

[文章编号] 1007-3949(2006)14-03-0227-03

•临床研究•

急性冠状动脉综合征患者血浆氧化型低密度脂蛋白、高敏 C 反应蛋白与血管内皮损伤的关系

董红梅, 黄岚, 宋耀明, 李爱民, 晋军, 武晓静, 赵刚, 耿召华, 覃军

(中国人民解放军第三军医大学新桥医院全军心血管研究所, 重庆市 400037)

[关键词] 病理学与病理生理学; 急性冠状动脉综合征; 氧化型低密度脂蛋白; 高敏 C 反应蛋白; 循环内皮细胞计数; 内皮功能

[摘要] 目的 观察急性冠状动脉综合征患者外周血浆氧化型低密度脂蛋白、高敏 C 反应蛋白、循环内皮细胞计数和一氧化氮的变化, 探讨氧化型低密度脂蛋白与高敏 C 反应蛋白的相关性, 以及两者与血管内皮损伤的关系, 研究其在急性冠状动脉综合征发生和发展中的意义。方法 急性冠状动脉综合征患者 51 例, 临床及选择性冠状动脉造影排除冠心病 20 例为对照组。测定外周血浆中的氧化型低密度脂蛋白、高敏 C 反应蛋白、循环内皮细胞计数和一氧化氮水平。结果 急性冠状动脉综合征组氧化型低密度脂蛋白、高敏 C 反应蛋白、循环内皮细胞计数较对照组明显升高, 分别为氧化型低密度脂蛋白($686 \pm 168 \mu\text{g/L}$ 比 $349 \pm 172 \mu\text{g/L}$, $P < 0.01$)、高敏 C 反应蛋白($6.15 \pm 1.75 \text{ mg/L}$ 比 $1.53 \pm 1.64 \text{ mg/L}$, $P < 0.01$)、循环内皮细胞计数[(8.9 ± 1.6) $\times 10^6$ 个/L 比 (2.4 ± 0.4) $\times 10^6$ 个/L, $P < 0.01$]。急性冠状动脉综合征组一氧化氮水平较对照组明显降低($52.2 \pm 16.5 \mu\text{mol/L}$ 比 $77.3 \pm 21.0 \mu\text{mol/L}$, $P < 0.05$)。血浆氧化型低密度脂蛋白与循环内皮细胞计数($r = 0.781$, $P < 0.001$)和一氧化氮($r = 0.792$, $P < 0.001$)均呈正相关, 血浆高敏 C 反应蛋白与循环内皮细胞计数($r = 0.776$, $P < 0.001$)和一氧化氮($r = 0.897$, $P < 0.001$)也均呈正相关。血浆氧化型低密度脂蛋白与高敏 C 反应蛋白呈正相关($r = 0.768$, $P < 0.001$)。血浆循环内皮细胞计数与一氧化氮呈正相关($r = 0.951$, $P < 0.001$)。结论 血浆氧化型低密度脂蛋白、高敏 C 反应蛋白可能与血管内皮损伤有关, 相互协同作用参与了急性冠状动脉综合征的发病过程。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

The Changes of the Levels of Plasma Oxidized Low Density Lipoprotein, High Sensitivity C-Reactive Protein and its Relation to the Endothelial Injury in Patients with Acute Coronary Syndrome

DONG Hong-Mei, HUANG Lan, SONG Yao-Ming, LI Ai-Min, JIN Jun, WU Xiao-Jing, ZHAO Gang, GENG Zhao-Hua, and QIN Jun

(Institute of Cardiology, Xinqiao Hospital, the Third Military Medical University, the People's Liberation Army, Chongqing 400037, China)

[KEY WORDS] Acute Coronary Syndrome; Oxidized Low Density Lipoprotein; High Sensitivity C-Reactive Protein; Circulating Endothelial Cells; Endothelial Dysfunction

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the changes of circulating endothelial cells (CEC), nitric oxide (NO), oxidized low density lipoprotein (ox-LDL), high sensitivity C-reactive protein (Hs-CRP) and manifestation of acute coronary syndrome (ACS).

Methods The plasma Hs-CRP levels were measured by using particle enhanced immunonephelometry and the plasma ox-LDL levels were measured by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) in 20 normal control subjects and 51 patients with ACS. The plasma CEC and NO levels were also determined. The linear correlation was analyzed to estimate the changes of these variables.

