

[文章编号] 1000 - 4718(2007)12 - 2336 - 05

高同型半胱氨酸诱导血管内皮功能障碍促进 微循环障碍和微血栓形成*

孙娟^{1,2}, 谭红梅^{1,2}, 程超³, 吴伟康^{1,2,Δ}, 吴以岭^{4,Δ}, 孙慧兰^{1,2}, 韩玉莲^{1,2}, 陈俊林^{1,2}
(中山大学¹中山医学院病理生理教研室,²中西医结合研究所,³附属第一医院胸外科, 广东广州 510080;
⁴河北以岭医药研究院, 河北石家庄 050035)

[摘要] 目的: 采用蛋氨酸灌胃复制高同型半胱氨酸血症(hyperhomocysteinemia, HHcy)致内皮功能障碍, 在此基础上, 联合脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)和角叉菜胶(carrageenan, Ca)造成大鼠体内广泛微血栓形成, 观察血管内皮损伤和功能障碍对大鼠体内微血栓形成的促进作用。方法: ①内皮损伤模型的建立。SD大鼠随机分为对照组(control)、内皮功能障碍组(HHcy)。HHcy组采用蛋氨酸灌胃4周复制HHcy致内皮功能障碍模型, 对照组以等量纯净水灌胃。4周后检测血浆同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)水平, 并取大鼠胸主动脉段进行血管舒张功能检测, 同时检测血浆一氧化氮(NO)和血管性假血友病因子(von Willebrand factor, vWF)水平, 以评价血管内皮功能状况。②Ca/LPS诱导微血栓形成。SD大鼠随机分为对照组(control)、微血栓组(Ca/LPS)、内皮功能障碍加微血栓组(HHcy + Ca/LPS)。Ca/LPS组大鼠腹腔注射Ca, 16 h再腹腔注射LPS。注射LPS 20 h后心脏采血检测凝血功能和血小板计数, 镜下观测肠系膜微循环, 24 h大鼠颈动脉采血结束实验, 检测血浆NO和vWF值。对照组腹腔注射等量生理盐水, 检测指标同模型组。HHcy + Ca/LPS组大鼠经蛋氨酸灌胃持续4周后, 再按照上述方法注射Ca/LPS, 观察内皮功能障碍对大鼠微循环障碍和微血栓形成的影响。结果: ①蛋氨酸灌胃4周导致HHcy, 血浆vWF水平显著升高, NO水平降低, 内皮依赖性血管舒张功能显著降低, 提示血管内皮功能受损, 大鼠内皮功能障碍模型复制成功。②Ca/LPS组肠系膜微循环可见广泛微血栓形成, 注射LPS后20 h, 通过检测凝血指标可见血液处于高凝状态。而与之比较, HHcy + Ca/LPS组微循环障碍进一步加强, 血小板计数减少, 血浆NO值降低, vWF升高; 注射LPS 20 h后可见血液处于继高凝状态之后的消耗性低凝状态。结论: 蛋氨酸灌胃4周导致HHcy, 诱导血管内皮功能障碍。联合Ca/LPS造模可建立微循环障碍和微血栓形成的动物模型, 而内皮功能障碍能加速加重微循环障碍和微血栓形成。

[关键词] 内皮, 血管; 血栓形成; 蛋氨酸; 角叉菜胶; 脂多糖类

[中图分类号] Q463; R364.1

[文献标识码] A

Hyperhomocysteinemia induces endothelial dysfunction and aggravates microcirculation dysfunction and microthrombosis

SUN Juan^{1,2}, TAN Hong - mei^{1,2}, CHENG Chao³, WU Wei - kang^{1,2}, WU Yi - ling⁴,
SUN Hui - lan^{1,2}, HAN Yu - lian^{1,2}, CHEN Jun - lin^{1,2}

(¹Department of Pathophysiology, Zhongshan School of Medicine, ²Institute of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, ³Department of Chest Surgery, The First Affiliated Hospital, Sun Yat - sen University, Guangzhou 510080, China; ⁴Yiling Medicinal Academy, Shijiazhuang 050035, China. E - mail: w2004wk@yahoo.com.cn; wanry@163.com)

