

Omega-3 多不饱和脂肪酸代谢产物的动脉粥样硬化拮抗机制

赵银娇, 姚柳, 张栩, 朱毅

(天津市代谢性心血管疾病重点实验室 天津医科大学基础医学院生理学与病理生理学系, 天津市 300070)

[专家简介] 朱毅, 医学博士, 生理学与病理生理学教授, 博士研究生导师, 天津医科大学副校长, 国际心脏研究会 (ISHR) 中国分会主席, 中国病理生理学学会及中国生理学会常务理事, 《Frontiers in Vascular Physiology》杂志副主编, 《Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology》《J Diabetes》《中华病理生理学杂志》《生理科学进展》等杂志编委。曾任国家科技部“973”重大蛋白质项目首席科学家, 中国病理生理学学会副理事长。主要从事代谢性心血管疾病研究, 包括花生四烯酸代谢组学与心血管疾病调控、血流动力学在局灶性动脉粥样硬化形成中的作用机制。先后主持多项国家科技部及自然科学基金重点项目, 在《Nature》《Circulation Research》《PNAS》《Hepatology》等权威期刊发表论文 130 余篇, 总影响因子大于 600, 总引用次数 1800 余次, 获高等学校科学研究优秀成果自然科学一等奖一项。



[关键词] 动脉粥样硬化; Omega-3 多不饱和脂肪酸; 代谢产物; 心血管疾病

[摘要] 动脉粥样硬化是由内皮细胞的损伤、脂质沉积等引起的慢性炎症反应性病理过程。Omega-3 多不饱和脂肪酸 (n-3 PUFA) 具有重要的动脉粥样硬化保护作用, 但其机制仍不明确。多不饱和脂肪酸在环氧化酶、脂氧合酶和细胞色素 P450 氧化酶的作用下产生具有不同生物活性的类二十烷酸代谢产物。Omega-3 多不饱和脂肪酸在自身被代谢为类二十烷酸的同时, 也可与花生四烯酸竞争共同的代谢酶, 从而也对花生四烯酸来源的类二十烷酸代谢产物水平起调控作用。文章基于代谢的观点, 系统地讨论了 Omega-3 多不饱和脂肪酸通过影响类二十烷酸代谢谱而发挥动脉粥样硬化拮抗作用的机制。

[中图分类号] R363; R5

[文献标识码] A

Atherosclerosis protection mechanism of omega-3 polyunsaturated fatty acid metabolites

ZHAO Yinjiao, YAO Liu, ZHANG Xu, ZHU Yi

(Key Laboratory of Metabolic Cardiovascular Disease & Department of Physiology and Pathophysiology, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

[KEY WORDS] atherosclerosis; omega-3 polyunsaturated fatty acids; metabolites; cardiovascular disease

[ABSTRACT] Atherosclerosis is a chronic inflammatory response caused by activation of endothelial cells, lipid deposition, and other relative pathogenic factor. Omega-3 polyunsaturated fatty acids (n-3 PUFA) play an important protective role in atherosclerosis, however, the underlying mechanism remains unclear. n-3 PUFA could produce different biological active eicosanoid metabolites by cyclooxygenase, lipoxygenase and cytochrome P450 oxidase, alternatively, it competes with arachidonic acid for the common metabolic enzymes to regulate the levels of arachidonic acid-derived eicosanoid metabolites. Based on the metabolic perspective, this paper systematically discusses the atherosclerosis protective mechanism that n-3 PUFA exerts by affecting the eicosanoid metabolism profile.

动脉粥样硬化的发生始于内皮细胞功能受损、血管通透性增加, 随后低密度脂蛋白进入内皮下被

氧化。机体释放的炎症因子诱导单核细胞进入内皮下、吞噬氧化型低密度脂蛋白 (oxidized low density

[收稿日期] 2019-12-17

[修回日期] 2020-01-03

[基金项目] 国家自然科学基金项目资助 (81870188)

[作者简介] 赵银娇, 硕士研究生, 研究方向为代谢性心血管疾病, E-mail 为 zhaoyinjiao@tmu.edu.cn。通信作者朱毅, 教授, 博士研究生导师, 主要从事心血管病研究, E-mail 为 zhuyi@tmu.edu.cn。

lipoprotein, ox-LDL)并形成泡沫细胞,泡沫细胞凋亡后形成脂质核心。平滑肌细胞迁移和增殖形成纤维帽,其覆盖脂质核心进而产生斑块。动脉粥样硬化主要发生于大、中动脉^[1]。

