

同型半胱氨酸硫内酯致血管内皮功能损伤机制与过氧化体增殖物激活型受体 γ 的相关性

杨旭红, 戴雯, 刘立英, 吴树金

(中南大学药学院, 湖南省长沙市 410078)

[关键词] 罗格列酮; 同型半胱氨酸硫内酯; 过氧化体增殖物激活型受体 γ ; 血管内皮功能

[摘要] 目的 探讨同型半胱氨酸硫内酯所致血管内皮功能损伤机制与过氧化体增殖物激活型受体 γ 活化的关系。方法 以血管内皮依赖性和非内皮依赖性及血管组织和血清的生化参数为观察指标, 采用与血管环直接孵育法和在体动物灌胃给药法, 观察硫内酯对大鼠血管内皮功能的损伤作用, 并探讨其机制。结果 硫内酯 (10 mmol/L) 与离体大鼠胸主动脉共孵 60 min 能显著降低乙酰胆碱引起的内皮依赖性舒张反应, 降低血管组织中一氧化氮含量, 升高超氧化物歧化酶活性和丙二醛含量 ($P < 0.01$)。血管环与硫内酯共孵之前先与罗格列酮 (1 mmol/L) 预孵 30 min 能显著改善被硫内酯降低的血管环内皮依赖性舒张反应, 恢复血管环组织中一氧化氮含量, 抵抗硫内酯诱导的超氧化物歧化酶活性和丙二醛含量的升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。卡托普利 (0.03 mmol/L) 和夹竹桃麻素 (0.03 mmol/L) 有与罗格列酮相似的作用。在体实验表明, 大鼠接受硫内酯 [50 mg/(kg·d)] 灌胃 8 周, 导致血管内皮依赖性舒张反应明显降低, 血清丙二醛含量显著升高, 对氧磷酶 1 活性和一氧化氮含量显著降低 ($P < 0.01$), 但血清中总一氧化氮合酶活性、内皮型一氧化氮合酶活性、诱导型一氧化氮合酶活性、红细胞超氧化物歧化酶活性与正常对照组比无明显改变 ($P > 0.05$)。同时给予罗格列酮 [10、20 和 40 mg/(kg·d)] 灌胃 8 周, 可剂量依赖性地保护硫内酯损伤的内皮依赖性舒张反应, 降低血清丙二醛含量, 升高血清一氧化氮含量和对氧磷酶 1 活性 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。卡托普利 [20 mg/(kg·d)] 和夹竹桃麻素 [200 mg/(kg·d)] 灌胃 8 周, 也能保护硫内酯所损伤的血管内皮依赖性舒张反应和恢复硫内酯所改变的生化指标 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。在离体和在体实验中, 各处理因素对硝普钠引起的非内皮依赖性舒张反应无明显影响 ($P > 0.05$)。结论 同型半胱氨酸硫内酯在体内和体外均可引起血管内皮功能损伤, 其机制可能与抑制过氧化体增殖物激活型受体 γ 的活性或下调其表达, 继而诱发体内氧化应激反应有关。

[中图分类号] R96

[文献标识码] A

Homocysteine Thiolactone-Induced Vascular Endothelial Dysfunctions Related to Activation of PPAR γ

YANG XuHong, DAI Wen, LIU LiYing and WU Shu-Jin

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

[KEY WORDS] Rosiglitazone; Homocysteine Thiolactone; Peroxisome Proliferator Activated Receptor- γ ; Vascular Endothelial Function

