

[文章编号] 1007- 3949(2000) - 01- 0039- 04

• 实验研究 •

氟伐他汀对内膜损伤后动脉粥样硬化 家兔内皮功能的改善作用

陈 晖, 沈潞华, 谢苗荣, 李东宝

(首都医科大学附属北京友谊医院心内科, 北京 100050)

[主题词] 动脉粥样硬化; 家兔; 内皮, 血管; 凝血; 纤溶

[摘要] 为观察氟伐他汀对实验性动脉粥样硬化家兔内皮系统及凝血纤溶系统功能的作用, 将 28 只雄性新西兰白兔随机分为正常组、病理组、用药 5 周组及用药 9 周组, 每组各 7 只。病理组和用药组给予高脂饮食 5 天后行内膜剥脱术, 术后给高脂饮食 8 周, 正常组仅给予普通饮食及假手术。用药 9 周组每天给高脂饮食同时给予氟伐他汀 (10 $\mu\text{g/g}$), 用药 5 周组每天给高脂饮食 4 周后再每天加给氟伐他汀 (10 $\mu\text{g/g}$)。然后测定不同时间点家兔血浆 6-酮-前列腺素 $\text{F}_{1\alpha}$ 、血栓素 B_2 、内皮素、一氧化氮、组织型纤溶酶原激活剂、纤溶酶原激活剂抑制因子及纤维蛋白原水平。结果发现, 实验前各组家兔血浆内皮功能指标及凝血纤溶功能指标之间均无明显差别。实验第 9 周两个用药组血栓素 B_2 /6-酮-前列腺素 $\text{F}_{1\alpha}$ 比值、内皮素浓度及纤溶酶原激活剂抑制因子浓度均显著低于病理组 ($P < 0.05$); 病理组血栓素 B_2 浓度明显高于正常组 ($P < 0.05$), 一氧化氮及组织型纤溶酶原激活剂浓度明显低于正常组 ($P < 0.01$); 用药组 6-酮-前列腺素 $\text{F}_{1\alpha}$ 浓度有高于病理组的趋势, 纤维蛋白原浓度有低于病理组的趋势。结果提示, 氟伐他汀具有明显的改善血管内皮功能及凝血纤溶系统功能的作用。

[中图分类号] R961

[文献标识码] A

The Effects of Fluvastatin on Endothelial, Coagulative and Fibrinolytic Functions in Experimental Atherosclerotic Rabbits

CHEN Hui, SHEN Lu- Hua, XIE Miao- Rong and LI Dong- Bao

(Department of Cardiology, Beijing Friendship Hospital, Affiliate of Capital University of Medical Science, Beijing 100050, China)

MeSH Atherosclerosis; Rabbits; Endothelium, Vascular; Coagulate; Plasminogen

ABSTRACT **Aim** To investigate the effect of fluvastatin on endothelial, coagulative and fibrinolytic functions in experimental atherosclerotic rabbits. **Methods** 28 male New Zealand rabbits were divided into four groups randomly: normal group, pathological group, 5- week fluvastatin- treatment group (10 $\mu\text{g/g} \cdot \text{d}$) and 9- week fluvastatin- treatment group (10 $\mu\text{g/g} \cdot \text{d}$). Plasma 6- Keto- prostaglandin $\text{F}_{1\alpha}$ (6- Keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$), thromboxane B_2 (TXB_2), endothelin (ET), nitric oxide (NO), tissue- plasminogen activator (tPA), plasminogen activator inhibitor (PAI) and fibrinogen (FIB) concentrations were assayed in different intervals during the experiment. **Results** At the end of ninth week, TXB_2 /6- keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$ ratio, ET levels and PAI levels in the two treat groups were significantly lower than those in the pathological group ($P < 0.05$); TXB_2 concentration in the pathological group was much higher than that in the normal group ($P < 0.05$). NO and tPA concentrations in the pathological group were significantly lower than those in the normal group ($P < 0.01$). Compared with the pathological group, the concentration of 6- Keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$ in two treatment groups had a increasing trend, but the concentration of FIB had a lowering trend.

Conclusion Fluvastatin can significantly improve endothelial, coagulative and fibrinolytic functions.

