

❖ 实验研究

Speckle tracking imaging in evaluation of early myocardial injury of sepsis rats and effect of naringin pretreatment

SUN Lijuan^{1,2}, REN Weidong^{1*}, QIAO Wei¹, XIAO Yangjie¹, CUI Li¹

(1. Department of Ultrasound, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, China; 2. Department of Ultrasound, the First Hospital of Qinhuangdao, Qinhuangdao 066000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the value of speckle tracking imaging (STI) technique in evaluating lipopolysaccharide (LPS) induced early myocardial injury in sepsis rats and naringin (Nar) pretreatment in reversing myocardial injury. **Methods** Thirty-six SD rats were randomly divided into LPS+Nar₅₀ group ($n=9$), LPS+Nar₁₀₀ group ($n=9$), LPS group ($n=10$) and control group ($n=8$). Rats in LPS+Nar₅₀ group and LPS+Nar₁₀₀ group were given Nar suspension by gavage with 50, 100 mg/kg, respectively, while in other two groups were given the same amount of normal saline. Continuous gavage was performed for 7 days, then rats in LPS+Nar₅₀ group, LPS+Nar₁₀₀ group and LPS group were intraperitoneally injected with 5 mg/kg LPS 1 hour after the last gavage, while in control group were given the same amount of normal saline. Six hours after LPS injection, all rats were tested for left ventricular ejection fraction (LVEF) and Tei index, peak circumferential strain (SC) at each segment of the left ventricle (LV), LV global subendocardial, middle and subepicardial SC (respectively for GSCendo, GSCmid, GSCepi), systolic peak rate of SC (SrC S), peak early diastolic SC rate (SrC E), late diastolic peak rate of SC (SrC A). Serum levels of creatine kinase (CK) and lactate dehydrogenase (LDH) were detected, and pathological changes of myocardial tissue were observed by HE. **Results** The peaks of SC at each segment of LV in LPS group were lower than those in control group and LPS+Nar₁₀₀ group (all $P<0.05$). In LPS+Nar₅₀ group, SC peaks of anterior septum, anterior wall, inferior wall and posterior septum were higher than those in LPS group but lower than those in LPS+Nar₁₀₀ group; SC peak of lateral wall in LPS+Nar₅₀ group was lower than that in LPS+Nar₁₀₀ group (all $P<0.05$). LVEF, GSCendo, GSCmid, SrC S, SrC E and SrC A in LPS group were significantly lower than the other three groups, and Tei index, CK and LDH were all higher than in the other three groups (all $P<0.05$). LVEF, GSCmid, SrC S, SrC E and SrC A in LPS+Nar₅₀ group were lower than those in LPS+Nar₁₀₀ group, while Tei index, CK and LDH were all higher than those in LPS+Nar₁₀₀ group (all $P<0.05$). Pathological results showed that some of the cells in LPS group were pyknotic and hyperemic, and the inflammatory cells increased. The above pathological changes significantly reduced in LPS+Nar₅₀ group and LPS+Nar₁₀₀ group compared with LPS group, and the reduction was more significant in LPS+Nar₁₀₀ group. **Conclusion** STI can be used to evaluate early myocardial injury and Nar pretreatment on reducing myocardial injury in sepsis rats.

[Keywords] cardiomyopathies; sepsis; lipopolysaccharides; ventricular function, left; speckle tracking imaging; ultrasonography

DOI:10.13929/j.1003-3289.201811070

[基金项目] 国家自然科学基金(85171686)。

[第一作者] 孙立娟(1981—),女,河北定州人,在读博士,主治医师。研究方向:心血管超声。E-mail: sunlj819@163.com

[通信作者] 任卫东,中国医科大学附属盛京医院超声科,110004。E-mail: renwdcmu@163.com

[收稿日期] 2018-11-13 **[修回日期]** 2019-06-02

斑点追踪成像评价脓毒症大鼠早期心肌损伤及柚皮苷预处理效果

孙立娟^{1,2}, 任卫东^{1*}, 乔伟¹, 肖杨杰¹, 崔莉¹

(1. 中国医科大学附属盛京医院超声科, 辽宁 沈阳 110004; 2. 秦皇岛市

第一医院超声科, 河北 秦皇岛 066000)

