

•临床研究•

[文章编号] 1007-3949(2003)11-03-0260-03

冠状动脉搭桥术患者不同组织中几种血管活性肽的含量

温绍君, 王佐广, 王金城¹, 王耀宏, 刘洁琳, 文杰, 于庆利

(北京市心肺血管疾病研究所 北京安贞医院高血压研究室, 北京市 100029; 1. 华北油田总医院心外科)

[关键词] 分子生物学; 冠状动脉搭桥术患者生物活性因子的变化; 放射免疫分析法; 内皮素; 降钙素基因相关肽; 血管紧张素 ① ; 心房钠尿肽

[摘要] 为探讨血液中重要多肽因子内皮素、血管紧张素 ① 及降钙素基因相关肽与心房钠尿肽在冠状动脉搭桥术患者不同组织中的含量及其意义。选择施行冠状动脉搭桥术患者32例, 术中取得病理心包、心耳组织及心包液以及静脉血。组织匀浆后取离心上清液; 静脉血经抗凝、离心、取血浆, 用放射免疫分析法测定冠状动脉搭桥术患者血浆及心包、心包液、心耳中的内皮素、血管紧张素 ① 、降钙素基因相关肽及心房钠尿肽含量。结果发现, 血浆与心包液中的内皮素1、血管紧张素 ① 及降钙素基因相关肽含量存在明显的差异, 心包与心耳中的内皮素1、血管紧张素 ① 及降钙素基因相关肽含量也存在明显差异。血浆与心包液中的心房钠尿肽无明显差别, 而心包与心耳中的心房钠尿肽则存在明显的差异。结果提示, 冠状动脉搭桥术患者血浆内皮素、降钙素基因相关肽、血管紧张素 ① 及心房钠尿肽均会出现明显的变化。

[中图分类号] Q7

[文献标识码] A

Level of Peptides Endothelin, Angiotensin ① , Calcitonin Gene Related Peptide and Atrial Natriuretic Polypeptide in Different Tissues of Coronary Artery Bypass Graft Patients

WEN Shao-Jun, WANG Zuo-Guang, WANG Jin-Cheng¹, WANG Yao-Hong, LIU Jie-Ling, WEN Jie, and YU Qing-Li

(Beijing Institute of Heart, Lung, Vessel Disease, Beijing Anzhen Hospital, Capital University of Medical Science, Beijing 100029, China; 1. Huabei Oil Field General Hospital)

[KEY WORDS] Endothelin; Calcitonin Gene Related Peptide; Angiotensin ① ; Atrial Natriuretic Polypeptide; Coronary Artery Bypass Graft; Coronary Heart Disease

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the changes of endothelin (ET), calcitonin gene related peptide (CGRP), angiotensin ① (Ang ①) and atrial natriuretic polypeptide (ANP) in plasma of patients underwent coronary artery bypass graft (CABG).

Methods ET, CGRP, Ang ① and ANP in plasma of 32 patients with coronary heart disease who had the CABG operation were studied. The pericardium, auricle, pericardial fluid were got during the CABG operation. The tissue were homogenated, centrifuged and the supernatant was got; anticoagulant blood were centrifuged and the plasma was got then the ET, AngII, CGRP and ANP in the liquid were assayed by RIA.

Results ET in the pericardial and auricle were very different ($P < 0.001$). Ang ① in the plasma and pericardial fluid were obviously different, and the same as that in the pericardium and auricle ($P < 0.001$).

CGRP in the plasma and pericardial fluid, pericardium and auricle, were also different ($P < 0.05$, $P < 0.001$). Though there was no difference of ANP between plasma and pericardial fluid, ANP in the pericardium was higher than in the auricle ($P < 0.001$).

Conclusion Different tissue of CABG patients had alternated ET, CGRP, Ang ① and ANP.

体外循环下施行冠状动脉搭桥术 (coronary artery bypass graft, CABG) 期间, 由于低血压、心肌缺血、低灌注及再灌注损伤, 尤其是手术操作所致的心内膜和血管的损伤等的影响, 心肌组织、心包和血液中的许多生物活性因子, 如内皮素、降钙素基因相关肽 (calcitonin gene related peptide, CGRP)、肿瘤坏死

因子等均可发生变化, 而这些因子的变化与 CABG 中及术后心功能的维持与恢复^[1]、冠状动脉桥的通畅与否、围术期疗效等有着密切的关系。积极研究 CABG 围术期多种生物活性因子的变化及其与临床多种有关指标的关系, 进而应用于临床, 对于降低围术期并发症和死亡率具有十分重要的意义。

