

5-氨基乙酰丙酸对持续性高糖致内皮细胞氧化损伤的干预作用研究

杨正丽^a, 陶功华^a, 肖萍^b, 洪新宇^a

上海市疾病预防控制中心 a. 化学品毒性检定所 b. 科研管理处, 上海 200336

DOI 10.13213/j.cnki.jeom.2020.19863

摘要:

[背景] 5-氨基乙酰丙酸 (5-ALA) 是一种天然存在的氨基酸, 广泛存在于植物和动物中。目前研究发现, 5-ALA 具有增强胰岛素敏感性和改善糖耐量水平的作用, 而其在高糖诱导的内皮细胞损伤中的作用及其机制尚不清楚。

[目的] 探讨 5-ALA 在持续性高糖致人脐静脉内皮细胞 (HUVECs) 氧化损伤中的作用。

[方法] 设置阴性对照组、持续性高糖组、5-ALA 干预组 (1.0、10.0、50.0、100.0、200.0 mmol·L⁻¹)。用 5-ALA 预处理 HUVECs 24 h, 而后在细胞培养液中加入葡萄糖至终浓度为 30 mmol·L⁻¹, 持续性高糖组细胞在含 30 mmol·L⁻¹ 葡萄糖的培养基中培养, 阴性对照组细胞在正常培养基中培养, 各培养 48 h。处理结束后, 用 CCK-8 检测细胞活性, 用相应试剂盒检测活性氧 (ROS) 水平、抗氧化酶 [总超氧化物歧化酶 (T-SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)] 活性和丙二醛 (MDA) 含量。

[结果] 与阴性对照组相比, 持续性高糖组 HUVECs 活性降低 ($t=6.620$, $P<0.01$), HUVECs 内 ROS 的水平增加 ($t=-10.671$, $P<0.01$), HUVECs 内抗氧化酶 T-SOD、CAT 和 GSH-Px 的活性降低, MDA 的含量增加 ($t=11.348$ 、 14.302 、 14.951 、 -12.562 , 均 $P<0.01$)。经 5-ALA 预处理后, 与持续性高糖组相比, 干预组 HUVECs 活性在不同程度上增加, 其中 50.0 mmol·L⁻¹ 5-ALA 组增加最明显 ($t=-5.032$, $P<0.01$); HUVECs 内 ROS 的水平降低, 其中 200 mmol·L⁻¹ 5-ALA 组降低最明显 ($t=11.232$, $P<0.01$)。5-ALA 可增加抗氧化酶的活性, 并降低 MDA 的含量。对于 T-SOD、GSH-Px 和 MDA 而言, 50.0 mmol·L⁻¹ 5-ALA 干预效果最佳 ($t=-8.562$ 、 -14.273 、 12.526 , 均 $P<0.01$); 对于 CAT 而言, 100.0 mmol·L⁻¹ 5-ALA 干预组升高最明显 ($t=-21.467$, $P<0.01$)。

[结论] 持续性高糖可增加内皮细胞内 ROS 的水平, 降低 T-SOD、CAT 和 GSH-Px 的活性和增加 MDA 的含量, 而 5-ALA 在一定程度上减轻持续性高糖引起的氧化损伤。

关键词: 糖尿病; 持续性高糖; 内皮细胞; 5-氨基乙酰丙酸; 氧化应激

Intervention of 5-aminolevulinic acid on oxidative damage of endothelial cells induced by persistent hyperglycemia YANG Zheng-li^a, TAO Gong-hua^a, XIAO Ping^b, HONG Xin-yu^a (a. Institute of Chemical Toxicity Testing b. Department of Research Management, Shanghai Municipal Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 200336, China)

Abstract:

[Background] 5-aminolevulinic acid (5-ALA) is a naturally occurring amino acid found in plants and animals. Current studies have found that 5-ALA can enhance insulin sensitivity and improve glucose tolerance, but its role and mechanism in hyperglycemia-induced endothelial cell injury are still unclear.

[Objective] This experiment investigates the role of 5-ALA in the oxidative injury of human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) induced by persistent hyperglycemia.