动脉内皮损伤与动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 的发生发展有密切的关系^[1]。动脉壁分泌的血管活性物质如前列环素 (prostacycline, PGI_2)、血栓素 A_2 (thromboxane A_2 , TXA_2)、一氧化氮 (nitric oxide, NO)、内皮素 (endothelin, ET)、纤维蛋白原 (fibrino-

gen, FIB)、组织型纤溶酶原激活剂 (tissue- plasminogen activator, tPA) 及纤溶酶原激活剂抑制因子 (plasminogen activator inhibitor, PAI) 等在动脉粥样硬化的发生发展中起着重要的调节作用。动脉壁损伤后, 血脂沉着明显增加, 同时还促进平滑肌细胞增殖, 促进单核细胞及 T 淋巴细胞粘附、迁移, 促进血小板粘附、聚集, 从而启动 As 发生。3- 羟- 3 甲基戊二酰

[作者简介] 陈 晖, 男, 1972 年 2 月出生, 博士研究生。

辅酶 A (3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A, HMG-CoA) 还原酶是肝细胞合成胆固醇过程中的限速酶,能催化 HMG-CoA 还原成甲羟戊酸,为内源性胆固醇合成的关键性一步。它的抑制剂他汀类药物是目前世界上应用最广泛的降胆固醇药物,其主要的治疗作用是降低血脂。此外,他汀类药物还能抑制动脉粥样硬化的发生发展,但机制非常复杂。本文在动脉内膜损伤后动脉粥样硬化家兔模型中观察了第一个人工合成的他汀类药物氟伐他汀对血管内皮功能及凝血纤溶功能的调节作用。

1 材料和方法

1.1 动物分组

健康雄性新西兰家兔 28 只,体重 2.0~2.5 kg,月龄 3~4 个月。随机分为四组: ①正常组($n=7$): 假手术+普通饮食; ②病理组($n=7$): 动脉内膜剥脱+高脂饲料; ③用药 5 周组($n=7$): 动脉内膜剥脱+高脂饮食+应用氟伐他汀 5 周; ④用药 9 周组($n=7$): 动脉内膜剥脱+高脂饮食+应用氟伐他汀 9 周。

1.2 动脉内膜损伤术

将兔固定于兔手术台上,经耳缘静脉注射 0.6% 异戊巴比妥钠(25~35 $\mu\text{g/g}$) 麻醉。分离右股动脉,逆行插入球囊导管,插入 25 cm 左右时向球囊内注入生理盐水,使球囊内压为 6 个大气压,缓慢回拉导管至股动脉切口处,然后回抽至囊内负压,如此反复 3 次,剥脱腹主动脉、股动脉及髂动脉内皮。假手术组家兔麻醉及切开皮肤,分离股动脉,仅结扎近端血管,不做内皮剥脱。

1.3 高脂饮食喂养

每日上午将高脂饲料(胆固醇 1.0 g/d+蛋黄 7 g/d)混于少量普通饲料中,待家兔吃光后,给予普通饲料。高脂饮食喂养 5 天后行内膜剥脱术,术后继

续高脂饮食 8 周。正常组给予普通饮食,用药 9 周组高脂饮食同时给予氟伐他汀(10 $\mu\text{g/g}\cdot\text{d}$) 口服,用药 5 周组高脂饮食 4 周后给予氟伐他汀(10 $\mu\text{g/g}\cdot\text{d}$),正常组及病理组不给药。

1.4 检测指标测定

实验前及实验第 9 周时空腹采血,6-Keto-PGF_{1 α} -TXB₂ 及内皮素测定采用放射免疫法,试剂盒购自北京福瑞生物工程公司。NO 测定采用硝酸还原酶法,试剂盒购自南京建成生物工程研究所。tPA 及 PAI 活性测定采用发射底物法,试剂盒购自福建太阳生物技士公司。FIB 测定采用热沉淀比浊法。

1.5 统计学处理

各项数据以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间差异比较用方差分析,两组之间比较用 q 检验。

