

•临床研究•

[文章编号] 1007-3949(2005)13-02-0192-03

老年下肢动脉粥样硬化在糖尿病患者中的病理特点

范利¹, 杜瑞雪¹, 李小鹰¹, 韦立新²

(中国人民解放军总医院 1. 老年心内科; 2. 病理科, 北京市 100853)

[关键词] 病理学与病理生理学; 糖尿病对动脉粥样硬化的影响; 免疫组织化学法; 老年; 股动脉; 平滑肌细胞; 巨噬细胞

[摘要] 目的 探讨老年糖尿病患者下肢动脉粥样硬化的病理特点。方法 收集老年糖尿病尸体解剖病例 8 例, 并设立对照组, 将所有病例的两侧股动脉进行连续取材, 常规病理检查, 其中部分节段行 α 平滑肌肌动蛋白、CD68 和 bax 染色。结果 与对照组比较, 糖尿病组股动脉粥样硬化程度更重, 钙化范围更大; 其斑块中的平滑肌细胞相对较少, 巨噬细胞相对较多; bax 在巨噬细胞的表达较多, 在平滑肌细胞的表达减少。结论 提示糖尿病可能促进了股动脉粥样硬化的发生、发展。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

The Pathology Characteristic of Femoral Atherosclerosis in Elder Diabetes Patients

FAN Li¹, DU Rui-Xue¹, LI Xiao-Ying¹, and WEI Li-Xin²

(The Chinese PLA General Hospital 1. Department of Gerontology Cardiology; 2. Department of Pathology, Beijing 100853, China)

[KEY WORDS] Diabetes; Atherosclerosis; Immunohistochemical Technology; Elder; Femoral Artery; Smooth Muscle Cell; Macrophage

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the pathology characteristic of femoral atherosclerosis in elder diabetes patients.

Methods 8 elder diabetes autopsy cases and 8 control cases were selected respectively in our hospital. Serial sections of femoral artery of all cases were taken. All the arteries were examined, and parts of the segments were selected for immunohistochemical staining. Three markers against α -smooth muscle actin, CD68, and bax were performed. **Results** Compared with control cases, the femoral atherosclerosis was more serious and the calcify range was wider in diabetes patients; there were less smooth muscle cells and more macrophage in femoral atherosclerotic plaques, and the expression of bax in macrophages was stronger, the expression of bax in smooth muscle cell was weaker. **Conclusions** Diabetes may accelerate the occurrence and development of femoral atherosclerosis.

据报道, 高危老年人群中周围动脉硬化闭塞症的发生率约 42.5%, 糖尿病是其最重要的危险因素^[1]。周围动脉硬化合并糖尿病的病人其心脑血管疾病的发生率更高^[2,3]。然而这方面病理学的研究鲜有报道。本实验观察了 8 例糖尿病尸检病例的下肢动脉粥样硬化形态学特点, 旨在探讨糖尿病对下肢动脉粥样硬化病理学特点的影响, 为下肢动脉粥样硬化的治疗提供依据。

1 对象和方法

1.1 病例来源及处理

收集我院有糖尿病和无糖尿病病史的尸体解剖病例各 8 例。两组病例在年龄、男女性别比例、生前

病史(包括冠心病、高血压病和脑血管病)及血脂水平(包括甘油三酯、胆固醇、低密度脂蛋白、高密度脂蛋白、载脂蛋白 A1 和载脂蛋白 B)等方面均差异无统计学意义, 具有可比性。但糖尿病组生前有下肢动脉硬化闭塞症病史者共 3 例, 而非糖尿病组中无下肢动脉硬化闭塞症患者。糖尿病组最高血糖水平(用中位数表示)亦高于非糖尿病组, 分别为 9.60 mmol/L 和 4.74 mmol/L ($P < 0.05$)。将所有病例的两侧股动脉(股动脉起始部 5 cm)完整剥离后立即用 4% 中性甲醛缓冲溶液固定 24 h, 水浸泡后用锋利的备皮刀片每隔 4 mm 连续取材。所取组织经常规脱水, 石蜡包埋, 切片并行 HE 染色。

1.2 一般形态学检查

在光学显微镜下观察, 按病理学诊断标准区分为脂纹、纤维斑块、粥样斑块和复合病变。对每例尸检股动脉粥样硬化病变分别进行评分(按病变严重的一侧股动脉计算), 无动脉粥样硬化为 0 分; 脂纹为 1 分; 纤维斑块和粥样斑块为 2 分; 复合病变为 3 分。动脉粥样硬化程度 = $\sum(\text{病变得分} \times \text{节段数})$ 。

[收稿日期] 2004-07-21 [修回日期] 2005-01-10

[作者简介] 范利, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 主要从事老年心血管病的研究, 联系电话为 010-66939866。杜瑞雪, 硕士研究生。李小鹰, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 主要从事老年心血管病的研究。

