

· 基础研究 ·

2 型糖尿病大鼠心肌血红素氧合酶-1 表达水平与氧化应激水平的关系

安 敏, 鲍百丽, 赵 猛, 韩 蕾

(辽宁省锦州市中心医院心内科 121000)

摘要:目的 探讨 2 型糖尿病大鼠心肌血红素氧合酶-1(HO-1)不同表达水平与心肌氧化应激水平的关系。方法 健康 SD 大鼠 64 只随机分为 8 组:空白 6 周(NC1)组、糖尿病 6 周(DM1)组、糖尿病加血红素 6 周(HE1)组、糖尿病加原卟啉锌(ZnPP) 6 周(ZN1)组;空白 9 周(NC2)组、糖尿病 9 周(DM2)组、糖尿病加血红素 9 周(HE2)组、糖尿病加原卟啉锌 9 周(ZN2)组,每组 8 只;分别在第 6、9 周处死大鼠,免疫组织化学法检测心肌 HO-1 表达水平,比色法检测心肌氧化应激水平,电子显微镜显示心脏超微结构改变。结果 (1) HE1、HE2 组心肌 HO-1 的表达水平分别高于 DM1、DM2 组($P < 0.05$ 、 $P < 0.05$),显著高于 NC1、NC2 组($P < 0.01$ 、 $P < 0.01$)和 ZN1、ZN2 组($P < 0.01$ 、 $P < 0.01$)。(2) ZN1、ZN2 组心肌 HO-1 的表达水平低于 NC1、NC2 组($P < 0.05$ 、 $P < 0.05$);(3) HE1、HE2 组心肌纤维化程度和心肌线粒体超微结构损害明显低于 DM1、DM2 组和 ZN1、ZN2 组;(4) HE1、HE2 组血清 SOD 和 GSH-PX 水平高于 DM1、DM2 组和 ZN1、ZN2 组($P < 0.05$ 、 $P < 0.05$; $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$)和($P < 0.05$ 、 $P < 0.05$; $P < 0.01$ 、 $P < 0.01$),MDA 水平低于 DM1、DM2 组和 ZN1、ZN2 组($P < 0.01$)而与 NC1、NC2 组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 (1)血红素可以提高心肌 HO-1 表达水平;(2)提高 HO-1 表达水平可增强 2 型糖尿病大鼠心肌抗氧化应激能力,减轻心肌损害。

关键词:血红素加氧酶-1;氧化应激;糖尿病,2 型;心肌疾病

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.30.022

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2012)30-3180-03

The relationship of the level of HO-1 expression and the level of myocardial oxidative stress of type 2 diabetic rats

An Min, Bao Baili, Zhao Meng, Han Lei

(Department of Cardiology, The Center Hospital of Jinzhou, Jinzhou, Liaoning 121000, China)

Abstract: Objective To explore the relationship of the different level of HO-1 expression and the myocardial oxidative stress of type 2 diabetic rats. **Methods** 64 healthy SD rats were divided into eight groups randomly: six weeks blank group(NC1), six weeks diabetic group(DM1), six weeks diabetic+heme group(HE1), six weeks diabetic+ZnPP group(ZN1); nine weeks blank group(NC2), nine weeks diabetic group(DM2), nine weeks diabetic+heme group(HE2), nine weeks diabetic+ZnPP group(ZN2); each group contains eight rats and these rats would be killed in the sixth and ninth week to measure myocardial HO-1 express by IHCA; detect myocardial oxidative stress level by colorimetric method; display the change of myocardium ultra microstructure by electron microscope. **Results** (1) the expression level of HO-1 in group HE1, HE2 were higher than group DM1, DM2 respectively($P < 0.05$, $P < 0.05$), and markedly higher than group NC1, NC2($P < 0.01$, $P < 0.01$) and group ZN1, ZN2 respectively($P < 0.01$, $P < 0.01$). (2) the expression level of HO-1 in group ZN1, ZN2 are lower than group NC1, NC2 respectively($P < 0.05$, $P < 0.05$). (3) the degree of myocardium fibrosis and the ultrastructural damage of myocardium mitochondria in group HE1, HE2 were lighter than group DM1, DM2 and group ZN1, ZN2 respectively. (4) the level of SOD, and SH-PX in group HE1, HE2 were higher than group DM1, DM2 and group ZN1, ZN2($P < 0.05$, $P < 0.05$; $P < 0.05$, $P < 0.01$) and($P < 0.05$, $P < 0.05$; $P < 0.01$, $P < 0.01$), the level of MDA were lower than group DM1, DM2 and group ZN1, ZN2($P < 0.01$) respectively but it was no statistical difference with group NC1, NC2. **Conclusion** (1) Heme can induce HO-1 express in myocardium. (2) Enhance the level of HO-1 can strengthen Protect Type 2 diabetic rats myocardium against oxidative stress. Thus it can alleviate pathological lesion.

