

糖尿病 ZDF 大鼠早期微血管并发症的 生化指标及病理组织学变化

陈小真,戎亦骊,马全鑫,黄俊杰,朱科燕,陈 诚,施佳君,李园园,陈民利

(浙江中医药大学动物实验研究中心/比较医学研究中心,杭州 310053)

【摘要】 目的 观察自发性 2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM) ZDF 大鼠早期微血管并发症的生化指标及病理变化。**方法** 取 6 只 7~8 周龄的雄性 ZDF 大鼠适应性饲养 3 d 后,开始饲喂 Purina#5008 饲料,另取 8 只同周龄的雄性 ZL 大鼠为正常对照组,饲喂普通饲料。在 12、14、16 周龄时检测血糖 (GLU)、血清胆固醇 (CHOL)、甘油三酯 (TG)、高密度脂蛋白 (HDL-C)、低密度脂蛋白 (LDL-C)、超敏 C 反应蛋白 (hsCRP)、糖化血红蛋白 (HbA1c),16 周龄时处死,并对眼球、肾、心、脑组织进行病理学检查。**结果** ZDF 大鼠 GLU、CHOL、TG、HDL-C、LDL-C、hsCRP 水平逐渐升高。16 周龄时,ZDF 大鼠 RBP、mALB、TRF 含量显著高于 ZL 大鼠 ($P < 0.01$)。肾小球、视网膜、心肌、脑部出现不同程度的微血管病变,肾小球部分血管基膜增厚,视网膜内皮细胞增多,血管壁增厚,心脏出现少量心肌纤维化,海马区神经元异常。**结论** ZDF 大鼠在 16 周龄时出现 T2DM 早期微血管并发症,其中 T2DM 早期肾病、视网膜病变、心肌病变较为突出,脑神经元轻微病变。

【关键词】 微血管;2 型糖尿病;病理;ZDF 大鼠

【中图分类号】 R-332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2016) 05-0063-08

doi: 10. 3969. j. issn. 1671 - 7856. 2016. 005. 010

Biochemical indicators and pathological changes of early microvascular complications in spontaneous type 2 diabetes mellitus (T2DM) ZDF rats

CHEN Xiao-zhen, RONG Yi-li, MA Quan-xin, HUANG Jun-jie,

ZHU Ke-yan, CHEN cheng, SHI Jia-jun, LI Yuan-yuan, CHEN Min-li

(Laboratory Animal Research Center Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

【Abstract】 Objective To investigate the biochemical indicators and pathological changes of early microvascular complications in spontaneous type 2 diabetes (T2DM) ZDF rats. **Methods** Six male ZDF rats aged around 7-8 weeks were allowed to acclimate for 3 days after feeding Purina#5008, eight male ZL rats at the same age were assigned to control group, fed with regular diets. At 12, 14, 16 week, blood glucose (GLU), serum cholesterol (CHOL), triglyceride (TG), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high-sensitivity C-reactive protein (hsCRP), glyated hemoglobin (HbA1c) were detected. All rats were sacrificed at 16 week and pathological examinations were applied to eye, kidney, heart, brain tissues. **Results** GLU, CHOL, TG, HDL-C, LDL-C, hsCRP levels in ZDF rats were increased gradually ($P < 0.01$). At 16 week, RBP, mALB, TRF contents in ZDF rats were

[基金项目]浙江省中医药管理局重点项目(2015ZZ009);比较医学创新团队(XTD201301)。

[作者简介]陈小真(1991-),女,硕士生,研究方向:中药药理与比较医学,E-mail:sochenxiaozhen@126.com。

[通讯作者]陈民利(1963-),女,教授、硕士,研究方向:实验动物与比较医学,E-mail:cmli991@aliyun.com。

significantly higher than ZL rats ($P < 0.01$). Glomeruli, retina, myocardium, brain tissue showed varying degrees of microvascular disease, vascular basement membrane of the glomerular part appeared thicken, retinal endothelial cells were increased, vascular wall was thicken, and the heart showed a small amount of myocardial fibrosis, hippocampal neurons appeared abnormal. **Conclusions** ZDF rats showed early microvascular complications of T2DM at 16 week, among which T2DM early nephropathy, retinopathy, cardiomyopathy become more prominent, cerebral neuron appeared slight lesion.

