

格列齐特对2型糖尿病大鼠心肌缺血预适应保护作用的影响

李 波¹, 韩国园², 王宴平¹, 于忠祥^{1*}

1. 青岛大学医学院附属青岛市市立医院 心内科, 山东 青岛 266011

2. 禹城市人民医院 心内科, 山东 禹城 251200

摘要: **目的** 探讨格列齐特对2型糖尿病大鼠离体心脏缺血预适应保护作用的影响。**方法** 将造模成功的2型糖尿病大鼠随机分为糖尿病缺血预处理组、糖尿病再灌注损伤组、糖尿病缺血预处理+格列齐特组、糖尿病再灌注损伤+格列齐特组。将对照组大鼠随机分为缺血预处理组、再灌注损伤组。分别于平衡灌注后、缺血再灌注开始及再灌注60 min末3个时间点分别收集冠脉流出液,测定乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶(CK)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)的释放量;在再灌注末,取左心室游离壁心肌组织,进行荧光定量PCR检测心肌ATP敏感性钾离子(KATP)通道组成亚基Kir6.2和SUR2A mRNA的表达;免疫组织化学技术检测其蛋白的表达水平。**结果** 对于糖尿病非药物治疗大鼠,糖尿病缺血预处理组与糖尿病再灌注损伤组比较,冠脉流出液中LDH、CK、CK-MB无明显差异;Kir6.2和SUR2A mRNA及蛋白表达也均无明显差异。而与糖尿病缺血预处理组、糖尿病再灌注损伤+格列齐特组比较,糖尿病缺血预处理+格列齐特组均降低了糖尿病大鼠心肌缺血预处理后缺血再灌注损伤冠脉流出液中LDH、CK、CK-MB释放量($P<0.05$);也使Kir6.2 mRNA及蛋白表达明显增加($P<0.05$);但SUR2A mRNA表达差异无统计学意义。与糖尿病再灌注损伤+格列齐特组比较,糖尿病缺血预处理+格列齐特组SUR2A蛋白表达水平也增加明显($P<0.05$)。**结论** 格列齐特对心肌缺血预处理的保护作用无不利影响,反而能改善2型糖尿病大鼠心肌缺血预适应的保护作用。

关键词: 格列齐特; 2型糖尿病大鼠; 心肌缺血预适应

中图分类号: R965.1; R972 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2014)07-0711-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2014.07.003

Protection of gliclazide on ischemic preconditioning in type 2 diabetic rats

LI Bo¹, HAN Yuan-yuan², WANG Yan-ping¹, YU Zhong-xiang¹

1. Department of Cardiology, Qingdao Municipal Hospital, Qingdao University, Qingdao 266011, China

2. Department of Cardiology, The People's Hospital of Yucheng City, Yucheng 251200, China

Abstract: **Objective** To evaluate the effect of gliclazide on ischemic preconditioning (IPC) in type 2 diabetic rats. **Methods** The type 2 diabetic rats were randomly divided into four groups: diabetic ischemic preconditioning (GDI), diabetic reperfusion injury (GDR), diabetic ischemic preconditioning + gliclazide (GDI + Glc), and diabetic reperfusion injury + gliclazide (GDR + Glc) groups. The normal rats also were randomly divided into two groups: ischemic preconditioning (GIP) and reperfusion injury (GIR) groups. Coronary effluent liquid was collected at the end of balance infusion, at the beginning of ischemia reperfusion, and after reperfusion, and the releases of LDH, CK, and CK-MB were detected. At the end of perfusion, the expression levels of Kir6.2 and SUR2A mRNA in the myocardial tissue were measured by fluorescent quantitative PCR method, and the expression levels of Kir6.2 and SUR2A protein were assessed by immunohistochemistry. **Results** In non-drug diabetic rats, the releases of LDH, CK, and CK-MB in coronary effluent liquid had no significant difference in GDI group compared with GDR group. The expression levels of Kir6.2 and SUR2A mRNA and protein also had no obvious difference. However, compared with GDI and GDR + Glc groups, the releases of LDH, CK, and CK-MB in coronary effluent liquid markedly decreased in GDI + Glc group ($P<0.05$). The expression levels of Kir6.2 mRNA and protein in GDI + Glc group were significantly higher than those in GDI and GDR + Glc groups ($P<0.05$), but the expression level of SUR2A mRNA had no difference. At the same time, compared with the GDR + Glc group, the expression level of SUR2A protein also

