

稳恒磁场刺激对糖尿病动脉粥样硬化大鼠血清和主动脉中 VEGF、TGF- β 1、TNF- α 和 IL-6 表达的影响

楚轶, 冯品, 张薇, 党晶艺, 李波

第四军医大学唐都医院心内科, 陕西 西安 710032

【摘要】目的:明确中等强度(4.0 mT)稳恒磁场刺激对糖尿病动脉粥样硬化大鼠血清和主动脉中的血管内皮生长因子(VEGF)、转化生长因子 β 1(TGF- β 1)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)和白细胞介素6(IL-6)表达的影响。**方法:**12周龄雄性SD大鼠30只,随机等分成3组(空白对照组、糖尿病组及糖尿病磁场暴露组)。对糖尿病和糖尿病磁场暴露组的大鼠采用链脲佐菌素+维生素D3+高脂饮食组合法建立糖尿病性动脉粥样硬化模型。糖尿病磁场暴露组接受强度4.0 mT全身稳恒磁场暴露,每天刺激2 h。8周后,全部大鼠处死,提取血清样本,进行血脂4项(血清总胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白胆固醇及低密度脂蛋白胆固醇)检测,并使用ELISA法检测血液中VEGF、TGF- β 1、TNF- α 和IL-6的蛋白表达;提取主动脉组织,使用PCR法检测主动脉中VEGF、TGF- β 1、TNF- α 和IL-6的基因表达。**结果:**稳恒磁场抑制糖尿病动脉粥样硬化大鼠血脂4项指标的升高($P<0.05$),同时显著降低血清VEGF、TGF- β 1、TNF- α 和IL-6表达($P<0.05$);PCR结果揭示稳恒磁场下调主动脉中VEGF、TGF- β 1、TNF- α 和IL-6基因表达($P<0.05$)。**结论:**中强度稳恒磁场对糖尿病性动脉粥样硬化的积极治疗效果可能与其对重要细胞因子(如VEGF、TGF- β 1、TNF- α 和IL-6)的表达调控作用有关。

【关键词】稳恒磁场;糖尿病;动脉粥样硬化;血脂;细胞因子

【中图分类号】R541.4;R312

【文献标志码】A

【文章编号】1005-202X(2017)10-1045-06

Effect of whole-body exposure to static magnetic fields on serum and aortic VEGF, TGF- β 1, TNF- α and IL-6 expression in diabetic atherosclerosis rats

CHU Yi, FENG Pin, ZHANG Wei, DANG Jingyi, LI Bo

Department of Cardiology, Tangdu Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China

Abstract: Objective To identify the effects of moderate-intensity (4.0 mT) static magnetic fields on the expression of endothelial growth factor (VEGF), transforming growth factor β 1 (TGF- β 1), tumor necrosis factor α (TNF- α), and interleukin 6 (IL-6) in the serum and aorta of diabetic atherosclerosis rats. **Methods** Twelve-week-old male Sprague-Dawley rats ($n=30$) were randomly and equally assigned into 3 groups, including the blank control (Control), diabetes mellitus (DM) and DM with static magnetic fields exposure (DM+SMF) groups. The rats in DM and DM+SMF groups were subjected to the combined administration with streptozotocin, vitamin D3 and high-fat diet to induce diabetic atherosclerosis. The rats in DM+SMF group were exposed to whole-body static magnetic fields (4.0 mT, 2 h/d). After 8 weeks, all rats were sacrificed, and the serum samples were extracted for analyzing blood lipid indices (serum total cholesterol, triglyceride, high-density lipoprotein cholesterol and low-density lipoprotein cholesterol). The ELISA method was used to determine the expression of serum VEGF, TGF- β 1, TNF- α and IL-6 protein. The aortic tissues were also collected for quantifying VEGF, TGF- β 1, TNF- α and IL-6 gene expression via the PCR method. **Results** Static magnetic fields prevented the increase of blood lipid indices in diabetic atherosclerosis rats ($P<0.05$), and also significantly reduced the expression of serum VEGF, TGF- β 1, TNF- α and IL-6 protein ($P<0.05$). PCR results showed that the static magnetic fields down-regulated aortic VEGF, TGF- β 1, TNF- α and IL-6 gene expression ($P<0.05$). **Conclusion** The positive therapeutic effect of moderate-intensity static magnetic fields on diabetic atherosclerosis might be associated with their regulation of essential cytokines, such as VEGF, TGF- β 1, TNF- α and IL-6, etc.

