

[文章编号] 1007-3949(2006)14-04-0343-04

•临床研究•

经皮冠状动脉介入治疗术后患者血浆可溶性 Fas 因子改变及他汀类药物干预

许宜冠, 周胜华, 沈向前, 祁述善, 刘启明, 李旭平

(中南大学湘雅二医院心内科, 湖南省长沙市 410011)

[关键词] 内科学; 血浆可溶性 Fas 对再狭窄的影响; 酶联免疫吸附测定; 经皮冠状动脉介入治疗; 冠心病; 冠状动脉造影; 阿托伐他汀

[摘要] 目的 探讨经皮冠状动脉介入治疗术后 6 个月再狭窄患者和术后早期患者血浆可溶性 Fas 的改变及短期阿托伐他汀治疗对其的影响。方法 选择 29 例经皮冠状动脉介入治疗后再狭窄患者和无再狭窄患者, 以及 20 例术后早期短期应用阿托伐他汀治疗的患者, 均设立正常对照组。采用酶联免疫吸附测定法检测其血浆可溶性 Fas 水平。结果 经皮冠状动脉介入治疗后再狭窄组血浆可溶性 Fas (469 ± 126 ng/L) 显著高于正常对照组 (43 ± 9 ng/L)、冠心病组 (123 ± 23 ng/L) 和无再狭窄组 (132 ± 30 ng/L) (P 均 < 0.01); 冠心病组和无再狭窄组血浆可溶性 Fas 也高于正常对照组 (P 均 < 0.01); 而冠心病组和无再狭窄组之间血浆可溶性 Fas 差异无显著性。择期冠状动脉介入治疗术后 6 h 血浆可溶性 Fas 水平急剧增高; 术后 3 天对照组血浆可溶性 Fas 升高达最高峰, 阿托伐他汀治疗组则显著降低 (分别为 $2\,036 \pm 422$ 和 $1\,157 \pm 268$ ng/L, $P < 0.01$); 术后 7 天对照组仍维持在高水平, 治疗组下降至最低水平 (分别为 $1\,460 \pm 266$ 和 798 ± 111 ng/L, $P < 0.01$)。结论 经皮冠状动脉介入治疗后再狭窄患者血浆可溶性 Fas 高于无再狭窄患者, 血浆可溶性 Fas 持续增高可能成为预测再狭窄的有效指标; 阿托伐他汀干预可使血浆可溶性 Fas 水平显著降低, 可能是阿托伐他汀防治再狭窄的机制之一。

[中图分类号] R541

[文献标识码] A

The Changes and Effects of Atorvastatin on Plasma Soluble Fas in Patients After Percutaneous Coronary Intervention

XU Yi-Guan, ZHOU Sheng-Hua, SHEN Xiang-Qian, QI Shu-Shan, LIU Qi-Ming, and LI Xu-Ping

(Department of Cardiology, Xiangya Second Hospital, Central South University, Changsha 410011, China)

[KEY WORDS] Restenosis; Percutaneous Coronary Intervention; Coronary Artery Disease; Soluble Fas; Atorvastatin; Enzyme Linked Immunosorbent Assay

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the changes of plasma soluble Fas in patients with restenosis in 6 months and effects of atorvastatin on plasma soluble Fas in patients in the early stage after percutaneous coronary intervention. **Methods** The levels of soluble Fas in plasma of patients were examined by means of enzyme-linked immunosorbent assay in 13 patients with restenosis, in 16 patients without restenosis in 6 months after percutaneous coronary intervention, in 20 patients with coronary artery disease, in 20 healthy without stenosis in coronary angiography, and in 20 patients treated with selective percutaneous coronary intervention and with or atorvastatin in prior percutaneous coronary intervention, 6 h, 24 h, 3 d and 7 d after percutaneous coronary intervention. **Results** The levels of soluble Fas in patients with restenosis 6 months after percutaneous coronary intervention were significantly higher than those patients without restenosis, those patients with coronary artery disease and those patients without stenosis in coronary angiography (469 ± 126 vs 132 ± 30 , 123 ± 23 , 43 ± 9 ng/L, respectively, all $P < 0.01$). The levels of soluble Fas were also significantly higher in patients without restenosis after percutaneous coronary intervention and in patients with coronary artery disease than those patients without stenosis in coronary angiography (all $P < 0.01$). The levels of soluble Fas were rapidly increased in patients 6h after selective percutaneous coronary intervention, reached its peak after 3 d, and remained very high after 7 d. The levels of soluble Fas were significantly decreased in patients 3 d and 7 d after treatment with atorvastatin than those patients without atorvastatin (from $2\,036 \pm 422$ to $1\,157 \pm 268$ ng/L, and $1\,460 \pm 266$ to 798 ± 111 ng/L, respectively, all $P < 0.01$). **Conclusions** The levels of soluble Fas were significantly higher in patients with restenosis after percutaneous coronary intervention than those patients without restenosis. Persist increment of soluble Fas may act as the predictors of restenosis after percutaneous coronary intervention. The levels of soluble Fas significantly decreased after treatment of atorvastatin, which may be one of mechanisms of statins preventing restenosis that.

