

高血压病患者血管内皮依赖性舒张功能与血清一氧化氮和超氧化物歧化酶的关系

李卫萍, 孙明, 周宏研

(中南大学湘雅医院心内科, 湖南省长沙市 410008)

[关键词] 内科学; 高血压病的内皮依赖性舒张功能; 彩色多普勒超声检测法; 一氧化氮; 超氧化物歧化酶; 活性氧

[摘要] 为探讨高血压病患者血管内皮依赖性舒张功能和血清一氧化氮和超氧化物歧化酶的变化及其相互关系, 采用高分辨率超声技术, 对 28 例高血压病患者和 28 例正常对照者的血管内皮依赖性和非依赖性舒张功能进行检测, 同时测定血清一氧化氮和超氧化物歧化酶水平。结果发现高血压病患者反应性充血肱动脉内径舒张率显著低于对照组 ($6.33\% \pm 2.59\%$ 比 $13.14\% \pm 4.24\%$, $P < 0.001$), 而含服硝酸甘油后肱动脉内径舒张率在两组间无显著性差异 ($P > 0.05$)。与正常对照组相比, 高血压病组血清一氧化氮和超氧化物歧化酶水平明显下降 ($53.55 \pm 23.5 \mu\text{mol/L}$ 比 $83.26 \pm 23.25 \mu\text{mol/L}$, $86.57 \pm 26.66 \text{ kNU/L}$ 比 $117.1 \pm 33.64 \text{ kNU/L}$, $P < 0.001$)。单因素相关分析显示血管内皮依赖性舒张功能与年龄、收缩压、舒张压呈负相关, 相关系数 r 分别为 -0.366 ($P < 0.01$)、 -0.65 ($P < 0.001$)、 -0.672 ($P < 0.001$), 与血清 NO 和 SOD 呈正相关, 相关系数 r 分别为 0.838 ($P < 0.001$)、 0.683 ($P < 0.001$), 而多元逐步回归分析仅显示血管内皮依赖性舒张功能与舒张压呈负相关, 与血清一氧化氮和超氧化物歧化酶呈正相关。提示高血压病患者存在血管内皮依赖性舒张功能障碍, 并与血管内皮合成释放一氧化氮减少, 活性氧增多有关。

[中图分类号] R544.1

[文献标识码] A

The Relationship between Endothelium-Dependent Vasodilatation Function and Serum Nitric Oxide and Superoxide Dismutase in Patients with Essential Hypertension

LI Wei-Ping, SUN Ming, and ZHOU Hong-Yan

(Department of Cardiology, Xiangya Hospital of Xiangya Medical College, Central South University, Changsha 410008, China)

[KEY WORDS] Hypertension, Essential; Endothelium-Dependent Vasodilatation Function; Nitric Oxide; Superoxide Dismutase; Active Oxygen Species

[ABSTRACT] **Aim** To study the changes in endothelium-dependent vasodilatation function, serum nitric oxide (NO) and superoxide dismutase (SOD) and their inter-relationships in patients with essential hypertension (EH). **Methods** High resolution B-mode ultrasonography was used to measure the endothelial dependent vasodilatation in 28 patients with EH and 28 matched healthy subjects. Serum levels of NO and SOD were also measured. **Results** The increased percentage of the brachial artery diameter after reactive hyperemia was lower in patients with EH than that of normal controls ($6.33\% \pm 2.59\%$ vs $13.14\% \pm 4.24\%$ $P < 0.001$), whereas nitroglycerin induced changes were similar ($P > 0.05$). Serum levels of NO, SOD in patients with EH was significantly lower compared with those in controls ($53.55 \pm 23.5 \mu\text{mol/L}$ vs $83.26 \pm 23.25 \mu\text{mol/L}$, $86.57 \pm 26.66 \text{ kNU/L}$ vs $117.1 \pm 33.64 \text{ kNU/L}$, $P < 0.001$). Correlation analysis shows that endothelium-dependent vasodilatation function was negatively correlated with ages, systolic blood pressure, dilated blood pressure, the coefficients were -0.366 ($P < 0.01$), -0.65 ($P < 0.001$), -0.672 ($P < 0.001$), and was positively correlated with serum NO and SOD, the coefficients were 0.838 ($P < 0.001$), 0.683 ($P < 0.001$). The analysis of multiple stepwise regression shows that the endothelium-dependent vasodilatation function was negatively correlated with dilated blood pressure and positively correlated with serum NO and SOD. **Conclusion** Our findings support that endothelium vasodilatation is impaired and was correlated with reduction of NO and increase of active oxygen species.