Keywords: static magnetic field; diabetes mellitus; atherosclerosis; blood lipids; cytokines

【收稿日期】2017-06-16

【基金项目】国家自然科学基金(81470537)

【作者简介】楚轶, 硕士研究生, 主治医师, 从事动脉粥样硬化、高血压、冠心病研究工作, E-mail: chuyi5702@163.com

【通信作者】冯品, 主治医师, 从事冠心病和高脂血症的研究工作, E-mail: fengpin86@163.com

前言

糖尿病是以高血糖为表现及最为常见的老年性疾病之一,全世界有约3.5亿的糖尿病患者,在未来的20年里糖尿病患者人数可能还要增加1倍以上,而我国以1.1亿糖尿病患者居全球之首,且糖尿病患者的数量还在呈现逐年增加的趋势,糖尿病给我国经济社会带来的负担也在逐年加重^[1-2]。糖尿病也被医学界称为“万病之源”,它可以诱发机体的各个系统产生并发症,如糖尿病血管病变、神经病变、糖尿病肾病、眼底病变、糖尿病足等。在这些糖尿病的并发症中,糖尿病心血管系统疾病是致死率最高的并发症。研究数据表明,糖尿病诱发的患者死亡病例中,糖尿病心血管系统疾病的致死比例超过50%以上,而这其中以动脉粥样硬化诱发的心肌梗死、心绞痛、脑卒中等病变占据了相当大的比例^[3-4]。研究报道,糖尿病会累积至人体的大血管和微血管,使其心、脑血管系统的动脉粥样硬化的发生率是非糖尿病人群的2~4倍^[5-6];同时相比于正常人群,糖尿病患者心血管疾病的发生具有发生早及预后差等特点。因此,探索有效、安全的对抗糖尿病性动脉粥样硬化的预防和治疗方法对于降低糖尿病人的致残和致死率具有重要意义,也有望产生重要的经济和社会价值。

磁场干预作为最为常见的物理因子治疗方法之一,其对人体各器官系统的作用效果及调控机制已得到国内外学者的广泛关注。大量研究表明,外源性地施加磁场刺激能够对骨骼肌系统、心血管系统及神经系统等产生积极的作用效果,而磁场也已于20世纪70年代末被美国食品药品监督管理局批准进入临床^[7-8]。磁场根据其自身的特征可以分为稳恒磁场和交变磁场,稳恒磁场根据强度可以分为低强度(<1 mT)、中强度(1 mT~1 T)及高强度(>1 T),而国内外大多关于稳恒磁场积极的治疗效果的研究报道均是基于中等强度(1 mT~1 T)磁场。大量研究证实,稳恒磁场能够对加速骨折愈合、缓解疼痛、消除炎症等起到积极作用^[9-10]。尤其对于心血管系统,稳恒磁场的积极作用效果已得到较多学者的研究报道。学者们研究发现,中等强度的稳恒磁场暴露能够改善局部微循环,提高局部微血管峰值血流速度^[11-13]。同时,中强度稳恒磁场具有显著的维持血管状态稳定的作用,并且能够起到血管舒张作用^[14-15]。但是,中等强度的稳恒磁场是否能够对动脉粥样硬化,尤其是糖尿病性动脉粥样硬化产生积极的作用效果,目前国内外尚未见文献报道。基于此,我们采

用链脲佐菌素(STZ)协同维生素D3和高脂饮食喂养法构建糖尿病动脉粥样硬化动物模型,系统评估中强度稳恒磁场对糖尿病性动脉粥样硬化大鼠血脂指标及血液和主动脉组织中血管内皮生长因子(VEGF)、转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)和白细胞介素6(IL-6)表达的影响,旨在为其后续的临床研究提供重要依据。

