

原发性高血压患者内源性 H₂S 变化及其与 IL-6 相关性分析*徐言俊¹, 孟宪香¹, 张霞¹, 彭福强¹, 任永生^{2△}

(1. 广东省佛山市南海区第三人民医院急诊科 528200; 2. 湖北医药学院生理教研室, 湖北十堰 442000)

[摘要] **目的** 探讨原发性高血压(EH)发病中 H₂S 的变化及其与炎症因子 IL-6 的相关性。**方法** 收集 46 例健康对照(正常对照组)和 80 例 EH 患者血浆, 将 EH 患者分为药物控制组($n=47$)和未使用药物控制组($n=33$); 根据舒张压值将 EH 患者分为 A 组(舒张压 <90 mm Hg, $n=21$)、B 组($90\sim<100$ mm Hg, $n=23$)、C 组($100\sim110$ mm Hg, $n=18$)及 D 组(>110 mm Hg, $n=18$)。采用亚甲基蓝法测定血清 H₂S, 双抗体夹心酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血浆 IL-6 的浓度。**结果** EH 患者及 A、B、C、D 组血浆 H₂S 水平 $[(8.50\pm 0.59)$ 、 (8.94 ± 0.62) 、 (8.64 ± 0.52) 、 (8.20 ± 0.41) 、 (8.23 ± 0.46) $\mu\text{mol/L}$], 均显著低于正常对照组 $[(9.29\pm 0.91)\mu\text{mol/L}$, $P<0.01$]。与 EH 患者未使用药物控制组比较, 药物控制组血浆 H₂S 水平显著增加 $[(8.37\pm 0.55)$ $\mu\text{mol/L}$ vs. (8.77 ± 0.53) $\mu\text{mol/L}$], 差异有统计学意义($P<0.01$); 与正常对照组比较, EH 组患者血浆 IL-6 水平显著增加 $[(0.48\pm 0.07)$ ng/L vs. (0.65 ± 0.13) ng/L], 差异有统计学意义($P<0.01$)。EH 患者使用药物控制组血浆 IL-6 水平较未使用药物控制组显著降低 $[(0.56\pm 0.07)$ ng/L vs. (0.71 ± 0.13) ng/L], 差异有统计学意义($P<0.01$)。EH 患者血浆 H₂S 浓度与脉压差呈正相关($r=0.42$, $P<0.01$), 与 IL-6 呈负相关($r=-0.38$, $P<0.01$), 与收缩压和舒张压无相关性($P>0.05$)。**结论** EH 患者血浆 H₂S 水平明显降低, 且随着舒张压增加而降低, 血浆 H₂S 水平与 IL-6 显著负相关。EH 患者血浆 H₂S 可能参与了炎症诱导的 EH 发病过程。

[关键词] 硫化氢; 白细胞介素 6; 原发性高血压**[中图分类号]** R544.1**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2017)03-0341-03Analysis on correlation between endogenous H₂S change and IL-6*Xu Yanjun¹, Meng Xianxiang¹, Zhang Xia¹, Peng Fuqiang¹, Ren Yongsheng^{2△}

(1. Department of Emergency, Nanhai District People's Hospital, Foshan, Guangdong 528200, China;

