|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 分类号 |  | 密级 |
| U D C |  | 编号 |



硕士学位论文

**阿托伐他汀对溶血磷脂酰胆碱所致血管内皮功能损伤的保护作用**

|  |  |
| --- | --- |
| 研 究 生 姓 名： | 廖 昆 |
| 指导教师姓名、职称： | 尹卫东 教 授 |
| 学 科 、 专 业 名 称 ： | 病理学与病理生理学 |
| 研 究 方 向 ： | 动脉粥样硬化的防治及机制研究 |

2014 年 9 月

原创性声明

本人声明，所呈交的学位论文是本人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。尽我所知，除了论文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果，也不包含为获得南华大学或其他单位的学位或证书而使用过的材料。与我共同工作的同志对本研究所作的贡献均已在论文中作了明确的说明。本人完全意识到本声明的法律结果由本人承担。

作者签名： 年 月 日

南华大学学位论文版权使用授权书

本人同意南华大学有关保留、使用学位论文的规定，即：学校有权保留学位论文，允许学位论文被查阅和借阅；学校可以公布学位论文的全部或部分内容，可以编入有关数据库进行检索，可以采用复印、缩印或其它手段保留学位论文；学校可根据国家或湖南省有关部门规定送交学位论文。对于涉密的学位论文，解密后适用该授权。

作者签名： 导师签名：

年 月 日 年 月 日

目 录

阿托伐他汀对溶血磷脂酰胆碱所致血管内 皮

功能损伤的保护作用

研究生：廖 昆

导师：尹卫东教授

摘 要

**目的：**观察不同剂量的阿托伐他汀(atorvastatin, AT) 对溶血磷脂酰胆碱

（lysophosphatidyl choline, LPC）所致血管内皮功能损伤的保护作用。

**方法：**利用家兔离体血管环和培养的人内皮细胞模型，观察阿托伐他汀对

LPC 所致血管内皮功能损伤的保护作用。离体胸主动脉环实验模型分为五组：

①正常对照组；②LPC (5 mg/L)损伤组；③～⑤LPC (5 mg/L) +阿托伐他汀(0.05, 0.1, 0.2μmol/L)保护组。用家兔胸主动脉环检测乙酰胆碱（acetylcholine，

ACh)诱导的血管内皮依赖性舒张反应(endothelium-dependent relaxation, EDR) 及血管组织的脂质过氧化代谢产物丙二醛(malondialdehyde, MDA)的含量；在体外培的养人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVECs)实验模型，观察阿托伐他汀对LPC所致HUVECs氧化应激的影响，分组如下：①正常对照组；②LPC (10 mg/L)损伤组；③～⑤LPC (10 mg/L) +阿托伐他汀(0.4μmol/L, 2μmol/L, 10μmol/L)组。检测内皮细胞活力、内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)活性、NO含量、氧自由基(ROS)。

**结果**：（1）家兔离体胸主动脉环**：**LPC (5 mg/L)与血管环孵育15 min, 引起了血管内皮依赖性舒张反应的显著降低，最大舒张比值较对照组明显减小

（*P*<0.01），阿托伐他汀剂量依赖性地减轻了LPC对血管内皮依赖性舒张反应的损伤，其最大舒张比值较LPC损伤组明显增加(*P*<0.01). LPC和阿托伐他汀对硝普钠诱导的非内皮依赖性舒张反应无明显影响。LPC引起了血管组织中MDA浓度明显升高，与对照组相比有显著性差异（*P*<0.01）；不同浓度的阿托伐他汀与血管环预孵后，剂量依赖性地减少了LPC所致的MDA浓度升高，与LPC损伤组比较有显著性差异(*P*<0.01)。(2)培养的人内皮细胞：LPC与HUVECs孵育，

导致细胞NO含量和eNOS活性的降低，ROS水平升高；不同浓度的阿托伐他汀与内皮细胞预孵后，能浓度依赖性提高eNOS活性和NO的含量，减少ROS产生。

**结论：**阿托伐他汀对外源性LPC所致的血管内皮舒张功能的损伤有明显的保护作用，其作用机制可能与阿托伐他汀的抗氧化应激有关。

**关键词：**阿托伐他汀； 溶血磷脂酰胆碱； 内皮依赖性舒张； 氧自由基； 一氧

化氮

**Protective effects of atorvastatin on vascular endothelial dysfunction caused by lysophosphatidyl choline**

Abstract

**Objective:** To explore the protective effects and mechanisms of atorvastatin on impairment of vascular endothelium function in rats induced by lysophosphatidyl choline (LPC).

**METHODS:** The models of both isolated rat thoracic aortic rings and cultured human endothelial cells were used. (1) The model of isolated rat thoracic aortic rings: Experiment is divided into five groups: ①control group: vascular ring with KH solution to balance 30 min.

②LPC injury group: vascular ring by LPC (5 mg/L) were incubated 15min. ③～⑤the

Protection of atorvastatin: 15min before joining the LPC to join atorvastatin (0.05, 0.1, 0.2μmol/L) were incubated 15min. Detection of vascular endothelial-dependent relaxation and the reaction of vascular tissue lipid peroxidation product of the metabolism of malondialdehyde (MDA) content. (2) The model of cultured human endothelial cells: in cultured human umbilical vein endothelial cells (HUVECs), for the observation of atorvastatin of the LPC-induced human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) oxidative

Stress, the experiment Groups as follows: ①control group, ②LPC injury group (10 mg/L),

③～⑤LPC (10 mg/L) + atorvastatin (0.4, 2, 10μmol/L) group. Detection of endothelial cells vitality, eNOS activity, NO content, and ROS production.

**RESULTS:** (1) The model of isolated rat thoracic aortic rings: LPC decreased markdly endothelial-dependent relaxation response and increased significantly content of MDA in vascular tissue. The incubation of rings with atorvastatin (0.05, 0.1, 0.2μmol/L) improved significantly endothelial-dependent relaxation response injuried by LPC and decreased content of MDA increased by LPC. (2) LPC signifcicantly inhibited activity of eNOS and vitality of endothelial cells, decreased the content of NO, increased the ROS production.

Atorvastatin markedly increased the levels of NO, reduced the production of ROS.

**CONCLUSION** LPC could directly inhibit endothelial-dependent relaxation induced by ACh, atorvastatin may concentration–dependently protect the endothelial cells from being damaged by LPC. The action mechanismes of atorvastatin may be related to antioxidant.

**KEY WORDS** atorvastatin; Tin; Lysophosphatidylcholine; Endothelium-dependent relaxation; ROS; Nitric oxide

前言

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是一种慢性、多发性血管内膜疾病，发现其发病率和死亡率有不断增高的趋势。研究表明，AS是以血管内皮舒张功能障碍、炎性细胞粘附、浸润血管壁为主要病理特征改变的过程，严重危害人类健康[1]。低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)是诱导AS发生的关键物质，LDL经氧化修饰形成氧化型低密度脂蛋白(oxidized low- density lipoprotein, ox-LDL)，并被巨噬细胞清道夫受体识别，促使泡沫细胞的形成。大量的研究证明，ox-LDL可引起血管内皮功能损伤，其在

AS的发生和发展中起着非常重要的作用[2-3]。

溶血磷脂酰胆碱(lysophosphatidylcholine, LPC)是ox-LDL的卵磷脂水解产物，在磷脂酶A2 (PLA2) 催化作用下转化为LPC，成为ox-LDL致AS的主要活性成分[4-5]. LPC通过激活蛋白激酶C (protein kinase C, PKC)途径导致血管平滑肌收缩，从而影响内皮舒张功能，同时它还可以失活某些内皮舒张因子，导致内皮依赖性收缩[6-7]。除了此之外，还可以通过PKC途径产生大量的超氧阴离子，与细胞膜上的多聚不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应，其氧化产物丙二醛(MDA)破坏了细胞膜的流动性和通透性，改变了细胞内外环境的稳态，从而引起血管内皮功能障碍[8-9]。此外，LPC亦可以诱导内皮细胞表达黏附分子表达，刺激血管平滑肌细胞增殖和迁移以及促进血小板聚集等等[10-14]。因此，研究对抗ox-LDL/LPC的药物对防治AS相关的心脑血管疾病具有十分重要的理论与现实意义。

血管内皮是保护血管形态和功能的一层生理性屏障，也是机体最大的内分泌、旁分泌组织系统。内皮细胞所分泌的血管活性物质包括：内皮素-1 (ET-1)、细胞间黏附分子(ICAM)，一氧化氮(NO)、内皮衍生超极化因子(EDHF)等等，在维护血管结构和功能，调节内环境稳定等方面起着重要的作用。这些扩血管物质（NO）与缩血管物质

（AngⅡ）失衡导致了血管内皮的损失。大量研究表明，血管内皮功能损伤是多种血管病变进程中最为重要的始动环节之一[15-17]。因此，血管内皮细胞已经成为心血管疾病和药效学研究的重要靶位点。

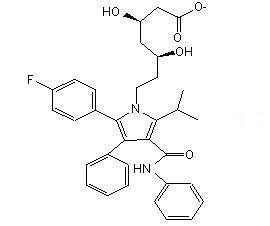
他汀类药物是目前常用的治疗高胆固醇血症的药物，其机制是竞争性地抑制羟甲基戊二酰辅酶A (HMG-CoA)还原酶，从而减少胆固醇的中间产物成甲羟戊酸（MVA）的合成，抑制胆固醇的合成，降低了血浆胆固醇。大量临床实验表明，长期服用他汀类药

物不仅可降低高胆固醇血症患者的心血管事件的发生率和死亡率，而且还能降低血浆胆固醇正常的心血管疾病的发生率和死亡率[18]。大量研究表明，他汀类药物除了通过降低胆固醇发挥作用外，还具有多效的非调脂作用：改善内皮功能[19]、降低氧化应激及血管炎症、提高动脉粥样斑块的稳定性等等[20, 21]。但其作用机理尚未完全阐明。

阿托伐他汀分子式为C33H34FN2O2（图1所示），轻度溶于水，易溶于甲醇，口服后吸

收迅速，1-2小时内血浆浓度达最大，生物利用度为95％-99％。进入血液循环后98%以上与血浆蛋白结合，经肝脏和肝外代谢后主要分泌于胆道，仅有2％由肾脏排泄。阿托伐他汀由微粒体细胞色素P4503A4代谢成邻氢氧化衍生物和对氢氧化衍生物或β-氧化产物，其平均血浆消除半衰期约为14小时。研究表明，每日口服10 mg阿托伐他汀加饮食疗法和单独饮食疗法作对照，探讨他汀类药物对伴有高胆固醇血症绝经后的妇女血管反应性的影响，与单独饮食疗法比较，用阿托伐他汀治疗2周对肱动脉反应性有显著影响