1 材料与方法

1.1 实验试剂和实验仪器

链脲佐菌素STZ溶液,购于美国Sigma公司;维生素D3,购于美国Sigma公司;高脂饲料,课题组自行配置,其主要成分为:81.3%基础饲料、3%胆固醇、0.2%丙基硫氧嘧啶、0.5%胆酸钠、10%猪油、5%糖;血清VEGF、TGF- $\beta 1$ 、TNF- α 和IL-6的ELISA试剂盒,购于武汉华美生物工程有限公司;OneTouch稳步血糖仪,购于美国Lifescan公司;全自动生化分析仪(Cobas Integra 400 Plus),购于瑞士罗氏公司;稳恒磁场发生系统,课题组自行研制;磁场测量用高斯计(Model 455),购于美国Lakeshore公司;实时定量PCR检测系统(Bio-Rad CFX96),购于美国Bio-Rad公司;紫外分光光度计(SmartSpec Plus),购于美国Bio-Rad公司;TRizol裂解液,购于美国Invitrogen公司;FastQuant RT试剂盒,购于北京天根生化科技有限公司;电子天平(AEG-120T),购于日本Shimadzu公司。

1.2 实验动物及分组

12周龄SPF级雄性Sprague-Dawley(SD)大鼠,共30只,体质量(290.4 ± 15.6)g,购于北京维通利华实验动物技术有限公司。大鼠进入本实验室后,适应实验室环境1周。大鼠饲养于温度(23 ± 1)℃和相对湿度(50%~60%)可控的实验室环境,每日光照12 h。大鼠喂养以专用的蒸馏水和标准的大鼠饲料。

1.3 糖尿病动脉粥样硬化动物模型构建

将30只实验大鼠随机等分为3组,分别为:对照组(Control),糖尿病组(DM)和糖尿病磁场刺激组(DM+SMF),每组10只。在适应实验室环境1周后,对糖尿病组和糖尿病磁场刺激组的20只大鼠禁食过夜12 h,对照组大鼠不予禁食。随后,糖尿病组和糖尿病磁场刺激组的共20只大鼠行腹腔注射STZ溶液50 mg/kg,对照组10只大鼠行腹腔注射等量的柠檬酸缓冲液。在注射72 h后,使用OneTouch稳步血糖仪抽取各组大鼠的随机血糖。糖尿病组和糖尿病磁场刺激组20只大鼠的随机血糖值均高于16.7 mmol/L,因此被视为糖尿病模型构建成功^[16]。同时,通过体

征观察发现,糖尿病大鼠表现出典型的多饮、多食、多尿、消瘦等特征的I型糖尿病体征。随后,对糖尿病组和糖尿病磁场刺激组的20只大鼠行灌胃注射60万单位/kg的维生素D3溶液,连续灌胃3 d。随后,糖尿病组和糖尿病磁场刺激组的20只大鼠喂养以课题组自行配制的高脂饲料,对照组10只大鼠喂以普通大鼠饲料。糖尿病磁场刺激组10只大鼠行全身稳恒磁场暴露,刺激2 h/d,连续刺激8周。糖尿病组和对照组的20只大鼠同样放入电磁发生线圈中,但不通电流。

1.4 磁场发生装置

稳恒磁场发生系统主要由电流发生模块和Helmholtz线圈两部分组成。电流发生模块以STC5410单片机为核心,自带10位模数转化模块,另扩展了10位数模转换模块。电流信号为两路输出,通过单片机控制可以实现稳恒电流、正弦波电流、三角波电流、方波电流和脉冲群电流等波形的输出。输出的低功率电流经功率放大芯片OPA549进行仪表放大,随后放大的电流输出至Helmholz线圈。电流信号的输出强度为0~10 A线性可调,并可在12864液晶上实时显示输出磁场参数。Helmholz线圈包含两个等轴并排放置、直径为80 cm的圆形线圈。两个线圈匝数均为500匝,两个线圈等轴放置,相距40 cm。通过Helmholtz线圈的计算公式可以换算得到输入电流和Helmholz线圈输出磁场的关系公式。通过设置电流参数,使线圈轴线方向上的输出磁场强度为4.0 mT。在进行磁场刺激的实验过程中,将大鼠置于自制的塑料笼中,笼底部位于Helmholtz线圈中轴线上,使大鼠所接受暴露的磁场剂量尽可能均匀。使用LakeShore 455高斯计测量大鼠在笼子活动区域的磁场空间分布范围为3.6~4.0 mT。