【Key words】 Microvessel; Type 2 diabetes mellitus; Pathology; ZDF rats

2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) 是一种代谢紊乱性疾病, 可引发多种微血管和大血管并发症, 并伴有冠心病、高血压、脑血管病、肾病、眼部并发症、神经病变、脂血症、脂肪肝等并发症, 其中微血管并发症包括糖尿病视网膜病变 (diabetic retinopathy, DR)、糖尿病肾病 (diabetic nephropathy, DN)、糖尿病神经病变及糖尿病心肌病等^[1]。目前关于 1 型糖尿病微血管病变的研究较多, 对 T2DM 微血管病变的研究较少。Zucker 糖尿病肥胖大鼠 (zucker diabetes fatty, ZDF) 是从出现糖尿病表型的 Zucker 大鼠中筛选出来的, 是一种新型的自发性 T2DM 模型^[2]。在高脂饲喂后出现高血糖与高胰岛素血症, 并伴有肥胖、脂质紊乱及糖耐量异常等代谢综合征^[3], 与人类 T2DM 发病进程相似, 因此本文选取 ZDF 大鼠为研究对象, 以 Zucker 瘦型大鼠 (zucker lean, ZL) 作为对照, 观察 ZDF 大鼠糖尿病早期微血管并发症的生化指标及相关组织的病理改变, 并探讨其发病特点。

1 材料和方法

1.1 实验动物及实验环境

SPF 级 7~8 周龄雄性 ZDF 大鼠 6 只及同周龄的雄性 ZL 大鼠 8 只, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供【SCXK(京)2012-X001】; 饲养于浙江中医药大学动物实验研究中心屏障实验室【SYXK(浙)2013-184】; 环境温度: $(22 \pm 2)^\circ\text{C}$, 相对湿度: 50%~60%, 光照: 12 h/12 h 明暗交替, 噪声 $< 50\text{ dB}$; 在 IVC 笼内饲养, 自由饮食, 并在实验过程中按实验动物使用的“3R”原则给予人道主义关怀。

Purina#5008 营养组分: 蛋白质 23.75%、总脂肪 7.55%、粗纤维 4.00%、消化能 14.6 KJ/kg。

1.2 试剂与仪器

Advantage 血糖仪 (德国罗氏公司), Bouin 氏固定液 (苦味酸饱和溶液, 冰醋酸, 甲醛), Premier Hb9210 型糖化血红蛋白分析仪 (爱尔兰 Trinity Biotech 公司), 7020 型全自动生化分析仪 (日本日

立公司), 大鼠转铁蛋白 (TRF) ELISA 试剂盒, 大鼠视黄醇结合蛋白 (RBP) ELISA 试剂盒, 大鼠尿微量白蛋白 (mALB) 试剂盒, 超敏 C 反应蛋白 (hsCRP) ELISA 试剂盒, 购自杭州诚维生物科技有限公司, Thermo 光谱扫描多功能酶标仪 (美国 Thermo 公司), ST5010 染色机 (德国 Leica 公司), 80I 相差显微镜 (日本 Nikon 公司)。Masson 试剂盒, PAS 试剂盒, 购自珠海贝索生物技术有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 动物分组:

ZDF 大鼠适应性饲养观察 3 d 后开始饲喂 Purina#5008 饲料, 作为模型组 (Model group)。ZL 大鼠饲喂普通饲料, 作为正常对照组 (Control group), 并在 8 周时处死动物。

1.3.2 血液生化指标测定

动物在禁食 12 h 后, 分别在 8、10 周龄时, 尾尖取血, 血糖仪测定 GLU; 在 12、14、16 周龄时, 尾静脉取血 0.5 mL, 3000 r/min 离心 10 min, 分离血清, 用全自动生化分析仪检测 GLU、CHOL、TG、HDL-C、LDL-C。取全血 200 μL , 用糖化血红蛋白分析仪测定 HbA1c。

16 周龄时, 收集大鼠 24 h 尿液, 利用 ELISA 试剂盒检测尿液中 TRF、mALB 的含量; 同时用 ELISA 试剂盒检测大鼠血清中 hsCRP、RBP 的含量。

1.3.3 病理组织学观察

大鼠 16 周龄时, 解剖取心、肾、脑、眼球, 分别进行组织固定及染色。取心脏组织进行马松 (Masson) 染色, 脑组织切片进行苏木素-伊红 (HE) 染色, 肾脏组织切片进行糖原 (PAS) 染色, 光学显微镜下观察病理变化。

取各组实验动物的左眼球, 在 Bouin 氏固定液固定 24 h 后, 以视乳头为中心, 垂直于虹膜切开, 固定、脱水、石蜡包埋、切片, 进行 HE 染色, 观察视网膜厚度。参照潘琳^[4]的方法, 取各组实验动物的右眼球, 通过视网膜毛细血管消化铺片, 进行 PAS 染色。

1.4 统计学方法

所有数据用($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS22.0 软件进行统计分析,两两比较采用配对 t 检验, $P < 0.05$ 表示有统计学差异。

2 结果

2.1 一般情况与体重变化

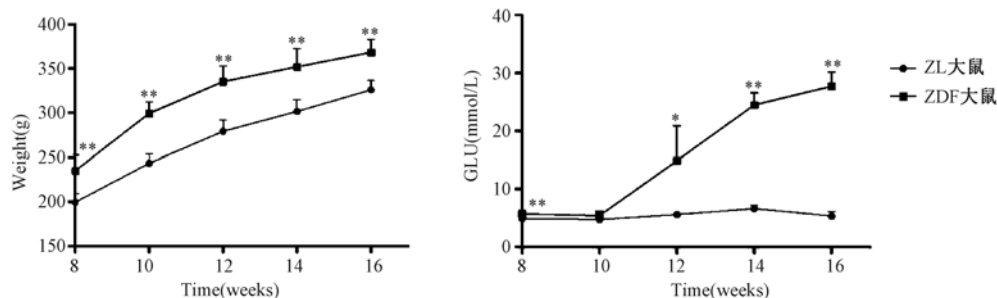
正常对照组 ZL 大鼠生长良好,活动灵活,毛色健康,无其他症状;ZDF 大鼠采食量、饮水量增加,毛色无光泽、枯黄,尿量及排泄物增多。ZDF 大鼠

