

## • 实验研究 •

[文章编号] 1007-3949(2009)17-09-0714-05

## 对乙酰氨基酚对过氧化氢诱导的人脐静脉内皮细胞损伤的保护作用

蒲丽娟, 刘 义

(辽宁医学院药理学教研室, 辽宁省锦州市 121000)

[关键词] 对乙酰氨基酚; 人脐静脉内皮细胞; 过氧化氢; 氧化损伤; 细胞凋亡

[摘要] 目的 探讨对乙酰氨基酚对体外过氧化氢诱导人脐静脉内皮细胞损伤及凋亡的保护作用及机制。方法 用体外培养的人脐静脉内皮细胞株传代后进行实验,分为正常对照组、过氧化氢损伤组( $0.1\text{ mmol/L}$ )、药物处理加对乙酰氨基酚低浓度( $25\text{ }\mu\text{mol/L}$ )、中浓度( $50\text{ }\mu\text{mol/L}$ )和高浓度( $100\text{ }\mu\text{mol/L}$ )预处理1 h组。用噻唑蓝比色法检测内皮细胞活力,用试剂盒检测丙二醛含量和超氧化物歧化酶活性,用蛋白免疫印迹法检测Caspase-3的表达,用流式细胞仪分析细胞凋亡率。结果 与正常对照组比较,过氧化氢能明显造成内皮细胞损伤( $P < 0.05$ ),表现为细胞活力降低,丙二醛含量增加,超氧化物歧化酶活性下降,Caspase-3表达增加,细胞凋亡率增加。对乙酰氨基酚可干扰过氧化氢对内皮细胞的损伤作用,使内皮细胞活力增加,丙二醛含量减少,超氧化物歧化酶活性升高,Caspase-3表达降低,细胞凋亡率减少( $P < 0.05$ )。结论 对乙酰氨基酚可降低过氧化氢对人脐静脉内皮细胞的损伤作用,抑制过氧化氢引起的内皮细胞凋亡,其保护作用可能与抗氧化及抑制Caspase-3有关。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

## Protective Effect of Acetaminophen on Human Umbilical Vein Endothelial Cells Induced by Hydrogen Peroxide

PU Lijuan, and LIU Yi

(Department of Pharmacology, Liaoning Medical College, Jinzhou 121000, China)

[KEY WORDS] Acetaminophen; Human Umbilical Vein Endothelial Cells; Hydrogen Peroxide; Oxidative Damage; Cell Apoptosis

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the protective effect of acetaminophen on the injury of human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) induced by hydrogen peroxide in vitro and to explore its underlying mechanism. **Methods** The HUVEC line was subcultured in vitro and used for experiment. This study was conducted as follows: normal control group, hydrogen peroxide ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )-injury group ( $0.1\text{ mmol/L}$ ), acetaminophen protective group ( $25\text{ }\mu\text{mol/L}$ ,  $50\text{ }\mu\text{mol/L}$  and  $100\text{ }\mu\text{mol/L}$ ) was pretreated for 1 hour. The cell viability was measured by MTT assay. The content of malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) was determined by kit. The expression of apoptosis-related protein caspase-3 was determined by Western blotting. Apoptosis of the cells was analyzed by flow cytometry. **Results** Compared with normal control group,  $\text{H}_2\text{O}_2$  can obviously damage vascular endothelial cells ( $P < 0.05$ ). It shows as the decrease of viability of HUVEC, the increase of the content of MDA, the decrease of SOD activity, the increase of caspase-3 expression and apoptosis rate. Acetaminophen can disturb the damage of  $\text{H}_2\text{O}_2$ -induced endothelial cells. It can increase viability of HUVEC, decrease the content of MDA, increase SOD activity, decrease caspase-3 expression and apoptosis rate. The effect of acetaminophen showed a dose-dependent manner ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** The results show that acetaminophen can decrease the damage of cultured vascular endothelial cells injured by  $\text{H}_2\text{O}_2$ . It also can inhibit the apoptosis of vascular endothelial cells induced by  $\text{H}_2\text{O}_2$ . The protective effect of acetaminophen may relate with antioxidant and inhibiting pro-apoptotic protein caspase-3.

