DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.17.022
第26卷第17期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 17
2004年9月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Sep. 2004

文章编号:1000-5404(2004)17-1567-03

论著

OSAS患者咽组织及血浆中NO、CGRP的变化及意义

邓安春,孟祥贵,杨 桦,谭旭民 (第三军医大学新桥医院耳鼻咽喉科,重庆 400037)

提 要:目的 观察阻塞性呼吸暂停综合征(OSAS)患者咽组织、血浆中NO、降钙素基因相关肽(CGRP)含量的变化,探讨神经源性炎症致OSAS患者咽腔狭窄的可能发病机制。方法 实验材料来源于OSAS患者和正常人,分别采取正常对照组、轻中重OSAS患者组和重度OSAS患者悬雍垂腭咽成形术(UPPP)术后组的空腹血浆和咽部软组织匀浆液,用放免法和酶还原法检测其CGRP和NO含量。结果 咽部软组织匀浆NO含量为重度OSAS患者组高于正常对照组($P<0.001$);CGRP含量为重度OSAS患者组低于正常对照组($P<0.001$)。血浆NO含量正常对照组高于中、重度OSAS患者组($P<0.001$);重度OSAS患者术后组高于中、重度OSAS患者组($P<0.001$),与轻度OSAS患者组相当($P>0.05$);血浆CGRP含量正常对照组和重度OSAS患者UPPP术后组高于中、重度OSAS患者组($P<0.001$);正常对照组与重度OSAS患者术后组相差无显著性($P>0.05$)。结论 呼吸暂停抑制OSAS患者血浆中NO、CGRP的生成,但却使其咽部软组织中NO含量增加。

关键词:阻塞性睡眠呼吸暂停综合征;一氧化氮;降钙素基因相关肽
中图法分类号:R322.42;R34;R563.802 文献标识码:A

Changes of NO and CGRP in pharyngeal tissues and plasma in OSAS patients

DENG An-chun, MENG Xiang-gui, YANG Hua, CHAN Xu-min (Department of Otolaryngology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: **Objective** To investigate the possible pathogenic mechanisms of narrow pharynx in obstructive sleep apnea syndrome (OSAS) induced by neurogenic inflammation. **Methods** The levels of nitric oxide (NO) and calcitonin gene-related peptide (CGRP) in fasting plasma and pharyngeal soft tissue homogenate from mild, moderate, and severe OSAS patients, the normal controls, and patients undergoing uvulopalatopharyngoplasty (UPPP) were detected by immunoradioassay and enzyme reduction. **Results** Plasma NO level in serious OSAS patients was the lowest in the five groups and that in the control group was the highest [severe OSAS = (53.33±7.83) mmol/L, controls = (74.30±6.40) mmol/L, UPPP group = (68.12±7.46) mmol/L, moderate OSAS = (60.45±7.51) mmol/L, mild OSAS = (69.24±6.32) mmol/L, $P<0.001$]. There was a significant increase in plasma CGRP after UPPP ($P<0.01$), and the plasma CGRP level in the controls was as high as that in UPPP group ($P>0.05$) [severe OSAS = (44.18±5.80) mmol/L, moderate OSAS = (48.04±6.66), mild OSAS = (50.72±5.33) mmol/L, controls = (54.37±4.43) mmol/L, UPPP group = (54.10±3.70) mmol/L]. NO level in pharyngeal tissue of OSAS increased significantly [OSAS = (0.748±0.053) μmol/g, controls = (0.382±0.031) μmol/g, $P<0.001$], but CGRP level decreased markedly [OSAS = (1.566±0.279) pg/mg, controls = (2.685±0.351) pg/mg, $P<0.001$]. **Conclusion** Circulating NO and CGRP are suppressed in OSAS, but reversible promptly after UPPP. Furthermore, the content of NO in pharyngeal tissues increases significantly and that of CGRP decreases markedly.

