

阿司匹林在内皮细胞抗氧化损伤中的作用*

何志旭¹, 廖清奎², 徐学聚²,

罗春华², 周同甫², 李钦伯², 李丰益²

(1. 中山医科大学附属二院儿科, 广东 广州 510120;

2. 华西医科大学附二院铁营养及小儿血液肿瘤研究室)

摘 要: 为证实阿司匹林的抗氧化作用是通过抑制 NO 生成, 从而导致铁蛋白表达增加来实现的. 在培养的内皮细胞中使用炎性因子诱导产生 NO 后, 测定细胞中铁蛋白(Fn)的含量和细胞损伤的指标; 观察不同浓度的阿司匹林(AS)抑制 NO 产生后铁蛋白及细胞损伤指标的改变和 iNOSmRNA 表达水平的变化. 结果显示诱导 NO 产生后, 细胞 Fn 表达降低, 细胞明显损伤; 而低浓度的 AS (0.3 mmol/L) 即可抑制 15% 的 NO 生成, 增加细胞 Fn 的表达, 同时能有效地对抗 H₂O₂ 的损伤作用. 并随着 AS 用量的增加抑制 NO 的作用逐渐增强. 而且在中小剂量 (< 10 mmol/L) 下 AS 对 NO 的抑制作用主要是在转录后水平影响 iNOS 的催化活性或蛋白表达, 不影响 iNOSmRNA 水平; 但高剂量的 AS (10 ~ 20 mmol/L) 则可在转录水平上抑制 iNOSmRNA 的表达. 并观察到水杨酸钠及消炎痛不具有抑制 NO 产生及诱导 Fn 表达的作用. AS 具有明显抑制 NO 生成的作用, 其诱导 Fn 表达增加可能是通过抑制 NO 产生而实现的; 提示 AS 是目前非甾体类抗炎药中唯一具有抑制 NO 产生及增加 Fn 表达的药物.

关键词: 阿司匹林; 抗氧化; 一氧化氮; 铁蛋白; 内皮细胞

中图分类号: R 318.04 **文献标识码:** A

近年来发现阿司匹林具有抗氧化损伤的作用, 其机制是通过诱导铁蛋白表达增加, 结合细胞内游离铁, 阻止其通过 Fenton 反应产生的 OH⁻ 对细胞的氧化损伤. 但其诱导铁蛋白表达的机制目前尚不清楚. 我们通过观察阿司匹林在抑制炎性因子诱导的 NO 生成过程中, 对内皮细胞铁蛋白表达的影响, 欲证实阿司匹林的抗氧化作用是通过抑制 NO 生成, 从而影响细胞铁代谢的变化导致铁蛋白表达增加来实现的.

1 材料及方法

1.1 人脐静脉内皮细胞的培养

0.1% 的胶原酶 (Sigma 公司) 灌注消化脐带后离心收集内皮细胞, 调整细胞浓度为 (0.5 ~ 1.0) × 10⁴/mL, 接种于胶原包被的 6 孔培养板并加入 10 ng/mL 的内皮细胞生长因子 (Roche 公司), 待细胞长满 2/3 板底后进行传代, 用融合 2 ~ 3 d 的细胞进行实验.

1.2 实验分组

(1) 炎性因子 (IL-1β、TNF-α、γ-IFN 及 LPS) (北京邦定公司) 诱导内皮细胞产生 NO

* 收稿日期: 2000-09-18; 作者简介: 何志旭 (1967 ~), 男, 医学博士, 主治医师; 研究方向: 小儿血液及心血管疾病.

后对铁蛋白表达及细胞抗氧化作用的影响;

(2) 阿司匹林、消炎痛、水杨酸钠(Sigma公司)对内皮细胞NO生成、铁蛋白表达及细胞抗 H_2O_2 损伤作用的影响;

(3) 不同剂量的阿司匹林对NO生成的抑制作用及对iNOSmRNA表达的影响.

