

冠心病患者全血粘弹性的变化

王红勇¹, 何作云², 李希楷²

(第三军医大学 1. 大坪医院心内科, 2. 新桥医院心内科, 重庆市 400037)

[主题词] 冠状动脉疾病; 钠通道; 红细胞变形性; 血液粘度

[摘要] 观察冠心病患者全血粘弹性的变化, 检测 34 例单支局限冠状动脉病变的冠心病患者、32 例双支、三支或弥漫性冠状动脉病变的冠心病患者及 35 例对照者的血脂、红细胞膜微粘度、膜钠泵活性、膜收缩蛋白相对含量、红细胞变形参数及全血弹性模量和动粘度的变化。结果显示, 冠心病患者血脂、膜微粘度、全血弹性模量及动粘度明显高于对照者, 而膜钠泵活性、膜收缩蛋白相对含量及红细胞变形参数则明显低于对照者, 且随着冠状动脉病变的加重, 各指标变化更加明显。冠心病患者膜钠泵活性与膜微粘度、全血弹性模量与红细胞变形参数(高角频率条件下)呈负相关关系, 而膜钠泵活性与膜收缩蛋白相对含量和红细胞变形参数、膜收缩蛋白相对含量与红细胞变形参数以及全血弹性模量与动粘度呈正相关关系。结果提示, 全血粘弹性的增高可能与血脂、膜微粘度的增高及膜钠泵活性、膜收缩蛋白相对含量、红细胞变形参数的降低有关, 并且红细胞变形参数的降低和全血弹性模量、动粘度的增高参与了冠心病的发生和发展过程。

[中图分类号] R541.4

[献标识码] A

Changes of Whole Blood Viscoelasticity in the Patients with Coronary Heart Disease

WANG Hong-Yong, HE Zuor-Yun, and LI Xi-Kai

(Department of Cardiology, Daping Hospital, the Third Military University, Chongqing 400042, China)

[MeSH] Coronary Disease; Sodium Channels; Erythrocyte Deformability; Blood Viscosity

[ABSTRACT] **Aim** To explore the molecular mechanisms of the change of whole blood viscoelasticity in the patients with coronary heart disease (CHD) and its clinical significance. **Methods** Blood lipids, erythrocyte membrane microviscosity (η), sodium pump activity (SPA), relative content of spectrin (SP), erythrocyte deformability parameters (α) and dynamic modulus (G'), dynamic viscosity (η') were measured in 34 CHD with slight coronary atherosclerosis (As), 32 CHD with complicated coronary As and 35 controls. **Results** Blood lipids, η , G' and η' were significantly higher, but SPA, SP and α were significantly lower in the CHD than those in controls and the changes of these parameters were more obvious along with the development of coronary As. SPA was correlated negatively to η and positively to SP content and α ; G' was correlated negatively to α and positively to η' ; SP content was positively correlated with α in CHD. **Conclusion** The increase of whole blood viscoelasticity was closely associated with the increase of blood lipids, η of erythrocyte membrane and the decrease of erythrocyte SPA, SP content and α , and the decreased α and increased viscoelasticity play an important role in the course of coronary As.

全血粘弹性的增高在动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)发病中的作用引起了人们的关注^[1]。本文旨在研究冠心病(coronary heart disease, CHD)患者红细胞膜微粘度、钠泵活性、膜收缩蛋白、红细胞变形性以及全血粘弹性的变化, 进而探讨全血粘弹性改变的可能机制及其在冠心病发生发展中的作用。

1 对象和方法

1.1 对象及分组

[收稿日期] 2001-09-01 [修回日期] 2002-04-02

[作者简介] 王红勇, 男, 1965 年 2 月出生, 四川省德阳市人, 副教授, 博士, 主要从事冠心病分子血液流变学的研究。何作云, 男, 1942 年 5 月出生, 辽宁省大连市人, 教授, 博士研究生(后)导师, 主要从事冠心病、高血压、心力衰竭及生物流变学的研究。李希楷, 女, 1938 年 9 月出生, 江西南昌人, 教授, 主要从事冠心病、高血压及心律失常的研究。

冠心病患者 66 例, 其中单支局限冠状动脉病变患者(CHD-1 组)34 例, 男性 18 例, 女性 16 例, 平均年龄 69.5 ± 4.5 岁; 双支、三支或弥漫性冠状动脉病变患者(CHD-2 组)32 例, 男性 18 例、女性 14 例, 平均年龄为 69.9 ± 2.5 岁。冠状动脉无异常者(对照组)35 例, 其中男性 22 例, 女性 13 例, 平均年龄 68.5 ± 2.7 岁, 排除脑、心、肾等系统器质性疾病。