Results The levels of ox-LDL, Hs-CRP, CEC in ACS patients were markedly higher than those in control group respectively ($686 \pm 168 \mu\text{g/L}$ vs $349 \pm 172 \mu\text{g/L}$, $P < 0.01$), ($6.15 \pm 1.75 \text{ mg/L}$ vs $1.53 \pm 1.64 \text{ mg/L}$, $P < 0.01$), [(8.9 ± 1.6) $\times 10^6$ cells/L vs (2.4 ± 0.4) $\times 10^6$ cells/L, $P < 0.01$]. The level of NO in ACS patients was significantly decreased compared with control group ($52.2 \pm 16.5 \mu\text{mol/L}$ vs $77.3 \pm 21.0 \mu\text{mol/L}$, $P < 0.05$). The linear correlation analysis showed that the level of ox-LDL was correlated positively with CEC ($r = 0.781$, $P < 0.001$), and NO ($r = 0.792$, $P < 0.001$) in patients with ACS. The level of Hs-CRP was correlated positively with CEC ($r = 0.776$, $P < 0.001$) and NO ($r = 0.897$, $P < 0.001$) in patients with ACS. The level of ox-LDL was also positively correlated with CRP in patients with

[收稿日期] 2005-02-26 [修回日期] 2006-02-22

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(30470729)

[作者简介] 董红梅, 硕士, 主治医师, 现在解放军第四医院工作, 主要从事血管内皮的损伤及修复与冠心病防治的研究, E-mail 为 hmdong@126.com。通讯作者黄岚, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为冠心病防治、心血管介入诊疗技术及血管内皮细胞功能与冠心病发生和临床表现的关系, E-mail 为 huanglans@21cn.com。宋耀明, 副主任医师, 副教授, 从事临床心血管疾病的基础与临床研究及心血管介入诊疗技术研究。

ACS ($r = 0.768, P < 0.001$). Furthermore, the level of CEC was positively correlated with NO in patients with ACS ($r = 0.951, P < 0.001$). **Conclusion** Ox-LDL and CRP may participate in endothelial dysfunction, which contributes to pathogenesis of ACS.

急性冠状动脉综合征(acute coronary syndrome, ACS)由冠状动脉内粥样斑块的破裂、血小板聚集和血栓形成,引起冠状动脉不完全或完全阻塞所致,临床表现为不稳定型心绞痛(unstable angina pectoris, UAP)、急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)和心源性猝死^[1],其确切发病机制尚未完全阐明。近年来的研究提示炎症反应在动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)的发生、发展中起重要作用,炎症反应的激活可能是导致斑块不稳定的一个重要因素^[2]。血管内皮细胞损伤是动脉粥样硬化发病的重要环节,而氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)是损伤内皮细胞导致As形成的关键原因之一^[3],但ox-LDL和C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)与ACS发病机制的相关性尚不明确。本研究通过观察ACS患者外周血ox-LDL与高敏C反应蛋白(high-sensitivity C-reactive protein, Hs-CRP)的变化及相关性,以及两者与循环内皮细胞计数(circulating endothelial cells, CEC)、一氧化氮(nitric oxide, NO)的相关性,探讨两者在ACS患者中的变化与内皮功能的关系及意义。

1 对象与方法

1.1 研究对象

收集2004年3~10月于我院住院的ACS患者51例,其中AMI 22例(男14例,女8例),年龄42~78(58.6 ± 4.2)岁;UAP 29例(男17例,女12例),年龄45~72(60.6 ± 6.2)岁。正常对照组20例(男11例,女9例),年龄37~63(58.6 ± 6.3)岁。

入选标准:AMI的诊断按照国内2001年的诊断标准^[4],UAP的诊断按照国内2000年“不稳定性心绞痛诊断和治疗建议”的标准^[5]。每例入院时均经询问病史、体格检查、X线检查、心电图和心脏超声检查以及相关实验室检查等,对照组经临床检查和选择性冠状动脉造影排除冠心病。

排除标准:排除原发性高血压、外周血管疾病、慢性心力衰竭、甲状腺疾病、糖尿病及肝肾疾病和炎症,近2周服用抗氧化剂及他汀类药物的患者排除本研究。

1.2 氧化型低密度脂蛋白的测定

清晨空腹取肘静脉血1.5~2 mL,加入保护剂(ox-LDL检测试剂盒配备,内含抗氧化剂及抗凝剂)