1.3 内皮细胞总RNA的提取

使用Rneasy Mini kit(QIGEN公司),按说明书操作步骤进行,提取的RNA标本贮于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下.

1.4 胞浆蛋白的制备

使用 $\varphi=0.25\%$ 的胰蛋白酶消化细胞,离心后收集细胞沉淀并计数,然后按 10^6 个细胞加入细胞裂解液 $100\text{ }\mu\text{L}$ 的比例制备胞浆蛋白,高速离心后取上清液贮于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下.

1.5 RT-PCR检测iNOSmRNA的表达水平

提取的总RNA定量后,使用RT-PCR试剂盒(TakaRa Bio公司),加入iNOS引物进行反应,共进行30次循环.其引物序列分别为:

iNOS 上游 $5'-\text{TCCGAGGCAAACAGCACATTCA}-3'$

下游 $5'-\text{GGGTTGGGGGTGTGGTGATGT}-3'$

引物由Life Technologies公司合成,扩增产物分子大小:462 bp.

电泳鉴定:取PCR扩增产物 $10\text{ }\mu\text{L}$,在 $\rho=1.7\%$ 琼脂糖凝胶上进行电泳,凝胶图像分析系统进行处理.

结果判断:计算iNOSmRNA/ β -action(内参照)扩增量密度扫描比值进行半定量.

1.6 生化指标测定

(1) NO使用南京建成公司试剂盒,按说明书操作步骤进行.

(2) 铁蛋白 使铁蛋白ELISA检测试剂盒(北方生物公司),绘制标准曲线测定铁蛋白浓度.

(3) LDH释放率、丙二醛(MDA)使用常规生化法测定.

(4) 细胞存活率使用0.5%台盼蓝染色法,计算细胞存活率.

1.7 统计学分析

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,统计学分析采用单因素方差分析,两两比较使用 q 检验; $\alpha=0.05$.

2 结 果

2.1 诱导产生NO后对铁蛋白表达及细胞氧化损伤的作用

使用细胞因子(IL- 1β 200 u/mL、TNF- α 500 u/mL、 γ -IFN200 u/mL)联合LPS($10\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$)刺激细胞24 h后培养液中NO的含量明显升高,与正常对照相比 $P<0.001$;同时检测反映细胞损伤及自由基活性的指标LDH释放率、细胞存活率及MDA均明显高于正常对照组.伴随NO的增加,细胞内铁蛋白含量减少,较正常组低26%($P<0.05$).而使用NOS抑制剂L-NMMA后可明显减少NO的产生,铁蛋白的含量也回升到接近正常水平,反映细胞损伤的指标与正常组相比差异无统计学意义.各指标测定结果见表1.

表 1 诱导 NO 生成后内皮细胞铁蛋白表达、LDH 释放率、MDA 及细胞存活率的变化情况¹⁾

项目	正常组	NO 抑制组	NO 诱导组	q_1	P	q_2	P
$c(\text{NO})/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	5.23 ± 0.52	5.72 ± 0.49	$11.68\pm1.35^{**}$	21.5	<0.001	19.8	<0.001
$\rho(\text{铁蛋白})/(10^{-6}\text{ng}\cdot\text{cell}^{-1})$	5.17 ± 0.46	4.83 ± 0.51	$3.85\pm0.39^{\Delta}$	4.0	<0.05	3.5	<0.05
LDH 释放率/%	4.43 ± 0.29	5.17 ± 0.44	$7.11\pm0.59^{*}$	6.25	<0.01	6.69	<0.01
$c(\text{MDA})/(\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1})$	5.41 ± 0.19	6.38 ± 0.43	$10.93\pm0.73^{**}$	42.46	<0.001	35.0	<0.001
细胞存活率/%	97.8 ± 1.44	94.5 ± 2.31	$89.00\pm3.22^{*}$	7.5	<0.01	5.44	<0.01

