

DOI:10.3724/SP.J.1008.2008.01256

幽门螺杆菌感染的胃十二指肠病患者体内非对称性二甲基精氨酸浓度的变化

Changes of asymmetric dimethylarginine concentration and its significance in patients infected with *Helicobacter pylori*

李富军*, 邹益友, 周 惠

中南大学湘雅医院消化内科, 长沙 410008

[摘要] 目的: 观察幽门螺杆菌(Hp)所致不同疾病中, 血清与胃液内非对称性二甲基精氨酸(ADMA)与一氧化氮(NO)的浓度变化, 初步探讨 ADMA 在 Hp 所致不同疾病中的作用。方法: 139 例患者, 分为 Hp 阳性组($n=72$), 其中胃炎 24 例, 胃溃疡 13 例, 十二指肠球部溃疡 35 例; 男 42 例, 女 30 例, 年龄 20~50 岁, 平均(33.6 ± 10.4)岁; Hp 阴性组($n=67$), 其中胃炎 47 例, 胃溃疡 6 例, 十二指肠球部溃疡 14 例, 男 40 例, 女 27 例, 年龄 19~54 岁, 平均年龄(34.9 ± 11.5)岁。检测两组患者血清与胃液内 ADMA 与 NO 浓度并进行组内与组间对比。结果: 胃液内 ADMA 和 NO 浓度 Hp 阳性组明显高于 Hp 阴性组($P < 0.05$), 血清内 ADMA 和 NO 浓度在两组患者之间无明显差别。Hp 阳性患者不同病变之间, 胃炎患者胃液内 ADMA 浓度最高, 胃溃疡患者次之, 十二指肠溃疡患者最少($P < 0.05$); 而 NO 浓度以十二指肠溃疡最高, 胃溃疡次之, 胃炎患者最少($P < 0.01$)。结论: Hp 感染导致患者胃内 ADMA 与 NO 浓度增加, 且二者在不同病变中变化程度不同, 说明 Hp 的致病作用可能与 ADMA 调节 NO 的产生有关。

[关键词] 幽门螺杆菌; 一氧化氮; 非对称性二甲基精氨酸

[中图分类号] R 573 **[文献标志码]** B **[文章编号]** 0258-879X(2008)10-1256-03

胃黏膜炎症是一种较常见的疾病。在其致病原因中, 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp)被认为是比较重要的因素之一, 并由此可能引起消化性溃疡、胃癌、淋巴瘤等, 但其致病机制尚不完全清楚。有研究表明, Hp 感染的胃黏膜内, 诱导型一氧化氮合酶(iNOS)表达增加, 其合成的一氧化氮(NO)与胃黏膜损伤关系密切。非对称二甲基精氨酸(asymmetric dimethylarginine, ADMA)是一种内源性 NOS 抑制酶, 作为一种致炎因子, 已证实 ADMA 能引起血管内皮功能障碍, 与动脉粥样硬化、高血压、糖尿病、冠心病、脑卒中、肝脏和肾脏疾病的发病密切相关^[1]。以往研究表明, Hp 感染能引起 ADMA 的变化^[2-3], 但关于 ADMA 与 Hp 感染所致不同疾病中的表现尚未见诸文献。本研究观察了 Hp 感染的胃炎、胃溃疡、十二指肠溃疡中 ADMA 与 NO 的变化情况, 探讨 ADMA 在 Hp 致病过程中的作用及可能机制。

1 材料和方法

1.1 病例选择 符合条件的来自于 2006 年 4~12 月的门诊患者共 139 例, 年龄 19~54 岁, 男 80 例, 女 59 例。入选标准: (1)胃炎选择慢性浅表性胃炎并经病理组织学检查除外黏膜糜烂、萎缩、肠化生及不典型增生等; (2)胃及十二指肠溃疡选择 A1 期, 溃疡直径小于 2.5 cm 并经病理组织学检查除外癌变, 胃与十二指肠溃疡同时存在者除外; (3)所有患者