动脉粥样硬化斑块钙化范围按有病变节段数计算。

1.3 免疫组织化学检查

每例病例选择 1 个相对不稳定的股动脉粥样硬化斑块,即脂质占斑块总面积大、纤维帽薄、其胶原与平滑肌细胞少和炎症细胞多的斑块。将选定的节段连续切片,并进行免疫组织化学染色。标记抗体由北京中山公司提供。采用鼠抗人 α 平滑肌肌动蛋白(smooth muscle actin, SMA) 单克隆抗体标记平滑肌细胞,鼠抗人 CD68 单克隆抗体标记巨噬细胞。对这两种细胞进行鼠抗人 bax 单克隆抗体标记。选择斑块纤维帽作为观察视野,纤维帽不明显者,以斑块靠近管腔侧的部分作为研究对象。分别选取 SMA 阳性细胞数最少的视野、CD68 阳性细胞数最多的视野以及 bax 阳性平滑肌细胞或巨噬细胞数最多的视野,光镜 400 倍下,应用 Image Pro Plus4.5 图像分析系统测量此处任意 3 个视野 SMA 阳性细胞的面积密度,并取其均值作为结果。

1.4 统计学处理

运用 Stata 7.0 软件,数据用中位数表示。采用两样本比较的秩和检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

在这些老年患者中均可见不同程度的股动脉粥样硬化及斑块的发生。然而,与非糖尿病组比较,糖尿病组股动脉粥样硬化程度明显加重(12 分),且常伴有较广泛的钙化(4 分);非糖尿病组股动脉粥样硬化程度较轻(5 分),斑块数量明显减少,有时仅有 1~2 个较小的动脉粥样硬化斑块,钙化的范围亦较小(1 分),差异均有显著性($P < 0.05$)。免疫组织化学染色显示,糖尿病组动脉粥样硬化斑块中的平滑肌细胞相对少,巨噬细胞相对多;凋亡相关蛋白 bax 在巨噬细胞的表达多,在平滑肌细胞的表达少(表 1, Table 1)。

表 1. 糖尿病组与非糖尿病组动脉粥样硬化斑块中各免疫组织化学指标的面积密度比较(%)

Table 1. The comparisons of immunohistochemical indexes in atherosclerosis plaques between diabetes side and non-diabetes side(%)

分 组	SMA	CD68	bax	
			平滑肌细胞	巨噬细胞
非糖尿病组	4.08	7.65	0.54	3.53
糖尿病组	0.10 ^a	22.41 ^a	3.77 ^a	0.57 ^a

a: $P < 0.05$, 与非糖尿病组比较。

3 讨论

既往资料证实,与非糖尿病人比较,2 型糖尿病患者不仅下肢动脉粥样硬化的发生率更高,而且程度更重,钙化更明显^[4]。本实验结果支持这一结论。下肢动脉粥样硬化闭塞症病例在 2 型糖尿病组共有 3 例,而非糖尿病组为 0 例。动脉粥样硬化程度和钙化范围在两组的差异亦有统计学意义。目前,钙化是否与斑块的不稳定性有关尚有争议,但大多数人认为钙化既不是不稳定也不是稳定斑块的特征,但它与病变的范围有关,与其他指标结合能加强对预后的估计^[5]。

α 平滑肌肌动蛋白和 CD68 分别是血管平滑肌细胞和巨噬细胞的标记抗体, bax 作为凋亡相关蛋白,其在平滑肌细胞和巨噬细胞的表达间接反应细胞凋亡的趋势。大量研究证明,动脉粥样硬化斑块纤维帽中平滑肌细胞数量减少,巨噬细胞数量增加,是导致斑块不稳定、破裂,进而发生临床恶性事件的重要因素^[6]。两种细胞的数量依赖于细胞增殖和凋亡这一对矛盾的平衡。尤其是近年来,人们对动脉粥样硬化斑块中细胞的凋亡再次引起关注。糖尿病是否影响细胞的凋亡以及斑块的稳定性一直是人们关注的焦点之一。有研究首次在不稳定心绞痛病例中从病理学角度观察了糖尿病对冠状动脉斑块的影响,发现在不稳定型心绞痛病人中糖尿病组冠状动脉斑块发生溃疡及形成血栓的机率较非糖尿病组明显增多^[7]。还有学者研究了心肌梗死合并糖尿病患者的冠状动脉斑块特征,发现与单纯心肌梗死组比较,前者斑块中平滑肌细胞数目少,巨噬细胞数目多,凋亡的平滑肌细胞也较多^[8]。我们的实验结果与之一致。SMA、CD68 和 bax 阳性细胞的含量在两组病例不同。糖尿病组平滑肌细胞数量少,巨噬细胞数量多; bax 阳性的平滑肌细胞多, bax 阳性的巨噬细胞少。非糖尿病组与之相反。这提示在下肢动脉粥样硬化中,糖尿病同样使斑块中的平滑肌细胞更易于凋亡,巨噬细胞则不易于凋亡,从而导致斑块趋向于不稳定。另外有资料认为,凋亡的平滑肌细胞残余细胞质常在斑块中以基质小泡存在,这些含钙的基质小泡可能启动了斑块的钙化^[6]。因此,推测细胞凋亡机制可能部分解释了本研究中两组病例所存在的差异。

