

MK801 对近视视网膜 NO-cGMP 信号通路的调控

文丹¹, 刘双珍¹, 毛俊峰¹, 谭星平¹, 夏朝华¹, 尹楚南²

(中南大学湘雅医院 1. 眼科; 2. 同位素室, 长沙 410008)

[摘要]目的: 观察 MK801 对豚鼠近视的调节, 探讨其在近视发病机制中的作用。方法: 3 周龄三色豚鼠分为 6 组: A 组(正常空白对照组)、B 组(右眼遮盖 3 周组)、C 组(右眼遮盖 3 周 + 玻璃体腔生理盐水注射组)、D 组(右眼遮盖 3 周 + 玻璃体腔注射 1 ng MK801 组)、E 组(右眼遮盖 3 周 + 玻璃体腔注射 10 ng MK801 组)、F 组(右眼遮盖 3 周 + 玻璃体腔注射 100 ng MK801 组)。实验前及实验 3 周时对各组进行视网膜检影和 A 超测眼轴, 原位杂交法检测神经细胞性一氧化氮合酶(ncNOS)的表达, 放射免疫法检测 cGMP 的含量, 将 D, E, F 组的屈光度、眼轴、ncNOS 及 cGMP 含量与 MK801 药物浓度进行直线相关分析。结果: 玻璃体腔药物注射 C, D, E, F 组遮盖眼随注射浓度的升高近视屈光度数下降, 眼轴延长减慢, ncNOS 及 cGMP 含量下调, 与 MK801 注射浓度行相关分析呈直线相关, 屈光度与注射浓度呈正相关($r=0.702, P<0.05$), 眼轴长度、ncNOS 表达、cGMP 表达与其呈负相关($r=-0.736, -0.637, -0.725, P<0.05$)。结论: 近视豚鼠 MK801 玻璃体腔注射能通过下调 NO-cGMP 表达减缓近视的进展, 呈剂量依赖性。

[关键词] 形觉剥夺性近视; 视网膜; 一氧化氮; 环磷酸鸟苷; MK801

DOI:10.3969/j.issn.1672-7347.2012.07.016

MK801 controls form-deprivation myopia by nitric oxide-cyclic GMP signaling pathway in guinea pig

WEN Dan¹, LIU Shuangzhen¹, MAO Junfeng¹, TAN Xingping¹, XIA Chaohua¹, YIN Chunan²

(1. Department of Ophthalmology; 2. Department of Nuclide, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China)

ABSTRACT

Objective: To investigate the mechanism of myopia following intravitreal injection of MK801 (dizocipine maleate) intravitreal injected.

Methods: Three-week-old guinea pigs were divided into six groups: group A (control), group B (3 weeks form-deprivation in right eye), group C (3 weeks form-deprivation in right eye + saline), group D (3 weeks form-deprivation in right eye + MK801 1ng), group E (3 weeks form-deprivation in right eye + MK801 10 ng), group F (3 weeks form-deprivation in right eye + MK801 100 ng). The refraction and axial length of the eyes were measured. ncNOS was measured by hybridization in situ, and cyclic GMP (cGMP) concentrations by radioimmunochemistry. The correlation between MK801 concentration and diopter degree, axial length of the eyes, and levels of ncNOS or cyclic GMP were analyzed with linear correlation in the groups C-F.

收稿日期 (Date of reception): 2012-02-26

作者简介 (Biography): 文丹, 博士, 主治医师, 主要从事屈光及斜弱视研究。

通信作者 (Corresponding author): 刘双珍, Email: liushzhy@163.com

基金项目 (Foundation items): 国家自然科学基金 (81100691); 湖南省自然科学基金 (09JJ5033); 湖南省科技厅科技计划项目 (2010SK3125, 2009FJ3175)。This work was supported by National Natural Science Foundation of China (81100691), Natural Science Foundation of Hunan Province, P. R. China (09JJ5033), and Science and Technology Planning Project of Hunan Province, P. R. China (2010SK3125, 2009FJ3175).

