

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.32.006

桂皮醛激活血管内皮 TRPA1 防止高糖诱导的 氧化应激保护血管内皮功能 *

侯霁芯^{1,2} 王 芳^{1,2} 阚竞宇^{1,2} 王 丹^{1,2}万进东^{1,2} 刘家欣^{1,2} 汤 攀² 周 鹏^{1,2} 王沛坚^{1,2Δ}

(1 成都医学院第一附属医院心血管内科 四川 成都 610500; 2 衰老与血管稳态四川省高等学校重点实验室 四川 成都 610500)

摘要 目的:探索桂皮醛对高糖诱导的内皮细胞氧化应激的影响及其对相关血管内皮功能损害的作用,初步分析其作用机制。**方法:**① 制作高糖(30 mM)致人脐静脉内皮细胞(HUVEC)损伤和血管组织损伤模型,并以低糖(5.5 mM)作为对照,高糖干预的HUVECs给予桂皮醛(10 μM)或桂皮醛+TRPA1 特异性拮抗剂(HC030031, 10 μM)进行干预,以 DHE 染色和 DAF-2DA 染色观察各组细胞超氧阴离子和一氧化氮(NO)水平;western blotting 分析核因子 E2 相关因子 2(Nrf2), 内皮一氧化氮合酶(eNOS), 磷酸化 eNOS 及 P22^{phox} 水平。② 以 TRPA1 敲除(TRPA1^{-/-})及相应的野生型(Wild type, WT)小鼠分离胸主动脉进行体外培养,设低糖(5.5 mM D-葡萄糖)组、高糖(30 mM D-葡萄糖)组、高糖+桂皮醛(10 μM)组,以微血管张力测定仪测定血管内皮依赖性舒张功能和非内皮依赖性舒张功能。**结果:**① 桂皮醛可显著减少高糖介导的内皮细胞超氧阴离子的产生,防止 NO 水平下降,但上述作用可被 HC030031 所阻断。② 桂皮醛可显著防止 WT 小鼠胸主动脉血管内皮依赖性舒张功能减退,但对 TRPA1^{-/-} 小鼠无上述作用。③ 桂皮醛剂量依赖性地上调 Nrf2 的表达,还可促进 eNOS 磷酸化,减少 P22^{phox},上述作用均可被 HC030031 阻断。**结论:**桂皮醛激活 TRPA1 通过 Nrf2 信号通路可改善高糖介导的血管内皮细胞氧化应激水平,防止 NO 水平下降,改善血管内皮依赖性舒张功能。

关键词:桂皮醛;瞬时受体电位通道 A1 亚型;血管内皮细胞;氧化应激;糖尿病**中图分类号:**R-33; R543.5; R587.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2017)32-6232-05

Activation of TRPA1 by Cinnamaldehyde Protects Endothelial Function by Preventing High Glucose Induced Oxidative Stress*

HOU Ji-xin^{1,2}, WANG Fang^{1,2}, KAN Jing-yu^{1,2}, WANG Dan^{1,2},WAN Jin-dong^{1,2}, LIU Jia-xin^{1,2}, TANG Pan², ZHOU Peng^{1,2}, WANG Pei-jian^{1,2Δ}

(1 Department of Cardiology, The First Affiliated Hospital of Chengdu Medical College, Chengdu, Sichuan, 610500, China;

2 Key Laboratory of Aging and Vascular Homeostasis of Sichuan Higher Education Institutes, Chengdu, Sichuan, 610500, China)

ABSTRACT Objective: To explore the effects and mechanism of cinnamaldehyde on oxidative stress induced by high glucose in endothelial cells and related endothelial dysfunction. **Methods:** ① Human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) and arteries tissue models induced by high glucose(30 mM) were erected. Cells and arteries tissue cultured under low glucose levels(5 mM) condition were used as control. Cells under HG condition were treated with cinnamaldehyde (CA, 10 μM) or CA+HC030031 (A selective TRPA1 inhibitor, 10 μM). DHE and DAF-2DA staining were used to analysis the superoxide anion and NO level in HUVECs respectively. Nrf2, eNOS, p-eNOS and P22^{phox} were analysis by western blotting. ② Thoracic aorta separated from TRPA1 knockout or the wild type mice were cultured under HG or NG. The experiment was divided into three groups, low glucose group, HG group and HG+CA group. Wire myograph was used to analysis the endothelium dependent relaxation and endothelium independent relaxation. **Results:** ① CA decreased superoxide anion generation induced by HG in endothelial cells, prevented NO decreased, these effects were blocked by TRPA1 inhibitor, HC030031. ② CA prevented endothelium dependent relaxation in WT mice but not in TRPA1^{-/-} mice. ③ CA up-regulated Nrf2 in a dose dependent manner, and also promoted eNOS phosphorylation, decreased P22^{phox}, these effects were reversed by HC030031. **Conclusion:** Activation of TRPA1 by CA decreased oxidative stress in HUVECs under HG condition, preserved NO level hence improved the endothelium dependent relaxation.

