

## 内源性雌激素对血管内皮功能的作用

邹燕<sup>1</sup>, 李向平<sup>1</sup>, 赵水平<sup>1</sup>, 高梅<sup>2</sup>, 李炎升<sup>3</sup>

(中南大学湘雅二医院 1. 心内科, 2. 超声科, 3. 同位素科, 湖南省长沙市 410011)

[关键词] 内科学; 雌激素改善女性血管内皮功能; 双抗体放射免疫法; 冠状动脉疾病; 雌二醇; 血流介导的肱动脉舒张反应; 非对称性二甲基精氨酸

[摘要] 为探讨内源性雌激素对女性冠心病患者血管内皮功能的作用及其可能机制, 采用高分辨力超声法测定 33 例女性冠心病患者和 17 例对照者血流介导的肱动脉舒张反应, 用双抗体放射免疫法测定血浆雌二醇水平, 高效液相色谱仪测定血浆非对称性二甲基精氨酸含量。结果发现, 冠心病患者血流介导的肱动脉舒张反应明显低于对照者 ( $1.73\% \pm 1.26\%$  比  $5.37\% \pm 3.20\%$ ,  $P < 0.001$ ), 冠心病患者雌二醇水平也明显低于对照者 ( $27.80 \pm 12.28$  ng/L 比  $43.83 \pm 14.30$  ng/L,  $P < 0.01$ ), 而冠心病患者非对称性二甲基精氨酸水平明显高于对照者 ( $3.39 \pm 1.07$   $\mu$ mol/L 比  $1.31 \pm 0.69$   $\mu$ mol/L,  $P < 0.001$ )。血流介导的肱动脉舒张反应与雌二醇水平呈正相关 ( $\beta = 0.314$ ,  $P < 0.05$ ), 与非对称性二甲基精氨酸水平呈负相关 ( $\beta = -0.302$ ,  $P < 0.05$ ), 且雌二醇水平与非对称性二甲基精氨酸呈独立负相关 ( $r = -0.544$ ,  $P < 0.001$ )。结果提示, 女性冠心病患者血管内皮依赖性舒张功能降低。内源性雌激素水平的降低及其所伴随的非对称性二甲基精氨酸水平增高对女性冠心病患者血管内皮功能有损害作用。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

### The Effect of Endogenous Estrogen on Vascular Endothelial Function

ZOU Yan, LI Xiang-Ping, ZHAO Shui-Ping, GAO Mei, and LI Yan-Sheng

(Department of Cardiology, the Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410011, China)

[KEY WORDS] Coronary Artery Disease; Estradiol; Flow-Mediated Dilatation of Brachial Artery; Asymmetric Dimethylarginine; Vascular Endothelial Function

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effect of endogenous estrogen levels on vascular endothelial function and its mechanism in women with coronary heart disease (CHD). **Methods** Flow-mediated dilatation (FMD) of the brachial artery were detected by use of high-resolution ultrasound in 33 women with CHD and 17 matched controls. Plasma estradiol were measured by radioimmunity. Plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine (ADMA) were measured by high-performance liquid chromatography. **Results** In comparison with control group, FMD significantly decreased in the CHD group ( $1.73\% \pm 1.26\%$  vs  $5.37\% \pm 3.20\%$ ,  $P < 0.001$ ). Plasma estradiol levels were lower in the CHD group than in the controls ( $27.80 \pm 12.28$  ng/L vs  $43.83 \pm 14.30$  ng/L,  $P < 0.01$ ), whereas ADMA concentrations were higher in the CHD group than in the controls ( $3.39 \pm 1.07$   $\mu$ mol/L vs  $1.31 \pm 0.69$   $\mu$ mol/L,  $P < 0.001$ ). FMD was positively correlated with plasma estradiol levels ( $\beta = 0.314$ ,  $P < 0.05$ ), but negatively correlated with ADMA ( $\beta = -0.302$ ,  $P < 0.05$ ). Plasma estradiol levels inversely correlated with ADMA concentrations ( $r = -0.544$ ,  $P < 0.001$ ). **Conclusions** This study indicates that endothelium-dependent vasodilatation is impaired in women with CHD. The decrease of endogenous estrogen levels accompanied with the increase of ADMA concentrations may involve in one of the mechanisms of endothelial dysfunction in women with CHD.

