

· 临床研究 ·

一氧化氮和内皮型一氧化氮合成酶与血管迷走性晕厥发病的关系

石贇, 田宏, 桂永浩, 何岚

(复旦大学附属儿科医院, 上海 200032)

[摘要] 目的 探讨一氧化氮和内皮型一氧化氮合成酶与儿童血管迷走性晕厥发病的关系。方法 血管迷走性晕厥患儿14例(A组), 其他原因引起晕厥患儿10例(B组), 健康志愿者20例(C组)。于倾斜试验(HUT)前和倾斜不同时间测定A组与B组患儿的血浆一氧化氮(NO)水平, 同时对3组儿童进行内皮型一氧化氮合成酶(eNOS)基因G894T多态性检测。结果 ①A组患儿出现阳性反应时血浆NO水平较平卧时显著升高(76.7 ± 9.6 vs $90.0 \pm 11.4 \mu\text{mol/L}$, $P < 0.05$); ②A组患儿在症状好转后血浆NO水平较试验前显著降低(82.7 ± 9.2 vs $61.5 \pm 6.9 \mu\text{mol/L}$, $P < 0.01$); ③B组患儿倾斜时血浆NO水平较平卧时差异无显著性; ④A、B两组患儿的血压、心率变化与NO水平无显著相关性; ⑤A组患儿eNOS基因G894T突变型基因频率显著高于B组与C组(42.9% vs 10%, $P < 0.05$)。结论 倾斜体位时血浆NO水平异常升高可能参与了血浆血管迷走性晕厥的发病机制, 而其升高水平可能与eNOS基因G894T多态性表达有关。
[中国当代儿科杂志, 2008, 10(4): 478-480]

[关键词] 血管迷走性晕厥; 一氧化氮; 内皮型一氧化氮合成酶; 直立倾斜试验; 儿童

[中图分类号] R54 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2008)04-0478-03

Association of nitric oxide and eNOS with the pathogenesis of vasovagal syncope

SHI Yun, TIAN Hong, GUI Yong-Hao, HE Lan. Children's Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China (Email: imulashi@msn.com)

Abstract: Objective To investigate the roles of nitric oxide (NO) and eNOS in the pathogenesis of vasovagal syncope (VVS). **Methods** Fourteen children with VVS (group A), 10 children with syncope other than vasovagal (group B) and 20 healthy volunteers (group C) were enrolled. Plasma NO levels in groups A and B were determined before and at the termination of the head-up tilt table test (HUT). The G894T polymorphism within the eNOS gene was determined in the three groups. **Results** Plasma NO levels in group A increased significantly when syncope attacked from $76.7 \pm 9.6 \mu\text{mol/L}$ (before HUT) to $90.0 \pm 11.4 \mu\text{mol/L}$ ($P < 0.05$). After the syncope attack was improved, plasma NO level in group A was significantly reduced. There were no statistical differences in plasma NO levels before and after the HUT in group B. Determining the G894T polymorphism within the eNOS gene showed that group A was associated with a higher incidence of the GT gene type as compared to groups B and C (42.9% vs 10%; $P < 0.05$). **Conclusions** Plasma NO may be involved in the pathogenesis of VVS. The increased plasma NO level may be associated with the G894T polymorphism of the eNOS gene.
[Chin J Contemp Pediatr, 2008, 10(4): 478-480]

Key words: Vasovagal syncope; Nitric oxide; Endothelial nitric oxide synthase; Head-up tilt table test; Child

血管迷走性晕厥(vasovagal syncope, VVS)是儿童晕厥最常见的病因^[1,2], 但该病的病因尚不明确。目前普遍认为B-J反射学说是VVS发生的主要机制^[3]: VVS患儿在心脏前负荷减少时, 产生过强的儿茶酚胺反应, 刺激左室后下壁的压力感受器C纤维, 刺激信号传至延髓的血管调节中枢, 引起反射性交感神经活动减弱, 迷走神经活性增强, 继而出现以

低血压表现为主, 可伴心动过缓为特征的晕厥。由于自主神经活性与心血管功能的调节与许多神经递质分子和血管活性分子有关, 近年来越来越多的研究关注于VVS发病的分子机制。NO是一种强烈的舒张血管物质, 与血管舒张功能、血压的关系密切, 而血管舒张功能异常是VVS重要的发病原因与表现^[4], 由此推测NO可能与VVS发病有关。也曾有

[收稿日期]2007-10-22; [修回日期]2007-11-24

[作者简介]石贇, 女, 硕士, 住院医师。主攻方向: 心内科。

[通讯作者]桂永浩, 教授, 复旦大学附属儿科医院, 邮编: 200032。

学者提出 NO 参与 VVS 发病^[5],但相关研究仍较少。eNOS 是内皮细胞合成 NO 的限速酶,在高血压、冠心病等心血管疾病的相关研究中,eNOS 基因已经被予以特别的关注。但关于 eNOS 基因与 VVS 的关系尚未见报道。本研究通过观察 NO/eNOS 系统与 VVS 的关系,进一步探讨 VVS 的发病机制。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选择 2006 年 4 月至 2007 年 3 月在上海复旦大学附属儿科医院就诊的以“晕厥”为主诉的患儿 24 例,其中 VVS 患儿 14 例(A 组),其他病因引起晕厥的患儿 10 例(B 组,包括癫痫 8 例、低血糖 1 例及精神心理疾病 1 例)。A 组患儿的诊断参考文献^[6],所有患儿进行详细病史询问与体格检查,接受心电图、24 小时动态心电图、脑电图、睡眠脑电图、空腹血糖及头颅 CT 检查等,排除器质性心脑血管疾病及其他疾病引起的晕厥,并且直立倾斜试验(head-up tilt table test, HUT)阳性。另外选择同期就诊的无心血管或神经系统疾病儿童 20 例为基因检测志愿者(C 组)。

