

稳定型冠心病患者血浆内皮微粒与动脉弹性的关系

张子新, 李超君, 余陆娇

(中国医科大学附属第一医院心内科, 辽宁省沈阳市 110001)

[关键词] 冠心病; 内皮微粒; 踝臂脉搏波传导速度

[摘要] **目的** 研究稳定型冠心病患者血浆内皮微粒(EMP)水平与踝臂脉搏波传导速度(baPWV)之间的关系。**方法** 选择稳定型冠心病患者 50 例和健康志愿者 20 例,采用流式细胞术检测两组患者血浆中 EMP(CD31⁺/CD42b⁻)水平,同时应用无创动脉硬化检测装置测定 baPWV,探讨二者之间的关系。**结果** 冠心病组患者血浆 EMP 水平较对照组显著升高(1 748.4 ± 102.1 个/微升比 847.4 ± 86.4 个/微升, $P < 0.01$);冠心病组患者 baPWV 较对照组增快(1 931.1 ± 328.3 cm/s 比 1 532.1 ± 147.3 cm/s, $P < 0.01$)。血浆 EMP 水平与 baPWV 呈正相关($r = 0.42, P < 0.01$)。以 baPWV 为因变量的多因素回归分析显示,血浆 EMP 水平是其独立影响因素。**结论** 稳定型冠心病患者血浆 EMP 水平升高,baPWV 加快且与 EMP 水平呈正相关,血浆 EMP 水平是 baPWV 的独立影响因素。

[中图分类号] R541.4

[文献标识码] A

Relationship of Endothelial Microparticles and Arterial Elasticity in Patients with Stable Coronary Artery Disease

ZHANG Zi-Xin, LI Chao-Jun, and YU Lu-Jiao

(Department of Cardiovascular Disease, the First Affiliated Hospital, China Medical University, Shenyang, Liaoning 110001, China)

[KEY WORDS] Coronary Artery Disease; Endothelial Microparticles; Brachial-ankle Pulse Wave Velocity

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the association of endothelial microparticle (EMP) and brachial-ankle pulse wave velocity (baPWV) in patients with stable coronary artery disease (CAD). **Methods** 50 patients with stable coronary artery disease and 20 healthy volunteers were studied. Flow cytometer was used to measure levels of EMP (CD31⁺/CD42b⁻) in circulation and baPWV was measured to assess the status of arterial elasticity. **Results** The levels of EMP were higher in patients with stable CAD than that of healthy volunteers (1 748.4 ± 102.1 particles/μL vs 847.4 ± 86.4 particles/μL, $P < 0.01$), and baPWV was faster in patients with stable CAD than that of healthy volunteers (1 931.1 ± 328.3 cm/s vs 1 532.1 ± 147.3 cm/s, $P < 0.01$). There was a positive correlation between the level of EMP and baPWV in stable CAD ($r = 0.42, P < 0.01$). **Conclusions** Patients with stable CAD had higher EMP and faster baPWV than those of healthy volunteers, and there was positive correlation between EMP and baPWV. EMP was an independent influencing factor to arterial elasticity.

内皮微粒(endothelial microparticle, EMP)是血管内皮细胞在激活或凋亡状态下所释放的微小囊泡状颗粒^[1],近年来的研究发现冠心病患者体内 EMP 水平升高,急性冠状动脉综合征患者比稳定型心绞痛患者升高水平更显著,EMP 水平是评价内皮功能的新指标。血管内皮功能障碍是动脉粥样硬化的早期改变之一,是冠心病发病的始动因素之

一^[1,2]。动脉弹性也与动脉粥样硬化紧密相关,脉压、踝臂脉搏波传导速度(brachial-ankle pulse wave velocity, baPWV)是反应动脉弹性的指标,可以间接反映动脉粥样硬化的程度,预测冠心病患者发生心血管不良事件的风险^[3]。推测 EMP 和动脉弹性可以通过对动脉粥样硬化的影响参与冠心病的发生和发展,本实验旨在探讨稳定型心绞痛患者 EMP 和

[收稿日期] 2012-07-06

[作者简介] 通讯作者张子新,医学博士,副主任医师,副教授,硕士研究生导师,主要研究方向为高血压、冠心病、心力衰竭的基础与临床及心脏康复,E-mail 为 catexin2000@qq.com。李超君,硕士,研究方向为高血压、冠心病与内皮功能的关系,现工作单位为齐齐哈尔医学院。余陆娇,在读硕士研究生,研究方向为 Rho Kinase 信号通路与内皮功能障碍的关系。

baPWV 的水平及二者之间的关系。

1 对象与方法

1.1 研究对象

连续收集 2011 年 10 月至 2012 年 3 月中国医科大学附属第一医院心内科住院或门诊就诊的稳定型冠心病患者 50 例,男性 21 例,女性 29 例,年龄 30~75 岁。所有病例均经冠状动脉造影或冠状动脉 CT 血管成像(computed tomography angiography, CTA)证实存在冠状动脉病变,确诊为冠心病,其中 13 例为经皮冠状动脉介入术(percutaneous coronary intervention, PCI)后 1 个月以上且病情稳定的患者,并排除高血压病、糖尿病、II 级以上心功能不全、脑血管病和血液系统疾病。同期选择我院体检中心筛查出的健康人 20 例作为对照组,男性 8 例,女性 12 例,年龄 30~65 岁。

