重庆维普 http://www.cqvip.com

论著 文章编号:0253-3626(2008)09-1042-05

糖尿病大鼠氧自由基损伤和对超微结构影响致勃起功能障碍的研究

刘德云,苟 欣,蒲晓峰

(重庆医科大学附属第一医院泌尿外科,重庆 400016)

【摘 要】目的:观察糖尿病(Diabetes mellitus,DM)勃起功能障碍(Erectile dysfunction,ED)大鼠的阴茎海绵体的氧自由基(Oxygen free radical,OFR),抗氧化水平的变化,并在电镜下观察其形态学变化,进一步探讨糖尿病勃起功能障碍(Diabetes mellitus induced erectile dysfunction,DMED)发病机制。方法:通过链脲佐菌素(Streptozotocin,STZ)诱导的 DMED 大鼠模型,成模后饲养 12 周,将动物麻醉后,取其阴茎海绵体进行氧自由基,抗氧化水平等的相关指标测定,并在电镜下观察其超微结构改变。结果:DMED 组的氧自由基明显增多,抗氧化水平显著降低,电镜下观察到海绵体平滑肌及血管内皮粗糙、断裂,毛细血管见血栓形成,线粒体肿胀,扩张,成纤维细胞活化,神经纤维髓鞘变性且与对照组等有明显差异。结论:在糖尿病 ED 中,因氧自由基损伤,抗氧化水平降低,致海绵体组织超微结构改变:平滑肌内皮,血管内皮,神经纤维,线粒体损伤加重并且它们有明显相关性。是 DMED 的发病机制之一,提示使用氧自由基清除剂,可减轻海绵体组织超微结构改变并改善其阴茎的勃起功能,为 DMED 的治疗提供又一新的途径。

【关键词】糖尿病;大鼠;勃起功能障碍;氧自由基;超微结构

【中国图书分类法分类号】R698.1 【文献标识码】A 【收稿日期】2007-10-12

Oxygen free radical damage and it's effect on ultrastructure result in erection dysfunction on diabetes mellitus rat

LIU De-yun,et al

(*Department of Urinary Surgery,the First Affiliated Hospital,Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*:To observe the change of the oxygen free radical and antioxygen level that existed in cavernous body of penis of diabetus mellitus(DM) rat with erection dysfunction(ED),and observe the morphology change on the electron microscope to probe into the nosogenesis of DMED. *Methods*:To make the DMED model on rat by streptozotocin,breed for 12 weeks after it,then to determin the indexes about oxygen free radical and antioxygen level and ultrastructure of cavernous smooth muscle after anesthetize. *Results*:The level of oxygen free radical increased and antioxygen decreased,the blood capillary thrombogenesised,the chondriosome swelled and distend,the desmocyte activated,the nerve fiber medullary sheath degenerated,all those were observed in the DMED group,and had significant different with control group. *Conclusion*:The change of ultrastructure occurred in DMED rat induced by the oxygen free radical damage and decrease of antioxygen level,it has associativity with the aggravation of smooth muscle endodermis,the blood vessel endothelium,the nerve fiber and the chondriosome,it's ONE OF the nosogenesis of DMED.And it suggested to use oxygen free radical scavenger may be relieve the change of ultrastructure and ED,it may be supply anthoer therapy pathway for DMED.

【Key words】 Diabetes mellitus;Rat;Erection dysfunction;Oxygen free radical;Ultrastructure

DM 是临床常见的内分泌疾病之一,发病率在逐年上升,ED 是其重要并发症之一。ED 是指多种原因造成的阴茎海绵体血液充盈不足,致阴茎不能达到和维持正常勃起,以完成满意性交。在糖尿病人群中,各国报道 DMED 的发病率多为 20%~75%,沙特阿拉伯则高达 86.1%[1]。且随着年龄增大,发病率增加,超过 50%的男性糖尿病患者在诊断糖尿病后 10 年会发生 ED。部分糖尿病患者首发症状即为 ED,引起人们越来越多关注。近年来,关于 DMED的机制仍不十分清楚,目前认为:血管组织改变是糖尿病 ED 的病理