脂质代谢紊乱与动脉粥样硬化的发生发展密切相关,脂质的摄入能够影响机体的脂质代谢。流行病学调查发现爱斯基摩人极少发生冠心病和心血管事件可能与大量摄入富含 Omega-3 多不饱和脂肪酸(omega-3 polyunsaturated fatty acids, n-3 PUFA)有关^[2]。其他研究也提示摄入富含 n-3 PUFA 的食物可以预防心血管疾病(cardiovascular disease, CVD)且摄入量与全因死亡率、心血管事件、心源性死亡呈负相关^[3]。

n-3 PUFA 主要包括植物来源的 α -亚麻酸(alpha linolenic acid, ALA; C18:3 n-3)、海洋动物来源的二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid, EPA; C20:5 n-3)和二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA; C22:6 n-3),其中 EPA 和 DHA 在心血管疾病中的研究更为广泛。n-3 PUFA 与体内主要的 n-6 PUFA——花生四烯酸(arachidonic acid, ARA; C20:4 n-6)结构相似,因此能够被相同的氧化酶系统识别和催化。ARA 代谢产生上百种活性小分子,这类分子被称为类二十烷酸(eicosanoids),或氧化脂质(oxylipins)。许多 ARA 来源的类二十烷酸,如前列腺素(prostaglandins, PG)、血栓烷素(thromboxanes, TXs)、白三烯(leukotrienes, LTs)、脂氧素(lipoxins, LXs)、环氧二十碳三烯酸(epoxyeicosatrienoic acids, EETs)等具有丰富的生理活性,以自分泌或旁分泌的形式发挥调控作用。因此,ARA 的分子功能与其类二十烷酸代谢产物的复杂作用密不可分,通常认为 ARA 的主要功能来源于其类二十烷酸代谢产物的协同作用,然而目前对 n-3 PUFA 的研究仍然主要关注 n-3 PUFA 自身的作用。随着研究的深入,研究者逐步发现了 n-3 PUFA 来源的类二十烷酸分子同样具有重要的细胞生物学功能, n-3 PUFA 与其类二十烷酸代谢产物共同行使功能的观点开始形成。本文就 n-3 PUFA 的类二十烷酸代谢产物在拮抗动脉粥样硬化中的功能和作用机制作一论述。

1 Omega-3 多不饱和脂肪酸干预心血管疾病的临床试验及启示

n-3 PUFA 补充剂在降低 CVD 风险方面是否具有显著益处是人们争论的话题。早期的大规模开

放性临床试验如 GISSI-Prevenzione、JELIS 等证明 n-3 PUFA 可降低主要心血管不良事件和冠状动脉性心脏病发生的几率^[4-7]。然而,近 10 年中一些采用安慰剂对照的大规模临床研究却无法对 n-3 PUFA 的 CVD 保护作用达成一致性结论,在此基础上的一些荟萃分析仍然不能明确 n-3 PUFA 的保护作用^[8-13]。随着最近 3 项大规模前瞻性临床试验的终止, n-3 PUFA 的保护效果进一步引发争论,其中 ASCEND 和 VITAL 试验虽无法证明 n-3 PUFA 可以降低主要终点事件的发生几率,但分别证实 n-3 PUFA 能够减少作为次要终点事件的血管性死亡或心肌梗死几率^[14-15]。而采用大剂量 EPA 乙酯(4 g/d)作为补充剂的 REDUCE-IT 试验则证实: n-3 PUFA 对确诊为 CVD 或具有 CVD 危险因素的患者,能够显著降低致死或非致死性心血管事件的发生几率^[16]。见表 1。

这些研究提示:不同的 n-3 PUFA 剂量、不同疾病终点事件的设置、不同人群特征均可能是这些临床试验得出不同结论的原因。n-3 PUFA 的剂量、EPA/DHA 的比例、受试者的遗传背景、营养环境、疾病状态及用药情况均可能影响 n-3 PUFA 的代谢,造成类二十烷酸代谢谱的差异,进而造成 n-3 PUFA 的干预效果产生差异。n-3 PUFA 补充引发的保护性类二十烷酸代谢产物水平的升高、危险性类二十烷酸代谢产物水平的降低可能是其临床作用的关键原因。

2 多不饱和脂肪酸的代谢过程

Omega-3/6 多不饱和脂肪酸主要以甘油磷脂的形式存在于细胞膜内表面,当细胞受到某种刺激时,在磷脂酶 A2(phospholipase A2, PLA2)的作用下被分解成游离形式,并释放到细胞质中,再经过环氧化酶(cyclooxygenase, COX)、脂氧合酶(lipoxygenase, LOX)和细胞色素 P450 氧化酶(cytochrome P450 oxidase, CYP450)等三大氧化酶系统催化代谢产生一系列具有不同活性的代谢产物(图 1)。关于 n-6 PUFA 的代谢过程研究较多,ARA 代谢产生的类二十烷酸产物主要包括:通过 COX 途径产生的 2-系列的 PGs 和 TXs;通过 LOX 途径产生的 4-系列的 LTs、LXs 和羟基二十碳四烯酸(hydroxyeicosatetraenoic acids, HETEs);通过 CYP450 途径代谢产生环氧二十碳三烯酸(epoxyeicosatrienoic acids, EETs),以及它们在可溶性环氧化物水解酶(soluble epoxide hydrolase, sEH)的作用下进一步产生的二羟基二十

