

不同低密度脂蛋白氧化模型中维生素 E 的抗氧化效率差异

周莉娜¹, 吴露¹, 许程洁², 项明伟¹, 宋健¹, 武军驻¹

(1. 武汉大学基础医学院, 湖北省武汉市 430071; 2. 四川省医学科学院 四川省人民医院检验科, 四川省成都市 610072)

[关键词] 主动氧化; 被动氧化; 低密度脂蛋白; 脂多糖; 氧自由基; 超氧化物歧化酶

[摘要] **目的** 探讨维生素 E (VE) 在不同低密度脂蛋白 (LDL) 氧化模型中抗氧化效率的差异, 并揭示 VE 在体外抗氧化效率不高的可能原因。**方法** 分别建立 LDL 主动氧化模型和被动氧化模型, 观察 LDL 与 VE 共刺激 0、12 h 以及脂多糖 (LPS) 与 VE 共刺激 0、3 h 后细胞内 α 防御素 (HNP-1) 蛋白及其 mRNA 水平的表达变化, 再通过检测羧基化蛋白 (PCO)、丙二醛 (MDA) 来判断 VE 是否干扰模型的建立。再将两种氧化模型分别设立氧化模型建立前、后加入 VE 以及 VE (-) 组, 最后检测不同时间点加入 VE 后 MDA、PCO 的变化以分析 VE 在不同模型中的抗氧化效率差异, 并观察细胞内氧自由基水平的波动以判断差异产生的可能原因。**结果** (1) 氧化模型中 HNP-1 mRNA 及其蛋白水平的表达均升高, MDA 和 PCO 的生成量也显著升高 ($P < 0.05$)。 (2) 主动氧化模型中不同时间点加入 VE 后 PCO 生成量无明显差异 ($P > 0.05$); 被动氧化前加 VE 组氧化产物生成量明显低于被动氧化后加 VE 组 ($P < 0.05$)。不同氧化模型的 MDA、PCO 生成量在氧化前加 VE 组和氧化后加 VE 组降低, 且被动氧化模型中下降幅度更加明显, 而 VE (-) 组含量变化趋势相同。 (3) 不同氧化模型中加入 VE, 均能够显著提高超氧化物歧化酶 (SOD) 活性; 能够降低自由基水平, 且在被动氧化前加 VE 组自由基水平降低更明显 ($P > 0.05$)。**结论** VE 的抗氧化效率在被动氧化模型中优于主动氧化模型, 与 VE 的加入时间、胞内自由基水平相关。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Antioxidative Efficiency of Vitamin E in Different LDL Oxidation Models of Atherosclerosis

ZHOU Li-Na¹, WU Lu¹, XU Cheng-Jie², XIANG Ming-Wei¹, SONG Jian¹, and WU Jun-Zhu¹

(1. School of Basic Medicine Sciences of Wuhan University, Wuhan, Hubei 430071, China; 2. Sichuan Academy of Medical Science & Inspection Department of Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu, Sichuan 610072, China)

[KEY WORDS] Active Oxidation Model; Passive Oxidation Model; Low Density Lipoprotein; Lipopolysaccharide; Oxygen Free Radicals; Super Oxide Dismutase

[ABSTRACT] **Aim** To detect the anti-oxidation efficiency of vitamin E in different low density lipoprotein (LDL) oxidation models and explore the possible reasons for low antioxidant efficiency of vitamin E. **Methods** The active LDL oxidation model and passive LDL oxidation model were established in CLR-1730 cell line respectively. After the co-stimulation with LDL and VE for 0 h, 12 h, and co-stimulation with LPS and VE for 0 h, 3 h, the mRNA and protein expression levels of human α -defensin-1 (HNP-1) were detected by using real time PCR and ELISA. We set up 3 different VE working groups: VE added before the oxidation model (pre-VE), vitamin E added after oxidation model (post-VE) and the control [VE (-)]. We detected malondialdehyde (MDA), protein carbonyl (PCO) and super oxide dismutase (SOD) to determine whether vitamin E interfere with the oxidation model. The level of oxygen free radicals in cells were observed by using flow cytometry and fluorescence microscopy. **Results** (1) The mRNA levels and protein levels of HNP-1 were increased in oxidation models ($P < 0.05$). (2) PCO detection among the three groups in active model showed no significant difference ($P > 0.05$); while in passive model the pre-VE and post-VE results were significantly low-

