DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.04.011
第26卷第4期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 4
2004年2月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Feb. 2004

文章编号:1000-5404(2004)04-0307-03

论著

L-Arginine及衰老对大鼠阴茎组织中NO、ET-1的影响

吴晓军,张家华,宋 波,熊恩庆,金锡御 (第三军医大学西南医院全军泌尿外科中心,重庆 400038)

提 要:目的 探讨喂养左旋精氨酸(L-Arginine)及衰老对大鼠阴茎组织中"NO-cGMP通路"及ET-1的影响及意义。方法 将不同月龄(2、8、16、24月)大鼠随机分为对照组与实验组(喂养L-Arginine),进行了以下研究:①阴茎组织中一氧化氮(nitric oxide, NO)、环磷酸鸟苷(cGMP)含量测定;②阴茎组织一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)活性变化;③阴茎组织中ET-1(endothelin-1)含量测定。结果 ①阴茎组织中NO含量先升高后降低,8月龄最高,24月龄最低,NOS活性变化与其一致,各月龄组间差别均非常显著($P<0.01$);cGMP含量表现为显著降低($P<0.01$);ET-1含量呈升高趋势,ET-1/NO比值也显著升高($P<0.01$);②L-Arginine长时间喂养大鼠后,阴茎组织中NOS活性及NO、cGMP含量均显著增加($P<0.01$),ET-1含量无明显改变。结论 阴茎组织中cGMP含量及ET-1/NO比值可能决定着平滑肌细胞舒缩状态;L-Arginine对增强NOS活性、增加NO、cGMP含量有明显作用,表明L-Arginine有用于治疗勃功能障碍(erectile dysfunction, ED)的潜在临床价值。

关键词:阴茎勃起;增龄;一氧化氮;cGMP;L-Arginine
中图法分类号:R322.64;R339.34;R977.4 文献标识码:A

Effects of L-arginine and senescence on NO and ET-1 in rat penile tissue

WU Xiao-jun, ZHANG Jia-hua, SONG Bo, XIONG En-qing, JIN Xi-yu (Urinary Surgery Research Center, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To explore the effects of L-arginine and senescence on nitric oxide-cGMP (NO-cGMP) pathway and endothelin-1 (ET-1) in rat penile tissue. Methods Rats of different ages (2, 8, 16, and 24 months) were divided into experiment group and treatment group (fed with L-arginine). Contents of NO, cGMP, and ET-1, and changes of nitric oxide synthase (NOS) activity in penile tissue were detected. Results NO content and NOS activity changed significantly first (8 months, the highest), and then dropped (24 months, the lowest) in a time-dependent manner, with significant difference in different age groups ($P<0.001$). cGMP content decreased significantly ($P<0.001$). ET-1 content showed a significantly increasing tendency. The ratio of ET-1/NO also increased significantly. After long time of feeding rats with L-arginine, NOS activity rose markedly, and NO and cGMP contents increased very significantly ($P<0.001$), but ET-1 content remained unchanged. Conclusion Relaxation and contraction of smooth muscle cells might depend on cGMP content and the ratio of ET-1/NO in penile tissue. L-arginine can enhance NOS activity and increase NO and cGMP contents, suggesting that L-arginine may have the potential clinical value in treatment of erectile dysfunction.

