

· 论 著 ·

不对称二甲基精氨酸在脑血管支架术后再狭窄形成过程中的作用

吴云虎[#], 王殿华[△]

(昆明医学院 650000)

摘要:目的 探讨内源性一氧化氮合酶(NOS)竞争抑制剂不对称二甲基精氨酸(ADMA)与脑血管支架内再狭窄(ISR)程度的相关性。方法 根据 105 例脑血管支架术后患者有无支架内再狭窄分为两组:对照组,74 例经皮脑血管成形术后但没有 ISR 的患者,其中颈内动脉 32 例,大脑中动脉 11 例,锁骨下动脉 7 例,椎动脉开口 15 例;应用保护伞 26 例。观察组,31 例 ISR,其中颈内动脉 13 例,锁骨下动脉 2 例,大脑中动脉 7 例,椎动脉开口 9 例;应用保护伞 6 例。平均随访 18.5 个月(3~41 个月),期间进行 1 次脑血管造影,采血清标本后冻存,检测相关实验室指标。结果 与对照组血清 ADMA 水平 $[(1.63 \pm 0.68) \mu\text{mol/L}]$ 相比,观察组明显升高 $[(3.23 \pm 0.41) \mu\text{mol/L}]$,差异有统计学意义($P < 0.01$);观察组血清 NO $[(23.83 \pm 7.15) \mu\text{mol/L}]$,明显低于对照组 $[(32.87 \pm 6.72) \mu\text{mol/L}]$,差异有统计学意义($P < 0.01$)。两组在平均年龄、性别、血管造影特点及临床特征方面比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。然而,两组在椎动脉开口和大脑中动脉 ISR 的发生率比较差异有统计学意义。结论 脑血管支架内再狭窄程度与血清 ADMA 水平呈正相关,与血清 NO 水平呈负相关。血清 ADMA 和 NO 水平的变化是评估脑血管 ISR 程度非常重要的指标。

关键词:不对称二甲基精氨酸;脑血管支架内再狭窄;形成机制

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2010.22.013

中图分类号:R741.05;R743.33

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2010)22-3032-03

Effect of asymmetric dimethylarginine in forming course of in-stent restenosis after cerebrovascular stenting

WU Yun-hu[#], WANG Dan-hua[△]

(Kunming Medical University, Kunming, Yunnan 650000, China)

Abstract: Objective To investigate the correlation between endogenous inhibitor of nitric oxide synthase asymmetric dimethylarginine(ADMA) and in-stent restenosis in the patients with endovascular stenting. **Methods** A total of 105 patients were enrolled and divided into two groups. Control group:74 patients with percutaneous transluminal stent angioplasty but without in-stent restenosis(ISR), in which 32 patients openings in internal carotid artery, middle cerebral artery 11, the subclavian artery 7, openings in vertebral artery 15; application of the umbrella in 26 cases. Observation groups:31 patients with ISR, in which openings in internal carotid artery 13, the subclavian artery 2, middle cerebral artery 7, openings in vertebral artery 9; application of the umbrella in 6 cases. The patients were clinically followed-up for a mean of 18.5 months (ranged 3-41 months) for angiography once and laboratory parameters. **Results** Compared with the serum ADMA level of control group $(1.63 \pm 0.68) \mu\text{mol/L}$, that of observation group $(3.23 \pm 0.41) \mu\text{mol/L}$ was significantly higher($P < 0.01$). The serum NO level of observation group $[(23.83 \pm 7.15) \mu\text{mol/L}]$ was significantly lower than that of control group $[(32.87 \pm 6.72) \mu\text{mol/L}]$, ($P < 0.01$). The difference of the serum ADMA and NO level before treatment between two groups was not statistically significant($P = 0.279$). There was no significant difference in mean age, gender, treatment, angiographic feature and clinical features between two group($P > 0.05$). However, there was significant difference between two groups in the rate of ISR in openings in vertebral artery and middle cerebral artery. **Conclusion** The serum ADMA is positively correlated to the degree of in-stent restenosis and NO is negatively correlated to the degree of ISR. It is important for the diagnosis, therapy and estimation of ISR to observe the changes of the serum ADMA and NO level.