Key words: obstructive sleep apnea syndrome; nitric oxide; calcitonin gene-related peptide

一般认为,复杂的咽部结构,尤其是咽部扩张肌在阻塞性睡眠呼吸暂停综合征(obstructive sleep apnea syndrome, OSAS)的发病机制中起着重要的作用。近年来,越来越多的注意力集中在研究醒觉和睡眠状态下调节咽肌活性的神经机制上。研究表明,OSAS患者咽部有传入、传出神经损伤,这些损伤可能导致了患者咽气道扩张肌功能的紊乱,从而引起上气道的塌陷[1]。NO、CGRP在神经细胞和肌细胞内有广泛分布,从而调

作者简介:邓安春(1971-),男,重庆市人,主治医师,讲师,主要从事睡眠医学及鼻部疾病等相关的临床方面的研究。电话:(023)65223304
通信作者:杨 桦,电话:(023)68755611
收稿日期:2003-09-05;修回日期:2004-04-10

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

节肌肉组织的舒缩功能。已经证实咽部软组织内存在一氧化氮合成酶(nitric oxide synthase, NOS)、降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP)并随呼吸暂停而发生改变[2]。本研究通过放免法及酶还原法检测血浆、组织匀浆中的NO、CGRP含量,以探讨其与OSAS的可能关系,现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 标本来源 ①OSAS患者共80例(本科自1998年9月至2001年10月收治病人),全部经PSG检查确诊,而正常对照组40例以及经悬雍垂腭咽成形术(uvulopoilatopharyngoplasty, UPPP)术后1年以上的重度OSAS患者UPPP术后组20例则是经PSG检查排除OSAS诊断。②抽取实验者早晨空腹血制备血浆标本。③取实验者咽部软腭及悬雍垂组织制备组织匀浆标本(正常对照组在扁桃体剥离手术后采取扁桃体上极附近的软组织标本)。

1.1.2 试剂 ①CGRP放免检测试剂盒(北京北免东雅生物技术研究所)。②NO酶法检测试剂盒(晶美生物工程(北京)有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 分组 分两个大组:血浆检测组100例和组织匀浆检测组40例。前者又分为5小组:正常对照组、轻度OSAS患者组、中度OSAS患者组、重度OSAS患者组和重度OSAS患者UPPP术后组,每小组病例数为20例;因只对重度OSAS患者行手术治疗,故后者只分为两小组:正常对照组和重度OSAS患者组,每小组病例数为20例。其中血浆检测组的重度OSAS患者UPPP术后组20例患者与组织匀浆检测组的重度OSAS患者UPPP术后组20例相同,故OSAS患者总数为80例。

1.2.2 血浆、组织匀浆标本制备 按试剂公司提供的说明执行。

1.2.3 放免法检测CGRP 按试剂公司提供的说明执行。

1.2.4 酶法检测NO 按试剂公司提供的说明执行。

1.3 统计学处理

所得数据用$\bar{x}\pm s$表示,多组间差异用单因素方差分析,两组间差异用t检验。

2 结果

血浆中NO、CGRP检测结果见表1,提示血浆NO含量正常对照组高于中、重度OSAS患者组,重度OSAS患者UPPP术后组高于中、重度OSAS患者组,与轻度OSAS患者组相当,血浆CGRP含量正常对照组和重度OSAS患者UPPP术后组高于中、重度OSAS患者组,正常对照组与重度OSAS患者术后组相关无显著性。组织匀浆中NO、CGRP检测结果见表2,咽部软组织匀浆NO含量为重度OSAS患者组高于正常对照组,CGRP含量为重度OSAS患者组低于正常对照组。

表1 血浆中NO、CGRP检测结果($\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Concentration of NO、CGRP in plasma($\bar{x}\pm s$)

Group	NO (μmol/L)	CGRP (pg/ml)
Control	74.30±6.40	54.37±4.43
Mild OSAS	69.24±6.32	50.72±5.33 *
Moderate OSAS	60.45±7.51 **##	48.04±6.66 **
Severe OSAS	53.33±7.83 **##△△	44.18±5.80 **##
After UPPP	68.12±7.46 *△△▲▲	54.10±3.70 #△△▲▲
F	25.14	13.13
P	0.000	0.000

*: $P<0.05$, **: $P<0.001$, *vs* control; #: $P<0.05$, ##: $P<0.001$, *vs* mild group; △△: $P<0.01$, *vs* moderate group; ▲▲: $P<0.001$, *vs* severe group

表2 组织匀浆中NO、CGRP检测结果($\bar{x}\pm s$)

Tab 2 Concentrations of NO and CGRP in pharyngeal tissue ($\bar{x}\pm s$)

	Control	Severe OSAS	t	P
NO (μmol/g)	0.382±0.031	0.748±0.053	26.72	0.000
CGRP (pg/mg)	2.685±0.351	1.566±0.279	11.17	0.000

