

胰高血糖素样多肽-1 对 2 型糖尿病大鼠心肌损伤的保护作用研究

彭莹^{1,2△}, 李妍^{1△}, 那顺巴雅尔³, 张犁³, 顾为望⁴, 惠宏襄^{1,2*}

1. 南方医科大学 生物技术学院, 广东 广州 510515
2. 南方医科大学 国际代谢病中心, 广东 广州 510515
3. 南方医科大学 基础医学院, 广东 广州 510515
4. 南方医科大学 实验动物中心, 广东 广州 510515

摘要: 目的 观察胰高血糖素样多肽-1 (GLP-1) 对大鼠 2 型糖尿病性心肌病心肌损伤的影响。方法 采用高脂高糖膳食合并链脲佐菌素 (40 mg/kg) 诱导的方法建立 2 型糖尿病大鼠模型。将糖尿病大鼠模型随机分为模型组和 GLP-1 组, 采取皮下包埋缓释泵, 分别给两组大鼠连续灌注生理盐水或 GLP-1 30 pmol/(kg·min⁻¹), 7 d 后, 处死取心脏, 利用 Langendorff 离体心脏灌流系统进行心脏功能检测和心肌细胞形态学观察。结果 糖尿病大鼠在建模成功后第 10 天出现左心室功能异常。3 周后, 与正常相比, 左室发展压 (LVDP)、心率-左室发展压乘积值 (RPP)、dp/dt_{max}、m-dp/dt_{max} 分别降低 40.80%、51.50%、50.87%、52.81%; 心肌组织炎症细胞浸润增加, 血管周围及心肌细胞间纤维化增加, 心肌细胞凋亡指数增加。GLP-1 处理组 LVDP、RPP、dp/dt_{max}、m-dp/dt_{max} 分别较模型组增加 25.36%、10.90%、22.62%、30.07%, 心肌细胞炎症、凋亡减少, 心肌组织间及血管周围纤维化降低, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 糖尿病可直接诱发以间质性纤维化、代偿性纤维化、炎症细胞浸润和凋亡细胞增多为特点的心肌组织损伤, 形成糖尿病性心肌病。体内持续释放 GLP-1 可缓解糖尿病引发的心肌组织损伤, 对其心肌组织有保护作用。

关键词: 胰高血糖素样多肽-1; 2 型糖尿病; 心肌损伤; Langendorff 灌流; 大鼠

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2014)02-0125-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2014.02.004

Protection of glucagon-like peptide 1 on myocardial injury in type 2 diabetic rats

PENG Ying^{1,2}, LI Yan¹, NASHUN Bayaer³, ZHANG Li³, GU Wei-wang⁴, HUI Hong-xiang^{1,2}

1. School of Biotechnology, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China
2. International Center for Metabolic Diseases, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China
3. School of Basic Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China
4. Laboratory Animal Center, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

Abstract: Objective To investigate the beneficial effect of glucagon-like peptide 1 (GLP-1) on myocardial injury in type 2 diabetic rats. **Methods** SD rats were fed with high-fat and high-sugar diet for 4 weeks and intraperitoneally injected with a small dosage of streptozotocin (STZ, 40 mg/kg). Established diabetic rats were divided into diabetic model group and GLP-1 treatment group. Two groups were subjected to 7 d infusion of saline or GLP-1 (30 pmol/kg per min) with mini-pump. After sacrificed, isolated rats hearts were perfused to the Langendorff technique for evaluating the cardiac function and observing morphology. **Results** The dysfunction of left ventricular of diabetic rats was recorded at day 10 after STZ injection. Compared with the normal group, at day 23, the LVDP, RPP, dp/dt_{max}, and m-dp/dt_{max} in diabetic rats were decreased 40.80%, 51.50%, 50.87%, and 52.81%, respectively. Morphologically, there was a significant increase of inflammatory and apoptosis cells. Masson's trichrome staining showed that both perivascular and interstitial collagen contents were increased. In GLP-1 group, the LVDP, RPP, dp/dt_{max}, and m-dp/dt_{max} were increased 25.36%, 10.90%,

收稿日期: 2013-12-05

基金项目: 国家重大科学研究计划 (973 计划) 项目 (2011CB504006); 高等学校博士学科点专项科研基金资助项目 (20104433110014); 松山湖重点扶持科研项目 (2010B025)