Key words: Cinnamaldehyde; Transient Receptor Potential Ankyrin Subtype 1; Endothelial cells; Oxidative stress; Diabetes

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81400289, 81641058);四川省科技厅应用基础研究计划项目(2015JY0275);四川省科技计划青年基金项目(2016JQ0032);四川省科技厅科技创新苗子工程(2016070);四川省卫生计生委科研项目(150047);四川省教育厅自然科学重点项目(16ZA0277);成都医学院科研创新团队项目(CYTD16-01)

作者简介:侯霁芯(1983-),大学本科,主要从事血管病的基础及临床研究, E-mail: 1041349340@qq.com

Δ 通讯作者:王沛坚(1979-),医学博士,副教授,主要从事心血管及代谢性疾病的基础及临床研究, E-mail: wpjmed@aliyun.com

(收稿日期:2017-04-27 接受日期:2017-05-20)

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R543.5; R587.2 Document code: A

Article ID:1673-6273(2017)32-6232-05

前言

以血管内皮损伤为始动环节的糖尿病 (Diabetes Mellitus, DM)相关血管病变是冠心病、脑卒中及肾功能衰竭发生、发展的重要原因,约 60%-80%的 DM 患者最终死于相关的心脑血管并发症^[1]。目前仍难以证实降糖的治疗方案能否有效防止 DM 相关心脑血管并发症的发生与发展,而某些降糖药物更有增加心脑血管事件发生的风险^[2]。全球 DM 患者近 4 亿,我国已达 1.14 亿,成人中更有约 50%属 DM 前期^[3],因此亟待加强相关机制及干预策略研究。

桂皮醛是我国和印度传统药物肉桂中的挥发油成分。既往的研究证实其不但具促进胰岛素分泌,降低血糖,改善脂质代谢,舒张血管的作用,还具有抗炎、抗氧化应激的活性^[4,5],提示其可能在 DM 相关的血管并发症防治中有重要的作用,但目前未见相关的研究报道。此外,桂皮醛是瞬时受体电位通道 A1 亚型 (Transient Receptor Potential Ankyrin Subtype 1, TRPA1)最为经典的激动剂,近年发现桂皮醛还可调控核因子 E2 相关因子 2(Nuclear factor erythroid 2 related factor 2, Nrf2),而该信号通路被认为是目前体内最强的抗氧化应激通路,是治疗 DM 相关心血管病变的一个重要靶点^[6,7]。在本研究中,我们为初步探索桂皮醛对高糖致血管内皮损伤的作用,采用人脐静脉内皮细胞结合 TRPA1 的特异性拮抗剂,利用 TRPA1 敲除 (TRPA1^{-/-})及相应的野生型 (WT)小鼠的血管组织建立高糖血管损伤模型进行相关的研究。

1 材料与方法

1.1 实验用细胞、动物及主要试剂

人脐静脉内皮细胞 (HUVEC)购于齐氏生物科技有限公司 (江苏省)。实验用 TRPA1^{-/-}小鼠购于美国 Jakson 实验室,与 C57BL/6J 小鼠杂交后筛选出野生型小鼠及敲除型小鼠用于实验。桂皮醛、HC030031、苯肾上腺素 (Phenylephrine, PE)、内皮一氧化氮合酶 (eNOS)的抑制剂 (L-NAME)、硝酸甘油 (Nitroglycerin, NTG)、乙酰胆碱 (Acetylcholine, ACh)等试剂均购于 Sigma 公司。Nrf2、eNOS、p-eNOS、P22^{phox}等抗体均购于美国 Santa cruz 公司。高糖与低糖 DMEM、双抗均购于 Gibco 公司,胎牛血清购于 Hyclone 公司。

1.2 实验分组及干预

1.2.1 细胞实验分组 细胞实验分组:HUVEC 以低糖 (含 5.5 mM D-葡萄糖)DMEM 培养基 (含 10%胎牛血清 +1% 抗生素)于 37 °C, 5% CO₂ 条件下培养。实验分组处理如下:① 低糖对照组 (干预时给予等体积 DMSO);② 高糖对照组 (含 30 mM D-葡萄糖 DMEM 培养基培养);③ 高糖 + 桂皮醛 (10 μM);④ 高糖 + 桂皮醛 (10 μM)+TRPA1 拮抗剂 (HC030031, 10 μM)组;干预时间为 24 h。细胞种于六孔板中,每组至少重复 3 次^[8]。

1.2.2 离体血管组织实验分组 按既往建立的方法^[9],在无菌操作下获得的小鼠胸主动脉用低糖 (5.5 mM)DMEM 培养基 (含 10%胎牛血清和 1%抗生素)于 37 °C, 5% CO₂ 条件下培养;