[收稿日期] 2013-12-23

[基金项目] 国家自然科学基金 (81170273); 国家大学生创新性实验计划项目 (201310486080); 武汉大学本科教学开放实验项目

[作者简介] 周莉娜, 八年制临床医学专业大四在读学生, E-mail 为 whuzhoulina@163.com。吴露, 八年制临床医学专业大四在读学生, E-mail 为 1479727708@qq.com。周莉娜和吴露对本文具有同等贡献。通讯作者武军驻, 博士, 教授, 研究方向为动脉粥样硬化的分子机制, E-mail 为 wujunzhu@whu.edu.cn。

er than the VE(-) ($P < 0.05$). PCO detection: the difference during pre-VE and post-VE in active model was not obvious, but both were significantly lower than the VE(-) ($P < 0.05$). SOD detection: pre-VE in active model was significantly higher than post-VE and VE(-) ($P < 0.05$). (3) In both oxidation models, the intracellular oxygen free radicals in the pre-VE and post-VE groups were higher than the control. **Conclusion** VE would not affect the establishment of active and passive oxidation models. The antioxidant efficiency of anti-lipid and protein oxidation is significantly different, while the activity of SOD were enhanced in both models.

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是心血管系统疾病最常见的病因^[1],但其发病机制及确切病因尚未完全明了^[2]。近年愈来愈多的研究结果表明,血脂代谢紊乱及氧化应激是 As 发生发展的重要危险因素^[3,4],而体内产生的自由基氧化修饰低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)是一系列 As 相关病理改变的关键。因此,临床上利用阻断 LDL 被氧化的途径这一方法来预防和治疗 As。维生素 E(vitamin E, VE)是目前研究最为成熟的抗氧化剂,其在体外具有明显抗氧化作用,但在临床抗氧化治疗上却不甚理想^[5-7]。目前一般认为 LDL 氧化修饰最可能发生在动脉内膜层,而且有结果显示在内皮细胞氧化 LDL 过程中随着氧化能力的增强,人 α 保护素(human alpha-defensin 1, HNP-1)的表达也逐渐升高^[8,9]。由于 LDL 在体内有着重要的生理功能,因此显然并不是所有的 LDL 都接受了氧化,为了解释到底哪些 LDL 需要被氧化,我们提出这样的假设: LDL 在体内以两种方式接受氧化,一是超过正常水平的 LDL 进入内皮下接受细胞的氧化,称之为主动氧化;另一种是体内为了对抗感染因素氧化能力提高导致正常水平的 LDL 发生氧化损伤,称之为被动氧化^[9]。本研究将分别用 LDL 与脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)刺激内皮细胞建立细胞氧化 LDL 的主动氧化与被动氧化模型,通过相关指标验证 VE 在不同氧化模型中的抗氧化效能,并初步探讨影响不同氧化模型中 VE 抗氧化效率的相关因素,以期寻找到导致 As 形成过程中 VE 抗氧化治疗效果不佳的可能原因,为 As 的抗氧化治疗提供新的研究思路。

1 材料与方法

1.1 细胞、细菌、质粒与试剂

CRL-1730 细胞由武汉大学基础医学院病理生理学实验室馈赠;内参质粒 pBS-T-18s rRNA、质粒 pBS-T-HNP-1、DH5 α Ecoli 均为本实验室保存;DMEM 培养基为 Gibco 产品;胎牛血清为 Hyclone 产品;VE、LPS 购自美国 Sigma 公司;丙二醛(malondialde, MDA)试剂盒、氧化物歧化酶(super oxide dls-

mutase, SOD)试剂盒购自南京建成生物工程公司;LDL 购自以色列 Pro Spec-Tany 公司;其他试剂均为国产分析纯。

1.2 细胞培养

CRL-1730 细胞用含 10% 胎牛血清的高糖 DMEM(含抗生素)培养基置于 37℃、5% CO₂ 饱和湿度条件下培养 1~2 天,待瓶底细胞长满 90% 左右传代,传代细胞用含 0.02% EDTA 的 0.25% 胰蛋白酶消化。