1) $\bar{x}\pm s, n=6$; NO 诱导组分别与正常组及 NO 抑制组相比, $\Delta P<0.05$; $* P<0.01$; $** P<0.001$

2.2 阿司匹林、消炎痛、水杨酸钠对 NO 产生和铁蛋白表达的影响以及在抗 H₂O₂ 损伤中的作用

分别使用不同浓度的阿司匹林、水杨酸钠及消炎痛预处理细胞 8 h 后,再加入细胞因子及 LPS 孵育 24 h,发现 0.3 mmol/L 的阿司匹林可抑制 $w=15\%$ 的 NO 产生,当阿司匹林浓度增加到 3 mmol/L 时可抑制 $w=50\%$ 的 NO 产生;随着 NO 生成的减少,铁蛋白的表达却明显增加,二者间呈负相关关系.同时观察到 0.3 mmol/L 的阿司匹林具有明显对抗 H₂O₂ (0.5 mmol/L) 损伤内皮细胞的作用,细胞存活率由 35.8% 上升到 74.4%, LDH 释放率降低.但消炎痛及水杨酸钠无明显抑制 NO 生成的作用,也不能增加铁蛋白的表达及对抗 H₂O₂ 损伤内皮细胞的作用.各指标测定结果见表 2,3.

表 2 阿司匹林、消炎痛、水杨酸钠对 NO 生成和铁蛋白表达的影响¹⁾

组 别	$c(\text{NO})$ ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	铁蛋白 ($10^{-6}\text{ng}\cdot\text{cell}^{-1}$)	q_1	P	q_2	P
正常组	$4.58\pm0.37^{**}$	$5.47\pm0.38^{*}$	20.2	<0.001	7.0	<0.01
NO 诱导	11.24 ± 0.69	3.51 ± 0.17				
0.3 mmol/L 阿司匹林	$9.81\pm0.52^{\Delta}$	$4.79\pm0.5^{\Delta}$	4.33	<0.05	4.57	<0.05
3 mmol/L 阿司匹林	$7.64\pm0.48^{*}$	$5.33\pm0.68^{*}$	7.91	<0.01	6.5	<0.01
1 mmol/L 水杨酸钠	$10.95\pm0.61^{\star}$	$3.66\pm0.22^{\star}$	0.87	<0.05	0.54	<0.05
10 mmol/L 水杨酸钠	$10.67\pm0.45^{\star}$	$3.85\pm0.15^{\star}$	1.73	<0.05	1.21	<0.05
1 $\mu\text{mol/L}$ 消炎痛	$11.31\pm0.77^{\star}$	$3.77\pm0.20^{\star}$	0.21	<0.05	0.93	<0.05
10 $\mu\text{mol/L}$ 消炎痛	$10.82\pm0.59^{\star}$	$3.9\pm0.35^{\star}$	1.27	<0.05	1.4	<0.05

1) $\bar{x}\pm s, n=6$; NO 诱导组分别与正常组及 NO 抑制组相比, $\Delta P<0.05$; $* P<0.01$; $** P<0.001$; $\star P>0.05$

表 3 3 种非甾体类抗炎药对抗 H₂O₂ 损伤细胞的作用¹⁾

组 别	LDH 释放率/%	细胞存活率/%	q_1	P	q_2	P
正常组	$4.17\pm0.15^{**}$	$97.5\pm0.82^{**}$	24.6	<0.001	13.26	<0.001
NO 诱导	13.27 ± 2.44	35.8 ± 2.21				
0.3 mmol/L 阿司匹林	$10.42\pm1.78^{\Delta}$	$74.4\pm2.87^{**}$	4.52	<0.05	10.3	<0.001
3 mmol/L 阿司匹林	$6.73\pm0.81^{*}$	$90\pm2.15^{**}$	7.74	<0.01	11.96	<0.001
1 mmol/L 水杨酸钠	$13.32\pm2.11^{\star}$	$37\pm3.56^{\star}$	0.14	<0.05	0.26	<0.05
10 mmol/L 水杨酸钠	$12.69\pm1.85^{\star}$	$41\pm2.63^{\star}$	1.57	<0.05	1.15	<0.05
1 $\mu\text{mol/L}$ 消炎痛	$12.91\pm0.77^{\star}$	$36\pm1.75^{\star}$	0.97	<0.05	0.04	<0.05
10 $\mu\text{mol/L}$ 消炎痛	$13.43\pm2.27^{\star}$	$32.5\pm1.52^{\star}$	0.43	<0.05	0.73	<0.05