Key words: heme oxygenase-1; oxidatives stress; diabetes mellitus, type 2; cardiomyopathies

糖尿病心肌病(diabetic cardiomyopathy, DC)是糖尿病(diabetes mellitus, DM)常见的并发症。据不完全统计,DC 临床发生率约 75%^[1]。有资料显示,DM 患者心力衰竭的发生率是非 DM 患者的 2 倍^[2]。近来,有学者提出“氧化应激学说”,即氧化应激启动并促进 DM 并发症发生、发展。已有研究^[3]提出,氧化应激参与 DC 发生、发展的各个环节。正常情况下机体氧化与抗氧化防御系统之间维持动态平衡,但过高浓度的葡萄糖导致细胞 ROS 产量明显升高,抗氧化防御功能代偿不足。血红素氧合酶(heme oxygenase, HO)是一种广泛存在的抗氧化防御酶,血红素氧合酶-1(HO-1),即诱导型^[4]的血红素加氧酶,其酶促反应及产物具有重要的生理意义。作为可诱导应激蛋白,HO-1 已被广泛认为是氧化应激中一种高度敏感和可靠的指标^[5],其产物胆绿素和其还原产物胆红素能清除活性氧,CO 依靠减轻氧化应激和炎症反应保护细胞内质网免受应激^[6],亚铁离子可诱导铁蛋白的合成,后者可减少活性氧的产生,是一种天然的抗氧化酶。HO-1 作为一种应激反应蛋白,

参与了对抗高糖诱导的氧化损伤的防御机制。研究其在高糖引起的氧化应激造成的 DM 心肌病变中的作用是防治 DM 心肌病变的重要领域。

1 材料与方 法

1.1 动物分组及模型制备 健康 SD 大鼠 64 只,雌雄各半,体质量(250±20)g(辽宁医学院实验动物中心提供),标准饲料,分笼专人喂养,大鼠自由饮水、进食,垫料干燥,所有大鼠置于光照周期 12 h,25℃恒温,湿度 40%~70%适应性喂养 1 周后开始实验。随机分为 8 组:空白 6 周(NC1)组、糖尿病 6 周(DM1)组、糖尿病加血红素 6 周(HE1)组、糖尿病加原卟啉锌(ZnPP)6 周(ZN1)组;空白 9 周(NC2)组、糖尿病 9 周(DM2)组、糖尿病加血红素 9 周(HE2)组、糖尿病加原卟啉锌 9 周(ZN2)组,每组 8 只。NC1、NC2 组正常饲料喂养;DM1、HE1、ZN1、DM2、HE2、ZN2 组给予高糖、高脂、高胆固醇饮食 4 周(20%蔗糖、10%炼猪油、5%胆固醇、2.5%胆酸钠、62.5%基础饲料,辽宁医学院实验动物中心提供)。然后 DM1、HE1、

表 1 各组大鼠体质量及血糖统计表 ($\bar{x} \pm s$)

