

· 论 著 ·

自由基损伤红细胞引起的大鼠脑微血管功能障碍及硒的保护作用*

段重高 李宏伟 张 坚 黄益民 刘 舒 刘燕霞 刘丹晶 修瑞娟

【摘要】 目的 研究大鼠颈静脉回输自由基损伤红细胞所致的脑微血管功能障碍及硒的保护作用。方法 采用 Fenton 羟自由基体系 Haber - Weiss 反应体外造成红细胞损伤,激光衍射法测定红细胞变形性表示其损伤程度。应用荧光标记和微循环数字图像处理技术分别检测对照组、自由基损伤组和硒保护组脑微血管管径、微血管自律运动、红细胞流速及微血管通透性的变化。结果 自由基损伤导致红细胞变形性降低 35%,硒保护组红细胞变形性仅降低 15%。脑微循环检测显示自由基损伤组微血管管径变小。微动脉管径变化较明显,5min 达高峰,约 30min 恢复正常水平;微静脉管径变化较缓慢,10min 达高峰,约 60min 恢复;微血管自律运动紊乱,微动脉较明显;红细胞流速明显减慢,5min 时微动脉、微静脉内红细胞速度分别减慢 31%和 35%;微血管通透性增加,5min 时微动脉、微静脉通透性分别增加 25%和 34%。硒保护组上述指标均无显著性变化($P > 0.05$)。结论 自由基损伤的红细胞可引起大鼠脑微血管功能障碍,微量元素硒有一定保护作用。

【关键词】 硒 红细胞 脑 微循环

The Protective Effect of Selenium on Cerebral Microcirculatory Disturbance Induced by Free Radical - injured Erythrocyte in Rats

Duan Chonggao, Li Hongwei, Zhang Jian, et al. Institute of Microcirculation, CAMS & PUMC, Beijing 100005

【Abstract】 Objective To find out if selenium has protective effect on cerebral microcirculatory disturbance induced by free radical - injured erythrocyte. **Methods** Haber - Weiss reaction of Fenton system was used in vitro for producing hydroxy free radical, and then injured erythrocyte was made and transfused back into the same rat. In the selenium protective group, 10 μ g selenium was added into the above reactive system. The degree of erythrocyte injury was demonstrated by erythrocyte deformability, using ektacytometry methods. Microvessel diameter, vasomotion, erythrocyte flow velocity and microvascular permeability were measured using MCIP dynamic digital image analysis system. **Results** The results showed that erythrocyte deformability was 35% lower in the free radical - injured erythrocyte group, while in the organic Se group, there was only 15% decrease, and in inorganic Se group, the decrease was 20%. Perfusion of free radical - injured erythrocyte back into the rat caused significant cerebral microcirculatory disturbance: microvessels contracted and the decrease of arteriole diameter reached its peak after 5 min, recovered gradually to normal in 30 min. The reaction and recovery of venule diameter occurred slower, with its peak of constricting at 10 min and recovery in about 1 hour. Vasomotion disorder was found in arteriole. The flow velocity of erythrocyte in microvessel decreased significantly and the microvascular permeability was increased. There was no change in microvessel diameter, vasomotion, permeability and velocity of erythrocyte in the control group with re - perfusion of normal erythrocyte and in the injured erythrocyte group with selenium protection ($P > 0.05$). **Conclusion** This study revealed that free radical - injured erythrocyte could cause cerebral microcirculatory disturbance and Selenium has protective effect on it.

【Key words】 Selenium RBC Brain Microcirculation

体外循环心内直视手术的病人在术中心肌缺血/

再灌注期间,心肌组织产生并释放大量自由基,通过攻击红细胞膜蛋白和脂质分子造成红细胞膜流变性降低,影响器官微循环^[1]。为了探讨自由基损伤的红细胞对大鼠脑微血管功能的影响及微量元素硒有无保

* 国家自然科学基金(39270199),北京自然科学基金(7942013)资助项目

作者单位:100005,北京市,中国医学科学院,中国协和医科大学微循环研究所(段重高,李宏伟,张坚,修瑞娟);北京心肺疾病研究所(黄益民,刘舒,刘燕霞,刘丹晶)

