

¹Klinika Kardiologii i Nadciśnienia Tętniczego, Szpital Kliniczny Nr 5 im. WAM w Łodzi²Klinika Kardiologii i Katedry Kardiologii i Kardiochirurgii Uniwersytetu Medycznego, Szpital Kliniczny Nr 3 im. S. Sterlinga w Łodzi

Wybrane parametry funkcji śródbłonna u chorych na niepowikłane nadciśnienie tętnicze z czynnikami ryzyka miażdżycy oraz bez nich

Selected parameters of endothelial function in patients with uncomplicated arterial hypertension and with risk factors of atherosclerosis

Summary

Background Selected parameters of endothelial function in patients with uncomplicated arterial hypertension and with risk factors of atherosclerosis.

Vascular endothelium dysfunction plays an important role in arterial hypertension pathogenesis. Its development is affected by the risk factors of atherosclerosis.

Evaluation of the concentration of nitric oxide metabolites (nitrites and nitrates-Nox) and endothelin-1 (ET-1) in plasma as well as cyclic 3.5 guanosine monophosphate (cGMP) in 24-hour urine collection in patients with uncomplicated arterial hypertension and without risk factors of atherosclerosis.

Material and methods The study comprised 45 subjects (30 men and 15 women) aged 45 ± 6.6 years, divided into 3 groups: I — controls (clinically healthy subjects), II — patients with arterial hypertension without risk factors of atherosclerosis and III — patients with hypertension and with risk factors of atherosclerosis. Plasma Nox concentration was determined with Griess method, plasma ET-1 with ELISA and cGMP in urine with immunoenzymatic method.

Results Plasma Nox concentration in group I was $15.86 \pm 6.32 \mu\text{mol/L}$, in group II — $18.62 \pm 5.84 \mu\text{mol/L}$, and in group III — $9.96 \pm 4.72 \mu\text{mol/L}$. The differences were statistically significant between groups I and III ($p < 0.05$). The concentration of cGMP in urine was in group I — $40 \pm 24 \text{ pmol/L}$, in group II — $54 \pm 41 \text{ pmol/L}$ and in group

III — $38 \pm \text{ pmol/L}$. The differences between the groups were statistically insignificant. The plasma ET-1 concentration was in group I — $3.83 \pm 0.69 \text{ pg/mL}$, in group II — $3.98 \pm 0.71 \text{ pg/mL}$ and in group III — $4.22 \pm 0.64 \text{ pg/mL}$. The differences were statistically significant between groups I and III, $p < 0.05$.

Conclusion In patients with uncomplicated arterial hypertension risk factors of atherosclerosis deteriorate significantly the function of vascular endothelium.

key words: arterial hypertension, nitrites and nitrates, cyclic GMP, endothelin-1, risk factors of atherosclerosis
Arterial Hypertension 2005, vol. 9, no 2, pages 118–125.

Wstęp

Śródbłonek naczyniowy jest życiowo ważnym autokrynnym i parakrynnym narządem, który reguluje napięcie naczyń i ich strukturę oraz proliferację komórek. Na jego powierzchni zachodzą interakcje komórkowe i hormonalne między krążącą krwią a ścianą naczyniową. Zmiany w generacji substancji naczyniorozszerzających bądź naczyniozwiązujących lub zmiany szybkości ich rozpadu bądź dyfuzji zwłaszcza do mięśni gładkich ściany naczyniowej lub komórek celowych mogą zmieniać jej napięcie [1]. Spośród czynników naczyniorozszerzających (tlenek azotu — NO, prostacyklina, czynnik hiperpolaryzujący peptyd natriuretyczny) istotną rolę odgrywa NO. Jego zmniejszone wytwarzanie lub ograniczenie biodostępności jest przyczyną skurczu naczyń i adhezji leukocytów

Adres do korespondencji: dr med. Aleksander Goch
Klinika Kardiologii i Nadciśnienia Tętniczego
ul. Zeromskiego 113, 90-549 Łódź
tel.: (042) 639-35-61

 Copyright © 2005 Via Medica, ISSN 1428-5851

Praca finansowana z działalności statutowej.

do śródbłonna, zwiększenia agregacji płytek krwi, powstawania zakrzepów oraz zwiększonej proliferacji komórek mięśni gładkich naczyń [2].

Tlenek azotu aktywuje rozpuszczalną cyklazę guanylową i powoduje wzrost stężenia cyklicznego guanozynomonofosforanu (cGMP) w komórkach docelowych, wywołując w efekcie rozszerzenie naczyń [3].

Spośród czynników naczyniozwiązujących wytwarzanych w śródbłonnku na uwagę zasługuje grupa peptydów zwanych endotelinami, z których największe znaczenie ma endotelina-1 (ET-1). Wywiera ona bezpośrednie działanie naczyniokurczące i powoduje proliferację mięśni gładkich naczyń oraz wpływa na uwalnianie czynników kurczących naczynia (katecholaminy, wazopresynę, angiotensynę II, tromboksan A₂ i cytokiny) [4].

Na syntezę i uwalnianie ET-1 oraz na generację NO wywierają wpływ liczne czynniki, między innymi czynniki rozwoju miażdżycy [5–7].

Celem podjętych badań było porównanie zachowania się stężenia metabolitów tlenu azotu (azotynów i azotanów — NO_x) w osoczu, cGMP w moczu w ciągu doby oraz ET-1 w osoczu u chorych na nie-

powikłane nadciśnienie tętnicze z innymi czynnikami ryzyka miażdżycy oraz bez nich.