雌激素有显著改善血管内皮功能的作用<sup>[1]</sup>, 该作用可能是其抗动脉粥样硬化的主要机制。已知内皮功能失调是动脉粥样硬化早期的一个重要标志, 它在冠心病的发生发展中起着重要作用<sup>[2]</sup>。内皮衍生的一氧化氮(nitric oxide, NO)是最重要的内源性血管舒张因子, 它是在 NO 合酶(NO synthase, NOS)的作用下生成的。内源性 NOS 竞争性抑制剂非对

称性二甲基精氨酸(asymmetric dimethylarginine, ADMA)<sup>[3]</sup>受到广泛关注。研究表明, ADMA 与血管内皮依赖性舒张功能失调有关, 它很可能是心血管事件的预测因子<sup>[4]</sup>。但是, ADMA 与雌激素之间有无关联尚不清楚, 它是否与女性冠心病的发病有关尚未见国内外相关研究报道。本研究通过检测女性冠心病患者及对照者的肱动脉血管舒缩功能和血浆雌二醇(E<sub>2</sub>)、ADMA 水平, 旨在探讨内源性雌激素水平变化对女性冠心病患者内皮功能的影响, 并初步观察雌激素水平变化与 ADMA 水平变化之间的关系。

[收稿日期] 2002-11-04 [修回日期] 2003-04-21

[基金项目] 湖南省卫生厅内科科研基金(9931)

[作者简介] 邹燕, 女, 1976 年出生, 广东省普宁市人, 在读硕士, 主要研究方向冠心病发病机制及防治研究, E-mail: windzou@hotmail.com。李向平, 女, 1958 年出生, 广东省郁南县人, 教授, 硕士研究生导师。赵水平, 男, 1954 年出生, 湖南省湘潭市人, 教授, 博士研究生导师。

### 1 对象与方法

### 1.1 研究对象

选择女性冠心病患者 33 例, 年龄  $58.30 \pm 7.98$  岁, 其中 14 例合并高血压, 28 例已绝经, 平均绝经 11.1 年; 正常对照者 17 例, 年龄  $54.06 \pm 9.35$  岁, 6 例合并高血压, 10 例已绝经, 平均绝经 7.2 年。入选和剔除标准: ①冠心病组入选条件至少具备下列情况之一: 根据典型的临床症状、心电图改变以及心肌酶学的酶谱变化而确诊的急性心肌梗死或陈旧性心肌梗死; ④经心电图或 24 h 动态心电图证实有明确心肌缺血的典型心绞痛发作史; ④冠状动脉造影证实存在冠状动脉狭窄病变。对照组入选条件: 对照者与病例进行年龄、血压配对, 经病史询问无心血管病史、体格检查无阳性体征, 心电图、胸片及肝肾功能、生化常规检查无异常者, 包括部分冠状动脉造影结果正常者。20. 凡有下列情况者予以剔除: 有糖尿病、脑血管意外病史, 合并周围血管疾病, 慢性肝、肾疾病或肝、肾功能不全, 吸烟者以及正在使用雌激素替代治疗者。

### 1.2 标本处理

空腹 12 h 后, 于清晨采取肘静脉血 5~6 mL, 注入 10 mL 肝素 ( $10^6$  IU/L) 抗凝离心管中摇匀, 2 000 r/min 离心 10 min, 取上清血浆于  $-70^\circ\text{C}$  冷冻待测雌二醇和 ADMA。同时于抽血当日测定血清总胆固醇 (total cholesterol, TC)、甘油三酯 (triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDLC)、低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDLC), 以及肝肾功能、血糖等生化指标。