干预方式及分组同 1.2.1 细胞实验。

1.3 观察指标

1.3.1 细胞 NO 与超氧阴离子水平的测定 参考本研究团队既往建立的实验方法^[9],参照试剂说明书,细胞在干预结束后进行 DAF-2DA (观察 NO 水平)和 DHE (观察超氧阴离子水平)染色,在倒置荧光显微镜下进行观察,拍照,计算平均光密度。

1.3.2 血管功能的检测 参照本研究团队既往建立的方法^[10]: ACh 或 NTG 诱导的血管舒张反应观察:血管在平衡后先以 PE (10⁻⁵ mmol/L)预收缩血管,在收缩反应进入平台期后,加入梯度浓度的 ACh 或 NTG (10⁻⁹~10⁻⁵ mmol/L)观察每一浓度对血管张力的影响。

计算方法:舒张反应(%),某一药物浓度所引起的最大舒张幅度与血管收缩剂引起的最大收缩幅值之比,以百分比表示。将数据输入 Graphpad Prism 6.01 软件,制作拟合曲线,通过软件计算最大舒张反应 (Emax)进行比较。

1.3.3 Western blotting 分析相关蛋白在 HUVEC 与主动脉组织的表达 参照既往建立的方法^[11],以 Bradford 法进行蛋白定量后进行 western blotting 操作,检测 Nrf2、eNOS、p-eNOS、P22^{phox}水平。

1.4 统计方法

实验数据以均数±标准误 (x±SEM)表示,以 SPSS18.0 进行数据录入,两组间比较采用非配对 t 检验进行分析,以 prism6.01 软件制图, P<0.05 为有统计学差异。

2 结果

2.1 桂皮醛激活 TRPA1 防止高糖介导的 HUVEC 超氧阴离子水平增加及 NO 水平下降

与低糖培养的 HUVEC 相比,高糖显著增加 HUVEC 超氧阴离子水平,NO 水平显著下降, P 均 <0.01;而同时给予桂皮醛 (10 μM)孵育可显著拮抗超氧阴离子水平的增加,防止 NO 水平的下降,但上述作用可被 TRPA1 的特异性阻断剂 HC030031 (10 μM)所拮抗,提示桂皮醛作为 TRPA1 的激动剂拮抗高糖介导的血管内皮细胞氧化应激水平的升高,防止 NO 水平下降,结果见图 1(A-D)。

2.2 桂皮醛防止高糖介导的血管内皮功能障碍依赖于 TRPA1

我们进一步分析桂皮醛的上述作用是否能对抗高糖介导的血管功能障碍。结果发现,与低糖对照组比较,高糖可致培养的小鼠胸主动脉血管内皮依赖性舒张功能下降, P<0.01;各组血管非内皮依赖性舒张功能无显著性差异, P>0.05;同时给予桂皮醛则可显著防止 WT 小鼠胸主动脉血管内皮依赖性舒张功能下降,但上述作用在 TRPA1 敲除后消失 (结果见图 2A-2D)。上述结果进一步提示桂皮醛防止高糖介导的血管内皮功能障碍依赖于 TRPA1。

2.3 桂皮醛剂量依赖性上调 Nrf2 的表达,但可被 TRPA1 拮抗剂阻断

桂皮醛 (10 nM~1 mM)呈剂量依赖性的上调 Nrf2 的表达,且在 10 μM 时已达最大效应,与 1 μM 比较, P<0.05,与 100

μM 或 1 mM 比较, P 均 >0.05 。我们以 TRPA1 的拮抗剂进一步分析发现, HC030031 ($10\text{ }\mu\text{M}$) 可显著拮抗桂皮醛对 Nrf2 的上