Key words: asymmetric dimethylarginine; formation mechanism; in-stent restenosis

脑梗死是一种严重威胁人类健康和生命的脑血管疾病,脑血管支架置入技术已成为脑动脉狭窄患者有效防治脑梗死的方法。然而,尽管技术进步、设备先进和经验丰富,脑血管支架内再狭窄(in-stent restenosis, ISR)仍然是一个严重的问题,也是限制这项技术发展的主要原因。导致再狭窄的明确机制尚未完全了解。研究表明,不对称性二甲基精氨酸(asymmetric dimethylarginine, ADMA)是抑制内源性 NO 合成的重要物质,而 NO 是造成血管内皮细胞功能紊乱的一个主要物质。目前,ADMA 与脑血管支架术后再狭窄的关系的临床研究鲜有报道,为此作者探索血清 ADMA 水平与脑血管支架术后再狭窄程度是否存在密切的相关性。

1 临床资料

1.1 一般资料 收集 105 例因脑动脉狭窄病变而行脑血管支架置入术的患者,其中男 68 例,女 37 例。男性患者年龄 39~80 岁,平均 (55.6 ± 7.2) 岁;女性患者年龄 42~78 岁,平均 (53.7 ± 5.9) 岁。所有病例中 24 例为基底节区梗死,30 例为颈内动脉系统短暂性脑缺血发作(TIA),5 例为分水岭梗死,8 例为其他地方梗死;所有病例中高血压 77 例,糖尿病 29 例,高胆固醇血症 34 例,有吸烟史 62 例,晕厥或眩晕 39 例。所有患者的病史特点(包括家族性疾病、伴随疾病、使用药物、吸烟和酗酒在住院期间主要脑血管事件的数据)及实验室检查结果详见表 1。所有病例中有神经功能缺损症状的动脉狭窄率大于或

[#] 在读博士研究生。 [△] 通讯作者, E-mail: wangdianhuakm@126.com。

等于 50%，无颈动脉症状的狭窄率大于或等于 70%，狭窄率根据欧洲颈动脉剥离手术多普勒及血管造影测量的标准^[1-2]；排除标准包括：(1)完全闭塞的血管；(2)狭窄段血管扭曲成角；(3)长而迂曲的颈动脉严重钙化，远端分支血管狭窄；(4)2 周内严重的卒中或神经功能缺损症状不稳定。

表 1 两组患者一般资料比较

项目	对照组(n=74)	观察组(n=31)	P
平均年龄(岁)	58.32±17.16	54.56±15.31	0.24
性别			
男	48 (64.9%)	20 (64.5%)	0.59
女	26 (35.1%)	11 (35.5%)	0.12
有过脑血管事件	50 (67.6%)	22 (71.0%)	0.60
有过 TIA	21 (28.4%)	9 (29.0%)	0.88
有过脑梗死	52 (70.3%)	19 (61.3%)	0.41
高血压	51 (68.9%)	26 (83.9%)	0.12
糖尿病	20 (27.0%)	9 (29.0%)	0.76
高脂血症	25 (33.8%)	9 (29.0%)	0.38
有吸烟史	38 (51.4%)	24 (77.4%)	0.02
慢性肺疾病	11 (14.9%)	5 (16.1%)	0.66
椎基底动脉供血不足	24 (32.4%)	15 (48.4%)	0.35
肾功能不全	2 (2.70%)	1 (3.20%)	0.51
周围血管疾病	11 (14.9%)	7 (22.6%)	0.18
治疗情况			
阿司匹林	74(100%)	31 (100%)	>0.05
氯吡格雷	74 (100%)	31 (100%)	>0.05
β-受体阻滞剂	21 (28.4%)	8(25.8%)	>0.05
ACEI	42(56.8%)	20(64.5%)	>0.05
ARB	49(66.2%)	21(67.7%)	>0.05
CCB	66(89.2%)	27(87.1%)	>0.05
血管狭窄率(%)	83.60±13.44	84.15±12.68	>0.05
颈动脉支架	41 (55.4%)	13 (41.9%)	>0.05
锁骨下动脉支架	7 (9.50%)	2 (6.50%)	>0.05
椎动脉支架	15 (20.3%)	9 (29.0%)	< 0.05
大脑中动脉支架	11 (14.9%)	7 (22.6%)	<0.05

