

· 基础研究 ·

杜仲对动脉粥样硬化小鼠血液代谢组学的影响

孙楠楠¹ 姜月华² 杨传华³

摘要 **目的** 研究杜仲对动脉粥样硬化小鼠血液代谢组学的影响。**方法** 18 只 ApoE^{-/-} 雄性小鼠随机分为实验组和模型组, 每组 9 只。另设 9 只 C57BL/6J 雄性小鼠作为对照组。高脂饮食 12 周后, 实验组灌胃杜仲水溶液[0.46 g/(kg·d)], 模型组和对照组灌胃等量生理盐水, 灌胃 6 周。实验结束时抽取小鼠血液, 进行代谢组学分析。**结果** 三组小鼠的血液代谢总量子流图具有一定的差异, 并进一步分析筛选出胆固醇代谢、脂肪酸代谢、不饱和脂肪酸生物合成、鞘脂代谢、酰基辅酶 A 代谢五个代谢通路。实验组上调了二十碳五烯酸、十八碳二烯酸、3-O-硫酰基神经酰胺、四氢异喹啉的表达, 下调了胆固醇、棕榈酸、硬脂酸、鞘氨醇、溶血磷脂酰胆碱的表达。**结论** 杜仲对动脉粥样硬化相关代谢物有调节改善作用, 对动脉粥样硬化有一定的干预作用。

关键词 杜仲; 动脉粥样硬化; 血液代谢组学

Effects of *Cortex Eucommiae* on Blood Metabonomics in Atherosclerotic Mice SUN Nan-nan¹, JIANG Yue-hua², and YANG Chuan-hua³ *1 First Clinical College of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan (250014); 2 Central Laboratory of Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan (250014); 3 Department of Cardiology, Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan(250014)*

ABSTRACT Objective To study the effect of *Cortex eucommiae* on blood metabolomics in atherosclerotic mice. **Methods** Eighteen ApoE^{-/-} male mice were randomly divided into experimental group and model group, 9 in each group. Another 9 male C57BL/6J mice were selected as a control group. After 12 weeks of high-fat diet, mice in the experimental group were administered with *Cortex eucommiae* (0.46 g·kg⁻¹·d⁻¹), and mice in the model group and the control group were given the equal volume of normal saline by gavage for 6 weeks. At the end of the experiment, the blood samples of the mice were taken for metabolomic analysis. **Results** There existed significant difference among the three groups of mice in total blood metabolic subflow maps. Five metabolic pathways were screened, including cholesterol metabolism, fatty acid metabolism, unsaturated fatty acid biosynthesis, sphingolipid metabolism and acyl coenzyme A metabolism. The expression of eicosapentaenoic acid, octadecadienoic acid, 3-O-thionyl ceramide, tetrahydroisoquinoline were up-regulated in the experience group, meanwhile the expression of cholesterol, palmitic acid, stearic acid, sphingosine, lysophosphatidylcholine were down-regulated. **Conclusion** *Cortex eucommiae* can regulate and improve atherosclerosis related metabolites, and has a clear intervention effect on atherosclerosis.

KEYWORDS *Cortex eucommiae*; arteriosclerosis; hematometabonomics

杜仲又名木棉、思仲、思仙、思锦树, 性味甘温, 归肝、肾经, 具有补肝肾、强筋骨、安胎等功效^[1], 在我国中医治疗体系中的应用已有两千多年的历史, 是名贵的滋补中药。杜仲已被提取出的成分按其结构分为木脂素类、黄

基金项目: 国家自然科学基金面上资助项目(No. 81573916, No. 81673807); 泰山学者岗位建设资金资助(No. 2018-35)

作者单位: 1. 山东中医药大学第一临床医学院(济南 250014); 2. 山东中医药大学附属医院中心实验室(济南 250014); 3. 山东中医药大学附属医院心病科(济南 250014)

通讯作者: 杨传华, Tel: 0531-68616602, E-mail: yangchuanhua1962@126.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20200523.232