（*P*<0.001），治疗4周和8周时也有同样的发现，该研究表明阿托伐他汀改善内皮功能障碍与其非调脂作用有关系[23]。



**图1** **. 阿托伐他汀化学结构式**

但是阿托伐他汀对LPC直接引起的血管内皮损伤的影响，尚无文献报道。我们推测，阿托伐他汀对LPC所致的血管内皮损伤有保护作用。本研究将采用LPC诱导因子，观察

LPC所致离体血管、培养的内皮细胞的损伤以及阿托伐他汀干预后的影响，通过相关指标的检测初步探讨阿托伐他汀的保护机制。

# 材料与方法

目 录

[摘 要](#_Toc686249221) 3

[Abstract](#_Toc686249222) 3

[前言](#_Toc686249223) 3

[材料与方法](#_Toc686249224) 4

[1 材料](#_Toc686249225) 4

[1.1 实验动物](#_Toc686249226) 4

[1.2 主要试剂](#_Toc686249227) 4

[1.3 主要仪器](#_Toc686249228) 4

[2 实验方法](#_Toc686249229) 4

[2.1 家兔离体血管环试验](#_Toc686249230) 4

[2.2 培养的血管内皮细胞的实验](#_Toc686249231) 5

[2.3 统计学处理](#_Toc686249232) 5

[结 果](#_Toc686249233) 6

[3.1 阿托伐他汀对LPC引起的血管内皮依赖性舒张反应（EDR）的保护作用](#_Toc686249234) 6

[3.2 LPC和阿托伐他汀对离体血管环非内皮依赖性舒张反应（n-EDR）的影响](#_Toc686249235) 6

[3.3 LPC和阿托伐他汀对离体血管组织中MDA Th成量的影响](#_Toc686249236) 6

[3.4 LPC和阿托伐他汀对培养的HUVECs的活力的影响](#_Toc686249237) 6

[3.5 LPC和阿托伐他汀对培养的HUVECs的一氧化氮合酶(eNOS)活性的影响](#_Toc686249238) 6

[3.6 LPC和阿托伐他汀对培养的HUVECs的NO含量的影响](#_Toc686249239) 7

[3.7 LPC和阿托伐他汀对培养的HUVECs的ROS水平的影响](#_Toc686249240) 7

[讨论](#_Toc686249241) 8

[结论](#_Toc686249242) 8

[参考文献](#_Toc686249243) 8

[缩略 词](#_Toc686249244) 9

[综述](#_Toc686249245) 11

[参考文献](#_Toc686249246) 13

# 1 材料

## 1.1 实验动物

雄性新西兰家兔40只，体重1.7-2.2 kg，由南华大学实验动物学部提供。

## 1.2 主要试剂

阿托伐他汀，辉瑞制药有限公司。溶血性磷脂酰胆碱(LPC)、N-乙酰半胱氨酸(N-acetylcysteine, NAC)、硝普钠(Sodium nitroprusside, SNP)、左旋精氨酸(L-arginine, L-Arg)、L-N-硝基精氨酸甲酯(L-N-nitro-arginine methyl ester, L-NAME)、乙酰胆碱(Acetylcholine, ACh)、苯肾上腺素(Phenylephrine, Phe)等均为美国Sigma公司系列产品；其余试剂为分析纯。丙二醛(Malondialdehyde，

MDA）、一氧化氮(Nitro oxide, NO)、一氧化氮合酶(NOS)、考马斯亮兰等相关试剂盒均购自南京建成生物工程公司。DMEM培养液和胎牛血清购自美国Gibco公司、胰蛋白酶和二甲亚砜(DMSO)购自美国Sigma公司。离体实验中，阿托伐他汀需先溶于无水乙醇，然后再加入适量的蒸馏水和氢氧化钠，在50℃下水浴 2

h，将阿托伐他汀转化为活化形式，最后用盐酸将pH调至7.2，制备好的阿托伐他汀溶液贮于-20℃冰箱待用。

## 1.3 主要仪器

荧光显微镜，日本Olympus公司；RM6240B/C生物信号采集处理系统，成都仪器厂；722S型分光光度计，上海精密科学仪器有限公司；ELx800全自动酶标检测仪，美国Bio-Tek公司；CO2培养箱，美国Thermo Forma公司；等等。

# 2 实验方法

## 2.1 家兔离体血管环试验

### 2.1.1 离体血管环的制备及血管张功能相关的检测

离体血管环的制备及血管舒张功能的检测：家兔用10%水合氯醛（3ml/kg）腹腔注射麻醉后，经颈总动脉放血处死，迅速开胸，快速取出胸主动脉置于冰改良的Krebs-Henseleit营养液中，并通以95%O2和5%CO2混合气体；K-H氏溶液由组成份如下（mmol/L）：NaCl 118, Glucose 11, NaHCO3 24, KCl 4.8, CaCl2 2.5, MgSO4 1.2, Edetic acid 0.03 pH7.4。仔细分离血管环并除去血管结缔组织和脂肪组织，将血管剪成4-6 mm备用。血管环一端固定于含K-H液的浴槽内，维持恒温37℃；另一端与张力换能器连接，记录血管的收缩与舒张反应生理，并经过生物信号采集系统处理。给予血管环6 g的静息张力，平衡100 min，每隔20分钟换一次K-H液。先用Phe (0.1µmol/L)使收缩血管环收缩，达到平台期后，再加入活化的阿托伐他汀，观察到不同浓度的阿托伐他汀对血管环有无直接的舒张作用。浴槽内加入不同浓度的阿托伐他汀，观察到不同浓度的阿托伐他汀对血管环有无直接的收缩作用。血管环收缩反应达平台期后，加入Ach和SNP，累加剂量分别为10-8.5-10-6 mol/L和10-8-10-6 mmol/L，观察药物处理前Ach引起的血管内皮依赖性舒张反应(EDR)和SNP引起的非内皮依赖性舒张反应(n-EDR)。同样待收缩反应达到平台期后，用Ach（累加剂量为10-8.5-10-6 mol/L）舒张血管环，观察药物处理后Ach引起的血管内皮依赖性舒张反应(EDR)。舒张比作为内皮依赖性舒张反应的一个重要指标，可根据下面公式计算：最大舒张比值=加处理因素后舒张百分率/加处理因素前舒张百分率) [24]。

### 2.1.2 实验设计与分组

为了观察阿托伐他汀对LPC诱导的血管内皮功能损伤的影响，将实验分为五组，n=8，分别来源不同的正常家兔。即①正常对照组：仅用K-H液孵育。

②LPC损伤组：K-H液+ LPC (5 mg/L)孵育，③～⑤LPC+保护组：在加入LPC前15 min，与阿托伐他汀(0.05, 0.1, 0.2μmol/L)孵育。血管环经LPC或不同浓度的阿托伐他汀与LPC共孵后，按上述的方法观察内皮依赖性舒张反应的变化。

### 2.1.3 血管组织丙二醛(MDA)的测定

原理：在高温及酸性条件下MDA与硫代巴比妥酸(TBA)缩合，形成红色化合物，在532nm波长处有最大吸收峰。

操作：取出保存于-70℃冰箱的血管环，解冻，称重，剪碎，加入冰生理盐水，用电动玻璃匀浆器制成5%的组织匀浆，匀浆4℃后，3000 rpm离心15 min，吸取上清液，待用。按照MDA测定试剂盒说明及相关要求，采用硫代巴比妥酸法测定血管组织MDA生成量[25]。用分光光度计在532 nm波长处测定吸光度值，根据公式计算出MDA浓度。根据公式：血清中MDA含量(nmol/l) = [(测定管吸光度−测定空白管吸光度) / (标准管吸光度−标准空白管吸光度)]×标准品浓度×样品测试前稀释倍数，计算出MDA浓度。

## 2.2 培养的血管内皮细胞的实验

### 2.2.1 人脐静脉内皮细胞的培养和处理：HUVECs解冻解冻复苏后，加入含10%

小牛血清的DMEM培养基制成细胞悬液，分种于100 ml的培养瓶中，置于5%

CO2 的培养箱中培养（37℃）。每隔2-3 天换液一次，待细胞融合成致密单层后用0.2%胰酶消化传代。取4~6代细胞，然后将细胞接种于6孔板，待细胞80%融合时后，换成含1%小牛血清继续孵育24 h，使细胞达到同步化，然后按照实验方案加入各种不同的处理因素，继续培养24 h [25]。

### 2.2.2 实验设计和分组

为了观察阿托伐他汀对LPC诱导HUVECs产生氧化应激的影响，将实验分为如下五组：①正常对照组，仅用培养液孵育HUVECs 24h；②LPC损伤组，用LPC (10 mg/L) +培养液孵育HUVECs 24h；③LPC+AT(low)组，在加入终浓度为0.4μmol/L的阿托伐他汀培养液孵育1 h后，再与LPC共同孵育HUVECs 24 h。

④LPC+AT(medium)组，在加入终浓度为2μmol/L的阿托伐他汀培养液孵育1 h

后，再与LPC共同孵育内皮细胞24 h；⑤LPC+AT(high)组，在加入终浓度为10

μmol/L的阿托伐他汀培养液孵育1 h后，再与LPC共同孵育HUVECs 24 h。

### 2.2.3 MTT比色法检测内皮细胞活力

原理：根据细胞线粒体中的琥珀酸脱氢酶能使外源性的四唑盐(MTT)还原为难溶性的蓝紫色结晶物，而二甲亚砜(DMSO)能够溶解该结晶物，在酶联免疫检测仪上490 nm波长处检测其吸光值。因此，颜色反应程度可间接反映活细

胞数量，在一定范围内，细胞量与MTT结晶物的量成正比。

操作：将培养至第4代的正常细胞制成细胞悬液，以每孔103～104个细胞接种，每孔体积为150μl。加入MTT (5 mg/ml)磷酸缓冲液20μl，继续孵育4 h

（37℃），显微镜观察可见黑色结晶，每孔中再加入150μl的DMSO，振荡10 min至黑色结晶物充分溶解。静置10min后在酶联免疫检测仪上490 nm波长处测定各孔的光密度。

### 2.2.4 细胞上清液中NO含量的测定

**-** - -

原理：NO化学性质相当活泼，在体内代谢转为NO2 和NO3 ，而NO2 又能向

**-**

NO3 转化，两者之和就是体内总NO水平。硝酸盐还原酶法是利用硝酸还原酶将

**- -**

NO3 还原为NO2 ，再通过显色深浅间接测定NO浓度。具体操作步骤按NO试盒

说明进行操作。

操作：内皮细胞与各种处理因素共孵育24 h，取0.5 ml细胞培养液，离心15 min后，取其上清液，再加入显色剂，混匀、静置10 min后，在分光光度计上550nm波长处测定吸光度值。根据下面公式计算出NO含量：NO含量(mol/L) = [(测定管吸光度\_空白管吸光度) / (标准管吸光度\_空白管吸光度)]×样品测试前稀释倍数×标准品浓度[25]。

### 2.2.5 内皮型一氧化氮合酶(eNOS)活性检测

原理：一氧化氮合酶(NOS)催化L－精氨酸(L-Arg)和分子氧反应生成NO，而NO与亲和性物质生成有色化合物，在530 nm波长下测定吸光度，根据吸光度的大小可间接的计算出NOS活力[26]。内皮细胞中NOS类型有两种：内皮型(eNOS)和诱导型(iNOS). eNOS是Ca2+-CaM依赖型，在多数情况下可表达。

iNOS是Ca2+非依赖型，与转录水平调节有关。NOS活力单位的定义：每ml培养液中每min生成1 nmol NO为一个酶活力单位。

操作：实验完成后，首先是制备细胞浆液，具体操作步骤按试剂盒说明书提供的方法进行。eNOS的活性(U/mL)等于总NOS活性减去iNOS活性。建立一个底物和辅酶都过量的反应体系（150µl），加入NADPH和L-Arg（对照管中