2 结果

2.1 实验动物情况

本实验共用新西兰家兔 28 只,手术操作过程中死亡 1 只。各组家兔高脂饮食消耗无差异,实验前后各组家兔的体重无明显差异。

2.2 氟伐他汀对血浆 6-酮-前列腺素 F_{1 α} 、血栓素 B₂ 及其比值的影响

实验前各组 6-Keto-PGF_{1 α} 和 TXB₂ 浓度无明显差别。实验第 9 周时,病理组及用药组血浆 6-Keto-PGF_{1 α} 浓度均低于正常组,但无显著性差异;病理组 TXB₂ 浓度明显高于正常组($P<0.05$),其余各组间无显著性差异。实验第 9 周末病理组和用药 5 周组 TXB₂/6-Keto-PGF_{1 α} 比值明显高于正常组($P<0.01$),但用药组该比值明显低于病理组($P<0.05$),用药 9 周组该比值低于用药 5 周组,但在统计学上没有差异(表 1, Table 1)。

表 1. 各组血浆 6-酮-前列腺素 F_{1 α} 、血栓素 B₂ 及其比值情况

Table 1. The levels of plasma 6-Keto-PGF_{1 α} , TXB₂ and TXB₂/6-Keto-PGF_{1 α} in the four groups ($\bar{x}\pm s$, ng/L)

Groups	n	6-Keto-PGF _{1α}		TXB ₂		TXB ₂ /6-Keto-PGF _{1α}	
		0 week	9 week	0 week	9 week	0 week	9 week
Normal	7	128.43 \pm 51.50	128.39 \pm 54.74	81.52 \pm 26.69	83.34 \pm 21.7	0.70 \pm 0.29	0.71 \pm 0.24
Pathological	7	130.28 \pm 41.09	82.25 \pm 36.02	79.40 \pm 20.97	142.82 \pm 46.87 ^a	0.64 \pm 0.19	1.91 \pm 0.57 ^e
5-week	7	129.77 \pm 37.64	88.02 \pm 9.58	79.45 \pm 23.94	112.67 \pm 28.55	0.64 \pm 0.24	1.27 \pm 0.26 ^{bd}
9-week	6	129.55 \pm 51.42	118.36 \pm 61.32	82.67 \pm 28.06	109.99 \pm 43.29	0.65 \pm 0.24	1.02 \pm 0.38 ^e

a: $P<0.05$, b: $P<0.01$, c: $P<0.001$, compared with normal group; d: $P<0.05$, e: $P<0.01$, compared with pathological group

2.3 氟伐他汀对血浆内皮素和一氧化氮浓度的影响

实验第 9 周末, 病理组内皮素浓度显著高于用

药组及正常组 ($P < 0.01$), NO 浓度显著低于正常组 ($P < 0.01$)。用药组 NO 浓度有低于病理组的趋势, 但无统计学差异(表 2, Table 2)。

表 2. 各组血浆内皮素 (ng/L) 及一氧化氮 ($\mu\text{mol/L}$) 浓度变化

Table 2. The changes of concentrations of plasma ET and NO in the four groups ($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	ET		NO	
		0 week	9 week	0 week	9 week
Normal	7	57.80 \pm 23.49	57.99 \pm 21.70 ^b	147.71 \pm 43.3	148.90 \pm 48.54
Pathological	7	56.76 \pm 22.02	106.07 \pm 19.17	142.03 \pm 44.63	80.26 \pm 36.51 ^a
5- week	7	54.96 \pm 16.28	71.04 \pm 19.81 ^b	147.88 \pm 36.48	104.15 \pm 51.69
9- week	6	55.41 \pm 16.40	66.47 \pm 20.56 ^b	144.32 \pm 41.00	122.97 \pm 50.62

a: $P < 0.01$, compared with normal group; b: $P < 0.01$, compared with pathological group

2.4 氟伐他汀对血浆组织型纤溶酶原激活剂、纤溶酶原激活剂抑制剂和纤维蛋白原浓度的影响

实验第 9 周末病理组 tPA 浓度显著低于正常组 ($P < 0.01$)。病理组及用药组 PAI 浓度均显著高于

正常组 ($P < 0.001$), 用药组 PAI 浓度显著低于病理组 ($P < 0.001$), 两个用药组间无显著性差异。用药组及病理组 FIB 值均高于正常组, 但各组间无显著性差异(表 3, Table 3)。