1.3 不同氧化模型的建立

根据实验室前期研究成果^[9]: LDL(100 mg/L)作用内皮细胞 12 h 后 HNP-1 的表达达到高峰, LPS(10 μ g/L)作用内皮细胞 3 h 后 HNP-1 表达达到峰值。将 LDL 作用 12 h 后的内皮细胞清洗干净后作为主动氧化模型重新加入相同浓度的 LDL;同时把 LPS 作用 3 h 后的内皮细胞清洗干净作为被动氧化模型重新加入相同浓度的 LDL。

1.4 实验分组

VE 分别于氧化模型建立前后加入,以观察不同时间点加入 VE 抗 LDL 氧化的效率是否存在差别。根据 VE 加入时间点的不同分为 3 个实验组:氧化前加 VE 组;氧化模型建立前加入 VE;氧化后加 VE 组;氧化模型建立后加入 VE;VE(-):不加 VE 组。VE 浓度采用预实验中取得抗氧化效果较理想的 25 mmol/L。

1.5 实时荧光定量 PCR 检测 HNP-1 mRNA 表达

将所有收集细胞 Trizol 法提取 RNA 后逆转录成 cDNA,根据 GenBank 中人 18s rRNA 基因序列和 HNP-1 基因序列,设计 3 对引物,对其进行评价和筛选,从中各选择出一对扩增这两个基因片段的引物 HNP-1 的引物序列。HNP-1 的引物序列为上游 5'-ATCCAGGCTCAAGGAAAAACATGGA-3',下游 5'-TCAGCAGCAGAATGCCCAGA-3'。18s rRNA 的引物序列为上游 5'-CGGCTACCACATCCAAGGAA-3',下游 5'-GCTGGAATTACCGCGGCT-3',以 18s rRNA 为内参检测 HNP-1 的表达。

1.6 ELISA 检测 HNP-1 蛋白表达

采用超声破碎细胞提取蛋白,用双位点夹心酶

联免疫吸附法(ELISA)按照说明书操作测定样品中人 HNP-1 蛋白水平表达。

1.7 不同时间点加入 VE 后氧化产物 MDA、羟基化蛋白的检测

选用生长良好的细胞,以无血清高糖 DMEM 培养基同步化 2 h,分别于氧化模型建立前后加入 VE,检测各组中氧化产物生成量的变化。MDA 含量测定方法按试剂盒说明书进行。在超声破碎细胞提取总蛋白后采用 Bradford 法测定蛋白浓度同时按 DNPH 比色法测定羟基化蛋白(PCO)含量。

1.8 SOD 活性的测定

超声破碎细胞提取总蛋白后 BCA 法测定蛋白浓度,同时按照试剂盒说明书检测 SOD 活性。

1.9 流式细胞术测定细胞内活性氧自由基

2',7'-二氯氢化荧光素乙二脂(H2DCFDA)自身不发光,可利用其脂溶性进入细胞,在细胞内酯酶作用下脱脂,产物自身不发光且对活性氧敏感,可被细胞内氧自由基氧化生成可发荧光的 2',7'-二氯荧光素(DCF),其生产量与胞内氧自由基的含量呈正相关。待模型建立成功后,均设立对照组与实验组。对照组为加入染料的空白对照;实验组包括氧化前加 VE 组、氧化后加 VE 组、VE(-)。模型建立成功后 15 min 收集细胞,收集前 0.5 h 加入染料 H2DCFDA,用温热 PBS 洗涤 2 次,通过流式细胞仪检测各组活性氧水平。

