

## 表没食子儿茶素没食子酸酯对低密度脂蛋白诱导的血管内皮损伤的保护作用

唐伟军<sup>1</sup>, 陈美芳<sup>2</sup>, 江俊麟<sup>3</sup>, 邓晟<sup>3</sup>, 黄煌<sup>1</sup>, 谭斌<sup>1</sup>, 李元建<sup>3</sup>

(1. 湘南学院药理学教研室, 湖南省郴州市 423043; 中南大学 2. 湘雅医院心内科, 3. 药学院药理学系, 湖南省长沙市 410078)

[关键词] 药理学; 表没食子儿茶素没食子酸酯对血管内皮的保护; 高效液相色谱分析; 表没食子儿茶素没食子酸酯; 低密度脂蛋白; 非对称性二甲基精氨酸; 肿瘤坏死因子

[摘要] 目的 探讨茶多酚主要活性成分表没食子儿茶素没食子酸酯对低密度脂蛋白诱导的大鼠血管内皮功能不全的保护作用及其机制。方法 雄性 SD 大鼠随机分为 5 组: 对照组、低密度脂蛋白组、低密度脂蛋白+表没食子儿茶素没食子酸酯(10 mg/kg)组、低密度脂蛋白+表没食子儿茶素没食子酸酯(50 mg/kg)组和低密度脂蛋白+维生素 E(50 mg/kg)组。舌下静脉注射低密度脂蛋白诱发血管内皮功能不全, 检测血浆中非对称性二甲基精氨酸、一氧化氮、丙二醛和肿瘤坏死因子含量, 并观察离体胸主动脉环的内皮依赖性舒张反应。结果 单次静脉注射低密度脂蛋白能明显降低大鼠胸主动脉的内皮依赖性舒张效应, 升高血浆中非对称性二甲基精氨酸、丙二醛和肿瘤坏死因子水平, 减少一氧化氮的生成( $P < 0.01$ )。表没食子儿茶素没食子酸酯(10 mg/kg 和 50 mg/kg)可显著改善低密度脂蛋白所致的血管内皮舒张功能障碍, 降低非对称性二甲基精氨酸、肿瘤坏死因子和丙二醛水平, 增加一氧化氮的合成。结论 表没食子儿茶素没食子酸酯能显著改善低密度脂蛋白对血管内皮舒张功能的抑制作用, 其保护作用可能与降低内源性非对称性二甲基精氨酸水平有关。

[中图分类号] R96

[文献标识码] A

### Epigallocatechin Gallate Preventing Low Density Lipoprotein-Induced Endothelial Dysfunction

TANG Wei Jun<sup>1</sup>, CHEN Mei Fang<sup>2</sup>, JIANG Jun Lin<sup>3</sup>, DENG Sheng<sup>3</sup>, HUANG Huang<sup>1</sup>, TAN Bing<sup>1</sup>, and LI Yuan Jian<sup>3</sup>

(1. Department of Pharmacology, Xiangnan College, Chenzhou 423043; 2. Department of Cardiovascular Medicine, Xiangya Hospital; 3. Department of Pharmacology, School of Pharmaceutical Science, Central South University, Changsha 410078, China)

[KEY WORDS] Epigallocatechin Gallate; Low Density Lipoprotein; Asymmetric dimethylarginine; Tumor Necrosis Factor; Nitric Oxide; Endothelial Cells

[ABSTRACT] **Aim** To examine whether the protective effect of epigallocatechin gallate (EGCG) on endothelial cells is associated with reduction of asymmetric dimethylarginine (ADMA) concentration in rats treated with low density lipoprotein (LDL).

**Methods** 40 rats were randomly divided into five groups: control group, LDL group, 10 mg/kg EGCG group, 50 mg/kg EGCG group and Vitamin E group. Vascular endothelial injury was induced by a single injection of native LDL (4 mg/kg) in rats. Vascular endothelium dependent relaxation to acetylcholine of isolated thoracic aorta and plasma concentrations of ADMA, nitric oxide (NO), malondialdehyde (MDA) and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) were analyzed. **Results** A single injection of LDL markedly inhibited endothelium dependent relaxation to acetylcholine, increased plasma level of ADMA, MDA and TNF- $\alpha$ , and decreased plasma concentrations of NO. Treatment with EGCG significantly improved the endothelium dependent vasodilation, decreased the elevated level of ADMA, MDA, TNF- $\alpha$ , and enhanced the decreased level of NO in the rats treated with LDL. **Conclusions** The present results suggest that the beneficial effect of EGCG on endothelial cells may be related to reduction of endogenous ADMA concentration.

