

• 实验研究 •

[文章编号] 1007-3949(2007)15-09-0666-05

对氧磷对血管内皮细胞的损伤作用及机制探讨

李 鹏^{1,2}, 刘立英¹, 周寿红¹, 吴树金¹

(1. 中南大学药学院, 湖南省长沙市 410078; 2. 新乡医学院药学院, 河南省新乡市 453003)

[关键词] 病理学与病理生理学; 对氧磷; 离体血管环; 内皮依赖性舒张反应; 内皮细胞; 内皮细胞通透性

[摘要] 目的 为探讨有机磷酸酯对血管内皮细胞和血管内皮功能是否有直接的损伤作用。方法 用不同浓度的对氧磷分别与大鼠离体血管环和培养的人脐静脉单层内皮细胞共孵不同的时间, 以乙酰胆碱引起的血管内皮依赖性舒张反应和单层内皮细胞通透性等为观察指标, 检测对氧磷对血管内皮的损伤作用。结果 对氧磷(36.3 nmol/L~36.3 μmol/L)与血管环共孵, 呈浓度和时间依赖性地显著抑制乙酰胆碱诱导的内皮依赖性舒张反应, 而对硝普钠引起的非内皮依赖性舒张反应没有明显的影响。对氧磷与内皮细胞共孵不同的时间, 呈浓度和时间依赖性地显著增加单层内皮细胞的通透性。对氧磷在损伤血管内皮的同时也导致了血管组织及细胞培养液中一氧化氮浓度和超氧化物歧化酶活性的降低、脂质过氧化代谢产物丙二醛浓度的升高。加入左旋精氨酸能部分拮抗对氧磷对血管内皮功能的损伤作用, 用阿托品预处理则不影响对氧磷的作用。结论 该研究提示对氧磷对血管内皮细胞有直接损伤作用, 其机制可能与对氧磷诱发氧化应激, 进而导致脂质过氧化反应发生和增加内皮细胞的通透性有关。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Paraoxon-Induced Injuries of Vascular Endothelial Cell and Exploration of Potential Mechanisms

LI Peng, LIU Li-Ying, ZHOU Shou-Hong, and WU Shu-Jin

(School of Pharmaceutical, Central South University, Changsha 410078, China)

[KEY WORDS] Pathophysiology; Paraoxon; Isolating Aortic Rings; Endothelial Depending Relaxation Response; Human Umbilical Vein Endothelial Cell; Endothelial Monolayer Permeability

[ABSTRACT] **Aim** To explore whether paraoxon, an active component of organophosphate, can directly injure vascular endothelial cells in vitro and to explore the potential mechanisms. **Method** The thoracic aortic rings of healthy sprague-dawley rats and cultured human umbilical vein endothelial cells (hUVEC) were exposed to medium contained different concentrations (36.3 nmol/L~36.3 μmol/L) of paraoxon and co-incubation different time. Both endothelial-dependent and non-dependent relaxation of aortic rings in rats and endothelial monolayer permeability in acetylcholine (ACh)-induced endothelium dependent relaxation (EDR) and increased hUVEC was assayed. **Results** Paraoxon concentration and time-dependently inhibited permeability of the endothelial monolayer in hUVEC. Paraoxon also simultaneously resulted in a reduction of both superoxide dismutase (SOD) activity and nitric oxide (NO) content and an increase of malondialdehyde (MDA) content in both aortic tissues and cultured cellular medium. But sodium nitroprusside-induced endothelium-independent relaxation of aortic rings were not affected by paraoxon. The injurious effects of paraoxon to EDR was partly lessened by added L-arginine, but not done by pretreatment of atropine. **Conclusion** Paraoxon could directly injure vascular endothelium cells and EDR. The mechanisms of endothelial dysfunction induced by paraoxon may relate to trigger oxidative stress and formation of lipid peroxidation by oxidative stress, and the increase of endothelial cell monolayer permeability.