调作用(结果见图 3A-D)。上述结果提示桂皮醛对 Nrf2 的上调作用依赖于 TRPA1。

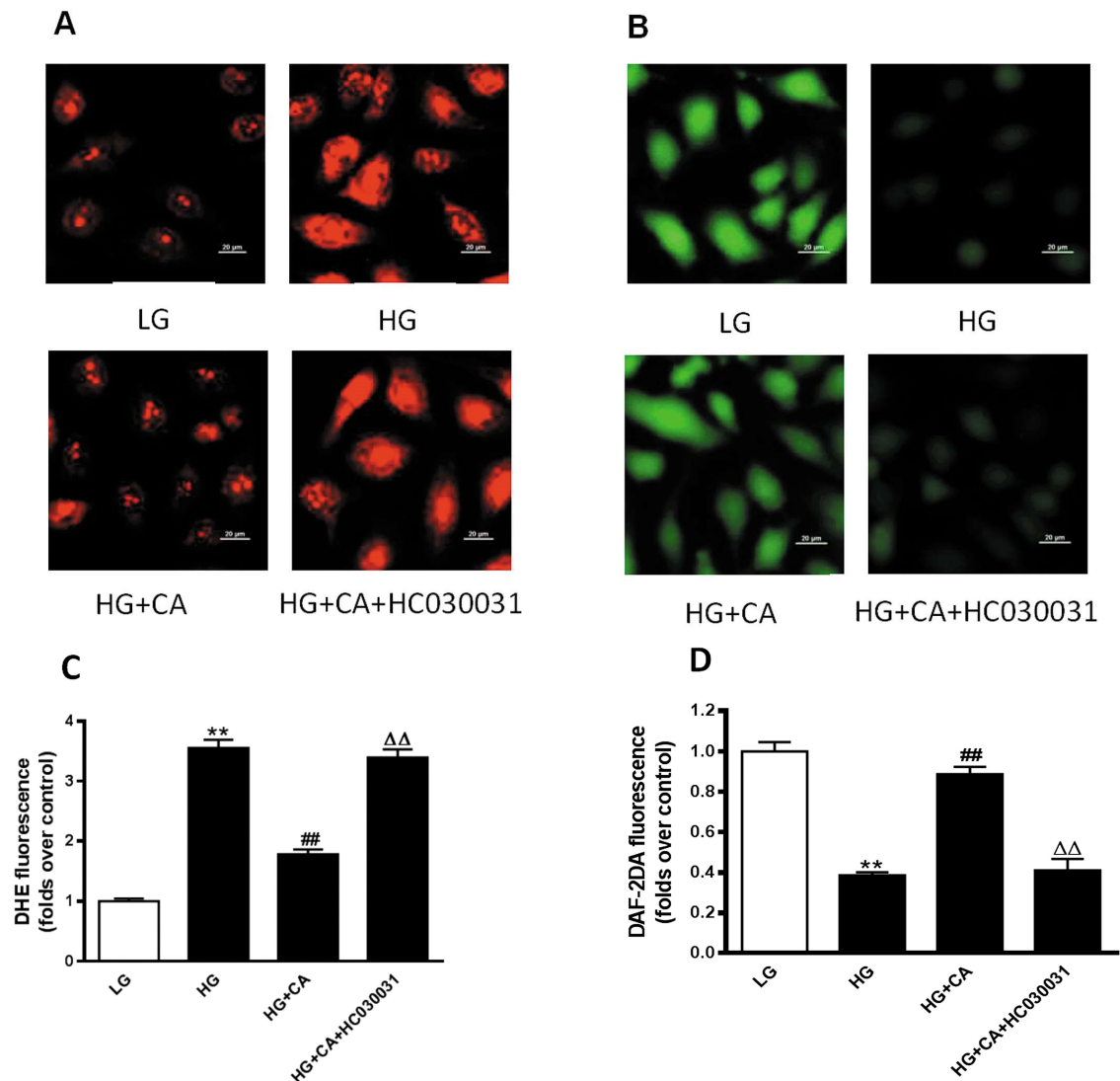


图 1 TRPA1 激动剂桂皮醛防止高糖诱导的内皮细胞超氧阴离子水平增加及 NO 水平下降

Fig.1 TRPA1 agonist cinnamaldehyde prevents the increased of superoxide anion and decreased of NO in HUVEC induced by high glucose

Note: LG: Low glucose, 5.5mM; HG: High glucose, 30.0 mM; HG+CA: High glucose+CA($10\text{ }\mu\text{M}$); CA: cinnamaldehyde; HC030031($10\text{ }\mu\text{M}$):

TRPA1 antagonist; Compared with LG group, ** $P < 0.01$; compared with HG group, ## $P < 0.01$; compared with HG+CA group, $\Delta\Delta P < 0.01$, $N=3$.

2.4 桂皮醛作为 TRPA1 激动剂减少 P22^{phox} 水平, 促进 eNOS 磷酸化

高糖或 DM 环境下还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (Reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH) 氧化酶活性增加^[8]。我们观察了与 DM 相关血管病变密切相关的 P22^{phox} 亚型, 结果发现桂皮醛可显著降低高糖环境下 P22^{phox} , 并促进血管内皮细胞 eNOS 的磷酸化水平, 但上述作用均可被 TRPA1 的拮抗剂 HC030031 阻断(结果见图 4A-B)。

3 讨论

在本研究中, 我们利用 HUVEC 及小鼠的胸主动脉组织进行体外实验, 分析了桂皮醛对高糖诱导的内皮细胞氧化应激及血管内皮功能障碍的影响并初步探讨了相关的机制。实验结果表明, 桂皮醛可显著拮抗高糖诱导的内皮细胞氧化应激水平的

升高, 防止高糖诱导的血管内皮功能损害, 而同时我们观察到桂皮醛还可上调 Nrf2, 减少 P22^{phox} 的生成, 促进 eNOS 的磷酸化。

已知 DM 或高糖环境下通过多种机制可致血管内皮进行性损伤, 包括糖基化终末产物形成与堆积、多元醇途径激活、内质网应激、己糖胺途径激活、一氧化氮合酶(eNOS)脱偶联、慢性炎症、线粒体功能障碍等^[12], 而氧化应激被认为是上述途径激活且持续存在的核心环节^[13]。既往的研究发现桂皮醛具有降糖、舒张血管和拮抗氧化应激的作用^[4,5], 但其在 DM 或高糖诱导的血管内皮损害中的作用和机制尚不明确。在本实验中, 我们首先发现, 桂皮醛可显著拮抗高糖诱导的血管内皮细胞氧化应激水平的升高, 预先给予桂皮醛可显著防止血管内皮依赖性舒张功能的下降。