护作用,我们将实验大白鼠分为自由基损伤组和硒保护组,对其脑微血管管径动态变化特征、自律运动、通透性及红细胞流速进行了连续观察和定量检测。

材料与方法

1 自由基体系 选用羟自由基体系(Fenton 体系 Haber - Weiss 反应)。按照 0.5:1:1.5 的容积比将 3% H₂O₂、450μmol/L 的 FeSO₄ 和 1.8% 的 NaCl 混合配制成等渗、pH7.0 的羟自由基体系。分别在体系配制后的即刻、10min、30min 和 1h 用自旋捕捉剂 DMPO(5,5-Dimethyl-1-Pyrroline-N-Oxide, Sigma 公司)捕捉自由基,用电子自旋共振波谱仪(ESR, Bruker ER-200D)测定自由基水平,证明羟自由基体系配制后即刻产生大量自由基,1h 内浓度保持不变。

2 红细胞悬液配制 经颈动脉插管取血 5ml,肝素抗凝,离心获取新鲜红细胞。将之用 3% 牛血清白蛋白 PBS 清洗两遍,再悬浮于此液中配成压积 40% 的正常红细胞悬浮液;将新鲜红细胞与上述自由基体系在室温下作用 30min,再用 3% 牛血清白蛋白 PBS 清洗两遍,悬浮于此液中即配成自由基损伤红细胞悬浮液;硒保护红细胞悬浮液的配制是在自由基体系开始作用的同时加入 10μg 有机硒(硒力口服液,硒力药业公司产品)或无机硒(亚硒酸钠)。用激光衍射法测定红细胞变形性,表示红细胞损伤程度。

3 大鼠脑微血管功能参数的检测 3.1 实验动物分组及模型制备:Wistar 健康雄性大鼠 48 只,体重 200~250g,由中国医学科学院基础医学研究所动物室提供。随机分为正常红细胞对照组、自由基损伤红细胞组、有机和无机硒保护组共 4 组,每组 12 只。实验室温度控制在 20~26℃,麻醉用乌拉坦 100mg/100g 皮下注射。颈静脉插管作给药及输入红细胞用,颈动脉插管作取血用。为观测脑循环,采用开放式颅骨窗技术^[2]。动物卧位固定于特制手术台上,颅顶部局部消毒后打开皮肤,暴露颅顶骨。用颅骨钻将颅顶骨小心打开一直径 4mm 的圆窗,用眼科剪小心将窗内的硬脑膜剪除,暴露出软脑膜。在实验过程中,连续滴注 pH7.4、37℃ 的人工脑脊液。3.2 脑微血管功能参数的检测:将麻醉动物置于微循环显微镜下,连接摄像系统,稳定 30min 后对脑表面微血管观测和录像。正常微循环录像 5min;用对照红细胞悬液换血 5ml(经颈静脉缓慢注入正常红细胞悬液 5ml,同时由颈动脉等速抽血 5ml),录像 15min;然后,自由基损伤红细胞组用自由基损伤红细胞混悬液换血 5ml、有机和无机硒保护组分别用有

机硒和无机硒保护红细胞混悬液换血 5ml,每组分别录像 30min。最后回放录像带,用 MCIP 微循环图像分析处理系统定量测定脑微血管管径动态变化及红细胞流速^[3]。检测脑微血管通透性时经颈静脉注射异硫羟基荧光黄标记右旋糖酐(FITC-D, MW 50,700 Sigma 公司)1% 水溶液 1ml/100g 体重,在荧光显微镜下观测并连接摄像录像系统。应用生物医学图像处理系统(WinMIP,美国 BMCS R & D 公司)测量,计量微血管壁外侧的荧光灰度值(共分 255 级)作为荧光渗出的相对量。

结果

1 自由基对红细胞的损伤作用 配制的正常红细胞悬液中红细胞变形性与全血中的红细胞相同;自由基损伤红细胞变形性比正常红细胞降低 35%;有机硒组和无机硒组红细胞变形性分别降低 15% 和 20%。以上结果说明自由基可损伤红细胞,降低其流变性;微量元素硒对这种损伤具有一定的保护作用。

