

[文章编号] 1007-3949(2007)15-12-0923-03

•临床研究•

冠心病患者内源性一氧化氮合酶抑制物的异常增高及临床意义

吴宗虎¹, 蒲晓群², 孙宝贵¹

(1. 上海市第一人民医院心内科, 上海市 200080; 2. 中南大学湘雅医院心内科, 湖南省长沙市 410073)

[关键词] 内科学; 二甲基精氨酸; 一氧化氮合酶抑制物; 动脉粥样硬化; 冠状动脉疾病

[摘要] 目的 检测冠心病患者血中内源性一氧化氮合酶抑制物非对称二甲基精氨酸(ADMA)的水平,探讨ADMA与冠心病的关系及其临床意义。方法 随机选择37例冠心病患者(男31例,女6例,年龄 62.0 ± 10.3 岁)和18例正常人(男9例,女9例,年龄 55.0 ± 9.8 岁),分别作为冠心病组和对照组,均经选择性冠状动脉造影确定冠状动脉有无病变及病变程度,并以高效液相色谱法测定血清中非对称二甲基精氨酸、对称性二甲基精氨酸和L精氨酸的含量,同时应用全自动生物化学分析仪测定其血脂水平。结果 冠心病组血清中一氧化氮合酶抑制物非对称二甲基精氨酸水平较对照组明显增高($3.24 \pm 1.45 \mu\text{mol/L}$ 比 $2.03 \pm 1.12 \mu\text{mol/L}$, $P < 0.01$);冠心病组血清中的内源性非对称二甲基精氨酸含量随着冠状动脉病变的加重略有增高的趋势,与对照组比较有显著性差异($P < 0.01$);冠心病组与对照组之间的对称性二甲基精氨酸和L精氨酸的含量无明显差异(对称性二甲基精氨酸 $1.98 \pm 2.19 \mu\text{mol/L}$ 比 $1.27 \pm 1.44 \mu\text{mol/L}$, $P > 0.05$; L精氨酸 $100.0 \pm 48.6 \mu\text{mol/L}$ 比 $107.9 \pm 49.1 \mu\text{mol/L}$, $P > 0.05$);相关分析表明,冠心病组血清非对称二甲基精氨酸含量与血脂、年龄、体质指数间无相关性($P > 0.05$),与冠状动脉病变程度有相关性($r = 0.28$, $P < 0.05$)。结论 内源性一氧化氮合酶抑制物非对称二甲基精氨酸的异常增高与冠心病发病有关:非对称二甲基精氨酸含量增高可能是冠心病的一项独立危险因素。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Increase of Endogenous Inhibitor of Nitric Oxide in Coronary Artery Disease and Its Clinical Significance

WU Zong-Hu¹, PU Xiao-Qun², and SUN Bao-Gui¹

(1. Cardiovascular Department, the First People's Hospital of Shanghai City, Shanghai 200080; 2. Cardiovascular Department, Xiangya Hospital, Central-south University, Changsha 410073, China)

[KEY WORDS] NG-Asymmetric Dimethylarginine; Nitric Oxide; Atherosclerosis; Coronary Disease

[ABSTRACT] **Aim** To detect the contents of endogenous ADMA in coronary artery disease (CAD) patients and investigate the relationship between each other. **Methods** 37 patients with CAD (M=31, F=6, mean age=62.0±10.3) were selected at random for study, and 18 normal people (M=9, F=9, mean age=55.0±9.8) were selected as control. All of them received coronary angiography to determine whether he has CAD and the grading of pathological changes. Serum levels of ADMA, L-arginine and SDMA were measured by HPLC, and serum contents of lipid were detected by automatic biochemic analysis apparatus. **Results** The results showed that serum content of ADMA was significantly increased in CAD as compared to normal people ($3.24 \pm 1.45 \mu\text{mol/L}$ vs $2.03 \pm 1.12 \mu\text{mol/L}$, $P < 0.01$), while that of L-arginine and SDMA were similar in both groups (SDMA $1.98 \pm 2.19 \mu\text{mol/L}$ vs $1.27 \pm 1.44 \mu\text{mol/L}$, $P > 0.05$; L-arginine $100.0 \pm 48.6 \mu\text{mol/L}$ vs $107.9 \pm 49.1 \mu\text{mol/L}$, $P > 0.05$). ADMA showed a trend to elevate with severity of coronary artery disease and had significantly increased as compared to normal people ($P < 0.01$). Serum level of ADMA only correlated with the severity of coronary artery disorder ($r = 0.28$, $P < 0.05$) but has no relation with the atherosclerosis risk factors such as lipid, age and BMI ($P > 0.05$). **Conclusions**

ADMA significantly increased in CAD patients and the elevation of endogenous ADMA may be a risk factor of CAD.