表 1. n-3 PUFA 干预心血管疾病的临床试验

Table 1. Clinical trial of n-3 PUFA intervention for cardiovascular disease

研究试验(年份)	研究对象 例数	随访时间 (年)	EPA/DHA 剂量(mg/d)	男性 [例(%)]	平均年龄 (岁)	终点事件	试验结果 (P 值)
GISSI-P(1999) ^[4]	11324	3.5	850/1700	9659(85.3)	59±11	非致命性梗死和中风	支持
JELIS(2007) ^[5]	18645	4.6	1800/NA	5859(31.4)	61±8	重大冠状动脉事件	支持
GISSI-HF(2008) ^[6]	6975	3.9	850/1020	5459(78.3)	67±11	因心血管疾病住院或死亡	支持
DOIT(2010) ^[7]	563	3	1176/840	563(100)	70.4±2.9	颈动脉内膜中膜厚度改变	支持
SU. FOL. OM3(2010) ^[8]	2501	4.7	400/200	1987(79.4)	60.9±8.8	重大心血管事件(非致命性心肌梗死、中风或心血管疾病导致的死亡)	不支持
OMEGA(2010) ^[9]	3818	1	460/380	2841(74.4)	64	症状出现后 1 h 内发生心脏病或心脏骤停导致的死亡	不支持
AlphaOmega(2010) ^[10]	4837	3.3	226/150	3783(78.2)	69	心血管事件,包括致命和非致命性心血管事件以及心脏干预	不支持
ORIGIN(2012) ^[11]	12536	6.2	465/375	8150(65.0)	64±7.8	因心血管原因导致的死亡	不支持
R&P(2013) ^[12]	12505	5	500/500	7687(61.5)	64	因心血管原因死亡或入院	不支持
ASCEND(2018) ^[14]	15480	7.4	1000 n-3 PUFA	4842(62.6)	63.3±9.2	非致命性心肌梗死或中风,短暂性脑缺血或血管疾病导致的死亡	不支持*
VITAL(2019) ^[15]	25871	5.3	460/380	1278(49.4)	67.1±7.1	心肌梗死、中风和因心血管原因导致的死亡的综合因素	不支持*
REDUCE-IT(2019) ^[16]	8179	4.9	4 g Icosapent-Ethyl	5822(71.2)	64(57~69)	心血管死亡、非致命性心肌梗死、非致命性中风、冠状动脉血运重建或不稳定型心绞痛的综合指标	支持

注:“支持”代表 n-3 PUFA 可以降低主要终点事件的发生率;“不支持”代表 n-3 PUFA 不能有效降低主要终点事件的发生率;“*”代表 n-3 PUFA 虽不能有效降低主要终点事件的发生率但可以降低次要终点事件的发生率。

碳三烯酸(dihydroxyeicosatrienoic acids, DHETs)等^[17]。目前关于 n-3 PUFA 代谢产物的研究相对较少,EPA 代谢主要产生 3-系列的 PGs 和 TXs,5-系列的 LTs 和 LXs,羟基二十碳五烯酸(hydroxy eicosapentaenoic acids, HEPEs),环氧二十碳四烯酸(epoxyeicosatetraenoic acids, EEQs)和二羟基二十碳四烯酸(dihydroxyeicosatrienoic acids, DHETEs)。DHA 代谢产生羟基二十二碳六烯酸(hydroxylated docosahexaenoic acids, HDoHEs),环氧二十二碳五烯酸(epoxydocosapentaenoic acids, EDPs)和二羟基二十二碳五烯酸(dihydroxy docosapentaenoic acids, DHD-PAs)等。除 CYP450 途径产生的环氧类二十烷酸外,大部分 n-3 代谢产物与其对应的 n-6 代谢产物具有相反的生物学功能。

此外,EPA 和 DHA 还可在三大通路代谢酶的组合作用下产生特异性消炎介质(specialized pro-resolving mediators, SPM)的代谢产物。这类非经典的类二十烷酸代谢产物与炎症的消退过程密切相关。SPM 主要包括脂氧素(lipoxins)、消退素(resolvins)、保护素(protectins)和巨噬细胞衍生炎症消

退介质(Maresins)。Resolvins 分为 E 系列 Resolvins(resolvin E, RvE)和 D 系列 Resolvins(resolvin D, RvD),前者由 EPA 产生,后者由 DHA 产生。最近有学者新发现了二十二碳五烯酸(docosapentaenoic acid, DPA; C22:5 n-3)也可产生 Resolvins,并将其命名为 T 系列的 Resolvins(T-series resolvins)。此外,Protectins 和 Maresins 由 DHA 通过 LOX 途径产生^[18]。SPM 类代谢产物是由 PUFA 在不同碳位的多羟基化产生,理论上不同排列组合的羟基化方式可产生大量不同结构式的 SPM,目前已鉴定到的此类代谢产物超过 30 种。

3 Omega-3 多不饱和脂肪酸的代谢产物对动脉粥样硬化的拮抗机制

n-3 PUFA 既能够通过自身产生的类二十烷酸代谢产物发挥作用,也能够通过对 n-6 PUFA 来源类二十烷酸代谢产物水平的影响间接地发挥作用。以下将分别按照不同代谢途径对 n-3 PUFA 产物的动脉粥样硬化拮抗机制进行总结。