不加NADPH和L-Arg），反应后用蒸馏水调零，在酶标仪上530 nm波长处，测其吸光度值。用底物所生成的NO量间接反映总NOS活力。由于iNOS是非钙离子依赖性，加入钙离子螯合剂，间接检测出iNOS活性。

### 2.2.6 活性氧的检测

原理：利用荧光探针二氯荧光素双醋酸盐(DCFH-DA)对活性氧(ROS)的进行检测。双醋酸盐(DA)本身没有荧光，可自由穿细胞膜进入细胞内，被细胞内的酯酶水解后生成DCFH。而DCFH却不能通透细胞膜，从而使探针很容易被装载到细胞内。细胞内的活性氧可以氧化无荧光的DCFH生成有荧光的二氯荧光黄(DCF). DCF的荧光可间接反映细胞内活性氧的水平。

方法：用无血清培养液按照一定比率稀释DCFH-DA，使其终浓度为10

μmol/L。去除细胞培养液，加入1 ml稀释好的DCFH-DA，细胞培养箱内孵育

20 min（维持37℃）。用无血清细胞培养液洗涤细胞去除未进入细胞内的DCFH-DA。在488 nm处激发波长，525 nm处发射波长，用荧光分光光度计测定刺激前后荧光的强弱，间接反映活性氧含量。

## 2.3 统计学处理

所有数据用均数±标准差±SD）表示。运用线性回归从量效反应曲线求出EC50。组间差异比较用ANOVA检验分析，多重比较用Newman-Student分析，用SPSS13.0统计软件完成。*P*<0.05或*P*<0.01为差异显著，有统计学意义。

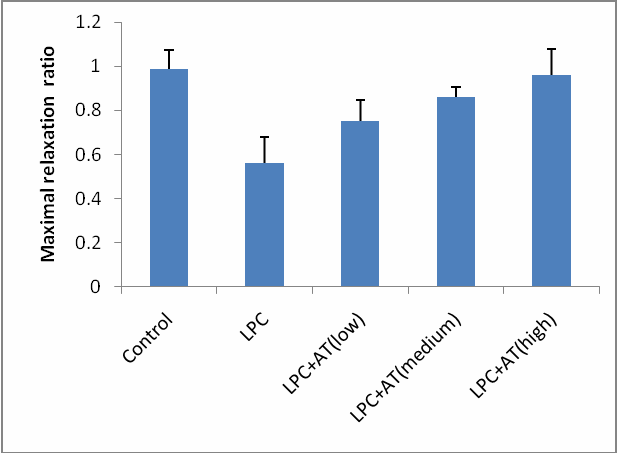
# 结 果

## 3.1 阿托伐他汀对LPC引起的血管内皮依赖性舒张反应（EDR）的保护作用

血管环与LPC (5 mg/L)孵育15 min，导致了血管EDR的明显抑制，Ach引起的内皮依赖性舒张比值显著降低。如图2所示，LPC损伤组较正常对照组比，其最大舒张比值明显减少(*P*<0.01)，而阿托伐他汀保护组较LPC损伤组最大舒张比值相比，显著增加（*P*<0.01），呈剂量依赖性，LPC+阿托伐他汀保护组（0.2

µmol/L） 接近正常对照组（P> 0.05）。乙酰胆碱的EC50反映各组血管对乙酰胆碱的敏感性，如图3 所示，LPC 损伤组EC50 与正常对照组EC50 相比显著升高

（*P*<0.01），阿托伐他汀保护组(0.05, 0.1, 0.2µmol/L) EC50与LPC损伤组相比显著降低(*P*<0.01). LPC+阿托伐他汀保护组（0.2µmol/L）与对照组EC50相比无显著差异（*P*> 0.05）。



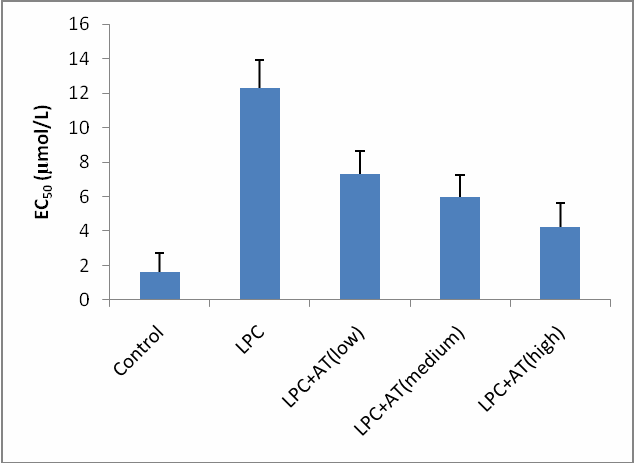
++

++

++

\*\*

**图2。**各处理因素对离体血管环的最大舒张比值的影响。本实验以舒张比值作为评价内皮依赖性舒张反应反应的指标。最大舒张百分率为Ach (3µmol/L)引起的舒张反应与苯肾上腺素(1µmol/L)引起的收缩反应的比值。与正常对照组比，\*\* *P* <0.01；与LPC损伤组比，++ *P* <0.01。



\*\*

++

++

++

**图3.** LPC (5 mg/L)和阿托伐他汀（0.05, 0.1, 0.2µmol/L）对ACh诱导离体血管环的内皮依赖性松弛的EC50值的影响。与正常对照组比，\*\* *P* <0.01；与LPC损伤组比，++ *P* <0.01.

## 3.2 LPC和阿托伐他汀对离体血管环非内皮依赖性舒张反应（n-EDR）的影响

血管环与各处理因素共孵90min后，检测SNP引起的非内皮依赖性舒张反应，测得舒张百分率分别为：LPC(5 mg/L)组96.23%±1.32；LPC+阿托伐他汀保护组（0.05, 0.1, 0.2µmol/L）分别为97.18%±0.92, 96.57%±1.71, 97.44%±1.35；

与正常对照组（98.41%±0.92）比较，均无显著性差异（*P*＞0.05）。

## 3.3 LPC和阿托伐他汀对离体血管组织中MDA Th成量的影响

LPC与离体血管环共孵15 min，显著地增加了血管组织中MDA的含量。如图4所示，LPC损伤组的血管组织中MDA含量较正常对照组显著地升高(*P*<0.01)，而LPC+阿托伐他汀保护组呈剂量依赖性的减少，与LPC损伤组比较有显著差异（*P*<0.05或*P*<0.01）。



\*\*

+

++

++

**图4.** LPC (5 mg/L)和阿托伐他汀（0.05, 0.1, 0.2µmol/L）对离体血管组织中MDA含量的影响。与正常对照组比，\*\* *P* <0.01；与LPC损伤组比，+ *P* <0.05, ++ *P* <0.01.

## 3.4 LPC和阿托伐他汀对培养的HUVECs的活力的影响

如图5 所示，与正常对照组比较，LPC 损伤组内皮细胞活力显著下降

（*P*<0.01）。与LPC损伤组比，LPC+阿托伐他汀保护组（0.4μmol/L）能显著性改善LPC所致的内皮细胞活力的下降(*P*<0.05)，2μmol/L，10μmol/L的阿托伐他汀能显著地改善LPC所诱导的内皮细胞活力的下降（*P*<0.01），呈剂量依赖性。



++

++

+

\*\*

**图5.** LPC (10 mg/L)和阿托伐他汀（0.4, 2, 10µmol/L）对培养的内皮细胞活力的影响。与正常对照组比，\*\* *P* <0.01；与LPC损伤组比，+ *P* <0.05, ++ *P* <0.01.

## 3.5 LPC和阿托伐他汀对培养的HUVECs的一氧化氮合酶(eNOS)活性的影响

如图6所见，LPC与内皮细胞共孵24 h后，内皮细胞中eNOS活性明显降低，与正常对照组相比，有显著性差异(*P*<0.01)。阿托伐他汀与LPC共孵内皮细胞，能显著地拮抗LPC降低eNOS活性的作用(*P*<0.05)。0.4µmol/L、2µmol/L、10µmol/L的阿托伐他汀剂量依赖性地拮抗了LPC所导致的内皮细胞eNOS活性作用，与LPC损伤组比较，有显著性差异（*P*<0.05或*P*<0.01） 。



++

++

+

\*\*

**图6.** LPC (10 mg/L)和阿托伐他汀（0.4, 2, 10µmol/L）对培养的内皮细胞中一氧化氮合酶(eNOS)活性的影响。与正常对照组比，\*\* *P* <0.01；与LPC损伤组比，+ *P* <0.05, ++ *P*

<0.01.

## 3.6 LPC和阿托伐他汀对培养的HUVECs的NO含量的影响

如图7所示，LPC与培养的内皮细胞共孵24 h后，NO含量明显降低，与正常对照组比，有显著性差异(*P*<0.01)。阿托伐他汀与LPC共孵内皮细胞，0.4

µmol/L、2µmol/L、10µmol/L的阿托伐他汀能明显地拮抗LPC 导致的内皮细胞

NO 含量的降低，呈剂量依赖性。与LPC 损伤组比，有显著性差异（*P*<0.05 或

*P*<0.01) 。



++

++

+

\*\*

**图 7** LPC (10 mg/L)和阿托伐他汀（0.4, 2, 10µmol/L）对培养的内皮细胞中一氧化氮

（NO） 含量的影响。与正常对照组比，\*\* *P* <0.01；与LPC损伤组比，+ *P* <0.05, ++ *P* <0.01.

## 3.7 LPC和阿托伐他汀对培养的HUVECs的ROS水平的影响

LPC与培养的内皮细胞共孵24 h后，能显著升高细胞内ROS水平。预先给予不同浓度的阿托伐他汀，可以剂量依赖性地抑制LPC诱导的内皮细胞ROS水平的增加（图8A, B）。

**A**





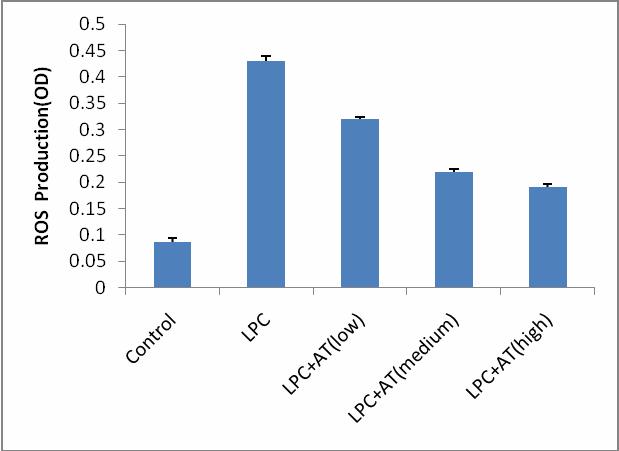
**Control** LPC**(10 mg/L)**



**LPC+AT(low)** LPC+AT(medium)



**LPC+AT(high)**



**B**

\*\*

+

++

++

**图8.** LPC (10 mg/L)和阿托伐他汀（0.4, 2, 10µmol/L）对培养的内皮细胞中ROS含量的影响。与正常对照组比，\*\* *P* <0.01；与LPC损伤组比，+ *P* <0.05, ++ *P* <0.01.