[收稿日期] 2002-07-27 [修回日期] 2003-03-20

[作者简介] 温绍君, 研究员, 硕士研究生导师, 主要从事循环系统内分泌、分子生物学及高血压病的基础与临床工作。发表论文近 80 篇, 著作 8 部, 获北京市科技成果奖 9 项。王佐广, 男, 1970 年出生, 甘肃省镇原县人, 医师, 硕士, 从事高血压相关基因的研究, 发表文章 20 余篇。王金城, 男, 1964 年出生, 河北省任丘市人, 现为华北油田总医院心外科副主任医师, 发表文章 10 余篇。

1 对象与方法

1.1 病例资料

随机选择 32 例冠状动脉硬化性心脏病患者 (2 例死亡), 均在低温体外循环下施行 CABG。其中男性 26 例, 年龄 58.23 ± 9.07 岁; 女性 6 例, 年龄 60.

17±5.15 岁, 冠状动脉 2 支病变 5 例, 3 支病变 13 例, 4 支病变 12 例, 5 支病变 2 例, 所有患者均无室壁瘤形成, 均通过冠状动脉造影明确诊断, 均无内分泌及肾功能紊乱性疾病。

1.2 样品采集

芬太尼静脉复合麻醉, 取心包液 2~5 mL, 同一部位心包壁层组织 80~160 mg, 取右心耳组织 50~150 mg。所有病例分别在术前从中心静脉取血 5 mL, 按每毫升样本液加入 10% EDTA-Na₂ 15 μL, 抑肽酶 20 μL, 充分混匀, 4℃ 3 000 r/min 离心 20 min, 分离血浆(或血清), 置-30℃冰箱保存。测定前, 将样本放入冰水浴复溶, 再次 4℃ 3 000 r/min 离心 20 min, 取上清待测定。

1.3 组织匀浆制备

取出组织样本, 迅速称重, 按照 1:10 重量体积比加入 HAC, 略作研磨, 然后放入 100℃沸水浴中煮沸 10 min, 用微型匀浆器研磨制成匀浆, 4℃ 3 000 r/min 离心 20 min, 取上清液-30℃保存。

1.4 内皮素 1 的测定

参照文献[2]。采用北京东亚免疫技术研究所生产的放射免疫药盒, 灵敏度为 10 ng/L, 平均回收率: 95%~100%, 批内变异系数 CV_w<5%, 批间变异系数 CV_b<10%。用放射免疫分析法测定血浆、心包、心包液及心肌组织中内皮素 1 含量。

1.5 降钙素基因相关肽的测定

用放射免疫分析法测定血浆、心包液中的 CGRP 含量, 并依照各点之血红蛋白值修正, 采用北

京东亚免疫研究所生产的放射免疫药盒, 批内变异系数<7%, 批间变异系数<12%。

1.6 心房钠尿肽的测定

用放射免疫分析法测定血浆、心包液、心包及心肌组织中心房钠尿肽含量(atrial natriuretic polypeptide, ANP), 采用北京东亚免疫技术研究所生产的放射免疫药盒, 灵敏度为 100 ng/L, 平均回收率为 96%~102%, 批内变异系数 CV_w<7%, 批间变异系数 CV_b<11%。

1.7 血管紧张素 Ⅱ的测定

用放射免疫分析法测定血浆、心包液中的血管紧张素 Ⅱ含量(angiotensin Ⅱ, Ang Ⅱ), 采用北方生物技术研究所的放射免疫药盒, 批内变异系数 CV_w<5%, 批间变异系数 CV_b<10%, NSB<5%。

1.8 统计学处理

所有数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 *t* 检验, *P*<0.05 表明统计学上差别显著。

2 结果

血浆与心包液中的内皮素 1、Ang Ⅱ及 CGRP 含量存在显著性差异, 心包与心耳中的内皮素 1、Ang Ⅱ及 CGRP 含量存在显著性差异。血浆与心包液中的 ANF 无明显的差异, 而心包与心耳中的 ANF 则存在明显的差异(表 1, Table 1)。在预后分析时发现, 2 例死亡的患者血浆内皮素极高。