1) $\bar{x}\pm s, n=6$; NO 诱导组分别与正常组及 NO 抑制组相比, $\Delta P<0.05$; $* P<0.01$; $** P<0.001$;

☆ $P > 0.05$

2.3 不同剂量的阿司匹林对 NO 生成的抑制作用及对 iNOSmRNA 表达的影响

使用 0.3~20 mmol/L 不同浓度的阿司匹林观察对细胞因子及 LPS 诱导的 NO 生成的抑制作用,发现随阿司匹林浓度的增大,抑制 NO 生成的作用逐渐增强,二者间有明显的剂量依赖关系.同时观察到中小剂量的阿司匹林(< 10 mmol/L)对 iNOSmRNA 水平无影响,而高浓度情况下(10~20 mmol/L)iNOSmRNA 表达明显降低.NO 含量及 iNOSmRNA 表达情况见表 4,电泳结果见图 1.

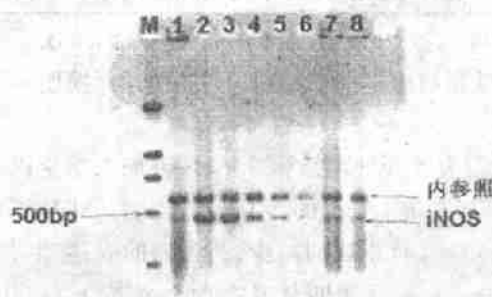


图1 RT-PCR 检测 iNOSmRNA 表达水平的电泳结果

M Maker; 1 正常; 2 NO 诱导; 3 as 0.3 mmol/L; 4 as 3 mmol/L; 5 as 5 mmol/L; 6 as 10 mmol/L; 7 as 20 mmol/L; 8 NOS 抑制

表4 不同剂量的阿司匹林对 NO 及 iNOSmRNA 表达的影响¹⁾

组别	$c(\text{NO})$ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	iNOSmRNA α -actin	q_1	P	q_2	P
正常组	$4.07 \pm 0.75^{**}$	$0.34 \pm 0.005^{**}$	23.3	< 0.001	10.1	< 0.001
NO 诱导	10.48 ± 1.83	1.35 ± 0.10				
as 0.3 mmol/L	$9.35 \pm 0.47^{\Delta}$	$1.33 \pm 0.08^{\star}$	3.56	< 0.05	0.2	< 0.05
as 3 mmol/L	$6.91 \pm 0.42^{\star}$	$1.27 \pm 0.09^{\star}$	8.91	< 0.01	0.8	< 0.05
as 5 mmol/L	$5.17 \pm 0.52^{**}$	$1.24 \pm 0.08^{\star}$	19.3	< 0.001	1.0	< 0.05
as 10 mmol/L	$4.53 \pm 0.38^{**}$	$1.01 \pm 0.06^{\Delta}$	21.6	< 0.001	4.47	< 0.05
as 20 mmol/L	$3.89 \pm 0.91^{**}$	$0.53 \pm 0.05^{\star}$	23.96	< 0.001	8.2	< 0.01
NO 抑制	$4.16 \pm 0.58^{**}$	$0.41 \pm 0.04^{**}$	22.98	< 0.001	9.4	< 0.001