[摘要] **目的** 探讨斑点追踪成像(STI)技术评价脂多糖(LPS)诱导脓毒症大鼠早期心肌损伤及柚皮苷(Nar)预处理对逆转心肌损伤效果的应用价值。**方法** 将 36 只 SD 大鼠随机分为 LPS+Nar₅₀ 组($n=9$)、LPS+Nar₁₀₀ 组($n=9$)、LPS 组($n=10$)及对照组($n=8$)。对 LPS+Nar₅₀ 组、LPS+Nar₁₀₀ 组分别以 50、100 mg/kg 体质量灌胃给予 Nar 混悬液,对照组、LPS 组大鼠给予等量生理盐水,连续灌胃 7 天;于最后一次灌胃结束后 1 h, LPS+Nar₅₀ 组、LPS+Nar₁₀₀ 组及 LPS 组腹腔注射 5 mg/kg 体质量 LPS,对照组给予等量生理盐水。于 LPS 注射 6 h 后检测 4 组大鼠左心室射血分数(LVEF)及 Tei 指数,左心室各节段圆周应变(SC)峰值,左心室整体心内膜下心肌、中间心肌层及心外膜下心肌 SC 峰值(分别记为 GSCendo、GSCmid、GSCepi),收缩期圆周应变率(SrC)峰值(SrC S)、舒张早期 SrC 峰值(SrC E)、舒张晚期 SrC 峰值(SrC A);检测血清肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)水平,以 HE 染色观察心肌组织病理改变。**结果** LPS 组左心室各节段 SC 峰值均低于对照组和 LPS+Nar₁₀₀ 组(P 均 <0.05);LPS+Nar₅₀ 组前间隔、前壁、下壁及后间隔 SC 峰值均高于 LPS 组而低于 LPS+Nar₁₀₀ 组;LPS+Nar₅₀ 组侧壁 SC 峰值低于 LPS+Nar₁₀₀ 组(P 均 <0.05)。LPS 组 LVEF、GSCendo、GSCmid、SrC S、SrC E 及 SrC A 均低于其余 3 组,Tei 指数、CK 及 LDH 均高于其余 3 组(P 均 <0.05);LPS+Nar₅₀ 组 LVEF、GSCmid、SrC S、SrC E 及 SrC A 均低于 LPS+Nar₁₀₀ 组,Tei 指数、CK 及 LDH 均高于 LPS+Nar₁₀₀ 组(P 均 <0.05)。病理结果显示 LPS 组大鼠心肌组织部分细胞核固缩,充血,炎症细胞增多;LPS+Nar₅₀ 组、LPS+Nar₁₀₀ 组上述病理改变较 LPS 组减轻,以 LPS+Nar₁₀₀ 组为著。**结论** STI 技术可用于评价 LPS 诱导脓毒症大鼠早期心肌损伤及 Nar 预处理减轻心肌损伤的效果。

[关键词] 心肌疾病;脓毒症;脂多糖类;心室功能,左;斑点追踪成像;超声检查

[中图分类号] R322; R631.2; R540.45 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003-3289(2019)07-0961-05

脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)是革兰阴性菌外膜的主要成分,可引起人或动物脓毒症^[1]。早期器官功能障碍是脓症患者死亡的主要原因,心脏是易受累器官之一。柚皮苷(naringin, Nar)是天然黄酮类化合物,具有多种生物学活性,如抗感染、抗凋亡、神经保护、抗动脉粥样硬化等^[2-3]。斑点追踪成像(speckle tracking imaging, STI)技术应变及应变率等参数对评价心肌早期损伤具有较高敏感性^[4],但用于脓毒症心肌损伤的研究较少。本研究探讨 STI 技术评价 LPS 诱导脓毒症大鼠早期心肌损伤及 Nar 预处理对逆转心肌损伤效果的应用价值。