Materiał i metody

Do badań zakwalifikowano 45 osób (30 mężczyzn i 15 kobiet) podzielonych na 3 grupy: I — 17 osób klinicznie zdrowych (grupa kontrolna), II — 12 osób z niepowikłanym nadciśnieniem tętniczym bez nadciśnienia i miażdżycy w wywiadzie rodzinnym oraz bez modyfikowalnych czynników ryzyka miażdżycy, III — 16 osób z nadciśnieniem tętniczym i z czynnikami ryzyka miażdżycy. Czas trwania nadciśnienia (od rozpoznania) w grupie II wynosił 44 ± 12 miesięcy, w grupie III — 56 ± 19 miesięcy. Szczegółową charakterystykę badanych przedstawiono w tabeli I.

Osoby zakwalifikowane do badań nie przechodziły w ciągu ostatnich 6 miesięcy chorób infekcyjnych, miały prawidłowe wyniki badań morfologicznych i OB. Z badań wyłączono osoby z klinicznymi objawami niewydolności serca, chorobami układu oddechowego, wątroby i nerek, chorobami gruczołów wy-

Tabela I. Charakterystyka badanych grup: I — grupa kontrolna, II — chorzy na nadciśnienie tętnicze bez czynników ryzyka miażdżycy, III — chorzy na nadciśnienie z czynnikami ryzyka miażdżycy

Table I. Characteristics of the investigated groups: I — the control group, II — patients with hypertension without risk factors of atherosclerosis, III — patients with hypertension with risk factors of atherosclerosis SBP and DBP (systolic and diastolic arterial pressure). HR — heart rate, BMI — body mass index, $\bar{x} \pm SD$ — arithmetical mean \pm standard deviations, n — number of the examined subjects

Parametry	Grupy		
	I n = 17	II n = 12	III n = 16
	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$
Wiek (lata)	44 ± 4,9	44 ± 7,1	47 ± 5,6
Płeć (M/K)	12/5	8/4	10/6
SBP [mm Hg]	118 ± 4,3	151 ± 9,8	158 ± 10,6
DBP [mm Hg]	80 ± 5,6	91 ± 5,7	97 ± 5,5
HR (uderzenia/min)	72 ± 4,4	82 ± 6,4	77 ± 6,6
BMI [kg/m ²]	23 ± 2,2	23,6 ± 3,8	28,2 ± 4,7
Hiperlipidemia (%)*	30,0	—	68,8
Palący tytoń (%)	29,4	—	50,0
Wywiad rodzinny (+)(%)	29,5	—	81,3
Zmiany na dnie oka według Keitha-Wegenera (%)	I° —	41,7	13,0
	II° —	58,3	68,2
	III° —	—	18,8

*stężenie cholesterolu całkowitego > 200 mg% (> 5,2 mmol/l), frakcji LDL > 130 mg% (> 3,4 mmol/l), triglicerydów > 150 mg% (> 1,7 mmol/l) SBP, *systolic blood pressure*, skurczowe i rozkurczowe ciśnienie tętnicze; DBP, *diastolic blood pressure*, rozkurczowe ciśnienie tętnicze; HR, *heart rate*, częstość akcji serca; BMI, *body mass index*, wskaźnik masy ciała; $\bar{x} \pm SD$ — średnie arytmetyczne \pm standardowe odchylenia; n — liczba badanych

dzielania wewnętrznego oraz z cukrzycą. W ostatnich 4 tygodniach przed badaniem chorzy nie przyjmowali żadnych leków.

W celu wykluczenia osób z nadciśnieniem białego fartucha chorzy wykonywali pomiary ciśnienia tętniczego 1–3 razy dziennie w domu przez okres 7–14 dni przed włączeniem do badań. Na 2–3 dni przed pobraniem krwi badani wyłączyli z diety mięso peklowane oraz konserwowane środki spożywcze. W dniu badania nie palili tytoniu. Pomiary ciśnienia tętniczego wykonywano metodą sfigmomanometryczną, w godzinach porannych, w pozycji siedzącej, w pomieszczeniu o temperaturze pokojowej, po 10 minutach odpoczynku. Pomiary ciśnienia wykonywano na lewym ramieniu 3-krotnie, w odstępach 3–4 minut. Jako wartość ciśnienia tętniczego przyjęto najmniejszą wartość uzyskaną podczas wykonywania 3 pomiarów. W kilka minut po pomiarach ciśnienia pobierano krew do badania z żyły odłokciowej prawej.

Oceniano następujące parametry:

1. stężenie azotynów i azotanów (NO_x) w osoczu;
2. stężenie cGMP w moczu w ciągu doby;
3. stężenie endoteliny-1 (ET-1).

Stężenie azotynów i azotanów (NO_x) w osoczu

Osocze po odwirowaniu przechowywano w temperaturze 80°C do czasu wykonania oznaczenia. Ocenę poziomu produkcji NO wykonano metodą Griessa opartą na kolorymetrycznym pomiarze produktów będących wynikiem 2-stopniowej reakcji [8]. Pierwszą jest reakcja NO_2 z kwasem sulfonowym, w wyniku której powstaje jon diazoniowy, który z kolei reaguje z drugą cząsteczką kwasu sulfonowego, tworząc barwny związek N-1-naftylo-etylenodiaminę. Wielkość absorpcji (przy $\lambda = 560$ nm) powstałego związku jest wprost proporcjonalna do jego stężenia, a tym samym substratu reakcji — NO_2 — i pośrednio do stężenia NO. Stężenie NO_2^- będące wynikiem sumy NO_2^- (produktu oksydacji NO), jak i NO_2^- powstałego w reakcji redukcji NO_3^- do NO_2^- przez reduktazę nitroniową jest równe molowo ilości NO syntetyzowanego podczas różnych procesów w organizmie człowieka.