[ABSTRACT] **AIM:** To establish a microthrombus model by carrageenan (Ca)/ lipopolysaccharides (LPS) intraperitoneal injection in rats with hyperhomocysteinemia (HHcy) and endothelial dysfunction induced by L - methionine intake. **METHODS:** ① Male Sprague Dawley rats were randomly divided into 2 groups: control and endothelial dysfunction (HHcy) groups. L - methionine was administered by gavage in HHcy group for total 4 weeks. Purified water was administered by gavage in control rats. Plasma Hcy, NO and vWF were examined and the thoracic aorta were excised after 4 weeks

[收稿日期] 2007 - 04 - 18

[修回日期] 2007 - 08 - 26

* **[基金项目]** 国家973资助项目(No. 2005CB523305)

Δ通讯作者 吴伟康 Tel: 020 - 87331779; E - mail: w2004wk@yahoo.com.cn; 吴以岭 Tel: 0311 - 3852240; E - mail: wanry@163.com

of L-methionine treatment to evaluate endothelial function. ② Male Sprague Dawley rats were randomly divided into 3 groups to establish a microthrombus formation model with Ca/LPS: control, microthrombus formation (Ca/LPS) and endothelial dysfunction plus microthrombus formation (HHcy + Ca/LPS) groups. Control rats were injected with normal saline (NS). Ca/LPS rats were intraperitoneally injected with carrageenan (Ca) and followed by lipopolysaccharides (LPS) 16 h later. HHcy + Ca/LPS rats were intragastric gavaged by L-methionine for total 4 weeks, and then were injected with Ca/LPS in the same way as Ca/LPS group. Cruor parameters and platelet count were detected at 20 h after LPS or NS injection and the mesentery microcirculation was monitored. Plasma NO and vWF were also detected at 24 h after LPS or NS injection. **RESULTS:** ① Plasma Hcy concentrations and vWF level were significantly increased in HHcy group, while plasma NO content was significantly decreased compared with that in control group. Endothelial dependent relaxation (EDR) of aortic rings was significantly decreased in HHcy group, suggesting endothelial damage/dysfunction was induced by HHcy. ② Mesentery capillary was obviously blocked by microthrombus in Ca/LPS rats and was blocked more seriously in HHcy + Ca/LPS rats. Cruor parameter results suggested that Ca/LPS rats were in hypercoagulable phase and HHcy + Ca/LPS rats were in hypocoagulable phase at 20 h after LPS injection. Platelet count and plasma NO content in HHcy + Ca/LPS group were significantly decreased, while plasma vWF level was significantly increased compared with Ca/LPS group. **CONCLUSION:** L-methionine intake induces severe HHcy and causes endothelial dysfunction in rats. Microcirculation dysfunction and microthrombosis can be caused by Ca/LPS intraperitoneal injection and may be aggravated by endothelial dysfunction.

[**KEY WORDS**] Endothelium, vascular; Thrombosis; Methionine; Carrageenan; Lipopolysaccharides

心血管疾病已成为严重危害人类健康、影响生活质量的常见病,并且发病率逐年上升,年龄呈年轻化,故心血管疾病的防治受到当今医学界的广泛关注。随着研究的不断深入,内皮功能与心血管病的关系引起了医学界的极大重视,血管内皮损伤及功能障碍被公认为是心血管病尤其是动脉粥样硬化发生发展的始动环节^[1]。近年来的许多研究表明^[2,3],高同型半胱氨酸血症(hyperhomocysteinemia, HHcy)能诱导血管内皮损伤和功能障碍,从而促进心血管病的发生和发展。因此,本研究采用高同型半胱氨酸血症诱导血管内皮功能障碍,以在此基础上探讨其对微循环血流状态以及微血管血栓形成的影响。

