

# L- 精氨酸对家兔动脉粥样硬化斑块形成及血脂的影响

何荣华 李涛 施献通 刘自刚 邹永光 余小明 杨继洲

(湖北省孝感市中心医院心内科, 孝感 432100)

**主题词** 精氨酸: 胆固醇: 动脉粥样硬化: 一氧化氮: 主动脉: 模型, 心血管: 巨噬细胞: 内皮: 家兔

**摘要** 为观察 L- 精氨酸对家兔动脉粥样硬化斑块形成及血脂的影响, 将 45 只新西兰白兔随机分为正常组、对照组和治疗组, 正常组用标准饲料喂养, 对照组用含 2.5% 胆固醇的标准饲料及普通饮水喂养, 治疗组用含 2.5% 胆固醇的标准饲料及含 2.25% L- 精氨酸的普通饮水喂养, 7 周及 14 周时检测血清总胆固醇及甘油三酯, 同时用油红 O 将升主动脉及降主动脉染色, 利用图像分析仪计算动脉粥样硬化斑块面积百分比。结果发现, 在实验第 7 周时治疗组的血脂明显低于对照组, 但到实验第 14 周时两组的血脂变化无统计学差异, 且发现实验第 7 周和第 14 周时治疗组升主动脉粥样硬化斑块面积较对照组也是前期明显减少, 后期趋于一致, 而治疗组降主动脉粥样硬化斑块面积始终明显少于对照组。结果提示, 在防治动脉粥样硬化及降脂方面, L- 精氨酸的长期疗效并不显著。

## Effects of L- Arginine on Atherosclerosis and Serum Lipids in Rabbits

HE Rong- Hua, LI Tao, SHI Xian- Tong, LIU Zi- Gang, ZOU Yong- Guang, YU Xiao- Min and YANG Ji- Zhou

(Department of Cardiology, the Central Hospital of Xiaogan, Hubei Province, Xiaogan 432100, China)

**MeSH** Arginine: Cholesterol: Atherosclerosis: Nitric Oxide: Aorta: Models, Cardiovascular: Macrophages: Endothelium: Rabbits

**ABSTRACT** **Aim** To observe the effects of L- arginine on atherosclerosis and serum lipids in rabbits. **Methods** Forty- five rabbits were divided into three groups accidentally. Normal group received normal chow, control group received 2.5% cholesterol and normal drink, treatment group received 2.5% cholesterol and 2.25% L- arginine solution for 7 or 14 weeks. The levels of serum total cholesterol (TC) and triglycerides (TG) were investigated, while atherosclerosis was measured by image pattern analysis method after ascending aorta and descending aorta were stained with Oil- Red- O. **Results** The serum total cholesterol and triglycerides had significantly inhibited by treatment with L- arginine at 7 weeks. But there was no significant difference between treatment with and without L- arginine at 14 weeks.

Similar results of atherosclerosis was seen in ascending aorta. But at 7 or 14 weeks, atherosclerosis was less in descending aorta of arginine fed animals than that of rabbits fed cholesterol only. **Conclusion** The results suggest that chronic dietary L- arginine supplementation does not result in a sustained limitation in atherosclerosis and decrease in serum lipids.

自一氧化氮(nitric oxide, NO)作为一种新型的细胞信使因子被发现以来,其前体 L- 精氨酸已广泛应用于动物实验及人类疾病的探索性治疗,显示了良好的改善内皮功能及抗动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)的作用<sup>[1,2]</sup>。但这一潜在治疗优势能否适宜于人类,仍有一些问题值得商榷,其中长期口服 L- 精氨酸的疗效同短期治疗是否一致为最前沿问题,本研究就这一问题作出探讨。

## 1 材料和方法

### 1.1 动物模型

新西兰白兔 45 只,平均体重  $2.23 \pm 0.25$  kg。随机分为三组,每组 15 只: 正常组喂标准饲料; ④对照组喂含 2.5% 胆固醇的标准饲料及普通饮水; ④治疗组喂含 2.5% 胆固醇的标准饲料及含 2.25%

L- 精氨酸的普通饮水。每只动物一周的饲料及水量分别控制在 650~ 750 g 及 1.5~ 1.8 L 之间。于实验第 7 周和 14 周,每组处死 7 只或 8 只动物,均用油红 O 染色。

### 1.2 血清脂质测定

实验前一天及实验第 7 周和 14 周时分别测血清总胆固醇(total cholesterol, TC)和甘油三酯(triglyceride, TG)。采血时间均在上午 9:00~ 10:00 之间进行。用胆固醇酯酶- 胆固醇氧化酶- 过氧化物酶法测血清总胆固醇,以脂肪酶- 甘油激酶- 磷酸甘油氧化酶- 过氧化物酶法测血清甘油三酯。

### 1.3 主动脉内膜染色

用 3% 戊巴比妥钠过量麻醉处死动物后,打开胸腔,取出主动脉。以左锁骨动脉为界,将之分为升主动脉及降主动脉后,用生理盐水冲洗,再用 2% 油

红 O 染色 5~7 min, 继之用 65% 异丙醇漂洗后摄像, 利用计算机图像分析仪测算动脉粥样硬化斑块面积(染色为红色部分)及总面积, 即得动脉粥样硬化斑块面积的百分比。