既往对 TRPA1 的研究主要聚焦在感觉神经系统方面, 近年发现其在心血管代谢系统中有表达和功能, 发挥代谢和血管

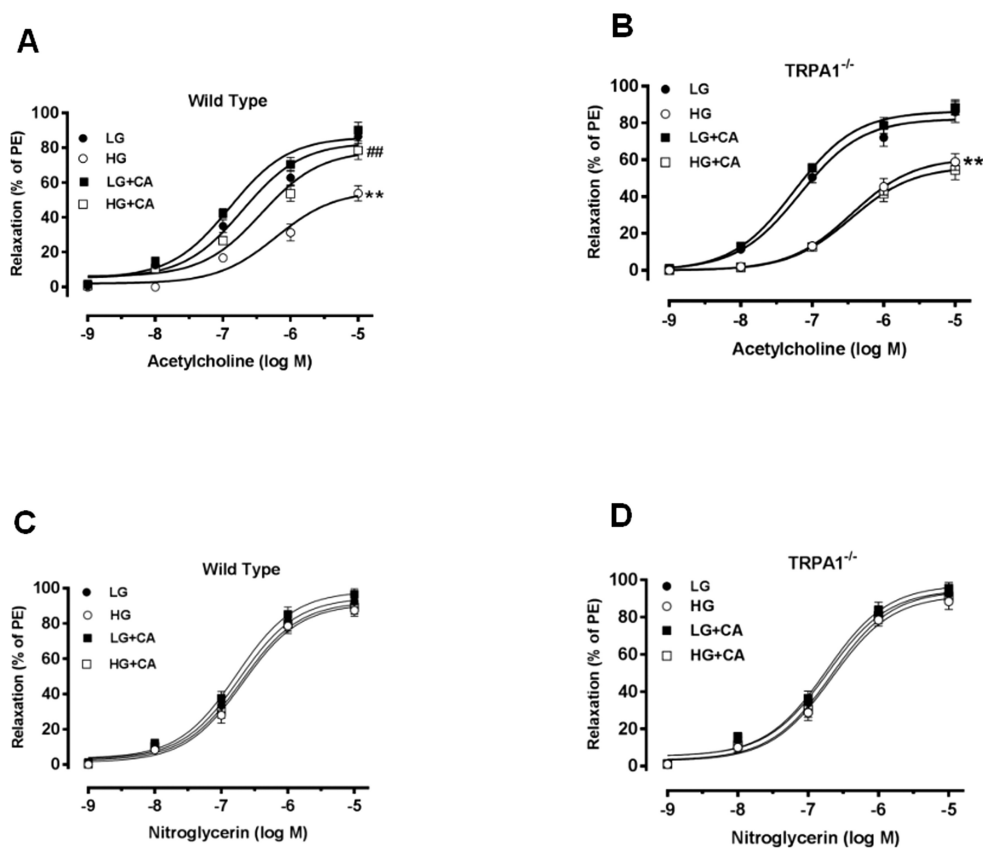


图2 桂皮醛防止高糖介导的血管内皮功能障碍依赖于 TRPA1

Fig.2 Cinnamaldehyde prevents endothelial dysfunction induced by high glucose in a TRPA1 dependent manner

Note: Compared with LG group, **P < 0.01; compared with HG group, ***P < 0.01, N=6.

