

高血压合并 2 型糖尿病患者动脉弹性与氧化应激和血管内皮功能的相关性

何红红, 高大中, 赵江龙, 殷跃辉

(重庆医科大学附属第二医院心血管内科, 重庆市 400010)

[关键词] 肱踝脉搏波传导速度; 氧化应激; 血管内皮功能; 高血压; 糖尿病

[摘要] 目的 研究高血压合并糖尿病患者肱踝脉搏波传导速度与血清中丙二醛、超氧化物歧化酶和一氧化氮的相关性, 探讨氧化应激、血管内皮功能变化在动脉硬化过程中的作用。方法 研究对象 168 例分为正常对照组 ($n=40$)、原发性高血压组 ($n=70$) 和高血压合并 2 型糖尿病组 ($n=58$), 各组分别用比色法检测血清丙二醛、超氧化物歧化酶和一氧化氮含量, 应用动脉硬化自动检测仪测定肱踝脉搏波传导速度。结果 与对照组比较, 原发性高血压组和高血压合并 2 型糖尿病组中丙二醛水平和肱踝脉搏波传导速度明显增高 ($P<0.01$), 超氧化物歧化酶和一氧化氮水平明显降低 ($P<0.01$); 与原发性高血压组比较, 高血压合并 2 型糖尿病组丙二醛水平和肱踝脉搏波传导速度明显增高 ($P<0.05$), 超氧化物歧化酶和一氧化氮水平降低 ($P<0.05$)。相关分析显示肱踝脉搏波传导速度与年龄、收缩压、舒张压、胆固醇、空腹血糖、高敏 C 反应蛋白和丙二醛呈正相关 (相关系数 r 分别为 0.418, 0.672, 0.469, 0.179, 0.392, 0.277 和 0.571, 均 $P<0.05$), 与超氧化物歧化酶和一氧化氮呈负相关 (r 分别为 -0.438 和 -0.571, 均 $P<0.05$)。多元逐步回归分析显示收缩压、丙二醛、空腹血糖和年龄是肱踝脉搏波传导速度的独立危险因素。结论 高血压合并糖尿病患者动脉弹性明显减弱, 且与体内氧化应激增强和血管内皮功能损伤有关, 提示氧化应激和血管内皮功能在动脉硬化过程中起重要作用。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

The Relationship between Arterial Elasticity and Oxidative Stress Endothelial Function in Patients with Hypertension Co-existed with Type 2 Diabetes Mellitus

HE Hong-Hong GAO Da-Zhong ZHAO Jiang-Long and YIN Yue-Hui

(Department of Cardiology, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China)

[KEY WORDS] Brachial-Ankle Pulse Wave Velocity; Oxidative Stress; Endothelial Function; Hypertension; Type 2 Diabetes Mellitus

[ABSTRACT] **Aim** To study the relationship between brachial-ankle pulse wave velocity (BaPWV) and serum malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD) and nitric oxide (NO) in patients with hypertension co-existed with type 2 diabetes mellitus and to investigate the effects of oxidative stress and vascular endothelial function on the development of arteriosclerosis. **Methods** 168 patients were divided into normal control ($n=40$), hypertension ($n=70$) and hypertension complicated with type 2 diabetes mellitus group ($n=58$). The serum NO, MDA and SOD were measured by colorimetric method respectively and BaPWV were recorded by an automatic arterial stiffness measurement device.

Results Compared with the control group, serum MDA, BaPWV were significantly higher and SOD, NO was lower ($P<0.05$) in the hypertension group and the hypertension complicated with type 2 diabetes mellitus group. Compared with the hypertension group, serum MDA, BaPWV were significantly higher and SOD, NO was lower ($P<0.05$) in the hypertension complicated with type 2 diabetes mellitus group. Correlation analysis showed that BaPWV was positively correlated with age, systolic blood pressure, diastolic blood pressure, cholesterol, fasting blood glucose (FBG), high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), serum MDA ($r=0.418, 0.672, 0.469, 0.179, 0.392, 0.277, 0.571$, all $P<0.05$), and was negatively correlated with serum SOD and NO ($r=-0.438, -0.571$, all $P<0.05$). The analysis of multiple stepwise regression showed that BaPWV was positively correlated with systolic blood pressure, MDA, FBG and age. **Conclusion** Arterial elasticity significantly decreased and was correlated with increase of oxidative stress and reduction of vascular endothelial function in patients with hypertension complicated with type 2 diabetes mellitus, suggesting that oxidative stress and endothelial function plays an important role in the development of arteriosclerosis.

