

小颗粒致密低密度脂蛋白氧化特性及对血管内皮细胞脂质过氧化的影响

王绿娅¹, 蔺洁¹, 秦彦文¹, 杜兰平¹, 潘晓冬¹, 石凤茹¹, 顾云¹, 赵庆²

(1. 北京市心肺血管疾病研究所动脉粥样硬化研究室, 北京市 100029;

2. 中国医学科学院基础医学研究所中心实验室, 北京市 100005)

[关键词] 生物化学; 低密度脂蛋白对血管内皮细胞脂质过氧化的影响; 二次超速离心法; 氧化型低密度脂蛋白; 内皮细胞; 维生素; 丙二醛

[摘要] 了解小颗粒致密低密度脂蛋白中抗氧化维生素含量、氧化特性, 探讨其对血管内皮细胞脂质过氧化的影响。采用二次密度梯度超速离心的方法分离制备小颗粒致密低密度脂蛋白, 高压液相色谱测定其抗氧化物质维生素 A、E 和 β -胡萝卜素; 连续监测小颗粒致密低密度脂蛋白在 234 nm 的吸光度以测定其氧化敏感曲线; 在血管内皮培养液中分别加入不同浓度的小颗粒致密低密度脂蛋白, 培养后测定培养液丙二醛的浓度。实验成功分离小颗粒致密低密度脂蛋白, 与大而轻低密度脂蛋白相比, 维生素 A、E 和 β -胡萝卜素等抗氧化物质及总抗氧化能力明显减少, 只有大而轻低密度脂蛋白的 65%、39% 和 24%, 故小颗粒致密低密度脂蛋白氧化的延迟时间只有大而轻低密度脂蛋白的 37.5%, 但硫代巴比妥酸反应物质值及氧化速率分别是大而轻低密度脂蛋白的 1.7 倍和 1.28 倍; 培养液中丙二醛含量随加入脂蛋白的浓度和作用时间而增高, 24 h 时小颗粒致密低密度脂蛋白 50 mg 组、100 mg 组、150 mg 组与相同剂量大而轻低密度脂蛋白组比较丙二醛显著增高 ($P < 0.05$)。上述结果提示: 小颗粒致密低密度脂蛋白中抗氧化物质及抗氧化能力下降, 氧化敏感性增高, 并促进内皮细胞过氧化损伤。

[中图分类号] Q54

[文献标识码] A

The Oxidative Property of Small Dense Low Density Lipoprotein and Its Effect on Lipid Peroxidation of Vascular Endothelial Cell

WANG Lu-Ya¹, LIN Jie¹, QIN Yan-Wen¹, DU Lan-Ping¹, PAN Xiao-Dong¹, SHI Feng-Ru¹, GU Yun¹, and ZHAO Qing²

(1. Beijing Institute of Heart Lung and Blood Vessel Diseases, Beijing 100029; 2. Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, Beijing 100005, China)

[KEY WORDS] Oxidatively Modified Low Density Lipoprotein; Endothelial Cell; Vitamin; Malondialdehyde; Small Dense Low Density Lipoprotein; Lipid Peroxidation

[ABSTRACT] **Aim** To clarify the content of antioxidant vitamins and oxidative property in small dense low density lipoprotein (sLDL) and to explore the role of small dense low density lipoprotein in lipid peroxidation of vascular endothelial cell.

Methods Small dense low density lipoprotein was obtained by two sequential gradient ultracentrifugation and observed by negative staining electron microscopy; the content antioxidant vitamins such as vitamin A, α -tocopherol (vitamin E) and β -carotene were measured by high performance liquid chromatography (HPLC). Continuously monitor small dense low density lipoprotein susceptibility curve at absorbance 234 nm mediated by Cu^{2+} . After exposure to small dense low density lipoprotein in vascular endothelial cell the malondialdehyde was measured.

Results The small dense low density lipoprotein was isolated successfully. Compared with large buoyant low density lipoprotein, vitamin A, α -tocopherol (vitamin E) and β -carotene and total antioxidant capacity of sLDL was 65%, 39% and 24% respectively lower and its lag-phase was 37.5% lower, but its thiobarbituric acid reacting substances (TBARS) was 1.7 higher, while the propagation phase was 1.28 longer. The malondialdehyde (MDA) content in culture media of 50 mg, 100 mg and 150 mg sLDL groups in 24 hour were significantly higher than those of the same dosage of large buoyant low density lipoprotein ($P < 0.05$).

