

雌激素对兔髂动脉球囊内皮剥脱术后内皮增殖的影响

刘 军, 李庚山, 李建军, 李 艳, 赵志明, 王 晶

(武汉大学人民医院心内科, 湖北省武汉市 430060)

[关键词] 病理学; 雌激素对内皮细胞增殖的影响; 球囊内皮剥脱; 雌激素; 内皮细胞; 增殖; 兔

[摘要] 为探讨雌激素对兔髂动脉球囊损伤后内皮细胞增殖速度的影响, 将成年雌兔给以卵巢切除及髂动脉球囊损伤内皮, 分别测定对照组及雌激素组血清雌二醇浓度、内皮增生面积百分比和组织一氧化氮浓度的变化。结果发现, 与对照组相比, 雌激素组血清雌二醇浓度明显增高 ($P < 0.01$), 损伤后内皮细胞增生速度明显加快 ($P < 0.05$), 二者呈高度相关关系 ($r = 0.947, P < 0.001$), 同时血管组织一氧化氮浓度明显增加 ($P < 0.05$)。以上提示雌激素可促进损伤后内皮细胞增殖, 加快内皮修复并提高损伤内皮功能, 从而发挥对内皮细胞的保护作用。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Estradiol Accelerates Functional Endothelial Recovery in an Experimental Model of Vascular Injury

LIU Jun, LI Geng Shan, LI Jian Jun, LI Yan, ZHAO Zhi Ming, and WANG Jing

(Department of Cardiology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China)

[KEY WORDS] Estradiol; Endothelium; Reendothelialization; Nitric Oxide; Balloon Injury; Rats

[ABSTRACT] **Aim** To elucidate the effect of estradiol on the endothelium of rabbits iliac artery after balloon injury.

Methods 28 female rabbits were randomly divided into four groups. All rabbits were ovariectomized. The endothelial denudation was performed by utilizing the balloon of percutaneous transluminal coronary angioplasty in rabbit right iliac artery. 2 weeks and 4 weeks after balloon injury of the artery, serum levels of estradiol were measured and reendotheliums were assessed by IBAS 2000 morphometric system. The functions of endothelium were tested by measuring the nitric oxide (NO) levels of injured artery.

Results Serum levels of estradiol significantly elevated in estrogen treated groups compared with the control groups ($P < 0.01$). The reendothelialization was more accelerated in estrogen treated groups ($P < 0.05$), the correlation between them is strikingly. The enhanced NO release were observed in estrogen treated groups ($P < 0.05$).

Conclusions Estrogen can accelerate reendothelialization after balloon injury and protect the function of injured vascular endothelial cells, so as to have the effects of antiatherosclerosis.

内皮细胞损伤是动脉粥样硬化发生发展的始动因素之一, 且近年来随着冠心病介入治疗的迅速发展, 经皮球囊冠状动脉成形术 (percutaneous transluminal coronary angioplasty, PTCA) 术后再狭窄的发生率越来越高, 由于其发生机制与动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 极为相似, 因此抗再狭窄治疗亦为 As 防治的重要组成部分。业已证明, 雌激素替代治疗可以改善绝经后妇女的血脂代谢, 调节血管的舒缩功能, 降低冠心病的发病率, 同时动物实验亦发现雌激素能抑制家兔动脉粥样硬化的形成^[1]。本研究拟以球囊损伤兔髂动脉内皮细胞, 观察雌激素对损伤后内皮细胞增殖的影响, 从而探讨雌激素对内

皮细胞保护的作用机理。

1 材料与方法

1.1 动物及模型

雌性日本大耳白家兔 28 只 (体重 2.7 ± 0.3 kg), 随机分为对照组和雌激素组, 每组 14 只, 单笼普通饮食饲养。2 组兔均切除双侧卵巢, 雌激素组术后 3 天起给予 17β -雌二醇 (每天 $400 \mu\text{g/kg}$) 皮下注射至实验结束, 对照组不给药。2 周后全部兔均在氯胺酮静脉麻醉下施以 PTCA 球囊剥脱内皮术, 球囊内压力维持为 10 个大气压。雌激素组及对照组均分别于剥脱术后 10 天 (7 只家兔) 和 20 天 (7 只家兔) 处死家兔并取材。