材 料 和 方 法

1 动物分组和处理

1.1 内皮功能障碍模型的建立 SD大鼠,SPF级,雄性,体重150-180g,由中山大学动物实验中心提供,以标准颗粒饲料饲养。随机分为对照组(control)、内皮功能障碍组(HHcy)。HHcy组采用蛋氨酸(Sigma)灌胃($1\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$),琥珀酰磺胺噻唑(succinylsulfathiazole, SST, Sigma)0.5g/kg加入饮水中,持续4周^[4],建立大鼠内皮功能障碍模型。对照组予以纯净水灌胃,饮水中亦不加SST。4周后检测血浆同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)水平,并取胸主动脉段进行血管舒张功能检测,同时检测血浆一氧化氮(nitric oxide, NO)和血管性假血友病因子(von Willebrand factor, vWF)水平,以评价血管内皮功能状况。

1.2 Ca/LPS诱导微血栓形成 SD大鼠随机分为对照组(control)、微血栓组(Ca/LPS)、内皮功能障碍加微血栓组(HHcy + Ca/LPS)。Ca/LPS组大鼠腹腔注射(10 mg/kg)角叉菜胶(carrageenan, Ca, Sigma),16h后再腹腔注射(0.2 mg/kg)细菌脂多糖(lipopolysaccharide, LPS, 来源于大肠杆菌O111:B4, Sigma),注射LPS后24h结束实验。对照组腹腔注射等量生理盐水。内皮功能障碍加微血栓组在蛋氨酸灌胃4周后,再按照上述方法联合使用Ca/LPS,观察血管内皮功能障碍对大鼠微循环障碍和微血栓形成的影响。

2 离体胸主动脉血管环舒张实验

蛋氨酸灌胃(对照组为纯净水灌胃)4周后,麻醉大鼠后开胸迅速取出胸主动脉,置于连续通含95% O₂和5% CO₂混合气体的改良Kerbs溶液(mmol/L : NaCl 118, KCl 4.7, CaCl₂ 2.6, MgSO₄·7H₂O 1.2, KH₂PO₄ 1.2, NaHCO₃ 25, glucose 5.5, pH 7.4)^[5]中,小心分离干净周围脂肪和结缔组织,注意勿牵拉,保护内皮,将动脉条断离成3mm左右的环。分离好的动脉环置于37℃含4mL Kerbs液的恒温浴槽中,每1个血管环用2个L型不锈钢小钩小心贯穿入血管环管腔,1端固定于浴槽底部,另1端通过丝线连接于张力换能器(JZ101)与Powerlab系统相连接。浴槽中持续通含95% O₂和5% CO₂混合气体并每隔20min换液1次,内槽恒温37℃左右,负荷1.5g,平衡1.5h。收缩张力信号通过MP-285 Micromanipulators(USA)的8通道接头传输到与Powerlab系统

(AD instruments, USA) 相连的 MacOS Macintosh 计算机上, 直接采用 Powerlab 系统及其软件 Chart for Windows 进行数据记录和分析。实验前预先给以 100 mmol/L KCl 收缩血管, 前后连续 2 次得到的收缩幅度差小于 10%, 被认为血管标本反应可重复, 否则弃之。在随后的实验过程中, 每一步实验完成后, 及时冲洗, 待曲线回至基线并稳定 25 min 后再进行下一步实验。

血管环高钾预收缩稳定冲洗至基线平衡后, 4 mL Krebs 液定容, 加入 10^{-4} mol/L 的苯肾上腺素 40 μ L (终浓度为 10^{-6} mol/L) 待收缩反应达平台后: ①以不同累积浓度 (10^{-10} - 10^{-6} mol/L) 的 Ach 作用于血管环, 记录各浓度下血管环的舒张百分比, 观察 Ach 诱导的内皮依赖性血管舒张反应; ②以不同累积浓度 (10^{-9} - 10^{-5} mol/L) 的硝普钠 (natrii nitroprussidum, SNP) 作用于血管环记录各浓度下血管环的舒张百分比, 观察 SNP 诱导的非内皮依赖性血管舒张反应。

