

冠心病患者血清非对称二甲基精氨酸水平与冠状动脉狭窄程度的相关性

黄日茂¹, 蒋海河¹, 罗万俊¹, 林国强¹, 李迎秋²

(1. 中南大学湘雅医院心胸外科, 湖南省长沙市 410008; 2. 湖南中医药大学基础医学院, 湖南省长沙市 410007)

[关键词] 内科学; 非对称二甲基精氨酸; 冠状动脉狭窄; 心绞痛, 不稳定型; 心绞痛, 稳定型; 心肌梗死, 急性; 患者, 冠心病

[摘要] 目的 探讨血清非对称二甲基精氨酸与冠状动脉狭窄程度及冠心病病情的关系及其临床意义。方法 选取 75 例行冠状动脉造影患者, 并根据冠状动脉造影结果和临床表现分为稳定型心绞痛组($n=15$)、不稳定型心绞痛组($n=23$)、急性心肌梗死组($n=20$)和对照组($n=17$)。所有患者分别进行病史采集, 并检测血脂、非对称二甲基精氨酸水平, 应用 Gensini 积分系统评价患者的冠状动脉粥样硬化病变程度。分析血清非对称二甲基精氨酸水平与年龄、性别构成比、总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇及冠状动脉病变程度的相关性。结果 与对照组血清非对称二甲基精氨酸水平($3.81 \pm 0.48 \mu\text{mol/L}$)相比, 稳定型心绞痛组($4.82 \pm 0.50 \mu\text{mol/L}$)、不稳定型心绞痛组($5.52 \pm 0.55 \mu\text{mol/L}$)和急性心肌梗死组($6.03 \pm 1.13 \mu\text{mol/L}$)均明显升高, 且差异有统计学意义($P < 0.01$); 不稳定型心绞痛组和急性心肌梗死组血清非对称二甲基精氨酸明显高于稳定型心绞痛组, 差异具有统计学意义($P < 0.01$)。急性心肌梗死组血清非对称二甲基精氨酸与不稳定型心绞痛组相比, 虽有升高的趋势, 但差异不具有统计学意义($P = 0.279$)。冠心病各亚组 Gensini 评分均明显高于对照组(Gensini 评分为 0), 差异有统计学意义($P < 0.01$): 稳定型心绞痛组 Gensini 评分(17.79 ± 1.86)分别与不稳定型心绞痛组(38.05 ± 4.46)和急性心肌梗死组(40.62 ± 3.80)比较, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。血清非对称二甲基精氨酸水平与总胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇呈正相关($P < 0.01$), 而与年龄、性别构成比、甘油三酯、高密度脂蛋白胆固醇无显著相关性($P > 0.05$)。血清非对称二甲基精氨酸水平与冠状动脉狭窄程度 Gensini 评分有明显相关性($r = 0.704, P = 0.000$)。结论 冠心病患者的血清非对称二甲基精氨酸水平与冠状动脉狭窄程度和冠心病病情的严重程度相关, 监测血清非对称二甲基精氨酸水平对于判断冠心病病情、指导诊断治疗具有一定的价值。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Correlation between Serum Asymmetric Dimethylarginine Level and Severity of Coronary Atherosclerosis in Patients with Coronary Artery Heart Disease

HUANG Ri-Mao¹, JIANG Hai-He¹, LUO Wang-Jun¹, LIN Guo-Qiang¹, and LI Ying-Qiu²

(1. Department of Cardipulmonary Surgery of Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China; 2. Faculty of Basic Medicine, Traditional Chinese University of Hunan, Changsha 410007, China)

[KEY WORDS] Asymmetric Dimethylarginine; Endothelium; Coronary Artery Heart Disease

[ABSTRACT] Aim To investigate the correlation between endogenous inhibitor of nitric oxide synthase (NOS) asymmetric dimethylarginine (ADMA) in patients with coronary artery heart disease and severity of coronary atherosclerosis. Methods

A total of 75 patients were enrolled and divided into four groups: stable angina pectoris group (SAP, $n=15$), unstable angina pectoris group (UAP, $n=23$), acute myocardial infarction group (AMI, $n=20$) and control group ($n=17$). Clinical history was collected and total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low density lipoprotein cholesterol (LDLC), high density lipoprotein cholesterol (HDLC) and ADMA levels were determined. Coronary artery lesion was evaluated by Gensini's scoring system. Relevance of ADMA to age, sex proportion, TC, TG, LDLC, HDLC, and coronary artery Gensini's scoring was analyzed. Results