作者介绍:刘德云(1967-),男,硕士,
研究方向:腔内泌尿外科及男性学。

重庆维普 http://www.cqvip.com

学基础,神经病变及神经递质的改变是糖尿病 ED发病的中心环节,内分泌改变是糖尿病 ED 的促进因素。阴茎主要存在 PDE-5,通过抑制 NO-cGMP 起作用,PDE-5 抑制剂西地拉非 Viagra,伐地拉非等成为治疗 ED 的一线药物,但 NO 在阴茎海绵体与其它组织其数量,作用机理尚不完全清楚,且临床上有相当一部分患者使用 PDE-5 抑制剂其疗效并不满意。Vickers 等[2]较大范围内的调查表明应用西地拉非治疗糖尿病性 ED 有效率为 56%。国内黄淑妍等[3]认为也仅有半数的糖尿病性 ED 用PDE-5 抑制剂有效,说明糖尿病损害 L-Arg-NO 通路是糖尿病 ED 的重要原因。但还有其它机制存在。目前国内对 DMED 阴茎海绵体的氧自由基,抗氧化水平,尤其是对其海绵体超微结构研究文献罕有报道。

我们采用 STZ 诱导糖尿病大鼠模型,观察DMED 的阴茎海绵体组织的氧自由基和抗氧化水平,海绵体组织超微结构的变化并研究其相关性,进一步探讨 DMED 的发病机制。

1 材料与方法

1.1 动物,主要试剂及仪器

纯系成年 SD 大鼠 75 只,体重(200 ± 20)g,由重庆医科大学动物中心提供,链脲佐菌素(STZ,美国 Sigma 公司)。丙二醛(Malondialdehyde,MAD),和超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase,SOD),谷胱甘肽(Glutathione,GSH),谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione peroxidase,GSH-px)试剂盒(南京建成生物工程研究所),电镜为美国透射电镜。

1.2 动物分组,饲养及模型制作

大鼠随机分组,正常对照组 15,造模组 60 只,造模组 60 只注射 STZ,其中未发生 DM 者为药物对照组 16 只,成模且存活者为糖尿病组 35 只,成模后死亡 9 只。制作方法:注射药物前禁食 12 h,自由饮水,称体重,测血糖。造模组以 50mg/kg 腹腔注射 STZ(STZ 用生理盐水配置,现用现配);对照组注射等量 0.9%生理盐水。注射后 72 h 开始检测血糖,血糖浓度≥16.67mmol/L、进食量及尿量明显高于 NDM 组、体重逐渐下降且持续 3 周以上即为造模成功。制模后每隔 1 周检测血糖并称体重 1 次,共饲养 12 周。实验期间动物自由饮食,不使用胰岛素及其他降糖药物。而后在糖尿病组中使用阿朴吗啡(Apomorphine,APO,Sigma 公司)选择出 ED 大鼠 17 只。具体方法:应用 APO 试验筛选,称重后将大鼠放在观察箱中,适应环境 10min,室内保持安静,灯光调暗,然后在大鼠颈项皮下注射 APO 80μg/kg,观察 30min,并记录阴茎有无勃起、阴茎勃起次数。龟头充血及末端阴茎体出现为 1 次阴茎勃起。勃起次数大于或等于 1 次的,认为是勃起试验阳性;勃起次数为 0 的,认为是勃起试验阴性[4]。糖尿病大鼠实验期间表现出多饮、多食、尿量明显增加、体重逐渐下降等症状,与对照组相比,动作明显迟缓,懒惰,无进攻性,易感染,归为 DM 组。16 只大鼠注射 STZ 后,血糖轻微波动,1 周后恢复正常,归为 STZ 组。对照组与 STZ 组大鼠体重进行性增加,饮食正常。

1.3 标本采集

12 周腹腔麻醉动物后取阴茎海绵体组织迅速 -80℃保存冻存备用。电镜材料取样后立即固定并送检。

1.4 海绵体组织氧自由基测定

1.5 海绵体组织抗氧化水平的测定

1.6 海绵体组织电镜下超微结构的改变

1.7 统计学处理

MAD 含量,SOD,GSH,GSH-px 含量数据结果以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,用 SAS8.1 软件处理,经正态性检验和方差齐性检验而后分别用 K-W 检验和 Wilcomon 或 SNK-q 分析处理作两两比较,$P<0.001$ 为差异有显著性意义。