# 讨论

本研究在家兔离体胸主动脉环和培养的人脐静脉内皮细胞(HUVECs)给药模型，观察了LPC对离体血管环和内皮细胞的损伤作用以及阿托伐他汀干预后的影响。结果表明，LPC导致了血管内皮依赖性舒张反应的明显降低、导致了Ach的EC50显著升高，并观察到了离体血管组织中MDA水平升高；导致了培养的内皮细胞的活力、eNOS活性及NO含量的降低，并观察到了ROS水平升高；而预先用不同浓度的阿托伐他汀干预，则显著抑制了LPC对EDR反应的损伤，恢复血管内皮对ACh的敏感性，减少了血管组织中MDA生成，并恢复了内皮细胞的活力、eNOS的活性及NO的水平，并抑制了ROS的生成。

MDA是氧自由基与细胞膜上的多聚不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应的产物。其含量越高，表明脂质过氧化程度越高。氧化应激过程中可产生大量的氧自由基，如超氧阴离子(O2．-) 、H2O2 及**.** OH 等，可促进脂质过氧化反应产物的形

成，使机体抗氧化系统受到损害，进而导致细胞膜结构和功能的损害[27-29]。本研究表明，LPC损伤组的血管组织中MDA水平比正常对照组明显增多，而预先给予不同浓度的阿托伐他汀对血管环进行保护后再与LPC 孵育可使血管组织

MDA生成呈剂量依赖性的减少。这些结果提示LPC导致了ROS的产生，继而诱发脂质过氧化反应，从而导致内皮功能的损伤。我们推测阿托伐他汀对LPC引起的离体血管环内皮依赖性舒张反应降低的保护作用可能与其抑制细胞活性氧簇以及脂质过氧化物生成有关。

血管内皮是保护血管形态和功能的一层生理性屏障，也是机体最大的内分泌、旁分泌组织系统，在AS早期就有血管内皮损伤的表现—内皮依赖性舒张反应降低。因此研究药物对于内皮细胞的保护作用尤为重要。研究表明，长期服用普伐他汀的冠状动脉粥样硬化病人，其外周血管的内皮依赖性舒张反应得到了明显改善[30]。文献报道，辛伐他汀可显著改善溶血性磷脂酰胆碱诱导的大鼠血管内皮功能的损失，并未阐明具体机制[31]。近年来研究显示，他汀类可以影响内皮型一氧化氮合酶(eNOS)活性而改善内皮依赖性舒张反应，可以通过增加热休克蛋白

90促进eNOS的活性。亦有研究发现他汀类药物能够稳定内皮细胞eNOS mRNA，增强内皮细胞的Trx的S-亚硝化反应，减少氧自由基，抑制NO的灭活，从而发

挥保护内皮细胞作用[32, 33]。活细胞摄取MTT，不仅能够反映阿托伐他汀对内皮细胞代谢活力的影响，而且还能够反映LPC对内皮细胞破坏与损伤情况。本研究表明，阿托伐他汀组明显高于其他组，且呈剂量依赖性，提示阿托伐他汀可增强血管内皮细胞代谢活性、保护血管内皮细胞。本研究表明，阿托伐他汀能明显抑制LPC诱导的eNOS的活性降低，恢复NO含量，从而保护内皮细胞。这种保护作用可能与通过丝氨酸/苏氨酸激酶Akt途径促进NO的合成或释放有关。

氧化应激是导致内皮细胞损伤及功能紊乱的重要机制之一[34]，在心脑血管系统疾病的发病中起重要的作用。研究表明，高胆固醇血症、高血压、糖尿病、

AS和心力衰蝎等多种心血管系统疾病与氧化应激有关[35, 36]。ROS包括O2．- 、

H2O2、**.** OH等，可导致血管内皮损伤[37]。正常情况下，机体内ROS含量在稳态水平，当ROS产生过多（氧化应激）或机体抗氧化能力下降（SOD减少）时，当机体内ROS水平显著性升高就会导致内皮功能损伤。有研究表明，氧自由基可直

接抑制NO的活性，导致内皮依赖性血管舒张功能障碍；O2．-

可与NO直接反应，

形成具有强氧化毒性物质，使NO含量减少；ROS可以通过氧化四氢生物蝶呤

（BH4）和L-精氨酸转运器途径抑制使细胞内的BH4、精氨酸水平的生成，从而抑制NO生成[38, 39]；ROS可磷酸化NOS的苏氨酸495位点，导致该酶失活，从而减少NO的生成[40]。ROS还可以与多种细胞组分如蛋白质、核酸酸、磷脂等发生反应，造成细胞结构及功能的损伤[41]。ROS导致的细胞损伤主要是通过生物膜中的多不饱和脂肪酸产生脂质过氧化反应[42]，形成脂质过氧化物MDA。脂质过氧化反应破坏了生物膜结构的完整性，使其通透性增加。活性的脂质过氧化物还可以通过级联效应使氧化损伤效果进一步放大。本实验通过检测细胞内的ROS水平反映细胞内活性氧水平，结果显示，阿托伐他汀显著抑制LPC诱导的内皮细胞ROS水平的增加，从而保护血管内皮功能。这为进一步为阿托伐他汀对抗自由基损伤提供了直接的证据。

大量研究证实，活化的NF-κB在人类动脉粥样硬化斑块的单核巨噬细胞中测出，而正常的血管组织中极少发现。大量的氧自由基可导致NF-κB的活化，NF-κB二聚体的解离，导致NF-κB P65进入细胞核与其靶基因调控区域的特异性DNA序列接合，NF-κB P65一旦被激活，就介导多种细胞因子和粘附分子的产生，这些

因子可影响细胞生长周期，导致细胞增生、移行，甚至导致细胞凋亡[43-45]，故目前认为活化的NF-κB可能是AS发生的启动机制之一。氧化应激是导致内皮功能紊乱的重要原因，其中最重要的途径之一是氧化应激产生大量活性氧(ROS)后引起氧自由基敏感的核转录因子NF-κB的活化[46]。然而我们没有检测核转录因子NF-κB的活化，该机制将在下一步的研究中进行探讨。

综上所述，本实验通过离体胸主动脉环和HUVECs给药模型，证明了阿托伐他汀对LPC引起的血管内皮依赖性舒张反应降低及脂质过氧化物升高有显著性的保护作用，对LPC抑制内皮细胞eNOS活性和NO释放有显著保护作用。该作用主要与阿托伐他汀的抗氧化应激有关。本研究为他汀类药物治疗AS提供了新的理论依据。

结论

1. 阿托伐他汀对LPC所致血管内皮细胞功能损伤具有保护作用。

2. 阿托伐他汀对血管内皮细胞的保护作用，可能与其降低氧化应激反应，减少细胞内活性氧含量，增强内皮细胞eNOS活性，促进NO的生成等作用有关。

参考文献

[1] Smith SC, Blair SN, Ronow RO, *et a1*. AHA/ACC guidelines for preventing heart attack and death in patients with atherosclerotic cardiovascular disease: 2001 up- date A statement for healthcare from the American Heart American College of Cardiology [J]. J Am Coll Cardiol, 2001, 38(5): 1571-1583.

[2] Yla-Hertuala S, Palinski W, Rosenfeld ME, *et al.* Evidence for the presence of oxidatively Modified low density lipoprotein in atherosclerotic lesions of rabbit and man [J]. J Clin Invest. 1989, 84 (4): 1086-1095.

[3] Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, *et al.* Beyond cholesterol. Modifications of low- density lipoprotein that increase its atherogenicity [J]. N Engl J Med. 1989, 320(14): 915-924.

[4] Kohno M, Yokokawa K, Yasunari K, *et al.* Induction by lysophosphatidylcholine, a major phospholipids component of atherogenic lipoproteins, of human coronary artery smooth muscle cell migration [J]. Circulation, 1998, 98(4): 353-359.

[5] Yokoyama M, Hirata K, Miyake R, *et al.* Lysophosphatidylcholine: essential role in the inhibition of endothelium-dependent vasorelaxation by oxidized low densitylipoprotein [J]. Biochem Biophys Res Commun. 1990, 168(1): 30 1-308.

[6] Murohara T, Kugiyama K, Ohgushi M, *et al.* LPC in oxidized LDL elicits vasocontraction and inhibits endothelium-dependent relaxation [J]. Am J Physiol, 1994, 267 (6): 2441-2449.

[7] Ota Y, Kugiyama K, Sugiyama S, *et al*. Complexes of apoA-1 with phosphatidylcholine suppress dysregulation of arterial tone by oxidized LDL [J]. Am J Physiol, 1997, 273(3): 1215-1222.

[8] 唐蜜蜜, 吴树金, 马凤霞, 等. 洛伐他汀对溶血性磷脂酰胆碱引起的离体血管内皮损伤的保护作用[J]. 中南药学, 2009, 7（2）: 94-100.

[9] Murohara T, Kugiyama K, Ohgushi M, *et al*. LPC in oxidized LDL elicits vasocontraction and inhibits endothelium-dependent relaxation [J]. AJP Heart Cir Physi, 1994, 6(267): 2441-49.

[10] Kugiyama K, Kerns SA, Morriset JD, *et al.* Impairment of endothelium-dependent

Arterial relaxation by lysolecithin in modified low-density lipoproteins [J]. Natuer, 1990,344 (6262): 160 -162.

[11] Mangin EL Jr, Kugiyama K, Nguy JH, *et al.* Efects of lysolipids and oxidatively modified low density lipoprotein on relaxation of rabbit aorta [J]. Circ Res, 1993, 72(1): 161-16 6.

[12] Kume N, Cybulsky MI, Gimbrone MA Jr. Lysophosphatidylcholine, a component of atherogenic lipoproteins, induces mononuclear leukocyte adhesion molecules in cultured human and rabbit arterial endothelial cells [J]. J Clin Invest, 1992, 90(3): 1138-1144.

[13] Chen Y, Morimoto S, Kitano S, *et al.* Lysophosphatidylcholine causes Ca2+ influx, enhanced DNA synthesis and cytotoxicity in cultured vascular smoothmuscle cells [J]. Atherosclerosis, 1995, 112(1): 69-76.

[14] Murohara T, Ikeda H, Katoh A, *et al*. Vitamin E inhibits lysophosphatidylcholine-induced endothelial dysfunction and platelet activation [J]. Antioxid Redox Signal. 2002, 4(5): 791 -798.

[15] Gonzalez MA, Selwyn AP. Endothelial function, inflammation and prognosis in cardiovascular disease [J]. Am J Med, 2003, 115(8): 99-106.

