

·基础研究·

## 17 - 雌二醇的快速舒血管效应及其内皮依赖和非内皮依赖的机制

王庭槐, 杨艳芳, 付晓东, 谈 智, 向秋玲, 林桂平  
(中山大学中山医学院生理教研室, 广东 广州 510080)

**摘要:** 【目的】本实验旨在观察 17 - 雌二醇(17 - estradiol,  $E_2$ )的快速舒血管效应并探讨其内皮依赖和非内皮依赖的作用机制。【方法】采用 Myodap and Myodata 血管张力仪进行体外血管灌流实验, 测量鼠离体胸主动脉环等长张力。【结果】 $E_2$  能浓度依赖性地快速舒张血管, 浓度为  $10^{-9}$ ~ $10^{-6}$  mol/L 时, 去内皮的血管环舒张程度明显小于内皮完整的血管环, 而当  $E_2$  浓度增加至  $10^{-5}$  mol/L 时, 去内皮的血管环与内皮完整的血管环舒张程度无差异; 在内皮完整的血管环, 分别用左旋硝精氨酸甲酯 ( $N^G$ - nitro- L- arginine methyl ester, L- NAME)、亚甲蓝 (methylene blue, MB)、他莫昔芬 (tamoxifen)、甲基-  $\beta$ - 环糊精 (methyl-  $\beta$ - cyclodextrin, M CD) 预孵育均能显著抑制  $E_2$  ( $10^{-6}$  mol/L) 的舒血管效应; 而在去内皮的血管环,  $E_2$  ( $10^{-5}$  mol/L) 能抑制  $CaCl_2$  在无钙高钾溶液中诱发的血管收缩。【结论】 $E_2$  的快速舒血管效应, 具有内皮依赖性, 与雌激素受体介导内皮释放一氧化氮 (nitric oxide, NO) 有关, 且质膜微囊结构必须完整, 而当  $E_2$  浓度较高时主要是通过抑制细胞外的钙内流直接舒张血管, 为非内皮依赖性。

关键词: 17 - 雌二醇; 血管舒张; 内皮; 质膜微囊

中图分类号: R543;R331.3

文献标识码: A

文章编号: 1672-3554(2007)02-0121-06

### Rapid Relaxant Effects of 17 - estradiol though Endothelium- dependent and - independent Mechanisms in Rat Aorta

WANG Ting-huai, YANG Yan-fang, FU Xiao-dong, TAN Zhi, XIANG Qiu-ling, LIN Gui-ping  
(Department of Physiology, SUN Yat-sen University, Zhongshan Medical College, Guangzhou 510080, China)

**Abstract:** 【Objective】 This research is aimed to investigate the endothelium- dependent and endothelium- independent vasodilative effect of 17 - estradiol ( $E_2$ ) and its mechanism. 【Methods】 We examined the isometric tension of aortic ring sections isolated from female Sprague- Dawley rats in vitro perfusion using a dual myograph system. 【Result】 Our research demonstrates that  $E_2$  induced concentration- dependent relaxation in precontracted female rat aortic rings. The relaxation induced by  $E_2$  ( $10^{-9}$ ~ $10^{-6}$  mol/L) was significantly greater in the rings with endothelium than in the rings without endothelium, While there was no difference of the relaxation in the rings with or without endothelium when the concentration of  $E_2$  was increased to  $10^{-5}$  mol/L. The relaxation was significantly attenuated by preincubation with L- NAME, methylene blue, tamoxifen and methyl-  $\beta$ - cyclodextrin. Incubation with  $E_2$  ( $10^{-5}$  mol/L) inhibited the concentration- dependent contraction induced by  $CaCl_2$  in high  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$  free medium in denuded rings. 【Conclusion】 The rapid aortic arterial relaxation induced by  $E_2$  is endothelium- dependent and related to estrogen receptor- mediated release of nitric oxide, and the integrity of caveolae construction is also required. Our research also demonstrates that  $E_2$  at the higher concentration induces relaxation mainly by direct calcium antagonistic effect, which is endothelium- independent.