酮类、环烯醚萜类、苯丙素类、甾醇类及三萜类、多糖类、抗真菌蛋白等。杜仲具有良好的降压、降血脂、降血糖、抗炎、抗氧化、抗肿瘤、抗菌抗病毒等作用^[2]。已有研究证实,杜仲提取物可以通过降血脂、抗炎、抗氧化损伤等途径改善动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)进程^[3],对 AS 具有一定的治疗作用^[4]。本实验采用代谢组学方法,研究杜仲干预对 AS 小鼠血液代谢标志物的影响,探讨杜仲抗动脉硬化作用的药理机制,为杜仲对动脉硬化疾病的临床应用提供理论支持。

材料与方法

1 动物 选取 SPF 级 ApoE 基因敲除(ApoE^{-/-}) 6 周龄雄性小鼠 18 只,体重 15~18 g;SPF 级基因未敲除的同品系普通 6 周龄雄性小鼠(C57BL/6J)9 只,体重 15~18 g。所有实验动物均购于北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证号:[SCXC(京)2016-0006]。实验动物均饲养于山东省师范大学动物房,小鼠自由进食,自由饮水。鼠房每天人为控制光线昼夜各 12 h,保持恒温 21~23 ℃。每天清扫鼠房,每周至少更换 2 次垫料。本实验已通过山东中医药大学附属医院动物伦理委员会批准(No. 2020-02)。

2 药物 杜仲免煎颗粒采购于山东省中医院中药房(1 g/包,杜仲配方颗粒批号为:1609169)。瑞舒伐他汀钙片(瑞脂,5 mg/粒,鲁南贝特制药有限公司生产,批号:H20080240)。

3 主要试剂与仪器 主要试剂:乙腈(高效液相色谱级,批号:178497),甲醇(高效液相色谱级,批号:166817),甲酸(高效液相色谱级,批号:155798),均购自 CNW 公司;超纯水由 Milli-Q 水纯化系统(Millipore, Bedford, MA, USA)制备。

主要仪器:漩涡振荡器:TYXH-I,上海汗诺仪器有限公司;台式高速冷冻离心机:TGL-16MS,上海卢湘仪离心机仪器有限公司;超声波清洗机:SB-5200DT,宁波新芝生物科技股份有限公司;超高效液相色谱(Ultra Performance Liquid Chromatography, UPLC):ACQUITY UPLC,沃特世科技有限公司(Waters);高分辨质谱:Xevo G2-XS QToF 高分辨质谱仪,沃特世科技有限公司(Waters);色谱柱:ACQUITY UPLC BEH C18(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm),沃特世科技有限公司(Waters)。

4 动物分组及造模 18 只 ApoE^{-/-}小鼠随机分为实验组和模型组,每组 9 只,9 只 C57BL/6J 小鼠作为对照组。随机分组方法:将 18 只小鼠依次编号 1~18 号,然后任意从随机数字表的某一行某一数字开始

抄录 9 个 ≤18 的数,数字对应小鼠分为实验组,剩余小鼠为模型组。三组小鼠均普通饲料适应性喂养 1 周后,高脂饲料喂养 12 周制造 AS 模型^[5]。12 周后,用颈动脉超声诊断仪观察颈动脉粥样斑块情况,超声结果可见明显的斑块影,显示造模成功。实验过程中,实验组自然死亡 2 只。

5 干预方法 高脂饲料喂养 12 周诱导 AS 模型,之后开始各相应药物灌胃。根据徐淑云著作《药理实验方法学》,人和小鼠按体表面积折算的等效剂量比值为 1:0.91^[6]。临床杜仲成人常用剂量为每人 30 g/d,以 60 kg 人体体重进行换算,杜仲生药材的灌胃剂量为 0.5 g/(kg·d),转换成小鼠等效灌胃剂量为 0.46 g/(kg·d)^[7]。实验组灌胃杜仲免煎颗粒水溶液,根据 1 g 免煎颗粒相当于生药材 10 g 的换算比例,杜仲免煎颗粒的灌胃剂量为 0.046 g/(kg·d)。小鼠适宜灌胃液体体积 0.2 mL/次,根据每只小鼠灌胃药量和灌胃液体体积配置相应杜仲混悬液,每周测量小鼠体重,根据体重调整药量。杜仲混悬液的配置方法:蒸馏水溶解杜仲颗粒,放于 4 ℃冰箱冷藏备用。模型组和正常组以等量生理盐水灌胃。一周给药 6 天,每天上午 10:00 定时给药,所有小鼠连续灌胃 6 周。