文献[1-4]报道, 对氧磷酶是近年发现的体内重要的具有抗动脉粥样硬化作用的酶, 因具有抗氧化和分解体内氧化产物的作用, 可保护低密度脂蛋白

和高密度脂蛋白避免被氧化修饰; 对氧磷酶同时也有降解脂蛋白中过氧化产物的功能, 从而减少动脉粥样硬化的发生。对氧磷酶同时也是体内分解有机磷酸酯类和内酯化合物的酶。作者近期的研究已经发现, 家兔长期摄入低剂量的有机磷酸酯类农药敌百虫, 可导致其血管内皮功能损伤和组织形态学的改变、并显著性地增加高脂饮食致动脉粥样硬化的作用^[5], 因敌百虫在体内的蓄积可消耗对氧磷酶, 故推测敌百虫产生上述作用的机制之一可能与有机磷酸酯降低体内对氧磷酶的活性有关, 除此之外, 是否

[收稿日期] 2007-03-02 [修回日期] 2007-09-01

[基金项目] 国家自然科学基金(30570754)

[作者简介] 李鹏, 硕士研究生, 助教, 主要研究方向为心血管药理, 联系电话为 13663737650, E-mail 为 hnxxlp@163.com。通讯作者刘立英, 教授, 博士研究生导师, 主要研究方向为心血管药理, 联系电话为 0731-2355077, E-mail 为 liyingliu2004@yahoo.com.cn。周寿红, 博士研究生, 讲师, 主要研究方向为生理学和心血管药理学, E-mail 为 zhoushouhong@126.com。

对血管内皮有直接损伤作用, 尚未见文献报道。本研究旨在探讨有机磷酸酯对血管内皮的直接损伤作用。因大多数的有机磷酸酯类如敌百虫、乐果、敌敌畏、毒死蜱、二嗪农等进入体内后均在肝脏经细胞色素 P450 系统代谢为具有生物活性的对氧磷^[6], 故本研究用有机磷酸酯的活性成分对氧磷作为损伤因子, 探讨其对血管内皮细胞和血管内皮功能的损伤作用, 现将其研究结果予以报道。

1 材料与方法

1.1 材料

对氧磷(Sigma 公司, 美国); 一氧化氮(nitric oxide, NO)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)试剂盒(南京建成生物公司); 其它试剂均为国产分析纯。RM6240B/C 生物信号采集处理系统(成都仪器厂); DY89-1 型电动玻璃匀浆器(宁波新芝科技股份有限公司); 722S 分光光度计(上海精密仪器公司); 雄性 SD 大鼠(180~220 g)(中南大学湘雅医学院实验动物学部); 304 人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cell, hVUECV)株(中南大学细胞中心提供)。

1.2 离体血管环实验

1.2.1 实验设计与分组 实验分为 9 组: 为正常对照组; ④~⑧为对氧磷损伤组: 对氧磷浓度分别为 363 pmol/L、3.63 nmol/L、36.3 nmol/L、363 nmol/L、3.63 μ mol/L 和 36.3 μ mol/L, (t)为阿托品(1 μ mol/L) + 对氧磷(3.63 μ mol/L) 组; ⑨为左旋精氨酸(L-arginine, L-Arg, 3 mmol/L) + 对氧磷(3.63 μ mol/L) 组; 为探讨对氧磷对血管内皮功能的影响与孵育时间长短的关系, 选择 3.63 μ mol/L 浓度与血管环分别孵育 7.5、15、22.5、30、37.5、45 min, 其余浓度与血管环的孵育时间均为 30 min, 孵育后分别检测乙酰胆碱(acetylcholine, Ach)引起的内皮依赖型松弛(endothelium dependent relaxation, EDR)反应和硝普钠(sodium nitroprusside, SNP)引起的非内皮依赖性舒张反应。

1.2.2 离体血管环的制备及血管内皮依赖型舒张功能的检测 取正常大鼠称重, 麻醉后开胸快速取出主动脉置于改良的低温克一亨氏缓冲液中, 并通以 95% O₂ + 5% CO₂ 混合气体。按照文献[7]方法制备血管环并检测 Ach(3 nmol/L~3 μ mol/L)诱导的 EDR 反应和 SNP(0.3 μ mol/L)引起的非内皮依赖性舒张反应。以 Ach 的最大累积浓度(3 μ mol/L)或 0.3 μ mol/L SNP 引起的舒张值与 1 μ mol/L 苯肾上腺

