

## • 实验研究 •

[文章编号] 1007-3949(2007)15-04-0272-05

## 十一酸睾酮对雄性家兔髂动脉内膜损伤后的修复作用

楼亚梅<sup>1</sup>, 徐哲荣<sup>2</sup>, 杨云梅<sup>2</sup>, 归琦峰<sup>2</sup>

(1. 杭州市西湖区古荡街道社区卫生服务中心, 浙江省杭州市 310012;

2. 浙江大学医学院附属第一医院干部病房, 浙江省杭州市 310003)

[关键词] 病理学; 十一酸睾酮; 睾丸和附睾摘除术; 内皮剥脱术; 内膜修复; 雄性家兔

[摘要] 目的 观察十一酸睾酮对雄性家兔髂动脉内膜损伤后的修复作用。方法 成熟雄性日本大耳白兔 25 只, 随机分成 5 组, 每组 5 只: 假手术组(不切除睾丸和附睾)、模型组、小剂量组(手术后补充睾酮 3 mg/kg)、中剂量组(手术后补充睾酮 6 mg/kg)和大剂量组(手术后补充睾酮 12 mg/kg), 后 4 组均切除双侧睾丸和附睾。所有动物手术后第 14 d 行右侧髂动脉内皮剥脱术。手术后第 7、14 和第 21 d 肌肉注射十一酸睾酮, 假手术组和模型组肌注生理盐水。于不同时间测定血清总睾酮。第 28 d 处死动物, 取损伤血管段, 应用扫描电镜和 HE 染色观察髂动脉内膜的修复情况。结果 光镜下观察发现, 模型组、小剂量组和中剂量组动脉内膜增生严重, 大剂量组内膜增厚程度明显减低, 接近假手术组。模型组、小剂量组和中剂量组的髂动脉内膜/中膜面积比值分别是  $1.25 \pm 0.10$ 、 $0.90 \pm 0.10$  和  $0.74 \pm 0.11$ , 明显高于假手术组( $0.22 \pm 0.05$ ;  $P < 0.01$ )。大剂量组的髂动脉内膜/中膜面积比值为  $0.26 \pm 0.07$ , 接近于假手术组( $P > 0.05$ )。扫描电镜观察发现, 假手术组动物髂动脉内皮光滑, 整齐连续, 模型组几乎未见到有内皮细胞再生, 小剂量组内皮有散在覆盖, 中剂量组片状覆盖, 大剂量组内皮细胞修复明显, 排列趋于正常, 偶有缺失。在手术后第 28 d 大剂量组血清总睾酮水平接近假手术组, 其它组在不同时间点均低于假手术组。结论 生理水平的睾酮具有保护雄性家兔血管内皮, 抑制动脉损伤后内膜增生的作用。

[中图分类号] R36

[文献标识码] A

## The Effect of Testosterone Undecanoate on Intima Restoration of Iliac Artery After Injury in Male Rabbit

LOU Ya-Mei, XU Zhe-Rong, YANG Yun-Mei, and GUI Qi-Feng

(The First Affiliated Hospital, College of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310003, China)

[KEY WORDS] Testosterone Undecanoate; Castration; Endothelium Denudation; Intimal Restoration; Male Rabbit

