·临床研究·

血清一氧化氮水平与微量蛋白尿关系1∶2病例对照研究

刘海英　彭浩　汤玲燕　张诗卉　高昕　晁湘琴　张永红

【摘要】 **目的** 探讨血清一氧化氮水平与微量蛋白尿的关联性。**方法** 以苏州市金阊区的高血压现场调查为基础，采用1∶2配对研究方法，选择208例微量蛋白尿患者及与之在性别、年龄、血糖和腰围相匹配的居住同一小区、同等经济收入水平的非微量蛋白尿人群，测量血清一氧化氮水平，采用多因素条件logistic回归对血清一氧化氮水平与微量蛋白尿的关联性进行分析。**结果** 微量蛋白尿组的血清一氧化氮水平略低于非微量蛋白尿组（中位数，四分位间距：27.75，14.48～42.15 μmol/L *vs.* 28.25，17.40～43.45 μmol/L），但两组间差异无统计学意义（P=0.316）。多因素条件logistic回归分析显示，调整血压、血脂、尿酸、吸烟、饮酒后，血清一氧化氮水平与微量蛋白尿不存在显著关联性。进一步按是否患高血压分层，多因素条件logistic回归分析显示，与血清一氧化氮水平最高分位者相比，在多因素调整后，无论是在高血压还是非高血压的对子中，血清一氧化氮水平处于第1、2、3分位者患微量蛋白尿的危险性差异均无统计学意义。在有高血压的对子中，血清一氧化氮最低水平组患有微量蛋白尿的危险性是最高水平组的1.85倍（OR=1.85，95%CI：0.96～3.57）；而在非高血压的对子中，血清一氧化氮最低水平组患有微量蛋白尿的危险性较最高水平组仅增加了40%（OR=1.40，95%CI：0.58～3.40）。**结论** 在一般人群中，血清一氧化氮水平与微量蛋白尿无显著相关性。

【关键词】 一氧化氮；微量蛋白尿

Association between serum nitric oxide level and microalbuminuria: a 1∶2 matched case-control study

LIU Hai-ying[1,2], *PENG Hao*[1], *TANG Ling-yan*[1], *ZHANG Shi-hui*[1], *GAO Xin*[1], *CHAO Xiang-qin*[3], *ZHANG Yong-hong*[1]. 1 *Department of Epidemiology, School of Public Health, Medical College of Soochow University, Suzhou* 215123, China; 2 *Department of Neurology, the First Peoples' Hospital of Horqin District, Inner Mongolia*; 3 *Jinchang District Center for Disease Control and Prevention, Suzhou*
Corresponding author: ZHANG Yong-hong, Email: yhzhang@suda.edu.cn

This work was supported by a grant from the Suzhou Science and Technology Project (No. SS0910).

【**Abstract**】 **Objective** To investigate the association between serum nitric oxide and microalbuminuria. **Methods** Based on a community survey in Jinchang district Suzhou city, a 1∶2 matched case-control study was performed. A total of 208 cases with microalbuminuria were recruited. The controls were selected from the same community, with the same level of income. After matched with age, gender, waist circumference and fast plasma glucose, a total of 416 controls were selected. Values of serum nitric oxide were tested for all eligible participants. The association between serum nitric oxide level and microalbuminuria were analyzed by using the multivariate conditional logistic regression models. **Results** The mean level of serum nitric oxide was slightly lower for individuals with microalbuminuria (median, interquartile range: 27.75, 14.48–42.15 μmol/L) than those without (28.25, 17.40–43.45 μmol/L). However, the difference was not statistically significant (P=0.316). Results from the multivariable conditional logistic regression model showed that serum nitric oxide level was not associated with microalbuminuria, after adjustment for all the confounders. Compared with the highest level of serum nitric oxide, the odds ratios of microalbuminuria for individuals in the 1st, 2nd and 3rd quartiles were not significantly different, after adjustment for confounders. In pairs with hypertension, the odds of microalbuminuria were 85% higher for individuals with the lowest level of serum nitric oxide than those with the highest level (OR=1.85, 95%CI: 0.96–3.57). Additionally, in pairs without hypertension, the odds of microalbuminuria was just 40% higher for individuals with the lowest level of serum nitric oxide than those with the highest level (OR=1.40, 95%CI: 0.58–3.40). **Conclusion** There was no significant correlation between serum nitric oxide and microalbuminuria in the general population in our study.

