

## 胰岛素抵抗和单硝酸异山梨酯对 SHR 心肌细胞凋亡的影响

白冰<sup>1</sup>,葛龙菲<sup>2</sup>,田晨光<sup>1△</sup>

(1. 郑州大学第二附属医院内分泌科, 郑州 450000; 2. 郑州市第一人民医院内分泌科, 郑州 450000)

**[摘要]** **目的** 观察胰岛素抵抗(IR)和单硝酸异山梨酯(ISMN)对自发性高血压大鼠(SHR)心肌细胞凋亡的影响。**方法** 14周龄雄性 Wistar 大鼠(W)和 SHR(S)各 40 只,分别或联合喂饲普通饲料(普)、高脂高糖(HFHG)饲料及生理盐水(NS)和 ISMN 灌胃。将其分为普+NS 组(W 普和 S 普),HFHG+NS 组(W 高和 S 高),普+ISMN 组(W 单和 S 单),HFHG+ISMN 组(W 高单和 S 高单),每组各 10 只。喂养 12 周,取颈动脉血检测血糖及血清胰岛素水平并计算 IR 指数(HOMA-IR);取心肌组织 4 份,分别观察光镜下形态、组织中一氧化氮(NO)水平,bcl-2、bax 基因及其蛋白的表达情况。**结果** 心肌 NO 水平、bax 基因 mRNA 及相关蛋白表达水平,在给予 HFHG 和 ISMN 干预的各组均高于普通组,bcl-2 基因 mRNA 及相关蛋白表达反之;S 组大鼠心肌组织 NO 水平、bax 基因 mRNA 及相关蛋白表达均较相应的 W 组增多,bcl-2 基因 mRNA 及相关蛋白表达反之;W 高组大鼠心肌组织 NO 水平与 HOMA-IR 呈显著正相关,W 单组大鼠 HOMA-IR 与心肌组织 NO 水平与呈正相关。**结论** SHR 心肌细胞凋亡较 Wistar 大鼠增多,ISMN、IR 均能加重 SHR 心肌细胞凋亡,且 ISMN 与 IR 互相诱导、互为因果。

**[关键词]** 大鼠,近郊 SHR;胰岛素抵抗;单硝酸异山梨酯;细胞凋亡

**[中图分类号]** R587.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2016)18-2478-04

## Influence of insulin resistance and isosorbide mononitrate on myocardial cellular apoptosis in spontaneously hypertensive rats

Bai Bing<sup>1</sup>, Ge Longfei<sup>2</sup>, Tian Chenguang<sup>1△</sup>

(1. Department of Endocrinology, Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan 450000, China;

2. Department of Endocrinology, Zhengzhou Municipal First People's Hospital, Zhengzhou, Henan 450000, China)

**[Abstract]** **Objective** To observe the influence of insulin resistance(IR) and isosorbide mononitrate(ISMN) on myocardial cellular apoptosis in spontaneously hypertensive rats(SHR). **Methods** Forty male 14-week old Wistar(W) rats and SHR(S) each were respectively or jointly fed with normal diet (ND), high fat and high glucose(HFHG) diet, normal saline(NS) and ISMN by gavage. Then they were randomly divided into the normal and NS group(normal W and normal S), HFHG and NS group(HFHG W and HFHG S), normal and ISMN group(ISMN W and ISMN S), HFHG and ISMN group(HI W and HI S), with 10 rats in each group. After 12-week feeding, carotid arterial blood was collected for detecting blood glucose concentration and insulin level and calculating insulin resistance index (HOMA-IR); 4 myocardial tissue samples were taken for respectively observing the morphology under microscope, and detecting the NO level, myocardial Bcl-2, Bax gene and their protein expression levels in myocardial tissue. **Results** Myocardial NO level, Bax gene mRNA and related protein levels in the HFHG and ISMN intervention groups were higher than those in the normal group, while the bcl-2 gene mRNA and related protein expression were on the contrary; myocardial tissue NO level, Bax gene mRNA and related protein expression in the S groups were increased compared with the corresponding W groups, while the bcl-2 gene mRNA and related protein expression were on the contrary; in the HFHG W group, the myocardial tissue NO level had significantly positive correlation with HOMA-IR, and in the ISMN W group, HOMA-IR was positively correlated with the NO level in the myocardial tissue. **Conclusion** Myocardial cellular apoptosis of SHR is increased compared with Wistar rats; both IR and ISMN can aggravate the apoptosis of SHR myocardial cells, moreover IR has a mutual induction and reciprocal causation with ISMN.