1.5 血脂指标检测

经稳恒磁场刺激8周后,对照组、糖尿病组和糖尿病磁场刺激组的30只大鼠采用过量戊巴比妥钠进行麻醉,行腹主动脉穿刺法取血,取血量约10 mL。将获得的10 mL血液样本静置于室温环境20 min后,离心20 min后获得血清样本,-70℃保存。使用瑞士罗氏公司的全自动生化分析仪(Cobas Integra 400 Plus)对血脂4项进行定量检测和分析,包括血清总胆固醇(Total Cholesterol, Tc)、甘油三酯(Triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇(High-density Lipoprotein, HDL-C)及低密度脂蛋白胆固醇(Low-density Lipoprotein, LDL-C)。使用武汉华美生物工程有限公司的大鼠血清ELISA检测试剂盒分别定量各组大鼠血清VEGF、TGF- β 1、TNF- α 和IL-6的蛋白含量。

1.6 主动脉组织基因表达检测

各组大鼠经过量戊巴比妥钠注射后,分离提取大鼠主动脉弓。使用TRizol裂解液提取各组大鼠主动脉弓的总RNA,使用美国Bio-Rad公司的紫外分光光度计测量其纯度并进行定量操作。随后,使用FastQuant RT试剂盒将RNA逆转录为cDNA。实时定量PCR检测使用美国Bio-Rad公司的CFX96实时定量PCR检测系统,用于实时定量PCR的引物序列包括:VEGF上游:5'-GGAGTACCCCGATGAGATAGAGT-3',VEGF下游:5'-CTATGTGCTGGCTTTGGTGAG-3';TGF- β 1上游:5'-ACCCCTTCCTGCTCCTC ATGG-3',TGF- β 1下游:5'-AGCGCACGATCATGTTGGAC-3';TNF- α 上游:5'-TCTCATCAGTTCTATGGCCC-3',TNF- α 下游:5'-GGGAGTAGACAAGGTACAAC-3';IL-6上游:5'-CTCTCCGCAAGAGACTTCCA-3',IL-6下游:5'-TG-GTCTTCTGGAGTTCCGTT-3'; β -actin上游:5'-TGAAGTGTGACGTGGACATC-3', β -actin下游:5'-TAGAAGCATTGTCGGTGGAC-3'。实时定量PCR的反应步骤为:95℃初始变性10 min,95℃下40个循环的变性处理15 s,55℃下退火15 s,55℃下延伸15 s。

1.7 统计学分析

所有数据均使用均数 \pm 标准差表示,使用Windows版本的SPSS 19.0软件进行统计学分析。对照组、糖尿病组和糖尿病磁场刺激组各参数的统计学差异均采用单因素方差分析(One-way ANOVA),如果发现3组间存在差异,使用Tukey的多重检验分析法进行数据的两两分析比较。 $P<0.05$ 被定义为有显著统计学差异。

2 结果

2.1 全身稳恒磁场暴露对糖尿病性动脉粥样硬化大鼠血脂指标的影响

8周的稳恒磁场刺激后,对各组大鼠称重,空白对照组、糖尿病组、糖尿病+磁场组的大鼠体质量分别为(441.4 \pm 45.2)、(369.2 \pm 41.3)及(382.3 \pm 36.5) g,糖尿病组大鼠体质量显著低于空白对照组($P<0.05$),而糖尿病组、糖尿病+磁场组大鼠体质量无显著性差异($P>0.05$)。3组大鼠血脂指标的统计分析结果如表1所示。相比于空白对照组,糖尿病组大鼠血清TC、TG、LDC-C、HDL-C含量显著升高($P<0.05$);而对于经过全身稳恒磁场刺激的糖尿病动脉粥样硬化大鼠,其血清TC、TG、LDC-C、HDL-C含量显著低于未经磁场刺激的糖尿病动脉粥样硬化大鼠($P<0.05$)。