[收稿日期] 2005-05-17

[修回日期] 2006-02-06

[作者简介] 许宜冠, 博士, 主治医师, 主要从事心血管病及介入心脏病学研究, 现在汕头大学医学院附属第一医院心内科工作, 联系电话为 13802710275, E-mail 为 menmeno2003@yahoo.com.cn。通讯作者周胜华, 博士, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 主要从事心血管病及介入心脏病学研究, 联系电话为 0731-5524222 转 2356, E-mail 为 zhougq@21cn.com。沈向前, 硕士, 主任医师, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事心血管病及介入心脏病学研究, 联系电话为 0731-5524222 转 2455, E-mail 为 xqshen@163.com。

研究发现,经皮冠状动脉介入治疗(percutaneous coronary intervention, PCI)术后再狭窄病变不仅存在平滑肌细胞(smooth muscle cell, SMC)增殖,而且存在平滑肌细胞凋亡,再狭窄可能是血管壁平滑肌细胞增殖过度 and 凋亡不足的结果。Roque 等^[1]发现,冠状动脉成形术后诱导快速的细胞凋亡反应,随之内膜增生显著增加。作者认为,血管成形术后调节细胞增殖周期进程,可能是一种有效治疗内膜增生再狭窄的方法。Isner 等^[2]观察了人原发性动脉粥样硬化斑块及 PCI 术后再狭窄病变标本,发现再狭窄较原发粥样斑块的患者平滑肌细胞更易发生凋亡。我们采用酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)法检测 PCI 术后再狭窄、无再狭窄患者血浆可溶性 Fas(soluble FAS, sFas)水平,以及 PCI 术后早期阿托伐他汀短期治疗对血浆 sFas 水平的影响,探讨 sFas 及阿托伐他汀在再狭窄防治中的作用。

1 对象和方法

1.1 对象及分组

经皮冠状动脉介入治疗组(PCI 组)选择 2004 年 1~12 月间 PCI 术后(所有患者均植入支架)6 个月内到我院回访的患者 29 例,复查冠状动脉造影,按照冠状动脉造影结果分为再狭窄组和无再狭窄组;其中再狭窄组 13 例,男 10 例,女 3 例,平均年龄 50.2 ± 12.2 岁,无再狭窄组 16 例,男 12 例,女 4 例,平均年龄 50.0 ± 14.4 岁;再狭窄定义为治疗处血管腔直径狭窄 $\geq 50\%$,或治疗处血管腔直径比术后当时造影减少 50% 以上,无再狭窄组治疗处血管腔直径狭窄均小于 20%。另选择同期冠状动脉造影患者,按照有无冠状动脉病变分为冠心病组(血管腔直径狭窄 $\geq 50\%$)和正常组(血管内膜光滑、无冠状动脉粥样硬化病变);冠心病组 20 例,男 17 例,女 3 例,平均年龄 60.9 ± 8.0 岁,正常组 20 例,男 12 例,女 8 例,平均年龄 61.6 ± 8.3 岁。

选择 20 例 2004 年 1~10 月间在我院行择期 PCI 术的患者,随机分为阿托伐他汀干预组(治疗组)和未用阿托伐他汀组(对照组),各 10 例,两组患者性别、年龄和疾病构成等差异无显著性。治疗组除常规术后处理外,给予短期应用阿托伐他汀每天 40 mg,睡前一次性顿服;对照组未用阿托伐他汀治疗,其它常规术后处理同治疗组。两组分别于术前、术后 6 h、术后 24 h、术后 3 天、术后 7 天抽血检测血

浆 sFas。

1.2 标本收集

所有 PCI 术后回访复查冠状动脉造影及以确诊为目的而行冠状动脉造影的患者,在导管室行冠状动脉造影前抽取右股静脉血 2 mL,置于 10 mL EDTA 抗凝管中;行择期 PCI 术的患者术前在导管室抽血,术后 6 h、24 h、3 天、7 天在病房抽取右股静脉血 2 mL,置于 10 mL EDTA 抗凝管中;所有标本抽血后 2 h 内以 3 000 r/min 离心 5 min,取上清液血浆分装于 EP 管,置 -70°C 低温保存待检。

