

• 临床研究 •

高脂蛋白血症患者动脉舒张功能与一氧化氮、内皮素代谢的临床观察

晏沐阳 翟永志

【摘要】 目的 检测高脂血症患者内皮及平滑肌功能改变并探讨其机制。方法 选取32例正常人为对照组。123例高脂血症患者分为三组:高胆固醇血症组39例,血清胆固醇 ≥ 5.2 mmol/L;高甘油三酯血症组33例,血清甘油三酯 ≥ 2.0 mmol/L;混合性高脂血症组51例,同时符合上述总胆固醇、甘油三酯增高的标准。用高分辨力超声分别测量在基础状态、充血状态及舌下用硝酸甘油后肱动脉内径、血流积分、搏动指数、充血时间。比较内皮依赖性血管舒张(EDD)和非内皮依赖性血管舒张(EID)功能。用Grie 剪应力法测血清一氧化氮,用放射免疫法测血浆。结果 三组高脂血症患者 EDD、EID 值较正常人明显降低:(10.3 ± 3.2)% vs (5.7 ± 3.1)%, (5.4 ± 3.0)%, (3.2 ± 3.4)%, ($P < 0.05$); (19.2 ± 5.3)% vs (16.1 ± 5.5)%, (13.6 ± 4.9)%, (13.4 ± 4.6)%, ($P < 0.05$),混合性高脂血症患者 EDD 损害最明显。高脂血症患者充血时间明显较正常组缩短,高胆固醇血症组、高甘油三酯血症组及混合性高脂血症组间无差别。高脂血症患者一氧化氮值较正常组降低,尤以混合性高脂血症组最明显,而内皮素-1 仅在混合性高脂血症组中明显升高,高胆固醇血症组、高甘油三酯血症组与正常组间无差别。结论 不管是否出现症状,高脂血症患者存在 EDD 与 EID 功能及微循环功能的损害,可能与一氧化氮及内皮素-1 代谢平衡失调有关;充血时间能敏感反映微循环的损害。

【关键词】 高脂血症;一氧化氮;内皮素-1;超声检查

Vasodilation function and its relation with nitric oxide and endothelin-1 metabolism in hyperlipidemic patients

YAN Muyang ZHAI Yongzhi

Institute of Geriatric Cardiology, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

【Abstract】 Objective To assess the changes of endothelium and smooth muscle function and investigate their mechanism in patients with hyperlipidemia(HLP). Methods One hundred and twenty-three consecutive HLP patients and 32 normal controls were divided into four groups: control group and HLP groups(including hypercholesterolemic group, hypertriglyceridemic group and mixed HLP group). High resolution ultrasound (HRUS) was used to measure the diameter velocity time integral (VTI) pulse index(PI) and hyperemia time(HT) of right brachial artery at rest, after reactive hyperemia and after sublingual nitroglycerin. The endothelium-dependent dilation (EDD) and endothelium-independent dilation (EID) were compared. HT was firstly established by our laboratory. Serum NO and plasma ET-1 were examined with Griess method and radioimmunoassay respectively. Results EDD and EID of HLP patients were obviously lower than those of the controls respectively ($10.3 \pm 3.2\%$ vs $5.7 \pm 3.1\%$, $5.4 \pm 3.0\%$, $3.2 \pm 3.4\%$, $P < 0.05$; $19.2 \pm 5.3\%$ vs. $16.1 \pm 5.5\%$, $13.6 \pm 4.9\%$, $13.4 \pm 4.6\%$, $P < 0.05$), EDD in mixed HLP group was lowest in all subjects. HT in HLP groups was shorter than that in control group. There was no difference in HT among hypercholesterolemic group, hypertriglyceridemic group and mixed HLP group. NO values were lower in HLP groups than in control group and was lowest in mixed HLP group. ET-1 was significantly increased only in mixed HLP group. There was no difference in ET-1 between hypercholesterolemic group, hypertriglyceridemic group and control group. Conclusions Reduced EDD and EID and shortened HT in brachial artery and microvasculature occur in the preclinical and clinical phase of HLP patients. The disordered balance of NO and ET-1 may be the mechanism of endothelium and smooth muscle dysfunction. HT is sensitive in reflecting microvasculature status.