收稿日期: 2014-05-10

基金项目: 青岛市公共领域科技支撑计划项目(11-2-3-2(12)-nsh)

作者简介: 李 波(1989—),男,在读硕士研究生,主要从事心血管方面研究。Tel: (0532) 82789351 E-mail: libo891020@126.com

*通信作者 于忠祥,男,青岛市立医院心内科副主任,医学博士,硕士研究生导师,研究方向为心律失常的射频消融治疗。

Tel: (0532) 82789351 E-mail: yuzhongxiang@medmail.com.cn

significantly increased in GDI + Glc group ($P < 0.05$). **Conclusion** Gliclazide has no adverse effect on protection of myocardial IPC. On the contrary, gliclazide can improve ischemic preconditioning in type 2 diabetic rats.

Key words: gliclazide; type 2 diabetic rats; ischemic preconditioning

早在 1986 年 Murry 等^[1]就提出了心肌缺血预适应 (IPC) 概念, 但至今 IPC 的机制尚不完全清楚, 但大量研究已表明 IPC 对心肌的保护作用与 ATP 敏感钾离子 (KATP) 通道有关^[2]. KATP 通道在人体中分布广泛^[3], 在人体中发挥着重要生理和病理生理学功能。目前已克隆出心肌细胞膜上的 KATP 通道结构, 是由 4 个 Kir6.2 亚基和与之相连接的 4 个 SUR2A 共同构成, 前者组成其通道的跨膜孔道部分, 而后者是细胞膜内 ATP 结合蛋白, 参与通道功能的调节^[4-5]。研究表明^[5]心肌细胞线粒体膜上的 KATP 通道在 IPC 中也发挥重要作用, 并且这两个部位的 KATP 通道均是磺脲类药物的作用靶点。

磺脲类药物是一类最早用于治疗 2 型糖尿病的口服降糖药。目前已知磺脲类药物通过与胰岛素 β 细胞膜上的 KATP 通道中的磺脲类受体结合, 使 KATP 通道关闭, 从而促进胰岛素的分泌来起降糖作用; 而心肌细胞也存在 KATP 通道, 并且一些研究也已指出心肌细胞内的两个 KATP 通道均是磺脲类药物的作用靶点, 患者在患有心血管疾病的同时伴有 2 型糖尿病时, 应用磺脲类降糖药物是否影响 IPC 对心肌的保护作用? 经过半个世纪的研究, 磺脲类药物对 IPC 的影响已得到很多专家的认同, 如格列本脲能消除 IPC 的保护作用已被多数同行专家所认定, 因为其对胰岛 β 细胞的 KATP 通道和心肌细胞 KATP 通道均有阻断作用^[5]。而新一代磺脲类药物格列齐特对 IPC 的影响是怎样, 及能否改善在糖尿病的情况下 IPC 对心肌细胞的保护作用目前研究较少, 本文基于此对此进行实验研究, 以便更好地指导临床用药。

1 材料

1.1 仪器与试剂

数显恒温水浴锅, 金坛市江南仪器厂。

格列齐特, 化学纯, 法国施维雅制药有限公司; 链脲左菌素, 美国 Sigma 公司。

Krebs-Henseleit (K-H) 营养液各组份均为市售分析纯试剂, NaCl 6.92 g、KCl 0.35 g、NaHCO₃ 2.10 g、MgSO₄ 0.29 g、KH₂PO₄ 0.16 g、Glucose 2.0 g 溶于 900 mL 蒸馏水中, 搅拌均匀; 另称取 CaCl₂ 0.28 g, 溶于 28 mL 蒸馏水中配成 1% 的氯化钙母液,