血管内皮细胞作为血流和血管壁之间的屏障,在维持心血管内环境稳定中起重要作用。氧化应激和活性氧簇被认为是内皮细胞损伤和心血管疾病发

生发展的关键致病因子<sup>[1,2]</sup>。过氧化氢为活性氧的一种,研究证明高浓度的过氧化氢能够引起内皮细胞裂解死亡,而较低浓度过氧化氢可诱导内皮细胞凋亡,提高内皮细胞凋亡率。对乙酰氨基酚(acetaminophen, APAP)作为一种古老的非甾体抗炎药,一直以来人们对它的关注都集中在其解热镇痛方面,对于其它器官和系统的研究知之甚少。最近几年有研究表明,APAP在缺血再灌注、缺氧复氧损伤

[收稿日期] 2009-06-05 [修回日期] 2009-09-04

[作者简介] 蒲丽娟, E-mail为 gkyw17722@163.com。通讯作者刘义,教授,硕士研究生导师,研究方向为心血管药理学, E-mail为 Jy-liuy@163.com。

离体和在体动物模型中减少过氧化亚硝酸盐含量,改善心室功能<sup>[3-6]</sup>,并且减少脂蛋白的氧化<sup>[7]</sup>。还有实验证明 APAP 减少线粒体膜通透性转运孔 (mitochondrial permeability transition pore, MPTP) 的开放和保护线粒体<sup>[8-9]</sup>,而且 APAP 是苯酚类<sup>[10]</sup>,许多酚类都具有抗氧化的性质<sup>[11]</sup>。它有一个类似酪氨酸的结构(酚的),这种结构类似于维生素 E,是氧化剂损伤的清除剂或中和剂。目前对于它的研究主要集中于在体和离体动物模型上,而对于内皮细胞方面的研究未见报道,本研究采用体外过氧化氢诱导人脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cells, HUVEC) 损伤,建立 HUVEC 过氧化氢 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 损伤模型,观察 APAP 对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 损伤的 HUVEC 的保护作用,并探讨其可能机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 主要仪器与试剂

噻唑蓝 (MTT) 和 APAP (Sigma 公司); HUVEC (北京大学医学部解剖实验室); 低糖型 DMEM 培养基 (Gibco 公司); 新生牛血清 (杭州四季青生物技术有限公司); 丙二醛和超氧化物歧化酶 (SOD) 检测试剂盒 (南京建成生物工程研究所); 细胞凋亡检测试剂盒 PI-AV (北京宝赛试剂生物技术有限公司); 兔抗人 Caspase-3 抗体 (北京中杉金桥生物技术有限公司); 培养板 (Becton 公司)。XD-101 型倒置显微镜 (南京江南光电集团股份有限公司); 800 型离心沉淀器 (上海手术器械厂); 全自动生化分析仪 (BECMAN CX5PRO); 恒温水浴振荡器和 SYZ-550 型石英亚沸高纯水蒸馏器 (江苏金坛中大仪器厂); DG3022A 型酶标仪 (南京东华电子集团); 751 分光光度计 (四川仪表九厂); 流式细胞仪 (美国 Coulter E lite ESP 型流式); 二氧化碳孵箱 (USA)。

### 1.2 细胞传代培养及分组

将冻存的 HUVEC 复苏后,用含 15% 新生牛血清的低血糖型 DMEM 培养基 (含 100 u/L 链霉素和 100 u/L 青霉素) 培养,在 37℃、5% CO<sub>2</sub> 孵箱中培养。当细胞生长汇合成单层时,用 0.25% 胰蛋白酶加 0.02% EDTA (1:1) 消化收集细胞,均匀接种于 24 孔或 96 孔培养板中,每 2~3 天换一次液,直至细胞达到汇合状态。每次实验前,待细胞长到汇合状态时,进行台盼蓝染色,保证活细胞数占细胞总数的 90% 以上,然后进行实验分组,在实验因素干扰前,将细胞用低糖 DMEM 培养基加 1% 新生牛血清预处理 24 h 达到同步化。APAP 用三蒸水溶解,配

