

• 基础研究 •

 α -玉米赤霉醇对实验性高脂血症兔的血脂代谢及血液流变学的影响

赵小元 左萍萍 段金虹 陆媛 张仪华 程锦轩 吴云清 鲁杰 孙仁宇 戴顺龄*

[摘要] 目的 本研究是探讨 α -玉米赤霉醇(α -ZAL)在抗动脉粥样硬化(AS)作用中,对血脂代谢及血液流变学的影响。方法 44 只成熟未孕新西兰大耳白雌兔,分为 5 组, A 组为正常对照组, B 组为假手术组, C 组为切除卵巢组, D 组为切除卵巢并给予 17β 雌二醇($17\beta E_2$) 阳性对照药组, E 组为切除卵巢并给予 α -ZAL 组。喂胆固醇(CHO)前与 12 周后,分别测定血清中总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白(LDL-C)、高密度脂蛋白(HDL-C)含量。还分别测定了全血黏度、血浆黏度、红细胞聚集指数(AIRC)及纤维蛋白原及血小板聚集率。结果 B、D、E 组 TC、TG、LDL-C 明显低于 C 组($P < 0.05$);全血黏度、血浆黏度、AIRC 和血小板聚集率也明显低于 C 组($P < 0.05$)。结论 α -ZAL 可能通过干预血脂代谢,调节全血黏度、血浆黏度和 AIRC 及血小板聚集率,改善血管功能。

[关键词] 植物雌激素;高脂血症;脂质代谢;血液流变学; α -玉米赤霉醇(α -ZAL)

Influence of α -Zearalanol on lipometabolism and hemorheology in experimental hyperlipidemia rabbits ZHAO Xiao-yuan, ZUO Ping-ping, DUAN Jin-hong, et al. Capital Institute of Pediatrics, Beijing, 100020, China

[Abstract] Objective To investigate the effect of α -Zearalanol (α -ZAL) on lipometabolism and hemorheology in ovariectomized (OVX) hyperlipidemia rabbits. Methods 44 adult virgin female rabbits were divided into 5 groups, group A: normal control; group B: sham + CHO; group C: OVX + CHO; group D: OVX + CHO + $17\beta E_2$; group E: OVX + CHO + α -ZAL. Cholesterol (CHO) was fed to rabbits for 12 weeks. Before and after feeding CHO, the serum lipid (TC, TG, LDL-C, HDL-C) were measured; Blood viscosity, plasma viscosity, aggregation index of RBC (AIRC) and fibrinogen were also assayed respectively. Results The serum levels of TC, TG and LDL-C in group B and E were significantly decreased compared with those in group C ($P < 0.05$); the level of blood viscosity, plasma viscosity and AIRC platelet aggregation rate in group D and E were also significantly decreased compared with those in group C ($P < 0.05$). Conclusion α -ZAL can improve vascular function through the adjustment of lipometabolism and hemorheology.

[Key words] phytoestrogen; hyperlipidemia; lipometabolism; hemorheology; α -Zearalanol

中图分类号: R689.2 文献标识码: A 文章编号: 1006-9771(2005)11-0924-03

[本文著录格式] 赵小元,左萍萍,段金虹,等. α -玉米赤霉醇对实验性高脂血症兔的血脂代谢及血液流变学的影响[J]. 中国康复理论与实践, 2005, 11(11): 924-926.

既往研究认为,妇女在绝经后血液流变学发生了明显的变化,血液流变学指标的不良变化,应该作为绝经后妇女冠心病发病率迅速增高的一个危险因素之一而引起人们的重视^[1]。雌激素替代疗法(estrogen replacement therapy, ERT)治疗后,妇女心血管疾病的发病率明显降低。但雌激素促使乳腺癌、子宫内膜癌与静脉血栓形成的副作用,阻碍了它的广泛应用^[2-3]。近 4~5 年,美国的 HERS、WHI 等大规模流行病学临床调查对 ERT 在心脑血管疾病防治中的作用提出了不同意见^[4-5]。我们课题组于 1996 年找到了一种新的植物雌激素 α -玉米赤霉醇(α -Zearalanol, α -ZAL),能降低血脂脂质斑块面积,减少血管平滑肌细胞的增殖与迁移,保护血管内皮功能;同时它对子宫的刺激作用小于 $17\beta E_2$,推测它带来的副作用可能小于 $17\beta E_2$ ^[6]。也有报道认为,雌激素抗 AS 的作用 30%~50% 取决