2.2 稳恒磁场刺激对糖尿病动脉粥样硬化大鼠血清中重要细胞因子表达的影响

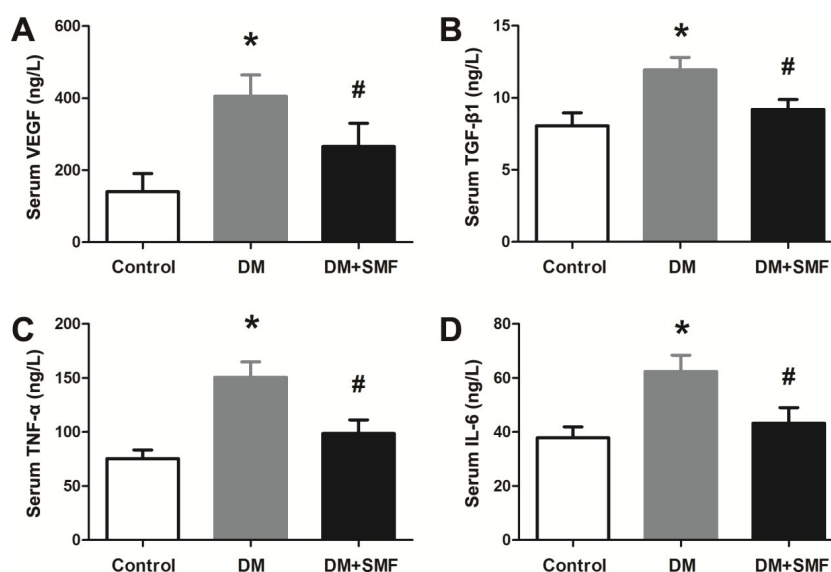
表1 全身稳恒磁场暴露对糖尿病性动脉粥样硬化大鼠血脂4项指标的影响($n=10$, mmol/L)
Tab.1 Effects of whole-body exposure to static magnetic fields on blood lipid indices of diabetic atherosclerosis rats ($n=10$, mmol/L)

Group	Total cholesterol	Triglyceride	High-density lipoprotein	Low density lipoprotein
Control	4.13±0.65	0.44±0.11	0.47±0.11	1.45±0.38
DM	11.62±1.45*	1.81±0.35*	2.49±0.37*	5.73±0.67*
DM+SMF	4.82±0.83 [#]	0.97±0.23 [#]	1.45±0.23 [#]	3.24±0.73 [#]

Control: Blank control group; DM: Diabetes mellitus; SMF: Static magnetic fields; * $P<0.05$ vs control; [#] $P<0.05$ vs DM group.

使用ELISA法检测稳恒磁场刺激对各组大鼠血清中重要细胞因子表达的影响如图1所示。相比于空白对照组大鼠,糖尿病动脉粥样硬化大鼠的血清中VEGF蛋白表达量显著升高($P<0.01$),而血清TGF- β 1的表达含量也显著升高($P<0.01$)。行全身稳恒磁场刺激8周后的糖尿病动脉粥样硬化大鼠血清中的VEGF蛋白表达含量相比于未经磁场暴露的糖

尿病动脉粥样硬化大鼠显著降低($P<0.01$),而血清TGF- β 1的蛋白表达含量也显著降低($P<0.01$)。糖尿病动脉粥样硬化大鼠所表达的血清炎症因子TNF- α 和IL-6的蛋白表达含量显著高于空白对照组大鼠($P<0.01$),而糖尿病+磁场组大鼠的炎症因子TNF- α 和IL-6的蛋白表达显著低于糖尿病组大鼠($P<0.01$)。



* $P<0.05$ vs control group; [#] $P<0.05$ vs DM group.

图1 稳恒磁场刺激对糖尿病动脉粥样硬化大鼠血清中重要细胞因子表达的影响($n=10$)
Fig.1 Effects of whole-body exposure to static magnetic fields on the expression of important serum cytokines in diabetic atherosclerosis rats ($n=10$)