[收稿日期] 2009-10-02

[修回日期] 2009-12-06

[作者简介] 何红红, 主要研究方向为高血压发病机制与诊疗, Email为 hehonghong11@163.com. 通讯作者高大中, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为高血压和动脉粥样硬化的发病机制及其干预。赵江龙, 主要研究方向为冠心病的介入治疗与临床康复。

动脉弹性的改变是动脉硬化形成过程中血管损伤的早期特征,目前大动脉脉搏波传导速度 (pulse wave velocity, PWV) 作为评价动脉弹性的经典指标,得到广泛关注及深入研究^[1]。氧化应激和血管内皮功能变化在高血压、糖尿病发生发展过程中起重要作用,参与了动脉硬化的形成和进展,但国内外对于动脉弹性与氧化应激、血管内皮功能变化相关性研究的临床报道甚少。因此,本研究通过检测高血压合并 2 型糖尿病患者血清中氧化应激指标丙二醛、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 和血管内皮功能指标一氧化氮 (nitric oxide, NO) 的含量,测定肱踝脉搏波传导速度 (brachial-ankle pulse wave velocity, BaPWV), 分析 BaPWV 与丙二醛、SOD 和 NO 的相关性,探讨氧化应激、血管内皮功能变化在动脉硬化过程中的作用。

1 对象和方法

1.1 研究对象

所有观察对象均为重庆医科大学附属第二医院心血管内科住院患者,年龄 55~80 岁,共 168 例。其中单纯原发性高血压 (essential hypertension, EH) (简称 EH 组) 70 例,男 30 例,女 40 例,平均年龄 66.6 ± 5.7 岁, EH 诊断采用 2005 年《中国高血压防治指南》诊断标准;原发性高血压合并 2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus) (简称 EH+2DM 组) 58 例,男 28 例,女 30 例,平均年龄 67.5 ± 6.1 岁, 2 型糖尿病诊断采用 2003 年《中国糖尿病防治指南》正常健康人 (对照组) 40 例,男 23 例,女 17 例,平均年龄 66.6 ± 5.7 岁。排除标准: 继发性高血压、1 型糖尿病、酮症酸中毒、1 周内服用抗氧化剂或硝酸酯类患者; ④经冠状动脉造影或心电图、运动平板试验确诊为冠心病; ⑤10 年内吸烟史、肝炎、肾功能不全、严重心功能衰竭、心律失常、恶性肿瘤、甲亢、风湿性疾病、自身免疫性疾病等全身其他器官和系统性重大疾病等。

1.2 一般指标的检测

测受试者身高和体重,计算体质指数 (body mass index, BMI), $BMI (kg/m^2) = \text{体重} / \text{身高}^2$, 采用水银血压计测量坐位右上肢血压,连续测量三次,取平均值。

1.3 血清学指标测定方法

所有研究对象清晨空腹抗凝管取肘静脉血 4 mL,在 4℃ 冰箱静置 1~2 h 后立即离心 (2 500 r/min) 10 min 分离血清,置于 -70℃ 冰箱保存待测。

丙二醛、SOD 和 NO 分别用硫代巴比妥酸法、黄嘌呤氧化酶法和硝酸还原酶法测定,试剂盒均由南京建成生物工程研究所提供。总胆固醇 (total cholesterol, TC)、甘油三酯 (triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDLC)、低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDLC)、空腹血糖 (fasting blood glucose, FBG)、高敏 C 反应蛋白 (high sensitive C-reactive protein, hs-CRP) 等生物化学指标数据由重庆医科大学附属第二医院检验科提供。

1.4 肱踝脉搏波传导速度的检测

采用日本欧姆龙 (科林公司) 全自动动脉硬化测定仪 VP1000 (BP203RPE 型, PWV/ABI 型), 参照张丽等^[2]介绍的方法检测 BaPWV。患者在 25℃ 室温下休息 15 min, 仰卧于检查床上,将压力感受器置于上臂及踝部,测量这两点之间的体表距离,并输入计算机。连接好肢体导联心电图电极,并将 1 个心电图传感器放置于心电图胸导联 V_4 的位置上,4 个袖带同时充放气,并监测心电图和心音图。取左右两侧 BaPWV 的高值进行统计分析。