[Methods] The experiment was designed to include a negative control group, a persistent hyperglycemia group, and 1.0, 10.0, 50.0, 100.0, and 200.0 mmol·L⁻¹ 5-ALA intervention groups. The treatment protocol was that the cells in the 5-ALA intervention groups were pretreated with 5-ALA for 24 h, and then glucose was added to the cell culture solution to a final concentration of 30 mmol·L⁻¹ for 48 h; the cells in the persistent hyperglycemia group were cultured in a medium with a glucose concentration of 30 mmol·L⁻¹ for 48 h; the cells in the negative control group were cultured in regular medium for 48 h. After the treatment, the cell viability was detected by CCK-8, and

基金项目

上海市卫生健康委面上项目 (201540287)

作者简介

杨正丽 (1993—), 女, 硕士, 医师;
E-mail: yangzhengli@scdc.sh.cn

通信作者

洪新宇, E-mail: hongxinyu@scdc.sh.cn

利益冲突 无申报

收稿日期 2019-12-11

录用日期 2020-05-23

文章编号 2095-9982(2020)07-0701-06

中图分类号 R114

文献标志码 A

►引用

杨正丽, 陶功华, 肖萍, 等. 5-氨基乙酰丙酸对持续性高糖致内皮细胞氧化损伤的干预作用研究 [J]. 环境与职业医学, 2020, 37 (7): 701-705, 718.

►本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.13213/j.cnki.jeom.2020.19863

Funding

This study was funded.

Correspondence to

HONG Xin-yu, E-mail: hongxinyu@scdc.sh.cn

Competing interests None declared

Received 2019-12-11

Accepted 2020-05-23

►To cite

YANG Zheng-li, TAO Gong-hua, XIAO Ping, et al. Intervention of 5-aminolevulinic acid on oxidative damage of endothelial cells induced by persistent hyperglycemia [J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2020, 37(7): 701-705, 718.

►Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.13213/j.cnki.jeom.2020.19863

the reactive oxygen species (ROS) level, the activities of intracellular antioxidant enzymes [total superoxide dismutase (T-SOD), catalase (CAT), and glutathione peroxidase (GSH-Px)], and malondialdehyde (MDA) content were detected with corresponding kits.

[Results] Compared with the negative control group, the persistent hyperglycemia group showed decreased HUVECs viability ($t=6.620$, $P<0.01$), increased ROS level ($t=-10.671$, $P<0.01$), decreased activities of antioxidant enzymes T-SOD, CAT, and GSH-Px, and increased content of MDA ($t=11.348$, 14.302 , 14.951 , and -12.562 , respectively, $P<0.01$). After the designed 5-ALA intervention, compared with the persistent hyperglycemia group, the intervention groups showed increased HUVECs viability to varying degrees, of which the $50.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 5-ALA intervention group was the most obvious ($t=-5.032$, $P<0.01$); the intervention groups showed reduced ROS levels in HUVECs to different degrees, of which the $200\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 5-ALA group had the sharpest reduction ($t=11.232$, $P<0.01$). The 5-ALA intervention also increased the antioxidant enzyme activities and reduced the MDA content. For T-SOD, GSH-Px, and MDA, the effect in the $50.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 5-ALA intervention was the best ($t=-8.562$, -14.273 , and 12.526 , respectively, $P<0.01$); for CAT, the $100.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 5-ALA intervention had the best effect ($t=-21.467$, $P<0.01$).

[Conclusion] Persistent hyperglycemia can increase the level of ROS in endothelial cells, reduce the activities of T-SOD, CAT and GSH-Px, and increase the content of MDA; 5-ALA can extenuate the oxidative injury induced by persistent hyperglycemia to a certain extent.

Keywords: diabetes mellitus; persistent hyperglycemia; endothelial cells; 5-aminolevulinic acid; oxidative stress

糖尿病是一种以慢性高血糖为特征的代谢性疾病,其发生是由于胰岛素分泌不足或是机体对产生的胰岛素无法正确响应(即胰岛素抵抗)^[1]。据国际糖尿病联合会(International Diabetes Federation, IDF)估计,2017年全球已有4.51亿成年人患有糖尿病,到2045年将增加至6.93亿^[2]。其中,中国糖尿病患者数量于2017年已高达1.21亿^[3]。糖尿病会损害心血管、眼睛、肾脏和神经系统,并增加患心脏病和中风的风险^[4],其主要并发症是心血管疾病,约65%的糖尿病患者死于心血管疾病^[5]。

