

· 实验研究 ·

[文章编号] 1007-3949(2016)24-09-0914-05

姜黄素诱导急性高脂血症大鼠动脉核因子 E2 相关因子 2 表达

刘娇¹, 王绵², 刘品力², 辛思旭², 刘博研²

(1. 秦皇岛市第一医院风湿免疫科, 河北省秦皇岛市 066000; 2. 河北医科大学第二医院内分泌科, 河北省石家庄市 050000)

[关键词] 姜黄素; 急性高脂血症; 阿托伐他汀; 核因子 E2 相关因子 2; 氧化应激

[摘要] **目的** 观察姜黄素对急性高脂血症大鼠血脂、血管内皮功能及氧化应激状态的影响, 探讨其抗氧化作用与核因子 E2 相关因子 2(Nrf2) 表达水平的关系。**方法** 将雄性 SD 大鼠随机分为 5 组, 即正常对照组、高脂组、姜黄素低剂量组[125 mg/(kg·d)]、姜黄素高剂量组[250 mg/(kg·d)]、阿托伐他汀组[(2.1 mg/(kg·d))]. 正常对照组、高脂组用给药溶质玉米油预处理, 其他组用相应药物预处理。预处理 10 天后采用腹腔注射蛋黄乳液的方法建立急性高脂血症大鼠模型, 腹腔注射 24 h 后测定血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL)、氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)、一氧化氮(NO)、超氧化物歧化酶(SOD)活力, 同时留取主动脉组织测定丙二醛(MDA)含量及行病理学检查。**结果** 与正常对照组比较, 高脂组 TC、TG、LDL、ox-LDL、MDA 和 Nrf2 的表达升高, SOD 活力、NO 含量降低。与高脂组比较, 高、低剂量姜黄素组及阿托伐他汀组 TC、TG、ox-LDL、MDA 降低, Nrf2、SOD 活力、NO 含量增加。高剂量姜黄素组上述作用优于低剂量姜黄素组。**结论** 姜黄素通过降低血脂及诱导 Nrf2 的表达, 提高主动脉的抗氧化能力, 发挥内皮保护作用。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Curcumin Induces the Expression of Nuclear Factor E-2-Related 2 on Aorta of Rats with Acute Hyperlipidemia

LIU Jiao¹, WANG Mian², LIU Pin-Li², XIN Si-Xu², and LIU Bo-Yan²

(1. Department of Rheumatology and Immunology, the First Hospital of Qinhuangdao, Qinhuangdao, Hebei 066000, China; 2. Department of Endocrinology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei 050000, China)

[KEY WORDS] Curcumin; Acute Hyperlipidemia; Atorvastatin; Nuclear Factor E-2-Related 2; Oxidative Stress

[ABSTRACT] **Aim** To observe the effects of curcumin on blood lipid, endothelial function and oxidative stress of acute hyperlipidemia model rats, and to investigate the relationship between antioxidative effect and the expression of nuclear factor E-2-related 2(Nrf2). **Methods** Forty healthy male Sprague Dawley rats were randomly divided into normal control group, hyperlipidemia model group, high-dose curcumin group (250 mg/(kg·d)), low-dose curcumin group (125 mg/(kg·d)) and atorvastatin intervention group (2.1 mg/(kg·d)). The rats in normal control group and hyperlipidemia model group were gavaged with corn oil, rats in other groups were gavaged with high dose curcumin, low dose curcumin and atorvastatin respectively for 10 days. The acute hyperlipidemia model was established by intraperitoneal injection of yolk emulsion 1 hour after the last gavage. Serum total cholesterol(TC), triglyceride(TG), low density lipoprotein cholesterol(LDL), oxygenized low density lipoprotein(ox-LDL), nitric oxide(NO), superoxide dismutase(SOD) activity were measured 24 hours after intraperitoneal injection, while malondialdehyde(MDA) content and pathological examination of aorta tissue were determined. **Results** Compared with the normal control group, the serum TC, TG, LDL and ox-LDL increased in the rats of model group; SOD activity and NO content reduced, MDA content and expression of Nrf2 in the aorta tissue increased. Compared with the model group, serum TC, TG, ox-LDL and MDA content of aorta tissue was obviously decreased in high-dose curcumin group, low-dose curcumin group and atorvastatin intervention group, serum SOD activity, NO level and Nrf2 expression in aorta tissue increased. **Conclusion** Curcumin may play the role of