【**Key words**】 Nitric oxide; Microalbuminuria

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2012.07.022

作者单位：215123 苏州大学医学部公共卫生学院流行病与卫生统计学教研室（刘海英、彭浩、汤玲燕、张诗卉、高昕、张永红）；内蒙古自治区通辽市科尔沁区第一人民医院神经内科（刘海英）；苏州市金阊区疾病预防控制中心（晁湘琴）
通信作者：张永红，Email：yhzhang@suda.edu.cn

大量研究证明微量蛋白尿与心血管疾病的发生发展有着密切关系，与肾小球毛细血管内皮功能异常密切相关[1-3]。有研究认为血管内皮功能异常在心血管病的发展过程中起了重要作用[4]，血管内皮功能异常又与血清一氧化氮(NO)生成异常密切相关[5]，由此提示血清NO水平可能与微量蛋白尿相关。已有研究表明微量蛋白尿患者血清NO水平明显高于非微量蛋白尿者[6-8]，但这些研究大多是在糖尿病患者[6]、老年人[7]、高血压患者[8]等特殊人群中进行的，一般人群血清NO水平和微量蛋白尿的关系尚无定论。本研究以苏州市金阊区的高血压现场调查为基础，探讨血清NO水平与微量蛋白尿的关联性。

对象与方法

1. 研究对象：以苏州市金阊区的高血压现场调查为基础[9]，排除因任何原因而服用药物、脑卒中、糖尿病、冠心病、肾病等患者。病例组的选择标准：①年龄<65岁；②尿微量白蛋白/肌酐比值(UACR)：17～250 mg/g(男)或25～355 mg/g(女)[10]。对照组的匹配条件：① UACR<17 mg/g(男)或<25 mg/g(女)[10]；②居住在同一小区；③同等经济收入水平；④同性别；⑤年龄相差4岁；⑥空腹血糖(FPG)相差0.5 mmol/L；⑦腰围相差4 cm；⑧配对比例为1∶2。

2. 方法：

(1)现场调查：由经过培训并考核合格的调查员进入社区卫生服务站，集中对调查对象进行面对面调查。调查及检测内容：① 一般人口学资料；②高血压家族史、心脑血管病和肾脏疾病的既往史及用药史；③吸烟、饮酒状况；④身高、体重和腰围；⑤血压值；⑥ FPG、血尿酸(UA)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)。

(2)血压的测量和诊断：由经过培训的医生和护士，使用台式汞柱式血压计，采用国际标准化法进行血压测量。要求被测对象坐位休息10 min以上，收缩压以KorotKoff第一音为准，舒张压以消音期KorotKoff第五音开始为准。对每名研究对象连续测量血压3次，每次间隔30 s，以3次平均值作为被测对象的血压值，并记录。高血压诊断标准参照《中国高血压防治指南》[11]，即收缩压≥140 mm Hg (1 mm Hg=0.133 kPa)和/或舒张压≥90 mm Hg或服用降血压药物者为高血压。

(3)生化指标的测定及诊断：早晨抽取每名研究对象空腹静脉血5 ml，分离血清，于-80 ℃冷藏。血脂、FPG、UA等生化指标应用日立7020全自动生化分析仪测定。本研究利用硝酸还原酶将血清中的NO_3^-还原为NO_2^-，通过显色用分光光度计测定A值，再算出NO的浓度[12]。NO试剂盒由南京建成生物工程研究所提供，批内变异系数(CV)<5%；批间CV<10%。由专人严格按照试剂盒说明书操作。

(4)微量蛋白尿的测定及诊断：留取每名研究对象晨起第一次小便的中段尿液3～5 ml，离心10 min后取上清液0.5 ml，采用上海华臣生物试剂有限公司提供的试剂，应用日立7020全自动生化分析仪在尿液收集后24 h内进行尿微量白蛋白及尿肌酐的测定。UACR(mg/g)=尿微量白蛋白(mg/dl)/尿肌酐(g/dl)。

