

[文章编号] 1007-3949(2003)11-05-0439-04

•临床研究•

颈动脉粥样硬化致血小板活化及其与急性脑梗死的关系

顾苏兵¹, 张文亚¹, 陈桂花¹, 赖小彪¹, 张剑梅¹, 张继业²

(浙江省人民医院 1. 神经科, 2. 高血压科, 浙江省杭州市 310014)

[关键词] 神经病学; 剪切活化血小板; 彩色多普勒血流成像; 颈动脉粥样硬化; 血小板活化; 斑块; 脑梗死

[摘要] 为探讨颈动脉粥样硬化致血小板活化机制及其与急性脑梗死的关系, 采用彩色多普勒血流显像仪和流式细胞仪分别测定 115 例急性脑梗死患者颈动脉及其周围血血小板表面 CD62p、CD63 的表达, 并与 30 例非脑梗死头晕患者对照。结果发现, 急性脑梗死患者颈动脉粥样硬化斑块较对照组明显增多, 单侧脑梗死者同侧颈动脉斑块明显增加, 达 68.75%, 双侧脑梗死者双侧颈动脉斑块达 58.47%。斑块处狭窄, 局部血流增快。颈动脉斑块患者血 CD62p 和 CD63 水平较正常动脉者明显增高, 单侧颈内动脉粥样硬化斑块患者血 CD62p 和 CD63 的阳性率及荧光强度分别达 4.72% ± 4.52%、5.38% ± 3.73% 和 1.50 ± 0.26、1.38 ± 0.14, 双侧斑块者达 7.72% ± 4.96%、6.78% ± 4.02% 和 1.59 ± 0.37、1.41 ± 0.18, 后者较前者明显增高 ($P < 0.05$)。脑梗死患者血小板活化率明显较对照组增高, 并与颈动脉粥样硬化程度相关 ($P < 0.05$)。结果提示, 颈动脉粥样硬化构成“高剪切力 + 低剪切力”的特殊剪切力梯度活化血小板, 可能是颈动脉粥样硬化导致急性脑梗死的一个重要发病因素。

[中图分类号] R741

[文献标识码] A

The Effects of Carotid Atherosclerosis on Activated Platelets and the Relation with Acute Cerebral Infarction

GU Shu Bing, ZHONG Weir Ya, CHEN Gui Hua, LAI Xiao Biao, ZHANG Jian Mei, and ZHANG Ji Ye

(Department of Neurology, Zhejiang People Hospital, Hangzhou 310014, China)

[KEY WORDS] Carotid Atherosclerosis; Activated Platelet; Plaque; Brain Infarction; Wall Shear Stress; CD62p; CD63

[ABSTRACT] **Aim** To study the effects of carotid atherosclerosis on activated platelets and the relation with acute cerebral infarction. **Methods** Colour doppler flow imaging (CDFI) was used to assess carotid atherosclerosis and flow cytometry was employed to detect CD62p and CD63 expression on circulating platelet in 115 patients with acute cerebral infarction and 30 controls. **Results** The plaques of internal carotid artery (ICA) were significantly increased in patients with acute cerebral infarction than those in controls. 68.75% of left or right hemispheric infarctions was ipsilateral to their plaques and 58.47% of the patients with bilateral hemispheric infarction had bilateral ICA plaques. The blood flow velocities were significantly increased in the throat of stenosis of ICA plaques. CD62p and CD63 expression on platelet were significantly higher in patients with ICA plaques than those in normal carotid controls, the positive percentages and fluorescence intensity of CD62p and CD63 were 4.72% ± 4.52%, 5.38% ± 3.73% and 1.50 ± 0.26, 1.38 ± 0.14 respectively in subjects with unilateral plaques and were 7.72% ± 4.96%, 6.78% ± 4.02% and 1.59 ± 0.37, 1.41 ± 0.18 respectively in subjects with bilateral plaques. Rates of platelet activation in the patients with brain infarction was higher than those in the controls and was related to the severity of carotid atherosclerosis. **Conclusions** The plaques of carotid atherosclerosis result in the complex patterns of high wall shear stress followed by low wall shear stress. Circulating platelets can be activated under the complex patterns of shear stress, which suggests shear induced platelet activation might play a pathogenetic role in onset of acute cerebral infarction.