[ABSTRACT] **Aim** To observe the effect of testosterone undecanoate (TU) on intima restoration of iliac artery after injury in male rabbit. **Methods** Twenty-five male Japanese rabbits were randomized into 5 groups (5 in each): control group, castrated group, small dose group (3 mg/kg), middle dose group (6 mg/kg) and large dose group (12 mg/kg). All five groups of rabbits were castrated except the control group. At the fourteenth day after castration all animals were performed with endothelium denudation at the right iliac artery. At the seventh, fourteenth and twenty-first day after castration, the last three groups of rabbits were intramuscularly injected with testosterone undecanoate, whereas control group and castrated group were intramuscularly injected with 0.9% saline. Blood sample were collected for determination of total testosterone (TT) at different time. At the twenty-eighth day after castration, all animals were killed by air embolism. The endothelial structure and morphological changes were observed with scanning electron microscope and HE staining. **Results** The hyperplasia of endometrium was serious in castrated group, small dose group and middle dose group at the sight of light microscope, whereas in large dose group this hyperplasia is as light as that in control group. The intima-media ratio of iliac artery in castrated group, small dose group and middle dose group (respectively  $1.25 \pm 0.10$ ,  $0.90 \pm 0.10$ , and  $0.74 \pm 0.11$ ) were obviously larger than those in control group ( $0.22 \pm 0.05$ ) ( $P < 0.01$ ), whereas no significant difference was found between large dose group ( $0.26 \pm 0.07$ ) and control group ( $P > 0.05$ ). Scanning electron microscopy showed that the endothelium of control group was smooth and continuous, and the cells were in good order. Whereas in castrated group almost no endothelial cell was observed. There were a few isolated areas having endothelial cells in small dose and middle dose groups. In large dose group, the arrangement of endothelial cells got close to normal state and have small deletion occasionally. At the twenty-eighth day after castration, serum level of total testosterone (TT) in large dose group was similar to that before castration and in control group. Serum level of TT in other groups was obviously lower than that in control group. **Conclusion** Testosterone, at physiological level, can protect vascular endothelium and inhibit intima hyperplasia in male rabbit.

[收稿日期] 2006-08-22 [修回日期] 2007-04-01

[基金项目] 浙江省科技厅基金(491010-J30469)资助

[作者简介] 楼亚梅, 硕士研究生, 主治医师, 从事老年心脑血管研究, E-mail 为 ly mei001@126.com。徐哲荣, 硕士, 从事老年心脑血管研究。通讯作者杨云梅, 主任医师, 硕士研究生导师, 室主任, 主要从事老年心脑血管研究。

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是发病广泛、危害严重的血管疾病,始于血管内皮细胞(vascular endothelial cell, VEC)的损伤、脂质沉积和平滑肌细胞(smooth muscle cell, SMC)增殖。近年来,雄激素与动脉粥样硬化性心血管疾病的关系深受人们的关注。但迄今为止,各种观点尚处于争论之中。早期的观点认为雄激素有促进 As 的作用,这是基于运动员中滥用雄激素所造成的心血管危害(心肌梗死、心肌梗死及血栓等)<sup>[1]</sup>和男性性别本身是一个独立的心血管疾病危险因素<sup>[2]</sup>这两点得出的。而近年来的研究表明,雄激素对男性心血管系统有保护作用,男性内源性雄激素不足会增加该系统疾病的发病危险,而对伴有低睾酮血症的男性冠心病患者补充睾酮可缓解其临床症状和改善心电图缺血表现,抑制动脉粥样硬化发展<sup>[3-6]</sup>。内膜增生在 As 的发生过程中起了重要作用,中膜 SMC 向内膜迁移、增殖并堆积大量脂质尤其是胆固醇进而形成泡沫细胞是 As 的基本病理改变之一<sup>[7]</sup>。本实验观察十一酸睾酮(testosterone undecanoate, TU)对睾丸和附睾摘除术雄兔髂动脉内膜损伤后的修复作用,为探讨雄激素在 As 发生、发展中的作用提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物分组

成熟健康(周龄 8~12 周)的雄性日本大耳白兔 25 只(浙江大学医学院动物实验中心提供),体重  $2.5 \pm 0.3$  kg,分笼饲养,室温  $20^{\circ}\text{C} \sim 25^{\circ}\text{C}$ 。适应性喂养动物 1 周后,随机分成假手术组、模型组、小剂量组(睾丸和附睾摘除术+ TU 3 mg/kg)、中剂量组(睾丸和附睾摘除术+ TU 6 mg/kg)和大剂量组(睾丸和附睾摘除术+ TU 12 mg/kg),每组 5 只。普通饲料喂养,自由饮水。