Results: Diopter degree was decreased, axial eye length was shorted and levels of ncNOS and c-GMP were decreased in groups C, D, E and F dependent on the concentration of MK801. The diopter degree had positive correlation with MK801 concentration ($r=0.702, P<0.05$), while the axial eye length and the levels of ncNOS and cGMP were negatively correlated ($r=-0.736, -0.637, -0.725, P<0.05$)

Conclusion: MK801 injected into the vitreous humor can restrain myopia by down-regulated the expression of the nitric oxide-cyclic GMP signaling pathway. The effect is concentration dependent.

KEY WORDS

form deprivation myopia; retina; nitric oxide; cyclic GMP; MK801

MK801(dizocilpine maleate)又名地卓亚平马来酸盐,是N-甲基-D-天冬氨酸受体(N-methyl-D-aspartate receptor, NMDAR)竞争性拮抗剂,它可通过和NMDAR复合物离子通道内的PCP受点相结合,阻断NMDAR偶联的Ca²⁺通道的激活,调控其下游细胞信号的转导^[1]。一氧化氮-环磷酸鸟苷(nitric oxide-cyclic guanine monophosphate, NO-cGMP)信号通路是一条广泛存在于体内组织中的经典通路,它参与细胞间和细胞内信息转导和细胞功能调节并与许多病理过程相关。研究^[2]显示:豚鼠视网膜细胞间存在NO-cGMP信号转导通路的表达,对豚鼠予以形觉剥夺后可导致该信号通路表达上调。Fishcher等^[3]对小鸡形觉剥夺后予以玻璃体腔连续7 d注射MK801,能有效抑制近视。本研究通过对近视豚鼠玻璃体腔内注射不同浓度的MK801,观察其是否通过调控NO-cGMP信号通路转导而调节近视。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

3周三色豚鼠(购自中南大学动物部动物研究所)72只,体质量160~200 g,雌雄不拘,随机分为6组,每组12只,左眼不遮盖,右眼予下列处理分组:A组为正常空白对照组,右眼不予遮盖及注药;B组右眼遮盖3周,不予注药;C组右眼遮盖3周+玻璃体腔注射生理盐水;D组右眼遮盖3周+玻璃体腔注射1 ng MK801组;E组右眼遮盖3周+玻璃体腔注射10 ng MK801组;F组右眼遮盖3周+玻璃体腔注射100 ng MK801组。

1.2 材料

MK801购自美国Sigma公司;0.25%托吡卡胺眼液及1%的卡因购自湘雅制药厂;神经细胞性一氧化氮合酶(neuronal constitutive nitric oxide synthase, ncNOS)原位杂交检测试剂盒购于武汉博士德生物

有限公司; cGMP检测试剂盒购于上海中医药大学同位素室。

1.3 动物模型建立

1.3.1 近视模型的建立

右眼予以不透明眼罩遮盖进行形觉剥夺;左眼为自身对照眼^[4]。

1.3.2 玻璃体腔注射药物配制

实验前无菌条件下电子天平分别称量1, 10, 100 ng的MK801,用10 μL的无菌生理盐水溶解。

1.3.3 注射方法

C, D, E, F组豚鼠右眼遮盖的第2周开始,从角膜缘后2 mm用微量注射器向右眼玻璃体腔内注射药物(MK801或生理盐水),注射量均为10 μL,隔日1次,共3次。最后一次注射后第3天即第3周去除眼罩进行检查。左眼不做任何处理。豚鼠饲养于20 cm×30 cm×50 cm专用饲养箱,室内日光灯照明周期为12 h/12 h,饲养温度维持在20~25 ℃。

1.4 实验方法

1.4.1 屈光度及眼轴长度检测

在实验3周对各组进行检查。检查前1 h右眼滴0.25%托吡卡胺眼液以麻痹睫状肌,验光师采用双盲法暗室内视网膜检影镜检影,每眼检影3次,取平均值,有散光者用等效球镜表示。对各组豚鼠以1%的卡因进行眼球表面麻醉,A超测定眼轴长度,连测3次,取平均值。