血管内皮功能不全是动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)发生的始动环节。研究证实血管内皮功能不全与自由基产生增多而氧化灭活一氧化氮(nitric

oxide, NO)有关。近来研究证明,内源性一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)抑制剂如非对称性二甲基精氨酸(asymmetric dimethylarginine, ADMA)在调节NO合成中起重要作用。在慢性高脂血症动物模型及患者血中ADMA显著升高,并伴有血管内皮舒张功能障碍;外源性给予L-精氨酸可以逆转离体血管环的内皮舒张功能障碍<sup>[1,2]</sup>。这些结果提示NOS抑制剂ADMA的升高是As血管内皮功能不全发生的

[收稿日期] 2005-04-05 [修回日期] 2005-11-28

[基金项目] 湖南省教育厅科学基金(03C011)资助

[作者简介] 唐伟军, 硕士研究生, 从事心血管新药的开发。陈美芳, 博士研究生, 研究方向为高血压的防治。通讯作者李元建, 教授, 博士研究生导师, 主要从事心血管药理研究, E-mail 为 yuan\_jianli@yahoo.com。

重要原因。茶叶富含多酚类化合物,即茶多酚,表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin gallate, EGCG)是其主要的活性成分。有研究报道儿茶素可以取消溶血卵磷脂胆碱诱导的主动脉内皮细胞损伤,与其抗氧化作用有关<sup>[3]</sup>。然而 EGCG 对低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)诱导的血管内皮损伤是否有保护作用尚未见报道,本文拟观察茶多酚的主要活性成分 EGCG 对 LDL 所致的血管内皮细胞损伤的保护效应,为进一步探讨儿茶素的药理作用机制提供一定的实验依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 药品与试剂

EGCG 购自湖南金农生物资源股份有限公司,纯度为 99%;维生素 E 购自上海通用药业股份有限公司;乙酰胆碱和苯肾上腺素均购自 Sigma 公司;一氧化氮(nitric oxide, NO)、丙二醛试剂盒购自南京聚力生物有限公司;肿瘤坏死因子  $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 试剂盒购于北京东亚免疫技术研究所;其余试剂均为国产分析纯。

### 1.2 低密度脂蛋白和动物模型的制备

健康人新鲜血浆,密度梯度超速离心法制备 LDL(密度 1.019~1.063),分离的 LDL 置于磷酸缓冲液(pH7.4)充分透析 24 h,以 Lowry 法进行 LDL 蛋白含量测定。大鼠在乙醚麻醉下,一次性舌下静脉注射人血浆 LDL(4 mg/kg, 48 h)诱发血管内皮损伤。

### 1.3 实验动物及分组

健康雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠,体重 180  $\pm$  20 g,由中南大学湘雅医学院实验动物中心提供。随机分为 5 组,每组 8 只。对照组实验前 48 h 舌下静脉注射等体积的生理盐水;LDL 处理组实验前 48 h 舌下静脉注射 LDL(4 mg/kg);低 EGCG 组每天腹腔注射 EGCG 10 mg/kg,连续 5 天,实验前 48 h 舌下静脉注射 LDL(4 mg/kg);高 EGCG 组每天腹腔注射 EGCG 50 mg/kg,连续 5 天,实验前 48 h 舌下静脉注射 LDL(4 mg/kg);维生素 E 组每天腹腔注射维生素 E 50 mg/kg,连续 5 天,实验前 48 h 舌下静脉注射 LDL(4 mg/kg)。

### 1.4 离体血管内皮依赖性舒张功能检测

大鼠在戊巴比妥钠麻醉下开胸,迅速分离并剪取胸主动脉段,置于充以 95% O<sub>2</sub> 和 5% CO<sub>2</sub> 混合气体的改良克氏液中。小心剪去血管周围结缔组织,剪成约 3~4 mm 的血管环,一端固定于浴槽,另一端连接张力换能器,通过 BUXCO 生物记录系统连续记