### 1.2 睾丸和附睾摘除术手术和睾酮补充

模型组和不同剂量的睾酮补充组行睾丸和附睾摘除手术,假手术组不摘除睾丸和附睾。将兔子固定于手术台上,局部剃毛,消毒阴囊皮肤,2%利多卡因局部麻醉后,剪开双侧阴囊正中皮肤,向两侧分离,剪破鞘膜,用小镊将睾丸提出,结扎紧输精管、血管后,完整切除双侧睾丸和附睾,无活动出血后,缝合皮肤,局部消毒。假手术组暴露睾丸但不摘除,立即缝合阴囊皮肤。术后予肌肉注射青霉素 400 kU/d  $\times 2$  d 预防感染。小剂量、中剂量和大剂量组术后第 7 d 开始分别肌注 TU 3 mg/kg、6 mg/kg 和 12 mg/kg,假手术组及模型组肌注生理盐水,每周一次,注射共

3 次。注射部位为雄兔后大腿内侧,每次注射前所有兔子进行称重。TU 注射液由浙江仙居制药厂生产。

### 1.3 球囊损伤动脉内膜

所有动物手术后第 14 d 行右髂动脉内皮剥脱术。兔子仰卧固定,局部剃毛,碘伏消毒,以 2%利多卡因局部麻醉后,沿右侧股动脉走行作一纵行切口,长约 4~4.5 cm,找到右股动脉,钝性分离血管,将与股动脉伴行的神经和静脉完全分离,同时将血管鞘钝性分离,待分离光滑后,在近心端、远端下方各穿 4 号丝线备用,双结扎股动脉远端,近心端留线备插入球囊时提拉用。轻轻提拉股动脉近心端预先穿好的丝线暂时阻断血流,将小号手术刀柄垫于股动脉下方,提供稳定的操作平台。在该血管中远 1/3 处横向剪开一小口,自此逆行插入经皮腔内冠状动脉成形术球囊导管(Maverick 公司产品,球囊直径 2.5 mm,长 20 mm),插入深度约 15 cm 左右,向球囊内注入空气,使球囊内压力维持在 6 个大气压,慢慢回拉至股动脉,如此反复 3 遍后,撤出导管和鞘管,结扎股动脉近心端。逐层缝合皮下组织及皮肤。术后肌注青霉素 400 kU/d  $\times 3$  d 预防感染。

### 1.4 动脉内膜病理形态学检查

1.4.1 光学显微镜观察 手术后第 28 d,空气栓塞处死兔子,取右髂动脉一段,用肝素盐水冲洗管腔内血液,10%福尔马林溶液固定 24 h 取材,取材块长约 1.5 cm,宽约 0.3 cm。每例髂动脉在不同部位共取 5 个组织块,经常规脱水、石蜡包埋后连续切片,切片厚度 5  $\mu\text{m}$ ,HE 染色后光镜下观察,并采用 HPIAs1000 型图像分析软件(浙江大学医学院)进行血管内膜和中膜面积测量,内膜面积为内弹力板包绕面积-管腔面积,中膜面积为外弹力板包绕面积-内弹力板包绕面积,算出内膜/中膜面积比值(IA/MA)。

1.4.2 电子显微镜观察 取各组损伤段血管 0.5 cm 左右,用肝素盐水冲洗管腔内血液,用 2.5%戊二醛固定、乙醇梯度脱水及离子镀膜后,扫描电镜观察 VEC 的修复情况。电镜(浙江大学医学院):CAM-BRIDGE 公司产品,型号: Stereoscan 260。

### 1.5 血样本收集和 TT 检测

术前 2 d 和术后第 7、14、21 和第 28 d,雄兔空腹 24 h 后上午 8:00 采集耳正中动脉血 2 mL(不抗凝),3 kr/min 离心 10 min(浙江大学医学院附属第一医院检验科全自动离心机),取上层血清置于 Eppendorf 管内,  $-200^{\circ}\text{C}$  冰箱保存,严格按照试剂盒操作规程,放射免疫法测定血清总睾酮(total testosterone, TT)。