[16] Poredos P. Endothelial dysfunction and cardiovascular disease [J]. A thophysiol Haemost Thromb, 2002, 32 (5-6): 274-277.

[17] Teragawa H, Kato M, Kurokawa J, *et al*. Endothelial dysfunction is an independent factor responsible for vasospastic angina [J]. lin Sci (Lond), 2001, 101(6): 707-713.

[18] Smith SC, Blair SN, Ronow RO, *et a1*. AHA/ACC guidelines for preventing heart attack and death in patients with atherosclerotic cardiovascular disease: 2001 up- date A statement for healthcare from the American Heart American College of Cardiology [J]. J Am Coll Cardiol, 2001, 38(5): 1571-1583.

[19] 苏晓叶, 刘志忠, 李小波等. 不同剂量的阿托伐他汀对心肌损伤大鼠内皮祖细胞动员及血管内皮功能的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2007, 15 (4): 277-280.

[[20] Inoue T,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Inoue%20T%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstractPlus) [Node K.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Node%20K%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstractPlus) Statin therapy for vascular failure [J]. Cardiovasc Drugs Ther. 2007, 21(4): 281-95.

[[21] Lee JM](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Lee%20JM%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract), [Wiesmann F](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Wiesmann%20F%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract), [Shirodaria C,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Shirodaria%20C%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract) *et al*. Early changes in arterial structure and function followingstatininitiation: Quantificationbymagneticresonanceimaging[J]. Atherosclerosis, 2008, 197(2): 951-8.

[22] 赵水平主编． 临床血脂学[M] 北京: 人民卫生出版社, 2006, 394-396．

[23] Marchesi S, Lupattelli G, Siepi D, *et al*. Short-term atorvastatin treatment improves endothelial function in hypercholesterolemic women [J]. J Cardiovasc Pharm, 2000, 36 (5): 617-621.

[24] Ma FX, Liu LY, Xiong XM. Protective effects of lovastatin on vascular endothelium injured by low density lipoprotein [J]. Acta Pharmacol Sin, 2003, 24(10): 1027-1032.

[25] 李鹏, 胡树金, 黄宁江, 等. 卡托普利对对氧磷所致血管内皮损伤的保护作用及机制探讨[J]. 中南药学, 2007, 5(5): 410-416.

[26] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 第三版. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 413-415.

[27] Kugiyama K, Ohgushi M, Sugiyama S, *et al.* Lysophosphatidycholine inhibits surface recetor-mediated intracellular signals in endothelial cells by a pathway involving protein kinase C activation [J]. Circ Res, 1992, 71(7): 1422-1428.

[28] Ohara Y, Peterson TE, Zheng B, *et al*. Lysophosphatidycholine Increase vascular superoxide anion production via protein kinase C activation [J]. Arteriosclerosis Thromb, 1994, 14(5): 1007-1013.

[29] Hegarty NJ. Nitric oxide in unlateral ureteral obstrution: Effect of regional renal blood flow[J]. Kidney Int, 2001, 59(13): 1059-1065.

[30] 谷伟军, 同型半胱氨酸硫内酯－同型半胱氨酸致血管病变的基础[J]. 医学综述, 2006(12): 14-16.

[31] Eric Ferguson, Sampath Pathsasarathy, Joy Joseph. Generation and initial characterization of a novel polyclonal antibody directed against homocysteine thiolactone-modified low density lipoprotein [J]. Lipid Res, 1998(14): 683-93.

[32] Laufs U, La Fata V, Plutzky J, *et al*. Upregulation of endothelial nitric oxide synthase by HMG CoA reductase inhibitors [J]. Circulation, 1998, 97: 1129-1135.

[33] Laufs U, La Fata V, Plutzky J, *et al*. Upregulation of endothelial nitric oxide synthase by HMG CoA reductase inhibitors. Circulation, 1998, 97; 1129-1135.

[34] Madamanchi NR, Vendrov A, Runge MS. Oxidative stress and vascular disease[J]. Arterioscler Thromb Vase Biol, 2005(1), 25: 29-38.

[35] Guzik TJ, Mussa S, Gastaldi D, *et al*. Mechanisms of increased vascular superoxide production in human diabetes mellitus. Role of NADPH oxidase and endothelial nitric oxide synthase[J]. Circulation, 2002, 105(14): 1656-1662.

[36] Redon J, Oliva MR, Tormos C, *et al*. Antioxidant activities and oxidative stress byproducts in human hypertension[J]. Hypertension, 2003, 41(5): 1096-1101.

[37] Kalinowski L, Malinski T. Endothelial NADH/NADOH-dependent enzymatic sources of superoxide production: relationship to endothelial dysfunction[J]. Acta Biochim Pol, 2004, 51(2): 459-469.

[38] Channon KM. Teerahydrobiopterin: regulator of endothelial nitric oxide synthase in vascular disease[J]. Trends Cardiovasc Med, 2004, 14(8): 323-327.

[39] El-Remessy AB, Abou-Mohamed G, Caldwell RW, *et al*. High glucose-induced tyrosine nitration in endothelial cells: role of eNOS uncoupling and aldose reductase activation[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2003, 44(7): 3135-3142.

[40] Zou MH, Shi C, Cohen RA, *et al*. Oxidation of the zinc-thiolate complex and uncoupling of endothelial nitric oxide synthase by peroxynitrite[J]. J Clin Ivest, 2002, 109(6): 817-826.

[41] Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function[J]. Physiol Rev, 2002, 82(1): 47-95.

[42] Peterson TE, Poppa V, Ueba H, *et al*. Opposing effects of oxygen reactive specises and cholesterol on endothelial nitric oxide synthase and endothelial cell caveolase[J]. Circ Res, 1999, 85(1): 29-37.

[43] Brand K. Activated transcription factor nuclear factor-kappaB is present in the atherosclerotic lesion[J]. Clin. Invest. 1996; 97: 1715-1722.

[44] Wilson, SH. Activated nuclear factor-kappaB is present in the coronary vasculature in experimental hypercholesterolemia[J]. Atherosclerosis, 2000; 148: 23-30.

[45] Akimoto S, Mitsumata M, Sasaguri T, *et al*. Laminar shear stress inhibits vascular endothelial cell proliferation by inducing cyclin-dependent kinase inhibitor p21[J]. Circ. Res. 2000; 86: 185-190.

[46] Bierhaus A, Humpert PM, Morcos M, *et al*. Understanding RAGE, the receptor for

Advanced glycation end products[J]. J Mol Med. 2005,83:876-86.

# 缩略 词

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 英文缩写 | 英文全称 | 中文名称 |
| ACh | acetylcholine | 乙酰胆碱 |
| AS | atherosclerosis | 动脉粥样硬化 |
| AT | atorvastatin | 阿托伐他汀 |
| EDR | Endothelium-dependent relaxtion | 内皮依赖性舒张性反应 |
| Emax | Maximal relaxation ratio | 最大舒张比率 |
| eNOS | Endothelia nitric oxide synthase | 结构型一氧化氮合酶 |
| HUVECs | Human umbilical vein endothe-  Lial cells | 人脐静脉内皮细胞 |
| GSH-Px | Glutathione peroxidase | 谷胱甘肽过氧化物酶 |
| L-Arg | L-arginine | 左旋精氨酸 |
| LDL | Low density lipoprotein | 低密度脂蛋白 |
| L-NAME | L-N-nitro-arginine methyl ester | L-N-硝基精氨酸甲酯 |
| LPC | Lysophosphatidyl choline | 溶血磷脂酰胆碱 |
| MDA | malondialdehyde | 丙二醛 |
| NAC | N-acetylcysteine | N-乙酰半胱氨酸 |
| NF-κB | nuclear factor -κB | 核转录因子-κB |
| NO | Nitro oxide | 一氧化氮 |
| NOS | Nitric oxide synthas | 一氧化氮合酶 |
| OX-LDL | Oxidized low density lipoprotein | 氧化型低密度脂蛋白 |
| PA | phenylacetate | 乙酸苯酯 |
| Phe | phenylephrine | 苯肾上腺素 |
| SNP | Sodium nitroprusside | 硝普钠 |
| SOD | Superoxide dismutase | 超氧化物歧化酶 |
| TC | Total cholesterol | 总胆固醇 |
| TG | triglyceride | 甘油三酯 |

# 综述

他汀类药物非调脂作用的研究进展

**摘要：**他汀类他汀类药物是一类主要降低血清胆固醇的药物，已经广泛用于临床的多种心血管疾病的治疗。除了降脂作用之，还有很多效的非调脂作用。大量基础和临床要就证明他汀类药物的非调脂作用具有更重要的临床意义。本文就他汀类药物多效性的研究进行综述，并为临床应用领域提供理论和实际依据。

**关键词** 他汀类； ：羟甲基戊二酰辅酶A还原酶； 氧化应激； 内皮细胞

**AbSTRACT:** Statins are a main kind of cholesterol-lowering durgs, which have been used in treatment of mang cardiovascular diseases. Statins have pleiotropic effects besides lowering cholesterol introduced. The evidences currently accumulated from basic and clinical researches have showed that pleiotropic effects of statins are beneficial to the treatment of diseases. This article reviewed statins' pleiotropic effects, and it will provide the theoretical and practical base for the statins to being used in the clinical application.

K**EY WORDS:** statins; HMG-CoA reductase; Oxidative stress; Pleiotropic effects

他汀类药物（statins）是一种羟甲基戊二酰辅酶A还原酶抑制剂(HMG-CoA reductase inhibitor, HMG-CoA RI)，可阻断HMG-CoA还原成3-甲基-3, 5二羟戊酸（甲羟戊酸，

MVA），该酶应为胆固醇合成中限速酶，从而有效的抑制血清总胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇的合成。大量临床实验已经证明他汀类药物可以使患者在冠心病一级和二级预防中获益[1]。然而，使用他汀类药物的整体获益要比单一降脂作用的获益大得多，这提示他汀类药物具有独立于胆固醇作用之外的非调脂作用，即“多效性”[2]，包括降低炎症反应，改善血管内皮功能，抗氧化应激，稳定斑块，以及抑制血管平滑肌细胞的增殖抑制血栓形成反应等。

1. 他汀类药物多效性的基础

他汀类药物多效性的含义主要指药物独立于降脂作用外的效应，即不依赖于总胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇的降低。目前认为他汀类药物多效性主要是通过抑制异戊二烯类的合成。异戊二烯类化合物来自胆固醇生物合成通路中的中间产物，这些中间产物是许多蛋白质翻译修饰的重要脂质连接分子，包括Rho等小分子G蛋白和小GTP结合蛋白，这些分子在细胞生长中和信号转导通路中起基本作用[3]。Rho激酶(ROCKs)是小分子G蛋白下游的效应器之一，广泛分布于哺乳类动物的组织细胞，是具有信息传导和分子开关功能的信号多肽。

近期研究表明，ROCKs可能在心血管损伤中扮演重要角色[4]。ROCKs通过与血管紧张素Ⅱ受体(ATⅡ)、内皮素-1(ET-1)、血小板源性生长因子(PDGF)等多种血管活性物质的相互调控，直接参与血管痉挛、高血压、肺动脉高压、动脉粥样硬化、心肌缺血再灌注损伤、中风和心力衰竭的发生和发展。因此，用ROCKs抑制剂防治心血管疾病成为药物治疗的重要靶点之一[5, 6]。Rho具有RhoA、RhoB、RhoC三种异构体，未被激活的