灌胃结束后,3% 戊巴比妥钠 40 mg/kg 腹腔注射麻醉小鼠。下腔静脉取血,分离血清,置于-80 ℃冰箱保存;冰上取胸主动脉,用 10% 中性甲醛固定 48 h。

6 检测指标及方法

6.1 各组小鼠胸主动脉 HE 染色 将切片置于 65 ℃干烤 30~35 min;石蜡切片 4 μm,常规脱蜡至水;Hansen 氏苏木素常温染色约 5 min,至细胞核变为蓝紫色;自来水冲洗 3~5 min,1% 氨水 1 min 返蓝;1% 盐酸乙醇脱色分化 30 s 后,流水冲洗 5 min;伊红复染 3 min 后,流水冲洗;脱水透明,中性树胶封片。

6.2 样本前处理 取 100 μL 血清,加入内标(L-2-氯苯丙氨酸,0.3 mg/mL,甲醇配置;C-17,0.01 mg/mL,甲醇配置)各 10 μL,涡旋震荡 10 s;加入 300 μL 的蛋白沉淀剂甲醇-乙腈(2:1, v/v),涡旋震荡 1 min;冰水浴中超声提取 10 min;-20 ℃下静置 30 min;离心 15 min(13 000 r/min, 4 ℃),用注射器吸取 200 μL 的上清液,使用 0.22 μm 的有机相针孔过滤器过滤后,转移到 LC 进样小瓶,-80 ℃下保存,直到进行 LC-MS 分析;质控样本(quality control, QC)由所有样本的提取液等体积混合制备而成,每个 QC 的体积与样本相同。

6.3 液相色谱-质谱分析条件 本次实验的分析仪器为沃特世 ACQUITY UPLC 超高效液相串联 Xevo G2-XS QToF 高分辨质谱仪组成的液质联用系

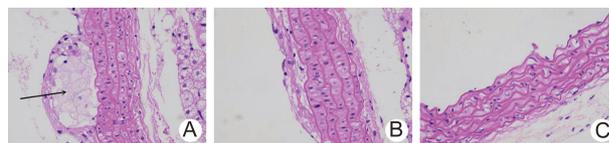
统。色谱柱:ACQUITY UPLC BEH C18 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm);柱温:45 °C;流动相:A—水(含 0.1% 甲酸),B—乙腈(含 0.1% 甲酸);流速:0.4 mL/min;进样体积:2 μL。离子源:ESI;样品质谱信号采集分别采用正负离子扫描模式。每 12 个分析样本中插入一个 QC,以考察整个分析过程的重复性。本实验采用基于 UPLC Q-ToF 技术平台,结合 QI 代谢组学数据处理软件,对不同分组样本进行代谢轮廓分析。质控结果表明 QC 样本聚集在一起,说明整个操作以及实验平台是稳定可靠的。在实验获得的代谢谱差异可以反映样本间生物学差异。

7 统计学方法 采用 SPSS 22.0 统计软件进行数据分析,两组间均数比较使用方差分析。对标准化后的各组数据进行无监督的 PCA 分析,观察各组成分的差异,然后进一步采取有监督的 PLS-DA 分析。采用多维分析和单维分析相结合的办法,来筛选组间差异代谢物。挑选 PLS-DA 模型第一主成分 VIP>1 的数据,并进一步进行方差分析,挑选 P<0.05 的变量,作为潜在标志物。筛选出的潜在标志物,进行 HMDB 数据搜索,最终确定有意义的差异代谢物。通过 MBRole 通路分析功能,利用鉴定出的差异代谢物的 KEGG ID 进行通路富集分析,获得代谢通路富集结果。P<0.05 为显著,P 越小,则该代谢通路的差异性越显著。

结 果

1 各组小鼠胸主动脉形态学比较(图 1) 各组

小鼠胸主动脉 HE 染色显示,对照组主动脉血管细胞排列整齐,管壁光滑,内-中膜厚度适中;模型组主动脉血管壁中膜不规则增厚,内膜损伤,血管平滑肌细胞肥大、增生、排列紊乱,细胞核浓染;实验组,血管内-中膜增厚、血管平滑肌细胞肥大、增生和内皮损伤情况相较于模型组,均有明显的改善。