1 材料与方法

1.1 实验动物 SPF 级健康雄性 SD 大鼠 36 只,8 周龄,体质量 285~305 g,购于北京华阜康生物技术股份有限公司[动物许可证号:SYXK(辽)2017-0004]。本研究经中国医科大学附属盛京医院动物伦理委员会批准。

1.2 动物模型建立及分组 将 36 只 SD 大鼠随机分

为 LPS+Nar₅₀ 组($n=9$)、LPS+Nar₁₀₀ 组($n=9$)、LPS 组($n=10$)及对照组($n=8$)。对 LPS+Nar₅₀ 组、LPS+Nar₁₀₀ 组大鼠分别灌胃给予 50、100 mg/kg 体质量 Nar 混悬液(Sigma),对照组、LPS 组灌胃给予等量生理盐水;4 组大鼠均每日灌胃 1 次,连续 7 天,最后一次灌胃后 1 h, LPS+Nar₅₀ 组、LPS+Nar₁₀₀ 组及 LPS 组均腹腔注射 5 mg/kg 体质量 LPS(Sigma),对照组给予等量生理盐水。

1.3 仪器与方法 采用 GE Vivid E9 超声诊断仪,12S 探头,频率 9~12 MHz,帧频 120~200 帧/秒,于 LPS/生理盐水注射 6 h 后对 4 组大鼠行戊巴比妥钠(30 mg/kg 体质量)麻醉,将大鼠左侧卧位保定于检查床,连接同步肢体导联心电图,获取超声参数。采用改良 Simpson 法检测左心室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF),组织多普勒显像检测室间隔侧二尖瓣环运动频谱,计算 Tei 指数,均取 3 个心动周期的平均值作为结果。

连续采集 5 个心动周期左心室乳头肌水平短轴切

面图像,采用 EchoPAC 工作站进行分析,手动勾勒 ROI,调节 ROI 直径至各节段均显示满意,系统自动将心肌分为心内膜下心肌、中间心肌层及心外膜下心肌区域,获得前间隔、前壁、侧壁、后壁、下壁及后间隔各节段圆周应变(circumferential strain, SC)峰值,左心室心内膜、中间层及心外膜下心肌整体 SC(global circumferential strain, GSC)峰值(分别记为 GSCendo、GSCmid、GSCepi)、收缩期圆周应变率(circumferential strain rate, SrC)峰值(SrC S)、舒张早期 SrC 峰值(SrC E)、舒张晚期 SrC 峰值(SrC A),结果取 5 个心动周期的平均值。见图 1。

1.4 心肌酶检测 于超声检查后麻醉状态下以毛细管行眼眶采血,采用全自动生化分析仪检测血清肌酸激酶(creatine kinase, CK)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)水平。

1.5 心肌组织病理学检查 眼眶取血后处死所有大鼠,取左心室中间段心肌以 10%多聚甲醛固定,常规切片后 HE 染色观察病理改变。

1.6 统计学分析 采用 SPSS 19.0 统计分析软件。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,4 组大鼠左心室各节段 SC 峰值、GSC 峰值、SrC 峰值、LVEF、Tei 指数及 CK、LDH 比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

造模 6 h 后,对照组大鼠无明显异常,其余 3 组大鼠均见食欲下降、行动迟缓。LPS 组大鼠呼吸增快,

精神萎靡,嗜睡,竖毛,排稀水样便等;LPS+Nar₅₀组、LPS+Nar₁₀₀组大鼠一般状况较 LPS 组轻,LPS+Nar₅₀组大鼠精神稍萎靡,竖毛,排少量稀水样便,LPS+Nar₁₀₀组大鼠精神尚好,排少量稀水样便。LPS 组 2 只、LPS+Nar₅₀组及 LPS+Nar₁₀₀组各 1 只因声像图质量差被剔除。