2 周前未用过任何药物, 无心脑血管、肝、肾疾病及糖尿病。根据是否感染 Hp 分为两组: Hp 阳性组 72 例(胃炎 24 例, 胃溃疡 13 例, 十二指肠球部溃疡 35 例), 男 42 例, 女 30 例, 年龄 20~50 岁, 平均年龄(33.6 ± 10.4)岁。Hp 阴性组 67 例(胃炎 47 例, 胃溃疡 6 例, 十二指肠球部溃疡 14 例), 男 40 例, 女 27 例, 年龄 19~54 岁, 平均年龄(34.9 ± 11.5)岁。Hp 阳性组与 Hp 阴性组患者之间年龄、性别、血糖、血脂等一般情况的比较无显著性差异($P > 0.05$)。所有患者对于该试验有知情同意权, 并经医院伦理委员会批准。

1.2 标本采集 清晨空腹取肘静脉血 4 ml, 于 4℃ 下离心分离血清, 在 -70℃ 冰箱保存备用。胃镜检查时, 取胃溃疡患者溃疡边缘 1 cm 黏膜 2 块, 其余患者取距幽门 3 cm 胃窦黏膜 2 块分别进行病理和快速尿素酶检查。抽取胃液 4 ml, 于 4℃ 下离心分离上清, 在 -70℃ 冰箱保存备用。

1.3 实验方法 Hp 的检测: 对所有患者分别用进行快速尿素酶实验、¹⁴C-尿素呼气实验、组织病理学检查, 上述 3 种方法 2 项或以上阳性者定为 Hp 阳性, 2 项或以上阴性者定为 Hp 阴性。

ADMA 检测: 取样品 1 ml, 加 5-磺基水杨酸沉淀蛋白, 用高效液相色谱(HPLC)测定 ADMA 含量(HPLC 系统: LC-10Advp; 色谱柱: Nova-paK C₁₈)。取 10 μl 样品或标准品加入 100 μl 衍生试剂(邻苯二甲醛与硼酸缓冲液及 β-巯基

[收稿日期] 2008-01-21 **[接受日期]** 2008-06-16

[作者简介] 李富军, 博士。

* 通讯作者(Corresponding author). Tel: 0731-4327106, E-mail: fj7165@163.com

乙醇的混合物)混匀,室温下反应 3 min 后进样,然后用线形梯度洗脱的方式将样品从色谱柱中洗脱[流动相 A 为 0.05 mol/L 乙酸钠(pH 6.8):甲醇:四氢呋喃=82:17:1(V/V/V),流动相 B 为 0.05 mol/L 乙酸钠:甲醇:四氢呋喃=22:77:1(V/V/V),流速为 1 ml/min],经预柱处理后,用 RF210Ax1 型荧光检测器对其内标 ADMA 进行检测(激发波长; λ 338 nm;吸收波长; λ 425 nm)。

NO 含量测定:生物系统中 NO 释放后很快转变为代谢产物 NO_2^- 和 NO_3^- ,以铜粉将 NO_3^- 还原成 NO_2^- ,通过 Griess 重氮化反应生成有色化合物,用 722 分光光度仪在 540 nm 处测定,然后计算出 NO_2^- 含量以反映 NO 浓度。

1.4 统计学处理 数据结果采用 SPSS 13.0 统计软件进行分析。计量资料统计采用方差分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。计数资料采用 χ^2 检验,数据以相对数表示。双侧 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组胃液及血清 ADMA 的比较 Hp 阳性组胃液 ADMA 浓度水平[(0.487±0.318) $\mu\text{mol/L}$]明显高于 Hp 阴性组[(0.385±0.122) $\mu\text{mol/L}$, $P = 0.014$];Hp 阳性组血清 ADMA 浓度水平[(0.417±0.140) $\mu\text{mol/L}$]与 Hp 阴性组