体重显著高于 ZL 大鼠($P < 0.01$),实验期间,ZL 大鼠体重持续增加,ZDF 大鼠在 8~10 周龄快速增长,而从 12 周龄起开始缓慢增长。

2.2 空腹血糖的变化及 HbA1c 水平

ZDF 大鼠在 12 周龄时空腹血糖显著上升,显著高于 ZL 大鼠($P < 0.05$, $P < 0.01$),14 周龄起血糖增长缓慢(图 1)。

在 16 周龄时,ZDF 大鼠 HbA1c 水平显著高于 ZL 大鼠($P < 0.01$)(图 2)。

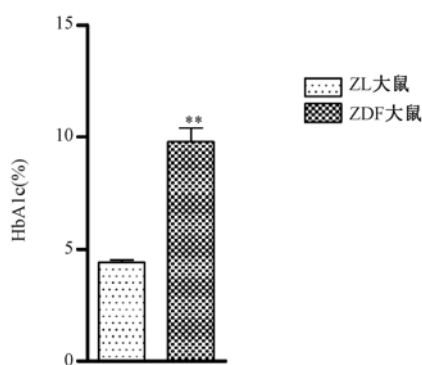


注:与正常对照组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

图 1 ZDF 大鼠体重和空腹血糖的变化

Note: Compared with the control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

Fig. 1 Changes of weight and GLU in ZDF rats



注:与正常对照组相比,** $P < 0.01$ 。

图 2 ZDF 大鼠 HbA1c 水平

Note: Compared with the control group, ** $P < 0.01$.

Fig. 2 Level of HbA1c in ZDF rats

2.3 血脂和血清 hsCRP 变化

12、14、16 周龄时,ZDF 大鼠血清 CHOL、TG、HDL-C 均显著高于 ZL 大鼠($P < 0.01$),LDL-C 在 14、16 周龄时显著高于 ZL 大鼠($P < 0.01$)(图 3)。

16 周龄时,ZDF 大鼠血清 hsCRP 显著高于 ZL 大鼠($P < 0.01$)(图 4)。

2.4 血清 RBP 和尿液 mALB、TRF 的含量变化

16 周龄时,ZDF 大鼠血清 RBP 和尿液中 mALB、TRF 含量显著高于 ZL 大鼠($P < 0.01$)(图 5)。

2.5 病理组织学变化

2.5.1 视网膜病变

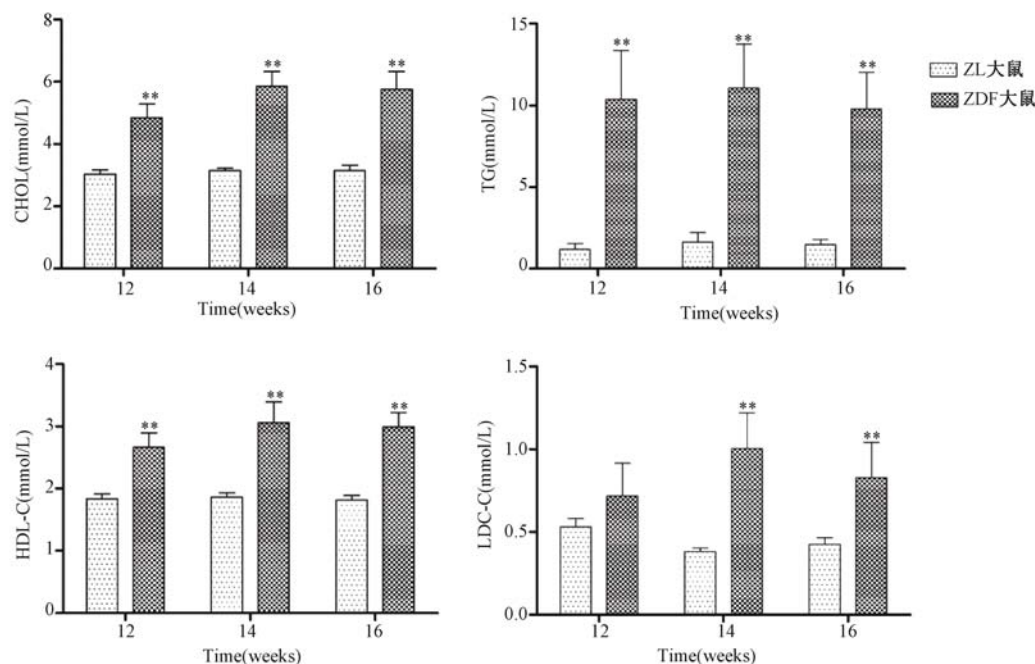
眼球石蜡切片 HE 染色显示 ZL 大鼠视网膜内、外界膜排列整齐,神经纤维层排列紧密,血管壁未见增厚;ZDF 大鼠视网膜神经纤维层局部疏松,血管壁增厚,各层细胞排列紊乱,同时,可见部分脉络膜层血管壁轻度增厚(图 6)。在 NDP.view2 软件中,每只大鼠各选取 5 个点,测量从内界膜到视网膜色素上皮细胞层的厚度,计算各组视网膜平均厚度,发现 ZDF 大鼠视网膜厚度较 ZL 大鼠增厚,存在显著性差异($P < 0.01$)(图 7)。