1.10 统计学处理

用统计分析软件 SPSS19.0 版进行统计学分析。每组实验重复 3 次,每次实验有 3 个重复值。实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间均数的比较用方差分析(q 检验),当 $P < 0.05$ 时,差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 VE 对氧化模型建立的影响

2.1.1 VE 对 LDL、LPS 刺激细胞 HNP-1 分子表达的影响 采用 RT-PCR 检测 VE 加入前后 LDL、LPS 刺激 CRL-1730 细胞 HNP-1 分子 mRNA 水平的表达,结果显示,未加 VE 时 LDL 刺激细胞 12 h、LPS 刺激细胞 3 h,及 VE 加入后 LDL 刺激细胞 12 h、LPS 刺激细胞 3 h,HNP-1 的表达水平均明显高于空白对照组($P < 0.05$,图 1)。

2.1.2 HNP-1 蛋白水平的表达变化 ELISA 试剂检测 VE 存在下 LDL、LPS 刺激不同时间点 HNP-1 的表达变化,结果显示 VE 存在下分别用 LDL、LPS 刺激细胞,HNP-1 蛋白表达量随着时间延长逐渐升高(图 2)。

2.1.3 VE 存在条件下相关氧化指标检测结果

分别用 100 mg/L LDL、10 μ g/L LPS 与 CRL-1730 细胞一起温育,同时加入 25 μ mol/L VE,LDL 组温育 12 h,LPS 组温育 3 h,结果显示 VE 对主动氧化模型和被动氧化模型建立无影响(表 1)。

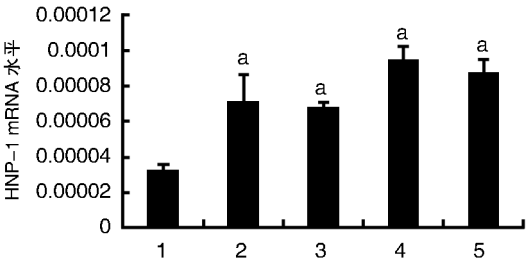


图 1. HNP-1 mRNA 水平表达 1 为空白对照组,2 为 LPS 刺激 3 h,3 为 LPS 和 VE 共同刺激 3 h,4 为 LDL 刺激 12 h,5 为 LDL 和 VE 共同刺激 12 h。a 为 $P < 0.05$,与空白对照组比较。

Figure 1. The mRNA levers of HNP-1

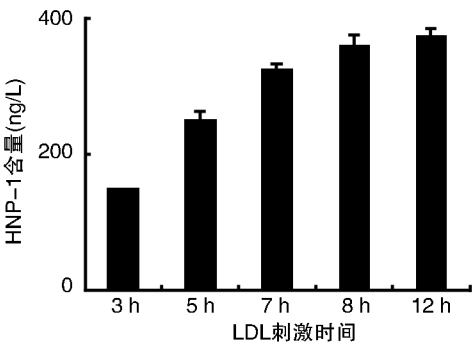
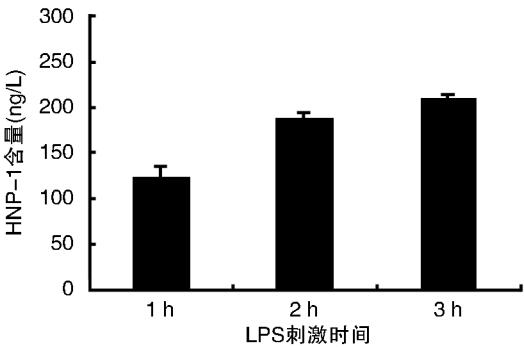


图 2. VE 存在下 LDL、LPS 刺激内皮细胞 HNP-1 表达变化
Figure 2. The expression of HNP-1 of culturing cells with VE and LDL/LPS

表 1. 不同刺激因素下氧化指标检测结果

Table 1. The results of different oxidation indicators under different stimulates

