

• 高血压 •

新疆绝经后期女性血浆非对称二甲基精氨酸
与原发性高血压的相关性*秦练¹ 王忠² 唐辉³ 王丽² 陈少泽²

【摘要】 目的:通过比较新疆哈萨克族、维吾尔族绝经后期女性原发性高血压(EH)患者血浆非对称二甲基精氨酸(ADMA)水平差异,进一步探讨 ADMA 与 EH 的相关性。**方法:**选择哈萨克族绝经后期女性 EH 患者 71 例及维吾尔族患者 68 例作为病例组,以 56 例哈萨克族绝经后期健康女性及同等条件 50 例维吾尔族女性作为对照组,采用反相高效液相色谱法(RP-HPLC)分别检测两民族病例组及对照组人群血浆中 ADMA 水平,同时检测血脂、血糖、果糖胺等生化指标,相关性分析采用双变量相关性分析。**结果:**与各自对照组比较,两民族病例组血浆 ADMA 水平:病例组[哈萨克族:(0.37 ± 0.05) $\mu\text{g/ml}$;维吾尔族:(0.39 ± 0.08) $\mu\text{g/ml}$];对照组[哈萨克族(0.30 ± 0.02) $\mu\text{g/ml}$;维吾尔族(0.29 ± 0.11) $\mu\text{g/ml}$],差异有统计学意义($P < 0.01$),两民族绝经后期女性高血压患者血浆 ADMA 水平高于各自对照组。经双变量相关分析发现绝经后期女性高血压患者血浆 ADMA 水平与血压水平呈正相关,哈萨克族($r = 0.672$, $P < 0.01$),维吾尔族($r = 0.732$, $P < 0.01$)。**结论:**两民族绝经后期女性高血压患者血浆 ADMA 水平高于绝经后健康女性,其 ADMA 水平与血压水平呈正相关,ADMA 可能参与了 EH 的发生及发展。

【关键词】 新疆哈萨克族;维吾尔族;非对称二甲基精氨酸;原发性高血压

doi: 10.13201/j.issn.1001-1439.2016.01.007

【中图分类号】 R544.1 **【文献标志码】** A

Plasma asymmetric dimethylarginine between Kazak and Uyghu postmenopausal period women patients with essential hypertension in Xin Jiang

QIN Lian¹ WANG Zhong² TANG Hui³ WANG Li² CHEN Shaoze²

(¹Department of Emergency, the First Affiliated Hospital of Medical School, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang, 832002, China; ²Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital of Medical School, Shihezi University; ³Pharmacy laboratory, Medicine School, Shihezi University)

Corresponding author: QIN Lian, E-mail: 951115422@qq.com

Abstract Objective: To compare the difference of plasma asymmetric dimethylarginine levels between Kazak and Uyghu postmenopausal period women patients with essential hypertension in Xin Jiang, and to explore the correlation between plasma asymmetric dimethylarginine and essential hypertension. **Method:** The 71 kazak and 68 Uyghu postmenopausal period women patients with Hypertension were picked out randomly to form test groups, 56 Kazak and 50 Uyghu postmenopausal period healthy women were picked out as control groups. Plasma asymmetric dimethylarginine was measured by High performance liquid chromatography(RP-HPLC). Meanwhile blood-lipids, blood glucose and fructosamine were measured. Correlation analysis used Bivariate correlation analysis. **Result:** Compared with control groups, two nationalities test group's ADMA levels were increased significantly (Kazak 0.30 ± 0.02 $\mu\text{g/ml}$; Uyghu 0.29 ± 0.11 $\mu\text{g/ml}$) ($P < 0.01$). There was a positive correlation between the plasma ADMA and blood pressure levels of the postmenopausal period women with essential hypertension in two nationalities, ($r = 0.672$, $P < 0.01$ for Kazak; $r = 0.732$, $P < 0.01$ for Uyghu). **Conclusion:** Both Kazak and Uyghu postmenopausal period women with essential hypertension had higher levels of ADMA than healthy postmenopausal period women. There was a positive correlation between the plasma levels of ADMA and essential hypertension.