素引起的收缩值之百分比定为最大舒张百分率(E-max)。运用线性回归从量效曲线求出半数有效量(EC₅₀), 即引起最大舒张率的 50% 时所需的 Ach 浓度。

1.3 体外培养的人脐静脉内皮细胞实验

1.3.1 实验分组 为探讨对氧磷对内皮细胞单层通透性的影响, 实验分为 8 组: 为正常对照组; ④阳性组胺(0.1 kg/L)对照组; ④~⑧为对氧磷损伤组: 对氧磷浓度与离体血管环实验相同。每组 8 个滤膜, 为探讨对氧磷对内皮细胞单层通透性的影响与孵育时间长短的关系, 选择 3.63 μ mol/L 浓度对氧磷分别与载有单层内皮细胞的滤膜孵育 7.5、15、22.5、30、37.5、45、52.5 和 60 min, 其余浓度与内皮细胞孵育的时间为 30 min, 孵育后检测内皮细胞单层通透性。

1.3.2 内皮细胞单层通透性的测定^[8] 制备细胞悬液: 取生长良好的培养至第 3 代的 hUVEC, 消化并制备成细胞悬液。④滤膜制备: 将微孔滤膜浸入醋酸(0.5%, 50℃)中 20 min, 用 25℃蒸馏水冲洗两遍, 浸入明胶(0.5 g/L, 50℃)中 60 min, 取出烘干, 经高压蒸汽消毒后备用。④内皮细胞接种: 将制备的滤膜置于直径 30 mm 的六孔细胞培养板中, 用 2% 明胶贴于孔内底面, 置于超净台, 室温下干燥 3~4 h。将计数的第 3 代 hUVEC 接种于滤膜上(接种密度约为 $2 \times 10^5/\text{cm}^2$)。通透性检测: 细胞继续生长 8~10 天, 待滤膜上形成致密的内皮细胞单层后, 按文献方法检测 Jv 值、Kf 值和 σ 值(每组 8 个滤膜)。Jv 表示单位时间内从单位面积内皮细胞单层上滤出的液体量, 间接反映了内皮细胞单层通透性的大小, Jv 值越大, 通透性越高; Kf 是内皮细胞单层通透性的参数, 直接反映内皮细胞单层通透性的大小, Kf 值越大, 通透性越高; σ 值指渗透压反射系数, 反映内皮单层对大分子物质的通透性, σ 值越小, 通透性越高。

1.3.3 血管组织中和细胞培养液中超氧化物歧化酶活性、丙二醛及一氧化氮含量的测定 参照文献[9, 10], 血管组织匀浆的制备: 取长约 4 cm 的血管环, 按上述实验分组, 每组 6 个血管环(分别来自 6 只大鼠), 与不同浓度的对氧磷孵育 30 min 后取出血管环, 滤纸上吸干水分, 称重, 用电动玻璃匀浆器制成 10% 组织匀浆, 匀浆离心(3 kr/min, 10 min)后, 取上清液, 保存于 -20℃冰箱。生化指标测定: 取不同处理组的细胞培养液或血管组织匀浆的上清液 100 μ L, 按试剂盒说明分别检测 SOD 活性、丙二醛及 NO 的含量。

1.4 统计学处理

所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间差异比较用方差分析及 Newmar-Student 多重比较 t 检验分析,由 SPSS 11.5 统计软件完成,双侧 $P < 0.05$ 认为差异有显著性。

2 结果

2.1 对氧磷对血管内皮依赖性舒张反应的影响

如表 1 所示,离体血管环与含不同处理成分的克一亨氏液孵育 30 min 后,对氧磷(0.00363 ~ 3.63 $\mu\text{mol/L}$) 浓度依赖性地导致了 Ach 诱导的 EDR 反应和 E_{max} 显著降低,而 EC_{50} 则显著升高。除 363 pmol/L 和 3.63 nmol/L 组外,其余各组与正常对照组比较差异均有显著性($P < 0.01$)。左旋精氨酸可部分减弱对氧磷对血管内皮功能的损伤作用,其 E_{max} 和 EC_{50} 与正常对照组比较,差异无显著性($P > 0.05$; 表 1),与单独对氧磷(3.63 $\mu\text{mol/L}$) 组比较,差异有显著性($P < 0.05$),阿托品不能抑制对氧磷的损伤作用,其 E_{max} 和 EC_{50} 与正常对照组比较,与单独对氧磷(3.63 $\mu\text{mol/L}$) 组比较,差异无显著性($P > 0.05$)。

表 1. 对氧磷对血管内皮依赖性舒张反应的影响 ($n = 6$)