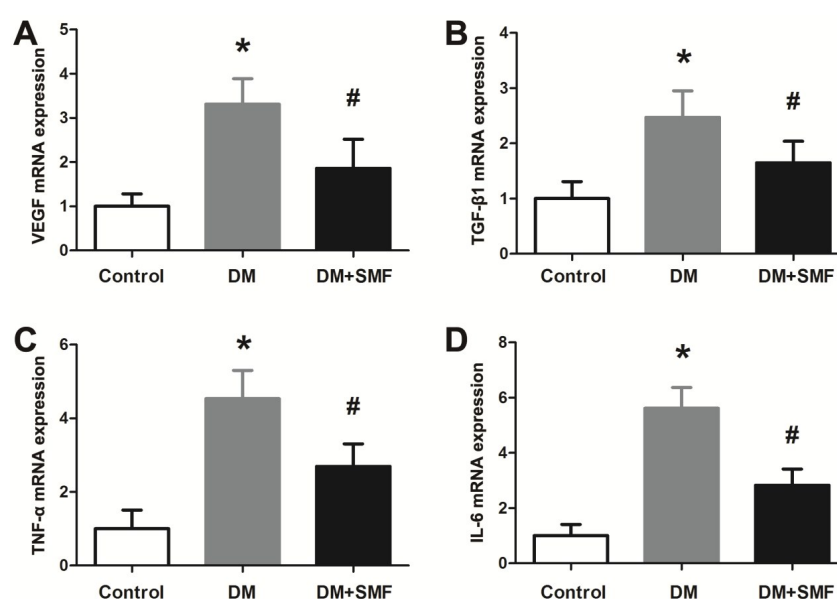
2.3 稳恒磁场对糖尿病动脉粥样硬化大鼠主动脉组织中重要细胞因子表达的影响

使用Real-time PCR法检测稳恒磁场对各组大鼠主动脉组织中重要细胞因子表达的影响如图2所示。相比于空白对照组大鼠,糖尿病动脉粥样硬化大鼠的主动脉组织中VEGF基因表达含量显著升高($P<0.01$),而8周稳恒磁场暴露能够显著降低糖尿病动脉粥样硬化

大鼠主动脉组织中VEGF表达($P<0.01$)。糖尿病动脉粥样硬化大鼠主动脉组织中TGF- β 1表达含量显著高于空白对照组大鼠($P<0.01$),而稳恒磁场刺激进一步降低了糖尿病动脉粥样硬化大鼠主动脉组织中TGF- β 1基因表达含量($P<0.05$)。相比于空白对照组大鼠,糖尿病组大鼠主动脉中炎症因子TNF- α 和IL-6的基因表达含量显著升高($P<0.01$),8周稳恒磁场暴露能够显著降低糖

糖尿病组大鼠主动脉中炎症因子TNF- α 和IL-6的基因表达($P<0.01$)。以上所有主动脉重要细胞因子的基

因定量表达检测与血清ELISA的蛋白检测结果基本保持一致。



* $P<0.05$ vs control group; # $P<0.05$ vs DM group.

图2 稳恒磁场对糖尿病动脉粥样硬化大鼠主动脉组织中重要细胞因子表达的影响($n=10$)

Fig.2 Effects of whole-body exposure to static magnetic fields on important aortic cytokine expression in diabetic atherosclerosis rats ($n=10$)

3 讨论

我们采用“STZ+维生素D3+高脂饮食”诱导法构建糖尿病性动脉粥样硬化动物模型,该动物模型是较为成熟的动物模型,被国内外学者广泛使用^[17]。本实验研究结果表明,采用“STZ+维生素D3+高脂饮食”法诱导8周后,糖尿病组大鼠表现出明显的机体脂代谢异常特征,表现为血脂4项指标均显著性升高,这也进一步证实我们的方法成功构建出了糖尿病动脉粥样硬化大鼠动物模型。更重要的是,我们的研究发现经过8周的中强度(4.0 mT)稳恒磁场暴露后,糖尿病动脉粥样硬化大鼠的血脂4项指标,包括血清TC、TG、LDL-C、HDL-C含量均显著降低,这也揭示中强度稳恒磁场治疗具有提高肝脂酶活性、改善脂代谢紊乱的积极作用效果。

VEGF是一种血管内皮细胞特异性的与肝素结合的重要生长因子,它在诱导血管生成中起到至关重要的作用^[18]。VEGF能够与位于细胞膜上的特异性VEGF受体(VEGFR2)结合,引起下游信号的级联反应,从而调控血管内皮细胞的迁移、增值和细胞活力,调控血管生成及血管通透性的改变,并增强动脉粥样硬化斑块中的血管新生;同时,VEGF还能够显著促进内皮细胞的增生,导致其渗透性增强,诱发血