Conclusion The results suggest sLDL has strong effects on pathogenesis of atherosclerosis which may be related to decreased antioxidant content and antioxidation property and increased susceptibility to oxidation, as well as promoting peroxidation injury of vascular endothelial cell.

[收稿日期] 2002-07-27 [修回日期] 2003-03-01

[基金项目] 北京市科委重点实验室项目(953850700-3)资助

[作者简介] 王绿娅, 女, 1953 年出生, 副研究员, 从事动脉粥样硬化病理生理学研究, 现任北京市心肺血管疾病研究所动脉硬化研究室主任, E-mail: wangluya@sina.com. 蔺洁, 女, 1969 年出生, 从事动脉粥样硬化病理生理学研究。秦彦文, 女, 1972 年出生, 从事动脉粥样硬化病理生理学研究。

内皮细胞损伤是动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)形成的始动环节^[1], 而氧化型低密度脂蛋白(ox-idatively modified low density lipoprotein, ox-LDL)是内皮细胞损伤的关键因素之一^[2], 在 As 发生发展中起着重要作用, 因此 ox-LDL 与 As 关系已成为心血管疾病的研究热点。近年来研究发现, 低密度脂蛋白

(low density lipoprotein, LDL) 具有明显的异质性, 小颗粒致密 LDL (small dense low density lipoprotein, sLDL) 与大而轻 LDL (large buoyant low density lipoprotein) 相比具有强烈的致 As 作用, sLDL 更易遭受氧化或修饰, 是冠心病重要的危险因素^[3], 已成为倍受关注的新研究热点。但 sLDL 是否造成更强的血管内皮细胞脂质过氧化损伤作用尚未见报道。本研究着重探讨 sLDL 氧化特性及促进血管内皮细胞脂质过氧化反应, 为进一步探讨 sLDL 在 As 发生中的作用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 血样采集

收集正常人空腹新鲜混合血清(由本院检验科和血库提供), 于 10℃、3 000 r/min 离心 15 min, 收集上清, 乙二胺四乙酸二钠抗凝(终浓度 1 g/L, pH 7.4), 存放于 4℃冰箱中, 1 周内完成 LDL 分离。

1.2 仪器

Beckman L8-80M 型超速离心机, Ti50.2 转头(美国); Abbe 折光仪(德国公司); Helena 电泳系统(美国); JEM-1200EX 电子显微镜(日本); 惠普高压液相色谱(美国); Cintra 20 型紫外分光光度计(澳大利亚)。

1.3 小颗粒致密低密度脂蛋白的制备及鉴定

按本室与中国医学科学院基础医学研究所生物化学与分子生物学教研室脂蛋白课题组建立的方法, 即用二次超速离心法制备血浆低密度脂蛋白^[3], 由上而下分层取出 LDL 亚组分脂蛋白; 取 15 μ L 加入琼脂糖凝胶, 在 Helena 电泳分析系统中分离, 油红“O”染色, 扫描鉴定凝胶中的 LDL 纯度。

分离出的 LDL 放入透析袋中透析 24 h 后进行浓缩, 4℃保存(含 1 g/L 乙二胺四乙酸二钠)。用折光仪鉴定密度, 按照密度分组, 大而轻 LDL (large buoyant LDL) 密度 1.019~1.034, 中间型 LDL (intermediate LDL) 密度 1.035~1.042, sLDL 密度 1.043~1.063。采用负染电镜法^[4], 将分离出的 3 个 LDL 亚组分分别放入透析袋中, 对 0.1 mmol/L 磷酸缓冲液(pH 7.4)透析 24 h, 换液 5 次, 4℃保存。分别取 LDL₁、LDL₂、LDL₃ 各 1 μ L, 用生理盐水稀释 10 倍, 加入等量 2% 磷钨酸缓冲液(pH 7.4)染色 1 min, 复盖于铜网表面自然风干, 透射电镜 50 000 倍观察, 分别测量脂蛋白直径并照相(电镜附 100 nm 标尺)。

1.4 化学组成的分析

用改良 Lowry's 法测定不同密度 LDL 中的蛋

白; 高压液相色谱测定维生素 A、维生素 E、 β -胡萝卜素; 总抗氧化能力和丙二醛按照试剂盒(南京建成生物公司)说明书方法测定, 硫代巴比妥酸反应物质(thiobarbituric acid reacting substances, TBARS)值以丙二醛/蛋白浓度表示。