[ABSTRACT] **Aim** To explore whether homocysteine thiolactone (HTL)-induced vascular endothelial dysfunctions relate to activation of peroxisome proliferator activated receptor- γ (PPAR γ). **Methods** The endothelium-dependent relaxation (EDR) and non-endothelium-dependent relaxation (n-EDR) of aortic rings in rats induced by acetylcholine and sodium nitroprusside (SNP) were examined respectively. The various biochemical parameters in vascular tissues or blood sera were also analyzed. **Results** Incubating HTL (10 mmol/L) with aortic rings for 30 min significantly inhibited EDR of isolated aortic rings, reduced nitro oxide (NO) content, increased activity of superoxide dismutase (SOD) and content of malondialdehyde (MDA) in vitro ($P < 0.01$). The incubation of rosiglitazone (1 mmol/L) with aortic rings for 30 min prior to adding HTL significantly lessened HTL-induced injuries of EDR, preserved NO content, inhibited elevation of SOD activity and MDA content in aortic tissues ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Incubation of Captopril (0.03 mmol/L) and Apocynin (0.03 mmol/L) with aortic rings for 30 min prior to adding HTL respectively also protected the vascular endothelium from injury and the change of biochemistry parameters in aortic tissues ($P < 0.05$ or $P < 0.01$) in vitro. Rats were administered HTL (50 mg/(kg·d)) by gavage for 8 weeks that resulted in an inhibition of EDR of aortic rings, increases of MDA content, reduction of both paraoxonase-1 (PON1) activity and NO content ($P < 0.01$), but

[收稿日期] 2009-06-22

[修回日期] 2009-12-03

[基金项目] 湖南省卫生厅课题 (B2008-023); 长沙市科技局课题 (K0802085-31)

[作者简介] 杨旭红, 硕士, E-mail为 yxuhong@gmail.com。戴雯, 讲师, 主要从事心血管药理学研究。通讯作者刘立英, 教授, 博士生导师, 主要从事心血管药理学研究, E-mail为 liyingliu2004@yahoo.com.cn。

had no effect on activity of total nitric oxide synthase (TNOS), activity of endothelial nitric oxide synthase (eNOS), activity of induced nitric oxide synthase (iNOS) in sera and activity of erythrocytic SOD ($P > 0.05$). The treatment of rosiglitazone (10, 20 or 40 mg/(kg·d)) by gavage prior to gavage of HTL dose-dependently improved EDR of aortic rings injured by HTL in vivo, inhibited elevation of MDA content, recovered PON1 activity and NO content in sera induced by HTL ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The treatment of captopril (20 mg/(kg·d)) and apocynin (200 mg/(kg·d)) also significantly reduced injury of EDR and the changes of biochemistry parameters in sera ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The treatment of HTL in both vivo and vitro had no effect on the non-endothelium-dependent relaxation by SNP ($P > 0.05$).

Conclusion HTL-induced vascular endothelial dysfunction may relate to oxidative stress and involve in inhibiting the activation of PPAR γ or down-regulating the expression of PPAR γ .

高同型半胱氨酸血症是导致动脉硬化的独立危险因素之一^[1],其主要致病机制与同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)在体内生成同型半胱氨酸硫内酯(homocysteine thiolactone, HTL)有关。大量研究表明 HTL引起的血管内皮损伤与增加氧化应激^[2,3]和活化核因子 κB (NF- κB)^[4]等机制有关。

过氧化体增殖物激活型受体 (PPAR)是配体激活的异二聚体转录因子,有 α 、 β/δ 与 γ 3个亚型^[5],其中 PPAR γ 是噻唑烷二酮类衍生物分子的靶点^[6]。已有研究发现,高 Hcy可通过下调 PPAR γ 促进 NF- κB 活化,PPAR γ 配体可以抑制上述作用^[7];另有研究发现,ACEI类药物卡托普利和依那普利可以特异性上调 PPAR γ 来抑制 HTL诱导的 NF- κB 的活化^[8]。本研究以 PPAR γ 激动剂罗格列酮为工具药,以 ACEI类药物卡托普利为对照,探讨 HTL致血管内皮功能损伤与 PPAR γ 的关系。

