

## L-精氨酸对高糖引起内皮功能失调的保护作用

马向红, 黄体钢, 杨万松, 周丽娟

(天津医科大学第二医院心脏科 天津心脏病学研究所, 天津市 300211)

[关键词] 细胞生物学; L-精氨酸对内皮功能的保护作用; 胶原酶消化法; L-精氨酸; NG-硝基-L-精氨酸-甲基酯; 一氧化氮; 超氧阴离子

[摘要] 目的 通过研究 L-精氨酸和  $\text{N}^G$ -硝基-L-精氨酸-甲基酯对人脐静脉内皮细胞产生一氧化氮和超氧阴离子的影响以探讨 L-精氨酸对高糖引起内皮功能失调的保护作用。方法 不同浓度 L-精氨酸、 $\text{N}^G$ -硝基-L-精氨酸-甲基酯、葡萄糖和胰岛素加入体外培养的人脐静脉内皮细胞, 24 h 后分别测定细胞培养液中一氧化氮合酶和超氧化物歧化酶活性及一氧化氮和超氧阴离子浓度。结果 25 mmol/L 葡萄糖使内皮细胞一氧化氮合酶活性增高, 一氧化氮产生增加, 超氧化物歧化酶活性下降, 超氧阴离子产生增加; L-精氨酸对一氧化氮合酶、一氧化氮、超氧化物歧化酶的影响与对照组相比无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 但可以使超氧阴离子产生减少; 25 mmol/L 葡萄糖+ L-精氨酸使内皮细胞一氧化氮合酶活性增强, 一氧化氮产生增加, L-精氨酸可以改善高糖引起的超氧阴离子升高。不同浓度的胰岛素使内皮细胞一氧化氮合酶活性增高, 一氧化氮产生增加, 对超氧化物歧化酶活性和超氧阴离子产生无明显影响; 不同浓度胰岛素+ L-精氨酸使内皮细胞一氧化氮合酶活性增强, 一氧化氮产生增加, 对超氧化物歧化酶活性无明显影响, 但可以使超氧阴离子水平降低。100  $\mu\text{mol/L}$   $\text{N}^G$ -硝基-L-精氨酸-甲基酯使内皮细胞一氧化氮合酶活性下降, 一氧化氮产生减少, 对超氧化物歧化酶活性无明显影响, 但使超氧阴离子产生增加; 25 mmol/L 葡萄糖+  $\text{N}^G$ -硝基-L-精氨酸-甲基酯使内皮细胞一氧化氮合酶活性下降, 一氧化氮产生减少, 但对高糖引起的超氧化物歧化酶活性下降和超氧阴离子升高无明显影响。10  $\mu\text{U}$  胰岛素+ 10  $\mu\text{mol/L}$   $\text{N}^G$ -硝基-L-精氨酸-甲基酯和 100  $\mu\text{U}$  胰岛素+ 100  $\mu\text{mol/L}$   $\text{N}^G$ -硝基-L-精氨酸-甲基酯使内皮细胞一氧化氮合酶活性下降, 一氧化氮产生减少, 对超氧化物歧化酶活性无明显影响, 但使超氧阴离子升高。结论 L-精氨酸对一氧化氮合酶、一氧化氮、超氧化物歧化酶无明显影响, 但可以使超氧阴离子产生减少;  $\text{N}^G$ -硝基-L-精氨酸-甲基酯使内皮细胞一氧化氮合酶活性下降, 一氧化氮产生减少, 对超氧化物歧化酶活性无明显影响, 但使超氧阴离子产生增加。

[中图分类号] Q2

[文献标识码] A

## Effects of L-Arginine on Human Umbilical Vein Endothelial Cell Induced by High Concentration Glucose

MA Xiang-Hong, HUANG Ti-Gang, YANG Wan-Song, and ZHOU Li-Juan

(Cardiology Department of the Second Hospital of Tianjin Medical University; Tianjin Institute of Cardiology, Tianjin 300211, China)

[KEY WORDS] L-Arginine;  $\text{N}^G$ -Nitro-L-Arginine Methyl Ester; Nitric Oxide; Superoxide Anion; Human Umbilical Vein Endothelial Cell; Endothelial Function