1.2 术前准备 患者术前应进行神经内科评估，并完成相应的血管影像学检查，包括彩色多普勒超声、血管造影等。数字减影血管造影是颈动脉支架植入前评价颈动脉病变的金标准。治疗前、后 24 h 均应用 NIHSS 量表(美国国立卫生研究院脑卒中评分)进行神经功能受损程度评分，必要时行脑 CT 检查，重点观察颅内有无梗死灶。狭窄度的测量按照 NASCET 标准，狭窄度=(1-最窄处直径/狭窄远端颈内动脉直径)×100%。术前 3 d，所有患者开始口服阿司匹林抗血小板治疗(平均剂量 300 mg/d)，氯吡格雷(75~150 mg/d)，根据术前血压情况调整降压药物剂量，如有必要，手术前 2 h 静脉输注尼莫地平调节血压。每例手术前 30 min 给予尼莫通 3 mL/h 泵入，预防术中血管痉挛。所有患者必须签订书面知情同意书。

1.3 经皮穿刺脑血管支架置入术 局麻下 Seldinger 技术穿刺股动脉，植入 8F 鞘管。不能选用股动脉入路时，可以选择肱动脉途径。穿刺成功后给予肝素 3 500~5 000 IU 行全身肝素化，活化凝血时间(ACT)维持于 250~300 s。了解颈动脉狭窄的部位、直径、长度、有无多发性狭窄，并测量狭窄远、近端正常血管的直径，据此选择不同类型的支架。所有患者手术中必须使狭窄减少到小于 30%，没有重大住院并发症。自膨式颈动脉支架放置到颈内动脉近端狭窄，椎动脉及颅内动脉采用球囊扩张支架。术后适当控制血压，将血压控制在 100/60~120/80 mm Hg 范围内，目的是减少脑再灌注损伤、脑出血的可能。围术期给予阿司匹林及噻氯匹啶或氯吡格雷，可有效抑制血小板聚集，具体用法同手术前。

1.4 重复血管造影和采血 在平均 18.5 个月的随访中必须进行脑血管造影和彩色多普勒超声 1 次，重新对 ISR 进行评估，血管狭窄率测定采用白晓娟^[3]对动脉狭窄程度的评估标准。采集静脉血液标本 8 mL，备用于血清 NO 和 ADMA 的检测，冻存在-70℃的冰箱中，直到检测时间，所有血液样本 2~8℃、1 000 r/min 离心 10 min，所得到的血清移入塑料检测瓶中，按照要求进行检测。根据复查血管造影和血管多普勒结果，设无再狭窄患者 74 例(男 48 例，女 26 例)作为对照组；设 31 例有再狭窄患者(男 20 例，女 11 例)为观察组。

1.5 实验室检测 血清中 ADMA 水平的测量采用高效液相色谱法，NO 的检测采用 ELISA 法，按照试剂盒说明书(Immundiagnostik 公司，Bessheim, 德国)操作，ADMA 的灵敏度小于 0.05 μmol/L。

1.6 统计学处理 所有统计分析采用 SPSS13.0 统计软件。计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，两组资料比较采用 χ^2 检验，计量资料的比较采用成组设计的两样本 t 检验。

2 结 果

本研究中 105 例患者均成功置入脑血管支架，住院期间无并发症，所有患者随访 3~41 个月。在年龄、性别、高血压、高血脂、短暂性脑缺血发作等方面对照组与观察组差异无统计学意义，但是在吸烟史方面两组差异有统计学意义。表 2 可见，对照组治疗后 ADMA 水平[(1.63±0.68)μmol/L]较治疗前[(1.07±0.40)μmol/L]明显升高，同样观察组治疗后 ADMA 水平[(3.23±0.41)μmol/L]较治疗前[(1.80±0.38)μmol/L]也明显升高；而观察组与对照组 ADMA 水平比较：无论是治疗前还是治疗后均有明显升高，但观察组升高的幅度更大，差异有统计学意义。对照组治疗后 NO 水平[(32.87±6.72)μmol/L]较治疗前[(36.27±4.36)μmol/L]明显下降，同样观察组治疗后 NO 水平[(23.83±5.15)μmol/L]较治疗前[(43.30±6.18)μmol/L]也明显下降；而观察组[(19.47±1.03)μmol/L]比对照组[(4.40±0.24)μmol/L]下降的幅度更大。然而，在血浆黏度与纤维蛋白原水平，两组比较差异无统计学意义。