于对血脂代谢紊乱的改善,并与血液流变学有密切相关^[7]。本文初步探讨 α -ZAL 对切除卵巢兔动脉粥样硬化模型血脂代谢及血液流变学的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组 44 只 3 月龄成熟雌性健康未孕纯种新西兰兔,体重 2.2~2.8 kg,由中国医学科学院动物研究所提供,动物实验条件符合一级标准。分为 5 组:①A 组(正常对照组):兔 6 只,随意进食普通固体饲料;②B 组(假手术组):兔 8 只,切开腹腔暴露子宫及双侧卵巢后关腹,10 天后喂高胆固醇及植物油;③C 组(高脂对照组):兔 10 只,行双侧卵巢切除术,10 天后喂高胆固醇及植物油。④D 组(17β 雌二醇组):兔 10 只,行双侧卵巢切除术,10 天后喂高胆固醇并肌注 17β 雌二醇 0.5 mg/kg,每周 2 次;⑤E 组(α -ZAL 组):兔 10 只,行双侧卵巢切除术,10 天后喂高胆固醇,口服溶于植物油中的 α -ZAL 0.5 mg/kg·d。喂食高胆固醇各组除喂食胆固醇外,随意进食普通固体饲料。各组连续喂养 12 周后放血处死。各组体重无显著性差异。

1.2 主要药品与试剂 胆固醇(cholesterol, CHO)分析纯,北京化学试剂公司;苯甲酸雌二醇,上海第九制

基金项目:国家自然科学基金(38970342)。

作者单位:1. 100020 北京市,首都儿科研究所(赵小元、鲁杰);2. 100005 北京市,中国医学科学院,中国协和医科大学基础医学院(左萍萍、段金虹、陆媛、张仪华、程锦轩、吴云清、孙仁宇、戴顺龄)。作者简介:赵小元(1960-),女,北京市人,主管技师,主要研究方向:分子免疫,*通讯作者:戴顺龄。

药厂;α-玉米赤霉醇 (α-ZAL),纯度为 98%,由中国农业大学生物学院李季伦教授提供;高胆固醇饲料(含 CHO 0.2 g/kg·d)由中国医学科学院动物研究所营养研究室提供。

1.3 动脉粥样硬化(AS)模型 采用切除卵巢(OVX)家兔食饵性 AS 模型^[8-9]:除正常及假手术组外,均在戊巴比妥钠静脉麻醉及无菌条件下,行双侧卵巢切除术,1 周后拆线,伤口正常愈合无感染或异常者方可进行试验。

1.4 血脂测定 分别于喂药前与喂药 12 周取血,前一次经耳动脉,后一次于颈动脉放血时取血,收集血清,-20℃保存备用,测定总胆固醇(TC)、总甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白-胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白-胆固醇(HDL-C)。均由自动生化分析仪(日本 Olympus AU1000)测定。

1.5 血液流变学测定 收集样品于 2 h 内放入血液黏度计(BV-100 型悬丝血液黏度计,同理公司产品),测定全血黏度(全血高、中、低切黏度 η_{aH}、η_{aM}、η_{aL})、血