Key words: penile erection; aging; nitric oxide; endothelin-1; L-arginine

勃起功能障碍(erectile dysfunction, ED)是指持续不能获得或/和维持足够的使性生活满意的勃起("阳痿"一词可以包括多种性功能紊乱,已建议不再使用。)[1]。目前关于阴茎勃起机制及ED的研究有两种观点。一些学者认为:阴茎在去甲肾上腺素、内皮素及其它血管收缩因子作用下最初处于收缩状态,必须经过一系列复杂的过程逆转平滑肌收缩才能引起勃起;另一些学者认为单纯的血管扩张物质即可产生阴茎勃起,而NO是最重要的神经递质[2]。国内外学者通过大量的体内、外实验证实了NO在舒张平滑肌方面起重要作用,抑制cGMP降解的药物Sildenafil(一种磷酸二酯酶V型抑制剂)口服治疗勃起障碍,有明显疗效,cGMP增加主要是提高了勃起组织对舒张物质的反应性[3]。因此在强调NO的作用时,对海绵体平滑肌细胞舒缩状态也应引起重视。但收缩因素与阴茎勃起关系研究还不多,而ET-1是目前发现的最强血管收缩因子,其与NO间的平衡与ED的关系,目前少见报道。而L-Aginine作为NO的前体,通过口服途径给药对阴茎勃起有怎样的效果,目前研究尚较少。

1 材料与方法

1.1 研究对象

不同月龄(2、8、16、24月)健康、雄性Wistar大鼠,各16只

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30000063)
Supported by the National Natural Science Foundation of China (30000063)
作者简介:吴晓军(1970-),男,贵州省凯里市人,硕士,主治医师,讲师,主要从事男性勃起功能障碍方面的研究,发表论文7篇。电话:(023)68754186
收稿日期:2002-08-20;修回日期:2003-11-12

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

(由第三军医大学实验动物中心提供)。在月龄要求满足前约 8 周,将每个年龄组大鼠随机(随机数字表法)分为对照组、实验组,每组不同月龄各 8 只。实验组予 2.25% L-Arginine(溶于所饮水中)喂养 8 周,其余喂养同对照组。

1.2 主要试剂

NOS 活性测试盒(军事医学科学院放射医学研究所),NO 测定药盒(南京建成生物工程研究所),cGMP 放免测定药盒(上海中医药大学核医学研究室),ET-1 放免测定药盒(解放军总医院东亚免疫技术研究所),L-Arginine(上海康达氨基酸厂)。

1.3 实验方法

1.3.1 动物准备 领取某一年龄组大鼠 8 只,用戊巴比妥钠液(2%)腹腔注射(30 mg/kg)麻醉大鼠,下腹正中低位切口,仔细分离、解剖出阴茎组织,包括球部,去除龟头(含阴茎软骨)。

1.3.2 观测指标及测定方法 ①NOS 活性检测[4];②NO 含量测定,按试剂盒说明书进行;③ cGMP 含量测定,按试剂盒说明书进行;④ET-1 含量测定,按试剂盒说明书进行。

1.4 统计学处理

数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 Microsoft Excel 程序对数据进行统计学处理,根据不同情况行单因素方差分析、t 检验及线性相关分析。

2 结果

NOS 活性先升高后降低,其中 8 月龄最高,24 月龄最低,各年龄组间有显著差异;实验组 NOS 活性变化规律同对照组,其活性显著高于对照组。NO 含量变化与 NOS 活性变化一致,也是先增高后降低,8 月龄最多,24 月龄最少;实验组 NO 含量较对照组显著升高。阴茎组织中 cGMP 含量逐渐降低,各月龄组间差别显著;实验组与对照组比较 cGMP 明显升高。阴茎组织中 ET-1/NO 比值逐渐升高,除 8 月与 16 月相差比较显著外,余各月龄组差别非常显著;实验组与对照组比较,ET-1/NO 比值明显降低(表 1)。

表 1 L-Arginine 对不同月龄大鼠阴茎组织中 NO、NOS 活性、cGMP、ET-1、ET-1/NO 比值的影响($\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Effects of L-Arginine and senescence on NO, NOS activity, ET-1, cGMP, ET-1 and ET-1/NO in rat penile tissue ($\bar{x}\pm s$)