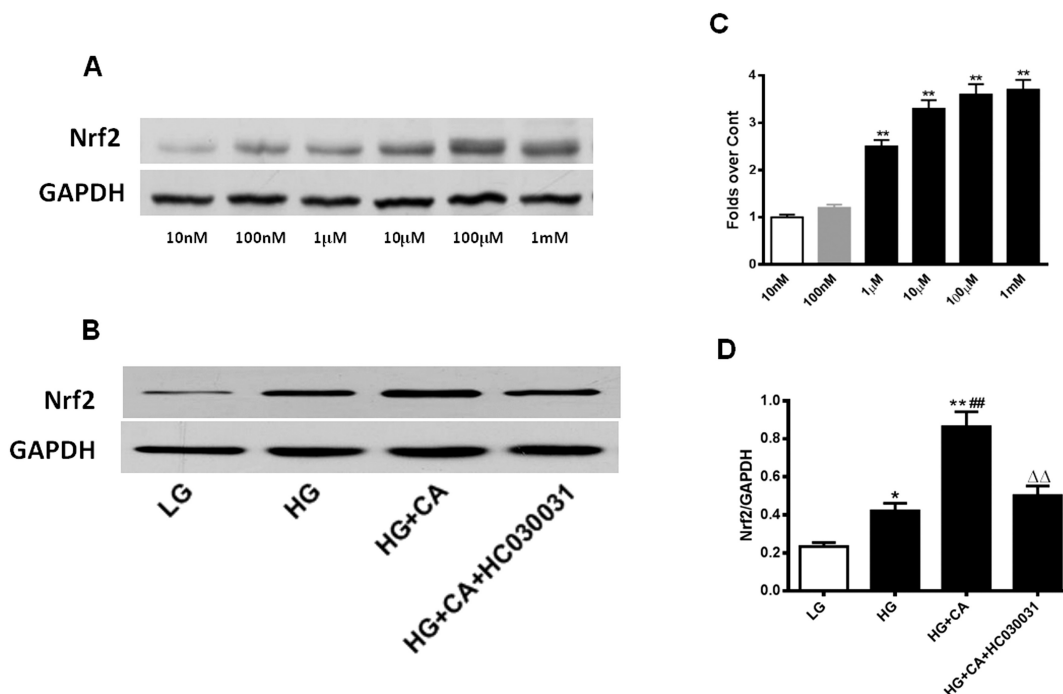


图3 桂皮醛剂量依赖性上调 Nrf2 的表达,但可被 TRPA1 拮抗剂阻断

Fig.3 Cinnamaldehyde upregulating Nrf2 in a dose dependent manner, but antagonized by TRPA1 blocked

Note: Compared with 10 nM group, **P < 0.01 (Figure 3A and C). Compared with LG group, *P < 0.05, **P < 0.01; compared with HG group, ***P < 0.01; compared with HG+CA group, ^{△△} P < 0.01, N=3 (Fig. 3C and D).

张力调节的作用^[14]。激活 TRPA1 可促进胰岛 β 细胞释放胰岛素,调节肠道饥饿激素、胰高血糖素样肽-1 等的分泌^[15]。血管内

皮细胞中存在 TRPA1 的表达,激活 TRPA1 可介导脑血管内皮依赖性舒张^[16]。桂皮醛是 TRPA1 最经典的激动剂,故我们观察

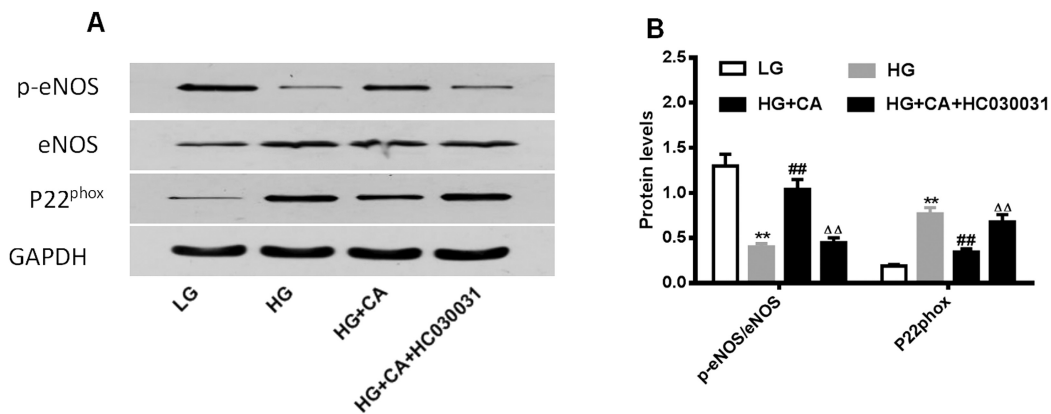


图4 桂皮醛作为 TRPA1 激动剂减少 P22^{phox} 水平,促进 eNOS 磷酸化

Fig.4 Cinnamaldehyde decreased P22^{phox} levels and promoted eNOS phosphorylation as a TRPA1 agonist

Note: Compared with LG group, **P < 0.01; compared with HG group, #P < 0.01; compared with HG+CA group, ΔΔP < 0.01, N=3.

TRPA1 特异性拮抗剂 HC030031 对桂皮醛作用的影响,分析桂皮醛的作用是否依赖于 TRPA1。结果发现同时给予 TRPA1 的拮抗剂可显著减弱桂皮醛的上述作用,从而提示桂皮醛是作为 TRPA1 的激动剂起到保护内皮细胞免受高糖介导的氧化应激损伤。

既往研究证实,桂皮醛可上调 Nrf2 改善 STZ 诱导的 DM 模型代谢紊乱。Nrf2 是体内最重要的抗氧化应激通路之一^[7]。在 ROS 的刺激下胞浆中的 Nrf2 与 Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白-1 (Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1)解离后转位至细胞核,促进血红素氧合酶 1 (HO-1)、超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、醌氧化还原酶 (NQO1)等抗氧化分子的转录和表达,提高体内清除 ROS 的能力,是机体维持氧化还原稳态的重要反馈调节机制^[14]。为此,我们进一步观察了桂皮醛对 Nrf2 的调节作用,结果发现,桂皮醛呈剂量依赖性的上调 Nrf2 的表达,但桂皮醛对 Nrf2 的上调作用同样可被 TRPA1 的拮抗剂 HC030031 所阻断。