1.5 统计学方法

运用 SPSS 13.0 软件对数据进行统计学分析,所有检验采用双侧检验。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 SNK- q 检验,变量之间的相关性采用多元线性相关分析及多元逐步回归分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基线资料

三组患者性别、年龄、TC、TG、HDLC 差异均无显著性。EH 组和 EH+2DM 组收缩压、舒张压和 hs-CRP 均明显高于对照组 ($P < 0.01$), EH+2DM 组 BMI 高于对照组 ($P < 0.05$), EH 组 LDLC 明显高于对照组 ($P < 0.01$), EH+2DM 组 FBG 明显高于 EH 组和对照组 ($P < 0.01$; 表 1)。

2.2 丙二醛、超氧化物歧化酶、一氧化氮水平和肱踝脉搏波传导速度

与对照组比较, EH 组和 EH+2DM 组中丙二醛水平和 BaPWV 明显增高 ($P < 0.01$), SOD 和 NO 水平明显降低 ($P < 0.01$); 与 EH 组比较, EH+2DM 组丙二醛水平和 BaPWV 增高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 而 SOD 和 NO 水平降低 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$; 表 2)。

表 1 三组患者的基线资料

变量	对照组 (n = 40)	EH 组 (n = 70)	EH + 2DM 组 (n = 58)
男/女(例)	23/17	30/40	28/30
年龄(岁)	64.9 ± 4.5	66.6 ± 5.7	67.5 ± 6.1
BMI(kg/m ²)	23.47 ± 2.11	24.32 ± 2.90	24.92 ± 2.88 ^a
收缩压(mmHg)	124.7 ± 8.6	161.6 ± 12.4 ^a	159.9 ± 13.4 ^a
舒张压(mmHg)	72.9 ± 8.2	90.4 ± 12.2 ^a	91.3 ± 11.9 ^a
TC(mm ol/L)	4.99 ± 0.73	5.25 ± 0.86	5.31 ± 0.92
TG(mm ol/L)	2.02 ± 0.66	2.13 ± 0.74	2.31 ± 0.78
HDLC(mm ol/L)	1.16 ± 0.25	1.12 ± 0.27	1.06 ± 0.25
LDLC(mm ol/L)	2.55 ± 0.57	2.96 ± 0.62 ^a	2.82 ± 0.71
FBG(mm ol/L)	4.9 ± 0.6	5.0 ± 0.7	7.7 ± 0.8 ^{ab}
hs-CRP(mg/L)	1.95 ± 1.10	2.73 ± 1.30 ^a	2.93 ± 1.17 ^a

a为 $P < 0.05$ 与对照组比较; b为 $P < 0.05$ 与 EH 组比较。

表 2 丙二醛、超氧化物歧化酶、一氧化氮水平和踝-踝脉搏波传导速度

组别	丙二醛 ($\mu\text{mol/L}$)	SOD (kU/L)	NO ($\mu\text{mol/L}$)	BaPWV (m/s)
对照组	5.95 ± 1.53	97.99 ± 14.23	87.91 ± 12.52	15.03 ± 1.74
EH 组	7.43 ± 1.51 ^a	83.44 ± 12.00 ^a	75.32 ± 11.40 ^a	18.11 ± 2.27 ^a
EH + 2DM 组	8.12 ± 1.65 ^{ab}	77.04 ± 11.88 ^{ab}	67.58 ± 11.54 ^{ab}	20.45 ± 2.46 ^{ab}

a为 $P < 0.01$ 与对照组比较; b为 $P < 0.05$ 与 EH 组比较。

2.3 相关分析和多元逐步回归分析

以年龄、BMI、血压、血糖、血脂、hs-CRP、丙二醛、SOD、NO 为自变量, BaPWV 为因变量进行相关分析, 结果表明 BaPWV 与年龄、收缩压、舒张压、TC、血糖、hs-CRP 和丙二醛呈正相关(相关系数 r 分别为 0.418、0.672、0.469、0.179、0.392、0.277 和 0.571, 均 $P < 0.05$), 与 SOD 和 NO 呈负相关($r = -0.438$ 、 -0.571 , 均 $P < 0.05$)。以 BaPWV 为因变量进行多元线性逐步回归分析, 结果显示 BaPWV 与收缩压、丙二醛、血糖和年龄相关(复相关系数 $r = 0.782$, 决定系数 $R^2 = 0.611$, $F = 64.127$, $P = 0.000$), 回归方程为 $Y = -5.954 + 0.073$ 收缩压 + 0.330 丙二醛 + 0.476 血糖 + 0.118 年龄。