视网膜毛细血管消化铺片后,进行 PAS 染色,结果显示 ZL 大鼠视网膜血管内皮细胞和周细胞分布规则,未发现增生或凋亡;ZDF 大鼠视网膜内皮细胞增多且部分增生,细胞核大小不一,周细胞减少(图 6)。

2.5.2 肾脏病变

肾脏石蜡切片经 HE 染色显示,ZL 大鼠肾小球、肾小管结构完整,无炎性细胞浸润和纤维变化;ZDF 大鼠肾小球肥大,肾小球基膜增厚,系膜细胞增生,分布弥散,挤压毛细血管。

PAS 染色显示 ZL 大鼠肾小球无明显病理改

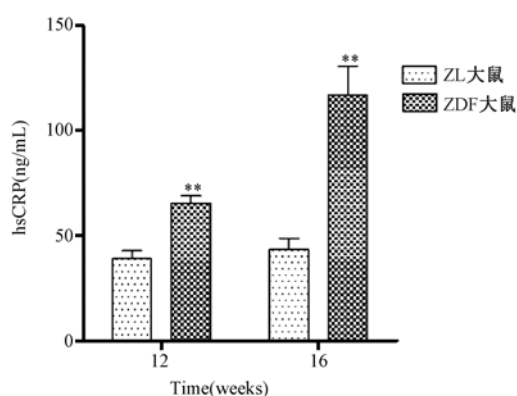


注:与正常对照组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 3 ZDF 大鼠血脂变化

Note: Compared with the control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

Fig. 3 Changes of lipid in ZDF rats



注:与正常对照组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 4 ZDF 大鼠血清 hsCRP 变化

Note: Compared with the control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

Fig. 4 Changes of serum hsCRP in ZDF rats

变,结构完整,系膜区未见异常;ZDF 大鼠肾小球体积略有增大,系膜轻度增生,系膜区增宽,部分毛细血管基膜增厚,肾小球血浆蛋白出现部分玻璃样变性(图 8)。

2.5.3 心肌病变

由 HE 染色可见 ZL 大鼠心肌细胞排列整齐,结构清晰,心肌纤维形态结构无明显异常;ZDF 大鼠心肌细胞肥大,排列紊乱,细胞核大小不规则,成纤

维细胞增多,可见少量炎性细胞浸润。

Masson 染色显示 ZL 大鼠心肌间质和血管周围存在少量胶原纤维,排列整齐,细胞间隙均匀;ZDF 大鼠心肌间质出现少量心肌纤维化,胶原纤维沉积,排列紊乱,细胞间隙扩大(图 9)。

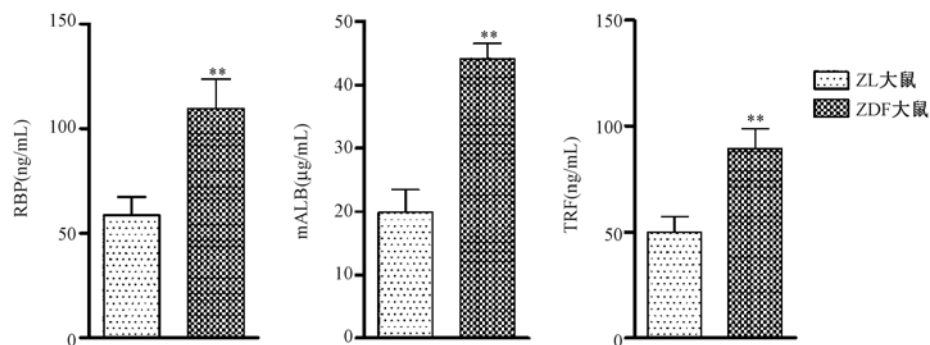
2.5.4 脑部病变

脑组织切片,HE 染色显示 ZL 大鼠海马 CA₃ 区神经元分布整齐,排列规则,海马齿状回颗粒层细胞排列整齐,未见核固缩等明显变化;ZDF 大鼠海马 CA₃ 区神经元排列出现紊乱,海马齿状回颗粒层部分神经元异常,排列紊乱,细胞核变小(图 10)。