组别	体质量(g)			血糖(mmol/L)		
	0 周	6 周	9 周	0 周	6 周	9 周
NC1	263.33±5.56	319.50±23.08	—	4.41±0.43	4.88±0.62	—
DM1	248.71±26.16	268.57±29.65*	—	5.20±50.69	31.91±5.95 [#]	—
HE1	241.14±13.00	279.85±8.19*	—	5.20±30.65	27.18±6.06 [#]	—
ZN1	253.99±27.49	247.50±6.83 [#]	—	5.07±0.51	35.67±2.584 [#]	—
NC2	251.50±19.64	360.67±19.69	452.30±23.63	4.80±30.55	5.08±0.45	5.12±0.58
DM2	254.43±23.42	260.43±16.34 [#]	278.40±29.66 [#]	5.03±0.86	31.73±3.85 [#]	33.10±2.67 [#]
HE2	244.00±19.73	269.67±17.99 [#]	292.88±9.06 [#]	5.07±0.96	27.94±5.77 [#]	28.61±5.96 [#]
ZN2	243.67±10.54	252.17±15.52 [#]	268.83±14.04	5.55±0.87	32.09±2.99 [#]	33.21±6.04 [#]

*: $P < 0.05$, #: $P < 0.01$, 与 NC 组比较; —: 表示无数据。

ZN1、DM2、HE2、ZN2 给予小剂量腹腔注射 STZ 30 mg/kg(溶于 0.1 mmol/L 柠檬酸缓冲液, pH4.4), 72 h 后, 3 次血糖测定均值大于或等于 16.7 mmol/L 者纳入实验组; NC1、NC2 组仅注射等量柠檬酸缓冲液。

1.2 主要试剂及仪器 氯高铁血红素(hemin, Sigma-aldrich, 51280), 原卟啉锌(ZnPP)(ALFA Asia, 32068), 连脉佐菌素(STZ)(Sigma-aldrich, s0130), 兔抗大鼠 HO-1 一抗(Stressgen, SPA-895D), 二抗试剂盒(北京中杉金桥, SP9000), 胆固醇、胆酸钠(河南平顶山市东珠生物制品有限公司), DAB 显色试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司)。

1.3 处理方法 成模 2 d 后给药, HE1、HE2 组和 ZN1、ZN2 组分别腹腔注射 Hemin(15 mg/kg)、ZnPP(10 μ mol/kg) 6、9 周, 每周 2 次。NC1、DM1 组和 NC2、DM2 组注射生理盐水(10 mL/kg)6、9 周, 每周 2 次。每周称体质量 2 次, 根据体质量注射药量; 每周测血糖, 剔除未成模大鼠。

1.4 氧化应激指标检测 应用硫代巴比妥酸法测定 MDA 含量, 黄嘌呤氧化酶法测定 SOD 活力, 二硫代二硝基苯甲酸法测定 GSH-Px 含量, 具体操作步骤参照试剂盒说明书。

1.5 心肌形态学观察 实验室处死大鼠后, 分离心脏, 取左心室部分制作石蜡切片, 切片经 10% 甲醛浸泡固定, 常规脱水、透明、包埋、切片, 留作免疫组织化学法检测应用。1 mm³ 心肌左心室标本置于预冷载玻片上, 2.5% 戊二醛、锇酸双重固定, 乙醇脱水, 环氧树脂包埋, 制备超薄切片, 铅-铀双重染色, 电子显微镜下观察超微结构。

1.6 大鼠心肌 HO-1 的表达情况检测 免疫组化: 石蜡切片脱蜡至水→梯度乙醇水化→抗原高压修复→山羊血清封闭→兔抗大鼠一抗 4℃ 过夜→PBS 冲洗→生物素化二抗→PBS 冲洗→辣根过氧化物酶标记的链霉卵白素→DAB 显色→复染→封片。胞浆褐色颗粒为阳性细胞, PBS 代替一抗做阴性对照, 每个标本在 400 倍下随机选取 5 个不重叠阳性视野经图像采集系统采集图片后计算累计光密度值。

