

阿托伐他汀对糖尿病心肌病大鼠心肌组织赖氨酰氧化酶的影响

刘会¹,张曙影^{2△},荣季冬³

(1. 贵州省人民医院心内科, 贵阳 550002; 2. 大连大学附属中山医院心内科, 辽宁大连 116001; 3. 遵义医学院附属医院心内科, 贵州遵义 563000)

[摘要] 目的 探讨阿托伐他汀对糖尿病心肌病(DCM)大鼠心肌组织赖氨酰氧化酶(LOX)表达的影响及机制。方法 将 30 只 DCM 大鼠分为 DCM 组、治疗组(阿托伐他汀 2 mg·kg⁻¹·d⁻¹灌胃)、β-氨基丙腈(BAPN)组(BAPN 80 mg·kg⁻¹·d⁻¹灌胃),每组 10 只;另选 10 只 SD 大鼠为空白对照组。第 8 周末处死大鼠。提取心肌组织 RNA 及蛋白质,RT-PCR 和 Western blot 测定心肌组织 LOX、基质金属蛋白酶 2(MMP-2)及核因子-κB(NF-κB) mRNA 和蛋白表达。结果 DCM 组 LOX、MMP-2 及 NF-κB mRNA 和蛋白表达明显高于对照组($P<0.01$);与 DCM 组比较,治疗组及 BAPN 组 LOX、MMP-2 及 NF-κB mRNA 和蛋白表达明显下调($P<0.01$)。结论 阿托伐他汀可逆转 DCM 大鼠心肌组织 LOX 表达,进而调控 MMP-2 及 NF-κB 表达。

[关键词] 糖尿病心肌病;蛋氨酸-6-氧化酶;基质金属蛋白酶 2;NF-κB;阿托伐他汀

[中图分类号] R542.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2017)09-1172-03

Effects of atorvastatin on expression of lysyl oxidase in myocardial tissue of rats with diabetic cardiomyopathy

Liu Hui¹, Zhang Shuying^{2△}, Rong Jidong³

(1. Department of Cardiology, Guizhou Provincial People's Hospital, Guiyang, Guizhou 550002, China;

2. Department of Cardiology, Affiliated Zhongshan Hospital of Dalian University, Dalian, Liaoning 116001, China;

3. Department of Cardiology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi, Guizhou 563000, China)

[Abstract] **Objective** To study the effects of atorvastatin on expression of lysyl oxidase(LOX) in myocardial tissue of rats with diabetic cardiomyopathy (DCM) and its mechanism. **Methods** Thirty DCM SD rats were randomly divided into 3 groups: DCM group, treatment group (atorvastatin 2 mg·kg⁻¹·d⁻¹ by gastric gavage) and β-aminopropionitrile group(β-aminopropionitrile 80 mg·kg⁻¹·d⁻¹ by gastric gavage), 10 cases in each group. Other 10 SD rats were selected as the control group. At the end of week 8, the rats were killed for extracting the myocardial tissue RNA and protein. Expression levels of LOX, MMP-2 and NF-κB mRNAs and proteins in myocardial tissue of DCM rats were measured by RT-PCR and Western blot. **Results** The expression levels of LOX, MMP-2 and NF-κB mRNAs and proteins in the DCM group were significantly higher than those in the control group ($P<0.01$), and compared with the DCM group, the expression of BAPN LOX, MMP-2 and NF-κB mRNA and proteins in the treatment group were significantly decreased ($P<0.01$). **Conclusion** Atorvastatin can reverse the expression of LOX in myocardial tissue of DCM rat, and then may regulate the expression of MMP-2 and NF-κB.

