

氟伐他汀对高脂饮食兔血管内皮功能的早期保护作用

马虹, 刘群锋, 周少春, 郑振声

(中山医科大学附属第一医院心内科, 广东 广州 510080)

摘要: 【目的】证实氟伐他汀对高脂饮食兔血管内皮功能存在早期保护作用。【方法】40只兔随机等分为治疗组(高脂饮食+氟伐他汀)和对照组(高脂饮食)。分别于实验前及实验第1、2、3、4周每组随机抽取4只兔,取耳中动脉血测血脂水平,接着处死,分离主动脉,进行浴槽试验测定其对血管舒缩药物的反应变化。【结果】实验前对照组和治疗组血管条对硝酸甘油、乙酰胆碱的舒张反应均无差异,两组之间比较,两组血管条对乙酰胆碱的舒张反应在实验1周时即出现差异($P < 0.05$),但对硝酸甘油的舒张反应至实验4周时仍然没有差异($P > 0.05$)。而与实验前比较,两组血管条对硝酸甘油的舒张反应至实验4周时仍然没有差异($P > 0.05$),对乙酰胆碱的舒张反应在对照组实验1周时即出现差异($P < 0.05$),在治疗组却在实验2周时才出现差异($P < 0.05$)。【结论】胆固醇水平升高导致血管内皮功能受损,氟伐他汀不但能防止血脂的上升,而且早期便对高脂饮食兔血管内皮功能存在保护作用。

关键词: 内皮, 血管; 一氧化氮; 氟伐他汀; 高胆固醇血症

中图分类号: R541.7 文献标识码: A 文章编号: 1000-257X(2001)04-0257-04

Early Protective Effect of Fluvastatin on Vascular Endothelial Function in Rabbits Fed by Hyperlipid Diet

MA Hong, LIU Qun-feng, ZHOU Shao-chun, ZHENG Zhen-sheng

(Department of Cardiology, First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou 510080, China)

Abstract: 【Objective】To prove early protective effect of fluvastatin on vascular endothelial function in rabbits fed by hypercholesterol diet. 【Methods】Forty white rabbits were randomly divided into two groups: control group (Hyperlipid diet: 1% cholesterol, 1.8% lard, 7.5% yolk powder and 83.75% common pellet) and treated group (Hyperlipid diet+fluvastatin $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$). Four rabbits were randomly selected from each group before experiment and 1-week, 2-week, 3-week and 4-week after treatment with highlipid diet. The blood samples were drawn in order to measure serum lipids, then the rabbit was killed by air, the aorta was isolated. The aorta was used to test endothelium-dependent and -independent vasodilative response to acetylcholine and nitroglycerine. 【Results】There was no difference in the aortic relaxing response to nitroglycerine and acetylcholine between the two groups before experiment. As time passed, the relaxing response to acetylcholine was shown to be different between the two groups in the first week ($P < 0.05$), but the relaxing response to nitroglycerine kept unchanged in the two groups throughout the studies ($P > 0.05$). The relaxing response to acetylcholine was shown to be different in the first week in the control group as compared to that before experiment ($P < 0.05$), but this difference was found in the second week in the treated group ($P < 0.05$). 【Conclusion】Hypercholesterolemia results in endothelial dysfunction. Fluvastatin not only reduce plasma lipids but also early protect vascular endothelial function in rabbits fed by hypercholesterol diet.

Key words: endothelium, vascular; nitric oxide; hypercholesterolemi; fluvastatin

收稿日期: 2000-12-14

作者简介: 马虹(1943-)男,山东德州人,硕士,教授,博士生导师,研究方向:冠心病、高血压、心律失常。http://www.cnki.net

随着大规模他汀类降脂药物治疗临床试验的完成,人们发现他汀类降脂药物的作用不单是降低血脂,还存在着降脂以外的其他作用,其中改善血管内皮功能是一个重要方面^[1,2]。有关他汀类降脂药物对血管内皮功能的保护作用,目前已经研究较多,但其是否早期便对血管内皮功能存在保护作用,仍然有必要做进一步的证实。本研究通过测定血管条对血管舒张药物的反应来检测血管内皮的内皮依赖性舒张功能,证实氟伐他汀对高脂饮食兔血管内皮功能存在早期保护作用。