TT 检测试剂盒: 美国 DSL 公司产品。

### 1.6 统计学分析

所有数据均用  $\bar{x} \pm s$  表示, 差异的显著性采用单因素方差分析, 有关指标用 SPSS11.5 统计软件做相关分析,  $P < 0.05$  有显著统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 光镜观察血管内膜病理形态学变化

5 组髂动脉内膜均有不同程度的增厚。模型

组、小剂量组和中剂量组动脉内膜增厚明显, 管腔明显狭窄而大小不规则, 大量 SMC 排列紊乱和大量泡沫细胞积聚, 高倍镜下可见大小不规则的泡沫细胞, 个别呈气球样变, 胞质内含有大量脂质, 核呈圆形、卵圆形或长形, 偶见 1-2 个核仁。可见内弹力板破坏, 中膜 SMC 增生, 突破中膜而进入内膜。大剂量组动脉内膜增厚程度明显减轻、内膜中 SMC 和泡沫细胞数量明显减少, 假手术组内膜增生程度轻, SMC 和泡沫细胞数量最少(图 1)。

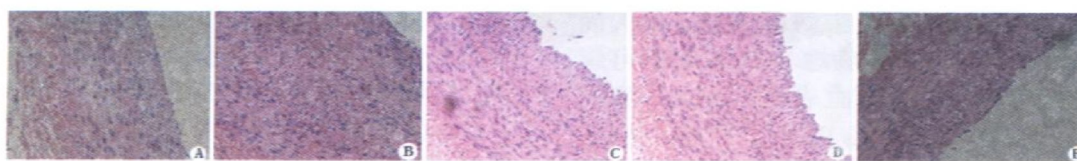


图 1. 髂动脉内膜中膜光镜观察 (HE  $\times 140$ ) A 为假手术组; B 为模型组; C 为小剂量组; D 为中剂量组; E 为大剂量组。

### 2.2 髂动脉内膜/中膜面积比值

模型组、小剂量组和中剂量组的髂动脉内膜/中膜面积比值最大, 分别是  $1.25 \pm 0.10$ ,  $0.90 \pm 0.10$ ,  $0.74 \pm 0.11$ , 明显高于假手术组 ( $0.22 \pm 0.05$ ;  $P < 0.01$ )。大剂量组髂动脉内膜/中膜面积比值 ( $0.26 \pm 0.07$ ) 略大于假手术组 ( $P > 0.05$ )。

### 2.3 扫描电镜观察球囊损伤髂动脉内皮及其修复情况

扫描电镜下正常血管内皮细胞 (vascular endothelial cell, VEC) 呈长梭形, 长轴与血流方向一致, 细

胞宽部与窄部镶嵌排列, 排列有序, 大小均一。假手术组内皮光滑, 整齐连续, 相邻内皮细胞间见到紧密连接; 模型组内皮几乎完全缺失, 暴露其下弹力纤维层, 表面粗糙, 未见到新生内皮细胞; 小剂量组有少量散在的内皮细胞覆盖, 新生内皮细胞呈椭圆形, 轮廓清晰, 排列不规则, 无轴向性, 内皮间连接疏松; 中剂量组内皮小片状覆盖, 内皮细胞饱满, 呈现增殖旺盛状态, 内皮间连接建立, 排列有一定轴向性; 大剂量组新生内皮修复明显, 排列趋于正常, 偶有缺失, 新生的内皮细胞呈长梭形, 细胞间距离较宽(图 2)。