成贮存液,实验前稀释成相应浓度。实验分为五组:正常对照组 (不加任何药物)、过氧化氢 (0.1 mmol/L) 损伤组、25 μmol/L APAP 组、50 μmol/L APAP 组和 100 μmol/L APAP 组。损伤组是在经更换 1% 胎牛血清的 DMEM 培养液培养 24 h 后,加入终浓度为 0.1 mmol/L 过氧化氢继续作用 24 h 各保护组加入不同终浓度的 APAP 预处理 1 h 再进行损伤组相同处理。

### 1.3 噻唑蓝比色法测定细胞活力

细胞以  $1 \times 10^4$  /孔接种于 96 孔板,分组及处理如上所述。经不同的条件培养基处理 24 h 后,每个孔加入 20 μL MTT (5 g/L),37℃ 孵育 4 h 弃去培养液,每孔加入二甲基亚砷 (DMSO) 150 μL 来溶解结晶物,振荡 10 min 后,用酶标仪于 570 nm 检测每孔的光密度 (OD) 值。每组重复 6 个孔。

### 1.4 超氧化物歧化酶活性和丙二醛含量测定

用 0.25% 胰蛋白酶消化收集细胞,计数并调整细胞数达  $1 \times 10^5$  /孔以上接种于 24 孔培养板,分组及处理方法同上,终止培养后,超声波打碎细胞根据试剂盒说明加入检测试剂,用 751 分光光度计测定 OD 值,考马斯亮蓝法测蛋白含量,分别计算各组 SOD 活性和丙二醛含量。SOD 活性采用黄嘌呤/黄嘌呤氧化酶法测定。丙二醛采用硫代巴比妥酸显色法测定。

### 1.5 蛋白免疫印迹法检测 Caspase-3 的表达

传代培养的内皮细胞经各种不同的条件培养基处理 24 h 后,用细胞刮刀刮下细胞,用冷 PBS 冲洗 2 遍,离心,弃上清,将内皮细胞保存于 -70℃ 冰箱中备用。测定指标时,取出样品,每份样品取样 20 μg SDS-聚丙烯酰胺恒压电泳,电泳前对样本进行缓慢变性处理,电泳时,浓缩胶恒压 80 V,分离胶 120 V,电泳后将 PAGE 凝胶中的蛋白质转移至硝酸纤维素膜上,取出后将膜放入 3% BSA 阻断缓冲液中,4℃ 封闭过夜。用 TBS 漂洗后,将膜按 0.1 mL/cm<sup>2</sup> 加入一抗 (抗体 1:500 稀释) 杂交,4℃ 过夜。TTBS 冲洗后,加入二抗 (1:500 稀释),室温下摇床杂交 1 h,漂洗后加入显色剂 5 min,放射显影。利用凝胶自动分析成像软件 Chem image 550Q 以 β-actin 为内参照,对蛋白带进行分析。

### 1.6 流式细胞仪检测细胞凋亡率

在细胞凋亡的早期,由于细胞膜失去对称性,使磷脂丝氨酸 (PS) 从细胞膜的内侧暴露于细胞膜外。Annexin V-FITC 是一种标记有荧光素的钙依赖性磷脂结合蛋白,与 PS 有很强的亲和力,可特异地与 PS 结合,但细胞仍保持膜完整性,可更加灵敏地检测出

早期凋亡细胞。将细胞接种于 6 孔培养板, 用 0.25% 胰蛋白酶消化收集经各种处理因素作用后的细胞, 用冷 PBS 洗 2 次, 调整细胞密度为  $1 \times 10^5/L$ , 按照试剂盒说明书进行 PI/AV 染色, 分别加入 10  $\mu L$  Annexin V-FITC 和 5  $\mu L$  PI 避光染色 30 min, 立即上机检测凋亡及死亡细胞数目。

### 1.7 统计学方法

实验数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用方差分析及 LSD-t 检验进行统计学处理。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 对乙酰氨基酚对过氧化氢诱导的人脐静脉内皮细胞活力的影响

与正常对照组相比, 过氧化氢损伤组细胞活力明显降低 ( $P < 0.01$ ), APAP 各剂量组细胞活力比过氧化氢损伤组明显升高 ( $P < 0.01$ ), 并随着 APAP 浓度的增加细胞活力也增加 (表 1)。