Compared with the control group ($3.81 \pm 0.48 \mu\text{mol/L}$), the serum ADMA level of the SAP group ($4.82 \pm 0.50 \mu\text{mol/L}$), UAP group ($5.52 \pm 0.55 \mu\text{mol/L}$) and AMI group ($6.03 \pm 1.13 \mu\text{mol/L}$) increased significantly ($P < 0.01$). The serum ADMA level of the UAP group and AMI group were higher than that of the SAP group ($P < 0.01$). The difference of the serum ADMA level between the UAP group and AMI group wasn't statistically significant ($P = 0.279$). Gensini's scoring of the control group was significantly different from the other three groups ($P < 0.01$). Gensini's scoring of the SAP group (17.79 ± 1.86) was significantly lower than those of the UAP group (38.05 ± 4.46) and AMI group (40.62 ± 3.80) ($P < 0.01$). There was no

[收稿日期] 2008-06-04 [修回日期] 2008-07-04

[基金项目] 湖南省自然科学基金(02jj2053)

[作者简介] 黄日茂, 主治医师, 主要从事心肺血管病临床研究, 联系电话 13707491691。通讯作者林国强, E-mail 为 lgq186snoopy@126.com。

significant difference of Gensini's scoring between the UAP group and AMI group ($P > 0.05$). Significant correlation between ADMA level and TC, LDLC levels, and Gensini's scoring were found ($P < 0.01$). There was no significant correlation between ADMA level and age, sex proportion, TG and HDLC levels ($P > 0.05$). **Conclusions** The serum ADMA is positively correlated to the degree of coronary atherosclerosis and the morbid state of coronary artery heart disease. It is important for the diagnosis therapy and estimation the morbid state of coronary artery heart disease to observe the changes of the serum ADMA level.

冠状动脉粥样硬化性心脏病(简称冠心病)是严重威胁人类健康和生命的心血管疾病,血管内皮细胞功能不全被认为是冠状动脉粥样硬化形成早期的始动环节,并参与了冠状动脉粥样硬化的发生发展过程^[1]。有研究表明,非对称二甲基精氨酸(asymmetric dimethylarginine, ADMA)通过抑制血管内皮细胞内源性一氧化氮合酶(endogenous nitric oxide synthase, eNOS)抑制一氧化氮(nitric oxide, NO)合成,导致血管内皮细胞功能不全,是血管内皮细胞功能不全的主要标志之一,且与血管内皮细胞功能不全的严重程度成正比^[2]。目前有关冠心病与ADMA关系的临床研究较少,本研究通过测定冠心病患者血清ADMA的水平,探讨ADMA与冠状动脉狭窄程度及冠心病病情的关系及其临床意义。

1 对象与方法

1.1 研究对象及分组

所有病例均为2004年5月~2005年10月在湘雅医院心导管室接受选择性冠状动脉造影(coronary angiography, CAG)检查的住院患者75例作为研究对象,其中男68例,女7例,年龄 56.2 ± 12.0 岁。按照冠心病诊断标准,其中有53例确诊为冠心病患者。这些冠心病患者均已排除:既往曾接受经皮冠状动脉介入(percutaneous coronary intervention, PCI)或冠状动脉旁路移植(coronary artery bypass graft, CABG)治疗,合并冠状动脉心肌桥或先天性心脏病,合并瓣膜性心脏病,合并糖尿病或高血压,吸烟,合并感染、肿瘤或结缔组织疾病,严重肝肾功能不全或外周血管疾病。另17例非冠心病患者作为对照组。根据58例冠心病患者临床表现、心电图和冠状动脉造影结果再分为稳定型心绞痛(stable angina pectoris, SAP)组($n = 15$)、不稳定型心绞痛(unstable angina pectoris, UAP)组($n = 23$)和急性心肌梗死(acute myocardium infarction, AMI)组($n = 21$)三组。

1.2 冠状动脉造影与影像采集

采用常规股动脉穿刺的方法行选择性CAG检查。CAG在PhilipsHC5000型心血管专用X光机上进行,选用7英寸视野,造影图像以 512×512 矩阵、DICOM格式储存、刻盘。每支血管选择最佳多体位投照,必要时加照其它特殊投照体位。影像采集3