3 血生化指标检测

血浆同型半胱氨酸 (homocysteine, Hcy) 水平采用荧光免疫法 (试剂盒为 Abbott 公司产品), 使用全自动标记免疫发光分析仪 (Abbott) 检测。血浆血管性血友病因子 (von Willebrand factor, vWF) 水平采用酶联免疫吸附双抗体夹心法原理测定 (试剂盒为上海太阳生物技术有限公司产品, MK3 酶标仪为 Thermo 公司产品)。血浆 NO 采用硝酸还原酶法测定 (试剂盒为南京建成生物工程研究所产品)。

4 微循环观察

注射 LPS (对照组予以生理盐水腹腔注射) 后 20 - 24 h, 观测大鼠肠系膜微循环。实验前将 SD 大鼠禁食 12 h, 用 4% 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉后固定于特定鼠板上, 于腹腔一侧做 3 - 4 cm 的切口, 轻轻拉出肠系膜, 置于 37.0 $^{\circ}$ C 的恒温水浴槽内, 选择适宜观察处并固定, 置于 3 目显微镜下观察正常肠系膜微循环血流速度、动脉口径及流态, 通过 BI - 2000 医学图像分析系统录像。并采用微血管流态半定量法, 根据血液流动状态, 将流速分为 7 个等级, 配合使用光点跟踪法, 对微循环改变进行量化, 计分越大, 表示微循环障碍越明显。

5 凝血指标检测

注射 LPS (对照组予以生理盐水腹腔注射) 后 20 h, 心脏采血 1 mL, 与 3.8% 的枸橼酸钠按 9:1 混合均匀, 以 3 000 r/min 4 $^{\circ}$ C 离心 15 min, 收集血浆, 在 2 h 内检测凝血酶时间 (thrombin time, TT)、凝血酶原时间 (prothrombin time, PT)、活化部分凝血活酶时间

(activated partial thromboplastin time, APTT)、纤维蛋白原含量 (fibrinogen, FG)。另心脏采血 0.5 mL, 使用 1.8 g/L EDTA 抗凝管收集血液, 4 $^{\circ}$ C 离心 15 min, 收集血浆 2 h 内检测血小板计数 (platelet count, PLT)。以上均送中山大学附属第一医院检验医学部检测。

6 统计学处理

血管环实验数据均以收缩幅度变化相对值的百分比 (%) 来表示。检测结果以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 结果应用 SPSS 11.0 统计软件进行 One - way ANOVA 统计分析。

结 果

1 高同型半胱氨酸血症诱导血管内皮功能障碍

与对照组比较, HHcy 组在灌服蛋氨酸 4 周后血浆 Hcy 水平显著升高 (表 1), 提示 HHcy 模型复制成功。对照组和 HHcy 组血管环用苯肾上腺素预收缩达平台后, 分别加入累积浓度 (10^{-10} - 10^{-6} mol/L) 的乙酰胆碱诱导内皮依赖性舒张反应和累积浓度 (10^{-9} - 10^{-5} mol/L) 的 SNP 诱导非内皮依赖性血管舒张反应。实验结果表明, HHcy 组对各浓度 Ach 的舒张百分比显著低于对照组 ($P < 0.05$, 图 1), 但对各浓度 SNP 舒张百分比与对照组均无明显差异 (图 2)。与对照组比较, HHcy 组血浆 NO 值显著降低, 血浆 vWF 水平显著升高 (表 1)。以上结果表明 HHcy 导致了血管内皮的功能障碍。

表 1 蛋氨酸灌胃对血浆 Hcy、NO 及 vWF 的影响

Tab 1 Effect of L - methionine on plasma Hcy, NO and vWF ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

| Group | Hcy (μ mol/L) | NO (μ mol/L) | vWF |
|---------|-----------------------|-----------------------|----------------------|
| Control | 4.570 \pm 0.761 | 25.595 \pm 4.738 | 0.052 \pm 0.026 |
| HHcy | 41.493 \pm 5.448 ** | 10.218 \pm 5.542 ** | 0.165 \pm 0.040 ** |