Key words Kazak and Uyghu in XinJiang; Asymmetric dimethylarginine; Essential hypertension

原发性高血压(Essential hypertension, EH)是心血管疾病中最常见的多危险因素疾病,根据 2010 年我国疾病预防控制中心公布研究显示,中国成年人高血压患病率高达 33.5%^[1],在我国不同民

族之间高血压患病率存在差异,新疆为多民族聚集区,以哈萨克族及维吾尔族为主体,特别是哈萨克族具有民族性聚集高发的特征^[2]。伴随女性绝经后激素水平的变化,其高血压发病率开始上升,特别在 70 岁以后明显高于男性^[3]。美国全国健康和营养调查研究也证实,绝经后女性高血压控制率偏低^[4]。非对称二甲基精氨酸(asymmetric dimethylarginine, ADMA)是一氧化氮合酶(NOS)内源性

*基金项目:兵团科技援疆计划专项基金(No: 2012AB0140)

¹石河子大学医学院第一附属医院急诊内科(新疆石河子, 832002)

²石河子大学医学院第一附属医院心内科

³石河子大学药学院药物分析实验室

内皮细胞一氧化氮(NO)/NOS 通路障碍,由于 NO 合成减少,使得 NO 对血管收缩张力的调节及抗血小板聚集等功能减弱^[5]。可能通过上述机制,ADMA 参与了高血压的发生及发展,并作为高血压发病新的危险因子之一,逐渐成为研究热点。但关于绝经后期少数民族女性高血压患者 ADMA 水平的研究较少,本文通过反相高效液相法测定新疆哈萨克族、维吾尔族女性人群血浆 ADMA 水平,进一步探讨其与 EH 之间的相关性。

1 对象与方法

1.1 对象

哈萨克族样本均来自 2012 年 11—12 月于新疆玛纳斯县早卡子乡及沙湾县东湾镇进行流行病学调查的哈萨克族定居牧民;维吾尔族样本来自 2012 年 4 月—12 月于新疆伊犁州友谊医院心内科住院及体检中心女性患者。通过高血压问卷调查,选取哈萨克族绝经后期女性 EH 患者 71 例作为病例组,年龄(47.2 ± 9.3)岁,哈萨克族绝经后期健康女性 56 例作为哈对照组,年龄(44.8 ± 10.7)岁;选取维吾尔族绝经后期女性 EH 患者 68 例为病例组,年龄(46.4 ± 10.1)岁,维吾尔族绝经后期健康女性 50 例作为对照组,年龄(47.1 ± 9.6)岁。

1.2 纳入及排除标准

纳入标准:病例组:根据《中国高血压防治指南 2010》标准:收缩压 ≥ 140 mm Hg (1 mmHg = 0.133 kPa)和(或)舒张压 ≥ 90 mmHg,心功能 $< \text{II}$ 级;所选样本 2 周内未服用特殊药物,采血前 3 d 维持饮食结构相对稳定。对照组:收缩压 < 140 mmHg,舒张压 < 90 mmHg,既往无高血压病史。病例组及对照组女性样本均按《绝经期管理与激素补充治疗临床应用指南 2012》^[6]对绝经后期女性进行纳入。

排除标准:继发性高血压;恶性肿瘤并行放化疗;肝肾功能异常及合并严重感染;新发脑出血或脑梗死(1 年内);心肌病、心脏瓣膜病、心功能 II 级以上;正在进行减肥、调脂等治疗的高血压患者;长期口服避孕药女性。

1.3 调查问卷及体检资料

问卷内容:家族病史:高血压相关家族史、糖尿病家族史、肿瘤家族史等;一般情况包括:年龄、性别、饮食习惯、文化水平、生活习惯(吸烟、饮酒、睡眠障碍、体力活动)等;服药史:降压药、血管扩张剂、避孕药及抗血小板药等。体格检查:血压、心率、身高、体质量、腰围、臀围及体质指数等。

1.4 标本采集及生化指标检测

血样采集均隔夜禁食 12 h;晨起后取肘前静脉血 10 ml,各 5 ml 置于普通离心管及 EDTA 抗凝管中。将普通离心管中静脉血以 $3\,000 \times g$ 转速于