将其加入到上述溶液中, 再加蒸馏水至 1 000 mL, 搅拌均匀使之充分混合, 溶液以 95% O₂、5%CO₂ 混合气体充灌 20 min, 调节 pH 7.4^[6]。

1.2 实验动物

清洁级雄性 Wistar 大鼠 72 只, 体质量 200~220 g, 由青岛市药检所实验动物中心提供, 动物合格证号 SCXK (鲁) 2010-1001。

2 方法

2.1 造模

雄性 Wistar 大鼠 72 只, 随机分成两组, 其中造模组 52 只, 对照组 20 只。将造模组大鼠喂以高糖高脂饲料 (成分为蔗糖 20%、猪油 10%、蛋黄 2.5%、胆固醇 1%、普通饲料 66.5%, 加适当水搅拌均匀), 共喂养 6 周。6 周后, 大鼠过夜禁食 12 h, ip 链脲左菌素 35 mg/kg^[7], 3 d 后断尾采血, 测定血糖, 将空腹血糖水平大于 16.7 mmol/L 的大鼠视为造模成功^[8]。对照组大鼠同时喂以等量普通饲料 6 周, 过夜禁食 12 h 后 ip 等量生理盐水。

2.2 分组

选取最终造模成功的大鼠 40 只, 随机分为糖尿病缺血预处理组、糖尿病再灌注损伤组、糖尿病缺血预处理+格列齐特组、糖尿病再灌注损伤+格列齐特组, 每组各 10 只。对照大鼠也分为缺血预处理组、再灌注损伤组, 每组各 10 只。糖尿病非药物治疗组包括糖尿病缺血预处理组、糖尿病再灌注损伤组, 糖尿病药物治疗组包括糖尿病缺血预处理+格列齐特组、糖尿病再灌注损伤+格列齐特组。分组后, 各组大鼠分笼喂养, 糖尿病药物治疗组的大鼠 ig 格列齐特悬浊液 64 mg/kg, 1 次/d, 连续给药 4 周 (根据上午 7:00 的血糖, 每 3 天调整格列齐特用量, 使糖尿病药物治疗组大鼠血糖维持在对照组大鼠血糖水平)。未用药大鼠 ig 给予同等剂量的生理盐水, 连续给药 4 周。

2.3 试验操作

大鼠 ip 3%戊巴比妥钠 (65 mg/kg) 进行麻醉。开腹寻找下腔静脉, 向下腔静脉内注射普通肝素 500 U/kg^[9], 打开胸腔取出心脏, 分离主动脉, 插入灌注针至主动脉瓣上方 (不要插入过深, 以免损伤主动脉瓣), 联于 Langendorff 灌注装置中, 以 K-H

营养液进行逆向灌流。参数设置分别为：恒温循环水槽温度 37℃，灌流液的体积流量 7~9 mL/min，灌注压维持在 80 mmHg (1 mmHg=133 Pa)，整个灌注期间连续通以 95% O₂、5% CO₂ 混合气体，调节 pH 7.4^[9-10]。进行缺血预处理实验的大鼠按平衡灌流 5 min 后，给予 5 min 全心缺血再 5 min 复灌，共 3 个循环，后给予 30 min 全心缺血并 60 min 复灌。进行再灌注损伤实验的大鼠按平衡灌流 5 min 后直接给予 30 min 全心缺血并 60 min 复灌^[11]。各组分别于平衡灌注后、缺血再灌注开始及再灌注 60 min 末 3 个时间点分别收集冠脉流出液，测定灌流液中乳酸脱氢酶 (LDH)、肌酸激酶 (CK)、磷酸肌酸激酶同工酶 (CK-MB) 的释放量。在再灌注末，取左心室游离壁心肌组织，进行荧光定量 PCR 检测心肌 KATP 通道组成亚基 Kir6.2 和 SUR2A mRNA 的表达，免疫组织化学技术检测其蛋白水平的表达。

2.4 统计学处理

实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示，两组间数据采用独立样本双侧 *t* 检验，多组间采用单因素方差分析。应用 SPSS 17.0 统计软件进行统计分析。