** $P < 0.01$ vs control group.

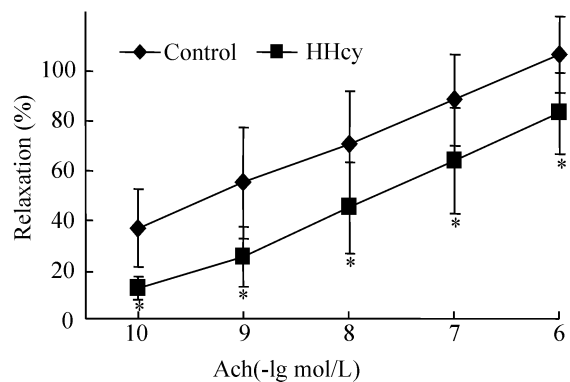


Fig 1 Dose - response curves of Ach - induced endothelium - dependent relaxation. * $P < 0.05$ vs control group.

图 1 乙酰胆碱诱导的内皮依赖性舒张反应曲线

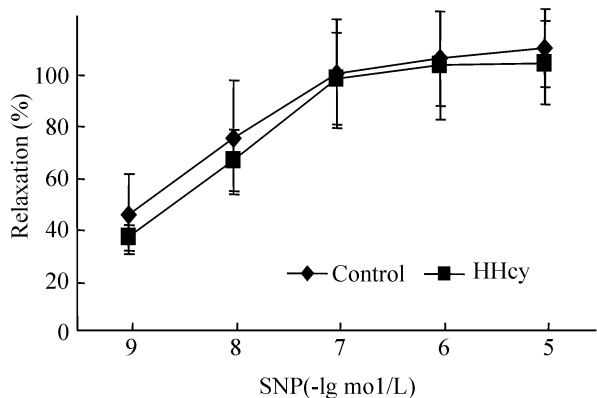


Fig 2 Dose - response curves of SNP - induced endothelium - independent relaxation.

图 2 硝普钠诱导的非内皮依赖性舒张反应曲线

2 血管内皮功能障碍加重 Ca/LPS 所致的微循环障碍和微血栓形成

注射 LPS(对照组为生理盐水)后 20 h,检测凝血 4 项(PT, APTT, TT, Fg)。与对照组比较,Ca/LPS 组 TT 时间显著缩短,APTT 时间显著缩短,凝血酶时间显著缩短,纤维蛋白原含量显著增加,血小板计数显著降低(表 2)。HHcy + Ca/LPS 组 APTT 时间

较对照组显著延长、Fg 含量较对照组则显著减少,血小板计数显著减少(表 2)。以上结果提示 Ca/LPS 组大鼠体内微血栓形成,血液处于高凝期;而 HHcy + Ca/LPS 组大鼠在内皮功能障碍基础上体内广泛微血栓形成后,消耗了大量凝血因子及血小板,血液处于消耗性低凝状态。此外,实验结束时 Ca/LPS 组和 HHcy + Ca/LPS 组血浆 NO 水平均较对照组显著降低,vWF 水平则显著升高(表 3)。

肠系膜微循环观测可见对照组大鼠肠系膜无瘀血,血流速度快,呈线流;Ca/LPS 组则出现明显瘀血,血流速度变慢及流态异常;HHcy + Ca/LPS 组则可见毛细血管甚至小血管阻塞,血管边缘模糊,血管周围弥漫性、片状渗血或大片瘀血,血流速度明显变慢、血液流态异常,颗粒感明显,呈粒线流或粒流或摆流,有的呈泥沙样。进一步的量化结果表明,Ca/LPS 组得分显著增高,HHcy + Ca/LPS 组得分进一步增高(表 4)。提示 Ca/LPS 组大鼠有明显的微循环障碍和微血栓形成,而血管内皮功能障碍可进一步加重微循环的障碍和微血栓的形成。

表 2 LPS 注射 20 h 后的凝血指标

Tab 2 Cruor parameters at 20 h after LPS injection ($\bar{x} \pm s$)

| Group | n | PT(s) | APTT(s) | TT(s) | FG (g/L) | PLT |
|---------------|---|------------------|-------------------|------------------|------------------|----------------|
| Control | 8 | 8.560 ± 0.298 | 21.300 ± 1.576 | 54.413 ± 5.859 | 2.373 ± 0.265 | 804.0 ± 41.0 |
| Ca/LPS | 6 | 7.770 ± 0.304** | 18.060 ± 1.029** | 30.557 ± 5.493** | 3.417 ± 0.430** | 558.0 ± 88.4** |
| HHcy + Ca/LPS | 8 | 9.229 ± 0.727*** | 24.129 ± 1.765*** | 51.943 ± 6.245# | 1.869 ± 0.243*** | 442.0 ± 67.2** |

* P < 0.05, ** P < 0.01 vs control group; # P < 0.05, *** P < 0.01 vs Ca/LPS group.