CD62p 和 CD63 分别是血小板内 α 颗粒膜糖蛋白和溶酶体膜糖蛋白, 受刺激后与血小板胞浆膜融合, 在血小板表面表达而成为血小板活化标记物^[1]。近年发现 CD62p 等粘附分子参与动脉粥样硬化的

早期病变^[2], 而颈动脉粥样硬化致血小板活化机制尚未完全明确。研究发现, 活化血小板参与急性脑梗死发病, 而颈动脉粥样硬化活化的血小板与急性脑梗死的关系并不清楚。血液动力学实验研究证实颈动脉粥样硬化使血液剪切力增高, 体外实验研究发现高剪切力可使血小板活化^[3]。本文采用彩色多普勒血流显像仪和流式细胞仪分别测定 115 例急性脑梗死患者颈动脉及其周围血血小板 CD62p 和 CD63 的阳性率及荧光强度, 探讨颈动脉粥样硬化活化血小板的可能机制及其与急性脑梗死的关系。

[收稿日期] 2002-12-02 [修回日期] 2003-08-09

[基金项目] 浙江省医药卫生政策性(2002zc001)资助

[作者简介] 顾苏兵, 男, 1960 年出生, 浙江省杭州市人, 研究生, 副主任医师, 主要从事脑血管病基础与临床研究。张文亚, 女, 1965 年出生, 浙江省嵊州县人, 主治医师, 主要从事神经病学研究。张继业, 男, 1935 年出生, 上海市人, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事高血压病研究。

1 对象与方法

1.1 研究对象

急性脑梗死患者 115 例, 男性 78 例, 女性 37 例, 年龄 53.47 ± 8.96 岁, 单侧大脑半球颈动脉供应区脑梗死 62 例, 双侧脑梗死 53 例, 所有患者诊断均符合全国第四届脑血管病会议制订的诊断标准, 除心源性脑栓塞或其他原因的脑栓塞外, 均经头颅 CT 检测证实。患者发病初收缩压 23.21 ± 3.53 kPa, 舒张压 12.41 ± 2.76 kPa, 血糖 6.22 ± 2.71 mmol/L, 总胆固醇 4.86 ± 0.98 mmol/L, 甘油三酯 1.67 ± 0.96 mmol/L, 低密度脂蛋白胆固醇 2.24 ± 0.82 mmol/L。均排除感染、肿瘤和自身免疫性疾病。对照组为头晕患者, 共 30 例, 男性 21 例, 女性 9 例, 年龄 54.16 ± 9.06 岁, 均经头颅 CT 检查除外脑梗死。患者性别构成、年龄与对照组无显著差异。

1.2 颈动脉检测

采用 GE 公司 system FIVE 彩色多普勒血流显像仪, 11 MHz 线阵式探头, 受检者取卧位, 低枕, 头略向后仰, 偏向检查的对侧。取样部位: 颈总动脉离分叉处 1 cm 及 2 cm 处、分叉部、颈内动脉离分叉处 1 cm 或更远。观察指标: 颈动脉内膜正常; 内膜毛糙; 单侧颈动脉窦或颈内动脉内膜粥样斑块(合并内膜毛糙); 双侧内膜斑块(合并内膜毛糙)。颈动脉狭窄分级按 NASCET 标准^[4]: 狭窄 < 30% 为轻度狭窄, 30% ~ 70% 中度狭窄, 70% ~ 90% 重度狭窄。

1.3 活化血小板检测

所有患者均在发病 48 h 内检测, 取空腹静脉血 1 mL, 用 15% K₂EDTA 20 μL 抗凝, 置专用塑料试管中, 当天测定完毕。用流式细胞术检测 CD62p、CD63, 所用仪器为 Beckmar-Coulter 公司的 EPICS-XL 型流式细胞仪。所用荧光单克隆抗体 FITC-CD62p、FITC-CD63 均购自法国 Immuno tech 公司。待检标本 500 r/min 离心 5 min, 取富含血小板血浆用 TEN 缓

冲液(含 Tris 50 mmol/L、EDTA-K₂ 2.42 g/L、NaCl 150 mmol/L, pH 7.4) 稀释 6 倍, 再用 20% 多聚甲醛等量固 15 min。将固定后血标本 100 μL 与 20 μL 的荧光单抗混匀, 温室避光放置 15 min 后加 TEN 缓冲液 1 mL 在流式细胞仪上检测。每项检测计数 10⁴ 个以上的血小板, 测得阳性血小板(标记上相应荧光单抗)的百分率和荧光道数值(血小板上结合有关荧光单抗的荧光强度)。

1.4 统计学处理

脑梗死与颈动脉粥样硬化的关系行 χ^2 检验, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 各项指标间行方差分析和 t 检验。