1.3 酶联免疫吸附测定法检测可溶性 Fas 水平

血浆 sFas 水平测定采用酶联免疫吸附测定。试剂盒购自 GeneMay 公司(由深圳晶美公司代理)。产品号为 GMK245。sFas 浓度单位为 ng/L。分析过程严格按试剂盒内所附说明书及酶标仪操作指南进行操作。在酶标仪上 A 450 nm 处读取吸光度;画出标准曲线,计算结果。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 11.0 软件进行数据统计。数值以 $\bar{x} \pm s$ 表示,进行 t 检验, $P < 0.05$ 为有统计学差异。

2 结果

2.1 各组一般临床资料的比较

各组之间年龄、性别、血压、血脂、疾病构成和吸烟状况等比较,PCI 术后再狭窄组与无再狭窄组之间无明显差异;冠心病组与再狭窄组之间比较,仅在有高血压病史上有差异($P < 0.01$);而再狭窄组与正常组之间比较,年龄和 HDL 水平均有显著差异($P < 0.05$, $P < 0.01$)(表 1)。

2.2 各组患者血浆可溶性 Fas 水平的比较

再狭窄组血浆 sFas 水平显著高于无再狭窄组、冠心病组和正常对照组(均 $P < 0.01$)。无再狭窄组和冠心病组血浆 sFas 水平显著高于正常对照组(均 $P < 0.01$);但在冠心病组与无再狭窄组之间无差异($P > 0.05$)(表 1)。

2.3 阿托伐他汀对血浆可溶性 Fas 的影响

患者血浆 sFas 于 PCI 术后 6 h 即开始急剧增加,对照组术后 3 天达最高峰,术后 7 天仍处于高水平;治疗组术后 24 h 达最高峰,术后 3 天即开始降低,于术后 7 天即明显降低。术后 3 天和 7 天时治疗组 sFas 水平显著低于对照组。不管是治疗组还是对照组,术前血浆 sFas 水平均比术后各组低($P < 0.01$)(表 2)。

表 1. 各组患者临床资料及血浆可溶性 Fas 水平的比较 ($\bar{x} \pm s$)

| 指 标 | 正常组 | 冠心病组 | PCI 术后无再狭窄组 | PCI 术后再狭窄组 |
|----------------|-------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 例数 (男/女) | 20(12/8) | 20(17/3) | 16(12/4) | 13(10/3) |
| 年龄 (岁) | 61.7 ± 8.3 | 60.9 ± 8.0 | 50.0 ± 14.4 ^a | 50.2 ± 12.2 ^a |
| 吸烟 (n) | 1 | 4 | 6 | 6 |
| 家族史 (n) | 1 | 3 | 3 | 3 |
| 高血压病史 (n) | 9 | 15 ^c | 8 | 2 |
| 糖尿病 (n) | 2 | 3 | 3 | 3 |
| 冠状动脉病变支数 | — | 2.05 ± 0.89 | 1.67 ± 0.82 | 2.25 ± 0.96 |
| 治疗处长度 (mm) | — | — | 15.3 ± 11.4 | 16.8 ± 11.6 |
| 治疗处直径 (mm) | — | — | 3.21 ± 0.62 | 3.24 ± 0.60 |
| 植入支架数 | — | — | 1.22 ± 0.34 | 1.36 ± 0.52 |
| 药物涂层支架比率 | — | — | 37.50% | 38.46% |
| 甘油三酯 (mmol/L) | 1.49 ± 1.00 | 2.53 ± 2.11 | 1.74 ± 0.70 | 2.59 ± 1.38 |
| 总胆固醇 (mmol/L) | 4.55 ± 1.09 | 4.51 ± 1.02 | 4.95 ± 1.11 | 4.30 ± 0.45 |
| HDL (mmol/L) | 1.27 ± 0.21 | 1.04 ± 0.25 ^d | 1.06 ± 0.28 | 0.85 ± 0.12 ^d |
| LDL (mmol/L) | 2.53 ± 0.93 | 2.49 ± 0.76 | 3.24 ± 0.73 | 2.28 ± 0.41 |
| 脂蛋白 (a) (mg/L) | 218 ± 126 | 239 ± 197 | 196 ± 96 | 103 ± 18 ^b |
| 可溶性 Fas (ng/L) | 43 ± 9 | 123 ± 24 ^d | 132 ± 30 ^d | 469 ± 126 ^b |

a 为 $P < 0.05$, 与正常组和冠心病组比较; b 为 $P < 0.01$, 与其它各组比较; c 为 $P < 0.01$, 与再狭窄组比较; d 为 $P < 0.01$, 与正常组比较。