分 组	Ach E_{max}	Ach EC_{50} ($\mu\text{mol/L}$)
正常对照组	95.65% \pm 3.95%	0.28 \pm 0.12
阿托品+ 对氧磷组	50.69% \pm 5.32% ^a	2.09 \pm 0.34 ^a
左旋精氨酸+ 对氧磷组	79.77% \pm 9.54% ^c	0.32 \pm 0.11 ^c
对氧磷浓度		
363 pmol/L	93.22% \pm 0.97%	0.48 \pm 0.12
3.63 nmol/L	91.62% \pm 1.96%	0.79 \pm 0.33 ^b
36.3 nmol/L	79.49% \pm 5.49% ^a	1.14 \pm 0.27 ^a
363 nmol/L	68.66% \pm 8.15% ^a	1.49 \pm 0.47 ^a
3.63 $\mu\text{mol/L}$	52.88% \pm 8.81% ^a	2.50 \pm 0.58 ^a
36.3 $\mu\text{mol/L}$	10.06% \pm 2.67% ^a	7.29 \pm 2.19 ^a

a 为 $P < 0.01$, 与正常对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与正常对照组比较; c 为 $P < 0.05$, 与 3.63 ($\mu\text{mol/L}$) 对氧磷组比较。

2.2 对氧磷对血管内皮依赖性松弛反应的抑制作用与孵育时间的关系

3.63 $\mu\text{mol/L}$ 的对氧磷分别与血管环孵育不同的时间,对氧磷对离体血管 EDR 的抑制作用随时间的延长而加重,呈明显的时效关系,7.5 min 组分别与 22.5 ~ 45 min 各组比较,其差异均有显著性($P < 0.01$; 表 2)。

表 2. 对氧磷对乙酰胆碱诱导的大鼠离体胸主动脉环内皮依赖性松弛反应抑制作用的时效的关系 ($n = 6$)

孵育时间(min)	Ach E_{max}
7.5	76.71% \pm 4.20%
15	68.70% \pm 1.32%
22.5	58.82% \pm 3.39% ^a
30	53.79% \pm 2.41% ^a
37.5	51.41% \pm 2.71% ^a
45	53.18% \pm 5.30% ^a

a 为 $P < 0.01$, 与正常对照组比较。

2.3 对氧磷对硝普钠引起的非内皮依赖性舒张反应的影响

离体血管环分别与含不同浓度的对氧磷或含其它处理成分的基质共同孵育 30 min 后,分别检测 SNP(0.3 $\mu\text{mol/L}$) 引起的非内皮依赖性舒张反应,结果显示,正常对照、阿托品加对氧磷组、左旋精氨酸加对氧磷组, Ach E_{max} 分别为 96.67% \pm 7.11%, 96.33% \pm 5.35%, 95.32% \pm 8.97%, 与正常对照组比较,差异无显著性;单独的对氧磷(从 363 pmol/L ~ 36.3 $\mu\text{mol/L}$ 浓度)处理组, Ach E_{max} 波动于 93.22% \pm 6.91% 和 96.12% \pm 6.49% 之间,经统计学处理,与正常对照组比较,差异无显著性;各组之间的差异也无显著性。

2.4 对氧磷对血管组织和细胞培养液中超氧化物歧化酶活性、丙二醛和一氧化氮的含量的影响

取制备好的 10% 血管组织匀浆的上清液和细胞培养液,按照试剂盒说明检测其 SOD 活性、丙二醛及 NO 的含量。对氧磷导致了血管组织和细胞培养液中丙二醛含量显著性升高, SOD 活性和 NO 含量显著降低,丙二醛含量除 363 pmol/L 对氧磷组外,其余各组与正常对照组比较差异均有显著性($P < 0.05$); SOD 活性除 363 pmol/L 和 3.63 nmol/L 对氧磷组外,其余各组与正常对照组比较差异均有显著性($P < 0.01$); NO 含量除 363 pmol/L 对氧磷组外,其余各组与正常对照组比较差异均有显著性($P < 0.05$)。阿托品不能拮抗对氧磷对血管组织中生化参数的影响,其丙二醛、SOD 和 NO 的浓度与正常对照组比,差异有显著性($P < 0.01$)。左旋精氨酸能部分保护对氧磷对血管组织中生化参数的影响,左旋精氨酸加对氧磷(36.3 $\mu\text{mol/L}$) 组,丙二醛、NO 的浓度和 SOD 活性与单独的对氧磷(36.3 $\mu\text{mol/L}$) 组比,差异有显著性($P < 0.01$)。在培养的内皮细胞,组胺对生化参数也有明显影响,丙二醛、NO 的浓度和 SOD 活性与正常对照组比较,差异有显著性($P <$