RhoA存在于胞浆内，经异戊二烯修饰激活后移向细胞膜。他汀类药物通过抑制异戊二烯类化合物合成，导致胞浆内非活性RhoA的积聚，从而抑制ROCKs及其造成的心血管损害。对RhoA的作用是他汀类药物早期获益的重要降脂外机制。

已有证据表明，Rho蛋白参与了炎症反应的信号传导。Mallat等[7]在小鼠模型中研究了体内抑制ROCKs对动脉粥样硬化的影响。给低密度脂蛋白受体(LDL-R)基因敲除小鼠喂饲高脂饮食，将它们分为两组，每日分别于腹腔内注射生理盐水或一种特异性ROCKs抑制剂Y-27632 (30 mg/kg)。9周后，Y-27632处理组的小鼠体内ROCKs活性被显著抑制，取主动脉窦和胸主动脉进行病理切片、脂肪染色，与生理盐水组比较，Y-27632组主动脉窦和胸主动脉处动脉粥样硬化病变体积分别下降了35%和29%。该实验用基因敲除的方法说明了ROCKs抑制剂能明显限制早期动脉粥样硬化斑块的进展。

此外，他汀类药物通过抑制Rho蛋白活化可减少核转录因子κB表达，降低黏附分子、炎性因子的水平，尤其是C反应蛋白的水平[9]，稳定动脉粥样硬化斑块，这些作用是他广泛用于心血管疾病治疗的基础。

2. 他汀类药物调脂外作用

2.1抗氧化应激作用

内皮功能失调和动脉粥样硬化的主要原因是氧化作用。氧自由基可产生诱导炎性递质释放，激活趋化因子，参与细胞凋亡、增殖和分化等多种生物学效应，降低NO活性及其生物利用度，引起内皮功能失调。ox-LDL就是LDL通过内皮细胞进入内膜后被氧化

的产物，在AS的进程中起着重要作用。ox-LDL可诱导单核-巨噬细胞基质金属蛋白酶9 (MMP-9) mRNA表达、MMP-9蛋白含量增加以及明胶降解活性增强[10]，随着ox-LDL浓度的增加而内皮细胞eNOS活性逐渐减弱，NO含量逐渐减少，从而可诱导内皮细胞凋亡

[11]。

由于氧化的LDL在动脉粥样硬化中起着主要作用，也决定了他汀类药物的抗氧化作用将是主要应用方向。该药能逆转ox-LDL对eNOS的抑制作用，体外实验证实他汀类药物有直接的抗ox-LDL作用，抑制LDL、极低密度脂蛋白(VLDL)、HDL的氧化并清除自由基[12]。他汀类药物除了逆转氧化LDL对eNOS的抑制作用外，在体内外还可以直接抑制LDL的氧化[13]。Tavridou等对50名高胆固醇血症无冠心病患者和29名高胆固醇血症并心绞痛患者给予辛伐他汀40mg/d顿服，12周后，ox-LDL分别降低(31.1±5.0) %( *P* <0.001)和(6.5±5.2) %（*P* <0.02）[14]。用辛伐他汀40mg/d顿服治疗家族性高胆固醇血症，可降低负电荷LDL的比例，治疗3个月时为29 %(*P*<0.0002)，6个月时为21%(*P* <0.0001) [15]。他汀类药物可以直接降低巨噬细胞CD36的活性，而该细胞是氧化LDL的受体，进而抑制氧化LDL进入巨噬细胞内而形成泡沫细胞[16]。

2.2改善内皮功能

血管内皮是位于血流与血管平滑肌细胞(VSMC)之间的一道屏障，可分泌合成多种生物活性物质。这些活性物质参与对血管张力、血细胞与血管内皮的粘附性、血液流动性和SMC增生的调节。动脉粥样硬化、高血压、糖尿病等多种心血管疾病与内皮功能损伤有关，因此研究药物对内皮功能的保护作用尤为重要。内皮功能的损伤的特征改变是扩血管物质与缩血管的物质失衡：如一氧化氮(NO)生产减少，内皮素-1(ET-1)和血管紧张素-Ⅱ(angiotensinⅡ, AngⅡ)产生增多。ET是已知体内最强的血管收缩物质，它通过活化蛋白酶C，活化血管平滑肌细胞(VSMC)内c-fos，c-mys基因表达，增加VSMC的DNA合成，促使VSMC增殖。而NO是内源性血管舒张因子，由内皮细胞合成和释放，其生理作用是维持血管的舒张状态，从而改善内皮功能[17, 18]。

近年来研究显示，他汀类可以影响内皮型一氧化氮合酶(eNOS)活性而改善内皮依赖性舒张反应。他汀类药物可以增加热休克蛋白90，促进eNOS的活性[19]。亦有研究发现他汀类药物也能够稳定内皮细胞eNOS mRNA，从而使这些细胞的NO生成增加[20]。研究表明，他汀类药物可以呈剂量和时间依赖性地增加内皮细胞的Trx的S-亚硝化反应，减少细胞内活性氧，减少NO的氧化灭活，从而发挥抗氧化和保护内皮细胞作用[21]。另外，他汀类药物改善内皮功能作用，还与使心肌内ET-1减少有关，通过降低原癌基因c-fox的表达，从而降低前ET-1元的基因表达，使ET-1产生减少；通过抗氧化作用增加ET-1

受体密度，从而增加ET-1清除[22]。他汀类药物通过保护内皮层从而提高内皮功能活性，发挥它的有益作用。

每日阿托伐他汀10 mg口服加饮食疗法和单独饮食疗法作对照，探讨他汀类药物对伴

有高胆固醇血症绝经后的妇女血管反应性的影响，与单独饮食疗法比较，阿托伐他汀治疗

2周对肱动脉反应性有显著影响(*P*<0.001)，治疗4周和8周时也有同样的发现，该研究表明他汀类药物改善内皮功能障碍与降低胆固醇水平无明显关系[23]。

长期他汀类药物治疗也可以改善糖尿病患者内皮依赖性血管舒张功能，用阿托伐他汀治疗2型糖尿病，能显著改善内皮依赖性血管舒张功能[24,25]。另外他汀类药物能改善急性心肌梗死患者冠状动脉内皮功能。Hosokawa等把急性心肌梗死患者分成3组，一组总胆固醇水平升高并给予阿托伐他汀治疗，一组总胆固醇水平升高未给予阿托伐他汀治疗，一组总胆固醇水平正常未给予阿托伐他汀治疗，3组治疗前冠状动脉对乙酰胆碱反应无显著性差异，治疗6个月后三组对乙酰胆碱反应平均直径改变分别为：(-11±3) %、(-20±7) %、(-21±6) % ( *P* <0.01)[26]。

2.3抗炎作用

炎症反应是具有血管系统的活体组织对损伤因子所发生的复杂的防御反应。多种炎性细胞在动脉粥样硬化等心血管疾病的发生发展中起重要作用。C-反应蛋白(CRP)、白介素-6 (IL-6)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、细胞间粘附分子-1(ICAM-1)以及血清淀粉样蛋白A(SAA)等炎症标志物升高可增加心血管病发生的危险性[10]，特别是CRP可预测心血管病的发生。动脉粥样硬化与炎症密切相关，他汀类药物可以在炎症过程中发挥抑制作用，而且它们潜在的抗炎作用相当一部分不依赖于血脂水平的降低[27]。

他汀类药物通过抑制单核-巨噬细胞的功能，减少基质金属蛋白酶(MMPs)的产生，

减轻炎症反应，降低心血管病的发生[28]。708名陈旧性心肌梗死患者中，CRP和SAA升高患者比不升高患者具有更高的危险性，用普伐他汀40mg/d治疗能够抑制炎症反应[10]。有研究将高脂血症患者随机分成阿托伐他汀治疗组、辛伐他汀治疗组及安慰剂对照组，治疗后2h、24h、7天以及3周测量总过氧化物(TP)、IL-6、TNF-α及ICAM-1；与安慰剂比较，辛伐他汀治疗组TP 2h后开始下降，7天后IL-6、TNF-α及ICAM-1显著下降；阿托伐他汀治疗组TP 2h后也开始下降，3周后IL-6、TNF-α及SICM-1显著下降[29]。Devaraj等将代谢综合征患者随机分成辛伐他汀治疗组和安慰剂对照组，经8周治疗后，与安慰剂对照组相比, HsCRP显著降低(*P* <0.005)，IL-6和TNF-α也降低(*P* <0.0025)[30]。在心肌梗死患者中，长期普伐他汀治疗也能降低CRP，治疗前普伐他汀治疗组与安慰剂对照组相比，CRP无显著差异，5年治疗后相比，普伐他汀治疗组CRP中位数下降21.6%（*P* =

0.007）[31]. 另外，心力衰竭时血流动力学及心肌动力的异常改变可促进TNF-α、IL-6等细胞因子的产生，而这些因子协同负性肌力作用一起心功能损伤。现研究证明，他汀类药物可降低心肌中TNF-α、IL-6的水平，抑制炎症作用[32]。

黏附因子和化学趋化因子在炎症过程中起重要作用，中性粒细胞黏附并迁移到血管内膜下是形成动脉粥样硬化的一个重要过程[33]。最近研究表明辛伐他汀和阿托伐他汀能显著降低可溶性P-选择素、E-选择素和细胞间黏附分子(ICAM-1) [34]。氟伐他汀治疗高胆固醇血症患者，能降低P-选择素和ICAM-1，并且独立于调脂作用之外[35]。在24周前瞻性普伐他汀CRP评估试验中，证实CRP下降与LDL下降水平无明显关系[36]。一项重要研究证明经修饰过的他汀类药物无抑制HMG-CoA还原酶作用，但是潜在有选择性直接抗炎作用[37]；阿托伐他汀能够抑制炎症细胞的活化，减少单核细胞黏附分子的表达，降低血清中炎症反应敏感指标CRP[38]，降低TNF-α、IL-l、IL-8的浓度[39]，减轻炎症反应。研究发现，无论是短期还是长期他汀治疗均可降低血清高敏C-反应蛋白(hsCRP)水平，而且与其降低LDL-c的作用无关，这个研究发现进一步证明他汀类药物非调脂作用独立于调脂作用之外。