1 材料和方法

1.1 材料

雄性 SD 大鼠 [SCXK (湘) 2008-0002]由中南大学湘雅医学院实验动物学部提供。罗格列酮购自北京云迪同创医药科技有限公司;HTL、卡托普利、夹竹桃麻素、苯肾上腺素、乙酰胆碱、硝普钠、乙酸苯酯和二甲基亚砷均购自 Sigma 公司;一氧化氮 (NO)试剂盒、丙二醛 (MDA)试剂盒、超氧化物歧化酶 (SOD)试剂盒、一氧化氮合酶 (NOS)分型试剂盒均购自南京生物建成有限公司;冰醋酸、乙醇和 EDTA 均为国产分析纯。

1.2 离体血管环的制备及血管内皮依赖性舒张反应的检测

大鼠在戊巴比妥钠麻醉下,颈总动脉放血处死,快速开胸后取出主动脉置于通以 95% O_2 + 5% CO_2 混合气体的预冷 KH 溶液 ($NaCl$ 118.3 mmol/L, KCl 4.7 mmol/L, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1.2 mmol/L, KH_2PO_4 1.2 mmol/L, $CaCl_2$ 2.5 mmol/L, $NaHCO_3$ 24.0 mmol/L, EDTA 0.03 mmol/L; pH 7.4)中。漂洗干净血管内残留血,分离并去除血管周围结缔组

织,剪成 4~5 mm 长的血管环,用不锈钢钩固定于含上述 KH 溶液 (6 mL)的浴槽内,并充以混合气体,将血管的舒缩反应经张力换能器记录于 RM 6240B/IC 生物信号采集系统。记录前给予 2 g 的静息张力,平衡 90 min 后。用 1 μ mol/L 苯肾上腺素收缩血管环,待收缩反应达坪值后,用累加浓度的乙酰胆碱 (0.01~3 μ mol/L)或硝普钠 (0.3~3 μ mol/L)舒张血管环,检测乙酰胆碱引起的血管内皮依赖性舒张反应 (EDR)和硝普钠引起的非内皮依赖性舒张反应 (n-EDR)。

1.3 离体血管组织匀浆的制备

大鼠按上述方法处死后,切取长约 4 cm 的胸主动脉条,去除血管外周的脂肪及结缔组织,按上述方法置于含 KH 氏液的浴槽中,分别与待测药物共孵 (孵育条件同离体血管环),每组至少用 6 个血管条 (来源不同的大鼠)。孵育结束后,收集血管条。将血管条放在吸纸上吸干水份,称重,用小手术剪将血管剪碎,加入预冷的生理盐水;在冰浴上用玻璃匀浆器制成 10% 的组织匀浆;4℃离心 10 min,取上清液,按照试剂盒说明和相关要求操作,检测血管组织中一氧化氮 (NO)、丙二醛 (MDA)含量及超氧化物歧化酶 (SOD)活性。

1.4 血清标本的制备

灌胃 8 周后,大鼠禁食 12 h,腹腔注射戊巴比妥钠麻醉,经颈总动脉插管留取新鲜全血。取一部分全血制备红细胞抽提液,用于检测红细胞 SOD 活性;剩余部分于 4℃静置 1 h,3 000 r/min 离心 10 min,取上层血清,按照试剂盒说明和相关要求操作,检测血清 NO 和丙二醛含量、对氧磷酶 1 (PON1)活性^[9]以及血清总一氧化氮合酶 (TNOS)、内皮型一氧化氮合酶 (eNOS)和诱导型一氧化氮合酶 (iNOS)活性。

1.5 离体血管环实验

实验分为 8 组: 正常对照组;④ HTL (10 mmol/L)组;④~ 组分别为 HTL 加罗格列酮低、中、高浓度 (0.1、0.3 和 1 mmol/L)组; HTL+卡托普利 (0.03 mmol/L)组;⑧ HTL+夹竹桃麻素 (0.03

mmol/L)组; (b)罗格列酮 (1 mmol/L)组; 每组 6 个血管环 (分别来自 6 只不同的大鼠, 体重 260 ± 20 g)。HTL 组血管环先与正常 KH 氏液孵育 30 min, 再加入 HTL 继续共同孵育 60 min, 药物处理组血管环先与含药物的 KH 氏液孵育 30 min, 再加入 HTL 继续共同孵育 60 min, 然后分别测定 EDR 和 n-EDR。