Stężenie cGMP w moczu w ciągu doby

Ocenę stężenia cGMP przeprowadzono metodą kompetycyjnego (konkurencyjnego) wiązania cGMP zawartego w dobowej zbiórce moczu próbki badanej i znakowaną fosfatazą zasadową króliczym poliklonalnym cGMP przy użyciu komercyjnego zestawu firmy R&D. System (MN, Stany Zjednoczone). Wielkość absorpcji jest odwrotnie proporcjonalna do ilości cGMP w badanej próbce. Czulość metody

(MDC, *minimum detectable concentration*) wynosi $0,4$ pmol/ml. Badania wykonano zgodnie z instrukcją podaną przez producenta. Odczyt absorpcji przeprowadzono metodą 2-punktowego pomiaru ($\lambda = 405$ nm — filtr odczytu, $\lambda = 570$ nm — filtr referencyjny). Krzywą kalibracji (semiologarytmiczną) oraz wyliczenie stężeń wykonano za pomocą aparatu i oprogramowania firmy MRX Dyner Technology.

Stężenie endoteliny-1 (ET-1)

Ocenę stężenia endoteliny-1 przeprowadzono metodą ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Test*) przy użyciu komercyjnego zestawu firmy R&D System (MN, Stany Zjednoczone). Materiał przechowywano w temperaturze 80°C do czasu wykonania oznaczenia. Czulość metody (MDC) wynosi 1 pg/ml. Badania wykonano zgodnie z instrukcją podaną przez producenta. Odczyt absorpcji przeprowadzono metodą 2-punktowego pomiaru $\lambda = 450$ nm — filtr odczytu, $\lambda = 630$ — filtr referencyjny). Krzywą kalibracji (semiologarytmiczną) oraz wyliczenie stężeń wykonano przy użyciu aparatu i oprogramowania firmy MRX Dyner Technology.

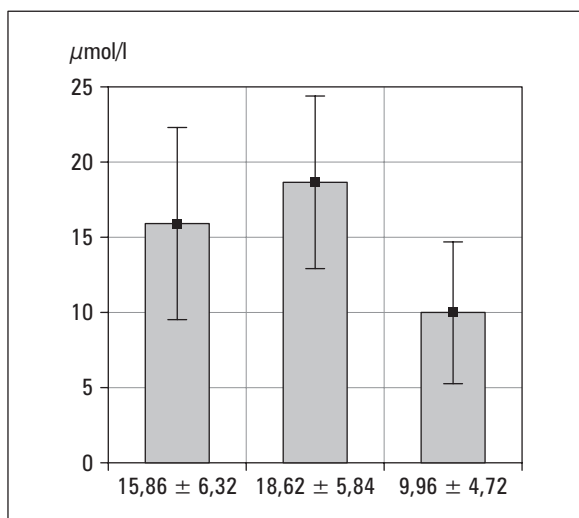
Analiza statystyczna danych

Dla wszystkich badanych grup wyliczono wartości średnie oraz odchylenie standardowe. W celu sprawdzenia zgodności uzyskanych wyników w obrębie grupy z rozkładem normalnym wykorzystano weryfikację statystyczną Kołmogorowa-Smirnowa z poprawką Liffieforsa. Weryfikację statystyczną wartości oczekiwanych pomiędzy różnymi układami doświadczalnymi przeprowadzono testem *t*-Studenta ewentualnie Cohrana-Coxa (wybór testu zależał od wyniku analizy testu wariancji — test Fishera-Snedecora) z przyjętym założeniem (w przypadku braku zgodności z rozkładem normalnym), że rozkład badanej cechy jest zgodny z rozkładem normalnym. Różnice istotne statystyczne przyjęto na poziomie istotności $p \leq 0,05$.

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę uczelnianej Komisji Bioetyki nr 03/99 i 45/01.

Wyniki

Zakres wartości stężeń NO_x w osoczu grupy kontrolnej wyniósł $6,82$ – $29,1$ $\mu\text{mol/l}$ (średnio $15,86 \pm 6,32$ $\mu\text{mol/l}$), u chorych na nadciśnienie tętnicze bez czynników ryzyka miażdżycy $6,73$ – $32,4$ $\mu\text{mol/l}$ (średnio $18,62 \pm 5,84$ $\mu\text{mol/l}$), u chorych na nadciśnienie tętnicze z czynnikami ryzyka miażdżycy $4,12$ – $18,7$ $\mu\text{mol/l}$ (średnio $9,96 \pm 4,72$ $\mu\text{mol/l}$). Stężenie NO_x u chorych na nadciśnienie tętnicze bez



