

[文章编号] 1674-8115(2011)11-1568-06

· 论著 ·

去势雄性大鼠肾上腺皮质束状带和网状带的变化及低雄激素对 COX-2 信号通路的影响

施超, 李艳香, 翟华玲, 姜博仁, 李影, 夏芳珍, 徐慧, 乔洁, 林东平, 陆颖理

(上海交通大学医学院附属第九人民医院内分泌科, 上海 200011)

[摘要] 目的 观察去势雄性大鼠肾上腺皮质束状带和网状带的形态结构和功能的变化, 探讨低雄激素对环氧化酶 2(COX-2)信号通路的影响。方法 30 只 10 周龄雄性 SD 大鼠随机分为对照组($n=8$)、去势组($n=11$)和替代组($n=11$), 对照组大鼠接受假去势手术, 去势组大鼠接受去势手术, 替代组大鼠在接受去势手术后给予肌肉注射睾酮(十一酸睾酮每月 50 mg/kg)进行替代治疗。10 周后采集各组大鼠血清, 放射免疫分析法测定血清睾酮(T)、皮质酮(F)、促肾上腺皮质激素(ACTH)、黄体生成素(LH)和促卵泡激素(FSH)水平; 取大鼠肾上腺皮质组织, HE 染色后光学显微镜观察肾上腺皮质束状带和网状带形态学变化, 透射电子显微镜观察超微结构改变; 采用 RT-PCR 技术分别检测大鼠肾上腺皮质和胸腹主动脉组织中 COX-2 mRNA 表达。结果 与对照组和替代组比较, 去势组大鼠血清 T 水平显著降低($P < 0.01$), 血清 F、ACTH、LH 和 FSH 水平显著升高($P < 0.05$)。去势组大鼠肾上腺皮质束状带和网状带细胞变大, 细胞核增大且常染色质增多, 线粒体和滑面内质网也较发达, 脂滴明显减少; 替代组大鼠肾上腺皮质束状带和网状带的细胞形态和超微结构与对照组相似。去势组大鼠肾上腺皮质组织中 COX-2 mRNA 表达显著低于对照组和替代组($P < 0.05$), 而主动脉血管组织中 COX-2 mRNA 表达明显高于对照组和替代组($P < 0.05$)。结论 去势雄性大鼠肾上腺皮质束状带和网状带增生且功能增强, 肾上腺皮质组织中 COX-2 mRNA 表达下调; 主动脉血管组织中 COX-2 mRNA 表达上调, 可能与低雄激素导致的血管病变有关。

[关键词] 低雄激素; 肾上腺皮质; 环氧化酶 2; 血管

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2011.11.014

[中图分类号] R586

[文献标志码] A

Changes in zona fasciculata and reticularis of adrenal cortex in castrated male rats and effect of low androgen on signal pathway of COX-2

SHI Chao, LI Yan-xiang, ZHAI Hua-ling, JIANG Bo-ren, LI Ying, XIA Fang-zhen, XU Hui, QIAO Jie, LIN Dong-ping, LU Ying-li

(Department of Endocrinology and Metabolism, the Ninth People's Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200011, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the changes in structure and function of zona fasciculata and reticularis of adrenal cortex in castrated male rats, and explore the effect of low androgen on the signal pathway of cyclooxygenase-2 (COX-2). **Methods** Thirty male SD rats aged 10 weeks were randomly divided into control group ($n=8$), castration group ($n=11$) and replacement group ($n=11$). Rats in control group received sham castration, those in castration group underwent castration, and those in replacement group were managed with testosterone undecanoate (50 mg/kg per month) after castration. Ten weeks later, serum samples were collected for determination of serum concentrations of testosterone (T), corticosterone (F), adrenocorticotropic hormone (ACTH), luteinizing hormone (LH) and follicle-stimulating hormone (FSH) by radioimmunoassay, adrenal cortex tissues were obtained for observation of morphological changes in zona fasciculata and reticularis of adrenal cortex with HE staining by light microscopy and ultrastructural changes by transmission electron microscopy, and the expression of COX-2 mRNA in tissues of adrenal cortex and thoracoabdominal aorta was detected by RT-PCR. **Results** Serum T concentration in castration group was significantly lower than those in control group and replacement group ($P < 0.01$), and serum concentrations of F, ACTH, LH and FSH in castration group were significantly higher than those in control group and replacement group ($P < 0.05$). Cells in zona fasciculata and reticularis of adrenal cortex in castration group were larger, with bigger nuclei, more mitochondrion, better-developed smooth