[ABSTRACT] **Aim** To investigate effects of L-arginine and  $\text{N}^G$ -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) on human umbilical vein endothelial cell (hUVEC) secreting nitric oxide (NO) and superoxide anion ( $\text{O}_2^-$ ). **Methods** hUVEC was incubated with glucose, insulin, L-arginine and L-NAME respectively for 24 hours. The activity of nitric oxide synthase (NOS) and superoxide dismutase (SOD), the concentration of NO and  $\text{O}_2^-$  in the supernatant of cultured hUVEC was measured at the end of the experiment. **Results** NOS activity, the concentration of NO increased, while SOD activity decreased and the concentration of  $\text{O}_2^-$  increased significantly in the presence of 25 mmol/L glucose. NOS, NO, SOD did not change significantly in the presence of L-arginine, while the concentration of  $\text{O}_2^-$  decreased significantly. The activity of NOS, the concentration of NO increased in the presence of 25 mmol/L glucose+ L-arginine, L-arginine may reverse the elevation of  $\text{O}_2^-$  which induced by glucose. NOS, NO increased in the presence of 10, 100, 1 000  $\mu\text{U/L}$  insulin, while SOD and  $\text{O}_2^-$  did not change significantly. NOS, NO increased in the presence of L-arginine+ insulin, SOD activity did not change significantly while  $\text{O}_2^-$  decreased. NOS activity and the generation of NO decreased in the presence of 100  $\mu\text{mol/L}$  L-NAME, while SOD activity did not change significantly, however the generation of  $\text{O}_2^-$  increased. NOS, NO decreased in the presence of 25 mmol/L glucose+ L-NAME, however SOD activity and the concentration of  $\text{O}_2^-$  did not change significantly. NOS, NO decreased in the presence of 10  $\mu\text{U}$  insulin+ 10  $\mu\text{mol/L}$  L-

[收稿日期] 2005-01-05

[修回日期] 2005-09-28

[作者简介] 马向红, 博士, 副教授, 主要研究方向为冠心病的基础与临床研究, E-mail 为 maxianghong@eyou.com。黄体钢, 博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事冠心病, 特别是急性冠脉综合征不稳定斑块的研究。杨万松, 硕士, 研究员, 硕士研究生导师, 主要从事冠心病、高血压的基础研究。

NAME and 100  $\mu$ mol/L L-NAME, SOD activity did not change significantly, while the concentration of  $O_2^-$  increased. **Conclusion** NOS, NO, SOD did not change significantly while  $O_2^-$  decreased in the presence of L-arginine. NOS activity, the generation of NO decreased while  $O_2^-$  increased in the presence of L-NAME in the supernatant of cultured endothelial cell.

L-精氨酸是一氧化氮(nitric oxide, NO)的前体, L-精氨酸与氧分子在一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)催化下生成NO和瓜氨酸<sup>[1]</sup>, N<sup>G</sup>-硝基-L-精氨酸-甲基酯(N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine methyl ester, L-NAME)是NOS的抑制剂,与L-精氨酸竞争NOS活性位点<sup>[2]</sup>,使NOS活性下降,NO产生减少。本研究旨在探讨L-精氨酸和L-NAME对人脐静脉内皮细胞产生NO和超氧阴离子(superoxide anion,  $O_2^-$ )的影响及其在高糖、高胰岛素情况下对内皮细胞产生NO和 $O_2^-$ 的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂与仪器

L-精氨酸、L-NAME、D-葡萄糖和胰岛素(Sigma公司);NO、NOS、超氧阴离子和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)试剂盒购于南京建成生物工程研究所;超净台、5%  $CO_2$  恒温培养箱、培养器皿、XSJ-D倒置相差显微镜和721分光光度计(上海第三仪器厂)。

### 1.2 人脐静脉内皮细胞的培养和鉴定

采用胶原酶消化法, ID因子相关抗原阳性鉴定为内皮细胞。第1~2代细胞用于实验,用胰蛋白酶消化后接种于24孔培养板,浓度为 $2 \times 10^9/L$ 。静置24 h后换成无血清细胞培养基,孵育24 h使细胞处于静止状态再进行实验。