作者简介: 彭莹 (1989—) 女, 硕士研究生, 主要从事糖尿病病心血管并发症的基础研究。Tel: 15521067255 E-mail: penny2359@163.com

*通信作者 惠宏襄 Tel: (020)61648753 E-mail: huihongx@gmail.com

△彭莹、李妍为共同第一作者

22.62%, and 30.07%, respectively. Morphologically, there was a significant reduction of inflammatory cells and apoptotic index. Masson's trichrome staining showed that GLP-1 suppressed both perivascular and interstitial collagen contents in LV with statistically significant difference ($P < 0.05$). **Conclusions** These results demonstrated that type 2 diabetic myocardial injury showed compensatory fibrosis, interstitial fibrosis, increased inflammatory cells and apoptosis. Continuous infusion GLP-1 improved the left ventricular dysfunctions and myocardial contractility.

Key words: glucagon-like peptide 1 (GLP-1); type 2 diabetes; myocardial injury; Langendorff perfusion; rats

糖尿病为人类健康的三大杀手之一, 其中 95% 的糖尿病患者为 2 型糖尿病, 积极防治 2 型糖尿病已成为糖尿病研究的热点。糖尿病性心肌病是 2 型糖尿病的主要并发症和死亡原因之一^[1], 现尚未有效的预防或治疗糖尿病性心肌病的药物^[2-3]。胰高血糖素样肽-1 (GLP-1) 是一种由肠道 L 细胞分泌的肠激素, 可增加胰岛 β 细胞数量、抑制胰高血糖素分泌、抑制胰岛 β 细胞凋亡, 综合降糖作用显著, 并且不会引起低血糖, 现已有几种其类似物和受体激动剂用于临床糖尿病治疗^[4-6]。GLP-1 有抑制慢性心衰大鼠的心肌重构, 提高左心室射血分数和舒张期末压, 降低心肌梗死后的大鼠死亡率的作用^[7-10]。但 GLP-1 在改善 2 型糖尿病的过程中, 是否同时对心脏功能损伤、糖尿病性心肌损伤有保护作用, 尚未有相关报道。本研究采用高脂高糖膳食合并链脲佐菌素诱导的方法, 建立 2 型糖尿病大鼠模型, 观察 GLP-1 对糖尿病性心肌损伤的作用影响, 为探究 2 型糖尿病性心肌病的防治提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 SD 大鼠, 雄性, 150~180 g, 南方医科大学实验动物中心提供, 合格证号 SCXK (粤) 2011-0015。

1.1.2 主要试剂 链脲佐菌素 (STZ, Sigma 公司, 批号 S0130-1G), GLP-1 (上海楚肽生物科技有限公司, 批号 1G), Glucose (Sigma 公司, 批号 G7021-100G), 高脂高糖饲料 (含 10% 猪油、20% 蔗糖、2.5% 胆固醇) 购于南方医科大学实验动物中心, TUNEL 检测试剂盒 (批号 C1088)、HE 染色液 (批号 C0107)、4',6-二脒基-2-苯基吡啶 (DAPI, 批号 C1002) 均由上海碧云天生物技术有限公司提供, 牛血清白蛋白 (BSA, Amresco 公司, 批号 0175-10G)。NaCl、KCl、 KH_2PO_4 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 CaCl_2 、 NaHCO_3 、水合氯醛、肝素均购置于广州金华大化学试剂有限公司。Krebs-Henseleit (K-H) 灌流液 (NaCl 118.0 mmol/L、 KCl 4.7 mmol/L、 KH_2PO_4 1.2 mmol/L、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.2 mmol/L、 CaCl_2 2.9 mmol/L、

NaHCO_3 2.5 mmol/L、Glucose 11.1 mmol/L)。

1.1.3 仪器 Langendorff 离体心脏灌流系统 (上海同舸医疗器械有限公司), 安准血糖检测仪 (长沙三诺生物传感技术有限公司), 2001 植入式胶囊渗透压缓释泵 (美国 Alzet 公司), RM2235 石蜡切片机 (Leica 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 2 型糖尿病大鼠模型的制备、分组 选取 SD 大鼠, 适应性喂养 1 周, 实验前观察大鼠的健康状况。1 周内饮食正常、体质量不减轻、血糖正常者即可用于实验。随机分为正常组和高脂高糖组。正常组, 20 只, 不接受任何处理, 采用普通饲料喂养; 高脂高糖组, 60 只, 采用高脂高糖饲料饲养。每日记录摄食量, 每周记录一次体质量的变化。1 个月后, 向高脂高糖组 ip 链脲佐菌素 40 mg/kg。3 d 后监测血糖, 连续 2 d 血糖值均高于 16.7 mmol/L 认定为 2 型糖尿病, 组成糖尿病组^[11]。随机选取 6 只糖尿病组大鼠给予 GLP-1 处理, 组成 GLP-1 处理组, 另选 6 只作为模型组。