~5个以上心动周期,造影过程中出现或怀疑冠状动脉痉挛者,予冠状动脉内注射硝酸甘油0.2~0.4 mg。

1.3 冠状动脉狭窄程度评估

冠状动脉狭窄程度以造影导管为参照,采用冠状动脉直径减少的百分比定量评价,由2名有经验的医师对造影结果进行评估。采用Gensini积分方法^[3]评价冠状动脉病变程度。冠状动脉狭窄直径比例被分为 $\leq 25\%$ 、 50% 、 75% 、 90% 、 99% 和 100% (完全闭塞)。采用Gensini积分系统,对每支血管病变程度进行定量评定,狭窄 $\leq 25\%$ 为1分,25%~49%为2分,50%~74%为4分,75%~89%为8分,90%~99%为16分,100%为32分。不同节段冠状动脉评分系数按Gensini标准,如左主干病变得分 $\times 5$ 。每例患者冠状动脉病变程度的最终积分为各分支积分之和。

1.4 血清标本的收集

所有患者于冠状动脉造影手术当天抽取空腹静脉血10 mL,分为2份,1份送湘雅医院检验科测血脂,另一份经2.5 kr/min离心20 min,取血清分装于EP管中, -70°C 冰箱保存待测。

1.5 非对称二甲基精氨酸检测

采用高效液相色谱法测定血清ADMA浓度。待测血清室温下溶解后,取血清0.2 mL加5 磺基水杨酸沉淀蛋白,混匀,14 kr/min离心10 min后取上清液,用高效液相色谱仪测定血清中ADMA的含量(高效液相色谱仪系统为LC-10Advp,色谱柱为Nova-PakC 18,保护柱为C18guardpak)。取10 μL 血清样品或标准品加入100 μL 衍生试剂(邻苯二甲醛10 mg溶解在0.5 mL甲醇中,加入0.4 mol/L、pH 9.4的硼酸缓冲液2.0 mL,与30 μL 的 β 巯基乙醇混匀后的混合物),混匀,室温下反应3 min后进样,然后用线性梯度洗脱方式将样品从色谱柱中洗脱[流动相A为50 mmol/L乙酸钠(pH 6.8):甲醇:四氢呋喃=82:17:1(V/V/V);流动相B为50 mmol/L乙酸钠:甲醇:四氢呋喃=22:77:1(V/V/V),流速为1 mL/min],经预柱处理后,用RF-10Axl型荧光检测器对其及内标ADMA进行检测(激发波长338 nm;吸收波长425 nm),采用峰面积定量。ADMA标准品购自Sigma公司(CAS65005-57-4)。检测过程严格按照试剂说明书

操作。

1.6 血脂检测

采用酶法测定血清总胆固醇 (total cholesterol, TC) 和甘油三酯 (triglyceride, TG) 浓度, 高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDLC) 和低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDLC) 采用化学遮蔽法测定。以上各指标均在湘雅医院检验科全自动生物化学仪上进行, 各指标均采用盲法测定, 批间、批内变异系数均控制在 5.5% 及 3.5% 以内。

1.7 统计学方法

所有统计分析在 SPSS13.0 统计软件分析包完成。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间均数比较采用单因素方差分析 (one-way ANOVA) 和两两比较 LSD 法检验。相关分析采用 Spearman 法检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组一般资料的比较

各组一般资料见表 1。可见组间年龄、性别构成比、TG、TC、LDLC、HDLC 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1. 各组一般资料的比较

指 标	对照组	SAP 组	UAP 组	AMI 组
例数	17	15	23	20
性别(男/女)	15/2	14/1	20/3	19/1
年龄(岁)	55.1 ± 9.3	57.7 ± 10.6	56.1 ± 11.4	57.5 ± 12.7
TC (mmol/L)	4.71 ± 1.17	4.34 ± 1.41	4.93 ± 1.18	4.86 ± 1.09
TG (mmol/L)	1.92 ± 1.31	2.15 ± 1.14	1.81 ± 1.23	2.06 ± 1.59
LDLC (mmol/L)	2.81 ± 0.48	2.79 ± 0.43	2.95 ± 0.51	2.97 ± 0.37
HDLC (mmol/L)	1.23 ± 0.31	1.14 ± 0.27	1.08 ± 0.34	1.26 ± 0.29