1.4.2 原位杂交法检测ncNOS的表达

ncNOS原位杂交探针采用经地高辛标记寡核苷酸探针,ncNOS靶基因的mRNA序列为:1)5'-CTGTGGTCCTTAACAACCCGTATTCAGAGA-3';2)5'-TACCAGCTCAAGGACACCGAGCTCATCTAT-3';3)5'-AGTGACCAACCGCCTTAGATCTGAGTCCAT-3'。检测方法按说明书进行,不加探针的标本作阴性对照排除非特异性表达。每

组随机取 6 只豚鼠予以断颈处死, 摘除双侧眼球, 去除玻璃体及眼前段, 将视网膜用 4% 多聚甲醛液常规固定后做石蜡切片。常规脱蜡复水后, 30% H₂O₂ 灭活内源性酶, 3% 柠檬酸稀释的胃蛋白酶消化, 1% 多聚甲醛后固定, 预杂交 4 h, 37 °C 恒温箱内杂交过夜, 不同浓度的 37 °C SSC 洗涤后, 封闭液封闭非特异性结合位点, 滴加生物素化鼠抗地高辛后加 SABC, 滴加生物素化过氧化氢酶, DAB 显色, 苏木素复染, 封片后光镜观察。结果判定: 视网膜细胞胞浆着色呈棕黄色为 ncNOS mRNA 阳性表达。每眼取 3 张切片于 10×40 倍光镜下, 随机取 5 个视野, 用 CMIAS 病理图像分析系统软件对结果进行灰度扫描, 取其均数。

1.4.3 放射免疫法检测 cGMP 的含量

将各组余下的 6 只豚鼠断颈处死, 摘除双侧眼球, 去除玻璃体及眼前段, 小心剥离视网膜, 按 cGMP 检测试剂盒说明书步骤 (购于上海中医药大学同位素室), 快速剪碎视网膜置于匀浆器中, 加入 2 mL 50 mmol/L 醋酸缓冲液 (pH4.75) 将其彻底粉碎匀浆; 将悬浮液转入 10 mL 试管内, 2 mL 无水乙醇洗匀浆器后将乙醇倒入悬浮液内混匀静止 5 min; 3500 r/min 离心 15 min, 收集上清液; 再用 75% 乙醇 1 mL 洗匀浆器后将其沉淀混匀; 3500 r/min 离心 15 min, 收集上清液; 并合并上清液, 60 °C 烤箱烘干过夜后将标本送中南大学湘雅医院同位素室测定每眼视网膜中 cGMP 的含量。

1.5 统计学处理

采用 SPSS11.0 统计软件包进行统计学分析: 组间差异用 one way ANOVA 检验, 两两比较采用 LSD-t 法检验; 屈光度、眼轴、ncNOS 的表达、cGMP 的含量与 MK801 药物浓度相关分析应用直线相关分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 屈光度及眼轴长度变化

6 组豚鼠实验眼屈光度差异有统计学意义 ($P < 0.05$); B 组和 C 组屈光度差异无统计学意义, 生理盐水的注入对屈光度的影响无统计学意义 ($P > 0.05$)。C, D, E, F 组之间差异有统计学意义, 玻璃体腔注药对近视屈光度的影响有统计学意义 ($P < 0.05$)。对 C, D, E, F 组的屈光度与 MK801 药物浓度行直线相关分析发现, 屈光度与注射浓度呈正相关 ($r = 0.702$, $P < 0.05$), 随药物浓度的升高, 豚鼠近视屈光度减小 (表 1)。

6 组豚鼠眼轴长度差异有统计学意义 ($P < 0.05$);

B 组和 C 组眼轴长度差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 生理盐水的注入对眼轴长度的影响无统计学意义 ($P > 0.05$)。C, D, E, F 组之间差异有统计学意义, 玻璃体腔注药对眼轴长度的影响有统计学意义 ($P < 0.05$)。对 C, D, E, F 组的眼轴长度与 MK801 注射浓度行直线相关分析发现, 眼轴长度与注射浓度呈负相关 ($r = -0.736$, $P < 0.05$), 随注射浓度的升高, 豚鼠眼轴长度减小 (表 1)。