1.5 小颗粒致密低密度脂蛋白的氧化曲线

小颗粒致密低密度脂蛋白经 0.01 mol/L 磷酸缓冲液(pH 7.4)充分透析, 去除乙二胺四乙酸二钠, 调整脂蛋白浓度为 0.05 g/L, 加入硫酸铜溶液(终浓度 10 μ mol/L), 于 37℃每隔 5 min 用紫外分光光度计测定 234 nm 波长吸光度。根据脂蛋白氧化产生的共轭双烯的量和时间绘制氧化曲线, 以氧化延滞时间评估脂蛋白氧化易感性。

1.6 血管内皮细胞培养

人脐静脉内皮细胞系(human umbilical vein endothelial cells, HUVEC)(武汉大学中国动植物细胞保藏中心提供)经 1 g/L 胰蛋白酶消化后, 用含 15% 新生小牛血清的 DMEM(GIBCO 公司)液制成细胞悬液, 接种在培养瓶内, 置 5% CO₂ 培养箱中, 37℃培养, 每 2 d 换液 1 次, 生长融合的细胞, 经胰蛋白酶消化传代。

1.7 培养液丙二醛浓度测定

用含 10% 小牛血清的 1640 培养基培养, 内皮细胞以 1.5×10^5 /孔的密度接种于 24 孔板中, 培养 24 h 后, 加入不同浓度的 sLDL 及大而轻 LDL (50 g/L、100 g/L、150 g/L), 置细胞培养箱(37℃、5% CO₂), 并分别于培养 24、48、72 h 后收集培养液测定丙二醛。

1.8 内皮细胞形态观察

上述不同组内皮细胞在测定丙二醛的相应时间用相差显微镜观察细胞单层和形态改变。

1.9 统计学分析

采用 SPSS 10.0 统计软件进行独立样本 *t* 检验和单因素方差分析(One-Way ANOVA), 所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果

2.1 小颗粒致密低密度脂蛋白纯度鉴定

将第 1 次离心获得的 LDL 进行鉴定, 密度在 1.019~1.063 范围内, 肉眼所见为金黄色, 琼脂糖凝胶电泳分离后油红“O”染色只显示出单一条带, 位置同 β 带(LDL), 凝胶扫描为单一峰, 证实为低密度脂蛋白。

第 2 次超速离心分离 LDL 亚组分, 将上部大而轻的 LDL 即密度小于 1.035 (1.020~1.035) 的 LDL

及底部 sLDL(密度为 1.046~ 1.058) 分别进行负染电镜观察,在透射电镜下分别测量颗粒大小。sLDL 颗粒均小于 25.5 nm,大而轻 LDL 颗粒均大于 25.5 nm,证实此法分离 sLDL 方法可靠(图 1, Figure 1)。

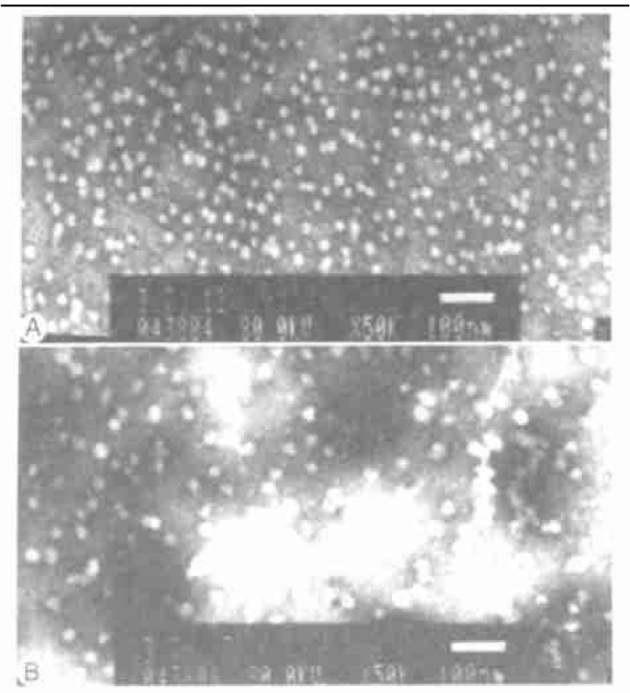


图 1. 小颗粒致密低密度脂蛋白与大而轻低密度脂蛋白颗粒直径比较 A 图显示 sLDL, B 图显示大而轻 LDL; 图下部白色小横条示 100 nm 标尺。

Figure 1. Mean particle diameter determined by negative staining between sLDL and large buoyant LDL

