ $P < 0.0001$	$F_{1,24} = 14.93$ $P = 0.0122$
药物 (药物/盐水)	$F_{1,23} = 8.6$ $P = 0.0075$	$F_{1,23} = 7.89$ $P = 0.01$	$F_{1,24} = 12.23$ $P < 0.0019$	$F_{1,24} = 10.91$ $P = 0.003$
反应	$F_{1,23} = 12.10$ $P = 0.002$	$F_{1,23} = 15.06$ $P = 0.0008$	$F_{1,24} = 14.07$ $P = 0.001$	$F_{1,24} = 17.72$ $P = 0.0003$
样品时间 (重复测量)	t_1, t_2	t_1, t_2, t_3, t_4	t_1, t_2, t_3, t_4	t_1, t_2, t_3, t_4

图26