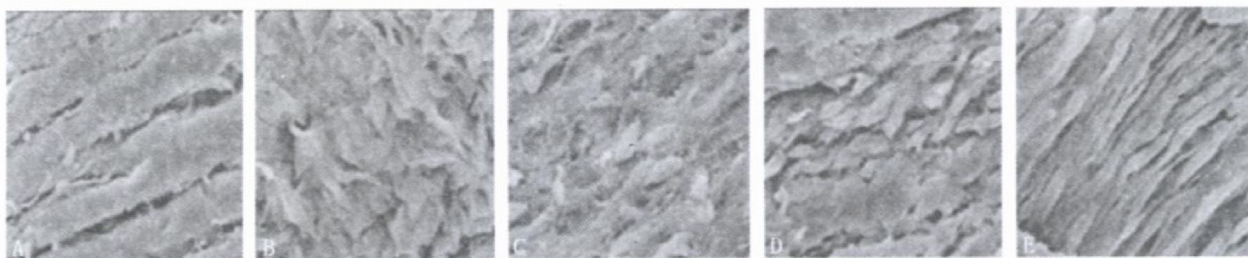


图 2. 髂动脉内皮细胞扫描电镜观察 ( $\times 600$ ) A 为假手术组; B 为模型组; C 为小剂量组; D 为中剂量组; E 为大剂量组。

### 2.4 总睾酮水平的变化

睾丸和附睾摘除术前各组间及假手术组整个实验过程中血清 TT 十分接近, 无显著差异 ( $P > 0.05$ )。手术后 7 d 各组血清 TT 水平明显低于睾丸和附睾摘除术前水平 ( $P < 0.05$ )。手术后 14 d 血清 TT 水平, 模型组、小剂量组和中剂量组明显低于睾

丸和附睾摘除术前和假手术组水平 ( $P < 0.01$ ); 大剂量组低于睾丸和附睾摘除术前和假手术组水平 ( $P < 0.05$ )。手术后 21 d 血清 TT 水平, 模型组、小剂量组和中剂量组明显低于睾丸和附睾摘除术前和假手术组水平 ( $P < 0.01$ ); 大剂量组低于睾丸和附睾摘除术前和假手术组水平 ( $P < 0.05$ )。手术后 28



d 血清 TT 水平, 模型组、小剂量组明显低于睾丸和附睾摘除术前和假手术组水平 ( $P < 0.01$ ); 中剂量组明显低于睾丸和附睾摘除术前和假手术组水平

( $P < 0.05$ ); 大剂量组接近于睾丸和附睾摘除术前和假手术组水平 ( $P > 0.05$ ; 表 1)。

表 1. 睾丸和附睾摘除术和补充十一酸睾酮对雄兔血清总睾酮水平的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 5$ , nmol/L)

分 组	术前	术后第 7 d	术后第 14 d	术后第 21 d	术后第 28 d
对照组	1.59 ± 0.16	1.52 ± 0.18	1.52 ± 0.23	1.51 ± 0.14	1.54 ± 0.17
模型组	1.55 ± 0.15	1.17 ± 0.18 <sup>ac</sup>	0.82 ± 0.21 <sup>bd</sup>	0.59 ± 0.17 <sup>bd</sup>	0.39 ± 0.21 <sup>bd</sup>
小剂量组	1.57 ± 0.19	1.19 ± 0.20 <sup>ac</sup>	0.89 ± 0.18 <sup>bd</sup>	0.68 ± 0.27 <sup>bd</sup>	0.52 ± 0.25 <sup>bd</sup>
中剂量组	1.51 ± 0.174	1.16 ± 0.21 <sup>ac</sup>	0.99 ± 0.14 <sup>bd</sup>	1.10 ± 0.13 <sup>bd</sup>	1.25 ± 0.15 <sup>ac</sup>
大剂量组	1.54 ± 0.1	1.15 ± 0.16 <sup>ac</sup>	1.20 ± 0.22 <sup>ac</sup>	1.32 ± 0.10 <sup>ac</sup>	1.56 ± 0.18

a 为  $P < 0.05$ , b 为  $P < 0.01$ , 与对照组比较; c 为  $P < 0.05$ , d 为  $P < 0.01$ , 除术前比较。