3 结果

3.1 对冠脉流出液中 LDH、CK、CK-MB 水平的影响

观察各组分别在平衡灌注后、缺血再灌注开始及再灌注 60 min 末 3 个时间点冠脉流出液中 LDH、CK、CK-MB 的变化，见表 1。就平衡灌注后而言，LDH、CK、CK-MB 水平均较低，各组之间差异无统计学意义。而在缺血再灌注开始及再灌注 60 min 末，缺血预处理组与再灌注损伤组、糖尿病药物治疗组之间在 LDH、CK、CK-MB 水平方面均存在显著差异 ($P<0.05$)。在 3 个时间点里，糖尿病缺血预处理组与糖尿病再灌注损伤组的 LDH、CK、CK-MB 水平均无显著性差异。

表 1 各时间点冠脉流出液中 LDH、CK、CK-MB 的水平 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 1 Levels of LDH, CK, and CK-MB in coronary effluent liquid at different time ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	测定时间	LDH/(U·L ⁻¹)	CK/(U·L ⁻¹)	CK-MB/(U·L ⁻¹)
再灌注损伤	平衡灌注后	50.02±24.67	19.14±15.35	18.67±9.95
	缺血再灌注开始	378.25±102.24	157.23±52.89	129.91±45.23
	再灌注 60 min 末	210.24±103.47	128.46±89.67	124.43±64.23
缺血预处理	平衡灌注后	49.80±24.50	21.23±14.18	19.20±10.53
	缺血再灌注开始	172.81±62.68*	83.43±24.24*	62.68±24.57*
	再灌注 60 min 末	91.57±46.68*	61.23±47.62*	62.46±57.76*
糖尿病再灌注损伤	平衡灌注后	51.22±10.80	22.40±7.45	22.12±6.25
	缺血再灌注开始	402.20±189.35	168.40±82.46	138.68±37.69
	再灌注 60 min 末	369.86±72.35	132.11±51.32	128.35±38.56
糖尿病缺血预处理	平衡灌注后	50.42±9.62	19.83±6.74	21.08±5.79
	缺血再灌注开始	361.12±167.76 [#]	170.24±87.13 [#]	141.15±38.65 [#]
	再灌注 60 min 末	310.92±62.32 [#]	139.53±50.74 [#]	135.81±41.17 [#]
糖尿病再灌注损伤+格列齐特	平衡灌注后	51.10±16.17	19.12±9.25	17.90±6.89
	缺血再灌注开始	352.10±72.78	154.28±14.56	132.27±13.38
	再灌注 60 min 末	300.41±78.54	130.21±61.87	127.78±45.62
糖尿病缺血预处理+格列齐特	平衡灌注后	50.12±17.24	18.68±9.55	19.21±7.63
	缺血再灌注开始	190.82±27.21 [△]	91.20±10.02 [△]	68.84±7.46 [△]
	再灌注 60 min 末	101.86±24.89 [△]	67.88±31.32 [△]	61.21±23.35 [△]

与再灌注损伤组比较：* $P<0.05$ ；与糖尿病再灌注损伤+格列齐特组比较：[△] $P<0.05$ ；与缺血预处理组比较：[#] $P<0.05$ ；与糖尿病缺血预处理组比较：[△] $P<0.05$

* $P<0.05$ vs reperfusion injury group；[△] $P<0.05$ vs diabetic reperfusion injury + gliclazide group；[#] $P<0.05$ vs ischemic preconditioning group；

[△] $P<0.05$ vs diabetic ischemic preconditioning group

3.2 对心肌 KATP 通道组成亚基 Kir6.2 和 SUR2A mRNA 表达水平的影响

从各组心肌 KATP 通道组成亚基 Kir6.2 和 SUR2A mRNA 的表达水平可见, 各组之间 Kir6.2

的表达水平之间也存在差异性, 差异性与各组之间缺血再灌注开始及再灌注 60 min 末这两个时间点的冠脉 LDH、CK、CK-MB 释放量类似。各组之间 SUR2A mRNA 表达水平差异性不明显, 见表 2。

