

# 阿洛伐他汀、替硝唑对兔动脉粥样硬化合并牙周炎斑块中炎症因子的影响

张元, 梁平, 侯秀丽, 张源明

(新疆医科大学第一附属医院心脏中心高血压科, 新疆乌鲁木齐市 830054)

[关键词] 冠心病; 牙周炎; 阿洛伐他汀; 替硝唑; 实时荧光定量 PCR; 兔

[摘要] **目的** 在已建立的动脉粥样硬化合并牙周炎的新西兰大白兔的动物模型基础上,探讨阿洛伐他汀、替硝唑对控制动脉粥样硬化及消除牙周炎中肿瘤坏死因子、白细胞介素 1 及白细胞介素 6 的影响。**方法** 48 只雄性新西兰大白兔随机分为 4 组,每组 12 只,即对照组、他汀(阿洛伐他汀)组、替硝唑组、联合(阿洛伐他汀+替硝唑)组,后 3 组以相应药物干预。各组分别按照实验设计进行相应干预处理。至 20 周末处死动物,取血管,采用荧光定量 PCR 技术进行定量测定。**结果** 标准曲线参数良好,肿瘤坏死因子、白细胞介素 1、白细胞介素 6 和  $\beta$ -肌动蛋白标准品 Ct 值与其相应梯度稀释标准品浓度呈良好线性关系( $R^2 > 0.990$ )。经熔解曲线分析,在 3 种炎症因子中,与对照组相比,联合组检出率最低,两组存在统计学差异( $P < 0.05$ );他汀组、替硝唑组检出率位于联合组及对照组之间( $P < 0.05$ )。**结论** 阿洛伐他汀及替硝唑可以降低兔动脉粥样硬化合并牙周炎的肿瘤坏死因子、白细胞介素 1 及白细胞介素 6 含量,且两种药物联合应用对兔动脉粥样硬化合并牙周炎斑块中肿瘤坏死因子、白细胞介素 1 及白细胞介素 6 含量的降低效果更佳,为协同作用,这可能成为动脉粥样硬化合并牙周炎的治疗方法之一。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

## The Impact of Plaque Inflammatory Factors in Atorvastatin and Tinidazole on Atherosclerosis with Periodontitis Rabbit

ZHANG Yuan, LING Ping, HOU Xiu-Li, and ZHANG Yuan-Ming

(Department of Hypertension, Heart Center, the First Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University, Urumchi, Xinjiang 830054, China)

[KEY WORDS] Coronary Heart Disease; Periodontitis; Atorvastatin; Tinidazole; Real-time Quantitative Polymerase Chain Reaction; Rabbit

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effect of atorvastatin and tinidazole control animation atherosclerosis and the elimination of periodontitis levels of tumor necrosis factor (TNF), interleukin-1 (IL-1) and interleukin-6 (IL-6) on the basis of animal models of atherosclerotic arteries with merged periodontitis. **Methods** A total of 48 male New Zealand white rabbits with atherosclerosis and chronic periodontitis were randomly divided into 4 groups ( $n = 12$ ): the control group, the atorvastatin group, the tinidazole group, the atorvastatin + tinidazole group. Every group accepted the corresponding treatment. All the animals were sacrificed until 20 weeks, and the blood vessels were taken for quantitative determination by using quantitative polymerase chain reaction (PCR) technique. **Results** The standard curve parameters of tumor necrosis factor, interleukin-1, interleukin-6 and  $\beta$ -actin standard Ct values of their corresponding serial dilutions of the standard concentration showed a good linear relationship ( $R^2 > 0.990$ ) by melting the song in three kinds of inflammatory factors. The atorvastatin + tinidazole group, the lowest detection rate was far lower than in control group ( $P < 0.05$ ), while the detection rate of the atorvastatin group and the tinidazole group ( $P < 0.05$ ) in the atorvastatin + tinidazole group and control group. **Conclusion** Atorvastatin + tinidazole can reduce the level of TNF, IL-1 and IL-6 in the rab-

[收稿日期] 2012-07-25

[基金项目] 国家自然科学基金(30960135)

[作者简介] 张元, 硕士, 医师, 研究方向为高血压与冠心病的基础和临床, E-mail 为 yuan666nuan@163.com。梁平, 博士, 主治医师, 研究方向为高血压与冠心病的基础和临床。通讯作者张源明, 博士, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为高血压与冠心病的基础和临床, E-mail 为 zydx@163.com。

bit model with atherosclerosis and chronic periodontitis, which may be one of the methods for prevention and treatment of atherosclerosis and periodontitis.