3. 统计学分析：采用SAS 9.1软件进行统计学分析。描述并比较病例组和对照组的一般特征。连续性变量正态分布的用$\bar{x}\pm s$表示，两组均数比较采用t检验；非正态分布的采用中位数(四分位间距)表示，两组中位数比较用秩和检验。计数资料两组率的比较采用χ^2检验。按照NO的四分位将调查对象从低到高分为4个水平，以NO最高分位为参照，采用多因素条件logistic回归分析计算其余各组OR值及其95%CI，观察微量蛋白尿发生危险与NO水平的剂量-反应关系。为进一步分析血清NO水平与微量蛋白尿的关联性，排除高血压的潜在影响，采用两个模型进行分析，即若对子中的三个研究对象都没有高血压，则设为模型1；若对子中的三个研究对象至少有一例患有高血压，则设为模型2；仍以NO最高分位作为参照，将其余分位设为哑变量代入多因素条件logistic回归模型，计算其余各组OR值及其95%CI，观察两个模型中微量蛋白尿发生危险与NO水平的剂量-反应关系。以$P<0.05$为差异有统计学意义。

结　果

1. 一般特征：本研究共纳入624人，其中病例组208人，平均年龄为(53.52±8.18)岁；对照组416人，平均年龄为(52.70±8.23)岁。研究对子数共208对，男性63对，女性145对。病例组和对照组的特征比较见表1。结果显示，病例组收缩压和舒张压明显高于对照组($P<0.05$)。病例组和对照组的年龄、BMI、腰围、TC、TG、LDL-C、HDL-C、FPG、UA水平以及吸烟、饮酒率差异无统计学意义，说明两组具有很好的一致性。病例组的血清NO水平略低于对照组，但差异无统计学意义。

2. 血清NO与微量蛋白尿的关联性：根据血清NO的四分位将调查对象从低到高分为4个水平

表1　病例组(微量蛋白尿)和对照组(正常蛋白尿)特征的比较

特征	病例组(n=208)	对照组(n=416)	P值
年龄(岁,$\bar{x}\pm s$)	53.52±8.18	52.70±8.23	0.430
BMI(kg/m^2,$\bar{x}\pm s$)	24.88±3.00	24.70±2.94	0.460
腰围(cm,$\bar{x}\pm s$)	82.77±7.89	82.70±7.33	0.912
收缩压(mm Hg,$\bar{x}\pm s$)	134.10±20.00	126.20±15.10	<0.001
舒张压(mm Hg,$\bar{x}\pm s$)	85.90±9.59	82.90±8.85	<0.001
TC(mmol/L)	5.19(4.57,5.95)	5.12(4.56,5.78)	0.643
TG(mmol/L)	1.14(0.81,1.61)	1.08(0.79,1.49)	0.267
LDL-C(mmol/L)	3.00(2.51,3.57)	3.00(2.53,3.47)	0.736
HDL-C(mmol/L)	1.48(1.26,1.72)	1.49(1.27,1.74)	0.807
FPG(mmol/L)	5.20(4.80,5.70)	5.10(4.80,5.50)	0.309
UA(mmol/L)	257(197,334)	245(193,305)	0.115
NO(μmol/L)	27.75(14.48,42.15)	28.25(17.40,43.45)	0.316
吸烟(%)	19.23	17.07	0.505
饮酒(%)	17.31	14.90	0.437