表 3 LPS 注射 24 h 后血浆 NO、vWF 的变化

Tab 3 Plasma NO and vWF levels at 24 h after LPS injection ($\bar{x} \pm s$, n = 8)

| Group | NO(μmol/L) | vWF |
|---------------|-------------------|--------------------|
| Control | 33.530 ± 9.820 | 0.0487 ± 0.0260 |
| Ca/LPS | 16.949 ± 3.227** | 0.0961 ± 0.0291* |
| HHcy + Ca/LPS | 15.193 ± 10.750** | 0.1750 ± 0.0760*** |

* P < 0.05, ** P < 0.01 vs control group; # P < 0.05 vs Ca/LPS group.

表 4 微循环等级和评分

Tab 4 Microcirculation scale and score ($\bar{x} \pm s$, n = 10)

| Group | Scale 1 - 3 | Scale 3 - 5 | Scale 5 - 7 | Score |
|---------------|-------------|-------------|-------------|-----------------|
| Control | 10 | 0 | 0 | 1.540 ± 0.398 |
| Ca/LPS | 0 | 8 | 2 | 4.380 ± 0.747** |
| HHcy + Ca/LPS | 0 | 3 | 7 | 5.290 ± 0.709** |

** P < 0.01 vs control group.

讨 论

血管内皮损伤和功能障碍已经被公认为心血管病变始动及发展加重的首要因素。近年来的许多研究表明,血管内皮不仅具有屏障功能,而且具有重要的信息传递和内分泌功能,其中 NO 是血管内皮所分泌的最重要的血管活性物质。NO 具有扩张血管、抗血小板黏附聚集、抗血管平滑肌细胞增生等作用^[6]。

HHcy 是心血管疾病的独立危险因素^[7]。近年来的研究发现,HHcy 能诱导血管内皮损伤和功能障碍。本实验通过连续 4 周给大鼠灌服高剂量蛋氨酸,成功诱导 HHcy,并观察到内皮依赖性的血管舒张功能明显受损,血浆 NO 水平也显著降低。由于血管内皮损伤和功能障碍最主要的标志是 NO 生物活性的降低,且内皮依赖性舒张反应的降低或消失是

国际公认的评价血管内皮功能障碍的金标准^[8],并且最新文献报道,内皮依赖性血管舒张反应已经作为内皮功能的最终指标广泛应用于临床^[9],因此,上述结果表明 HHcy 组出现了明显的血管内皮功能障碍。

此外,HHcy 组 vWF 水平显著升高。vWF 是一种多聚糖蛋白,由血管内皮细胞和巨核细胞产生且储存于内皮细胞的 Weibel - Palade 小体,是血小板黏附于受损血管壁不可缺少的蛋白,故 vWF 可促进血小板的黏附与聚集^[10]。血管内皮细胞受损后,Weibel - Palade 小体变形,vWF 大量释放入血,血浆 vWF 含量增高,促进血小板黏附与聚集,并且 vWF 分子量较大,其升高还可导致血液黏度增加,形成血小板血栓,促进血栓的形成。故血浆 vWF 水平的升高也间接表明 HHcy 组出现了血管内皮的损伤。