3 讨论

DM 发病率逐年上升,DM 并发症的不断恶化是其致残和致死的主要原因,已成为人类健康的重大威胁,预计到 2030 年,糖尿病患者将增至 3.8 亿,其中 T2DM 占总数的 90% 以上^[5]。近来 Gupta^[6] 等研究发现在无症状的 T2DM 患者中,微血管病变的发生率亦高达为 32.55%。微血管并发症主要表现在视网膜、肾、心肌、神经组织及足趾等部位,使患者深受病痛折磨。

目前,ZDF 大鼠多用于 T2DM 及其并发症的研

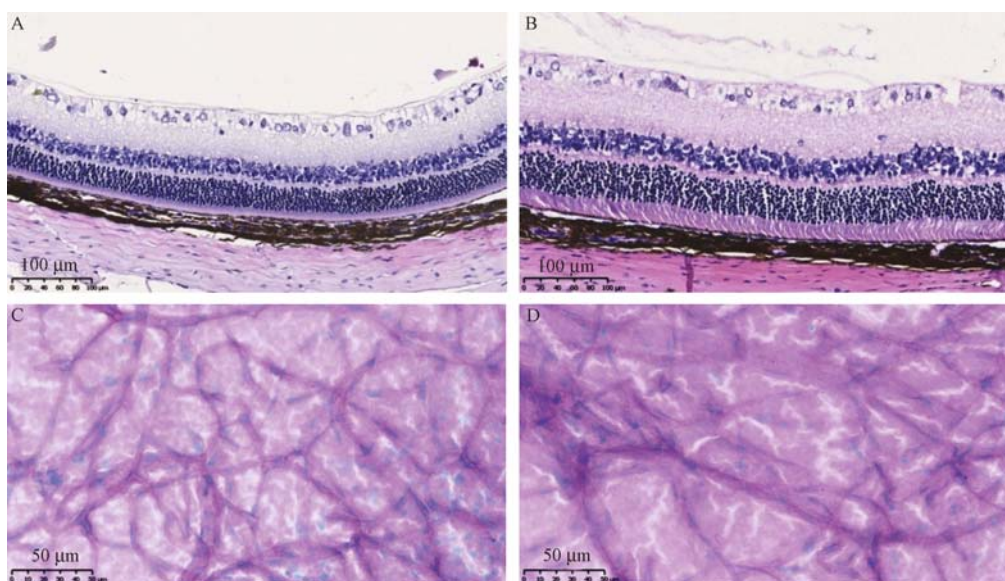


注:与正常对照组相比, ** $P < 0.01$ 。

图5 ZDF大鼠血清RBP和尿液mALB、TRF的变化

Note: Compared with the control group, ** $P < 0.01$.

Fig.5 Changes of serum RBP, urine mALB and TRF in ZDF rats



注:A:正常对照组,HE染色;B:模型组,HE染色;标尺=100 μm;C:正常对照组,消化铺片PAS染色;D:模型组,消化铺片PAS染色;标尺=50 μm。

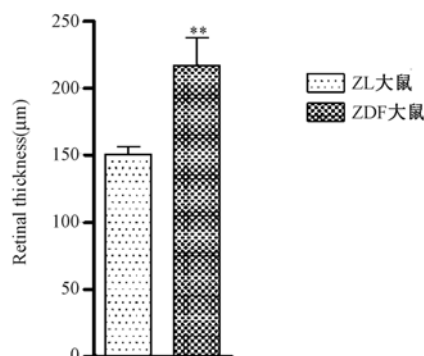
图6 ZDF大鼠视网膜病理组织学变化

Note: A: Control group, HE staining; B: Model group, HE staining; Bar = 100 μm; C: Control group, PAS staining; D: Model group, PAS staining. Bar = 50 μm.

Fig.6 Histopathological of retinal staining in ZDF rats

究^[7-8]。本实验结果显示:ZDF大鼠在16周龄时,体重、采食量、饮水量、尿量、血脂血糖、视黄醇结合蛋白(RBP)、微量白蛋白(mALB)、转铁蛋白(TRF)均显著上升,且出现肾、视网膜、心脏、脑的病理组织学异常,具体表现为肾小球部分血管基膜增厚,系膜增生;视网膜内皮细胞有所增多,血管壁增厚;心脏出现少量心肌纤维化,海马区神经元异常,说明此时已出现T2DM早期微血管并发症。

微血管并发症形成的过程大致为:微循环功能性改变,内皮损伤,基膜增厚,红细胞聚集,血小板粘附和聚集,最后是微血栓形成和微血管闭塞。微血管基底膜增厚是T2DM微血管病变的一种较早表现。实验表明,ZDF大鼠在饲喂4周后,空腹血糖显