1 材料与方 法

1.1 模型的建立和实验过程

健康纯种新西兰兔 40 只,雌雄各半,体质量(2.05±0.11) kg,4 个月月龄。经 2 周适应性饲养使血脂水平和代谢状况稳定后进入本实验。动物单笼饲养,饮水不限。把兔子随机等分为 2 组,治疗组:高脂饮食+氟伐他汀 10 mg·kg⁻¹·d⁻¹;对照组:高脂饮食。氟伐他汀为北京诺华制药有限公司生产。两组兔子每日每只均只进食 150 g 高脂饲料(配方为:按质量分配 1%胆固醇,8%猪油,7.5%蛋黄粉,83.5%普通颗粒饲料)。分别于实验前及第 1、2、3、4 周每组随机抽取 4 只兔子,取兔耳中动脉血测血脂水平,接着气栓法处死兔子,分离主动脉,进行浴槽试验测定其对血管舒缩药物的反应。

1.2 观察指标及测定方法

1.2.1 空腹血脂测定 采用北京中天生物工程高技术公司生产的试剂盒进行酶法测定血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C),用日立 7170 型全自动生化分析仪进行检测。每次测定前均进行质控检查。血清低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)由 Friedwald 公式计算: $c_{LDL-C} = c_{TC} - c_{HDL-C} - c_{TG} / 2.2$ 。

1.2.2 血管条对血管舒缩药物反应的测定 采用浴槽实验。动物处死后立即开胸取出升主动脉,置

克氏液中(mmol/L)(NaCl 118.1、KCl 4.7、MgSO₄ 1.2、KH₂PO₄ 1.2、CaCl₂ 2.5、NaHCO₃ 25 和葡萄糖 5),清除其周围脂肪,切成 4 mm 长的血管环,操作时保护好内膜,将血管环置于有 20 mL 克氏液的浴槽内,37 °C 恒温,通以混合气(按体积 95% O₂+5% CO₂)。血管环悬挂于槽内的 2 个平行的不锈钢丝镫上。下方丝镫固定于铜板上,上方丝镫连接位移换能器(LM-201,上海医用电子器械厂)以记录张力变化。逐渐拉紧血管环以达到长度张力曲线要求的最适状态。血管环平衡 60 min,此期间每 15 min 更换克氏液 1 次。血管环经平衡后,先给予苯肾上腺素(100 nmol/L),待收缩达平台时,累积给予乙酰胆碱(Ach)(0.01~100 μmol/L),并同步记录反应曲线。用相同的方法,给氯化钾(20 mmol/L)为预收缩药,记录血管对硝酸甘油(NG)(0.1 nmol/L~100 μmol/L)的剂量相关曲线。以血管对于预收缩药物苯肾上腺素和氯化钾收缩的降低百分数来表示其对舒张药物的反应。

1.3 统计分析方法

结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。数据处理用 *t* 检验(SPSS 9.0 统计软件)。以 $P < 0.05$ 为统计学上差异有显著性。

2 结 果

2.1 氟伐他汀对血脂的影响

实验前后两组 TC 的变化见表 1, TG 的变化见表 2, HDL-C 的变化见表 3, LDL-C 的变化见表 4。从中我们可以看出,实验前治疗组和对照组血清血脂水平均无差异,虽然随着时间的推移,高脂饮食使治疗组和对照组的血清血脂水平均逐渐升高,治疗组和对照组血清 TC、LDL-C 水平均在实验 1 周时与实验前比较即显示出差异,但治疗组第 1、2、3、4 周时的血清 TC、LDL-C 水平均始终明显低于同期对照组的血清 TC、LDL-C 水平。

表 1 两组总胆固醇的变化

Table 1 Change of the total cholesterol(TC) between the 2 groups

($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

Group	n	Before treatment	1-week after	2-week after	3-week after	4 week after
Control group	4	2.72±0.28	10.45±0.56 ²⁾	13.41±1.48 ²⁾	19.71±2.17 ²⁾	22.95±1.98 ²⁾
Treated group	4	2.68±0.24	7.60±1.24 ^{1),2)}	9.29±1.87 ^{1),2)}	13.19±2.51 ^{1),2)}	15.03±1.84 ^{1),2)}

1) Compared to the control group, $P < 0.05$; 2) compared to "before treatment", $P < 0.05$

表2 两组甘油三酯的变化

Table 2 Change of triglyceride(TG) between the 2 groups ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