2 结 果

在氧化水平上,DMED 组与正常对照组、STZ 药

表 1 海绵体组织氧自由基丙二醛(nmol/mg prot)活性的变化

	正常对照组	STZ 药物组	DM 组	ED 组
海绵体组织	3.138 ± 0.639	3.666 ± 0.581	4.912 ± 0.881	11.716 ± 2.712

表 2 海绵体组织抗氧化水平(SOD,GSH,GST,GST-px)的变化

	SOD(U/mg prot)	GSH(mg/g prot)	GSH-px(U/mg prot)
正常组	103.324 ± 10.791	48.496 0 ± 3.482	307.888 ± 18.833
STZ 药物组	98.813 ± 14.236	46.030 7 ± 4.537	281.290 ± 24.342
DM 组	95.934 ± 14.235	34.066 7 ± 3.613	266.829 ± 30.555
ED 组	61.180 ± 18.798	24.372 7 ± 2.043	174.396 ± 23.924

重庆维普 http://www.cqvip.com

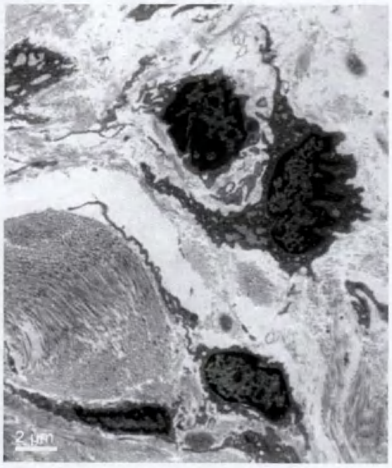


图 1 DMED 组,5 000 倍,成纤维细胞活化

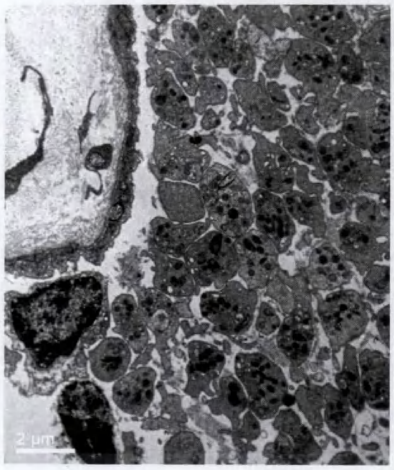


图 2 DMED 组,7 000 倍毛细血管血栓形成

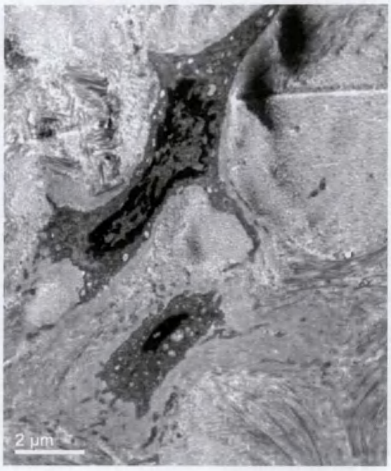


图 3 DMED 组,8 000 倍,成纤维细胞滑面内质网扩张

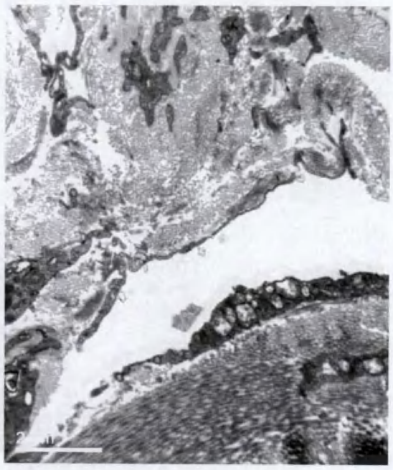


图 4 DMED 组,10 000 倍,内皮细胞破裂,线粒体肿胀

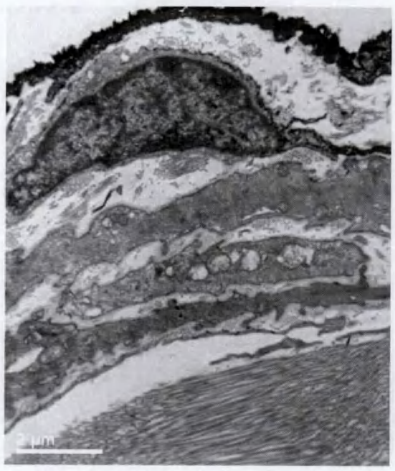


图 5 DMED 组,1 000 倍,平滑肌细胞线粒体肿胀,空化

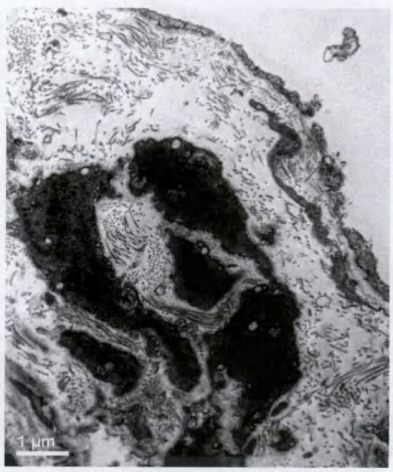


图 6 DMED 组,12 000 倍,平滑肌细胞内皮断裂

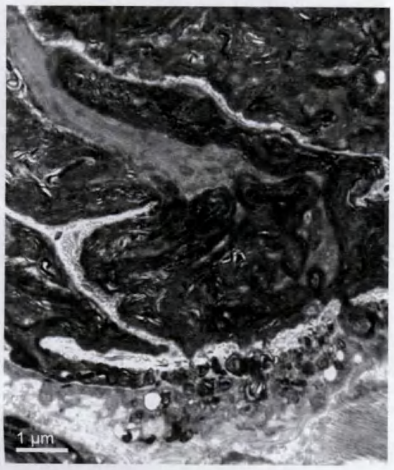


图 7 DMED 组,12 000 倍,神经纤维髓鞘变性(waller)