1.2.2 GLP-1 给药处理 将经 1% BSA 的生理盐水充分溶解、质量浓度为 2 mg/mL GLP-1 溶液, 注入缓释泵的胶囊中, 然后将缓释泵植入 GLP-1 组大鼠背部皮下, 按 30 pmol/(kg·min⁻¹) 的剂量连续灌注 7 d^[8], 对照组注射同等剂量的含 1% BSA 的生理盐水。

1.2.3 心脏功能检测^[12] 采用 Langendorff 离体心脏灌流系统分别观察糖尿病患病程度和 GLP-1 对大鼠心脏功能的影响, 以同期喂养的正常组大鼠作为对照。10% 水合氯醛 (0.3 mL/100 g) ip 麻醉大鼠, 注射肝素 (1 000 U), 迅速取出心脏置于 4 °C 的 K-H 灌流液中, 轻轻挤压心脏, 排空心脏内残留血液, 立即将主动脉固定于 Langendorff 灌流装置的插管上, 经三通管开关接 K-H 灌流液, 灌流液以 95% O_2 和 5% CO_2 充分饱和、灌流压力约 70 mmHg (1 mmHg=133 Pa), 灌流温度为 37 °C 左右。从左心耳插入尖端带有水囊的导管, 通过压力传感器接 MedLab 生物信号采集处理系统记录左心室内压力

曲线, 采集各心功能指标。

1.2.4 糖尿病大鼠心肌组织形态学观察 将每组的心脏组织用 10% 中性甲醛溶液室温固定 3 d, 石蜡包埋制作切片。切片厚度约 4 μm, 用苏木素 - 伊红染色检测心肌组织的炎性细胞浸润。用 Masson's trichrome 染色观察心肌组织中胶原纤维的分布。

1.2.5 细胞凋亡实验 采用一步法 TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒, 对每组的心肌组织石蜡切片进行 TUNEL 检测。荧光显微镜下绿色荧光代表凋亡细胞。

1.2.6 统计分析 应用 SPSS 13.0 软件进行统计分析。采用 one-way ANOVA、bonferroni 法对组别进行检验分析, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 以 $\alpha=0.05$ 为检验水准。

2 结果

2.1 2 型糖尿病大鼠模型的构建

在采用高糖高脂饲喂大鼠 4 周后, 日常摄食量显示高脂高糖组的 24 h 平均摄食量为 $(22.14 \pm 2.77)g$, 高于正常组 $(19.24 \pm 2.34)g$; 高脂高糖组的体质量为 $(302.72 \pm 12.85)g$, 也高于正常组 $(263.12 \pm 10.32)g$, 符合肥胖大鼠的标准, 但大鼠空腹血糖值为 $(4.9 \pm 0.5)mmol/L$, 仍属于正常值范围内。注射链脲佐菌素 3 d 后, 糖尿病模型组的体质量开始下降, 空腹血糖达到 $(20.8 \pm 1.1)mmol/L$, 高于糖尿病标准值 $16.7mmol/L$, 具有典型的皮毛枯燥、倦怠、多饮、多食、多尿、尿液混浊、消瘦等糖尿病病症。表明 2 型糖尿病大鼠模型制作成功。见表 1。

表 1 SD 大鼠摄食量、体质量和血糖的变化 ($\bar{x} \pm s, n=80$)
Table 1 Changes of food intake, body weights, and blood sugar of SD rats ($\bar{x} \pm s, n=80$)

组别	24 h 摄食量/g	体质量/g	空腹血糖/(mmol·L ⁻¹)
正常	19.24±2.34	263.12±10.32	3.8±0.2
高脂高糖	22.14±2.77*	302.72±12.85*	4.9±0.5
糖尿病	23.61±2.58*	291.56±10.78	20.8±1.1*