表 2. 择期经皮冠状动脉介入治疗术后短期应用阿托伐他汀对血浆可溶性 Fas 的影响 ($\bar{x} \pm s$, ng/L)

| 分 组 | n | 术前 | 术后 6 h | 术后 24 h | 术后 3 天 | 术后 7 天 |
|-----|----|-----------------------|-----------|--------------------------|---------------------------|------------------------|
| 对照组 | 10 | 118 ± 27 ^a | 888 ± 93 | 1 614 ± 249 | 2 036 ± 422 | 1 460 ± 266 |
| 治疗组 | 10 | 137 ± 49 ^a | 851 ± 108 | 1 608 ± 316 ^c | 1 157 ± 268 ^{bc} | 799 ± 111 ^b |

a 为 $P < 0.01$, 与术后各组比较; b 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; c 为 $P < 0.01$, 与治疗组术后 7 天比较。

3 讨论

早在 80 年代初, Clowers 等^[3]就发现大鼠球囊损伤颈动脉内膜后, 新生内膜中平滑肌细胞数在 2 周内达最多, 虽然细胞增殖一直持续到损伤后数周, 但新生内膜的平滑肌细胞数却未继续增加, 因此, 细胞的死亡在后期平滑肌细胞积聚的减少中起一定的作用。Han 等^[4]发现, 大鼠主动脉内膜损伤后 9 天内膜细胞凋亡率为 40%, 14 天为 20%, 28 天为 10%, 内膜细胞凋亡和增殖在损伤后 9 天达最高峰。这些研究提示, 平滑肌细胞凋亡是调节内膜损伤所致内膜增厚的一个重要机制, 内皮损伤后平滑肌细胞凋亡与增殖之间的调节失衡是动脉粥样硬化斑块进展及导致管腔再狭窄的重要因素。

Fas(载脂蛋白-1/CD95)属于神经生长因子或肿瘤坏死因子超家族成员, 它是相对分子质量为 48 000 的 1 型跨膜糖蛋白, Fas 是促凋亡基因。Imanishi

等^[5]研究显示, Fas/FasL 系统参与了动脉粥样硬化损害部位血管平滑肌细胞的凋亡。Fas 主要包括 2 种异构体, 即膜型 Fas 和可溶性 Fas(sFas)。Fas 基因的选择性拼接可产生 sFas 的 5 种异构体, 每种异构体均能在活体中通过与 FasL 的结合阻断 Fas 引起的细胞凋亡, 该作用存在量效关系^[6]。也就是说, sFas 是细胞凋亡的抑制因子。

本研究采用酶联免疫吸附测定法, 检测血浆 sFas 水平发现, PCI 术后再狭窄组血浆 sFas 显著高于无再狭窄组、冠心病组和正常对照组。而 sFas 因子表达增高反映再狭窄患者体内抗凋亡能力增强, 可能存在血管 SMC 过度增殖、凋亡不足的表现。因此, sFas 因子可能成为预测 PCI 术后再狭窄的有效指标。

他汀类药物除传统的降脂作用外, 还具有非降脂效应, 能调节炎症反应、调节细胞粘附、抑制血栓形成、调理内皮功能及抑制平滑肌细胞迁移、增殖、

诱导血管平滑肌细胞凋亡等作用。张梅等^[7]研究发现,舒降之、普罗布考和开搏通治疗可延缓动脉粥样硬化进展,以舒降之作用最佳。徐凯等^[8]发现,冠状动脉支架术后继续服用他汀类药物可降低再狭窄的发生率。研究发现,他汀类药物更易诱导血管损伤后增生内膜中的血管平滑肌细胞凋亡,可能因此降低 PCI 术后再狭窄^[9,10]。陈斌等^[11]在动脉粥样硬化动物模型研究中发现,阿托伐他汀具有诱导平滑肌细胞凋亡的作用。Blanco colio 等^[12]研究发现,辛伐他汀和阿托伐他汀干预导致培养的血管平滑肌细胞凋亡,是通过呈时间和剂量依赖性地抑制 Bcl-2 的表达而实现的。