管肿瘤的生成,并促进血管渗透、水肿及炎症的产生。本研究中我们发现糖尿病动脉粥样硬化大鼠中VEGF的表达含量显著升高,这一结果与先前学者的研究结果保持一致^[19]。更重要的是,我们发现稳恒磁场刺激能够显著抑制VEGF的表达,表明稳恒磁场诱发的VEGF降低极有可能在其对抗糖尿病动脉粥样硬化的作用中发挥了重要作用。其次,TGF- β 1是一种调控细胞生长和分化的重要细胞因子,研究表明TGF- β 1不仅在调控维持正常健康血管功能活性中发挥重要作用,也调控了动脉粥样硬化组织中的有害血管生长^[20]。本研究结果与前人的研究结果一致^[21]。本研究中我们发现TGF- β 1在糖尿病动脉粥样硬化大鼠中的血清和主动脉血管组织中的表达含量显著升高。稳恒磁场刺激同样显著降低了TGF- β 1细胞因子的表达,提示TGF- β 1也可能参与了稳恒磁场调控动脉粥样硬化的进程。

大量研究证实,炎症反应在动脉粥样硬化的发生和发展中发挥着极其重要的作用,而动脉粥样硬化也被认为是一种与炎症反应关系最为密切的疾病之一^[22]。TNF- α 是一种由单核巨噬细胞产生,具有免疫调节功能和参与炎症反应的重要细胞因子。IL-6也是一种多效应的细胞调节因子,它在调控参与免

疫反应的细胞增殖、分化中发挥了重要作用。在本研究中,我们发现TNF- α 和IL-6在糖尿病动脉粥样硬化大鼠血清和血管中的表达均显著升高,这一发现与先前的研究结果保持一致^[23]。经稳恒磁场暴露8周后,糖尿病动脉粥样硬化大鼠血清和血管中的TNF- α 和IL-6表达均显著降低,揭示稳恒磁场在对抗糖尿病动脉粥样硬化组织的炎症反应中发挥了重要作用。

综上所述,本研究发现中强度(4 mT)全身稳恒磁场暴露8周对糖尿病性动脉粥样硬化具有积极的治疗效果,同时稳恒磁场能够显著抑制调控动脉粥样硬化组织中血管生长的重要细胞因子VEGF和TGF- β 1的表达,同时还能够抑制炎症因子TNF- α 和IL-6的表达。我们的研究结果为明确和揭示磁场对糖尿病动脉粥样硬化的调控作用及相关机制提供了重要依据。对于磁场的生物效应研究,学者们也提示其存在着潜在的作用参数的“窗口效应”^[7, 24]。本研究中我们所使用的4 mT作用参数可能位于磁场刺激的有效窗口中,而这一具体的作用窗口参数是什么还有待于课题组通过接下来的实验系统验证。总之,我们通过动物实验证实了稳恒磁场作为一种安全、经济、无创的物理因子治疗方式,对糖尿病性动脉粥样硬化具有较好的治疗效果,为其未来的临床应用提供了坚实的理论和实验基础,具有较为重要的临床应用价值。