### 1.3 血脂测定

采用酶法测定 TC 和 TG, 用选择遮蔽法测定 HDLC 和 LDLC。批间、批内变异系数分别控制在 10% 及 5% 以内。

### 1.4 血浆雌二醇测定

未绝经者采血时间均为月经周期的第 5~7 天。采用双抗体放射免疫法测定, 严格按照试剂盒所附说明书进行操作。批间和批内变异系数分别为 5.81% 和 5.23%。

### 1.5 非对称性二甲基精氨酸测定

参考 Chen 等<sup>[5]</sup>的方法, 用高效液相色谱仪测定血浆 ADMA 浓度。ADMA 标准购自美国 Sigma 公司。批间和批内变异系数分别为 3.73% 和 2.67%。

### 1.6 肱动脉舒缩功能测定

采用美国 Acuson 128XP/10 型彩色多普勒二维超声显像仪和 7.0 MHz 线性探头, 参考 Celemajer 等<sup>[6]</sup>和李向平等<sup>[7]</sup>的方法测定肱动脉反应性充血前

后的内径变化, 血流介导的肱动脉舒张 (flow-mediated dilatation, FMD) 以反应性充血后肱动脉内径相对于基础内径的百分率表示。

### 1.7 统计学分析

应用 SPSS 10.0 统计软件包进行统计分析, 主要统计指标均进行正态性检验, 正态分布的各统计指标均以  $\bar{x} \pm s$  表示。组间比较采用 *t* 检验。因素间相关性采用直线相关分析和多因素线性逐步回归分析。为了控制各因素间的相互影响, 采用偏相关分析。双侧  $P < 0.05$  为有统计学差异。

## 2 结果

### 2.1 一般资料比较

冠心病组血清 TC 和 LDLC 水平明显高于对照组 ( $P < 0.01$  和  $P < 0.05$ ), 两组间其他指标无显著性差异 (表 1, Table 1)。

表 1. 冠心病组和对照组的一般资料比较

Table 1. Comparison of characteristics in CHD group and control group

指标	对照组 ( <i>n</i> = 17)	冠心病组 ( <i>n</i> = 33)
年龄	$54.06 \pm 9.35$	$58.30 \pm 7.98$
绝经年数	$7.24 \pm 5.43$	$11.12 \pm 7.57$
未绝经人数	7 (41.18%)	5 (15.15%) <sup>b</sup>
高血压人数	6 (35.29%)	14 (42.42%)
收缩压 (mm Hg)	$126 \pm 19$	$130 \pm 18$
舒张压 (mm Hg)	$80 \pm 11$	$83 \pm 11$
平均压 (mm Hg)	$96 \pm 13$	$99 \pm 13$
体质指数 ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	$23.10 \pm 3.44$	$23.85 \pm 2.89$
甘油三酯 (mmol/L)	$1.42 \pm 0.68$	$1.74 \pm 0.95$
总胆固醇 (mmol/L)	$4.86 \pm 0.88$	$5.64 \pm 0.91^b$
HDLC (mmol/L)	$1.52 \pm 0.32$	$1.35 \pm 0.35$
LDLC (mmol/L)	$2.84 \pm 0.81$	$3.32 \pm 0.72^a$

a:  $P < 0.05$ , b:  $P < 0.01$ , 与对照组相比。

### 2.2 血流介导的肱动脉舒张反应及血浆雌二醇、非对称性二甲基精氨酸水平比较

冠心病组 FMD 和雌二醇水平明显低于对照组 ( $P < 0.001$ ), 而 ADMA 水平明显高于对照组 ( $P < 0.001$ ), 见表 2 (Table 2)。