本研究观察短期应用阿托伐他汀对血浆 sFas 水平的影响,结果发现,择期 PCI 术后 6 h,血浆 sFas 即明显增高,术后 3 天达最高峰,7 天仍维持在高水平;阿托伐他汀治疗组 24 h 血浆 sFas 达最高峰,术后 3 天、7 天比未用阿托伐他汀组明显下降,显示阿托伐他汀可明显降低 PCI 术后患者血浆 sFas 水平。而 sFas 是平滑肌细胞凋亡抑制因子,其持续增高可能导致平滑肌细胞凋亡下降、增殖过度,与后期的再狭窄相关。

有关 PCI 术后短期内血浆 sFas 水平显著增高的机制,考虑可能与 PCI 术引起血管内皮损伤和功能紊乱、血小板激活、血栓形成、急性炎症反应等因素有关,有待进一步研究。他汀类药物有抗炎、调理内皮功能、抑制血栓形成等作用,阿托伐他汀治疗可明显降低血浆 sFas 水平,这可能是他汀类药物防治动脉粥样硬化和再狭窄的机制之一。

总之,PCI 术后再狭窄患者血浆 sFas 显著增高,提示再狭窄患者体内存在细胞增殖过度、凋亡不足的表现:择期 PCI 术后患者早期血浆 sFas 急剧增高,

血浆 sFas 持续增高可能导致后期的再狭窄;因而,血浆 sFas 可能成为预测 PCI 术后再狭窄的有效指标。阿托伐他汀短期治疗可使血浆 sFas 水平明显下降,这可能是他汀类药物防治再狭窄的机制之一。

[参考文献]

- [1] Roque M, Cordon CC, Fuster V, Reis ED, Drobniak M, Badimon JJ, et al. Modulation of apoptosis, proliferation, and p27 expression in a porcine coronary angioplasty model[J]. *Atherosclerosis*, 2000, **153** (2): 315-322
- [2] Isner JM, Kearney M, Bortman S, Passeri J. Apoptosis in human atherosclerosis and restenosis[J]. *Circulation*, 1995, **91** (7): 2 703-711
- [3] Clowers AW, Reidy MA, Clowers MM. Mechanisms of stenosis after arterial injury[J]. *Lab Invest*, 1983, **49** (2): 208-215
- [4] Han DK, Haudenschild CC, Hong MK, Tinkle BT, Leon MB, Liao G. Evidence for apoptosis in human atherosclerosis and in a rat vascular injury model[J]. *Am J Pathol*, 1995, **147** (2): 267-277
- [5] Imanishi T, Han DK, Hofstra L, Hano T, Nishio I, Liles WC, et al. Apoptosis of vascular smooth muscle cell is induced by Fas ligand derived from monocytes/macrophage[J]. *Atherosclerosis*, 2002, **16** (1): 143-151
- [6] Midis GP, Shen Y, Owerr-schaub LB. Elevated soluble Fas(sFas) levels in nonhematopoietic human malignancy[J]. *Cancer Res*, 1996, **56** (17): 3 870-874
- [7] 张梅,张运,张园园,高月花.舒降之、普罗布考和开搏通对颈动脉和股动脉内膜中膜厚度的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2004, **12** (1): 61-64
- [8] 徐凯,韩雅玲,荆全民,王守力,马颖艳,栾波,等.他汀类药物减少冠心病患者支架术后再狭窄的影响因素及意义[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2005, **13** (5): 607-609
- [9] Erl W, Hristov M, Neureuter M, Yan ZQ, Hansson GK, Weber PC. HMG-CoA reductase inhibitors induce apoptosis in neointima-derived vascular smooth muscle Cell[J]. *Atherosclerosis*, 2003, **169** (2): 251-258
- [10] Erl W. Statin induced vascular smooth muscle cell apoptosis: a possible role in the prevention of restenosis? *Curr Drug Targets Cardiovasc Haematol Disord*, 2005, **5** (2): 135-144
- [11] 陈斌,邓玉莲,吴志勇,高美钦,郑伟,黄爱民.阿托伐他汀对兔动脉粥样硬化模型血管壁平滑肌细胞凋亡的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2004, **24** (6): 542-544
- [12] Blanco colio LM, Villa A, Ortego M, Hernandez-Presa MA, Pascual A, Plaza JJ, et al. 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors, atorvastatin and simvastatin, induce apoptosis of vascular smooth muscle cell by down regulation of Bcl-2 expression and Rho A prenylation[J]. *Atherosclerosis*, 2002, **161** (1): 17-26

(此文编辑 朱雯霞)