3 讨论

3.1 关于CGRP含量的变化

国外报道脑出血和失血性、内毒素性、败血症性休克时CGRP的释放明显增加,在血管水平证明了一些常见的炎症介质(如前列腺素、缓激肽)以及pH、高乳酸、高张液等环境因素可直接刺激含CGRP的神经兴奋,引起CGRP的释放增加[3]。另外,免疫细胞也能合成和释放CGRP[4]。研究表明,急性缺氧时CGRP释放增加。与此相对应,当CGRP释放增加时,CGRP免疫反应阳性纤维减少。如果缺氧加重或长期缺氧,CGRP神经纤维将减少,CGRP储备减少甚至耗竭,CGRP含量就降低[5]。

本实验结果表明:所有OSAS患者组均低于正常对照组和重度OSAS患者术后组,正常对照组与重度OSAS患者术后组相差无显著性。OSAS患者血浆中CGRP的含量受到抑制,当行UPPP手术后,其含量可以恢复,与此同时,患者咽部组织中CGRP的含量也降低。血浆中CGRP降低的程度与呼吸暂停严重的程度呈正相关。OSAS导致血浆及咽部组织CGRP含量变化的主要原因可能是慢性缺氧。虽然OSAS患者有使CGRP含量增高的炎症等影响因素,但影响更大、更长期的则是呼吸期的呼吸暂停所导致的慢性缺氧[6]。血浆中CGRP含量降低,咽部组织中的含量相应地就降低。慢性缺氧究竟是如何具体导致CGRP降低以及降低的程度与呼吸暂停严重程度的具体关系则有待进一步研究。

3.2 关于NO含量的变化

实验结果表明:正常对照组高于所有OSAS患者组和重度OSAS患者术后组,而重度OSAS患者术后组

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

高于中、重度 OSAS 患者组，与轻度 OSAS 患者组相当。OSAS 患者血浆中 NO 的含量降低，降低的程度与呼吸暂停严重的程度呈正相关，当行 UPPP 手术后，其含量又可以恢复。与此同时，患者咽部组织中 NO 的含量却增高。这与 Agusti 等[7,8] 的研究结果是一致的，他们发现 OSAS 患者血浆中的 NO 含量受到抑制，而当行 CPAP 等治疗后又可恢复。

一氧化氮合成酶（NOS）催化 L-精氨酸产生 NO，是内源性 NO 的惟一来源，因此，体内 NO 的水平与 NOS 活性直接有关。诱导型 NOS 一旦被诱导便可在相当长的时间内以恒定的速度合成大量 NO。最强的诱导作用是炎症反应，同时低氧也可诱导诱导型 NOS 及其基因表达增强，使 NO 合成和释放增加。然而，慢性低氧血症在转录水平对内皮细胞结合型 NOS 有抑制作用，可使结合型 NOS 合成减少，活性降低，继而使 NO 的生成减少。两者变化的综合结果是内源性 NO 产生量明显减少[9]。OSAS 的直接后果就是长期的慢性低氧血症，血浆中 NO 的含量减少，而经 UPPP 手术或有效的 CPAP 治疗后，缺氧得以改善，NO 的含量又可以恢复。

NO 可由包括免疫细胞和炎症细胞在内的许多细胞合成，其关键酶是诱导型 NOS。而诱导型 NOS 几乎存在于所有组织细胞中，巨噬细胞和血管平滑肌细胞含量最多。在咽部组织中，唾液腺上皮、腺体间导管上皮和血管壁等处存在大量的诱导型 NOS。而骨骼肌包含所有 NOS 亚型，咽部组织因打鼾而发生震颤，存在具有最强诱导作用的炎症反应和缺氧，所以其含量是增加的。

3.3　NO、CGRP 在 OSAS 发病机制中的作用

以往关于 OSAS 发病机制的认识更多的倾向于包括颌面部解剖畸形及咽部组织肥厚所致的咽腔机械阻塞，但随着研究的不断深入，越来越多的注意力集中在研究醒觉和睡眠状态下调节咽肌活性的神经机制上[10]。