录血管张力变化。调节静息张力为 2 g,平衡 60 min,加用 KCl(60 mmol/L)预收缩血管,冲洗 3 次后,重新平衡血管环,用苯肾上腺素(10<sup>6</sup> mol/L)收缩血管,待稳定后观察累积浓度的乙酰胆碱(3  $\times$  10<sup>-9</sup> ~ 10<sup>-6</sup> mol/L)诱导血管内皮依赖性舒张反应。

### 1.5 血浆非对称性二甲基精氨酸含量测定

颈动脉插管取血 5 mL,用 Na<sub>2</sub>EDTA 抗凝,于 4  $^{\circ}$ C 下离心 15 min(3 000 r/min),收集血浆,用高效液相色谱(HPLC)分析测定血浆中的 ADMA 含量。取 100  $\mu$ L 血浆样品或标准品加入 100  $\mu$ L 衍生试剂(邻苯二甲醛与硼酸缓冲液及  $\beta$ -巯基乙醇的混合物),混匀,室温下反应 3 min 后进样,然后用线性梯度洗脱的方式将样品从色谱柱中洗脱[流动相 A 为 0.05 mol/L 乙酸钠(pH 6.8):甲醇:四氢呋喃=82:17:1,均为体积比;流动相 B 为 0.05 mol/L 乙酸钠:甲醇:四氢呋喃=22:77:1,体积比,流速为 1 mL/min],经预柱处理后,用 RF-10Ax1 型荧光检测器对其及内标 ADMA 进行检测(激发波长 338 nm;吸收波长 425 nm)。

### 1.6 血浆一氧化氮含量测定

生物系统中 NO 释放后很快转变成代谢产物 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 和 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>,以镉粉将 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 还原成 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>,NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 通过 Griess 重氮化反应生成有色化合物,用 722 分光光度计 540 nm 处测定,然后根据公式计算出 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 含量以此来反应血浆中 NO 浓度。

### 1.7 血浆丙二醛含量测定

取 100  $\mu$ L 血浆,严格按照丙二醛试剂盒(硫代巴比妥酸法)操作,用 722 分光光度计在 532 nm 处测定每管中硫代巴比妥活性物含量,根据公式计算血浆中脂质过氧化产物丙二醛的含量。

### 1.8 血浆肿瘤坏死因子含量测定

取 100  $\mu$ L 血浆,严格按照试剂盒的要求,采用放射免疫法测定血浆中 TNF- $\alpha$  含量。标记 TNF 和待测样品中的 TNF 竞争性地与特异性的抗 TNF 抗体结合,通过检测反应物中的放射性来反应样品中的 TNF 含量。

### 1.9 统计学方法

所有数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,用 ANOVA 进行统计学处理,组间差异采用 Newman-Keuls 多重比较 *t* 检验,双侧 *P* < 0.05 认为有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 表没食子儿茶素没食子酸酯对血管舒张反应的影响

单次静脉注射 LDL(4 mg/kg) 48 h 后显著降低

大鼠胸主动脉环对乙酰胆碱诱导的血管内皮依赖性舒张反应。10 mg/kg 和 50 mg/kg EGCG 均能显著改善 LDL 对血管内皮舒张功能的抑制作用 ( $P < 0.$

01)。维生素 E (50 mg/kg) 也能明显改善 LDL 对血管内皮依赖性舒张功能的抑制作用 ( $P < 0.01$ ), 见表 1。

表 1. 表没食子儿茶素没食子酸酯对低密度脂蛋白损伤大鼠血管内皮依赖性舒张功能的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

乙酰胆碱浓度 (mol/L)	对照组	LDL 组	低 EGCG 组	高 EGCG 组	维生素 E 组
$3 \times 10^{-9}$	7.33 $\pm$ 1.33	1.98 $\pm$ 1.04	3.77 $\pm$ 1.29	4.58 $\pm$ 1.51	6.19 $\pm$ 2.87
$10^{-8}$	21.91 $\pm$ 3.73	10.35 $\pm$ 2.93	21.35 $\pm$ 3.11	19.11 $\pm$ 4.86	24.39 $\pm$ 6.34
$3 \times 10^{-8}$	43.00 $\pm$ 5.47	25.60 $\pm$ 4.07 <sup>a</sup>	48.54 $\pm$ 3.33 <sup>c</sup>	41.31 $\pm$ 7.22	48.12 $\pm$ 5.37 <sup>c</sup>
$10^{-7}$	65.32 $\pm$ 4.19	45.65 $\pm$ 3.80 <sup>b</sup>	62.37 $\pm$ 4.42 <sup>d</sup>	72.08 $\pm$ 3.60 <sup>d</sup>	76.03 $\pm$ 3.30 <sup>d</sup>
$3 \times 10^{-7}$	79.67 $\pm$ 2.78	53.49 $\pm$ 2.80 <sup>b</sup>	63.29 $\pm$ 6.18 <sup>d</sup>	78.95 $\pm$ 2.63 <sup>d</sup>	87.10 $\pm$ 2.39 <sup>d</sup>
$10^{-6}$	90.03 $\pm$ 1.93	61.92 $\pm$ 2.25 <sup>b</sup>	64.74 $\pm$ 3.43 <sup>d</sup>	69.66 $\pm$ 2.97 <sup>d</sup>	80.72 $\pm$ 3.02 <sup>d</sup>