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是一种严重危害人类的疾病,其发病机制目前尚未完全阐明,近年来,炎症在动脉粥样硬化中的作用越来越受到人们的肯定,同时有研究结果<sup>[1,2]</sup>发现牙周炎可能是导致As的危险因素之一,二者之间关系已成为近几年来研究的一大热点。而作为重要炎症因子的肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、白细胞介素1(interleukin-1, IL-1)及白细胞介素6(interleukin-6, IL-6),其在As及牙周炎中的作用也已受到学者关注。阿洛伐他汀、替硝唑作为抗炎调脂药物,其重要作用引起人们越来越多的重视。国内关于As的实验研究多采用兔、大鼠、鹌鹑、小型猪等动物模型<sup>[3]</sup>,亦有转基因小鼠模型<sup>[4]</sup>。根据文献报道<sup>[5,6]</sup>,采用兔建立动脉粥样硬化合并牙周炎模型,时间短,易形成斑块,且斑块较稳定。本实验拟采用动脉粥样硬化合并牙周炎的新西兰兔模型,观察阿洛伐他汀、替硝唑对其血管内皮斑块中TNF、IL-1及IL-6的影响,探讨两种药物对牙周炎及控制动脉粥样硬化的治疗效果。

## 1 材料和方法

### 1.1 动物选择及分组

选取清洁级新西兰大白兔(新疆实验动物中心提供)48只,均为雄性,体重为2.5~3.0 kg。饲养于新疆医科大学第一附属医院实验动物中心动物房,温度20~24℃,相对湿度40%~70%。将新西兰大白兔按随机数字表分为4组,每组12只,即对照组、他汀(阿洛伐他汀)组、替硝唑组、联合(阿洛伐他汀+替硝唑)组,均采用高脂饮食喂养。3个月后结扎牙齿,造成牙周炎与冠心病模型,对其进行药物灌胃。本研究获得新疆医科大学第一附属医院动物实验伦理委员会批准(批准号:IACUC-20110325012)。

### 1.2 主要药品、仪器、试剂和引物

胆固醇(批号:A1015,纯度:99.8%;美国Amresco公司);蛋黄粉(批号:0212,纯度:95%;北京宝信生物科技有限公司);猪油(自制);阿托伐他汀片(商品名:立普妥,批号:054610k;辉瑞制药);替硝唑片(批号:090702;山西津华辉星制药有限公司)。口腔致病菌:牙龈卟啉单胞菌、伴放线杆菌、中间普氏菌、具核梭杆菌,以上4种牙周炎特异性致病菌标

准菌株均由四川大学华西口腔医学院口腔微生物实验室提供。BIO-RADIQ5 荧光定量聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)扩增仪、Quality 图像分析系统(均为美国伯乐公司产品);凝胶成像系统(美国Bio-Rad公司)。荧光定量PCR试剂盒(批号:204143)及逆转录cDNA试剂盒(批号:DRR047A)(均购自TaKaLa公司)。所用引物均由大连宝生物工程(大连)有限公司合成。