1.2 主要试剂和设备

Anti-CD42b-FITC: 异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)标记的鼠抗人 CD42b 单克隆抗体; Anti-CD31-PE: 藻红蛋白(phycoerythrin, PE)标记的鼠抗人 CD31 单克隆抗体; 鼠 IgG1-FITC: FITC 标记的鼠抗人非特异性 IgG1; 鼠 IgG1-PE: PE 标记的鼠抗人非特异性 IgG1。以上抗体均购自美国 BionLegend 公司。FACSscan 流式细胞仪: 美国 Becton Dickinson 公司产品; 动脉硬化诊断装置 BP-203RPE (VP-1000): 日本欧姆龙公司产品。

1.3 血浆 EMP 水平测定

(1) 血样的采集和准备: 所有入选者均于入选后 72 h 内于清晨空腹状态下采集肘静脉血 3 mL, 置于真空枸橼酸盐抗凝管(蓝帽)中, 混匀后立即在 160 g 离心力下离心 10 min, 获取富含血小板的血浆, 再于 1 000 g 离心力下离心 10 min, 以获取乏血小板的血浆, 将样本冻存于 -80°C 冰箱备用。(2) 检测: 首先将待测样本于 0°C 冰水中融化 1 h, 取样本 50 μL , 加入特异性荧光抗体(Anti-CD42b-FITC、Anti-CD31-PE)或同等数量的同型对照抗体混匀, 室温下暗处震荡孵育 30 min, 加入 1 mL PBS 缓冲液, 上流式细胞仪检测。EMP 定义为直径 $<1.0 \mu\text{m}$ 且 $\text{CD31}^{+}/\text{CD42b}^{-}$ 的微粒。当收集 10 000 个绝对计数微球后停止计数, 根据绝对计数微球的浓度换算得出血浆 EMP 浓度。

1.4 baPWV 的测定

于采血当日进行, 受检者取仰卧位, 平静休息 10 min 后开始检测。将心电采集装置按要求置于

相应位置, 将袖带缚于上臂及下肢相应部位, 上臂袖带气囊标志处对准肱动脉, 下肢袖带气囊标志处位于下肢内侧, 保持袖带松紧度合适。仪器自动收集并记录同步肱动脉和后胫动脉脉搏曲线和传播时间, 计算出 baPWV。

1.5 一般临床资料收集和生物化学指标测定

入选后记录两组被观察者的年龄、性别、体重和身高等情况, 并在收集 EMP 样本同时, 另采肘静脉血 2 mL, 用全自动生物化学测定仪检测血清总胆固醇、甘油三酯、空腹血糖和血肌酐。

1.6 统计方法

应用 SPSS 17.0 统计软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间一般临床资料比较采用 t 检验, 计量资料不符合正态分布时, 两组间均数比较采用 Mann-Whitney U 秩和检验。EMP 与心血管危险因素的相关性采用多元线性回归分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般临床资料的比较

两组被观察者年龄、性别、血压和生物化学指标等基线资料无明显差异 ($P > 0.05$; 表 1), 具有可比性。

表 1. 冠心病组与对照组基线情况 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1. Baseline of CAD patients and control group ($\bar{x} \pm s$)

指 标	冠心病组 ($n=50$)	对照组 ($n=20$)	P 值
年龄(岁)	61.4 \pm 8.5	59.7 \pm 8.1	>0.05
男/女(例)	21/29	8/12	>0.05
体质指数(kg/m^2)	22.8 \pm 2.3	21.9 \pm 3.8	>0.05
总胆固醇(mmol/L)	4.6 \pm 0.9	4.5 \pm 1.1	>0.05
甘油三酯(mmol/L)	1.4 \pm 0.5	1.6 \pm 0.6	>0.05
空腹血糖(mmol/L)	5.1 \pm 0.4	5.0 \pm 0.8	>0.05
血肌酐($\mu\text{mol}/\text{L}$)	65.8 \pm 14.7	61.4 \pm 12.1	>0.05
收缩压(mmHg)	124.1 \pm 7.2	123.1 \pm 9.3	>0.05
舒张压(mmHg)	71.4 \pm 7.4	75.0 \pm 9.0	>0.05