1.6 在体实验

健康清洁级雄性 SD 大鼠 48 只, 体重 180 ± 20 g 随机分为 8 组: 正常对照组; ④HTL [50 mg/(kg·d)]组; ④~ 分别为 HTL 加罗格列酮低、中、高剂量 [10、20 和 40 mg/(kg·d)]组; HTL + 卡托普利 [20 mg/(kg·d)]组; ⑧HTL + 夹竹桃麻素 [200 mg/(kg·d)]; (b)罗格列酮组 [40 mg/(kg·d)]。每组 6 只大鼠, 先用 HTL (50 mg/kg) 灌胃, 再分别灌胃不同的药物; 正常对照组只灌生理盐水, 每天 1 次, 连续 8 周。

1.7 统计学方法

用不同浓度的乙酰胆碱或硝普钠引起的血管环舒张值与苯肾上腺素 (1 μ mol/L) 引起的收缩值之比的百分数表示血管环的舒张百分率, 计算最大舒张百分率 (percentage of maximal relaxation effect, E_{max}) 和乙酰胆碱的半数有效量 (EC_{50})。 E_{max} 指乙酰胆碱 (3 μ mol/L) 或硝普钠 (0.3 μ mol/L) 引起的舒张百分率。 EC_{50} 是指产生最大舒张百分率的 50% 时所需的乙酰胆碱浓度, 运用线性回归从量效反应曲线求出。所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用 t 检验分析; 组间差异比较用 ANOVA 及 Newman-Student 多重比较, 由 SPSS 17.0 统计软件完成, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 硫内酯对离体大鼠血管内皮功能的影响及罗格列酮等药物的保护作用

HTL (10 mmol/L) 与大鼠离体血管环共孵 60 min 导致乙酰胆碱引起的 EDR 和 E_{max} 显著降低, EC_{50} 明显升高 ($P < 0.01$); 血管环与罗格列酮 (0.3 或 1 mmol/L) 预孵 30 min 后再与 HTL 孵育 60 min, 明显减轻 HTL 对 EDR 的抑制作用, 表现为 E_{max} 升高和 EC_{50} 降低 ($P < 0.01$)。卡托普利和夹竹桃麻素明显减轻 HTL 对 E_{max} 的抑制作用和 EC_{50} 的升高作用 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。罗格列酮与正常对照组比对 EDR 没有明显影响 ($P > 0.05$)。HTL 和各组药物对硝普钠引起的 n-EDR 无明显影响 (表 1)。

表 1 不同处理因素对离体大鼠胸主动脉乙酰胆碱引起的最大舒张百分率和半数有效量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

分 组	E_{max}	EC_{50} (mmol/L)
正常对照组	83.31% $\pm$ 1.86%	103.91 $\pm$ 3.04
HTL 组	46.23% $\pm$ 3.02% ^a	143.66 $\pm$ 3.29 ^a
HTL + 0.1 mmol/L 罗格列酮组	49.58% $\pm$ 1.17%	126.84 $\pm$ 4.37
HTL + 0.3 mmol/L 罗格列酮组	64.01% $\pm$ 2.61% ^c	85.00 $\pm$ 4.22 ^c
HTL + 1 mmol/L 罗格列酮组	84.33% $\pm$ 2.57% ^c	80.38 $\pm$ 3.15 ^c
HTL + 卡托普利组	72.62% $\pm$ 2.28% ^c	89.78 $\pm$ 4.23 ^c
HTL + 夹竹桃麻素组	59.70% $\pm$ 1.65% ^c	114.48 $\pm$ 5.10 ^b
罗格列酮组	81.45% $\pm$ 1.98%	111.07 $\pm$ 1.08