### 1.3 造模及给药方法

所有大白兔均先制作成牙周炎合并动脉粥样硬化模型。

**1.3.1 牙周炎模型制作** 第1~4周进行大白兔的实验牙结扎:48只兔,给予氯胺酮注射液80~100 mg/kg、安定注射液1 mg/kg、阿托品注射液0.2~0.3 mg/kg,兔耳缘静脉缓慢注射复合麻醉;用0.25正畸结扎丝和4.0丝线分别于左、右下颌第一前磨牙颈部(尽量置于龈沟内)结扎。第5~15周进行牙周致病菌接种:用接种环在龈沟内和结扎线上涂布混合细菌悬液( $1.0 \times 10^{12}$  CFU/L) [CFU:菌落形成单位(colony-forming unit)],成分为牙龈卟啉单胞菌(ATCC 33277)、伴放线杆菌(ATCC 29523)、中间普氏菌(ATCC 25611)、具核梭杆菌(ATCC 25586),每周1次接种每只兔,并对脱落或断裂的丝线进行补充结扎。

**1.3.2 动脉粥样硬化模型制作** 实验第1~20周,48只兔均予以高脂饮食,饲料配方:质量分数2%胆固醇+质量分数5%蛋黄粉+质量分数5%猪油+质量分数88%基础饲料(由新疆医科大学实验动物中心提供)。第1周先以质量分数50%高脂饲料+质量分数50%普通饲料进行适应性喂养,之后改为全高脂饲料喂养。

**1.3.3 药物干预** 4组均灌胃给药。于实验第16~20周,对照组给予同体积生理盐水,他汀组给予阿托伐他汀片1.5 mg/kg,替硝唑组给予替硝唑片150 mg/kg,联合组给予阿托伐他汀片1.5 mg/kg+替硝唑片150 mg/kg。灌胃方法:经咽部插入鼻饲管15~20 cm,将药物按剂量推入胃中,每天1次,共4周。实验时间20周。

### 1.4 血管提取

20周麻醉实验动物,放血处死,取升主动脉全长。

### 1.5 RNA提取及鉴定

所有用于RNA提取的研磨碗、离心管、枪头用

0.1% 二乙基焦磷酸胺水浸泡过夜,消毒,组织称重。加 1 000  $\mu\text{L}$  Trizol 试剂研磨,组织变成液体后放入编号的 EP 管中混匀,冰上静置,加入三氯甲烷振荡,静置后低温离心机离心,取上清液,加入异丙醇,振荡后静置,  $-20^{\circ}\text{C}$  冰箱 20 min,用低温离心机离心后弃去上清,加入 75% 乙醇 1 mL,稍振荡,离心。吸取上清弃去,在超净台内吹,使 RNA 沉淀刚好干燥,加入二乙基焦磷酸胺水溶解,制成 RNA 溶液。取上述 RNA 样品 2  $\mu\text{L}$ ,用 DNA/RNA 微量定量仪进行定量测定含量并观察 A260/A280 值判断其纯度,取适量样品进行琼脂糖凝胶电泳,鉴定 RNA 的完整性,其余  $-80^{\circ}\text{C}$  保存备用。

### 1.6 逆转录聚合酶链反应

逆转录互补脱氧核糖核酸 (complementary DNA, cDNA): 取上述总 RNA 2  $\mu\text{L}$  加入逆转录反应体系中经过两步反应:  $42^{\circ}\text{C}$  反应 2 min,  $4^{\circ}\text{C}$  反应 forever;  $37^{\circ}\text{C}$  反应 15 min,  $85^{\circ}\text{C}$  反应 5 s,  $4^{\circ}\text{C}$  反应 forever, 至总体积 20  $\mu\text{L}$ 。转录出 cDNA。

### 1.7 标准品的制备

将合成的 cDNA 进行 PCR 反应和琼脂糖凝胶电泳,常规温度梯度 PCR 确定 TNF、IL-1、IL-6 和  $\beta$ -肌动蛋白 ( $\beta$ -actin) 最适退火温度,并获取产物(表 1)。