内皮细胞产生的NO是由一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)催化左旋精氨酸(L精氨酸)转化而来,这一过程受到一种内源性机制的调节,即L精氨酸的同类物非对称二甲基精氨酸(NG, NG-Asym-

metric dimethylarginine, ADMA)能竞争性抑制NOS的活性,从而减少NO的生成^[1]。研究表明,在高血糖、高血脂、高同型半胱氨酸血症时血浆内ADMA水平增高,引起血管内皮受损及功能不全^[2],在健康人群中ADMA持续高水平者急性心血管事件的发生率明显增高^[3]。目前有关冠心病与ADMA间关系的临床研究较少,ADMA与冠状动脉病变严重程度之间的关系仍未明确。本研究旨在观察冠心病与

[收稿日期] 2006-03-14 [修回日期] 2007-02-10

[作者简介] 吴宗虎,博士研究生,主要从事介入心脏病学研究, E-mail为 doctorwzh@hotmail.com。孙宝贵,教授,博士研究生导师,主要从事心脏电生理研究。蒲晓群,教授,硕士研究生导师,主要从事冠心病介入治疗研究。

ADMA 之间的关系并分析其临床意义。

1 对象和方法

1.1 研究对象

1.1.1 冠心病组 用随机数字表于 2002 年 2 月~2003 年 10 月选择住院患者 37 例,男 31 例,女 6 例,年龄 62.0 ± 10.3 岁(35~89 岁)。多数具有明显的心绞痛症状及心电图改变,以冠状动脉造影证实。并排除高血压、糖尿病和肝肾功能不全。

1.1.2 对照组 为 18 例怀疑冠心病的正常人,男 9 例,女 9 例,年龄 55.0 ± 9.8 岁(36~71 岁),经临床检查及冠状动脉造影排除冠心病及其它慢性疾病。

1.2 常规检测

所有入选者于清晨 7 时抽取静脉血,按照临床常规操作进行血脂检测。

1.3 冠状动脉造影检测及狭窄程度记分

经股动脉行选择性冠状动脉造影,并分别由两位有经验的医师用目测直径法判断冠状动脉狭窄程度,狭窄 $\geq 75\%$ 的定为有病变。按照 Califf 方法进行危险度积分^[4]:冠状动脉分成左前降支、大的对角支、第一间隔支、回旋支、主要的钝缘支、右冠状动脉及其后降支。正常冠状动脉记 1 分,直径 $\geq 75\%$ 的狭窄每个分支记 2 分,并计算总积分。积分 ≤ 7 分的患者归入轻度病变组,有 18 例,男 15 例,女 3 例,年龄 63.0 ± 6.5 岁;积分 > 7 分者归入重度病变组,有 19 例,男 16 例,女 3 例,年龄 62.0 ± 11.3 岁。

1.4 二甲基精氨酸和 L 精氨酸的检测

造影前取动脉血 3 mL,将标本在 4°C 下静置 1 h,然后以 3.5 kr/min 离心 15 min,分离血清,取 1 mL 血清于另一试管中,储存于 -20°C 冰箱中待测。

取 1 mL 血清标本加入 5 磺基水杨酸 20 mg 沉淀蛋白,冰浴 10 min 后在 4°C 下 2.5 kr/min 离心 20 min,将脱蛋白后的上清液 20 μL 置入高效液相色谱仪内,在 200 nm 的波长下进行分析,测定 ADMA、对称二甲基精氨酸(SDMA)和 L 精氨酸的含量^[5]。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 10.0 进行统计学分析。数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验;各变量间相关关系用多元线性回归相关分析; $P < 0.05$ 认为差异有显著性。