### 1.3 实验分组

实验分为对照组(无血清的M1640培养基)、25 mmol/L葡萄糖组、不同浓度胰岛素组(10、100和1 000  $\mu$ mol/L)、不同浓度L-精氨酸组(0.1、1和10 mmol/L)、不同浓度L-NAME组(10和100  $\mu$ mol/L)、25 mmol/L葡萄糖+L-精氨酸组(0.1、1和10 mmol/L)、胰岛素(10、100和1 000  $\mu$ mol/L)+不同浓度L-精氨酸组(0.1、1和10 mmol/L)、25 mmol/L葡萄糖+不同浓度L-NAME组(10和100  $\mu$ mol/L)以及不同浓度胰岛素组(10、100和1 000  $\mu$ mol/L)+不同浓度L-NAME组(10和100  $\mu$ mol/L),每组为6孔细胞。

### 1.4 指标检测

24 h后取出细胞培养基分别测定NO、NOS、 $O_2^-$ 和SOD。

#### 1.4.1 一氧化氮的测定 采用硝酸还原酶法。

可见光分光光度计测定吸光度值,波长550 nm。计算公式为 $NO(\mu\text{mol/L}) = (\text{样品管吸光度} - \text{空白管吸光度}) / (\text{标准管吸光度} - \text{空白管吸光度}) \times \text{标准品浓度}(100 \mu\text{mol/L}) \times \text{样品测试前稀释倍数}$ 。

1.4.2 一氧化氮合酶的测定 NOS催化L-精氨酸和分子氧反应生成NO,NO与亲核性物质生成有色化合物,在530 nm波长下测定吸光度。根据吸光度的大小可计算出NOS活力。计算公式为 $NOS(ku/L) = (\text{测定管吸光度} - \text{空白管吸光度}) / \text{呈色物纳摩尔消光系数} \times (\text{反应液总体积} / \text{取样量}) \times 1 / (\text{比色光径} \times \text{反应时间})$ 。

1.4.3 超氧阴离子的测定 根据Fenton反应原理。可见光分光光度计测定吸光度值,波长550 nm。规定每毫升血清或细胞培养基在37℃反应1 min,使反应体系中 $H_2O_2$ 浓度降低1 mmol/L为一个活性氧单位,计算公式为 $O_2^-(ku/L) = (\text{对照管吸光度} - \text{测定管吸光度}) / (\text{标准管吸光度} - \text{空白管吸光度}) \times \text{标准管浓度}(8.824 \text{ mmol/L}) \times (1 \text{ mL} / \text{取样量}) \times \text{样品测试前稀释倍数}$ 。

1.4.4 超氧化物歧化酶的测定 采用黄嘌呤氧化酶法,每毫升反应液中SOD抑制率达50%时所对应的SOD量为一个亚硝酸盐单位(NU)。计算公式为 $SOD \text{ 活力}(kNU/L) = (\text{对照管吸光度} - \text{测定管吸光度}) / \text{对照管吸光度} \div 50\% \times \text{稀释倍数}$ 。

### 1.5 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用SPSS 8.0统计软件处理,多组间比较用One-way ANOVA,两两比较用Tukey法检验。 $P < 0.05$ 具有统计学差异。

## 2 结果

### 2.1 L-精氨酸、高糖对内皮细胞产生一氧化氮和超氧阴离子的影响

25 mmol/L葡萄糖使内皮细胞NOS活性增高,NO产生增加,SOD活性下降, $O_2^-$ 产生增加;L-精氨酸对NOS、NO、SOD的影响与对照组相比无显著性差异,但可以使 $O_2^-$ 产生减少;25 mmol/L葡萄糖+L-精氨酸使内皮细胞NOS活性增强,NO产生增加,L-精氨酸可以改善高糖引起的 $O_2^-$ 升高,但对高糖引起的SOD活性下降无明显影响(表1, Table 1)。

表 1. L-精氨酸、高糖对内皮细胞产生一氧化氮和超氧阴离子的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )Table 1. Effects of L-arginine, high glucose on endothelial cell secreting NO and  $O_2^-$ 