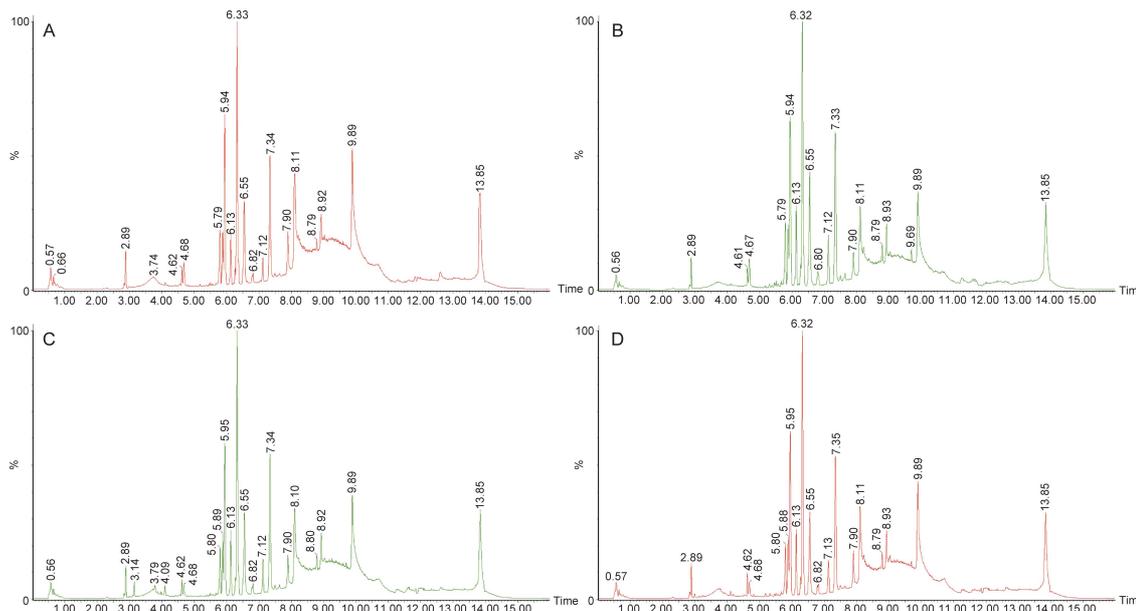


注:A 为模型组;B 为实验组;C 为对照组;箭头所指为 AS 斑块

图 1 各组小鼠胸主动脉形态学比较 (HE,×400)

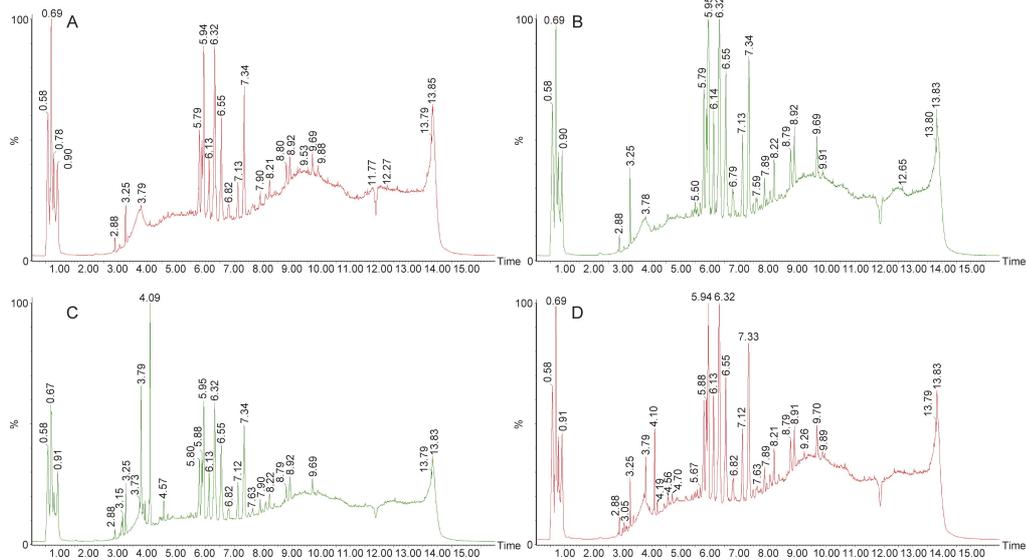
2 各组血液样本分析(图 2、3) 于正离子模式下获得各组小鼠血液代谢总离子流图(图 2),图片显示各组的总离子流图有一定的差异。于负离子模式下获得各组小鼠血液代谢总离子流图(图 3),各组的总离子流图有一定的差异。