2 自由基损伤红细胞对大鼠脑微血管功能的影响

2.1 对微血管管径的影响 大鼠微动脉及微静脉管径在输入正常红细胞悬浮液后连续观测 15min 与输入前比没有改变;在输入自由基损伤红细胞悬浮液后微动脉和微静脉立即发生收缩反应。微动脉收缩 5min 达高峰,然后逐渐恢复,约 30min 恢复正常;微静脉收缩反应较慢,恢复也较慢,10min 达高峰,约 1h 恢复正常。输入有机硒或无机硒保护红细胞悬浮液后,微动脉及微静脉管径与输入正常红细胞悬浮液比无显著变化。说明自由基损伤红细胞可刺激大鼠脑微血管的收缩,影响脑微循环灌注,微量元素硒对这种不良影响有保护作用。见表 1。

2.2 对红细胞流速的影响 输入正常红细胞悬浮液后微静脉内红细胞流速无变化,但微动脉内红细胞流速有所增快,这可能是由于输入的贫氧红细胞悬浮液所致的一过性反应。当输入自由基损伤红细胞悬浮液后,微动脉及微静脉内红细胞流速均明显减慢,5min 达到最低点,微动脉内红细胞流速约 30min 恢复正常,而微静脉内红细胞流速需 60min 才能恢复。硒对自由基损伤红细胞悬浮液所致的红细胞流速减慢也有明显的保护作用。见表 2。

2.3 对微血管自律运动的影响 正常情况下大鼠脑微血管自律运动的振幅和频率比较规律和恒定,输入自由基损伤红细胞悬浮液可打乱其规律性,硒对这种紊乱自律运动的作用也有一定保护作用。见图 1。

表1 自由基损伤红细胞对大鼠脑微血管管径的影响及硒的保护作用($\mu\text{m}, \bar{x} \pm s$)

| 分 组 | 输入前 | 输 入 后 (min) | | | | | |
|------------|------------|-------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------|
| | | 1 | 5 | 10 | 15 | 20 | 30 |
| 微动脉 | | | | | | | |
| 正常组 | 38.7 ±16.6 | 36.3 ±15.5 | 37.8 ±14.3 | 37.9 ±12.3 | 38.6 ±12.4 | | |
| 损伤组 | 38.6 ±12.4 | 31.5 ±14.9 | 28.7 ±15.0 [*] | 30.9 ±13.0 | 33.0 ±14.6 | 34.1 ±16.7 | 30.7 ±13.8 |
| 有机硒组 | 20.9 ±7.83 | 19.5 ±8.07 | 18.9 ±6.78 | 20.2 ±6.87 | 22.2 ±6.25 | 23.4 ±6.73 | 21.3 ±7.82 |
| 无机硒组 | 30.4 ±6.25 | 28.7 ±8.21 | 28.4 ±9.36 | 27.2 ±7.20 | 30.5 ±9.34 | 34.5 ±11.4 | 34.9 ±13.0 |
| 微静脉 | | | | | | | |
| 正常组 | 36.0 ±16.6 | 32.4 ±18.7 | 35.6 ±16.8 | 35.2 ±15.7 | 35.8 ±15.7 | | |
| 损伤组 | 35.8 ±15.7 | 32.0 ±14.1 | 25.3 ±16.0 [*] | 23.2 ±14.3 [*] | 25.4 ±13.8 [*] | 25.6 ±16.9 [*] | 27.2 ±17.6 |
| 有机硒组 | 30.6 ±15.7 | 28.3 ±16.9 | 30.1 ±16.9 | 29.5 ±14.3 | 30.2 ±16.5 | 29.5 ±16.2 | 30.5 ±16.4 |
| 无机硒组 | 30.4 ±6.3 | 28.7 ±8.2 | 28.4 ±9.4 | 27.2 ±7.2 | 30.5 ±9.3 | 34.5 ±11.4 | 34.8 ±13.0 |

与正常对照组比 * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

表2 自由基损伤红细胞对大鼠脑微血管内红细胞流速的影响及硒的保护作用($\mu\text{m}/\text{s}, \bar{x} \pm s$)