[Key words] diabetic cardiomyopathy; protein-lysine 6-oxidase; matrix metalloproteinase 2; NF-kappa B; atorvastatin

糖尿病心肌病(diabetic cardiomyopathy, DCM)的病理特征为心肌肥厚及心肌纤维化,可引起严重的充血性心力衰竭。心室重塑及心肌纤维化贯穿 DCM 病程的始终。高糖毒性可引起大量的氧自由基产生,体内氧化-还原平衡被破坏,激活基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)等在心肌纤维化及心脏重塑中扮演重要角色的细胞因子^[1]。赖氨酰氧化酶(lysyl oxidase, LOX)是一种细胞外铜依赖性的单胺氧化酶^[2],参与心脏重塑,其表达量与心肌纤维化的程度相关^[3]。此外,慢性心力衰竭小鼠心肌组织 LOX 表达也明显上调,而且阿托伐他汀可通过下调 LOX 而抑制心脏重塑^[4]。目前的研究表明 LOX 在心脏重塑中扮演重要角色^[5],但 LOX 是否参与 DCM 的心室重塑尚未涉及。本实验拟通过阿托伐他汀对 DCM 大鼠心肌组织 LOX 表达的影响,探讨阿托伐他汀对 DCM 心肌组织的保护作用,为临床应用阿托伐他汀抑制心脏重塑提供理论依据。

1 材料与方

1.1 材料 实验动物:50 只 8 周龄健康雄性 SD 大鼠,由大连医科大学提供。实验动物在 22~25℃ 清洁级实验室中进行分笼饲养。试剂及仪器:链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)购自美国 Sigma 公司;枸橼酸缓冲液购自上海信裕生物技术有限

公司;阿托伐他汀购自美国辉瑞制药有限公司;β-氨基丙腈(BAPN)购自上海广拓化学有限公司;RT-PCR 试剂盒、RNAiso Plus、DL1000 DNAmaker、琼脂糖购自大连宝生物工程有限公司;Western blot 及凝胶电泳试剂、细胞及组织总蛋白抽提试剂盒、BCA 蛋白质定量试剂盒购自南京凯基生物有限公司;羊抗人 LOX 多克隆抗体购自美国 Santa Cruz 公司;HRP 结合的二级抗体、鼠抗 MMP-2、鼠抗 β-actin 购自北京中杉金桥生物有限公司;Millipore 超滤离心管购自上海 Millipore 公司;ECL 化学发光试剂盒购自上海硕嘉生物科技有限公司;超声心动图购自加拿大 Visual Sonics 公司。

1.2 方法

1.2.1 动物分组与 DCM 大鼠模型的建立 选取 10 只大鼠设为对照组。40 只大鼠单次腹腔注射 STZ 65 mg/kg 制作糖尿病动物模型^[6],STZ 溶解于 pH 4.5 的 0.1 mmol/L 枸橼酸缓冲溶液中。72 h 后测尾静脉血糖大于或等于 16.7 mmol/L 视为糖尿病动物模型建立成功。模型成功 33 只(模型组),病死 7 只,死亡率为 17.5%。4 周后行超声心动图检测,继之抽取 3 只,HE 染色观察心肌组织纤维化程度,评估 DCM 模型。将余下 30 只 DCM 大鼠分为 DCM 组、治疗组和 BAPN 组,每组 10 只。DCM 组予等量生理盐水灌胃;治疗组予阿托伐他汀

表 1 所用引物系列信息

基因	正向序列(5'-3')	反向序列(5'-3')	循环数(个)	退火温度(°C)	扩增片段(bp)
β-actin	GCT CGT CGT CGA CAA CGG CTC	CAA CCA TGA TCT GGG TCA TAT TCT C	35	57	442
LOX	CAA CTG GCA GGT GTT CAT TC	GTC ACG TAG CAG AAG AAT TG	37	6	139
MMP-2	TGG CAC CAT CAT AAC GTC A	TCT CAC TAT GGC AGA ATC C	37	60	132
NF-κB	TCA ACC ACC TTC ATT CTC ATC TTG	AGT CTA TTG CTC ATC ATG CCT AG	39	59	340

2 mg · kg⁻¹ · d⁻¹灌胃;BAPN 组予 BAPN 80 mg · kg⁻¹ · d⁻¹灌胃。实验过程中,仔细观察大鼠的活动状态、毛色、进食、饮水及体质量等一般情况。

1.2.2 超声心动图检测 腹腔注射 STZ 4 周末,10%的水合氯醛(4 mg/kg)腹腔注射麻醉大鼠,8%Na₂S 脱去大鼠胸部皮毛。采用 VisualSonics Vevo770 超声心动图仪 17.5 MHz 探头测量左心室舒张末期内径(LVEDd)、左心室收缩末期内径(LVESd)、左心室射血分数(LVEF)和左心室短轴缩短率(LVFS)。

