

## 胰岛素与硒对链脲佐菌素诱导的糖尿病大鼠 心肌胰岛素信号转导的联合作用

徐天娇<sup>1,2\*</sup>, 袁秉祥<sup>2</sup>, 邹亚敏<sup>2</sup>

(1. 西安医学院药理学与毒理学教研室, 陕西 西安 710021;

2. 西安交通大学医学院药理学教研室, 陕西 西安 712000)

**摘要:** 为阐明小剂量胰岛素 ( $1 \text{ u}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) 与硒 ( $180 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) 对糖尿病大鼠糖脂代谢及其对心肌细胞胰岛素信号分子表达的联合作用, 采用 One Touch II 血糖仪和血糖试纸测定血糖水平; 微柱法测定糖化血红蛋白浓度; 酶学法测定甘油三酯 (TG) 和总胆固醇 (TC) 含量; 免疫印迹和免疫组化法检测心肌细胞中 PI3K 和 GLUT4 表达的变化。结果表明, 联合用药组血糖和血脂明显下降 ( $P < 0.01$ ); 同时联合用药明显增加糖尿病大鼠心肌细胞上 PI3K 和 GLUT4 的表达 ( $P < 0.01$ )。整体动物实验结果表明: 胰岛素和硒联合应用在降低血糖和血脂方面发挥了协同作用; 胰岛素与硒联合应用通过改善糖尿病大鼠心肌细胞胰岛素信号转导通路中 PI3K 的表达, 从而改善了 GLUT4 的移位障碍, 最终改善心肌的能量代谢。

**关键词:** 糖尿病大鼠; 胰岛素; 亚硒酸钠; 磷脂酰肌醇 3 激酶; 葡萄糖转运蛋白 4; 心肌

中图分类号: R963

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2011) 03-0274-06

## Effect of combination of insulin and selenium on insulin signal transduction in cardiac muscle of STZ-induced diabetic rats

XU Tian-jiao<sup>1,2\*</sup>, YUAN Bing-xiang<sup>2</sup>, ZOU Ya-min<sup>2</sup>

(1. Department of Pharmacology and Toxicology, Xi'an Medical University, Xi'an 710021, China;

2. Department of Pharmacology, School of Medicine, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 712000, China)

**Abstract:** This study is to investigate the effect of low doses of insulin ( $1 \text{ u}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) and selenium ( $180 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) in combination on general physiological parameters and insulin signal molecules in cardiac muscle of STZ-induced diabetic rats. The levels of blood glucose were estimated using One Touch SureStep Blood Glucose meter. HbA1c levels were estimated using microcolumn assay. TG and TC were estimated using enzymatic assay. The levels of PI3K and GLUT4 in cardiac muscle were examined by immunoblotting and immunohistochemistry. The result showed that insulin in combination with selenium could significantly lower blood glucose and blood lipid levels and markedly restored the PI3K and GLUT4 levels in cardiac muscle. It could be concluded that there was cooperation between insulin and selenium, and that treatment of diabetic rats with combined doses of insulin and selenium increased cardiac glucose uptake by upregulating the level of PI3K-mediated GLUT4 in cardiac muscle, eventually ameliorating myocardial dysfunction.

**Key words:** diabetic rat; insulin; sodium selenite; phosphatidylinositol-3 kinase; glucose transporter 4; cardiac muscle

收稿日期: 2010-09-02.

\*通讯作者 Tel / Fax: 86-29-86177562, E-mail: xtj1118@163.com

心血管疾病是糖尿病的主要并发症之一, 具有很高的致残率和致死率<sup>[1]</sup>。糖尿病及其并发症和许多因素有关, 包括: 氧化损伤、高血糖、高血脂和炎症损伤<sup>[2-4]</sup>。正常情况下, 心肌细胞对葡萄糖的转运是通过一系列葡萄糖转运蛋白组成的, 在心肌中 GLUT4 是主要葡萄糖转运蛋白, 其数量和功能的改变可以影响 GLUT4 转运活性<sup>[5]</sup>。细胞内 GLUT4 含量减少以及胰岛素引起 GLUT4 易位的损害可能是引起糖尿病心肌病和心功能低下的机制之一<sup>[6, 7]</sup>。有关心肌细胞葡萄糖转运及葡萄糖转运子转位的细胞内信号机制的研究, 是通过与骨骼肌细胞和脂肪细胞的研究对比展开的。与后两者相似, 胰岛素刺激心肌细胞葡萄糖转运的信号转导路径中有磷酸肌醇 3 激酶 (PI3K) 的参与<sup>[8]</sup>。因此, 糖尿病大鼠心肌细胞中 PI3K 和胞膜上 GLUT4 水平的恢复对糖尿病大鼠心肌功能的恢复是十分重要的。