据文献报道^[11,12],Ca 与 LPS 能复制血栓形成的动物模型。角叉菜胶是从海藻中提取的含硫酸多糖物质,可用于制备多种组织炎症模型。LPS 是革兰氏阴性细菌的主要表面成分,在血栓形成中扮演着非常重要的角色。目前注射 LPS 多用于复制感染性损伤模型,常给予较大剂量的静脉注射^[13-15]。本研究考虑在大鼠内皮损伤基础上建立微循环障碍和微血栓形成的模型,故选择诱导剂量角叉菜胶注射后,使用小剂量 LPS 腹腔注射,既造成炎症反应后的微血栓形成,又确保动物的存活率。结果表明,单纯使用 Ca/LPS 造模大鼠,肠系膜微循环可见明显瘀血,血流速度变慢及流态异常。而在内皮损伤和功能障碍的基础上,大鼠微循环障碍和微血栓形成更加明显,毛细血管甚至小血管阻塞,血管周围弥漫性、片状渗血或大片瘀血,血流速度明显变慢、血液流态异常,颗粒感明显,呈粒线流或粒流或摆流,有的呈泥沙样;之后,血液的凝固性也降低。可能由于广泛微血栓的形成能消耗大量的凝血因子及血小板,血液处于继高凝之后的消耗性低凝期。由此可见,血管内皮损伤和功能障碍可加速加重微循环的障碍和微血栓的形成。

[参 考 文 献]

[1] Pesic S, Radenkovic M, Grbovic L. Endothelial dysfunction: mechanisms of development and therapeutic options [J]. *Med Pregl*, 2006, 59(7-8):335-341.

[2] 边云飞,高吊清,高 奋,等. 免饮食所致高同型半胱氨酸血症血管内皮功能的实验研究[J]. *中国病理生*

理杂志, 2005, 21(2): 339-341.

[3] Ling Q, Hajjar KA. Inhibition of endothelial cell thromboresistance by homocysteine [J]. *J Nutr*, 2000, 130 (2S Suppl):373S-376S.

[4] Ungvari Z, Pacher P, Rischak K. Dysfunction of nitric oxide mediation in isolated rat arterioles with methionine diet - induced hyperhomocysteinemia[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999,19(8): 1899-1904.

[5] Arun KH, Kaul CL, Ramarao P. AT1 receptors and L-type calcium channels: functional coupling in supersensitivity to angiotensin II in diabetic rats[J]. *Cardiovasc Res*, 2005,65(2):374-386.

[6] Moncade S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology [J]. *Pharmacol Rev*, 1991,43(2):109-142.

[7] Wilcken DE, Wilcken B. The pathogenesis of coronary artery disease. A possible role for methionine metabolism [J]. *J Clin Invest*, 1976,57(4): 1079-1082.

[8] Verdejo Paris J. Endothelial function[J]. *Arch Cardiol Mex*, 2006,76(Suppl 2):S164-S169.

[9] Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance [J]. *Circulation*, 2007,115(10):1285-1295.

[10] Galatius SS, Wroblewski H, Vibeke BS, et al. Endothelin and von Willebrand factor as parameters of endothelial function in idiopathic dilated cardiomyopathy: different stimuli for release before and after heart transplantation [J]. *Am Heart J*, 1999, 137(3): 549-554.

[11] 梁爱华,丁晓霜,李文,等. 血瘀证与血栓形成病证结合动物模型的研究[J]. *中国中药杂志*, 2005, 30(20):1613-1616.

[12] 梁爱华,于长安,李春英,等. 内毒素与角叉菜胶联合诱导的血栓形成模型的动物差异性比较[J]. *中国中药杂志*, 2006,31(1):57-61.

[13] Gong XH, Guo CB, Huang SB, et al. Inhaled nitric oxide alleviates hyperoxia suppressed phosphatidylcholine synthesis in endotoxin - induced injury immature rat lungs [J]. *Respir Res*, 2006, 7(1):5-19.

[14] 崔晓辉,黄新莉,姜晓辉,等. 脂多糖性休克大鼠血浆和主要器官中硫化氢含量的变化和意义[J]. *中国病理生理杂志*, 2007, 23(4): 780-784.

[15] Bouchama A, Roberts G, Al Mohanna F, et al. Inflammatory, hemostatic, and clinical changes in a baboon experimental model for heatstroke[J]. *J Appl Physiol*, 2005,98(2):697-705.