Group	NO(μg/g)		NOS activity(nmol·L^{-1}·min^{-1})		cGMP(pm/g)		ET-1(pg/g)		ET-1/NO	
	Control	Experiment	Control	Experiment	Control	Experiment	Control	Experiment	Control	Experiment
2 months	24.21±3.41 #	34.89±0.84 **	0.36±0.10 #	0.81±0.10 **	3.17±0.10 #	3.50±0.17 **	0.27±0.02 #	0.34±0.02 **	11.48±1.30 #	9.83±0.71 *
8 months	39.80±1.69 #	51.43±1.06 **	1.09±0.22 #	1.56±0.07 **	1.27±0.10 #	1.41±0.07 *	0.73±0.03	0.79±0.02	18.35±1.73 #	15.4±1.62 **
16 months	29.64±6.48 #	39.32±1.71 **	0.59±0.17 #	0.96±0.04 **	0.90±0.06 #	0.99±0.08 *	0.66±0.10	0.70±0.03	22.11±1.98	17.69±1.85 **
24 months	20.69±1.52 #	26.75±0.92 **	0.11±0.03 #	0.23±0.03 **	0.28±0.03 #	0.34±0.04 *	1.12±0.13 #	0.91±0.10 *	54.3±3.06 #	34.08±4.08 **

#: $P<0.01$, *vs* groups in control; *: $P<0.05$, **: $P<0.01$, *vs* control

3 讨论

3.1 衰老与 ED 的关系

在 ED 的病因中,年龄被认为是一显著的高危因素。Feldman 等[5]对 ED 的病因进行了多因素分析,包括年龄、伴发疾病、药物、吸烟、情绪、生活方式等,40~70 岁重度 ED 的发病率分别为 5%和 15%,而不同程度的 ED 发病率为 52%。Morley[6]曾报道 55 岁的男性有 8%发生 ED,到 65、75 和 80 岁时分别上升为 25%、55%、和 75%。更值得引起注意的是,人口老龄化趋势已越来越明显,据报道目前我国 60 岁以上老年人占总人口的 10%,且正逐年增加,而在日本、美国等发达国家,老年人所占比例更大,老年人的生活质量引起了世界性关注。而随龄增加出现的 ED 对老年男性生活质量影响很大,因此,对衰老与 ED 的关系进行研究相当必要,而目前这方面的研究还不多。

3.2 增龄与阴茎平滑肌细胞舒缩状态的关系

正常阴茎勃起很大程度上依赖于阴茎组织中足够的舒血管物质及正常的平滑肌细胞舒缩状态。血管舒张因子与血管收缩因子间的平衡对平滑肌状态有重要影响。其中,ET-1 与 NO 间的平衡可能起主要作用,另外,阴茎组织中 cGMP、cAMP 的含量也可能起一定作用。

ET-1 不仅具备血管收缩作用,而且具有血管扩张作用,与 NO 既对立又联系。Sullivan 等应用不同剂量 ET-1 注射于活体大鼠阴茎组织中,观察海绵体内压力的改变,发现小剂量 ET-1 有血管扩张效应,而大剂量 ET-1 有血管收缩效果,其血管扩张效应可能是 ETB 受体被激活而局部释放 NO 和 PGI_2 所致[7]。另有研究表明,NO 可抑制 ET 释放及其活性,应用 NOS 活性抑制剂可显著增加 ET-1 的缩血管作用,可见 NO 是 ET-1 缩血管的重要对抗因子[8]。ET-1 分泌可被 NO 抑制物加强,使用 SOD 延长 NO 半衰期或使用 cGMP 类似物可抑制凝血酶刺激的 ET-1 分泌。因此,NO 可能通过 cGMP 升高抑制 ET-1 分泌。还有人认为 NO 可促进 ET 由受体脱落,缩短 ET 作用时间,并认为 NO 是 ET-1 信号的闸门,NO 可以通过阻止 ET-1 与 ET 受体的结合抑制 ET-1 的终反应。正常情况下,ET 与 NO 的合成释放处于动态平衡,ET-1/NO 比值保持在一个较稳定的水平。

实验结果显示:随龄增加,NO 含量先升高后降低,8 月龄最高,24 月龄最低,NOS 活性变化与其一致,cGMP 含量表现为显著降低,ET-1/NO 比值逐渐升高。其中 8 月龄及 16 月龄大鼠 ET-1/NO 比值均相对恒定,而 2、24 月龄鼠与其相比差别显著。因此,正常的阴茎勃起可能需 cGMP 含量及 ET-1/NO 比值维持于一定的范围,以维持正常的平滑肌细胞舒缩状态。