表 2 治疗前后血液流变学及 ADMA、NO 的变化($\bar{x} \pm s$)

检测指标	对照组(n=74)		观察组(n=31)	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
血浆黏度(mPa·s)	1.98±1.16	1.20±0.13*	1.87±0.13	1.22±0.22
纤维蛋白原(g/L)	4.79±1.32	3.01±0.72	4.84±1.38	3.52±1.02*
ADMA (μmol/L)	1.07±0.40	1.63±0.68* *△	1.80±0.38	3.23±0.41* *
NO(μmol/L)	36.27±4.36	32.87±6.72* *△	43.30±6.18	23.83±5.15* *

与治疗前比较，* :P<0.05, ** :P<0.01;与观察组治疗后比较，△P<0.05。

表 3 可见,狭窄血管参考直径两组比较差异无统计学意义。血管支架截面直径及直径减少指数两组比较差异有统计学意义。

表 3 平均随访 18.5 个月后再造影结果($\bar{x} \pm s$)

血管狭窄参数	对照组($n=74$)	观察组($n=31$)	P
血管参考直径(mm)	3.74±0.25	3.72±0.26	>0.05
支架狭窄直径(mm)	3.48±0.25	2.22±0.21	<0.05
狭窄直径减少指数	0.21±0.02	0.50±0.16	<0.05

3 讨 论

脑血管支架成形术是预防脑梗死发生的有效手段,但其在 6 个月左右再狭窄率可能降低了该项技术的总体临床效果。近年来大量研究表明,缺血性脑血管病患者支架术后再狭窄几乎都是支架内边缘的内膜过度增生所致,有些学者认为,再生内皮功能失调也可能参与了再狭窄的过程,然而长期以来针对抑制内膜增生的各种措施均不能有效预防再狭窄形成,故而激发人们进一步认识再狭窄的形成机制。

脑血管内支架作为一种异物植入后呈现明显的体内反应,如凝血系统激活、血清 C 反应蛋白升高及炎症标志物激活,血小板激活后,P-选择素糖蛋白结合的配体诱导白细胞的聚集,此外 IL-1、IL-6 和 TNF 等炎症因子大量的分泌。有报道认为这些因素均是血管支架植入后再狭窄的原因^[2-3]。而最受关注的血管支架术后再狭窄机制还是血管内皮细胞的功能失调,研究证实 NO 与血管内皮细胞的功能失调关系最为密切,NO 是内皮细胞合成的一种重要的血管活性物质,具有舒张血管、抑制血小板聚集、白细胞黏附以及平滑肌增殖等作用,同时有减少氧自由基产生、低密度脂蛋白氧化等对抗动脉硬化的作用。NO 是以 L-精氨酸(L-arginine, L-Arg)为底物,由多种形式的 NOS 催化生成,NOS 是 NO 合成过程中的重要限速因素,体内 NO 的生物作用完全取决于 NOS 的活性。NOS 共有 3 种亚型:神经元型 NOS(neuronal NOS, nNOS)、内皮型 NOS(endothelial NOS, eNOS)和诱导型 NOS(inducible NOS, iNOS),eNOS 主要分布在脑血管组织,也分布于支气管内皮、小静脉、毛细血管以及心脏微血管内皮中,eNOS 是细胞的正常成分^[4-5]。转基因实验表明,敲除 eNOS 基因的小鼠 MCAO 后脑梗死面积较野生型增大,这说明 eNOS 在脑缺血时具有神经保护作用。目前 NOS 抑制剂大致可以分为非选择性 NOS 抑制剂和选择性 NOS 抑制剂,选择性 NOS 抑制剂又分为 nNOS 抑制剂和 iNOS 抑制剂。非选择性 NOS 抑制剂多为 NO 合成底物 L-Arg 类似物,可竞争性抑制各种亚型的 NOS,阻止内皮合成 NO,包括 L-硝基-精氨酸甲酯(L-NAME)、L-硝基-精氨酸(LNNA)、ADMA 等,而 ADMA 在体内的浓度是 L-NAME 的 10 倍,所以 ADMA 对 NO 的产生起着关键性作用。ADMA 是 NO 合成通路中一个不可忽视的影响因素,ADMA 作为 NOS 的内源性抑制剂,在血管支架术后再狭窄机制中的作用越来越被重视^[6]。

