



冠心病患者血清脂氢过氧化物和NO含量的变化

收稿日期: 2000-09-12

研究表明, 脂质过氧化损伤参与了动脉粥样硬化及慢性肾功能衰竭等病理生理过程[1][2]。检测体液特别是血液中的脂质过氧化物含量, 对于深入研究脂质过氧化损伤与疾病的关系意义重大。脂氢过氧化物(L00H) 是血浆低密度脂蛋白(LDL)中多不饱和脂肪酸发生脂质过氧化的产物。本研究应用FOX法测定了正常人和冠心病患者血清中L00H的含量变化, 并应用硝酸还原酶一步法, 对冠心病患者和正常人血清中的NO含量进行了测定。

1 材料和方法

1.1 主要试剂

TPP、BHT、硝酸还原酶、FAD、 β -NADPH为Sigma产品, 硫酸亚铁胺、二甲酚橙和硝酸钠、磷酸二氢钾、磷酸氢二钾等为国产分析纯。

1.2 标本

选择年龄和性别相同、生活习惯相近的健康体检者和冠心病患者各33名, 早晨空腹采集静脉血, 不抗凝, 常规分离血清, 待测。

1.3 血清L00H含量测定[3]

取血清90 μ l, 加10 μ l TPP (10 mmol/L)或甲醇, 混匀, 37 $^{\circ}$ C反应30 min; 加入FOX反应液(250 μ mol/L硫酸亚铁、100 μ mol/L二甲酚橙、25 mmol/L H_2SO_4 、4 mmol/L, 溶于90%甲醇中)900 μ l, 混匀, 室温反应30 min, 12 000 r/min离心5 min。取上清液测 D_{560} 值, 以加与不加TPP两管的 D_{560} 值之差计算L00H含量。

1.4 NO 测定[4]

将100 mmol/L磷酸钾缓冲液(pH7.5)、蒸馏水、0.2 mmol/L FAD和12 mmol/L β -NADPH按顺序以700:100:100:20的比例混合, 平衡至室温得反应液。血清与反应液混匀后, 置暗处避光, 精确反应50 min后, 用紫外分光光度计(Beckman DU-640)读取 D_{340} 值。根据 D_{340} 值换算出的 NO_3^- 的浓度, 并以此表示NO含量。

1.5 统计学处理

用SPSS统计软件包进行数据处理和两样本均数t检验分析。

2 结果

2.1 冠心病患者血清L00H含量的变化

33名冠心病患者血清L00H含量的测定结果表明: 冠心病组血清L00H含量为(7.64 \pm 3.26) μ mol/L, 正常

对照组LOOH含量为(5.78±3.21) μmol/L,前者显著高于后者,差异具有统计学意义(t=2.336, 0.01<P<0.05)。

2.2 冠心病患者血清NO含量的变化

冠心病患者血清NO含量与正常对照组比较发现:冠心病组的血清NO含量为(42.5±18.9) μmol/L,显著低于正常对照组的(51.4±17.8) μmol/L(t=2.099, 0.01<P<0.05)。

3 讨论

血液中的LDL被认为是动脉粥样硬化的一项主要危险因素,而氧化修饰LDL较LDL具有更强的致动脉粥样硬化作用[5]。LDL中的多不饱和脂肪酸与细胞膜的一样,易于发生脂质过氧化,产生脂氢过氧化物LOOH。临床检测血清LOOH较常规的血脂指标具有优越性。本实验发现冠心病患者血清LOOH含量较正常者显著升高,与文献[6]关于冠心病患者血清脂质过氧化物(LPO)含量高于正常人的结果一致,提示在动脉粥样硬化出现临床症状之前,若测得人血清LOOH水平上升,应被视为一种危险信号。

已知,氧自由基和氧化LDL对巨噬细胞产生的脂质过氧化损伤,是巨噬细胞泡沫样变的主要原因[1],而泡沫细胞的出现是动脉粥样硬化的早期事件和标志。NO具有独特的理化和生物学活性,近年NO被认为可能是一种内源性的抗动脉粥样硬化机制。一方面,NO能恒定血管张力和稳定血压,还能够抑制血小板的粘附和聚集,抑制白细胞的粘附和趋化性,以及抑制平滑肌细胞的增殖。另一方面,NO具有抗脂质过氧化作用,它可作为一种氧自由基的清除剂,终止脂质过氧化扩增反应,可抑制Ca²⁺和细胞诱导的LDL氧化[7][8]。上述两方面的作用,与动脉粥样硬化发生机制相拮抗,可防止动脉粥样硬化的发生。本实验与文献报道[9]一致,观察到冠心病患者血清NO含量下降,提示NO生成障碍时,内源性抗动脉粥样硬化功能降低。

