

冠心病高脂血症患者 L-精氨酸、硝酸根、亚硝酸根及组织型纤溶酶原激活物水平的变化

孙文清^① 王佐^① 吴孟津^① 易光辉^① 谭小进^③
戴爱国^③ 文芳^③ 曹仁贤^③ 廖力夫^② 刘传湘^②

(衡阳医学院^①心血管病研究所, ^②化学教研室, ^③附属第一医院, 衡阳 421001)

Level of Plasma L-arginine, Serum NO₂⁻, NO₃⁻ and Tissue Plasminogen Activator in Patients with Coronary Heart Disease and Hyperlipemia

SUN Wen-Qing^①, WANG Zuo^①, WU Meng-Jin^①, YI Guang-Hui^①, TAN Xiao-Jin^③, DAI Ai-Guo^③, WEN Fang^③, CAO Ren-Xian^③, LIAO Li-Fu^② and LIU Chuan-Xiang^②

(^① Institute of Cardiovascular Disease, ^② Department of Chemistry, ^③ The First Affiliated Hospital, Hengyang Medical College, Hengyang 421001, China)

ABSTRACT

Aim To investigate the change of plasma L-arginine, serum NO₂⁻, NO₃⁻ and tissue plasminogen activator (t-PA) in patients with coronary heart disease and hyperlipemia.

Methods The method of Pico-TaqTM amino acid analysis was introduced to measure the level of L-arginine. Serum NO₂⁻ and NO₃⁻ was observed by catalytic photometric method. Serum t-PA was measured by enzyme linked immunosorbent assay.

Results The levels of plasma L-arginine (patients vs control group: 89±8 μmol/L vs 113±5 μmol/L), serum superoxide dismutase (patients vs control group: 67±33 ku/L vs 98±34 ku/L) and tPA (patients vs control group: 0.94±0.24 ku/L vs 1.43±0.21 ku/L) were reduced (P<0.05), but the levels of serum malondialdehyde (patients vs control group: 7.1±1.5 μmol/L vs 3.5±0.6 μmol/L) and NO₂⁻, NO₃⁻ (patients vs control group: 38±10 μmol/L vs 30±9

μmol/L) were increased (P<0.05).

Conclusion Absence of plasma L-arginine in patients heart disease and hyperlipemia may be related with the increase of requirement of nitric oxide and increase of serum NO₂⁻, NO₃⁻ may be related with increase of degradation of nitric oxide. The decrease of tPA activity may be related with endothelium dysfunction.

KEY WORDS Coronary Heart Disease; Hyperlipemia; L-arginine; Nitrate, nitrite; Plasminogen Activator, inhibition

摘要 观察 30 例冠心病高脂血症患者和 16 例正常人脂过氧化物、L-精氨酸、硝酸根、亚硝酸根、组织型纤溶酶原激活物和纤溶酶原激活物抑制剂水平的变化。结果发现,冠心病高脂血症患者 L-精氨酸水平、组织型纤溶酶原激活物和超氧化物歧化酶活性下降(与对照组相比, P<0.05),硝酸根、亚硝酸根及脂过氧化物水平升高(P<0.05)。结果提示冠心病高脂血症患者血浆中 L-精氨酸相对缺乏,可能与其一氧化氮需要量增加有关;血清中硝酸根和亚硝酸根的含量增加,可能与一氧化氮的降解增加有关;组织型纤溶酶原激活物活性降低可能与细胞功能障碍有关。

关键词 冠心病; 高脂血症; L-精氨酸; 硝酸根, 亚硝酸根; 纤溶酶原激活物, 抑制剂

动物实验表明,加饲 L-精氨酸不但可改善实验性高脂血症家兔主动脉内皮依赖性舒张功能,抑制动脉粥样硬化形成^[1,2],还可提高血清超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性,有抗高脂血症家兔低密度脂蛋白氧化修饰的作用^[3],对冠心病的防治有重要价值^[4]。但

冠心病高脂血症患者是否存在 L-精氨酸的缺乏仍有争论^[4]。本文就此探讨冠心病高脂血症患者 L-精氨酸的变化与硝酸根及亚硝酸根、脂过氧化物、组织型纤溶酶原激活物(tissue plasminogen activator, tPA)和纤溶酶原激活物抑制剂(plasminogen activator inhibition, PAI)的关系。