表 1. 冠心病患者不同组织中四种多肽的含量

Table 1. Level of ET, Ang Ⅱ, CGRP and ANP in different tissues of CABG patients ($\bar{x} \pm s$)

| 多肽因子 | 血浆 (ng/L) | 心包液 (ng/L) | 心耳 (ng/g) | 心包 (ng/g) |
|----------|--------------|--------------------------|----------------|-----------------------------|
| 降钙素基因相关肽 | 50.14±17.48 | 40.13±12.09 ^a | 2832.22±244.65 | 3974.17±184.23 ^c |
| 心房钠尿肽 | 115.08±39.63 | 103.25±30.44 | 33.41±7.03 | 65.65±18.83 ^c |
| 内皮素 1 | 95.78±21.35 | 58.53±15.42 ^b | 3677.83±115.62 | 5620.45±513.01 ^c |
| 血管紧张素 Ⅱ | 35.96±11.65 | 22.99±6.77 ^b | 487.32±107.23 | 583.98±68.61 ^c |

a: *P*<0.05, b: *P*<0.01, 与血浆相比; c: *P*<0.001, 与心耳相比。

3 讨论

降钙素基因相关肽(CGRP)是一种神经肽, 广泛分布于中枢和外周神经系统以及某些器官组织中, 是目前已知最强的扩血管物质, 其作用不依赖于血管内皮的存在, 有明显的正性变力和正性变时作用^[3], 因而对心功能具有重要的意义。实验证实, 一定剂量的 CGRP 可使正常大鼠和自发性高血

压大鼠血管总外周阻力降低 40%^[4]; 对冠状动脉的舒张作用是硝酸甘油或硝普钠的 200 倍^[5]。体外循环中所致的缺血和再灌注损伤是使 CGRP 维持较高浓度的重要因素。心肌缺血再灌注时, 大量的自由基产生, 使脂质过氧化物生成增加, 导致心肌细胞受损, 而 CGRP 则可明显控制脂质过氧化物的产生, 从而对心肌细胞有很强的保护作用, 对心功能的改善起到积极的作用^[6]。CGRP 对内皮素所致的心肌缺

血、冠状血管痉挛、心率失常具有明显的拮抗作用,因而可能是机体的一种保护性反应。所以,血浆 CGRP 升高不仅是机体对缺血、缺氧、手术损伤的一种生理性保护反应,更为重要的是反映了心肌缺血、缺氧、手术创伤等严重程度的一个重要参考指标。

心房钠尿肽(ANF)具有强大的舒血管活性、利尿、利钠作用,在心房、心室肌细胞、Purkinje 纤维、冠状窦壁和心肌毛细血管内皮细胞均含有 ANF, ANF 对缩血管物质如血管紧张素、内皮素等有拮抗作用。ANF 尚可抑制内皮素的合成及分泌^[7]。心包可以合成 ANF 早已证实^[8],本研究亦验证了心包组织中存在较高浓度的 ANF。心包液仅隔一层浆膜与不连续的心外膜下疏松结缔组织心肌和外膜下血管,神经突触前膜相毗邻,且后几种组织均存在 ANF 受体,不难设想心包局部存在的血管活性物质构成一个局部体液系统,参与心功能的调控,并对心肌表面的冠状血管的紧张性进行调解,对冠心病的发生、发展以及 CABG 围术期的血管桥的功能状态产生不可避免的影响。

内皮素是一个由 21 个氨基酸残基组成的生物活性多肽,其中内皮素 1 是迄今已知的作用最强、持续时间最长的血管收缩因子。内皮素主要分布于血管内皮细胞,此外,还广泛分布于脑、肾、心脏、心包等非血管组织^[9],内皮素与冠状动脉上的受体结合使冠状动脉持续痉挛,导致心肌缺血坏死^[10]。另外,内皮素尚可促进心房肽的释放。ANF 的释放不依赖于平均心房压力的大小。据报道增加血浆 ANF 浓度可观察到 ANF 与内皮素浓度均升高且二者紧密相关。本实验及大多数研究结果发现内皮素与 ANF 释放是紧密相连的^[11,12]。而本研究所观察到的 ANF 与舒张压的负相关则恰恰说明了 ANF 对血管的舒张作用。ANF 的释放对心脏功能、血液动力学以及拮抗内皮素等因子所致的不良影响均有重要的作用,是机体应激性的保护反应之一。另外,由于手术导致血液中的内皮素进一步增高,术前的内皮素高导致血液中的内皮素更高,从而引发更为严重的后果,所以对其在术前进行检测具有重要的作用。

血管紧张素(ANG II)是整个肾素-血管紧张素系统(RAS)系统中非常重要的多肽。具有很强的缩血管作用,引起血管增生-血管重构,心肌细胞间质合成增加;冠状血管内皮细胞增殖,增加外周循环阻力^[13]。Borland 等^[14]报道大隐静脉对 ANG II 的反应较乳内动脉更强烈。本研究发现在心包、心耳组织匀浆中存在高浓度的 ANG II,心包液中也存在 ANG II 但较血浆水平低。已有研究认为,心脏局部 RAS