2.1 左心室各节段 SC 峰值 4 组大鼠左心室各节段 SC 峰值比较总体差异均有统计学意义(P 均 < 0.001)。LPS 组左心室各节段 SC 峰值均低于对照组和 LPS+Nar₁₀₀组;LPS+Nar₅₀组前间隔、前壁、下壁及后间隔 SC 峰值均高于 LPS 组,均低于 LPS+Nar₁₀₀组;LPS+Nar₅₀组侧壁 SC 峰值低于 LPS+Nar₁₀₀组;组间差异均有统计学意义(P 均 < 0.05)。见表 1。

2.2 左心室整体 SC 峰值及 SrC 峰值 4 组左心室 GSCendo、GSCmid、SrC S、SrC E 及 SrC A 比较总体差异均有统计学意义(P 均 < 0.01)。LPS 组 GSCendo、GSCmid、SrC S、SrC E 及 SrC A 均低于其余 3 组(P 均 < 0.05);LPS+Nar₅₀组 GSCmid、SrC S、SrC E 及 SrC A 均低于 LPS+Nar₁₀₀组(P 均 < 0.05)。见表 2、图 1。

2.3 LVEF、Tei 指数及 CK、LDH 4 组 LVEF、Tei 指数、CK 及 LDH 比较总体差异均有统计学意义(P 均 < 0.001)。LPS 组 Tei 指数、CK 及 LDH 均高于其余 3 组,LVEF 均低于其余 3 组(P 均 < 0.05);LPS+Nar₅₀组 Tei 指数、CK 及 LDH 均高于 LPS+Nar₁₀₀组,LVEF 低于 LPS+Nar₁₀₀组(P 均 < 0.05)。见表 3。

表 1 4 组大鼠左心室各节段 SC 峰值比较($\%$, $\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	SC 峰值					
	前间隔	前壁	侧壁	后壁	下壁	后间隔
LPS 组	-6.76±4.01 [*]	-6.94±2.56 [*]	-5.87±2.10 [*]	-8.07±2.59 [*]	-4.08±3.17 [*]	-5.44±2.22 [*]
LPS+Nar ₅₀ 组	-10.96±1.85 [#]	-10.61±2.00 [#]	-8.09±2.62	-11.81±2.10	-8.67±3.52 [#]	-8.84±2.62 [#]
LPS+Nar ₁₀₀ 组	-17.01±3.58 ^{#△}	-15.49±2.74 ^{#△}	-11.23±2.69 ^{#△}	-13.21±2.47 [#]	-13.13±2.78 ^{#△}	-14.26±2.73 ^{#△}
对照组	-23.99±2.60	-17.01±3.58	-18.00±3.55	-16.55±3.87	-20.61±4.32	-21.77±3.99
F 值	46.015	15.252	28.678	12.231	13.162	46.092
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: * :与对照组比较, $P < 0.05$; # :与 LPS 组比较, $P < 0.05$; △ :与 LPS+Nar₅₀组比较, $P < 0.05$

表 2 4 组大鼠左心室各层 SC 及 SrC 比较($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	GSCendo($\%$)	GSCmid($\%$)	GSCepi($\%$)	SrC S(s^{-1})	SrC E(s^{-1})	SrC A(s^{-1})
LPS 组	-13.96±3.43 [*]	-7.16±3.28 [*]	-5.15±2.37	-5.59±1.01 [*]	5.07±1.28 [*]	3.07±1.66 [*]
LPS+Nar ₅₀ 组	-21.71±3.58 [#]	-9.84±2.26 [#]	-6.31±1.87	-8.00±1.68 [#]	7.82±0.72 [#]	6.05±2.07 [#]
LPS+Nar ₁₀₀ 组	-23.08±2.33 [#]	-12.83±1.66 ^{#△}	-5.95±1.87	-10.27±1.31 ^{#△}	9.16±0.92 ^{#△}	8.04±1.11 ^{#△}
对照组	-24.04±3.06	-14.03±2.64	-6.78±2.07	-10.85±2.29	11.74±1.95	8.77±1.43
F 值	5.067	11.912	0.894	16.997	36.176	20.148
P 值	0.006	<0.001	0.457	<0.001	<0.001	<0.001