a 为 $P < 0.01$ 与正常对照组比较; b 为 $P < 0.05$; c 为 $P < 0.01$ 与 HTL 组比较。

2.2 硫内酯对在体大鼠血管内皮功能的影响及罗格列酮等药物的保护作用

HTL 显著抑制乙酰胆碱引起的血管 EDR 和 E_{max} 升高 EC_{50} ($P < 0.01$); 罗格列酮呈浓度依赖性改善 HTL 对 EDR 和 E_{max} 的抑制作用, 并且降低 EC_{50} ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。卡托普利和夹竹桃麻素也显著抑制 HTL 引起的血管 EDR、 E_{max} 的降低和 EC_{50} 的升高 ($P < 0.01$), 罗格列酮对正常血管环 EDR 无显著影响 ($P > 0.05$)。各组药物对硝普钠引起的 n-EDR 与正常对照组比较无显著性差异 ($P > 0.05$, 表 2)。

表 2 不同处理因素对在体大鼠胸主动脉乙酰胆碱引起的最大舒张百分率和半数有效量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

分 组	E_{max}	EC_{50} (mmol/L)
正常对照组	88.50% $\pm$ 2.67%	126.22 $\pm$ 4.27
HTL 组	61.29% $\pm$ 2.69% ^a	218.72 $\pm$ 4.10 ^a
HTL + 10 mg/(kg·d) 罗格列酮组	69.36% $\pm$ 2.76% ^b	175.73 $\pm$ 5.09 ^b
HTL + 20 mg/(kg·d) 罗格列酮组	75.39% $\pm$ 2.65% ^c	167.42 $\pm$ 3.07 ^c
HTL + 40 mg/(kg·d) 罗格列酮组	90.10% $\pm$ 1.56% ^c	119.34 $\pm$ 4.13 ^c
HTL + 卡托普利组	77.06% $\pm$ 1.73% ^c	170.75 $\pm$ 3.09 ^c
HTL + 夹竹桃麻素组	77.50% $\pm$ 2.18% ^c	134.00 $\pm$ 5.06 ^c
罗格列酮组	87.14% $\pm$ 2.67%	113.41 $\pm$ 2.11

a 为 $P < 0.01$ 与正常对照组比较; b 为 $P < 0.05$; c 为 $P < 0.01$ 与 HTL 组比较。

2.3 罗格列酮等药物对硫内酯所致离体血管组织生物化学指标的干预作用

HTL 使血管组织中 NO 含量显著降低, 丙二醛含量和 SOD 活性明显升高 ($P < 0.01$); 罗格列酮、卡托普利及夹竹桃麻素可以显著抑制 HTL 引起的血管组织中 NO 含量的降低以及丙二醛含量和 SOD 活性的升高 ($P < 0.01$; 表 3)。

表 3 不同处理组血管组织一氧化氮和丙二醛含量及超氧化物歧化酶活性的比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

分 组	NO ($\mu\text{mol/g}$)	丙二醛 ($\mu\text{mol/g}$)	SOD (U /mg)
正常对照组	2.38 $\pm$ 0.17	0.18 $\pm$ 0.03	9.41 $\pm$ 0.96
HTL组	1.54 $\pm$ 0.15 ^a	0.91 $\pm$ 0.11 ^a	36.65 $\pm$ 3.97 ^a
HTL+ 1 mmol/L 罗格列酮组	2.43 $\pm$ 0.21 ^b	0.13 $\pm$ 0.04 ^b	6.82 $\pm$ 0.85 ^b
HTL+ 卡托普利组	3.59 $\pm$ 0.39 ^b	0.26 $\pm$ 0.10 ^b	18.27 $\pm$ 3.22 ^b
HTL+ 夹竹桃麻素组	2.19 $\pm$ 0.14 ^b	0.37 $\pm$ 0.05 ^b	20.42 $\pm$ 2.72 ^b
罗格列酮组	2.26 $\pm$ 0.15	0.15 $\pm$ 0.04	10.78 $\pm$ 2.73

a为 $P < 0.01$ 与正常对照组比较; b为 $P < 0.01$ 与 HTL组比较。

表 4 各组血清一氧化氮和丙二醛含量及对氧磷酶 1、一氧化氮合酶和超氧化物歧化酶活性比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