组,以最高分位作为参照,进行多因素条件logistic回归分析,分别计算其余各组微量蛋白尿的OR值及95%CI。结果显示,在调整了血压、BMI、TC、TG、LDL-C、HDL-C、UA、吸烟、饮酒后,尽管各水平组患微量蛋白尿的危险与血清NO水平最高组相比差异无统计学意义,但血清NO水平最低组患微量蛋白尿的的危险性较最高组偏高(OR=1.50,95%CI:0.88~2.52)。如表2所示,在所有调整的混杂因素中,只有收缩压与微量蛋白尿存在明显的关联性,收缩压水平可能对血清NO水平与微量蛋白尿之间的关系产生潜在影响,为了消除收缩压的潜在影响,按高血压与否进行分层分析,进一步研究血清NO水平与微量蛋白尿的关联性。根据每个研究对象的血压水平,排除全部为高血压的研究对子,然后将其余对子分成模型1(对子中的三个研究对象都没有高血压)和模型2(对子中的三个研究对象有1~2人患有高血压),以NO最高分位作为参照,进行多因素条件logistic回归分析,分别计算两个模型中其余各组微量蛋白尿的OR值及95%CI。结果如表3所示,在调整了BMI、TC、TG、LDL-C、HDL-C、UA、吸烟、饮酒后,各水平组患微量蛋白尿的的危险性与血清NO最高水平组相比仍差异无统计学意义。但在模型2中,即未考虑高血压影响的情况下,血清NO最低水平组与最高水平组相比患微量蛋白尿的危险性接近统计学意义(OR=1.85,95%CI:0.96~3.57)。在模型1中,即完全排除高血压影响的情况下,与最高水平组相比,血清NO水平最低组患微量蛋白尿的危险性差异无统计学意义(OR=1.40,95%CI:0.58~3.40)。无论在模型1还是模型2中,随着血清NO水平的降低,微量蛋白尿发生的危险性都没有明显的增加趋势(趋势检验P值均>0.05)。

表2　血清NO水平与微量蛋白尿的多因素分析

变　量	OR值	95%CI	P值
血清NO水平(μmol/L)			
>43.26	1.00		
28.14~43.26	1.06	0.69~1.91	0.586
16.21~28.13	0.77	0.43~1.29	0.294
<16.21	1.50	0.88~2.52	0.221
BMI	1.02	0.94~1.10	0.711
收缩压	1.03	1.01~1.05	0.001
舒张压	1.00	0.97~1.03	0.836
TC	0.96	0.65~1.42	0.843
TG	1.09	0.92~1.30	0.303
LDL-C	1.09	0.92~1.30	0.667
HDL-C	0.87	0.52~1.46	0.599
UA	1.00	1.00~1.01	0.242
吸烟	1.31	0.69~2.50	0.410
饮酒	1.13	0.63~2.02	0.683

表3　高血压和非高血压者不同血清NO水平的微量蛋白尿分析

NO水平四分位(μmol/L)	模型1(76对)		模型2(121对)	
	OR值	95%CI	OR值	95%CI
>43.26	1.00		1.00	
28.14~43.26	0.72	0.28~1.88	1.38	0.75~2.54
16.21~28.13	0.93	0.36~2.43	0.60	0.30~1.23
<16.21	1.40	0.58~3.40	1.85	0.96~3.57
趋势性P值	0.233		0.252	

讨　论

本研究结果显示,在一般人群中,血清NO与微量蛋白尿无显著相关性。尽管病例组的血清NO水平略低于对照组,但差异无统计学意义,进一步的关联性分析结果显示,随着血清NO水平的降低,微量蛋白尿发生的危险性并没有呈现出显著的增加趋势。

血清NO的生成一直被认为是评价血管内皮功能的指标,尿微量白蛋白的排泄也与肾小球毛细血管的内皮功能损伤相关[13]。但肾小球损伤并不意味着全身其他部位血管内皮功能也出现异常,即尿微量白蛋白漏出并不表示血清中NO生产减少或增加。与本研究结果相似,Balletshofer等[14]的研究结果也显示,不论在糖尿病患者还是非糖尿病患者中,微量蛋白尿患者血流介导的血管舒张功能与非微量蛋白尿患者中相比无显著差别。为避免糖尿病等代谢疾病及血糖水平对血管内皮功能的影响,本研究不仅排除糖尿病、冠心病、脑卒中、肾病的患者,在选择对照时还对血糖水平进行匹配,一致性检验结果表明,病例组和对照组具有很好的可比性。本研究结果与Diercks等[15]一致,在健康的人群中,尿微量白蛋白排泄率与血流介导的血管舒张功能无显著相关性,但与许多心血管疾病的危险因素显著相关,微量蛋白尿可能在系统性的内皮功能障碍发生之前就