分 组	<i>n</i>	MDA($\mu\text{mol/L}$)	PCO(OD/mg)
空白对照组	3	1. 72 $\pm$ 0. 024	0. 12 $\pm$ 0. 002
LDL 组	3	2. 24 $\pm$ 0. 012 ^a	0. 41 $\pm$ 0. 003 ^a
LPS 组	3	2. 15 $\pm$ 0. 036 ^a	0. 23 $\pm$ 0. 008 ^a
LDL + VE 组	3	2. 36 $\pm$ 0. 011 ^a	0. 43 $\pm$ 0. 004 ^a
LPS + VE 组	3	2. 09 $\pm$ 0. 041 ^a	0. 22 $\pm$ 0. 002 ^a

a 为 $P < 0. 05$, 与空白对照组比较。

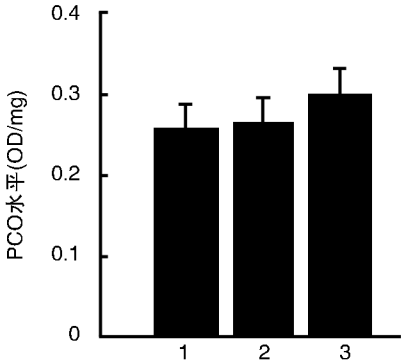
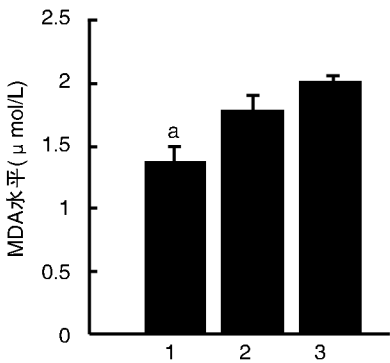


图 3. 主动氧化模型建立前后加入 VE 对 MDA 和 PCO 生成量的影响 1 为氧化前加 VE 组,2 为氧化后加 VE 组,3 为 VE(-)组。

a 为 $P < 0. 05$, 与 VE(-)组比较。

Figure 3. The influence of accession to the VE before and after active oxidation model established on MDA and PCO generation

2.2.2 被动氧化模型建立前后加入 VE 对 MDA 和 PCO 生成量的影响 被动氧化模型中 LPS 刺激细胞 3 h 清洗后加入 LDL,与内皮细胞 CRL-1730 共同孵育 3 h 收集培养基分别检测 MDA、PCO 生成量,

结果显示,被动氧化模型中,氧化前加 VE 组和氧化后加 VE 组 MDA 与 PCO 生成量均明显低于 VE(-)组(图 4; $P < 0. 05$),且氧化前加 VE 组较氧化后加 VE 组降低更明显($P < 0. 01$)。

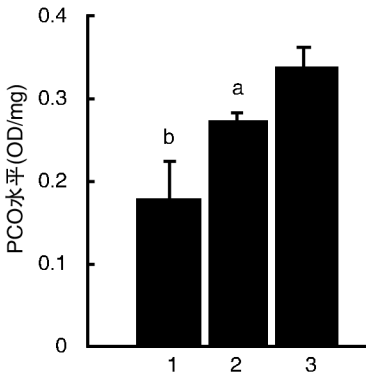
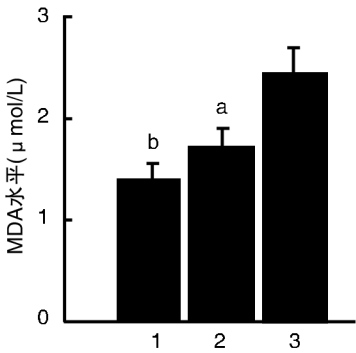


图 4. 被动氧化模型建立前后加入 VE 对 MDA、PCO 生成量的影响 1 为氧化前加 VE 组,2 为氧化后加 VE 组,3 为 VE(-)组。a 为 $P < 0. 05$,b 为 $P < 0. 01$,与 VE(-)组比较。

Figure 4. The influence of accession to the VE before and after passive oxidation model established on MDA and PCO generation