混匀,于2 h内以3 000 r/min离心10 min,提取血浆,标本于-70 °C冰箱中保存。采用夹心双抗酶联免疫法成批检测。试剂盒购自美国TPI公司。

1.3 高敏C反应蛋白的测定

空腹12 h以后行静脉取血2 mL,经离心分离血清,用特种蛋白分析仪测定Hs-CRP,采用胶乳凝集反应法,试剂盒为上海申索佑福医疗诊断用品有限公司产品,参考范围 $< 3 \text{ mg/L}$ 。

1.4 一氧化氮的测定

一氧化氮的主要代谢产物亚硝酸盐可与磺酸及萘乙烯二胺盐生成粉红色偶氮化合物,经比色可间接测定NO浓度。取血浆0.1 mL加0.6 mL试剂混匀,加双蒸水0.4 mL,混匀,加0.1 mL 4%氢氧化钠混匀,冰上孵育60 min,12 000 r/min离心2 min,取上清0.6 mL加0.4 mL双蒸水及0.1 mL 0.3%磺胺冰上孵育15 min,之后加0.1 mL 6 mmol/L萘乙烯二胺盐酸盐,室温放置1 h,545 nm比色,读取OD值。以亚硝酸钠为标准品,制作标准曲线。根据样品OD值,按标准曲线计算NO含量。试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

1.5 循环内皮细胞的分离与计数

按文献[6]介绍的方法进行。

1.6 统计学处理

用SPSS10.0软件对数据进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用直线相关分析ox-LDL、Hs-CRP、CEC、NO的关系, $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 急性冠状动脉综合征患者氧化型低密度脂蛋白、高敏C反应蛋白、循环内皮细胞计数和一氧化氮水平的变化

与对照组相比,ACS组患者外周血中NO含量明显降低($P < 0.05$),而ox-LDL、Hs-CRP和CEC均明显增高($P < 0.01$)(表1)。

表1 两组患者血浆氧化型低密度脂蛋白、高敏C反应蛋白、循环内皮细胞计数和一氧化氮水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	ox-LDL ($\mu\text{g/L}$)	Hs-CRP (mg/L)	CEC ($\times 10^6$ 个/L)	NO ($\mu\text{mol/L}$)
对照组	20	349 \pm 172	2.25 \pm 1.79	2.4 \pm 0.4	77.3 \pm 21.0
ACS组	51	686 \pm 168 ^b	7.32 \pm 4.67 ^b	8.9 \pm 1.6 ^b	52.2 \pm 16.5 ^a

a为 $P < 0.05$, b为 $P < 0.01$,与对照组相比。

2.2 急性冠状动脉综合征患者血浆氧化型低密度脂蛋白、高敏 C 反应蛋白水平与循环内皮细胞计数和一氧化氮的关系

急性冠状动脉综合征患者血浆 ox-LDL 与 CEC ($r = 0.781, P < 0.001$) 和 NO ($r = 0.792, P < 0.001$) 均呈正相关。Hs-CRP 与 CEC ($r = 0.776, P < 0.001$) 和 NO ($r = 0.897, P < 0.001$) 也均呈正相关。ox-LDL 与 Hs-CRP 呈正相关 ($r = 0.768, P < 0.001$)。CEC 与 NO 呈正相关 ($r = 0.951, P < 0.001$)。

3 讨论

已有研究发现,许多冠心病心血管事件的发生并不完全归咎于冠状动脉机械性狭窄,而是与内皮功能损伤密切相关^[3]。在 As 的发生过程中,ox-LDL 是导致血管内皮损伤的主要原因,是 As 发生、发展的关键步骤之一。而近来越来越多的研究表明,在 ACS 的发病机制中,炎症导致动脉斑块的不稳定是重要机制。本研究通过观察 ACS 患者外周血 ox-LDL 与 CRP 的变化及相关性,以及两者与 CEC、NO 的相关性,探讨两者在 ACS 患者中的变化及发病中的意义。

已有研究表明,血中 NO 和 CEC 数量变化能反映血管内皮损伤情况^[7],本文结果发现,与对照组相比 ACS 组患者外周血中 NO 含量明显降低,CEC 增高,并且血浆 CEC 和 NO 呈正相关,可能为在 ACS 致病因素作用下,血管内皮损伤,功能发生改变,分泌 NO 减少,血管内皮损伤脱落,使血中 CEC 升高。