表 3. 各组血浆组织型纤溶酶原激活剂 (10^3IU/L)、纤溶酶原激活剂抑制剂 (10^3AU/L) 和纤维蛋白原 (g/L) 浓度的变化

Table 3. The changes of concentrations of tPA, PAI and FIB in the four groups ($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	tPA		PAI		FIB	
		0 week	9 week	0 week	9 week	0 week	9 week
Normal	7	0.26 \pm 0.05	0.26 \pm 0.06	0.90 \pm 0.05	0.89 \pm 0.07	2.89 \pm 0.76	2.99 \pm 0.55
Pathological	7	0.27 \pm 0.04	0.16 \pm 0.03 ^a	0.89 \pm 0.06	1.73 \pm 0.15 ^b	3.04 \pm 0.69	4.66 \pm 1.89
5- week	7	0.28 \pm 0.03	0.22 \pm 0.07	0.91 \pm 0.07	1.20 \pm 0.09 ^{bc}	2.93 \pm 0.74	4.05 \pm 1.59
9- week	6	0.27 \pm 0.05	0.23 \pm 0.04	0.90 \pm 0.03	1.13 \pm 0.04 ^{bc}	2.79 \pm 0.77	3.42 \pm 0.47

a: $P < 0.01$, b: $P < 0.001$, compared with normal group; c: $P < 0.001$, compared with pathological group

3 讨论

Ross 等^[2]在 1973 年首先提出了动脉内膜损伤可以促进动脉粥样硬化进程的假说。此后, 内皮细胞损伤学说一直受到广泛的重视。Igarashi 等^[3]证实单纯损伤动脉内膜也能促使粥样斑块形成。内皮细胞通过释放血管舒张因子、血管收缩因子及抑制血管扩张剂而起到调节血管舒缩功能的作用。同时还能阻止血小板聚集、淋巴细胞粘附、防止血栓形成^[4]。所有冠心病危险因素如高血压、吸烟、糖尿病及高胆固醇血症(尤其是氧化型低密度脂蛋白)等都与内皮细胞的功能有关。

前列腺环素和血栓素 A_2 是细胞膜花生四烯酸的两个氧化代谢产物。前列腺环素由血管内皮细胞和平滑肌细胞产生, 它通过激活腺苷酸环化酶导致细胞内 cAMP 增加, 产生扩张血管、抑制血小板聚集的作用。血栓素 A_2 由血小板产生, 具有收缩血管和

促进血小板聚集的作用, 是目前所知作用最强的血小板聚集剂和血管收缩剂之一。它们的平衡失调在 As 的发病中具有重要的作用。本实验结果表明, 氟伐他汀治疗组 $\text{TXB}_2/\text{6-Keto-PGF}_{1\alpha}$ 比值明显低于病理组。氟伐他汀的这种改善血栓素 A_2 和前列腺环素平衡的作用可能是其抗 As 的机制之一。

一氧化氮 (NO) 是由 L- 精氨酸在血管内皮细胞内 NO 合成酶作用下合成的。它通过激活平滑肌细胞鸟苷酸环化酶使 cGMP 产生增加。实验显示, 内皮细胞持续地释放基础 NO 才能保持血管处在舒张状态^[5]。NO 的其它作用包括抑制血小板的粘附和聚集、与前列腺环素协同阻止血小板活化、阻止单核细胞在内皮细胞上的粘附、抑制脂质过氧化反应、抑制成纤维细胞和培养的平滑肌细胞增殖^[6]及抑制 As 过程中平滑肌细胞增殖等。本实验发现, 动脉内皮损伤可使 NO 这一血管保护因子减弱而有助于动脉

粥样硬化的发生, 氟伐他汀可减轻这种作用。

内皮素-1 是唯一由血管内皮细胞合成和分泌的内皮素, 也是目前所知最强烈的缩血管物质, 其作用是内皮素 E_1 作用的 10 倍^[7]。内皮素-1 尚可促进平滑肌细胞增殖和成纤维细胞的有丝分裂反应, 因而对 As 的发生发展也有一定的促进作用。本实验结果表明, 氟伐他汀可减少内皮损伤后的内皮素释放, 对防止和延缓 As 具有积极的意义。