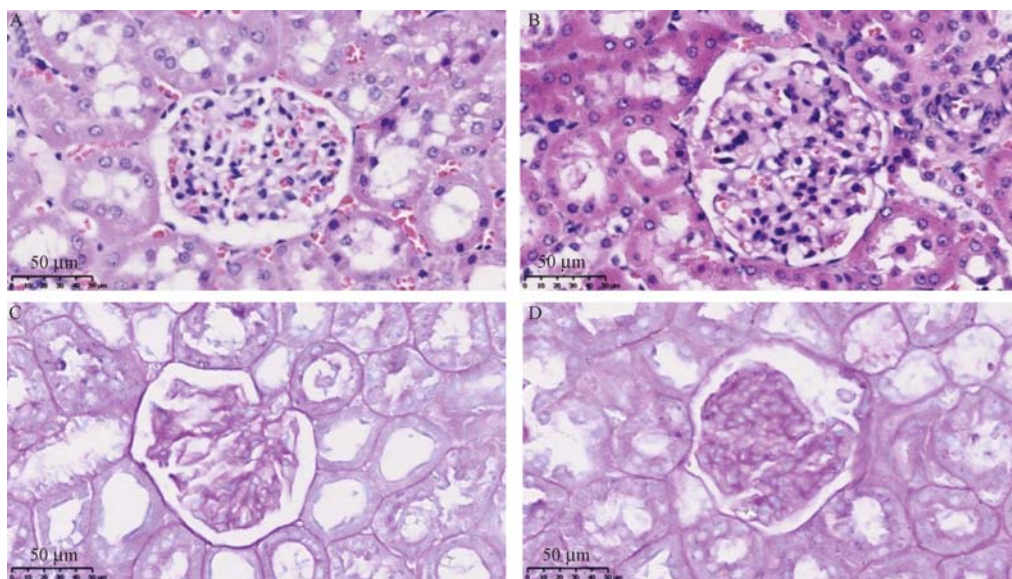


注:与正常对照组相比, ** $P < 0.01$ 。

图7 ZDF大鼠视网膜厚度变化

Note: Compared with the control group, ** $P < 0.01$.

Fig.7 Measurement of Retinal thickness in ZDF rats

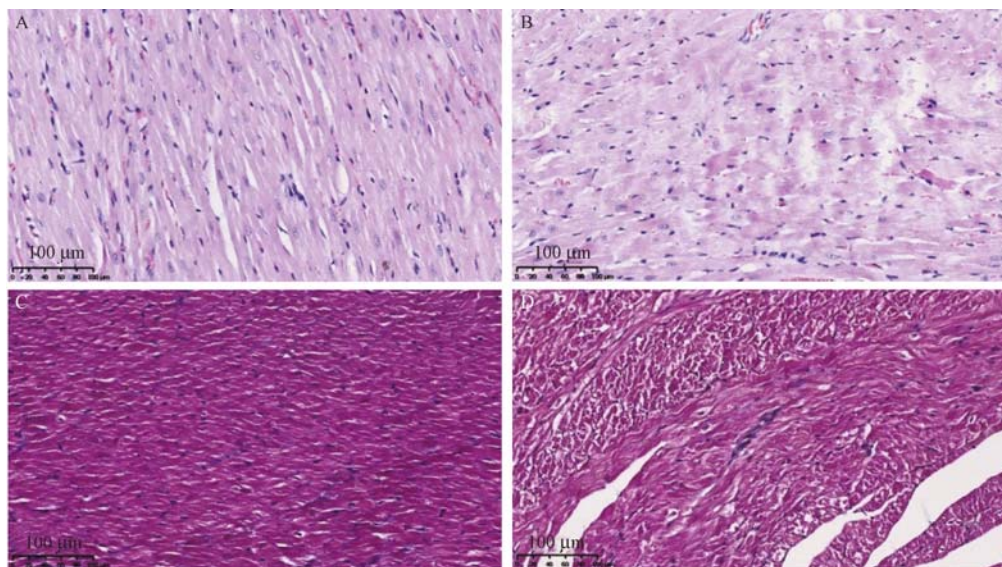


注:A:正常对照组,HE 染色;B:模型组,HE 染色;标尺 = 50 μm ;C:正常对照组,PAS 染色;D:模型组,PAS 染色;标尺 = 50 μm 。

图 8 ZDF 大鼠肾脏 PAS 和 HE 染色

Note: A: Control group, HE staining; B: Model group, HE staining; Bar = 50 μm ; C: Control group, PAS staining; D: Model group, PAS staining; Bar = 50 μm .

Fig. 8 Histopathological of kidney in ZDF rats by PAS staining and HE staining



注:A:正常对照组,HE 染色;B:模型组,HE 染色;标尺 = 100 μm ;C:正常对照组,Masson 染色;D:模型组,Masson 染色;标尺 = 100 μm 。