注: * :与对照组比较, $P < 0.05$; # :与 LPS 组比较, $P < 0.05$; △ :与 LPS+Nar₅₀组比较, $P < 0.05$

表 3 大鼠 LVEF、Tei 指数及 CK、LDH 比较($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	LVEF(%)	Tei 指数	CK(U/L)	LDH(U/L)
LPS 组	55.00 $\pm$ 3.16 [*]	0.71 $\pm$ 0.02 [*]	3 346.50 $\pm$ 297.32 [*]	2 856.25 $\pm$ 380.00 [*]
LPS+Nar ₅₀ 组	65.63 $\pm$ 2.50 [#]	0.64 $\pm$ 0.03 [#]	2 015.00 $\pm$ 224.04 [#]	2 095.50 $\pm$ 339.65 [#]
LPS+Nar ₁₀₀ 组	75.38 $\pm$ 2.50 ^{#△}	0.59 $\pm$ 0.02 ^{#△}	1 209.50 $\pm$ 239.90 ^{#△}	1 343.13 $\pm$ 257.18 ^{#△}
对照组	81.75 $\pm$ 5.34	0.50 $\pm$ 0.03	394.25 $\pm$ 173.21	699.00 $\pm$ 152.10
F 值	85.656	97.658	223.989	79.863
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: * :与对照组比较, $P<0.05$; # :与 LPS 组比较, $P<0.05$; △ :与 LPS+Nar₅₀组比较, $P<0.05$

2.4 心肌组织病理检查 对照组心肌纤维肌丝束排列整齐,细胞结构正常,横纹清晰;LPS 组心肌部分细胞核固缩,心肌纤维部分断裂,充血明显,炎性细胞增多;LPS+Nar₅₀组、LPS+Nar₁₀₀组上述病理改变较 LPS 组明显减轻,与 LPS+Nar₅₀组相比, LPS+Nar₁₀₀组心肌纤维肌丝束排列尚整齐,充血不明显,炎性细胞明显减少。见图 2。

3 讨论

脓毒症早期即可发生心肌损伤, LPS 可诱发脓毒症心肌损伤,主要机制为 LPS 刺激免疫细胞,激活免疫应答,导致多种促炎因子如肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素 6(interleukin-6, IL-6)、白细胞介素 1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)等生成增加^[5],并降低心肌收缩力,造成心肌损伤。本研究给予大鼠腹腔注射 LPS 后,大鼠呼吸增快、精神萎靡、嗜睡、竖毛、排稀水样便, LVEF 减低, Tei 指数升高,心肌酶 CK、LDH 表达上调,心肌组织部分细胞核固缩,心肌纤维部分断裂,充血明显,炎性细胞增多,表明大鼠心肌细胞损伤,提示造模成功。