众所周知, 胰岛素的降糖效果迅速且明显, 但长期大量使用会使疗效降低, 并引起众多副作用 (低血糖、冠心病、变态反应等)。因此, 研制出新的组方药物可能会为糖尿病的防治及胰岛素应用展现崭新的前景。硒是人体必须的微量元素, 硒的缺乏会导致肿瘤、心血管疾病等的产生。众多研究表明硒在物质代谢中具有类胰岛素的作用, 但硒的安全摄入量范围极窄, 过低降糖效果不明显甚至没有降糖作用, 而过高又可致脱发、掉甲等慢性中毒症状。目前尚未见到胰岛素和硒联合应用对糖尿病大鼠糖脂代谢和对心肌中胰岛素信号转导通路重要蛋白影响的相关报道。

本实验首次将胰岛素与硒联合应用, 旨在探讨两药联合应用后对糖尿病大鼠糖脂代谢的影响, 同时探讨胰岛素和硒联合应用是否能改善糖尿病大鼠心肌细胞胰岛素信号转导通路中 PI3K 蛋白激酶的表达, 从而改善 GLUT4 的移位障碍, 最终改善心肌的能量代谢。

## 材料与方 法

**实验动物和试剂** 雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 35 只, 西安交通大学医学院实验动物中心提供, 动物合格证: 08-005, 体重 180~230 g。分笼饲养, 房间温度保持在 25 ℃左右, 湿度在 50%左右。适应性喂养 1 周后进行分组喂养。明暗周期为 12 h (6AM-6PM), 自由进水和进食。

链脲佐菌素 (streptozotocin, STZ)、亚硒酸钠和

PI3K 单克隆抗体 (Sigma 公司); GLUT4 多克隆抗体 (Upstate Biotechnology 公司, 美国);  $\beta$ -actin 多克隆抗体 (Santa Cruz 公司, 美国); 中效胰岛素购自西安交通大学第一附属医院 (诺和灵公司, 丹麦); 血糖仪和血糖试纸 (强生公司, 美国)。

**动物模型制作及分组** 腹腔注射链脲佐菌素 50 mg·kg<sup>-1</sup> 复制大鼠糖尿病模型。1 周后于大鼠尾尖取血, 血糖仪测定血糖, 并测尿糖。血糖 >16.7 mmol·L<sup>-1</sup>, 尿糖 +++~++++ 者确定为 DM 模型。

将大鼠随机分为: ① 正常对照组 (normal 组): 自由进水和进食; ② 糖尿病模型组 (DM 组): 自由进水和进食; ③ 糖尿病 + 胰岛素治疗组 (DM + In 组): 皮下注射胰岛素 1 u·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>, 持续 4 周; ④ 糖尿病 + 亚硒酸钠治疗组 (DM + Se 组): 管饲亚硒酸钠 180  $\mu$ g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>, 持续 4 周; ⑤ 糖尿病 + 胰岛素 + 亚硒酸钠治疗组 (DM + In + Se 组): 皮下注射胰岛素 1 u·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>, 同时管饲亚硒酸钠 180  $\mu$ g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>, 持续 4 周。

**血糖、血脂和糖化血红蛋白的观察** 4 周末测量各实验组大鼠的血糖、糖化血红蛋白 (HbA1c) 和血脂。采用 One Touch II 血糖仪和血糖试纸测定血糖水平; 微柱法测定糖化血红蛋白浓度; 酶学法测定甘油三酯 (TG) 和总胆固醇 (TC) 含量。