慢性高血糖是糖尿病患者发生大血管或微血管并发症的主要原因^[6]。慢性高血糖是指禁食过夜后,血浆葡萄糖水平高于正常血浆葡萄糖水平的一种长期的稳定的状态,包括慢性持续性高血糖和慢性波动性高血糖^[7-8]。研究发现,慢性持续性高血糖会增加细胞质和线粒体内的活性氧(reactive oxygen species, ROS)并破坏抗氧化防御系统,并且高血糖诱导内皮细胞产生的氧化应激被认为是引起糖尿病并发症的主要原因之一^[9]。Quan等^[10]的研究亦发现,高血糖可诱导内皮细胞产生氧化损伤,促进血管并发症的发生。

5-氨基乙酰丙酸(5-aminolevulinic acid, 5-ALA)是在动植物体中发现的一种天然的氨基酸,是血红蛋白和叶绿素的前体。内源性5-ALA在线粒体中由琥珀酰辅酶A和甘氨酸合成,外源性5-ALA和内源性5-ALA具有相同的代谢途径^[11]。研究发现,5-ALA缺乏会损伤老年小鼠葡萄糖耐量水平并产生胰岛素抵抗,而补充外源性5-ALA和亚铁离子可改善糖耐量水平^[12-13]。姜华凤等^[14]报道5-ALA可通过提高胰岛素敏感性,增强二甲双胍降血糖与改善糖耐量的作用。

然而,5-ALA在高糖诱导的内皮细胞损伤中的作

用及其机制尚不清楚。因此,本研究以人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVECs)为研究对象,探讨5-ALA在持续性高糖致HUVECs氧化损伤中的作用,探究5-ALA在糖尿病治疗中的潜在用途。

1 材料与方法

1.1 实验细胞

HUVECs购于中国科学院细胞所。

1.2 主要试剂与仪器

主要试剂:5-氨基乙酰丙酸磷酸盐(苏州益安生物科技有限公司赠送),胎牛血清、DMEM培养基(GIBCO公司,美国),CCK-8试剂盒、细胞裂解液、二氯二氢荧光素-乙酐乙酸酯(dichlorodihydrofluorescein-acetoacetate, DCFH-DA)活性氧检测试剂盒(上海碧云天生物科技有限公司,中国),总超氧化物歧化酶(total superoxide dismutase, T-SOD)试剂盒、过氧化氢酶(catalase, CAT)试剂盒、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)试剂盒和丙二醛(malondialdehyde, MDA)试剂盒(南京建成生物工程研究所,中国)。主要仪器:荧光显微镜(Nikon公司,日本)和ELx808全自动酶标仪(BIO-TEK公司,美国)。

1.3 细胞培养与处理

设置阴性对照组、持续性高糖组、 $1.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 5-ALA干预组、 $10.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 5-ALA干预组、 $50.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 5-ALA干预组、 $100.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 5-ALA干预组和 $200.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 5-ALA干预组。按每孔 1×10^4 个细胞接种HUVECs于96孔板中,用含10%胎牛血清的DMEM培养基,在 37°C 、5% CO_2 和饱和湿度的培养箱中培养。待细胞生长至约70%汇合度时,分别以终浓度1.0、10.0、50.0、100.0、 $200.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的5-ALA预处理HUVECs 24 h,而后

在细胞培养液中加入葡萄糖至终浓度为 $30 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ，继续培养 48 h。持续性高糖组细胞在含 $30 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 葡萄糖的培养基中培养，阴性对照组细胞在正常培养基中培养，各培养 48 h。

本研究中采用的 $30 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 葡萄糖浓度是参考预实验与其他学者的研究^[15]。对于 5-ALA 选择 $1.0 \sim 200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的浓度范围，是因为通过预实验发现，当 5-ALA 浓度大于 $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时，5-ALA 可降低 HUVECs 活性；而在 $1.0 \sim 200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的浓度范围内，5-ALA 对 HUVECs 活性无影响。

1.4 CCK-8 法测定细胞活性

将 HUVECs 悬液接种于 96 孔板中，每孔 $100 \mu\text{L}$ ，待细胞贴壁后，按照上述方法处理细胞。细胞处理结束后，每孔加入 $10 \mu\text{L}$ CCK-8 试剂，继续培养 4 h。培养结束后，采用酶标仪于 450 nm 处测每孔光密度值并计算细胞活性。每组设置 3 个复孔。

1.5 DCFH-DA 法测定细胞内 ROS 水平

细胞处理结束后，弃培养基，用胰蛋白酶消化细胞，消化结束后移至离心管中， $493 \times g$ 离心 5 min，弃上清液，用磷酸盐缓冲液重悬细胞，于细胞中加入荧光探针 DCFH-DA 至终浓度为 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ，于培养箱中孵育 20 min。采用荧光显微镜观察细胞并拍照，用 Image J 1.8.0 软件计算各组图片中的平均荧光强度。