本研究揭示,ADMA 和 NO 的变化与脑血管支架术后狭窄呈相关性,同时两组在椎动脉开口和大脑中动脉 ISR 的发生率比较差异有统计学意义,再狭窄率在这两个部位发生高的原因可能与血流动力学特点有关^[7-8],而血浆黏度和纤维蛋白原水平与支架术后再狭窄无关。当然 ADMA 在血液中

的水平受多种因素影响,ADMA 在蛋白精氨酸甲基转移酶(protein arginine methyltransferases, PRMT)作用下,以 S 腺苷甲硫氨酸(S-adenosylmethionine, SAM)为甲基供体,使各种多肽中的 L-Arg 残基甲基化。ADMA 的主要降解及排泄途径是在二甲基精氨酸二甲氨水解酶(dimethylargininedimethylaminohydrolase, DDAH)作用下分解为瓜氨酸和二甲胺经肾脏排出,所以 PRMT 及 DDAH 控制着 ADMA 在体内的浓度,尤其是后者起着更关键性的调控作用^[9]。这就涉及到 ADMA/DDAH 通路的问题,包括血管支架术后 ADMA/DDAH 通路中各种物质的表达情况。因此,有必要针对 ADMA/DDAH 通路与血管支架术后再狭窄关系进行进一步的深入研究。

参考文献:

- [1] 白晓娟. 颈动脉狭窄血管内支架置入安全性的系统评价[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 36(3): 3304.
- [2] Katzen BT, Criado FJ, Ramee SR, et al. Carotid artery stenting with emboli protection surveillance study: thirty-day results of the CASES-PMS study[J]. Catheter Cardiovasc Interv, 2007, 70(7): 316.
- [3] Maynar M, Baldi S, Rostagno R, et al. Carotid stenting without use of balloon angioplasty and distal protection devices: preliminary experience in 100 cases[J]. AJNR Am J Neuroradiol, 2007, 28(2): 1378.
- [4] Nijveldt RJ, Teerlink T, Van Der Hoven B, et al. Asymmetrical dimethylarginine (ADMA) in critically ill patients: high plasma ADMA concentration is an independent risk factor of ICU mortality[J]. Clin Nutr, 2003, 22(11): 23.
- [5] Kumagai H, Sakurai M, Takita T, et al. Association of homocysteine and asymmetric dimethylarginine with atherosclerosis and cardiovascular events in maintenance hemodialysis patients[J]. Am J Kidney Dis, 2006, 48(5): 797.
- [6] Martens-Lobenhoffer J, Bode-Böger SM. Measurement of ADMA in human plasma: from liquid chromatography estimation to liquid chromatography-mass spectrometry quantification[J]. Eur J Clin Pharmacol, 2005, 61(6): 1762.
- [7] Clark DJ, Lessio S, O'Donoghue M, et al. Mechanisms and predictors of carotid artery stent restenosis: a serial intravascular ultrasound study[J]. J Am Coll Cardiol, 2006, 47(2): 2390.
- [8] Kurisu K, Manabe H, Ihara T. Case of symptomatic subacute in-stent thrombosis after carotid angioplasty and stenting for severe carotid stenosis[J]. No Shinkei Geka, 2007, 35(9): 1001.
- [9] Schwedhelm E, Tan-Andresen J, Maas R, et al. LC-tandem MS method for the analysis of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in human plasma. [J]. Clin Chem, 2005, 51(1): 1268.