表 2 心肌 KATP 通道组成亚基 Kir6.2 和 SUR2A mRNA 的表达水平 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 2 Expression levels of myocardial KATP channel subunits Kir6.2 and SUR2A mRNA ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组 别	Kir6.2/ Δ CT	SUR2A/ Δ CT
再灌注损伤	10.03 $\pm$ 0.71	10.82 $\pm$ 0.62
缺血预处理	4.87 $\pm$ 0.61 [*]	11.08 $\pm$ 0.68
糖尿病再灌注损伤	11.54 $\pm$ 1.11	11.65 $\pm$ 0.68
糖尿病缺血预处理	11.48 $\pm$ 0.52 [#]	11.33 $\pm$ 0.71
糖尿病再灌注损伤+格列齐特	10.45 $\pm$ 1.21	11.30 $\pm$ 1.08
糖尿病缺血预处理+格列齐特	5.23 $\pm$ 1.08 [△]	11.01 $\pm$ 1.45

与再灌注损伤组比较: ^{*} $P<0.05$; 与糖尿病再灌注损伤+格列齐特组比较: [△] $P<0.05$; 与缺血预处理组比较: [#] $P<0.05$; 与糖尿病缺血预处理组比较: [△] $P<0.05$

^{*} $P<0.05$ vs reperfusion injury group; [△] $P<0.05$ vs diabetic reperfusion injury + gliclazide group; [#] $P<0.05$ vs ischemic preconditioning group;

[△] $P<0.05$ vs diabetic ischemic preconditioning group

3.3 对心肌 KATP 通道组成亚基 Kir6.2 和 SUR2A 蛋白质的表达水平的影响

按照传统的蛋白质生成过程, DNA 转录成 mRNA 最后翻译成蛋白质的流程, 心肌 KATP 通道组成亚基 Kir6.2 和 SUR2A mRNA 的表达水平应与其蛋白质的表达水平对应。从实验结果可以观察到 Kir6.2 表达的蛋白质与其 mRNA 出现了对应关系,

表现在缺血预处理组与再灌注损伤组、糖尿病缺血预处理+格列齐特组与糖尿病再灌注损伤+格列齐特组之间在 Kir6.2 蛋白质表达水平方面差异具有显著性 ($P<0.05$)。但 SUR2A mRNA 表达水平差异性不明显, 其蛋白质的表达水平却与 Kir6.2 蛋白质出现了同样的差异具有显著性 ($P<0.05$), 见表 3。

表 3 心肌 KATP 通道组成亚基 Kir6.2 和 SUR2A 蛋白的表达水平 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 3 Expression levels of myocardial KATP channel subunits Kir6.2 and SUR2A protein ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组 别	Kir6.2	SUR2A
再灌注损伤	5.48 $\pm$ 1.42	3.60 $\pm$ 1.31
缺血预处理	9.91 $\pm$ 1.79 [*]	7.40 $\pm$ 1.83 [*]
糖尿病再灌注损伤	4.52 $\pm$ 1.31	6.25 $\pm$ 1.90
糖尿病缺血预处理	4.59 $\pm$ 1.20 [#]	6.40 $\pm$ 2.12
糖尿病再灌注损伤+格列齐特	5.30 $\pm$ 1.50	3.89 $\pm$ 1.48
糖尿病缺血预处理+格列齐特	9.52 $\pm$ 1.32 [△]	7.12 $\pm$ 2.01 [△]

与再灌注损伤组比较: ^{*} $P<0.05$; 与糖尿病再灌注损伤+格列齐特组比较: [△] $P<0.05$; 与缺血预处理组比较: [#] $P<0.05$; 与糖尿病缺血预处理组比较: [△] $P<0.05$

^{*} $P<0.05$ vs reperfusion injury group; [△] $P<0.05$ vs diabetic reperfusion injury + gliclazide group; [#] $P<0.05$ vs ischemic preconditioning group;