1.2.3 组织标本处理 大鼠麻醉状态下开胸,取出心脏,去掉残余的大血管及心外膜,取出右心室和右心房,保留室间隔,冷肝素盐水洗净心腔内残余的血液。垂直心脏左心室长轴将心脏一分为二,心底部冻存于液氮中检测 LOX、MMP-2 及核因子 κB(NF-κB) mRNA 和蛋白质,心尖部用于 HE 染色。常规石蜡包埋后制成 5 μm 的石蜡切片。行 HE 染色。采用 Nikon Eclipse 80i 显微镜对所得切片进行观察并进行图像采集。

1.2.4 RT-PCR 检测 提取冻存心肌组织总 RNA,计算总 RNA 水平和纯度。取 1 μg 总 RNA 按逆转录试剂盒说明书方法合成互补脱氧核糖核酸(cDNA),产物按 PCR 试剂盒说明书方法进行 PCR 反应。所有引物均参造 Genebank 提供的序列,由大连晨钰生物有限公司合成,引物信息见表 1。反应条件:95 °C 预变性 2 min,经过 n 个循环(95 °C 变性 25 s,复性 48~63 °C 35 s,72 °C 延伸 65 s),终末 72 °C 延伸 5 min。PCR 产物以 3%琼脂糖凝胶电泳,以 Bio-Image Analysis System 分析各条带的光密度值,计算目的条带与内参(β-actin)的比值,以此作为目的基因的相对表达量。

1.2.5 Western blot 检测 提取大鼠心肌组织全蛋白,测定蛋白水平。取 50 μg 蛋白进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离蛋白及转膜,15%脱脂牛奶-PBST 溶液室温下封闭 60 min,加入一级抗体(β-actin:鼠抗单克隆抗体,1:2 000;LOX:羊抗人多克隆抗体,1:500;NF-κB:鼠抗单克隆抗体,1:500;MMP-2:鼠抗单克隆抗体,1:500;),4 °C 摇床上过夜,磷酸盐缓冲液(PBST)洗膜 10 min×5 次,加入辣根过氧化物酶(HRP)标记的二级抗体(β-actin:山羊抗小鼠,1:20 000;LOX:兔抗羊,1:2 000;NF-κB:山羊抗小鼠,1:2 000;MMP-2:山羊抗小鼠,1:2 000),室温下摇床上孵育 60 min,PBST 洗膜 10 min×5 次,增强化学发光(ECL)法发光显像,X 线压片曝光,将胶片进行扫描,用凝胶图像处理系统进行灰度分析。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素的方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠一般情况比较 对照组 10 只,鼠全部存活,大鼠活泼,无白内障现象;DCM 组存活 6 只;BAPN 组存活 7 只;治疗组存活 7 只,活动状态与 DCM 组比较无明显变化。解剖

死亡大鼠发现心脏破裂、肝大。

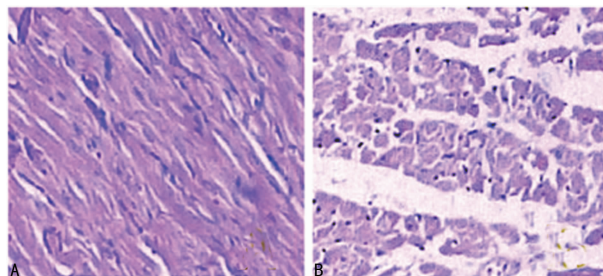
2.2 各组大鼠超声心动图比较 与对照组比较,模型组大鼠心功能明显受损,表现为心腔扩大,左心室收缩功能及舒张功能下降。LVEDd 和 LVESd 明显增加,LVEF 及短轴缩短率(%FS)明显下降($P < 0.05$),见表 2。

表 2 对照组与模型组大鼠心脏超声参数比较($\bar{x} \pm s$)