1.2 血脂测定

采用比色法测定血清总胆固醇(total cholesterol, TC)和甘油三酯(triglyceride, TG)。

1.3 红细胞膜微粘度测定

在 $1 \times 10^9/L$ 红细胞悬液内加入 DPH(美国 Sigma 公司产品)2.0 mL, 25℃温浴 30 min, MPF-4 型荧光分光光度计(日本日立公司)测定膜微粘度(η)。

1.4 钠泵活性测定

取血 2 mL, 加入肝素 0.1 mL 抗凝, 3 000 r/min 离心 5 min, 弃去血浆及表层的绒毛状层, 加入 5 倍量冷冻等渗介质 (NaCl 150 mmol/L, 葡萄糖 10 mmol/L, Tris-HCl 10 mmol/L, pH 7.4) 洗涤三次, 然后按 1:20 加入预冷的 10 mmol/L Tris-HCl 缓冲液 (pH 7.4), 轻摇数次, 9 000 r/min 离心 20 min, 去掉上清液和管底沉淀物, 再用 10 mmol/L Tris-HCl 缓冲液 (pH 7.4) 洗涤三次, 弃去上清液。将膜样本悬浮在 50 mmol/L Tris-HCl 缓冲液 (pH 7.4) 中, 用 Lowry 法使膜蛋白含量在 1 g/L。钠泵活性 (sodium pump activity, SPA) 测定采用西地兰抑制法^[2]。

1.5 膜收缩蛋白相对含量测定

采用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离红细胞膜蛋白。电泳的膜样品液中含 1% SDS、1% 巯基乙醇、10% 甘油和 0.02% 溴酚兰, 以每孔 50 μ g 膜蛋白加样。在 DYY- B_{10} 型电泳槽 (北京生物化学仪器厂) 上, 以 140 V 稳压电泳, 溴酚兰指示剂迁移至距胶底 1.0 cm 时停止电泳。0.25% 考马斯亮兰 G250 染色过夜, 脱色后在 CS-910 型双波长薄层扫描仪 (日本岛津公司) 上, 550 nm 波长处扫描, 同时以 C-R1B 型数据处理仪 (日本岛津公司) 记录扫描图谱, 显示各区带膜收缩蛋白 (spectrin, SP) 相对含量。

1.6 红细胞变形参数测定

取肝素抗凝红细胞 30 μ L, 加到 4 mL 悬浮介质中, 充分混匀, 将红细胞悬浮液倒入 BL88-C 型激光衍射仪 (天津华新医疗器械厂制造) 外杯, 插入内杯, 在 37 $^{\circ}$ C 条件下拍摄切应力 (τ) 为 20 Pa 时红细胞所产生的衍射图像, 测量衍射图像上第一暗环的长径 (b) 和短径 (a), 并计算红细胞各变形参数 (α)^[3], α_1 、 α_3 表示红细胞变形指数, α_2 反映红细胞膜稳定性, α_4 系红细胞耐剪切指数。

1.7 全血粘弹性测定

采用 Low Shear-30 流变仪 (瑞士 Contraves 公司), 当角频率 (ω) 为 0.190、0.252、0.351、0.476、0.648、0.880、1.196、1.627 和 2.210 Hz 时, 测定各组的全血粘度 (dynamic viscosity, η') 和弹性模量 (dynamic modulus, G')。

1.8 统计学处理

结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 F 检验, 并分别对 CHD-1 组和 CHD-2 组各指标进行相关性分析。

2 结果

2.1 血脂、红细胞膜微粘度、钠泵活性和膜收缩蛋

白相对含量的改变

从表 1 (Table 1) 可见, 与对照组比较, CHD-1 组和 CHD-2 组血脂和膜微粘度均明显增高, 且 CHD-2 组 TC 和膜微粘度增高更明显, 而 SPA 及 SP 则发生相反的变化, 以 CHD-2 组降低最甚。

表 1. 血脂、红细胞膜微粘度、钠泵活性及膜收缩蛋白相对含量的改变。

Table 1. The changes of blood lipides, erythrocyte membrane microviscosity, sodium pump activity and spectrin ($\bar{x} \pm s$).