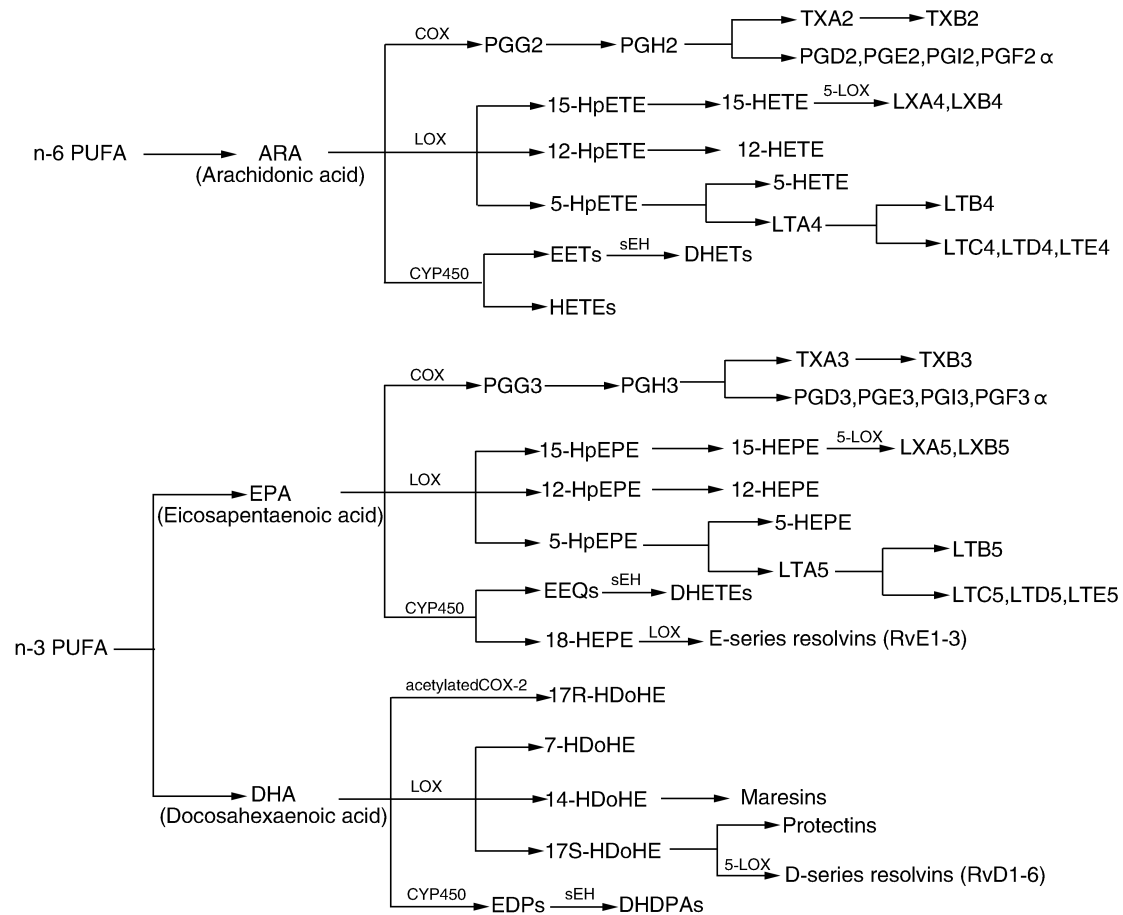


图 1. PUFA 的代谢过程

Figure 1. Metabolic process of PUFA

3.1 Omega-3 多不饱和脂肪酸通过 COX 途径发挥抗动脉粥样硬化的作用

花生四烯酸 (ARA) 在 COX 的作用下生成 PGG₂/PGH₂, 二者进一步通过一系列前列腺素合酶分别产生 PGD₂、PGE₂、PGI₂、PGF₂α 和 TXA₂ 等, 这些代谢产物通过不同的受体发挥不同的作用。在心血管疾病背景下, ARA 的 COX 产物更多地发挥促炎、促血栓、促血小板凝集、促动脉粥样硬化等不良作用。相反, EPA 在 COX 的作用下生成 3 系列 PGs 和 TXs, 这些代谢产物相比于 2 系列的类似物大多具有较弱或相反的功能。例如, EPA 水平的升高使 COX 通路更多产生 PGE₃, 并由于 EPA 与 ARA 对 COX 酶的竞争作用造成促炎性代谢产物 PGE₂ 水平的下降, 从而拮抗 PGE₂ 上调白细胞介素 6 (interleukin-6, IL-6) 的作用^[19]。EPA 也能够造成 PGI₃ 和 TXA₃ 水平的升高, 前者与 PGI₂ 的功能类似, 具有刺激血管舒张的作用, 而后者 TXA₃ 促血小板聚集的作用却远远弱于 TXA₂, 因此 EPA 增强了前列腺素的保护性作用, 同时降低了血栓素素的危害性