表 1 各组屈光度、眼轴长度的比较 ($n=12$, $\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of refraction and axial between the groups ($n=12$, $\bar{x} \pm s$)

组别	屈光度 /D	眼轴 /mm
A 组	+1.350 ± 0.973	7.586 ± 0.749
B 组	-3.900 ± 0.747	8.134 ± 0.058
C 组	-3.550 ± 0.832	8.110 ± 0.075
D 组	-3.050 ± 0.734 [*]	7.977 ± 0.062 ^{**}
E 组	-2.350 ± 0.719 ^{*†}	7.761 ± 0.050 ^{***}
F 组	-1.175 ± 0.858 ^{*†Δ}	7.657 ± 0.044 ^{***ΔΔ}

与 C 组比较, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$; 与 D 组比较, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$; 与 E 组比较, ^Δ $P < 0.05$, ^{ΔΔ} $P < 0.01$ 。

2.2 原位杂交检测 ncNOS mRNA 表达

6 组豚鼠实验眼视网膜上 ncNOS 的 mRNA 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。B 组和 C 组 ncNOS 的 mRNA 含量差异无统计学意义, 生理盐水的注入对 ncNOS 的 mRNA 的表达无统计学意义 ($P > 0.05$)。C, D, E, F 组之间差异有统计学意义, 玻璃体腔注药对豚鼠视网膜上 ncNOS mRNA 表达水平影响有统计学意义 ($P < 0.05$)。对 C, D, E, F 组的 ncNOS mRNA 含量与 MK801 药物浓度行直线相关分析发现, ncNOS mRNA 含量与注射浓度呈负相关 ($r = -0.637$, $P < 0.05$), 随药物浓度的升高, 豚鼠 ncNOS mRNA 含量表达下调 (表 2, 图 1)。

表 2 各组 ncNOS mRNA 和 cGMP 的比较 ($n=6$, $\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of ncNOS mRNA and cGMP between the groups ($n=6$, $\bar{x} \pm s$)

组别	ncNOS	cGMP/(pmol/mL)
A 组	140.56 ± 2.08	5.65 ± 1.08
B 组	203.21 ± 5.79	17.24 ± 2.12
C 组	200.02 ± 6.75	16.95 ± 2.04
D 组	180.52 ± 8.75 [*]	13.88 ± 1.64 ^{**}
E 组	171.52 ± 2.57 ^{*†}	11.87 ± 1.53 ^{***}
F 组	161.39 ± 3.13 ^{*†Δ}	10.81 ± 2.21 ^{***ΔΔ}

与 C 组比较, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$; 与 D 组比较, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$; 与 E 组比较, ^Δ $P < 0.05$, ^{ΔΔ} $P < 0.01$ 。

2.3 放射免疫法检测 cGMP 结果

6 组豚鼠实验眼视网膜上 cGMP 的表达差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。B 组和 C 组 cGMP 的含量差异无统计学意义, 生理盐水的注入对 cGMP 的表达无统计学意义 ($P > 0.05$)。C, D, E, F 组之间差异有统计学意义, 玻璃体腔注药对豚鼠视网膜上 cGMP 表

达水平影响有统计学意义 ($P < 0.05$)。对 C, D, E, F 组的 cGMP 含量与 MK801 药物浓度行直线相关分析发现, cGMP 含量与注射浓度呈负相关 ($r = -0.725$, $P < 0.05$), 随药物浓度的升高, 豚鼠 cGMP 含量表达下调 (表 2)。