分 组	一氧化氮合酶 (ku/L)	一氧化氮 ( $\mu$ mol/L)	超氧化物歧 化酶 (kNU/L)	超氧阴离子 (ku/L)
对照组	3.02 $\pm$ 0.41	884 $\pm$ 18	38.62 $\pm$ 0.70	293 $\pm$ 10
25 mmol/L 葡萄糖	3.86 $\pm$ 0.32 <sup>a</sup>	986 $\pm$ 66 <sup>b</sup>	35.07 $\pm$ 0.44 <sup>b</sup>	326 $\pm$ 10 <sup>a</sup>
L-精氨酸				
0.1 mmol/L	3.09 $\pm$ 0.34 <sup>c</sup>	900 $\pm$ 36	39.15 $\pm$ 0.80 <sup>d</sup>	256 $\pm$ 10 <sup>bd</sup>
1 mmol/L	3.19 $\pm$ 0.38 <sup>c</sup>	898 $\pm$ 46	39.20 $\pm$ 0.69 <sup>d</sup>	251 $\pm$ 26 <sup>bd</sup>
10 mmol/L	3.19 $\pm$ 0.50 <sup>c</sup>	905 $\pm$ 40	39.77 $\pm$ 0.65 <sup>d</sup>	245 $\pm$ 18 <sup>bd</sup>
25 mmol/L 葡萄糖 + L-精氨酸				
0.1 mmol/L	3.70 $\pm$ 0.19 <sup>a</sup>	952 $\pm$ 22 <sup>a</sup>	35.99 $\pm$ 0.56 <sup>b</sup>	289 $\pm$ 8 <sup>d</sup>
1 mmol/L	3.71 $\pm$ 0.31 <sup>a</sup>	962 $\pm$ 48 <sup>b</sup>	36.30 $\pm$ 1.04 <sup>b</sup>	288 $\pm$ 3 <sup>d</sup>
10 mmol/L	3.76 $\pm$ 0.37 <sup>a</sup>	963 $\pm$ 11 <sup>b</sup>	36.64 $\pm$ 0.91 <sup>b</sup>	274 $\pm$ 27 <sup>d</sup>

a:  $P < 0.05$ , b:  $P < 0.01$ , 与对照组相比; c:  $P < 0.05$ , d:  $P < 0.01$ , 与 25 mmol/L 葡萄糖组相比。

表 2. L-精氨酸、高胰岛素对内皮细胞产生一氧化氮和超氧阴离子的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )Table 2. Effects of L-arginine, high insulin on endothelial cell secreting NO and  $O_2^-$ 

分 组	一氧化氮合酶 (ku/L)	一氧化氮 ( $\mu$ mol/L)	超氧化物歧 化酶 (kNU/L)	超氧阴离子 (ku/L)
对照组	3.02 $\pm$ 0.41	884 $\pm$ 18	38.62 $\pm$ 0.70	293 $\pm$ 10
胰岛素组				
10 mu/L	3.85 $\pm$ 0.56 <sup>a</sup>	939 $\pm$ 33 <sup>b</sup>	38.71 $\pm$ 1.42	297 $\pm$ 23
100 mu/L	3.90 $\pm$ 0.32 <sup>b</sup>	950 $\pm$ 12 <sup>b</sup>	38.26 $\pm$ 1.18	297 $\pm$ 14
1 000 mu/L	3.96 $\pm$ 0.48 <sup>b</sup>	957 $\pm$ 26 <sup>b</sup>	38.26 $\pm$ 0.99	298 $\pm$ 19
10 mu/L 胰岛素 + 0.1 mmol/L L-精氨酸组	4.35 $\pm$ 0.50 <sup>b</sup>	986 $\pm$ 67 <sup>b</sup>	38.79 $\pm$ 0.79	269 $\pm$ 21 <sup>ac</sup>
100 mu/L 胰岛素 + 1 mmol/L L-精氨酸组	4.60 $\pm$ 0.38 <sup>b</sup>	998 $\pm$ 34 <sup>b</sup>	39.55 $\pm$ 0.42	267 $\pm$ 46 <sup>ac</sup>
1000 mu/L 胰岛素 + 10 mmol/L L-精氨酸组	4.52 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	1003 $\pm$ 69 <sup>b</sup>	39.06 $\pm$ 0.61	261 $\pm$ 50 <sup>ac</sup>

a:  $P < 0.05$ , b:  $P < 0.01$ , 与对照组相比; c:  $P < 0.05$ , 与相对应浓度胰岛素组相比。

表 3.  $N^G$ -硝基-L-精氨酸-甲基酯、高糖对内皮细胞产生一氧化氮和超氧阴离子的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )Table 3. Effects of L-NAME, high glucose on endothelial cell secreting NO and  $O_2^-$ 