1.6 测定细胞内抗氧化酶 (T-SOD、CAT 和 GSH-Px) 活性和 MDA 含量

细胞处理结束后，采用细胞裂解液裂解细胞， $493 \times g$ 离心 5 min 后，取上清液，测定蛋白浓度。取含等量蛋白的上清液，分别按试剂盒说明书测定 T-SOD、CAT、GSH-Px 活性及 MDA 含量。

1.7 统计学分析

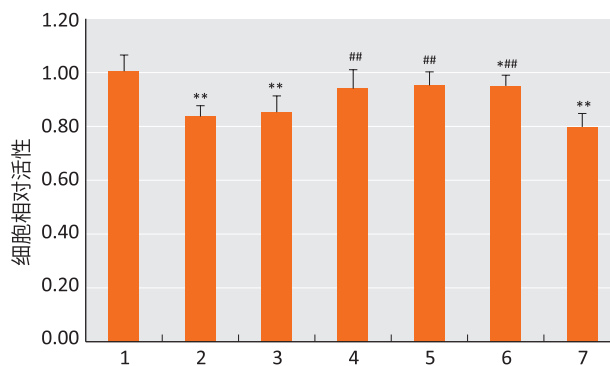
采用 SPSS 16.0 软件进行统计学分析，计量资料采用均数 $\pm$ 标准差表示。组间比较采用单因素方差分析。方差齐时，两两比较采用 LSD-*t* 检验；方差不齐时，两两比较则采用 Dunnett-*t* 检验。检验水准为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 5-ALA 干预改善持续性高糖对 HUVECs 活性的影响

与阴性对照组相比，持续性高糖组 HUVECs 活性降低 ($t=6.620$, $P<0.01$)。经 5-ALA 干预处理 24 h 后，与持续性高糖组相比， $10.0 \sim 100.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 5-ALA 干预组 HUVECs 活性呈不同程度的升高，其中 $50.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$

5-ALA 干预组升高最明显 ($t=-5.032$, $P<0.01$)。见图 1。



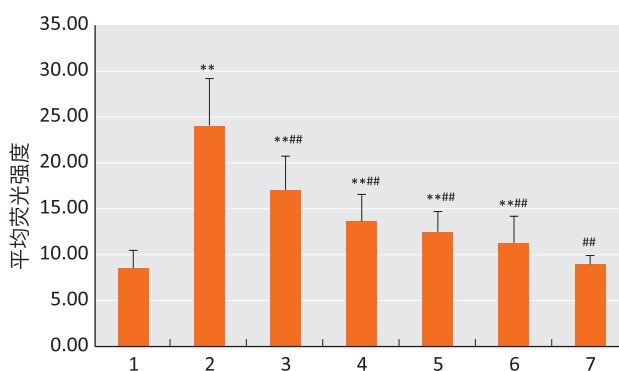
[注] 1= 阴性对照组；2= 持续性高糖组；3= $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 5-ALA 干预组；4= $10.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 5-ALA 干预组；5= $50.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 5-ALA 干预组；6= $100.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 5-ALA 干预组；7= $200.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 5-ALA 干预组。与阴性对照组相比，*： $P<0.05$ ；**： $P<0.01$ 。与持续性高糖组相比，##： $P<0.01$ 。

图 1 5-ALA 干预对 HUVECs 活性的影响 ($n=3$)

Figure 1 Effects of 5-ALA intervention on the cell viability of HUVECs ($n=3$)

2.2 5-ALA 干预降低持续性高糖所致的 ROS 水平

与阴性对照组相比，持续性高糖组 HUVECs 内 ROS 的水平升高 ($t=-10.671$, $P<0.01$)。经 5-ALA 干预处理 24 h 后，与持续性高糖组相比，各干预组 HUVECs 内 ROS 的水平呈不同程度的降低，其中 $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 5-ALA 干预组降低最明显 ($t=11.232$, $P<0.01$)。见图 2。



[注] 1= 阴性对照组；2= 持续性高糖组；3= $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 5-ALA 干预组；4= $10.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 5-ALA 干预组；5= $50.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 5-ALA 干预组；6= $100.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 5-ALA 干预组；7= $200.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 5-ALA 干预组。与阴性对照组相比，**： $P<0.01$ ；与持续性高糖组相比，###： $P<0.01$ 。