【Key words】 hyperlipidemia, nitric oxide, endothelin-1, ultrasound

收稿日期:2008-04-22

基金项目:陕西省自然科学基金(98GK12-G19-9)

作者单位:100853 北京市,解放军总医院老年心血管病研究所

作者简介:晏沐阳,男,1966年9月生,江苏南京人,医学博士,副主任医师。Tel:010-66936934,13910316572

近年来,有关动脉粥样硬化内皮细胞功能的研究逐渐受到重视,内皮细胞通过分泌内源性一氧化氮(nitric oxide, NO)形成内皮依赖性血管舒张因子,使血管处于轻度舒张状态;中膜平滑肌亦可直接接受外源性 NO,产生舒血管作用。这两种舒血管功能分别为内皮依赖性血管舒张(endothelium-dependent dilation, EDD)和非内皮依赖性血管舒张(endothelium-independent dilation, EID)功能。本研究采用高分辨力超声无创性评价高脂血症(hyperlipidemia, HLP)患者 EDD 和 EID 变化,并结合动脉舒缩因子内皮素-1(endothelin-1, ET-1)和 NO 含量的变化探讨舒张功能受损的原因^[1]。

1 资料与方法

1.1 研究对象 155 例来源于体检人群和血脂专科门诊的连续性病例,年龄 35~70 岁,分为 4 组:选 32 例正常人为对照组;123 例 HLP 患者再分成 3 组:高胆固醇血症(hypercholesterolemia, HC)组 39 例,血清胆固醇 ≥ 5.2 mmol/L;高甘油三酯血症(hypertriglyceridemia, HTG)组 33 例,血清甘油三酯 ≥ 2.0 mmol/L;混合性高脂血症(mixed HLP, MHLPL)组 51 例,该组患者同时具有总胆固醇、甘油三酯增高。

正常组与 HLP 组患者在性别、年龄、吸烟状况上均衡可比,排除高血压、糖尿病、严重肝、肾及神经系统疾病患者。

EDD、EID 检测时间在停用降脂及血管活性药物(硝酸酯类、 β 受体阻滞剂、钙通道阻滞剂和血管紧张素转换酶抑制剂)1 周后进行。

HLP 患者中,部分为有心脑血管病症状的患者,是指存在明确心绞痛及临床心电图、酶学异常和 CT 片证实为冠心病、脑卒中患者。

1.2 仪器及设置 采用 Acuson 128XP/10 型超声仪,探头频率 7.0MHz,最大轴向分辨率 107 μ m,多普勒频率 5.0MHz,取样门 1.5mm, θ 角 55°。

1.3 EDD、EID 检测 患者于室温条件下静卧至少 10min,以右侧肱动脉为检测动脉,在右肘横纹上 10cm 长度范围内分别纵、横向扫查肱动脉,至少获得 3cm 长轴血管图后,选在心电图 T 波终点时进行内径测量。内径定义为管腔前后壁内中膜界面间的垂直距离。

充血状态由肘横纹下止血带加压至 300mmHg 持续 6min 造成;经 15min 血管充血完全恢复,再于舌下滴 0.4mg 硝酸甘油,于 3min 时进行测量。

血流动力学测量包括流速积分、最大流速(V_{max})、最小流速(V_{min})、搏动指数、心率和充血时间。充血 15s 及 2min 时测量流速积分、搏动指数及内径,充血时间为充血后流速积分恢复至基础状态测量值的时间^[2]。EDD、EID 分别用充血状态 2min 及舌下硝酸甘油后 3min 时内径与基础状态内径比较的百分率表示。充血率(%)为充血后 15s 内流速积分与基础状态流速积分的比率。

1.4 生化分析 患者禁食酒精或含咖啡因饮料 12h,抽取肱静脉血,全血测血糖,取血清测总胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白-胆固醇(HDL-C),低密度脂蛋白-胆固醇(LDL-C)。用 Griess 法测定血清 NO₂,用以反映 NO 含量。用放射免疫法测定血浆 ET-1。

1.5 统计分析 实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。利用 WindowsXP 配置的 SPSS 统计软件包进行方差分析,以 $P < 0.05$ 表示差异存在统计学意义。

2 结果

2.1 各组基本情况比较 (1)研究对象的一般特点及生化检测:各组间在年龄、性别、心率、吸烟习惯、血压水平上无明显差别($P > 0.05$);对照组正常人体重指数明显低于其他组;MHLPL 组有症状患者的比例最高,明显高于其他组,HTG 组中该值高于对照组、HC 组(表 1)。(2)不同状态心率的变化:选对照组、MHLPL 组为例,测定其在基础状态、充血状态及服硝酸甘油后 3min 时心率的变化,上表显示,