2.2 小颗粒致密低密度脂蛋白中维生素、总抗氧化力和丙二醛的含量

小颗粒致密低密度脂蛋白与大而轻 LDL 亚组比较,维生素 A、维生素 E、β-胡萝卜素含量及总抗氧化力均降低,而 TBARS 增高(表 1, Table 1), sLDL 组 TBARS 是大而轻 LDL 组的 1.7 倍。总抗氧化力代表脂蛋白中酶类和脂溶性维生素等抗氧化物质对氧化反应的抵抗能力的总和,反映 LDL 抗氧化体系的容量和能力,而 sLDL 亚组仅占大而轻 LDL 亚组的 24%,提示 sLDL 亚组不仅抗氧化物质和能力显著降低($P < 0.01$),同时氧化性显著增高($P < 0.05$)。

2.3 小颗粒致密低密度脂蛋白氧化敏感性测定

脂蛋白内多聚不饱和和脂肪酸被氧化形成共轭双烯(conjugated dienes, CD),于波长 234 nm 处显示出最大吸收峰。根据 LDL 氧化随时间产生 CD 量的变化,绘制氧化曲线,可分为 3 个阶段:延滞阶段反映 LDL 抗氧化能力的大小;增殖阶段反映 CD 最大生成率,以最大斜率表示;降解阶段反映 LDL 氧化程

度。sLDL 起始吸光度(absorbance, A) 较大而轻 LDL 增加 40%,提示氧化程度增高,而延滞时间(Lag phase)缩短 62.5%,提示抗氧化能力下降(表 2, 图 2; Table 2, Figure 2)。

表 1. 低密度脂蛋白亚组间抗氧化维生素、总抗氧化力及硫代巴比妥酸反应物质值含量比较

Table 1. Comparison of antioxidant vitamins, total antioxidant capacity and TBARS level between LDL subfractions

指 标	大而轻 LDL (n= 23)	sLDL (n= 9)	sLDL/大而轻 LDL
维生素 A(μg/L)	55.0 ±26.1	57.0 ±21.0	1.04
维生素 E(μg/L)	4 520.0 ±1 607.7	293.6 ±114.9 ^a	0.65
β-胡萝卜素(μg/L)	197.1 ±75.5	76.7 ±28.5 ^b	0.39
总抗氧化力(kIU/L)	21.9 ±9.3	7.1 ±5.5 ^b	0.24
TBARS(nmol/mg)	81.0 ±0.4	137.7 ±0.3 ^a	1.70

a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$, 与大而轻 LDL 组比较。

表 2. 低密度脂蛋白亚组的氧化参数

Table 2. Oxidation parameters of LDL subfractions

氧化参数	大而轻 LDL	sLDL	sLDL/大而轻 LDL
A _{234 nm}	0.038	0.544	1.44
延滞时间(min)	140	50	0.375
共轭双烯生成速率 [nmol/(mg·min)]	0.043	0.055	1.28
总共轭双烯值 [(μmol/(L·g) LDL]	0.823	0.79	1.04

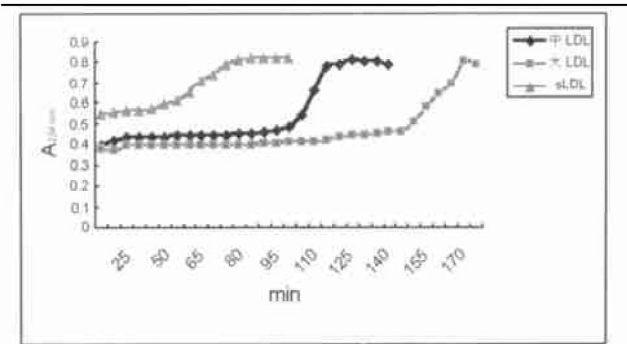


图 2. 低密度脂蛋白亚组体外氧化的动态变化
Figure 2. Kinetics of LDL sub-fractions oxidization in vitro