3 讨论

动脉弹性又称顺应性, 主要反映动脉舒张功能状态。动脉弹性改变是动脉粥样硬化的早期表现, 在血管发生动脉粥样硬化时, 管壁的僵硬程度增加, 弹性下降, 血流通过管壁时传导速度加快。检测 BaPWV 是评价动脉硬化无创又简单的常用方法, 近年

来已被广泛使用。本研究结果显示 EH 组和 EH + 2DM 组 BaPWV 水平高于对照组, EH + 2DM 组 BaPWV 水平高于 EH 组, 提示高血压患者动脉弹性明显下降, 高血压合并糖尿病患者动脉弹性下降更严重。

氧化应激与高血压、糖尿病的发生发展密切相关^[3,4]。氧化应激是指机体组织或细胞内氧自由基生成增加和(或)清除能力降低, 导致活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)在体内或细胞内堆积而引起的氧化损伤过程^[5]。过多的 ROS 可以攻击生物膜中的多不饱和脂肪酸, 引发脂质过氧化作用, 形成脂质过氧化物, 如醛基(丙二醛), 脂质过氧化物通过链式反应放大 ROS 的作用, 因而丙二醛作为脂质过氧化物的最终产物, 可直接反映机体的脂质过氧化程度, 是评价人体氧化应激程度最常用的指标。SOD 是最重要的抗氧化酶之一, 它能清除氧自由基保护细胞免受损伤。当机体内自由基的产生和清除失去平衡时, 引起氧自由基产生过多而对机体氧化作用增强, 导致机体损伤使脂质过氧化产物丙二醛堆积。本研究结果显示三组患者性别、年龄、TC、TG 和 HDLC 相比差异无显著性, EH 组和 EH + 2DM 组中丙二醛水平比对照组明显增高, SOD 水平明显降低, 且 EH + 2DM 组中丙二醛水平高于 EH 组, SOD 水平低于 EH 组, 表明高血压患者氧化应激增强, 高血压合并糖尿病时, 氧化应激程度进一步加剧。

进一步相关分析和回归分析发现, BaPWV 与丙二醛水平呈显著正相关, 而与 SOD 呈负相关, 并且丙二醛是 BaPWV 的独立危险因素, 表明氧化应激与动脉弹性有关, 参与了动脉硬化的过程。其可能的作用机制如下: 一方面, 氧化应激增加, 消耗大量的 SOD, 抗氧化能力减弱, 产生过量的 ROS 引起脂质过氧化, 脂质过氧化产物不仅可以直接损伤内皮细胞, 增加中性粒细胞的黏附性和活性, 增强血小板聚集的敏感性, 还能增加血管壁对 LDL 的摄取, 促进动脉粥样硬化的发生和发展, 导致血管僵硬程度增加。另一方面, 血管壁处的氧化应激能够引起 LDL 的氧化修饰, 产生氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL), ox-LDL 诱导和启动泡沫细胞的形成, 加速动脉粥样硬化进程, 血管硬化程度加重^[6,7]。另外, 氧化应激可改变细胞内氧化还原状态, 调节转录因子活性, 促进活性蛋白和核因子 κB 的表达, 促使单核细胞通过血管壁和更多促炎性分子的释放, 从而促进炎症反应和血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)增殖^[8], 加速

血管内皮细胞凋亡和功能失调,同时,ROS作为第二信使传递血管紧张素 Ang^{II} 等多种细胞外信号,诱导VSMC增殖和移行^[9],导致血管内膜和中膜增厚、血管重塑,血管弹性减弱。

NO是一种内皮源性血管舒张因子,而且还是氧自由基清除剂,可以降低血小板黏滞度,抑制VSMC增殖及黏附分子表达。氧化应激程度加重时,氧自由基与NO结合形成过氧化亚硝酸阴离子可直接灭活NO,同时过氧化亚硝酸阴离子使ox-LDL生成增加,后者通过抑制G蛋白及其受体的表达,使内皮源性一氧化氮合酶活性下降,进一步使NO形成减少^[10],血管内皮舒张功能减退,动脉弹性下降,动脉硬化程度增加。Cayatte等^[11]研究发现,在兔高胆固醇血症模型中,用N-硝基-L-精氨酸甲酯抑制NO产生,致使新生内膜形成加速,内皮功能减弱,加速粥样硬化的发生。孙刚等^[12]实验结果表明,EH+2DM血管内皮功能和大动脉弹性进一步下降,且大动脉弹性与NO呈负相关。本研究中,EH组和EH+2DM组中NO水平明显低于对照组,以EH+2DM组最低,且BaPWV与NO水平呈显著负相关,进一步验证了NO在动脉硬化过程中的作用。

