

血管内皮源性超极化因子的功能以及在肺移植外科的临床意义

邹 卫 综述

【摘 要】 血管内皮细胞通过由血管内皮细胞所释放的一些特殊的、能使血管达到舒张的舒张因子来调节血管局部的血液动力学状态。这些舒张因子是一氧化氮(NO), 前列环素(PGI₂)以及内皮源性超极化因子(EDHF)。尽管 EDHF 的作用已在多种动脉血管中被证实, 但其确切的化学本质并未完全明了。高钾溶液可减少其 EDHF 介导的舒张功能。本文综述了有关 EDHF 的作用、功能以及与肺移植外科领域相关的资料。

【关键词】 内皮源性超极化因子; 肺; 移植

在血管内血液与血管内壁之间有一层非常菲薄的细胞-血管内皮细胞。血管内皮细胞对于调节血管局部的血液动力学状态起着决定性的作用, 而这种作用是通过由血管内皮细胞所释放的一些特殊的物质来达到的。1980 年, Furchgott 和 Zawadzki 通过实验发现, 乙酰胆碱(Ach)对离体动脉的舒张作用依赖于内皮细胞的存在, 这种作用是由一种不稳定的、最初被称为内皮源性舒张因子(endothelium-derived relaxation factor, EDRF)的物质所介导。此后, 较多学者采用多种血管活性物质, 并在多种血管中重复了他们创造性的发现。EDRF 是通过激活可溶性鸟嘌呤环化酶(guanylate cyclase, GC), 增加环磷酸鸟苷(cyclic guanosine monophosphate, c-GMP)水平来舒张血管平滑肌的, 这一作用机理与外源性硝基扩血管剂相同, EDRF 和一氧化氮(NO)一样能被超氧阴离子清除。根据上述类似的药理作用, Furchgott 和 Ignarro 在 1988 年证实, EDRF 就是 NO 自由基或者是与 NO 密切相关的成份, 可引起离体血管内皮依赖性舒张。在发现内皮依赖性舒张作用后不久, 采用多种花生四烯酸代谢物抑制剂进行的药理学研究结果表明, 动脉及内皮活性介质间的功能联系至少存在三种不同途径, 除 NO 外, 还涉及前列环素(prostacyclin)的合成。在相关实验中, 使用环氧化酶抑制剂吲哚美辛(indomethacin, INDO), 排除内源性前列腺素类血管扩张剂合成的影响; 同时使用 NO 合成酶抑制剂 N^G-硝基-L-精氨酸(N^G-nitro-L-arginine, L-NNA)以及 NO 捕捉剂氧合血红蛋白(oxyhemoglobin, HbO), 排除 NO 的作用。这些研究指出除 NO 和前列环素外, 内皮细胞还释放第三种扩血管物质, 即血管内皮源性超极化因子(endothelium-derived hyperpolarizing factor,

EDHF)。

1 有关 EDHF 的研究途径及方法

1.1 器官小室法 将取下的猪(犬、兔等)肺置于 Krebs' 溶液中解剖出肺微动脉(PA), 选用左或右上叶 PA 第 7 级的分支, 直径 200~450 μ m。在显微镜下仔细切除 PA 周围的肺静脉, 细支气管已及肺泡组织, 并将其切成 2mm 长的血管段。在显微镜下用两根直径 40 μ m 的细钢丝分别由血管内径通过两段内皮完整的血管段, 将钢丝固定于充满 Krebs' 溶液的肌张力描记装置(Mulvany-Myograph 500A)的器官小室中, 该装置可自动将血管标准化^[1,2]。标准化时, 肌张力描记装置可自动牵引钢丝将血管向其直径方向以 2 毫牛顿(mN)的拉力拉长, 到达 2mN 时自动放松, 至其跨壁压为 40mmHg 时, 自动将牵引钢丝放松至血管跨壁压为 40mmHg 时其直径的 90%, 此时血管跨壁压约为 30mmHg, 类似肺微血管正常功能时的生理状态。血管用血栓素类似物(thromboxane A₂, U₄₆₆₁₉)收缩肺微动脉, 使用下列抑制剂抑制 PGI₂ 和 NO: INDO, L-NNA 和 HbO。当 U₄₆₆₁₉引起的微血管收缩曲线达到平台后, 观察缓激肽(BK), 钙离子载体 A₂₃₁₈₇或 11, 12 环氧-二十碳三烯酸(EET_{11,12})诱导的 EDHF 介导的舒张曲线。这一舒张功能可以肯定由 EDHF 诱发, 因为 NO 和 PGI₂ 均被 INDO、L-NNA 和 HbO 所抑制^[2,4]。