表 1 APAP 对过氧化氢诱导的人脐静脉内皮细胞活力的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

分 组	OD 值
正常对照组	$0.773 \pm 0.021$
过氧化氢损伤组	$0.375 \pm 0.048^a$
低剂量 APAP 组	$0.442 \pm 0.042^b$
中剂量 APAP 组	$0.618 \pm 0.040^b$
高剂量 APAP 组	$0.708 \pm 0.038^b$

a 为  $P < 0.01$ , 与正常对照组相比; b 为  $P < 0.01$ , 与过氧化氢损伤组相比。

### 2.2 对乙酰氨基酚对过氧化氢诱导的人脐静脉内皮细胞超氧化物歧化酶活性的影响

过氧化氢损伤组内皮细胞 SOD 活性比正常对照组明显降低 ( $P < 0.01$ ); APAP 各剂量组内皮细胞 SOD 活性与过氧化氢损伤组相比均有增加 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  或), 且随着 APAP 剂量增加作用越明显 (表 2)。

### 2.3 对乙酰氨基酚对过氧化氢诱导的人脐静脉内皮细胞丙二醛含量的影响

过氧化氢损伤组丙二醛含量明显高于正常对照组 ( $P < 0.01$ ); 与过氧化氢损伤组相比, APAP 各剂量组丙二醛含量明显降低 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 且随着 APAP 剂量增加丙二醛含量逐渐降低 (表 2)。

表 2 APAP 对过氧化氢诱导的人脐静脉内皮细胞超氧化物歧化酶活性和丙二醛含量的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

分 组	SOD 活性 ( $u/mg$ )	丙二醛含量 ( $nmol/mg$ )
正常对照组	$121.31 \pm 9.14$	$1.48 \pm 0.21$
过氧化氢损伤组	$52.99 \pm 4.32^a$	$3.09 \pm 0.47^a$
低剂量 APAP 组	$61.74 \pm 4.34^b$	$2.68 \pm 0.37^b$
中剂量 APAP 组	$75.85 \pm 8.45^c$	$1.87 \pm 0.22^c$
高剂量 APAP 组	$93.43 \pm 7.01^c$	$1.60 \pm 0.17^c$

a 为  $P < 0.01$ , 与正常对照组相比; b 为  $P < 0.05$ , c 为  $P < 0.01$ , 与过氧化氢损伤组相比。

### 2.4 对乙酰氨基酚对过氧化氢诱导的人脐静脉内皮细胞 Caspase-3 表达的影响

与正常对照组相比, 过氧化氢损伤组 Caspase-3 表达明显增加 ( $P < 0.01$ ); 与过氧化氢损伤组相比, APAP 各剂量组 Caspase-3 表达降低 ( $P < 0.01$ ), 且随着 APAP 剂量增加降低越明显 (图 1 和表 3)。

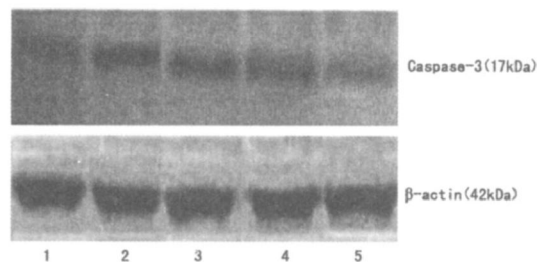


图 1 APAP 对过氧化氢诱导的人脐静脉内皮细胞 Caspase-3 表达的影响 1 为正常对照组, 2 为过氧化氢损伤组, 3 为 25  $\mu mol/L$  APAP 组, 4 为 50  $\mu mol/L$  APAP 组, 5 为 100  $\mu mol/L$  APAP 组。

表 3 APAP 对过氧化氢诱导的人脐静脉内皮细胞 Caspase-3 表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