作用^[20]。

3.2 Omega-3 多不饱和脂肪酸通过 LOX 途径发挥抗动脉粥样硬化的作用

EPA 在 5-LOX 作用下生成 5-HEPE 和 5-LTs (LTB₅, LTC₅, LTD₅, LTE₅), 与之对应的是 ARA 生成的 5-HETE 和 4-系列的白三烯 (LTB₄, LTC₄, LTD₄, LTE₄)。在激活嗜中性粒细胞和嗜酸性粒细胞方面, 5-HETE 发挥着强大的功能, 而 5-HEPE 对此的作用甚微。此外, 4-LTs 能够激活 G 蛋白偶联受体、LTB₄ 受体 1/2 (BLT1/2) 和半胱氨酰白三烯受体 1/2 (CysLT1/2)。这些受体的激活导致 5-LOX 和 COX-2 表达水平的升高, 并造成炎症因子 (例如 IL-6 和 IL-8) 的水平增加, 从而促进嗜中性粒细胞的募集^[21]。LTB₄ 亦可通过增加肿瘤坏死因子 (TNF-α)、白细胞介素 (IL-1β 和 IL-6) 的产生, 加强血管通透性、诱导血小板聚集和血管收缩, 从而驱动动脉粥样硬化的发展^[22]。EPA 产生的 LTB₅ 能与 LTB₄ 竞争性结合 BLT1/2 受体, 从而抑制 LTB₄ 的促炎信号。此外, LTB₅、LTC₅、LTD₅ 还具有抗血小板和抗

心律失常的特性^[23-24]。

EPA 在 12/15-LOX 的作用下可生成 12-HEPE 和 15-HEPE。12-HEPE 参与了人体棕色脂肪组织响应寒冷的过程,它通过改善葡萄糖代谢从而发挥着对心血管的保护作用^[25]。15-HEPE 具有调节血小板中 COX 和 12-LOX 酶活性的潜力,它可以抑制 ARA 产生 TXA₂ 和 12-HETE,从而发挥抗血栓形成和抗动脉粥样硬化作用^[26]。与 12-HEPE/15-HEPE 相对应的是 ARA 产生的 12-HETE/15-HETE,有研究发现冠状动脉疾病患者血清中 12-HETE 水平升高,并发现 12-HETE 抑制了巨噬细胞的胞葬作用,导致其对凋亡细胞清除能力的减弱,该研究提示 12-HETE 可作为动脉粥样硬化的干预靶点^[27]。15-HETE 可通过黄嘌呤氧化酶和 NADPH 氧化酶依赖的途径诱导活性氧(ROS)的产生,并通过 ROS-Syk-Pyk2-STAT1 信号通路上调 CD36 的表达,促进泡沫细胞的形成^[26,28]。

此外,DHA 可以通过 12/15-LOX 生成单羟基化衍生物 14-和 17-HDoHE 抑制 TXA₂ 诱导的血小板聚集,进而减少动脉粥样硬化的形成^[29-30]。

3.3 Omega-3 多不饱和脂肪酸通过 CYP450 途径发挥抗动脉粥样硬化的作用

EETs 是 ARA 通过 CYP450 途径产生的代谢产物,它能够抑制血小板黏附,具有抗炎和心血管保护作用。EPA/DHA 通过 CYP450 途径产生 EEQs 和 EDPs。EEQs 和 EDPs 具有与 EETs 相似却更加强化的心血管保护作用。有实验表明,17,18-EEQ 和 19,20-EDP 在 1 $\mu\text{mol/L}$ 时就能有效抑制血小板的黏附,而 11,12-EET 需要 5 倍的浓度才能起作用^[31]。此外 Fat-1 转基因小鼠可造成内源性 n-3 PUFA 升高,并伴随类二十烷酸代谢谱的变化。代谢组学研究证实 17,18-EEQ 可能是 Fat-1 动脉粥样硬化拮抗作用的主要因素,其能够抑制 NF- κ B 信号传导而减少内皮激活和单核细胞黏附,从而减缓动脉粥样硬化的发展^[32]。

3.4 Omega-3 多不饱和脂肪酸通过产生 SPM 发挥抗动脉粥样硬化的作用

动脉粥样硬化是一种脂质驱动的血管内膜炎性病理过程,其促炎和抗炎机制的失衡决定了最终的临床结果^[33]。SPM 类代谢产物在该过程中起重要的调控作用。在阿司匹林和他汀类药物联合治疗的 CAD 患者血浆中可检测出 SPM 升高,被阿司匹林修饰的 COX 是催化该类代谢产物生成的关键因素^[34]。这表明 n-3 PUFA 与阿司匹林的联合使用在治疗心血管疾病中发挥着重要的作用,SPM 促进