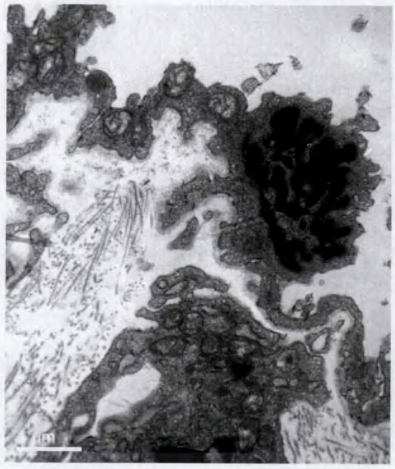


图 8 DMED 组,15 000 倍,血管内皮粗糙

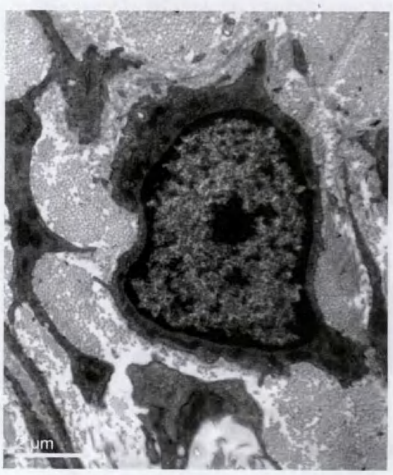


图 9 糖尿病组,7 000 倍,阴茎平滑肌细胞形态正常,成纤维细胞线粒体肿胀体扩张

重庆维普 http://www.cqvip.com

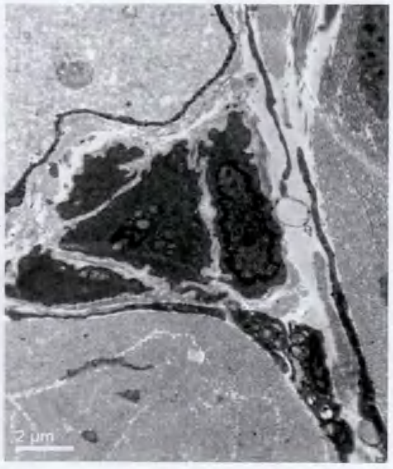


图 10 糖尿病组,10 000 倍,平滑细胞线粒体扩张

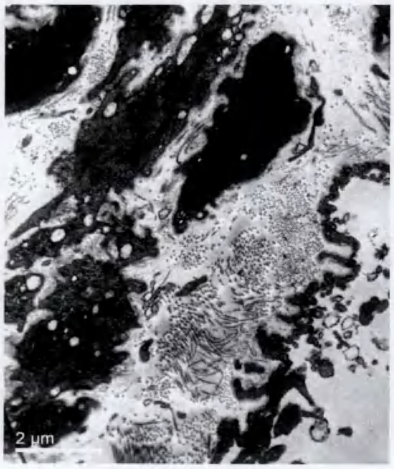


图 11 STZ 对照组,10 000 倍,阴茎平滑肌细胞正常

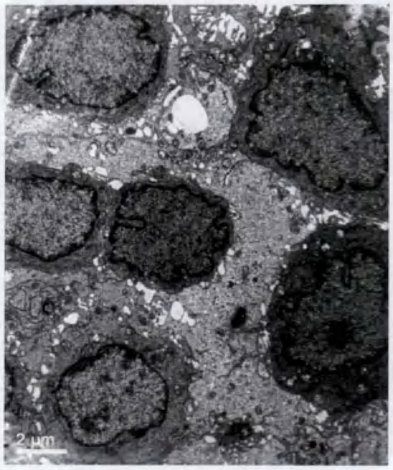


图 12 正常对照组,6 000 倍,平滑肌细胞形态正常

物对照组、糖尿病组比较MAD含量有显著差异(χ^2=47.517, P<0.001)。各组 MAD 见表 1。

ED 海绵体组织组抗氧化水平与正常对照组、STZ药物组、糖尿病组比较有显著差异(GSH:F=150.42, P<0.001;GSH-px:F=82.33, P<0.001;SOD:F=23.99, P<0.001),各组抗氧化水平(SOD,GSH,GST-px)见表 2。

在超微结构改变上,本次实验电镜观察结果显示:DMED 组大鼠海绵体组织超微结构改变,海绵体平滑肌内皮断裂,血管内皮粗糙,毛细血管内血栓形成,线粒体肿胀,扩张,成纤维细胞活化,神经纤维髓鞘变性,而糖尿病组仅仅有部分类似改变,正常组和药物对照组无明确类似改变,存在有显著差异。见图 1~12。