本研究发现,与EH组相比,EH+2DM组氧化应激程度增加,血管内皮功能损伤较为严重,动脉硬化程度更重。糖尿病状态时,高血糖通过多种途径增强氧化应激,高糖促进线粒体电子传递链生成的电势梯度产生ROS,增加氧自由基的生成^[13,14]。在高血压和高血糖两种作用下,氧化应激加剧,体内氧自由基产量明显增加,影响VSMC的生长与迁移,同时造成包括舒张失常、炎症反应和细胞间质改变等在内的血管内皮细胞功能失调。上述改变共同促进了血管硬化的进展,因此,EH+2DM动脉弹性更低。

总之,氧化应激和血管内皮功能损伤与高血压、糖尿病的发生发展密切相关,在动脉硬化过程中起

重要作用。氧化应激导致高血压、糖尿病血管硬化的分子机制有待进一步深入研究。我们认为,对于高血压、糖尿病患者,在积极控制血压、血糖的基础上,可以适当补充抗氧化剂,减少体内氧自由基堆积对血管造成的进一步损伤,延缓动脉硬化的进展。

[参考文献]

- [1] Liu XN, Gao HQ, Li BY, et al. Pulse wave velocity as a marker of arteriosclerosis and its comorbidities in Chinese patients [J]. *Hyperten Res* 2007 **30** (3): 237-242
- [2] 张丽,黄晶,李祥媛,等. 高血压治疗前后PWV的相关性研究[J]. *重庆医科大学学报*, 2008 **33** (2): 207-209
- [3] Vaziri ND, Wang XQ, Oveis F, et al. Induction of oxidative stress by glutathione depletion causes severe hypertension in normal rats [J]. *Hypertension* 2000 **36** (1): 142-146
- [4] Asvat BD, Nava B. Proposed mechanisms for the induction of insulin resistance by oxidative stress [J]. *Antioxid Redox Signal* 2005 **7** (11-12): 1553-567
- [5] 赵凯,杨万松. 氧化应激与高血压血管内皮损伤[J]. *天津医药*, 2006 **34** (12): 907-909
- [6] Shi Y, Patel S, Davenpeck KI, et al. Oxidative stress and lipid retention in vascular grafts: comparison between venous and arterial conduits [J]. *Circulation* 2001 **103** (19): 2408-413
- [7] Jay W, Heinecke MD. Oxidative stress: new approaches to diagnosis and prognosis in atherosclerosis [J]. *Am J Cardiol* 2003 **91** (3): 12-16
- [8] Tanigami Y, Griendling KK. Reactive oxygen species in the vasculature: molecular and cellular mechanisms [J]. *Hypertension* 2003 **42** (6): 1075-081
- [9] Zalba G, Beaumont FJ, Jose GS, et al. Vascular NADH/NADPH oxidase is involved in enhanced superoxide production in spontaneously hypertensive rats [J]. *Hypertension* 2000 **35** (5): 1055-061
- [10] Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress [J]. *Circ Res* 2000 **87** (10): 840-844
- [11] Cayatte AJ, Palacino JJ, Horten K, et al. Chronic inhibition of nitric oxide production accelerates neointima formation and impairs endothelial function in hypercholesterolemic rabbits [J]. *Arterioscler Thromb* 1994 **14** (5): 753-759
- [12] 孙刚,黄冠华,王丛,等. 高血压合并2型糖尿病患者的动脉弹性与内皮功能[J]. *中华高血压杂志*, 2007 **15** (10): 835-838
- [13] Nishikawa T, Edelstein D, Du XL, et al. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage [J]. *Nature* 2000 **404** (6779): 787-790
- [14] Bonnefont-Rousselot D, Beaudoux JL, Therond P, et al. Diabetes mellitus: oxidative stress and advanced glycation endproducts [J]. *Annales Pharmaceutiques Françaises* 2004 **62** (3): 147-157

(此文编辑 许雪梅)