[收稿日期] 2015-07-30

[修回日期] 2015-10-28

[基金项目] 河北医科大学第二医院科学研究项目(02h0201328)

[作者简介] 刘娇, 硕士, E-mail 为 liujiao0708@foxmail.com。通讯作者王绵, 博士, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向为糖尿病及慢性并发症, E-mail 为 wangmian66@sina.com。

endothelial protection through improving the antioxidant capacity of the aorta by lowering blood lipid and inducing the expression of Nrf2.

随着人们生活方式和饮食结构的改变,高脂血症(hyperlipidemia, HLP)发病率逐年升高。高脂血症能增加动脉壁细胞内自由基释放系统的活性,损伤动脉壁抗氧化机能,导致血管内皮损伤,引起内皮形态及功能异常,终致动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)形成。对高脂血症进行干预对预防心脑血管疾病具有积极意义,尤其是在临床症状出现前的早期病理阶段积极、有效控制致病因素,将延缓或阻止无症状 As 发展成临床心血管疾病。本研究通过对急性高脂血症大鼠预防性应用降脂通络软胶囊姜黄素,观察其对急性高脂血症大鼠血脂、血管内皮功能及氧化应激状态的影响,探讨姜黄素对血管内皮的作用与抗氧化及核因子 E2 相关因子 2(nuclear factor E-2-related 2, Nrf2)的关系。

1 材料与方法

1.1 实验动物与试剂

健康清洁级雄性 SD 大鼠,体质量 200 ± 20 g,购于河北医科大学实验动物中心(合格证编号 1412019),自由取食饮水,室温控制在 $20 \sim 25^{\circ}\text{C}$,湿度控制于 $55\% \sim 65\%$ 。姜黄素类化合物(半成品,降脂通络软胶囊灌装前油剂,神威药业),阿托伐他汀钙片(辉瑞制药有限公司),市售新鲜鸡蛋,市售食用玉米油,丙二醛(malondialdehyde, MDA)检测试剂盒、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)检测试剂盒、一氧化氮(nitric oxide, NO)检测试剂盒(南京建成科技有限公司),大鼠氧化型低密度脂蛋白(oxygenized low density lipoprotein, ox-LDL)ELISA 试剂盒(上海西唐生物科技有限公司),大鼠 Nrf2 抗体(艾菲生物技术有限公司),BAD 显色试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司)。

1.2 急性高脂血症模型的建立和动物分组

将 40 只健康雄性 SD 大鼠适应性喂养 1 周后,随机分为正常对照组、高脂组、高剂量姜黄素组、低剂量姜黄素组以及阿托伐他汀组,每组 8 只大鼠。高剂量、低剂量姜黄素组分别每日以姜黄素 $250 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 和 $125 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 灌胃预处理^[1-2],高脂组和正常对照组以玉米油 $2.5 \text{ mL}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 灌胃预处理,阿托伐他汀组以阿托伐他汀 $2.1 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 灌胃预处理。以上各组均处理 10 天。采用末次

处理后 1 h 腹腔注射蛋黄乳液($25 \text{ mL}/\text{kg}$)的方法建立急性高脂血症大鼠模型,正常对照组则腹腔注射生理盐水($25 \text{ mL}/\text{kg}$)。

1.3 取材

腹腔注射 24 h 后断尾取血(取血前 10 h 禁食水),分离血清, -20°C 保存,用于检测总胆固醇(total cholesterol, TC),甘油三酯(triglyceride, TG),低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)、ox-LDL、NO、SOD 活力。然后以 4% 水合氯醛($10 \text{ mL}/\text{kg}$)腹腔注射麻醉大鼠,迅速打开腹腔,取下同一部位长约 2 cm 主动脉。一部分用于制作冰冻切片,供 HE 染色和免疫组织化学染色。一部分剥离动脉外膜后, -80°C 冻存,用于检测 MDA 含量。