炎症消退或将成为临床上抑制动脉粥样硬化病变形成的一种新方法。

关于 SPM 抗动脉粥样硬化的研究表明:EPA 的代谢产物 E 系列 Resolvin 能通过 G 蛋白偶联受体发挥抗炎作用。Resolvin E1 不仅作为 LTB₄ 受体 BLT1 的拮抗剂,降低 LTB₄ 介导的炎症反应,同时还可以作为 ERV/ChemR23 受体的激动剂发挥抗炎作用,以上两个因素共同介导急性炎症的消退^[35]。在此基础上,研究者在后续研究中证明高 EPA 饮食可使小鼠血浆中 Resolvin E1 水平升高,Resolvin E1 通过其受体 ERV1/ChemR23 介导的信号通路减少巨噬细胞对 ox-LDL 的摄取,增强抗炎因子的产生^[36]。除此之外,D 系列的 Resolvin 是 G 蛋白偶联受体(DRV1/GPR32 和 DRV2/GPR18)和甲酰胺受体 2/脂氧素 A₄ 受体(FPR2/ALX)的激动剂,其通过这些特定的受体发挥抑制中性粒细胞激活、抑制炎症性基因转录,以及促进巨噬细胞对凋亡细胞的吞噬作用,从而预防动脉粥样硬化的发生^[37]。最近的另一项研究表明,在动脉粥样硬化患者中,Resolvin D1 的水平与坏死核的数目负相关,与纤维帽的厚度正相关^[38],进一步研究证明 Resolvin D1 在动脉粥样硬化的晚期进展中通过抑制炎症、增强胞吞作用并促进纤维帽厚度的增加来限制斑块的发展^[39]。

4 总结与展望

本文总结了 n-3 PUFA 通过其类二十烷酸代谢产物在拮抗动脉粥样硬化中的作用与机制。总的来说,n-3 PUFA 的代谢产物并非都具有抗动脉粥样硬化的作用,但其可以通过以下三个方面发挥保护作用:一是产生无活性或弱活性的代谢产物,其本身虽不具有保护作用但可以拮抗 ARA 产生危害性代谢产物;二是产生比 ARA 类似物活性更强的保护性代谢产物;三是产生 SPM 家族代谢产物在炎症消退过程中发挥保护作用,此外,还有一些产物的功能未知。随着研究的深入,n-3 PUFA 产生的类二十烷酸代谢产物在心血管疾病中的功能与机制将被逐步阐明,但目前大多研究关注于单一代谢产物的作用机制。为了阐明 n-3PUFA 通过以上途径产生的物质之间的联系,以代谢的观点对 n-3 PUFA 代谢产物谱进行研究将进一步揭示其保护作用的本质。由于类二十烷酸代谢产物种类繁多,产物之间形成复杂的代谢网络,针对某个单一代谢产物的传统研究手段无法阐述类二十烷酸代谢的全貌。逐步发展起来的靶向代谢组学将是解决这一问题的

有效手段,我们总结了近年来研究类二十烷酸代谢谱的方法学工作,见表2。通过靶向代谢组学研究 n-3 PUFA 代谢产物对心血管疾病的拮抗作用,一方面有助于发现比 n-3 PUFA 本身功能更强、特异性更明确的保护性分子;另一方面有助于揭示 n-3

PUFA 通过不同代谢途径的产物在抗动脉粥样硬化之间的相互联系。在给予 n-3 PUFA 干预的同时并对其代谢系统进行叠加式干预、提高保护性产物的代谢水平可能是以最大程度发挥 n-3 PUFA 功效的关键。

表 2. 靶向代谢组学研究 PUFA 的方法及进展

Table 2. Methods and progress in targeted metabolomics study of PUFA

文献来源	色谱柱型号	运行时间 (min)	定量范围 (ng/mL)	检测物 数量	PUFA 前体	内参(种)
Yang 等(2009) ^[40]	Pursuit Plus C18	21	0.1 ~ 100	39	3	8
Strassburg 等(2012) ^[41]	Ascentis Express C18	26	1.5 ~ 510	104	6	11
Kortz 等(2013) ^[42]	Kinetex C18	13	5.4 ~ 620	94	7	22
Gladine 等(2014) ^[43]	SilicaCP-Sil 88 capillary column	16	0.4 ~ 14	80	6	18
Zhang 等(2015) ^[44]	UPLC BEH C18	18	0.35 ~ 12	65	6	10
Bao 等(2018) ^[45]	UPLC BEH C18	30	0.35 ~ 12	234	6	10
Quehenberger 等(2018) ^[46]	RP C18 BEH shield column	7	0.3 ~ 810	158	9	26
Yuan 等(2018) ^[47]	Zorbax Eclipse Plus C18	35	2.7 ~ 17	57	5	9
Kutzner 等(2019) ^[48]	Zorbax Eclipse Plus C18	32	0.5 ~ 200	175	10	20
Chocholouskova 等(2019) ^[49]	UPLC BEH C18	20	7.5 ~ 70	63	6	14

[参考文献]