2.2 各组冠状动脉 Gensini 评分与血清非对称二甲基精氨酸水平的比较

各组冠状动脉 Gensini 评分与血清非对称二甲基精氨酸的检测结果显示见表 2。可见冠心病各亚组 Gensini 评分均明显高于对照组 ($P < 0.01$), SAP 组冠状动脉积分 (17.79 ± 1.86) 分别与 UAP 组 (38.05 ± 4.46) 和 AMI 组 (40.62 ± 3.81) 比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); UAP 组与 AMI 组比较, 差异无统计学意义 ($P = 0.19$); 冠心病各亚组血清 ADMA 均明显高于对照组 ($P < 0.01$), UAP 组和 AMI 组血清 ADMA 明显高于 SAP 组, 差异具有统计学意义 ($P <$

0.01)。AMI 组血清 ADMA 与 UAP 组相比, 虽有升高趋势, 但差异不具有统计学意义 ($P = 0.279$)。

表 2. 各组冠状动脉 Gensini 评分与血清非对称二甲基精氨酸的比较 ($\bar{x} \pm s$)

分 组	Gensini 评分(分)	ADMA ($\mu\text{mol/L}$)
对照组	0	3.81 ± 0.48
SAP 组	17.79 ± 1.86 ^b	4.82 ± 0.50 ^b
UAP 组	38.05 ± 4.46 ^{bd}	5.52 ± 0.55 ^{bd}
AMI 组	40.62 ± 3.81 ^{bd}	6.03 ± 1.13 ^{bd}

b 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; d 为 $P < 0.01$, 与 SAP 组比较。

2.3 相关分析结果

研究对象中血清 ADMA 水平与 TC 和 LDLC 呈正相关 (r 分别为 0.687 和 0.735, P 分别为 0.008 和 0.005), 而与年龄、性别构成比、TG 和 HDLC 无显著相关性 ($P > 0.05$)。血清 ADMA 水平与冠状动脉狭窄程度 Gensini 评分有明显相关性 (图 1, $r = 0.704$, $P < 0.001$)。

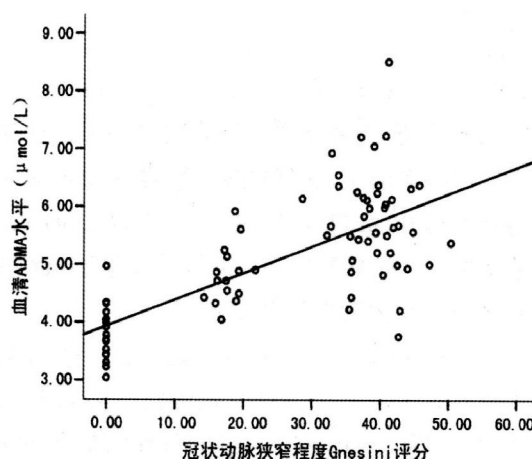


图 1. 血清非对称二甲基精氨酸水平与冠状动脉狭窄程度 Gensini 评分相关性分析

3 讨论

冠心病是危害人类健康的首位心血管疾病, 但发病机制尚未完全阐明。1993 年 Ross 提出的“损伤反应”学说认为, 血管内皮细胞损伤或功能障碍而引发其内分泌功能失调在 As 早期形成和发展阶段的病理生理机制中起关键作用^[1]。NO 就是由血管内皮细胞分泌的内皮源性舒张因子, 是调节血流和血压的重要因子, 对防止血小板、白细胞粘附聚集起重要作用, 同时还影响血管结构, 抑制血管平滑肌增生, 对动脉粥样硬化病理形成和发展具有阻抑作用^[4]。血管内皮细胞合成和分泌 NO 减少, 就会导

致血管张力调节机制受损,促进血小板活化和聚集及单核细胞、中性粒细胞活化及粘附,血管痉挛,血管平滑肌增殖,血管内膜下脂质沉积,动脉粥样斑块形成,导致冠状动脉粥样硬化发生。

非对称二甲基精氨酸(ADMA)是一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)竞争性抑制剂,它由蛋白精氨酸甲基转移酶(protein arginine methyltransferases, PRMT)S腺苷甲硫氨酸(S-adenosylmethionine, SAM)为甲基供体,使各种多肽中的L精氨酸残基甲基化,甲基化的蛋白质水解以后产生。ADMA在体内主要由二甲基精氨酸二甲胺水解酶(dimethylarginine dimethylaminohydrolase, DDAH)分解代谢生成L-瓜氨酸和甲基胺。血清ADMA水平升高可抑制血管内皮细胞NO的合成,氧化型低密度脂蛋白受体基因和蛋白表达,促进动脉粥样硬化的发生发展^[5,6]。