图 2 5-ALA 干预对 HUVECs 所产生 ROS 水平的影响 ($n=3$)

Figure 2 Effects of 5-ALA intervention on the level of ROS of HUVECs ($n=3$)

2.3 5-ALA 干预减轻持续性高糖所致的氧化损伤

与阴性对照组相比，持续性高糖降低 HUVECs 内抗氧化酶 T-SOD、CAT 和 GSH-Px 的活性，并增加 MDA 的含量，差异有统计学意义 (T-SOD： $t=11.348$, $P<$

0.01 ; CAT : $t=14.302$, $P<0.01$; GSH-Px : $t=14.951$, $P<0.01$; MDA : $t=-12.562$, $P<0.01$)。经 5-ALA 干预处理 24 h 后,与持续性高糖组相比,干预组抗氧化酶的活性呈不同程度的增加,MDA 的含量呈不同程度的降低。对 T-SOD、GSH-Px 和 MDA 而言,50.0 mmol·L⁻¹ 5-ALA 干预效果最佳 (T-SOD : $t=-8.562$, $P<0.01$; GSH-Px : $t=-14.273$, $P<0.01$; MDA : $t=12.526$, $P<0.01$)。对 CAT 而言,100.0 mmol·L⁻¹ 5-ALA 干预组升高最明显 ($t=-21.467$, $P<0.01$)。见表 1。

表 1 各实验组氧化损伤指标结果 ($n=3$)

Table 1 Results of oxidative injury indicators in all experimental groups ($n=3$)

组别	T-SOD/ (U·mL ⁻¹)	CAT/ (U·mL ⁻¹)	GSH-Px/ (U·mg ⁻¹)	MDA/ (mmol·L ⁻¹)
阴性对照组	27.77±2.28	80.30±6.40	30.38±2.17	2.16±0.20
持续性高糖组	11.16±1.10**	23.88±2.39**	10.06±0.90**	9.15±0.94**
1.0 mmol·L ⁻¹ 5-ALA 干预组	17.17±1.47***	46.08±3.91***	11.58±1.58**	3.76±0.31***
10.0 mmol·L ⁻¹ 5-ALA 干预组	17.14±1.53***	98.52±9.68**	14.73±1.38***	2.33±0.12**
50.0 mmol·L ⁻¹ 5-ALA 干预组	24.42±2.45**	86.68±2.60**	27.74±1.95**	2.28±0.11**
100.0 mmol·L ⁻¹ 5-ALA 干预组	21.80±1.47***	115.11±6.96***	26.16±1.10***	2.35±0.18**
200.0 mmol·L ⁻¹ 5-ALA 干预组	22.47±2.55**	98.90±10.16**	26.00±2.75**	2.80±0.14***

[注] 与阴性对照组相比,* : $P<0.05$; ** : $P<0.01$ 。## : 与持续性高糖组相比, $P<0.01$ 。

3 讨论

内皮细胞是血管的重要组成部分。血管内皮细胞功能障碍在糖尿病患者发生血管病变过程中发挥着关键作用^[16-17]。本研究发现,持续性高糖可诱导内皮细胞产生氧化损伤,而 5-ALA 在一定程度上可保护内皮细胞,减轻持续性高糖所致的氧化损伤。

氧化应激是指体内活性氧产生过多或体内固有的抗氧化防御系统功能减弱而倾向于氧化的一种不平衡状态,可损伤血管内皮细胞并破坏其屏障功能,被认为是血管内皮细胞功能障碍的机制之一^[18-20]。持续性高血糖可增加 ROS 的产生^[21]。ROS 是指在调节各种细胞功能和生物过程中起关键作用的一组活性小分子,在维持血管平衡中起着不可或缺的作用^[22]。过量的 ROS 可氧化 DNA、蛋白质、脂质和碳水化合物等各种生物分子,产生氧化应激,进而促使双链 DNA 的组蛋白产生氧化损伤并影响 DNA 修复酶的表达,最终导致细胞凋亡^[21]。在本研究中,持续性高糖明显增加内皮细胞 ROS 的产生,蔡珠兰等^[23]的研究中亦发