**[Key words]** rats, suburbs SHR; insulin resistance; isosorbide mononitrate; apoptosis

代谢综合征(metabolic syndrome, MS)是多种代谢异常发生在同一个体的临床状态,以胰岛素抵抗胰岛素抵抗(insulin Resistance, IR)为基础及中心环节<sup>[1]</sup>,以高血压、糖尿病、脂代谢紊乱等为组分,这些组分之间互有协同作用,可直接促进动脉粥样硬化性心血管疾病(atherosclerosis cardiovascular disease, ASCVD)的发生和发展,如心肌缺血、心肌细胞凋亡等。但具体作用机制,如 IR 是否可直接导致和(或)加重由高血压直接引起的心肌凋亡等,尚未完全明确。目前 ASCVD 的治疗多依赖药物,其中常用药物为硝酸酯类如单硝酸异山梨酯(isosorbide mononitrate, ISMN),后者通过提供外源性一氧化

氮(NO)发挥作用。但有研究发现,NO 有诱导细胞凋亡的作用,而 ISMN 会否通过提供 NO 加剧高血压大鼠心肌细胞凋亡,目前研究较少。本文分别通过诱导自发性高血压大鼠(spontaneously hypertensive rats, SHR)IR 状态和饲喂 ISMN,来探究 IR、ISMN 对 SHR 心肌细胞凋亡的影响,以期从 IR 的角度解释高血压心肌细胞凋亡,并质疑高血压患者长期应用 ISMN 的安全性。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 动物:选择 14 周龄雄性 Wistar 大鼠(河南省实验动物中心)和 SHR(北京联合利华实验动物有限公司)各 40

只, 体质量( $393.75 \pm 11.09$ )g; 普通饲料配方为: 蛋白质: 脂肪: 碳水化合物比值为: 9: 2: 24, 购自河南省实验动物中心; 高脂高糖(HFHG)配方为: 普通饲料 79%, 蔗糖 10%, 猪油 5%, 胆固醇 5%, 石胆酸 1%。ISMN 片, 购自鲁南贝特制药有限公司, 规格为: 片剂 20 mg $\times$ 48 片。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及干预措施 将 80 只大鼠随机分为 W 普、W 高、W 单、W 高单组和 S 普、S 高、S 单、S 高单组, 每组 10 只。W 普和 S 普组饲喂普通饲料和 NS, W 高和 S 高组饲喂 HFHG 和 NS, W 单和 S 单组饲喂普通饲料和 ISMN, W 高单和 S 高单组饲喂 HFHG 和 ISMN。其中, ISMN 按 4.20 mg/kg 剂量灌胃。

1.2.2 动脉血葡萄糖、胰岛素水平测定及 IR 指数(HOMA-IR)的计算 上述方法喂养 12 周。禁食不禁水 12 h 后麻醉大鼠, 取颈动脉血 1 mL, 离心后取上层血清, 置于-20℃冰箱, 用于检测空腹血糖(FBP, 葡萄糖氧化酶法)及空腹胰岛素(FINS, 放射免疫法)水平。取自然对数表示, 使其成正态分布, 其中 FBG 的单位是 mmol/L, FINS 的单位是 mIU/L。HOMA-IR 的计算公式如下:

$$\text{HOMA-IR} = \text{FBG} \times \text{FINS} / 22.5$$

1.2.3 测定心肌组织中 NO 水平和 bcl-2、bax 基因及蛋白表达 取血结束后, 在冰面工作台上处死大鼠, 开胸取出心脏, 冰水冲洗后在心底部各取约 100 mg 全层心肌组织共 4 份。其中, 1 份放入 4% 甲醛溶液中, 原位缺口末端标记法(TdT-mediated dUTP Nick-End Labeling, TUNEL)观察心肌形态, 另外 3 份均迅速放入液氮冷冻, 置于-80℃冰箱中保存, 分别各自采用硝酸还原酶法测定 NO, RT-PCR 法测定 bcl-2 与 bax mRNA 表达水平, Western blot 法测定 bcl-2 与 bax 蛋白表达量。