血管内皮功能异常与某些心血管疾病(特别是

动脉粥样硬化)密切相关。已知生理情况下, 血管内皮通过合成多种生物活性物质, 保持血管呈舒张状态, 防血栓形成及循环血细胞粘附, 抑制血管平滑肌增殖等。当内皮功能受损时, 乙酰胆碱等药物及反应性充血等生理性刺激引起的血管内皮依赖性舒张功能发生障碍, 这在明显的动脉粥样硬化形成之前就可以出现^[1]。已有研究证实高血压病患者周围和

[收稿日期] 2002-10-31

[修回日期] 2003-03-18

[作者简介] 李卫萍, 女, 1975 年 12 月出生, 湖南省衡阳市人, 心血管内科博士, 研究方向主要为高血压病的防治。孙明, 男, 1931 年 1 月出生, 湖南省常德市人, 中南大学湘雅医院心血管内科主任医师, 教授, 博士研究生导师, 主要从事心血管疾病的科研和临床工作, 已发表学术论文 200 余篇。周宏研, 女, 1933 年 3 月出生, 湖南省长沙市人, 中南大学湘雅医院心血管内科主任医师, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事心血管疾病的科研和临床工作。

冠状动脉的大循环和微循环中均存在内皮功能失调,甚至高血压病人的子代就已出现血管内皮依赖性舒张功能损害^[2]。同时,动物实验表明大多数高血压大鼠模型血管一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)活性降低和活性氧生成增加,但有关高血压病患者血管内皮依赖性舒张功能与血清一氧化氮(nitric oxide, NO)和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)之间相关性的临床报道少见。本文旨在探讨高血压病患者血管内皮依赖性舒张功能与血清NO和SOD的变化及其相互关系。

1 对象与方法

1.1 对象

高血压病组 28 例,符合 1999 年 WHO 高血压指南定义的高血压标准(即非同日三次血压收缩压 ≥ 140 mm Hg 和/或舒张压 ≥ 90 mm Hg,且未经降压治疗或停药降压药物 1 周以上),其中男 14 例,女 14 例,年龄 52.9 ± 13.3 岁,排除继发性高血压、糖尿病、冠心病、高脂血症及其他严重的系统性疾病史。正常对照者 28 例,男 16 例,女 12 例,年龄 50.4 ± 10.6 岁,无心血管疾病史,体格检查、心电图、血糖、血脂和肝功能均正常。

1.2 血管内皮依赖性舒张功能检测

参照 Celebmajer 等^[1]介绍的方法进行。使用 Acuson 128XP/10 彩色多普勒超声诊断系统(Acuson Mountain view, California, USA)和 7.0 MHz 线阵探头,探查深度为 4 cm。患者取仰卧位,右上肢外展 15° ,掌心向上,用二维超声成像扫描肱动脉,以肘上 2~15 cm 肱动脉为靶目标,取其纵切面,当动脉前后壁内膜显示最清楚时,调节增益直至能满意识别管腔分界面。同步显示心电图,冻结图像,测量心室舒张末期(心电图显示 R 波时)肱动脉前后内膜之间的距离。取 3 个心动周期的平均值。每位受试者分别测量休息时、反应性充血和含服硝酸甘油后肱动脉内径。受试者测试前休息 10 min,测定基础值(D0)后进行反应性充血试验:将血压计袖带缚于右上肢前臂,充气至 300 mm Hg,维持 4 min 后迅速放气,60~90 s 内测量肱动脉内径(D1),再休息 10~15 min,待肱动脉内径恢复至基础状态后,舌下含服硝酸甘油 0.5 mg,5 min 后再测肱动脉内径。整个测试过程固定超声探头,每次在同一部位测量血管内径。血管内径变化率 = $(D1 \text{ 或 } D2 - D0) / D0 \times 100\%$ 。

为评价该测试方法的可靠性,对 5 例正常对照者和 5 例高血压病患者在 2 周后再进行血管内皮依

赖性舒张功能测定。由原操作者进行,测量基础状态下,反应性充血后和含服硝酸甘油后肱动脉内径舒张率。3 次测量的变异系数分别为 4.02%, 4.26% 和 5.39%。

