

· 临床研究 ·

急性心肌梗死患者 PTCA 术后再灌注损伤及细胞黏附分子的表达研究

丁芳林¹, 李卓成¹, 庄义浩²

(广东省深圳市第二人民医院:1. 检验科;2. 心内科 518035)

摘要:目的 观察急性心肌梗死(AMI)患者经皮冠状动脉腔内成形术(PTCA)前后外周血中细胞黏附分子(CAMs)的动态表达水平,探讨其与再灌注损伤的关系。方法 采用流式细胞术和酶联免疫法分别测定 79 例 AMI 患者 PTCA 前,术后 30 min、2、6、12、24、72 h 的血小板颗粒糖蛋白(CD62p)、中性粒细胞表面黏附分子(CD11b)、可溶性细胞间黏附分子(sICAM-1)、可溶性血管黏附分子(sVCAM-1)的表达水平,36 例冠状动脉造影正常者为对照组。结果 AMI 患者术前 CD62p、CD11b、sICAM-1 和 sVCAM-1 的表达水平均明显高于对照组($P < 0.01$),术后 30 min AMI 组 CD62p 水平与术前相比明显下降($P < 0.05$),但随之增高,至 12 h 达高峰,72 h 降为术前水平,CD11b 术后水平持续增高,12 h 达高峰,72 h 仍高于术前($P < 0.05$),而 AMI 组 sICAM-1 和 sVCAM-1 的术后表达水平持续增高,但无明显峰值。直线相关分析,AMI 组术后 12 h CD62p 水平与 CD11b 的表达水平呈正相关($r = 0.673, P < 0.01$),而 sICAM-1 和 sVCAM-1 的术后 24、72 h 表达水平呈正相关($r = 0.562, r^2 = 0.557, P < 0.05$)。结论 PTCA 术可能导致 AMI 患者急性炎症反应,CD62p、CD11b、sICAM-1 和 sVCAM-1 的异常表达增高与再灌注损伤有关。

关键词:心肌梗死;急性;血管成形术,经腔经皮冠状动脉;再灌注,损伤;细胞黏附分子

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.30.014

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2011)30-3048-03

Study on myocardial ischemia-reperfusion injury and the expression of cell adhesion molecules in patients with acute myocardial infarction after percutaneous transluminal coronary angioplasty

Ding Fanglin¹, Li Zhuocheng¹, Zhuang Yihao²

(Shenzhen Second People's Hospital: 1. Department of Clinical Laboratory;

2. Department of Cardiovascular Medicine, Shenzhen, Guangdong 518035, China)

Abstract: Objective To observe dynamic changes of cell adhesion molecules(CAMs) in patients with acute myocardial infarction(AMI) after percutaneous transluminal coronary angioplasty(PTCA), and to explore the relationship between the CAMs and myocardial ischemia-reperfusion injury(MIRI). **Methods** The level of CD62p and CD11b in 79 cases of patients were determined by flow cytometry(FCW), and the level of sICAM-1 and sVCAM-1 were determined by ELISA, before therapy and 30 mins, 2, 6, 12, 24, and 72 hours after PTCA. 39 cases of normal controls demonstrated by coronary angiography were also determined. **Results** The levels of CD62p, CD11b, sICAM-1, and sVCAM-1 in the patients before therapy were significantly higher than that in controls($P < 0.01$). The levels of CD62p at 30 mins after PTCA were significantly lower than that in patients with AMI before PTCA ($P < 0.05$), and then increased, arrived at the peak at 12 h after PCTA. The levels of CD62p at 72h were not significantly different from that in the patients before PTCA ($P > 0.05$). The levels of CD11b after PTCA were increased, reached peak at 12 h, and were still high at 72 h. The levels of sICAM-1 and sVCAM-1 after PTCA were continued increasing, but no peak. The levels of CD62p were correlated with CD11b after PTCA at 12h ($r = 0.673, P < 0.01$), and the levels of sICAM-1 were correlated with sVCAM-1 after PCTA at 24h and 72h ($r^1 = 0.562, r^2 = 0.557, P < 0.05$). **Conclusion** PTCA may lead to acute inflammatory response in patients with AMI, and the high expressions of CD62p, CD11b, sICAM-1, and sVCAM-1 were positively related to MIRI.