1.4 血脂、血糖和 ox-LDL、NO、SOD 活力检测

于河北医科大学第二医院检验科采用全自动生化仪测定 TC、TG、LDLC。用 ELISA 法测定 ox-LDL 含量,硝酸还原酶法测定 NO 含量,黄嘌呤氧化酶法测定 SOD 活力,按试剂盒说明书严格操作。

1.5 主动脉 MDA 含量测定

冰浴下制备 5% 组织匀浆,按照试剂盒说明采用双缩脲法测定蛋白浓度,TBA 法测定组织匀浆 MDA 含量。

1.6 主动脉 HE 染色和免疫组织化学染色

取 0.5 cm 主动脉,制作厚 $5 \mu\text{m}$ 冰冻切片。① HE 染色:苏木素、伊红套染,常规脱水,树脂封片。② 免疫组织化学染色:每个标本取 3 张切片,3% 双氧水甲醇溶液常温孵育 45 min, PBS 洗 2 次,每次 5 min,封闭,加 Nrf2 一抗, 37°C 孵育 60 min, PBS 洗 2 次,加辣根过氧化物酶二抗, 37°C 作用 25 min, PBS 洗 2 次,滴加链霉亲和素-过氧化物酶, 37°C 作用 25 min, PBS 洗 2 次,加 BAD 镜下观察显色约 1 min 观察结果。苏木素套染,常规脱水,树脂封片。棕黄色颗粒状产物为阳性标记。在放大倍数相同的视野中,选取大小相同的不同区域,计数阳性细胞后进行统计学分析。

1.7 统计学分析

采用 SPSS13.0 统计学软件进行统计学分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间数据比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 急性高脂血症模型的建立和 HE 染色结果

在造模 24 h 后,高脂组大鼠 TC、TG 和 LDLC 与正常对照组比较明显升高,分别升高约 7 倍、38 倍和 6 倍,差异有统计学意义($P < 0.05$;表 1)。HE 染色显示高脂组大鼠动脉内膜不连续,局部隆起,部分脱落,中膜平滑肌细胞及弹力纤维排列紊乱,外

膜未见异常,而正常对照组大鼠动脉内膜和外膜均连续光滑(图 1)。

2.2 姜黄素对急性高脂血症大鼠血脂的影响

与高脂组比较,血清 TC、TG 在高剂量姜黄素组和阿托伐他汀组明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),低剂量姜黄素组虽较高脂组降低,但差异无统计学意义(表 1)。

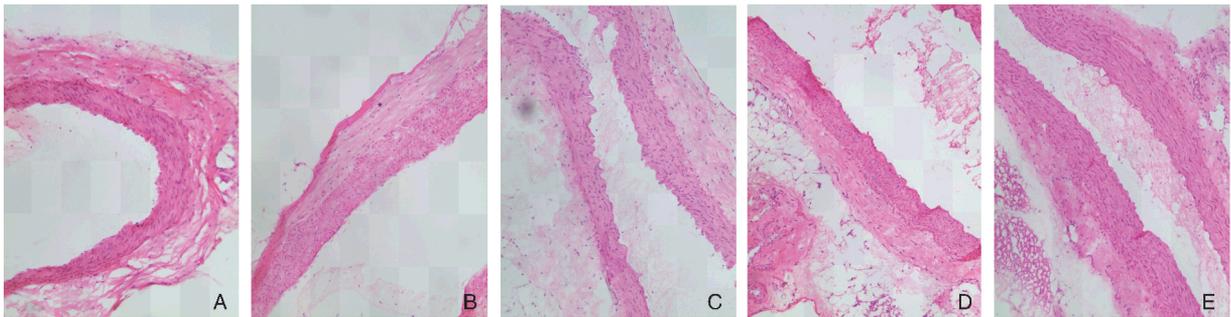


图 1. 主动脉 HE 染色结果(100×) A 为正常对照组,B 为高脂组,C 为低剂量姜黄素组,D 为高剂量姜黄素组,E 为阿托伐他汀组。

Figure 1. HE staining results of the abdominal aorta in different groups(100×)