与正常组比较: * $P<0.05$
* $P<0.05$ vs normal group

2.2 糖尿病组大鼠的心脏功能检查

分别于建模后第 5、10、15、20、23 天检测糖尿病大鼠心功能水平。结果显示与正常组相比, 发病第 5 天的糖尿病组大鼠的心功能指标出现代偿性增高, 左心室发展压 (LVDP) 增高了 5.40%, 心率血压乘积 (RPP) 增高了 7.83%, $m-dp/dt_{max}$ (左心室舒张压每分下降最大速度) 增高了 26.44%。发病第 10 天时, 大鼠心功能指标出现降低, 心率、LVDP、RPP、 dp/dt_{max} (左心室收缩压每分上升最大速度)、

$m-dp/dt_{max}$ 分别降低了 14.67%、19.15%、31.01%、48.61%、20.61%, 差异具有统计学意义 ($P<0.05$)。当发病 23 天时, 出现明显的左心室功能障碍, 心肌收缩能力明显减弱, LVDP、 dp/dt_{max} 、 $m-dp/dt_{max}$ 分别降低了 40.8%、50.87%、52.81% ($P<0.05$)。结果显示糖尿病能造成大鼠的左心室功能障碍, 降低心肌组织的收缩性, 且这种损伤作用具有时间相关性, 发病时间越长, 对心脏的累及损伤就越严重。见表 2。

表 2 糖尿病大鼠的心脏功能随时间的变化
Table 2 Cardiac function change of diabetic rats with time changes

组别	心率/(次·min ⁻¹)	LVDP/mmHg	RPP/(mmHg·min ⁻¹)	dp/dt_{max} /(mmHg·min ⁻¹)	$m-dp/dt_{max}$ /(mmHg·min ⁻¹)
正常	259.50±3.00	91.26±5.75	23 681.97±17.25	3 184.12±115.09	-1 607.84±74.71
糖尿病 5 d	265.00±5.29	96.18±2.64	25 487.70±13.97	2 209.25±78.25	-2 033.07±68.67
10 d	221.33±6.51*	73.78±1.27*	16 329.73±8.27*	1 636.24±44.89*	-1 276.42±63.17*
15 d	236.00±20.45*	69.32±2.72*	16 359.52±6.66*	1 882.92±106.74*	-1 520.74±47.34*
20 d	234.00±4.58*	60.72±1.20*	14 208.48±5.50*	2 044.29±63.46*	-924.01±10.40*

与正常组比较: * $P<0.05$
* $P<0.05$ vs normal group

2.3 糖尿病大鼠心肌组织形态学观察

建模后第 10 天, 用 10%水合氯醛麻醉大鼠, 打开胸腔取其心肌组织做组织形态学观察。与正常组比较, HE 染色显示模型组的心肌细胞空泡变性, 心肌纤维局灶性溶解, 细胞连续但排列紊乱, 横纹不清晰, 有明显的中性粒细胞、白细胞浸润。

Masson's trichrome 染色显示模型组的心肌纤维之间、血管周围胶原增多, 纤维细胞增生, 环绕并分隔相邻的心肌细胞。TUNEL 显示模型组可见较多绿色荧光核染, 凋亡细胞数目增多。糖尿病大鼠心肌组织以间质性纤维化、代偿性纤维化、炎症细胞浸润和凋亡细胞增多为特点的组织损伤。见图 3。