Key words: myocardial infarction; angioplasty, transluminal percutaneous coronary; reperfusion, injury; cell adhesion molecules

近年许多研究证明,动脉粥样硬化是一种炎症疾病,急性心肌梗死(AMI)是在冠状动脉粥样硬化基础上发生的斑块破裂和血栓形成,其中炎症反应和血小板活化起到关键作用^[1]。经皮冠状动脉腔内成形术(PTCA)治疗 AMI,能迅速、可靠地达到心肌再灌注的目的,但其引起的心肌缺血再灌注损伤(MIRI)如心律失常、急性血管闭塞或狭窄及心肌细胞凋亡等则严重影响疗效甚至患者生命。有研究报道 MIRI 发生率高达 52.2%,病死率为 4%~7%^[2]。目前其发生机制尚未完全阐明,血小板活化、白细胞激活引起的炎症反应及氧自由基生成等可能是其发生的主要机制^[3]。本研究旨在通过检测 AMI 患者 PTCA 术前后细胞黏附分子(CAMs)的动态表达水平,探讨其与 MIRI 的关系。

1 资料与方法

1.1 对象及分组 根据国际心脏病学会和 1997 年 WHO 诊断标准,选择 2008 年 2 月至 2010 年 1 月住院 AMI 患者 79 例,其中男 42 例,女 37 例,年龄 42~75 岁,平均 62 岁,患者在发病 6 h 内入院。对照组 36 例(男 21 例,女 15 例)为冠状动脉造影正常者,年龄 43~69 岁,平均 58 岁。所有患者均排除自身免疫性疾病、感染、肺梗死、风湿热、肿瘤、外周血管血栓及血液系统疾病。

1.2 直接 PTCA 操作方法和围手术期用药 拟行 PTCA 的患者立即嚼服阿司匹林 300 mg 和吞服抵克力得 500 mg,无低血压者均静脉滴注硝酸酯类药物,送导管室行 PTCA。PTCA 过程按标准方法进行。应用 SIEMENS ANGIOSTAR 数字减

表 1 AMI 患者 PTCA 前后血中 CD62p、CD11b、sICAM-1 和 sVCAM-1 表达变化($\bar{x} \pm s$)

组别	CD62p(Mnx)	CD11b(Mnx)	sICAM-1($\mu\text{g/L}$)	sVCAM-1($\mu\text{g/L}$)
对照组($n=36$)	2.16 \pm 0.52	7.25 \pm 2.61	182.62 \pm 21.16	926.15 \pm 115.31
观察组($n=79$)				
PTCA 术前	15.37 \pm 3.19*	23.65 \pm 11.14*	456.44 \pm 57.02*	1916.15 \pm 183.58*
PTCA 术后 30 min	10.18 \pm 2.90▲	28.48 \pm 14.23▲	522.61 \pm 62.19▲	2311.47 \pm 232.75▲
PTCA 术后 2 h	14.67 \pm 3.34	32.34 \pm 17.21▲	551.31 \pm 65.32▲	25786.01 \pm 284.38▲
PTCA 术后 6 h	19.07 \pm 3.55▲	35.51 \pm 15.87▲	584.43 \pm 70.51▲	2684.65 \pm 312.51▲
PTCA 术后 12 h	25.39 \pm 4.31▲▲	42.31 \pm 21.21▲▲	594.74 \pm 69.34▲	2821.44 \pm 332.92▲
PTCA 术后 24 h	16.41 \pm 3.08	39.17 \pm 19.38▲▲	606.07 \pm 72.34▲▲	3034.15 \pm 310.73▲▲
PTCA 术后 72 h	15.78 \pm 3.26	31.57 \pm 15.06▲	611.33 \pm 74.29▲▲	3134.75 \pm 332.87▲▲

*: $P < 0.01$, 与对照组比较; ▲: $P < 0.05$; ▲▲: $P < 0.01$, 与术前比较。

影血管造影系统(德国),采用 Seldinger 法从股动脉途径行冠状动脉造影,造影剂使用非离子型的 ULTRAVIST,结合心电图心肌梗死部位确定梗死相关血管(IRA),并对 IRA 行球囊扩张,随后置入支架。冠状动脉造影前常规从股动脉套管鞘管侧壁注入肝素 5 000 IU,介入治疗前追加肝素 5 000 IU,此后手术时间每延长 1 h 则再追加肝素 2 500 IU。术后肝素或低分子肝素抗凝 3~5 d;长期口服肠溶阿司匹林 100 mg,每天 1 次;抵克力得 250 mg,每天 2 次,连服 2 周后,每天 1 次,再连服至少 2 周;无禁忌证者常规口服 β 受体阻滞剂、他汀类降脂药和血管紧张素转换酶抑制剂;根据临床情况应用升压药、降压药、硝酸酯类药、洋地黄制剂和利尿剂等。