## 免疫印迹检测

**细胞总蛋白的制备** 将冷冻的心肌剪成碎块, 加入适量 RIPA 蛋白提取液 (50 mmol·L<sup>-1</sup> Tris-HCl pH 8.0, 150 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl, 0.1% SDS, 100  $\mu$ g·mL<sup>-1</sup> PMSF, 1% NP-40, 1% Triton X-100 及 1 mmol·L<sup>-1</sup> EDTA), 匀浆器匀浆, 冰浴上操作; 4 ℃、14 000×g 离心 30 min, 吸取上清液; 用 Modified lowry protein assay kit (Pierce, USA) 测定总蛋白浓度, 确定每孔上样蛋白量相等。

**细胞膜蛋白的制备** 取每组心肌组织适量放入匀浆缓冲液, 匀浆器匀浆, 4 ℃冰浴上操作; 4 ℃、500×g 离心 20 min, 吸取上清液, 放入另一离心管中; 4 ℃、7 000×g 离心 20 min, 吸取上清液放入高速离心管中; 4 ℃、31 000×g 离心 40 min, 弃掉上清液, 用缓冲液稀释; 在高速离心管中先铺上一层蔗糖缓冲液 (w/v, 33.3%), 再加入细胞悬液, 4 ℃、90 000×g 离心 30 min, 收集 33.3% 蔗糖顶部不透明带, 4 倍稀释; 31 000×g 离心 30 min, 弃掉上清液, 用含有蛋白酶抑制剂悬液洗涤和稀释膜蛋白沉淀; 用 Modified lowry protein assay kit (Pierce, USA) 测定总蛋白浓度, 确定每孔上样蛋白量相等。

**免疫印迹步骤** 取各组样品蛋白质 50 μg, SDS-PAGE 分离蛋白。并将蛋白电转移至 PVDF 膜上。再用含 5% 脱脂奶粉的 TBS 封闭 1 h; 加抗 PI3K 抗体、抗 GLUT4 抗体, 4 °C 过夜; 洗膜后加辣根过氧化物酶标记的二抗, 室温轻摇 1 h, 充分洗涤后与 ECL 反应, 即刻与 X 光片曝光, 目的条带使用 GEL DOC gel 2000 分析仪进行分析。

**免疫组化检测** 处死动物后, 取心脏, 4% 多聚甲醛固定, 常规石蜡包埋, 切片 (4 μm); 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 室温孵育 10 min; 5%~10% 正常山羊血清封闭 10 min; 加入一抗, 37 °C 孵育 1~2 h; 滴加生物素标记的二抗, 37 °C 10 min; 滴加辣根过氧化物酶标记的链卵白素, 37 °C 10 min; DAB 显色, 室温 3 min; 苏木素复染 1 min; 酒精脱水; 中性树胶封片。

**统计学处理** 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。采用 Spss11.0 统计软件进行单因素方差分析, 并进行两两对比; 应用 Sigmaplot 软件作图。

## 结果

### 1 胰岛素、硒及其联合应用对糖尿病大鼠糖脂代谢的影响

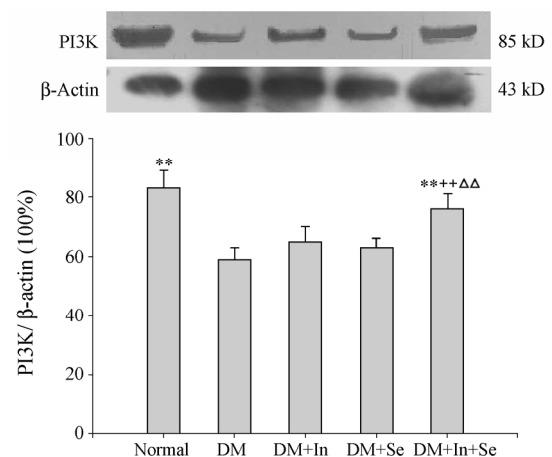
与正常对照组比较, 糖尿病模型组 (DM 组) 的血糖、HbA1c、TC 和 TG 水平均显著升高 ( $P < 0.01$ ), 说明糖尿病大鼠存在高血糖和高血脂症状 (表 1)。与 DM 组比较表明, 糖尿病 + 胰岛素治疗组 (DM + In 组)、糖尿病 + 亚硒酸钠治疗组 (DM + Se 组) 及糖尿病 + 胰岛素 + 亚硒酸钠治疗组 (DM + In + Se 组) 的血糖、HbA1c、TC 和 TG 水平均显著下降 ( $P < 0.01$ )。与 DM + In 组和 DM + Se 组比较表明, DM + In + Se 组的降低血糖、HbA1c、TC 和 TG 水平作用更强 ( $P < 0.01$ )。这些结果均说明, 胰岛素和硒联合应用在降低血糖和血脂方面明显优于单用相同剂量的胰岛素和硒, 两药联合应用发挥了协同作用。