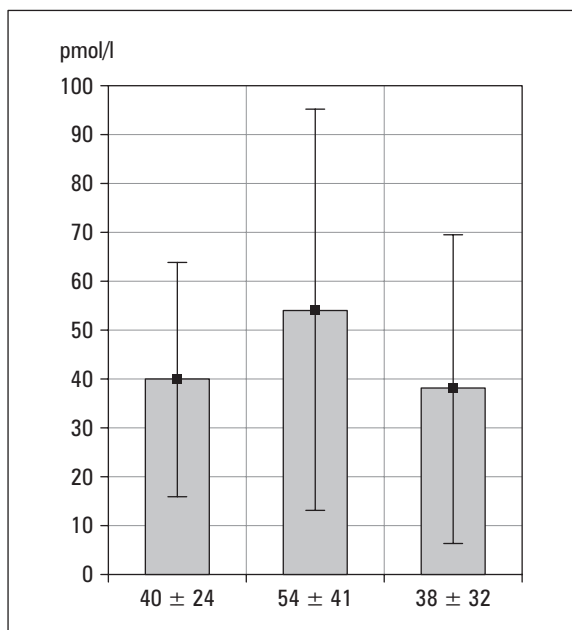
Rycina 1. Stężenie azotynów i azotanów w osoczu u osób z grupy kontrolnej (I), u chorych na nadciśnienie tętnicze bez czynników ryzyka miażdżycy (II) i u chorych na nadciśnienie tętnicze z czynnikami ryzyka miażdżycy (III) (średnie arytmetyczne ± odchylenia standardowe)

Figure 1. Concentration of nitrites and nitrates in plasma of subjects from the control group (I), in patients with hypertension without risk factors of atherosclerosis (II) and in patients with hypertension with risk factors of atherosclerosis (III) (arithmetical mean ± standard deviations)

czynników ryzyka było wyższe, jednak statystycznie nieistotnie w porównaniu ze stężeniem NO_x u osób w grupie kontrolnej, natomiast u chorych na nadciśnienie tętnicze z czynnikami ryzyka miażdżycy było istotnie mniejsze w porównaniu z wartościami w grupie kontrolnej i wartościami u osób chorych na nadciśnienie tętnicze bez czynników ryzyka miażdżycy ($p < 0,05$) (ryc. 1).

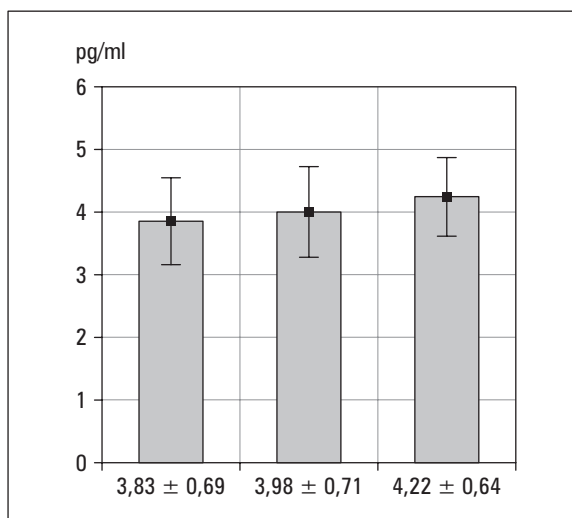
Zakres wartości stężeń cGMP w grupie kontrolnej wynosił 18–75 pmol/ml (średnio 40 ± 24 pmol/ml), u chorych na nadciśnienie tętnicze bez czynników ryzyka 27–108 pmol/ml (średnio 54 ± 41 pmol/ml), u chorych na nadciśnienie tętnicze z czynnikami ryzyka miażdżycy 16–84 pmol/ml (średnio 38 ± 32 pmol/ml). Różnice między grupami nie były istotne statystycznie ($p > 0,05$) (ryc. 2).

Zakres wartości stężeń ET-1 w osoczu grupy kontrolnej wynosił 2,76–4,61 pg/ml (średnio $3,83 \pm 0,69$ pg/ml), u chorych na nadciśnienie tętnicze bez czynników ryzyka miażdżycy 2,74–5,90 pg/ml (średnio $3,98 \pm 0,71$ pg/ml), u chorych na nadciśnienie tętnicze z czynnikami ryzyka miażdżycy 3,06–6,06 pg/ml (średnio $4,22 \pm 0,64$ pg/ml). Stężenie ET-1 u chorych na nadciśnienie tętnicze bez czynników ryzyka miażdżycy było większe, jednak statystycznie nieistotnie w porównaniu ze stężeniem ET-1 u osób



Rycina 2. Stężenie cGMP w dobowej zbiórce moczu u osób z grupy kontrolnej (I), u chorych na nadciśnienie tętnicze bez czynników ryzyka miażdżycy (II) i u chorych na nadciśnienie tętnicze z czynnikami ryzyka miażdżycy (III) (średnie arytmetyczne ± odchylenia standardowe)

Figure 2. Concentration of cGMP in 24-hour of subjects from the control group (I), in patients with hypertension without risk factors of atherosclerosis (II) and in patients with hypertension with risk factors of atherosclerosis (III) (arithmetical mean ± standard deviations)



Rycina 3. Stężenie endoteliny-1 w osoczu u osób z grupy kontrolnej (I), u chorych na nadciśnienie tętnicze bez czynników ryzyka miażdżycy (II) i u chorych na nadciśnienie tętnicze z czynnikami ryzyka miażdżycy (III) (średnie arytmetyczne ± odchylenia standardowe)

Figure 3. Concentration of endothelin-1 in plasma of subjects from the control group (I), in patients with hypertension without risk factors of atherosclerosis (II) and in patients with hypertension with risk factors of atherosclerosis (III) (arithmetical mean ± standard deviations)

w grupie kontrolnej, natomiast u chorych z czynnikami ryzyka miażdżycy było istotnie wyższe w porównaniu z wartościami w grupie kontrolnej i wartościami u osób chorych na nadciśnienie tętnicze bez czynników ryzyka miażdżycy ($p < 0,05$) (ryc. 3).

Dyskusja

W różnych modelach doświadczalnych nadciśnienia tętniczego, jak i w nadciśnieniu tętniczym u ludzi wykazano upośledzenie śródbłonkowo-zależnej relaksacji naczyniowej [9].