4℃ 离 15 min(离心机半径 5 cm);全自动生化检测仪检测(石河子大学医学院一附院检验科)血糖血脂,并由同一检验人员同批完成检测。

1.5 ADMA 检测方法步骤

①标准品溶液配制:将 5 mg ADMA 标准品加入 50 ml 超纯水并漩涡混匀 5 min(标准品储备液浓度:100 $\mu\text{g/ml}$,于 4℃ 冰箱冷藏)。②OPA 衍生剂:于 40 ml 避光储液瓶中加入邻苯二甲醛 200 mg,硼酸溶液 36 ml,甲醇 4 ml 及三巯基丙酸 200 μl ;将上述溶液漩涡混匀 10 min 冷藏备用^[7]。③色谱条件:色谱柱:Agilent C18 柱(5 μm , 3.9×250 mm),流动相 A:0.05 $\mu\text{mmol/L}$ 乙酸钠溶液(pH 6.8);流动相 B:甲醇(65:35)等度洗脱,进样量 20 μl /次,流速 1 ml/min。紫外检测器吸收值通道 A:203 nm,通道 B:254 nm^[8]。④标准曲线制备:于 5 支 1.5 ml 离心管中依次加入不同量及浓度的 ADMA 储备液,再 1 次加入空白血浆,配制成浓度依次为 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 、0.2 $\mu\text{g/ml}$ 、0.5 $\mu\text{g/ml}$ 、1.0 $\mu\text{g/ml}$ 、2.0 $\mu\text{g/ml}$ 的血浆标准品溶液。按血浆样本处理方法进行处理,同时记录色谱图,以峰面积为纵坐标,ADMA 浓度为横坐标进行线性回归,得直线回归方程 $\text{Area} = 1\,680.2C + 5251.6$, $R^2 = 0.9994$,其含量在 0.1~2.0 $\mu\text{g/ml}$ 之间有良好的线性关系。⑤血浆样品检测:于 1.5 ml 离心管加入 200 μl 待测血浆及乙腈 800 μl ,漩涡混匀 5 min,于 4℃ $12\,000 \times g$ 低温离心 15 min;取上清液 100 μl ,加 OPA 衍生剂 100 μl 漩涡混匀,避光反应 3 min,将反应后产物经 0.22 μm 微孔滤膜过滤,取滤液进行测定^[9]。色谱图可见血浆中 ADMA 峰形良好,分离完全,无杂质峰干扰。

1.6 统计学处理

采用 Excel2007 对数据进行双录,所得实验数据应用 SPSS17.0 统计软件进行分析,计量资料服从正态分布采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间均数的比较采用 t 检验,不满足 t 检验条件的,采用两独立样本秩和检验,相关性使用双变量相关性分析,分类资料采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 两民族病例组与对照组相关临床指标及血浆 ADMA 水平

两民族病例组与对照组相关临床指标及血浆 ADMA 水平见表 1。与同民族的对照组相比,两民族高血压组在年龄、GLC、FROCT、TC、TG、LDL、HDL 及 BMI 水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。两民族病例组血浆 ADMA 水平均高于各自对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);维吾尔族病例组血浆 ADMA 水平高于哈萨克族病例组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1 两民族病例组与对照组临床指标及 ADMA 水平比较

Table 1 Plasma ADMA and clinical data

$\bar{x} \pm s$

临床指标	哈萨克族		维吾尔族	
	病例组(71 例)	对照组(56 例)	病例组(68 例)	对照组(50 例)
年龄/岁	47.2±9.3	44.8±10.7 ¹⁾	46.4±10.1	47.1±9.6 ¹⁾
SBP/mmHg	145.13±15.43 ¹⁾²⁾	125.54±12.71	142.44±16.69 ¹⁾	124.58±13.71
DBP/mmHg	81.65±10.01 ¹⁾	80.12±11.21	82.25±9.61 ¹⁾	79.36±11.04
GLC/(mmol·L ⁻¹)	5.26±0.71	4.97±0.65	5.18±0.36	4.73±0.33
FROCT/(μmol·L ⁻¹)	239.80±21.52	231.86±18.73	243.06±21.01	232.71±17.65
TC/(mmol·L ⁻¹)	5.38±0.63	4.99±0.54	5.06±1.29	4.86±0.57
TG/(mmol·L ⁻¹)	1.35±0.70	1.24±0.56	1.37±0.68	1.28±0.57
LDL/(mmol·L ⁻¹)	2.97±0.53	2.68±0.41	3.12±1.03	2.85±0.67
HDL/(mmol·L ⁻¹)	1.83±0.29	1.84±0.20	1.86±0.36	2.01±0.13
BMI/(kg·m ⁻²)	27.20±1.43	25.76±1.82	26.53±2.58	25.35±2.24
ADMA/(μg·ml ⁻¹)	0.37±0.05 ¹⁾	0.30±0.02	0.39±0.08 ¹⁾²⁾	0.29±0.11

GLC:血清葡萄糖;FROCT:果糖胺;BMI:体质量指数;LDL-C:低密度脂蛋白胆固醇;HDL-C:高密度脂蛋白胆固醇。与同民族对照组比较,¹⁾P<0.05;与维吾尔族高血压组比较,²⁾P<0.05。

2.2 哈萨克族与维吾尔族高血压患者 ADMA 水平比较(根据血压分层)

按《中国高血压防治指南 2010》诊断标准对两民族病例组血压水平分层,应用秩和检验,进行统计分析,提示两民族病例组 ADMA 水平均随血压增高而逐渐增高(P<0.01)。见表 2、3。