1) $\bar{x} \pm s$, $n = 6$; NO 诱导组分别与正常组及 NO 抑制组相比, $\Delta P < 0.05$; $^{\star} P < 0.01$; $^{**} P < 0.001$;

☆ $P > 0.05$

3 讨论

近年来发现金属离子可以催化·OH 的形成,直接参与自由基介导的氧化损伤反应^[1].而铁是生物体内一种主要的金属元素,它的含量较其它金属的总和还多得多,因此,被看作是生物体内氧化还原反应主要的催化剂,在活性氧导致的组织病变中具有重要作用.但是并非所有形式的铁均有催化过氧化物产生的功能,与蛋白质结合的铁以三价形式存在,无催化活性,仅以游离铁池中的铁和血红素等释放出的二价铁才具有催化氧自由基产生的毒性作用.正常情况下机体对于体内过剩的铁主要贮存在铁蛋白中,它是一种与铁有很高的结合力的大分子复合物,1 mol 的铁蛋白可结合 4 500 mol 的 $\text{Fe}^{[2]}$.因此,铁蛋白被看作是铁的生理性整合剂,具有封闭隔离游离铁与活性氧分子的反应,是过氧化反应的抑制

剂。

正常情况下铁蛋白的合成主要由细胞内铁浓度的变化来控制的,除此外,目前还发现氧化应激和 NO 对铁蛋白的表达有一定调节作用^[3]。它们都是通过影响铁代谢中的一个关键性蛋白-铁调节蛋白(IRP)与铁反应元件(IRE)的结合性来控制铁蛋白的表达过程。由此可见,在细胞铁代谢中除铁浓度本身外,还存在着某些间接的因素可以影响铁蛋白的表达。近期的研究也证实了这一猜测,Oberle 等^[4]发现阿司匹林可诱导血管内皮细胞中铁蛋白的大量表达,其作用机制目前还不清楚。但有意义的是,他们证实了阿司匹林在较小浓度的情况下可明显升高内皮细胞中铁蛋白的含量,有效地对抗 H_2O_2 的损伤。但 Oberle 等所使用的剂量远低于临床推荐的用量,在该剂量下阿司匹林尚不能抑制前列腺素的合成与环氧化酶的激活,因此,其诱导铁蛋白表达可能与这两个作用无关。但观察到阿司匹林作用后铁蛋白(Fn) mRNA 并不增加,故推断出铁蛋白表达的升高,发生在转录后水平;并提出阿司匹林可与 Fn 合成的阻抑物 IRP 相互作用,使之失活来解除对 Fn 翻译的抑制;但作者并没有相关实验证据的支持。

从现有的报道看,能影响 IRP 的活性,进而干预细胞铁代谢的物质有 3 种,一个是铁本身,另两个是 NO 和氧化应激。阿司匹林对铁离子并没有直接的干预作用,而是通过诱导铁蛋白来间接调节细胞内铁浓度的;而氧化应激虽可影响 IRP 的结合活性来调节铁代谢,但同样存在一个问题,即阿司匹林没有直接对抗氧化应激的作用。证据是阿司匹林对加入 H_2O_2 的细胞保护作用是一个“晚发效应”,是通过诱导一种保护基因表达实现的^[5],所以,阿司匹林并不能直接对抗 H_2O_2 的作用。除了铁和氧化应激外,NO 还具有调控铁代谢的作用。NO 对细胞铁代谢的调节也是在转录后水平上发挥作用的,当 NO 产生增加时,它可导致 IRP 分子中 $[4Fe-4S]$ 基团变构,使 IRP 暴露出与 IRE 的结合位点,提高 IRP 与 IRE 的结合性,其调控结果与细胞内低铁时的结果一样,使 Fn 表达下降,转铁蛋白受体(TfR)表达增加;而抑制 NO 生成后,则能明显增加铁蛋白的表达。