LPS 组左心室各节段 SC 峰值及各时相 SrC 峰值

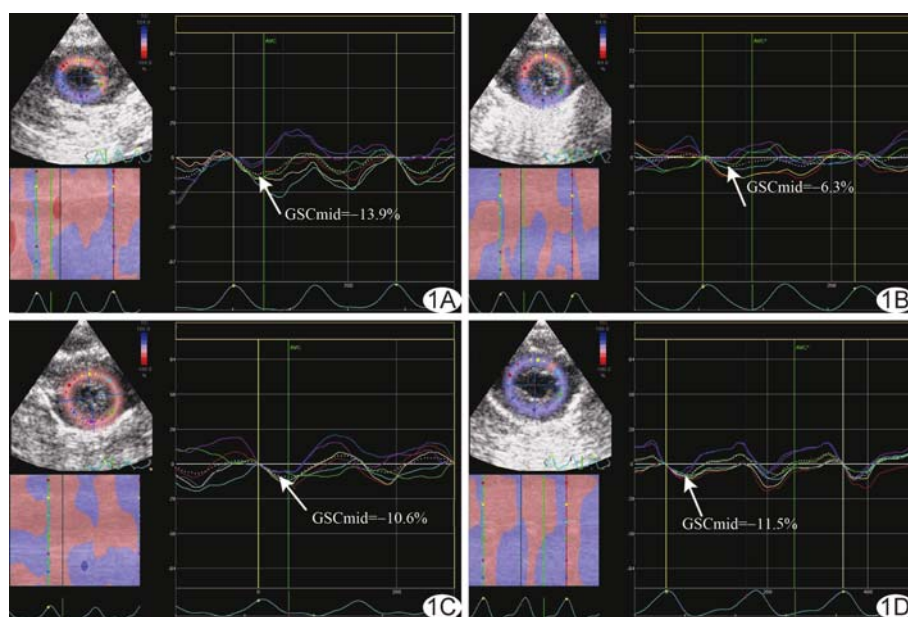


图 1 大鼠左心室乳头肌水平整体 SC 曲线 A. 对照组; B. LPS 组; C. LPS+Nar₅₀组; D. LPS+Nar₁₀₀组

均较对照组减低,曲线低平,而 Nar 预处理组 SC 及 SrC 峰值均升高,表明 LPS 损伤大鼠心肌收缩期、舒张早期及晚期圆周运动, Nar 能够缓解上述心肌损伤。圆周运动反映心脏短轴方向的环形运动,于收缩期缩短、舒张期延长,是左心室心肌重要的运动形式之一。Narayan 等^[6]报道, SC 联合心室-动脉耦联可用于预测化疗药物导致的心肌功能不全。左心室心肌分为心内膜、中间层及心外膜 3 层, STI 技术能够评价整体心肌的运动,亦能评价分层心肌应变,且无角度依赖性。相

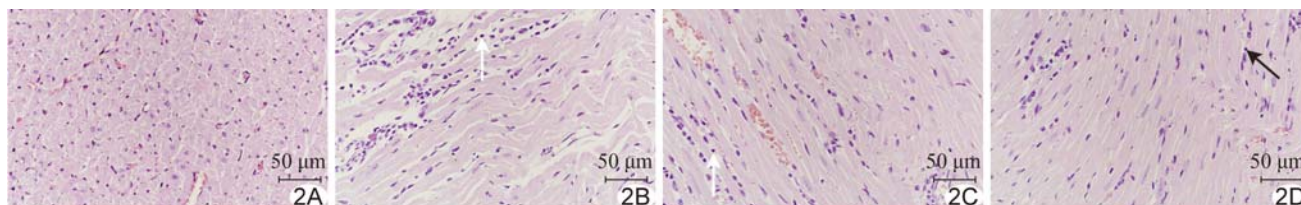


图 2 大鼠心肌组织病理图(HE, $\times 400$, 箭示炎性细胞浸润) A. 对照组; B. LPS 组; C. LPS+Nar₅₀组; D. LPS+Nar₁₀₀组

对于整体应变,分层应变更符合左心室心肌的 3 层肌带解剖结构,结果更客观。本研究 4 组大鼠 GSC 由内到外均逐渐减低,由于 3 层心肌存在跨壁速度梯度,心内膜下心肌为向心运动,且处于冠状动脉供血的最远端,缺乏侧支循环,受收缩期心肌压迫明显,因此缺血最显著,而心外膜下心肌在心肌收缩时相对静止^[7-8];给予 LPS 后大鼠左心室 GSCendo 及 GSCmid 均较对照组减低,提示大鼠心肌明显受损,其中心内膜下心肌及中间层心肌受损为著。