已出现。Clausen等[16]的研究显示，在健康成年人中，尿微量白蛋白排泄增加与动脉血管舒张功能受损有轻微的联系，与本研究结果不一致，但该研究对象例数较少（19 cases *vs.* 42 controls），而且两组在血压上差异有统计学意义。因为即使在正常个体，血压也会影响尿白蛋白的排泄[17]。本研究中微量蛋白尿患者的血压较非患者明显升高，故按是否患高血压进行分层探讨血清NO水平和微量蛋白尿的关系，分析过程中对血压进行调整，结果显示无论是否患高血压，血清NO水平和微量蛋白尿都无显著相关性。以往研究表明[18]，高血压患者使用降压药后，血清NO水平升高，微量蛋白尿症状得到改善，故两者可能在高血压的发生发展中存在相互作用。NO生成减少是血压升高的重要原因，后者会进一步增加肾小球滤过率从而导致肾损害和微量蛋白尿[19]。此外，Hsu等[20]在美国Kaiser Permanente医疗服务系统成员中进行的回顾性队列研究显示，高血压与氧化应激相关，氧化应激导致活性氧生成增加，活性氧与NO作用会减弱其生物活性[21]，所以高血压患者的血清NO水平会下降。余秀兰等[22]研究显示，与正常对照组比较，高血压病1级组尿微量清蛋白无明显升高，血清NO浓度下降（$P<0.05$）；高血压病2、3级组尿微量清蛋白明显增高，血清NO浓度明显降低（$P<0.01$），提示早期或轻度高血压患者，其肾功能无明显变化。本研究中高血压患者的平均血压水平也处于高血压1级水平，推测本研究高血压患者肾功能可能变化不大，故血清NO浓度与微量蛋白尿无显著相关。还有研究发现[23]，高血压发生时一些炎性介质可使巨噬细胞产生大量NO，使血清NO浓度保持基本不变。

本研究仍存在缺陷，如对UACR仅进行单次检测，有可能对微量白蛋白尿患者造成误判。此外，研究中未对研究对象进行肾功能状况评价，尽管排除了慢性肾病者，但无法消除肾功能不全对微量白蛋白尿与血清NO水平关联性的潜在影响。

［本研究为苏州市科技项目（SS0910）资助］

参 考 文 献

[1] Cirillo M, Stellato D, Lombardi C, et al. Urinary albumin excretion and coronary artery disease. G Ital Nefrol, 2006, 23 Suppl 34: S11-15.

[2] de Zeeuw D. Albuminuria, just a marker for cardiovascular disease, or is it more? J Am Soc Nephrol, 2005, 16: 1883-1885.

[3] Diercks GF, van Boven AJ, Hillege JL, et al. The importance of microalbuminuria as a cardiovascular risk indicator: a review. Can J Cardiol, 2002, 18: 525-535.

[4] Tsioufis C, Dimitriadis K, Chatzis D, et al. Relation of microalbuminuria to adiponectin and augmented C-reactive protein levels in men with essential hypertension. Am J Cardiol, 2005, 96: 946-951.

[5] Yetik, Anacak G, Catravas JD. Nitile oxide and the endotbelium: history and impact on cardiovascular disease. Vascul Pharmacol, 2006, 5(45): 268-276.

[6] Chiarelli F, Cipollone F, Romano F, et al. Increased circulating nitric oxide in young patients with type 1 diabetes and persistent microalbuminuria: relation to glomerular hyperfiltration. Diabetes, 2000, 49: 1258-1263.

[7] Stehouwer CD, Henry RM, Dekker JM, et al. Microalbuminuria is associated with impaired brachial artery, flow-mediated vasodilation in elderly individuals without and with diabetes: further evidence for a link between microalbuminuria and endothelial dysfunction—the Hoorn Study. Kidney Int Suppl, 2004(92): S42-44.