#### 1.4 统计学处理

所有数据采用均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 数据对比采用  $t$  检验,  $P < 0.05$  表示差异有显著性。

## 2 结果

### 2.1 血清脂质测定值

实验前三组间血脂水平无显著性差异。实验第 7 周治疗组的血清总胆固醇及甘油三酯均明显低于对照组 ( $P < 0.05$ ), 但较正常组显著增高 ( $P < 0.05$ )。而到实验第 14 周时, 对照组与治疗组的血清总胆固醇及甘油三酯均无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 见表 1 (Table 1)。

表 1. 三组血脂水平的比较

Table 1. Comparison of plasma lipids level in three groups ( $\bar{x} \pm s$ , mmol/L)

Groups	n	TC	TG
Before treatment			
Normal	7	1.82 $\pm$ 0.3	1.08 $\pm$ 0.2
Control	8	1.78 $\pm$ 0.3	1.07 $\pm$ 0.1
Treatment	7	1.80 $\pm$ 0.4	1.08 $\pm$ 0.3
The seventh week			
Normal	8	1.80 $\pm$ 0.2	1.07 $\pm$ 0.3
Control	8	31.5 $\pm$ 3.2 <sup>d</sup>	1.62 $\pm$ 0.3 <sup>d</sup>
Treatment	7	24.6 $\pm$ 3.6 <sup>bd</sup>	1.30 $\pm$ 0.2 <sup>bc</sup>
The fourteenth week			
Normal	7	1.83 $\pm$ 0.4	1.09 $\pm$ 0.5
Control	7	42.6 $\pm$ 4.2 <sup>d</sup>	2.2 $\pm$ 0.5 <sup>d</sup>
Treatment	8	39.3 $\pm$ 5.2 <sup>a</sup>	1.9 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>

a:  $P > 0.05$ , b:  $P < 0.05$ , compared with control group; c:  $P < 0.05$ , d:  $P < 0.01$ , compared with normal group

### 2.2 动脉粥样硬化斑块面积百分比

对升主动脉而言, 实验第 7 周治疗组的动脉粥样硬化斑块面积百分比明显少于对照组 ( $P < 0.05$ ), 到实验第 14 周时, 两组的动脉粥样硬化斑块面积百分比无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 而治疗组降主动脉的动脉粥样硬化斑块面积百分比始终少于对照组 ( $P < 0.05$ ), 见表 2 (Table 2)。

## 3 讨论

表 2. 治疗组和对照组动脉粥样硬化斑块面积百分比比较

Table 2. Comparison of the percentage of atherosclerosis between treatment group and control group ( $\bar{x} \pm s$ , %)

Groups	n	Ascending aorta	Descending aorta
The seventh week			
Control	8	49 $\pm$ 8	20 $\pm$ 6
Treatment	7	39 $\pm$ 6 <sup>b</sup>	12 $\pm$ 4 <sup>b</sup>
The fourteenth week			
Control	7	67 $\pm$ 8	28 $\pm$ 8
Treatment	8	62 $\pm$ 10 <sup>a</sup>	17 $\pm$ 5 <sup>b</sup>

a:  $P > 0.05$ , b:  $P < 0.05$ , compared with control group

许多实验表明, L- 精氨酸作为合成 NO 的前体物质, 可逆转相应的白细胞粘附反应及伴随的内皮功能障碍。口服 L- 精氨酸后血浆精氨酸水平增高, 具有抗高血脂、抗脂质过氧化和改善血液粘度等作用, 其机制可能与体内释放 NO 增多, 低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL) 氧化修饰减少有关<sup>[3~5]</sup>。因而, 口服 L- 精氨酸可能成为防治冠心病和高脂血症的有效药物。但本研究发现, 长期口服 L- 精氨酸不能使血清总胆固醇持续降低及 As 斑块面积的持续局限, 虽然 L- 精氨酸的降脂机制有待进一步探讨, 但本研究证实, 实验前 7 周的降脂效果同文献<sup>[5]</sup>报道一致, 而在实验第 14 周后, 治疗组同对照组并无显著性差异。Begar 等<sup>[6]</sup>用 L- 精氨酸喂养老鼠五个月后, 发现其小便排泄的 NO<sub>3</sub> (NO 代谢产物的一个指标) 在前期升高, 即使持续服用 L- 精氨酸, 其排泄量却降至正常水平。同时发现这与体内精氨酸的自动平衡有关, 其机制不仅有 NO 酶的代谢, 而且与精氨酸的代谢及小便排出量的改变相关联。Southern 等<sup>[7]</sup>用 L- 精氨酸长期喂养猪时, 观察到其小便精氨酸排出量明显增多, 因此时肾小管对精氨酸的重吸收已呈满负荷。在成人的临床研究中显示, 总体精氨酸平衡与精氨酸的降解率有关<sup>[8]</sup>。目前认为 L- 精氨酸减少 As 的机制同巨噬细胞 NO 酶的调节及氧化型 LDL 的减少有关, 同时单核细胞/巨噬细胞系统在 As 的病理过程中起着举足轻重的作用, 虽然在高胆固醇血症兔口服 L- 精氨酸二周后, 已被证实能减少单核细胞的粘附, 但这一效应能持续多久仍没有定论<sup>[9]</sup>。L- 精氨酸的保护作用可能与内皮源性 NO 酶的上升无关, 却与巨噬细胞内 NO 酶的增加有关。与内皮细胞不同, 巨噬细胞中 NO 酶的活性依赖于细胞外 L- 精氨酸的浓度, 且巨噬细胞不能使胍氨酸逆转为精氨酸<sup>[10, 11]</sup>, 故由巨噬细胞合成的 NO 能阻止 LDL 的氧