表 1. 各组血脂水平($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

Table 1. The blood lipid levels of the rats in different groups ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

分 组	TC	TG	LDLC
正常对照组	1.35±0.19	0.55±0.15	0.38±0.10
高脂组	10.34±4.24 ^a	20.97±15.85 ^a	2.49±0.88 ^a
低剂量姜黄素组	8.11±3.28 ^a	15.12±8.59 ^a	2.08±0.76 ^a
高剂量姜黄素组	4.75±4.07 ^{ab}	8.13±6.98 ^b	1.58±1.15 ^a
阿托伐他汀组	5.42±2.60 ^{ab}	9.19±4.88 ^b	1.57±0.68 ^a

a 为 $P < 0.05$,与正常对照组比较;b 为 $P < 0.05$,与高脂组比较。

2.3 姜黄素对急性高脂血症大鼠血清 ox-LDL、NO、SOD 活力及主动脉 MDA 含量的影响

与正常对照组比较,高脂组血清 ox-LDL、主动脉组织 MDA 含量明显升高,SOD 活力、NO 含量降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与高脂组比较,高剂量姜黄素组、低剂量姜黄素组和阿托伐他汀组血清 ox-LDL、主动脉组织 MDA 含量明显降低($P < 0.05$),血清 SOD 活力、NO 含量则明显升高($P < 0.05$),高剂量姜黄素组上述作用优于低剂量姜黄素组,但与阿托伐他汀组比较未见显著性差异(表 2)。

表 2. 各组血清 ox-LDL、主动脉 MDA 含量、血清 SOD 活力及 NO 含量($\bar{x} \pm s$)

Table 2. The serum ox-LDL content, MDA content of abdominal aorta, serum SOD activity and NO content of rats in different groups($\bar{x} \pm s$)

分 组	SOD(kU/L)	MDA(nmol/mg)	NO(μ mol/L)	ox-LDL(mU/L)
正常对照组	161.53±10.43	0.64±0.23	42.29±9.52	10.55±4.83
高脂组	116.81±21.76 ^a	1.94±0.77 ^a	23.18±4.04 ^a	23.39±5.25 ^a
低剂量姜黄素组	134.35±15.43 ^{ab}	1.24±0.62 ^{ab}	47.92±16.18 ^b	16.08±7.75 ^b
高剂量姜黄素组	150.16±8.34 ^{abc}	0.55±0.28 ^{bed}	69.79±28.54 ^{abcd}	11.96±5.67 ^{bc}
阿托伐他汀组	151.53±7.26 ^{bc}	0.95±0.34 ^b	43.19±9.56 ^b	9.82±4.46 ^{bc}

a 为 $P < 0.05$,与正常对照组比较;b 为 $P < 0.05$,与高脂组比较;c 为 $P < 0.05$,与低剂量姜黄素组比较;d 为 $P < 0.05$,与阿托伐他汀组比较。