DM 病理状态下 NADPH 过度激活,线粒体呼吸链产生大量的活性氧 (Reactive oxygen species, ROS),机体内氧化还原稳态失衡,产生的 ROS 可与具有血管内皮保护作用的 NO 结合,一方面猝灭 NO,另一方面生成具有强氧化损伤能力的过氧亚硝酸盐阴离子 (ONOO⁻)^[8],造成血管内皮的持续性损伤。与既往的研究一致,我们观察到高糖环境下 NADPH-P22^{phox} 的表达显著增加,磷酸化的 eNOS 显著下降,而桂皮醛则可减少 P22^{phox} 的表达,促进 eNOS 的磷酸化,但上述作用同样可被 TRPA1 的拮抗剂所阻断。

综上,根据实验结果,我们认为桂皮醛通过激活 TRPA1 显著防止高糖介导的血管内皮细胞氧化应激水平的升高及血管内皮功能障碍,其作用可能与其上调 Nrf2 表达,减少 P22^{phox} 促进 eNOS 磷酸化有关。TRPA1 属非选择性阳离子通道,兼有受体功能,激活后主要介导细胞外阳离子如 Na⁺、H⁺,尤其是 Ca²⁺ 的内流。氧化应激产物,如 ROS、活性氮、H₂O₂、脂质过氧化物、15-去氧-Δ^{12,14}前列腺素 J2 (15d-PGJ2)、4-羟基壬烯酸等均可激活 TRPA1,可能是机体一种保护性的反馈调节^[15]。根据

我们目前的研究结论,那么 TRPA1 对 Nrf2 的确切调控机制是什么?有待进一步深入研究。

参考文献 (References)

- [1] Oli ver Schnell, Lars Rydén, Eberhard Standl, et al. Current perspectives on cardiovascular outcome trials in diabetes [J]. Cardiovasc Diabetol, 2016, 15(1): 139
 - [2] Hayward RA, Reaven PD, Witala WL, et al. Follow-up of glycemic control and cardiovascular outcomes in type 2 diabetes [J]. N Engl J Med, 2015, 372(23): 2197-206
 - [3] Xu Y, Wang L, He J, et al. 2010 China Noncommunicable Disease Surveillance Group. Prevalence and control of diabetes in Chinese adults[J]. JAMA, 2013, 310(9): 948-959
 - [4] Camacho S, Michlig S, de Senarclens-Bezençon C, et al. Anti-obesity and anti-hyperglycemic effects of cinnamaldehyde via altered ghrelin secretion and functional impact on food intake and gastric emptying [J]. Sci Rep, 2015, 5(9): 7919
 - [5] Gá bor Raffai, Byungkuk Kim, Sanga Park, et al. Cinnamaldehyde and cinnamaldehyde-containing micelles induce relaxation of isolated porcine coronary arteries: role of nitric oxide and calcium [J]. Int J Nanomedicine, 2014; 9(1): 2557-2566
 - [6] Zheng H, Whitman SA, Wu W, et al. Therapeutic potential of Nrf2 activators in streptozotocin-induced diabetic nephropathy [J]. Diabetes, 2011, 60(11): 3055-3066
 - [7] Earley S. TRPA1 channels in the vasculature[J]. Br J Pharmacol, 2012, 167(1): 13-22
 - [8] Sun J, Pu Y, Wang P, et al. TRPV1-mediated UCP2 upregulation ameliorates hyperglycemia-induced endothelial dysfunction [J]. Cardiovasc Diabetol, 2013, 12(1): 69
 - [9] 王沛坚,王秋林,杨震,等. PPARγ 激动剂通过上调解偶联蛋白 2 抑制高糖介导的内皮细胞活性氧生成 [J]. 中国病理生理杂志, 2015, 31(01): 49-53
- Wang Pei-jian, Wang Qiu-lin, Yang Zhen, et al. PPARγ agonist inhibits high glucose induced production of reactive oxygen species by UCP2 up-regulation[J]. Chinese Journal of Pathophysiology, 2015, 31(01): 49-53

(下转第 6335 页)