a 为  $P < 0.05$ , b 为  $P < 0.01$ , 与对照组相比; c 为  $P < 0.05$ , d 为  $P < 0.01$ , 与 LDL 组相比。

## 2.2 血浆非对称性二甲基精氨酸含量

单次静脉注射 LDL (4 mg/kg) 增加血浆中 ADMA 含量 ( $P < 0.01$ )。10 mg/kg 和 50 mg/kg EGCG 显著降低 LDL 所致的 ADMA 含量升高 ( $P < 0.01$ )。50 mg/kg 维生素 E 也明显抑制 LDL 所致的血浆 ADMA 含量升高 ( $P < 0.01$ ), 见表 2。

## 2.3 血浆一氧化氮含量

单次静脉注射 LDL 后血浆 NO 含量降低 ( $P < 0.01$ ), EGCG 和维生素 E 都能减弱 LDL 所致的血浆 NO 含量降低 (表 2)。

## 2.4 血浆丙二醛含量

单次静脉注射 LDL 明显增加血浆中丙二醛含量 ( $P < 0.01$ )。10 mg/kg 和 50 mg/kg EGCG 显著抑制 LDL 所致的血浆丙二醛含量升高 ( $P < 0.05$  和  $P < 0.01$ )。维生素 E 也有类似的效果 (表 2)。

## 2.5 血浆肿瘤坏死因子含量

单次静脉注射 LDL 后血浆中 TNF- $\alpha$  含量明显增加 ( $P < 0.01$ )。10 mg/kg 和 50 mg/kg EGCG 显著抑制 LDL 所致的血浆 TNF- $\alpha$  含量升高。维生素 E 也有类似的效果 (表 2)。

表 2. 表没食子儿茶素没食子酸酯对低密度脂蛋白损伤大鼠血浆中非对称性二甲基精氨酸、一氧化氮、肿瘤坏死因子和丙二醛水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

指 标	对照组	LDL 组	低 EGCG 组	高 EGCG 组	维生素 E 组
ADMA ( $\mu$ mol/L)	0.46 $\pm$ 0.05	0.73 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	0.55 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	0.49 $\pm$ 0.06 <sup>c</sup>	0.49 $\pm$ 0.07 <sup>c</sup>
NO ( $\mu$ mol/L)	54.30 $\pm$ 8.98	33.78 $\pm$ 12.08 <sup>a</sup>	47.87 $\pm$ 12.20 <sup>b</sup>	50.61 $\pm$ 13.11 <sup>b</sup>	47.94 $\pm$ 6.07 <sup>b</sup>
丙二醛 (nmol/L)	3.78 $\pm$ 0.72	6.94 $\pm$ 0.65 <sup>a</sup>	4.86 $\pm$ 0.35 <sup>b</sup>	4.43 $\pm$ 0.16 <sup>c</sup>	4.04 $\pm$ 0.28 <sup>c</sup>
TNF- $\alpha$ (pg/L)	1.78 $\pm$ 0.10	2.35 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	2.06 $\pm$ 0.22	1.88 $\pm$ 0.17 <sup>b</sup>	1.92 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup>