[8] Huang HL, Sun DS, Huang HF. Clinical significance of blood HCY and uric MAU in aged patients with hypertension. Zhejiang Med J, 2005, 27(3): 171-172. (in Chinese)
黄惠玲，孙东升，黄慧芳. 老年高血压人群血HCY、尿MAU测定及其临床意义. 浙江医学, 2005, 27(3): 171-172.

[9] Peng H, Ding JS, Peng Y, et al. Relationship between serum uric acid and hypertension and pre-hypertension among women. Chin J Hyperten, 2011, 19(3): 236-239. (in Chinese)
彭浩，丁建松，彭颖，等. 女性人群血清尿酸水平与高血压及高血压前期的关系. 中华高血压杂志, 2011, 19(3): 236-239.

[10] Levey AS, Coresh J, Balk E, et al. National kidney foundation practice guidelines forchronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. Ann Intern Med, 2003, 139(2): 137-147.

[11] Liu LS, Wang W, Yao CH, et al. 2009 community version of Chinese Hypertension Prevention Guideline. Chin J Hyperten, 2010, 18(1): 11-30. (in Chinese)
刘力生，王文，姚崇华，等. 中国高血压防治指南（2009年基层版）. 中华高血压杂志, 2010, 18(1): 11-30.

[12] Serpe MJ, Zhang X. The Principles, Development and Application of Microelectrodes for the In Vivo Determination of Nitric Oxide. Electrochemical Methods for Neuroscience. Boca Raton (FL): CRC Press, 2007.

[13] Deckert T, Feldt-Rasmussen B, Borch-Johnsen K, et al. Albuminuria reflects widespread vascular damage. The Steno hypothesis. Diabetologia, 1989, 32(4): 219-226.

[14] Balletshofer BM, Braun B, Rittig K. Urinary albumin excretion and noninvasive assessment of peripheral endothelial dysfunction with high-resolution ultrasound in type 2 diabetic subjects and nondiabetic controls. Med Klin (Munich), 2003, 98(5): 253-258.

[15] Diercks GF, Stroes ES, van Boven AJ, et al. Urinary albumin excretion is related to cardiovascular risk indicators, not to flow-mediated vasodilation, in apparently healthy subjects. Atherosclerosis, 2002, 163: 121-126.

[16] Clausen P, Jensen JS, Jensen G, et al. Elevated urinary albumin excretion is associated with impaired arterial dilatory capacity in clinically healthy subjects. Circulation, 2001, 103: 1869-1874.

[17] Gilbert RE, Phillips P, Jerums C. Relationship between ambulatory blood pressure and albuminuria in normal subjects. Am J Hypertens, 1991, 4: 959-962.

[18] Zhou W, Chen S. Olmesartan on vascular endothelial and renal function in patients with hypertension. Anhui Med Pharm J, 2008, 12(5): 457-458. (in Chinese)
周文，陈善. 奥美沙坦对高血压患者血管内皮功能及肾功能的影响. 安徽医药, 2008, 12(5): 457-458.

[19] Armas-Padilla MC, Armas-Hernandez MJ, Sosa-Canache B, et al. Nitric oxide and malondialdehyde in human hypertension. Am J Ther, 2007, 14(2): 172-176.

[20] Hsu CY, McCulloch CE, Darbinian J, et al. Elevated blood pressure and risk of end-stage renal disease in subjects without baseline kidney disease. Arch Intern Med, 2005, 165: 923-928.

[21] Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. Circ Res, 2000, 87: 840-844.

[22] Yu XL, Zhao HY, Chen WQ. Association between urine albumin and endothelial function in hypertensives. J Mod Lab Med, 2010, 25(1): 156-157. (in Chinese)
余秀兰，赵华云，陈伟强. 高血压患者尿微量蛋白水平与血管内皮功能的关系. 现代检验医学杂志, 2010, 25(1): 156-157.

[23] Förstermann U, Kleinert H, Gath I, et al. Expression and expressional control of nitric oxide syntheses in various cell types. Adv Pharmacol, 1995, 34: 171-186.

（收稿日期：2011-12-12）
（本文编辑：卢亮平）