1.7 统计学处理 数据分析采用 SPSS16.0 软件分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 大鼠体质量及血糖监测 大鼠在造模过程及以后的饲养过程中因为感染及血糖过高 DM1、DM2、HE1 组各死亡 1 只, HE2、ZN1、ZN2 组各死亡 2 只。STZ 处理大鼠各组之间体质量及血糖比较, 差异无统计学意义, 但 ZN、DM 组体质量要低于 HE 治疗组, 血糖高于 HE 治疗组。STZ 处理大鼠血糖和体质量与空白组比较, 差异有统计学意义($P < 0.01$), 见表 1。

2.2 心肌氧化应激指标检测 在第 6、9 周, 心肌氧化应激指标检测结果, DM、Zn 组心肌 SOD、GSH-PX 与 NC 比较均明显

降低, MDA 明显升高($P < 0.05$ 或 < 0.01); 而 HE 组心肌 SOD、GSH-PX 均值低于 NC 组; MDA 高于 NC 组, 但差异无统计学意义($P > 0.05$); HE 组心肌 SOD、GSH-PX 水平均高于 DM、Zn 组; MDA 低于 DM、Zn 组($P < 0.05$ 或 < 0.01); 而 9 周与 6 周各组两两相比, 氧化应激水平均高于后者, 但差异无统计学意义($P > 0.05$), 见表 2、3。

表 2 第 6 周不同组心肌氧化应激检测指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	SOD(U/mL)	GSH-PX(U/L)	MDA(nmol/L)
NC1	1381.83±390.95	1241.67±362.64	8.73±1.19
DM1	422.14±79.02 ^{*a}	451.29±66.12 ^{*a}	30.40±7.99 ^{#b}
HE1	1113.14±261.89	1087.71±62.32	12.09±2.78
Zn1	263.50±51.14 ^{*a}	272.17±41.32 ^{*a}	47.11±6.24 ^{#b}

*: $P < 0.05$, #: $P < 0.01$, 与 NC1 组比较; ^a: $P < 0.05$, ^b: $P < 0.01$, 与 HE1 组比较。

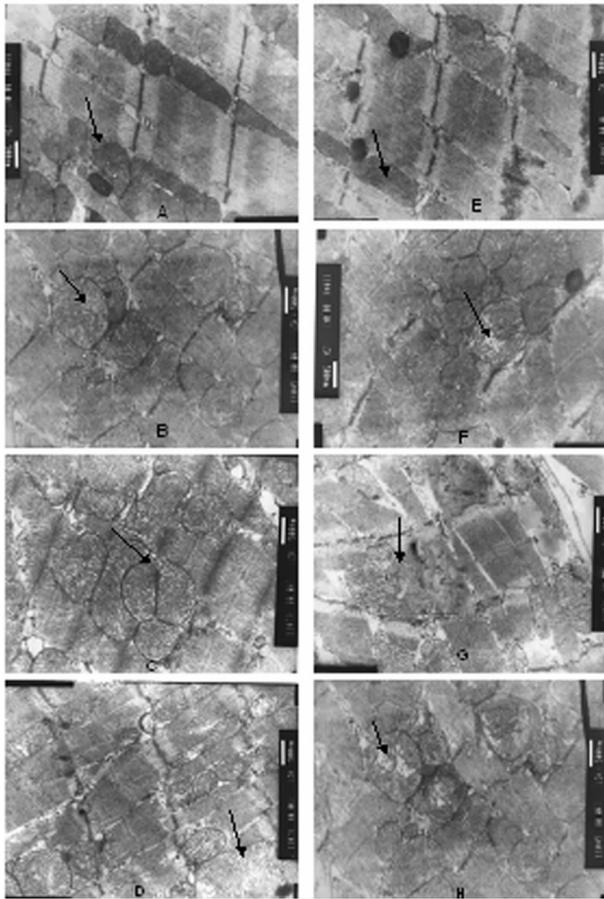
表 3 第 9 周不同组心肌氧化应激检测指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	SOD(U/mL)	GSH-PX(U/L)	MDA(nmol/L)
NC2	1296.66±22.16	1501.83±294.74	8.46±4.71
DM2	398.00±82.67 ^{*a}	387.86±78.50 ^{#b}	47.49±8.78 ^{#b}
HE2	924.83±195.79	1020.00±77.28	13.00±3.23
Zn2	208.33±42.40 ^{#b}	193.83±37.16 ^{#b}	56.01±6.95 ^{#b}