a 为  $P < 0.01$ , 与对照组相比; b 为  $P < 0.05$ , c 为  $P < 0.01$ , 与 LDL 组相比。

## 3 讨论

血管内皮细胞是存在于循环血液与血管平滑肌之间的一层屏障, 对维持血管结构和功能的完整性具有非常重要的作用, 而且可以合成和释放多种活性物质如内皮素和 NO, 参与多种生理和病理生理过程。NO 由一氧化氮合酶 (NO synthase, NOS) 催化 L-精氨酸而来, 而 L-精氨酸同系物如 ADMA 为内源性 NOS 抑制剂, 可与 L-精氨酸竞争性抑制 NOS 活性, 减少 NO 合成。ADMA 在体内以甲基化蛋白为底物, 由甲基化转移酶 (protein arginine methyltrans-

ferase, PRMT) 催化而成, 经二甲基精氨酸二甲胺水解酶 (dimethylarginine dimethylaminohydrolase, DDAH) 代谢失活。动物实验证明, 高胆固醇饲养和高同型半胱氨酸诱发的 As 家兔和猴, 血中内源性 ADMA 浓度显著升高, 并伴血管内皮舒张功能障碍<sup>[46]</sup>。临床研究证明, 在高血压、充血性心力衰竭和 As 等心血管疾病患者血中 ADMA 显著升高, 并伴血管内皮舒张功能障碍<sup>[7,81]</sup>; LDL、氧化型 LDL (oxidized LDL, oxLDL) 或 TNF- $\alpha$  孵育的血管内皮细胞中 ADMA 含量明显升高, 且与 DDAH 活性降低有关<sup>[9]</sup>。这些研究表明内源性 ADMA 含量升高是 As 等心血管疾病血管内皮

功能不全发生的关键原因。在本实验中, 单次舌下静脉注射 LDL 显著降低血管内皮依赖性舒张功能, 同时伴有 ADMA 浓度显著升高, NO 浓度明显降低, 进一步支持内源性 NOS 抑制剂 ADMA 是一种血管内皮功能不全的预测因子。

以前的研究表明氧化张力在 As 发生发展过程起着重要的病理生理作用。高胆固醇饲养诱发的 As 家兔和糖尿病大鼠血中 ADMA 升高的同时伴有丙二醛升高<sup>[4, 10]</sup>; 高同型半胱氨酸血症可使脂质过氧化物和 ADMA 同时升高<sup>[5]</sup>。有文献报道抗氧化药维生素 E、普罗布考、PDTc 都能抑制血中 ADMA 含量的升高并改善血管内皮舒张功能, 这些作用与降低血中脂质过氧化物的生成有关<sup>[4, 11, 12]</sup>。提示脂质过氧化可能是促进 ADMA 升高的一个重要因素。

茶是由山茶科植物芽叶加工制成的, 茶叶富含多酚类化合物, 即茶多酚, 基本结构为  $\alpha$ -苯基苯并吡喃, 占干茶重的 30% ~ 35%, 茶多酚抗氧化作用与其有效化学成份有关, 主要成分为表没食子儿茶素没食子酸酯、表儿茶素没食子酸酯、没食子酰儿茶素和没食子儿茶素等。其中 EGCG 含量最高, 占儿茶素 50%, 它的抗氧化作用最强。国人研究发现 EGCG 通过抑制脂质过氧化反应, 对大鼠缺血再灌注损伤心肌具有显著的保护作用<sup>[12]</sup>。有研究报道儿茶素可以取消溶血卵磷脂胆碱诱导的主动脉内皮细胞损伤, 减少 LDH 的释放, 降低丙二醛水平<sup>[3]</sup>。本试验证实 EGCG 可以明显地抑制在体大鼠 LDL 所致的血管内皮损伤, 且抑制丙二醛和 ADMA 的升高, 说明 EGCG 对内皮的保护作用与其抗氧化作用有关。

研究表明 ox-LDL、氧自由基是内皮炎症因子的潜在诱导物。有文献报道在体大鼠静脉注射 LDL, LDL 快速堆积于血管壁, 6~12 h 被氧化成 ox-LDL, 诱导内皮细胞表面粘附分子 P 选择素、细胞间粘附分子 1 与 TNF- $\alpha$  的表达, 并分泌单核细胞趋化因子, 进一步扩大动脉内膜的炎症反应, 损伤血管内皮功能<sup>[13, 14]</sup>。本研究发现, 外源性 LDL 能引起血管内皮细胞损伤, EGCG 能改善 LDL 所致血管内皮细胞的损伤, 说明儿茶素能保护血管内皮细胞免受 ox-LDL、氧自由基的损伤, 这种保护作用可能是通过降低血中脂质过氧化物丙二醛的含量, 抑制 TNF- $\alpha$  的