参考文献:

- [1] Liu SX, Zhou M, Chen Y, et al. Injury to macrophages by oxidatively modified low density lipoprotein may play an important role in foam cell formation[J]. *Atherosclerosis*, 1996, 121(1): 55-61.
- [2] Grone EF, Walli AK, Grone HJ, et al. The role of lipids in nephrosclerosis and glomerulosclerosis[J]. *Atherosclerosis*, 1994, 107(1):1-4.
- [3] Nourooz-Zadeh J, Tajaddini-Sarmadi, Wolff SP, et al. Measurement of plasma hydroperoxide concentrations by the ferrous oxidation-oxylenol orange assay in conjunction with triphenylphosphine[J]. *Anal Biochem*, 1994, 220(2): 403-9.
- [4] Bories PN, Bories C. Nitrate determination in biological fluids by an enzymatic one-step assay with nitrate reductase[J]. *Clin Chem*, 1995, 41(6): 904-7.
- [5] 陈瑗, 周玫. 脂质过氧化作用与动脉粥样硬化[J]. *生物化学与生物物理学进展*, 1989, 16(4):278-30.
- [6] Liu KT, Cuddy E, Pierce GN. Oxidative status of lipoproteins in coronary heart disease patients[J]. *Am Heart J*, 1992, 123(2): 285-7.
- [7] Hogg N, Struck A, Goss SPA, et al. Inhibition of macrophage-dependent low density lipoprotein oxidation by nitric oxide donors[J]. *J Lipid Res*, 1995, 36(7):1756-62.
- [8] Robbo H, Pathasarathy S, Barnes S, et al. Nitric oxide inhibition of lipoxygenase-dependent liposome and low density lipoprotein oxidation: termination of radical chain propagation reaction and formation of nitrogen-containing oxidized lipid derivatives[J]. *Arch Biochem Biophys*, 1995, 324(1): 15-25.
- [9] 汪晓浓, 李爱红, 许宏岳. 348例血清NO₂⁻/NO₃⁻水平与临床疾病关系探讨[J]. *天津医学*, 1996, 10(4): 589-59.

参考文献:

- [1] Liu SX, Zhou M, Chen Y, et al. Injury to macrophages by oxidatively modified low density lipoprotein may play an important role in foam cell formation[J]. *Atherosclerosis*, 1996, 121(1): 55-61.
- [2] Grone EF, Walli AK, Grone HJ, et al. The role of lipids in nephrosclerosis and glomerulosclerosis[J]. *Atherosclerosis*, 1994, 107(1):1-4.
- [3] Nourooz-Zadeh J, Tajaddini-Sarmadi, Wolff SP, et al. Measurement of plasma hydroperoxide concentrations by the ferrous oxidation-oxylenol orange assay in conjunction with triphenylphosphine[J]. *Anal Biochem*, 1994, 220(2): 403-9.
- [4] Bories PN, Bories C. Nitrate determination in biological fluids by an enzymatic one-step assay with nitrate reductase[J]. *Clin Chem*, 1995, 41(6): 904-7.
- [5] 陈瑗, 周玫. 脂质过氧化作用与动脉粥样硬化[J]. *生物化学与生物物理学进展*, 1989, 16(4):278-30.
- [6] Liu KT, Cuddy E, Pierce GN. Oxidative status of lipoproteins in coronary heart disease patients[J]. *Am Heart J*, 1992, 123(2): 285-7.
- [7] Hogg N, Struck A, Goss SPA, et al. Inhibition of macrophage-dependent low density lipoprotein oxidation by nitric oxide donors[J]. *J Lipid Res*, 1995, 36(7):1756-62.
- [8] Robbo H, Pathasarathy S, Barnes S, et al. Nitric oxide inhibition of lipoxygenase-dependent liposome and low density lipoprotein oxidation: termination of radical chain propagation reaction and formation of nitrogen-containing oxidized lipid derivatives[J]. *Arch Biochem Biophys*, 1995, 324(1): 15-25 .
- [9] 汪晓浓, 李爱红, 许宏岳. 348例血清NO₂-/NO₃-水平与临床疾病关系探讨[J]. *天津医学*, 1996, 10(4): 589-59.