2.3 VE 在不同氧化模型中抗氧化效率差异的原因

2.3.1 SOD 活性测定结果 不同氧化模型建立成功后 3 h 收集细胞,分别检测氧化前加 VE 组、氧化后加 VE 组和 VE(-)组 SOD 活性,结果显示主

动氧化和被动氧化模型中,氧化前加 VE 组和氧化后加 VE 组 SOD 活性均高于 VE(-)组,且被动氧化模型中氧化前加 VE 组与氧化后加 VE 组间差异也有显著性(表 2)。

表 2. 不同氧化模型中 SOD 活性(kU/g)
Table 2. SOD activity in different oxidation model(kU/g)

分 组	主动氧化模型	被动氧化模型
VE(-)组	121.67 ± 14.72	156.42 ± 8.01
氧化前加 VE 组	212.94 ± 17.03 ^a	178.34 ± 8.15 ^a
氧化后加 VE 组	233.87 ± 15.04 ^a	197.24 ± 10.32 ^{ab}

a 为 $P<0.05$,与 VE(-)组比较;b 为 $P<0.05$,与氧化前加 VE 组比较。

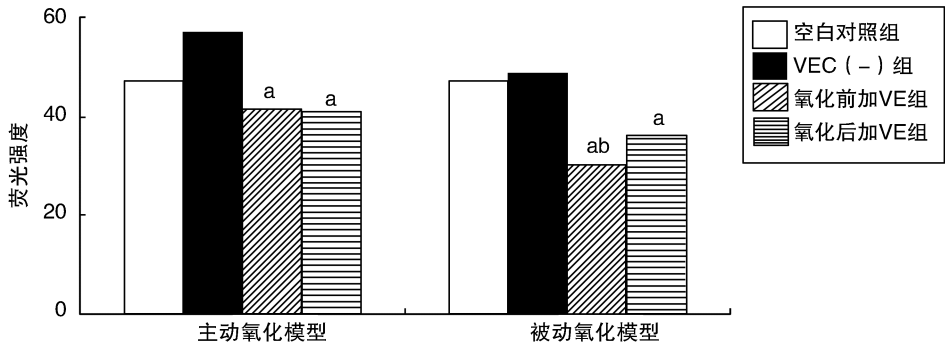


图 5. 流式细胞仪检测 ROS 结果 a 为 $P<0.05$,与 VE(-)组比较;b 为 $P<0.05$,与氧化后加 VE 组比较。
Figure 5. The level of oxygen free radicals in cells were observed using flow cytometry

3 讨 论

近年来 LDL 氧化在 As 形成及发展中的作用得到广泛关注^[10],抗氧化治疗在临床上已普及多年,却不能明显降低 As 的发病率或病死率。不少学者(如 Niki^[11])认为 As 抗氧化治疗之所以疗效微乎其微主要有两方面原因。一方面 LDL 的氧化是一个复杂的过程,导致 LDL 氧化的除了氧自由基以外可能还包括一些非自由基的氧化剂,另一方面临床给予抗氧化剂治疗的时间往往是在病变已经形成时,甚至已经出现了比较明显的临床症状,有研究者曾做动物实验也未能到到预期效果,其原因便是动物模型所产生的斑块时间短,而人体的动脉粥样斑块存在时间较长,参与因素复杂,因此短时间内或者单因素干预无法取得有意义的结果^[12]。

早期研究显示,VE 可减慢 LDL 被氧化进程,从而改善内皮损伤和泡沫细胞形成^[13]。基于上述信息,本研究创造性地通过建立主动氧化模型和被动氧化模型来分别模拟临床长期病因积累导致的 As 中 LDL 被氧化过程以及由于急性因素(如感染等)氧化应激导致的 LDL 被氧化,通过实验证实并探索研究两种不同氧化模型中 VE 抗氧化效率的差异,为临床与实验室抗氧化差异的原因探讨提供参考。