分 组	Caspase-3 相对表达量
正常对照组	$0.077 \pm 0.012$
过氧化氢损伤组	$0.345 \pm 0.082^a$
低剂量 APAP 组	$0.249 \pm 0.059^b$
中剂量 APAP 组	$0.188 \pm 0.015^c$
高剂量 APAP 组	$0.114 \pm 0.017^c$

a 为  $P < 0.01$ , 与正常对照组相比; b 为  $P < 0.05$ , c 为  $P < 0.01$ , 与过氧化氢损伤组相比。

### 2.5 对乙酰氨基酚对过氧化氢诱导的人脐静脉内皮细胞凋亡率的影响

与正常对照组相比, 过氧化氢损伤组细胞凋亡率明显增加 ( $P < 0.01$ ); 与过氧化氢损伤组相比,

APAP各剂量组细胞凋亡率明显降低 ( $P < 0.05$ 或  $P < 0.01$ ), 且随着 APAP 剂量的增加凋亡率降低越明显 (图 2和表 4)。

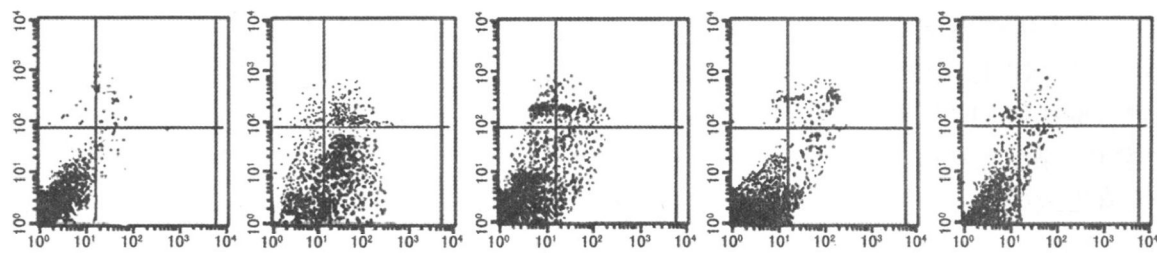


图 2 APAP对过氧化氢诱导的内皮细胞凋亡率的影响 从左至右分别为正常对照组、过氧化氢损伤组、25  $\mu\text{mol/L}$  APAP组、50  $\mu\text{mol/L}$  APAP组和 100  $\mu\text{mol/L}$  APAP组。

表 4 APAP对过氧化氢诱导的人脐静脉内皮细胞凋亡率的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

分组	凋亡率
正常对照组	6.05% $\pm$ 1.09%
过氧化氢损伤组	30.03% $\pm$ 1.94% <sup>a</sup>
低剂量 APAP组	27.76% $\pm$ 1.98% <sup>b</sup>
中剂量 APAP组	18.96% $\pm$ 1.24% <sup>c</sup>
高剂量 APAP组	8.73% $\pm$ 1.01% <sup>c</sup>

a为  $P < 0.01$  与正常对照组相比; b为  $P < 0.05$  c为  $P < 0.01$  与过氧化氢损伤组相比。

3 讨论

血管内皮细胞功能与心血管疾病的发生和发展密切相关, 研究显示血管内皮细胞功能紊乱是心血管疾病早期的重要特征, 纠正异常的血管内皮细胞功能可早期防治心血管疾病的发生。研究表明, 氧化应激在动脉粥样硬化等血管性疾病中起重要作用<sup>[12]</sup>。过氧化氢是 ROS 的一种, 可以在细胞外诱导细胞凋亡, UV、离子射线作用细胞后, 细胞内也可以产生过氧化氢, 它作为信使参与细胞内氧化还原途径, 导致细胞凋亡<sup>[13]</sup>。另外, 过氧化氢能促进羟自由基产生, 通过氧化脂质等生物大分子继而引发血管内皮细胞损伤<sup>[14-15]</sup>。抑制活性氧簇的形成, 清除活性氧簇或干扰活性氧簇致病的信号转导通路有可能防止内皮细胞损伤和损伤后带来的一切后果。自由基清除剂 NMHH 能够对抗过氧化氢引起的血管内皮细胞凋亡, 进一步说明自由基清除剂可以防止动脉硬化等心血管疾病的发生。APAP具有酚环结构, 具有天然的抗氧化作用。本研究在体外细胞培养条件下通过对血管内皮细胞活力、脂质过氧化损伤和凋亡相关指标的测定, 研究了 APAP对人脐静脉血内皮细胞氧化损伤及凋亡的保护作用。