分 组	一氧化氮合酶 (ku/L)	一氧化氮 ( $\mu$ mol/L)	超氧化物歧 化酶 (kNU/L)	超氧阴离子 (ku/L)
对照组	3.02 $\pm$ 0.41	884 $\pm$ 18	38.62 $\pm$ 0.70	293 $\pm$ 10
25 mmol/L 葡萄糖	3.86 $\pm$ 0.32 <sup>a</sup>	986 $\pm$ 66 <sup>b</sup>	35.07 $\pm$ 0.44 <sup>b</sup>	326 $\pm$ 10 <sup>a</sup>
L-NAME				
10 $\mu$ mol/L	2.97 $\pm$ 0.25	833 $\pm$ 33 <sup>c</sup>	37.90 $\pm$ 0.58	311 $\pm$ 15
100 $\mu$ mol/L	2.19 $\pm$ 0.54 <sup>ad</sup>	806 $\pm$ 27 <sup>ad</sup>	38.95 $\pm$ 0.66	325 $\pm$ 19 <sup>b</sup>
25 mmol/L 葡萄糖 + L-NAME				
10 $\mu$ mol/L	2.64 $\pm$ 0.11 <sup>ad</sup>	765 $\pm$ 43 <sup>bd</sup>	34.62 $\pm$ 0.64 <sup>b</sup>	336 $\pm$ 15 <sup>b</sup>
100 $\mu$ mol/L	2.51 $\pm$ 0.28 <sup>ad</sup>	671 $\pm$ 47 <sup>bd</sup>	34.59 $\pm$ 0.36 <sup>b</sup>	350 $\pm$ 19 <sup>b</sup>

a:  $P < 0.05$ , b:  $P < 0.01$ , 与对照组相比; c:  $P < 0.05$ , d:  $P < 0.01$ , 与 25 mmol/L 葡萄糖组相比。

## 2.2 L-精氨酸、高胰岛素对内皮细胞产生一氧化氮和超氧阴离子的影响

不同浓度的胰岛素使内皮细胞 NOS 活性增高, NO 产生增加, 对 SOD 活性和  $O_2^-$  产生无明显影响; L-精氨酸对 NOS、NO、SOD 的影响与对照组相比无显著性差异, 但可以使  $O_2^-$  产生减少; 不同浓度胰岛素 + L-精氨酸使内皮细胞 NOS 活性增强, NO 产生增加, 对 SOD 活性无明显影响, 但可以使  $O_2^-$  水平降低 (表 2, Table 2)。

## 2.3 $N^G$ -硝基-L-精氨酸-甲基酯、高糖对内皮细胞产生一氧化氮和超氧阴离子的影响

100  $\mu$ mol/L L-NAME 使内皮细胞 NOS 活性下降, NO 产生减少, 对 SOD 活性无明显影响, 但使  $O_2^-$  产生增加; 25mmol/L 葡萄糖 + L-NAME 使内皮细胞 NOS 活性下降, NO 产生减少, 但对高糖引起的 SOD 活性下降和  $O_2^-$  升高无明显影响 (表 3, Table 3)。

## 2.4 $N^G$ -硝基-L-精氨酸-甲基酯、高胰岛素对内皮细胞产生一氧化氮和超氧阴离子的影响

10 mU 胰岛素 + 10  $\mu$ mol/L L-NAME 和 100 mU 胰岛素 + 100  $\mu$ mol/L L-NAME 使内皮细胞 NOS 活性下降, NO 产生减少, 对 SOD 活性无明显影响, 但使  $O_2^-$  升高 (表 4, Table 4)。