表 1 研究对象的基本情况

组别	例数(男/女)	体重指数(kg/m ²)	心率(次/min)	吸烟(%)	收缩压(mmHg)	舒张压(mmHg)	有症状者
对照组	32(18/14)	22.5 \pm 3.1	73 \pm 5	13%	128 \pm 5	76 \pm 3	0
HC 组	39(23/16)	24.2 \pm 1.8*	72 \pm 6	15%	126 \pm 3	78 \pm 2	10*
HTG 组	33(20/13)	25.3 \pm 3.5*	75 \pm 3	16%	128 \pm 3	74 \pm 3	5*
MHLPL 组	51(31/20)	25.9 \pm 2.7*	75 \pm 5	16%	126 \pm 5	79 \pm 5	17*#

注:与对照组比较,* $P < 0.05$; HC、HTG 与 MHLPL 组比较,# $P < 0.05$

三种状态下,心率相差不显著,但硝酸甘油后心率略增快(表2)。

表2 基础状态、充血状态及服硝酸甘油后心率变化(次/min; $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	基础状态	充血状态	硝酸甘油后
对照组	32	73±5	72±4	79±5
MHLP组	51	75±6	73±5	82±3

2.2 各组 EDD、EID 检测结果比较 各组间基础状态内径无明显差别;加压后各组间充血率无明显差别;HLP 组 EDD、EID 值明显低于正常组,EDD 降低以 MHLP 组最明显,HTG、MHLP 组 EID 值较 HC 组降低;正常对照组充血时间较 HLP 患者明显延长,此值在 HLP 三组间无明显差别;所有受检者均无内径狭窄(表3)。

2.3 超声检测 EDD、EID 的重复性分析 所有研究对象的超声检测由同一位有经验的超声医师承担。19 例受检者(对照组 10 例,其他组各 3 例)隔 1 周经两次重复性检测,EID 与 EDD 测量的差值分别为(1.8±1.3)%和(1.6±1.2)%,说明同一操作者间重复性好。

2.4 各组生化检测结果比较 血脂测量显示,HC、MHLP 组,总胆固醇,LDL-C 值明显高于对照组、HTG 组;HTG、MHLP 组甘油三酯值较对照组、HC 组明显增高,而 HDL-C 则较对照组、HC 组降低,HTG 组中 HDL-C 最低;血清 NO 在 HLP 组均明显降低,以 MHLP 组最明显;血浆 ET-1 仅在 MHLP 组明显升高,HC、HTG 组与对照组间无明显差别(表4)。

3 讨论

HLP 患者动脉舒张功能(EDD 及 EID)明显减弱,充血时间明显缩短,反映动脉内皮及中膜平滑肌功能障碍,MHLP 较单纯 HC 及 HTG 损害更明显。伴随着 EDD、EID 损害的加重,血中 NO 量明显降低,ET-1 量则明显升高。

3.1 超声检测肱动脉舒张功能的可行性 超声能清晰显示肱动脉管壁结构,EDD 测值在同一检测者间误差很少(1.6%),远低于正常组与 HLP 组间 EDD 差值(5.8%~6.9%),EID 检测的重复性亦然^[3]。研究者将内径测量选取在心电图 T 波结束点进行,有两个原因:一是避免心动周期血管顺应性变化对舒张功能测算的影响;二是由于此时在剪应力作用下血管内径最大,最能体现动脉舒张状态。内径测量取前后壁内、中膜交界面垂直间距,而非前后壁内膜、管腔交界面垂直间距,主要因为内、中膜界面回声较内膜管腔界面回声清晰,便于测量^[1]。

3.2 HLP 对动脉舒张功能的影响 HLP 临床分 4 型:即 HC 型、HTG 型、MHLP 及低 HDL-C 型。HC 主要通过氧化型小而密 LDL 产生致动脉粥样硬化作用的理论已被公认。HTG 对动脉粥样硬化的发生发展尚有争议。HTG 时常伴有小而密 LDL 明显增高,当甘油三酯 > 2.0mmol/L 时,小而密 LDL 即升高,同时抑制纤溶,促使血栓形成,并与胰岛素抵抗有互相促进的作用,共同参与动脉粥样硬化形成。低 HDL-C 血症已证明是导致动脉粥样硬化形成。

表3 肱动脉内皮功能的检测($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	基态内径(mm)	充血率(%)	EDD(%)	EID(%)	充血时间(min)
对照组	32	4.1±0.6	421.6±306.2	10.3±3.2	19.2±5.3	6.1±4.2
HC组	39	4.0±0.5	463.3±428.3	5.5±3.1*	13.1±5.5*	3.6±1.3*
HTG组	33	4.3±0.7	488.1±261.9	5.6±3.0*	13.6±4.9*	3.8±1.9*
MHLP组	51	4.3±0.4	469.2±279.9	3.2±2.4* [△] *	13.4±4.6*	3.2±1.3*