2.4 小颗粒致密低密度脂蛋白对内皮细胞形态的影响

实验开始前倒置显微镜下观察,融合的细胞为扁平、多角形及短梭形,胞核明显,胞浆丰满,呈鹅卵石样紧密排列,无重叠生长现象。sLDL 组与大而轻

LDL 组相比, 实验 24 h 后, 细胞皱缩, 胞浆内嗜铁物增加。48 h 后, 胞内见空泡, 核膜模糊, 较多的细胞变圆脱落, 有细胞破碎, 未脱落细胞收缩变小, 多有细长突起相互牵连, 正常对照组形态无明显变化。72 h 后, 培养液变黄, 可见部分细胞脱落、漂浮, 镜下可见大片细胞脱失区, 各组细胞均有死亡现象发生。

2.5 小颗粒致密低密度脂蛋白对内皮细胞脂质过氧化的影响

测定培养液中脂质过氧化代谢终产物丙二醛的含量, 可反映脂蛋白促进内皮细胞的脂质过氧化损伤程度。对照组和 LDL 孵育组细胞培养液中丙二醛均逐日增高 ($P < 0.05$)。sLDL 组内皮细胞培养液中丙二醛明显增加, 且具有浓度依赖性, 与作用时间成正相关 (表 2, Table 2)。共同孵育 24 h 时, sLDL 组与相同剂量大而轻 LDL 组比较, 50 mg 组、100 mg 组与 150 mg 组丙二醛显著增高 ($P < 0.05$); 共同孵育 48 h 时, sLDL 组与大而轻 LDL 组比较, 仅 50 mg 组丙二醛显著增高 ($P < 0.05$), 提示 sLDL 较大而轻 LDL 更明显地促进内皮细胞的脂质过氧化反应。其它同等剂量脂蛋白各组, sLDL 组均较大而轻 LDL 组丙二醛增高, 但未达到统计学意义。

表 3. 低密度脂蛋白亚组分对内皮细胞丙二醛含量的影响
Table 3. Effect of LDL subfractions on malondialdehyde content of endothelial cell

脂蛋白	丙二醛 (mg/L)		
	24 h (n=6)	48 h (n=6)	72 h (n=6)
小颗粒致密 LDL 50 mg	8.99 ± 3.30 ^a	24.2 ± 1.6 ^a	45.7 ± 4.1
大而轻 LDL 50 mg	5.82 ± 0.92	22.0 ± 1.9	43.5 ± 1.6
小颗粒致密 LDL 100 mg	13.76 ± 0.92 ^a	25.3 ± 2.5	39.8 ± 15.2
大而轻 LDL 100 mg	9.52 ± 1.59	24.2 ± 3.2	37.1 ± 1.6
小颗粒致密 LDL 150 mg	19.05 ± 3.32 ^a	32.3 ± 1.6	59.7 ± 4.3
大而轻 LDL 150 mg	15.87 ± 1.59	28.0 ± 0.2	58.6 ± 2.5
对照组	1.59 ± 0.01	5.9 ± 0.9	10.2 ± 1.9

a: $P < 0.05$, 与同等剂量的大而轻 LDL 比较。

3 讨论

心脑血管疾病是危害人类健康的常见疾病, 其共同病理基础是 As。1999 年初, Ross 提出 As 是发生在大及中血管的一种慢性特异性炎症^[5]。此炎症反应起始于脂代谢紊乱、高血压、糖尿病、吸烟等众多的危险因素引起的内皮损伤, 而 ox-LDL 是内皮细胞损伤的关键因素之一^[6]。因此 ox-LDL 与 As 关系已成为心血管疾病基础研究的热点。研究发现 LDL 具有高度的不均一性, 采用密度梯度超速离心法、非

变性梯度凝胶电泳法可将其进一步分为若干亚组, 各亚组在理化性状、化学组成、代谢及致 As 作用等方面存在显著差异^[7]。目前分离 LDL 亚组大多采用密度梯度超速离心法, 根据脂蛋白的水合密度不同将 LDL 分成若干亚组。而用非变性梯度凝胶电泳法, 以扫描后 LDL 主峰的颗粒直径 25.5 nm 为界分为两种谱型, A 型以大而轻 LDL 占优势, B 型以 sLDL 占优势。Austin 等^[8]则通过病例对照研究, 发现对照组主要以大而轻 LDL 为主, 而心肌梗死患者主要为 sLDL, B 型使心肌梗死的危险性增加 3 倍。LDL 颗粒每减小 0.65 nm, 则冠心病危险性增加 35%^[9]。因此 sLDL 比大而轻 LDL 更具有致 As 性。由于 sLDL 的生成与血浆甘油三酯水平增高紧密相关, 往往同时合并 HDL 水平降低, Austin 称其为“脂质三联症”或致 As 的脂蛋白表型 (atherogenic lipoprotein phenotype, ALP), 并认为 ALP 是一种具有高度致 As 性的脂质紊乱状态^[10], sLDL 增高则是一系列致 As 性脂蛋白代谢紊乱的一个标志。