1.3 血清一氧化氮的测定

受试者于清晨空腹时静脉采血 2 mL,室温下 3000 r/min 离心 10 min,分离出血清(上清液,黄色)置 -20°C 待测。NO 测定采用硝酸还原酶法,本法利用硝酸还原酶特异性将 NO_3^- 还原为 NO_2^- ,通过显色深浅测定其浓度的高低。试剂盒由南京建成生物医学工程所提供。

1.4 血清超氧化物歧化酶的测定

血标本处理同前。采用黄嘌呤氧化酶法测定 SOD 反映体内活性氧变化。通过黄嘌呤及黄嘌呤氧化酶反应系统产生超氧阴离子自由基,后者氧化羟胺形成亚硝酸盐,在显色剂的作用下呈现紫红色,用可见光分光光度计测其吸光度。当被测样品中含 SOD 时,则对超氧阴离子自由基有专一性的抑制作用,使形成的亚硝酸盐减少,比色时测定管的吸光度值低于对照管的吸光度值,通过公式计算可求出被测样品中的 SOD 活力。试剂盒由南京建成生物医学工程所提供。

1.5 统计学处理

采用 SPSS 10.0 for windows 软件包进行统计。数据结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验,两变量间相关性采用 Pearson 相关分析,年龄、血压等多因素与血管内皮依赖性舒张功能的相关性采用多元逐步回归分析。 $P < 0.05$ 认为有显著性差异。

2 结果

2.1 受试者一般资料

两组受试者的一般资料见表 1(Table 1)。可见两组相比,除血压外,在性别、年龄、体重指数和基础心率上均无显著性差异。

表 1. 两组一般资料的比较($\bar{x} \pm s$)

指 标	正常对照组($n=28$)	高血压病组($n=28$)
男/女	16/12	14/14
年龄(岁)	50.4 ± 10.6	52.9 ± 13.3
吸烟	10	9
体重指数(kg/m^2)	23.2 ± 2.4	24.7 ± 3.3
心率(次/min)	78.4 ± 9.2	80.0 ± 6.3
收缩压(mm Hg)	122.0 ± 12.0	163.4 ± 17.1^a
舒张压(mm Hg)	74.8 ± 5.2	95.1 ± 6.5^a

a: $P < 0.001$, 与正常对照组比较。

2.2 高血压患者血管内皮依赖性舒张功能、血清一氧化氮和超氧化物歧化酶水平的变化

从表 2(Table 2) 可见, 两组肱动脉内径基础值无显著性差异 ($P > 0.05$), 反应性充血后肱动脉舒张率在高血压病组中明显减弱, 与正常对照组相比有显著性差异 ($P < 0.001$), 含服硝酸甘油后的肱动脉内径明显扩张, 但在两组间无显著性差异。高血压病组血清 NO 和 SOD 浓度明显低于对照组 ($P < 0.001$)。

表 2. 两组血管内皮依赖性舒张功能与血清一氧化氮和超氧化物歧化酶的比较($\bar{x} \pm s$)

指标	正常对照组 (n= 28)	高血压病组 (n= 28)
基础内径值 (mm)	3.76 \pm 0.40	3.78 \pm 0.73
反应性充血	13.14% \pm 4.24%	6.33% \pm 2.59% ^a
含服硝酸甘油	19.56% \pm 4.29%	18.48% \pm 4.84%
NO (μ mol/L)	83.26 \pm 23.25	53.55 \pm 23.50 ^a
SOD (kNU/L)	117.1 \pm 33.64	86.57 \pm 26.66 ^a

a: $P < 0.001$, 与正常对照组比较。

2.3 血管内皮依赖性舒张功能与血清一氧化氮和超氧化物歧化酶的相关性分析

两组合并后进行单因素相关分析发现血管内皮依赖性舒张功能与年龄、收缩压和舒张压呈负相关, 相关系数 r 分别为 0.366 ($P < 0.01$)、0.65 ($P < 0.001$) 和 0.672 ($P < 0.001$), 与血清 NO 和 SOD 呈正相关, 相关系数 r 分别为 0.838 ($P < 0.001$) 和 0.683 ($P < 0.001$)。而多元逐步回归分析仅显示血管内皮依赖性舒张功能与舒张压呈负相关, 与血清 NO 和 SOD 呈正相关。复相关系数 $R = 0.901$, 决定系数 $R^2 = 0.811$, $F = 74.529$ ($P = 0.000$), 偏回归系数 = 10.797 (表 3, Table 3)。说明逐步拟合的多元线性回归方程 $Y = 10.797 - 0.126 \text{ 舒张压} + 0.102 \text{ NO} + 0.0262 \text{ SOD}$ 有统计学意义。