Groups	Control (n = 35)	CHD-1 (n = 34)	CHD-2 (n = 32)
TC (mmol/L)	5.33 \pm 1.02	6.01 \pm 1.53 ^a	7.37 \pm 1.74 ^{c, d}
TG (mmol/L)	1.10 \pm 0.44	1.38 \pm 0.30 ^a	1.42 \pm 0.47 ^a
η	2.25 \pm 0.17	2.36 \pm 0.19 ^a	2.57 \pm 0.25 ^{c, e}
SPA [μ mol/(mg \cdot h)]	0.62 \pm 0.10	0.55 \pm 0.08 ^a	0.48 \pm 0.05 ^{c, e}
SP (%)	27.0 \pm 5.5	22.6 \pm 4.7 ^b	18.9 \pm 4.3 ^{c, d}

a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$, c: $P < 0.001$, compared with control group;

d: $P < 0.05$, e: $P < 0.01$, compared with CHD-1 group.

2.2 红细胞变形参数的改变

从表 2 (Table 2) 可见, CHD-1 组及 CHD-2 组 α 均降低, 而以 CHD-2 组降低最明显。

表 2. 红细胞变形参数的改变。

Table 2. The changes of erythrocyte deformability parameters ($\bar{x} \pm s$).

Groups	Control (n = 35)	CHD-1 (n = 34)	CHD-2 (n = 32)
α_1	1.59 \pm 0.18	1.49 \pm 0.05 ^a	1.28 \pm 0.09 ^{c, e}
α_2	2.65 \pm 0.15	2.54 \pm 0.16 ^a	2.15 \pm 0.19 ^{c, f}
α_3	4.00 \pm 0.27	3.62 \pm 0.21 ^b	2.86 \pm 0.15 ^{c, f}
α_4	1.98 \pm 0.20	1.83 \pm 0.11 ^b	1.69 \pm 0.16 ^{c, d}

a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$, c: $P < 0.001$, compared with control group;

d: $P < 0.05$, e: $P < 0.01$, f: $P < 0.001$, compared with CHD-1 group.

2.3 全血粘弹性的改变

CHD-1 组仅在低角频率 (ω) 时 G' 及 η' 较对照组明显升高; 而 CHD-2 组与对照组和 CHD-1 组比较均呈现全面升高态势, 但随角频率的增加 G' 逐渐增高, 而 η' 逐渐降低, 二者呈现相反的变化趋势 (图 1, Figure 1)。

2.4 相关性分析

CHD-1 组和 CHD-2 组 SPA 与膜微粘度呈负相关关系 ($r = -0.52$ 和 -0.60 , $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$), 而与 SP 和 α 呈正相关关系 ($r = 0.54 \sim 0.81$, $P < 0.01$); SP 与 α 亦呈正相关关系 ($r = 0.58 \sim 0.73$,

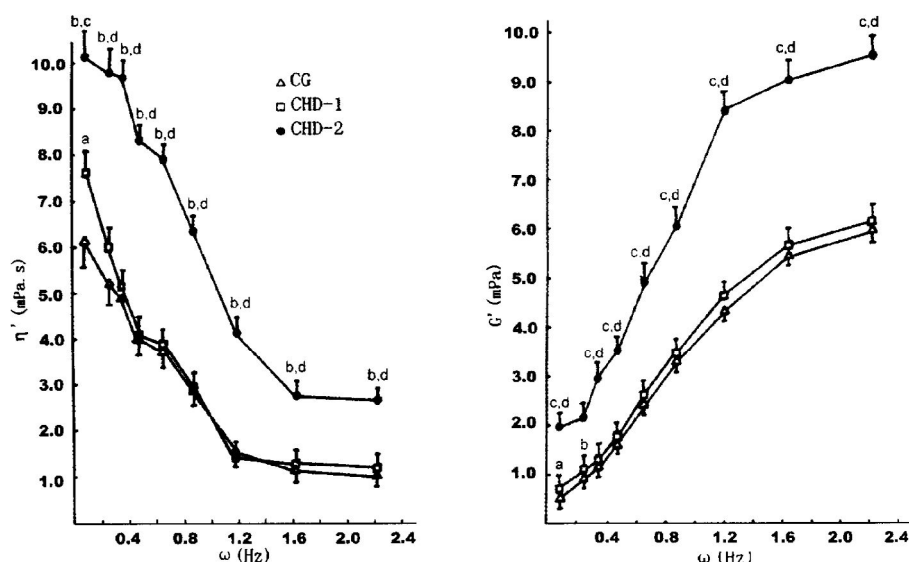


图 1. 全血弹性模量和动粘度的改变.