- spontaneously hypertensive rats [J]. *European Journal of Pharmacology*, 2010, 631(1-3): 28-35
- [12] Lau K K, Chan Y H, Wong Y K, et al. Garlic intake is an independent predictor of endothelial function in patients with ischemic stroke[J]. *The journal of nutrition, health & aging*, 2013, 17(7): 600-604
- [13] Kwon H S, Kim Y S, Park H H, et al. Increased VEGF and Decreased SDF-1 α in Patients with Silent Brain Infarction Are Associated with Better Prognosis after First-Ever Acute Lacunar Stroke [J]. *Journal of Stroke & Cerebrovascular Diseases*, 2015, 24(3): 704-710
- [14] Reitmeir R, Kilic E, Reinboth B S, et al. Erratum to: Vascular endothelial growth factor induces contralesional corticobulbar plasticity and functional neurological recovery in the ischemic brain [J]. *Acta Neuropathologica*, 2015, 123(4): 273-284
- [15] Xue L, Chen H, Zhang T, et al. Changes in serum vascular endothelial growth factor and endostatin concentrations associated with circulating endothelial progenitor cells after acute ischemic stroke[J]. *Metabolic Brain Disease*, 2017, 32(2): 641-648
- [16] Shindo A, Maki T, Mandeville E T, et al. Astrocyte-Derived Pentraxin 3 Supports Blood-Brain Barrier Integrity Under Acute Phase of Stroke[J]. *Stroke*, 2016, 47(4): 1094-1100
- [17] Yang Y. The role of nitric oxide in the automatic regulation of cerebral blood flow[J]. *Chinese Journal of Stroke*, 2016, 11(4): 247-249
- [18] Yang Z J, Carter E L, Torbey M T, et al. neuronal nitric oxide, stroke [J]. *Experimental Neurology*, 2010, 221(1): 166-174
- [19] Rajeshwar K, Kaul S, Al-Hazzani A, et al. C-reactive protein and nitric oxide levels in ischemic stroke and its subtypes: correlation with clinical outcome[J]. *Inflammation*, 2012, 35(3): 978-984
- [20] Serranoponz M, Rodrigogasqué C, Siles E, et al. Temporal profiles of blood pressure, circulating nitric oxide, and adrenomedullin as predictors of clinical outcome in acute ischemic stroke patients [J]. *Molecular Medicine Reports*, 2016, 13(5): 3724-3734
- [21] Du C P, Song J H. Clinical effect of edaravone on brain edema and free radical scavenging in patients with acute cerebral infarction[J]. *Guizhou Medical Journal*, 2016, 40(11): 1165-1166
- [22] Zhang Yi. Effects of edaravone on plasma endothelin -1, nitric oxide and serum high sensitivity C reactive protein of patients with acute cerebral infarction [J]. *Journal of Clinical Medicine in Practice*, 2016, 20(19): 129-130
- [23] Zheng J, Chen X. Edaravone offers neuroprotection for acute diabetic stroke patients[J]. *Irish Journal of Medical Science*, 2015, 185(4):819-824
- [24] Miao J, Deng F, Zhang Y, et al. Exogenous human urinary kallidinogenase increases cerebral blood flow in patients with acute ischemic stroke[J]. *Neurosciences*, 2016, 21(2): 126-130

(上接第 6236 页)

- [10] Wang P, Li B, Cai G, et al. Activation of PPAR γ by Pioglitazone Attenuates Oxidative Stress in Aging Rat Cerebral Arteries through Up-regulating UCP2[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2014, 64(6): 497-506
- [11] Pu Y, Zhang H, Wang P, et al. Dietary Curcumin Ameliorates Aging-Related Cerebrovascular Dysfunction through the AMPK/Uncoupling Protein 2 Pathway[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2013, 32(5): 1167-1177
- [12] van den Born JC, Hammes HP, Greffrath W, et al. Gasotransmitters in vascular complications of diabetes[J]. *Diabetes*, 2016, 65(2): 331-345
- [13] Evans JL, Goldfine ID. A New Road for Treating the Vascular Complications of Diabetes: So Let's Step on the Gas [J]. *Diabetes*, 2016, 65(2): 346-348
- [14] Fernandes, ES, MA Fernandes, JE Keeble. The functions of TRPA1 and TRPV1: moving away from sensory nerves [J]. *Br J Pharmacol*, 2012, 166(2): 510-21
- [15] Emery EC, Diakogiannaki E, Gentry C, et al. Stimulation of GLP-1 secretion downstream of the ligand-gated ion channel TRPA1 [J]. *Diabetes*, 2015, 64(4): 1202-1210
- [16] Scott Earley, Albert L. Gonzales, et al. Endothelium-Dependent Cerebral Artery Dilation Mediated by TRPA1 and Ca²⁺-Activated K⁺ Channels[J]. *Circ Res*, 2009, 104(8): 987-994
- [17] Tan SM, de Haan JB. Combating oxidative stress in diabetic complications with Nrf2 activators: how much is too much? [J]. *Redox Rep*, 2014, 19(3): 107-117
- [18] Andersson DA, Gentry C, Moss S, Bevan S. Transient receptor potential A1 is a sensory receptor for multiple products of oxidative stress[J]. *J Neurosci*, 2008, 28(10): 2485-2494
- [19] Kim S, Hwang SW. Emerging roles of TRPA1 in sensation of oxidative stress and its implications in defense and danger [J]. *Arch Pharm Res*, 2013, 36(7): 783-791