2 结果

2.1 两组一般情况的比较

两组一般情况见表 1。可见冠心病组 LDLC 水

平高于对照组,差异有显著性($P < 0.05$);TG、HDLc、TC 含量和载脂蛋白 A/B 比值及年龄、BMI 等指标在两组中没有明显差异。

表 1. 冠心病组与对照组之间一般情况的比较

参数	对照组	冠心病组
例数	18	37
性别(男/女)	9/9	31/6
年龄(岁)	55.0 ± 9.8	62.0 ± 10.3
BMI (kg/m^2)	26.0 ± 3.2	25.1 ± 2.7
TC (mmol/L)	4.17 ± 0.85	4.78 ± 1.13
TG (mmol/L)	1.38 ± 0.54	1.60 ± 1.13
LDLC (mmol/L)	2.43 ± 0.57	2.97 ± 0.91^a
HDLc (mmol/L)	1.12 ± 0.26	1.11 ± 0.28
载脂蛋白 A/B	1.08 ± 0.28	1.14 ± 0.51

a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较。

2.2 两组患者二甲基精氨酸和 L 精氨酸的比较

两组患者 ADMA、SDMA 和 L 精氨酸的测定结果见表 2。可见冠心病组血清一氧化氮合酶抑制物 ADMA 的含量比对照组明显增加,有显著性差异($P < 0.01$);SDMA 和 L 精氨酸含量在两组人群中无明显差异。

表 2. 两组二甲基精氨酸和 L 精氨酸的测定结果 ($\bar{x} \pm s$, $\mu\text{mol/L}$)

分组	ADMA	SDMA	L 精氨酸
对照组	2.03 ± 1.12	1.27 ± 1.44	107.9 ± 49.1
冠心病	3.24 ± 1.45^a	1.98 ± 2.19	100.0 ± 48.6

a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较。

2.3 非对称二甲基精氨酸与冠状动脉病变程度的关系

冠心病轻度病变组和重度病变组两组与对照组进行方差分析,ADMA 含量在对照组、轻度病变组、重度病变组三个总体之间有显著性差异($P < 0.05$),SDMA、L 精氨酸及血脂无明显差异;进一步两两分析结果发现,不同程度的冠状动脉病变组与对照组之间均存在显著性差异($P < 0.05$),在轻度病变组和重度病变组之间虽未见显著性差异,但随着冠状动脉病变程度的加重 ADMA 有增高的趋势。

2.4 非对称二甲基精氨酸与冠状动脉病变危险因素的相关性分析

将 ADMA 与血脂、冠状动脉病变等危险因素之间进行相关性分析,提示 ADMA 只与冠状动脉病变

程度存在相关关系($r = 0.28, P < 0.05$),而与血脂、年龄、体质指数等危险因素之间无相关性。将上述各指标引入多元回归分析未发现相关性。

3 讨论

研究表明, NOS 抑制物与 As 的发生发展有密切关系。不仅外源性 NOS 抑制物可以加速高脂饲养动物血管内皮的功能和组织损害, 内源性 NOS 抑制物具有更重要的促 As 作用^[6]。近期的一系列研究表明 ADMA 在血管内皮功能不全和心血管疾病的发病机制中具有重要的病理生理作用^[7]。调查发现, As 早期血脂增高对血管内皮功能不全的影响可能与 ADMA 水平升高有关, 而 ADMA 水平升高比动脉血管壁的组织形态学改变能更早预示 As 的发生^[8]。对早期冠心病患者进行长期随访及追踪发现患者体内 ADMA 升高水平与血管内皮功能不全相一致^[9,10]。本研究证实冠心病患者血清中 ADMA 水平较正常人明显增高, 而且, 在轻度病变组和重度病变组之间, ADMA 水平未发现明显差别。上述结果说明冠心病发生发展的各个阶段, ADMA 水平持续增高并参与了对血管内皮功能的损害, 而且以初始阶段对 As 病变的形成的影响最为重要, 冠状 As 病变后期的进展与冠心病其他危险因素的共同作用及积累效应有关。本研究中冠心病组患者 LDL 的水平明显高于对照组亦支持这一观点。因此 ADMA 增高有可能作为冠心病发病早期的一项危险性标志物, 对判断血管内皮功能不全及预测以后血管病变具有重要临床意义。

本研究还发现冠心病患者血清中的 ADMA 水平只与冠状动脉病变有相关性, 而与胆固醇、甘油三酯以及年龄、体质指数等危险因素没有明显的相关关系。Miyazaki 等^[11] 在 116 名年龄 52 ± 1 岁无症状的志愿者血浆中检测 ADMA 含量与其他有关因素, 经统计学分析发现, 血浆中 ADMA 水平升高与胆固醇、甘油三酯等没有相关, 与我们的研究结果一致。以上提示 ADMA 水平升高可作为冠心病的一项独立危险因素。