| 分 组 | 输入前 | 输 入 后 (min) | | | | | |
|-------------|-----------|------------------------|-------------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|
| | | 1 | 5 | 10 | 15 | 20 | 30 |
| 微动脉内 | | | | | | | |
| 正常组 | 988 ±186 | 1037 ±114 | 1128 ±148 | 1112 ±248 | 1169 ±207 [*] | | |
| 损伤组 | 1169 ±207 | 916 ±272 ^{**} | 806 ±302 ^{***} | 967 ±322 [*] | 1073 ±312 [*] | 995 ±287 [*] | 998 ±304 |
| 有机硒组 | 1210 ±152 | 1123 ±162 | 1206 ±160 | 1271 ±198 | 1311 ±173 | 1264 ±162 | 1296 ±151 |
| 无机硒组 | 1168 ±162 | 1173 ±227 | 1141 ±283 | 1195 ±331 | 1268 ±218 | 1275 ±235 | 1437 ±309 |
| 微静脉内 | | | | | | | |
| 正常组 | 663 ±184 | 641 ±242 | 697 ±249 | 688 ±221 | 688 ±203 | | |
| 损伤组 | 688 ±203 | 539 ±233 [*] | 444 ±209 ^{***} | 524 ±184 [*] | 592 ±241 [*] | 551 ±316 [*] | 508 ±255 [*] |
| 有机硒组 | 665 ±148 | 598 ±220 | 613 ±212 | 595 ±161 | 677 ±198 | 622 ±139 | 718 ±191 |
| 无机硒组 | 821 ±173 | 775 ±347 | 665 ±305 | 651 ±294 | 784 ±274 | 696 ±248 | 858 ±304 |

与输入前比 * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$

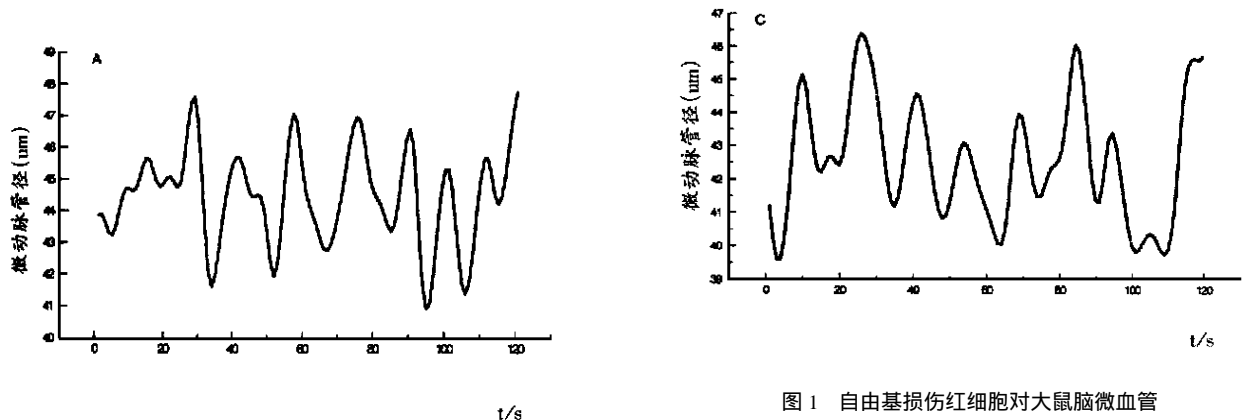


图1 自由基损伤红细胞对大鼠脑微血管自律运动的影响及硒的保护作用

A. 正常红细胞组 B. 自由基损伤红细胞组 C. 有机硒保护组

2.4 对微血管通透性的影响 伴随输入自由基损伤红细胞引起微血管的收缩和红细胞流速的减慢,发生了脑组织的缺氧和微血管通透性增加。本研究发现,输入自由基损伤红细胞后,微动脉及微静脉壁外荧光值明显增高,5min达峰值,说明血管通透性增高,而硒保护组无明显峰值。但微静脉通透性变化与微动脉不同,除了自由基损伤红细胞组通透性有明显增高以外,其它3组与对照组相比,也都呈现出了较轻程度的通透性增高,可能是由于体外输入贫氧的红细胞悬浮液所致。见表3。