### 2 心肌中 PI3K 蛋白含量的变化

Western blotting 检测结果 (图 1) 显示: 糖尿病模

型组 (DM 组) 与正常对照组比较, 肌细胞中的 PI3K 含量明显下降, 约 29% ( $P < 0.01$ )。与 DM 组比较, DM + In + Se 组肌细胞中 PI3K 含量增加约 1.29 倍; DM + In 组中 PI3K 含量增加约 1.10 倍; DM + Se 组中 PI3K 含量增加约 1.07 倍。

与 DM + In 组和 DM + Se 组比较表明, DM + In + Se 组的肌细胞 PI3K 含量分别增加 1.17 倍和 1.21 倍 ( $P < 0.01$ )。这些结果说明: 胰岛素和硒联合应用时对糖尿病大鼠心肌细胞中 PI3K 蛋白表达的影响明显优于单用胰岛素或单用硒治疗。

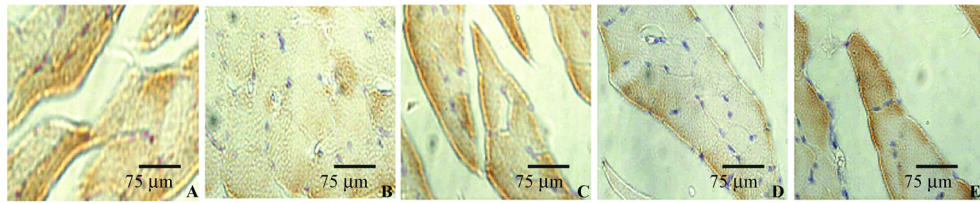


**Figure 1** PI3K levels in the cardiac muscle membrane fraction of control (normal), diabetic model (DM) and diabetic rats treated with insulin (DM+In, 1 u·kg<sup>-1</sup>), selenium (DM+Se, 180 μg·kg<sup>-1</sup>), combined dose of insulin and selenium (DM+In+Se).  $\bar{x} \pm s$ . \*\* $P < 0.01$  vs DM group; \*\* $P < 0.01$  vs DM+In group;  $\Delta\Delta P < 0.01$  vs DM+Se group

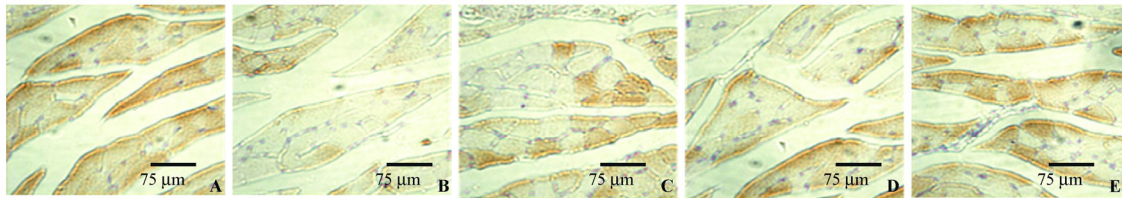
免疫组织化学检测结果与免疫印迹检测结果一致 (图 2)。与正常对照组比较, DM 组的肌细胞内 PI3K 染色明显减少; 与 DM 组比较, DM + In 组和 DM + In + Se 组的 PI3K 染色均明显增强。与 DM + In 组和 DM + Se 组比较, DM + In + Se 组的 PI3K 染色也明显增加。因此, 联合用药组在纠正糖尿病大鼠心肌细胞中 PI3K 蛋白表达方面是最有效的。