1.2 HUT 方法

本研究中 HUT 方案参考 2001 年欧洲晕厥诊治指南设计。受检者在检查前禁食 8~10 h,最后一餐食物不含咖啡因,检查前 1 周内未服用血管活性药物至少 5 个半衰期以上。检查过程中保持环境安静、温度适宜、光线柔和,受检者心情平静。基础试验:受检者平卧休息 10 min 后将倾斜床缓慢倾斜至 70 度,观察患儿自觉症状与体征,持续观察 45 min,并记录心率、血压值的改变,如出现阳性表现随时结束试验,反之继续行药物加强试验。加强试验:保持倾斜状态下舌下含服硝酸甘油 3~5 μg/kg(最大 0.3 mg),持续观察 25 min,如出现阳性表现随时结束试验,反之则试验结果阴性。阳性表现指在试验过程中出现以下任一项:晕厥;晕厥前兆,可伴血压心律改变;血压下降:收缩压下降 ≥ 50% 或 < 80 mmHg,舒张压 < 50 mmHg 或者平均压下降 25% 以上;心律失常:心率减慢 ≤ 原有心率 70% 或窦性心动过缓 < 50 次/min,或窦性停搏 ≥ 3 s,一过性 II° 房室传导阻滞或交界性心律,包括逸搏心律。

1.3 NO 检测方法

对 A 组与 B 组患儿进行 HUT,分别在平卧位时、A 组患儿出现阳性表现时及 B 组患儿在试验结束前倾斜位时抽取受试者空腹静脉血 2 mL,肝素抗

凝后分离血浆,-70℃ 冰箱保存待检 NO 浓度。NO 浓度检测采用改良镉柱层析还原法。

1.4 eNOS 基因 G894T 多态性检测方法

采集 A 组、B 组与 C 组儿童的空腹静脉血 0.5 mL,2% EDTA50 μL 抗凝,-70℃ 冰箱保存待检 eNOS 基因 G894T 多态性。eNOS 基因 G894T 多态性采用基因芯片检测结合 PCR 体外扩增技术检测。由上海百傲科技有限公司提供 BaiO BE 系列基因芯片检测仪与基因芯片检测所需的试剂。具体操作步骤及结果计算严格按照说明书进行。

1.5 统计学处理

所有数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,用 *t* 检验、方差分析等分析, $P < 0.05$ 有统计学意义。所有结果在 SPSS11.5 统计分析软件上处理。

2 结果

2.1 血浆 NO 水平测定结果

A 组中 10 例出现阳性反应时血浆 NO 水平较平卧时显著升高($P < 0.05$),(表 1),另外 4 例患儿在试验过程中出现晕厥,对其进行相应处理,待症状好转后进行血浆 NO 水平检测,发现较试验前显著降低(82.7 ± 9.2 vs 61.5 ± 6.9 μmol/L, $P = 0.01$);B 组 10 例在倾斜时血浆 NO 水平较平卧时差异无显著性(表 1)。平卧位时 VVS 组与对照组的血浆 NO 水平差异无显著性,倾斜时 VVS 组高于对照组,但无统计学意义。受检者的血压、心率变化与 NO 浓度无显著相关性(表 2)。

表 1 HUT 中血浆 NO 浓度的变化 (μmol/L)

分组	例数	倾斜前平卧时	阳性或终止时
A 组	10	76.7 ± 9.6	90.0 ± 11.4 ^a
B 组	10	84.3 ± 10.3	80.3 ± 9.1

a:与组内平卧时比较, $t = -2.354, P < 0.05$

表 2 血压、心率与 NO 浓度的相关性分析

	血浆 NO 浓度	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
收缩压	0.999	0.324
舒张压	0.533	0.470
心率	0.783	0.382

2.2 eNOS 基因 G894T 多态性检测结果

研究组的 eNOS 基因 G894T 突变型基因频率显著高于对照组($P < 0.05$),(表 3)。

表3 eNOS 基因 G894T 突变基因型频率 例(%)