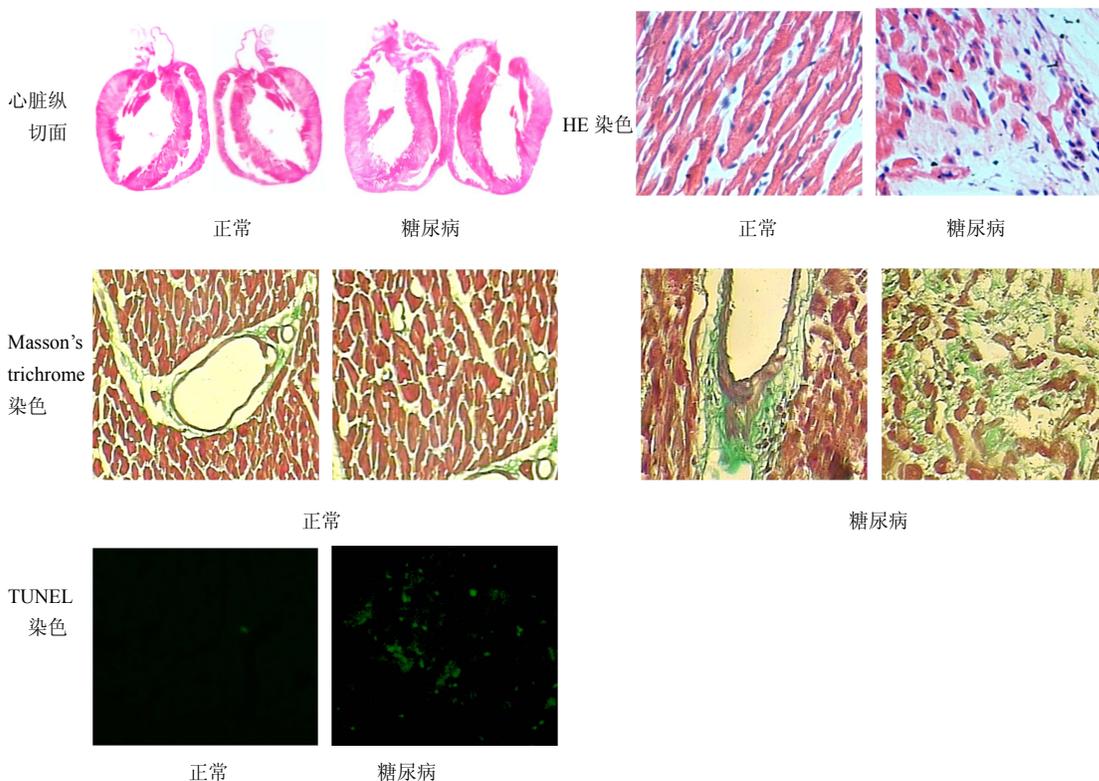


图 3 糖尿病大鼠心肌组织形态学变化

Fig. 3 Heart histomorphological change in diabetic rats

2.4 GLP-1 对糖尿病大鼠心肌功能的影响

建模后, 采取皮下包埋缓释泵, 连续 7 d 给予大鼠模型灌注 GLP-1, 并于第 10 天检测各实验组大鼠心肌功能。结果显示: GLP-1 处理组的 LVDP 达 (89.66±4.19) mmHg, RPP 为 (20 621.8±77.80) mmHg·min, dp/dt_{max} 为 (2 177.03±162.23) mmHg/min,

m-dp/dt_{max} 为 (-1 763.06±45.28) mmHg/min, 与对照组相比分别提高了 25.36%、10.90%、22.62%、30.07%, 差异具有统计学意义 (P<0.01)。但心率的改变并没有显著性差异。提示体内持续灌注 GLP-1 可改善大鼠的左心室障碍, 增强心肌收缩力。见表 3。

表 3 体内灌注 GLP-1 对糖尿病大鼠心脏功能的影响

Table 3 Effect of GLP-1 by *in vivo* perfusion on heart function of diabetic rats

组 别	心率/(次·min ⁻¹)	LVDP/mmHg	RPP/(mmHg·min ⁻¹)	dp/dt _{max} /(mmHg·min ⁻¹)	m-dp/dt _{max} /(mmHg·min ⁻¹)
正常	231±6.36	71.52±0.89	18 595.20±5.66	1 775.40±21.16	-1 355.47±150.20
模型	228±9.91	74.62±1.32	17 013.36±13.08	1 665.60±46.90	-1 324.53±76.05
GLP-1	230±18.57	89.66±4.19*	20 621.80±77.81*	2 177.03±162.23*	-1 763.06±45.28*

与模型组比较: *P<0.05
*P<0.05 vs model group

2.5 GLP-1 对糖尿病大鼠心肌细胞形态学的影响

建模后, 采取皮下包埋缓释泵, 连续 7 d 给予大鼠模型灌注 GLP-1, 并于第 10 天用 10% 水合氯醛麻醉各实验组大鼠, 取其心肌组织做组织形态学观察。与模型组相比, HE 染色结果显示治疗组的心肌细胞排列整齐, 大小均匀, 炎性细胞明显减少。

Masson's trichrome 染色结果显示心肌细胞之间、血管周围的胶原纤维未出现明显的增生现象。TUNEL 检测显示模型组可见较少绿色荧光核染, 凋亡细胞数目减少。提示体内持续灌注 GLP-1, 糖尿病大鼠以间质性纤维化、代偿性纤维化、炎症细胞浸润和凋亡细胞增多为特点的心肌组织损伤明显减轻。见图 4。