目前对 sLDL 的报道多见于临床和流行病学研究, 采用丙烯酰胺非变性梯度凝胶电泳法观察 sLDL 在冠心病人群中的分布, 而对 sLDL 理化特性及功能的研究尚少见报道, 可能与 sLDL 分离制备方法难度较大有关, 限制了对 sLDL 功能的研究。本研究在成功分离 sLDL 后, 测定抗氧化物质维生素 A、维生素 E 和 β-胡萝卜素的含量并测定总抗氧化能力。β-胡萝卜素和维生素 E 等脂溶性维生素大多与 LDL 结合, 在血浆中运转, 起到抗氧化和延迟 As 发生的作用。总抗氧化力代表 LDL 中酶类和脂溶性维生素等抗氧化物质对氧化反应的抵抗能力的总和, 反映 LDL 抗氧化体系的容量和能力。本研究结果表明, sLDL 与大而轻 LDL 比较, 维生素 E、β-胡萝卜素和总抗氧化力显著降低, 提示 sLDL 抗氧化体系的容量和能力较大而轻 LDL 低, 实验表明小颗粒致密 LDL 亚组分较大而轻 LDL 亚组分易于氧化修饰^[11]。Young 等^[12]认为, 影响 LDL 氧化修饰的重要因素包括 LDL 的抗氧化成分、脂肪酸组成和颗粒大小。体外 Cu²⁺ 氧化修饰 LDL 是通过生成自由基作用于 LDL 中的多不饱和脂肪酸, 破坏烯键, 生成反应性的醛 (丙二醛、4-羟烯酸) 等, 并以脂质过氧化物的链式反应进行^[13]。LDL 氧化产物共轭双烯在 234 nm 出现特征性吸收峰, 随时间变化可绘制具有特征性氧化动力曲线。开始曲线上升缓慢, 称为迟滞相, 一般认为由内源性抗氧化物耗竭所致; 随后为快速氧化相, 曲线陡升, 产生大量过氧化脂质。本研究结果显示, sLDL 起始吸光度较大而轻 LDL 增加 44%, 提示

本底氧化程度增高;而延滞时间缩短 62.5%,提示抗氧化能力下降而易被氧化,与测定 sLDL 的维生素 E、 β -胡萝卜素和总抗氧化力显著降低、TBARS 显著增高的结果相一致;同时提示 LDL 颗粒大小、化学组成和理化性质的不均一性是其致 As 性差异的物质基础。

低密度脂蛋白氧化后,其理化特性、生物学特性发生的主要变化之一是丙二醛等醛类物质增加,具有更多的细胞毒性作用,同时在脂质过氧化反应中,发生自由基连锁反应,使细胞膜磷脂中的多不饱和脂肪酸受自由基攻击后,生成大量过氧化脂质丙二醛。将 sLDL 与内皮细胞共孵育,测定培养液中丙二醛的含量,可反映脂蛋白促进内皮细胞的脂质过氧化损伤程度。本实验结果显示, sLDL 组与相同剂量大而轻 LDL 组比较,内皮细胞培养液中丙二醛明显增加,且具有浓度依赖性,与作用时间成正相关,提示 sLDL 促进内皮细胞的脂质过氧化损伤程度较大而轻 LDL 更强。由于 LDL 氧化后对内皮细胞具有直接的细胞毒性作用,可改变细胞形态结构,严重时致内皮细胞脱落,使保护屏障破坏^[14]。我们观察到与大而轻 LDL 相比, sLDL 可使内皮细胞皱缩,胞浆内嗜银物增加。和报道^[15],培养的内皮细胞中分别加入维生素 E、维生素 C 及 β -胡萝卜素 3 种抗氧化维生素,均可显著降低内皮细胞培养液中丙二醛含量,减轻 ox-LDL 对细胞的脂质过氧化损伤。而我们测定 sLDL 中维生素 E 及 β -胡萝卜素均明显减少,可能是 sLDL 对细胞损伤程度较大的机理之一。Sue 认为 ox-LDL 是通过诱发胞浆 Ca^{2+} 浓度的升高而导致这些细胞间的连接短暂开放,形成细胞间缝隙,导致内皮通透性明显提高,改变细胞形态和结构,破坏了内皮细胞完整性^[16],同时 ox-LDL 促使内皮表达内皮素、粘附分子、生长因子等活性物质,进一步损伤内皮功能而促进 As 的发生。我们认为 sLDL 是 LDL 中的一种亚型,但在理化性状、化学组成、代谢及致 As 作用等方面与大而轻 LDL 存在显著差异,其体外