3.3 L-Arginine 在防治 ED 时的作用

ED 的病因十分复杂,ED 的防治也非常棘手。当

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

传统的α受体阻滞剂育亨宾等逐渐被酚妥拉明、PGE1 及罂粟碱等新一代血管活性药物代替后, ED 的治疗也上了一新台阶。但海绵体注射有较多副作用, 如疼痛、局部纤维化等, 使较多患者难以坚持。因此, 探索理想的口服药物成为研究的热点。Sildenafil(Viagra, 伟哥)的临床应用获得较大成功, 较多患者服用此药后疗效明显。Sildenafil 是一种磷酸二酯酶 V 型抑制剂, 起抑制 cGMP 的降解、增加阴茎组织中 cGMP 含量的作用, 但 Sildenafil 也有不足, 在缺乏性唤起而产生内生性 NO、cGMP 时并不能导致阴茎勃起[9]。而 L-Aginine 作为 NO 的前体, 通过口服途径对阴茎勃起有怎样的效果, 目前研究尚较少。

作者对不同月龄大鼠采用 L-Aginine 进行了长时间超生理剂量喂养, 检测了阴茎组织中 NOS 活性、NO、cGMP 含量变化。发现 L-Aginine 喂养组中不同年龄组大鼠阴茎组织中 NOS 活性明显升高, NO、cGMP 含量显著增加, ET-1 变化不明显。可见, L-Aginine 主要影响了 NOS 活性及 NO 含量, cGMP 含量也出现了明显变化。关于 L-Aginine 的作用机制, 作者认为有以下几方面: ① L-Aginine 为 NOS 的底物, NO 的前体, 生理条件下 L-Aginine 含量有限, 当外源性补充后, 血浆及阴茎组织中 L-Aginine 都可能增多, 使 NO 产生增加; ②L-Arginine 可直接增加 NOS 活性。其可能与乙酰胆碱、P 物质作用相似, 刺激 NOS, 使其活性增高; ③cGMP 增加可能是 NO 增加的结果, 也可能是鸟苷酸环化酶活性增强。

因此, 在选用治疗 ED 的口服药物时, 联合应用 L-Arginine 及 Sildenafil, 既可使内生性 NO、cGMP 含量增加, 又可利用 Sildenafil 对勃起的放大作用, 对 ED 应是一种较理想的治疗方式, 但目前 L-Arginine 尚未正式用于临床。

参考文献:

[1] Anonymous. Impotence[J]. NIH consens statement, 1992, 10(4): 1—33.

[2] Saenz de Tejada Y Gorman I. Physiology of penile erection[J]. Arch Esp Urol, 1996, 49(3): 202—205.

[3] Goldstein I, Lue T F, Padma Nathan H, *et al*. Oral sildenafil in the treatment of erectile dysfunction. Sildenafil study group[J]. N Eng J Med, 1997, 338(20): 1397—1404.

[4] 吴晓军, 张家华, 金锡御. 增龄及喂养 L-精氨酸对大鼠阴茎组织 NOS 活性的影响[J]. 中华泌尿外科杂志, 1999, 20(6): 331.

[5] Feldman H A, Goldstein I, Hatzichristou D G, *et al*. Impotence and its medical and psychosocial correlates: results of the Massachusetts male aging study[J]. J Urol, 1994, 151(1): 54—61.

[6] Morley J E. Impotence[J]. Am J Med, 1986, 80(5): 897—902.

[7] Sullivan M E, Dashwood M R, Thompson D P, *et al*. Down-regulation of endothelin-B receptor sites in cavervosal tissue of hypercholesterolaemic rabbits[J]. Br J Urol, 1998, 81(1): 128—134.