### 3 讨论

本研究就内源性和外源性睾酮水平对睾丸和附睾摘除术雄兔髂动脉内膜损伤后的修复作用进行安慰剂对照研究。此次试验表明手术后内源性低睾酮血症使动脉内膜增生严重, 作为血管内膜增生的指标 IA/MA 明显高于对照组, 而生理性外源性睾酮的补充使内皮损伤介导的内膜增生明显减轻, 表明生理水平睾酮对雄兔 As 有很强的抑制作用。这和任国庆等<sup>[8]</sup>报道给睾丸和附睾摘除术雄兔补充生理性十一酸睾酮后, 内皮损伤介导的内膜增生程度减轻的结果是相符的。血管受到介入损伤后, 局部血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 和成纤维细胞可通过 NADH/NADPH 氧化酶途径产生大量的活性氧, 而活性氧作为第二信使可以激活细胞内多种蛋白激酶和转录因子, 诱导 VSMC 的 sis 基因表达, 促进 VSMC 增殖<sup>[9]</sup>。VSMC 是动脉粥样斑块中最重要的成份之一, 来自中膜的 VSMC 的迁移和增殖在内膜增生中起了重要作用。有资料认为睾酮可以上调血管平滑肌细胞 AR 受体 mRNA 的表达, 减少新生血管斑块的发展<sup>[10]</sup>。

当前认为, 内皮功能紊乱是 As 发生过程中的始动因素之一。血管内皮是介于循环血液与 VSMC 之间的生理屏障, 能分泌许多重要的血管活性物质, 调节血管的舒缩功能, 在血管壁的正常形态和血管性疾病的发病机理方面起了重要作用。内皮受到机械损伤后, 在细胞因子及原癌基因等的共同作用下, 中膜 VSMC 向内膜迁移增殖, 并产生大量的细胞外基质, 是导致内膜增生和管腔狭窄的主要病理基础。VEC 再生是血管内膜损伤或剥脱后的主要修复方式, 本实验球囊损伤后模型组几乎未见到有新生内皮再生, 小剂量组可见少量散在的内皮细胞再生, 中

剂量组内皮呈小片状覆盖, 大剂量组新生内皮修复明显, 偶有缺失, 细胞形态及排列趋于正常, 假手术组内皮光滑, 整齐连续, 相邻内皮细胞间见到紧密连接。这些结果表明了睾酮补充能促进 VEC 修复。这与高倩萍等<sup>[11]</sup>结果基本一致。但也有相反的报道, Ling 等<sup>[12]</sup>研究发现睾酮可呈剂量依赖性地抑制培养的 VEC 合成 DNA 及促进 VEC 凋亡。结果的不同可能因动物种类、是否睾丸和附睾摘除术、雄激素种类、剂量和作用时间等因素的不同而引起。本实验同时发现, 损伤内膜的内皮化速度与新生内膜增生呈明显的负相关关系, 由此可见, 增加损伤内皮的修复速度, 抑制新生内膜形成在预防 As 中起着关键作用。在体外培养时, 特别是当内皮细胞损伤时能分泌成纤维生长因子、血小板源生长因子和可溶性内皮源性因子, 这些因子都具有强烈的致有丝分裂特性, 可刺激平滑肌细胞从收缩型向合成型转变, 促进平滑肌细胞增殖并向内膜迁移<sup>[13, 14]</sup>。而在内皮细胞损伤的兔主动脉培养中发现一定浓度的睾酮 (10 μg/L 和 100 μg/L) 显著抑制损伤后动脉粥样斑块的发展<sup>[15]</sup>。睾酮抑制内膜过度增殖的机制目前尚不十分明确, Somjen 等<sup>[16]</sup>认为睾酮可抑制血小板源性生长因子诱导的 VSMC 的 DNA 合成, 从而抑制 VSMC 增殖。雄激素还可通过抑制单核-巨噬细胞向内膜下渗透及抑制其激活, 减少生长因子等生物活性物质的合成和释放, 抑制动脉粥样硬化。

雄激素水平是影响内膜增生的关键因素之一。本实验从形态学观察表明, 生理水平的睾酮具有保护雄性家兔血管内皮, 抑制血管内膜增生的作用, 从而减轻粥样斑块的形成, 为睾酮替代治疗 As 提供了一定的实验依据。但现研究在内膜损伤后仅观察了雄激素对损伤内膜的短期效果, 而且本实验以大剂量组抑制作用最明显, 需进一步观察更大剂量雄激