1.2 血清雌二醇水平的测定

雌激素组和对照组分别于去卵巢前后和雌激素替代治疗后第 2 周, 采清晨空腹耳正中动脉血 2 mL, 制备血清, -20°C 保存, 放射免疫法测定血清雌

[收稿日期] 2002-01-01 [修回日期] 2003-07-30

[作者简介] 刘军, 女, 1970 年出生, 医学博士, 副主任医师, 主要从事动脉粥样硬化基础与临床研究。李庚山, 男, 1932 年出生, 教授, 博士研究生导师, 主要研究方向为冠心病。李建军, 男, 1957 年出生, 教授, 博士研究生导师, 主要研究方向为冠心病。

二醇的浓度。

1.3 内皮损伤部位内皮化面积测量

动物处死前 30 min 由耳缘静脉注入 1% 伊文斯蓝染液,正常血管腔面不染色,内皮损伤后腔面染成蓝色。0.5 h 后气栓法处死动物,取出髂动脉血管段,纵向切开,将血管平铺固定在木板上,照相,HPIAS-1000 高清晰度彩色图像分析系统测量单位面积内皮恢复面积百分率。

1.4 血管壁一氧化氮含量检测

取新鲜髂动脉血管段加入 10 倍体积 PBS 匀浆 3 min。采用硝酸还原酶法(试剂盒由北京帮定生物公司提供)测定血管壁中亚硝酸(NO_2)和硝酸(NO_3)的含量以反映一氧化氮的水平。根据以下公式测定一氧化氮浓度:一氧化氮($\mu\text{mol/L}$)= 匀浆液消光值/标准管消光值 $\times 100$ 。

1.5 统计学处理

所有数据均以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间

及组内均数的比较用方差分析(q 检验)。

2 结果

2.1 血清雌二醇浓度的变化

兔切除卵巢后血清雌二醇水平明显降低($P < 0.01$), 17β -雌二醇替代治疗后血清雌二醇浓度明显升高($P < 0.01$),对照组 PTCA 后 10 天和 20 天时血清雌二醇浓度无明显变化(表 1, Table 1)。

2.2 内皮损伤后内皮化面积百分比

HPIAS-1000 高清晰度彩色图像分析系统测量单位面积内皮增生面积百分比,结果显示损伤后 10 天及 20 天对照组内皮增生面积百分比明显低于雌激素组(表 1, Table 1)。

2.3 髂动脉壁组织一氧化氮含量测定

雌激素组髂动脉壁一氧化氮含量明显高于对照组(表 1, Table 1)。

表 1. 补充雌激素后血清雌二醇水平、内皮修复面积及一氧化氮含量的变化

Table 1. Effect of estrogen on serum level of estradiol, reendothelialization area and NO content in blood vessel tissue ($\bar{x} \pm s$)

分 组	雌激素水平 (pmol/L)			内皮增生面积百分比		一氧化氮含量 ($\mu\text{mol/L}$)	
	去卵巢前	去卵巢后	补充雌激素后	PTCA 后 10 天	PTCA 后 20 天	PTCA 后 10 天	PTCA 后 20 天
对照组	62 $\pm$ 7	17 $\pm$ 4	19 $\pm$ 4	43% $\pm$ 7%	78% $\pm$ 10%	44 $\pm$ 3	46 $\pm$ 4
雌激素组	60 $\pm$ 7	17 $\pm$ 5	50 $\pm$ 7 ^a	51% $\pm$ 10% ^b	88% $\pm$ 8% ^b	55 $\pm$ 5 ^b	53 $\pm$ 7 ^b

a: $P < 0.01$, b: $P < 0.05$, 与对照组比较。

2.4 血清雌二醇水平与内皮损伤后内皮化面积百分比的相关性

血清雌二醇水平与损伤后内皮化面积百分比之间具有高度相关关系($r = 0.947$, $P < 0.001$) (图 1, Figure 1)。

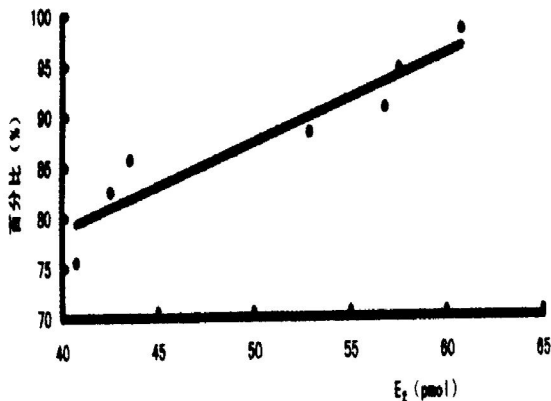


图 1. 血清雌二醇水平与内皮增生面积百分比的相关关系($r = 0.947$, $P < 0.001$)