[△] $P<0.05$ vs diabetic ischemic preconditioning group

4 讨论

心肌缺血预适应(IPC)是自从 Murry 等于 1986 年首次提出以来, 得到各方面专家的普遍关注, 认为其是心脏自身产生的强大自我保护功能, 能明显

延长心肌细胞对缺血的耐受时间, 减少因冠脉阻塞引起的心肌梗死面积, 增加心肌细胞的电稳定性^[12], 减少急性缺血期或灌注后室性心律失常的发生等^[10-11, 13]。磺脲类药物的降糖机制主要通过与

胰岛素 β 细胞膜上的KATP通道中的磺脲类受体结合,使KATP通道关闭,从而促进胰岛素的分泌来起降糖作用;KATP通道的非选择阻滞剂在关闭胰岛素 β 细胞膜上的KATP通道时,对心血管系统中的KATP通道也具有关闭作用,从而消除了IPC的心肌保护功能^[14]。如在动物实验时,格列本脲通过阻滞心血管组织KATP通道的开放消除IPC的保护作用已被多数同行专家所认定。

而对于新一代磺脲类药物格列齐特对心血管组织是否也存在上述情况,学术界多持否定态度,认为格列齐特对心肌保护作用无负面影响。在本实验中,在对照两组之间,与再灌注损伤组相比,缺血预处理组降低了糖尿病大鼠心肌缺血预处理后缺血再灌注损伤冠脉流出液中LDH、CK、CK-MB释放量($P<0.05$);而使Kir6.2 mRNA及其蛋白表达明显增加($P<0.05$);SUR2A mRNA表达差异无统计学意义,这也验证了IPC对心肌组织具有保护作用。在糖尿病非药物治疗大鼠,糖尿病缺血预处理组与GDR组相比,冠脉流出液中LDH、CK、CK-MB无明显差异;Kir6.2和SUR2A mRNA及蛋白表达也均无明显差异。可见对照两组之间存在显著的差异,而同样的糖尿病两组之间差异性就消除了,表明糖尿病可能会影响IPC的作用,可能与糖尿病的糖代谢紊乱、能量供应不足、影响心肌组织KATP通道的功能有关。与糖尿病缺血预处理组相比,糖尿病缺血预处理+格列齐特组降低了糖尿病大鼠心肌缺血预处理后缺血再灌注损伤冠脉流出液中LDH、CK、CK-MB释放量($P<0.05$);也使Kir6.2 mRNA及其蛋白表达明显增加($P<0.05$);SUR2A mRNA及其蛋白表达无明显差异,可见格列齐特对IPC的心肌保护作用无不利影响。而与糖尿病再灌注损伤+格列齐特组相比,糖尿病缺血预处理+格列齐特组与其之间也出现了糖尿病缺血预处理+格列齐特组与糖尿病缺血预处理组之间相同的差异性。不难发现:对照两组(缺血预处理组、再灌注损伤组)之间LDH、CK、CK-MB释放量、Kir6.2 mRNA及其蛋白表达水平与SUR2A蛋白表达水平存在显著性差异,而糖尿病非药物治疗两组(糖尿病缺血预处理组、糖尿病再灌注损伤组)之间差异性消失,应用格列齐特后两组(糖尿病缺血预处理+格列齐特组与糖尿病再灌注损伤+格列齐特组)之间的差异性再次出现,表明应用格列齐特后能改善糖尿病大鼠缺血再灌注时IPC对心肌的保护

作用。应用格列齐特为何与格列本脲会出现截然相反的情况,目前不是很清楚,推测可能格列齐特与不同组织的KATP通道之间的亲和力存在差异性,与心肌组织的结合力较低所致。有研究发现,格列齐特对胰岛 β 细胞上的KATP通道中的SUR1/Kir6.2受体有很强的亲和力;在离体模型中,格列齐特不与心肌组织的KATP通道上的磺脲类药物受体相结合,也证明了目前推测。