1.3 统计学处理 采用 SPSS20.0 统计软件进行分析, 计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用独立样本 *t* 检验, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组大鼠 HOMA-IR 比较 W 高、W 单、W 高单组 HOMA-IR 均较 W 普组高, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。S 高、S 单、S 高单组 HOMA-IR 均较 S 普组高, 差异有统计学意义

( $P < 0.05$ )。S 组大鼠 HOMA-IR 高于相应 W 组大鼠, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 见表 1。

表 1 各组大鼠 HOMA-IR 比较( $\bar{x} \pm s$ )

大鼠分类	普组	高组	单组	高单组
W 组	2.60 $\pm$ 0.28	4.38 $\pm$ 0.39 <sup>a</sup>	4.53 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>	10.09 $\pm$ 0.59 <sup>a</sup>
S 组	4.11 $\pm$ 1.00 <sup>b</sup>	7.12 $\pm$ 0.58 <sup>ab</sup>	6.89 $\pm$ 0.24 <sup>ab</sup>	18.78 $\pm$ 1.82 <sup>ab</sup>

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与同种大鼠普组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与相应 W 组比较。

2.2 各组大鼠心肌组织中 NO 水平比较 W 高、W 单、W 高单组大鼠较 W 普组高, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。S 高、S 单、S 高单组大鼠较 S 普组高, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。S 组大鼠心肌组织 NO 水平均高于相应 W 组大鼠, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。S 高单组大鼠心肌组织 NO 水平高于 S 高、S 单组大鼠, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 见表 2。

表 2 各组大鼠心肌组织中 NO 水平比较( $\bar{x} \pm s$ ,  $\mu\text{mol/gprot}$ )

大鼠分类	普组	高组	单组	高单组
W 组	1.61 $\pm$ 0.14	2.16 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>	2.78 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>	7.54 $\pm$ 0.24 <sup>a</sup>
S 组	2.10 $\pm$ 0.15 <sup>b</sup>	3.16 $\pm$ 0.21 <sup>ab</sup>	4.01 $\pm$ 0.31 <sup>ab</sup>	14.92 $\pm$ 0.48 <sup>ab</sup>

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与同种大鼠普组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与相应 W 组比较。

2.3 W 高、W 单组大鼠 HOMA-IR 与心肌组织 NO 水平的相关性分析 W 高、W 单组心肌组织 NO 水平与 HOMA-IR 呈正相关( $r = 0.90$ ,  $P < 0.01$ ,  $r = 0.74$ ,  $P < 0.05$ ), 见图 1。