*: $P < 0.05$, #: $P < 0.01$, 与 NC2 组比较; ^a: $P < 0.05$, ^b: $P < 0.01$, 与 HE2 组比较。

2.3 大鼠心肌电子显微镜观察 第 6、9 周 NC 组大鼠心肌超微结构可见肌原纤维丰富, 纵向平行排列, 肌丝排列紧密整齐; Z 线和 M 线清晰可见; 线粒体圆形或椭圆形; ZN2 组可见心肌细胞排列紊乱, 质膜模糊、断裂; 肌原纤维呈灶性溶解, 肌丝成分减少, 扭曲、断裂, 肌节对位不齐; 线粒体有断嵴、空泡样变性现象; HE2 组仅见心肌细胞内线粒体数目增加、体积减小, 线粒体有断嵴, 未见空泡样变性, 心肌肌原纤维尚完整; DM2 组超微结构改变介于 NC2、ZN2 组之间。第 6 周组心肌超微结构改变介于空白组与 9 周各组之间, 见图 1。

2.4 心肌组织 HO-1 免疫组化结果 本研究显示, HO-1 蛋白表达于心肌细胞质, 各组表达差异明显, DM、HE 组心肌细胞 HO-1 阳性染色颗粒明显增多, 且 HE 组比 DM 组增加更明显($P < 0.05$); 而 ZN 组心肌细胞 HO-1 阳性染色颗粒表达最少, 与 DM 组、HE 组、NC 组比较差异均有统计学意义, 分别为($P < 0.05$)、($P < 0.01$)和($P < 0.05$)。9 周组比 6 周组表达减少, 但差异无统计学意义($P > 0.05$); 将显色结果输入 IMS 细胞图像分析系统, 分析结果见表 4。



A~H: 分别代表 NC1、DM1、HE1、ZN1、NC2、DM2、HE2、ZN2 组。

图 1 各组心肌电子显微镜超微结构比较($\times 15\ 000$)

表 4 免疫组化照片密度结果($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	
	6 周	9 周
NC 组	0.059 5 \pm 0.009 1 [○]	0.063 3 \pm 0.006 5 ^d
DM 组	0.126 1 \pm 0.033 1 ^{*△}	0.113 9 \pm 0.020 0 ^{ac}
HE 组	0.278 7 \pm 0.060 5 [#]	0.241 5 \pm 0.056 0 ^b
ZN 组	0.033 5 \pm 0.006 3 ^{*○}	0.034 5 \pm 0.008 9 ^{bd}

*: $P < 0.05$, #: $P < 0.01$, 6 周组与 NC 组比较; Δ : $P < 0.05$, \circ : $P < 0.01$, 与 HE 组比较; ^a: $P < 0.05$, ^b: $P < 0.01$, 9 周组与 NC 组比较; ^c: $P < 0.05$, ^d: $P < 0.01$, 与 HE 组比较。