表 1. 引物名称、序列、扩增长度

Table 1. Name, sequence and amplification length of primers

| 引物名称           | 扩增序列                           | 扩增产物长度 |
|----------------|--------------------------------|--------|
| TNF            | 上游 5'TCTGGAGAGCGCCATGA3'       | 200 bp |
|                | 下游 5'CCACGAGCAGAAAGAGAAGA3'    |        |
| IL-1           | 上游 5'TGTTCTTTGAGGCCGATGGT3'    | 150 bp |
|                | 下游 5'TGTAGGTTGGCAGAGATG3'      |        |
| IL-6           | 上游 5'GTGAATAATGAGACCTGCCTGCT3' | 147 bp |
|                | 下游 5'CTGGTGTTCCTTCGTCACCTCT3'  |        |
| $\beta$ -actin | 上游 5'GAGCGTGGCTACTCTTCGT3'     | 190 bp |
|                | 下游 5'GGGACGCTCTAGCTCTTCT3'     |        |

### 1.8 标准曲线的建立

用 SYBRgreen 试剂盒行荧光定量 PCR。取逆转录产物 2  $\mu\text{L}$  加入下列 PCR 反应体系: SYBRgreen 试剂 12.5  $\mu\text{L}$ , 双蒸水 8.5  $\mu\text{L}$ , 各因子上、下引物各 1.0  $\mu\text{L}$ 。TNF、IL-1、IL-6 的 PCR 反应条件为:  $50^{\circ}\text{C}$  2 min,  $95^{\circ}\text{C}$  10 min,  $95^{\circ}\text{C}$  15 s,  $59^{\circ}\text{C}$ 、 $56^{\circ}\text{C}$  及  $56^{\circ}\text{C}$  30 s,  $72^{\circ}\text{C}$  30 s, 读板, 40 个循环;  $72^{\circ}\text{C}$  30 s, 熔解曲线从  $69^{\circ}\text{C}$  至  $98^{\circ}\text{C}$ , 每  $0.2^{\circ}\text{C}$  1 s 读板, 结束反应。标准曲线和熔解曲线由 PCR 仪器自动生成。获得待测样本和对照样本中目的基因及内参基因的相对表达量, 计算各组均数及标准差后, 将目的基因与内参基因进行比较, 得到目的基因相对表达量的变化。内参照采用  $\beta$ -actin。所得结果直接在荧光定量操作软件中进行分析比较。

### 1.9 统计学分析

采用 SPSS 13.0 软件进行分析, 计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示, 各组及各组间采用  $2 \times 2$  析因分析,  $P < 0.05$  有统计学意义。

## 2 结果

按实验对引物浓度、退火温度、延伸步骤等进行优化, 确定最佳反应体系 (25  $\mu\text{L}$ )。反应条件为:  $50^{\circ}\text{C}$  2 min,  $95^{\circ}\text{C}$  10 min,  $95^{\circ}\text{C}$  15 s,  $59^{\circ}\text{C}$ 、 $56^{\circ}\text{C}$  及  $56^{\circ}\text{C}$  30 s,  $72^{\circ}\text{C}$  30 s, 读板, 40 个循环;  $72^{\circ}\text{C}$  30 s, 熔解曲线从  $69^{\circ}\text{C}$  至  $98^{\circ}\text{C}$ , 每  $0.2^{\circ}\text{C}$  1 s 读板。TNF、 $\beta$ -actin、IL-6 等标准曲线相关系数分别为 0.972、0.977、0.936 等, 说明定量结果准确可靠, 标准曲线良好。熔解曲线结果显示, TNF、IL-1、IL-6 及  $\beta$ -actin 产物均为单特异峰, 经凝胶电泳证实有特异目的条带, 说明无引物二聚体及非特异性扩增产物(图 1~4)。

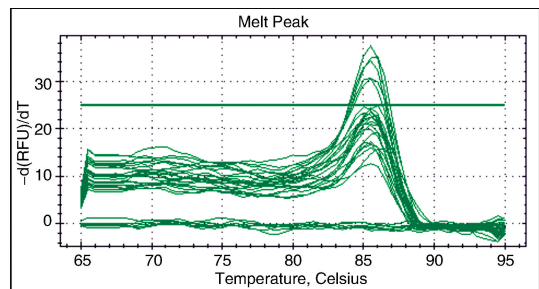
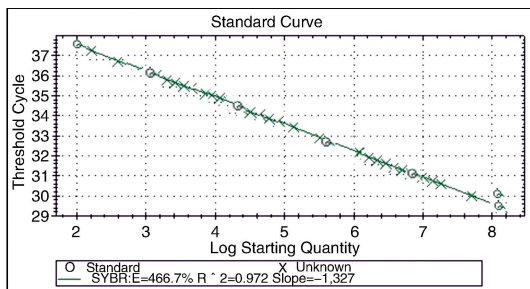