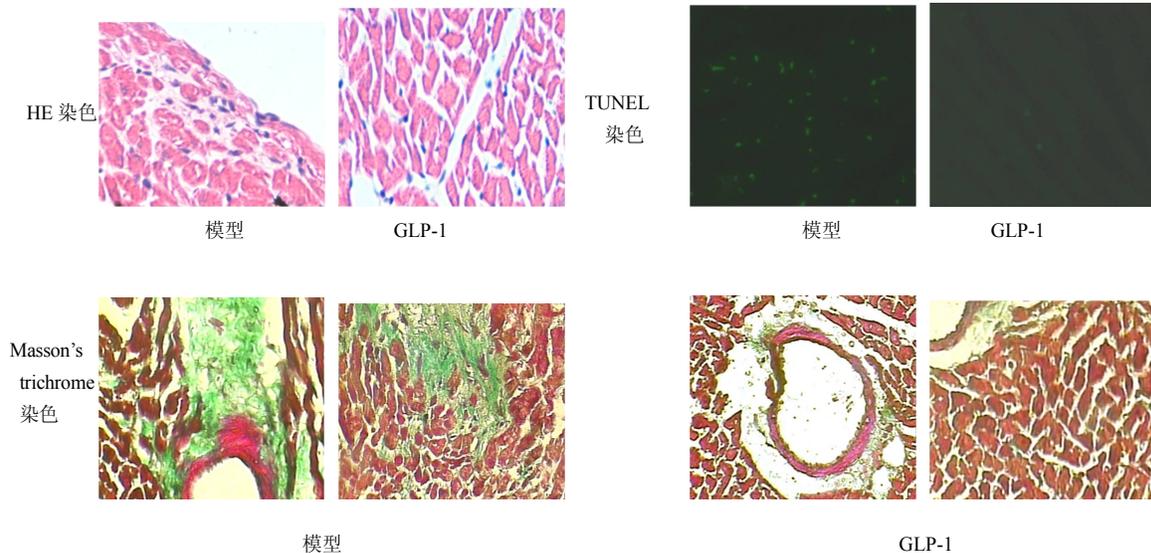


图 4 治疗组心肌细胞形态学变化

Fig.4 Changes of myocardial cell morphology of rats in treatment group

3 讨论

糖尿病性心脏病是 2 型糖尿病的主要并发症和死亡原因之一^[1]。研究表明, 糖尿病性心脏病是与冠心病、瓣膜疾病无关的特异性糖尿病相关性心脏疾病, 主要表现为心力衰竭^[13]。现尚未开发出一种有效的预防或治疗糖尿病性心脏病的药物^[3-4]。

本实验在采用高糖高脂饲喂大鼠 4 周后, 以空腹血糖高于糖尿病标准值 16.7 mmol/L, 以及出现典型的皮毛枯燥、倦怠、多饮、多食、多尿、尿液混浊、消瘦等糖尿病病症为标准, 成功构建 2 型糖尿病大鼠模型。并分别于建模后第 5、10、15、20、23 天检测糖尿病大鼠心功能水平。糖尿病模型组心率、LVDP、RPP、 dp/dt_{max} 及 $m-dp/dt_{max}$ 与对照组相比, 明显降低, 提示糖尿病能造成大鼠的左心室功能障碍, 降低心肌组织的收缩性, 且这种损伤作用具有时间相关性, 发病时间越长, 对心脏的累及损伤就越严重。同时, 在糖尿病大鼠在发病 10 d 后, 取其心肌组织做组织形态学观察发现, 与对照组对比, 糖尿病组心肌组织出现以间质性纤维化、代偿

性纤维化、炎症细胞浸润和凋亡细胞增多为特点的组织损伤。上述结果提示糖尿病可直接诱发以间质性纤维化、代偿性纤维化、炎症细胞浸润和凋亡细胞增多为特点的心肌组织损伤, 形成糖尿病性心脏病。