参数	对照组(n=10)	模型组(n=33)
LVEDd(mm)	5.70±0.20	7.10±0.30 ^a
LVESd(mm)	2.80±0.10	4.90±0.20 ^a
LVEF(%)	88.60±0.60	66.30±1.30 ^a
FS(%)	51.60±0.80	30.40±0.90 ^a

^a: $P < 0.05$,与对照组比较。

2.3 HE 染色结果比较 对照组大鼠心肌细胞形态正常,排列整齐,细胞质染色均匀(图 1A)。模型组大鼠心肌细胞水肿,排列紊乱,细胞间隙增宽,可见心肌纤维断裂,见图 1B。



A:对照组;B:模型组。

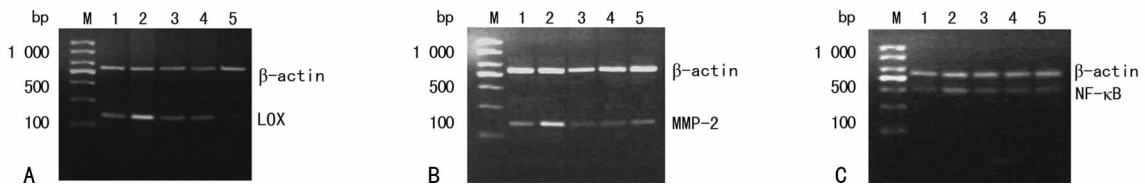
图 1 大鼠心肌细胞(HE×100)

2.4 各组大鼠心肌组织 LOX、MMP-2 和 NF-κB mRNA 表达水平比较 与对照组比较,DCM 组大鼠心肌组织 LOX、MMP-2 和 NF-κB mRNA 表达明显增加($P < 0.01$);与 DCM 组比较,治疗组大鼠干预 4、8 周后心肌组织 LOX、MMP-2 和 NF-κB mRNA 明显下调($P < 0.01$),但干预 4 周与 8 周比较差异无统计学意义($P > 0.05$);与 DCM 组比较,BAPN 组大鼠心肌组织 LOX、MMP-2 和 NF-κB mRNA 表达明显下降($P < 0.01$),见表 3、图 2。

表 3 各组大鼠心肌组织 LOX、MMP-2 和 NF-κB mRNA 表达的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	LOX	MMP-2	NF-κB
对照组	10	0.46±0.05	0.12±0.05	0.26±0.05
DCM 组	6	0.74±0.04 ^a	0.35±0.03 ^a	0.48±0.03 ^a
治疗组 4 周	3	0.48±0.08 ^b	0.18±0.03 ^b	0.28±0.03 ^b
治疗组 8 周	4	0.46±0.09 ^b	0.15±0.04 ^b	0.25±0.04 ^b
BAPN 组	6	0.14±0.06 ^{abc}	0.06±0.03 ^{abc}	0.25±0.03 ^{abc}

^a: $P < 0.01$,与对照组比较;^b: $P < 0.01$,与 DCM 组比较;^c: $P < 0.01$,与治疗组比较。



M: 标记物; 1: 对照组; 2: DCM 组; 3: 治疗组 4 周; 4: 治疗组 8 周; 5: BAPN 组。

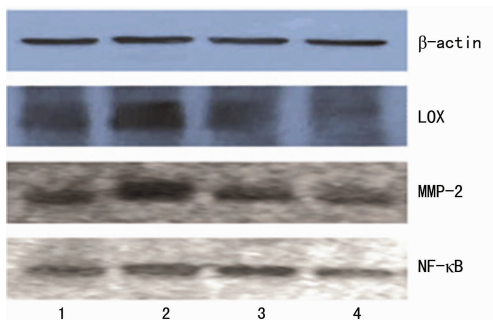
图 2 各组大鼠心肌组织 LOX、MMP-2 和 NF-κB mRNA 表达

2.5 各组大鼠心肌组织 LOX、MMP-2 和 NF-κB 蛋白表达水平的比较 与对照组比较, DCM 组大鼠心肌组织 LOX、MMP-2 及 NF-κB 蛋白表达明显增高 ($P < 0.01$); 与 DCM 组比较, 治疗组及 BAPN 组大鼠心肌组织 LOX、MMP-2 及 NF-κB 蛋白表达明显下降 ($P < 0.01$), 见表 4、图 3。