1.3 标本采集 各组均清晨空腹静脉采血 4 mL,2 mL 注入试管中,3 000 r/min 离心 10 min,分离血清,-70 °C 保存(用于 sICAM-1、sVCAM-1 测定),2 mL 注入含有 20 μL 10% 乙二胺四乙酸二钾(EDTA- K_2) 试管中,轻轻混匀(用于 CD62p、CD11b 测定)。AMI 组分别于术后 30 min、2、6、12、24、72 h 再各采血 4 mL 检测,方法同上。

1.4 检测方法

1.4.1 sICAM-1、sVCAM-1 试剂盒 由美国 ENDOGEN 公司提供,瑞士 TECAN 全自动酶标仪测定,严格按试剂盒及仪器说明书操作。

1.4.2 CD62p、CD11b 采用美国 Beckman Coulter EPICS-XL 型流式细胞分析仪测定,试剂由美国 Beckman Coulter 公司提供。测定管中加入 CD11b-PE 或 CD62p-FITC,对照管加入鼠抗人 IgG1-PE 或鼠抗人 IgG1-FITC,当天测定。分别收集 1 万个中性粒细胞和 1 万个血小板,用 LYSYS-II 软件读取和分析,计算阳性细胞平均荧光强度(Mean Fluorescence Intensity, MFI)。

1.5 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组均数比较应用 t 检验,多组间均数比较采用方差分析,采用直线相关分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CAMs 表达 AMI 患者术前 4 种 CAMs 表达水平均明显高于对照组($P < 0.01$),术后 30 min AMI 组 CD62p 表达水平与术前相比明显下降($P < 0.05$),随之增高,至 12 h 达高峰,72 h 降为术前水平,CD11b 术后水平持续增高,12 h 达高峰,72 h 仍高于术前($P < 0.05$),而 AMI 组可溶性细胞间黏附分子(sICAM-1)、可溶性血管黏附分子(sVCAM-1)的术后表达

水平持续增高,但无明显峰值,见表 1。

2.2 各试验指标的相关分析 AMI 组术后 12 h CD62p 水平与 CD11b 的表达水平呈正相关($r = 0.673, P < 0.01$),而 sICAM-1 和 sVCAM-1 术后 24、72 h 的表达水平呈正相关($r = 0.562, r^2 = 0.557, P < 0.05$)。

3 讨论

动脉粥样硬化是一种炎症性疾病,CAMs 的表达增高又是白细胞激活、血小板活化的标志,本研究表明 AMI 患者术前 CD62p、CD11b、sICAM-1 和 sVCAM-1 表达水平即明显高于对照组($P < 0.01$)。PTCA 实际上是一种对血管产生损伤的治疗方法,通过高压球囊的反复扩张,可造成患者粥样斑块破裂和血栓碎裂脱落^[4],使血管内膜剥脱,内弹力板断裂。内皮下胶原暴露使血小板迅速活化,激活白细胞,炎症细胞趋化、黏附、浸润,通过一系列反应造成 MIRI。

3.1 CD62p、CD11b 与 MIRI CD62p 属于 CAMs 的选择素家族,是血小板膜颗粒糖蛋白,合成并贮存于静息的血小板 α 颗粒、内皮细胞(EC)的 Weibel-Paladed 小体;CD11b 为 β_2 整合素亚家族成员,可与多种配体(ICAM-1 和 VCAM-1)相互作用,在细胞间黏附和炎症反应中发挥重要作用。CD62p 的表达持续或增强可导致组织器官炎症免疫损伤及缺血。在组织缺氧和炎症介质如氧自由基、组胺、凝血酶、胶原等刺激下, α 颗粒和 Weibel-Palade 小体可迅速与质膜融合而于数分钟内 CD62p 即表达于血小板表面。它可启动白细胞与激活的血小板或损伤的内皮细胞黏附(可逆性黏附),形成微小血栓,阻塞血管管腔,形成无复流现象;还可通过旁分泌机制协同分泌血小板活化因子(PAF),促进白细胞上 CD11/CD18 表达上调,使细胞间黏附从可逆转为不可逆,使白细胞经内皮细胞游出血管内壁并释放组织因子和炎症因子等,对实质细胞造成损伤。Xu 等^[5]的研究认为,在心肌缺血再灌注过程中活化的血小板起重要的作用,而血小板衍生的 CD62p 则是关键性的介质。本研究系统显示了患者手术前后 CD62p 的动态表达,结果表明患者术前 CD62p 表达即非常显著高于对照组($P < 0.01$);术后 30 min 显著降低,随之逐渐升高,术后 12 h 达高峰,之后又逐渐下调,72 h 至术前水平。CD62p 水平在术后并不是一个持续升高过程,在术后 30 min 其水平显著降低,考虑与术中应用肝素和抵克力得有关,在术后 12 h 内患者仍处于肝素化状态,但其水平逐渐升高,说明 PTCA 导致血管内皮损伤、血小板活化和聚集性继发性增强,导致白介素-1(IL-1)、肿瘤坏死