**Table 1** Effect of insulin (In, 1 u·kg<sup>-1</sup>) and selenium (Se, 180 μg·kg<sup>-1</sup>) in combination on blood glucose and blood lipid. BG: Blood glucose; HbA1c: Hemoglobin A1c; TC: Total cholesterol; TG: Triglyceride.  $n = 7$ ,  $\bar{x} \pm s$ . <sup>##</sup> $P < 0.01$  vs normal group; <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$  vs diabetic model (DM) group; <sup>SS</sup> $P < 0.01$  vs DM+In group; <sup>ΔΔ</sup> $P < 0.01$  vs DM+Se group

Group	BG/mmol·L <sup>-1</sup>	HbA1c/%	TC	TG
Normal	5.68 ± 0.67	4.86 ± 0.51	1.53 ± 0.11	0.70 ± 0.12
DM	25.04 ± 1.61 <sup>##</sup>	8.13 ± 0.27 <sup>##</sup>	3.09 ± 0.13 <sup>##</sup>	1.89 ± 0.08 <sup>##</sup>
DM + In	15.02 ± 2.56 <sup>**</sup>	6.66 ± 0.26 <sup>**</sup>	2.31 ± 0.11 <sup>**</sup>	1.41 ± 0.07 <sup>**</sup>
DM + Se	15.38 ± 2.07 <sup>**</sup>	7.03 ± 0.37 <sup>**</sup>	2.63 ± 0.31 <sup>**</sup>	1.61 ± 0.06 <sup>**</sup>
DM + In + Se	7.55 ± 0.79 <sup>**SSΔΔ</sup>	5.42 ± 0.43 <sup>**SSΔΔ</sup>	1.77 ± 0.16 <sup>**SSΔΔ</sup>	1.07 ± 0.12 <sup>**SSΔΔ</sup>



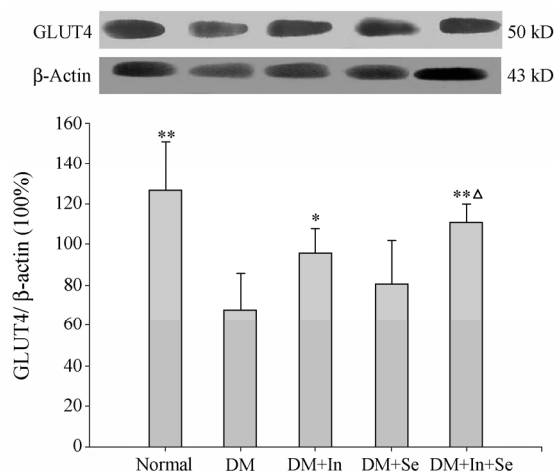
**Figure 2** Immunohistochemical analysis of PI3K in the cardiac muscle of normal (A), diabetic model group (B), DM+In (insulin  $1 \text{ u}\cdot\text{kg}^{-1}$ , C), DM+Se (selenium  $180 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , D) and DM+In+Se (insulin  $1 \text{ u}\cdot\text{kg}^{-1}$ , selenium  $180 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , E)



**Figure 4** Immunohistochemical analysis of GLUT4 in the cardiac muscle of normal (A), diabetic model group (B), DM+In (insulin  $1 \text{ u}\cdot\text{kg}^{-1}$ , C), DM+Se (selenium  $180 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , D) and DM+In+Se (insulin  $1 \text{ u}\cdot\text{kg}^{-1}$ , selenium  $180 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , E)

### 3 心肌中 GLUT4 蛋白含量的变化

免疫印迹结果 (图 3) 表明: DM 组与正常对照组比较, 心肌细胞膜 GLUT4 蛋白表达水平明显降低, 密度测定显示减少约 46%。与 DM 组比较, DM+In+Se 组的心肌细胞膜 GLUT4 蛋白表达升高 1.63 倍; DM+In 组的 GLUT4 含量增加 1.41 倍; DM+Se 组的 GLUT4 蛋白含量增加 1.19 倍。与 DM+In 组和 DM+Se 组比较表明, DM+In+Se 组心肌细胞膜 GLUT4 含量分别增加 1.16 倍和 1.37 倍 ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ )。这些结果说明: 胰岛素和硒联合应用时对糖尿病大鼠心肌细胞膜 GLUT4 蛋白表达的影响明显优于单用胰岛素或单用硒治疗。