Key words: 17 - estradiol; vasodilation; endothelium; caveolae

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2007, 28(2):121- 126]

收稿日期: 2007-01-08

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30250010)

作者简介: 王庭槐 (1956-), 男, 广东潮州人, 教授, 博士生导师, 通讯作者, E- mail: wangth@mail.sysu.edu.cn

流行病学资料表明妇女在绝经前心血管疾病的发病率明显低于同龄男性,而绝经后该差异消失,如果给予激素替代治疗则该差异再次出现,提示雌激素具有心血管保护作用。雌激素的心血管保护作用与其舒张血管降低血管张力的效应密切相关<sup>[1]</sup>。许多研究证实,17-雌二醇(17-estradiol, E<sub>2</sub>)能通过非基因作用快速舒张血管,但其具体作用机制并不十分清楚。Salom等<sup>[2]</sup>研究表明 E<sub>2</sub> 的快速血管舒张效应是非内皮依赖性的,有无内皮,冠脉血管舒张程度无差异,用 L-NAME 抑制 NOS 活性不改变其舒张效应,在去内皮的冠状动脉, E<sub>2</sub> 孵育引起高钾去极化液中钙的浓度依赖性收缩曲线右移,认为雌激素可能通过 L-型钙通道直接作用于血管平滑肌使之舒张。然而,也有不少研究发现, E<sub>2</sub> 的快速舒血管效应可被 L-NAME 或去内皮明显减弱,认为雌激素的快速舒血管效应是依赖内皮性的<sup>[3]</sup>。可见,关于 E<sub>2</sub> 快速舒张血管作用的确切机制还存在争议。血管张力改变将导致高血压、动脉粥样硬化等多种心血管疾病的发生,因此,阐明雌激素舒张血管的机制有重要意义,也将为临床运用雌激素替代疗法提供理论和实验依据。本实验选用雌性 SD 大鼠离体胸主动脉环为研究对象,以血管张力变化为指标,观察了 E<sub>2</sub> 的快速舒血管效应,并观察该效应是否与内皮释放 NO 有关,雌激素受体是否参与介导该效应, E<sub>2</sub> 是否通过抑制钙通道起作用等。另外,本实验还采用胆固醇处理剂甲基-β-环糊精(methyl-β-cyclodextrin, M CD)破坏了质膜微囊结构,观察其对 E<sub>2</sub> 的快速舒血管作用的影响,为深入探讨雌激素的舒血管作用机制提供了新的研究角度。

## 1 材料和方法

### 1.1 离体血管环的制备和张力的测定

雌性 SD 大鼠(150~250 g),由中山大学中山医学院实验动物中心提供。SD 大鼠断颈处死,迅速分离胸主动脉,放入预冷的 Krebs 液,去除血管上的脂肪及结缔组织,将动脉剪成 2 段长 2 mm 的血管环,置于 10 mL 含 Krebs 液的器官小室中。两根细金属丝分别由血管内腔穿过血管环,并固定于 Myodap and Myodata 血管张力仪(丹麦, Danish Myo Technology A/S)两端的肌动描记器装置上,将温度设定在 37℃,持续充以 95% O<sub>2</sub> 和 5% CO<sub>2</sub> 的

混合气体。调整血管环至适当的前负荷(通过血管张力仪标准化步骤确定),平衡 60-90 min,期间每隔 20 min 更换 Krebs 液一次。实验血管先用苯肾上腺素(PE, 10<sup>-6</sup> mol/L)鉴别血管收缩活性,一些实验血管需去除内皮,采用不锈钢丝插入血管腔中轻轻滚动完成,用 ACh(10<sup>-5</sup> mol/L)检测内皮完整性,对 ACh 舒张大于 70% 认为内皮完整,舒张消失则认为内皮破坏成功。冲洗血管环再次平衡至基线水平,然后进行实验<sup>[4]</sup>。

### 1.2 电子显微镜

内膜完整的主动脉血管环分别用 Krebs (对照)或 6 mmol/L 甲基-β-环糊精处理 60 min,4 固定过夜放在含 2%戊二醛和 2%多聚甲醛和蔗糖的 0.1 mol/L 的二甲酸钠盐溶液中,样本用 0.1 mol/L 的二甲酸钠盐溶液冲洗,然后再次固定于 4%锇酸中 1 h,样本用乙醇脱水、用环氧树脂包埋在 Epon812,超薄切片用醇制的醋酸双氧铀和枸橼酸铅双重染色,用 JEOL-1010 透射电子显微镜观察内膜结构。