化修饰,由此减少 As。虽然 L- 精氨酸治疗同 As 的局限有一定关系,但这只是一种短期现象,如果增加血浆精氨酸浓度到影响巨噬细胞 NO 的代谢或血小板在内皮中的粘附,那么其效应将随血浆中浓度的恢复而消失。对兔高胆固醇血症而言,长期用精氨酸饲养同用胆固醇喂养,两者的 As 趋于一致是十分可能的。

尽管 L- 精氨酸对降主动脉 As 有局限作用,以前也有报道在远离升主动脉的部位有治疗效果,这可能同在主动脉各部位 NO 酶的激活差异有关<sup>[12]</sup>,并有文献<sup>[13]</sup>报道小鼠动脉确实存在这种差异。另外,在升主动脉及主动脉弓的血流剪切力使内皮细胞不断受损,当其超过 L- 精氨酸对 NO 的代谢能力时,则有可能使 As 进程加速。本研究结果提示,在防治人类高胆固醇血症及 As 方面,口服 L- 精氨酸的长远效应同短期疗效有明显差别,因本实验样本数较少,故实验结果是否适用于人类,尚有待于进一步地探索。

#### 参考文献

- 1 Wolf A, Zalpour C, Theilmeier G, et al. Dietary L- arginine supplementation normalizes platelet aggregation in hypercholesterlemic humans. *J Am Coll Cardiol*, 1997, **29**: 479- 485
- 2 Garg VC, Hassid A. Nitric oxide- generating vasodilators and 8- bromo- cyclic guanosine monophosphate inhibit mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest*, 1989, **83**: 1 774- 777
- 3 Stamler JS, Mendelsohn ME, Amarante P, et al. N- Acetylcysteine potentiates platelet inhibition by endothium- derived relaxing factor. *Circ Res*, 1989, **65**: 789- 795
- 4 谭小进, 戴爱国, 文芳, 等. L- 精氨酸对冠心病高脂血症患者脂过氧化物及血液流变学的影响. *中国动脉硬化杂志*, 1997, **5**: 41- 44
- 5 杨永宗, 陈颜芳, 刘易林, 等. L- 精氨酸对高脂血症家兔血浆脂蛋白、一氧化氮和脂过氧化物的影响. *中国动脉硬化杂志*, 1995, **3**: 206- 211
- 6 Boger RH, Bode- Blger SM, Gerecke U, et al. Long- term administration of L- arginine, L- NAME and the exogenous NO donor mol- sidomine modulates urinary nitrate and cGMP escretion in rats. *Cardiovasc Res*. 1994, **28**: 494- 499
- 7 Southern LL, Baker DH. Performance and concentration of amino acids in plasma and urine of young pigs fed diets with excesses of either arginine of lysine. *J Animal Sci*, 1982, **55**: 857- 866
- 8 Smoyer WE, Brouhard BH, Rassin DK, et al. Enhanced GFR responde to oral versus intravenous arginine administration in normal adults. *H Lab Clin Med*, 1991, **118**: 166- 175
- 9 Tsao PS, McEvoy LM, Drexler H, et al. Enhanced endothelial adhesiveness in hypercholesterolemia is attenuated by L- arginine. *Circulation*, 1994, **89**: 2 176- 182
- 10 Sato H, Ishii T, Sugita Y, et al. Inducation of cationic amino acid transport by lipopolysaccharide. *Biochem Biophys Acta*, 1991, **100**: 46- 52
- 11 Hrabak A, Idei M, Temesi A. Arginine supply for nitric oxide synthesis and arginase ismainly exogenous in elicited murine and rat macrophages. *Life Sci*, 1994, **55**: 797- 805
- 12 Cooke JP, Singer AH, Tsao PS, et al. Antiatherogenic effect of L- arginine in the hypercholesterolemic rabbit. *J Clin Invest*, 1992, **91**: 1 168- 172
- 13 Abbott RE, Schachter D. Regional differentiation in the rat aorta: L- arginine metabolism and cGMP content in vitro. *Am J Physiol*, 1994, **266**: H 2 287- H 2 295

(此文 1998- 12- 24 收到, 1999- 07- 05 修回)

(此文编辑 文玉珊)