引起内皮细胞的脂质过氧化损伤的机制值得进一步探讨。

上述研究结果表明,我们成功分离制备了 sLDL;与大而轻 LDL 相比, sLDL 抗氧化物质减少,氧化敏感性增高,对内皮细胞脂质过氧化损伤程度增大,可能是其致 As 性更强的机制之一,但尚有待于更加深入的研究。

[参考文献]

- [1] Ross RN. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature*, 1993, **362**: 801-809
- [2] Grafe M, Audr-Schweik W, Hertel H, Terbeek D, Steinheider G, Loebe M, et al. Human cardiac microvascular and macrovascular endothelial cells respond differently to oxidatively modified LDL. *Atherosclerosis*, 1998, **137** (1): 87-95
- [3] 蔺洁,王绿娅,潘晓冬,杜兰平,崔平,秦彦文,等. 小颗粒低密度脂蛋白的分离、鉴定方法的建立. *中华临床医药杂志*, 2002, **3** (1): 3-7
- [4] 王绿娅,秦彦文,蔺洁,潘晓冬,杜兰平,石凤茹,等. 不同 LDL 亚组分对血管内皮细胞粘附分子表达的影响的比较. *中国动脉硬化杂志*, 2002, **10** (6): 495-498
- [5] Ross R. Atherosclerosis is an inflammatory disease. *Am Heart J*, 1999, **138** (5 Part 2): S419-420
- [6] 张娟 综述,王绿娅,王拥军 审校. 氧化型低密度脂蛋白和动脉粥样硬化. *中国动脉硬化杂志*, 2002, **39** (1): 60-64
- [7] 王绿娅. 三酰甘油与动脉粥样硬化. 见:叶平. *血脂的基础与临床*. 北京:人民军医出版社, 2002; 264-278
- [8] Austin MA, Breslow JL, Hennekens CH. Low density lipoprotein subclass patterns and risk of myocardial infarction. *JAMA*, 1998, **260**: 1 917-921
- [9] Lamarche B, Tchernof A, Moorjani J. Small dense low density lipoprotein particles as a predictor of the risk of ischemic heart disease in men. Prospective results from the quebec cardiovascular study. *Circulation*, 1997, **85**: 69-75
- [10] Austin MA, Hokanson JE, Edwards KL. Hypertriglyceridemia as a cardiovascular risk factor. *Am J Cardiol*, 1998, **81** (4A): 7B-12B
- [11] 王绿娅,蔺洁,潘晓冬. 小而密低密度脂蛋白的分离及其成分初步分析. *中华实用医学杂志*, 2002, **4** (1): 17-21
- [12] Young IS, McEneaney J. Lipoprotein oxidation and atherosclerosis. *Biochem Soc Trans*, 2001, **29** (2): 358-362
- [13] 汪俊军,刘小传,庄一义. 低密度脂蛋白亚组分氧化易感性的检测及临床应用. *临床检验杂志*, 1999, **17** (2): 77-79
- [14] 王绿娅. 动脉粥样硬化的病理生理机制. 见:吴兆苏. *心血管流行病学与人群防治*. 北京:人民卫生出版社, 2002; 131-136
- [15] 和红,王福,蔡梅雪. 抗氧化维生素对氧化型低密度脂蛋白作用的主动脉内皮细胞脂质过氧化损伤的影响. *卫生研究*, 1999, **28** (2): 97-100
- [16] Sue I, Escargueil Blanc I, Trolly M. High density lipoproteins and apoptosis: cell death of endothelial cells induced by oxidized low density lipoproteins. *Arteriosclerosis Thromb Vasc Biol*, 1997, **17** (10): 2 158-166

(此文编辑 曾学清)