Group	n	Before treatment	1-week after	2-week after	3-week after	4 week after
Control group	4	0.91±0.21	1.61±0.29 ²⁾	2.14±0.55 ²⁾	2.90±0.34 ²⁾	3.44±0.49 ²⁾
Treated group	4	0.87±0.19	1.10±0.28 ¹⁾	1.25±0.32 ¹⁾	1.57±0.49 ^{1),2)}	1.94±0.40 ^{1),2)}

1) Compared to the control group, $P < 0.05$; 2) compared to "before treatment", $P < 0.05$

表3 两组高密度脂蛋白胆固醇的变化

Table 3 Change of the high density lipoprotein cholesterol(HDL-C) between the 2 groups ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

Group	n	Before treatment	1-week after	2-week after	3-week after	4 week after
Control group	4	1.57±0.03	2.73±0.29 ²⁾	3.34±0.37 ²⁾	4.44±0.46 ²⁾	5.38±0.59 ²⁾
Treated group	4	1.59±0.02	3.24±0.32 ^{1),2)}	4.37±0.49 ^{1),2)}	5.54±0.52 ^{1),2)}	6.49±0.64 ^{1),2)}

1) Compared to the control group, $P < 0.01$; 2) compared to "before treatment", $P < 0.05$

表4 两组低密度脂蛋白胆固醇的变化

Table 4 Change of the low density lipoprotein cholesterol(LDL-C) between the 2 groups ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

Group	n	Before treatment	1-week after	2-week after	3-week after	4 week after
Control group	4	0.74±0.08	6.99±1.71 ²⁾	9.10±2.25 ²⁾	13.95±1.13 ²⁾	16.01±1.09 ²⁾
Treated group	4	0.69±0.04	3.86±0.97 ^{1),2)}	5.35±1.22 ^{1),2)}	6.94±1.41 ^{1),2)}	7.66±0.87 ^{1),2)}

1) Compared to the control group, $P < 0.05$; 2) compared to "before treatment", $P < 0.05$

表5 两组血管条对硝酸甘油(NG)的反应

Table 5 Aortic relaxing response to nitroglycerine(NG) between the 2 groups ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	Before treatment	1-week after	2-week after	3-week after	4 week after
Control group	4	0.802±0.051	0.795±0.048 ²⁾	0.798±0.045 ²⁾	0.805±0.037 ²⁾	0.788±0.030 ²⁾
Treated group	4	0.803±0.031	0.800±0.022 ^{1),2)}	0.780±0.061 ^{1),2)}	0.795±0.026 ^{1),2)}	0.808±0.042 ^{1),2)}

1) Compared to the control group, $P > 0.05$; 2) compared to "before treatment", $P > 0.05$

表6 两组血管条对乙酰胆碱(Ach)的反应

Table 6 Aortic relaxing response to acetylcholine(Ach) between the 2 groups ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	Before treatment	1-week after	2-week after	3-week after	4 week after
Control group	4	0.642±0.021	0.583±0.033 ²⁾	0.533±0.043 ²⁾	0.485±0.062 ²⁾	0.433±0.017 ²⁾
Treated group	4	0.648±0.019	0.625±0.029 ¹⁾	0.585±0.026 ^{1),2)}	0.545±0.057 ^{1),2)}	0.500±0.042 ^{1),2)}

1) Compared to the control group, $P < 0.05$; 2) compared to "before treatment", $P < 0.05$

2.2 两组血管条对血管活性物质的反应

两组血管条对血管活性物质 NG 的反应见表 5, 对 Ach 的反应见表 6。从中我们可以看出, 治疗组和对照组血管环对 NG 的反应不但两组间在实验 1 周至实验 4 周时均始终没有差异, 而且至实验 4 周时与实验前比较还没有差异; 但对 Ach 的反应不但两组间在实验 1 周时即已显示出差异, 而且与

实验前比较也存在差异。

3 讨论

本实验利用高脂饮食喂养兔建立高胆固醇血症模型。实验 1 周时对照组 TC、LDL-C 即较实验前明显上升, 分别达 10.45 mmol/L、6.99 mmol/L; 治疗