### 1.3 试剂和溶液

17-雌二醇(17β-estradiol, E<sub>2</sub>)、苯肾上腺素(phenylephrine, PE)、乙酰胆碱(achtylcholine, ACh)、他莫昔芬(tamoxifen)、左旋硝精氨酸甲酯(N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine methyl ester, L-NAME)、亚甲蓝(methylene blue, MB)、甲基-β-环糊精(methyl-β-cyclodextrin, M CD), KCl 均为美国 Sigma 公司产品,其他试剂为国产分析纯。E<sub>2</sub> 用无水乙醇溶解后用超纯水配制;他莫昔芬用 DMSO 配制成 10<sup>-2</sup> mol/L 的原液,实验时加入 Krebs 液,工作浓度为 10<sup>-5</sup> mol/L,药物剂量均以浴槽中的终浓度表示。本实验加到浴槽中的无水乙醇或 DMSO 终浓度最大为 0.1%(v/v),并不影响血管张力。Krebs 液组成(mmol/L): NaCl 119, KCl 4.7, NaHCO<sub>3</sub> 25, MgCl<sub>2</sub> 1, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2, Glu 11, CaCl<sub>2</sub> 2.5。无钙 Krebs 液: CaCl<sub>2</sub> 用 1 mmol/L EGTA 替换。在高钾去极化液中, NaCl 液用相应摩尔的 KCl 替代。

### 1.4 统计分析

所有数据均以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,收缩剂诱发的最大稳定收缩幅度定为标准值 100%,血管舒张的幅度以占标准值的百分比来表示。SPSS12.0 统计分析软件进行组间 t 检验, P < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 E<sub>2</sub> 对预收缩血管的效应及去除内皮的影响

内皮完整或去内皮的血管环, 用 PE (10<sup>-6</sup> mol/L) 或高钾(100 mmol/L)预收缩, 稳定后分别加入不同浓度 E<sub>2</sub> (10<sup>-9</sup>- 10<sup>-5</sup> mol/L), 结果显示, E<sub>2</sub> 呈浓度依赖性舒张血管, 约 5 min 起效, 30 min 达到平衡。E<sub>2</sub> 浓度为 10<sup>-9</sup>- 10<sup>-6</sup> mol/L 时, 去内皮的血管环舒张程度明显小于内皮完整的血管环; 但在 E<sub>2</sub> 浓度增高至 10<sup>-5</sup> mol/L 时, 去内皮与内皮完整的血管环血管舒张程度无差异 [内皮完整: (67.18 ± 9.58) %, 去内皮: (57.99 ± 12.57) %; n=10; P > 0.05; 图 1]。

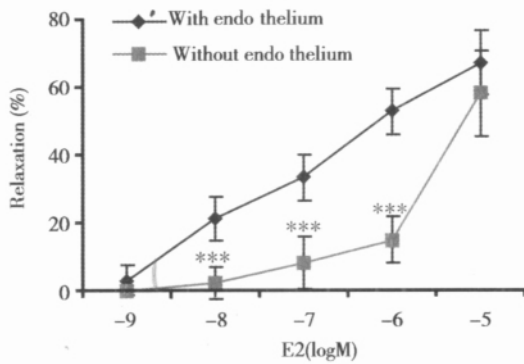


图 1 E<sub>2</sub> 对内皮完整或去内皮的血管环的舒张效应  
Fig. 1 The relaxation effect induced by E<sub>2</sub> in the rings with and without endothelium

Concentration-dependent relaxation induced by E<sub>2</sub> in rings precontracted by PE (10<sup>-6</sup> mol/L) or 100 mmol/L k<sup>+</sup> (◆, with endothelium and ■, without endothelium; n=8 to 12). Data are expressed as percentage relaxation of contraction induced by PE or 100 mmol/L k<sup>+</sup> (x±s). \*\*\*P < 0.001.