现了稳定性高糖可增加内皮细胞中的 ROS。除此之外,本研究同时检测了反映氧化损伤的其他指标。抗氧化酶系统是机体内抗氧化系统之一,包括 SOD、GSH-Px 和 CAT 等,酶活性可以反映机体组织细胞抗氧化损伤效应的强弱^[24]。MDA 是由氧自由基引发不饱和脂肪酸发生过氧化而生成的脂质过氧化物,从而可通过 MDA 的水平间接反映氧化损伤的程度^[25]。本研究发现持续性高糖可降低抗氧化酶 (T-SOD、CAT 和 GSH-Px) 活性并增加 MDA 的水平。在其他研究中亦有类似的结果,如廖加抱^[26]报道发生糖尿病大血管病变的大鼠体内血清抗氧化酶 SOD、GSH-Px 活性降低,并且血清 MDA 水平升高,苏海燕等^[27]的研究发现高糖可降低内皮细胞中 SOD 和 CAT 的活性,增加 MDA 的水平。上述研究结果均提示持续性高糖可诱导内皮细胞产生氧化损伤,因此,这为预防和治疗糖尿病血管病变提供了靶点与方向。

5-ALA 具有保护心脏、抗纤维化、抗肿瘤、抗炎和抗氧化作用^[28-30]。Liu 等^[31]的研究发现,暴露于环孢菌素 A 的肾近端小管上皮细胞,经 5-ALA 和柠檬酸亚铁钠联合干预处理后,可抑制 ROS 的产生,进而缓解细胞凋亡。除此之外,Hua 等^[32]发现基于 5-ALA 的光动力学治疗可有效预防紫外线对人表皮角质形成细胞和无毛小鼠皮肤造成的氧化损伤。本研究发现 5-ALA 可减少 ROS 和 MDA 的产生,提高抗氧化酶 (T-SOD、CAT 和 GSH-Px) 的活性,表明 5-ALA 在一定程度上可保护内皮细胞,减轻持续性高糖造成的氧化损伤。值得注意的是,CAT 在 5-ALA 干预后活性虽有恢复,但又高于了阴性对照组的活性,一方面可能是由于 CAT 在高糖环境刺激后,出现了一个代偿性增加的现象;另一方面可能是由于 5-ALA 本身可能会增加 CAT 的活性。在后续的研究中,课题组将深入探讨持续性高糖造成内皮细胞氧化损伤的机制。

参考文献

- [1] TAO Z, SHI A, ZHAO J. Epidemiological perspectives of diabetes [J]. Cell Biochem Biophys, 2015, 73 (1) : 181-185.
- [2] CHO NH, SHAW JE, KARURANGA S, et al. IDF Diabetes Atlas : global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045 [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2018, 138 : 271-281.
- [3] 李芳,郭莉萍, CORNOR U, 等. 倾听患者的声音 : 中国 2 型糖尿病患者疾病管理访谈分析 [J]. 中国医学伦理学,