表达, 达到稳定 DDAH(含巯基酶)活性, 增加 ADMA 水解, 降低 ADMA 含量, 减少 ADMA 对 NOS 的抑制, 从而促进 NO 生成, 提高 NO 浓度来发挥调节血管张力、抗氧化、抗炎等作用。总之, 本研究表明 EGCG 可明显改善 LDL 损伤的内皮功能, 这种内皮保护机制可能与降低内源性 NOS 抑制物 ADMA 和减少炎症因子 TNF- $\alpha$  的生成有关。

#### [参考文献]

- [1] Cooke JP. Does ADMA cause endothelial dysfunction [J]? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, 20 (9): 2 032-037
- [2] Chan JR, Boger RH, Bode-Boger SM, Tangphao O, Tsao PS, Blaschke TF, et al. Asymmetric dimethylarginine increases mononuclear cell adhesiveness in hypercholesterolemic humans [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, 20 (4): 1 040-046
- [3] 叶希韵, 徐敏华, 王耀发. 儿茶素对溶血卵磷脂胆碱所致细胞损伤的保护作用[J]. 华东师范大学学报(自然科学版), 2001, 3: 97-101
- [4] Xiong Y, Li YJ, Yu XJ, Liu GZ, Li NS. Endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis and lipid peroxidation in hyperlipidemic rabbits [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 1996, 17 (2): 149-152
- [5] Boger RH, Bode-Boger SM, Sydow K, Heistad DD, Lentz SR. Plasma concentration of asymmetric dimethylarginine, an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase, is elevated in monkeys with hyperhomocyst(e) inemia or hypercholesterolemia [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, 20 (6): 1 557-564
- [6] 徐少平, 李鲁光, 唐朝枢, 余燕秋, 沙鸥, 程友琴, 等. 一氧化氮及其合酶在家兔粥样硬化动脉的改变及 L-精氨酸的作用 [J]. 中国动脉硬化杂志, 1999, 7 (3): 197-200
- [7] Surdacki A, Nowicki M, Sandmann J, Tsikas D, Boeger RH, Bode-Boeger SM, et al. Reduced urinary excretion of nitric oxide metabolites and increased plasma levels of asymmetric dimethylarginine in men with essential hypertension [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1999, 33 (4): 652-658
- [8] Saitoh M, Osanai T, Kamada T, Matsunaga T, Ishizaka H, Hanada H, et al. High plasma level of asymmetric dimethylarginine in patients with acutely exacerbated congestive heart failure: role in reduction of plasma nitric oxide level [J]. *Heart Vessels*, 2003, 18 (4): 177-182
- [9] Ito A, Tsao PS, Adimoolam S, Kimoto M, Ogawa T, Cooke JP. Novel mechanism for endothelial dysfunction: dysregulation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase [J]. *Circulation*, 1999, 99 (24): 3 092-095
- [10] 熊燕, 苑利伟, 付云峰, 付四海, 周宏灏. 糖尿病大鼠病程的不同时期血中一氧化氮合酶抑制物含量变化 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2003, 11 (1): 22-26
- [11] Jiang JL, Li NS, Li YJ, Deng HW. Probucol preserves endothelial function by reduction of the endogenous nitric oxide synthase inhibitor level [J]. *Br J Pharmacol*, 2002, 135 (5): 1 175-182
- [12] Boger RH, Sydow K, Borlak J, Thum T, Lenzen H, Schubert B, et al. LDL cholesterol upregulates synthesis of asymmetrical dimethylarginine in human endothelial cells: involvement of S-adenosylmethionine dependent methyltransferases [J]. *Circ Res*, 2000, 87 (2): 99-105
- [13] Calara F, Dimayuga P, Niemann A, Thyberg J, Diczfalusy U, Witztum JL, et al. An animal model to study local oxidation of LDL and its biological effects in the arterial wall [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1998, 18 (6): 884-893
- [14] Niemann Jonsson A, Dimayuga P, Jovinge S, Calara F, Ares MP, Fredrikson GN, et al. Accumulation of LDL in rat arteries is associated with activation of tumor necrosis factor- $\alpha$  expression [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, 20 (10): 2 205-211

(此文编辑 文玉珊)