1 材料与方法

1.1 病例选择

实验组为 30 例确诊的冠心病且有血脂一项或一项以上异常者。总胆固醇(total cholesterol, TC) >6.0 mmol/L,甘油三酯(triglyceride, TG) >1.22 mmol/L,低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC) >5.72 mmol/L,高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC) <0.78 mmol/L,其中 TC 异常者 21 例,TG 异常者 26 例, HDLC 异常者 22 例。排除具有严重肝、肾疾病、高血压 I 期、妊娠及心肌梗塞(6 个月内)病变者。男 14 例,女 16 例,年龄 53 岁(中位数)。

健康对照者 16 人,男 9 人,女 7 人,平均年龄 51.6 岁(中位数),常规体格检查、心电图和 X 线检查无异常发现,且肝、肾功能正常。

1.2 血清脂过氧化物含量及超氧化物歧化酶活性测定

分离血清,按文献[3]测定血清脂过氧化物(lipid peroxide, LPO)含量,结果以丙二醛(malondialdehyde, MDA)生成量表示,SOD 按文献[3]测定,结果以 ku/L 表示。

1.3 血浆 L-精氨酸浓度的测定

血浆 L-精氨酸浓度的测定参照文献[1~3],用反相高效液相色谱法测定。

1.4 硝酸根和亚硝酸根含量的测定

参照文献[5]测定血清 NO_2^- 和 NO_3^- 的含量。

1.5 组织型纤溶酶原激活物及其抑制剂活性测定

组织型纤溶酶原激活物和 PAI 活性测定采用酶联免疫分析法检测,试剂盒购自上海医科大学分子遗传室,具体操作按说明书进行。

1.6 统计学处理

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用两样本均数差异的 *t* 检验。

2 结果

2.1 血浆 L-精氨酸水平

冠心病高脂血症患者血浆 L-精氨酸水平为 $89 \pm 8 \mu\text{mol/L}$,对照组 L-精氨酸水平为 $113 \pm 5 \mu\text{mol/L}$,两者相比较差异显著($P < 0.05$)。说明冠心病高脂血症患者血浆 L-精氨酸相对不足。

2.2 血清硝酸根和亚硝酸根含量的变化

冠心病高脂血症患者血清中 NO_2^- 和 NO_3^- 的浓度为 $38 \pm 10 \mu\text{mol/L}$,对照组血清中 NO_2^- 和 NO_3^- 浓度为 $30 \pm 9 \mu\text{mol/L}$,两者相比,具有统计学意义($P < 0.05$)。说明冠心病高脂血症患者血清中 NO_2^- 和 NO_3^- 含量升高。

2.3 血清脂过氧化物含量和超氧化物歧化酶活性的变化

冠心病高脂血症患者丙二醛水平为 $7.1 \pm 1.5 \mu\text{mol/L}$,SOD 的活性为 $67 \pm 33 \text{ku/L}$;对照组丙二醛为 $3.5 \pm 0.6 \mu\text{mol/L}$,明显降低($P < 0.01$),SOD 的活性为 $98 \pm 34 \text{ku/L}$,明显升高($P < 0.01$)。

2.4 血浆组织型纤溶酶原激活物及其抑制剂活性的变化

冠心病高脂血症患者 tPA 活性降低,PAI 活性变化不大(表, Table)。

Table. The changes of tPA and PAI activity with patients of coronary heart disease (CHD) and hyperlipemia (ku/L).

Group	tPA	PAI
Control	1.43 ± 0.21	6.95 ± 2.64
CHD	0.94 ± 0.26^a	7.10 ± 2.66

a: $P < 0.01$, compared with control group.

3 讨论

3.1 冠心病高脂血症患者 L-精氨酸相对缺乏

L-精氨酸作为合成一氧化氮(nitric oxide, NO)的前体物质,在血清中的浓度与体内 NO 的释放量呈密切的剂量依赖关系^[6,7]。NO 或其他相关成份是重要的内皮依赖性舒张因子^[8],

不仅可扩张血管,抑制单核-内皮细胞间的相互作用^[9],降低血小板粘附和聚集反应,而且能抑制血管平滑肌细胞增殖,而上述作用均需消耗 L-精氨酸。本研究发现冠心病高脂血症患者 L-精氨酸相对不足,这可能与 L-精氨酸消耗增加有关。