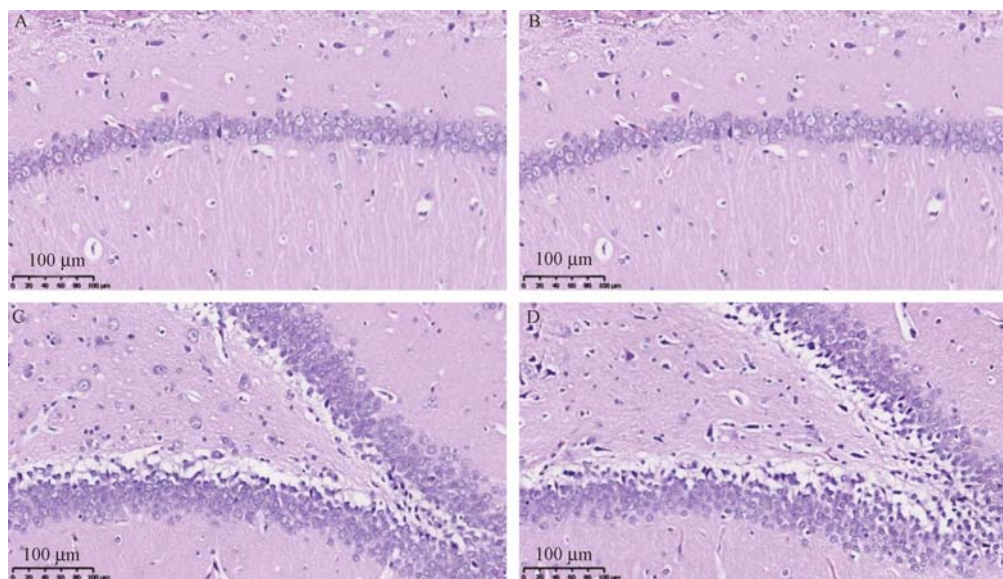
图 9 ZDF 大鼠心脏 HE 和 Masson 染色

Note: A: Control group, HE staining; B: Model group, Masson staining; Bar = 100 μm ; C: Control group, HE staining; D: Model group, Masson staining; Bar = 100 μm .

Fig. 9 Histopathological of myocardium in ZDF rats by HE staining and Masson staining

著上升,HbA1c 高于 ZL 大鼠。hsCRP 是肝脏分泌的炎症反应蛋白,在 T2DM 发生、发展中起着非常重要的作用,在 16 周龄时,ZDF 大鼠血清 hsCRP 含量显著高于 ZL 大鼠,出现倍数增长,说明炎症反应加剧,提示 hsCRP 水平可以作为 T2DM 早期微血管并发症的评估指标,同时,ZDF 大鼠血清 CHOL、TG、

HDL-C 含量均显著高于 ZL 大鼠,LDL-C 含量较 ZL 大鼠有所升高,有可能是肝、肾功能异常所致,其结果有待进一步研究。RBP、mALB、TRF 是糖尿病早期肾损伤的敏感指标,可灵敏地反映肾脏损害的程度,被认为是 T2DM 早期微血管并发症的重要指标。RBP 主要从肾脏排泄,当肾小球滤过率降低,血中



注:A:正常对照组,CA₃区;B:模型组,CA₃区;标尺=100 μm;C:正常对照组,齿状回;D:模型组,齿状回;标尺=100 μm。

图 10 ZDF 大鼠脑部切片 HE 染色

Note: A: Control group, CA₃; B: Model group, CA₃; Bar = 100 μm; C: Control group, dentate gyrus;

D: Model group, dentate gyrus; Bar = 100 μm.

Fig. 10 Histopathological of brain in ZDF rats by HE staining

的 RBP 贮存,说明肾功能受损;mALB 是 DN 最早出现变化的生化指标之一,是肾脏和心血管系统改变的早期标志;TRF 则是作为早期肾小管受损的标志性微量蛋白。实验显示 ZDF 大鼠在 16 周龄时 RBP、mALB、TRF 含量升高,推测肾脏细胞已处于增殖和肥大状态、肾小球滤过障碍,肾功能已减退。

糖尿病视网膜病变(DR)是 T2DM 常见微血管并发症,已经成为全球致盲的重要原因,研究表明,DR 也是其他血管并发症的早期常见表现^[9]。早期病变首先引起微血管功能改变,使视网膜血管扩张,引起周细胞变性、基底膜增厚和内皮细胞增生^[10]。本实验研究发现,ZDF 大鼠视网膜神经纤维层局部出现疏松,血管壁增厚,各层细胞排列紊乱,部分脉络膜层血管壁轻度增厚;视网膜 PAS 染色显示,内皮细胞增多,部分增生,细胞核大小不一,周细胞减少,提示在机体炎症反应的促进下,ZDF 大鼠 16 周龄时已出现 T2DM 早期视网膜病变。

糖尿病肾病(DN)是由肾小球微血管病变而引起的蛋白排泄和滤过异常,已经严重影响患者的生活质量,发病率已上升至 56%^[11],其主要病理变化为肾小球肥大、肾小球基底膜增厚、肾小管间质纤维化,研究发现,SD 大鼠 DM 造模 4 周后,动物出现早期 DN 症状^[12]。ZDF 大鼠肾脏 HE 和 PAS 染色,发现部分肾小球部分血管基膜增厚,系膜增生,提