W badaniach na szczurach SHR (*spontaneously hypertensive rats*) Chen i wsp. [10] stwierdzili wyższe wartości spoczynkowe ciśnienia tętniczego i oporu naczyniowego w porównaniu ze szczurami WKY (*Wistar-Kyoto rats*) z prawidłowymi wartościami ciśnienia. Blokowanie uwalniania NO przez różne dawki L-NMMA powodowało większy wzrost ciśnienia u szczurów SHR niż u szczurów WKY. Podobnie Yamazaki i wsp. [11] stwierdzili większą odpowiedź presyjną u szczurów SHR niż u szczurów WKY po blokowaniu uwalniania NO przez L-NMMA, ale w starszych grupach wiekowych zwierząt. Fozard i wsp. [12] po blokowaniu uwalniania NO różnymi dawkami L-NMMA nie wykazali różnicy wzrostu ciśnienia tętniczego i oporu obwodowego w tętnicy nerkowej, szyjnej i krezkowej oraz tułowia szczurów SHR i WKY, co może sugerować, że zmniejszenie NO-zależnego napięcia naczyń nie jest głównym czynnikiem konstytucyjnym nadciśnienia. Nava i wsp. [13] stwierdzili, że aktywność Ca^{2+} zależnej syntezy NO (eNOS) była 2–3 razy większa w komórkach śródbłonka szczurów z genetycznie uwarunkowanym nadciśnieniem, co może być mechanizmem kompensacyjnym dla wysokiego ciśnienia tętniczego. Selektywne usunięcie śródbłonka zmniejszało aktywność eNOS.

Bouloumié i wsp. [14] w nadciśnieniu doświadczalnym wywołanym podwiązaniem aorty przez pierwsze 2 tygodnie od podwiązania nie obserwowali istotnych zmian w relaksacji aorty ani w ekspresji NOS III (eNOS) w aorcie i mikrokrążeniu wieńcowym, natomiast stwierdzili wzrost (1,9 razy) generacji anionorodnika ponadtlenkowego (O_2^-) w podwiązanej aorcie. Po 6 tygodniach nie obserwowali dalszego wzrostu O_2^- , natomiast wzrastała zawartość białka NOS III i mRNA w aorcie i komórkach krążenia wieńcowego, natomiast śródbłonkowo zależne rozszerzenie naczyń było znacznie obniżone w aorcie i krążeniu wieńcowym. Ich zdaniem wzrost generacji O_2^- i jego reakcja z NO prowadzi do wytwarzania nadtlenoazotynu, który może być jednym z czynników dysfunkcji śródbłonka. Również Ferrer i wsp. [15] wykazali

w tętnicach krezkowych starych szczurów SHR wzrost uwalniania neuronalnego NO i zwiększenie generacji O_2^- . Poprzez tworzenie nadtlenoazotynu obniżała się biodostępność NO, co ostatecznie prowadziło do efektów prooksydacyjnych z następowym działaniem presyjnym. Potwierdzają to badania młodych osób z nadciśnieniem tętniczym, u których stwierdzono obniżenie stężenia NO_x w osoczu, wzrost stężenia peroksydacji lipidów i obniżenie protekcyjnej pojemności antyoksydacyjnej osocza [16]. Liczne badania (m.in. [17, 18]) wskazują, że u chorych z nadciśnieniem tętniczym istnieje defekt w wytwarzaniu lub biodostępności tlenu azotu (NO), który przynajmniej w części może się wiązać z uszkodzeniem śródbłonkowo-zależnej odpowiedzi naczynioruchowej i wzrostem oporu obwodowego.

Taddei i wsp. [19] u osób z prawidłowymi wartościami ciśnienia tętniczego i wywiadem nadciśnienia tętniczego w rodzinie po dotętnicznym podaniu acetylocholino i nitroprusydku sodu wykazali mniejszą, zależną od śródbłonka odpowiedź naczyniorozszerzającą w porównaniu z osobami bez rodzinnego wywiadu w kierunku nadciśnienia. Powyższe dane sugerują, że dysfunkcja śródbłonka może poprzedzać wystąpienie nadciśnienia tętniczego. Potwierdzeniem tych obserwacji mogą być badania Žižek i wsp. [20], którzy wykazali metodą ultrasonograficzną zmniejszenie przepływu na tętnicy ramiennej u chorych z nadciśnieniem i potomstwa chorych na nadciśnienie w porównaniu z grupą kontrolną przy porównywalnej średnicy naczynia w warunkach podstawowych. Po podaniu triazotanu glicerolu przepływ zwiększył się, ale był mniejszy u chorych na nadciśnienie niż w grupie kontrolnej, a u potomstwa z rodzinnym obciążeniem przepływ był porównywalny do obserwowanego w grupie kontrolnej osób młodych.

O'Connor i wsp. [21] stwierdzili, że u młodych osób z prawidłowym ciśnieniem tętniczym z wywiadem nadciśnienia w rodzinie w porównaniu z osobami bez takiego wywiadu występuje obniżenie filtracji kłębuszkowej, zmniejszenie wydalania z moczem azotynów i azotanów (NO_x) bez zmian stężenia w cGMP w moczu. Powyższe badania sugerują, że u osób z genetycznie uwarunkowanym nadciśnieniem tętniczym istnieje pierwotnie uszkodzona funkcja relaksacyjna śródbłonka. Potwierdzeniem tej sugestii mogą być przeprowadzone badania własne, w których nie stwierdzono obniżenia NO_x w osoczu u chorych na nadciśnienie tętnicze bez rodzinnego wywiadu w kierunku nadciśnienia.