3.2 冠心病高脂血症患者血清中一氧化氮与脂质过氧化物和硝酸根及亚硝酸根的关系

Harrison 等^[9]用化学发光法测量正常或喂饲胆固醇兔主动脉血管条 NO 释放和 NO 的氧化产物含量。不管是基础状态,还是对乙酰胆碱的反应,胆固醇组 NO 的生物活性明显减少,而这些血管释放的总 NO 增加 2~3 倍。高胆固醇血症 O_2^- 产生增加, O_2^- 可抵抗血管内部抗氧化剂的保护作用,导致大量 NO 的失活,形成一种超氧亚硝酸化合物 $ONOO^-$ 。 $ONOO^-$ 在碱性条件下相对稳定,一旦酸化,立即分解,半衰期仅为 1.9 s。分解的产物为更强的氧化剂($\cdot OH + NO_2^-$): $NO_2 + NO \rightarrow ONOO^- + H^+ \rightarrow ONOOH \rightarrow \cdot OH + NO_2^-$)。本研究发现,冠心病高脂血症患者血清脂过氧化物含量增加,硝酸根及亚硝酸根增加,超氧化物歧化酶活性下降,说明高脂血症可使 NO 灭活增加,从而导致硝酸根及亚硝酸根的增加。

3.3 L-精氨酸与组织型纤溶酶原激活物及其抑制剂活性的关系

纤维蛋白沉积或/和血栓形成是动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)和冠心病形成的重要因素。早期 As 斑块中即发现有纤维蛋白(原)的存在,说明局部的抗凝或纤溶功能下降对 As 进程起着重要作用。实际上高脂血症和冠心病等病人血浆中 tPA 活性明显下降而 PAI 活性无明显变化,那么 L-精氨酸是否导致血浆中 tPA-PAI 系统的改变? 我们以前的研究发现,L-精氨酸能增加内皮细胞一氧化氮生成,从而通过多种途径发挥抗 As 和冠心病的作用。同时,L-精氨酸能提高冠心病患者血浆中 tPA 活

性,提示 L-精氨酸能影响 tPA 蛋白合成^[10]。本研究发现 tPA 活性的提高将有助于及时清除沉积的纤维蛋白,防止平滑肌细胞增殖和迁移。L-精氨酸增加 tPA 合成可能与下列环节有关:通过 NO 生成增加有效地防止内皮细胞损伤;调节细胞内外酸碱度,影响细胞膜的通透性;影响细胞内 tPA 转录和翻译水平;L-精氨酸可作为蛋白合成的一种重要原料直接参与 tPA 蛋白合成。L-精氨酸与 PAI 的关系还有待深入研究。

参考文献

- 1 杨爱莲,唐显庆,王小平,等. L-精氨酸能改善血管内皮依赖性舒张和抗动脉粥样硬化的损伤. 中国动脉硬化杂志, 1995, 3(1): 36~39.
- 2 杨和平,杨爱莲,王小平,等. L-精氨酸抗家兔动脉粥样硬化内皮损伤. 中国动脉硬化杂志, 1995, 3(1): 40~44.
- 3 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(3): 206~211.
- 4 焦鸿丽,王周亮,杨和平. L-精氨酸对高胆固醇血症的影响. 衡阳医学院学报, 1995, 23(4): 314~318.
- 5 李恩民,许丽艳,欧阳一冰. 血清中一氧化氮代谢产物硝酸根和亚硝酸根含量的同时测定. 分析化学, 1997, 25(3): 369~372.
- 6 焦鸿丽,杨和平,杨永宗. 一氧化氮及其对心血管的作用. 中国动脉硬化杂志, 1995, 3(4): 333~339.
- 7 杨和平,胡隆梅. L-精氨酸与硝基酯类扩血管药. 中国动脉硬化杂志, 1996, 4(2): 154~158.
- 8 林曙光,陈颜芳,伍淑英,等. L-精氨酸抑制内皮细胞粘附分子的表达与氧化型低密度脂蛋白促单核细胞粘附作用下降有关. 中国动脉硬化杂志, 1996, 4(3): 176~180.
- 9 Harrison DG, Ohara Y. Physiological consequence of increased vascular oxidant stresses in hypercholesterolemia and atherosclerosis: implications for impaired vasomotin. *Am J Cardiol*, 1995, 75(6): 75B~81B.
- 10 欧和生,彭建平,杨和平,等. L-精氨酸和 LDL 对血管内皮细胞合成 tPA 和 PAI 的影响. 中国病理生理杂志, 1996, 12(4): 327~330.

(1997-08-11 收到, 1997-11-15 修回)