胰高血糖素样肽-1 (GLP-1) 是一种由肠道 L 细胞分泌的肠激素, 研究证明其可通过多种机制明显地改善 2 型糖尿病动物模型或患者的血糖情况, 其中促进胰岛 β 细胞的再生和修复, 增加胰岛 β 细胞数量的作用尤为显著, 这为 2 型糖尿病的治疗提供了一个非常好的前景。近年来 GLP-1 对除胰腺以外的器官的作用成为研究热点。本实验在建模后, 采取皮下包埋缓释泵, 连续 7 d 给予大鼠模型灌注 GLP-1, 并于第 10 天检查各实验组大鼠心功能。发现治疗组 LVDP、RPP 等心功能指标, 与模型组相比有明显的提高, 显著改善实验组大鼠的左心室障碍, 增强心肌收缩力。同时, 对实验组心肌组织做组织形态学观察, 发现与模型组相比, GLP-1 实验组以间质性纤维化、代偿性纤维化、炎症细胞浸润和凋亡细胞增多为特点的心肌组织损伤明显减

轻。上述结果表明 GLP-1 可对糖尿病大鼠心脏具有保护作用,其作用途径有可能是 GLP-1 直接作用糖尿病大鼠心肌组织,缓解其心肌组织损伤,达到保护作用。但具体的作用机制还需要进一步深入研究。

综上所述,糖尿病可直接诱发以间质性纤维化、代偿性纤维化、炎症细胞浸润和凋亡细胞增多为特点的心肌组织损伤,形成糖尿病性心肌病。体内持续释放 GLP-1 可缓解糖尿病引发的心肌组织损伤,达到对其心肌组织的保护作用。可为今后探究一种通过对心肌损伤的保护作用,达到治疗糖尿病性心肌病,缓解 2 型糖尿病症状为目的的 2 型糖尿病防治方法提供研究靶点。

志谢: 东莞代谢医学研发有限公司梁锡伟实验员对实验提供的帮助。

参考文献

- [1] Sattar N, Gaw A, Scherbakova O, *et al.* Metabolic syndrome with and without C-reactive protein as a predictor of coronary heart disease and diabetes in the West of Scotland Coronary Prevention Study [J]. *Circulation*, 2003, 108: 414-419
- [2] Mercer B N, Morais S, Cubbon R M, *et al.* Diabetes mellitus and the heart [J]. *Int J Clin Pract*, 2012, 66(7): 640-647.
- [3] Panicker G K, Karnad D R, Salvi V, *et al.* Cardiovascular risk of oral antidiabetic drugs: current evidence and regulatory requirements for new drugs [J]. *J Assoc Physicians India*, 2012, 60: 56-61.
- [4] Drucker D J. The biology of incretin hormones [J]. *Cell Metab*, 2006, 3(3): 153-165.
- [5] Nauck M A, Meier J J. Glucagon-like peptide 1 and its derivatives in the treatment of diabetes [J]. *Regul Pept*, 2005, 128(2): 135-148.
- [6] 王小彦, 王玉丽, 徐为人. 近几年治疗糖尿病热点靶点的研究进展 [J]. *药物评价研究*, 2012, 35(1): 42-45.
- [7] Fields A V, Patterson B, Karnik A A, *et al.* Glucagon-like peptide-1 and myocardial protection: more than glycemic control [J]. *Clin Cardiol*, 2009, 32(5): 236-243.
- [8] Liu Q, Anderson C, Broyde A, *et al.* Glucagon-like peptide-1 and the exenatide analogue AC3174 improve cardiac function, cardiac remodeling, and survival in rats with chronic heart failure [J]. *Cardiovasc Diabetol*. 2010, 9: 76.
- [9] Noyan-Ashraf M H, Momen M A, Ban K, *et al.* GLP-1R agonist liraglutide activates cytoprotective pathways and improves outcomes after experimental myocardial infarction in mice [J]. *Diabetes*, 2009, 58(4): 975-983.
- [10] Bose A K, Mocanu M M, Carr R D, *et al.* Glucagon-like peptide 1 can directly protect the heart against ischemia/reperfusion injury [J]. *Diabetes*, 2005, 54: 146-151.
- [11] 沈亚非, 徐焱成. 高糖高脂膳食和链脲佐菌素诱导 2 型糖尿病模型的建立 [J]. *实用诊断与治疗杂志*, 2006, 49(2): 167-170.
- [12] Bell R M, Mocanu M M, Yellon D M. Retrograde heart perfusion: the Langendorff technique of isolated heart perfusion [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2011, 50(6): 940-950.
- [13] Asghar O, Al-Sunni A, Khavandi K, *et al.* Diabetic cardiomyopathy [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2009, 116(Pt 10): 741-760.