- [1] 赵战芝, 姜志胜. 我国动脉粥样硬化基础研究几个热点领域的新进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2019, 27: 645-654.
- [2] Lavie CJ, Milani RV, Mehra MR, et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and cardiovascular diseases[J]. J Am Coll Cardiol, 2009, 54: 585-594.
- [3] Yam D, Bott-Kanner G, Genin I, et al. The effect of omega-3 fatty acids on risk factors for cardiovascular diseases[J]. Harefuah, 2001, 140: 1156-1158.
- [4] Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E after myocardial infarction: results of the GISSI-Prevenzione trial. Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto miocardico [J]. Lancet, 1999, 354: 447-455.
- [5] Yokoyama M, Origasa H, Matsuzaki M, et al. Effects of eicosapentaenoic acid on major coronary events in hypercholesterolaemic patients (JELIS): a randomised open-label, blinded endpoint analysis [J]. Lancet, 2007, 369: 1090-1098.
- [6] Tavazzi L, Maggioni AP, Marchioli R, et al. Effect of n-3 polyunsaturated fatty acids in patients with chronic heart failure (the GISSI-HF trial): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial[J]. Lancet, 2008, 372: 1223-1230.
- [7] Einvik G, Klemsdal TO, Sandvik L, et al. A randomized clinical trial on n-3 polyunsaturated fatty acids supplementation and all-cause mortality in elderly men at high cardiovascular risk[J]. Eur J Cardiovasc Prev Rehabil, 2010, 17(5): 588-592.
- [8] Galan P, Kesse-Guyot E, Czernichow S, et al. Effects of B vitamins and omega 3 fatty acids on cardiovascular diseases: a randomised placebo controlled trial[J]. BMJ, 2010, 341: c6273.
- [9] Rauch B, Schiele R, Schneider S, et al. Omega-3, a randomized, placebo-controlled trial to test the effect of highly purified omega-3 fatty acids on top of modern guideline-adjusted therapy after myocardial infarction[J]. Circulation, 2010, 122: 2152-2159.
- [10] Kromhout D, Giltay EJ, Geleijnse JM, et al. n-3 Fatty acids and cardiovascular events after myocardial infarction [J]. N Engl J Med, 2010, 363: 2015-2026.
- [11] Bosch J, Gerstein HC, Dagenais GR, et al. n-3 Fatty acids and cardiovascular outcomes in patients with dysglycemia[J]. N Engl J Med, 2012, 367: 309-318.
- [12] Roncaglioni MC. n-3 Fatty acids in patients with multiple cardiovascular risk factors[J]. N Engl J Med, 2013, 368: 2146.
- [13] Aung T, Halsey J, Kromhout D, et al. Associations of omega-3 fatty acid supplement use with cardiovascular disease risks meta-analysis of 10 trials involving 77917 individuals [J]. JAMA Cardiol, 2018, 3: 225-233.
- [14] Bowman L, Mafham M, Wallendszus K, et al. Effects of n-3 fatty acid supplements in diabetes mellitus[J]. N Engl J Med, 2018, 379: 1540-1550.
- [15] Manson JE, Cook NR, Lee IM, et al. Marine n-3 fatty acids and prevention of cardiovascular disease and cancer[J]. N Engl J Med, 2019, 380: 23-32.
- [16] Bhatt DL, Steg PG, Miller M, et al. Cardiovascular risk reduction with icosapent ethyl for hypertriglyceridemia[J]. N Engl J Med, 2019, 380: 11-22.
- [17] Kuehl FA Jr, Egan RW. Prostaglandins, arachidonic acid, and inflammation[J]. Science, 1980, 210(4473): 978-984.
- [18] 曹野, 王伟琼, 陈晨, 等. ω -3 多不饱和脂肪酸的结构、代谢及与动脉粥样硬化的关系[J]. 中国动脉硬化杂志, 2018, 26: 633-643.
- [19] Ferrer MD, Busquets-Cortes C, Capo X, et al. Cyclooxygenase-2 inhibitors as a therapeutic target in inflammatory diseases[J]. Curr