从这点我们得到启发,阿司匹林是否通过抑制 NO 的合成来增加铁蛋白表达的呢?要回答这个问题,首先必须找出阿司匹林与 NO 之间有无联系。Amin 等^[6]在小鼠巨噬细胞株 RAW264.7 中观察阿司匹林抑制 LPS 诱导的 NO 生成的作用,在低浓度情况下(1 mmol/L)阿司匹林能抑制 NO 及 iNOS 活性,使其释放量分别下降 10%~12%;当阿司匹林浓度增加到 3 mmol/L 时能抑制 40%~50%左右的 NO 产生及 iNOS 活性。并发现阿司匹林对 NO 合成的抑制作用是非甾体类抗炎药中唯一的,因为其它的药物如消炎痛和 acefaminophen 没有这方面的作用,水杨酸在较高浓度时虽可轻微抑制 NO 释放,但不同的研究报道结果不一致。并怀疑阿司匹林结构中的乙酰基是发挥抑制 NO 作用的关键。而 Kwon 等^[7]的研究更进一步阐明了阿司匹林对 NO 的抑制功能,在 10 mmol/L 以下的阿司匹林对 NO 生成的抑制作用主要发挥在转录后水平,即通过抑制 iNOS 蛋白的表达及酶催化活性来影响 NO 的产生;而高浓度的阿司匹林(>10 mmol/L),则表现出明显的毒副作用,其对 iNOS 基因表达的作用不光表现出抑制 iNOS mRNA 的转录,同时还能直接破坏核转录蛋白(de novo protein)的合成,使 iNOS 基因在转录及翻译两个水平上受损。从上面的事实可看出,阿司匹林与 NO 生成之间确有明显的关系,因此,我们推断阿司匹林诱导铁蛋白的表达是通过抑制 NO 产生而实现的。证据除了阿司匹林对 NO 的直接作用外,还包括以下几点:① Oberle 等观察到诱导铁蛋白表达的非甾体类抗炎药中只有阿司匹林具有该作用,而抑制

NO 合成的非甾体类药物中也只有阿司匹林明显具有这个功能;②阿司匹林诱导 Fn 表达发生在转录后水平,Fn mRNA 没有变化;NO 对细胞铁代谢的调控也发生在转录后水平,只影响蛋白质翻译,对 Fn mRNA 及 TIR mRNA 没有作用. 所以将阿司匹林、NO 和 Fn 三者间的关系联系起来考虑,推断阿司匹林通过抑制 NO 合成来增加 Fn 表达是成立的.

我们的实验结论也支持这一观点. 在细胞因子及 LPS 诱导的内皮细胞 NO 表达中,使用阿司匹林后 NO 的产生及 NOS 活性明显受抑;随着 NO 生成量的下降,铁蛋白表达逐渐增加,充分说明了三者间的内在联系. 同样消炎痛及水杨酸钠对 NO 没有明显的抑制作用,也未观察到铁蛋白增加的现象. 证实阿司匹林的独特结构可能是抑制 iNOS 激活所特有的. 关于阿司匹林抑制 NO 合成的作用位点,不同的剂量表现确实不同. 我们的结果与已有的报道一致,在中小剂量情况下,阿司匹林对 iNOS mRNA 水平无影响,其作用主要是通过抑制 iNOS 蛋白的表达及酶活性实现的;而高浓度情况下,阿司匹林则对核蛋白的合成及基因转录过程有明显损伤作用,其毒副作用的发挥可能也与这个机制有关. 另外,在已有的报道中观察到 10~20 mmol/L 的阿司匹林对细胞生长及存活率无明显影响,但我们发现 5 mmol/L 以上的剂量对内皮细胞的生长有一定的副作用,而且高浓度情况下(20 mmol/L)可致细胞死亡. 可能是所用的细胞及阿司匹林的来源不同而致实验结果有所差异. 由于高浓度阿司匹林对细胞生长的限制及对基因转录和蛋白合成的损伤,本实验观察到在这种浓度情况下其诱导铁蛋白合成的量也减少了.