表 4 各组大鼠心肌组织 LOX、MMP-2 和 NF-κB 蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	LOX	MMP-2	NF-κB
对照组	10	0.62 ± 0.07	0.71 ± 0.28	0.65 ± 0.26
DCM 组	6	0.94 ± 0.16 ^a	0.97 ± 0.09 ^a	0.81 ± 0.35 ^a
治疗组	7	0.68 ± 0.08 ^b	0.76 ± 0.19 ^b	0.69 ± 0.13 ^b
BAPN 组	7	0.42 ± 0.08 ^{bc}	0.53 ± 0.06 ^{bc}	0.35 ± 0.28 ^{bc}

^a: $P < 0.01$, 与对照组比较; ^b: $P < 0.01$, 与 DCM 组比较; ^c: $P < 0.01$, 与治疗组比较。



1: 对照组; 2: DCM 组; 3: 治疗组; 4: BAPN 组。

图 3 各组大鼠心肌组织 LOX、MMP-2 和 NF-κB 蛋白表达

3 讨论

DCM 是糖尿病患者晚期死亡的主要原因之一, 表现为心肌重塑及纤维化, 心肌间质中大量胶原纤维沉着, 使心脏顺应性降低, 引起心脏舒张及收缩功能减低^[7]。高糖毒性及胰岛素抵抗促进心肌组织氧化应激损伤、心肌细胞肥大和凋亡坏死, 使心肌纤维化增加出现心脏舒张功能不全^[8]。随着病程进展, 出现心脏结构的重塑, 心室壁增厚、左心室质量明显增加, 而在病程的晚期出现收缩功能不全^[9-10]。本研究结果显示, 腹腔注射 STZ 后, 大鼠心功能明显下降, 表现为心腔扩大, 左心室收缩功能及舒张功能下降, LVEDd 和 LVESd 明显增加, LVEF 及 %FS 明显下降, 心肌细胞排列紊乱。

LOX 主要由平滑肌细胞及成纤维细胞生成, 是胶原纤维和弹性纤维取得稳定性和发育成熟的关键酶, 具有稳定细胞外基质免受 MMP 降解的功能^[2]。LOX 表达过少, 组织力学性能不足; 但 LOX 表达过多, 易致胶原沉积及纤维化^[11]。心肌组织中过度的胶原沉积可引起心肌纤维化, 影响心脏舒张功能, 最终导致心力衰竭。特发性扩张型心肌病患者心肌组织 LOX 及转化生长因子 β (TGF-β) 表达明显增加, TGF-β 还可通过上调 LOX 的表达参与促进 III 型胶原蛋白的合成及激活

MMP 活性, 而且 LOX 表达上调与心肌纤维化相关^[12]。慢性心力衰竭左心室顺应性降低与心肌组织 LOX 表达上调有关, LOX 表达增加可参与促进胶原纤维共价交联, 引起心肌僵硬增加, 这可能是引起慢性心力衰竭患者心脏重塑的一个重要原因^[13]。此外, LOX 参与心肌梗死后心室重塑, 且与细胞外基质成分改变及心肌纤维化形成有关^[3]。Xiao 等^[14]复制猕猴心肌梗死模型, 提取梗死区心肌组织测定 LOX RNA 和蛋白, 梗死区心肌组织 LOX 表达较假手术组明显增加, 此外, 心肌组织 I 型及 III 型胶原纤维也明显增加。此外, 提取心肌梗死小鼠心肌组织 RNA 及蛋白质, 对 LOX 的 RNA 及蛋白质定量后发现, 梗死区心肌组织 LOX 表达明显高于非梗死区, 而且伴随着大量胶原纤维沉积, 这表明 LOX 与心肌纤维化相关, 研究还发现, TGF-β 信号通路在 LOX 促进心肌纤维化过程中发挥一定的作用^[15]。既往研究表明, 慢性心力衰竭小鼠心肌组织 LOX 表达上调, 阿托伐他汀可下调慢性心力衰竭小鼠心肌组织 LOX, LOX 可通过 p38 及 NF-κB 信号通路调节 MMP-9 表达^[4]。