3 讨 论

STZ 已经被广泛用于糖尿病动物模型的制备[5]。APO 是一种多巴胺能受体激动剂,能刺激多巴胺受体,动物实验证实低剂量 APO 可通过下丘脑室旁核处的多巴胺受体引起阴茎勃起、伸身及打呵欠综合征(Penile erection stretching and yawning syndrome, PFASYS)。Danjou 等的实验发现 APO 能引起正常自愿男子勃起。Heaton 等报道注射 APO 可引起正常大鼠 100%的阴茎勃起,可作为评价阴茎勃起功能的理想生物指标[6]。

OFR 是有高度化学反应活性的含氧基团。自由基性质不稳定,寿命短,浓度低,在生理条件下,生物体内氧自由基不断产生,也在不断地被清除,处于平衡状态下的氧自由基的浓度是极低的。目前 OFR 可能通过以下途径致病:①组织细胞缺血、缺氧时,或 OFR 清除剂活性降低或失活,引起 OFR 生成增多,与细胞膜上的酶类、蛋白质、核酸等结合,造成细胞破坏,产生脂质过氧化产物。②OFR 与细胞膜上的磷脂结合,破坏细胞膜的流动性和通透性,破坏酶和受体的功能,形成新的离子通道,使 Ca^{2+} 大量内流,造成细胞内 Ca^{2+} 超载,使线粒体和溶酶体破坏,造成细胞死亡。③过氧化脂质与蛋白质作用,使胞质与膜蛋白发生交连,形成二聚蛋白或多聚蛋白,使其结构改变,影响其活性[7]。DM 是多种因素引起的,以高血糖为特征的代谢性疾病,表现为一组综合征,包括机体自由基含量及相关酶活性的变化。