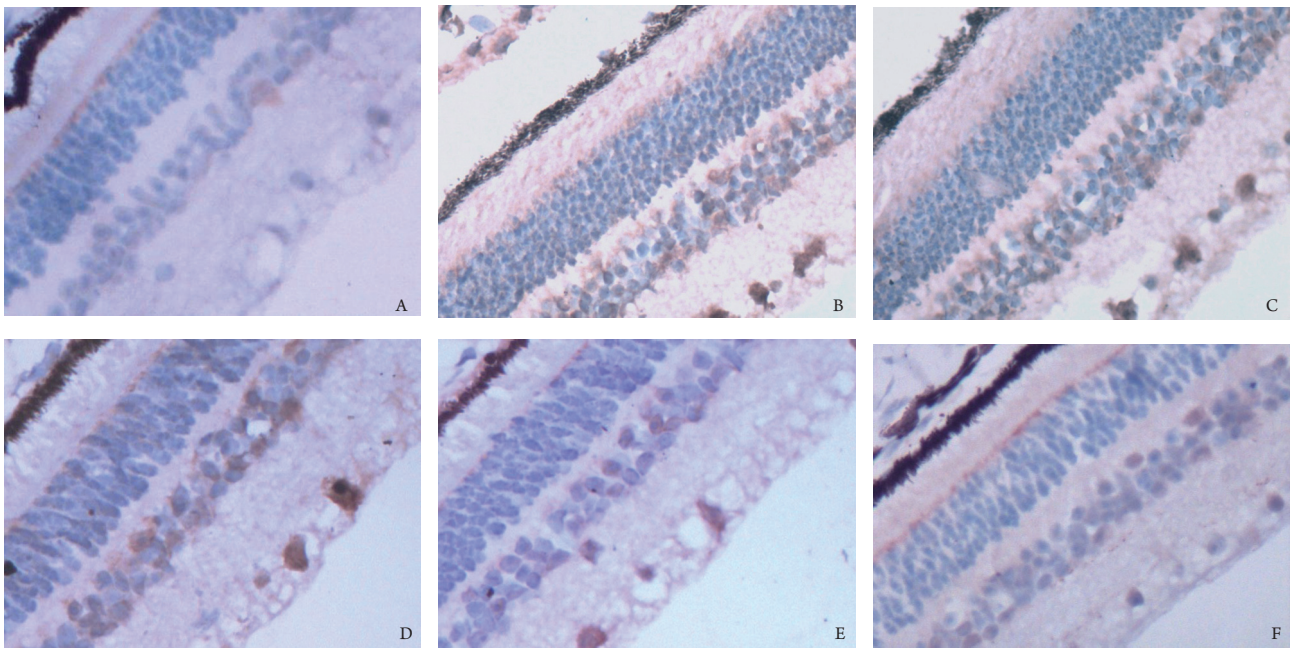


图 1 豚鼠各组视网膜上 ncNOS 原位杂交表达 (HE, $\times 200$)。A: A 组; B: B 组; C: C 组; D: D 组; E: E 组; F: F 组。

Figure 1 Hybridization in situ of ncNOS in retina of Guinea pigs (HE, $\times 200$). A: Group A; B: Group B (3 weeks form-deprivation in right eye); C: Group C (3 weeks form-deprivation in right eye + saline); D: Group D (3 weeks form-deprivation in right eye + MK801 1 ng); E: Group E (3 weeks form-deprivation in right eye + MK801 10 ng); F: Group F (3 weeks form-deprivation in right eye + MK801 100 ng).

3 讨论

MK801 是一种特异性最强、效能最高的非竞争性 NMDA 受体拮抗剂, 富亲脂性, 能通过血脑屏障; 它通过与脑内或外周器官中 NMDAR 复合物离子通道内的苯环己哌啶 (PCP) 位点相结合, 进行别构调节, 阻断 NMDAR 偶联的 Ca^{2+} 通道的激活, 使 Ca^{2+} , Na^{+} 内流减少, 减轻 Ca^{2+} 超载, 从而使 NMDAR 的药理效应减弱, 调控各种信号转导通路^[5]。Fletcher 原位杂交法显示在大鼠神经节细胞、双极细胞、无长突细胞上均有 NMDAR1 的表达^[6]。在视网膜内层中, 出生后第 9 天的大鼠视网膜 on/off 型细胞上就有 NMDAR₁ 的微弱表达^[7]。刘双珍等^[8]对 3 周龄豚鼠予以形觉剥夺后形成近视, NMDAR1 的蛋白表达随形觉剥夺时间延长明显上调。Fischer 等^[9]用人工合成的拟兴奋性氨基酸药物 NMDA 对小鸡行玻璃体腔