示已经有一定程度的肾功能障碍,出现 T2DM 早期 DN 微血管病变。

目前认为 T2DM 大血管并发症是导致 DM 心脏病的主要原因,但越来越多的研究表明 T2DM 微血管并发症也能够影响心脏的结构与功能^[13-14]。心肌病变与 T2DM 微血管病变密切相关,微循环功能障碍会引起心肌纤维化及心肌缺血^[15]。心脏切片 Masson 染色显示,ZDF 大鼠出现少量心肌纤维化以及胶原沉积,提示可能在高糖刺激下,内皮细胞紊乱,血管通透性增强,毛细血管增生、变厚,导致 T2DM 早期微血管并发症出现心肌病变。

T2DM 出现的认知功能障碍是由多种因素参与的复杂病理过程,其中糖代谢紊乱会使氧化应激增强,导致神经退行性病变^[16],慢性持续的高血糖引起大脑神经元损伤及凋亡,损伤微血管,进一步诱发 T2DM 神经病变。ZDF 大鼠脑部 HE 染色显示海马区部分神经元异常,推测大鼠的学习与记忆能力可能已经降低,出现早期的认知功能障碍。

综上所述,ZDF 大鼠饲喂 Purina#5008 饲料后,在 16 周龄时出现 T2DM 微血管并发症早期病变;在 T2DM 早期,肾脏、视网膜、心肌、大脑已经出现不同程度的微血管损伤,与高糖以及高糖引起的炎症反应密切相关。对 ZDF 大鼠 T2DM 早期微血管并发症的生化与病理组织学变化的研究有助于 T2DM 微

血管并发症的防治,对 T2DM 微血管并发症的早期诊断具有重要意义。

参考文献:

- [1] Chen L, Magliano DJ, Zimmet PZ. The worldwide epidemiology of type 2 diabetes mellitus-present and future perspectives [J]. *NatRevEndocrinol*, 2012, 8(4): 228-236.
- [2] Davidson EP, Coppey LJ, Holmes A, *et al.* Characterization of Diabetic Neuropathy in the Zucker Diabetic Sprague-Dawley Rat: A New Animal Model for Type 2 Diabetes [J]. *Journal of diabetes research*, 2014, DOI: 10.1155/2014/714273.
- [3] 奚赛飞, 斯徐伟, 朱科燕, 等. ZDF(fa/fa)大鼠的糖脂代谢特点与胰岛素抵抗特性[J]. *实验动物与比较医学*, 2014, 34(2): 102-106.
- [4] 潘林. 实验病理学技术图鉴 [M]. 王太龄. 北京: 科学出版社, 2012: 506-510
- [5] Forouhi NG, Wareham NJ. Epidemiology of diabetes [J]. *Medicine (Abingdon)* 2014, 42(12): 698-702.
- [6] Gupta A, Gupta A, Singh T. Occurrence of complications in newly diagnosed type 2 diabetes patients: a hospital based study [J]. *Journal of the Indian Medical Association*, 2013, 111(4): 245-247.
- [7] Topp BG, Atkinson LL, Finegood DT. Dynamics of insulin sensitivity, β -cell function, and β -cell mass during the development of diabetes in fa/fa rats [J]. *Am JEndocrinolMetab*, 2007, 293(6): E1730-E1735.
- [8] Futamura M, Yao J, Li X, *et al.* Chronic treatment with a glucokinase activator delays the onset of hyperglycaemia and preserves beta cell mass in the Zucker diabetic fatty rat [J]. *Diabetologia*, 2012, 55(4): 1071-1080.
- [9] Cheung N, Wong TY. Diabetic retinopathy and systemic vascular complications [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2008, 27(2): 161-176.
- [10] 陈雨, 朱晓华. 糖尿病视网膜病变发病机制的研究进展 [J]. *国际眼科杂志*, 2006, 6(2): 433-435.
- [11] Naqshbandi M, Harris SB, Esler JG, *et al.* Global complication rates of type 2 diabetes in Indigenous peoples: A comprehensive review [J]. *Diabetes research and clinical practice*, 2008, 82(1): 1-17.
- [12] 唐丽琴, 刘圣, 陈礼明, 等. 复方黄连胶囊对糖尿病大鼠血脂及血液流变学的影响 [J]. *中国药房*, 2007, 18(15): 1129-1131.
- [13] 符丽娟, 庞东渤. 糖基化终产物在糖尿病大鼠心肌病变中的作用 [J]. *中国微循环*, 2009, 13(4): 277-279.
- [14] 简春燕, 吴铿. 糖尿病性心脏病发病机制和治疗的研究现状 [J]. *中华临床医师杂志*, 2012, 6(1): 164-167
- [15] Boussageon R, Bejan-Angoulvant T, Saadatian-Elahi M, *et al.* Effect of intensive glucose lowering treatment on all-cause mortality, cardiovascular death, and microvascular events in type 2 diabetes: Meta-analysis of randomized controlled trials [J]. *BMJ*, 2011, 343.
- [16] McCrimmon RJ, Ryan CM, Frier BM. Diabetes and cognitive dysfunction [J]. *Lancet*, 2012, 379(9833): 2291-2299.

[修回日期]2016-02-01