[基金项目] 上海市科委基金(09140903700) (Shanghai Science and Technology Committee Foundation, 09140903700)。

[作者简介] 施超(1979—), 男, 住院医师, 硕士生; 电子信箱: shichaophy@163.com。

[通信作者] 陆颖理, 电子信箱: luy662011@yahoo.com.cn。

endoplasmic reticula and less lipid droplets. However, the morphology and ultrastructure of cells in zona fasciculata and reticularis of adrenal cortex in replacement group were similar to those in control group. The expression of COX-2 mRNA in adrenal cortex tissues in castration group was significantly lower than that in control group and replacement group ($P < 0.05$), while the expression of COX-2 mRNA in aorta tissues in castration group was significantly higher than that in control group and replacement group ($P < 0.05$). **Conclusion** There are hyperplasia and hyperfunction of zona fasciculata and reticularis of adrenal cortex and lower expression of COX-2 mRNA in adrenal cortex tissues in castrated male rats, and the increased expression of COX-2 mRNA in aorta tissues may be related to the vascular disease induced by low androgen.

[Key words] low androgen; adrenal cortex; cyclooxygenase-2; blood vessel

随着社会的发展和人口寿命的提高,老龄化已成为全球普遍关注的问题,而男性衰老及其更年期现象也日趋受到重视。男性更年期与体内睾酮(testosterone, T)水平下降有关,而睾丸自身退化所导致的T分泌减少具有关键性的作用。30岁以上男性的T水平每年约下降1%^[1,2];40岁男性人群中雄激素缺乏的发生率为2%~5%,70岁时则升至30%~70%^[3]。

肾上腺皮质作为人体性激素合成的另一重要器官,主要由束状带和网状带构成,与睾丸在功能上相互联系和影响,以往研究主要局限在两者功能方面,而对于切除睾丸对肾上腺皮质形态结构影响的研究则鲜有报道。本研究通过对雄性SD大鼠实施去势手术建立低雄激素动物模型,观察模型大鼠肾上腺皮质束状带和网状带的形态结构和功能的变化,探讨低雄激素对环氧化酶2(cyclooxygenase-2, COX-2)信号通路的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 8周龄清洁级纯系雄性SD大鼠购自中国科学院上海实验动物中心,生产许可证号码为SCXK(沪)2008-0016,使用许可证号码为SYXK(沪)2007-0007。大鼠共30只,体质量为260~273g,平均体质量为(266.28 ± 5.94)g;在室温18℃~25℃、相对湿度50%~80%的条件下,分笼饲养于上海交通大学医学院附属第九人民医院SPF级动物房。

1.1.2 主要试剂 血清T、皮质酮(corticosterone, F)、促肾上腺皮质激素(adrenocorticotrophic hormone, ACTH)、黄体生成素(luteinizing hormone, LH)、促卵泡激素(follicle-stimulating hormone, FSH)放射免疫分析试剂盒(德国IBL公司);兔抗鼠COX-2多克隆抗体(Cayman公司)。TRIzol一步法RNA抽提试剂盒(加拿大BioBasic公司),反转录试剂盒和Taq酶[天根生化科技(北京)有限公司];采用Primer5.0自行设计PCR引物序列,引物由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。

1.2 实验分组及模型建立

稳定饲养2周后,将实验动物随机分为对照组($n=8$)、去势组($n=11$)和替代组($n=11$)。①对照组:接受假去势手术,即只剪开阴囊皮肤后缝合,本组大鼠全部存活。②去势组:实施去势手术建立低雄激素动物模型。大鼠经腹腔注射10%水合氯醛(4mL/kg)麻醉后,阴囊纵行切口,剪开睾丸鞘膜后挤出睾丸及附睾,结扎睾丸动脉并切除双侧睾丸。建模后本组大鼠存活7只。③替代组:建模方法同去势组,本组大鼠存活8只;建模后给予十一酸睾酮(testosterone undecanoate, TU)(浙江仙琚制药股份有限公司)肌肉注射(每月50mg/kg)进行替代治疗。各组大鼠在相同条件下继续饲养10周,每周测量大鼠体质量。