### 2.2 L-NAME 和 MB 对 E<sub>2</sub> 舒血管作用的影响

L-NAME 是一氧化氮合酶 NOS 的抑制剂, MB 是鸟苷酸环化酶 GC 的抑制剂。内皮完整的血管环用 L-NAME (10<sup>-4</sup> mol/L) 或 MB (10<sup>-5</sup> mol/L) 孵育 20 min, 然后用 PE 或高钾预收缩, 稳定后加入 E<sub>2</sub> (10<sup>-6</sup> mol/L)。结果表明, L-NAME 或 MB 可以显著抑制 E<sub>2</sub> 的舒血管效应(图 2-4); 去内皮与内皮完整用 L-NAME 或 MB 孵育的血管环舒张没有统计学差异(n=11, P > 0.05)。

### 2.3 雌激素受体在 E<sub>2</sub> 舒张血管中的作用

为了观察雌激素受体是否参与介导了雌激素

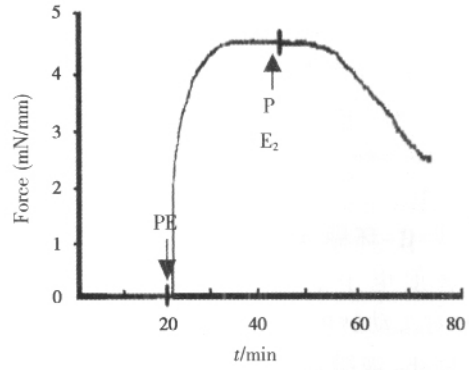


图 2 E<sub>2</sub> (10<sup>-6</sup>mol/L)舒张 PE 预收缩的血管  
Fig. 2 E<sub>2</sub> induced relaxation in endothelium-intact rings precontracted by PE

E<sub>2</sub> (10<sup>-6</sup> mol/L) induced relaxation in endothelium-intact rings precontracted by PE(10<sup>-6</sup> mol/L) (n=12).

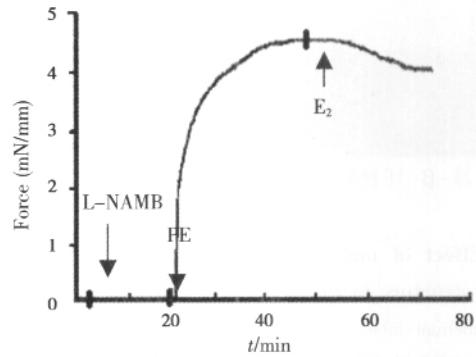


图 3 L-NAME 孵育对 E<sub>2</sub> 的舒血管效应的影响  
Fig.3 Effect of L-NAME on E<sub>2</sub>-induced relaxation in endothelium-intact rings

Inhibition of E<sub>2</sub> (10<sup>-6</sup> mol/L) induced relaxation in endothelium-intact rings was achieved by incubation with the nitric oxide synthase inhibitor L-NAME (10<sup>-4</sup> mol/L).

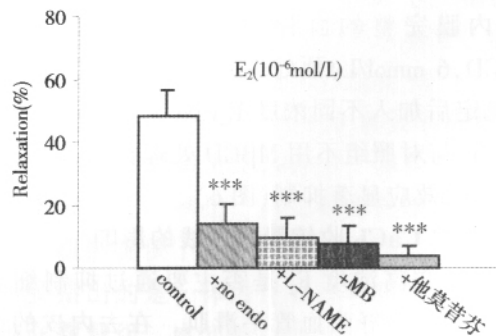


图 4 去内皮、L-NAME、MB 和他莫昔芬对 E<sub>2</sub> 舒张血管的影响  
Fig.4 Effect of no endo and L-NAME, MB and tamoxifen on the E<sub>2</sub>-induced relaxation.