2.4 主动脉 Nrf2 免疫组织化学染色结果

正常对照组动脉壁及内膜下可见少量 Nrf2 阳性细胞,高脂组 Nrf2 表达明显高于正常对照组。高

剂量姜黄素组、低剂量姜黄素组和阿托伐他汀组 Nrf2 表达均有不同程度增加,均高于高脂组,高剂量姜黄素组上述作用优于低剂量姜黄素组和阿托

伐他汀组($P<0.05$;图 2 和表 3)。

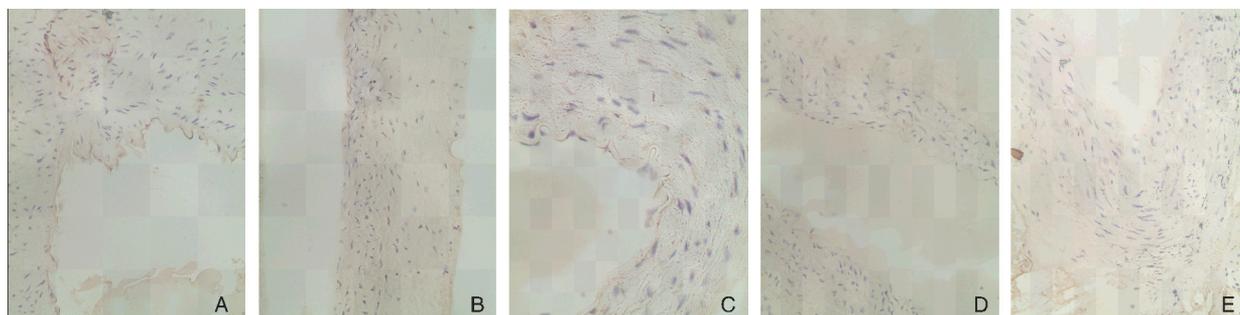


图 2. 主动脉 Nrf2 免疫组织化学染色结果(200×) A 为正常对照组, B 为高脂组, C 为低剂量姜黄素组, D 为高剂量姜黄素组, E 为阿托伐他汀组。

Figure 2. Results of immunohistochemical staining of Nrf2 in abdominal aorta(200×)

表 3. 各组主动脉 Nrf2 阳性细胞数($\bar{x}\pm s$)

Table 3. The number of Nrf2 positive cells of abdominal aorta in different groups($\bar{x}\pm s$)

分 组	Nrf2 阳性细胞数
正常对照组	8.50±1.30
高脂组	12.25±1.27 ^a
低剂量姜黄素组	20.75±1.71 ^{ab}
高剂量姜黄素组	30.25±1.29 ^{abcd}
阿托伐他汀组	18.50±1.29 ^{ab}

a 为 $P<0.05$, 与正常对照组比较; b 为 $P<0.05$, 与高脂组比较; c 为 $P<0.05$, 与低剂量姜黄素组比较; d 为 $P<0.05$, 与阿托伐他汀组比较。

3 讨 论

高脂血症是导致动脉粥样硬化性疾病的最主要风险因素。我国成人血脂防治指南中指出:血清胆固醇水平下降 1%, 冠心病的发生率则下降 2%^[3]。尽早进行干预对预防心脑血管疾病具有积极意义, 尤其是在临床症状出现前的早期病理阶段积极、有效控制致病因素, 将延缓或阻止无症状 As 发展成临床心血管疾病。

目前科研中制造高脂血症模型的方法有:高脂饲料饲喂法/灌胃脂肪乳;腹腔注射 Triton WR. 1339;腹腔注射蛋黄乳。为了研究高脂血症初期的氧化应激变化及病理损伤, 我们倾向于采用急性高脂血症模型。与腹腔注射 Triton WR. 1339 法比较, 腹腔注射蛋黄乳从原理上更接近饲喂法, 且材料易获取, 费用低廉, 所以本研究采用了腹腔注射蛋黄乳的方法。此法已于国内研究中多次应用, 主要用于降脂药物的筛选^[4-5]。本研究中高脂组大鼠血清 TC、TG、LDLC、ox-LDL 水平升高。血清中 TC、TG、LDLC 升高已被证实与 As 有关, 可增加患冠心病和

脑卒中的风险。血清 ox-LDL 水平升高也可以促进动脉斑块形成, 而 HDLC 因可将胆固醇转运至肝脏进行代谢, 可降低患冠心病和脑卒中的风险^[6]。因此, 高脂组大鼠较正常对照组具有较高 As 风险。这与长期饲喂法制造的高脂血症模型一致^[7], 而大鼠血脂升高时间不超过 24 h, 属于血脂升高初期阶段, 符合研究初衷。

姜黄素是一种从姜黄根茎中提取的黄色色素, 近年来对其研究日趋广泛, 在临床上广泛应用于治疗高脂血症、肿瘤、肥胖、糖尿病等多种疾病^[8-10]。本研究所应用姜黄素为降脂通络软胶囊灌装胶囊前油剂, 含姜黄素类化合物的浓度为 56.97%±1.43%, 是已经上市的药物, 临床用于治疗高脂血症, 但其对动脉内皮功能、抗氧化以及预防 As 的研究则有限。