文献[6-8]报道,ADMA与冠心病的危险因素,如高胆固醇血症、高血压、糖尿病等密切相关。本研究在确定实验对象时就排除高血压、糖尿病患者,就是为了排除上述因素对血清ADMA浓度的影响。Bl-ger等^[9]发现,在喂饲高胆固醇饲料(12周)形成高胆固醇血症的家兔血清中,ADMA水平由 $0.8 \pm 0.1 \mu\text{mol/L}$ 上升至 $2.2 \pm 0.2 \mu\text{mol/L}$,其主动脉内膜与中膜的比值升高,血管平滑肌增生明显加强,这两种改变程度都与血清中ADMA的水平有显著相关性。本研究结果也发现,血清ADMA水平与TC、LDLC水平呈正相关,提示ADMA与上述危险因素协同促进冠状动脉粥样硬化的发生及发展。

我们的研究结果表明冠心病患者血清ADMA水平明显高于对照组,说明ADMA可能参与了冠心病的发病过程,可能是冠心病的危险因素之一,这与国外的研究结果一致^[10]。血清ADMA水平高的冠心病患者侧支循环形成不良。严重影响冠心病患者的预后^[11]。我们的研究还发现,AMI组及UAP组

血清ADMA水平均明显高于SAP组,提示血清ADMA水平可以反映冠心病病情的严重程度;本研究中血清ADMA水平与冠状动脉狭窄程度Gensini评分高度正相关,且随着冠状动脉狭窄程度的加重血清ADMA水平也逐渐增加,提示血清ADMA水平还能客观反映冠状动脉粥样硬化的严重程度。因此我们认为,血清ADMA可以作为评价冠心病患者病情和冠状动脉粥样硬化程度的指标,在临床上监测血清ADMA水平对于判断冠心病的病情、指导诊断治疗具有一定的价值,但由于本组病例数量有限,上述结论尚有待大规模临床试验进一步研究证实。

[参考文献]

- [1] Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s [J]. *Nature*, 1993, **362** (6423): 801-811.
- [2] Beger RH. The emerging role of asymmetric dimethylarginine a novel cardiovascular risk factor [J]. *Cardiovasc Res*, 2003, (4): 824-833.
- [3] Gensini GG. A more meaningful scoring system for determining the severity of coronary heart disease [J]. *Am J Cardiol*, 1983, **51** (3): 606-609.
- [4] 周京红. 一氧化氮和动脉粥样硬化[J]. *生物技术通讯*, 2007, **18** (5): 879-881.
- [5] Masuda H, Azuma H. Biological and pathophysiological roles of endogenous methylarginines as inhibitors of nitric oxide synthase [J]. *Nippon Yakurigaku Zasshi*, 2002, **119** (1): 29-35.
- [6] 何军, 刘海潮, 马业新. 非对称二甲基精氨酸促进大鼠主动脉氧化型低密度脂蛋白受体表达[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2006, **14** (12): 1031-1034.
- [7] 曲秀芬, 宋颖, 黄永瞬. 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.
- [8] Xiong Y, Fu YF, Fu SH, et al. Elevated Levels of the serum endogenous inhibitor of nitric oxide synthase and metabolic control in rats with streptozotocin-induced diabetes [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2003, **42** (2): 191-196.
- [9] Beger RH, Bode-Boger SM, Kienke S, et al. Dietary L-arginine decreases myocardial cell proliferation and vascular monocyte accumulation in cholesterol-fed rabbits [J]. *Atherosclerosis*, 1998, **136** (1): 67-77.
- [10] Schulze F, Lenzen H, Hanefeld C, et al. Asymmetric dimethylarginine is an independent risk factor for coronary heart disease: results from the multicenter Coronary Artery Risk Determination investigating the Influence of ADMA Concentration (CARDIAC) study [J]. *Am Heart J*, 2006, **152** (3): 493.e1-e8.
- [11] 游咏, 杨天伦, 李传昶, 等. 冠状动脉严重狭窄患者侧支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.

(此文编辑 胡必利)