Nar 属于天然黄酮类化合物,具有多种生物学活性和药理特性。摄入富含黄酮类化合物的食物可减少心血管疾病发生率及死亡率^[9]。Nar 可抑制阿霉素致大鼠心肌损伤,增强线粒体复合物(I~IV)活性、改善氧化应激可能是其作用机制^[10]。You 等^[11]发现 Nar 促进 B 淋巴细胞瘤-2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)表达,抑制炎症通路核转录因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B) 磷酸化及细胞凋亡因子半胱天冬酶 3(caspase-3)、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bcl2-associated X protein, Bax)表达,进而对高糖引起的心肌损伤发挥保护作用。本研究中,与 LPS 组比较,LPS+Nar₅₀组、LPS+Nar₁₀₀组大鼠一般状况好转,CK、LDH 水平降低,LVEF 升高,Tei 指数降低,左心室各节段 SC 峰值及 GSCendo、GSCmid 均升高,心肌组织病理改变减轻,提示 Nar 预处理可抑制 LPS 诱导的心肌损伤。

本研究的局限性:所用 12S 婴幼儿探头非小动物专用探头,但大鼠胸壁薄,分辨率尚好;大鼠心脏相对于婴幼儿小,且心率更快,在左心室短轴各切面分界不甚明显,故选用乳头肌水平切面 SC 作为左心室短轴 GSC,大鼠四腔心切面心尖部分显示较差而未纳入长轴纵向应变;关于 Nar 通过何种分子机制发挥心肌保护作用尚需进一步研究。

总之,STI 技术可用于评价 LPS 诱导脓毒症大鼠早期心肌损伤及 Nar 预处理减轻心肌损伤的效果。

[参考文献]

- [1] Wang HE, Jones AR, Donnelly JP. Revised national estimates of emergency department visits for sepsis in the United States. *Crit Care Med*, 2017,45(9):1443-1449.
- [2] Cui J, Wang G, Kandhare AD, et al. Neuroprotective effect of naringin, a flavone glycoside in quinolinic acid-induced neurotoxicity: Possible role of PPAR- γ , Bax/Bcl-2, and caspase-3. *Food Chem Toxicol*, 2018,121:95-108.
- [3] Mao Z, Gan C, Zhu J, et al. Anti-atherosclerotic activities of flavonoids from the flowers of *Helichrysum arenarium* L. MOENCH through the pathway of anti-inflammation. *Bioorg Med Chem Lett*, 2017,27(12):2812-2817.
- [4] Kramann R, Erpenbeck J, Schneider RK, et al. Speckle tracking echocardiography detects uremic cardiomyopathy early and predicts cardiovascular mortality in ESRD. *J Am Soc Nephrol*, 2014,25(10):2351-2365.
- [5] Xianchu L, Lan PZ, Qiufang L, et al. Naringin protects against lipopolysaccharide-induced cardiac injury in mice. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2016,48:1-6.
- [6] Narayan HK, French B, Khan AM, et al. Noninvasive measures of ventricular-arterial coupling and circumferential strain predict cancer therapeutics-related cardiac dysfunction. *JACC Cardiovasc Imaging*, 2016,9(10):1131-1141.
- [7] 陈雪,刘燕娜,郭良云,等.二维斑点追踪成像评估阻塞性睡眠呼吸暂停综合征左心室整体及分层心肌应变. *中国医学影像学杂志*, 2017,25(12):902-906.
- [8] 钱胜利,杨莉,刘畅,等.超声二维斑点追踪分层应变评价潜水员水肺潜水后左心室收缩功能改变. *中国医学影像技术*, 2018,34(10):1484-1489.
- [9] Peterson JJ, Dwyer JT, Jacques PF, et al. Associations between flavonoids and cardiovascular disease incidence or mortality in European and US populations. *Nutr Rev*, 2012,70(9):491-508.
- [10] Kwatra M, Kumar V, Jangra A, et al. Ameliorative effect of naringin against doxorubicin-induced acute cardiac toxicity in rats. *Pharm Biol*, 2016,54(4):637-647.
- [11] You Q, Wu Z, Wu B, et al. Naringin protects cardiomyocytes against hyperglycemia induced injuries in vitro and in vivo. *J Endocrinol*, 2016,230(2):197-214.