磺脲类药物治疗2型糖尿病已有半个多世纪,仍然是目前治疗2型糖尿病的最主要药物之一。因其部分磺脲类药物会对心血管系统的IPC心肌保护作用产生不利影响,因此在患有心血管疾病伴2型糖尿病的患者慎用磺脲类药物。对于未患心血管疾病的糖尿病患者应用磺脲类药物应该是安全的,对于伴有心血管疾病者在慎用磺脲类药物时,通过本研究认为可以选择格列齐特;目前另一项研究^[15]也表明,最新一代磺脲类药物格列吡嗪同样具有相同效果。表明随着心血管疾病伴随糖尿病患者越来越多,人们在开发新一代磺脲类降糖药物时越来越关注其对心血管系统的影响。未来随着研究的进一步深入,磺脲类药物与心肌组织KATP通道特异氨基酸序列结合位点的不断认识,相信不久的将来能开发出更具高选择性的磺脲类药物用于治疗糖尿病同时伴随心血管疾病的患者。

参考文献

- [1] Murry C E, Jennings R B, Reimer K A. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium [J]. *Circulation*, 1986, 74(5): 1124-1136.
- [2] Ajmani P, Yadav H N, Singh M, et al. Possible involvement of caveolin in attenuation of cardioprotective effect of ischemic preconditioning in diabetic rat heart [J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2011, 11: 43.
- [3] Zhou M, Tanaks O, Sekiguchi M, et al. Localization of the ATP-sensitive potassium channel subunit (Kir6.1/uK(ATP)-1) in rat brain [J]. *Brain Res Mol Brain Res*, 1999, 74(1-2): 15-25.
- [4] Meldrum D R, Cain B S, Meng X, et al. Calcium preconditioning, but not ischemic preconditioning, bypasses the adenosine triphosphate-dependent potassium (KATP) channel [J]. *J Surg Res*, 1999, 85(1): 77-82.
- [5] Tomai F, Crea F, Gaspardone A, et al. Ischemic preconditioning during coronary angioplasty is prevented by glibenclamide, a selective ATP-sensitive K⁺ channel blocker [J]. *Circulation*, 1994, 90(2): 700-705.

- [6] Skrzypiec-Spring M, Grotthus B, Szelag A, *et al.* Isolated heart perfusion according to Langendorff-still viable in the new millennium [J]. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 2007, 55(2): 113-126.
- [7] Martinez I M, Morales I, Garcia-Pino G, *et al.* Experimental type 2 diabetes induces enzymatic changes in isolated rat enterocytes [J]. *Exp Diabetes Res*, 2003, 4(2): 119-123.
- [8] 娄伟成, 宣金, 吴赛华, 等. 2型糖尿病大鼠模型研究概况 [J]. 中国中医药咨讯, 2011, 3(18): 88-89.
- [9] Bouchard J F, Lamontagne D. Protection afforded by preconditioning to the diabetic heart against ischemic injury [J]. *Cardiovasc Res*, 1998, 37(1): 82-90.
- [10] Marciano C, Galderisi M, Garqiulo P, *et al.* Effects of type 2 diabetes mellitus on coronary microvascular function and myocardial perfusion in patients without obstructive coronary artery disease [J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2012, 39(7): 1199-1206.
- [11] Creager M A, Luscher T F, Cosentino F, *et al.* Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: Part I [J]. *Circulation*, 2003, 108(12): 1527-1532.
- [12] Fujita A, Kurachi Y. Molecular aspects of ATP-sensitive K⁺ channels in the cardiovascular system and K⁺ channel openers [J]. *Pharmacol Ther*, 2000, 85(1): 39-53.
- [13] Hagar J M, Hale S L, Kloner R A. Effect of preconditioning ischemia on reperfusion arrhythmias after coronary artery occlusion and reperfusion in the rat [J]. *Circ Res*, 1991, 68(1): 61-68.
- [14] Nichols C G. KATP channels as molecular sensors of cellular metabolism [J]. *Nature*, 2006, 440(7083): 470-476.
- [15] 甄月巧, 吴国亭. 格列吡嗪对健康新西兰白兔心肌缺血预适应的影响 [J]. 现代医药卫生, 2012, 28(7): 989-990.