1.2 电生理法 将实验动脉段纵向切开, 固定于充满 Krebs' 溶液的器官小室中, 内皮面向上。用玻璃微电极(为一中空的玻璃管, 内充满 3M 氯化钾溶液, 其尖端的电阻为 30~80M Ω), 记录实验动脉(含内皮或不含内皮)的血管平滑肌的跨膜电位, 通过血管平滑肌的跨膜电位的变化, 计算出 EDHF 引起的超级化反应。与器官小室法相同, 用 INDO、L-NNA 和 HbO 抑制 NO 和 PGI₂^[4]。这一实验的机制与

的稳定电位平均为 -55mV ;而当血管内皮细胞完整时, $\text{Ach}(10^{-5}\text{M})$ 可引起实验动脉的完全舒张及暂时性膜电位超极化($-5.1 \pm 1.2\text{mV}$)。去除动脉内皮细胞可抑制由 Ach 诱导的超极化作用和舒张作用。很显然,由于 NO 和 PGI_2 均被 INDO 、 L-NNA 和 HbO 所抑制,这一舒张及超极化功能可以肯定由 EDHF 诱发。支持这个理论的另一方面的依据是,有 INDO 存在的条件下,超极化仍然存在,表明不涉及 PGI_2 的作用;且用其他实验方法也证明排除了涉及 NO 的可能性。

1.3 灌流-串联式灌流血管生物测试法 将实验动脉段的两个开口用微小的塑料管连通固定于充满 Krebs 溶液的器官小室中,管腔内有测试液通过。同上述实验一样,用 INDO 、 L-NNA 和 HbO 阻断 NO 和 PGI_2 。当血管内皮存在时, $\text{Ach}(10^{-5}\text{M})$ 可引起实验血管可逆性舒张,对无内皮存在的血管平滑肌无此作用。

2 P-450单胺氧化酶(EET)和EDHF

尽管 EDHF 的作用已在多种动脉血管中被证实,但其确切的化学本质并未完全明了。近年来的部分实验研究认为,由花生四烯酸代谢的 P-450 单胺氧化酶(EETs)是一种 $\text{EDHF}^{[5]}$ 。 EETs 是一种血管舒张因子,广泛存在于周围动脉特别是小动脉中,诸如小肠、脑、肾、冠状动脉,以及一些微血管如肾脏的阻力动脉 $^{[6]}$ 。 EETs 通过开放钙激活性钾通道(KCa)使血管平滑肌细胞超极化。研究已经显示, EDHF 可能支持和加强 NO 的作用,特别是在 NO 介导的舒张被高胆固醇血症、高血压、糖尿病等病理状态损伤时。多次研究也已经证实,对冠状动脉及冠状微动脉,高钾溶液可减少其 EDHF 介导的舒张功能。

以往的研究发现, EDHF 的作用机制与 EETs 有关 $^{[6]}$,事实上,在 EDHF 和 EETs 之间有许多类似之处。例如,这两种物质均能被血管内皮细胞合成;当刺激内皮细胞依赖性血管舒张释放的因子存在时,均能从血管内皮细胞内释放出来;均能松弛血管平滑肌细胞。邹卫等研究发现 $^{[7]}$,在相关实验结果表明在猪冠状微血管 $\text{EET}_{11,12}$ 只能部分模拟 EDHF 介导的舒张功能;并不支持 $\text{EET}_{11,12}$ 是一种 EDHF 。同时,在猪冠状微血管 $\text{EET}_{11,12}$ 加入高钾溶液能部分恢复 EDHF 介导的舒张功能;当用 37°C 高钾溶液($\text{K}^+ 20\text{mM}$)孵育猪冠状微动脉1小时,明显减少 BK 诱导的舒张功能,这一结果与以往实验结果相同 $^{[1,4]}$ 。将 $\text{EET}_{11,12}$ 加入高钾溶液孵育1小时,