分 组	NO ($\mu\text{mol/L}$)	MDA ($\mu\text{mol/L}$)	PON1 (KU /L)	TNOS (KU /L)	eNOS (KU /L)	NOS (KU /L)	红细胞 SOD (U /g)
正常对照组	31.35 $\pm$ 4.78	5.41 $\pm$ 1.42	13.22 $\pm$ 0.95	18.10 $\pm$ 3.20	7.68 $\pm$ 2.55	10.41 $\pm$ 1.81	18981.36 $\pm$ 472.56
HTL组	11.51 $\pm$ 4.39 ^a	18.05 $\pm$ 2.16 ^a	5.49 $\pm$ 0.69 ^a	12.91 $\pm$ 3.19	2.67 $\pm$ 2.14	10.24 $\pm$ 1.64	18699.66 $\pm$ 1746.55
HTL+ 10 mg/(kg·d) 罗格列酮组	23.81 $\pm$ 5.07 ^c	5.08 $\pm$ 1.57 ^b	7.44 $\pm$ 0.67 ^c	16.73 $\pm$ 2.65	7.05 $\pm$ 2.68	9.68 $\pm$ 1.65	19464.28 $\pm$ 1442.85
HTL+ 20 mg/(kg·d) 罗格列酮组	43.06 $\pm$ 6.06 ^c	5.33 $\pm$ 1.76 ^c	8.58 $\pm$ 0.70 ^c	16.04 $\pm$ 2.18	4.64 $\pm$ 2.89	11.40 $\pm$ 2.66	17452.12 $\pm$ 2681.74
HTL+ 40 mg/(kg·d) 罗格列酮组	76.9 $\pm$ 10.70 ^c	3.78 $\pm$ 1.09 ^c	11.91 $\pm$ 0.92 ^c	21.89 $\pm$ 2.84	9.91 $\pm$ 3.36	11.99 $\pm$ 3.72	16976.53 $\pm$ 2249.45
HTL+ 卡托普利组	40.67 $\pm$ 9.67 ^c	6.79 $\pm$ 2.18 ^c	11.73 $\pm$ 0.78 ^c	17.64 $\pm$ 4.23	8.82 $\pm$ 4.95	8.82 $\pm$ 1.28	17505.78 $\pm$ 2008.45
HTL+ 夹竹桃麻素组	27.97 $\pm$ 7.03 ^c	10.81 $\pm$ 2.45 ^b	8.40 $\pm$ 0.81 ^c	14.54 $\pm$ 2.04	5.74 $\pm$ 2.43	8.81 $\pm$ 1.98	17626.50 $\pm$ 1888.94
罗格列酮组	32.02 $\pm$ 3.69	6.41 $\pm$ 1.04	12.48 $\pm$ 0.56	16.51 $\pm$ 2.13	7.68 $\pm$ 3.77	8.83 $\pm$ 1.72	18914.29 $\pm$ 1277.68