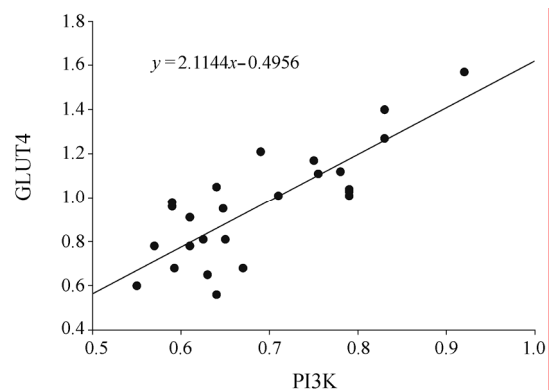


**Figure 3** GLUT4 levels in the cardiac muscle membrane fraction of control (normal), diabetic model (DM) and diabetic rats treated with insulin (DM+In,  $1 \text{ u}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), selenium (DM+Se,  $180 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), combined dose of insulin and selenium (DM+In+Se).  $\bar{x} \pm s$ .  $*P < 0.05$ ,  $**P < 0.01$  vs DM group;  $\Delta P < 0.05$  vs DM+Se group

免疫组织化学检测结果与免疫印迹检测结果一致 (图 4)。在糖尿病状态下, 心肌细胞膜上 GLUT4 的含量明显减少。两药联合应用能明显改变膜上 GLUT4 的表达量, 接近于正常值。而单用胰岛素或单用亚硒酸钠仅能部分扭转细胞膜上的低 GLUT4 状态。因此, 联合用药组在纠正心肌细胞膜上 GLUT4 含量方面是最有效的。

### 4 GLUT4 表达量与 PI3K 蛋白表达的相关性

以 PI3K 蛋白表达为应变量, 与 GLUT4 的表达进行简单相关分析, 发现两者呈显著正相关 ( $r = 0.846$ ,  $P < 0.01$ , 图 5)。说明胰岛素和硒联合应用是通过促使 PI3K 蛋白的表达、增加心肌对 GLUT4 蛋白的转位或活化来增强胰岛素信号转导的。



**Figure 5** Correlation between PI3K and GLUT4 in the cardiac muscle

### 5 血糖水平与心肌细胞膜上 GLUT4 表达量的相关性

以 GLUT4 蛋白表达为应变量, 与血糖水平 ( $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 进行简单相关分析, 发现两者呈显著负

相关 ( $r = -0.814, P < 0.01$ , 图 6), 这说明胰岛素和硒联合应用是通过促使 PI3K 蛋白的表达、增加心肌对 GLUT4 蛋白的转位或活化来增强胰岛素信号转导, 从而改善了心肌的糖利用障碍、最终改善了心肌能量代谢。

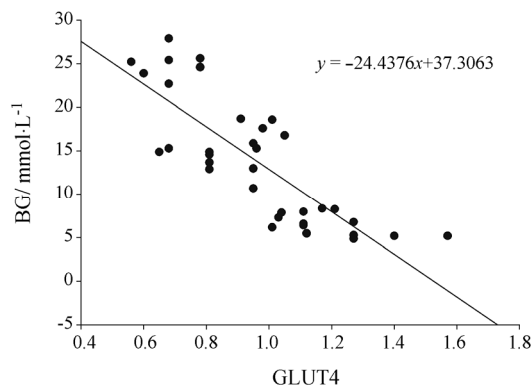


Figure 6 Correlation between GLUT4 and blood glucose (BG)

## 讨论

糖代谢紊乱是加速糖尿病心肌病发生的重要原因。高血糖作为一个独立的危险因素, 直接引起心肌损害和导致糖尿病心肌病<sup>[9]</sup>。因此, 有效控制高血糖对治疗糖尿病心肌病具有十分重要的意义。本实验的结果已经显示: 胰岛素和硒联合应用后糖尿病大鼠的高血糖和高血脂症状得到明显改善, 这为改善心肌损伤提供了前提。