内注射, 可诱导小鸡近视形成。免疫组织化学的结果显示: NMDA 产生的细胞毒性导致了某特定类型的无长突细胞的凋亡, 影响视觉信号转导, 参与眼球的生长调控, 诱导了近视的产生。MK801 作为非竞争性 NMDA 受体拮抗剂可拮抗 NMDAR 的表达, 抑制其发挥生理作用。有研究者对出生 7 d 的小鸡形觉剥夺后予以玻璃体腔连续 7 d 注射 1 ng MK801 后, 发现其能有效抑制近视^[3]。本实验中对 FDM 豚鼠分别行 1, 10, 100 ng MK801 玻璃体腔注药, 隔日 1 次, 连续 3 次注射后发现 3 种浓度均能有效地抑制近视, 其效应随浓度增高加强。与 C 组相比, D, E, F 组行玻璃体腔注射药物后, 其中 1 ng 组 MK801 可有效抑制 0.85D 的近视; 10ng 组可有效抑制 1.55 D 的近视; 100 ng 组可有效抑制 2.73 D 的近视; 并随 MK801 注射浓度的升高, 眼轴过度延长趋势得到缓解。本实验形态学显示 MK801 注射组和对照组视网膜各层组织

结构正常, 细胞形态、大小无明显改变, 未见坏死组织, 提示其对视网膜组织无严重的毒性反应。MK801 具有非选择性结合的特点, 导致其与神经组织中的 NMDAR 非特异性结合, 大剂量下可对实验动物产生精神分裂样不良反应, 如反复摇头、转圈、小范围内的无规则运动等。Li 等^[10]发现 3 mg/kg MK801 可引起正常大鼠 PCP 样不良反应; Wu 等^[11]对有遗传背景的小鼠注射 0.3 mg/kg 的 MK801 可产生精神症状, 而低于 0.15 mg/kg 剂量即使对有遗传背景的小鼠也无法诱导其精神症状的产生。本实验中 MK801 的注射量为 1~100 ng, 浓度远低于该水平。在本研究中, 笔者观察到 NO-cGMP 信号转导通路是一条广泛存在于体内各种组织中的经典信号通路, 它代表一种细胞间和细胞内信息传递和细胞功能调节的信号转导机制, 很多病理过程常伴有 NO-cGMP 信号转导通路失调。NO 可以在视网膜细胞内合成, 并与近视密切相关, 一氧化氮合酶 (nitric oxide synthase, NOS) 是其合成的关键酶, 可分为 ncNOS, 内皮细胞性 NOS(ecNOS) 和诱导型 NOS(iNOS); NOS 在视网膜上分布位置不同, 并可能在 FDM 形成中起不同的作用^[12-13]。其中 ncNOS 来源于神经细胞, NO 对神经系统大多数病理生理作用由 ncNOS 介导^[14]。Park 等^[15]用免疫组织化学法发现 3 种 NOS 均可在人视网膜感光感受器外节、RPE 内外侧及脉络膜表达, 仅 ncNOS 定位于视网膜内层。cGMP 与视觉信号转导密切相关。光刺激感光细胞的色素, 使色素异构化, 通过一系列生化反应激发 cGMP 水解, 使得视杆细胞外段高浓度的 cGMP 迅速降低, 细胞膜对 Na⁺, Ca²⁺ 通透性降低, 细胞超级化, 形成视觉兴奋的第一步^[16]。笔者在前期研究中发现, 豚鼠视网膜神经节细胞层和内核层细胞上 ncNOS 均有表达, 并随形觉剥夺时限的延长, ncNOS 表达增强, cGMP 含量上调, 形觉剥夺可明显上调视网膜上 NO-cGMP 信号通路的表达, 该信号通路可能参与了近视的调控。在视网膜上 MK801 作为非竞争性 NMDA 受体拮抗剂可能拮抗过度表达的 NMDAR, 导致其受体复合物通道开放减少, Ca²⁺ 内流减少, 细胞内 Ca²⁺ 浓度降低, 而与 Ca²⁺ 和钙调蛋白偶联并结合于胞浆中 NOS 相应位点的 NOS 合成减少, NO 含量下降。下降的 NO 扩散到临近细胞, 与鸟苷酸环化酶的活性中心 Fe²⁺ 结合, 改变酶的立体构型, cGMP 的合成减少^[17]。而 cGMP 做为新的信使分子介导蛋白质的磷酸化等过程, 下调的 cGMP 可能作用于下游其他基因, 发挥多种生物学作用, 并调节转导至巩膜的异常信号, 抑制近视的发展。