Figure 1. The changes of whole blood dynamic modulus (G') and dynamic viscosity (η'). a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$, c: $P < 0.001$, compared with control group; d: $P < 0.001$, compared with CHD-1 group.

$P < 0.01$); G' 与 α 在 $\omega = 1.627$ 及 2.210 Hz 时呈负相关关系($r = -0.87 \sim -0.44$, $P < 0.05$); G' 与 η' 呈正相关关系($r = 0.45 \sim 0.83$, $P < 0.05$).

3 讨论

膜收缩蛋白(SP)是红细胞膜骨架蛋白的主要成份,在调节红细胞变形性中起着重要作用。本研究提示,冠心病患者 SP 相对含量降低,并与 SPA 有正相关关系。SP 降低的机制有: SPA 降低,导致 $[Ca^{2+}]_i$ 增高,激活水解酶,导致 SP 降解^[5]; ④膜胆固醇/磷脂增高,促进红细胞过氧化脂质增加从而诱导 SP 等膜蛋白变化。

本研究显示,在 CHD-1 组和 CHD-2 组红细胞变形参数(α)逐次降低,且与 SPA 和 SP 相对含量呈正相关。 α 改变的机理有: 红细胞膜微粘度增高,流动性降低^[5]; ④SP 降解及与膜脂交联致红细胞膜僵硬、膜稳定性降低^[5]; ④胆固醇抑制葡萄糖易化扩散,红细胞 ATP 产生不足,影响其能量供应; SPA 降低,引起细胞内离子浓度异常、胞体肿大,导致红细胞表面积/体积之比缩小以及内粘度等变化。

实验结果提示,CHD-1 组仅在低角频率情形下 G' 及 η' 显著增高,而在 CHD-2 组则全面升高,并且随角频率增加, G' 与 η' 呈反向变化。在高角频率($\omega = 1.627$ 及 2.210 Hz 时)下 G' 与红细胞变形参数呈负相关,另外 G' 与 η' 呈正相关。全血粘弹性改变与血浆粘度增加、红细胞膜微粘度增高、红细胞变形性降低及红细胞在血液粘度增高时易形成缗钱

状聚集体等有关^[3],但改变相对滞后。

红细胞变形性降低及全血粘弹性增高在冠心病的发生、发展及心绞痛急性发作中的作用有: 全血粘弹性升高,血液易形成湍流,易损伤冠状动脉内皮细胞,除有利于脂质沉积外,且导致内皮细胞合成、释放血管活性物质失衡,使冠状动脉收缩加剧^[6]。④ α_1 、 α_3 降低,增大临界管径的数值,通过逆转效应,使冠状动脉血流阻力增大。④ α_1 、 α_3 降低导致膜坦克履带式转动抑制,血红蛋白结合氧的功能受影响,且变形性降低可使舒张期心内膜下心肌血球压积梯度异常增高,造成氧运输和释放障碍^[7]。 α_2 及 α_4 降低预示红细胞膜稳定性降低、脆性增加,易破裂释出 ADP,激活血小板,促进 As 进程。

[参考文献]

- Wang HY, He ZY, Li XK, et al. The changes of blood lipids, $Na^+ - K^+ - ATPase$ and viscoelastic parameters of whole blood in different stages of experimental atherosclerosis in rabbits. *J Med Coll PLA*, 1998, **13** (1): 69-72
- 袁发焕, 廖立生. 西地兰法测定肾皮质钠钾 ATP 酶活性. 第三军医大学学报, 1989, **11** (4): 290-291
- 王红勇, 何作云, 文芳. 细胞流变学的研究方法与应用. 见: 何作云, 王瑞兴. 临床细胞流变学. 重庆: 重庆大学出版社, 1997, 111-113
- Saldanha C, Sargento L, Monteiro J, et al. Impairment of the erythrocyte membrane fluidity in survivors of acute myocardial infarction. A prospective study. *Clin Hemorheol Microcirc*, 1999, **20** (2): 111-116
- Lofvenberg L, Backman L. Calpain induced proteolysis of beta-spectrins. *FEBS Lett*, 1999, **443** (2): 89-92
- Noris M, Morigi M, Donadelli R, et al. Nitric oxide synthesis by cultured endothelial cells is modulated by flow conditions. *Circ Res*, 1995, **76**: 536-541
- Baskurt OK, Edremitioglu M, Temiz A. Effect of erythrocyte deformability myocardial hematocrit gradient. *Am J Physiol*, 1995, **260**: 260-266

(此文编辑 文玉珊)