Stwierdzony wzrost stężenia NO_x w osoczu u osób z nadciśnieniem bez czynników ryzyka miażdżycy, aczkolwiek statystycznie nieznamienisty w porównaniu z osobami z grupy kontrolnej może być potwier-

dzeniem wpływu czynników ryzyka miażdżycy na rozwój dysfunkcji śródbłonna naczyniowego [5, 6].

Palenie tytoniu zmniejsza wytwarzanie NO i śródbłonkowo zależne rozszerzenie naczyń [22]. Node i wsp. [23] wykazali, że nawet umiarkowane palenie powoduje obniżenie NO_x w surowicy krwi żyłnej. Potwierdziły to badania Poręby i wsp. [6], którzy stwierdzili obniżenie NO_x w surowicy krwi, zarówno w grupie kontrolnej, jak i u osób z miażdżycą tętnic wieńcowych u palących tytoń. U osób otyłych stężenie NO_x w warunkach podstawowych nie ulega zmianie [24], co może się wiązać z jednoczesną stymulacją wytwarzania NO i ET-1 w hiperinsulinemii, która towarzyszy otyłości [25]. Istotny wpływ na dysfunkcję śródbłonna wywiera hiperlipidemia. Creager i wsp. [26] po dotętnicznym podaniu metacholiny (uwalnia NO) i nitroprusydku sodu (bezpośrednio stymuluje cyklazę guanylową) obserwowali zmniejszenie maksymalnego przepływu krwi na przedramieniu u osób z hipercholesterolemią w porównaniu z osobami z grupy kontrolnej. Chowieńczyk i wsp. [27] stwierdzili, że u osób z hipercholesterolemią średni przepływ krwi na przedramieniu po podaniu acetylocholino wyniósł 52% przepływu grupy kontrolnej. Badania Ohary i wsp. [28] wskazują, że pogorszenie relaksacyjnej funkcji śródbłonna jest związane ze wzrostem generacji rodnika ponadtlenkowego O₂⁻ u osób z hipercholesterolemią, który może inaktywować NO, powodując tworzenie nadtlenoazotynu. Potwierdzają to badania doświadczalne, w których wykazano, że dieta obniżająca cholesterol poprawia naczyniorozszerzającą odpowiedź na acetylocholinę i obniża tworzenie O₂⁻ [29].

Stężenie cGMP w dobowej zbiorce moczu nie różniło się istotnie w badanych grupach. Również Bragulat i wsp. [30] nie obserwowali zmian stężenia cGMP w osoczu i w moczu u chorych z nieleczonym nadciśnieniem, będących na diecie zarówno wysoko-, jak i niskosodowej. Mourlon-Le Grand i wsp. [31] wykazali, że zawartość cGMP w ścianie tętnicy była większa u szczurów SHR niż WKY. Usunięcie śródbłonna powodowało większą redukcję cGMP u szczurów SHR niż WKY, co sugeruje zwiększoną aktywność cGMP u szczurów SHR.

Doniesienia dotyczące stężenia ET-1 w osoczu chorych z nadciśnieniem tętniczym nie są jednoznaczne — obserwowano zarówno jego wzrost [32] jak i wartości nieodbiegające od obserwowanych u osób zdrowych [33]. Zdaniem Kosickiej i wsp. [34] bardziej miarodajne wyniki uzyskuje się, oznaczając ET-1 w moczu. W badaniach własnych u osób z nadciśnieniem tętniczym bez czynników ryzyka stwierdzono nieznaczny wzrost stężenia ET-1 w osoczu, zaś istotny u osób z nadciśnieniem tętniczym i czynnikami ryzyka miażdżycy [7].

Badanie Lermana i wsp. [35] wskazuje, że endogenna endotelina (-y) jest potencjalnym naczyniokurczącym hormonem, biorącym udział w regulacji funkcji układu sercowo-naczyniowego, nerkowego i endokrynnego. Na jej wytwarzanie wpływa wiele czynników [4]. Poręba i wsp. [6] wykazali istotnie wyższe stężenia endoteliny w surowicy krwi mężczyzn zarówno w grupie kontrolnej, jak i w grupie pacjentów z chorobą wieńcową palących tytoń. Cardillo i wsp. [7] stwierdzili znamiennej korelację między wskaźnikiem masy ciała (BMI, *body mass index*) i naczyniorozkurczowymi efektami blokady receptora endoteliny (ET_A) u chorych na nadciśnienie; nie obserwowali tego w grupie kontrolnej. Ferri i wsp. [36] wykazali istotne obniżenie stężenia endoteliny przy zmniejszeniu BMI. Nadciśnieniu tętniczemu i otyłości towarzyszą hiperinsulinemia i insulinooporność. Wykazano znamiennej korelację między stężeniem ET-1 i insuliny u chorych z nadciśnieniem i otyłością oraz u osób otyłych z prawidłową masą ciała [36]. Również u osób z hipertriglicydemią obserwuje się wyższe stężenia ET-1. Należy zaznaczyć, że hiperinsulinemia i hipertriglicydemia wykazują synergistyczny wpływ na produkcję ET-1 [37].

Reasumując, należy stwierdzić, że u osób chorych na nadciśnienie tętnicze istotne znaczenie w dysfunkcji śródbłonna naczyniowego mają czynniki ryzyka rozwoju miażdżycy.