2. Teaching and Researching Section of Physiology, Hubei University of Medicine, Shiyan, Hubei 442000, China)

[Abstract] **Objective** To explore the correlation between the change of plasma hydrogen sulfide(H₂S) level and interleukin-6(IL-6) in the pathogenesis essential hypertension(EH). **Methods** Plasma was collected from 46 normal controls(control group) and 80 patients with EH. The EH patients were divided into the medication control group($n=47$) and non-medication control group($n=33$). According to the diastolic pressure(DP) value, the EH patients were divided into the group A(DP <90 mm Hg, $n=21$), B(DP= $90\sim<100$ mm Hg, $n=23$), C(DP= $100\sim110$ mm Hg, $n=18$) and D(DP >110 mmHg, $n=18$). The methylene blue method was adopted to measure serum H₂S level, and the plasma IL-6 level was detected by using the double antibody sandwich ELISA. **Results** The plasma H₂S level in the EH patients, group A, B, C and D were (8.50 ± 0.59) $\mu\text{mol/L}$, (8.94 ± 0.62) $\mu\text{mol/L}$, (8.64 ± 0.52) $\mu\text{mol/L}$, (8.20 ± 0.41) $\mu\text{mol/L}$ and (8.23 ± 0.46) $\mu\text{mol/L}$ respectively, which were significant lower than (9.29 ± 0.91) $\mu\text{mol/L}$ in the control group($P<0.01$). Compared with the non-medication control group, the plasma H₂S level in the medication control group was significantly increased, the difference was statistically significant $[(8.37\pm 0.55)$ $\mu\text{mol/L}$ vs. (8.77 ± 0.53) $\mu\text{mol/L}$, $P<0.01$]; compared with the control group, the plasma H₂S level in the EH group was significantly increased, the difference was statistically significant $[(8.37\pm 0.55)$ $\mu\text{mol/L}$ vs. (8.77 ± 0.53) $\mu\text{mol/L}$, $P<0.01$]. Compared with the control group, the plasma IL-6 level in the EH group was significantly increased, the difference was statistically significant $[(0.48\pm 0.07)$ ng/L vs. (0.65 ± 0.13) ng/L, $P<0.01$]; Compared with the non-medication control group, the plasma IL-6 level in the medication control group was significantly decreased, the difference was statistically significant $[(0.56\pm 0.07)$ ng/L vs. (0.71 ± 0.13) ng/L, $P<0.01$]. Furthermore, the plasma H₂S level had significantly positive correlation with the pulse pressure($R=0.42$, $P<0.01$), significantly negative correlation with the IL-6($R=-0.38$, $P<0.01$) and no correlation with systolic blood pressure and diastolic blood pressure. **Conclusion** Plasma H₂S level in EH patients is significantly decreased, moreover with the diastolic blood pressure increase which is decreased. Plasma H₂S level has significantly negative correlation with IL-6. Plasma H₂S may involves in the development process of inflammation induced EH.

[Key words] hydrogen sulfide; serum interleukin-6; essential hypertension

原发性高血压(essential hypertension, EH)是人类发病率最高的疾病之一,其发病机制至今尚未完全阐明,严重威胁着

人类健康。近年基础和临床研究证实, EH 的重要病理基础之一是血管的炎症反应, 炎症与 EH 互为因果, 互相影响, 是一个恶性循环的关系^[1-3]。前期的研究证明内源性硫化氢(hydrogen sulfide, H₂S)参与多种心血管疾病的病理生理学过程^[4]。新的研究显示 H₂S 参与炎症反应^[5-6]。EH 发病时血浆 H₂S 和炎症因子白细胞介素 6(IL-6)的生成是否有相关性尚不清楚。本研究拟通过检测 EH 患者血浆的含量, 观察 H₂S 在 EH 中的生成变化, 探讨 H₂S 变化与 IL-6 的相关性, 为 EH 发病提供新的理论依据和控制靶点。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2015 年 6 月至 2015 年 10 月在佛山市南海区第三人民医院急诊科与心血管内科门诊确诊的 EH 患者(EH 组)80 例, 其中男 46 例, 平均年龄(52.54±15.39)岁; 女 34 例, 平均年龄(57.94±13.89)岁。高血压的诊断按照中国高血压指南 1999 年标准, 即收缩压大于或等于 140 mm Hg 和(或)舒张压大于 90 mm Hg, 并排除继发性高血压。其中, 47 例诊断 EH 12 个月以上, 每天规律服用降压药(钙通道阻滞药、β受体拮抗药、血管紧张素抑制药、噻嗪类利尿药), 每周不少于 3 次监测血压, 近 12 个月医院复诊血压控制平稳, 无需调整降压药物, 入选药物控制组; 33 例初诊高血压患者, 未在其他医疗机构诊断过高血压, 未使用任何降压措施, 初次在本科确定为高血压者入选未使用药物控制组。根据舒张压值将 EH 患者分为 A 组(舒张压小于 90 mm Hg, n=21)、B 组(90~<100 mm Hg, n=23)、C 组(100~110 mm Hg, n=18)及 D 组(>110 mm Hg, n=18)。同时收集与上述年龄性别相近的健康体检者 46 例为正常对照组, 其中男 30 例, 女 16 例, 平均年龄(54.46±12.4)岁, 所有人收缩压小于 120 mm Hg 且舒张压小于 80 mm Hg。各组一般资料差异无统计学意义(P>0.05)。本试验经本院伦理委员会审核通过, 研究对象均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 主要试剂 人 IL-6 双抗体夹心酶联免疫试剂盒由检测试剂由美国 R&D Systems Inc 生产, 北京瑞尔欣德生物工程有限公司分装。硫化钠(NaHS)购自 Sigma 公司。其余为市售化学分析纯。