a为 $P < 0.01$ 与正常对照组比较; b为 $P < 0.05$ c为 $P < 0.01$ 与 HTL组比较。

3 讨论

大量研究表明,高 Hcy血症可以引起动脉粥样硬化、脉管炎、血栓等心血管疾病。近年的研究发现,高 Hcy致病的病理学基础主要与 Hcy在体内转变形成的 HTL有关^[10],因此阐明 HTL的致病机制对高 Hcy引起血管病变的防治有重要意义。本研究发现,HTL不管是在体外与离体血管直接孵育还是通过灌胃,均导致血管 EDR 显著性降低,同时伴有血管组织或血清中 NO 含量降低,而对硝普钠引起的 no-EDR 无明显影响,说明 HTL明显损伤了血管内皮功能。HTL在降低血管 EDR 的同时导致 SOD 活性和丙二醛含量升高以及血浆 PON1 活性降低,说明 HTL引起的血管内皮功能损伤可能与氧化应激反应增加和抗氧化能力降低有关。HTL 引起的血管组织中 SOD 活性升高可能是一种保护性反应,说明机体清除过氧化物能力没有改变,通过代偿性升高 SOD 活性清除不断产生的活性氧簇 (ROS),随着 ROS 产生量的不断增加,这种平衡将被打破,最终将会导致 SOD 活性下降。丙二醛含量增高,反映脂质过氧化水平增强。这可能与如下因素有关: PON1 是机体内重要的抗氧化酶,也是唯一水解

2.4 硫内酯对在体大鼠血液生物化学指标的影响及罗格列酮等药物的干预作用

HTL显著降低血清 NO 含量和 PON1 活性,升高丙二醛含量 ($P < 0.01$); 罗格列酮、卡托普利及夹竹桃麻素显著改善 HTL 引起的血清 NO 含量和 PON1 活性的降低,并抑制丙二醛含量的升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。HTL 引起血清 TNOS 和 eNOS 活性降低 ($P > 0.05$),对 NOS 活性和 SOD 活性无显著性影响 ($P > 0.05$ 表 4)。

HTL 的酶,由肝脏产生,存在于血清中。HTL 进入组织或体内后,一方面直接消耗 PON1,减少体内 PON1 的量;另一方面产生的大量 ROS 攻击 PON1 的第 283 位半胱氨酸的巯基,抑制其抗氧化能力。本研究结果还发现,HTL 组 PON1 活性显著低于正常对照组,说明丙二醛含量增高与 PON1 减少有关。我室以往研究表明高 Hcy 和 HTL 在抑制血管 EDR 的同时促进了细胞内 ROS 的产生和 NF- κ B 的活化^[11],但具体机制尚不明确。另有研究表明^[12],HTL 引起 ROS 大量产生的机制可能与激活 NADPH 氧化酶有关。

近年研究发现,内源性或外源性 PPAR γ 激动剂具有抗氧化和抑制血管炎症反应等作用^[13]。PPAR γ 的活化可直接抑制 NADPH 氧化酶的活性,而 NADPH 氧化酶的活化是体内 ROS 的主要来源,因此 PPAR γ 可以减少 ROS 的生成。已有研究证实罗格列酮可以通过激活 PPAR γ ^[14],抑制 NADPH 氧化酶的活化,减少 ROS 的生成,从而减少 NF- κ B 的活化,减少此途径导致的内皮细胞损伤和炎症反应。本研究证明罗格列酮对 HTL 所致血管内皮功能损伤有明显保护作用,其机制可能通过激活 PPAR γ ,

继而降低 NADPH 氧化酶活性和阻滞 NF- κ B 的活化,减少活性氧和相关细胞因子的释放。

在本研究中,血管紧张素转换酶抑制剂卡托普利和 NADPH 氧化酶抑制剂夹竹桃麻素与罗格列酮有相似的保护 HTL 所致的血管内皮损伤的作用。我们前以证明卡托普利对 HTL 的保护作用不依赖于降低血浆血管紧张素 Ang II 含量^[15],而与抑制 NADPH 氧化酶的活性减少氧化应激和保护血清 PON1 活性有关。而罗格列酮也有保护血清 PON1 活性和抑制氧化应激的作用,进一步证明了 HTL 诱导的体内外血管内皮损伤可能与干扰 PPAR γ 功能有关。