然而,糖尿病影响动脉粥样硬化的确切机制尚不明了。糖尿病患者不但由于脂质代谢异常,低密度脂蛋白浓度明显增加,而且长期的慢性高血糖状态还使低密度脂蛋白的氧化和糖化作用增强^[9],这可

能与斑块中的细胞凋亡有关。在人的动脉粥样硬化斑块中, Okara 等^[10]发现了氧化型低密度脂蛋白与平滑肌细胞表面 bax 的表达及凋亡有关的证据。体外细胞培养实验也证实, 氧化型低密度脂蛋白糖化后促进平滑肌细胞的凋亡, 且与 bax 的诱导有关^[11]。也有研究认为, 氧化型低密度脂蛋白可通过 PI3-激酶/PKB 途径对巨噬细胞的凋亡起抑制作用^[12]。然而, 这些结果还需要更深入的实验阐明。本实验中糖尿病组尽管低密度脂蛋白水平较非糖尿病组无明显差异(考虑与降脂治疗有关), 但其生前较高的血糖水平无疑会促进低密度脂蛋白的氧化和糖化, 加重了下肢动脉粥样硬化的发展。同时, 通过上述病理学分析我们不难发现, 控制血糖、降低血脂、稳定斑块的治疗对于下肢动脉粥样硬化合并糖尿病患者显得更为重要。

[参考文献]

- [1] Al Zahrani HA, Al Bar HM, Bahmassi A, Abdulaal AA. The distribution of peripheral arterial disease in a defined population of elderly high-risk Saudi patients. *Int Angiol*, 1997, **16**(2): 123-128
- [2] Tsushima N, Matsuo H, Hayashi T, Homma S. The clinical features and treatment of arteriosclerosis obliterans with diabetes. *Diabetes*, 1996, **45** (Suppl 3): S101-104
- [3] Dolan, NC, Liu K, Criqui MH, Greenland P, Guralnik JM, Chan C, et al. Peripheral artery disease, diabetes, and reduced lower extremity functioning. *Diabetes Care*, 2002, **25**(1): 113-120
- [4] Ishimura E, Okuno S, Kitatani K, Kim M, Shoji T, Nakatani T, et al. Different risk factors for peripheral vascular calcification between diabetic and nondiabetic haemodialysis patients - importance of glycaemic control. *Diabetologia*, 2002, **45**(10): 1446-448
- [5] Schmermund A, Erbel R. Unstable coronary plaque and its relation to coronary calcium. *Circulation*, 2001, **104**(14): 1682-687
- [6] Kocks MM, Herman AG. Apoptosis in atherogenesis: implications for plaque destabilization. *Eur Heart J*, 1998, **19** Suppl G: 23-28
- [7] Silva JA, Escobar A, Collins TJ, Ramee SR, White CJ. A comparison of angiographic findings between diabetic and nondiabetic patients. *Circulation*, 1995, **92**(7): 1731-736
- [8] Fukumoto H, Naito Z, Asano G, Aramaki T. Immunohistochemical and morphometric evaluations of coronary atherosclerotic plaques associated with myocardial infarction and diabetes mellitus. *J Atheroscler Thromb*, 1998, **5**(1): 29-35
- [9] Eckel RH, Wassef M, Chait A, Sobel B, Barrett E, King G, et al. Prevention conference VI: diabetes and cardiovascular disease writing group II: pathogenesis of atherosclerosis in diabetes. *Circulation*, 2002, **105**(18): e138-143
- [10] Okura Y, Brink M, Itabe H, Scheidegger KJ, Kalangos A, Delafontaine P. Oxidized low-density lipoprotein is associated with apoptosis of vascular smooth muscle cells in human atherosclerotic plaques. *Circulation*, 2000, **102**: 2680-686
- [11] Taguchi S, Oinuma T, Yamada T. A comparative study of cultured smooth muscle cell proliferation and injury, utilizing glycated low density lipoproteins with slight oxidation, auto-oxidation, or extensive oxidation. *J Atheroscler Thromb*, 2000, **7**(3): 132-137
- [12] Hundal RS, Salh BS, Schrader JW, Gomez MA, Duronio V, Steinbrecher UP. Oxidized low density lipoprotein inhibits macrophage apoptosis through activation of the PI 3-kinase/PKB pathway. *J Lipid Res*, 2001, **42**(9): 1483-491

(此文编辑 朱雯霞)

《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》 (生物医药类)一览表(2003 年度)

山东中医药大学学报
山西医科大学学报
山西医药杂志
陕西医学杂志
上海第二医科大学学报
上海口腔医学
上海医学
上海医学检验杂志
神经解剖学杂志
沈阳药科大学学报
肾脏病与透析肾移植杂志
生理科学进展
生理学报
生命的化学
生命科学研究
生物化学与生物物理进展
生物化学与生物物理学报
生物物理学报

生物医学工程学杂志
生物医学工程与临床
生殖医学杂志
生殖与避孕
实验生物学报
实用儿科临床杂志
实用放射学杂志
实用妇产科杂志
实用口腔医学杂志
实用老年医学
实用临床医药杂志
实用美容整形外科杂志
实用医学杂志
实用预防医学
世界华人消化杂志
首都医科大学学报
四川大学学报医学版
四川医学