2.2 两组 EMP 和 baPWV 比较

EMP 检测结果, 冠心病组 EMP 水平高于对照组(1 748.4 \pm 102.1 个/微升比 847.4 \pm 86.4 个/微升, $P < 0.01$)。动脉弹性检测结果显示, 冠心病组 baPWV 明显快于对照组(1 931.1 \pm 328.3 cm/s 比 1 532.1 \pm 147.3 cm/s , $P < 0.01$) (表 2)。

表 2. 两组 EMP 水平与 baPWV 的比较($\bar{x} \pm s$)Table 2. Comparison of EMP and baPWV in two groups ($\bar{x} \pm s$)

项 目	冠心病组($n=50$)	对照组($n=20$)
EMP(个/微升)	1 748.4 \pm 102.1 ^a	847.4 \pm 86.4
baPWV(cm/s)	1 931.1 \pm 328.3 ^a	1 532.1 \pm 147.3

a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较。

2.3 相关分析和回归分析

在 baPWV 的单因素相关分析中, baPWV 与年龄呈正相关($r = 0.35, P < 0.01$; 图 1)。baPWV 与 Log-EMP 亦呈正相关($r = 0.42, P < 0.01$; 图 2)。以 baPWV 为因变量, 年龄、Log-EMP 为自变量进行多元回归分析, 提示 Log-EMP 和年龄是 baPWV 的独立影响因素($r = 0.74, P < 0.05$; 表 3)。

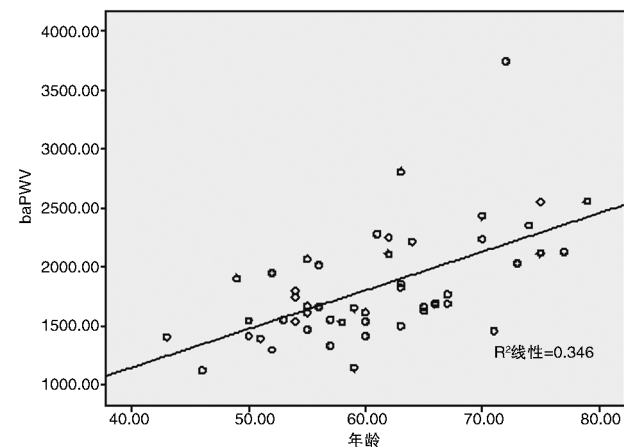


图 1. 年龄与 baPWV 相关关系图

Figure 1. Relationship between age and baPWV

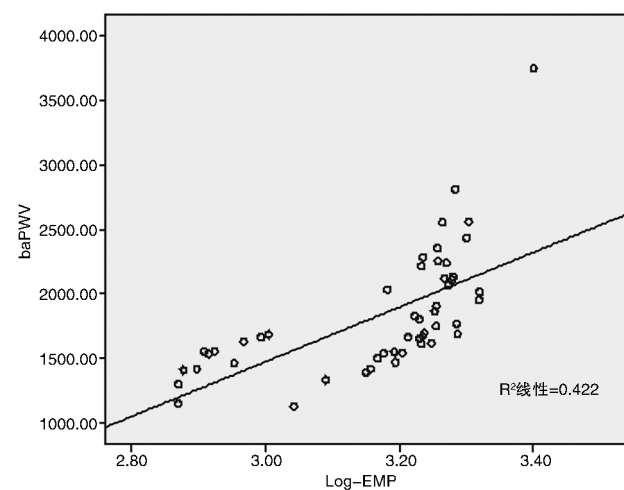


图 2. Log-EMP 与 baPWV 相关关系图

Figure 2. Relationship between Log-EMP and baPWV

表 3. 以 baPWV 为因变量的多因素回归分析

Table 3. Multiple regressive analysis of baPWV, age, and Log-EMP

自变量	t 值	P 值
年龄	4.87	0.000
Log-EMP	4.39	0.048

$R^2 = 0.54, F = 30.14$ 。

3 讨论

EMP 在正常人机体循环中会有少量表达,但在内皮细胞激活或凋亡时会释放较多 EMP 到外周血,使外周血中 EMP 水平升高。EMP 作为效应因子,在正常血管内皮细胞的炎症反应和血栓形成等过程中发挥一定作用^[1]。冠心病患者动脉粥样硬化早期即出现血管内皮功能受损,受损的内皮细胞会释放大量 EMP,使循环中的 EMP 水平显著增高,循环 EMP 水平在大部分心血管疾病中均增高,包括心血管疾病高危人群、心衰、血栓形成、血管炎性疾病等^[4]。EMP 被认为是连接内皮功能障碍与动脉血栓形成之间的纽带^[5]。

