DOI: 10.16016/j.1000-5404.1997.03.022

高血压病人血浆和肠系膜动脉平滑肌细胞中 NO与 ET-1的变化

陈 宇* 刘光耀 (第三军医大学附属大坪医院心血管内科) 重庆, 630042

提 要 目的: 探讨一氧化氮(NO),内皮素(ET)在原发性高血压(EH)发病机理中的作用。方法: 选择因腹部手术住院的患者 18例,其中 EH患者 9例,正常血压(NT)患者 9例,检测血浆 NO, ET水平,取肠系膜动脉行分离、消化后作血管平滑肌细胞(VSMC)培养,用一氧化氮合成酶阻断剂 N^G-单甲基-L-精氨酸(L-NMMA)干预,再检测培养上清 NO, ET水平。结果: EH组血浆及 VSMC培养上清中 NO水平较 NT组低,而 ET水平较 NT组高, L-NMMA可以促进 VSMC分泌 ET($P<0.01$)。结论: EH患者血管张力增高,可能与局部血管组织中 NO产生较少, ET产生较多,且 NO对 ET的抑制作用减弱有关。

关键词 高血压;一氧化氮;内皮素

中图法分类号 R544.1

一氧化氮(NO)具有广泛的生物学效应,在心血管系统中可以直接扩张血管并作为一种信使分子发挥重要作用。内皮素(ET)作为一种内源性血管收缩肽,具有强大的收缩血管升压作用。最近的研究表明,血管平滑肌细胞(VSMC)也可以释放 NO, ET,白介素-1可以诱导 VSMC一氧化氮合成酶的基因表达[1]。本实验拟进一步探讨 NO, ET在原发性高血压(EH)发病机理中的作用。

1 材料与方法

1.1 研究对象与分组。

高血压(EH)组: 病人来源于因腹部手术住院的 EH患者 9例,均为男性,平均年龄 62.3± 5.9岁(53~ 72岁),高血压Ⅰ-Ⅱ期,除外继发性高血压和其他急、慢性心肾疾患。

正常血压(NT)组: 选择因腹部手术住院,血压正常的男性患者 9例,年龄 60.5± 5.5岁(52~ 67岁),无高血压家族史,手术治疗的部位与 EH组相似,除外急、慢性心肾疾患。

1.2 方法与步骤

VSMC的分离,消化和培养: 参照文献[2]的方法略加修改。VSMC的计数与鉴定: 用台盼蓝法在光学显微镜下计数,鉴定采用特异的抗人 Actin免疫组化鉴定和透射电镜观察。

NO水平测定: 参照 Pascual[3]的方法,根据 NO_2^-与 Greiss试剂反应生成樱红色的原理,用酶标仪在 520 nm测定其吸光度的值。

ET-1浓度测定: 采取均相竞法直接测定 ET-1值, ET-1放免药盒由解放军总医院东亚免疫技术研究所生产,测定方法参照使用说明书的步骤进行。

1.3 统计学处理

所有数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,用 t 检验进行统计分析。

2 结果

2.1 血浆 NO_2^-、ET水平测定见表 1

表 1 血浆 NO_2^-、ET的改变

Tab 1 Changes of NO_2^- ET in the plasma

Group	n	NO_2^- (C_B/μmol L^{-1})	ET(ρ_B/pg $\cdot$ ml^{-1})
EH	9	16.31± 2.56△△	26.74± 5.45△△
NT	9	27.29± 3.83	11.37± 2.18

△△: $P<0.01$ vs NT

EH组 NO_2^-水平较 NT组明显减低($P<0.01$),而 ET水平较 NT组明显增高($P<0.01$)。

2.2 VSMC培养上清 NO_2^-, ET水平测定见表 2

表 2 培养 VSMC上清液 NO_2^-、ET变化

Tab 2 Changes of NO_2^-、ET in supernatant of cultured VSMC

Group	n	NO_2^- (C_B/μmol L^{-1})	ET(ρ_B/pg $\cdot$ ml^{-1})
EH	9	0.6± 0.14△△	20.5± 5.92△
NT	9	0.9± 0.11	15.7± 4.73