图 1. TNF 定量标准曲线的建立及样本的检测

左图:  $\circ$  为标准品,  $\times$  为待测样品。右图: TNF 熔解曲线。

Figure 1. The establishment of quantitative standard curve and the detection of sample for TNF

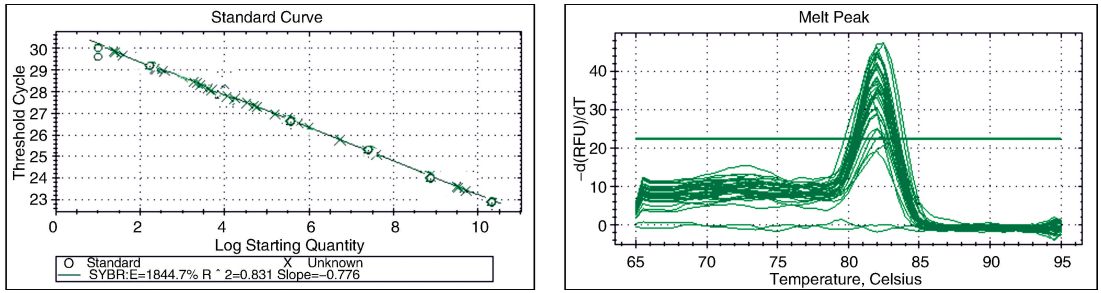


图 2. IL-1 定量标准曲线的建立及样本的检测 左图:○为标准品,×为待测样品。右图:IL-1 熔解曲线。

Figure 2. The establishment of quantitative standard curve and the detection of sample for IL-1

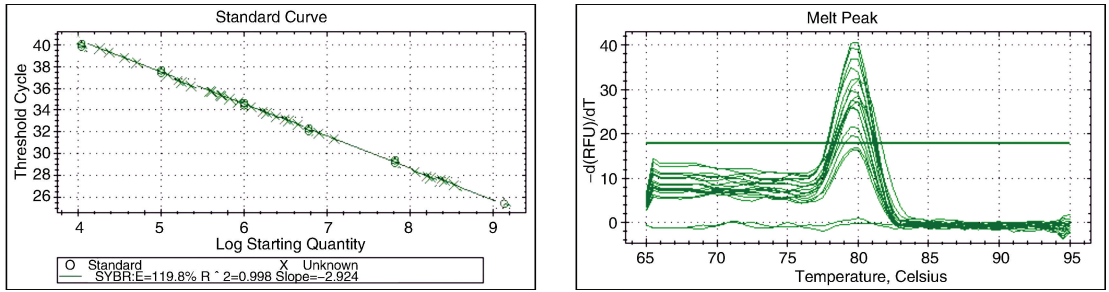


图 3. IL-6 定量标准曲线的建立及样本的检测 左图:○为标准品,×为待测样品。右图:IL-6 熔解曲线。

Figure 3. The establishment of quantitative standard curve and the detection of sample for IL-6

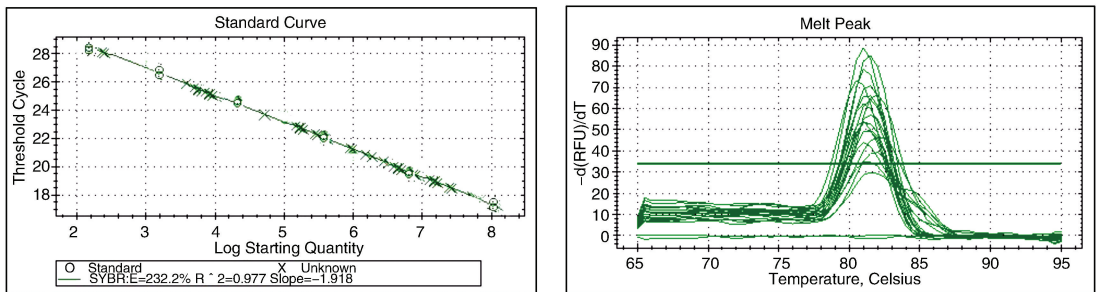


图 4. 内参照  $\beta$ -actin 定量标准曲线的建立及样本的检测 左图:○为标准品,×为待测样品。右图: $\beta$ -actin 熔解曲线。