2.4稳定动脉粥样硬化斑块作用

现在研究认为，动脉粥样硬化中血管平滑肌细胞(SMCs)的聚集是一个修复过程，修复机制异常则可能导致斑块破裂。炎症、基质、转归、凝血系统紊乱可引起斑块破裂。斑块的稳定性取决于①脂核的大小：脂核即脂质核心其成分包括富含粘稠状粥样物质、泡沫细胞、退化的血液成分、坏死组织碎片及胆固醇结晶。大的脂核被认为是不稳定斑块的主要特征。他汀类药物通过抑制CD36[40]和清道夫受体A[41]，而抑制氧化LDL摄入巨噬细胞或者平滑肌细胞，最终减少泡沫细胞的形成，达到稳定斑块作用。②纤维帽：是覆盖于脂核上的纤维性组织，主要是胶原细胞和胶原基质组成，现认为其厚度及所占比例是决定斑块稳定性的一个重要因素。③炎症反应：是影响斑块稳定性的机制之一，现以证实炎症在ACS的发生中起着重要的作用，血浆中炎症的标志物升高可以预测斑块破裂的危险，在急性ACS的患者中斑块破裂的发生率与升高的CRP水平有关[42]。④细胞外基质胶原含量：细胞外基质主要来源于SMCs，其数量减少或合成细胞外基质减少，都影响纤维帽的厚度和强度，削弱斑块抗破裂能力[43]。⑤MMPs可降解斑块中的胶原和细胞外基质发挥主要作用。斑块局部基质金属蛋白酶活性高低是衡量斑块稳定性的指标之一，巨噬细胞产生的MMPs能够使斑块的纤维帽变薄变脆。他汀类药物降低了LDL-c而缩小脂核，可通过MMPs的减少降解斑块外的细胞外基质、纤维帽内的胶原。研究表明

[42]，他汀类药物能够显著降低血浆中不稳定斑块标志物水平，抑制MMPS的表达，减少

MMPS的生成。他汀类可减少血小板聚集和血栓形成，有抑制凝血酶生成及稳定斑块作。冠心病患者稳定动脉粥样硬化斑块，被认为是预防心血管病发生的主要策略之一。

研究表明冠状动脉斑块稳定性与颈动脉斑块稳定性有很好的相关性，超声检查无回声斑块为易损斑块，60例冠心病患者随机分成饮食控制组和普伐他汀治疗组，6个月治疗后，用超声背向散射积分(IBS)评价斑块回声量并测量颈动脉内膜中层厚度(IMT)，治疗组颈动脉斑块回声量显著升高(-18.5±4.1dB至-15.9±3.7dB, *P* <0.001), 而饮食控制组(-18.2±4.0dB至-18.9±3.5dB, *P* = 0.13), 2组斑块IMT无显著改变[44]。

2.5抗血小板聚集和血栓形成

活化的血小板通过黏附分子与活化的白细胞以及内皮细胞的相互作用，导致炎症和血栓形[45]。血小板活化因子有血小板溶酶体膜糖蛋白(CD63)、血小板内α颗粒膜糖蛋白(CD62P, 又称GMP-140)。研究发现阿托伐他汀可降低血小板膜活性蛋白标志CD63、

CD62P水平，抑制血小板聚集反应，达到抗血小板活化作用，防止血栓形成[46, 47]。林玲等[48]研究也证实阿托伐他汀可显著降低血小板内α颗粒膜糖蛋白浓度，抑制血小板凝集，降低血小板活化，减少心脑血管梗塞或血栓闭塞事件发生，而对血小板计数、体积无影响[49]。此外，阿托伐他汀还具有增强纤溶活性的能力。人体纤溶系统由纤溶酶原(PLg)、纤溶酶原活化素(PAs)、纤溶酶原激活物抑制剂(PAIs)和α2抗纤溶酶（α2-antiplasmin，

α2-AP）等构成。目前普遍认为组织型纤溶酶原激活物(t-PA)、尿激酶型纤溶酶原激活物(u-PA)、单链尿激酶纤溶酶原激活物(scu-PA)等是测定纤溶能力最全面的指标。调节纤溶活性的关键性物质为组织型纤溶酶原激活物和纤溶酶原激活物抑制剂。林毅[50]等用不同剂量的阿托伐他汀(10mg、20rng、40mg)治疗ACS显示t-PA水平明显增高，PAI-1活性明显降低。表明阿托伐他汀具有增强纤溶活性，改善纤溶状态，纠正血栓形成．纤溶失衡状态，并且这种效果在一定范围内与剂量、疗程有密切联系。

因此，研究表明他汀类药物可以抗血小板聚集和血栓形成。主要机制包括：（1）抑制外源性凝血系统的激活：他汀类药物抑制组织因子(TF)的表达；促进TF途径抑制物的表达[51]。（2）增加纤溶活性：他汀类药物增强组织型纤溶酶原激活物(t-PA)的表达；抑制纤溶酶原激活物抑制剂(TFPI)的表达[52]。（3）降低血液黏滞度：他汀类降低纤维蛋白原浓度。

3 其他作用研究

①免疫调节作用：研究表明他汀类药物可以作为免疫调节剂应用于临床，普伐他汀联合抗排斥药物（环孢素A、强的松和硫唑嘌呤）应用于心脏移植患者，治疗12个月后，与单独应用抗排斥药物相比，能显著降低排斥反应的发生，增加存活率[53]。

②对神经内分泌的影响：Statin可抑制肾素-血管紧张素系统，去甲肾上腺素的致心肌细胞肥大作用，直接阻止血管紧张紊Ⅱ(AngⅡ)致心肌细胞肥大的作用。可降僬肾素-血管紧张素转换酶(ACE)的活性及AngⅡ活性的水平，降僬血管紧张素Ⅱ受体1(AT1)受体密度及AT1受体的mRNA表达，肾素-血管紧张紊系统、交感神经系统活性降低[54]。

③对心室重构的影响：心室重构从细胞学水平包括：心肌细胞的坏死和细胞凋亡，心肌的肥大，成纤维细胞的增殖，胶原蛋白含量及类型发生变化[55]。他汀类药物防止心肌细胞肥大机制是抑制胆固醇合成；通过抑制G1期细胞周期蛋白表达而抑制细胞增殖，是阻止心肌肥厚的主要机理[56]。另外，如葡萄糖利用增加，脂肪氧化减少，促进心肌细胞的肥大，他汀类药物可通过心肌细胞的代谢底物改变来防止心肌细胞肥大；他汀类药物可通过增强过氧化物酶体增殖物激活受体-γ(PPAR-γ) mRNA的表达，减轻PPAR-γ下调，并抑制炎症反应，进而抑制心肌肥厚[57]。他汀类药物亦可抑制心肌细胞的凋亡，诱导肥大心肌细胞调亡，使肥大的心肌发生逆转，保护心功能[56]。Ogata Y等在研究中发现他汀类药物通过阻止β-肾上腺素能受体，从而抑制心肌细胞凋亡，使肥大心肌逆转。研究表明[58] MMPS激活对心衰进展有重要的作用，而抑制MMPS的活性可限制心室扩张，导致I型胶原表达减少，恢复I型、III型胶原比率，从而改善左室收缩及舒张功能，保护心功能。

④治疗骨质疏松症：绝经期妇女和老年人往往存在高胆固醇血症，应用他汀类药物对此类患者进行降脂治疗时，发现他汀类药物对治疗骨质疏松症有一定的疗效。由于他汀类药物抑制HMG-CoA，所以其代谢产物MVA也被抑制。而MVA可抑制骨形态发生蛋白2(BMP-2)基因启动因子。而BMP-2是公认的成骨转化促进因子，具有较强的促进骨形成的作用[59]。因此他汀类药物对骨组织的生物效应（稳定骨量，使骨重建、再生）得以认可。

参考文献

[1] Smith SC, Blair SN, Ronow RO, et a1. AHA/ACC guidelines for preventing heart attack and death in patients with atherosclerotic cardiovascular disease: 2001 up- date A statement for healthcare from the American Heart American College of Cardiology [J]. J Am Coll Cardiol, 2001, 38(5): 1571-1583.

[2] Liao JK, Laufs U. Pleiotropic effects of statins [J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2005, 45: 89-118.

[3] Laufs U, Liao JK. Isoprenoid metabolism and the pleiotropic effects of statins [J]. Curr Atheroscler Rep, 2003, 5 (5): 372-378.

[4] Rikitake Y, Liao JK. Rho GTPases, statins, and nitric oxide [J]. Circ Res, 2005, 97(12): 1232-1235.

[5] Shimokawa H, Takeshita A. Rho-kinase is an important therapeutic target in cardiovascular medicine [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2005, 25 (9): 1767-1775.

[6] Hirooka Y, Shimokawa H. Therapeutic potential of rho-kinase inhibitors in cardiovascular diseases [J]. Am J Cardiovasc Drugs, 2005, 5 (1): 31-39.

[7] Mallat Z, Gojova A, Sauzeau V, et al. Rho-associated protein kinase contributes to early at herosclerotic lesion formation in mice [J]. Circ Res, 2003, 93 (9): 884-888.

[8] Lauf s U, Gertz K, Dirnagl U, et al. Rosuvastatin, a new HMG-CoA reductase inhibitor, upregulates endot helial nitric oxide synthase and protec s from ischemic stroke in mice [J]. Brain Res, 2002, 942 (122): 23-30.

[9] Veillard NR, Mach F. Statins: the new aspirin[J]. CellMolLifeSci, 2002, 59(11): 1771-1786.

[10] Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA, et al. Inflammation, pravastatin, and the risk of coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events(CARE) Investigators [J]. Circulation, 1998, 98 (9): 839-844.

[10] 童国新, 王宁夫, 陈鹏, 等． 阿托伐他汀对ox-LDL诱导的人单核-巨噬细胞MMP-9和组织因子的影响[J]． 基础医学与临床, 2007, 27(2): 178-182．

[11] 张泉三, 董果雄, 张社华． Ox-LDL和生理浓度抗坏血酸对人脐静脉内皮细胞eNOS活性的影响[J]. 青岛大学医学院学报, 2007, 43(2): 112-114．

[12] 赵水平, 胡大一. 心血管病诊疗指南解读[M]. 北京: 人民卫生出版. 2004.2-15．

[13] Suzumura K, Yasuhara M, Tanaka K, et al. Protective effect of fluvastatin sodiim (Xu-62-320), a 3-Hydroxy-3-met hylglutaryl coenzyme A(HMG-CoA) reductase inhibitor, on oxidative modification of human low-density lipoprotein in vitro [J]. Biochem Pharmacol, 1999, 57 (6): 697-703.

[14] Tavridou A, Efthimiadis A, Efthimiadis I, et al. Antioxidant effect s of simvastatin in primary and secondary prevention of coronary heart disease [J]. Eur J Clin Pharmacol, 2006, 62 (6): 485-489.

[15] Sanchez-Quesada JL, Otal-Entraigas C, Franco M, et al. Effect of simvastatin treatment on the electronegative low-density lipoprotein present in patient with heterozygous familial hypercholesterolemia [J]. Am J Cardiol, 1999, 84 (6): 655-659.

[16] Fuhrman B, Koren C, Volkova N, et al. Atorvastatin t heray in hyper-cholesterolemic patients suppresses cellular uptake of oxidized-LDL by differentiating monocytes [J]. Atherosclerosis, 2002, 164(1): 179-185.