[(0.393±0.120) $\mu\text{mol/L}$]无统计学差异($P = 0.282$)。

2.2 不同病变类型之间胃液 ADMA 浓度比较 Hp 阳性组胃溃疡、十二指肠溃疡、胃炎患者胃液内 ADMA 的浓度分别为(0.504±0.105)、(0.440±0.135)、(0.559±0.135) $\mu\text{mol/L}$,以胃炎患者最高,胃溃疡次之,十二指肠溃疡最低,三者之间差异有显著性($P < 0.05$);而 Hp 阴性患者三种不同病变之间胃液内 Hp 浓度分别为(0.396±0.157)、(0.391±0.104)、(0.381±0.104) $\mu\text{mol/L}$,不同病变之间无统计学差异。

2.3 不同病变类型之间血清内 ADMA 浓度比较 Hp 阳性组胃溃疡、十二指肠溃疡、胃炎患者血清内 ADMA 浓度分别为(0.410±0.143)、(0.440±0.126)、(0.399±0.165) $\mu\text{mol/L}$,不同病变之间无统计学差异。Hp 阴性组三种不同病变之间血清内 ADMA 浓度分别为(0.386±0.187)、(0.401±0.134)、(0.391±0.095) $\mu\text{mol/L}$,不同病变之间亦无统计学差异。

2.4 胃液及血清内 NO 浓度的比较(表 1) Hp 阳性患者血清内 NO 浓度与 Hp 阴性患者无明显差别($P > 0.05$);Hp 感染情况下,胃液内 NO 浓度较 Hp 阴性组明显升高($P < 0.05$)。在 Hp 感染的不同疾病之间,胃液内 NO 浓度以十二指肠溃疡患者最高($P < 0.01$)。

表 1 胃液与血清内 NO 浓度比较

($\bar{x} \pm s, \text{CB}/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)

样品	n	总计	胃溃疡	十二指肠溃疡	胃炎
血清					
Hp 阳性	72	176.3±10.5	175.4±11.5	174.5±14.2	173.3±12.5
Hp 阴性	67	175.3±10.7	179.4±11.7	172.4±12.3	175.9±14.0
胃液					
Hp 阳性	72	88.5±11.2*	90.5±14.2	97.5±13.5	80.4±11.2 $\Delta\Delta$
Hp 阴性	67	74.3±12.5	77.5±8.8	73.2±6.9	75.4±9.7 $\blacktriangle\blacktriangle$

* $P < 0.05$ 与 Hp 阴性组胃液内 NO 浓度比较; $\Delta\Delta P < 0.01$,Hp 阳性组不同病变类型之间胃液内 NO 浓度比较; $\blacktriangle\blacktriangle P < 0.01$,Hp 阴性组不同病变类型之间胃液内 NO 浓度比较

3 讨论

NO 是一种双相调节因子,与胃黏膜损伤关系密切。ADMA 作为一种内源性 NOS 抑制剂,通过与 L-精氨酸竞争结合 NOS 活性部位,从而减少 NO 的合成。大量研究表明, Hp 感染患者其胃内 NOS 表达增加^[1-2],我们的研究发现, Hp 阳性与 Hp 阴性组之间以及两组内部不同病变类型之间,其血清内 NO 浓度无明显差异。NO 作为心血管重要调节因子之一,其血清内浓度变化可能主要与血管内皮的功能有关^[3]。但 Hp 阳性患者胃液内 NO 浓度明显高于 Hp 阴性患者,这一结果也与以往研究相一致^[4]。进一步证实 NO 在 Hp 致病过程中的作用。分析 Hp 阳性组不同病变类型之间其胃液内 NO 浓度发现:十二指肠溃疡患者胃液内 NO 浓度最高,胃溃疡患者次之,胃炎患者最少;Hp 阴性组不同病变之间,胃液内 NO 浓度无明显差别。研究表明:Hp 感染的健康人群中,胃液内 ADMA 浓度与 Hp 阴性对照组明显不同^[5]。我们的研究发现, Hp 阳性患者,其胃液内 ADMA 浓度较 Hp 阴性组明显增加,这一结果与 von Bothmer 等^[6]研