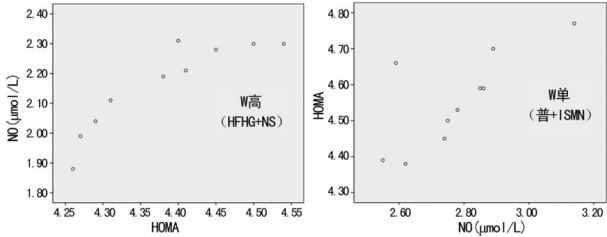


图 1 W 高、W 单组大鼠 HOMA-IR 与心肌组织 NO 水平的相关性分析散点图

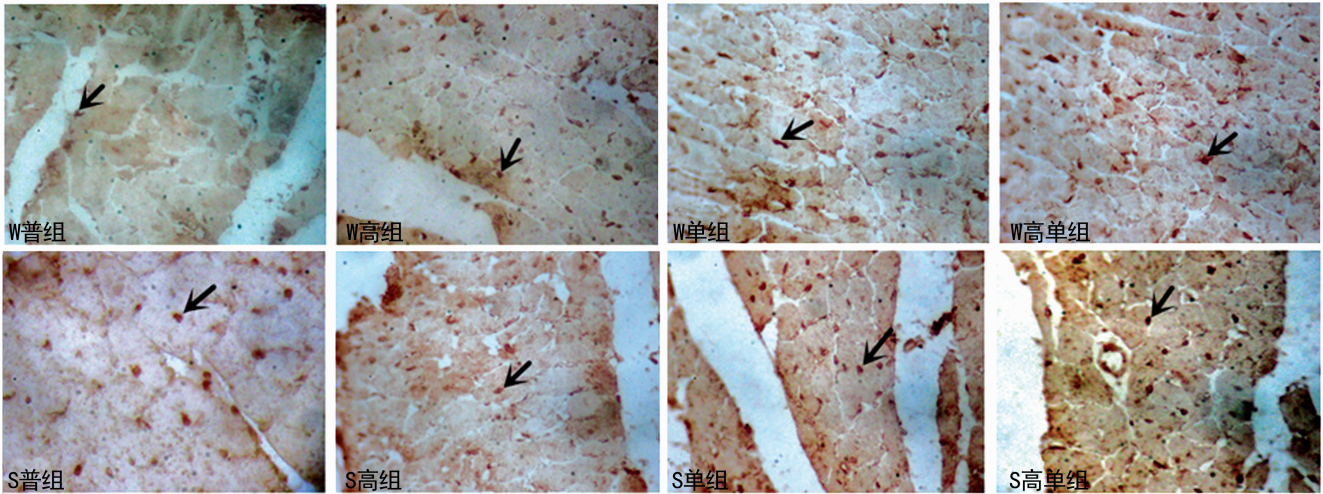


图 2 各组大鼠凋亡心肌细胞 TUNEL 染色切片光镜下图像( $\times 400$ )



**2.4 各组大鼠心肌形态学观察** W 高、W 单、W 高单组大鼠每高倍视野心肌细胞凋亡多于 W 普组大鼠( $P<0.05$ )。S 高、S 单、S 高单组大鼠每高倍视野心肌细胞凋亡多于 S 普组大鼠( $P<0.05$ )。S 组大鼠每高倍视野心肌细胞凋亡多于相应 W 组大鼠( $P<0.05$ )，见表 3。各组大鼠 TUNEL 染色切片在光镜下可以观察到凋亡心肌细胞的细胞核被染成棕黄色，正常细胞核不染色。各组大鼠心肌组织中均存在一定数量的凋亡细胞(箭头所示)。经 HFHG 饮食和(或)ISMN 药物干预的大鼠凋亡增多，SHR 凋亡总体多于 Wistar 大鼠，见图 2。

表 3 各组大鼠心肌凋亡细胞数比较( $\bar{x}\pm s$ ，每高倍视野)				
大鼠分类	普组	高组	单组	高单组
W 组	4.32±0.57	9.37±1.14 <sup>a</sup>	14.08±1.65 <sup>a</sup>	29.64±2.51 <sup>a</sup>
S 组	8.45±1.01 <sup>b</sup>	11.76±1.58 <sup>ab</sup>	18.04±2.63 <sup>ab</sup>	49.39±3.71 <sup>ab</sup>

<sup>a</sup>: $P<0.05$ ，与同种大鼠普组比较；<sup>b</sup>: $P<0.05$ ，与相应 W 组比较。

**2.5 各组大鼠心肌组织 bcl-2 与 bax mRNA 表达比较** 心肌组织 bcl-2 mRNA 表达水平，W 高、W 单、W 高单组大鼠均低于 W 普组( $P<0.05$ )；S 高、S 单、S 高单组大鼠均低于 S 普组( $P<0.05$ )；S 组大鼠心肌组织 bcl-2 mRNA 表达水平均低于相应 W 组大鼠( $P<0.05$ )。心肌组织 bax mRNA 表达水平，