### 2.3 血流介导的肱动脉舒张反应的相关因素分析

两组对象合并后行直线相关分析, 结果发现年龄、绝经年数、肱动脉基础内径、血压、雌二醇、AD-

MA 与 FMD 显著相关。再以 FMD 作为应变量, 上述相关指标作为自变量, 进行多因素线性逐步回归分析, 结果发现与 FMD 独立相关的因素为血浆 ADMA 浓度和血浆雌二醇水平(复相关系数  $r = 0.754$ , 决定系数  $r^2 = 0.569$ ,  $F = 20.205$ ,  $P < 0.001$ ), FMD 与雌二醇呈正相关( $\beta = 0.314$ ,  $P < 0.05$ ), 与 ADMA 呈负相关( $\beta = -0.302$ ,  $P < 0.05$ )。

表 2. 冠心病组和对照组肱动脉内径变化及血浆雌二醇和非对称性二甲基精氨酸水平比较

Table 2. Comparison of diameter changes of brachial artery and levels of plasma  $E_2$  and ADMA in CHD group and control group

指 标	对照组 ( $n = 17$ )	冠心病组 ( $n = 33$ )
肱动脉基础内径 (mm)	$3.38 \pm 0.50$	$3.69 \pm 0.59$
FMD	$5.37\% \pm 3.20\%$	$1.73\% \pm 1.26\%^a$
雌二醇 (ng/L)	$43.83 \pm 14.30$	$27.80 \pm 12.28^a$
ADMA ( $\mu\text{mol/L}$ )	$1.31 \pm 0.69$	$3.39 \pm 1.07^a$

a:  $P < 0.001$ , 与对照组相比。

## 2.4 雌二醇的相关因素分析

将雌二醇与女性冠心病的主要相关因素如年龄、绝经年数、体重指数、血压及血脂水平和 ADMA 进行直线相关分析。结果发现, 雌二醇主要与 ADMA、年龄、绝经年数和血压呈负相关, 而与其他因素相关不明显。为了解雌二醇与 ADMA 的独立相关性, 采用偏相关分析控制年龄、绝经年数和血压的作用, 结果发现雌二醇与 ADMA 呈独立负相关关系( $r = -0.554$ ,  $P < 0.001$ )。

## 3 讨论

大量研究已经证实, 冠心病患者的冠状动脉存在着内皮依赖性舒张功能异常, 而且内皮功能失调先于动脉粥样硬化的发生, 其对疾病的进程起着重要作用<sup>[2]</sup>。这种血管内皮依赖性舒张功能的异常, 不但累及冠状动脉, 而且累及周围动脉如肱动脉和股动脉。肱动脉和冠状动脉的内皮依赖性血管舒张功能有高度相关性, 因此临床上可通过肱动脉内皮功能的检测来间接反映冠状动脉的内皮功能<sup>[8]</sup>。现已证实由血流增加诱导的内皮细胞 NO 生成增多是内皮依赖性舒张反应的主要机制, 因此测量 FMD 可以反映内皮功能。文献[9, 10]观察到冠心病患者存在明显的 FMD 下降, 本研究发现女性冠心病患者肱动脉 FMD 明显低于对照组, 进一步证实女性冠心病

患者同样存在内皮依赖性舒张功能异常。

影响血管内皮功能的因素有许多, 如吸烟、高血压、高胆固醇血症、糖尿病等。在女性中, 雌激素水平可能是影响血管内皮功能的重要因素之一。本研究结果发现, 女性冠心病患者雌二醇水平明显低于对照组, 而且肱动脉内皮依赖性舒张功能的减退与雌二醇水平降低独立相关, 提示内源性雌激素水平的下降与血管内皮功能的削弱有关。许多临床研究发现, 内源性或外源性雌激素增加时, 内皮依赖性血管舒张反应相应提高。绝经前妇女在月经周期中的卵泡期或妊娠时, 肱动脉血流介导的血管舒张反应明显增加。横断面研究发现, 不论是血流介导的还是乙酰胆碱介导的内皮依赖性血管舒张反应, 绝经前妇女都明显好于绝经后妇女, 而且卵巢切除术后乙酰胆碱介导的血管舒张反应明显降低。这些资料提示, 内源性雌激素可使血管内皮保持对特定的血管舒张刺激的反应能力。口服、静脉内、动脉内短期给予雌二醇, 均可明显改善冠状动脉及外周动脉的内皮依赖性血管舒张功能<sup>[11]</sup>, 长期接受雌激素替代疗法的妇女肱动脉血流介导的血管舒张功能明显好于未接受雌激素替代疗法的妇女, 而停用雌激素治疗使绝经后女性冠心病患者的内皮功能明显下降<sup>[12]</sup>, 说明外源性雌激素也有改善女性血管内皮功能的作用。