表 3 自由基损伤红细胞对大鼠脑微血管通透性的影响及硒的保护作用(荧光值, $\bar{x} \pm s$)

| 分 组 | 注入荧光素溶液后 (min) | | | | | | |
|------|----------------|---------------|---------------|---------------|--------------|---------------|---------------|
| | 0.5 | 1 | 2 | 3 | 5 | 10 | 20 |
| 微动脉 | | | | | | | |
| 对照组 | 62.8 ±17.9 | 80.9 ±32.8 | 92.4 ±36.9 | 79.4 ±26.6 | 81.8 ±28.3 | 66.7 ±24.6 | 68.7 ±25.0 |
| 正常血组 | 78.7 ±31.0 | 91.0 ±41.2 | 94.8 ±34.8 | 96.7 ±44.0* | 102 ±47.9* | 102 ±47.6* | 83.0 ±33.0 |
| 损伤组 | 83.5 ±7.3*** | 77.5 ±18.4*** | 85.6 ±25.4*** | 98.9 ±39.0*** | 109 ±47.8*** | 81.2 ±21.0*** | 75.7 ±19.5*** |
| 有机硒组 | 70.2 ±21.4 | 84.8 ±34.0 | 89.7 ±37.7 | 91.2 ±41.6 | 88.2 ±39.9 | 85.9 ±36.0 | 92.6 ±41.7 |
| 无机硒组 | 64.6 ±14.8 | 73.7 ±26.6 | 74.6 ±25.3 | 76.5 ±29.3 | 71.9 ±26.1 | 70.3 ±24.1 | |
| 微静脉 | | | | | | | |
| 对照组 | 62.4 ±18.6 | 85.0 ±30.6 | 90.6 ±30.2 | 80.3 ±21.7 | 77.4 ±18.6 | 69.5 ±17.7 | 71.8 ±24.8 |
| 正常血组 | 73.3 ±23.6 | 91.6 ±37.6* | 100 ±31.7* | 96.2 ±38.5* | 101 ±40.8* | 97.4 ±44.0* | 76.2 ±20.5 |
| 损伤组 | 58.7 ±10.8 | 75.1 ±15.0*** | 86.5 ±29.6*** | 98.2 ±38.6*** | 111 ±58.9*** | 82.9 ±29.2*** | 80.6 ±30.1*** |
| 有机硒组 | 63.0 ±12.8 | 82.0 ±35.1 | 85.6 ±36.6 | 87.9 ±44.8 | 89.0 ±33.5* | 77.5 ±23.3 | 78.7 ±30.5 |
| 无机硒组 | 69.4 ±15.1 | 80.5 ±28.2 | 84.4 ±30.5 | 90.9 ±37.8 | 84.0 ±29.2 | 83.2 ±25.5* | |

与对照组比 * P<0.05 ** P<0.01 *** P<0.001

讨 论

红细胞的变形性是其顺利通过毛细血管完成与组织间物质交换的重要保证。为了造成自由基损伤红细胞对脑微血管功能损伤的动物模型,本研究采用亚铁离子与过氧化氢反应的 Fenton 自由基体系产生的 OH⁻,导致红细胞变形性的降低。然后用等量换血的方式将变形性降低的红细胞回输进实验大鼠血循环中。

自由基降低红细胞变形性的机理比较复杂。红细胞膜由磷脂双层、镶嵌蛋白及支撑于膜内侧的膜骨架蛋白构成^[4]。自由基主要通过造成膜蛋白分子氢键破坏及巯基氧化使其二级结构改变、膜磷脂分子亲水区和疏水区的过氧化损伤引起化学结构及构象的改变从而造成这些分子间正常排列及相互作用的破坏,最终致使这些分子的流动性乃至整个红细胞膜的流动性降低^[5]。

脑组织耗氧量大而氧储备和能量储备极少,保持脑微循环持续良好的灌注十分重要。在本研究中发现,实验动物体内输入自由基损伤红细胞后,造成了脑微血管功能障碍,表现为微血管收缩、微动脉自律运动规律的紊乱、微血管内红细胞流速变慢及微血管通透性增加等。这些因素都可减少脑组织灌注量,最终累及脑功能。自由基损伤红细胞悬浮液造成脑微血管功能障碍可能是多因素的:(1)自由基损伤红细胞的变形性降低,使其难于通过脑毛细血管甚至堵塞毛细血管,使脑微血管阻力增加甚至发生局部组织暂时缺血;(2)红细胞变形性降低致使血液粘稠度增加,血液流变性异常与微循环障碍是密切相关的;(3)自由基对脑微血管的直接作用。然而,自由基损伤红细胞造成脑微血管功能障碍的确切机理尚待进一步的实验研究提供证据。