究相一致。王丽等^[7]用 Hp 处理体外培养的胃黏膜上皮细胞后,其细胞培养液中 ADMA 浓度明显增加。动物实验也表明, Hp 感染小鼠十二指肠后能明显抑制 NO 所介导的黏膜碱的分泌,同时伴有 ADMA 升高^[8]。推测 ADMA 在 Hp 的致病过程中起了一定的作用。我们通过比较 Hp 感染不同病变类型患者发现,胃炎患者胃液内 ADMA 浓度最高,胃溃疡次之,十二指肠溃疡患者最少,这与 Hp 阳性患者不同病变类型之间胃液内 NO 浓度的变化情况刚好相反。Hp 阳性与 Hp 阴性患者之间以及两组内部不同病变类型之间,血清内 ADMA 浓度之间无明显差异,这与 Marra 等^[9]的结果不符,但在 Marra 等的研究中, Hp 阳性与 Hp 阴性组之间,其年龄、血压、胆固醇、三酰甘油、血糖均有明显差异,两组结果无可比性,可能血清内 ADMA 浓度变化主要与以上因素有关^[9]。总之,我们的研究表明 Hp 感染导致胃内 ADMA 和 NO 浓度增加,表明 Hp 的致病作用可能与 ADMA 调节 NO 的产生有关。

[参考文献]

[1] Rieder G, Hofmann J A, Hatz R A, Stolte M, Enders G A, Up-

- regulation of inducible nitric oxide synthase in *Helicobacter pylori*-associated gastritis may represent an increased risk factor to develop gastric carcinoma of the intestinal type[J]. *Int J Med Microbiol*, 2003, 293: 403-412.
- [2] Kaise M, Miwa J, Iihara K, Suzuki N, Oda Y, Ohta Y. *Helicobacter pylori* stimulates inducible nitric oxide synthase in diverse topographical patterns in various gastroduodenal disorders [J]. *Dig Dis Sci*, 2003, 48: 636-643.
- [3] Yada T, Kaji S, Akasaka T, Mochizuki S, Ogasawara Y, Tanemoto K, et al. Changes of asymmetric dimethylarginine, nitric oxide, tetrahydrobiopterin, and oxidative stress in patients with acute myocardial infarction by medical treatments[J]. *Clin Hemorheol Microcirc*, 2007, 37: 269-276.
- [4] Wang Y F, Guo C L, Zhao L Z, Yang G A, Chen P, Wang H K. Effect of *Helicobacter pylori* infection on gastric mucosal pathologic change and level of nitric oxide and nitric oxide synthase [J]. *World J Gastroenterol*, 2005, 11: 5029-5031.
- [5] Marra M, Bonfigli A R, Bonazzi P, Galeazzi R, Sirolla C, Testa I, et al. Asymptomatic *Helicobacter pylori* infection increases asymmetric dimethylarginine levels in healthy subjects[J]. *Helicobacter*, 2005, 10: 609-614.
- [6] von Bothmer C, Edebo A, L nroth H, Olbe L, Pettersson A, Fändriks L. *Helicobacter pylori* infection inhibits antral mucosal nitric oxide production in humans[J]. *Scand J Gastroenterol*, 2002, 37: 404-408.
- [7] 王 丽, 周 源, 姜德建, 李元建. 一氧化氮合酶抑制物在胃黏膜损伤中的作用与机制[J]. *国际病理科学与临床杂志*, 2006, 26: 1-6.
- [8] Fändriks L, von Bothmer C, Johansson B, Holm M, Bölin I, Pettersson A. Water extract of *Helicobacter pylori* inhibits duodenal mucosal alkaline secretion in anesthetized rats[J]. *Gastroenterology*, 1997, 113: 1570-1575.
- [9] Böger R H. The emerging role of asymmetric dimethylarginine as a novel cardiovascular risk factor[J]. *Cardiovasc Res*, 2003, 59: 824-833.

[本文编辑] 李丹阳