1.3 相关检测

1.3.1 样本采集 10周后,所有大鼠以10%水合氯醛(4mL/kg)腹腔注射麻醉,常规消毒,暴露胸腔,经心脏取血。暴露腹腔后迅速剥离肾上腺,部分组织以4%多聚甲醛固定;部分组织置于-80℃保存;剩余部分取约1mm×1mm×1mm的肾上腺皮质组织,置2.5%戊二醛磷酸缓冲液(pH值7.2)中固定。剥离胸腹主动脉,截取血管置于-80℃保存。

1.3.2 血清激素水平测定 收集血样并分离血清,采用放射免疫分析法^[4]测定各组大鼠血清T、F、ACTH、LH和FSH水平。

1.3.3 肾上腺皮质形态结构观察 ①光学显微镜观察:取经4%多聚甲醛固定的肾上腺组织,常规脱水后石蜡包埋,4~5μm切片,每个标本切片2张,常规脱蜡、水化,苏木精染色10min,伊红衬染12min,脱水、透明、封片,在光学显微镜下观察各组大鼠肾上腺皮质束状带和网状带形态学变化。②透射电子显微镜观察:取2.5%戊二醛固定的肾上腺皮质标本(每组随机抽取3个标本),1%四氧化锇固定,丙酮阶梯脱水、置换,EPON812包埋、切片,铀铅染色,在透射电子显微镜(Philips CM 120,荷兰)下观察各组大鼠肾上腺皮质束状带和网状带细胞的超微结构改变。

1.3.4 肾上腺皮质和主动脉血管组织中COX-2

mRNA 表达检测 取 -80 ℃ 保存的肾上腺皮质和胸腹主动脉组织标本, TRIzol 一步法提取组织总 RNA, 转录合成 cDNA, 严格参照相关试剂盒说明书进行操作。采用 Primer5.0 自行设计基因特异性引物, RT-PCR 扩增目的基因。COX-2 引物序列: 5'-ACACTCTATCACTGGCATCCG-3'(上游), 5'-CAACAAAGTGAGCAAGTCCGT-3'(下游), 产物长度 124 bp; 内参 GAPDH 引物序列: 5'-AGATCCACAACGGATACATT-3'(上游), 5'-TC CCTCAAGAACATGTCAGCAA-3'(下游), 产物长度 308 bp。PCR 反应条件: 95 ℃ 预变性 5 min; 95 ℃ 变性 30 s、55 ℃ 退火 30 s、72 ℃ 延伸 45 s, 28 个循环; 72 ℃ 延伸 10 min; 4 ℃ 保存。PCR 扩增产物经 EB 染色的 1.5% 琼脂糖凝胶电泳 (90 mV, 50 mA, 45 min), 天能凝胶成像分析系统扫描扩增带, 以 GAPDH 作为内参照进行 COX-2 mRNA 相对表达量的分析。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析。呈正态

分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 T 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 动物情况及血清激素水平比较

建模前和建模后 10 周, 各组大鼠体质量比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$) (表 1)。建模后 10 周, 去势组大鼠血清 T 浓度显著低于对照组和替代组 ($P < 0.01$), 而血清 ACTH、F、FSH 和 LH 水平均显著高于对照组和替代组 ($P < 0.05$) (表 2)。

表 1 各组大鼠体质量比较 ($\bar{x} \pm s$, g)

Tab 1 Comparison of body weight among rats in three groups ($\bar{x} \pm s$, g)

组别	建模前	建模后 10 周
对照组 ($n = 8$)	388.4 ± 14.0	513.2 ± 33.5
去势组 ($n = 7$)	390.3 ± 10.1	518.9 ± 30.8
替代组 ($n = 8$)	387.0 ± 16.5	507.8 ± 28.7