0.01; 表 3)。

表 3. 对氧磷对大鼠血管组织和细胞培养液中生物化学参数的影响($n = 6$)

对氧磷浓度	丙二醛血管组织 [$\mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{P})$]	细胞培养液 ($\mu\text{mol}/\text{L}$)	SOD 血管组织 [$\text{kU}/(\text{g} \cdot \text{P})$]	细胞培养液 (kU/L)	NO 血管组织 [$\mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{P})$]	细胞培养液 ($\mu\text{mol}/\text{L}$)
0 (正常对照)	4.65 \pm 0.29	2.18 \pm 0.16 ^a	49.48 \pm 6.99	43.05 \pm 1.70 ^a	6.07 \pm 0.99	16.05 \pm 0.19 ^a
363 $\mu\text{mol}/\text{L}$	1.30 \pm 0.13	7.54 \pm 0.19 ^a	55.13 \pm 0.81	30.66 \pm 3.17 ^a	20.57 \pm 0.44	2.54 \pm 0.54 ^a
3.63 nmol/L	4.42 \pm 0.34	2.67 \pm 0.25 ^a	48.76 \pm 4.91	34.21 \pm 2.50 ^a	5.36 \pm 0.44	13.74 \pm 0.12 ^a
36.3 nmol/L	1.56 \pm 0.10	7.80 \pm 0.28 ^a	54.44 \pm 0.29	21.90 \pm 2.32 ^a	20.57 \pm 0.55	2.26 \pm 0.44 ^a
363 nmol/L	5.04 \pm 0.26 ^b	3.01 \pm 0.18 ^a	47.19 \pm 4.37	18.49 \pm 0.81 ^a	4.66 \pm 0.46 ^b	7.78 \pm 0.33 ^a
3.63 $\mu\text{mol}/\text{L}$	1.95 \pm 0.39 ^a	9.62 \pm 0.17 ^a	53.68 \pm 0.53	20.79 \pm 2.23 ^a	19.78 \pm 0.67 ^a	1.27 \pm 0.46 ^a
36.3 $\mu\text{mol}/\text{L}$	6.23 \pm 0.37 ^a	3.50 \pm 0.59 ^a	36.51 \pm 4.16 ^a	10.27 \pm 1.59 ^a	4.50 \pm 0.46 ^a	1.87 \pm 0.39 ^a

a 为 $P < 0.01$, 与正常对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与正常对照组比较; c 为 $P < 0.05$, 与 3.63 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 对氧磷组比较。组织中生化参数以每克蛋白为单位计算, P 代表蛋白。

2.5 对氧磷对内皮细胞单层通透性的影响

组胺和对氧磷均引起了 J_v 值和 K_f 值的增加, σ 值的降低, 与正常对照组比较, 差异存在显著性($P < 0.01$); 对氧磷从 3.63 nmol/L 浓度开始, J_v 值和 K_f 值随对氧磷的浓度的上升而增加, σ 值随浓度的上升而降低, 呈明显的剂量依赖性, 与正常对照组比较, 差异有显著性($P < 0.01$; 表 4)。其中 3.63 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 浓度的对氧磷的作用与组胺(100 g/L) 的作用相接近。

表 4. 对氧磷对内皮细胞单层通透性的影响($n = 8$)

分 组	J_v [$\mu\text{L}/$ $\text{min} \cdot \text{cm}^2$)	K_f [$\mu\text{L}/(\text{min} \cdot$ $\text{cm}^2, \text{kPa})$]	σ
正常对照组	28.09 \pm 1.45	11.77 \pm 0.60	0.58 \pm 0.02
组胺阳性对照	38.96 \pm 0.21 ^a	16.00 \pm 0.09 ^a	0.28 \pm 0.01 ^a
对氧磷浓度			
363 $\mu\text{mol}/\text{L}$	27.93 \pm 1.64	11.74 \pm 0.66	0.61 \pm 0.06
3.63 nmol/L	30.39 \pm 1.63	12.67 \pm 0.71	0.51 \pm 0.07
36.3 nmol/L	33.82 \pm 2.09 ^a	14.00 \pm 0.86 ^a	0.41 \pm 0.03 ^a
363 nmol/L	37.31 \pm 1.41 ^a	15.39 \pm 0.52 ^a	0.35 \pm 0.05 ^a
3.63 $\mu\text{mol}/\text{L}$	40.55 \pm 1.44 ^a	16.60 \pm 0.59 ^a	0.19 \pm 0.03 ^a
36.3 $\mu\text{mol}/\text{L}$	60.30 \pm 5.34 ^a	25.05 \pm 2.13 ^a	-0.39 \pm 0.29 ^a