3 讨论

HO-1 是目前发现的受最多因素诱导的应激蛋白, 可被血红素、金属元素、紫外线照射、化学物质、高血糖、某些药物、GSH 耗竭等因素诱导激活。有研究证实糖尿病患者淋巴细胞 HO-1 水平高于正常组^[6]。本实验结果表明, 高血糖及血红素可诱导大鼠心肌 HO-1 蛋白高表达, 抑制剂 ZnPP 可抑制 HO-1 表达。DM 大鼠各群体质量及血糖比较差异无统计学意义, 但 ZN、DM 组体质量均值低于 HE 组, 血糖高于 HE 组, 与文献^[7]经过 2 个月血红素治疗和未经血红素治疗的 STZ 诱导的 DM 大鼠体质量没有显著性差异, 但是仅在经过血红素处理的大鼠出现抗 DM 效应相符。说明 HO-1 在胰岛素释放和糖代谢方面起重要作用^[8]。

越来越多的证据表明, 氧化应激参与了 DM 引起的各种血管病变^[9]。诱导 HO-1 高表达是氧化应激的一种普遍标志,

是对氧化应激的一种有益的适应性反应^[10]。基因转染使细胞高表达 HO-1 可防止高糖诱导的 8-epi-PGF2a 水平升高, 提示 HO-1 在对抗高糖诱导的氧化损伤中发挥了十分重要的作用, 高糖和 AGEs 对 THP.1 细胞造成氧化损伤, 表现为细胞 ROS 产量、氧化损伤指标 MDA 水平和炎症因子 TNF α 分泌增加^[11]。本实验 DM、ZN 组心肌抗氧化应激指标 SOD、GSH-PX 与 HE 组比较均明显降低, MDA 明显升高且差异有统计学意义; 通过对 HO-1 免疫组化密度和氧化应激指标 SOD、GSH-PX、MDA 的分析可以看出, SOD、GSH-PX 水平与 HO-1 免疫组化密度成正比, MDA 水平与其成反比。说明虽然 DM 组 HO-1 表达增加, 可能是细胞为拮抗氧化损伤所做出的适应性和代偿性反应, 但生理性代偿并不足以拮抗细胞氧化应激, 氧化应激水平反而升高。HE 组通过血红素诱导 HO-1 表达增加, 提高了大鼠抗氧化应激水平, 应用血红素提高 2 型 DM 大鼠心肌 HO-1 表达水平可降低心肌氧化应激。

文献报道, STZ 诱导 DM 大鼠心肌细胞超微结构的改变在 8~12 周^[12], 尤其是线粒体损伤。本研究通过在电子显微镜下观察第 6、9 周不同时间段大鼠心肌线粒体及心肌纤维超微结构的改变及与心肌 HO-1 水平的关系, 发现 2 型糖尿病大鼠心肌线粒体及心肌纤维损伤在第 6 周时已经出现, 并且随时间变化而严重; 但是心肌超微结构在第 6 周时变化并不明显, 第 9 周损伤才表现得更加明显。超微结构损害以 ZN 组最为明显, DM 组次之, 而血红素治疗组心肌超微结构损害与前述组相比明显减轻, 这与上述报道相一致。说明诱导 2 型糖尿病大鼠心肌 HO-1 高表达对心肌氧化应激导致的超微结构损伤具有保护作用。

本研究还发现, 随时间推移, 在第 6、9 周, 2 型 DM 大鼠心肌 HO-1 表达量呈逐渐下降趋势, 心肌氧化应激水平有逐渐上升趋势, 心肌超微结构损伤也更加明显, 但在两个时间段之间 HO-1 表达量及心肌氧化应激水平并无显著性差异, 可能与观察时间比较短有关, 因此, 需要更进一步研究。通过其他途径进一步诱导 DM 状态下 HO-1 的表达增高可能有助于拮抗心肌细胞氧化损伤, 这为 DM 心肌病防治提供了一条新的思路。

参考文献:

- [1] Buyer JK, Thanigaraj S, Schechtman KB, et al. Prevalence of ventricular diastolic dysfunction in asymptomatic normotensive patients with diabetes mellitus[J]. Am J Cardiol, 2004, 93(7): 870-875.
- [2] Coughlin SS, Pearle DL, Baughman KL, et al. Diabetes mellitus and risk of idiopathic dilated cardiomyopathy the Washington, DC dilated cardiomyopathy study[J]. Ann Epidemiol, 1994, 4(1): 67-74.
- [3] Hamblin M, Friedman DB, Hill S, et al. Alterations in the diabetic myocardial proteome coupled with increased myocardial oxidative stress underlies diabetic cardiomyopathy[J]. Mol Cell Car, 2007, 42(7): 884-895.
- [4] Maines MD. The heme oxygenase system: past, present, and future[J]. Antioxid Redox Signal, 2004, 6(5): 797-801.
- [5] Abraham NG, Kappas A. Pharmacological and clinical aspects of heme-oxygenase[J]. Pharmacol Rev, 2008, 60(1): 79-127.
- [6] Joe Y, Zheng M, Kim SK, et al. The role of carbon monoxide in metabolic disease[J]. Ann N Y Acad Sci, 2011, 122(1): 156-161.

多方面的。主要包括:对血流动力学的影响、对外周神经递质释放的影响、对性激素的影响。已有研究表明吸烟对交感神经的影响是通过尼古丁的作用实现的。NO 在体内是通过 NOS 催化 L-精氨酸产生的,NO 非常活跃,半衰期仅为数秒钟,很难对其进行精确的研究,而 NOS 是 NO 合成过程的限速酶,可作为研究 NO 的替代,NOS 活性降低是导致 ED 的主要原因^[9]。Xie 等^[10]将成年大鼠(5 月龄)和老年大鼠(20 月龄)分别暴露在香烟的烟雾中被动吸烟 8 周,结果成年大鼠和老年大鼠阴茎组织总 NOS 活性分别下降 73%、62%。国内杜国顺和胡礼泉^[11]将 4、10、16 月龄的 Wistar 雄性大鼠放于密闭容器内被动吸烟 2 个月,发现吸烟组大鼠与对照组相比,NOS 活性分别下降 41%(4 月龄)、69%(10 月龄)和 58%(16 月龄),差异有统计学意义($P < 0.05$)。然而有关香烟烟雾的主要成分——尼古丁对大鼠阴茎海绵体 NO 类血管舒张因子影响的研究,目前报道较少。本实验通过检测尼古丁给药各组大鼠阴茎海绵体 NOS 活性,发现尼古丁给药各组大鼠 NOS 活性显著下降,与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.01$),尼古丁剂量越大,NOS 活性越低,尼古丁给药各组两两比较差异有统计学意义,说明尼古丁可通过抑制 NOS 活性,从而致 NO 合成不足,导致阴茎舒张能力减弱而致 ED。

内源性 CO 是近十几年来研究证实的重要的细胞信使分子之一。研究表明,内源性 CO 的作用方式类似于 NO^[12-13],二者在生理功能上有许多共同点。内源性 CO 主要由血红素氧合酶(heme oxygenase, HO)催化分解血红素而产生。HO 有 HO-1、HO-2 和 HO-3 共 3 种同工酶。研究发现,CO 可以减弱大鼠阴茎海绵体的张力,HO 的抑制剂能抑制海绵体的舒张效应^[14]。研究发现,阴茎海绵体上的 HO-2 和内皮型 NOS 参与调节阴茎的勃起^[15]。可见,CO/HO 在阴茎勃起中起重要作用。本实验通过测定实验各组大鼠阴茎海绵体内源性 CO 含量,发现尼古丁给药的各组大鼠阴茎海绵体内源性 CO 含量显著降低,与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.01$),尼古丁剂量越大,CO 含量越低,尼古丁给药各组两两比较差异有统计学意义,说明尼古丁对大鼠勃起功能的影响有内源性 CO 的参与,从而说明内源性 CO 是吸烟引起 ED 的一种新型神经递质,为探讨吸烟致 ED 的发生机制及临床治疗提供新的途径。有关其确切机制和临床意义的研究极有价值,有待深入研究。

参考文献:

[1] 辛钟成. 重度勃起功能障碍的诊断与治疗进展[J]. 临床泌尿外科杂志,2006,21(3):161-163.