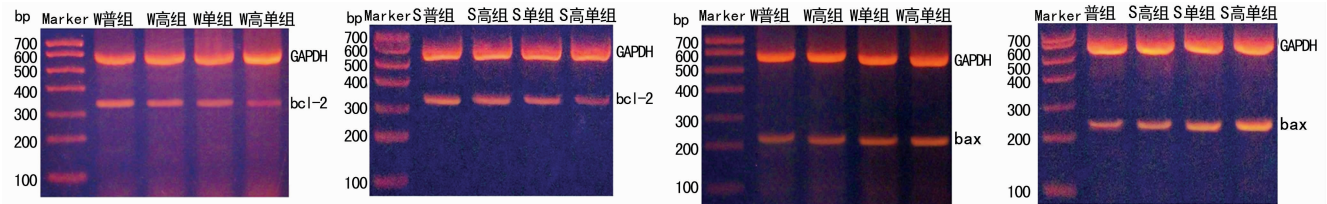


图 3 各组大鼠 bcl-2、bax 基因 PCR 分析结果

**2.6 各组大鼠心肌组织 bcl-2 与 bax 蛋白表达水平** 心肌组织 bcl-2 蛋白表达水平，W 高、W 单、W 高单组大鼠均低于 W 普组( $P<0.05$ )；S 高、S 单、S 高单组大鼠均低于 S 普组( $P<0.05$ )。S 组大鼠心肌组织 bcl-2 蛋白表达水平均低于相应 W 组大鼠( $P<0.05$ )。大鼠心肌组织 bax 蛋白表达水平，W 高、W 单、W 高单组大鼠均较 W 普组高( $P<0.05$ )；S 高、S 单、S 高单组大鼠均较 S 普组高( $P<0.05$ )。S 组大鼠心肌组织 Bcl-2 蛋白表达水平均高于相应 W 组大鼠( $P<0.05$ )，见表 5 及图 4。

表 5 各组大鼠心肌组织中 bcl-2 与 bax 蛋白表达水平比较( $\bar{x}\pm s$ )		
组别	bcl-2( $2^{-\Delta\Delta CT}$ )	bax( $2^{-\Delta\Delta CT}$ )
W 普组	0.74±0.06	0.11±0.01
W 高组	0.51±0.04 <sup>a</sup>	0.19±0.01 <sup>a</sup>
W 单组	0.49±0.04 <sup>a</sup>	0.32±0.03 <sup>a</sup>
W 高单组	0.10±0.02 <sup>a</sup>	0.68±0.03 <sup>a</sup>
S 普组	0.63±0.05 <sup>b</sup>	0.23±0.02 <sup>b</sup>
S 高组	0.48±0.04 <sup>ab</sup>	0.27±0.02 <sup>ab</sup>
S 单组	0.34±0.03 <sup>ab</sup>	0.47±0.04 <sup>ab</sup>
S 高单组	0.07±0.01 <sup>ab</sup>	0.92±0.04 <sup>ab</sup>

<sup>a</sup>: $P<0.05$ ，与同种大鼠普组比较；<sup>b</sup>: $P<0.05$ ，与相应 W 组比较。

W 高、W 单、W 高单组大鼠均较 W 普组高( $P<0.05$ )；S 高、S 单、S 高单组大鼠均较 S 普组高( $P<0.05$ )。S 组大鼠心肌组织 bcl-2 mRNA 表达水平平均高于相应 W 组大鼠( $P<0.05$ )，见表 4 及图 3。

表 4 各组大鼠心肌组织中 bcl-2 与 bax mRNA 表达水平比较( $\bar{x}\pm s$ )		
组别	bcl-2( $2^{-\Delta\Delta CT}$ )	bax( $2^{-\Delta\Delta CT}$ )
W 普组	0.49±0.03	0.29±0.02
W 高组	0.35±0.03 <sup>a</sup>	0.42±0.04 <sup>a</sup>
W 单组	0.25±0.02 <sup>a</sup>	0.41±0.04 <sup>a</sup>
W 高单组	0.06±0.01 <sup>a</sup>	0.91±0.05 <sup>a</sup>
S 普组	0.42±0.04 <sup>b</sup>	0.35±0.03 <sup>b</sup>
S 高组	0.33±0.03 <sup>ab</sup>	0.49±0.04 <sup>ab</sup>
S 单组	0.22±0.02 <sup>ab</sup>	0.50±0.05 <sup>ab</sup>
S 高单组	0.10±0.01 <sup>ab</sup>	0.97±0.02 <sup>ab</sup>