## 3 讨论

在正常情况下, 血液中和细胞内的 L-精氨酸浓度远远高于 NOS 对 L-精氨酸的需求, 有研究表明补充精氨酸具有一些有益的作用, 如促进 NO 产生, 降低血小板聚集, 使血压下降, 减少动脉粥样硬化斑块的面积等<sup>[3]</sup>。然而, 动物实验与临床试验结论不一, 一种观点认为可能与机体 L-精氨酸水平有关, 当 L-精氨酸缺乏时, 补充 L-精氨酸可以使 NO 增加, 当 L-

表 4.  $\text{N}^{\text{G}}$ -硝基-L-精氨酸-甲基酯、高胰岛素对内皮细胞产生一氧化氮和超氧阴离子的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )Table 4. Effects of L-NAME, high insulin on endothelial cell secreting NO and  $\text{O}_2^-$ 

分 组	一氧化氮合酶 (ku/L)	一氧化氮 ( $\mu\text{mol/L}$ )	超氧化物歧 化酶 (kNU/L)	超氧阴离子 (ku/L)
对照组	3.02 $\pm$ 0.41	884 $\pm$ 18	38.62 $\pm$ 0.70	293 $\pm$ 10
胰岛素				
10 mu/L	3.85 $\pm$ 0.56 <sup>a</sup>	939 $\pm$ 33 <sup>b</sup>	38.71 $\pm$ 1.42	297 $\pm$ 23
100 mu/L	3.90 $\pm$ 0.32 <sup>b</sup>	950 $\pm$ 12 <sup>b</sup>	38.26 $\pm$ 1.18	297 $\pm$ 14
1000 mu/L	3.96 $\pm$ 0.48 <sup>b</sup>	957 $\pm$ 26 <sup>b</sup>	38.26 $\pm$ 0.99	298 $\pm$ 19
10 mu/L 胰岛素+ 10 $\mu\text{mol/L}$ L-NAME	2.28 $\pm$ 0.32 <sup>ad</sup>	826 $\pm$ 24 <sup>ad</sup>	38.50 $\pm$ 0.50	336 $\pm$ 15 <sup>b</sup>
100 mu/L 胰岛素+ 100 $\mu\text{mol/L}$ L-NAME	2.08 $\pm$ 0.18 <sup>bd</sup>	819 $\pm$ 49 <sup>ad</sup>	38.28 $\pm$ 0.49	350 $\pm$ 19 <sup>b</sup>

a 为  $P < 0.05$ , b 为  $P < 0.01$ , 与对照组相比; c 为  $P < 0.05$ , d 为  $P < 0.01$ , 与相对应浓度胰岛素组相比。

精氨酸不缺乏时, 给予 L-精氨酸对 NO 无影响, 另一种观点认为 L-精氨酸浓度超过内源性 NOS 抑制剂——非对称性二甲基精氨酸而发挥其有益的作用。Km 是指到达最大反应速度一半时的底物浓度, L-精氨酸的 Km 是 2.9  $\mu\text{mol}$ , 在体内, 细胞的 L-精氨酸浓度是 0.8~2 mmol/L, 因此, 根据 Km 值, 补充精氨酸不会使 NO 产生增加, 称为“精氨酸自相矛盾”<sup>[4]</sup>, 对这种矛盾现象的解释有: 在疾病状态下(如高血压和高胆固醇血症) L-精氨酸基础水平偏低; 细胞内 L-精氨酸水平的差异; 或者可能存在酶抑制剂, 目前已知 NOS 的竞争性抑制剂包括  $\text{N}^{\text{G}}$ -单甲基-L-精氨酸( $\text{N}^{\text{G}}$ -monomethyl-L-arginine, L-NMMA)、 $\text{N}^{\text{G}}$ -硝基-L-精氨酸( $\text{N}^{\text{G}}$ -nitro-L-arginine, L-NNA)、L-NAME 和  $\text{N}^{\text{G}}$ - $\text{N}^{\text{G}}$ -二甲基-精氨酸( $\text{N}^{\text{G}}$ - $\text{N}^{\text{G}}$ -dimethyl-L-arginine) 又称非对称性二甲基精氨酸(asymmetric dimethyl arginine, ADMA)<sup>[5]</sup>。另一种解释是在细胞微区 L-精氨酸的浓度低于 Km 值, 使 NO 产生减少。最后, 精氨酸酶(使精氨酸转化为鸟氨酸和尿素)可以改变细胞内 L-精氨酸的水平导致 NO 产生减少。本研究结果发现 L-精氨酸(0.1、1、10 mmol/L)对内皮细胞 NOS 活性、NO 的产生无明显影响, 但使  $\text{O}_2^-$  产生明显减少。NOS 除了能催化 L-精氨酸生成 NO 外, 还能将 NADPH 的电子转移给氧生成  $\text{O}_2^-$ , 这取决于 L-精氨酸浓度, 当精氨酸减少时, 主要生成  $\text{O}_2^-$ , 当精氨酸浓度升高时, NO 生成增加, 而  $\text{O}_2^-$  生成减少<sup>[4]</sup>。L-NAME 使 NOS 活性降低, NO 产生减少, 与文献报道相同<sup>[6]</sup>。L-NAME 使  $\text{O}_2^-$  产生增加的原因可能是 L-NAME 使 NO 产生减少, 降低了 NO 对  $\text{O}_2^-$  灭活作用。