活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)是生命活动过程中产生的中间产物, 具有高反应活性。ROS 主要通过损伤内皮功能和导致脂质过氧化促使 As 形成。ROS 对血管内皮功能的损伤表现为抑制 NO 生成, 促进内皮素(endothelin, ET)的合成和释放^[11], 导致血管功能紊乱。ROS 还可将 LDL 氧化成 ox-LDL, ox-LDL 不仅诱导血管内皮细胞凋亡, 还可以通过细胞毒性作用、化学趋化作用影响血管平滑肌增生, 加速泡沫细胞形成。此外, ROS 可以直接破坏细胞膜、核酸、蛋白质的完整性, 改变其构型及重要生理功能, MDA 是脂质过氧化的产物, 可间接反映细胞受自由基攻击的程度^[12]。SOD 是体内重要的抗氧化酶, 其活力的变化可以反映机体清除自由基和抗氧化损伤的能力。因此, ox-LDL、MDA、NO 及 SOD 水平的变化, 反映氧化-抗氧化能力的改变, 而增加抗氧化能力在防治动脉硬化性心

血管疾病 (arteriosclerotic cardiovascular disease, AS-CVD) 中备受重视^[13]。

Nrf2 是在 1994 年发现的一种新蛋白,因其与核因子 E2 同源性高而得名^[14]。生理状态下, Nrf2 存在于胞浆中,与胞浆蛋白伴侣分子 Keap1 耦联,且处于低表达。在氧化应激状态下, Nrf2 与 Keap1 解离进入细胞核,与抗氧化反应元件 (antioxidant response elements, ARE) 结合,启动 II 相酶及抗氧化酶基因表达,提高 SOD、过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶活力,增强细胞对氧化应激的抵抗能力^[15]。本研究以急性高脂血症大鼠为研究对象,观察氧化应激损伤对动脉内皮的影响,探讨姜黄素保护内皮抗氧化与动脉 Nrf2 表达的关系。

近年来,许多降脂药物的抗氧化作用受到人们的关注,研究也日益广泛。阿托伐他汀钙具有显著的降脂作用,并被证实有除降脂作用外的多种心血管保护作用^[16]。此外,阿托伐他汀也是 Nrf2 的有效激动剂^[17]。综上考虑,本研究应用阿托伐他汀钙作为阳性对照药物。

本研究发现姜黄素有降低 TG、TC 和 LDLC 的作用,与以往的体内外研究结果一致^[18-20]。

本研究发现姜黄素有显著的抗氧化作用。相对于正常对照组,高脂组 ox-LDL、MDA 升高, SOD 活力降低,提示急性高脂血症大鼠出现氧化应激损伤,抗氧化能力减弱;高脂组 NO 水平显著降低,提示急性高脂血症大鼠血管出现内皮依赖性舒张功能障碍。而相对于高脂组,姜黄素组 ox-LDL、MDA 降低, SOD 活力升高,并且高剂量组作用优于低剂量组,提示姜黄素具有剂量依赖的抗氧化作用;而姜黄素组血浆 NO 水平显著高于高脂组,并且高剂量组优于低剂量组,提示姜黄素有剂量依赖性血管内皮保护作用,有作为抗 As 药物的潜能。

本研究结果证实高脂组大鼠主动脉 Nrf2 表达增加,提示氧化应激损伤出现时 Nrf2-ARE 通路的激活,以应对急性高脂血症对机体带来的损伤。而姜黄素组 Nrf2 较高脂组升高更加明显,同时伴有 SOD 活力的增加,说明姜黄素可能通过激活 Nrf2-ARE 通路启动抗氧化酶基因表达,提高 SOD 活力,增加机体抗氧化能力,而姜黄素组 ox-LDL、MDA 的降低,进一步验证了机体抗氧化能力的提升。上述结果表明,姜黄素有潜在的抗 As 作用,并且该作用与氧化应激、保护内皮有关。而姜黄素高低剂量组均展示出上述作用,且高剂量组作用更佳,说明其抗氧化能力具有剂量依赖性,但最佳作用剂量仍需要