我们通过对 VE 在不同氧化模型中的抗氧化效

2.3.2 细胞活性氧测定结果 不同氧化模型建立成功后,待内皮细胞与 LDL 共同孵育 15 min 后收集细胞,通过流式细胞仪检测细胞内的荧光强度以表示细胞活性氧(ROS)。结果显示,主动氧化模型和被动氧化模型中氧化前加 VE 组、氧化后加 VE 组荧光强度均高于 VE(-)组($P<0.05$),且被动氧化模型中荧光强度氧化前加 VE 组明显低于氧化后加 VE 组($P<0.05$;图 5)。

率差异进行验证和相关分析。首先,相关氧化产物(脂质氧化指标 MDA、蛋白氧化指标 PCO)的生成量及 HNP-1 在 mRNA 和蛋白水平表达量在同时加有 LDL 和 VE,或同时加有 LPS 和 VE 中与单独 LDL 刺激或单独 LPS 刺激无明显变化,表明 VE 并不会影响氧化模型的建立。但进一步的研究结果显示,在主动氧化模型中,不同时间点加入 VE,细胞的氧化产物生成量差异无显著性,即 VE 在主动氧化模型中的抗氧化效率并不明显。相反,在被动氧化模型中,VE 的加入能够明显降低脂质和蛋白氧化产物水平,且降低程度与 VE 加入时间有关,这一结果表明 VE 在被动氧化模型中的抗氧化效率显著,而且早期加入 VE 抗氧化效率高于模型建立成功后加入。我们得出结论:在体内,过量 LDL 导致的内皮细胞氧化过程中,VE 并不能有效地抗氧化;而对于由 LPS 引起的被动氧化过程,VE 则能够有效地抗氧化。

为进一步研究 VE 在不同氧化模型中抗氧化效率的差异,我们设计通过检测细胞内 ROS 水平^[14]的波动及胞内 SOD 活性进行初步探究。结果显示在被动氧化模型中,VE 抗氧化效率较强的原因并非李爱阳等^[15]所提到的 VE 可提高 SOD 活力。而 ROS 的含量在被动氧化模型中于模型建立前加入 VE 低于模型建立后加入,显示其在急性感染中可有较强的预防作用,这与临床上运动员在有氧运

动前服用 VE 预防运动所致的氧化应激相符^[16]。而在主动氧化模型中在氧化模型建立前或建立后加入 VE,ROS 的含量没有显著差异,提示 VE 可能在慢性疾病中的抗氧化预防与治疗作用等效。主动、被动氧化模型中模型建立前后加入 VE 均与未加入 VE 组差异有显著性,提示 VE 可通过减少 ROS 的产生起到抗氧化作用。Nakamura 等^[17]提出 VE 至少通过 PPAR γ 和 NF- κ B 两种对氧化还原反应敏感的转录因子调节 ROS 的产生。VE 可能直接(通过清除自由基和过氧化物)或间接(调节影响 ROS 产生的基因等)控制氧化还原进程,但其作用具有两面性,即促氧化与抗氧化,其作用方向取决于所处微环境,如其浓度、与氧化剂浓度的比例等^[18]。本研究发现在被动氧化模型建立前加入 VE 更能有效地抗氧化,提示 VE 调控氧化还原反应的效率与其加入时间有关。Behtash 等^[19]研究发现冠状动脉狭窄的女性平均血清 VE 浓度低于正常值,与本研究的结果相一致。

VE 抗氧化作用的最优条件有待于进一步探索。而其在主动氧化模型中抗氧化效率较低的具体机制,则可作为临床提高 VE 抗氧化效率以早期治疗 As 的研究靶点,目前尚有待于深入研究。

综上所述,VE 不会影响主、被动氧化模型的建立,其在两种氧化模型中的抗氧化效率有很大差别,被动氧化模型中的抗氧化效果优于主动氧化模型,且被动氧化模型早期加入 VE 抗氧化效率高于模型建立成功后加入,此差异与其加入时间、胞内自由基水平相关。在主动氧化模型建立过程中氧化微环境的改变使得 VE 抗氧化效率低,找到这些改变因素对于改善主动氧化模型中 VE 的抗氧化作用有重要意义,从而为临床早期治疗 As 提供新的研究线索。

[参考文献]

[1] Moreno JJ, Teresa Mitjavila M. The degree of unsaturation of dietary fatty acids and the development of atherosclerosis (review) [J]. J Nutr Biochem, 2003, 14(4): 182-195.