血管内皮细胞活力的高低可以反映细胞的代谢与增殖。活细胞线粒体中的琥珀酸脱氢酶能使外源性的甲基四唑蓝还原为蓝紫色结晶物, 沉积在细胞中, 而死细胞无此功能, 因此可以间接反应细胞活力。本研究发现, 过氧化氢使内皮细胞中蓝紫色结晶物形成量减少, 而 APAP 各剂量组具有抗过氧化氢诱导的内皮细胞损伤的作用。

丙二醛是自由基与生物膜多不饱和脂肪酸发生脂质过氧化的产物, 其含量反映氧自由基水平及脂质过氧化程度。因此可以间接反映细胞损伤程度。SOD是细胞抗氧化系统中重要的抗氧化酶之一, 它是体内重要的氧自由基消除剂。本研究发现, 过氧化氢可导致内皮细胞产生丙二醛增多、SOD 活性减弱, 表明过氧化氢能引起内皮细胞氧化损伤, APAP 各保护组可剂量依赖性抑制过氧化氢的损伤作用, 使丙二醛含量降低, SOD 活性增强, 证明 APAP 具有较好的抗氧自由基的作用。对血管内皮细胞损伤的保护具有重要意义。

为了进一步探讨 APAP对内皮细胞的保护作用机理, 本研究观察了 APAP对体外培养的内皮细胞氧化损伤所致内皮细胞凋亡的影响, 并且初步探讨其可能机制。细胞凋亡是体内外因素触发细胞内预存的死亡程序而导致的细胞死亡过程, 也称程序性细胞死亡。在不同的细胞凋亡因素刺激下, Caspase 在细胞内可以通过多种不同的途径被活化, 细胞中的 Caspase 一经活化, 凋亡即不可避免。Caspase-3 处于细胞凋亡的下游, 而经典的细胞凋亡途径有两条, 分别为细胞外途径 (或称细胞表面死亡受体途径) 和细胞内途径 (或称线粒体引发途径)。在细胞外途径中, 死亡信号的传导依赖于死亡配体与受体的结合 (如 TNF $\alpha$ 和 TNFR, FasL和 Fas的结合), 接着, 死亡受体的死亡结构域与信号传导分子 (如

FADD等)结合,而FADD又可与Caspase-8酶原的DED相连接,形成死亡诱导信号复合物,随之Caspase-8被激活,它通过裂解BID使线粒体释放细胞色素C,或直接作用于Caspase-3及其他下游的Caspase。在细胞内途径中,细胞内的死亡信号,如DNA损伤、毒素和ATP耗竭等均可诱发线粒体释放细胞色素C。细胞色素C、Apaf-1、dATP和Caspase-9酶原结合形成凋亡复合体, Caspase-9被释放并激活,接着下游的Caspase-3、7等被激活降解底物使细胞凋亡<sup>[16-17]</sup>。可见Caspase-3作为两条通路的交汇点在凋亡中起这关键作用。证明APAP各剂量组能降低过氧化氢引起的Caspase-3蛋白高表达,从而起到抗凋亡作用。

本研究提示体外培养的HUVEC在过氧化氢条件下可使脂质过氧化损伤增强,丙二醛含量增加,SOD活性降低,内皮细胞凋亡率增加,Caspase-3表达增加。而APAP能拮抗过氧化氢的这些作用。其机制可能与APAP抗氧化和抗凋亡有关。而抗凋亡机制至少部分与降低Caspase-3表达有关,但具体机制还有待于进一步研究。

近几年各方面研究均表明,血管内皮细胞功能紊乱是心血管疾病早期的重要特征,血管内皮功能减退是促发动脉粥样硬化发生发展的最重要的始动因素<sup>[18]</sup>。而对于凋亡和心血管疾病的研究日益成为热点。现已证实。血管内皮细胞也存在凋亡现象。这些细胞在多种刺激因子的诱导下,参与心血管疾病的病理变化过程,细胞凋亡是多种心血管病发生与演变的细胞学基础,凋亡的内皮细胞具有促凝作用,促使血小板黏附并释放活性因子,这对动脉粥样硬化等心血管疾病有促发加重效应。因此对抗内皮细胞凋亡和保护内皮细胞,纠正异常的血管内皮细胞功能可早期防治动脉粥样硬化等心血管疾病的发生,寻找抗内皮细胞凋亡和保护内皮细胞功能的药物也为防治心血管疾病提供了新的方向。