表 2 各组大鼠血清激素水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Comparison of serum hormones among rats in three groups ($\bar{x} \pm s$)

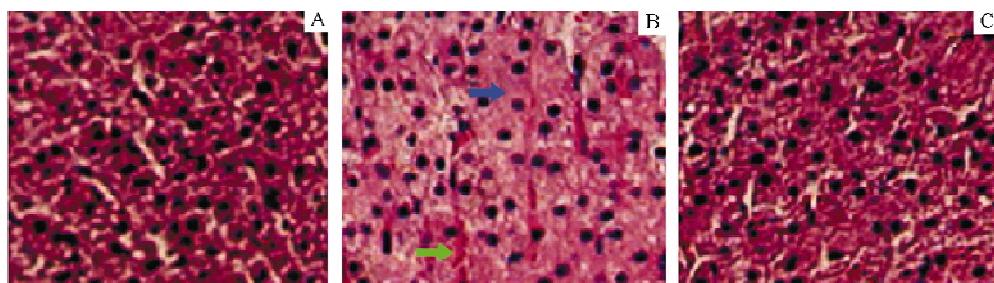
组别	T/(nmol/L)	ACTH/(ng/mL)	F/(ng/mL)	FSH/(mIU/mL)	LH/(mIU/mL)
对照组 ($n = 8$)	11.52 ± 3.84	1.57 ± 0.18	14.92 ± 2.04	0.77 ± 0.28	0.94 ± 0.56
去势组 ($n = 7$)	$2.83 \pm 1.43^{\oplus}$	$2.50 \pm 0.30^{\oplus}$	$20.52 \pm 3.37^{\oplus}$	$1.27 \pm 0.44^{\oplus}$	$1.59 \pm 0.53^{\oplus}$
替代组 ($n = 8$)	9.86 ± 4.05	1.90 ± 0.13	17.41 ± 1.90	0.93 ± 0.36	1.04 ± 0.35

^① $P < 0.05$, ^② $P < 0.01$ 与对照组和替代组比较。

2.2 各组大鼠肾上腺皮质形态结构变化

2.2.1 光学显微镜观察 对照组大鼠束状带细胞体积较小, 呈多边形, 核染色深, 细胞排列呈条索状, 在条索状细胞之间可见伴行的毛细血管(图 1A); 去势组大鼠束状带细胞体积较大, 核染色较浅, 核仁明显可见, 伴行毛细血管较丰富(图 1B); 替代组大鼠

束状带细胞形态与对照组相似(图 1C)。对照组网状带细胞体积较小, 呈圆形或立方形, 核染色深, 细胞索吻合成网状, 网眼中为窦状毛细血管(图 2A); 去势组网状带细胞体积较大, 呈圆形, 核染色较浅, 核仁明显可见, 窦状毛细血管丰富(图 2B); 替代组网状带细胞形态与对照组相似(图 2C)。



A. 对照组; B. 去势组束状带细胞体积较大, 核染色较浅, 核仁明显可见(蓝色箭头所示), 伴行毛细血管较丰富(绿色箭头所示); C. 替代组。

图 1 各组大鼠肾上腺皮质束状带组织学图像 HE $\times 400$

Fig 1 Histological structure of zona fasciculata of adrenal cortex in each group HE $\times 400$

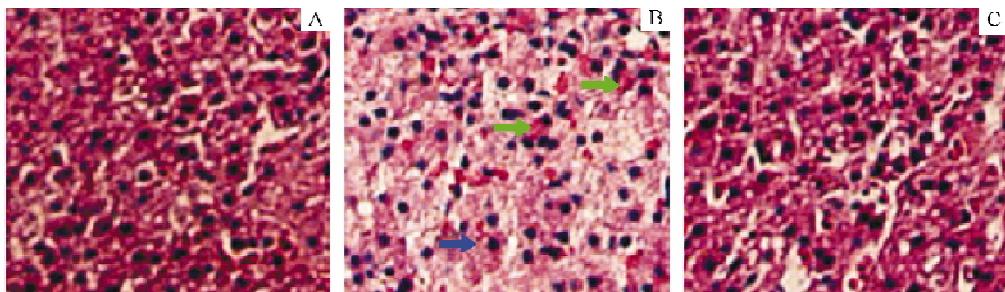
2.2.2 透射电子显微镜观察 各组大鼠束状带和网状带细胞胞质内均可见丰富的线粒体和滑面内质网。在对照组, 胞质内脂滴丰富, 细胞核内异染色质较多; 与对照组相比, 去势组胞质内线粒体数量增