1.2.2 标本采集及处理 EH 患者和健康体检者均于早晨空腹时采肘静脉血 2~3 mL 于肝素抗凝管中, 低温离心 15 min(3 000 r/min), 吸取上清液, EP 管密封分装 2 份置-40℃冰箱保存待检。

1.2.3 血浆 H₂S 检测 亚甲基蓝法测定血浆 H₂S^[7]。取血浆 100 μL 加入含 5.0% 醋酸锌 100 μL 的 EP 管中, 充分混匀后加入 NaOH(5 mol/L)100 μL, 4℃离心 10 min(13 000×g)。吸去上清液后用 500 μL 去离子水冲洗, 再次 4℃离心 10 min(13 000×g)后吸弃上清液, 依次加入 5.0% 醋酸锌溶液 100 μL, 0.2% N,N 二甲基对苯二胺 100 μL, 20.0% 三氯乙酸 100 μL, 充分混匀后 4℃离心 5 min(13 000×g)。取上清液 200 μL, 加 10.0% 硫酸铁铵 10 μL, 充分振荡, 静置 5~15 min。取 200 μL 溶液于 96 孔板, 根据光谱扫描结果于 665 nm 测定其吸光度。根据标准曲线换算溶液中 H₂S 浓度。

1.2.4 IL-6 检测 应用人 IL-6 酶联免疫试剂盒(美国 R&D Systems Inc.)测定血浆标本中的 IL-6, 按说明书操作。

1.3 统计学处理 数据处理及制图采用 GraphPad Prism 5 Demo 统计软件分析, 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用

不配对 t 检验, 多组间采用方差检验, 相关性关系用 Pearson 相关分析, 检验水准 $\alpha=0.05$, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 EH 患者血浆 H₂S 水平的变化

2.1.1 EH 患者血浆 H₂S 水平较健康对照组显著降低 本试验条件下, 正常对照组血浆 H₂S 水平为(9.29±0.91)μmol/L, EH 患者组血浆 H₂S 水平为(8.50±0.59)μmol/L, 两组比较差异有统计学意义(P<0.01)。

2.1.2 不同舒张压 EH 患者血浆 H₂S 水平比较 不同舒张压患者血浆 H₂S 浓度分别是: A 组(8.94±0.62)μmol/L; B 组(8.64±0.52)μmol/L, C 组(8.20±0.41)μmol/L 和 D 组(8.23±0.46)μmol/L。与 A 组比较, C 组和 D 组血浆 H₂S 浓度均显著降低, 差异有统计学意义(P<0.01)。与 B 组比较, C 组和 D 组血浆 H₂S 浓度均显著降低, 差异有统计学意义(P<0.05)。

2.1.3 药物控制组和未使用药物控制组 EH 患者血浆 H₂S 水平比较 与未使用药物控制组(8.37±0.55)μmol/L 比较, 药物控制组血浆 H₂S 水平显著增加(8.77±0.53)μmol/L, 差异有统计学意义(P<0.01), 见图 1。

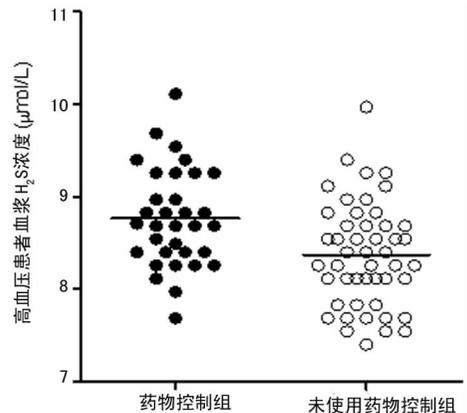


图 1 两组血浆 H₂S 水平的变化

2.2 EH 患者血浆中 IL-6 水平 与正常对照组比较, EH 患者血浆 IL-6 水平显著增加[(0.48±0.07)ng/L vs. (0.65±0.13)ng/L], 差异有统计学意义(P<0.01)。EH 患者药物控制组血浆 IL-6 水平较未使用药物控制组显著降低[(0.56±0.07)ng/L vs. (0.71±0.13)ng/L], 差异有统计学意义(P<0.01)。