本实验表明, 对照组大鼠心功能正常, DCM 组大鼠心功能恶化, 心肌组织 LOX、MMP-2 和 NF-κB mRNA 和蛋白表达明显上调; 应用阿托伐他汀干预 DCM 大鼠后, 心肌组织 LOX、MMP-2 及 NF-κB mRNA 和蛋白表达下降; 应用 LOX 的特异性抑制剂 BAPN 后心肌组织 LOX、MMP-2 及 NF-κB mRNA 和蛋白表达下降。MMP-2 和 NF-κB 作为重要的细胞因子参与心肌组织重塑, 本实验提示阿托伐他汀可逆转 DCM 大鼠心肌组织 LOX 表达, LOX 可调节 DCM 大鼠心肌组织 MMP-2 及 NF-κB 表达; 阿托伐他汀是否可通过别的信号通路调节 MMP-2 及 NF-κB 表达, 本研究未涉及。

本研究结果证实, DCM 大鼠心肌组织 LOX 表达增加, 阿托伐他汀可抑制 DCM 大鼠心肌组织 LOX 的表达; LOX 可调节 DCM 大鼠心肌组织 NF-κB 和 MMP-2 表达, 这可能是阿托伐他汀抑制心脏重塑的重要机制, 可能会为应用阿托伐他汀抑制心脏重塑提供新的理论依据。

参考文献

- [1] 黄娅茜, 王宪, 孔炜. 糖尿病心肌病发病机制的研究进展 [J]. 生理科学进展, 2010, 41(1): 31-36.
- [2] Csizsar K. Lysyl Oxidase: a novel multifunctional amine oxidase family [J]. Prog Nuclei Acid Res Mol Bio, 2001, 70(1): 1-32.
- [3] Xie Y, Chen J. Immunohistochemical detection of differentially localized up-regulation of lysyl oxidase and down-regulation of matrix metalloproteinase-1 in rhesus monkey model of chronic myocardial infarction [J]. Exp Biol Med, 2012, 237(7): 853-859.
- [4] 刘会, 荣彦冬, 袁国祥, 等. 阿托伐他汀对慢性心力衰竭小鼠心肌组织赖氨酰氧化酶表达的影响 [J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2011, 13(6): 628-631. (下转第 1178 页)

因报告检测证实,miRNA-204 可结合 LC3B 基因的 3'-URT 片段,抑制其表达。本研究结果表明,miRNA-204 可抑制 Ang II 诱导的心肌细胞肥大,其作用可能是通过靶向 LC3B 基因表达而实现。