多, 体积明显增大且管泡状嵴丰富, 滑面内质网增多, 脂滴明显减少, 细胞核内侧常染色体较多; 替代组束状带和网状带细胞的超微结构与对照组相似(图 3)。

2.3 各组大鼠肾上腺皮质和主动脉血管组织中COX-2 mRNA的表达

与对照组和替代组比较,去势组大鼠肾上腺皮

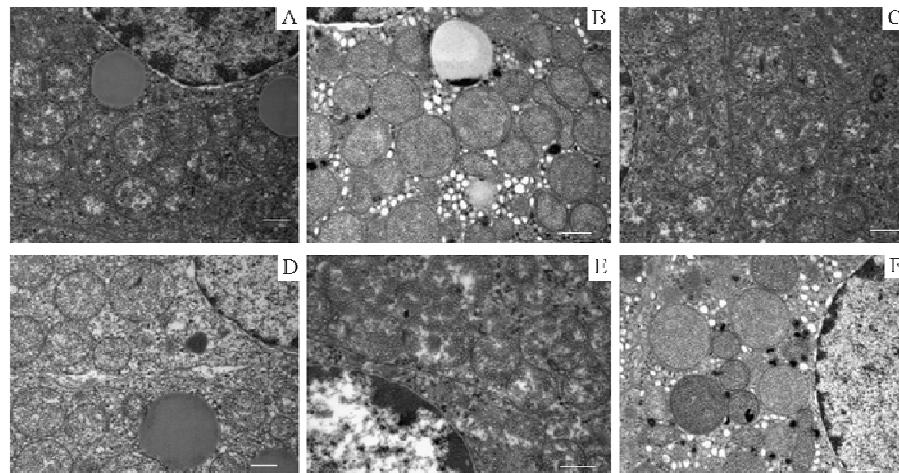
质组织中COX-2 mRNA的表达显著下调,主动脉血管组织中COX-2 mRNA表达明显上调,差异均有统计学意义($P < 0.05$)(图4、5)。



A. 对照组；B. 去势组网状带细胞体积较大,呈圆形,核染色较浅,核仁明显可见(蓝色箭头所示),窦状毛细血管丰富(绿色箭头所示); C. 替代组。

图2 各组大鼠肾上腺皮质网状带组织学图像 HE × 400

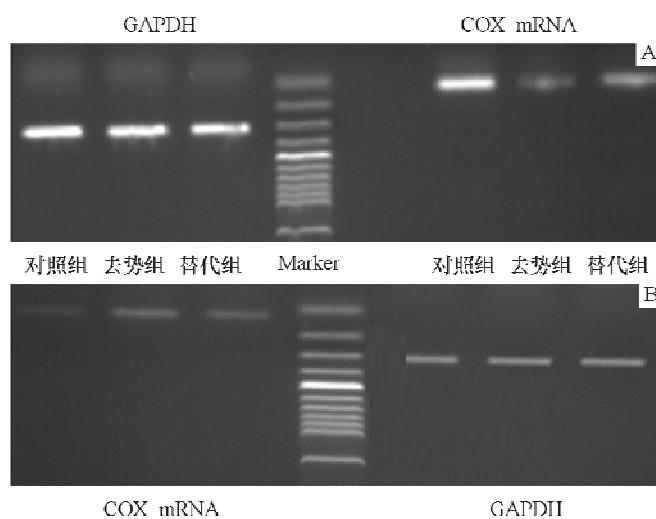
Fig 2 Histological structure of zona reticularis of adrenal cortex in each group HE × 400