<sup>a</sup>: $P<0.05$ ，与同种大鼠普组比较；<sup>b</sup>: $P<0.05$ ，与相应 W 组比较， $P<0.05$ 。

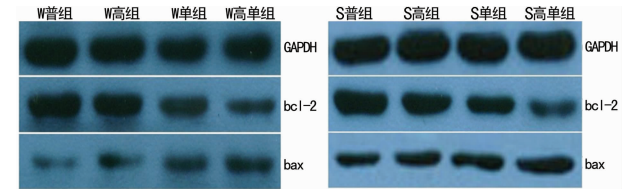


图 4 各组大鼠 bcl-2、bax 蛋白表达

3 讨 论

NO 是近年来的研究热点之一，它在舒张血管、氧化应激、炎症反应等过程中发挥着重要作用。在本研究中，SHR 心肌组织中 NO 水平高于普通大鼠，这与目前所认为的高血压时血液中 NO 减少的结果不一致，或许是机体为保持血压处于较低水平而做出的代偿反应<sup>[2]</sup>。为拮抗高血压状态，SHR 体内蛋白偶联亚硝铁复合物(DNIC)合成会增多，其或许可通过与非血红素铁反应，来提高血中 NO 水平<sup>[3]</sup>。另外，也有研究观察到 SHR 心脏内皮细胞中一氧化氮合酶(NOS)Ⅲ作用增强<sup>[4]</sup>，及动脉中 NOS Ⅱ的基础表达增多<sup>[5-6]</sup>。

本研究数据显示，应用 ISMN 后，SHR 心肌细胞凋亡增多。可能的原因是：(1)饲喂 12 周后，SHR 大鼠合成 NO 能力或许尚能代偿，但释放 NO 入血液的能力减弱，从而使较多的 NO 积聚于组织细胞中；(2)长期应用 ISMN 可增加氧自由基生成<sup>[7]</sup>，后者造成心肌细胞损伤；(3)体内过多的 NO 通过环磷酸鸟苷(cGMP)通路介导心肌细胞凋亡，同时可与超氧阴离子

反应生成过氧亚硝基,造成心肌损害<sup>[8-9]</sup>。

作为 MS 的基础,IR 可直接促进动脉粥样硬化,但其是否可直接引起心肌细胞凋亡尚未知。本研究发现,经 HFHG 干预的 Wistar 大鼠和 SHR 心肌细胞凋亡分别多于普通饮食的同种大鼠,且心肌凋亡明显增多的饮食和(或)药物干预组大鼠均伴有较严重的 IR,这说明 IR 或许是引起细胞凋亡的因素之一。有研究发现,IR 引起的氧化应激、炎症、内皮细胞功能紊乱、代谢失衡、离子内环境异常和间质纤维化等可直接导致心肌损伤,如梗死、凋亡等<sup>[10-13]</sup>。而在损害血管方面,IR 状态下许多炎症因子如 C 反应蛋白(CRP)、肿瘤坏死因子(TNF- $\alpha$ )、白介素 6(IL-6)等增多,同时,IR 及其伴随的高胰岛素血症促进动脉壁脂质摄取,防止胆固醇清除,以上因素均可促进动脉壁平滑肌细胞增殖,诱发并加剧动脉粥样硬化,从而导致心肌缺血、凋亡。另外,IR 可直接引起高血压,从而加剧 IR 大鼠心肌细胞凋亡。但目前尚无 IR 导致高血压的具体解释,多数认为 IR 继发性高胰岛素血症能使肾脏水钠重吸收增强,交感神经系统活性亢进,动脉弹性减退,从而使血压升高。

在 MS 患者,IR 与高血压常合并存在,二者具有协同作用。如本研究所见,MS 患者常用药物 ISMN 可引起 IR,如 ISMN 灌胃的 W 单组大鼠,其 HOMA-IR 与心肌组织 NO 水平呈正相关。也有研究证实,胰岛素抵抗状态与骨骼肌中诱导型 NOS(iNOS)表达增多有关<sup>[14-15]</sup>。以上均提示,体内 NO 的增多会诱导 IR 的发生。另外,应用 HFHG 干预的 W 高组大鼠心肌组织中 NO 与其 HOMA-IR 呈显著正相关,说明 IR 状态下,大鼠心肌组织内 NO 增多。这或许与 IR 继发的高胰岛素血症有关,因为胰岛素在糖代谢失调时,可反应性增加内源性 NO 的生成。以上发现均提示 NO 增多与 IR 之间存在关联,二者互相诱导、互为因果。