雌激素改善内皮功能的机制尚未完全明确。目前认为雌激素对血管内皮细胞功能的调节主要是通过雌激素受体介导的途径, 雌激素与细胞核内的雌激素受体结合后上调内皮 NOS 的基因表达, 或者使 NOS 活性增强, 从而增加 NO 的合成使血管内皮依赖性舒张功能得到改善。雌激素还可通过升高 HDLC、降低 LDLC、脂蛋白(a)和载脂蛋白 B 来改善血脂代谢以及发挥其抗氧化活性间接改善血管内皮功能<sup>[13]</sup>。

非对称性二甲基精氨酸(ADMA)是内源性 NOS 竞争性抑制剂, 在人类内皮细胞合成<sup>[14]</sup>, 是从包含甲基化精氨酸残余物的蛋白中分解而来的, 并从肾脏排泄。血浆 ADMA 水平正常约为  $1 \mu\text{mol/L}$ , 在有心血管疾病危险因素的个体中通常升高 2 倍, 在临床动脉粥样硬化患者中升高更加明显(可以升高 10 倍)。体内和体外试验均观察到 ADMA 水平升高可抑制血管 NOS 活性, 使 NO 生成减少, 并降低 NO 基础和刺激后的活性, 从而抑制内皮依赖性血管舒张功能<sup>[15]</sup>。因此, 目前认为 ADMA 升高是内皮功能失调和血管舒缩张力异常的危险因素<sup>[16]</sup>。最近的资料提出 ADMA 是动脉粥样硬化的独立危险因素和

急性冠状动脉事件的预测因子<sup>[4]</sup>。有研究表明,ADMA 和年龄、高血压、糖尿病显著相关<sup>[15]</sup>。本研究的所有对象均无糖尿病,且在年龄和血压匹配的情况下发现冠心病患者的 ADMA 浓度显著高于对照组,并与血流介导的血管舒张反应呈独立负相关关系。因此提示女性冠心病患者血管内皮功能受损与 ADMA 水平升高有关。女性雌二醇水平变化是否影响 ADMA 尚不清楚,本研究进一步分析发现雌二醇水平与 ADMA 水平呈独立负相关。根据这一新的发现,推测雌二醇可能对 ADMA 的产生有抑制作用,而随着内源性雌激素水平下降,其对 ADMA 产生的抑制作用减弱,从而导致血浆 ADMA 水平增高,因而引起血管内皮依赖性舒张功能减退,这可能是绝经后妇女冠心病发病率增高的促发因素之一。