2.3 EH 患者血浆 H₂S 水平与收缩压、舒张压、脉压差和 IL-6 相关性分析 EH 患者血浆 H₂S 浓度与脉压差呈正相关($r=0.42, P<0.01$), 与 IL-6 呈负相关($r=-0.38, P<0.01$), 与收缩压和舒张压无相关性(P>0.05)。

3 讨论

EH 是最常见的心血管疾病之一, 是心力衰竭、肾衰竭、脑血管意外等的重要原因, 其详细的发病机制尚不清楚。大量的研究已经证实, 炎症参与了 EH 发病的病理生理过程。最近的研究提示, 先天免疫和获得性免疫系统在高血压和终末器官损伤的发生、发展中扮演了重要的作用^[2]。在高血压疾病动物模型发现, 血管黏附分子表达增加、免疫细胞激活和浸润、细胞因子释放和氧化应激产物生成均包含在高血压形成的机制之中^[8]。此外, 炎症能够促进血管平滑肌的增殖, 参与血管重塑, 促进血压增高^[9]。

IL-6 作为炎症反应的主要调节介质, 参与血管炎症反应

和免疫应答。研究发现高血压患者血管内皮炎性反应,能够诱导成纤维细胞和单核细胞产生 IL-6,而 IL-6 能够通过细胞和体液免疫损伤血管内皮细胞,增加血黏滞水平,外周阻力血管收缩;促进血管平滑肌细胞和成纤维细胞增生,增加循环阻力^[9-10];此外,IL-6 还能够通过升高血管平滑肌细胞内的 Ca^{2+} 浓度而收缩血管,增高外周血管阻力升高血压^[11]。炎症损伤是导致肺动脉高压的重要病理生理基础之一^[12],最近的研究显示,抗高血压药物如血管紧张素转换酶抑制剂能够通过修饰或控制促炎性反应受体,抑制中性粒细胞介导的血管内皮细胞损伤^[13],抗高血压治疗能够增加高血压患者的先天性免疫反应^[14]。本研究 EH 患者组血浆 IL-6 水平较正常血压组显著升高,药物控制组 EH 患者血浆 IL-6 水平显著降低,提示炎症因子 IL-6 参与了 EH 的发病过程。

H_2S 是继一氧化氮(NO)和一氧化碳(CO)新发现的第 3 种气体信号分子^[4]。前期的研究显示,内源性 H_2S 能够舒张血管降低血压,抑制血管平滑肌细胞(VSMC)的增殖,促进血管新生^[15];兴奋血管平滑肌 KATP 通道,增加 KATP 通道的电流,从而使平滑肌细胞膜出现超极化而舒张血管平滑肌降低血压^[16]。近年发现 H_2S 还参与多种血管炎症疾病的病理生理过程。Pan 等^[17]在培养的脐静脉血管内皮细胞上发现,NaHS 能够降低肿瘤坏死因子(TNF- α)诱导的血管细胞黏附分子(VCAM-1)和细胞黏附分子(ICAM-1)基因表达水平;降低血管内皮活性氧自由基的产生。表明 H_2S 处理能够减轻 TNF- α 导致的血管内皮细胞功能的紊乱^[18]。在整体疾病动物模型上也发现,外源性 H_2S 能够降低自发性高血压大鼠主动脉内皮细胞质 ICAM-1 基因表达和细胞膜 ICAM-1 蛋白表达水平^[19-20]。结合本试验结果,EH 患者血浆中 H_2S 水平显著低于正常对照组,EH 患者血浆 H_2S 水平与 IL-6 呈显著负相关,提示内源性 H_2S 生成减少,炎症因子增加参与了 EH 的病理生理过程。