糖尿病患者存在内皮依赖性血管舒张功能障碍,

高糖可以促进 NO 的产生<sup>[7]</sup>, 本研究结果还发现高糖可以促进  $\text{O}_2^-$  产生。NO 与  $\text{O}_2^-$  反应生成过亚硝酸盐,  $\text{O}_2^-$  可以减少 NO 的半衰期, 使内皮依赖性血管舒张功能下降, 血流减少, 导致内皮功能失调<sup>[8]</sup>。L-精氨酸可以改善高糖引起的  $\text{O}_2^-$  水平升高, 在人脐静脉内皮细胞 L-精氨酸通过非  $\text{Na}^+$  依赖性高亲和力的  $\text{y}^+/\text{CAT-1}$  和  $\text{y}^+/\text{CAT-2B}$  体系被摄取(CAT 指阳离子氨基酸运载体), 高糖和高胰岛素可以激活 L-精氨酸的转运使 NOS 活性增强<sup>[9]</sup>。因此, 补充 L-精氨酸可以保护高糖引起的内皮功能失调。

#### [参考文献]

- [1] Wever RMF, Lüscher TF, Cosentino F, Rabelink TJ. Atherosclerosis and the two faces of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation*, 1998, **97** (1): 108-112
- [2] Änggård E. Nitric oxide: mediator, murderer, and medicine. *Lancet*, 1994, **343** (8906): 1199-206
- [3] Sun YP, Zhu BQ, Browne AEM, Gao LR, Chou TM, Sudhir CK. L-arginine decreases blood pressure and left ventricular hypertrophy in rats with experimental aortic coarctation. *J Am Coll Cardiol*, 1998, **31** (Suppl A): 501A
- [4] Preli RB, Klein KP, Herrington DM. Vascular effects of dietary L-arginine supplementation. *Atherosclerosis*, 2002, **162** (1): 1-15
- [5] 姚瑞, 党瑜华, 张菲斐. 非对称性二甲基精氨酸对人脐静脉内皮细胞功能的影响. *中国动脉硬化杂志*, 2005, **13** (4): 471-474
- [6] Ortiz PA, Garvin JL. Interaction of  $\text{O}_2^-$  and NO in the thick ascending limb. *Hypertension*, 2002, **39** (2): 591-596
- [7] 桂新春, 刘宗汉, 刘江华, 戴忠, 谢志忠, 许金华, 等. 葡萄糖对血管内皮细胞小凹蛋白 1 和血管内皮生长因子表达的影响. *中国动脉硬化杂志*, 2004, **12** (1): 38-42
- [8] Guzik TJ, West NEJ, Pillai R, Taggart DP, Channon KM. Nitric oxide modulates superoxide release and peroxynitrite formation in human blood vessels. *Hypertension*, 2002, **39** (6): 1088-094
- [9] Casanella P, Sobrevia L. Intrauterine growth retardation is associated with reduced activity and expression of the cationic amino acid transport systems  $\text{y}^+/\text{hCAT-1}$  and  $\text{y}^+/\text{hCAT-2B}$ , and lower activity of nitric oxide synthase in human umbilical vein endothelial cells. *Circ Res*, 2002, **91** (2): 127-134

(此文编辑 文玉珊)