Figure 4. The establishment of quantitative standard curve and the detection of sample for  $\beta$ -actin

在阴性对照未检测到荧光信号的情况下,未知样本中 TNF、IL-1 及 IL-6 的检出率达到 100%。根据 3 组各炎症因子分别与  $\beta$ -actin 相比的比值确定在各样本的表达水平,且在 3 组炎症因子中,他汀组、替硝唑组及联合组分别于对照组相比,所得数据均有统计学意义( $P < 0.05$ ;表 2)。单用阿洛伐他

汀及替硝唑对血管斑块中炎症因子 TNF、IL-1 及 IL-6 都有疗效,并且两药联合应用有很好的交互作用和协同作用,能加强疗效。说明单用阿洛伐他汀、替硝唑干预治疗兔动脉粥样硬化合并牙周炎均有效,两种药物联合干预治疗效果更佳( $P < 0.01$ )。

表 2. 4 组中 TNF、IL-1、IL-6 含量比较( $\bar{x} \pm s$ , mmol/L)

Table 2. Comparison of TNF, IL-1, IL-6 among four groups ( $\bar{x} \pm s$ , mmol/L)

| 分 组  | n  | TNF             | $F_1$  | $P_1$ | IL-1            | $F_2$ | $P_2$ | IL-6            | $F_3$ | $P_3$ |
|------|----|-----------------|--------|-------|-----------------|-------|-------|-----------------|-------|-------|
| 他汀组  | 12 | 1.57 $\pm$ 0.02 | 135.01 | 0.000 | 1.26 $\pm$ 0.03 | 95.90 | 0.000 | 1.43 $\pm$ 0.02 | 25.05 | 0.000 |
| 替硝唑组 | 12 | 1.62 $\pm$ 0.02 | 62.37  | 0.000 | 1.28 $\pm$ 0.02 | 73.18 | 0.000 | 1.54 $\pm$ 0.05 | 4.32  | 0.007 |
| 联合组  | 12 | 1.40 $\pm$ 0.07 | 15.95  | 0.000 | 1.04 $\pm$ 0.05 | 9.24  | 0.000 | 1.26 $\pm$ 0.02 | 84.91 | 0.000 |
| 对照组  | 12 | 2.67 $\pm$ 0.31 |        |       | 2.34 $\pm$ 0.03 |       |       | 1.61 $\pm$ 0.04 |       |       |

### 3 讨论

动脉粥样硬化被认为是动脉壁血管重塑的炎性病理过程,发生的重要病理变化在于血管内皮功能异常,而在内皮水平发生的炎症过程是冠心病动脉粥样硬化的起始和进展的重要因素,抑制炎症反应可以明显减轻动脉硬化的程度,从而延缓冠心病的发生发展<sup>[7,8]</sup>。德国 Ulm 大学医疗中心的学者认为任何来源的慢性炎症均与心血管风险增加相关<sup>[9]</sup>;而慢性牙周炎是最常见、也最容易被人们忽略的一种与之相关的炎症性疾病。Arbes 等<sup>[10]</sup>比较了冠心病与牙周疾病的相关性,发现随牙周疾病严重程度增加,发生冠心病的几率也相应增加。国内刘平等<sup>[11]</sup>的研究证实慢性牙周病和动脉粥样硬化具有密切的相关性,且影响动脉粥样硬化的病情,是其重要危险因素之一。