- 2019, 32 (12) : 1553-1561.
- [4] World Health Organization. Global report on diabetes [R] . Geneva : World Health Organization, 2016.
- [5] ALVAREZ CA, LINGVAY I, VUYLSTEKE V, et al. Cardiovascular risk in diabetes mellitus : complication of the disease or of antihyperglycemic medications [J] . Clin Pharmacol Ther, 2015, 98 (2) : 145-161.
- [6] BAPTISTA M H B, DOURADO F C, DOS SANTOS GOMIDES D, et al. Education in Diabetes Mellitus for blood glucose self-monitoring : a quasi-experimental study [J] . Rev Bras Enferm, 2019, 72 (6) : 1601-1608.
- [7] ABOONABI A, MEYER RR, SINGH I. The association between metabolic syndrome components and the development of atherosclerosis [J] . J Hum Hypertens, 2019, 33 (12) : 844-855.
- [8] 彭永, 吕肖锋. 血糖波动与糖尿病慢性血管并发症关系的研究进展 [J] . 中国医药导报, 2014, 11 (10) : 156-159, 163.
- [9] SIFUENTES-FRANCO S, PACHECO-MOISÉS F P, RODRÍGUEZ-CARRIZALEZ AD, et al. The role of oxidative stress, mitochondrial function, and autophagy in diabetic polyneuropathy [J] . J Diabetes Res, 2017, 2017 : 1673081.
- [10] QUAN X J, LIANG C L, SUN M Z, et al. Overexpression of steroid receptor coactivators alleviates hyperglycemia-induced endothelial cell injury in rats through activating the PI3K/Akt pathway [J] . Acta Pharmacol Sin, 2019, 40 (5) : 648-657.
- [11] INOUE K. 5-Aminolevulinic acid-mediated photodynamic therapy for bladder cancer [J] . Int J Urol, 2017, 24 (2) : 97-101.
- [12] SAITOH S, OKANO S, NOHARA H, et al. 5-aminolevulinic acid (ALA) deficiency causes impaired glucose tolerance and insulin resistance coincident with an attenuation of mitochondrial function in aged mice [J] . PLoS One, 2018, 13 (1) : e0189593.
- [13] OTA U, HARA T, NAKAGAWA H, et al. 5-aminolevulinic acid combined with ferrous ion reduces adiposity and improves glucose tolerance in diet-induced obese mice via enhancing mitochondrial function [J] . BMC Pharmacol Toxicol, 2017, 18 (1) : 7.
- [14] 姜华凤, 曹水江, 沈峰, 等. 5-氨基乙酰丙酸辅助二甲双胍的降血糖作用 [J] . 中国药理学通报, 2014, 30 (8) : 1127-1131.
- [15] 张雅奇, 柴颖儒. 阿托伐他汀抑制高糖诱导的人脐静脉内皮细胞的氧化应激反应 [J] . 中华临床医师杂志 (电子版), 2016, 10 (17) : 2611-2616.
- [16] VANHOUTTE P M, SHIMOKAWA H, FELETOU M, et al. Endothelial dysfunction and vascular disease—a 30th anniversary update [J] . Acta Physiol, 2017, 219 (1) : 22-96.
- [17] XU F, LIU Y, ZHU X, et al. Protective effects and mechanisms of vaccarin on vascular endothelial dysfunction in diabetic angiopathy [J] . Int J Mol Sci, 2019, 20 (18) : 4587.
- [18] PELUSO I, MORABITO G, URBAN L, et al. Oxidative stress in atherosclerosis development : the central role of LDL and oxidative burst [J] . Endocr Metab Immune Disord Drug Targets, 2012, 12 (4) : 351-360.
- [19] SECKIN D, ILHAN N, ILHAN N, et al. Glycaemic control, markers of endothelial cell activation and oxidative stress in children with type 1 diabetes mellitus [J] . Diabetes Res Clin Pract, 2006, 73 (2) : 191-197.
- [20] MENG L B, CHEN K, ZHANG Y M, et al. Common injuries and repair mechanisms in the endothelial lining [J] . Chin Med J, 2018, 131 (19) : 2338-2345.
- [21] SIFUENTES-FRANCO S, PADILLA-TEJEDA DE, CARRILLO-IBARRA S, et al. Oxidative stress, apoptosis, and mitochondrial function in diabetic nephropathy [J] . Int J Endocrinol, 2018, 2018 : 1875870.
- [22] KATTOOR A J, POTHINENI N V K, PALAGIRI D, et al. Oxidative stress in atherosclerosis [J] . Curr Atheroscler Rep, 2017, 19 (11) : 42.
- [23] 蔡珠兰, 吴青青, 唐其柱. 葫芦素B对高糖诱导的人脐静脉内皮细胞损伤的作用 [J] . 医学综述, 2020, 26 (10) : 2014-2019.
- [24] 翟迎九, 郭美姿, 吕清, 等. 血糖波动对老年糖尿病患者氧化应激指标及胰岛β细胞功能的影响 [J] . 中华临床医师杂志 (电子版), 2018, 12 (9) : 500-503.
- [25] 刘超, 林森, 张艳军, 等. 2型糖尿病患者内皮功能、抗氧化酶及免疫球蛋白水平检测 [J] . 解放军预防医学杂志, 2019, 37 (10) : 95-96, 99.
- [26] 廖加抱. 通脉降脂丸对糖尿病大血管病变氧化应激实验研究 [D] . 昆明 : 云南中医学院, 2016.
- [27] 苏海燕, 田瑞媛, 朱彩霞, 等. 慢病毒介导PDCD4 siRNA对高糖诱导的血管内皮细胞氧化损伤的影响及机制 [J] . 内

(下转第718页)