素对内膜损伤的影响, 因此为安全使用雄激素以及对损伤内膜的长期影响提供更全面的资料, 还需要进行更广泛、深入和细致的基础与临床研究。

### [参考文献]

- [1] Peter A, Jens H, Claus C. The relationship of natural androgens to coronary heart disease in males: a review [J]. *Atherosclerosis*, 1996, **125** (1): 1-13.
- [2] Phillips GB, Pinkernell BH, Jing TY. The association of hypotestosteronemia with coronary artery disease in men [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1994, **14** (6): 701-706.
- [3] 武强, 李小鹰. 雄激素治疗男性冠心病及其机制[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2002, **3** (3): 90-100.
- [4] Hougaku H, Fleg JL, Najjar SS, Lakatta EG, Haman SM, Blackman MR, et al. Relationship between androgenic hormones and arterial stiffness, based on longitudinal hormone measurements [J]. *Am J Physiol*, 2006, **290** (2): E234-242.
- [5] Malkin CJ, Pugh PJ, Morris PD, Kerry KE, Jones RD, Jones TH, et al. Testosterone replacement in hypogonadal men with angina improves ischaemic threshold and quality of life [J]. *Heart*, 2004, **90** (8): 871-876.
- [6] Demirbag R, Yilmaz R, Ulucay A, Unlu D. The inverse relationship between thoracic aortic intima media thickness and testosterone level [J]. *End Res*, 2005, **31** (4): 335-344.
- [7] Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s [J]. *Nature*, 1993, **362** (29): 801-809.
- [8] 任国庆, 黄从新, 孙广辉, 侯建民. 睾酮对雄性家兔腹主动脉损伤后内膜增生的作用[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2001, **9** (5): 398-400.
- [9] Rao GN, Berk BC. Active oxygen species stimulate vascular smooth muscle cell growth and proto-oncogene expression [J]. *Circ Res*, 1992, **70** (3): 593-599.
- [10] 马瑞, 吴赛珠, 林其谁, 江时森. 睾酮对血管平滑肌细胞中雄激素受体 mRNA 表达的调控[J]. *第一军医大学学报*, 2005, **25** (3): 298-300.
- [11] 高倩萍, 富路, 李元十, 金红, 李佳. 睾酮在雄兔体内的抗动脉粥样硬化作用[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2006, **14** (3): 213-216.
- [12] Ling S, Dai A, Williams MR, Myles K, Dilley RJ, Komesaroff PA, et al. Testosterone enhances apoptosis-related damage in human vascular endothelial cells [J]. *Endocrinology*, 2002, **143** (3): 1119-125.
- [13] Lyubimov EV, Gotlieb AI. Smooth muscle cell growth in monolayer and aortic organ culture is promoted by a nonheparin binding endothelial cell-derived soluble factors [J]. *Cardiovasc Path*, 2004, **13** (3): 139-145.
- [14] Rutherford C, Martin W, Salame M, Carrier M, Anggard E, Ferns G. Substantial inhibition of neo-intimal response to balloon injury in the rat carotid artery using a combination of antibodies to platelet-derived growth factor-BB and basic fibroblast growth factor [J]. *Atherosclerosis*, 1997, **130** (1): 45-51.
- [15] Hanke H, Lenz CH, Hess B, Spindler KD, Weidemann W. Effect of testosterone on plaque development and androgen receptor expression in the arterial vessel wall [J]. *Circulation*, 2001, **103** (10): 1382-385.
- [16] Somjen D, Kohen F, Jaffe A, Amir-Zaltsman Y, Knoll E, Stern N. Effects of gonadal steroids and their Antagonists on DNA synthesis in human vascular cell [J]. *Hypertension*, 1998, **32** (1): 39-45.

(此文编辑 胡必利)