3 数据分析(图 4、5) PCA 分析图显示:三组小鼠血液样本的主成分分离较明显,代谢组存在差异,其中对照组与模型组比较,R2X:0.52,Q2:0.334,实验组与模型组比较,R2X:0.445,Q2:0.01;PLS-DA 分析图显示:三组血液样本的主成分明显分离,代谢组存在明显差异,其中对照组与模型组比较,R2X:0.753,Q2:0.984,实验组与模型组比较,R2X:0.602,Q2:0.906。



注:A 为模型组;B 为实验组;C 为对照组;D 为质控样本

图 2 各组小鼠血液代谢总离子流图 (正离子)



注:A 为模型组;B 为实验组;C 为对照组;D 为质控样本

图 3 各组小鼠血液代谢总离子流图 (负离子)

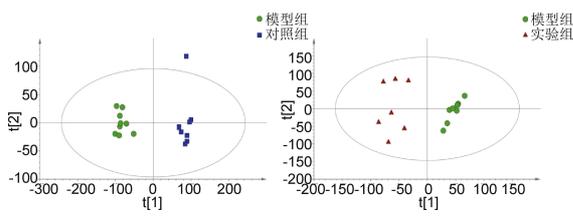


图 4 各组数据的 PCA 分析

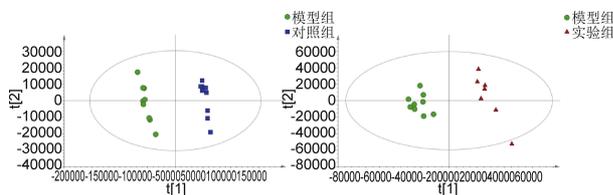


图 5 各组数据的 PLS-DA 分析

4 差异代谢物筛选及差异代谢物的代谢通路分析(表 1) 本实验共筛选出 9 个有意义的差异代谢物,相较于模型组,经杜仲干预后,二十碳五烯酸、十八碳二烯酸、3-O-硫酰基神经酰胺、四氢异喹啉 4 个标志

物上调了表达,胆固醇、棕榈酸、硬脂酸、鞘氨醇、溶血磷脂酰胆碱 5 个标志物下调了表达。这 9 个差异代谢物可看做是杜仲发挥抗 AS 作用的靶点。本实验共鉴定出 5 个代谢通路,包括胆固醇代谢、脂肪酸代谢、不饱和脂肪酸生物合成、鞘脂代谢、酰基辅酶 A 代谢。差异代谢物的代谢通路具体信息见表 1。

讨论

脂质代谢紊乱与 AS 的发生发展密切相关。本实验在胆固醇代谢通路中,筛选出了胆固醇(cholesterol, TC)一个代谢标志物。TC 在血浆中以脂蛋白的形式运输^[8]。在肠管和肝脏中产生的 TC 一开始以极低密度脂蛋白(very low density lipoproteins, VLDL)的形式进入血液循环,随后便通过中间环节大部分转化为低密度脂蛋白(low density lipoproteins, LDL)进行运输^[9]。LDL 可进入血管内皮并滞留于内皮下层组织中并进一步被氧化,LDL 可被巨噬细胞识别并