Effect of no endo and L-NAME (10<sup>-4</sup> mol/L), MB (10<sup>-5</sup> mol/L), tamoxifen (10<sup>-5</sup> mol/L) on the E<sub>2</sub>-induced relaxation in rings with endothelium (n=6 to 12). Control is E<sub>2</sub>-induced relaxation in the rings with endothelium (n=12). There were significant differences in comparison with control rings: \*\*\*P < 0.001

的快速舒血管效应,内皮完整的血管环,用选择性雌激素受体阻断剂他莫昔芬( $10^{-5}$  mol/L)孵育 30 min,用 PE 预收缩,加入  $E_2$ ( $10^{-6}$  mol/L),与对照组不用他莫昔芬孵育比,观察到  $E_2$  舒血管效应显著抑制(图 3)。

#### 2.4 甲基- $\beta$ -环糊精对质膜微囊结构的影响

用透射电子显微镜观察甲基- $\beta$ -环糊精(M $\beta$ CD)对主动脉内膜质膜微囊结构的影响。与对照组用 Krebs 液孵育比较(图 5A),内膜完整的血管环用 M $\beta$ CD 处理(6 mmol/L, 60 min)后,质膜微囊结构显著被破坏(图 5B)。

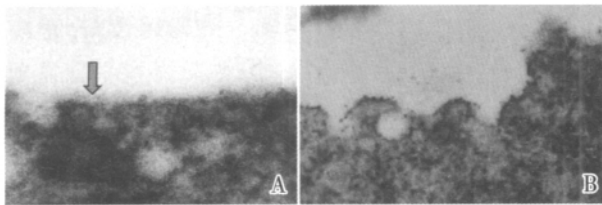


图 5 甲基- $\beta$ -环糊精对鼠主动脉内膜质膜微囊结构的影响

Fig.5 Effect of methyl- $\beta$ -cyclodextrin on endothelial caveolae structure in rat aortic endothelium.

Endothelium-intact rat aortic segments treated with Krebs(A) or 6 mmol/L methyl- $\beta$ -cyclodextrin (B) for 60 min were evaluated by transmission electron microscopy. Electron micrograph of the endothelium from aorta showing caveolae structure in A that is disrupted in B. Original magnification,  $\times 46,000$ .

#### 2.5 甲基- $\beta$ -环糊精对 $E_2$ 舒张血管效应的影响

内膜完整的血管环,用甲基- $\beta$ -环糊精(M $\beta$ CD, 6 mmol/L)预处理 60 min 后,用高钾预收缩,稳定后加入不同浓度  $E_2$ ( $10^{-8}$ ~ $10^{-6}$  mol/L)。结果表明,与对照组不用 M $\beta$ CD 处理相比, $E_2$  诱导的血管舒张效应显著抑制(图 6)。

#### 2.6 $E_2$ 对 $CaCl_2$ 收缩量效曲线的影响

为研究高浓度  $E_2$  是否主要通过抑制细胞外钙内流而直接舒张血管平滑肌,在去内皮的血管环,测量  $E_2$  对  $CaCl_2$  在无钙高钾溶液中收缩的影响。去内皮的血管环,用无钙 Krebs 溶液冲洗 3 次(间隔 10 min),稳定后,换用无钙高钾溶液(含 1 mmol/LEGTA, 60 mmol/L  $K^+$ ),无/有  $E_2$ ( $10^{-5}$  mol/L)孵育 30 min,累积加入  $CaCl_2$ ( $10^{-4}$ 、 $4 \times 10^{-4}$ 、 $10^{-3}$ 、 $4 \times 10^{-3}$ 、 $10^{-2}$  mol/L)。结果显示,在无钙高钾溶液中, $CaCl_2$  诱导浓度依赖性血管收缩, $E_2$ ( $10^{-5}$  mol/L)孵育可抑制  $CaCl_2$  诱导的血管收缩,使

$CaCl_2$  收缩量效曲线右移(图 7)。

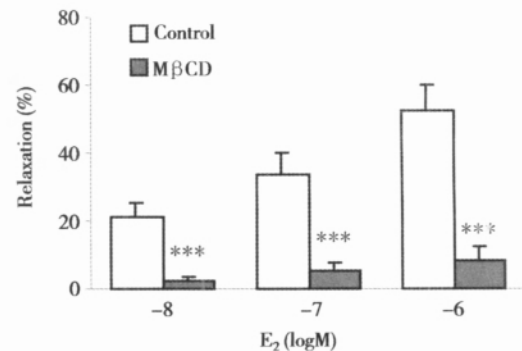


图 6 M $\beta$ CD 对  $E_2$  舒张血管的抑制效应

#### Fig. 6 Inhibition of M $\beta$ CD on the $E_2$ -induced relaxation

Effect of M $\beta$ CD (6 mmol/L) on the  $E_2$ -induced relaxation in endothelium-intact rings precontracted by 100 mmol/L  $K^+$  ( $n=6$ ). Control is  $E_2$ -induced relaxation in endothelium-intact rings ( $n=12$ ). Significant differences in comparison with control rings: \*\*\* $P < 0.001$ .