A ~ C. 对照组、去势组和替代组大鼠肾上腺束状带细胞; D ~ F. 对照组、去势组和替代组大鼠肾上腺网状带细胞; 标尺 = 2 μm。

图3 各组大鼠肾上腺皮质束状带和网状带细胞超微结构 扫描电镜 × 17 500

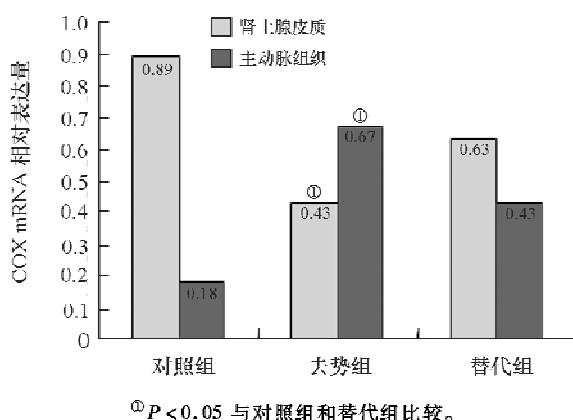
Fig 3 Ultrastructure of cells in zona fasciculata and reticularis of adrenal cortex in each group transmission electron microscopy × 17 500



A. 肾上腺皮质; B. 主动脉血管组织。

图4 各组大鼠肾上腺皮质和主动脉血管组织COX-2 mRNA表达的RT-PCR检测电泳图

Fig 4 Electropherogram of expression of COX-2 mRNA in tissues of adrenal cortex and aorta in each group detected by RT-PCR



① $P < 0.05$ 与对照组和替代组比较。

图 5 各组大鼠肾上腺皮质和主动脉组织 COX-2 mRNA 的相对表达量

Fig 5 Relative expression of COX-2 mRNA in tissues of adrenal cortex and aorta in each group

3 讨 论

肾上腺皮质与睾丸的关系密切,两者胚胎发生部位十分接近,内分泌细胞均来源于体腔上皮,且都能合成和分泌甾体类激素。肾上腺皮质分为球状带、束状带和网状带 3 层,分别产生盐皮质激素、糖皮质激素和性激素,后者包括雄激素和雌激素前体,主要是脱氢表雄酮;睾丸主要分泌雄激素、孕激素和少量雌激素^[4]。

本研究结果显示:在低雄激素动物模型即去势雄性成熟大鼠,肾上腺皮质束状带和网状带细胞较对照组明显肥大,且类固醇激素合成相关细胞器线粒体和滑面内质网不仅数量增加而且均较对照组更加发达。提示去势可导致雄性大鼠肾上腺皮质束状带和网状带细胞发生代偿性肥大并使其分泌功能增强。以往研究证实,中年男性随着年龄的增长其睾丸分泌功能下降,血浆雄激素水平降低,从而反馈性引起腺垂体大量分泌 ACTH、FSH 和 LH^[5]。在 ACTH 和 LH 的共同作用下,肾上腺皮质网状带细胞增生,分泌功能增强,从而产生大量脱氢表雄酮。一般认为,中老年男性体内部分 T 由雄烯二酮转化而来。雄烯二酮是脱氢表雄酮的衍生物^[4],而脱氢表雄酮则是肾上腺皮质网状带的主要分泌物质。本实验结果支持上述观点。成年啮齿类动物肾上腺皮质束状带雄激素受体的发现^[6],提示雄激素对肾上腺皮质激素的合成有直接作用;而 Isaacson 等^[7]发现 T 和双氢睾酮能抑制体外培养的牛肾上腺皮质醇细胞皮质醇的合成,证实了这一假说。

近年来,雄激素与心血管疾病间的关系日益受到重视。雄激素不足与心血管疾病的发生密切相关^[8,9]。我们的前期研究发现去势雄性大鼠体内存

在 COX-2 信号通路的激活^[10]。然而,雄激素缺乏与血管炎症间的相关研究少见文献报道。本研究对低雄激素大鼠肾上腺皮质和胸腹主动脉 COX-2 mRNA 表达的检测结果显示:去势组大鼠主动脉血管组织 COX-2 mRNA 的表达显著上调,而肾上腺皮质组织 COX-2 mRNA 表达则明显下调。