2 结果

2.1 颈动脉超声情况

115 例急性脑梗死患者中有 83 例检出颈内动脉斑块(71.3%), 30 例对照组中有 6 例斑块(20%), 前者检出率明显高于后者($P < 0.05$)。89 例斑块中 49 例单侧斑块, 其中 3 例有 2 个以上斑块; 40 例双侧斑块, 其中 9 例有 3 个以上斑块。此 89 例斑块大多不规则, 从 1~46 mm³ 大小不等, 平均 28.63 ± 9.06 mm³, 其中 23 例较低回声斑块, 30 例中等回声斑块, 24 例强回声斑块, 12 例中等回声斑块合并强回声斑块。斑块处轻度狭窄 65 例, 中度狭窄 23 例, 重度狭窄 1 例。斑块处血流部分充盈缺损, 血流速度呈节段性改变, 局部加快。

2.2 不同程度颈动脉粥样硬化者 CD62p 和 CD63 的阳性率及荧光强度

颈动脉内膜毛糙和斑块形成者 CD62p 和 CD63 阳性率较对照组明显增加($P < 0.05$), 其中双侧颈动脉内膜斑块形成者 CD62p 和 CD63 阳性率又较颈动脉内膜毛糙者增高, 双侧颈动脉内膜斑块形成者 CD62p 阳性率较单侧颈动脉内膜斑块形成者增高($P < 0.05$; 表 1, Table 1)。

表 1. 不同程度颈动脉粥样硬化 CD62p 和 CD63 的阳性率及荧光强度改变

Table 1. Association between the fluorescence intensity and positive rate of CD62p and CD63 and the ultrasonographic findings of carotid atherosclerosis ($\bar{x} \pm s$)

分 组	n	CD62p		CD63	
		阳性率	荧光强度	阳性率	荧光强度
正常颈动脉	25	2.52% ± 1.94%	1.56 ± 0.18	2.78% ± 2.03%	1.33 ± 0.24
动脉内膜毛糙	31	4.75% ± 4.82% ^a	1.48 ± 0.25	4.67% ± 3.15% ^a	1.44 ± 0.37
单侧内膜斑块	49	4.72% ± 4.52% ^a	1.50 ± 0.26	5.38% ± 3.73% ^a	1.38 ± 0.14
双侧内膜斑块	40	7.72% ± 4.96% ^{ab}	1.59 ± 0.37	6.78% ± 4.02% ^{ab}	1.41 ± 0.18

a: $P < 0.05$, 与正常颈动脉组比较; b: $P < 0.05$, 与单侧内膜斑块组比较。

2.3 脑梗死与颈动脉粥样硬化程度的关系

急性脑梗死病灶与颈动脉粥样硬化程度明显相关($P < 0.005$), 脑梗死患者颈动脉内膜毛糙和斑块较对照组明显增多, 62 例单侧脑梗死患者中颈动脉斑块 40 例(64.52%), 其中 32 例单侧内膜斑块有 22 例斑块位于脑梗死同侧(68.75%), 53 例双侧脑梗死患者中颈动脉斑块 43 例(81.13%), 其中双侧颈动脉内膜斑块明显增加(31/53, 58.49%), 见表 2 (Table 2)。

2.4 急性脑梗死组和对照组 CD62p、CD63 阳性率及荧光强度比较

单侧脑梗死和双侧脑梗死患者 CD62p 和 CD63 的阳性率明显高于对照组($P < 0.05$), 而 CD62p、

CD63 荧光强度增高不明显(表 3, Table 3)。

表 2. 急性脑梗死患者不同程度颈动脉粥样硬化构成比较

Table 2. The comparison of the ultrasonographic findings of carotid atherosclerosis between brain infarction groups and control group (case)

分 组	正常颈 动脉	动脉内 膜毛糙	单侧内 膜斑块	双侧内 膜斑块	合计
对照组	19	5	5	1	30
单侧脑梗死	4	18	32	8	62
双侧脑梗死	2	8	12	31	53
合计	25	31	49	40	145

表 3. 脑梗死组和对照组 CD62p、CD63 阳性率及荧光强度比较

Table 3. Comparison of the fluorescence intensity and positive rate of CD62p and CD63 between brain infarction group and control group ($\bar{x} \pm s$)