健康人体内 L 精氨酸的含量高出 ADMA 几十到几百倍。尽管疾病状态时血中 ADMA 含量成倍增加, 但 L 精氨酸的含量仍然远远高出 ADMA。然而临床和实验研究均证明 ADMA 含量增高仍可导致相对性的 L 精氨酸功能缺失^[8]。已有研究发现 NOS 不是直接利用细胞内储存的精氨酸, 而是利用细胞外经特异的 Y⁺ 载体转运至细胞内的精氨酸。

内源性 NOS 抑制物与 Y⁺ 载体竞争性结合进入内皮细胞, 而与 Y⁺ 载体的亲和力大小是决定细胞内两者含量的重要因素^[8,11]。本研究结果发现对照组 L 精氨酸的含量是 ADMA 的五十几倍, 冠心病组 L 精氨酸的含量也达到 ADMA 的三十几倍。在冠心病组与对照组之间 L 精氨酸的含量没有显著性差异。同时, 许多学者在动物实验与临床研究中均发现高脂血症组与对照组之间 L 精氨酸的水平没有显著性差异^[12], 间接支持本研究的结果。机体存在多种 L 精氨酸的同类物, 如 L 单甲基精氨酸(L-NMMA)、ADMA 和 SDMA。L-NMMA 和 ADMA 对 NOS 具有同等强度的抑制作用, 而 SDMA 对 NOS 无抑制作用。本研究也表明在冠心病组和对照组的 SDMA 水平没有显著性差异。ADMA 广泛存在于人和动物的血浆、尿液和血管内皮细胞中, 而血浆中 L-NMMA 的含量只有 ADMA 血浆含量的 1/10 左右, 因此在进行内源性 NOS 抑制物与 As 及冠心病关系的研究中测定 ADMA 的含量较 SDMA 及 L-NMMA 更有临床意义。

[参考文献]

- [1] Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Endogenous dimethylarginine as an inhibitor of nitric oxide synthase [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1992, **20** (Suppl 12): S60-S62.
- [2] Cooke JP. Asymmetrical dimethylarginine: The Über marker [J]? *Circulation*, 2004, **109**: 1 813-818.
- [3] 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 [J]. *Lancet*, 2001, **358**: 2 127-128.
- [4] Callif RM, Phillips HR, Hindman MC, Mark DB, Lee KL, Behar VS, et al. Prognostic value of a coronary artery jeopardy score [J]. *J Am Coll Cardiol*, 1985, **5**: 1 055-062.
- [5] 谢启应, 孙泽琳, 陈美芳, 杨天伦. 氯沙坦保护 α -LDL 诱导的内皮细胞损伤与 ADMA 的关系[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2006, **1** (1): 15-17.
- [6] Lundman P, Eriksson MJ, Stuhlinger M, Cooke JP, Hamsten A, Tornvall P. Middle-to-moderate hypertriglyceridemia in young men is associated with endothelial dysfunction and increase plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2001, **38**: 111-116.
- [7] 贾素洁, 姜德建, 邓汉武, 李元建. ADMA 与动脉粥样硬化研究进展 [J]. *岳阳职业技术学院学报*, 2006, **2** (1): 15-17.
- [8] 曲秀芬, 宋颖, 黄永麟. 不对称二甲基精氨酸在动脉粥样硬化发病机制中的作用[J]. *国际心血管病杂志*, 2006, **8** (4): 13-15.
- [9] Suwaidi JA, Hamasaki S, Higano ST, Nishimura RA, Holmes DR Jr, Lerman A. Long-term follow-up of patients with mild coronary artery disease and endothelial dysfunction [J]. *Circulation*, 2000, **101**: 948-954.
- [10] 游咏, 杨天伦, 李传昶, 蒲晓群, 郑昭芬, 陈美芳. 冠状动脉严重狭窄患者侧枝循环形成与血清非对称性二甲基精氨酸和细胞间粘附分子 1 水平的关系[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2006, **14** (5): 441-443.
- [11] Miyazaki H, Matsuoka H, Cook JP, Usui M, Ueda S, Okuda S, et al. Endogenous nitric oxide synthase inhibitor: a novel marker of atherosclerosis [J]. *Circulation*, 1999, **99**: 1 141-146.
- [12] Boger RH, Ron ES. L-Arginine improves vascular function by overcoming deleterious effects of ADMA, a novel cardiovascular risk factor [J]. *Altern Med Rev*, 2005, **10** (1): 14-23.

(此文编辑 胡必利)