脏停搏液能减少 EDHF 介导的冠状动脉的功能,这样可能减少在再灌注期间冠状动脉的再灌注,于高钾的心脏停搏液加入能够模拟 EDHF 的内皮功能的药物如 EETs ,至少可能部分恢复被高钾溶液减少的内皮功能。

3 高钾溶液减少EDHF诱发的舒张及其机制

无论是心脏停搏液或肺移植外科中使用的器官保护液,高浓度的钾均是其主要成分,较多研究指出;高钾可能影响内皮细胞的功能。通过反复实验我们已经证明,高钾对猪及人冠状动脉 1,7 ,及冠状微动脉 $^{[1]}$ (阻力动脉)内皮细胞中的 EDHF 介导的功能均有所影响,这是因为高钾使冠状动脉平滑肌膜电位去极化而 EDHF 使其超极化。研究已经发现提出高钾也影响猪肺微动脉 EDHF 的作用机制,这表明高钾对 EDHF 机制的影响是非血管类型依赖性的。正如前述所提到的,高钾存在于许多临床使用的各种溶液中,故高钾对 EDHF 机制的影响有重要的临床意义。

4 EDHF在肺移植领域中的作用

在器官移植手术中,供体器官的血管内皮细胞直接接触器官保护液,而器官保护液对供体器官血管内皮细胞的影响往往涉及手术的远期效果。器官保护液的主要成份之一是高浓度的钾,高钾溶液对人及猪的冠状动脉内皮细胞有明显的损伤作用已经充分肯定 $^{[1,7]}$ 。 Eur-Collin's (EC) 及 $\text{University of Wisconsin (UW)}$ 是细胞内液型冷器官保存液,分别被77%和25%的医疗中心用于临床肺移植手术,这两种溶液均是高钾溶液,钾离子的浓度分别高达115和125 mM,如此高的钾离子对内皮的功能一定会产生影响,UW溶液已被证实能减少内皮依赖性的血管平滑肌细胞舒张并导致内皮功能降低 $^{[8]}$ 。然而,这两种溶液有着多种成份,对内皮功能的影响也是多源性和极其复杂的,特别是对猪肺微动脉 EDHF 介导的舒张是否有影响目前尚无定论;故进一步阐明肺微血管内皮的功能,探讨器官保护液对供体器官血管内皮细胞的影响有着重要的临床意义。尽管已有研究提出,温和的低温(10°C)更有助于肺的保护,但在实际的临床工作中 10°C 的温度往往难以维持,故临床上常采用较低的温度进行灌注,在肺移植外科,灌注液多选用 4°C 的低温,以使其代谢率减少至80%~90%。另外,肺移植手术过中,肺的保护包括肺实质及肺血管保护两个方面,对肺移植肺的保护以往均未将重点放在肺血管特别是肺微血管的内皮细胞的研究上,尤其是在 EDHF 介

这些成份之间相互亦可能存在影响,故很难确认这两种溶液对内皮细胞功能的影响到底是何种原因。邹卫等认为,EC 或 UW 这类高钾溶液在低温状态下作为器官保护溶液损伤 EDHF 介导的舒张实际上也即损伤内皮细胞的功能已经得到证实^[9];即用低温 EC 和 UW 溶液保存猪肺组织 4 小时可明显减少 BK 或 A₂₃₁₈₇ 诱发 EDHF 介导微血管舒张。这一结果提示在临床肺移植手术过程中,尽量缩短冷缺血时间,减少 EC 或 UW 溶液对供肺的接触,是提高肺移植手术效果的有效措施之一。对肺循环而言,微动脉是主要阻力血管,肺移植手术供肺保存期间,减少 EDHF 介导的舒张可能在肺灌注期间通过增加肺动脉的阻力,减少肺动脉的血流,从而进一步影响供肺的功能。该研究对器官移植外科中供肺的保护提供了一个新的领域,如何减少供肺保存液对肺组织特别是肺微血管的影响,探索一种更好的供肺保存方法,必将有利于改善临床肺移植的远期疗效。