本研究的主要贡献在于首次证明 PPAR γ 激动剂罗格列酮能够抵抗 HTL 对离体和在体血管的内皮功能损伤、维持血管组织和血清中 NO 含量和血清中 PON1 活性;降低 HTL 所增加的血管组织和血清中丙二醛含量。为 HTL 引起血管内皮功能损伤的细胞内信号转导通路可能涉及干扰 PPAR γ 功能提供了初步的实验依据,其确切的机制有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] Mckinley MC. Nutritional aspects and possible pathological mechanisms of hyperhomocysteinaemia: an independent risk factor for vascular disease [J]. *Proc Nutr Soc*, 2000, **59** (2): 221-237.
- [2] Kerkeni M, Tnani M, Chuniad L, et al. Comparative study on in vitro effects of homocysteine thiolactone and homocysteine on HUVEC cells: evidence for a stronger proapoptotic and proinflammatory homocysteine thiolactone [J]. *Mol Cell Biochem*, 2006, **291** (1-2): 119-126.
- [3] 黄宁江, 吴树金, 刘立英, 等. 洛伐他汀对同型半胱氨酸硫内酯所致大鼠离体胸主动脉内皮损伤的保护作用 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2008, **16** (5): 365-368.
- [4] 刘玉晖, 游宇, 刘立英, 等. 卡托普利对同型半胱氨酸硫内酯损伤血管内皮功能的保护作用 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2008, **16** (1): 33-37.
- [5] Vamecq J, Latruffe N. Medical significance of peroxisome proliferator-activated receptors [J]. *Lancet*, 1999, **354** (9173): 141-148.
- [6] Moller DE. New drug targets for type 2 diabetes and the metabolic syndrome [J]. *Nature*, 2001, **414** (12): 821-827.
- [7] Hunt M J, Tyagi S C. Peroxisome proliferators compete and ameliorate Hcy-mediated endothelial endothelial cell activation [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2002, **283** (4): C1 073-079.
- [8] Valdeci da Cunha Doris M, Baby Martin McNulty. Enalapril attenuates angiotensin II-induced atherosclerosis and vascular inflammation [J]. *Atherosclerosis*, 2005, **178** (2): 9-17.
- [9] 伍海涛, 熊小明, 刘立英, 等. 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与对氧磷酶活性的关系 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2004, **12** (4): 410-414.
- [10] Mercie P, Gamier O, Lascoste L, et al. Homocysteine-thiolactone induces caspase-independent vascular endothelial cell death with apoptotic features [J]. *Apoptosis*, 2000, **5** (5): 403-411.
- [11] Liu YH, You Y, Song T, et al. Impairment of endothelium-dependent relaxation of rat aortas by homocysteine thiolactone and attenuation by captopril [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2007, **50** (2): 155-161.
- [12] Liu YH, Liu LY, Wu JX, et al. Comparison of captopril and enalapril to study the role of the sulfhydryl group in improvement of endothelial dysfunction with ACE inhibitors in high dieted methionine mice [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2006, **47** (1): 82-88.
- [13] Sidhu JS, Kaposzta Z, Markus HS, et al. Effect of rosiglitazone on common carotid intima-media thickness progression in coronary artery disease patients without diabetes mellitus [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, **24** (5): 930-934.
- [14] Inoue I, Goto S, Matsunaga T, et al. The ligands/activators for peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPARalpha) and PPARgamma increase Cu²⁺, Zn²⁺-superoxide dismutase and decrease p22phox message expressions in primary endothelial cells [J]. *Metabolism*, 2001, **50** (1): 3-11.
- [15] 刘玉晖, 游宇, 刘立英, 等. 卡托普利对蛋氨酸所致血管内皮功能损伤的保护作用与对氧磷酶 1 的关系 [J]. *中南药学*, 2007, **5** (6): 501-504.

(此文编辑 文玉珊)