心肌细胞有氧代谢产生 ATP 的主要底物来自于脂肪酸和葡萄糖。生理状态下, 脂肪酸氧化提供心脏 60%~70% 的能量需求, 另外 30%~40% 来自于葡萄糖氧化, 二者维持相对的平衡。但当心脏负荷加重时, 游离脂肪酸已不能满足心脏能量需要, 而是通过加速葡萄糖转运和糖原分解, 增加葡萄糖氧化以及糖异生提供能量<sup>[10]</sup>。GLUT4 是心肌细胞中的主要葡萄糖转运蛋白, 其数量、功能的紊乱都可以影响 GLUT4 转运活性, 从而影响心肌对葡萄糖的摄取和利用, 最终导致心肌能量代谢障碍及损害心肌功能。已有研究表明: 与骨骼肌相似, 胰岛素刺激心肌细胞葡萄糖转运的信号转导路径中也有磷酸肌醇 3 激酶 (PI3K) 的参与。Egert 等<sup>[8]</sup>对心肌的研究阐明, PI3K 的抑制剂 wortmannin 可以抑制 PI3K 介导的胰岛素信号转导通路, 从而形成胰岛素刺激引起的葡萄糖转运障碍。本研究表明: 糖尿病模型组心肌细胞中 PI3K 和细胞膜 GLUT4 的表达水平明显低于正常对照组, 这说明糖尿病状态下, PI3K 和 GLUT4 的表达水平降低, 胰

岛素信号转导在受体后环节存在障碍, 即胰岛素受体后效应减弱, 可导致胰岛素介导的心肌细胞摄取葡萄糖能力降低, 心肌能量代谢障碍, 最终导致心肌功能受损; 糖尿病大鼠单用胰岛素治疗后, PI3K 和 GLUT4 的表达水平仅部分升高, 而单用硒治疗组 PI3K 和 GLUT4 的表达水平未见明显恢复。糖尿病大鼠经胰岛素和硒联合治疗后, PI3K 和 GLUT4 的表达水平均明显高于单用胰岛素和单用硒治疗组, 这说明硒可能通过增加组织对胰岛素的敏感性来实现两药联合应用的协同作用, 同时还说明两药联合应用可能通过增加心肌组织 PI3K 和 GLUT4 表达, 改善心肌对胰岛素的敏感性, 使受体后胰岛素信号转导障碍减轻, 这可能成为其治疗糖尿病心脏病的作用机制之一。

本实验将胰岛素和硒联合应用是基于硒的抗氧化作用和类胰岛素样作用<sup>[11-13]</sup>。硒的类胰岛素作用已经在糖利用<sup>[14, 15]</sup>、糖代谢<sup>[16-18]</sup>和信号转导<sup>[19-22]</sup>方面得到了证实。另外, Ghosh 等<sup>[15]</sup>的研究也表明, 糖尿病大鼠经硒治疗后, 胰岛素水平明显升高。因此, 胰岛素和硒联合应用应该优于单用相同剂量的胰岛素或硒。实验前期研究已证明: 胰岛素和硒联合应用存在可行性以及联合应用的合理配比剂量是  $1 \text{ u}\cdot\text{kg}^{-1}$ :  $180 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

以上实验结果表明: 胰岛素和硒联合应用能明显降低糖尿病大鼠的血糖和血脂, 同时也能明显恢复心肌细胞 PI3K 和 GLUT4 的表达。因此, 两药联合应用可能通过增加心肌组织中 PI3K 介导的 GLUT4 表达, 改善心肌对葡萄糖的摄取并最终改善了心肌的能量代谢障碍。

## References

- [1] American Diabetes Association. Economic consequences of diabetes mellitus in the U.S. in 1997 [J]. *Diabetes Care*, 1998, 21: 296-309.
- [2] Cai L, Kang YJ. Oxidative stress and diabetic cardiomyopathy: a brief review [J]. *Cardiovasc Toxicol*, 2001, (1): 181-193.
- [3] Cullen P, Eckardstein A, Souris S, et al. Dyslipidaemia and cardiovascular risk in diabetes [J]. *Diabetes Obes Metab*, 1999, 25: 189-198.
- [4] Biondi-Zoccai GG, Abbate A, Liuzzo G, et al. Atherothrombosis, inflammation, and diabetes [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2003, 41: 107-117.
- [5] Dransfeld O, Uphues I, Sasson S, et al. Regulation of subcellular distribution of GLUT4 in cardiomyocytes: Rab4A