综上所述,当 NO 及 PGE₂ 的作用被抑制,EDHF 即成为许多血管床的主要舒张因子。EET_{11,12} 可能部分恢复被高钾损伤的 EDHF 介导的舒张功能。该理论同样可涉及肺移植的临床应用,在肺微循环中,高钾溶液、EC 或 UW 溶液损伤的 EDHF 介导的舒张功能,进一步影响移植肺的功能。高钾损伤 EDHF 介导的舒张功能对肺移植中肺保护液的临床应用研究也开辟了新的视野。

参 考 文 献

- 1 Ge ZD, He GW. Altered endothelium-derived hyperpolarizing factor-mediated endothelial function in coronary microarteries by St

- Thomas' Hospital solution. J Thorac Cardiovasc Surg 1999; 118: 173-180.
- 2 Ge ZD, Zhang XH, Peter CW Fung. Endothelium-dependent hyperpolarization and relaxation resistance to NG-nitro-arginine and indomethacin in coronary circulation. Cardiovasc Res. 2000; 46: 547-556.
- 3 He GW, Liu ZG. Comparison of nitric oxide release and endothelium-derived hyperpolarizing factor-mediated hyperpolarization between human radial and internal mammary arteries. Circulation, 2001, 104(Suppl 1): I344-349.
- 4 Liu ZG, Ge ZD, He GW. Difference in endothelium-derived hyperpolarizing factor-mediated hyperpolarization and nitric oxide release between human internal mammary artery and saphenous vein. Circulation, 2000, 102(suppl III): III296-III301.
- 5 Triggie CR, Dong H, Wakhon GJ, Cole WC. Endothelium-derived hyperpolarization factor(s): species and tissue heterogeneity. Clin Exp Pharmacol Physiol, 1999, 26: 176-179.
- 6 Li PL, Chen CL, Bortell R et al. Campbell. 11, 12-epoxyeicosatrienoic acid stimulates endogenous mono-ADP-ribosylation in bovine coronary arterial smooth muscle. Circ Res, 1999, 85: 349-356.
- 7 Zou W, Yang Q, Anthony PC Yim, He G-W. Epoxyeicosatrienoic acids (EET_{11,12}) may partially restore endothelium-derived hyperpolarizing factor-mediated function in coronary micro-arteries. Ann Thorac Surg, 2001, 72: 1970-1976.
- 8 Ge ZD, He GW. Comparison of University of Wisconsin and St Thomas' Hospital solutions on endothelium-derived hyperpolarizing factor-mediated function in coronary micro-arteries. Transplantation, 2000, 70: 22-31.
- 9 Zou W, Yang Q, Anthony PC Yim, He GW. Impaired EDHF-mediated relaxation in porcine pulmonary micro-arteries by cold storage with University of Wisconsin and Euro-Collins solutions. Circulation, 2001, 104(Suppl 17): II-395.

(收稿日期: 2002-11-12)

授予国家级“继续医学教育”学分

自 2004 年本刊开设“继续医学教育”栏目,邀请国内、外知名专家撰稿。主要介绍呼吸系统疾病的病因、发病机制、诊断、治疗等研究进展。为广大临床医师创造一个继续学习,并获得继续医学教育学分的机会。每期设一个专题,全年 6 个专题。授予“中华医学会继续医学教育”学分 6 分。

欲参加者请报名。报名时请寄证书费 10 元,学费 150 元(含邮费、资料费、报名费)。汇款时请注明“继续医学教育”字样。