在众多的炎症因子中,TNF- $\alpha$  被认为是关键的炎症因子。TNF 不仅对多种肿瘤具有细胞毒作用,而且能够诱导干扰素  $\gamma$  (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ ) 的产生,可诱导 IL-1、IL-6、C 反应蛋白 (C-reactive protein, CRP) 的合成,及黏附分子的表达;增强单核细胞吞噬能力,刺激单核细胞、血管内皮细胞 (vascular endothelial cell, VEC) 及其他细胞产生多种炎症因子和趋化因子等。TNF 同时还能以自分泌的机制对产生的细胞进行有效的调节,是参与机体炎症与免疫应答调节的具有广泛影响的细胞因子,是细胞因子网络中的一个重要组成成员。其重要性主要在于 TNF- $\alpha$  不但启动早期炎症,而且维持炎症,加速 As 发生和发展过程<sup>[12,13]</sup>,在 As 的形成机制中起着关键作用。同样作为炎症因子之一的 IL-1 可刺激内皮细胞产生反应性氧分子,使血管通透性增加以及产生有细胞毒性的脂质过氧化物,并且还可刺激血管内皮细胞增殖,提高凝血酶原活性,促进中性粒细胞对血管壁的粘附及平滑肌细胞增生;在 As 形成的炎症反应过程中,IL-1 可以导致血管壁损伤、增厚、血栓形成。在细胞因子中,不可忽视的另一种炎症因子是 IL-6,IL-6 作为多功能炎性细胞因子的一种,是炎性介质网络的关键成份,在炎症反应中同样起着重要的作用,其增多也会进一步放大及加重炎症反应。

目前已证实他汀类药物的主要作用是调脂;其不仅具有调脂作用,还具有非调脂作用,如抑制斑块内炎症,降低基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP) 活性<sup>[14,15]</sup>。此外,他汀类药物还具有一些不可忽视的作用,就是抑制平滑肌细胞增殖,

促进新生血管形成,改善内皮功能,抑制血小板聚集及降低胰岛素抵抗等<sup>[16]</sup>。替硝唑作为治疗牙周炎的有效药物之一,其在体内消除很慢,维持有效血药浓度时间长,抗厌氧菌作用强,比同类药物甲硝唑疗效更高;不仅如此,替硝唑还有着毒性小、无溶血现象、对血管无刺激的优点。替硝唑作用机制为抑制病原体 DNA 合成,并能快速进入细胞内。临床实验显示替硝唑可减轻炎症反应,降低炎症标志物水平,缩小 As 斑块,减轻 As 程度<sup>[17]</sup>。缺血性心脏病患者应用替硝唑等抗生素治疗后可降低 CRP、IL-1、IL-6 等炎症因子水平,减少严重心血管事件发生率<sup>[18]</sup>。

本研究在预实验阶段曾沿用相关文献<sup>[19,20]</sup>中所采用的荧光定量 PCR 两步法,但总有引物二聚体的非特异峰产生。经提高退火温度后,非特异峰产生明显减少,但扩增效率显著降低。因此采用通用性好、成本相对较低、特异性强、敏感度高、操作方便的荧光定量 PCR 三步法技术进行 TNF、IL-1、IL-6 表达水平的检测。实验结果显示:用荧光定量 PCR 技术检测兔动脉粥样硬化合并牙周炎斑块的炎症因子 TNF、IL-1、IL-6 的表达量,发现联合 (阿洛伐他汀 + 替硝唑) 组 3 种因子的表达量最少,与单用阿洛伐他汀组和单用替硝唑组比较有统计学差别 ( $P < 0.05$ );而与对照组比较,单用阿洛伐他汀组和单用替硝唑组也有统计学差别 ( $P < 0.05$ )。结果提示,对动脉粥样硬化合并牙周炎的治疗不仅可以采用单一药物治疗,更推荐采用多药物、多途径、多环节干预;对动脉粥样硬化合并牙周炎患者采用联合药物干预治疗可能是降低冠心病风险的有效措施之一。