表 1 差异代谢物及代谢通道

序号	代谢通路	标志物	数据库 ID	质核比	保留时间(min)	对照组	实验组
1	胆固醇代谢	胆固醇	HMDB0001496	367.337 1	8.769	↓	↓
2	脂肪酸代谢	棕榈酸	HMDB0000220	255.232 3	6.318	↓	↓
3	脂肪酸代谢	硬脂酸	HMDB0000827	283.263 6	7.330	↑	↓
4	不饱和脂肪酸生物合成	二十碳五烯酸	HMDB0001999	301.216 4	7.492	↑	↑
5	不饱和脂肪酸生物合成	十八碳二烯酸	LMFA01030303	559.473 0	11.193	↑	↑
6	鞘脂代谢	鞘氨醇	HMDB0000269	302.305 8	5.078	↓	↓
7	鞘脂代谢	3-O-硫酰基神经酰胺	HMDB0012314	788.531 7	13.828	↑	↑
8	酰基辅酶 A	溶血磷脂酰胆碱	HMDB0010379	468.309 2	5.458	↓	↓
9	不明确	四氢异喹啉	HMDB0060065	194.081 5	5.169	↑	↑

注:与模型组比较,↑表达上调;与模型组比较,↓表达下调

吞噬,形成泡沫细胞,直接促进斑块的形成与发展^[10]。杜仲干预后的实验组,调整了脂质代谢,下调了 TC 的表达,杜仲对于脂质代谢紊乱引发的 AS,有一定的预防作用。

有流行病学调查显示,饱和脂肪酸的摄入量与 AS 的形成呈正相关^[11,12]。本实验在饱和脂肪酸的生物合成代谢通路中,筛选出棕榈酸(*palmitic acid*)与硬脂酸(*stearic acid*)两个代谢标志物。棕榈酸以甘油酯的形式存在于脂肪中,能抑制 LDL 受体的活性,从而提高血 TC 的含量,促进动脉硬化的形成^[13]。有研究发现,棕榈酸能够增加血管内皮细胞活性氧的生成^[14]。过量活性氧可以通过多种途径损伤血管内皮使之凋亡,并使 LDL 过氧化生成氧化低密度脂蛋白,活性氧和氧化低密度脂蛋白都可以促进炎症因子和内皮细胞黏附分子的产生,加快动脉硬化的进程^[15]。还有研究发现,高棕榈酸饮食,可以提高 ApoE^{-/-}小鼠游离脂肪酸浓度和主动脉基质金属蛋白酶 2 的表达,从而减少动脉粥样斑块内胶原的含量,使斑块的稳定性降低^[16]。硬脂酸的溶解度虽然低,但吸收的非常快,在生物体内可以迅速转化成油酸,从而不体现升高 TC 的效果^[12]。以前认为硬脂酸能升高 TC,现在研究发现其与其他长链饱和脂肪酸不同,对血 TC 的提升作用不明显,多认为其对动脉硬化的形成不具有作用^[12,13]。杜仲干预后的实验组,其棕榈酸和硬脂酸的表达均有所下调。表明杜仲可以降低 AS 小鼠血饱和脂肪酸的含量,进而对 AS 的进展起到一定的抑制作用。

本实验在不饱和脂肪酸的生物合成代谢通路中,筛选出二十碳五烯酸和十八碳二烯酸两个代谢标志物。二十碳五烯酸除了能提高高密度脂蛋白的浓度^[9],最突出的生理活性是能显著降低血 TC 浓度,且对甘油酯和 VLDL 也有明显的降低作用,具体的机制可能与其抑制肝脏中甘油酯的合成有关^[17]。除此以外,二十碳五烯酸还能在体内合成前列腺环素和前列腺素 E3,前列腺素具有抗张血管、防止血小板对动脉壁的黏附以及抑制构成血栓的成分在血液中成块的功能^[18,19]。研究表明,十八碳二烯酸对平滑肌有类前列腺素作用,能促进血液流动^[20]。用十八碳二烯酸对体外培养的人血管内皮细胞进行干预,发现其能够明显降低 TC 的含量^[18]。十八碳二烯酸还能减缓内皮细胞的增厚并抑制血细胞在血管壁的黏附以减少 AS 的形成^[20,21]。本实验结果表明,杜仲干预的实验组,其二十碳五烯酸和十八碳二烯酸的表达相较于模型组均上调,杜仲可以通过增加不饱和脂肪酸的含量来保护