浆黏度(η_p)和红细胞聚集系数(aggregation index of RBC,AIRC)与纤维蛋白原含量。

1.6 血小板聚集率测定^[10] 按 30 mg/kg 戊巴比妥钠麻醉家兔,3.8%枸橼酸钠抗凝,颈动脉取血(血液:抗凝剂=9:1),充分摇匀。在室温下,1000 r/min 离心 5 min,获得富血小板血浆(PRP),离心后的血液再以 4000 r/min 离心 10 min,获得贫血小板血浆(PPP)。用 PPP 将 PRP 调制成 200×10⁹/L,将 PRP 0.2 ml 分别加入 4 个小玻璃管中。分别加入 ADP 10 mol/L,另 1 管加入等体积的双蒸水后,用血液凝聚仪(北京 LBF-NJ2)记录聚集曲线高度,计算血小板聚集率(%)。

1.7 统计学处理 所得数据采用 SPSS 软件进行统计学分析,多组间比较采用单因素方差分析,数据以($\bar{x} \pm s$)表示, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

B、D、E 组全血黏度、血浆黏度、AIRC 和血小板聚集率低于 C 组($P < 0.05$),见表 1;TC、TG、LDL-C 低于 C 组($P < 0.05$),见表 2。

表 1 各组血液黏度和血小板聚集率比较

组别	例数	时间	全血高切黏度 (mPa·s)	全血中切黏度 (mPa·s)	全血低切黏度 (mPa·s)	血浆黏度 (mPa·s)	红细胞聚集指数	纤维蛋白原 (g)	血小板聚集率 (%)
A	6	实验前	2.24±0.17	3.03±0.37	4.09±0.75	1.17±0.07	1.63±0.12	256±40	27.14±5.66
		实验后	2.46±0.13	3.12±0.36	4.28±0.31	1.11±0.08	1.73±0.12	266±47	27.70±7.54
B	8	实验前	2.26±0.10	2.75±0.29	3.93±1.05	1.07±0.05	1.94±0.30	241±33	24.12±7.11
		实验后	3.83±0.47 ^a	5.01±0.53 ^a	9.16±1.50 ^a	1.90±0.18 ^{a,c}	2.39±0.31 ^a	245±47	33.63±13.65 ^a
C	10	实验前	2.57±0.28	2.45±0.60	3.92±0.54	1.18±0.08	1.53±0.15	252±39	25.45±6.47
		实验后	3.96±0.49	5.74±0.25	10.59±2.41	2.39±0.02	2.67±0.25	234±35	45.00±12.8
D	10	实验前	2.41±0.20	3.07±0.38	3.80±0.57	1.17±0.10	1.58±0.34	276±40	26.85±10.43
		实验后	2.86±0.40 ^b	3.97±0.13 ^c	6.53±0.24 ^c	1.38±0.06 ^c	1.88±0.16 ^c	295±50	33.63±9.24 ^b
E	10	实验前	2.35±0.21	3.01±0.25	3.90±0.56	1.07±0.05	1.55±0.23	256±40	27.04±9.25
		实验后	2.69±0.39 ^b	3.65±0.11 ^c	5.96±0.28 ^c	1.35±0.06 ^c	1.78±0.16 ^c	245±30	34.78±11.99 ^b

注:与 A 组比较,a: $P < 0.05$;与 C 组比较,b: $P < 0.05$,c: $P < 0.01$ 。

表 2 各组血脂水平比较 (mmol/L)

组别	例数	时间	TC	TG	LDL-C	HDL-C
A	6	实验前	1.33±0.47	1.04±0.27	0.46±0.19	0.67±0.10
		实验后	1.36±0.27	1.03±0.21	0.62±0.22	0.57±0.15
B	8	实验前	1.38±0.62	0.84±0.13	0.42±0.17	0.62±0.14
		实验后	29.68±6.84 ^a	2.95±0.59 ^a	12.0±1.31 ^a	4.68±0.75 ^a
C	10	实验前	1.33±0.25	1.06±0.10	0.46±0.21	0.78±0.28
		实验后	39.70±10.84 ^b	6.16±1.33 ^b	17.9±3.44 ^b	5.33±1.35
D	10	实验前	1.18±0.34	0.87±0.09	0.45±0.14	0.55±0.07
		实验后	28.08±6.08 ^c	1.81±0.22 ^c	12.3±2.38 ^c	3.51±0.45
E	10	实验前	1.40±0.57	1.04±0.15	0.47±0.19	0.83±0.52
		实验后	27.17±8.00 ^c	2.82±0.32 ^c	10.7±3.94 ^c	3.97±1.69