[8] Jebugsberg D. Endothelin and reproduction[J]. J Clin Endocrinol Metab, 1992, 74(1): 12—13.

[9] Boolell M, Allen M J, Ballard S A, *et al*. Sildenafil: an orally active type 5 cyclic GMP-specific phosphodiesterase inhibitor for the treatment of penile erectile dysfunction[J]. Int J Imp Res, 1996, 8(2): 47—52.

(编辑　汪勤俭)

(上接 306 页)

腔镜系统放于患者头部。主刀医生立于病变部位的对侧。常规消毒铺单后, 在两乳晕上缘及两乳头连线中点处切口。右乳晕切口长 0.5 cm, 左乳晕及连线中点切口长 1.0 cm。依次切开皮肤、皮下组织及深筋膜层。插入气腹针, 注入适量 CO_2 气体, 切记压力不可过高, 以 5 mmHg 为宜。用剥离杆游离深筋膜层与胸壁及颈部之间间隙后放入穿刺导管鞘(trocar)。利用超声刀继续游离间隙, 在胸壁筋膜下造成一腔镜操作空间。超声刀游离、切断颈前肌群, 显露甲状腺, 切除包块。用 3-0 薇乔线缝合腺体创面及颈前肌群, 用等渗盐水冲洗创面后置一引流管于气管旁, 于右乳晕切口处引出, 清点器械、纱布后缝合切口。胸壁用多头腹带加压包扎[2]。

3　体会

利用腔镜行甲状腺腺瘤切除术, 切口符合美学要求, 同时具有出血少, 生理干扰小, 切口疼痛轻, 疤痕不明显及术后恢复快等微创外科治疗优点, 但经济花费稍大是其不足之处。腔镜手术要求术者必须熟悉了解局部解剖及熟练掌握同类手术的开放手术技术, 在具体的手术技巧上与腹腔镜胆囊切除术相比, 更应注意手术组的配合。要求手术室护士必须参加术前讨论并落实到实处, 配合护士应如同医生一般熟悉手术步骤, 掌握腔镜专用器材的合理使用。正确连接并常规检查各仪器的工作状态是否正常。由于整个手术是通过内窥镜摄像并显示在监视器荧光屏上进行操作, 为保证视野清晰, 腔镜头应擦防雾油或(和)术中应使用 80 ℃左右的热无菌盐水冲洗内窥镜物镜镜头, 防止镜头雾化, 以保持手术视野的清晰度, 并准备电吹风一个以备不时之需。洗手护士注意力需高度集中, 主动、正确、迅速地传递器械。由于手术器械长、操作者动作幅度大, 加上眼睛始终注视着监视器, 因而容易碰到自己的口罩或他人的臂膀而被污染, 洗手护士要加强台上的无菌监督和管理, 保持手术区域的无菌状态。本次手术采用的是美国强生公司生产的 10 mm 和 5 mm 剪刀型刀头(LCS)超声刀, 有切割精确、少烟少焦痂、手术时间短、安全可靠等优点, 使用频率为 55.5 kHz, 刀头振动幅度 50~100 μm, 功率输出设定为 3 档或 5 档, 以适合不同情况组织的切割[3]。

总之, 腔镜手术配合目前尚无固定模式, 所以在手术结束后配合护士应不断总结经验, 大胆探索, 摸索出一套行之有效的手术配合方案, 确保同类型手术的顺利进行。

关键词: 甲状腺腺瘤切除术; 腹腔镜; 手术配合
中图法分类号: R473.6　　文献标识码: B

参考文献:

[1] 谭　敏, 霍文逊. 中国现代微创外科的现状与存在的若干问题[J]. 中国内镜杂志, 1998, 4(3): 48—51.

[2] 贺金云, 李克军. 腔镜甲状腺手术的现状和前景[J]. 腹腔镜外科杂志, 2002, 7(1): 59—60.

[3] 王存川. 超声刀与电刀在腹腔镜外科手术中的应用[J]. 暨南大学学报, 2000, 21(6): 50—51.

(编辑　陈聪连)

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