#### [参考文献]

- [1] Meurman JH, Sanz M, Janket SJ. Oral health, atherosclerosis, and cardiovascular disease [J]. Crit Rev Oral Biol Med, 2004, 15(6): 403-413.
- [2] De Stefano F, Anda RF, Kahn HS, et al. Dental disease and risk of coronary heart disease and mortality [J]. BMJ, 1993, 306(6879): 688-691.
- [3] 张美玲, 王苗伉, 彭成. 动脉粥样硬化动物模型研究进展 [J]. 四川动物, 2009, 28(5): 794-797.
- [4] 赵欣, 赵全明. 动脉粥样硬化动物模型研究进展 [J]. 医学研究杂志, 2010, 39(10): 15-18.
- [5] 葛金文, 刘吉勇, 朱惠彬, 等. 阿托伐他汀对动脉粥样硬化兔氧化应激/炎症反应影响 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2011, 19(12): 979-983.

(下转第 1078 页)

(上接第 1073 页)

- [6] 肖敏, 王玮, 党书毅, 等. 血管内皮生长因子 165 对实验性兔动脉粥样硬化斑块形成的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2005, 13(14): 421-423.
- [7] Ross R. Atherosclerosis is an inflammatory disease[J]. N Engl J Med, 1999, 340(2): 115-126.
- [8] Virella MF, Virella G. Immunological and microbiological factors in the pathogenesis of atherosclerosis[J]. Clin Immunol Immunopathol, 1985, 37(3): 377-386.
- [9] Spahr A, Klein E, Khuseynova N, et al. Periodontal infections and coronary heart disease: role of periodontal bacteria and importance of total pathogen burden in the coronary event and periodontal disease (COR-ODONT) study[J]. Arch Intern Med, 2006, 166(5): 554-559.
- [10] Arbes SJ, Slade GD, Beck JD. Association between extent of periodontal attachment loss and self-reported history of heart attack: an analysis of NHANES III data[J]. Dent Res, 1999, 78(12): 1777-782.
- [11] 刘平, 张运, 王苏加, 等. 冠状动脉粥样硬化性心脏病与牙周病的相关性[J]. 中国医学科学院学报, 2006, 28(2): 169-172.
- [12] 黄修献, 李利华, 吴新华. 血管内皮细胞与动脉粥样硬化[J]. 医学综述, 2010, 16(18): 2724-726.
- [13] 金惠铭, 刘清行, 张国平, 等. TNF- $\alpha$  对血管内皮细胞的损伤作用及其分子机制[J]. 中国病理生理杂志, 1999, 15(8): 765-765.

- [14] Brown BG, Zhao XQ. Importance of endothelial function in mediating the benefits of lipid-lowering therapy[J]. Am J Cardiol, 1998, 82(10B): 49T-52T.
- [15] Williams JK, Sukhova GK, Herrington DM, et al. Pravastatin has cholesterol lowering independent effects on the artery wall of atherosclerotic monkeys[J]. J Am Coll Cardiol, 1998, 31(3): 684-691.
- [16] 吴苏舒, 刘玉明, 陈静. 他汀类药物调脂的临床应用概况[J]. 药事实践杂志, 2007, 25(1): 4-6.
- [17] 刘京津, 管泽民. IL-6 及其与牙周炎的关系[J]. 实用诊断与治疗杂志, 2007, 21(8): 602-604.
- [18] Muhlestein JB, Anderson JL, Carlquist JF, et al. Randomized secondary prevention trial of azithromycin in patients with coronary artery disease: primary clinical results of the ACADEMIC study[J]. Circulation, 2000, 102(15): 1755-760.
- [19] Alvarez-Lafuente R, Aguilera B, Sudrez-Mier MA, et al. Detection of human herpesvirus-6, Epstein-Barr virus and cytomegalovirus in formalin-fixed tissues from sudden infant death: a study with quantitative real-time PCR[J]. Forensic Sci Int, 2008, 178(2-3): 106-111.
- [20] Choi JH, Chung YS, Kim KS, et al. Development of real-time PCR assays for detection and quantification of human bocavirus[J]. J Clin Virol, 2008, 42(3): 249-253.

(此文编辑 曾学清)