进一步研究,因为我们在预实验中观察到姜黄素化合物浓度增加到 500 mg/(kg·d),抗氧化作用欠佳,故推测最佳作用剂量在 250~500 mg/(kg·d) 之间。

综上所述,姜黄素通过降低血脂及诱导 Nrf2 的表达,增加 SOD 活力,提高主动脉的抗氧化能力,调节内皮依赖的舒血管作用,缓解动脉的病理损伤,达到预防 As 的作用。因此,姜黄素不仅可以改善患者的血脂谱,还有可能在 As 及其相关疾病的预防中起到一定作用。

(致谢:感谢河北医科大学第二医院中心实验室薛平、宋岩彪,内分泌实验室黄振国老师对本实验的技术指导。)

[参考文献]

- [1] 沃兴德,崔小强,唐利华. 姜黄素对食饵性高脂血症大鼠血浆脂蛋白代谢相关酶活性的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2013, 11(3): 223-226.
- [2] Hu GX, Lin H, Lian QQ, et al. Curcumin as a potent and selective inhibitor of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase 1: improving lipid profiles in high-fat-diet-treated rats [J]. PLoS One, 2013, 8(3): e49 976.
- [3] 中国成人血脂异常防治指南制订联合委员会. 中国成人血脂异常防治指南[J]. 中华心血管病杂志, 2007, 35(5): 390-418.
- [4] 谢梅林,顾振纶,陈可冀,等. 消痰片对高脂小鼠降血脂的药效关系研究[J]. 中国中药杂志, 1999, 24(4): 229-232.
- [5] 刘凯,李传富,申冬珠. 大鼠高胆固醇血症快速造型法初筛降脂中药[J]. 徐州医学院学报, 1990, 10(4): 260-262.
- [6] Lewis GF, Rader DJ. New insights into the regulation of HDL metabolism and reverse cholesterol transport[J]. Circ Res, 2005, 96(12): 1 221-232.
- [7] Aronson D, Rayfield EJ. How hyperglycemia promotes atherosclerosis: molecular mechanisms[J]. Cardiovasc Diabetol, 2002, 8(1): 1.
- [8] Bradford PG. Curcumin and obesity[J]. Biofactors, 2013, 39(1): 78-87.
- [9] Vera-Ramirez L, Pérez-Lopez P, Varela-Lopez A, et al. Curcumin and liver disease[J]. Biofactors, 2013, 39(1): 88-100.
- [10] Zhu X, Li Q, Chang R, et al. Curcumin alleviates neuropathic pain by inhibiting p300/CBP histone acetyltransferase activity-regulated expression of BDNF and cox-2 in a rat model[J]. PLoS One, 2014, 9(3): e91 303.

(下转第 943 页)