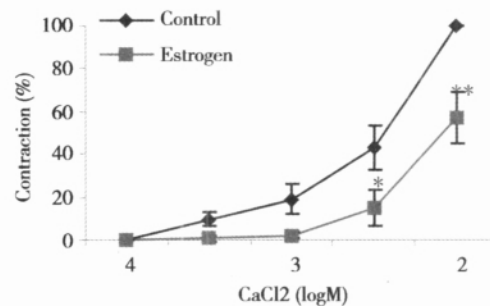


图 7  $E_2$  对  $CaCl_2$  在无钙高钾溶液中收缩量效曲线的影响

#### Fig. 7 Effect of $E_2$ on $CaCl_2$ -induced contraction in $Ca^{2+}$ -free, high $K^+$ solution

$CaCl_2$ -induced concentration-dependent contraction in  $Ca^{2+}$ -free, 60 mmol/L  $K^+$ -containing solution in the absence ( $\blacklozenge$ ,  $n=6$ ) and presence of estrogen ( $10^{-5}$  mol/L,  $\blacksquare$ ,  $n=6$ ). Data are expressed as percentage of maximal contraction induced by  $CaCl_2$  in control ( $\bar{x} \pm s$ ). \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ .

## 3 讨论

关于雌激素快速舒张血管作用的机制还存在着争议,以往报道有血管内皮依赖性和非内皮依赖性两种途径<sup>[5]</sup>,但其具体作用机制并不十分明确。本实验以 SD 大鼠离体胸主动脉环为研究对象,研究发现,雌激素以何种途径舒张血管,与雌激素作用的浓度有关,本实验中, $E_2$  浓度为  $10^{-9}$ ~ $10^{-6}$  mol/L 时作用呈内皮依赖性,与雌激素受体介导内皮释放 NO 有关,且需要内膜质膜微囊结构

完整; 而  $E_2$  浓度增高至  $10^{-5}$  mol/L 时作用呈非内皮依赖性, 主要通过抑制细胞外的钙内流而直接舒张血管平滑肌。Salom 等<sup>[2]</sup>研究表明  $E_2$  的快速血管舒张效应是非内皮依赖性的, 其实验采用浓度为  $10^{-5}$ ~ $10^{-4}$  mol/L; 而 Ma 等<sup>[6]</sup>采用  $E_2$  浓度为  $10^{-9}$ ~ $10^{-6}$  mol/L, 发现其快速舒血管效应是依赖内皮的。由此推测以往报道的雌激素快速舒张血管存在依赖内皮和非依赖内皮两种途径其实并不矛盾, 可能与研究者实验采用雌激素作用浓度不同有关。

本实验观察到无论是内皮完整或是去内皮的血管环, 用 PE 或高钾预收缩,  $E_2$  能剂量依赖性地快速舒张血管。在  $E_2$  浓度为  $10^{-9}$ ~ $10^{-6}$  mol/L 时, 去内皮的血管环舒张程度较内皮完整的血管环小; 内皮完整的血管环, 用一氧化氮合酶(NOS)的抑制剂 L-NAME ( $10^{-4}$  mol/L, 20 min) 孵育可显著抑制  $E_2$  的舒血管作用, 使内皮完整与去内皮血管环的舒张差异消失。以上提示  $10^{-9}$ ~ $10^{-6}$  mol/L 浓度  $E_2$  的舒张血管效应是部分依赖内皮释放 NO 的。众所周知, 血管壁上 NO 由内皮型一氧化氮合酶(eNOS)催化 L-精氨酸和分子氧产生, 能快速扩散至血管平滑肌, 激活 GC, 增加细胞内 cGMP, cGMP 激活 cGMP- 依赖的蛋白激酶 PKG, 导致血管平滑肌舒张。本实验也发现, 加入 GC 抑制剂亚甲蓝(MB)后,  $E_2$  的舒血管效应同样被抑制, 进一步表明 NO- GC- cGMP 信号通路参与了雌激素的快速舒张血管效应。