注:a:与 A 组比较, $P < 0.01$;b:与 B 组比较, $P < 0.05$;c:与 C 组比较, $P < 0.05$ 。

3 讨论

大量流行病学的调查均证实了 ERT 后能明显降低血液黏度、血浆黏度和红细胞聚集及血小板聚集,改善微循环,使更年期妇女心血管疾病发病率降低^[11]。由于 ERT 存在多种严重的不良反应,植物雌激素对心血管系统的保护作用越来越受到重视^[12]。本实验表明,α-ZAL 能够抑制高 CHO 所致 TC、TG、LDL-C 的

升高,而对 HDL-C 无明显影响;α-ZAL 对于全血黏度、血浆黏度、AIRC 和血小板聚集率也表现出明显的抑制趋势,而对纤维蛋白原无明显影响。

高粘滞血症既是冠状动脉粥样硬化性心脏病(冠心病)的始动因素,也是动脉粥样硬化形成的中间环节。由于血液粘滞致使血流缓慢,血流阻力增大,血管壁及周围组织缺血缺氧,造成内皮损伤和心肌灶性坏

死从而引发冠心病的发生^[13]。本课题组以前的研究显示, α -ZAL 对切除卵巢免食饵性 AS 具有明显抑制作用, 表现为可明显降低由 CHO 引起, 由切除卵巢而加重的兔主动脉脂质斑块沉积面积, 作用与雌激素 E_2 相似^[6]。主动脉脂质斑块沉积面积的大小与血清中甘油三酯、胆固醇和低密度脂蛋白的含量呈明显相关, 提示 α -ZAL 可能对血脂的构成比及浓度产生影响。

血脂代谢与血液黏度关系密切, 血液与血浆黏度的升高可损害微循环的血流, 在血液与内皮细胞及细胞界面发生切变应力的异常, 使血浆蛋白易于在血管狭窄后区域与内皮细胞发生作用, 增加血栓形成倾向, 导致 AS 血栓形成^[14]。同时, 剪切应力的变化可导致 RBC 的聚集或解聚的异常。维持低、高剪切率的动态平衡, 对血液黏度起着重要调节作用^[15]。近来也有报道, LDL-C 在低、高剪切率时, 与全血黏度的改变呈正相关; 而 LDL-C 降低却能够增加内皮细胞的功能, 改善冠脉舒张容积^[16]。本实验结果证实, 在高脂血症状态下, 全血黏度、血浆黏度及 AIRC 均显著升高, 而 α -ZAL 能明显降低上述指标, 特别是在低、高剪切率下, α -ZAL 能在明显降低 LDL-C 的同时, 使全血黏度也明显降低, 推测 α -ZAL 在改善血脂代谢和血液流变学的同时, 也能改善内皮细胞的功能。我们的以前的实验已证实 α -ZAL 对内皮功能有保护作用^[17], 但是对内皮细胞功能的保护是间接作用还是直接作用有待于深入研究。

血小板对血管内皮细胞有支持作用, 当血小板数量减少时, 血管内皮细胞明显变薄。在生理状态下, 血小板对维护血管壁的完整性起重要作用, 完整的血管壁和足够的小血小板数可防止血液从血管中流失。高血脂症时, 血脂可使血小板活化增高, 是其发生聚集反应的机制之一^[18]。推测 α -ZAL 在降低血脂的同时, 也使被激活的小血小板数减少, 从而降低血小板的聚集率, 通过阻止血栓的形成和增加血管的顺应性等途径发挥抗 AS 作用。 α -ZAL 对血小板功能的调节是否是通过抑制磷酸酪氨酸激酶(PTK)途径, 阻断凝血酶的生成以及血小板的激活和聚集, 值得进一步探讨。

总之, 研究表明, 植物雌激素 α -ZAL 具有降脂、抗脂质过氧化、抑制血小板聚集和血管平滑肌增生、改善内皮功能等多种功能, 从而干预动脉粥样硬化形成和发展, 对预防心血管疾病的发生具有非常重要的意义。因此, 它在临床应用以及医疗保健方面具有广阔的应

用前景。

致谢: 北京协和医院陶丽华、王琰老师在实验过程中给予很大帮助, 在此表示诚挚感谢!