分组	基因型频率		
	例数	GG	GT
A 组	14	8(57.1)	6(42.9)
B 组 + C 组	30	27(90)	3(10) ^a

a: 与 A 组比较, $\chi^2 = 6.334, P < 0.05$

3 讨论

NO 是由内皮细胞分泌的血管内源性舒张因子,与血压调节关系密切。本研究结果显示,在 HUT 过程中, A 组患儿发生 VVS 先兆症状时血浆 NO 浓度显著增高,患儿恢复正常后血浆 NO 浓度显著下降,而 B 组患儿的血浆 NO 浓度无明显改变;平卧时 A 组与 B 组的血浆 NO 浓度差异无显著性,倾斜时 A 组血浆 NO 浓度高于 B 组,但无统计学意义。以上结果提示 NO 浓度异常升高是 VVS 发病的重要原因。VVS 患儿在各种原因(如长时间维持倾斜体位)引起回心血量减少、动脉压下降时,交感神经过度兴奋并分泌儿茶酚胺^[7,8],大量儿茶酚胺刺激内皮细胞产生 NO 增加,使 VVS 患儿血管内皮依赖性舒张功能增强,血管的异常舒张加剧静脉池淤血,促使 B-J 反射发生,同时造成血压进一步下降最终发生 VVS。在恢复平卧位及快速补液等促进血容量增加的措施后,内皮细胞停止过度合成分泌 NO,血管收缩功能增强,一方面阻断 B-J 反射,另一方面使血压升高,最终 VVS 症状恢复。

NO 通过影响血管舒张功能调节血压,因此其与血管抑制型 VVS 患儿发病的关系可能更为密切。但本研究中受检者血压的变化与 NO 无显著关系,这可能与样本量太小有关。

eNOS 是内皮细胞合成 NO 的限速酶,eNOS 基因多态性是影响 eNOS 合成 NO 的重要因素,直接决定体内 NO 的水平,从而影响动脉血压。eNOS 基因在人类染色体上定位于 7q35-q36 区,跨度约 21 kb,含有 26 个外显子和 25 个内含子,相应的信使核糖核酸(mRNA)约 4.1 kb,翻译生成含 1 203 个氨基酸的蛋白产物。被认为与心血管疾病有关的 eNOS 基因多态性位点之一位于第 7 外显子上,由于 894 位碱基 G 突变成 T(G894T),导致相应蛋白产物第 298 位上的谷氨酸被替换成天冬氨酸(Glu 298Asp)。基于 eNOS 基因 G894T 多态性与内皮细胞合成 NO、血压调节均密切相关,VVS 发病可能也

与之有关,但目前国内外均未见有关的报道。本研究发现,携带突变型等位基因者 VVS 的发病率明显增高,提示 eNOS 的 G894T 多态性表达与 VVS 发病有关。在高血压的相关研究中 G894T 变异基因型被认为是血管痉挛的重要危险因素,其机制可能是由于 Glu 298Asp 的变异,使 eNOS 蛋白的构象发生改变、酶的活性降低,从而使体内 NO 合成减少、血管紧张性升高,最终造成患者高血压病发病^[9]。这似乎与本研究的发现相矛盾,这可能是 T 等位基因携带者对儿茶酚胺刺激的反应增强的缘故,患儿在诱发因素下将刺激内皮细胞产生更多的 NO,从而触发 VVS。

总之,本研究提示 VVS 患儿在倾斜体位时血浆 NO 水平的异常升高可能参与了 VVS 的发病机制,而其升高水平可能与 eNOS 基因 G894T 多态性表达有关。但本研究样本较小,NO/eNOS 体系与 VVS 发病的关系尚需进一步大样本的研究。

[参 考 文 献]

- [1] 王成,李茗香,谢振武,林萍,李小明. 直立倾斜试验对不明原因晕厥患儿的诊断价值[J]. 中国当代儿科杂志,2003,5(3): 234-235.
- [2] Bosser G, Gauchard GC, Brembilla-Perrot B, Marcon F, Perrin PP. Experimental evaluation of a common susceptibility to motion sickness and vasovagal syncope in children[J]. Brain Res Bull, 2007,71(5):485-492.
- [3] Abboud F. Neurocardiogenic syncope[J]. N Engl J Med, 1993, 328(15): 1117-1119.
- [4] Folino AF, Russo G, Buja G, Iliceto S. Contribution of decreased atrial function in the pathogenesis of neurally mediated syncope [J]. Am J Cardiol, 2006,97(7):1017-1024.
- [5] Fenton AM, Hammill SC, Rea RF, Low PA, Shen WK. Vasovagal syncope[J]. Ann Intern Med, 2000, 133(9):714-725.
- [6] Sealey B, Lui K. Diagnosis and management of vasovagal syncope and dysautonomia[J]. AACN Clin Issues, 2004, 15(3):462-477.
- [7] Bondanelli M, Alboni P, Margutti A, Franceschetti P, Dinelli M, Gruppillo P, et al. Plasma galanin response to head-up tilt in normal subjects and patients with recurrent vasovagal syncope [J]. Metabolism, 2003, 52(3):315-321.
- [8] Folino AF, Russo G, Porta A, Buja G, Cerutti S, Iliceto S. Modulations of autonomic activity leading to tilt-mediated syncope[J]. Int J Cardiol, 2007, 120(1):102-107.
- [9] Yoon S, Shin C, Park HY, Moon J, Kim J, Kim HT, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene is associated with vessel stenosis in Korean population[J]. Clin Chim Acta, 2005,353(1-2): 177-185.

(本文编辑:吉耕中)