COX 是花生四烯酸合成前列腺素和血栓素过程中的一种重要限速酶,现已发现存在两种形式的 COX,即组成型的 COX-1 和诱导型的 COX-2^[11]。COX-2 作为重要的炎性介质,在正常生理情况下低水平表达于单核细胞、血管内皮细胞、血管平滑肌细胞、滑膜成纤维细胞和巨噬细胞等一些与炎症密切相关的细胞中,当炎症物质、生长因子、细胞因子和血管舒缩活性物质等因素刺激后便迅速表达合成^[12-14]。本实验中去势组大鼠主动脉血管组织中 COX-2 mRNA 的表达显著上调,提示炎症损伤是低雄激素致血管病变的可能机制之一。而肾上腺皮质束状带分泌的糖皮质激素(大鼠以分泌 F 为主)的重要作用之一是抗炎,其主要机制是通过与糖皮质激素受体结合形成的活化糖皮质激素受体,抑制转录因子核因子 κB (nuclear factor kappa B, NF-κB) 和活化蛋白 1 (active protein 1, AP-1) 的激活,从而抑制 COX-2 的表达^[15,16]。去势雄性大鼠 F 代偿性分泌增多,在肾上腺皮质中抵消了雄激素缺乏对炎症因子的影响,故表现为较正常雄性大鼠更低的炎症反应。

本研究通过对雄性 SD 大鼠实施去势手术建立低雄激素动物模型的观察,证实了去势雄性大鼠存在肾上腺皮质束状带和网状带增生和功能增强,同时发现肾上腺皮质 COX-2 mRNA 表达下调,而主动脉血管 COX-2 mRNA 表达上调,推测后者可能是低雄激素引起血管病变的作用机制之一。

[参考文献]

- [1] Matsumoto AM. Andropause: clinical implications of the decline in serum testosterone levels with aging in men [J]. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2002, 57(2): M76-M99.
- [2] Li JY, Li XY, Li M, et al. Decline of serum levels of free testosterone in aging healthy Chinese men [J]. Aging Male, 2005, 8(3-4): 203-206.
- [3] Morley JE, Perry HM 3rd. Andropause: an old concept in new clothing [J]. Clin Geriatr Med, 2003, 19(3): 507-528.
- [4] Moran C, Reyna R, Boots LS, et al. Adrenocortical hyperresponsiveness to corticotropin in polycystic ovary syndrome patients with adrenal androgen excess [J]. Fertil Steril, 2004, 81(1): 126-131.
- [5] Harman SM, Metter EJ. Longitudinal effects of aging on serum total and free testosterone levels in healthy men [J]. J Clin Endocrinol

- Metab, 2001, 86: 724–731.
- [6] Hirst JJ, West NB, Renner RM, et al. Steroid hormone receptors in the adrenal glands of fetal and adult rhesus monkeys [J]. J Clin Endocrinol Metab, 1992, 75(1): 308–314.
- [7] Isaacson WK, Jones SJ, Krueger RJ. Testosterone, dihydrotestosterone, trenbolone acetate, and zeronol alter the synthesis of cortisol in bovine adrenocortical cells [J]. J Anim Sci, 1993, 71(7): 1771–1777.
- [8] English KM, Mandour O, Steeds RP, et al. Men with coronary artery disease have lower levels of androgens than men with normal coronary angiograms [J]. Eur Heart J, 2000, 21(11): 890–894.
- [9] Er F, Michels G, Gassanov N, et al. Testosterone induces cytoprotection by activating ATP-sensitive K⁺ channels in the cardiac mitochondrial inner membrane [J]. Circulation, 2004, 110(19): 3100–3107.
- [10] Lu YL, Jiang BR, Xia FZ, et al. Changes of pituitary and penile structure in male adult rats following castration and high-fat diet [J]. J Endocrinol Invest, 2011, 34(2): 111–116.
- [11] 赵士彭,蔡建辉,赵发.环氧化酶-2与结直肠癌微血管及淋巴管生成[J].上海医学,2007,30(10):792–795.
- [12] Inoue H, Taba Y, Miwa Y, et al. Induction of cyclooxygenase-2 expression by fluid shear stress in vascular endothelial cells [J]. Adv Exp Med Biol, 2003, 525: 141–144.
- [13] Ohnaka K, Numaguchi K, Yamakawa T, et al. Induction of cyclooxygenase-2 by angiotensin II in cultured rat vascular smooth muscle cells [J]. Hypertension, 2000, 35 (1 Pt 1): 68–75.
- [14] Inoue H, Tanabe T, Umesono K. Feedback control of cyclooxygenase-2 expression through PPARgamma [J]. J Biol Chem, 2000, 275 (36): 28028–28032.
- [15] Lee KM, Kang BS, Lee HI, et al. Spinal NF-KB activation induces COX-2 upregulation and contributes to inflammatory pain hypersensitivity [J]. Eur J Neurosci, 2004, 19(12): 3375–3381.
- [16] Xu J, Kim GM, Ahmed SH, et al. Glucocorticoid receptor-mediated suppression of activator protein 1 activation and matrix metalloproteinase expression after spinal cord injury [J]. J Neurosci, 2001, 21 (1): 92–97.