注:与对照组比较,*P<0.05;与HC比较,[△]P<0.05;MHLP与HC、HTG组比较,#P<0.05

表4 研究对象的生化检测

组别	总胆固醇 (mmol/L)	低密度脂蛋白 (mmol/L)	高密度脂蛋白 (mmol/L)	甘油三酯 (mmol/L)	一氧化氮 (μ mol/L)	内皮素-1 (pg/ml)	血糖 (mmol/L)
对照组	4.8±0.22	3.1±0.4	1.6±0.2	0.9±0.1	81.7±31.4	59.6±13.0	5.1±0.3
HC组	6.3±0.47* [#]	4.3±0.6* [#]	1.2±0.4	1.5±0.3	72.3±18.9*	57.4±11.7	5.2±0.2
HTG组	4.3±0.31*	2.3±0.3*	0.8±0.2*	3.6±0.8* [△]	72.2±20.6*	56.4±10.0	5.3±0.2
MHLP组	6.3±1.1* [#]	4.0±0.7* [#]	1.0±0.3* [△]	2.8±0.9* [△]	63.7±19.9* [△] #	69.2±8.9* [△] #	5.2±0.1

注:与对照组比较,*P<0.05;HC与HTG、MHLP组比较,[△]P<0.05;HTG与HC、MHLP组比较,#P<0.05

化形成的独立危险因素,本实验未将其单列为一组,因为低 HDL-C 血症多伴有 HTG,二者结合致动脉粥样硬化作用明显加强。本实验显示 HTG 时, HDL-C 较 HC 时降低, EDD、EID 均明显受损,说明 HTG 伴低 HDL-C 在动脉粥样硬化形成上作用与 HC 相近。两种血脂异常共存的 MHL P 患者,动脉内皮舒张功能的损害最重,该组患者中有临床症状的患者明显增多,提示伴随 EDD、EID 的进一步损害,临床症状(如心绞痛、心肌梗死、脑卒中等)发生率提高^[3]。

EID 的损害机制尚不清楚。EID 是由 NO 供体直接释放 NO,产生舒血管作用,表现为中膜平滑肌的舒张功能。中膜平滑肌直接损害是动脉粥样硬化形成的重要改变,笔者在高胆固醇血症兔模型研究发现,高胆固醇血症兔 2 周时,中膜平滑肌吞噬脂质,出现线粒体肿胀、空泡化,由收缩型向合成型转变。高胆固醇血症 8 周时,中膜平滑肌形成泡沫细胞^[4,5]。

本实验显示,在尚未出现症状的 HLP 患者,即已存在 EDD、EID 损害,这种早期舒张功能的损害与以后形成的动脉粥样硬化形态学异常有时间、空间上的相关性。笔者通过动物实验证明,外周动脉 EDD、EID 损害与冠状动脉舒张功能损害有一致性,是全身动脉内皮、中膜平滑肌功能障碍的标志^[5]。

3.3 HLP 与充血时间 反应性充血时,血流量迅速增加,说明增加的剪应力使远侧小动脉扩张,以容纳增加的流量,这种状态持续一段时间后,血流量在某个时间点快速恢复到基础状态水平,因此,充血时间反映了远侧微循环的变化,属于反映血流储备力的参数。一般血流储备力的计算是用反应性充血(常由化学刺激剂:罂粟碱、腺苷,潘生丁等造成)时最大流速与基础状态流速之比,本实验充血率即反应此比值,在各组间无明显差异,说明用"点"做储备力的估计欠敏感。HLP 时充血时间缩短,说明用一段时间流量的变化动态反映血流储备力,似乎更敏感^[1,5]。在 HLP 各组间,充血时间无明显差异,而 EDD 损害在 MHL P 时较 HC、HTG 组患者更严重,提示微循环损害较中型动脉 EDD 损害在时间上滞后。Hollenbery^[6]等利用常规的血流储备力参数评价移植心脏冠脉功能,发现冠脉 EDD 功能损害,

但微循环功能正常,这说明微循环损害较大动脉 EDD 损害晚。Saarelainen^[7]等证实动脉粥样硬化时微循环存在内皮功能障碍,是一种全身性损害。因此,外周动脉微循环功能的评价,可作为全身微循环功能的一个标记。