(上接第 3182 页)

- [7] Ndisang JF, Jadhav A. Heme oxygenase system enhances insulin sensitivity and glucose metabolism in streptozotocin-induced diabetes[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2009, 296(8):829-841.
- [8] Calabrese V, Cornelius C, Koverech G, et al. Oxidative stress, glutathione status, sirtuin and cellular stress response in type 2 diabetes[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 12(1):3-5.
- [9] Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications[J]. *Nature*, 2001, 414(6):813-820.
- [10] McLaughlin B, Hartnett KA, McLaughlin B, et al. Caspase-3

- [2] 郭应禄, 胡礼泉. 临床男科学[M]. 武汉:湖北科技出版社,1996:298-306.
- [3] 薛启冀. 一氧化碳是一种新型气体神经介质[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志,2004,11(4):239-242.
- [4] 郭玉刚, 秦文波, 宋文君, 等. 内源性一氧化碳对离体犬阴茎海绵体平滑肌的作用[J]. 中华男科杂志,2006,12(8):685-688.
- [5] 曾锦生, 叶启发. 血浆一氧化碳测定的改良双波长分光光度法[J]. 中国现代医学杂志,2002,12(1):40-41.
- [6] Taub HC, Lerner SE, Melman A, et al. Relationship between contraction and relaxation in human and rabbit corpus cavernosum[J]. *Urology*, 1993, 42(9):698-701.
- [7] Burnett A. Nitric oxide in the penis: physiology and pathology[J]. *J Urol*, 1997, 157(4):320-323.
- [8] 蓝晓红, 徐添颖, 缪朝玉. 尼古丁给药和撤药模型的制备与评价[J]. 第二军医大学学报,2008,29(2):156-158.
- [9] 刘继红, 王涛. 勃起功能障碍的基因治疗与一氧化氮合酶[J]. 现代泌尿外科杂志,2003,8(1):63-64.
- [10] Xie Y, Garban H, Ng C, et al. Effect of long-term passive smoking on erectile function and penile nitric oxide synthase in the rat[J]. *J Urol*, 1997, 157(10):1121-1126.
- [11] 杜国顺, 胡礼泉. 长期吸烟加速老龄鼠性功能的退化[J]. 中华泌尿外科杂志,1999,20(6):745-746.
- [12] Abdel Aziz MT, Mostafa T, Atta H, et al. Oral phosphodiesterase-5 inhibitors: effect of heme oxygenase inhibition on cGMP signalling in rat cavernous tissue[J]. *Andrologia*, 2007, 39(2):66-70.
- [13] Abdel Aziz MT, El-Asmer MF, Mostafa T, et al. Heme oxygenase vs. nitric oxide synthase in signaling mediating sildenafil citrate action[J]. *Sex Med*, 2007, 14(7):1098-1107.
- [14] Ushiyama M, Morita T, Kuramochi T, et al. Erectile dysfunction in hypertensive rats results from impairment of the relaxation evoked by neurogenic carbon monoxide and nitric oxide[J]. *Hypertens Res*, 2004, 27(4):253-261.
- [15] Hedlund P, Ny L, Alm P, et al. Cholinergic nerves in human corpus cavernosum and spongiosum contain nitric oxide synthase and heme oxygenase[J]. *J Urol*, 2000, 164(6):868-875.

(收稿日期:2012-03-27 修回日期:2012-05-23)

activation is essential for neuroprotection in preconditioning[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(6):715-720.

- [11] Nishikawa T, Edelstein D, Du XL, et al. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage[J]. *Nature*, 2000, 404(7):787-790.
- [12] Thompson EW. Structural manifestations of diabetic cardiomyopathy in the rat and its reversal by insulin treatment[J]. *Am J Ana*, 1988, 182(3):270-282.

(收稿日期:2012-03-09 修回日期:2012-05-21)