△: $P<0.05$,△△: $P<0.01$ vs NT

EH组 VSMC培养上清中 NO_2^-水平较 NT组明显减低($P<0.01$), ET水平较 NT组明显增高($P<0.05$)。

* 陈宇,男, 35岁,医师,硕士

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

2.3 白介素-1诱导后VSMC培养上清 NO_2^- 水平,见表3

表3 IL-1诱导后 VSMC产生 NO_2^- 值(μmol/L)

Tab 3 Production of NO_2^- from VSMC after IL-1 induction (μmol/L)

Group	n	Before induction	After induction(t/h)		
			6	12	24
EH	9	0.65±0.14△△	1.52±0.72△△**	1.88±0.65△△**	2.17±0.77△△**
NT	9	0.96±0.11	2.73±1.06*	3.18±0.79*	3.38±0.55*

△△: $P<0.01$ *vs* NT;** : $P<0.01$ *vs* before induction

EH组与 NT组经白介素-1诱导后、NO_2^- 水平在6 h均升高,24 h达到最高水平,但 EH在各时相点均低于 NT组($P<0.01$)。

2.4 L-NMMA对 VSMC分泌 ET的影响见表4

表4 L-NMMA对培养 VSMC分泌 ET的影响

Tab 4 Effect of L-NMMA on ET secretion of cultured VSMC

Group	n	L-NMMA concentration (C_B/L)			
		Control	10^{-5}mol	10^{-4}mol	10^{-3}mol
EH	9	20.5±5.92△	25.7±5.78*	27.2±6.03△**	30.1±5.95**
NT	9	15.7±4.73	21.6±5.21*	21.4±6.12*	29.6±6.31**

△: $P<0.05$ *vs* NT;* : $P<0.05$,** : $P<0.05$ *vs* control

经 L-NMMA干预后,EH组与 NT组 ET水平随 L-NMMA浓度的增高而增高,但 NT组增加的量较 EH组高($P<0.05$),在较高浓度(10^{-3}mol)时,两组 ET水平接近,相差不显著。

3 讨论

NO具有广泛的生物学效应,其中最主要的是调节血管舒缩功能,参与机体的免疫反应和在神经系统中作为信息传递分子。NO具有舒张血管与抗血小板聚集及粘附的功能,在心血管系统中可能是最简单的局部张力调节因子[4]。EH患者的血管对乙酰胆碱的扩血管反应减弱。近年来研究发现除了内皮细胞可以产生 NO外,VSMC也可以产生 NO。Charpie等[5]用去内皮的动脉环进行实验,研究血管平滑肌对去甲肾上腺素、乙酰胆碱、L-NMMA的反应,认为 VSMC通过自分泌方式产生 NO,维持血管张力。本实验结果表明,EH患者血浆及 VSMC中的 NO水平低于 NT组,加入一氧化氮合成酶诱导剂白介素-1后,两组的 NO水平均升高,但 EH组的增加量低于 NT组,由于血管壁组织中,VSMC的量远远大于内皮细胞,因此,血浆中的 NO、ET水平变化很可能决定于 VSMC的功能状态而不是内皮细胞。EH患者由于局部血管组织的自分泌,旁分泌功能紊乱,导致 NO产生通路的异常,使之体内总的 NO储备量低于正常,从而不能维持血管的舒张状态,导致血管痉挛。NO产生减少的原因可能与 EH患者存在着遗传缺陷,一氧化氮合成酶基因表达的量减少有关。

ET具有强大的收缩血管作用,是目前已知最强的血管收缩物质。ET对血管的影响现认为主要通过局部的自分泌或旁分泌机制而对血管平滑肌发挥作用[6]。ET除了在内皮细胞产生外,Hahn等报道 VSMC也可以产生并释放 ET,提示 VSMC也可通过自分泌方式调节血管的张力。本实验结果表明 EH患者血浆及 VSMC培养液中 ET水平高于 NT组,应用 L-NMMA抑制 NO合成后,NO产生减少,ET水平升高,且 ET浓度随 L-NMMA浓度的增加而增加。Auch-Schwelk等[7]研究了 ET与 NO的关系,认为 NO对 ET的抑制作用可能通过化学灭活而不是通过 cGMP或清除氧自由基的方式。正常情况下,机体 NO与 ET处于平衡状态。当机体尤其是局部血管组织中 NO减少时,ET作用增强,导致血管张力增加,血管阻力加大,最终导致高血压的发生。