阿司匹林通过抑制 NO 的产生而升高铁蛋白的表达来对抗过氧化物的损伤,对于发挥其抗炎作用具有重要意义. 众所周知由 iNOS 诱导产生的 NO 是一个重要的炎症介质,同时具备自由基功能,而且还可与其它自由基反应产生毒性更强的自由基,发挥其氧化损伤作用. 从现在的研究中我们得知,阿司匹林在控制炎症过程中不光能抑制前列腺素的合成释放,同时具有抑制炎症介质 NO 的产生和抗氧化损伤的功能,从而更加全面地解释了阿司匹林在控制炎症反应中的作用机制,为进一步指导临床的应用与推广奠定了基础.

参考文献:

- [1] PRATICO D, PASIN M, BARRY O P, et al. Iron dependent human platelet activation and hydroxyl radical formation[J]. *Cir* 1999,99:3118~3124
- [2] OBERLE S, SCJWARTZ P, ABATE A, et al. The antioxidant defense protein ferritin is a novel and sepecific target for pentaerythrityl terantrate in endothelial cells[J]. *Biochem Biophys Res Communi*, 1999,261:28~34
- [3] HENTZE M W, KUHN L C. Molecular control of vertebrate iron metabolism: mRNA-based regulatory circuits operated by iron, nitric oxide, and oxidative stress[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996,93:8175~8182.
- [4] OBERLE S, POLTE T, ABATE A, et al. Aspirin increase ferritin synthesis in endothelial cells: a novel antioxidant pathway[J]. *Circ Res*, 1998;82:10 16~1020
- [5] PODHAISKY H P, ABATE A, POLTE T, et al. Aspirin protects endothelial cells from oxidative stress: possible synergism with vitamin E[J]. *FEBS Lett*, 1997,417:349~351.
- [6] AMIN A R, VYAS P, ATTUR M, et al. The mode of action of aspirin-like drugs: effectt on inducible nitric oxide synthase[J]. *Pro Natl Acad Sci USA*, 1995,92: 7926~7930.
- [7] KWON G, HIL J R, CORBETT J A, et al. Effects of aspirin on nitric oxide formation and de novo protein synthesis by RINm5F cells and islets[J]. *Mol Pharma*, 1997,52:398~405.

The Mechanism of Aspirin Induced Cytoprotection on Resistance to Oxidative Damage in Endothelial Cells

HE Zhi-xu^{*}, LIAO Qing-kui, XU Xue-ju,
LUO Chun-hua, ZHOU Tong-fu, LI Qin-bo, LI Feng-yi

Abstract: To explore the mechanism of aspirin induced ferritin synthesis on resistance to oxidative damage and the relationship with nitric oxide. we studied the effect of aspirin on production of inducible NO and to determine the relationship between NO and ferritin synthesis. Endothelial cells incubated for 24 h with cytokines plus LPS produced greatly increase NO followed a low expression of ferritin. Aspirin (0.3 mmol/L) could reduce NO production by 15% ~ 20%, the inhibition also was in a dose-dependent manner. The expression of ferritin showed increase with reduction of NO formation. Under middle concentration (< 10 mmol/L), aspirin was able to reduce enzymatic activity and protein expression at post-transcription level, followed the level of steady state iNOS mRNA. Whereas, at high concentration (10 ~ 20 mmol/L), aspirin could increase the steady state levels of iNOS mRNA. The other drugs such as salicylic acid and indomethacin failed to alter ferritin synthesis and NO inhibition. These findings indicate that inhibition of inducible NO production may explain, in part, the induction of aspirin at therapeutic concentrations in endothelial cells. Ferritin induction and NO inhibition by aspirin was specific in nonsteroidal anti-inflammatory drugs.

Keywords: aspirin; antioxidant; nitric oxide; ferritin; endothelial cell

* Department of Pediatrics, Second Affiliate Hospital, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou 510120, China