本文结果发现,ACS 患者血浆 ox-LDL 与 CEC 和 NO 均呈正相关,Hs-CRP 与 CEC 和 NO 也均呈正相关,ox-LDL 水平与 Hs-CRP 呈正相关。可能与 ox-LDL 导致内皮损伤,促进炎症因子释放,导致动脉斑块不稳定,更进一步加速疾病的发展有关。ox-LDL 可激活血管内皮细胞,使其表达细胞黏附分子,促进炎症细胞黏附和浸润。单核细胞通过清道夫受体大量吞噬 ox-LDL 形成泡沫细胞,而泡沫细胞的死亡增加粥样斑块脂质从泡沫细胞中释放到斑块的中心,使斑块稳定性降低。ox-LDL 还促进单核细胞活化,在抗 ox-LDL 抗体升高的冠心病患者血浆中单核细胞源性微颗粒明显升高,使得冠状动脉易损斑块更不稳定。ox-LDL 聚集与巨噬细胞形成泡沫细胞激发了炎症反应,使 CRP、细胞黏附分子 1、白细胞介素 8 等炎症因子释放,以为 ox-LDL 作为炎症前状态

与临床心血管事件相关^[3,8,9]。

目前研究已经证实炎症因子增多的急性炎症反应是促进粥样硬化斑块破裂的重要因素,急性炎症反应程度越重,粥样斑块越容易破裂。CRP 实际上是与动脉硬化发生和发展有关的促炎因子。生物体外的研究表明,聚集的 CRP 通过与低密度和极低密度脂蛋白结合可激活补体,通过巨噬细胞刺激组织因子生成,从而启动血凝过程。CRP 可刺激血管内皮细胞,导致细胞黏附因子 1 和血管黏附因子 1 的表达,并调节单核细胞趋化蛋白 1 的分泌,诱导内皮细胞致炎因子的表达。血清 CRP 可调节巨噬细胞摄取低密度脂蛋白,然后转化为泡沫细胞。CRP 促进巨噬细胞摄取 ox-LDL 导致内皮损伤,加快疾病的进程^[2,10,11]。

本研究 ACS 患者外周血 Hs-CRP 与 ox-LDL 呈显著正相关也与内皮损伤有关,进一步证实了两者可能相互协同作用,参与了 ACS 的发生。炎症与内皮功能损伤可能在 ACS 病理生理机制中都有作用,在临床防治中抗炎与保护内皮细胞功能都不可忽视,但具体治疗途径还需进一步研究。

[参考文献]

- [1] Yun DD, Alpert JS. Acute coronary syndrome [J]. *Cardiology*, 1997, **88**: 223-237
- [2] 陈学军, 李建军. C 反应蛋白与动脉粥样硬化[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2002, **10** (4): 355-357
- [3] Kita T, Kume N, Minami M, Hayashida K, Murayama T, Sano H, et al. Role of oxidized LDL in atherosclerosis [J]. *Ann NY Acad Sci*, 2001, **947**: 199-206
- [4] 中华医学会心血管病学分会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 急性心肌梗死诊断和治疗指南[J]. *中华心血管病杂志*, 2001, **29** (12): 710-725
- [5] 中华医学会心血管病学分会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 不稳定性心绞痛诊断和治疗建议[J]. *中华心血管病杂志*, 2000, **28** (6): 409-412
- [6] 杨映波, 王正国, 朱佩芳, 刘环琼, 冯素珍, 林水金. 一种分离循环内皮细胞的新方法[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 1994, **8** (1): 29
- [7] Behrendt D, Ganz P. Endothelial function: from vascular biology to clinical applications [J]. *Am J Cardiol*, 2002, **90**: 24-40
- [8] 朱惠莲, 侯孟君, 李燕, 郑佩英, 凌文华. 氧化型低密度脂蛋白经血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体 1 途径诱导血管内皮细胞损伤[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2004, **12** (4): 383-386
- [9] Hulthe J, Fagerberg B. Circulating oxidised LDL is associated with subclinical atherosclerosis development and inflammatory cytokines (AIR study) [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2002, **22**: 1162-1167
- [10] Ferranti SD, Rifain N. C-reactive protein and cardiovascular disease: a review of risk prediction and interventions [J]. *Clin Chin Acta*, 2002, **317**: 1-315
- [11] Zwaka TP, Hombach V, Torzewski J. C-reactive protein mediated low density lipoprotein uptake by macrophages: implications atherosclerosis [J]. *Circulation*, 2001, **103**: 1194-1197

(此文编辑 胡必利, 许雪梅)