我们的研究提示,自由基对脑微循环具有损伤作

用。脑微血管功能障碍直接影响脑组织灌注,微血管通透性增加是脑水肿的病理学基础,提示微血管壁已严重损伤。这与我们同步进行的临床研究发现是一致的:在心脏直视手术过程中,我们检测了病人冠状静脉窦血中自由基水平、红细胞变形性及皮肤微循环灌注,发现在心肌缺血/再灌注后的 20min 是自由基产生的高峰,此时红细胞变形性及皮肤微循环灌注量均降低。初步研究结果说明,在心脏直视手术及其它具有组织缺血再灌注损伤的病理过程中,自由基对红细胞及重要脏器微循环的损伤和保护应该引起重视。

微量元素硒与生物膜的关系日益受到重视,它在稳定人红细胞膜结构、维持红细胞功能具有重要作用。硒是人体内许多自由基清除剂(如硒蛋白 P、谷胱甘肽过氧化物酶)的重要组成部分,具有清除过氧化物的功能。迄今为止,应用硒稳定细胞膜的研究仍多停留在实验研究方面^[6,7],临床研究甚少。我们初步临床研究证明,在手术前口服微量元素硒可有效保护在心内直视手术中心肌缺血/再灌注期间红细胞流变性免受自由基的损伤。结合本实验研究结果可以推测,应用微量元素硒防护在心脏手术中由于缺血再灌注产生的自由基对脑微循环的损伤也是可能的。

根据本研究的结果并综合以上各点我们认为,自由基损伤的红细胞变形性降低,可引起脑微血管功能的障碍,主要表现为脑微血管缩舒功能失调、灌注能力低下及微血管壁的损伤。本研究还为在心脏直视手术中应用微量元素硒保护脑组织免受缺血再灌注所产生自由基的损伤提供了理论依据。

参 考 文 献

1 黄益民,韩玲,郭金良,等. 硒对心肌缺血/再灌注期间冠状静脉窦血中红细胞变形性的保护作用. 中华医学杂志. 1998,78(2):101

(下转第 27 页)

抑制肿瘤的生长^[1,7,8]。我们以往的研究证实,鲨鱼软骨粉对小鼠移植性淋巴瘤的生长有明显的抑制作用,荷瘤小鼠经口灌服一定剂量(54mg/100gB. W.)的鲨鱼软骨粉后,肿瘤重量明显减轻、体积明显缩小,同时肿瘤组织中的微血管密度明显降低,它们间呈明显的正相关^[6]。此外,Davis 等用鲨鱼软骨粉掺入饲料中由大鼠自由摄食,结果显示,口服鲨鱼软骨粉可减少炎症刺激剂诱发的大鼠肠系膜窗炎性血管形成^[9]。

也有报告认为^[10],鲨鱼软骨粉抗肿瘤作用不肯定。对此有人提出^[11],这是因为鲨鱼软骨粉中含有两种作用截然相反的成份,即促微血管增生与抑制微血管增生的成份。后者是抗肿瘤所需要的作用,而前者影响了抗肿瘤的疗效。因此进一步分离、纯化和研究鲨鱼软骨粉中的这些成份,不仅有理论意义而且还有极大的实用价值。

本文研究了新西兰惠灵顿医学院 Davis 教授赠送的鲨鱼软骨粉全成份与两种水溶性鲨鱼软骨粉提取物(A 和 B)对体外培养的微血管内皮细胞的作用。通过流式细胞仪观察发现,鲨鱼软骨粉提取物与微血管内皮细胞孵育 24h 后,鲨鱼软骨粉全成份及成份 A 对体外培养的微血管内皮细胞的细胞周期无明显影响,但成份 B 能使 G₂-M 期细胞明显减少($P < 0.05$),并明显增加 G₀-G₁ 期细胞($P < 0.05$)。提示成份 B 具有抑制体外培养的微血管内皮细胞进入有丝分裂期的作用,并使较多的细胞停留在 G₀-G₁ 期。因此本文的结果提示,成份 B 可能是鲨鱼软骨粉中的一种抑制微血管增殖的水溶性成份,值得今后进一步研究。