#### [参考文献]

- [1] Griendling KK, FitzGerald GA. Oxidative stress and cardiovascular injury: Part II. Animal and human studies [J]. *Circulation*, 2003 **108**: 2034-2040.
- [2] Griendling KK, FitzGerald GA. Oxidative stress and cardiovascular injury: Part I. Basic mechanisms and in vivo monitoring of ROS [J]. *Circulation*, 2003 **108**: 1912-1916.
- [3] Merrill GF. Acetaminophen and low-flow myocardial ischemia: efficacy and antioxidant mechanisms [J]. *Am J Physiol*, 2002 **282**: H1341-1349.
- [4] Rork TH, Van Dyke K, Spiller NM. Acetaminophen in the hypoxic and reoxygenated guinea pig myocardium [J]. *Exp Biol Med*, 2004 **229**: 1154-1166.
- [5] Merrill GF, Goldberg E. Antioxidant properties of acetaminophen and cardioprotection [J]. *Bas Res Cardiol*, 2001 **96**: 423-430.
- [6] Merrill G, McConnell P, VanDyke K. Coronary and myocardial effects of acetaminophen: protection during ischemia reperfusion [J]. *Am J Physiol*, 2001 **280**: H2631-638.
- [7] Meral BassOzsoy, Aysun Pabuccuoglu. The effect of acetaminophen on oxidative modification of low-density lipoproteins in hypercholesterolemic rabbits [J]. *J Clin Biochem Nutr*, 2007 **41** (1): 27-31.
- [8] Korge P, Honda HM, Weiss JN. Effects of fatty acids in isolated mitochondria: implications for ischemic injury and cardioprotection [J]. *Am J Physiol*, 2003 **285**: H259-H269.
- [9] Moreno AJ, Santos DJ, Palmeira CM. Ischemic heart disease: the role of mitochondria-carvedilol prevents lipid peroxidation of mitochondrial membranes [J]. *Rev Port Cardiol*, 1998 **17** (Suppl II): 63-77.
- [10] Ameer B, Greenblatt J. Pharmacological review of paracetamol (acetaminophen) [J]. *Ann Int Med*, 1977 **87**: 202-209.
- [11] Dinis TCP, Madeira VM C, Almeida LM. Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers [J]. *Arch Biochem Biophys*, 1994 **315**: 161-169.
- [12] 陈 媛, 周 玫. 氧化应激-炎症在动脉粥样硬化发生发展中作用研究的新进展 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2008 **16** (10): 757-762.
- [13] Takeyama N, Miki S, Hirakawa A, et al. Role of the mitochondrial permeability transition and cytochrome C release in hydrogen peroxide-induced apoptosis [J]. *Exp Cell Res*, 2002 **274** (1): 16-24.
- [14] Shimizu S, Ishii M, Miyasaka Y, et al. Possible involvement of hydroxyl radical on the stimulation of tetrahydrobiopterin synthesis by hydrogen peroxide and peroxynitrite in vascular endothelial cells [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2005 **37** (4): 864-875.
- [15] 王桂霞, 刘 义, 杨春玲. 原花青素对血管内皮细胞过氧化氢损伤的保护作用 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2009 **17** (3): 193-196.
- [16] Sakumar P, Dong Z, Mikhailov V, et al. Apoptosis: definition, mechanism, and relevance to disease [J]. *Am J Med*, 1999 **107** (5): 489-506.
- [17] Budihardjo I, Oliver H, Lu R, et al. Biochemical pathways of caspase activation during apoptosis [J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 1999 **15**: 269-290.
- [18] Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction and atherosclerosis [J]. *Eur Heart J*, 1997 **18** (Suppl E): E9-29.

(此文编辑 文玉珊)