表 2 哈萨克族病例组不同血压水平与血浆 ADMA 浓度比较

Table 2 Comparison of plasma ADMA levels with different degrees by blood pressure in Kazak M(P75-P25)

血压水平	例数	ADMA/(μg·ml ⁻¹)	χ ²	P
I 级	23	0.34(0.02)	57.24	0.000
II 级	33	0.37(0.03)		
III 级	15	0.39(0.02)		

表 3 维吾尔族病例组不同血压水平与血浆 ADMA 浓度比较

Table 3 Comparison of plasma ADMA levels with different degrees by blood pressure in Uyghu M(P75-P25)

血压水平	例数	ADMA/(μg·ml ⁻¹)	χ ²	P
I 级	21	0.36(0.03)	58.49	0.000
II 级	31	0.39(0.01)		
III 级	16	0.41(0.02)		

2.3 两民族血浆 ADMA 浓度与 EH 相关性分析

经双变量相关分析发现,两民族患者血浆 ADMA 水平均与 EH 之间呈正相关,哈萨克族(r=0.672, P<0.01),维吾尔族(r=0.732, P<0.01)。

2.4 两民族高血压患者组 ADMA 水平与高血压危险因素关联性分析

对照组按实 ADMA 水平进行分层(ADMA<0.3,0.3《ADMA》0.35,ADMA>0.35),分析 ADMA 与高血压其他危险因素关联性,根据公式求得哈萨克族计算 Pearson 列联系数。哈萨克族绝经后期女性 TC 与 ADMA 列联系数 C:0.565,LDL:0.47,维吾尔族绝经后期女性 TC 与 ADMA 的列联系数为 0.614,LDL:0.539,两民族病例组 ADMA 水平均与总胆固醇及低密度脂蛋白具有关联性,具有统计学意义,见表 4。

表 4 两民族 ADMA 水平与其他原发性高血压危险因素之间 Pearson 列联系数

Table 4 ADMA levels and other essential hypertension risk factors in two nationalities described by Pearson contingency coefficient

组别	TC	TG	LDL	BUN	GLU	FROCT
哈萨克族						
病例组	0.565	0.134	0.470	0.162	0.073	0.152
对照组	0.123	0.065	0.148	0.071	0.053	0.092
维吾尔族						
病例组	0.614	0.258	0.539	0.215	0.081	0.175
对照组	0.147	0.210	0.164	0.159	0.055	0.124

3 讨论

ADMA 作为 L-精氨酸/NO 通路内源性调节因子,其主要调节机制是与 L-精氨酸竞争 NOS 的结合位点^[10],从而抑制 NOS 活性,导致其解耦连^[11],并干扰 L-精氨酸向胞内进行转运,引发内源性 NO 生成减少,血管张力调节机制受损,促进高血压的发生及发展,大量研究已发现高血压患者血浆 ADMA 水平明显高于对照组^[12]。绝经后女性由于性雌激素水平降低,雌/雄激素比下降,导致血

等改变^[13]。本研究以哈萨克族及维吾尔族绝经后期女性高血压患者为研究对象,并应用 RP-HPLC 法检测血浆 ADMA 浓度,在液相条件、紫外线检测波长选择、ADMA 衍生方法及血浆蛋白去除等实验方法均有一定创新性,并通过上述方法提高了检测的精确性。通过实验结果观察到两民族高血压患者血浆 ADMA 水平均高于自对照组,维吾尔族女性绝经后期高血压患者血浆 ADMA 水平高于哈萨克族女性,伴随病例组血压水平的升高,ADMA 水平逐渐升高,其与高血压之间呈正相关;两民族绝经后期女性 ADMA 与高血压危险因素总胆固醇及低密度脂蛋白之间有一定关联性。

新疆为多民族聚居区,以维吾尔族及哈萨克族为主体,两民族在人群地理位置上为相对隔离,极少与其他民族通婚,在影响血压的环境因素方面比较一致,具有良好的研究基础,两民族高血压患病率呈逐年上升趋势^[14],多次流行病学调查显示新疆哈萨克族、维吾尔族高血压患病率高于汉族人群^[15-16]。哈萨克族人群以游牧民居居多,在日常生活中盐、蛋白及脂肪摄入量较高,蔬菜、水果摄入量少,维吾尔族人群多聚居于城郊及城市中,肉类、水果及奶制品摄入量多,而豆类食品摄入较少,烹调方式常用烧烤,盐摄入量高,多数维吾尔族女性患者体力活动活跃、充分的比例均低于健康人群^[17]。两民族女性血浆 ADMA 水平差异原因可能有如下几点:①两民族各自基因遗传特性;②膳食习惯、生活方式方面因素;③对于疾病知晓率、就诊率、治疗依从性的差别。④女性绝经后期雌激素水平下降及神经内分泌系统变化,导致多种机制相互影响、互为因果,心血管病风险事件增多。