- Med Chem, 2019, 26; 3225-3241.
- [20] Nishikawa M, Hishinuma T, Nagata K, et al. Effects of eicosapentaenoic acid (EPA) on prostacyclin production in diabetics: GC/MS analysis of PGI₂ and PGI₃ levels[J]. Methods Find Exp Clin Pharmacol, 1997, 19; 429-433.
- [21] Poeckel D, Funk CD. The 5-lipoxygenase/leukotriene pathway in preclinical models of cardiovascular disease[J]. Cardiovasc Res, 2010, 86; 243-253.
- [22] Bäck M. Leukotriene signaling in atherosclerosis and ischemia[J]. Cardiovasc Drugs Ther, 2009, 23; 41-48.
- [23] Bäck M. Omega-3 fatty acids in atherosclerosis and coronary artery disease[J]. Future Sci OA, 2017, 3; FSO236.
- [24] Bäck M, Powell WS, Dahlen SE, et al. Update on leukotriene, lipoxin and oxoecosanoid receptors: IUPHAR Review 7[J]. Br J Pharmacol, 2014, 171(15); 3551-3574.
- [25] Leiria LO, Wang CH, Lynes MD, et al. 12-Lipoxygenase regulates cold adaptation and glucose metabolism by producing the omega-3 lipid 12-HEPE from brown fat[J]. Cell Metab, 2019, 30; 768-783.
- [26] Tsunomori M, Fujimoto Y, Muta E, et al. 15-Hydroperoxyeicosapentaenoic acid inhibits arachidonic acid metabolism in rabbit platelets more potently than eicosapentaenoic acid[J]. Biochim Biophys Acta, 1996, 1300; 171-176.
- [27] Manega CM, Fiorelli S, Porro B, et al. 12(S)-Hydroxyeicosatetraenoic acid downregulates monocyte-derived macrophage efferocytosis: new insights in atherosclerosis[J]. Pharmacol Res, 2019, 144; 336-342.
- [28] Kotla S, Singh NK, Traylor JG, et al. ROS-dependent Syk and Pyk2-mediated STAT1 activation is required for 15(S)-hydroxyeicosatetraenoic acid-induced CD36 expression and foam cell formation[J]. Free Radic Biol Med, 2014, 76; 147-162.
- [29] Schuchardt JP, Ostermann AI, Stork L, et al. Effect of DHA supplementation on oxylipin levels in plasma and immune cell stimulated blood[J]. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 2017, 121; 76-87.
- [30] Croset M, Sala A, Folco G, et al. Inhibition by lipoxygenase products of TXA₂-like responses of platelets and vascular smooth muscle. 14-Hydroxy from 22: 6n-3 is more potent than 12-HETE[J]. Biochem Pharmacol, 1988, 37; 1275-1280.
- [31] Jung F, Schulz C, Blaschke F, et al. Effect of cytochrome P450-dependent epoxyeicosanoids on Ristocetin-induced thrombocyte aggregation[J]. Clin Hemorheol Microcirc, 2012, 52; 403-416.
- [32] Liu Y, Fang X, Zhang X, et al. Metabolic profiling of murine plasma reveals eicosapentaenoic acid metabolites protecting against endothelial activation and atherosclerosis[J]. Br J Pharmacol, 2018, 175; 1190-1204.
- [33] Bäck M, Yurdagül A Jr, Tabas I, et al. Inflammation and its resolution in atherosclerosis: mediators and therapeutic opportunities[J]. Nat Rev Cardiol, 2019, 16; 389-406.
- [34] Elajami TK, Colas RA, Dalli J, et al. Specialized proresolving lipid mediators in patients with coronary artery disease and their potential for clot remodeling[J]. FASEB J, 2016, 30; 2792-2801.
- [35] Arita M, Ohira T, Sun YP, et al. Resolvin E1 selectively interacts with leukotriene B₄ receptor BLT1 and ChemR23 to regulate inflammation[J]. J Immunol, 2007, 178; 3912-3917.
- [36] Laguna-Fernandez A, Checa A, Carracedo M, et al. ERV1/ChemR23 signaling protects against atherosclerosis by modifying oxidized low-density lipoprotein uptake and phagocytosis in macrophages[J]. Circulation, 2018, 138; 1693-1705.
- [37] Spite M, Claria J, Serhan CN. Resolvins, specialized proresolving lipid mediators, and their potential roles in metabolic diseases[J]. Cell Metab, 2014, 19; 21-36.
- [38] Fredman G, Hellmann J, Proto JD, et al. An imbalance between specialized pro-resolving lipid mediators and pro-inflammatory leukotrienes promotes instability of atherosclerotic plaques[J]. Nat Commun, 2016, 7; 12859.
- [39] Kasikara C, Doran AC, Cai BS, et al. The role of non-resolving inflammation in atherosclerosis[J]. J Clin Invest, 2018, 128; 2713-2723.
- [40] Yang J, Schmelzer K, Georgi K, et al. Quantitative profiling method for oxylipin metabolome by liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. Anal Chem, 2009, 81; 8085-8093.
- [41] Strassburg K, Huijbrechts AML, Kortekaas KA, et al. Quantitative profiling of oxylipins through comprehensive LC-MS/MS analysis: application in cardiac surgery[J]. Anal Bioanal Chem, 2012, 404; 1413-1426.
- [42] Kortz L, Dorow J, Becker S, et al. Fast liquid chromatography-quadrupole linear ion trap-mass spectrometry analysis of polyunsaturated fatty acids and eicosanoids in human plasma[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2013, 927; 209-213.
- [43] Gladine C, Newman JW, Durand T, et al. Lipid profiling following intake of the omega 3 fatty acid DHA identifies the peroxidized metabolites F4-neuroprostanes as the best predictors of atherosclerosis prevention[J]. PLoS One, 2014, 9; e89393.
- [44] Zhang X, Yang N, Ai D, et al. Systematic metabolomic analysis of eicosanoids after omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation by a highly specific liquid chromatography-tandem mass spectrometry-based method[J]. J Proteome Res, 2015, 14; 1843-1853.
- [45] Bao Q, Liu Y, Song H, et al. Spectrum evaluation-assisted eicosanoid metabolomics for global eicosanoid profiling in human vascular endothelial cells[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2018, 45; 98-108.
- [46] Quehenberger O, Dahlberg-Wright S, Jiang J, et al. Quantitative determination of esterified eicosanoids and related oxygenated metabolites after base hydrolysis[J]. J Lipid Res, 2018, 59; 2436-2445.
- [47] Yuan ZX, Majchrzak-Hong S, Keyes CS, et al. Lipidomic profiling of targeted oxylipins with ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Anal Bioanal Chem, 2018, 410; 6009-6029.
- [48] Kutzner L, Rund KM, Ostermann AI, et al. Development of an optimized LC-MS method for the detection of specialized pro-resolving mediators in biological samples[J]. Front Pharmacol, 2019, 10; 169.
- [49] Chocholouskova M, Jirasko R, Vrana D, et al. Reversed phase UHPLC/ESI-MS determination of oxylipins in human plasma: a case study of female breast cancer[J]. Anal Bioanal Chem, 2019, 411; 1239-1251.