分 组	n	CD62p		CD63	
		阳性率	荧光强度	阳性率	荧光强度
对照组	34	3.76% \pm 3.28%	1.36 \pm 0.17	4.27% \pm 2.91%	1.29 \pm 0.13
单侧脑梗死	36	6.08% \pm 5.13% ^a	1.59 \pm 0.31	6.40% \pm 4.30% ^a	1.39% \pm 0.17
双侧脑梗死	47	7.85% \pm 6.34% ^a	1.57 \pm 0.35	6.71% \pm 5.56% ^a	1.40 \pm 0.16%

a: $P < 0.05$, 与对照组比较。

3 讨论

已知, 血小板在血管内流动时, 由于向轴心侧与向管壁侧的层流速度不同, 从而产生了对血小板两个侧面不同的作用力, 形成了剪切力作用。在血管中, 红细胞占据中央轴心位置, 而血小板则沿管壁流动, 血流与血管壁之间的剪切力对血小板作用更大, 血小板在血管壁受到较高剪切力作用^[5]。临床血液流变学研究表明, 血管狭窄或痉挛可致血液增快、流态改变, 此时血液受到的剪切力要高于生理水平。本组患者颈总动脉分叉后颈内动脉斑块明显增多, 斑块处血流节段改变, 局部增快。Wells 等^[6]实验发现颈动脉壁几何形态改变常导致血液剪切力增高, 形成明显剪切力梯度, 在血管分叉或狭窄部位及其前方形成高剪切力, 随后剪切力骤然下降。近年李绵洋等^[3]实验证实剪切力越大, CD62p 阳性率越高。Merten 等^[7]在体外实验发现“高剪切力+ 低剪切力”的组合剪切力比单独的高剪切力或低剪切力使 CD62p 阳性表达更高, Zhang 等^[8]发现动脉狭窄等处高剪切力后紧接低剪切力这一特殊剪切力组合有助于血小板活化聚集。Gnasso 等^[9]研究发现颈动脉粥样硬化斑块处剪切力最低。综上可以认为颈总动脉

分叉(狭窄)与颈内动脉粥样硬化斑块构成“高剪切力+ 低剪切力”特殊剪切力梯度, 促进血小板活化。以往一般认为急性脑梗死患者血小板活化系炎症因子、缺氧、凝血酶等化学因素引起, 对脑梗死患者颈动脉粥样硬化活化血小板的机制并不明确。本研究发现颈动脉粥样硬化斑块患者 CD62p、CD63 阳性率和荧光强度较正常颈动脉和内膜粗糙者明显增高, 双侧斑块者又较单侧者增高, 说明血小板活化与颈动脉粥样硬化密切相关, 进一步说明脑梗死患者颈动脉粥样硬化构成“高剪切力+ 低剪切力”组合剪切力梯度(物理因素), 是血小板活化的一个重要途径。

脑梗死发病机制复杂, 但大多与颈动脉粥样硬化密切相关, 本文患者除 6 例颈动脉正常外其余均有颈动脉粥样硬化, 且单侧脑梗死同侧的斑块及双侧脑梗死伴双侧斑块明显增多进一步支持这一点。已往认为与颈动脉粥样硬化有关的脑梗死少数由低灌注引起, 大多由于斑块脱落引起的脑栓塞^[10]。已有许多研究证实 CD62p、CD63 参与急性脑梗死发生, 其促进血小板聚集、释放、粘附, 形成血栓; 促进白细胞透过血管内皮进入缺血脑组织, 导致脑梗死。我们近年的研究结果也表明急性脑梗死患者血小板

CD62p、CD63 表达增加^[11]。本研究结果发现,急性脑梗死患者 CD62p、CD63 表达较无脑梗死的头晕对照者明显增高,进一步说明活化血小板参与脑梗死发生。

本研究结果发现,脑梗死患者颈动脉粥样硬化斑块增多,血小板明显活化,说明急性脑梗死患者颈动脉粥样硬化引起脑梗死除上述两个途径外,颈动脉粥样硬化通过“高剪切力+低剪切力”剪切力梯度活化血小板是导致脑梗死的一个重要发病途径。如血压升高,流速增快,剪切力将进一步增高。本组大多患者发病初血压增高,剪切力梯度加大,可能加速血小板活化。对照组 11 例颈动脉异常并未发生脑梗死,如果颈动脉粥样硬化患者血压升高,“高剪切力+低剪切力+高血压”,剪切力梯度进一步增加,可能有助于提高血小板活化率诱发脑梗死发生。

[参考文献]

[1] Palabrica T, Lobb R, Furie BC, Aronovitz M, Benjamin C, Hsu YM, et al.