微血管的增生除与微血管内皮细胞的增殖有关外,还受微血管内皮细胞凋亡的影响。细胞凋亡时,细胞核内的 DNA 可能因漏出而减少,故在流式细胞仪 PI 染色的细胞 DNA 图形上,G₁ 期的前面出现亚 G₁ 峰,也即凋亡细胞峰^[12]。本文根据此峰计算凋亡细胞百分率的结果提示,与对照组比,经鲨鱼软骨粉全成份、成份 B 作用后体外培养的微血管内皮细胞凋亡百分率无显著变化($P > 0.05$),成份 A 作用后,凋亡百分

率有非常明显升高($P < 0.01$),但是对上述细胞作光镜、电镜观察未见明显凋亡小体,因此成份 A 是否能使体外培养的微血管内皮细胞凋亡增加,还有待于通过 TUNEL 染色、DNA 凝胶电泳(梯形条带)和 caspase 激活等方法进行研究后证实。

以上结果均是在正常肺微血管内皮细胞的培养中见到,鲨鱼软骨粉各成份对肿瘤微血管内皮细胞的作用是否与正常内皮细胞相同,目前还不清楚。有关肿瘤微血管内皮细胞的体外培养以及鲨鱼软骨粉各成份对其作用的研究,我们正在进行中。

参 考 文 献

- 1 沈先荣,贾福星,王玲,等. 鲨鱼软骨制剂抗肿瘤作用的研究. 中国生化药物杂志 1995,16(4):157
- 2 Oikawa T, Ashino FH, Shimamura M, et al. A novel angiogenic inhibitor derived from Japanese shark cartilage. Cancer Lett. 1990,51(3):181
- 3 Cataldi JM, Osborne DL. Effects of shark cartilage on mammary tumor neovascularization in vivo and cell proliferation in vitro. FASEB J. 1995,9(3):135
- 4 刘清行,金惠铭. TNF 对大鼠肺微血管内皮细胞 NO 的产生及 NOSmRNA 表达的影响. 上海医科大学学报. 1999,26(1):4
- 5 田涛,吴朝晖,金惠铭,等. 大鼠失神经肌萎缩后成肌细胞增殖动力学的变化. 中华外科杂志. 1999,16(1):36
- 6 蔡峥嵘,钱睿哲,张国平,等. 鲨鱼软骨粉对小鼠移植性肿瘤的抑制与微血管的关系. 中国微循环杂志 2000,4(1):13
- 7 Harris AL. Antiangiogenesis for cancer therapy. Lancet. 1997,349:13
- 8 Moses MA, Sudhalter J, Langer R. Identification of an inhibitor of neovascularization from cartilage. Science. 1990,248(496):1408
- 9 Davis PF, He Y, Furneaux RH. Inhibition of angiogenesis by oral ingestion of powdered shark cartilage in a rat model. Microvasc. Res. 1997,54(2):178
- 10 Horsman MR, Alsner J, Overgaard J. The effect of shark cartilage extracts on the growth and metastatic spread of the SCCVII carcinoma. Acta Onco. 1998,37(5):441
- 11 O'Reilly MS, Bolhm T, Shing Y, et al. Endostatin: An endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. Cell. 1997,88(2):277
- 12 金惠铭,卢建. 细胞分子病理生理学. 昆明:云南科技出版社. 1997,202~218

(收稿:1999-08-27)

(上接第 20 页)

- 2 Duan CG, Li HW, Xu LN and Xiu RJ. Influences of Puerarin on Microcirculatory Disturbance in Brain of Hamster. Asia Pacific Journal of Pharmacology. 1994,9:93
- 3 Ying XY, Xiu RJ. Dynamic and Still Microcirculatory Image Analysis for Quantitative Microcirculation Research. In: Physiology and Function from Multidimensional Images. Eds: R. S. Acharya and E. A. Hoffman, SPIE Proc. 1994,21:68
- 4 Singer SJ. The Structure and Function of Membranes - personal memoir. J

Membrane Biol. 1992,129:3

- 5 黄益民,赵辉,虞欣,等. 自由基损伤红细胞膜分子的机理研究. 生物物理学报. 1997,13(2):315
- 6 刘佃辛. 硒的分子生物学研究概况. 国外医学卫生学分册. 1993,3:155
- 7 刘为民,李广生,张秀云,等. 大鼠心肌自由基含量与微量元素硒的关系. 微量元素与健康研究. 1995,12(1):3

(收稿:1999-12-24)