表 3. 血管内皮依赖性功能影响因素的多元逐步回归分析

因素	偏回归系数	标准误	标准回归系数	t 值*	P 值*
NO	0.102	0.014	0.577	7.178	0.000
舒张压	- 0.126	0.030	- 0.304	- 4.259	0.000
SOD	0.0262	0.011	0.181	2.285	0.026

注: * 为偏回归系数的 t 检验统计量及相应的 P 值。

3 讨论

血管舒张有两种形式: 内皮依赖性和非内皮依

赖性。本研究采用无创性高分辨血管外超声法检测肱动脉内皮依赖性舒张功能, 该方法简单易行, 重复性好。有研究证实介入法测定乙酰胆碱引起的冠状动脉舒张和超声测定血流介导的肱动脉舒张呈高度正相关^[3]。尸体解剖研究也证实肱动脉、颈动脉、冠状动脉左前降支三者之间的动脉粥样硬化发生率和严重程度显著相关^[4]。Park JB 等^[5]用超声测定高血压病患者的反应性充血后肱动脉内径变化率, 用压力肌动描记器测量乙酰胆碱介导的阻力动脉舒张反应, 研究表明两者呈正相关。因此, 肱动脉的内皮功能可间接反映冠状动脉和阻力动脉的内皮功能, 并预测高血压靶器官受累和动脉粥样硬化程度。本研究选择了年龄、性别、体重指数, 吸烟等影响内皮功能的因素均匹配的两个研究组, 因此保证了研究结果能真实反映血管内皮依赖性舒张与血压、血清 NO 和 SOD 的关系。研究结果显示, 高血压病组反应性充血后肱动脉内径扩张率显著低于正常对照组, 说明高血压病患者尽管无糖尿病、冠心病、高脂血症, 其血管内皮依赖性舒张功能障碍已存在。此外, 两组含服硝酸甘油后肱动脉内径扩张率无显著差异, 其原因考虑本研究入选对象多为 1、2 级高血压患者, 病程不太长, 血管平滑肌对血管活性物质的反应性尚正常。

本研究中, 单因素相关分析发现血管内皮依赖性舒张功能与年龄、收缩压、舒张压呈负相关, 与血清 NO 和 SOD 呈正相关, 而多元逐步回归分析仅显示与舒张压呈负相关, 与血清 NO 和 SOD 呈正相关, 说明舒张压是影响血管内皮功能的重要因素, 与胡信群等研究结果一致^[6]。此外, 也证实了 NO 减少和活性氧增多在高血压血管内皮依赖性舒张功能受损中发挥重要作用。NO 具有舒张血管、抑制平滑肌细胞增殖和血小板聚集, 减少白细胞粘附, 减轻内皮细胞损伤, 预防动脉粥样硬化形成等作用。本研究表明高血压病患者体内 NO 水平明显低于对照组, 这可能是因为 NOS 结构和功能改变, NO 生成减少, 血管收缩, 外周血管阻力增大, 血压进一步上升, 加重内皮细胞受损和 NO 合成障碍, 形成恶性循环。另一方面, SOD 可有效清除自由基, 使机体组织细胞免受损伤。本实验结果显示高血压病患者 SOD 水平较对照组显著下降, 提示高血压病患者存在氧化反应增强及抗氧化能力降低, 体内活性氧增加, 引起并加重内皮功能失调。近年研究表明 AngII 通过 AT1 受体诱导血管局部活性氧合成增多在高血压血管内皮功能失调中发挥重要作用。其机制可能是 AngII 与 AT1 受体结合后, 激活磷酸酶 D、磷酸酶 A2 和蛋白激酶