#### [参考文献]

- [1] Herrington DM, Braden GA, Williams JK, Morgan TM. Endothelial-dependent coronary vasomotor responsiveness in postmenopausal women with and without estrogen replacement therapy. *Am J Cardiol*, 1994, **73**: 951-952
- [2] Cooke JP, Tsao PS. Is NO an endogenous antiatherogenic molecule? *Arterioscler Thromb*, 1994, **14**: 653-655
- [3] Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Endogenous dimethylarginine as an inhibitor of nitric oxide synthesis. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1992, **20** (suppl 12): S60-S62
- [4] Valkonen VP, Paiva H, Salonen JT, Lakka TA, Lehtimäki T, Laakso J, et al. Risk of acute coronary events and serum concentration of asymmetrical dimethylarginine. *Lancet*, 2001, **358**: 2 127-128
- [5] Chen BM, Xia LW, Zhao RQ. Determination of N<sup>G</sup>, N<sup>G</sup>-dimethylarginine in human plasma by high performance liquid chromatography. *J Chromatogr*, 1997, **692**: 467-471
- [6] Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, et al. Noninvasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet*, 1992, **340**: 1 111-115
- [7] 李向平, 李江, 赵水平, 高梅, 周启昌. 血管内皮依赖性舒张功能的无创性检测. *湖南医科大学学报*, 1997, **22**: 387-389
- [8] Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD, Meredith IT, Knab S, Delagrange D, et al. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulation. *J Am Coll Cardiol*, 1995, **26**: 1 235-241
- [9] 李向平, 张湘瑜, 赵水平, 高梅, 周启昌. 冠心病患者肱动脉内皮依赖和非内皮依赖性舒张功能损害. *中华内科杂志*, 1999, **38**: 561-562
- [10] Adams MR, Robinson J, McGredie R, Seale JP, Sorensen KE, Deanfield JE, et al. Smooth muscle dysfunction occurs independently of impaired endothelium-dependent dilation in adults at risk of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol*, 1998, **32**: 123-127
- [11] Koh KK, Blum A, Hathaway L, Mincemoyer R, Csako G, Wacławski MA, et al. Vascular effects of estrogen and vitamin E therapies in postmenopausal women. *Circulation*, 1999, **100**: 1 851-857
- [12] Greiner DZ, Personius BE, Andrews TC. Effects of withdrawal of chronic estrogen therapy on brachial artery vasoreactive in women with coronary artery disease. *Am J Cardiol*, 1999, **83**: 247-249
- [13] 张莹, 朱广瑾, 段岩平. 雌激素对血液凝固与纤维蛋白溶解的影响及对心血管的保护作用. *中国动脉硬化杂志*, 1999, **7**: 57-61
- [14] Böger RH, Böger SM, Tsao PS, Lin PS, Chan JR, Cooke JP. An endogenous inhibitor of nitric oxide synthase regulates endothelial adhesiveness for monocytes. *J Am Coll Cardiol*, 2000, **36**: 2 287-295
- [15] Herrington DM, Braden GA, Williams JK, Morgan TM. Endothelial-dependent coronary vasomotor responsiveness in postmenopausal women with and without estrogen replacement therapy. *Am J Cardiol*, 1994, **73**: 951-952
- [16] Segarra G, Medina P, Vila JM, Chuan P, Domenech C, Torondel B, et al. Inhibition of nitric oxide activity by arginine analogs in human renal arteries. *Am J Hypertens*, 2001, **14** (1 Pt 1): 1 142-148

(此文编辑 文玉珊)

• 资料 •

## 2001 年《中国科学技术论文统计源期刊》生物医学类(7)

中国当代儿科杂志  
中国地方病防治杂志  
中国地方病学杂志  
中国动脉硬化杂志  
中国儿童保健杂志  
中国耳鼻咽喉颅底外科杂志  
中国法医学杂志  
中国防痨杂志  
中国肺癌杂志  
中国工业医学杂志  
中国公共卫生  
中国骨伤  
中国骨质疏松杂志  
中国激光医学杂志  
中国急救医学

中国脊柱脊髓杂志  
中国计划免疫  
中国寄生虫学与寄生虫病杂志  
中国矫形外科杂志  
中国介入心脏病学杂志  
中国康复  
中国康复理论与实践  
中国康复医学杂志  
中国抗生素杂志  
中国科学 E  
中国老年学杂志  
中国临床解剖学杂志  
中国临床康复  
中国临床心理学杂志  
中国临床药理学杂志

中国临床医学影像杂志  
中国临床营养杂志  
中国麻风皮肤病杂志  
中国免疫学杂志  
中国内镜杂志  
中国男科学杂志  
中国皮肤性病学杂志  
中国普通外科杂志  
中国普外基础与临床杂志  
中国人兽共患病杂志  
中国烧伤创疡杂志  
中国神经精神疾病杂志  
中国神经科学杂志  
中国神经免疫学和神经病学杂志  
中国生化药物杂志