视网膜上 NO-cGMP 信号通路可能通过传递外界异常信号参与近视的调节。MK801 作为一种非竞

争性 NMDA 受体拮抗剂行玻璃体腔注射后, 可导致其下游的 NO-cGMP 信号通路的表达下调, 延缓近视的发展, 这为近视的药物治疗提供了一个良好的思路, 但 MK801 最佳注射浓度以及局部和全身安全剂量的摸索将是笔者今后研究的重点。

参考文献

- Vladychenskaya E, Tyulina O, Urano S, et al. Rat lymphocytes express NMDA receptors that take part in regulation of cytokine production[J]. *Cell Biochem Funct*, 2011, 29(7):527-533.
- 文丹, 刘双珍, 毛俊峰, 等. NO-cGMP 信号通路对豚鼠形觉剥夺性近视的调控[J]. *眼科研究*, 2008, 26(9):672-675.
WEN Dan, LIU Shuangzhen, MAO Junfeng, et al. Regulation role of Nitric oxide-cyclic GMP signaling pathway in form-deprivation myopia of Guinea pig[J]. *Chinese Ophthalmic Research*, 2008, 26(9):672-675.
- Fischer AJ, Seltner RL, Stell WK. Opiate and N-methyl-D-aspartate receptors in form-deprivation myopia[J]. *Vis Neurosci*, 1998, 15(6):1089-1096.
- Lu F, Zhou X, Zhao H, et al. Axial myopia induced by a monocularly-deprived facemask in guinea pigs: A non-invasive and effective model[J]. *Exp Eye Res*, 2006, 82(4):628-636.
- Boultadakis A, Pitsikas N. Effects of the nitric oxide synthase inhibitor L-NAME on recognition and spatial memory deficits produced by different NMDA receptor antagonists in the rat[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2010, 35(12):2357-2366.
- Fletcheer EL, Hack I, Brandstatter JH, et al. Synaptic localization of NMDA receptor subunits in the retina[J]. *Comp Neurol*, 2000, 420(1):98-112.
- Watanabe M, Mishina M, Inoue Y, et al. Differential distribution of the NMDA receptor channel subunit mRNAs in the mouse retina[J]. *Brain Res*, 1994, 634(2):328-332.
- 刘双珍, 文丹, 毛俊峰, 等. N-甲基-D-天冬氨酸受体 1 在形觉剥夺性近视豚鼠视网膜上的表达[J]. *眼视光学杂志*, 2008, 10(1):1-5.
LIU Shuangzhen, WEN Dan, MAO Junfeng, et al. The Expression of NMDAR1 in form-deprivation myopia of Guinea pig's retina[J]. *Journal of Optometry & Ophthalmology*, 2008, 10(1):1-5.
- Fischer AJ, Seltner RL, Stell WK. N-methyl-D-aspartate-induced excitotoxicity causes myopia in hatched chicks[J]. *Can J Ophthalmol*, 1997, 32(6):373-377.
- Li J, Henman MC, Tatisumak T, et al. The pre-ischaemic neuroprotective effects of N1-dansyl-spermine in a transient focal cerebral ischaemia model in mice[J]. *Brain Res*, 2005, 1055(1/2):180-185.
- Wu J, Zou H, Strong JA, et al. Bimodal effects of MK-801 on