Wnioski

Czynniki ryzyka miażdżycy (nadciśnienie tętnicze w wywiadzie rodzinnym, palenie tytoniu, nadmierna masa ciała, hiperlipidemia) wywierają istotny wpływ na dysfunkcję śródbłonna naczyniowego, wyrażający się zmniejszonym wytwarzaniem tlenu azotu i zwiększoną produkcją endoteliny-1.

Streszczenie

Wstęp Istotne znaczenie w patogenezie nadciśnienia tętniczego ma dysfunkcja śródbłonna naczyniowego. Na jej rozwój wywierają wpływ czynniki ryzyka miażdżycy.

Celem badania była ocena zachowania się stężenia metabolitów tlenu azotu (azotynów i azotanów — NO_x) oraz endoteliny-1 (ET-1) w osoczu i cyklicznego 3,5 guanozynomonofosforanu (cGMP) w dobowej zbiorce moczu u chorych na niepowikłane nadciśnienie tętnicze z czynnikami ryzyka miażdżycy oraz bez nich.

Materiał i metody Do badań zakwalifikowano 45 osób (30 mężczyzn i 15 kobiet) w wieku $45 \pm 6,6$ roku, których podzielono na 3 grupy: I — kontrolna (osoby klinicznie zdrowe), II — osoby z naciśnieniem tętniczym bez czynników ryzyka miażdżycy i III — osoby z naciśnieniem i z czynnikami ryzyka miażdżycy. Oznaczano stężenie NO_x w osoczu metodą Griessa, ET-1 w osoczu metodą ELISA oraz cGMP w moczu metodą immunoenzymatyczną.

Wyniki Stężenie NO_x w osoczu w grupie I — $15,86 \pm 6,32 \mu\text{mol/l}$, w grupie II — $18,62 \pm 5,84 \mu\text{mol/l}$, w grupie III — $9,96 \pm 4,72 \mu\text{mol/l}$. Różnice istotne statystycznie stwierdzono między grupami I i III oraz II i III ($p < 0,05$). Stężenie cGMP w dobowej zbiorce moczu wynosiło w grupie I — $40 \pm 24 \text{ pmol/l}$, w grupie II — $54 \pm 41 \text{ pmol/l}$ i w gr. III — $38 \pm 32 \text{ pmol/l}$. Różnice między grupami były nieistotne statystycznie. Stężenie ET-1 w osoczu wynosiło w grupie I — $3,83 \pm 0,69 \text{ pg/ml}$, w grupie II — $3,98 \pm 0,71 \text{ pg/ml}$ i w grupie III — $4,22 \pm 0,64 \text{ pg/ml}$. Różnice były nieistotne statystycznie.

Wnioski U chorych na niepowikłane naciśnienie tętnicze istotny wpływ na pogorszenie funkcji śródbłonna naczyniowego wywierają czynniki ryzyka miażdżycy.

słowa kluczowe: naciśnienie tętnicze, azotyny i azotany, cykliczny GMP, endotelina-1, czynniki ryzyka miażdżycy

Naciśnienie Tętnicze 2005, tom 9, nr 2, strony 118–125.

Piśmiennictwo

- Harrison D.G. Cellular and molecular mechanisms of endothelial cell dysfunction. *J. Clin. Invest.*, 1997; 100: 2153–2157.
- Liao J.K. Endothelium and acute coronary syndromes. *Clin. Chem.* 1998; 44: 1799–1808.
- Ganz P., Davies P.F., Leopold J. A., Gimbrone M.A., Alexander R.W. Short- and long-term interactions of endothelium on vascular smooth muscle in coculture: effect on cyclic GMP production. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1986; 83: 3552–3556.
- Levin E.R. Endothelins. *N. Engl. J. Med.* 1995; 333: 356–363.
- Cassino P.R., Kilcoyne C.M., Quyyumi A.A., Hoeg J.M., Panza J.A. Role of nitric oxide in the endothelium — dependent vasodilatation in hypercholesterolemic patients. *Circulation* 1993; 88: 2541–2547.
- Poręba R., Skoczyńska A., Derkacz A. Wpływ palenia tytoniu na czynność śródbłonna u mężczyzn z miażdżycą tętnic wieńcowych serca. *Pol. Arch. Med. Wewn.* 2004; 111, 1: 27–36.
- Cardillo C., Campia U., Iantorno M., Panza J.A. Enhanced vascular activity of endogenous endothelin-1 in obese hypertensive patients. *Hypertension* 2004; 43: 35–40.
- Miles A.M., Wink D.A., Cook J.C., Grisham M.B. Determination of nitric oxide using fluorescence spectroscopy. *Methods Enzymol.* 1996; 268: 105–120.
- Lüscher T.F. The endothelium in hypertension: bystander, target or mediator? *J. Hypertens* 1994; 12 (supl. 10): S105–S116.
- Chen H.I., Hu C.T. Endogenous nitric oxide on arterial hemodynamics: a comparison between normotensive and hy-

perensive rats. *Am. J. Physiol.* 1997; 273 (Heart Circ. Physiol. 42): H1816–H1824.

11. Yamazaki J., Fujita N., Nagao T. N^G -monomethyl-L-arginine induced pressor response at development and established stages in spontaneously hypertensive rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1991; 259: 52–57.

12. Fozard J.R., Part M.L.: Haemodynamic responses to N^G -monomethyl-L-arginine in spontaneously hypertensive and normotensive Wistar-Kyoto rats. *Br. J. Pharmacol.* 1991; 102: 823–826.

13. Nava E., Noll G., Lüscher T.F. Increased activity of constitutive nitric oxide synthase in cardiac endothelium in spontaneous hypertension. *Circulation* 1995; 91: 2310–2313.