DM 由于长期高血糖,糖基化反应增强,并且多元醇代谢通路机能亢进,使机体的自由基产生增多,过多的自由基攻击生物膜中的多价不饱和脂肪酸引起脂质过氧化而形成脂质过氧化物(LPO),后者分解为 MDA,其含量可反映机体内脂质过氧化的程度,从而间接反映机体细胞受氧自由基攻击的严重程度。然而,机体内存在一清除自由基的防御体系,从而保护细胞免受氧自由基的损伤。抗氧化防御系统,包括抗氧化酶和抗氧化剂:一是酯类,如 SOD,GSH-px。二是抗氧化剂类,如 VE,谷胱甘肽 GSH,皮质激素等。SOD 是人体最重要的氧自由基清除剂。SOD 活力的高低间接反应了机体清除氧自由基的能力,SOD 和 GSH-px 是两种广泛存在的抗氧化酶,SOD 可催化超氧阴离子自由基(O^{2-})歧化为 H_2O_2 和 O_2,

重庆维普 http://www.cqvip.com

GSH-px 有清除有机氢过氧化物的能力，GSH 在 GST 及 GSH-px 协同作用下能够还原 H_2O_2 过氧化脂质，二硫化物及某些自由基是机体内另一套解毒系统，相关研究表明，GSH 不仅对外源性物质起解毒作用，而且能够抵抗氧应激及放射性损伤。Cartledge 等体外实验证实，SOD 和海绵体共孵育后，可减轻糖化血红蛋白，对海绵体舒张功能的削弱反应。推测其原因可能是 SOD 清除了更多的氧自由基后，海绵体舒张功能得到了改善，DM 长期高血糖状态下引起的蛋白质糖化抑制自由基的清除：高血糖可与 SOD 活性中心的赖氨酸结合，产生糖化反应，使 SOD 活性下降；高血糖又可使 GSH 合成酶糖化，SOD、GSH-Px 分子发生了非酶性糖基化而致活性降低，对机体自由基的清除减少[8]。最近的研究证实高浓度血糖能导致内皮细胞内过氧化、氧自由基生成增加，造成膜蛋白及脂质过氧化，氧化的低密度脂蛋白等增加，使膜完整性受损而通透性增加，因而内皮细胞的紧密连接受损，通透性增加，有利于大分子物质如血白蛋、免疫球蛋白，通过内皮到基膜而沉积在基膜。另外，因胰岛素缺乏，糖利用减少。ATP 生成减少，能量供应不足也使 Na^+、K^+-ATP 酶活性下降，细胞内 Na^+ 增加，细胞内渗透压升高，水进入细胞内增加而导致细胞肿胀受损。本研究显示氧自由基致阴茎海绵体平滑肌内皮及血管内皮细胞线粒体，扩张，水肿，空化。平滑肌内皮及血管内皮粗糙，断裂。同时，DM 大鼠血糖持续升高。红细胞膜和血红蛋白被糖化，加之血红蛋白内的 2、3- 二磷酸甘油酸降低、均使其携氧、释氧能力减低，由此导致血管内皮细胞缺血、缺氧及损伤，并激活凝血系统。该研究显示海绵体组织中毛细血管有微血栓形成。微血栓形成进一步致组织缺氧，成纤维细胞活化，该组实验即观察到有大量成纤维细胞活化，也可能是DMED 的原因之一。神经组织是体内脂类含量最丰富的组织之一神经组织是体内脂类含量最丰富的组织之一。其脂类含量是神经组织固体成分的一半以上(54%)，因此极易受氧自由基的攻击，影响神经功能。氧自由基引起的脂质过氧化使 Na^+-K^+-ATP 酶活性降低，使细胞跨膜Na+ 梯度减少。而这一梯度的存在对维持神经冲动的诱导十分重要。Na^+-K^+-ATP 酶活性下降还可以损害神经组织 Na^+ 依赖性氨基酸的转运，可能是糖尿病时神经结构与功能障碍的原因之一[9]。长期高血糖状态，神经髓鞘蛋白和微管蛋白糖化显著增加，糖基化作用产物糖胺自身氧化，产生 OFR，另外，高血糖使血粘度增高，组织缺氧，OFR 产生更多，OFR 可发生氧化，导致血管内皮损伤，减少一氧化氮的血管舒张作用。内皮细胞产生许多细胞因子，如转移生长因子 -β、血管内皮生长因子、肿瘤坏死因子 -α 等，使神经滋养血管异常，管腔内脂肪和多糖类物质沉积，血小板凝块，也促使海绵体神经受损。NeundoHer 等利用自主神症状的问卷进行调查，结果表明 DMED 病人，神经性 ED 病人神经病变的差异无统计学意义，说明 DMED 神经病变和神经性 ED 病人神经病变相类似。该实验观察到 DMED 大鼠神经纤维髓鞘变性和普通变性无差异。阴茎勃起是在神经支配下的血管充盈过程，神经功能障碍必然影响阴茎勃起的启动，本研究进一步表明糖尿病海绵体神经病变的原因之一氧自由基损伤与 ED 密切相关。