在内皮完整的血管环, 选择性雌激素受体阻断剂他莫昔芬可以完全抑制  $E_2$  的快速舒血管作用, 提示雌激素受体参与介导了雌激素的快速舒血管作用。雌激素的舒张血管作用发生迅速, 是一种非基因效应, 提示细胞膜上有雌激素受体表达<sup>[6]</sup>。

质膜微囊是细胞膜上直径约 50~100 nm, 呈烧瓶状或希腊字母  $\omega$  状的特异性内陷囊状结构, 在内皮细胞表达丰富<sup>[7]</sup>。胆固醇对于维持质膜微囊的正常结构和功能非常重要<sup>[8]</sup>。甲基- $\beta$ -环糊精(M $\beta$ CD), 水溶性的环状低聚糖, 不可透过细胞膜, 其疏水核心能够接收一分子的胆固醇, 通过溶解质膜胆固醇而减少细胞胆固醇含量, 已作为一种药理学研究工具有效地用于研究质膜微囊在血管反应性中的作用<sup>[9]</sup>。本实验用透射电镜观察到, 内皮完整的主动脉血管环用 M $\beta$ CD 处理(6 mmol/L, 60 min)后, 质膜微囊结构明显被破坏。此外, 内皮完整的血管环, 用 M $\beta$ CD(6 mmol/L, 60 min)处理

后,  $E_2$  诱导的舒血管效应也被显著抑制, 表明质膜微囊结构的完整对雌激素的快速舒血管作用是必须的, 与本实验结论一致的是, Stirone 等采用 M $\beta$ CD(5 mmol/L, 30 min)对离体兔大脑动脉血管预处理, 观察到  $E_2$  快速释放 NO 的产量显著被抑制。该研究还发现膜雌激素受体(ER)位于质膜微囊结构, 与微囊蛋白-1 存在密切关系, 因此破坏质膜微囊结构, 膜雌激素受体介导的 NO 释放也显著减少<sup>[10]</sup>。

本实验显示在  $E_2$  浓度为  $10^{-5}$  mol/L 时, 去内皮的血管环和内皮完整的血管环舒张程度无差异, 即内皮的有无并不影响  $E_2$  的舒血管效应, 提示  $E_2$  也有不依赖血管内皮而直接舒张血管平滑肌的作用。血管平滑肌细胞膜上主要有两种钙通道, 即受体操作性钙通道(ROCC)和电压依赖性钙通道(VDCC), 对血管舒缩活动起重要作用。PE 是一种肾上腺素受体激动剂, 它通过开放 ROCC 而导致血管收缩, 而当细胞外钾浓度增高时, 可使血管平滑肌细胞膜电位去极化而激活 VDCC, 导致细胞外钙内流而引起血管收缩<sup>[11]</sup>。本实验中无论是用 PE 或是用高钾预收缩的血管,  $E_2$  均使之舒张, 表明  $E_2$  既对 ROCC 有抑制作用, 也对 VDCC 有抑制作用。此外,  $CaCl_2$  在无钙高钾溶液中引起的浓度依赖性血管收缩也主要依赖外钙内流。本实验中, 去内皮的血管环,  $E_2$  ( $10^{-5}$  mol/L) 预处理能显著抑制在无钙高钾溶液中的  $CaCl_2$  诱发的血管收缩效应, 进一步表明雌激素可能作为钙拮抗剂抑制细胞外的钙离子内流而直接舒张血管。临床上存在一些雌激素水平非常高的情况, 比如, 体外受精时, 卵巢高度敏感, 体内雌激素水平非常高; 女性在患有促性腺激素细胞瘤时, 体内雌激素水平也显著高于正常状态。本实验为高浓度雌激素舒张血管机制提供了实验依据。