系统中右心房含量最高,其次为左心房、右心室、左心室^[15]。而本研究结果则显示心包含量高于右心房含量,心包、心耳含有高浓度的 ANG II 可能对冠心病的发生、发展起到一定的病理作用。心包、心耳的 ANG II 含量增高,可能引起冠状血管或搭桥血管的痉挛,导致围术期心肌急性缺血和低心排综合症等严重并发症,而致患者死亡。

总之,这四种血管活性多肽对心血管系统具有非常重要的作用。对行 CABG 的患者在围术期进行检测,将对于患者在围术期的心脏功能及预后具有非常重要的作用。通过对其检测可以对患者在围术期的心血管状况有一个整体的了解和预测,可以及时地采取适当的治疗。而且在治疗时应该考虑的是除了这些多肽的全身作用外,局部作用也具有相当重要的作用。

[参考文献]

- [1] 温绍君, 王金城, 张忱, 张文, 文杰, 王佐广, 等. 冠状动脉搭桥围术期肿瘤坏死因子和内皮素的动态变化及意义. *中华医学杂志*, 2001, **81** (23): 1 450-452
- [2] Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomolee Y, Kobayashi M. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*, 1988, **332**: 441
- [3] 迪丽努尔·沙比托夫, 王晓红, 常英姿, 张灵芝, 姚兴海, 唐朝枢. 降钙素基因相关肽对大鼠主动脉内皮剥脱的保护作用. *中国动脉硬化杂志*, 1997, **5** (2): 103-106
- [4] 欧阳伟, 钱学贤, 付向阳, 李志梁, 王素华. 降钙素基因相关肽预适应对在体大鼠心肌缺血再灌注操作的保护作用. *中国动脉硬化杂志*, 1998, **6** (3): 228-232
- [6] 罗初凡, 杜志民, 胡承恒, 李怡, 伍贵富. 血浆降钙素基因相关肽与冠心病患者冠状动脉病变严重程度及左室心功能的关系. *中国动脉硬化杂志*, 2001, **9** (1): 64-66
- [7] 汤健, 魏英杰. 心血管活性物质与心血管疾病. 北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社, 1997
- [8] 温绍君, 张维君, 汪家瑞, 何无名, 黄秋民, 刘洁, 等. 人类心包免疫活性肽类激素的研究. *中华心血管病杂志*, 1992, **20**: 240-242
- [9] 温绍君, 王耀红, 王卫梅, 房芳, 文杰, 王金城, 等. 心脏病患者心脏功能对心包液中心钠素和内皮素浓度的影响. *中华心血管病杂志*, 2000, **28** (5): 1-3
- [10] 温进坤, 贾根深, 魏素珍. 内皮素促进细胞增殖相关基因的表达和血管平滑肌细胞增殖. *中国动脉硬化杂志*, 1995, **3** (1): 5-8
- [11] Wijayagunawardane MP, Miyamoto A, Taquahashi Y, Winer N, Weber MA, Sower JR. Angiotensin II and atrial natriuretic peptide in the cow oviductal contraction in vitro: direct effect and local secretion of prostaglandins, endothelin-1, and angiotensin II. *Biol Reprod*, 2001, **65** (3): 799-804
- [12] Ry SD, Andreassi MG, Clerico A, Hayakawa H, Raij L, Hirakata H, et al. Endothelin-1, endothelin-1 receptors and cardiac natriuretic peptides in failing human heart. *Life Sci*, 2001, **68** (24): 2 715-730
- [13] 王向宇, 吴可贵, 晋学庆, 王华军, 许昌声. 自发性高血压大鼠主动脉平滑肌细胞异常增殖和自身肾素-血管紧张素系统的关系. *中国动脉硬化杂志*, 1997, **5** (3): 212-216
- [14] Borland JA, Chester AH, Crabbe S, Von Lutterotti N. Differential action of angiotensin II and activity of angiotensin converting enzyme in human bypass grafts. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1998, **116** (2): 206-212
- [15] 谈红, 张国元, 尤乃祯, 黄超, 刘建平. 冠心病患者血管紧张素转化酶基因多态性及其与血清血管紧张素转化酶水平的关系. *中国动脉硬化杂志*, 1998, **6** (2): 134-136

(此文编辑 文玉珊)