CGRP 是调节血管活动的一类重要物质，同时对多种免疫功能也有调节作用。CGRP 免疫反应阳性神经纤维可以释放 CGRP 进入血液，舒张血管，抑制血管平滑肌增生，改善血流量及咽部肌肉的生理功能，保证睡眠时咽腔的正常开放。同时 Yoshida 等[11] 研究表明，当 CGRP 释放时，粘膜分泌功能增加，参与气道的保护。而在 OSAS 患者中咽部 CGRP 含量减少，这就会影响到咽气道的自我调节和保护功能，从而导致和加重呼吸暂停。

OSAS 患者血浆中 NO 含量减少，心血管、免疫、神经等系统缺乏有效的调节，是其出现高血压、心性猝死的重要因素之一。而咽部组织局部 NO 含量持续增高，也造成了相应的损害。骨骼肌的兴奋收缩耦联、血流量、肌细胞分化以及葡萄糖能量代谢等功能可被长期升高的 NO 所调节[12]。不仅如此，升高的 NO 还以一种不依赖于 cGMP 的机制调节细胞内的游离 Ca^{2+}。降低了胞浆内 Ca^{2+} 浓度[13]。因而，咽部肌肉活性降低、收缩乏力、功能失去平衡，造成咽部的塌陷。同时，内源性 NO 调节乙酰胆碱、儿茶酚胺类、兴奋及抑制性氨基酸、5-羟色胺、组胺以及腺苷酸等神经递质的释放，大多数情况下，组织中增加的 NO 水平，刺激了神经递质的释放增加[14]，所以唾液腺上皮、腺体间导管上皮、血管壁和小血管壁等处 NO 的增加将影响到腺体的分泌和免疫功能，造成咽部组织表面张力、顺应性的改变和炎症易感性的增加，进一步加重 OSAS。

参考文献：

[1] Mayer P, Dematteis M, Pepin J L, *et al*. Peripheral neuropathy in sleep apnea: A tissue marker of the severity of nocturnal desaturation[J]. Am J Respir Crit Care Med, 1999, 159(1): 213－219.

[2] Kato J, Uddman R, Sundler F, *et al*. Immunohistochemical study of the innervation of the boundary area of the hard and soft palates of the rat[J]. Acta Anatomica (Basel), 1998, 163(2): 92－98.

[3] Onuoha G N, Alpar E K. Calcitonin gene-related peptide and other neuropeptides in the plasma of patients with soft tissue injury[J]. Life Sci, 1999, 65(13): 1351－1358.

[4] Xing L, Guo J, Wang X. Induction and expression of beta-calcitonin gene-related peptide in rat T lymphocytes and its significance[J]. J Immunol, 2000, 165(8): 4359－4366.

[5] Keith I M, Tjen-A-Looi S, Kraiczi H, *et al*. Three-week neonatal hypoxia reduces blood CGRP and causes persistent pulmonary hypertension in rats[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2000, 279(4): H1571－1578.

[6] Levy P, Robert D. Sleep disordered breathing: from pathophysiology to evidence-based-medicine[J]. Sleep, 2000, 23(Suppl 4): S93－94.

[7] Agusti A G, Barbe F, Togores B. Exhaled nitric oxide in patients with sleep apnea[J]. Sleep, 1999, 22(2): 231－235.

[8] Ip M S, Lam B, Chan L Y, *et al*. Circulating nitric oxide is suppressed in obstructive sleep apnea and is reversed by nasal continuous positive airway pressure[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2000, 162(6): 2166－2171.

[9] Alderton W K, Cooper C E, Knowles R G. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition[J]. Biochem J, 2001, 357(Pt 3): 593－615.

[10] Horner R L. The neuropharmacology of upper airway motor control in the awake and asleep states: implications for obstructive sleep apnoea[J]. Respir Res, 2001, 2(5): 286－294.

[11] Yoshida T, Matsuda H, Hayashida Y, *et al*. Changes in the distribution of the substance P and calcitonin gene-related peptide immunoreactive nerve fibers in the laryngeal mucosa of chronically hypoxic rats[J]. Histol Histopathol, 1999, 14(3): 735－741.

[12] Kendall H K, Marshall R I, Bartold P M. Nitric oxide and tissue destruction[J]. Oral Dis, 2001, 7(1): 2－10.

[13] Richter C. Reactive oxygen and nitrogen species regulate mitochondrial Ca^{2+} homeostasis and respiration[J]. Biosci Rep, 1997, 17(1): 53－66.

[14] Vallance P. Nitric oxide[J]. Biologist (London), 2001, 48(4): 153－158.

（编辑　张　宁）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net