总之,IR、NO 均可导致并加重雄性 SHR 心肌细胞凋亡,且 IR、NO 之间互相诱导。值得注意的是,本次实验对象全部采用雄性大鼠,其所得数据不能代表整体大鼠。另外有研究认为,患者长期应用 ISMN 后,血管内皮功能将受到损害<sup>[16]</sup>,但本实验大鼠饲养时间较短(仅 12 周),未能反映 ISMN 对心肌的长期作用。SHR 心肌细胞凋亡较普通大鼠增多。短期饲喂 ISMN 可加重 SHR 心肌细胞凋亡,且 IR 亦加重其凋亡。IR 与心肌组织中 NO 互相诱导,原因未明。

## 参考文献

- [1] Stern MP. Diabetes and cardiovascular disease; the "common soil" hypothesis[J]. *Diabetes*, 1995, 44(4): 369-374.
- [2] Chen HI, Hu CT. Endogenous nitric oxide on arterial hemodynamics; a comparison between normotensive and hypertensive rats[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 1997, 273(4): H1816-1823.
- [3] Wu CC, Yen MH. Higher level of plasma nitric oxide in spontaneously hypertensive rats[J]. *American J Hypertension*, 1999, 12(5): 476-482.
- [4] Nava E, Noll G, Lüscher TF. Increased activity of constitutive nitric oxide synthase in cardiac endothelium in

- spontaneous hypertension[J]. *Circulation*, 1995, 91(9): 2310-2313.
- [5] Wu CC, Hong HJ, Chou TC, et al. Evidence for inducible nitric oxide synthase in spontaneously hypertensive rats[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1996, 228(2): 459-466.
- [6] Wu CC, Yen MH. Nitric oxide synthase in spontaneously hypertensive rats[J]. *J Biomedical Science*, 1997, 4(5): 249-255.
- [7] Yiu KH, Pong V, Siu CW, et al. Long-term oral nitrate therapy is associated with adverse outcome in diabetic patients following elective percutaneous coronary intervention[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2011, 10(23): 52.
- [8] Hua W, Chen Q, Gong F, et al. Cardioprotection of H 2 S by downregulating iNOS and upregulating HO-1 expression in mice with CVB3-induced myocarditis[J]. *Life Scis*, 2013, 93(24): 949-954.
- [9] Li YC, Luo Q, Ge LS, et al. Ivabradine inhibits the production of proinflammatory cytokines and inducible nitric oxide synthase in acute coxsackievirus B3-induced myocarditis[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 431(3): 450-455.
- [10] Dobrin JS, Lebeche D. Diabetic cardiomyopathy: signaling defects and therapeutic approaches[J]. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2010, 8(3): 373-391.
- [11] Boudina S, Abel ED. Diabetic cardiomyopathy, causes and effects[J]. *Rev Endocr Metabol Dis*, 2010, 11(1): 31-39.
- [12] Khavandi K, Khavandi A, Asghar O, et al. Diabetic cardiomyopathy-a distinct disease? [J]. *Best Pract Research Clin Endocrinol Metabol*, 2009, 23(3): 347-360.
- [13] Singh S, Duggal J, Khosla N, et al. Screening guidelines for coronary heart disease in diabetes; current recommendations[J]. *J Cardiometa Syndr*, 2009, 4(2): 107-112.
- [14] Carvalho-Filho MaA, Ueno M, Carnevalheira JB, et al. Targeted disruption of iNOS prevents LPS-induced S-nitrosation of IR/IRS-1 and AKT and insulin resistance in muscle of mice[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2006, 291(3): E476-482.
- [15] Carvalho-Filho MA, Ueno M, Hirabara SM, et al. S-Nitrosation of the insulin receptor, insulin receptor substrate 1, and protein kinase B/AKT a novel mechanism of insulin resistance[J]. *Diabetes*, 2005, 54(4): 959-967.
- [16] Lai J, Wu B, Sun J, et al. Long-term isosorbide mononitrate treatment impairs endothelial function in patients with coronary artery disease[J]. *Coron Artery Dis*, 2013, 24(7): 566-571.

(收稿日期:2015-11-15 修回日期:2016-03-10)