- locomotion and stereotypy in C57BL/6 mice[J]. *Psychopharmacology*, 2005,177(3):256-263.
12. Nickla DL, Damyanova P, Lytle G. Inhibiting the neuronal isoform of nitric oxide synthase has similar effects on the compensatory choroidal and axial responses to myopic defocus in chicks as does the non-specific inhibitor L-NAME[J]. *Exp Eye Res*, 2009, 88(6):1092-1099.
13. 朱玉广, 刘双珍, 吴小影. 视网膜内源性NO在形觉剥夺性近视眼中的作用研究[J]. *湖南医科大学学报*, 2003, 28(6):631-634.
ZHU Yuguang, LIU Shuangzhen, WU Xiaoying. Effects of nitric oxide on form-deprivation myopia in chicks[J]. *Bulletin of Hunan Medical University*, 2003, 28(6):631-634.
14. 卢建, 余应年, 徐仁宝. 受体信号转导系统与疾病[M]. 济南: 山东科学技术出版社, 2001:4731.
LU Jian, YU Ying, XU Renbao. Receptor signal transduction system
- and disease[M]. Jinan: Shandong Science and Technology Publishing House, 2001:4731.
15. Park CS, Pardhasaradhi K, Gianotti C, et al. Human retina expresses both constitutive and inducible isoforms of nitric oxide synthase mRNA[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1994, 205(1):85-91.
16. Koch KW, Duda T, Sharma RK. Photoreceptor specific guanylate cyclases in vertebrate phototransduction[J]. *Mol Cell Biochem*, 2002, 230(1/2): 97-106.
17. Zayas RM, Trimmer BA. Characterization of NO/cGMP-mediated responses in identified motoneurons[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2007, 27(2):191-209.

(本文编辑 彭敏宁)

欢迎订阅 2013 年《中国普通外科杂志》

《中国普通外科杂志》是国内外公开发行的国家级期刊 (ISSN1005-6947/CN43-1213/R), 面向广大从事临床、教学、科研的普外及相关领域工作者, 以实用性为主, 及时报道普通外科领域的新进展、新观点、新技术、新成果、实用性临床研究及临床经验, 是国内普外学科的权威刊物之一。办刊宗旨是: 传递学术信息, 加强相互交流; 提高学术水平, 促进学科发展; 注重临床研究, 服务临床实践。

本刊由国家教育部主管, 中南大学主办, 中南大学湘雅医院承办。主编吕新生教授, 顾问由中国科学院及工程院院士汤钊猷、吴孟超、吴咸中、郑树森、夏家辉、黄志强、黎介寿等多位国内外著名普通外科专家担任, 编委会成员由国内外普通外科资深专家学者组成。开设栏目有述评、专题研究、基础研究、临床研究、简要论著、临床报道、文献综述、误诊误治与分析、手术经验与技巧、国内外学术动态, 病案报告。本刊已被多个国内外重要检索系统和大型数据库收录, 如: 美国化学文摘 (CA), 俄罗斯文摘 (AJ), 中国科学引文数据库 (CSCD), 中文核心期刊 (中文核心期刊要目总览 2008, 2011 年版), 中国科技论文与引文数据库 (中国科技论文统计源期刊), 中国核心学术期刊 (RCCSE), 中国学术期刊综合评价数据库, 中国期刊网全文数据库 (CNKI), 中文科技期刊数据库, 中文生物医学期刊文献数据库 (CMCC), 万方数据 - 数字化期刊群, 中国生物医学期刊光盘版等, 影响因子已居同类期刊前列, 并在科技期刊评优评奖活动中多次获奖。

本刊已全面采用远程投稿、审稿、采编系统, 出版周期短, 时效性强。欢迎订阅、赐稿。

《中国普通外科杂志》为月刊, 国际标准开本 (A4 幅面), 每期 112 页, 每月 15 日出版。内芯采用进口亚光铜版纸印刷, 图片彩色印刷, 封面美观大方。定价 20.0 元/册, 全年 240 元。国内邮发代号: 42-121; 国际代码: M-6436。编辑部可办理邮购。

本刊编辑部全体人员, 向长期以来关心、支持、订阅本刊的广大作者、读者致以诚挚的谢意!

编辑部地址: 湖南省长沙市湘雅路 87 号 (湘雅医院内) 邮政编码: 410008

电话 (传真): 0731-84327400 网址: <http://www.zpwz.net> Email: pw4327400@126.com; jcgsyxc@126.com

中国普通外科杂志编辑部