a 为 $P < 0.01$, 与正常对照组比较。

2.6 对氧磷对内皮细胞单层通透性的损伤作用与孵育时间的关系

3.63 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 的对氧磷分别与内皮细胞孵育不同的时间, J_v 值和 K_f 值随孵育时间的延长逐渐升高, 而 σ 值随孵育时间的延长而逐渐降低, 在 30 min 范围内呈现明显的时效关系(表 5)。

表 5. 对氧磷对培养的内皮细胞单层通透性的损伤作用的时效关系

孵育时间(min)	J_v [$\mu\text{L}/$ $\text{min} \cdot \text{cm}^2$)	K_f [$\mu\text{L}/(\text{min} \cdot$ $\text{cm}^2, \text{kPa})$]	σ
7.5	32.27 \pm 1.31	13.23 \pm 0.55	0.29 \pm 0.32
15	35.22 \pm 1.84 ^a	14.44 \pm 0.75 ^a	0.24 \pm 0.36 ^a
22.5	38.86 \pm 1.13 ^a	15.91 \pm 0.50 ^a	0.22 \pm 0.03 ^a
30	40.09 \pm 1.08 ^a	16.43 \pm 0.44 ^a	0.22 \pm 0.07 ^a
37.5	41.26 \pm 0.84 ^a	16.91 \pm 0.36 ^a	0.18 \pm 0.05 ^a
45	41.78 \pm 1.96 ^a	17.09 \pm 0.80 ^a	0.13 \pm 0.09 ^a
52.5	42.03 \pm 0.49 ^a	17.17 \pm 0.20 ^a	0.12 \pm 0.02 ^a
60	42.18 \pm 1.94 ^a	17.20 \pm 0.85 ^a	0.10 \pm 0.08 ^a

a 为 $P < 0.01$, 与正常对照组比较。

3 讨 论

本研究在大鼠和培养的 hUVEC 证明了对氧磷可直接损伤离体血管的内皮舒张功能、增加内皮细胞的通透性、降低血管组织和细胞培养液中的 NO 浓度和 SOD 活性、升高丙二醛的浓度。在离体血管实验中发现对氧磷对血管内皮功能的损伤作用表现为浓度和时间依赖性地降低血管 EDR 反应, 但对硝普钠引起的非内皮依赖性舒张反应没有明显的影响。增加合成 NO 的前体物 L 左旋精氨酸可以部分对抗对氧磷抑制 EDR 反应的作用。说明对氧磷对血管内皮 EDR 反应的抑制作用可能主要不是通过抑制 NO 合成酶, 而是干扰了内皮细胞释放 NO 的过程, 但具体的机制有待进一步的探讨。在血管内皮存在有非神经的胆碱能系统, 有胆碱乙酰基转移酶和胆碱酯酶的存在^[11]。对氧磷为有机磷酸酯类的活性成分, 体外给药可通过抑制胆碱酯酶而导致乙酰胆碱浓度的升高, 为了查明对氧磷对血管 EDR 的

抑制作用是否与增加血管组织中的乙酰胆碱浓度而增加 M 受体的活化有关,作者观察了阿托品对对氧磷损伤血管 EDR 的影响,结果显示,阿托品与血管环预孵不能对抗对氧磷对血管 EDR 的抑制作用,说明对氧磷对血管环 EDR 的抑制作用与 M 受体无关。

为了进一步探讨对氧磷抑制血管 EDR 反应的机制,作者在培养的 hUVEC 观察了对氧磷对血管内皮细胞通透性的影响。结果表明,对氧磷浓度和时间依赖性地增加了内皮细胞的通透性。组胺是一个公认的能增加血管内皮细胞通透性的药物,为检验本实验方法的可行性,在本实验中以组胺(100 g/L)为阳性对照,对比观察了组胺和对氧磷对内皮细胞通透性的影响。结果显示 100 g/L 组胺显著增加了内皮细胞的通透性,3.63 μ mol/L 对氧磷的作用与 100 g/L 组胺的作用相当。