- acts differently from and independently of thyroid hormone in suppressing thyrotropin release from the bullfrog pituitary [J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2008, 155 (3) : 574-580.
- [20] PORRECA I, ULLOA S L, D'ANGELO F, et al. "Stockpile" of slight transcriptomic changes determines the indirect genotoxicity of low-dose BPA in thyroid cells [J]. *PLoS One*, 2016, 11 (3) : e0151618.
- [21] 曾妮, 王霞, 郑洁, 等. 双酚A干扰人卵巢颗粒细胞雌二醇生成的机制 [J]. *武汉大学学报(医学版)*, 2016, 37 (5) : 725-729.
- [22] NAVARRO M, BASERGA R. Limited redundancy of survival signals from the type 1 insulin-like growth factor receptor [J]. *Endocrinology*, 2001, 142 (3) : 1073-1081.
- [23] 马林, 李丹, 李昀谦, 等. 双酚A对小鼠睾丸间质细胞毒性及 *miR-203-3p* 表达的影响 [J]. *环境与职业医学*, 2019, 36 (5) : 484-489.
- [24] LIN Y C, WU M Y, LI D R, et al. Prognostic and clinicopathological features of E-cadherin, α -catenin, β -catenin, γ -catenin and cyclin D₁ expression in human esophageal squamous cell carcinoma [J]. *World J Gastroenterol*, 2004, 10 (22) : 3235-3239.
- [25] GARTEL A L, RADHAKRISHNAN S K. Lost in transcription : p21 repression, mechanisms, and consequences [J]. *Cancer Res*, 2005, 65 (10) : 3980-3985.
- [26] SICINSKI P, DONAHER J L, PARKER S B, et al. Cyclin D1 provides a link between development and oncogenesis in the retina and breast [J]. *Cell*, 1995, 82 (4) : 621-630.
- [27] MUSGROVE E A, HAMILTON J A, LEE C S, et al. Growth factor, steroid, and steroid antagonist regulation of cyclin gene expression associated with changes in T-47D human breast cancer cell cycle progression [J]. *Mol Cell Biol*, 1993, 13 (6) : 3577-3587.
- [28] WATTS C K, BRADY A, SARCEVIC B, et al. Antiestrogen inhibition of cell cycle progression in breast cancer cells in associated with inhibition of cyclin-dependent kinase activity and decreased retinoblastoma protein phosphorylation [J]. *Mol Endocrinol*, 1995, 9 (12) : 1804-1813.
- [29] DAIRKEE S H, LUCIANI-TORRES M G, MOORE D H, et al. Bisphenol-A-induced inactivation of the p53 axis underlying deregulation of proliferation kinetics, and cell death in non-malignant human breast epithelial cells [J]. *Carcinogenesis*, 2013, 34 (3) : 703-712.
- [30] WANG T, LIU B, GUAN Y, et al. Melatonin inhibits the proliferation of breast cancer cells induced by bisphenol A via targeting estrogen receptor-related pathways [J]. *Thorac Cancer*, 2018, 9 (3) : 368-375.
- [31] 刘大江, 杨媛, 刘畅, 等. 双酚A激活PI3K/AKT通路促进子宫内膜癌细胞增殖的研究 [J]. *国际妇产科学杂志*, 2019, 46 (3) : 259-262.

(英文编辑: 汪源; 责任编辑: 丁瑾瑜)

(上接第 705 页)

- 蒙古医科大学学报, 2018, 40 (6) : 614-617.
- [28] LAN T, ZOU Y, HAMBLIN M R, et al. 5-Aminolevulinic acid photodynamic therapy in refractory vulvar lichen sclerosus et atrophicus : series of ten cases [J]. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2018, 21 : 234-238.
- [29] OSAKI T, UTO Y, ISHIZUKA M, et al. Artesunate enhances the cytotoxicity of 5-aminolevulinic acid-based sonodynamic therapy against mouse mammary tumor cells *in vitro* [J]. *Molecules*, 2017, 22 (4) : 533.
- [30] UCHIDA A, KIDOKORO K, SOGAWA Y, et al. 5-Aminolevulinic acid exerts renoprotective effect via Nrf2 activation in murine rhabdomyolysis-induced acute kidney injury [J]. *Nephrology*, 2019, 24 (1) : 28-38.
- [31] LIU C, FUJINO M, ZHU S, et al. 5-ALA/SFC enhances HO-1 expression through the MAPK/Nrf2 antioxidant pathway and attenuates murine tubular epithelial cell apoptosis [J]. *FEBS Open Bio*, 2019, 9 (11) : 1928-1938.
- [32] HUA H, CHENG J, BU W, et al. 5-aminolevulinic acid-based photodynamic therapy pretreatment mitigates ultraviolet A-induced oxidative photodamage [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 2018 : 9420745.

(英文编辑: 汪源; 责任编辑: 陈姣)