- Leukocyte accumulation promoting fibrin deposition is mediated in vivo by P-selectin on adherent platelets. *Nature*, 1992, **359** (6398): 848-851
- [2] 杨向东, 杨永宗. 粘附分子与动脉粥样硬化的关系. *中国动脉硬化杂志*, 1998, **6** (3): 267-270
- [3] 李绵洋, 从玉隆, 邓新立, 胡金麟, 秦小玲. 剪切力作用对血小板膜糖蛋白分子表达的影响. *中华医学杂志*, 2002, **82** (4): 267-270
- [4] North America Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial. Methods, patients characteristics and progress. *Stroke*, 1991, **22** (6): 711-720
- [5] 赵春亭, 赵子文 (主编). *临床血液流变学*. 北京: 人民卫生出版社, 1997; 70-80
- [6] Wells DR, Archie JP, Kleinstrener C. Effect of carotid artery geometry on the magnitude and distribution of wall shear stress gradients. *J Vasc Surg*, 1996, **23** (4): 667-78
- [7] Merten M, Chow T, Hellums JD, Thiagarajan P. A new role for P-selectin in shear-induced platelet aggregation. *Circulation*, 2000, **102** (17): 2 045-050
- [8] Zhang JN, Bergeron AL, Yu Q, Sun C, McIntire LV, Lopez JA, et al. Platelet aggregation and activation under complex patterns of shear stress. *Thromb Haemost*, 2002, **88** (5): 817-821
- [9] Gnasso A, Irace C, Carallo C, De Franceschi MS, Motti C, Mattioli PL, et al. In vivo association between low wall shear stress and plaque in subjects with asymmetrical carotid atherosclerosis. *Stroke*, 1997, **28** (5): 993-998
- [10] 任艳, 唐力, 聂迎雪, 宋平梅, 任卫东. 颈动脉粥样硬化与短暂性脑缺血发作的相关性. *中国动脉硬化杂志*, 2003, **11** (1): 63-65
- [11] 顾苏兵, 周永列, 于民, 张文亚, 陈桂花, 林明. 脑梗死患者急性期血小板 CD62p、CD63 测定. *浙江医学*, 1999, **21** (4): 210-213
(此文编辑 文玉珊)

• 信息 •

降血脂药物的研究现状与前景学术研讨会

为了推动基础研究与药物研究的密切结合,推动我国降血脂药物的联合研究(合成的化学药、基因工程药和中药),以及在哪些研究领域研究现状信息的交流,中国生物化学与分子生物学会脂蛋白专业委员会特组织以降血脂药物为主题的学术研讨会。

本次会议将邀请该领域有造诣的专家、教授进行专题性的综述报告,深入介绍某一方面的进展和研究现状;还将邀请临床医生就当前降脂药物的作用效果和建议作介绍,同时还将邀请从事中药研究的专家就中药的降血脂效果进行综合介绍。会议以大会综述报告为主,并进行深入的讨论,以达到充分了解国内外降血脂药物的研究现状,为国内从事该领域研究的朋友补充新的信息,增加创新决心,为我国研发新类型的降血脂药物奠定理论基础。会议报告将汇集成册,发给参会的代表。

欢迎研究人员、临床医生参加学术交流;欢迎医药生产厂家参加会议,展出产品。

费用:食、宿、交通费用自理,会务费 700 元,住宿费 80 元/人/天。

会议时间:2003 年 12 月 17 日报到,18~19 日开会,20 日散会。

会议地点:海南省海口市

主办单位:中国生物化学与分子生物学会,脂蛋白专业委员会

承办单位:海南省生物化学与分子生物学会,海南医学院生物化学系

征文内容:1. 有关降血脂药物的新靶点;2. 有关核受体在降脂药筛选中的应用;3. 有关脂酶抑制剂的研究现状;4. 有关中药降血脂的研究进展;5. 有关应用新技术筛选降脂药的动态。

稿件截止日期:2003 年 10 月 30 日

联系人:陈保生,中国医学科学院基础所生化室;邮编:100005;电话:010-65296413;电传:010-65240529; E-mail: capogene@yahoo.com 或 xh5236@tom.com. 钱士匀,海南省海南医学院生化系;邮编:570102;电话:0898-66773781(办);手机:13907578972; E-mail: shiyunq@yahoo.com.cn hyqsy@public.hk.hi.cn.

中国生物化学与分子生物学会脂蛋白
专业委员会海南省海南医学院

2003. 9. 10