本研究结果显示,绝经后期女性 EH 患者伴随血压水平增高,血浆 ADMA 水平逐渐增加,提示在高血压发生及发展各阶段,ADMA 持续增高对血管内皮功能造成损害,同时促进了动脉粥样硬化的发展。表明 ADMA 对于 EH 监测^[18]可能具有一定的临床应用价值,并为特异性治疗药物研发提供一定的线索。但 ADMA 在人体内生成与代谢的其他途径,以及转运^[19]及调控机制等仍须进一步研究。

参考文献

- [1] 中国疾病预防控制中心. 2010 年中国成年人高血压患病率调查[J]. 中华预防医学杂志, 2012, 46(2): 406—409.
- [2] 郭淑霞, 张景玉, 张翼华, 等. 新疆哈萨克族与汉族高血压流行病学特点比较与分析[J]. 石河子大学学报, 2008, 26(5): 538—540.
- [3] KEARNEY P M, WHELTON M, REYNOLDS K, et al. Global burden of hypertension: Analysis of worldwide data[J]. Lancet, 2005, 365: 217—223.
- [4] LOMBARDI M, MERCURO G, FINI M, et al. Genetic factors in primary and secondary prevention[J]. Fundam Clin Pharmacol, 2010, 24: 609—705.
- [5] BLGER R H. The emerging role of asymmetric dimethylarginine as a novel cardiovascular risk factor [J]. Circ Res, 2003, 59: 824—833.
- [6] 中华医学会妇产科学分会绝经学组. 绝经期管理与激素补充治疗临床应用指南[J]. 中华妇产科杂志, 2013, 48(10): 795—799.
- [7] IVANOVA M, ARTUSI C, BOFFA G M, et al. HPLC determination of plasma dimethylarginines; method validation and preliminary clinical application [J]. Clin Chim Acta, 2010, 411: 1632—1636.
- [8] SALVATORE S, ANGELO Z. A new selective precolumn ninhydrin-based derivatization for a RP-HPLC determination of plasma ADMA by fluorescence detection[J]. Amino Acids, 2008, 34: 677—682.
- [9] TOM TEERLINK. HPLC analysis of ADMA and other methylated L-arginine analogs in biological fluids [J]. Journal of Chromatography, 2007, 851: 21—29.
- [10] BOGER R H. The emerging role of asymmetric dimethylarginine as a novel cardiovascular risk factor[J]. Cardio Res, 2003, 59: 824—833.
- [11] ELESBER A A, SOLOMON H, LENNON R J, et al. Coronary endothelial dysfunction is associated with erectile dysfunction and elevated asymmetric dimethylarginine in patients with early atherosclerosis [J]. Eur Heart J, 2006, 27: 824—831.
- [12] 王洪巨, 刘俊, 史晓俊, 等. 原发性高血压患者血浆非对称性二甲基精氨酸浓度升高[J]. 中华高血压杂志, 2007, 15(11): 930—932.
- [13] 胡哲, 高平进. 绝经后女性高血压[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2012, 14(8): 881—883.
- [14] 刘芬, 马依彤, 杨毅宁, 等. 新疆不同民族高血压现况的流行病学调查[J]. 中华医学杂志, 2010, 90: 259—263.
- [15] 张丽萍, 张景萍, 陈锦慧, 等. 新疆哈萨克族和维吾尔族原发性高血压相关危险因素研究[J]. 新疆医科大学学报, 2012, 35(8): 1004—1012.
- [16] 杨思进, 马依彤, 刘芬, 等. 新疆哈萨克族原发性高血压患者高尿酸血症患病率及相关危险因素分析[J]. 中华高血压杂志, 2010, 18(9): 832—836.
- [17] 彭宏, 吕晓华, 尚建修, 等. 新疆汉族和维吾尔族居民高血压相关危险因素研究[J]. 现代预防医学, 2010, 37(18): 3501—3504.
- [18] FRANCESCO P, RENKE M, PIETRO D, et al. Asymmetric dimethylarginine predicts survival in elderly [J]. AGE, 2013, 6: 211—221.
- [19] JOACHIM S, FABIAN M, OLIVER Z, et al. Transport of asymmetric dimethylarginine (ADMA) by cationic amino acid transporter 2 (CAT2), organic cation transporter-2 (OCT2) and multidrug and toxin extrusion protein 1 (MATE1) [J]. Amino Acids, 2013, 11: 367—381.