组织型纤溶酶原激活物主要由血管内皮细胞合成, 可将吸附于纤维蛋白凝块上的纤溶酶原转化为纤溶酶, 从而促进血栓的溶解。此外, 它尚有降解细胞外基质、阻止平滑肌细胞迁移的作用^[8]。纤溶酶原激活物抑制剂-1 主要在血管内皮和肝脏中合成, 血管完整无损时血浆中纤溶酶原激活物抑制剂-1 水平远远高于组织型纤溶酶原激活物, 以防止血液纤溶过度。在 As 进展过程中, 受损的纤溶系统主要表现为血浆纤溶酶原激活物抑制剂-1 浓度明显升高。有人认为, As 时脂蛋白(a)、低密度脂蛋白(尤其是氧化型低密度脂蛋白)及甘油三酯刺激内皮细胞释放纤溶酶原激活物抑制剂-1^[9], 同时抑制内皮细胞产生组织型纤溶酶原激活物。临床上也发现高胆固醇血症患者血浆纤溶酶原激活物抑制剂-1 明显增高。纤溶酶原激活物抑制剂-1 增高和组织型纤溶酶原激活物降低使 As 的血管局部纤溶活性减弱, 抗纤溶活性增强, 使纤维蛋白易于沉积, 而纤维蛋白又可刺激血管平滑肌细胞增殖并与低密度脂蛋白[特别是脂蛋白(a)]结合而促进 As 斑块的形成和发展。流行病学研究显示, 血浆中纤维蛋白原水平升高是冠状动脉疾病的独立危险因素^[10]。它的作用是促进凝血、血小板聚集、纤维斑块沉积^[11]及血管平滑肌细胞增殖, 增加血管通透性并易于吸附低密度脂蛋白, 还可引起炎症细胞的浸润, 促进成纤维细胞增殖和向内膜下迁移。本实验结果表明, 氟伐他汀有改善凝血纤溶系统的作用, 防止血液高凝状

态, 防止血栓形成, 延缓 As 的发生发展。内皮细胞分泌的一些血管活性物质在动脉粥样硬化的发生发展中起着重要的作用。提示他汀类药物有改善血管内皮和凝血纤溶系统的作用, 这些作用无疑对抑制 As 的发生发展具有重要的意义。

参考文献

- [1] Daniel Steinberg, Joseph L. Witztum, et al. Lipoprotein and atherogenesis[J]. *JAMA*, 1990, **264** (23): 3 047- 052
- [2] Ross R, Glomset JA. Atherosclerosis and the artery smooth muscle Cell: Proliferation of smooth muscle cell is a key event in the genesis of the lesions of atherosclerosis[J]. *Science*, 1973, **180**: 1 332- 339
- [3] Igarashi M, Takeda Y, Ishibashi N, et al. Suppression of neointimal thickening by a newly developed HMG - COA reductase inhibitor, BAYW6228, and its inhibitory effect on vascular smooth muscle cell growth[J]. *British J of Pharmacology*, 1997, **120**: 1 172- 178
- [4] Luscher TF. Imbalance of Endothelium- derived Relaxing and contracting factors: A New Concept in Hypertension [J]? *Am J Hypertens*, 1990, **3**: 317- 330
- [5] Ress DD, Palmer RM, Moncada S. Role of endothelium- derived nitric oxide in the regulation of blood pressure[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, **86**: 3 375- 378
- [6] Barrett ML, Willis AL, Vane JR. Inhibition of platelet- derived mitogen release by nitric oxide (EDRF) [J]. *Agents Actions*, 1989, **27**: 488- 491
- [7] John R, Vane FRS, Erik E. Regulatory function of the vascular endothelium [J]. *The New England Journal of Medicine*, 1990, **323** (1): 27- 36
- [8] Reidy MA, Irvin C, Lindner V. Migration of arterial wall cells: expression of plasminogen activators and inhibitors in injured rat arteries [J]. *Circ Res*, 1996, **78**: 405- 414
- [9] Larosa JC. Triglycerides and coronary risk in women and the elderly [J]. *Arch Intern Med*, 1997, **157**: 961
- [10] Heinrich J, Balleisen L, Schulte H. Fibrinogen and factor V E_1 in the prediction of coronary risk: results from the PROCAM study in healthy men[J]. *Arterioscler Thromb*, 1994, **14**: 54- 59
- [11] Hamsten A. The hemostatic system and coronary heart disease[J]. *Thromb Res*, 1993, **70**: 1- 38

(此文 1999- 07- 31 收到, 2000- 01- 10 修回)

(此文编辑 文玉珊)