需要指出的是, 体内生理水平雌激素水平约为纳摩尔数量级, 本实验中能够舒张大鼠胸主动脉血管的最低有效浓度要高于体内生理水平的雌激素浓度或临床激素替代疗法的浓度, 这可能因为体外实验不包括其他循环激素、体液因子(可能在体内与雌激素有协同作用)及血量等的影响。而且, 动物物种及动物体内激素状况, 血管种类也影响体外实验中离体血管对激素的反应<sup>[12]</sup>。本实验与 Salom 等进行的离体血管体外灌流实验一样, 只是观察了雌激素在体外的快速非基因效应, 而

并未探讨雌激素在体内的长期效应和整体效应,这也是体外实验模型的局限性。

本实验表明,在雌性 SD 大鼠离体胸主动脉血管环,  $E_2$  能呈浓度依赖性地快速舒张血管,既有内皮依赖性作用机制,也有非内皮依赖性作用机制,与  $E_2$  作用浓度有关。浓度较低时,作用为内皮依赖性,与细胞膜上雌激素受体介导内皮释放 NO 有关,且需要质膜微囊结构完整,而当  $E_2$  浓度增高时,主要通过抑制细胞外的钙内流直接舒张平滑肌血管,为非内皮依赖性。

参考文献:

- [1] CHAMBLISS K L, SHAUL P W. Estrogen modulation of endothelial nitric oxide synthase [J]. *Endocrine Reviews*, 2002,23(5): 665- 686.
- [2] SALOM J B, BURGUETE M C, PEREZ-ASENSIO F J, et al. Acute relaxant effects of 17-beta-estradiol through non-genomic mechanisms in rabbit carotid artery [J]. *Steroids*, 2002, 67(5): 339- 346.
- [3] SANTOS R L, ABREU G R, BISSOLI N S, et al. Endothelial mediators of 17 beta-estradiol-induced coronary vasodilation in the isolated rat heart[J]. *Braz J Med Biol Res*, 2004, 37(4): 569- 575.
- [4] TSANG S Y, YAO X, ESSIN K, et al. Raloxifene relaxes rat cerebral arteries in vitro and inhibits L-type voltage-sensitive  $Ca^{2+}$  channels[J]. *Stroke*, 2004, 35(7): 1709- 1714.
- [5] MA L, ROBINSON C P, THADANI U, et al. Effect of 17-beta estradiol in the rabbit: endothelium-dependent and-independent mechanisms of vascular relaxation [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1997, 30(1): 130- 135.
- [6] 王庭槐,付晓东,杨丹,等.膜雌激素受体介导一氧化氮合酶活性增高的快速非基因效应[J].*生理学报*, 2003, 55(2): 213- 218.
- [7] RAZANI B, WOODMAN S E, LISANTI M P. Caveolae: from cell biology to animal physiology [J]. *Pharmacol Rev*, 2002, 54(3): 431- 467.
- [8] LUNGU A O, JIN Z G, YAMAWAKI H, et al. Cyclosporin A inhibits flow-mediated activation of endothelial nitric-oxide synthase by altering cholesterol content in caveolae[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(47): 48794- 48800.
- [9] LINDER A E, MCCIUSKEY L P, COLE K R 3rd, et al. Dynamic association of nitric oxide downstream signaling molecules with endothelial caveolin-1 in rat aorta[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2005, 314(1): 9- 15.
- [10] STIRONE C, BOROUJERDI A, DUCKLES S P, et al. Estrogen receptor activation of phosphoinositide-3 kinase, Akt, and nitric oxide signaling in cerebral blood vessels: rapid and long-term effects [J]. *Mol Pharmacol*, 2005, 67(1): 105- 113.
- [11] FIGTREE G A, LU Y, WEBB C M, et al. Raloxifene acutely relaxes rabbit coronary arteries in vitro by an estrogen receptor-dependent and nitric oxide-dependent mechanism[J]. *Circulation*, 1999, 100(10): 1095- 1101.
- [12] COLLINS P, SHAY J, JIANG C, et al. Nitric oxide accounts for dose-dependent estrogen-mediated coronary relaxation after acute estrogen withdrawal [J]. *Circulation*, 1994, 90(4): 1964- 1968.

(编辑 徐杰)

## 启 事

2003年《中山医科大学学报》改名为《中山大学学报》(医学科学版)后,美国化学文摘社于2007年将《中山大学学报》(医学科学版)列入《化学文摘》(CA)收录名单。

本刊启