[17] Kaesemeyer WH, Caldwel RB, Huang J, et a1． Pravastatin sodium activates endothelialnitric oxide synthase independent of its cholesterol-lowering actions[J]． J Am Col Cardiol, 1999, 33(1): 234-241．

[18] Joshua AB, James KL, Shauna H, et a1． Atorvastatin restores endothelial function in normo- cholesterolemic Smokers Independent of Changes in low-density lipoprotein [J]. Circ Res, 2004, 95: 217-223．

[19] Feron O, Dessy C, Desager JP, et al. Hydroxy-met hylglutaryl-coenzyme A reductase inhibition promotes endothelial nitric oxide synthase activation through a decrease in caveolin abundance [J]. Circulation, 2001, 130 (1): 113-118.

[20] Laufs U, La Fata V, Plutzky J, et al. Upregulation of endothelial nitric oxide synthase by HMG-CoA reductase inhibitors [J]. Circulation, 1998, 97 (12): 1129-1135.

[21] Haendeler J, Hofillann J, Zeiher AM, et al. Antioxidant effects of statins via 5-nitrosylation and activation of thioredoxin in endothelialcells: a novel vasculoprotective function of statins [J]. Circulation, 2004, 110(7): 856-861

[22] Ledoux J, Geerts WH. Stain use and survival outcomes in elderly patients with heart failur: a new evidence suggests an a1teration in vascular smooth muscle function [J]. BriJ Pharmacol, 2003, 139: 1245-1248.

[23] Marchesi S, Lupattelli G, Siepi D, et al. Short-term atorvastatin treatment improves endothelial function in hypercholesterolemic women [J]. J Cardiovasc Pharm, 2000, 36 (5): 617-621.

[24] Tan KC, Chow WS, Tam VHG, et al. Atorvastatin lowers C-reactive protein and improves endothelium-dependent vasodilation in type 2 diabetes mellitus [J]. J Clin Endocr Metab, 2002, 87(2): 563-568.

[25] Mullen MJ, Wringt D, Donald AE, et al. Atorvastatin but not larginine improves endothelial function in type 1 diabetes mellitus, a double-blind study [J]. J Am Coll Cardiol, 2000, 36 (2): 410-416.

[26] Hosokawa S, Hiasa Y, Tomokane T, et al. The effect s of atorvastatin on coronary endothelial function in patients with recent myocardial infarction [J]. Clin Cardiol, 2006, 29 (8): 257-362.

[27] 胡大一, 马长生． 心脏病学实践2005-新进展与临床案例【M】第l版, 北京: 人民卫生出版社, 2005: 34-42．

[28] Moreno PR, Lodder RA. Detection of lipid pool, thin fibrous cap, and inflanna- tory cells I hunan aorticatherotic plaques by near-infarcted spectroscopy [J]. Circulation, 2002, 105: 923.

[29] Marketou ME, Zacharis EA, Mkitovil D, et al. Early effects of simvastatin versus atorvastatin on oxidative st ress and proinflammatory cytokines in hyperlipidemic subjects [J]. Angiology, 2006, 57(2): 211-218.

[30] Devaraj S, Chan E, Jialal I. Direct demonst ration of an antiinflammatory effect of simvastatin in subjects with the metabolic syndrome [J]. J Clin Endocr Metab, 2006, 91(11): 4489-4496.

[31] Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA, et al. Long-term effect of pravastatin on plasma concentration of C-reactive protein [J]. Circulation, 1999, 100 (3): 230-235.

[32] Dichtl W, Dulak J, Frick M, et a1. HMG-CoA reductase inhibition regulate inflammatory transcription factors in human endothelial and vascular smooth muscle cells [J]. Arterioscler Thromh Vasc Biol, 2003, 23: 58-63.

[33] Blake GJ, Ridker PM. Novel clinical markers of vascular wall inflammation [J]. Circ Res, 2001, 89 (9): 763-771.

[34] Seljeflot I, Tonstad S, Hjermann I, et al. Reduced expression of endothelial cell markers

After 1 year treatment with simvastatin and atorvastatin in patient s with coronary heart disease [J]. Atherosclerosis, 2002, 162 (1): 179-185.

[35] Romano M, Mezzetti A, Marulli C, et al. Fluvastatin reduces soluble P-selectin and ICAM-1 levels in hypercholesterolemic patients: role of nitric oxide [J]. J Invest Med, 2000, 48 (3): 183-189.

[36] Albert MA, Danielson E, Rifai N, et al. Effect of statin therapy on C-reactive protein levels- The Pravastatin Inflammation/ CRP Evaluation (PRINCE): a randomized trial and cohort study [J ]. JAMA, 2001, 286 (1): 64-70.

[37] Weitz-Schmidt G, Welzenbach K, Brinkmann V, et al. Statin selectively inhibit leukocyte function antigen-1 by binding to a novel regulatory integrin site [J]. Nature Med, 2001, 7 (6): 687-692.

[38] Hogue JC, Lamarche B, Tremblay AJ, et a1. Differential effect of atorvastitin andfenofibrate on plasma oxidized low-density lipoprotein, inflammation markers, and cell adhesion molecules in patients with type 2 diabetes mellitus [J]. Metabolism. 2008, 57(3): 380-386.

[39] Torgu, Waehre, Arne Yndestad, Camilla Smith, et a1. Increased expression of Interleukin-1 in Coronary Artery Disease with downregulatory effects of HMG-CoA reductase inhibitors[J]. Circulation. 2004, 109: 1966-1972.

[40] Pietsch A, Erl W, Lorenz RL. Lovastatin reduces expression of the combined adhesion and scavenger receptor CD36 in human monocytic cells [J]. Biochem Pharmacol, 1996, 52 (3): 433-439.

[41] Umetabi N, Kanayama Y, Okamura M, et al. Lovastatin inhibits gene expression of type-Ⅰscavenger receptor in THP-1 human macrophages [J]. Biochim Biophys Acta, 1996, 1303 (3): 199-206.

[42] Koh KK, Ahn JY, Jin DK, et a1. Comparative effects of statin and fibrate on nitric oxide bioactivity and matrix metalloproteinase in hyperlipidemia [J]. Int J Cardiol, 2004, 97: 239-244.

[43] 韦立新. 不稳定斑块破裂的形态学及发生机制的病理学研究进展[J]. 国外医学: 生理、病理科学与临床分册. 2003, 23(5): 441-443.

[44] Watanab K, Sugiyama S, Kugiyama K, et al. Stabilization of carotid at heroma assessed by quantitative ult rasound analysis in nonhypercholesterolemic patients wit h coronary

Artery disease [J]. J Am Coll Cardiol, 2005, 46 (11): 2022-2030.

[45] 刘中民, 张代富主译． 分子心脏病学[M]． 第l版． 北京: 人民卫生出版, 2002．455-477．

[46] Bourcier T, Libby P. HMG CoA reductase inhibitors reduce plasminogen activator inhibitor-1 expression by human vascular smooth muscle and endothelial cells [J]. Arterioscler Thromb Vase Biol, 2000, 20(2): 556-562.

[47] 王云开, 魏云峰, 吴印生, 等． 阿托伐他汀对高脂蛋白血症患者血小板活性因子的影响[J]． 江西医学院学报, 2007, 47(1): 68-69．

[48] 林玲, 欧少雯, 吕红, 等． 阿托伐他汀对老年冠心病患者血小板α颗粒膜蛋GMP-140的影响[J]． 热带医学杂志, 2007, (7) l: 55-56．

[49] 范伯丽, 程颖, 房家智, 等． 阿托伐他汀对高脂血症患者血小板聚集反应的影响[J]． 中国动脉硬化杂志, 2003, ll(5): 455-458．

[50] 林毅, 陈新民, 罗助荣, 等． 不同剂量阿托伐他汀对急性冠脉综合征患者炎症及血小板和纤溶活性的影响[J]． 中国全科医学, 2007, 10(13): 1060-1062．

[51] Diomede L, A lbani D, Sottocorno M, et al. In vivo antiinflammtory effect of statins is mediated by nonsterol nevalonate products [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2001, 21 (8): 1327-1332.

[52] Bourcier T, Libby P. HMG-CoA reductase inhibitors reduce plasminogen activetor inhibitor-1 expression by human vascular smooth muscle and endothelial cells [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2000, 20 (2): 556.

[53] Link A, Ayadhi T, Bohm M, et al. Rapid immunomodulation by rosuvastatin in patients with acute coronary syndrome [J]. Eur Heart J, 2006, 72(24): 2945-2955.

[54] Doo YC, Han SJ, Lee JH, et a1. Associations among oxidized low-density lipoprotein antibody, C-reactive protein, interleukin-6, and circulating cell adhesion molecules in patients with unstable angina pectoris [J]. Am J Cardiol, 2004, 93: 554-558.

[55] 邱祥春． 肾素血管紧张素系统与心肌梗死后心室重构的研究进展[J]． 内蒙古蒙医学院学报, 1998, 10(1): 46．

[56] Laufs U, Kilter H, Konkol C, et a1. Impact of HMG-CoA reduclase inhlbionon small GTP ase in the heart [J]. Cardiovase Res, 2002, 53: 911-920.

[57] Ye P, Sheng L, Zhang C, et al. Atorvastatin attenuating down-regulation of peroxisome proliferators-activated receptor gamma in preventing cardiac hypertrophy of rats in vitroand in vivo [J]. J Pharm Pharm Sci, 2006, 9 (3): 365-375.

[58] Ogata Y, Takahshi M, Takeuchi K, et a1. Simvastatin induces apoptosis in rat neonatal cardiac myoeytes: a possible mechanism of statin-attenuated cardiac hypertrophy cardiomyopathy [J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2002, 40: 907-915.

[59] 刘晓宁, 张柳. 他汀类药物对骨形成影响的研究进展. [J]. 中国骨质疏松杂志, 2008,

14(5): 367-370.

硕士期间发表的论文

**1、廖昆**，宋新志，张峰华. 注射用血塞通在治疗60例急性脑梗死中的疗效观察，. 中华中西医杂志，2006, 7(13)：1210-1211..

2、**廖昆，**尹卫东，欧秋娟，何勇，曹明艳，金水宝胶囊预防造影剂肾病研究，湘南学院学报医学版，2011, 3(1)：55-56.

致谢

三年时光匆匆，回顾三年的时光，自己过得充实且快乐。在此以我真挚的致谢，用来纪念这三年珍贵的岁月，感谢三年来培养，关心，爱护我的人。

首先我要衷心感谢我的导师尹卫东教授三年来对我学习上的严格要求与谆谆教导及生活上的亲切关怀。导师渊博的专业知识，严谨的治学态度，精益求精的工作作风，诲人不倦的高尚师德，严以律己、宽以待人的崇高风范，朴实无华、平易近人格魅力对我影响深远，不仅使我树立了远大的学术目标、掌握了基本的研究方法，还使我明白了许多待人接物与为人处世的道理。本论文从选题到完成，每一步都是在导师的指导下完成的，倾注了导师大量的心血。在此，谨向导师表示崇高的敬意和衷心的感谢！

衷心感谢尹卫东教授对本课题的关心、支持和帮助。衷心感谢各位教授、老师对本人耐心细致的指导。

最后我要深深地感谢我自己的家人，是你们一直默默地支持才支撑着我走到今天，是你们最包容的爱心让我面对困难时信心百倍！！！

再一次感谢所有帮助和关心我的人，愿好人一生平安！