此外，氧自由基和抗氧化水平与 NO 也有密切的关系，NO 是一种具有双重作用的免疫分子，和炎症介质，有较强的生物活性，NO 对细胞既有保护作用，又有杀伤毒性与促进炎症的双重作用，生理浓度时，有免疫防御作用，过多则抑制线粒体呼吸，产生大量自由基，NO 通过细胞内铁的释放，阻断线粒体功能，阻碍 DNA 的合成，抑制蛋白质合成，从而使细胞凋亡。有文献报道，由 L- 精氨酸在 NOS 的作用下生成 NO，NOS 是组织中合成 NO 的限速酶，NO 下降可能与 NOS 活力下降及氧自由基增多有关。现也有人研究认为糖尿病患者体内 NO 生成增加，是因为血管内皮细胞在高糖的作用下，氧自由基生成过多，同时自由基清除能力减弱，激活巨噬细胞合成 NO 增多，同时氧自由基生成增多，导致 NO 失活，机体代偿产生更多的 NO 但其血管内皮功能是减低的。因损伤的内皮细胞对 NO 反应减弱，从而导致血管内皮依赖性舒张功能减退[10]。

综上所述，本次实验说明在勃起功能障碍发生中，氧自由基 MAD 明显增多，抗氧化水平 SOD、GSH-px，活力和 GSH 下降，脂质过氧化反应明显增强，抗氧化能力明显减弱，致阴茎海绵体超微结构改变：海绵体平滑肌内皮断裂，血管内皮粗糙，毛细血管内血栓形成，线粒体肿胀，扩张，成纤维细胞活化，神经纤维髓鞘变性，而糖尿病组仅仅有少部分的类似改变，正常组和药物对照组无明确类似改变，存在有显著差异。说明糖尿病随着病程延长，病情加重，氧自由基增多，清除下降，海绵体细胞超微结构改变，是影响海绵体平滑肌组织勃起的原因之一，是糖尿病

(下转第 1083 页)

重庆维普 http://www.cqvip.com

的显著优点。而 siRNAs 的设计是根据 Reynolds 的干扰 RNA 设计原则 [12]，运用体外转录合成针对 survivin 的 siRNA 成功地抑制了人肾癌 786-O 细胞株中的 survivin 基因的表达。Survivin 对细胞凋亡有调节作用，本实验 MTT 结果显示转染特异性 siRNA后，S1 和 S3 组的吸光度明显低于其他 3 组，提示阻断survivin 基因表达后抑制了细胞的增殖。运用RT-PCR 检测转染特异性 S1、S3 siRNA 48h 后即出现 survivin mRNA 的沉默。在转染 S2、非特异性的 siRNA及未转染的细胞中 survivin mRNA 仍持续表达。用Western blot 同样检测到了转染特异性 S1、S3 siRNA 72h 后即出现 Survivin 蛋白的下调，与转染后 mRNA 的改变一致，在转染 S2、非特异性的 siRNA 及未转染的细胞中 Survivin 蛋白未见改变。可见，体外转录合成的 siRNA 能有效干扰目的基因，本实验中 survivin2 干扰效果不明显，可能是由于干扰片段属内含子或编码区空间构象被遮盖等问题。

本研究结果显示，体外转录合成的 siRNA 可转染肾癌 786-O 细胞并抑制功能基因的表达。可见，RNAi 的方法能成功的沉默人肾癌中的 survivin 基因，这为今后研究 survivin 在肾癌中的作用机制及其途径提供了良好的基础。

参 考 文 献

[1] Ambrosini G, Adida C, Altieri DC. A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma[J]. Nat Med, 1997; 3(8): 917-921.