[收稿日期] 2011-04-10

[本文编辑] 王淑平

(上接第 1563 页)

- [15] Bentler IF, Yousif MH, Anim JT, et al. Angiotensin-(1–7) prevents development of severe hypertension and end-organ damage in spontaneously hypertensive rats treated with L-NAME [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2006, 290(2): H684–H691.
- [16] Adams MR, Robinson J, McCredie R, et al. Smooth muscle dysfunction occurs independently of impaired endothelium-dependent dilation in adults at risk of atherosclerosis [J]. J Am Coll Cardiol, 1998, 32(1): 123–127.
- [17] Kasai N, Sugimoto K, Horiba N, et al. Effect of D-glucose on nitric oxide release from glomerular endothelial cells [J]. Diabetes Metab Res Rev, 2001, 17: 217–222.
- [18] 于琳,于德民,齐建成,等.高糖通过PI3K-Akt信号途径抑制内皮细胞迁移和增殖及血管发生改变[J].中华医学杂志,2006,86(48):3425–3455.
- [19] Damme T, Spiro MJ, Spiro RG. Effect of high glucose on type IV collagen production by cultured glomerular epithelial, endothelial, and mesangial cells [J]. Diabetes, 1993, 42(1): 170–177.
- [20] Birinyi-Strachan LC, Davies MJ, Lewis RJ, et al. Neuroprotectant effects of iso-osmolar D-mannitol to prevent Pacific ciguatoxin-1 induced alterations in neuronal excitability: a comparison with other osmotic agents and free radical scavengers [J]. Neuropharmacology, 2005, 49(5): 669–686.
- [21] Passauer J, Pistorius F, Büssemaker E. Nitric oxide in chronic renal failure [J]. Kidney Int, 2005, 67(5): 1665–1667.
- [22] Gunnell CA, Lund DD, McDowell AK, et al. Mechanisms of inducible nitric oxide synthase-mediated vascular dysfunction [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2005, 25(8): 1617–1622.
- [23] King GL. The role of hyperglycaemia and hyperinsulinaemia in causing vascular dysfunction in diabetes [J]. Ann Med, 1996, 28(5): 427–432.
- [24] Gallo A, Ceolotto G, Pinton P, et al. Metformin prevents glucose-induced protein kinase C-beta2 activation in human umbilical vein endothelial cells through an antioxidant mechanism [J]. Diabetes, 2005, 54(4): 1123–1131.
- [25] Lipton SA, Singal DJ, Stamler JS. Neuroprotective and neurodestructive effects of nitric oxide and redox congeners [J]. Ann N Y Acad Sci, 1994, 738: 382–387.
- [26] 钱令嘉, Goedecke A, Schrader J. 渗透压对血管内皮细胞中NO合成酶活性的影响及其机制研究[J].中国应用生理学杂志,2001,16(2):63–66.

[收稿日期] 2011-05-11

[本文编辑] 王淑平