总之,目前关于内源性 H_2S 对 EH 炎症作用的研究甚少,研究前景广阔。增加 H_2S 的生成是否能够控制或缓解 EH 等炎症性疾病需要进一步的研究。

参考文献

- [1] Savoia C, Schiffrin EL. Inflammation in hypertension[J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2006, 15(2): 152-158.
- [2] Viridis A, Dell'agnello U, Taddei S. Impact of inflammation on vascular disease in hypertension[J]. *Maturitas*, 2014, 78(3): 179-183.
- [3] Kampus P, Muda P, Kals J, et al. The relationship between inflammation and arterial stiffness in patients with essential hypertension[J]. *Int J Cardiol*, 2006, 112(1): 46-51.
- [4] Wang MJ, Cai WJ, Zhu YC. Hydrogen sulphide in cardiovascular system; a cascade from interaction between sulphur atoms and signalling molecules[J]. *Life Sci*, 2016, 153: 188-197.
- [5] Gemici B, Elsheikh W, Feitosa KB, et al. H_2S -releasing drugs: anti-inflammatory, cytoprotective and chemopreventative potential[J]. *Nitric Oxide*, 2015(46): 25-31.
- [6] Wallace JL, Ianaro A, Flannigan KL, et al. Gaseous mediators in resolution of inflammation[J]. *Semin Immunol*, 2015, 27(3): 227-233.
- [7] 郑扬, 廖锋, 杜军保, 等. 改良亚甲基蓝法测定血浆硫化氢[J]. *生理学报*, 2012, 64(6): 681-686.
- [8] Tian N, Moore RS, Braddy S, et al. Interactions between oxidative stress and inflammation in salt-sensitive hypertension[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007, 293(6): H3388-3395.
- [9] Siti HN, Kamisah Y, Kamsiah J. The role of oxidative stress, antioxidants and vascular inflammation in cardiovascular disease (a review) [J]. *Vascul Pharmacol*, 2015(71): 40-56.
- [10] Bautista LE, Vera LM, Arenas IA, et al. Independent association between inflammatory markers (C-reactive protein, interleukin-6, and TNF-alpha) and essential hypertension[J]. *J Hum Hypertens*, 2005, 19(2): 149-154.
- [11] 李晓霞, 韩阳. 炎症细胞因子与高血压[J]. *高血压杂志*, 2006, 14(6): 426-428.
- [12] Chan SY, Loscalzo J. Pathogenic mechanisms of pulmonary arterial hypertension[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2008, 44(1): 14-30.
- [13] Andersson P, Bratt J, Heimbürger M, et al. Inhibition of neutrophil-dependent cytotoxicity for human endothelial cells by ACE inhibitors[J]. *Scand J Immunol*, 2014, 80(5): 339-345.
- [14] Fonseca HA, Fonseca FA, Lins LC, et al. Antihypertensive therapy increases natural immunity response in hypertensive patients[J]. *Life Sci*, 2015(143): 124-130.
- [15] Tang C, Li X, Du J. Hydrogen sulfide as a new endogenous gaseous transmitter in the cardiovascular system [J]. *Curr Vasc Pharmacol*, 2006, 4(1): 17-22.
- [16] Zhao W, Zhang J, Lu Y, et al. The vasorelaxant effect of H_2S as a novel endogenous gaseous K(ATP) Channel opener[J]. *EMBO J*, 2001, 20(21): 6008-6016.
- [17] Pan LL, Liu XH, Zheng HM, et al. S-propargyl-cysteine, a novel hydrogen sulfide-modulated agent, attenuated tumor necrosis factor- α -induced inflammatory signaling and dysfunction in endothelial cells[J]. *Int J Cardiol*, 2012, 155(2): 327-332.
- [18] Yan H, Du J, Tang C. The possible role of hydrogen sulfide on the pathogenesis of spontaneous hypertension in rats[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 313(1): 22-27.
- [19] 金红芳, 孙燕梁, 嘉敏, 等. 硫化氢对自发性高血压大鼠血管炎症反应的调节作用[J]. *中华心血管病杂志*, 2008, 36(6): 541-545.
- [20] 金红芳, 梁晨, 梁嘉敏, 等. 硫化氢对高肺血流性肺动脉高压大鼠血管炎症反应的调节作用[J]. *中华医学杂志*, 2008, 88(32): 2235-2329.