组 TC、LDL-C 较实验前亦上升, 分别达 7.60 mmol/L、3.86 mmol/L, 可认为已成功建立兔高胆固醇血症模型^[3]。

血管内皮细胞通过释放 NO 及其他血管活性物质, 在维持血管舒张等方面起着十分重要的作用。血管舒张包括内皮依赖性舒张和非内皮依赖性舒张两种形式。本实验在体外测定血管环对 NG、Ach 的反应, 观察血管的内皮依赖性舒张功能状况。从表 5、表 6 中我们可以看出: 治疗组和对照组血管环对 NG 的反应无差异 ($P > 0.05$), 说明高胆固醇血症对血管内皮的非内皮依赖性舒张功能没有影响。而血管环对 Ach 的反应, 两组之间随着时间的推移均逐渐下降, 说明高胆固醇血症减弱血管内皮的内皮依赖性舒张功能; 与实验前比较, 对照组实验 1 周时即出现差异 ($P < 0.05$), 而治疗组实验 2 周时才出现差异 ($P < 0.05$), 说明氟伐他汀早期便对高脂饮食兔血管内皮的内皮依赖性舒张功能存在保护作用; 同时从实验 1 周至实验 4 周两组之间血管环对 Ach 的舒张反应治疗组均大于对照组, 同期比较均始终存在差异 (P 均 < 0.05), 说明氟伐他汀对高脂饮食兔血管内皮的内皮依赖性舒张功能存在保护作用。

氟伐他汀对血管内皮功能的保护作用机制目前还不完全清楚。John 等^[4] 发现降脂治疗通过提高 NO 的生物活性而改善高胆固醇血症患者的内皮功能; 实验研究表明高胆固醇血症持续存在时, LDL 可被氧化成氧化型 LDL, 氧化型 LDL 可剂量依赖性地增加血小板聚集、C-血清素的释放, 减少精氨酸的吸收, 使 NO 合成酶的表达降低约 50%^[5]; 低浓度轻度氧化的氧化型 LDL, 即可致内皮细胞增生, 并可诱导与 AS 形成有关的细胞因子的表达, 促进内皮细胞的衰老^[6]; 还可增加 CPP-32 类似物的产生, 而 CPP-32 为启动致细胞凋亡的蛋白水解链的重要蛋白酶, 从而诱导细胞凋亡, 这可能为 AS

“损伤反应”理论提供分子水平的研究线索^[7]。

本实验证实胆固醇水平升高导致血管内皮功能受损, 氟伐他汀不但能防止血脂的上升, 而且早期便对高脂饮食兔血管内皮功能存在保护作用。本实验结果提示临床对高胆固醇血症患者早期进行积极的降脂治疗, 对保护高胆固醇血症患者的血管内皮功能有重要的临床意义。

参考文献:

- [1] Vaughan C J, Murphy M B, Buckley B M, *et al.* Stains do more than just lower cholesterol[J]. *Lancet*, 1996, 348 (9034): 1079.
- [2] Kinlay S, Selwyn A P, Delagrang D, *et al.* Biological mechanisms for the clinical success of lipid-lowering in coronary artery disease and the use of surrogate end-points[J]. *Curr Opin Lipidol*, 1996, 7(6): 389.
- [3] 余艳辉, 瞿湘萍, 李智, 等. 兔高脂蛋白血症模型建立及动脉粥样斑块形成的方法学[J]. *中国药理学通报*, 1998, 14(5): 1732.
- [4] John S, Schlaich M, Langenfeld M, *et al.* Increased bioavailability of nitric oxide after lipid-lowering therapy in hypercholesterolemic patients[J]. *Circulation*, 1998, 98(3): 211.
- [5] Chen LY, Mehta P, Mehta J L. Oxidized LDL decreases L-arginine uptake and nitric oxide synthase protein expression in human platelets: relevance of the effect of oxidized LDL on platelet function[J]. *Circulation*, 1996, 93(9): 1740.
- [6] Maier J A M, Barengli L, Bradamante S, *et al.* Induction of human endothelial cell growth by mildly oxidized low density lipoprotein[J]. *Atherosclerosis*, 1996, 123(1-2): 115.
- [7] Dimmeler S, Haendeler J, Galle J, *et al.* Oxidized low-density lipoprotein induces apoptosis of human cells by activation of CPP32 like proteases: a mechanistic clue to the “response to injury” hypothesis[J]. *Circulation*, 1997, 95(7): 1760.

(编辑 刘清海)