Bernal-Mizrachi 等^[6]研究了内皮微粒水平与冠心病的关系,发现冠心病患者的血浆 EMP 水平均较对照组升高,而急性冠状动脉综合征患者比稳定型心绞痛患者升高更为明显。本研究发现稳定型冠心病患者循环 EMP 水平升高且明显高于健康人群,提示稳定型冠心病患者也存在血管内皮损伤,损伤的内皮释放大量 EMP。EMP 致内皮功能障碍的机制是通过阻断内皮细胞一氧化氮信号传导通路,减弱乙酰胆碱介导的血管舒张功能,导致血管壁结构改变和舒缩功能减低而实现的^[7,8]。

动脉弹性的改变是动脉粥样硬化的早期结构表现,baPWV 能准确反映动脉弹性,已被认为是评估动脉弹性的重要指标,其升高表明动脉弹性降低;baPWV 增快与心血管疾病有显著的相关性,baPWV 能早期反映冠状动脉病变,而且在一定程度上与冠状动脉病变严重程度相关^[9,10]。研究发现血浆 EMP 水平升高可使动脉弹性降低,EMP 水平与肾功能不全患者动脉弹性减低之间有明确相关性^[11,12]。本研究结果与前人结果相符,证实稳定型冠心病患者 baPWV 增快并与 EMP 水平呈正相关;多元线性回归分析显示年龄和 EMP 水平是 baPWV 的独立影响变量。由此提示动脉弹性也和内皮功能相关,EMP 可反映稳定型冠心病患者内皮功能,

影响动脉弹性,故降低 EMP 可能是改善动脉弹性进而改善动脉粥样硬化的一条新途径。

本研究的局限性在于研究样本量较小,无法对稳定型冠心病严重程度分层,不能显示 EMP 水平与冠心病严重程度的量效关系,因此对于应用 EMP 和 baPWV 预测和早期筛查冠心病仍需进一步的研究结果充实。

[参考文献]

- [1] Boulanger CM, Amabile N, Tedgui A. Circulating microparticles: a potential prognostic marker for atherosclerotic vascular disease [J]. *Hypertension*, 2006, 48 (2): 180-186.
- [2] Biasucci LM, Porto I, Vito LD, et al. Differences in microparticle release in patients with acute coronary syndrome and stable angina[J]. *Circ J*, 2012, 76(9): 2 174-182.
- [3] 张欣,龙盼,张俊峰,等. 内皮微粒与冠心病相关性研究[J]. *临床心血管病杂志*, 2012, 28(1): 24-27.
- [4] Rautou PE, Vion AC, Amabile N, et al. Microparticles, vascular function, and atherothrombosis [J]. *Circ Res*, 2011, 109(5): 593-606.
- [5] Shantsila E, Kamphuisen PW, Lip GY. Circulating microparticles in cardiovascular disease: implications for atherogenesis and atherothrombosis [J]. *J Thromb Haemost*, 2010, 8(11): 2 358-368.
- [6] Bernal-Mizrachi L, Jy W, Jimenez JJ, et al. High levels of circulating endothelial microparticles in patients with acute

coronary syndromes [J]. *Am Heart J*, 2003, 145 (6): 962-970.

- [7] Wang JM, Huang YJ, Wang Y, et al. Increased circulating CD31⁺/CD42⁻ microparticles are associated with impaired systemic artery elasticity in healthy subjects [J]. *Am J Hypertens*, 2007, 20(9): 957-964.
- [8] Viera AJ, Mooberry M, Key NS. Microparticles in cardiovascular disease pathophysiology and outcomes [J]. *J Am Soc Hypertens*, 2012, 6(4): 243-252.
- [9] Wang DZ, Tang Q, Hua Q. Prediction of coronary artery disease using pulse wave velocity and retinal artery lesions [J]. *Tohoku J Exp Med*, 2011, 225(1): 17-22.
- [10] Nakamura U, Iwase M, Nohara S, et al. Usefulness of brachial-ankle pulse wave velocity measurement: correlation with abdominal aortic calcification [J]. *Hypertens Res*, 2003, 26(2): 163-167.
- [11] Dursun I, Poyrazoglu HM, Gunduz Z, et al. The relationship between circulating endothelial microparticles and arterial stiffness and atherosclerosis in children with chronic kidney disease [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2009, 24 (8): 2 511-518.
- [12] Pirro M, Schillaci G, Paltriccia R, et al. Increased ratio of CD31⁺/CD42⁻ microparticles to endothelial progenitors as a novel marker of atherosclerosis in hypercholesterolemia [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26 (11): 2 530-535.

(此文编辑 曾学清)