Figure 1. The correlation between the level of serum estradiol and reendothelialization area ($r = 0.947$, $P < 0.001$)

3 讨论

正常状态下,血管内皮细胞以完整连续的单层构成血液与动脉细胞间的机械屏障,防止血液中损伤因素直接作用于中层的平滑肌细胞,同时内皮细胞释放多种生长抑制因子,维持中膜平滑肌细胞处于安静状态,抑制血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)增殖。内皮细胞损伤后,内皮细胞和平滑肌细胞之间的平衡被破坏,损伤的内皮细胞和 VSMC 可释放大量的活性物质,引起 VSMC 增殖,新生内膜形成,因而内皮结构和功能的破坏及 VSMC 增殖是动脉粥样硬化、高血压和 PTCA 术后再狭窄发生的重要因素。Takayuki 等^[2]发现损伤内膜内皮化速度与新生内膜增生呈明显的负相关关系,因此,增加损伤内皮的修复速度,抑制新生内膜形成在预防动脉粥样硬化和 PTCA 再狭窄中起关键作用。

本研究中我们发现球囊损伤后 10 天及 20 天时雌激素替代组血管内皮修复面积百分比均大于相应对照组,且血清雌二醇水平与内膜修复面积呈高度

相关关系($r = 0.947$, $P < 0.001$)。由此,我们认为雌激素能显著加快球囊损伤后兔髂动脉内皮增殖速度。同时已有的资料亦表明损伤修复的内皮功能明显下降,低于损伤前的内皮细胞功能,因而改善修复的内皮细胞功能也是防治冠状动脉粥样硬化及 PT-CA 术后再狭窄的手段之一。本实验结果发现内皮损伤 20 天后雌激素替代组血管组织中一氧化氮含量明显高于对照组($P < 0.001$),而此时损伤部位大部分已为修复的内皮覆盖,提示 17β -雌二醇能提高兔血管损伤后修复的内皮细胞一氧化氮水平,表明雌激素不仅促进损伤后内皮结构的修复,亦可改善损伤修复的内皮功能,而且血管组织中一氧化氮产生的增加又可减轻球囊剥脱模型的血管损伤反应^[3],抑制 VSMC 增殖。

雌激素的上述作用机理尚未完全明确。大量研究已证实在狗、鼠、兔及狒狒等主动脉上存在雌激素受体,给予 17β -雌二醇后可引起雌激素受体在胞浆至胞核的重新分布^[4]。Bakir 等^[5]发现雌激素可以减轻去卵巢后 SD 大鼠颈动脉球囊损伤后的血管新生内膜形成,而给予雌激素受体阻断剂后,该作用明

显受抑,提示雌激素血管保护作用是通过其受体介导的。但是,雌激素在血管损伤修复过程中的作用机制十分复杂,既有其受体介导的直接作用,亦有可能对多种活性物质的调控发挥间接作用以及各活性物质间的相互作用,本实验结果仅阐述了其中的某一方面,其具体作用环节及信号传递通路尚需进一步研究。

[参考文献]

- [1] 刘彤,沈潞华. 雌激素抑制去卵巢家兔实验性主动脉粥样硬化的形成. 中国动脉硬化杂志, 1998, 6 (4): 321-324
- [2] Takayuki A, Christophe B, Christopher P, Marianne K. Local delivery of vascular endothelial growth factor accelerates reendothelialization and attenuates intimal hyperplasia in balloon injured rat carotid artery. *Circulation*, 1995, 91 (21): 2793-801
- [3] Major TC, Overhiser RW, Panek RL. Evidence for NO involvement in regulating vascular reactivity in balloon injured rat carotid artery. *Am J Physiol*, 1995, 269 (3): H988-H996
- [4] Lin AL, Shain SA. Estrogen mediated cytoplasmic and nuclear distribution of rat cardiovascular estrogen receptors. *Arteriosclerosis*, 1985, 5 (3): 668-677
- [5] Bakir S, Mori T, Durand J, Chen YF, Thompson JA, Oparil S. Estrogen induced vasoprotection is estrogen receptor dependent: evidence from the balloon injured rat carotid artery model. *Circulation*, 2000, 101 (20): 2342-344

(此文编辑 朱雯霞)