血管内皮功能的损伤是动脉粥样硬化形成的起始因素,文献报道,机体长期暴露于有机磷酸酯类农药可导致动脉粥样硬化的发生^[12,13],作者近期的研究已经证明,给家兔灌胃低剂量的敌百虫可显著性抑制血管 EDR 反应,增加高脂血症动物的致动脉粥样硬化作用^[4],本研究进一步发现有机磷酸酯对血管内皮有直接损伤作用,说明有机磷酸酯的致动脉粥样硬化作用除了与抑制对氧磷酶有关外,也与对氧磷直接损伤血管内皮细胞有关。

本研究证明对氧磷在损伤血管内皮功能的同时也抑制了 SOD 的活性,增加了脂质过氧化代谢产物丙二醛的水平,故推测其损伤血管功能的作用与触发氧化应激和引起脂质过氧化反应,继而导致内皮细胞损伤和通透性增加有关。但其精确的机制仍有待进一步的研究。

有机磷酸酯类农药是农业生产中常用的杀虫剂,有关农药污染对人体的危害人们比较重视其抑制胆碱酯酶,引起急性中毒的一面,但对长期接触或

长期摄入低量农药(如污染的食品)而引起的心血管疾病则很少注意。该研究结果提示,对有机磷农药的危害,除了要防止急性中毒外,也要防止长期摄入低剂量农药而导致心血管疾病的危险性。

[参考文献]

- [1] Ikeda Y, Suehiro T, Itahara T, Inui Y, Chikazawa H, Inoue M, et al. Human serum paraoxonase concentration predicts cardiovascular mortality in hemodialysis patients [J]. *Clin Nephrol*, 2007, **67** (6): 358-365.
- [2] Tartan Z, Orhan C, Kuskioglu H, Uyarel H, Unal S, Ozer N, et al. The role of paraoxonase (PON) enzyme in the extent and severity of the coronary artery disease in type 2 diabetic patients [J]. *Heart Vessels*, 2007, **22** (3): 158-164.
- [3] Gullulu M, Kahvecioglu S, Dirican M, Akdag I, Ocak N, Demircan C, et al. Paraoxonase activity in glomerulonephritic patients [J]. *Ren Fail*, 2007, **29** (4): 433-439.
- [4] 于碧莲,赵水平. 对氧磷酶 1 与动脉粥样硬化的研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2005, **13** (5): 655-658.
- [5] 胡敏,刘立英,熊小明,钟才高,陈双秀,吴晋湘. 敌百虫促高脂饮食致兔动脉粥样硬化作用研究[J]. *中国药理学通报*, 2006, **22** (4): 510-511.
- [6] Furlong CE, Li WF, Richter RJ, Shih DM, Lusa AJ, Alleve E, et al. Genetic and temporal determinants of pesticide sensitivity: role of paraoxonase (PON1) [J]. *Neurotoxicology*, 2000, **21** (1-2): 91-100.
- [7] 伍海涛,熊小明,王双喜,吴晋湘,刘立英. 银杏叶提取物对高脂饮食所致血管内皮功能损伤的保护及对对氧磷酶活性的关系[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2004, **12** (1): 410-414.
- [8] 丁自强,李少华. 内皮细胞骨架在血管通透性调节中的作用[J]. *生理科学进展*, 1991, **22** (3): 212-215.
- [9] Wang SX, Xiong XM, Song T, Liu LY. Protective effects of cariporide on endothelial dysfunction induced by high glucose [J]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2005, **26** (3): 329-333.
- [10] Wang SX, Liu LY, Hu M, Liu YH. Na^+/H^+ exchanger inhibitor prevented endothelial dysfunction induced by high glucose [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2005, **45**: 586-590.
- [11] Kirkpatrick CJ, Bittiger F, Unger RE, Kriegsmann J, Kilbinger H, Wessler I. The nonneuronal cholinergic system in the endothelium: evidence and possible pathobiological significance [J]. *Jpn J Pharmacol*, 2001, **85** (1): 24-28.
- [12] Dantoine T, Debord J, Merle L, Charnes JP. From organophosphate compound toxicity to atherosclerosis: role of paraoxonase 1 [J]. *Rev Med Interne*, 2003, **24** (7): 436-442.
- [13] Deakin SP, James RW. Genetic and environmental factors modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase-1 [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2004, **107** (5): 435-447.

(此文编辑 李玲玲)