14. Bouloumié A., Bauersachs J., Linz W. i wsp. Endothelial dysfunction coincides with an enhanced nitric oxide synthase expression and superoxide anion production. *Hypertension* 1997; 30: 934–941.

15. Ferrer M., Sanchez M., Minoves N., Salaices M., Balfagon G. Aging increases neuronal nitric oxide release and superoxide anion generation in mesenteric arteries from spontaneously hypertensive rats. *J. Vasc. Res.* 2003; 40: 509.

16. Turi S., Friedman A., Bereczki C. i wsp. Oxidative stress in juvenile essential hypertension. *J. Hypertens.* 2003; 21: 145–152.

17. Panza J.A., Quyyumi A.A., Brush J.E. Jr, Epstein S.E. Abnormal endothelium — dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *N. Engl. J. Med.* 1990; 323: 22–27.

18. Panza J.A., Casino P.R., Kilcoyne C.H., Quyyumi A.A. Role of endothelium — derived nitric oxide on the abnormal endothelium — dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *Circulation* 1993; 87: 1468–1474.

19. Taddei S., Vindis A., Mattei P., Arzilli F., Salvetti A. Endothelium — dependent forearm vasodilatation is reduced in normotensive subjects with familial history of hypertension. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1992; (supl. 12): S193–S195.

20. Žizek B., Poredoš P., Videčnik V. Endothelial dysfunction in hypertensive patients and in normotensive offspring of subjects with essential hypertension. *Heart* 2001; 85: 215–217.

21. O'Connor D.T., Tyrell E.A., Kailasam M.T., Miller L.M., Martinez J.A., Henry R.R. Early alteration in glomerular reserve in humans at genetic risk of essential hypertension: mechanisms and consequences. *Hypertension* 2001; 37: 898–906.

22. Barua R.S., Ambrose J.A., Eales-Rynolds L.J., DeVoe M.C., Zervas J.G., Saha D.C. Dysfunctional endothelial nitric oxide biosynthesis in healthy smokers with impaired endothelium — dependent vasodilatation. *Circulation* 2001; 104: 1905–1910.

23. Node K., Kitakaze M., Yoshikawa H., Kosaka H., Hori M. Reversible reduction in plasma concentration of nitric oxide induced by cigarette smoking in young adults. *Am. J. Cardiol.* 1997; 79: 1538–1541.

24. Yugar-Toledo J.C., Tanus-Santos J.E., Sabha M. i wsp. Uncontrolled hypertension, uncompensated type II diabetes, and smoking have different patterns of vascular dysfunction. *Chest* 2004; 125: 823–830.

25. Cardillo C., Nambi S.S., Kilcoyne C.M. i wsp. Insulin stimulates both endothelin and nitric oxide activity in the human forearm. *Circulation* 1999; 100: 820–825.

26. Creager M.A., Cooke J.P., Mendelsohn M.E. i wsp. Impaired vasodilation of forearm resistance vessels in hypercholesterolemic humans. *J. Clin. Invest.* 1990; 86: 228–234.

27. Chowieńczyk P.J., Watts G.F., Cockcroft J.R., Ritter J.M. Impaired endothelium-dependent vasodilation of forearm resistance vessels in hypercholesterolaemia. *Lancet* 1992; 340: 1430–1432.

28. Ohara Y., Peterson T.E., Harrison D.G. Hypercholesterolemia increases endothelial superoxide anion production. *J. Clin. Invest.* 1993; 91: 2546–2551.

29. Ohara Y., Peterson T.E., Sayegh H.S., Subramanian R.R., Wilcox J.N., Harrison D.G. Dietary correction of hypercholesterolemia in the rabbit normalizes endothelial superoxide anion production. *Circulation* 1995; 92: 898–903.
30. Bragulat E., de la Sierra A., Antonio M.T., Jemenez W., Urbano-Marquez A., Coca A. Effect of salt intake on endothelium-derived factors in a group of patients with essential hypertension. *Clin. Sci.* 2001; 101: 73–78.
31. Mourlon-Le Grand M.C., Benessiano J., Levy B.I. cGMP pathway and mechanical properties of carotid artery wall in WKY rats and SHR: role of endothelium. *Am. J. Physiol.* 1992; 263 (Heart Circ. Physiol. 32): H61–H67.
32. Kohno M., Yasunari K., Murakowa K. Plasma immunoreactive endothelin in essential hypertension. *Am. J. Med.* 1990; 88: 614–618.
33. Miyauchi T., Yanagisawa M., Lida K. Age- and sex-related variation of plasma endothelin-1 concentration in normal and hypertensive subjects. *Am. Heart J.* 1992; 123: 1092–1093.
34. Kosicka T., Kara-Perz H., Głuszek J. Oznaczanie endotheliny-1 (ET-1) w moczu chorych z nadciśnieniem tętniczym pierwotnym. *Nadciśnienie Tętnicze* 2004; 8: 239–243.
35. Lerman A., Hildebrand F.L.Jr., Aarhus L.L., Burnet J.C. Jr. Endothelin has biological actions at pathophysiological concentrations. *Circulation* 1991; 83: 1808–1814.
36. Ferri C., Pittoni C., Desideri G. i wsp. Plasma endothelin 1 levels in obese hypertensive and normotensive men. *Diabetes* 1995; 44: 431–436.
37. Piatti P.M., Monti L.D., Conti M. i wsp. Hypertriglyceridemia and hyperinsulinemia are potent inducers of endothelin-1 release in humans. *Diabetes* 1996; 45: 316–321.