C, 增加活性氧合成; 上调 NAD(P)H 氧化酶(参与活性氧合成的主要酶系)重要亚单位 p22phox、gp91phox 和 p47phox 表达; 激活有丝分裂活化蛋白(MAP)家族 P42/44, 使血管组织的 SOD 活性、蛋白合成和 mRNA 表达增加 2~3 倍, 促进 O_2^- 转换为 H_2O_2 ^[7-9]。而活性氧可直接损害血管内皮细胞, 灭活 NO, 激活基质金属蛋白酶, 诱导平滑肌细胞增殖、内皮细胞凋亡和内皮功能失调, 并发挥细胞内第二信使的作用^[10, 11]。

本研究提示在高血压病治疗中, 如补充外源性 NO 或使用抗氧化剂等治疗措施, 将有利于更好地控制血压, 并预防或延缓动脉粥样硬化发生发展及靶器官功能损害。

[参考文献]

- [1] Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OJ, Sullivan ID, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet*, 1992, **340**: 1 111
- [2] Taddei S, Virdis A, Mattei P. Defective L-arginine/nitric oxide in offspring of essential hypertensive patients. *Circulation*, 1996, **94** (6): 1 298-303
- [3] Cockcroft JR, Chowiecnyk PJ, Benjamin N, Ritter JM. Preserved endothelium-dependent vasodilation in patients with essential hypertension. *N Engl J Med*, 1994, **330** (15): 1 036
- [4] Sorensen KE, Kristensen IB, Celermajer DS. Atherosclerosis in the human brachial artery. *J Am Coll Cardiol*, 1997, **29** (2): 318-323
- [5] Park JB, Charbonneau F, Schiffrin EL. Correlation of endothelial function in large and small arteries in human essential hypertension. *J Hypertens*, 2001, **19** (3): 415-420
- [6] 胡信群, 赵水平, 周吉君. 高血压病内皮依赖性血管舒张及分泌功能的变化. *高血压杂志*, 2000, **8** (4): 305-308
- [7] Fukui MA, Alexander RW, Akers M, Lyons PR, Lassegue B, Griending KK, et al. Angiotensin II receptor coupling to phospholipase D is mediated by the $\beta\gamma$ subunits of heterotrimeric G-protein in vascular smooth muscle cells. *Mol Pharmacol*, 1999, **55** (1): 142-149
- [8] Touyz RM, Schiffrin EL. AngII-stimulated superoxide production is mediated via phospholipase D in human vascular smooth muscle cells. *Hypertension*, 1999, **34** (4 Pt 2): 976-982
- [9] Rey FE, Cifuentes ME, Kiarash A, Quinn MT, Pagano PJ. Novel competitive inhibitor of NAD(P)H oxidase assembly attenuates vascular O_2^- and systolic blood pressure in mice. *Circ Res*, 2001, **89** (5): 408-414
- [10] Chen X, Touyz RM, Park JB, Schiffrin EL. Antioxidant effects of vitamins C and E are associated with altered activation of vascular NADPH oxidase and superoxide dismutase in stroke-prone SHR. *Hypertension*, 2001, **38** (3 Pt 2): 606-611
- [11] Wassmann S, Laufs U, Moller K, Konkol C, Ahlborn K, Baumeister AJ, et al. Cellular antioxidant effects of atorvastatin in vitro and in vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2002, **22** (2): 300-305

(此文编辑 胡必利)

•资料•

我刊被数据库和文摘杂志收录情况

至 2002 年 12 月, 收录我刊的数据库有:
 美国化学文摘社《Chemical Abstracts, CA》(《化学文摘》);
 俄罗斯科技情报所《Abstract Journal, AJ》(《文摘杂志》);
 科技部中国科技信息研究所《中国科技论文统计源期刊》;
 中国科学院文献信息中心《中国科学引文数据库》;
 科技部中国科技信息研究所《万方数据数字化期刊》;
 科技部中国科技信息研究所《中国核心期刊(遴选)数据库》;
 中国科协学会学术部《中国学术期刊文摘》

科技部西南信息中心《中文科技期刊数据库》;
 清华大学《中国学术期刊(光盘版)》;
 清华大学等部门《中国科学文献计量评价数据库》;
 中国学术期刊(光盘版)电子杂志社《中国期刊信息与知识数据库》;
 中国医学科学院医学信息研究所《中国生物医学文献光盘数据库》;
 解放军医学图书馆《中文生物医学期刊数据库》;
 《中国医学文摘》;
 《中国药学文摘》;
 《中国生物学文摘》。