[参考文献]

- [1] Spengler MI, Goni GM, Mengarelli G, et al. Effect of hormone replacement therapy upon haemorrhological variables[J]. Clin Hemorheol Microcirculation, 2003, 28(1): 13-19.
- [2] Gorodeski GI. Update on cardiovascular disease in postmenopausal women[J]. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 2002, 16(3): 329-355.
- [3] Rossi R, Grimaldi T, Origliani G, et al. Menopause and cardiovascular risk[J]. Pathophysiol Haemost Thromb, 2002, 32(5-6): 325-328.
- [4] Furberg CD, Vittinghoff E, Davidson M, et al. Subgroup interaction in the heart and estrogen/progestin replacement study[J]. Circulation, 2002, 105: 917-922.
- [5] Mosca L, Colling P, Herrington DM, et al. Hormone replacement therapy and cardiovascular disease: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association[J]. Circulation, 2001, 104: 449-503.
- [6] 戴顺龄, 段金虹, 陆媛, 等. 一个新的植物雌激素 α -玉米赤霉醇明显抑制实验性动脉粥样硬化发病进程[J]. 中国动脉硬化杂志, 2003, 11(5): 385-390.
- [7] Frohlich M, Schunkert H, Hense HW, et al. Effects of hormone replacement therapies on fibrinogen and plasma viscosity in postmenopausal women[J]. Br J Haematol, 1998, 100(3): 577-581.
- [8] Armstrong ML, Heistad DD. Animal models of atherosclerosis[J]. Atherosclerosis, 1990, 85: 15-23.
- [9] Harbo J. Hormone replacement therapy and cardiovascular disease: the rabbit model[J]. Br J Obstet Gynaecol, 1996, 163(13): 49-52.
- [10] 秦任甲. 临床血液流变学[M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2003.
- [11] Arnal JF, Gourdy P, Garmy-Susini B, et al. Usefulness of experimental models to understand the vascular effects of estrogens[J]. Med Sci (Paris), 2003, 19(12): 1226-1232.
- [12] 杨茗综, 黄红林, 廖端芳. 植物雌激素对心血管系统疾病防治的潜在效应[J]. 南华大学学报医学版, 2003, 31(1): 79-81.
- [13] 王莹, 邢淑敏, 董晔, 等. 激素补充治疗对绝经后妇女血液流变学的影响[J]. 中华妇产科杂志, 2001, 36(8): 476.
- [14] 叶平. 血脂的基础与临床[M]. 北京: 人民军医出版社, 2002.
- [15] 杨永宗. 动脉粥样硬化性心血管病——基础与临床[M]. 北京: 科学出版社, 2004.
- [16] Moriarty PM, Gibson CA, Kensey KR, et al. Effect of low-density lipoprotein cholesterol apheresis on blood viscosity[J]. Am J Cardiol, 2004, 93(8): 1044-1046.
- [17] Xu HS, Duan JH, Dai SL, et al. Phytoestrogen-Zearalanol antagonizes oxidized LDL-induced inhibition of nitric oxide production and stimulation of endothelin-1 release in human umbilical vein endothelial cells[J]. Endocrine, 2004, 25(3): 235-245.
- [18] 张闻宇, 钱民章. 植物雌激素及其抗动脉粥样硬化作用[J]. 江苏大学学报(医学版), 2004, 14(2): 168-170.

(收稿日期: 2005-10-08)