血管,抗 AS 的形成。

在鞘脂代谢通路中,本实验筛选出鞘氨醇和 3-O-硫酰基神经酰胺(两个代谢标志物。鞘氨醇可以通过神经酰胺激酶转化为神经酰胺,也可以通过鞘氨醇激酶转化为 1-磷酸鞘氨醇^[22]。神经酰胺通过中间环节抑制一氧化氮合酶的磷酸化,降低血液中一氧化氮(nitric oxide, NO)浓度,损伤血管内皮^[23]。低浓度的 S1P 通过控制血管收缩物质的渗漏增强内皮屏障,而高浓度的 S1P 对血管收缩物质渗漏的控制力减弱,进而破坏内皮屏障^[22]。3-O-硫酰基神经酰胺是一种内源性糖脂硫化物,能抑制鞘氨醇激酶 2 的活性,降低 S1P 的浓度^[24]。本实验中,杜仲干预的实验组,其鞘氨醇的表达下降,3-O-硫酰基神经酰胺的表达上升,直接和间接的保护了血管内皮的屏障功能。

在酰基辅酶 A 代谢通路中,本实验筛选出溶血磷脂酰胆碱(Lyso-phosphatidyl Choline, LysoPC)一个代谢标志物。LysoPC 是氧化型低密度脂蛋白损伤血管功能的主要成分,氧化型低密度脂蛋白能驱使单核巨噬细胞黏附在血管内皮上,并被巨噬细胞大量吞噬形成 AS 的使动因子,不仅如此,氧化型低密度脂蛋白还具有直接的细胞毒作用,能直接损伤血管内皮细胞和平滑肌^[25]。有研究证实, LysoPC 能抑制组织型纤溶酶原激活剂和纤溶酶原激活物抑制剂的活性,加重内皮细胞的死亡,具有强烈的致 AS 作用^[26]。杜仲干预的实验组,其溶血磷脂酰胆碱的表达下降,表明杜仲能够降低动脉硬化小鼠血 LysoPC 的浓度,保护血管内皮、抑制动脉硬化的发生。

四氢异喹啉类生物碱具有广泛的生物活性,例如抗肿瘤、抗菌、降压、调节免疫等,四氢异喹啉在心血管方面还具有一个重要的生理功能,那就是抗血小板聚集^[27]。已有研究证实,四氢异喹啉衍生物对体外血小板聚集有一定的抑制作用,并与剂量呈正相关性^[27]。除此以外,四氢异喹啉衍生物还具有抗心肌缺血的功效,其机制可能与钙通道阻滞和 α 受体阻滞的扩血管作用有关^[28]。杜仲干预的实验组,其四氢异喹啉的表达上升,表明杜仲能够增加四氢异喹啉的浓度,抑制血小板的聚集、延缓动脉硬化的进展。

杜仲的抗 AS 作用已被证实,但机制不甚明了。本实验借助血液代谢组学的相关技术,研究了杜仲对 AS 小鼠血液代谢物的影响,明确作用靶点,为杜仲的进一步研究以及对 AS 疾病的临床应用提供理论支持。