【参考文献】

- [1] WILD S, ROGLIC G, GREEN A, et al. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030[J]. Diabetes Care, 2004, 27(5): 1047-1053.
- [2] GUARIGUATA L, WHITING D R, HAMBLETON I, et al. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2014, 103: 137-149.
- [3] CAMPBELL P T, NEWTON C C, PATEL A V, et al. Diabetes and cause-specific mortality in a prospective cohort of one million U.S. adults[J]. Diabetes Care, 2012, 35(9): 1835-1844.
- [4] TOMKIN G H. Atherosclerosis, diabetes and lipoproteins[J]. Expert Rev Cardiovasc Ther, 2010, 8(7): 1015-1029.
- [5] WILMOT E G, EDWARDSON C L, ACHANA F A, et al. Sedentary time in adults and the association with diabetes, cardiovascular disease and death: systematic review and meta-analysis[J]. Diabetologia, 2012, 55(11): 2895-2905.
- [6] GRØNTVED A, HU F B. Television viewing and risk of type 2 diabetes, cardiovascular disease, and all-cause mortality: a meta-analysis[J]. JAMA, 2011, 305(23): 2448-2455.
- [7] PASEK J, PASEK T, SIEROŃ-STOŁTNY K, et al. Electromagnetic fields in medicine: the state of art [J]. Electromagn Biol Med, 2016, 35(2): 170-175.
- [8] PILLAA A A. Nonthermal electromagnetic fields: from first messenger to therapeutic applications[J]. Electromagn Biol Med, 2013, 32(2): 123-136.
- [9] ZHANG J, DING C, REN L, et al. The effects of static magnetic fields on bone[J]. Prog Biophys Mol Biol, 2014, 114(3): 146-152.
- [10] ALBUQUERQUE W W, COSTA R M, FERNANDES T S, et al. Evidences of the static magnetic field influence on cellular systems[J]. Prog Biophys Mol Biol, 2016, 121(1): 16-28.
- [11] XU S, OKANO H, OHKUBO C. Acute effects of whole-body exposure to static magnetic fields and 50-Hz electromagnetic fields on muscle microcirculation in anesthetized mice [J]. Bioelectrochemistry, 2001, 53(1): 127-135.
- [12] GMTROV J, OHKUBO C, OKANO H. Effect of 0.25 T static magnetic field on microcirculation in rabbits[J]. Bioelectromagnetics, 2002, 23(3): 224-229.
- [13] GMTROV J. Static magnetic field and verapamil effect on baroreflex stimulus-induced microcirculatory responses[J]. Electromagn Biol Med, 2004, 23(2): 141-155.
- [14] ICHIOKA S, IWASAKA M, SHIBATA M, et al. Biological effects of static magnetic fields on the microcirculatory blood flow *in vivo*: a preliminary report[J]. Med Biol Eng Comput, 1998, 36(1): 91-95.
- [15] ICHIOKA S, MINEGISHI M, IWASAKA M, et al. High-intensity static magnetic fields modulate skin microcirculation and temperature *in vivo*[J]. Bioelectromagnetics, 2000, 21(3): 183-188.
- [16] LIU T, ZHAO H, LI J, et al. Rosiglitazone attenuates atrial structural remodeling and atrial fibrillation promotion in alloxan-induced diabetic rabbits[J]. Cardiovasc Ther, 2014, 32(4): 178-183.
- [17] ZHENG B, YANG L, WEN C, et al. Curcumin analog L3 alleviates diabetic atherosclerosis by multiple effects[J]. Eur J Pharmacol, 2016, 775: 22-34.
- [18] CELLETTI F L, WAUGH J M, AMABILE P G, et al. Vascular endothelial growth factor enhances atherosclerotic plaque progression [J]. Nat Med, 2001, 7(4): 425-429.
- [19] AIELLO L P, WONG J S. Role of vascular endothelial growth factor in diabetic vascular complications[J]. Kidney Int Suppl, 2000, 77: S113-S119.
- [20] TOMA I, MCCAFFREY T A. Transforming growth factor- β and atherosclerosis: interwoven atherogenic and atheroprotective aspects [J]. Cell Tissue Res, 2012, 347(1): 155-175.
- [21] LIU J Y, ZHENG C Z, HAO X P, et al. Catalpol ameliorates diabetic atherosclerosis in diabetic rabbits[J]. Am J Transl Res, 2016, 8(10): 4278-4288.
- [22] GALKINA E, LEY K. Immune and inflammatory mechanisms of atherosclerosis[J]. Annu Rev Immunol, 2009, 27: 165-197.
- [23] HU Y, SUN B, LIU K, et al. Icaritin attenuates high-cholesterol diet induced atherosclerosis in rats by inhibition of inflammatory response and p38 MAPK signaling pathway[J]. Inflammation, 2016, 39(1): 228-236.
- [24] MARKOV M S. Pulsed electromagnetic field therapy history, state of the art and future[J]. Environmentalist, 2007, 27(4): 465-475.

(编辑:黄开颜)