- reduces basal glucose transport and augments insulin responsiveness [J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2000, 108: 26–36.
- [6] Garvey WT, Hardin D, Juhaszova M, et al. Effects of diabetes on myocardial glucose transport system in rats: implications for diabetic cardiomyopathy [J]. *Am J Physiol*, 1993, 264: 837–844.
- [7] Guo ZX, Xia ZY, Violet G, et al. Cardiac expression of adiponectin and its receptors in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Metab Clin Exp*, 2007, 56: 1363–1371.
- [8] Egert S, Nguyen N, Brosius FC, et al. Effects of wortmannin on insulin and ischemia-induced stimulation of GLUT4 translocation and FDG uptake in perfused rat hearts [J]. *Cardiovasc Res*, 1997, 35: 283–293.
- [9] Nielsen LB, Bartels ED, Bollano E. Over expression of apolipoprotein B in the heart impedes cardiac triglyceride accumulation and development of cardiac dysfunction in diabetic mice [J]. *Biol Chem*, 2002, 277: 27014–27020.
- [10] Katz EB, Stenbit AE, Hatton K, et al. Cardiac and adipose tissue abnormalities but not diabetes in mice deficient in GLUT4 [J]. *Nature*, 1995, 377: 151–155.
- [11] Stapleton SR. Selenium: an insulin-mimetic [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2000, 57: 1874–1879.
- [12] Berg EA, Wu JY, Campbell L, et al. Insulin-like effects of vanadate and selenate on the expression of glucose-6-phosphate dehydrogenase and fatty acid synthase in diabetic rats [J]. *Biochimie*, 1995, 77: 919–924.
- [13] Becker DJ, Reul B, Ozcelikay AT, et al. Oral selenate improves glucose homeostasis and partly reverses abnormal expression of liver glycolytic and gluconeogenic enzymes in diabetic rats [J]. *Diabetologia*, 1996, 39: 3–11.
- [14] Zhang L, Chen LM, Ni HX, et al. Effects of puerarin on the expression of glucose transporter 4 in adipocytes of streptozotocin induced diabetic rats [J]. *Chin J Clin Rehabil (中国临床康复)*, 2006, 10: 135–139.
- [15] Ghosh R, Mukherjee B, Chatterjee M. A novel effect of selenium streptozotocin-induced diabetic mice [J]. *Diabetes Res*, 1994, 25: 165–171.
- [16] Battell ML, Delgatty HLM, McNeil JH. Sodium selenate corrects glucose tolerance and heart function in STZ diabetic rat [J]. *Mol Cell Biochem*, 1998, 179: 27–34.
- [17] McNeill JH, Delgatty HLM, Battell ML. Insulin like effects of sodium selenate in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Diabetes*, 1991, 40: 1675–1678.
- [18] Ersöz G, Yakaryilmaz A, Turan B. Effect of sodium selenite treatment on platelet aggregation of streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Thromb Res*, 2003, 111: 363–367.
- [19] Naziroğlu M, Dilsiz N, Cay M. Protective role of intraperitoneally administered vitamins C and E and selenium on the levels of lipid peroxidation in lens of rats made diabetic with streptozotocin [J]. *Biol Trace Elem Res*, 1999, 70: 223–232.
- [20] Furnsinn C, Englisch R, Ebner K, et al. Insulin-like vs non-insulin-like stimulation of glucose metabolism by vanadium, tungsten, and selenium compounds in rat muscle [J]. *Life Sci*, 1998, 59: 1989–2000.
- [21] Stapleton SR, Garlock GL, Foellmi-Adams L, et al. Selenium: potent stimulator of tyrosyl phosphorylation and activator of MAP kinase [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1997, 1355: 259–269.
- [22] Stapleton SR, Jivraj S, Wagle A. Insulin and insulin-mimetic selenium mediate the regulation of glucose-6-phosphate dehydrogenase gene expression via difference signal proteins [J]. *FASEB J*, 1998, 12: 1404.