3.4 HLP 与 NO、ET-1 代谢 HLP 导致 EDD 损害,是由于 NO 分泌减少或受氧自由基破坏过多而导致。本检测显示, HLP 患者血清 NO 明显减少。NO 是由其底物左-精氨酸在一氧化氮合酶作用下生成。HLP 时,内皮细胞内左-精氨酸生物利用率下降,一氧化氮合酶对左-精氨酸亲和力下降,同时由于超氧阴离子对 NO 破坏过多,使 NO 明显减少,同时形成加重舒张功能损害的 ONOO⁻,使损害进一步加剧,产生一个有利于 NO 清除,氧化应激增强的恶性循环,导致动脉粥样硬化的形成^[8]。

ET-1 与中膜平滑肌上的特殊受体相连而发挥作用,是强缩血管物质。本实验中,HC、HTG 患者 ET-1 无明显增高,提示此时舒张功能损害是内皮源性 NO 减少所致。混合性 HLP 患者 ET-1 明显升高,参与损害血管舒缩功能,使血管收缩。NO 与 ET-1 均由内皮分泌,正常机体 NO 维持血管处于轻度舒张状态, HLP 时血管舒缩平衡紊乱,NO 降低的同时伴 ET-1 的升高,共同损害血管舒张功能^[9]。

参 考 文 献

[1] 晏沐阳,曹铁生,段云友,等. 高脂血症患者内皮依赖性血管舒张功能的研究. 中华超声影像学杂志, 2001, 10:210-212.
 [2] Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. Lancet, 1992, 340:1111-1115.
 [3] Plavnik FL, Ajzen SA, Christofalo DM, et al. Endothelial function in normotensive and high-normal hypertensive subjects. J Hum Hypertens, 2007, 21:467-472.
 [4] Maxwell AJ, Zapien MP, Pearce GL, et al. Randomized trial of a medical food for the dietary management of chronic, stable angina. J Am Coll Cardiol, 2002, 39:46-48.
 [5] 晏沐阳,曹铁生,段云友,等. 高胆固醇血症兔动脉内

(下转第 144 页)

生活习惯,减慢生活节奏,放松紧张的神经,积极防治心脑血管疾病,对提高老龄人口的健康水平,延缓衰老,降低死亡率都很重要。

在本组研究中,性别比的差异与部队中尤其较高级别的领导岗位上男多女少的现实有关,不具有比较意义。

参 考 文 献

[1] 程巧燕. 1960—1999年海军总医院住院病人死因统计

分析. 人民军医,2001,44:686-689.

[2] 应倩,冯文华. 浙江省恶性肿瘤死亡率20年趋势分析. 中国慢性病预防与控制,1999,7:43-44.
[3] 牟善初,陶国枢. 现代老年急诊学. 北京:人民军医出版社,1997. 278.

(上接第131页)

[12] Almendingen K, Hofstad B, Vatn MH. Does a family history of cancer increase the risk of occurrence, growth, and recurrence of colorectal adenomas? Gut, 2003,52:747-751.
[13] Grady WM. Genetic testing for high-risk colon cancer patients. Gastroenterology, 2003,124:1574-1594.
[14] Homann N, Nees M, Conradt C, et al. Overexpression of p53 in tumor-distant epithelia of head and neck cancer patients is associated with an increased incidence of second primary carcinoma. Clin Cancer Res,

2001,7:290-296.

[15] Brenner DJ, Curtis RE, Hall EJ, et al. Second malignancies in prostate carcinoma patients after radiotherapy compared with surgery. Cancer, 2000, 88: 398-406.
[16] Jhavar S, Sarin R, Mulherkar R, et al. Glutathione S-transferase M1 or T1 null genotype as a risk factor for developing multiple primary neoplasms in the upper aero-digestive tract in Indian males using tobacco. Oral Oncol, 2004, 40:84-91.

(上接第138页)

皮非依赖性血管舒张功能的研究. 中华超声影像学杂志,2000,9:622-626.

[6] Hollenbery SM, Tamburro P, Klein LW, et al. Discordant epicardial and microvascular endothelial responses in heart transplant recipients early after transplantation. J Heart Lung Transplant, 1998, 17: 487-494.
[7] Saarelainen H, Valtonen P, Punnonen K, et al. Subtle changes in ADMA and l-arginine concentrations in normal pregnancies are unlikely to account for pregnancy-

related increased flow-mediated dilatation. Clin Physiol Funct Imaging, 2008, 28:120-124.

[8] Aksoy Y, Acikgoz N, Sivri N, et al. Decreased nitrate-mediated dilatation in patients with coronary artery ectasia; an ultrasonographic evaluation of brachial artery. Coron Artery Dis, 2006,17:365-369.
[9] McGrady M, Thanyasiri P, Bailey BP, et al. Determinants of coronary arterial flow-mediated dilatation following percutaneous coronary intervention. Catheter Cardiovasc Interv, 2008, 71:327-332.