EH的发病可能与全身尤其是局部血管组织中自分泌、旁分泌功能紊乱,NO/ET平衡失调,NO产生减少而 ET相对释放增多有关。

参考文献

1 Kanno K, Hirata Y, Imai T *et al*. Induction of nitric oxide

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

synthase gene by Interleukin in vascular smooth muscle cells. Hypertension, 1993; 22(1): 34
2 Yamori Y, Mano M, Nara Y *et al*. Catecholamine-induced polyploidization in vascular smooth muscle cells. Circulation, 1987; 75(SupplⅠ): 92
3 Pascual D W, Pascual V H, Bost K L *et al*. Nitric oxide mediates immune dysfunciton in the spontaneously hypertensive rat. Hypertension, 1993; 2(2): 185
4 Moncada S, Palmer R M J, Higgs E A. Nitric oxide: physiology pathophysiology and pharmacology. Pharmacol Rev, 1991; 43(2): 109
5 Charpie J R, Webb R C. Vascular myocyte-derived nitric oxide is an autocrine that limits vasoconstriction. Biochem Biophys Res Commun, 1993; 194(2): 763
6 Dzan V J, Gibbons G H, Cooke J P *et al*. Vascular biology and medicine in the 1990s: scope, concepts, potentials and perspectives, Circulation, 1993; 87(3): 705
7 Auch-Schwelk W, Katusic Z S, Vanhoutte P M. Nitric oxide inactivates endothelium-derived contracting factor in the rat aorta. Hypertension, 1992; 19(5): 442

(收稿: 1996-11-17;修回: 1997-04-27)
(编辑 张大春)

Changes of nitric oxide and endothelin in the plasma and mesenteric smooth muscle cells in patients with essential hypertension

Chen Yu, Liu Guangyao (Department of Cardiology, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 630042)

Abstract **Objective**: To explore the role of nitric oxide (NO) and endothelin (ET) in the pathogenesis of essential hypertension (EH). **Methods**: Eighteen patients undergone abdominal operation including 9 with EH and 9 without EH were selected, the levels of NO and ET in the plasma were measured. The mesenteric artery was then isolated and digested for culture of the vascular smooth muscle cells (VSMCs). The cultured VSMCs were treated with NG-monomethyl-L-arginine (L-NMMA), the inhibitor of NO synthase. Finally, the levels of NO and ET in the supernatant of cultured VSMCs were also measured. **Results**: The level of NO was significantly lower but that of ET was significantly higher in the plasma and supernatant of cultured VSMCs in patients with EH than in those without EH ($P < 0.01$ and $P < 0.05$~ 0.01). L-NMMA significantly increased ET level in all patients ($P < 0.01$). **Conclusion**: The higher vascular tone and blood vessel resistance in patients with EH might be due to decrease of NO and increase of ET.

Key words essential hypertension; nitric oxide; endothelin

27例心脏事件老年患者动态血压的改变特点分析

Analysis the ABP characters of 27 cases in aged patients with heart events

储 伟* 刘光耀 王旭开 杨成明 郭雅娟 (第三军医大学附属大坪医院心血管内科) 重庆, 630042

无创性全自动 24 h动态血压监测技术 (ABPM)已较广泛应用于临床,已有报道 ABPM对于预测与血压有关的心血管意外事件优于人工偶测血压[1,2]。但迄今,尚罕见以心脏事件的老年患者动态血压 (ABP)变化规律的报道,尤其是高血压病人心脏事件时血压的变化,以及谷 峰值的变化在心脏事件发作时的情况值得观察总结。因此,我们从 1994年 4月开始,观察了59例住院病人的动态血压和动态心电图,现报道如下。

1 对象和方法

1.1 观察对象

49例受试者均为我院住院病人,年龄 60~ 82岁,男性 28例,女性 21例,其中 27例为有心脏事件发作者,(劳力性心绞痛 17例, Holter(动态心电图)显示有明显 ST段降低), 不稳定性心绞痛 10例 (Holter显示仅运动后 ST段降低), 其余 32例为无心脏事件组,两者均是高血压患者。心脏事件包括: 劳力性心绞

(下转 250页)

* 储 伟,男,35岁,主管技师

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