利益冲突:无利益冲突。

参 考 文 献

- [1] 袁天翊, 方莲花, 吕扬, 等. 杜仲叶的药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(6): 781-785.
- [2] 刘聪, 郭非非, 肖军平, 等. 杜仲不同部位化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(3): 497-512.
- [3] 宋响, 刘颖菊, 王梦华, 等. 杜仲叶醇提取物对冠状动脉粥样硬化心脏病的保护作用[J]. 中药药理与临床, 2009, 25(2): 77-80.
- [4] 雷燕妮, 张小斌. 商洛杜仲叶多糖对高血脂模型小鼠的降血脂作用[J]. 陕西师范大学学报(自然科学版), 2018, 46(4): 120-124.
- [5] 欧海龙, 张礼林, 何晓兰, 等. ApoE(-/-)小鼠动脉粥样硬化模型的建立[J]. 生命科学研究, 2015, 19(2): 141-144.
- [6] 吴婷婷, 屈会化, 胡丽娜, 等. 基于树鼯体表面积与人类及其它实验动物等效剂量换算系数的测算[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(1): 203-205.
- [7] 亓英姿, 姜月华, 姜凌宇, 等. 杜仲-刺蒺藜对老龄自发性高血压大鼠肠道微生物组的影响[J]. 中华高血压杂志, 2019, 27(5): 454-462.
- [8] 陈爱明. 1162 例化工行业职工血脂分析[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(1): 119-120.
- [9] 范丽娟, 李仲. LDL 受体介导的血浆低密度脂蛋白胆固醇的内吞[J]. 生命的化学, 2014, 34(3): 329-336.
- [10] 胡兵, 李红, 王学涵. 小而密低密度脂蛋白与冠心病的研究进展[J]. 云南医药, 2020, 41(2): 176-180.
- [11] 张畅, 罗肖肖, 晏勇, 等. 棕榈酸通过上调脂肪酸转位酶诱导 THP-1 细胞的炎症反应[J]. 中国病理生理杂志, 2018, 34(3): 393-398.
- [12] 李想, 范春雨. 游离脂肪酸与冠心病发生发展关系的研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2020, 18(3): 446-448.
- [13] 满永宏, 张驰, 赵晴, 等. 棕榈酸对 EA.hy926 细胞胆固醇代谢相关基因表达的影响及机制[J]. 中国动脉硬化杂志, 2020, 28(1): 14-19.
- [14] 张丹, 索琳娜, 韩玲玲, 等. Ghrelin 抑制棕榈酸诱导的人血管内皮细胞凋亡[J]. 现代预防医学, 2012, 39(18): 4805-4807.
- [15] 仲美楠, 李玉子. 棕榈酸在心血管疾病中的研究进展[J]. 吉林医学, 2018, 39(5): 963-966.
- [16] 靳飞鹏, 蒋四华, 马双陶, 等. 高棕榈酸饮食对 ApoE 基因敲除小鼠动脉粥样硬化的影响[J]. 国际心血管病杂志, 2014, 41(2): 107-110.
- [17] 石迪. 海参磷脂型二十碳五烯酸对非酒精性脂肪肝的干预及作用机制研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2014.
- [18] Mason RP, Libby P, Bhatt DL. Emerging mechanisms of cardiovascular protection for the Omega-3 fatty acid eicosapentaenoic acid[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2020, 40(5): 1135-1147.
- [19] 黄丽丽, 杨丹, 徐运. 前列腺素及其类似物治疗和预防脑小血管病的可能性[J]. 国际脑血管病杂志, 2019, 27(1): 37-43.
- [20] 姜春姣, 江芸, 耿志明, 等. 亚油酸氧化产物——羟基十八碳二烯酸的研究进展[J]. 食品科学, 2018, 39(7): 278-284.
- [21] Don AS, Rosen H. A lipid binding domain in sphingosine kinase 2[J]. Elsevier Inc, 2009, 380(1): 87-92.
- [22] Kerage D, Brindley DN, Hemmings DG. Review: novel insights into the regulation of vascular tone by sphingosine 1-phosphate[J]. Placenta, 2014, 35 Suppl: S86-S92.
- [23] Zhang Q, Holland W, Wilson L, et al. Ceramide mediates vascular dysfunction in diet-induced obesity by PP2A-mediated dephosphorylation of the eNOS-Akt complex[J]. Diabetes, 2012, 61(7): 48-59.
- [24] 潘文慧, 蒋海强, 李运伦. 钩藤提取液对自发性高血压大鼠尿液代谢组学的影响[J]. 中医杂志, 2019, 60(1): 62-66, 71.
- [25] 康永波, 蔡悦, 李昱, 等. 氧化型低密度脂蛋白对人主动脉平滑肌细胞生长的影响[J]. 西部医学, 2020, 32(3): 328-333.
- [26] 李佳蓓, 张云兰, 李然梅, 等. 血浆 LysoPC 水平对 TIA 后发生脑卒中的预测价值[J]. 检验医学与临床, 2019, 16(6): 755-757.
- [27] 林琳. 四氢异喹啉类生物碱抗血小板聚集药物研究进展[J]. 现代中药研究与实践, 2014, 28(1): 83-86, 59.
- [28] 许敬菊. 异喹啉类化合物心血管活性研究进展[J]. 中国实用医药, 2012, 7(6): 251-253.

(收稿: 2019-06-18 在线: 2020-07-03)

责任编辑: 白霞