- 29; 2 091-098.
- [7] Karalliedde J, Viberti G. Microalbuminuria and cardiovascular risk[J]. *Am Hypertens*, 2004, 17: 986-993.
- [8] Ford ML, Tomlinson LA, Chapman TP, et al. Aortic stiffness is independently associated with rate of renal function decline in chronic kidney disease stages 3 and 4[J]. *Hypertension*, 2010, 55: 1 110-115.
- [9] Ishikawa T, Hashimoto J, Morito RH, et al. Association of microalbuminuria with brachial-ankle pulse wave velocity: the Ohasama Study[J]. *Hypertens*, 2008, 21: 413-418.
- [10] 张 函. 慢性肾脏病患者吸烟状态及其与肾脏功能和病理变化的关系研究[D]. 复旦大学, 2012.
- [11] Hashimoto J, Ito S. Central pulse pressure and aortic stiffness determine renal hemodynamics: pathophysiological implication for microalbuminuria in hypertension[J]. *Hypertension*, 2011, 58 (5): 839-846.
- [12] 国家统计局人口和就业统计司. 中国人口统计年鉴(2006)[D]. 中国统计出版社, 2006; 74-76.
- [13] Koenig W. Update on C-reactive protein as a risk marker in cardiovascular disease[J]. *Kidney Int Suppl*, 2003, 84: S 58-61.
- [14] Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K. 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension: the Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC) [J]. *Hypertens*, 2013, 31 (7): 1 281-357
- [15] Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, et al. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure [J] *Hypertension*, 2003, 42 (6): 1 206-252.
- [16] Munakata M, Nunokawa T, Yoshinaga K, et al. Brachial-ankle pulse wave velocity is an independent risk factor for microalbuminuria in patients with essential hypertension: a Japanese trial on the prognostic implication of pulse wave velocity (J-TOPP) [J]. *Hypertens Res*, 2006, 29 (7): 515-521.
- [17] 杨娉婷, 袁 洪, 王雅琴. 高血压前期体检人群血管内皮功能及其与脉搏波传导速度的关系[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2014, 22 (5): 472-476.
- [18] National Kidney Foundation. KDOQI clinical practice guideline for Diabetes and CKD: 2012 update [J]. *Am J Kidney Dis*, 2012, 60 (5): 850-886.
- [19] Ruster C, Bondeva T, Franke S, et al. Advanced glycation end-products induce cell cycle arrest and hypertrophy in podocytes[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2008, 23 (7): 2 179-191.
- [20] Abdelhafiz AH, Ahmed S, El Nahas M. Microalbuminuria: marker or maker of cardiovascular disease[J]. *Nephron Exp Nephrol*, 2011, 119: 6-10.
- [21] 樊广渊, 郑延松, 陈志来. 20748 例健康体检对象踝脉搏波传导速度的分析[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2014, 22 (8): 803-807.
- (此文编辑 文玉珊)

(上接第 918 页)

- [11] Chiou CS, Lin JW, Kao PF, et al. Effects of hesperidin on cyclic strain-induced endothelin-1 release in human umbilical vein endothelial cells [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2008, 35(8): 938-943.
- [12] Raza H, John A. In vitro protection of reactive oxygen species induced degradation of lipids, proteins and 2-deoxyribose by tea catechins[J]. *Food Chem Toxicol*, 2007, 45 (10): 1 814-820.
- [13] Kamiya K, Satake T. Chemical constituents of *Baeckea frutescens* leaves inhibit copper-induced low-density lipoprotein oxidation [J]. *Fitoterapia*, 2010, 81 (3): 185-189.
- [14] Moi P, Chan K, Asunis I, et al. Isolation of NF-E2-related factor 2 (Nrf2), a NF-E2-like basic leucine zipper transcriptional activator that binds to the tandem NF-E2/AP1 repeat of the beta-globin locus control region [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91(21): 9 926-930.
- [15] Toyokuni S, Akatsuka S. Pathological investigation of oxidative stress in the post-genomic era [J]. *Pathol Int*, 2007, 57(8): 461-473.
- [16] 陈秀娟. 阿托伐他汀对高血脂合并稳定型心绞痛及无症状性冠心病患者血清脂联素及血管内皮功能的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2012, 20(9): 849-851.
- [17] Sykiotis GP, Bohmann D. Stress activated cap 'n' collar transcription factors in aging and human disease [J]. *Sci Signal*, 2010, 3 (112): re3.
- [18] 谢 英, 和渝斌, 张世新, 等. 降脂通络软胶囊联合阿托伐他汀钙片治疗混合型高脂血症的临床研究[J]. *中国中西医结合杂志*, 2014, 34(9): 1 059-063.
- [19] 杜宝俊, 涂秀华, 张华健, 等. 降脂通络软胶囊治疗高脂血症气滞血瘀型 313 例临床观察[J]. *中医杂志*, 2013, 54(16): 1 398-340.
- [20] 沃兴德, 金明敏. 姜黄对高胆固醇和高脂肪膳食小鼠脂代谢的影响[J]. *浙江中医学院学报*, 1988, 22(6): 12-13.
- (此文编辑 许雪梅)