[2] Yoshida H, Kisugi R. Mechanisms of LDL oxidation[J]. Clin Chim Acta, 2010, 411(23): 1 875-882.

[3] Pasquali SK, Li JS. Prevention of future cardiovascular disease in high-risk pediatric patients a role for lipid lowering therapy[J]. Circ Cardiovasc Qual Outcomes, 2008, 1(2): 131-133.

[4] Patel RS, Al Mheid I, Morris AA, et al. Oxidative stress is associ-

ated with impaired arterial elasticity [J]. Atherosclerosis, 2011, 218(1): 90-95.

[5] Traber MG, Frei B, Beckman JS. Vitamin E revisited: do new data validate benefits for chronic disease prevention[J]. Curr Opin Lipidol, 2008, 19(1): 30-38.

[6] Dotan Y, Pinchuk I, Lichtenberg D, et al. Decision analysis supports the paradigm that indiscriminate supplementation of vitamin E does more harm than good [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2009, 29(9): 1 304-309.

[7] Cordero Z, Drogan D, Weikert C, et al. Vitamin E and risk of cardiovascular diseases: a review of epidemiologic and clinical trial studies[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2010, 50(5): 420-440.

[8] He C, Huang R, Du F, et al. LDL oxidation by THP-1 monocytes: implication of HNP-1, Sg III and DMT-1 [J]. Clin Chim Acta, 2009, 402(1): 102-106.

[9] Fen D, Lingyan P, Chunyan H, et al. Involvement of HNP-1 in different oxidation mechanisms in human endothelial cells [J]. Eur J Lipid Sci Tech, 2011, 113(4): 430-435.

[10] Barford ET, Moore AL, Roe MW, et al. Ca²⁺-activated IK1 channels associate with lipid rafts upon cell swelling and mediate volume recovery[J]. J Biol Chem, 2007, 282(12): 8 984-993.

[11] Niki E. Do free radicals play causal role in atherosclerosis? Low density lipoprotein oxidation and vitamin E revisited[J]. J Clin Biochem Nutr, 2011, 48(1): 3.

[12] 王玉红, 王玉起, 李万福, 等. 维生素 E 联合维生素 C 对颈动脉粥样斑块的干预作用研究[J]. 中国全科医学, 2013, 16(5): 526-527.

[13] Witztum JL, Steinberg D. Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis[J]. J Clin Invest, 1991, 88(6): 1 785.

[14] 陈伟, 林映才, 马现永, 等. 一些抗氧化剂的抗/促氧化作用及其机制[J]. 动物营养学报, 2012, 24(4): 595-605.

[15] 李爱阳, 吴丽萍, 郭丽君, 等. 维生素 E 对实验性动脉粥样硬化家兔血液流变学的影响[J]. 白求恩医科大学学报, 2000, 26(2): 155.

[16] Garehnabi M, Veledar E, White-Welkley J, et al. Vitamin E differentially affects short term exercise induced changes in oxidative stress, lipids, and inflammatory markers[J]. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2012, 22(10): 907-913.

[17] Nakamura YK, Omaye ST. α -Tocopherol modulates human umbilical vein endothelial cell expression of Cu/Zn superoxide dismutase and catalase and lipid peroxidation [J]. Nutr Res, 2008, 28(10): 671-680.

[18] Nakamura YK, Omaye ST. Vitamin E-modulated gene expression associated with ROS generation[J]. J Func Foods, 2009, 1(3): 241-252.

[19] Behtash N, Nazarikhorasgani Z, Jalali T, et al. Serum vitamin E levels and risk for coronary arteries atherosclerosis [J]. Toxicol Letters, 2012, 211: S212.

(此文编辑 许雪梅)