参考文献

- [1] Okwuosa TM, Soliman EZ, Lopez F, et al. Left ventricular hypertrophy and cardiovascular disease risk prediction and reclassification in blacks and whites: the Atherosclerosis Risk in Communities Study[J]. *Am Heart J*, 2015, 169(1):155-61. e5.
- [2] Broughton JP, Pasquinelli AE. A tale of two sequences: microRNA-target chimeric reads [J]. *Genet Sel Evol*, 2016, 48(1):31-37.
- [3] Cheng Y, Ji R, Yue J, et al. MicroRNAs are aberrantly expressed in hypertrophic heart; do they play a role in cardiac hypertrophy [J]. *Am J Pathol*, 2007, 170(6):1831-1840.
- [4] Huang JH, Sun W, Huang H, et al. miR-34a modulates angiotensin II-Induced myocardial hypertrophy by direct inhibition of ATG9A expression and autophagic activity [J]. *PLoS One*, 2014, 9(4):e94382.
- [5] Huang J, Pan W, Ou D, et al. LC3B, a protein that serves as an autophagic marker, modulates angiotensin II-induced myocardial hypertrophy [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2015, 66(6):576-583.
- [6] Takemoto M, Node K, Nakagami H, et al. Statins as antioxidant therapy for preventing cardiac myocyte hypertrophy [J]. *J Clin Invest*, 2001, 108(10):1429-1437.
- [7] Schlüter KD, Wenzel S. Angiotensin II: a hormone involved in and contributing to pro-hypertrophic cardiac networks and target of anti-hypertrophic cross-talks [J]. *Pharmacol Ther*, 2008, 119(3):311-325.
- [8] Danka Mohammed CP, Rhee H, Phee BK, et al. miR-204 downregulates EphB2 in aging mouse hippocampal neurons [J]. *Aging Cell*, 2016, 15(2):380-388.
- [9] Xiong F, Liu K, Zhang F, et al. miR-204 inhibits the proliferation and invasion of renal cell carcinoma by inhibiting RAB22A expression [J]. *Oncol Rep*, 2016, 35(5):3000-3008.
- [10] Ding M, Lin B, Li T, et al. A dual yet opposite growth-regulating function of miR-204 and its target XRN1 in prostate adenocarcinoma cells and neuroendocrine-like prostate cancer cells [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(10):7686-7700.
- [11] Xiao J, Zhu X, He B, et al. MiR-204 regulates cardiomyocyte autophagy induced by ischemia-reperfusion through LC3-II [J]. *J Biomed Sci*, 2011, 18(1):35-39.
- [12] Cui RR, Li SJ, Liu LJ, et al. MicroRNA-204 regulates vascular smooth muscle cell calcification in vitro and in vivo [J]. *Cardiovasc Res*, 2012, 96(2):320-329.
- [13] Sun Y, Yu X, Bai Q. miR-204 inhibits invasion and epithelial-mesenchymal transition by targeting FOXM1 in esophageal cancer [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(10):12775-12783.
- (收稿日期:2016-08-24 修回日期:2016-11-07)
- (上接第 1174 页)
- [5] Martinez-Martinez E, Rodriguez C, Galan M, et al. The lysyl oxidase inhibitor(β -aminopropionitrile) reduced leptin profibrotic effects and ameliorates cardiovascular remodeling in diet-induced obesity in rats [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2016, 92(3):96-104.
- [6] Wei M, Ong L, Smith MT, et al. The streptozotocin-diabetic rat as a model of the chronic complication of human diabetes [J]. *Heart Lung Circ*, 2003, 12(1):44-50.
- [7] 郑国营. 糖尿病心肌病舒张功能不全的研究进展 [J]. *医学综述*, 2013, 19(9):1647-1649.
- [8] Maclver DH, Townsend M. A novel mechanism of heart failure with normal ejection fraction [J]. *Heart*, 2008, 94(4):446-449.
- [9] Ozasa N, Furukawa Y, Morimoto T, et al. Relation among left ventricular mass, insulin resistance, and hemodynamic parameters in type 2 diabetes [J]. *Hypertens Res*, 2008, 31(3):425-432.
- [10] Van HL, Hamdani N, Handoko ML, et al. Diastolic stiffness of the failing diabetic heart: importance of fibrosis, advanced glycation end products, and myocyte resting tension [J]. *Circulation*, 2008, 117(14):1445-1451.
- [11] Smith-Mungo LI, Kagan HM. Lysyl oxidase: Properties, regulation and multiple functions in biology [J]. *Matrix Biol*, 1998, 16(7):387-398.
- [12] Sivakumar P, Gupta S, Sarkar S, et al. Upregulation of lysyl oxidase and MMPs during cardiac remodeling in human dilated cardiomyopathy [J]. *Mol Cell Biochem*, 2008, 307(1):159-167.
- [13] Lopez B, Querejeta R, Gonzalez A, et al. Impact of treatment on myocardial lysyl oxidase expression and collagen cross-linking in patients with heart failure [J]. *Hypertension*, 2009, 53(2):236-253.
- [14] Xiao Y, Nie X, Han P, et al. Decreased copper concentrations but increased lysyl oxidase activity in ischemic hearts of rhesus monkeys [J]. *Metallomics*, 2016, 8(9):973-980.
- [15] Gonzalez-Santamaria J, Villalba M, Busnadiego O, et al. Matrix cross-linking lysyl oxidases are induced in response to myocardial infarction and promote cardiac dysfunction [J]. *Cardiovasc Res*, 2016, 109(1):67-78.
- (收稿日期:2016-07-18 修回日期:2016-11-16)