[2] Lin PY, Fosmire SP, Park SH, et al. Attenuation of PTEN increases p21 stability and cytosolic localization in kidney cancer cells: a potential mechanism of apoptosis resistance[J]. Mol Cancer, 2007; 6(72): 16.

[3] Pan J, Mestas J, Burdick MD, et al. Stromal derived factor-1 (SDF-1/CXCL12) and CXCR4 in renal cell carcinoma metastasis[J]. Mol Cancer, 2006; 5(58): 56.

[4] Hannon GJ. RNA interference[J]. Nature, 2002; 418(6894): 244-251.

[5] 焉杰克，徐忠华，王洪伟，等. 凋亡抑制因子 Survivin 在肾癌中的表达及意义[J]. 现代泌尿外科杂志，2007; 12(5): 284-286.

[6] Atrick C, Walsh M D. 坎贝尔泌尿外科学[M]. 北京科学出版社，2001.2292.

[7] Lee JW, Bae SH, Jeong JW, et al. Hypoxia-inducihle factor (HIF-1) alpha: its protein stability and biological functions[J]. Exp Mol Med, 2004; 36(1): 1-12.

[8] Hirota E, Yan L, Tsunoda T, et al. Genome-wide gene expression profiles of clear cell renal cell carcinoma: identification of molecular targets for treatment of renal cell carcinoma[J]. Int J Oncol, 2006; 29(4): 799-827.

[9] Fire A, Xu S, Montgomery MK, et al. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in Caenorhabditis elegans[J]. Nature, 1998; 391(6669): 806-811.

[10] Elbashir SM, Lendeckel W, Tuschl T, et al. Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in culture mammalian cells[J]. Nature, 2001; 411(6836): 494-508.

[11] Liu T, Brouha B, Grossman D. Rapid induction of mitochondrial events and caspase-independent apoptosis in Survivin-targeted melanoma cells[J]. Oncogene, 2004; 23(1): 39-48.

[12] Reynolds A, Leake D, Boese Q, et al. Rational siRNA design for RNA interference[M]. Nat Biotechnol, 2004; 22(9): 326-330.

(责任编辑：冉明会)

(上接第 1046 页)

性 ED 发生的一个重要机制。提示：老年性糖尿病ED 时可使用氧自由基清除剂，减轻海绵体超微结构改变以及改善海绵体血管内皮依赖性舒张功能达到近期和远期改善海绵体勃起能。

参 考 文 献

[1] El-Sakka AI, Tayeb KA. Ectile dysfunction risk factors in noninsulin dependont diabetic Saudi patients[J]. J Urol, 2003; 169(3): 1043-1047.

[2] Yananaka M, Shirai M, Shiina H, et al. Diabetes induced erectile dysfunction and apo-ptosis in penile crura are recovered by insulin treatment in rats[J]. Jurol, 2003; 170(1): 291-297.

[3] 黄淑妍. 糖尿病性勃起功能障碍研究进展[J]. 中华男科学杂志，2006; 12(2): 178.

[4] 陈 贇，戴玉田，孙则禹，等. 糖尿病性勃起功能障碍多因素发病机制研究[J]. 南京大学学报(自然科学)，2006; 42(5): 464.

[5] 柳其中，龚同欣. 糖尿病大鼠阴茎组织细胞凋亡的研究[J]. 中化男科学杂志，2004; 18(2): 35-36.

[6] 黎英荣，汪恕萍. 糖尿病大鼠阴茎勃起功能的变化及胰岛素的治疗作用[J]. 重庆医科大学学报，2002; 27(2): 142-144.

[7] 孙 蓉，孙 玲，刘持年. 川芎抗氧化的研究进展和应用前景[J]. 中国新医药，2003; 2(9): 42.

[8] 雷康福，陈秀芳，董 敏. L-精氨酸对糖尿病大鼠肾脏、大脑、睾丸氧自由基和抗氧化水平的影响[J]. 中国老年学杂志，2005; 25(8): 936.

[9] 程赣萍，王桥根，应卫婵，等. 依达拉奉治疗糖尿病周围神经病变临床观察[J]. 中国药物与临床，2006; 6(1): 75.

[10] 王少莲，陈 丽. 糖尿病血清一氧化氮与血管内皮依赖性舒张功能的关系[J]. 中华中西医学杂志，2005; 3(6): 19.

(责任编辑：冉明会)