因子(TNF)、PAF等细胞因子合成释放增加,中性粒细胞表达配体 ICAM-1、VCAM-1 和血小板 CD62p 等表达上调,从而使白细胞、血小板和血管内皮黏附增加,诱导血栓形成,心肌缺血缺氧,心肌电的不稳定性增加,血循环中儿茶酚胺及脂肪酸明显增加,影响心肌的自律性及应激性,易诱发心动过速和房性、室性心律失常。再灌注时中性粒细胞的大量聚集,“呼吸爆发”产生的大量氧自由基,触发心肌细胞凋亡,加重了 MIRI。PTCA 激活的中性粒细胞也可促进血小板活化及平滑肌细胞增殖,并可产生大量氧自由基,抑制内皮细胞产生 NO,NO 减少还可减弱对 CD11b 表达的抑制,反馈性地加强白细胞与内皮细胞的相互作用,引起血管收缩、平滑肌细胞增殖,促进再狭窄的发生^[6]。本研究结果显示,术后 12 h 中性粒细胞表面 CD11b 与血小板 CD62p 表达呈正相关($P < 0.01$),也验证了这一点,同时也表明本研究使用的抵克力得等药物未能完全抑制术后血小板的活性。外周血中性粒细胞激活及其与血管内皮的黏附是其介导的心脏损伤过程中的重要起始步骤。本研究结果发现,所有 AMI 患者 PTCA 前后 CD11b 的表达显著高于对照组;术后 CD11b 的表达水平较术前显著升高($P < 0.05$),术后 12 h 达高峰,之后逐渐下调,与文献报道相似^[5]。表明 PTCA 可导致急性炎症反应。

3.2 sICAM-1、sVCAM-1 与 MIRI ICAM-1 和 VCAM-1 同属 CAMs 中的免疫球蛋白超家族,主要在血管内皮细胞上表达。在 IL-1、TNF 和脂多糖(LPS)等炎症介质刺激后表达急剧增加,参与白细胞与血管内皮细胞黏附及自细胞向血管外迁移、黏附心肌细胞和释放细胞毒的过程,此过程是炎症的早期反应,血管损伤的关键步骤^[7-8]。血液中存在 sICAM-1 和 sVCAM-1 的形式,可能是由酶蛋白裂解细胞表面的 ICAM-1 脱落而成。有文献报道,血清中的 sICAM-1 和 sVCAM-1 水平与血管 EC 上的 ICAM-1 和 VCAM-1 的变化是平行的^[9]。测定它们的表达水平可作为评价 EC 上 ICAM-1 和 VCAM-1 的间接指标。ICAM-1 和 VCAM-1 介导白细胞激活,使其产生和释放氧自由基和血管活性物质(如白三烯、血小板活化因子等),引起血管内皮损伤,诱导血管收缩,加重心肌缺血缺氧,从而导致 AMI 进展、恶化;中性粒细胞通过 ICAM-1/VCAM-1 途径与心肌细胞黏附,直接释放细胞毒性介质,造成心肌损伤^[10]。在心肌缺血再灌注期间有大量炎性细胞特别是中性粒细胞在微血管出现聚集乃至堵塞中断血流,这是由于微血管内皮细胞与炎性细胞发生黏附反应的结果,其中内皮细胞表达的 ICAM-1 和 VCAM-1 在其中起了主要作用^[11-12]。本研究表明 PTCA 术后两者的表达水平较术前显著升高($P < 0.05$),术后表达水平均持续增强,但无明显峰值,提示 AMI 患者炎症反应持续存在。此外,PTCA 术时球囊对斑块挤压,斑块撕裂破损可使其中 sICAM-1 和 sVCAM-1 释放入血,可能是引起术后两者水平升高的原因之一。本研究所采取的抗血小板和 PTCA 再灌注治疗对两者均无明显抑制作用,反而刺激其表达增强。

综上所述,PTCA 引起患者血管 EC 损伤,引起急性炎症反应,CAMs 的表达异常增高,导致 MIRI。如何在临床实践中

从抑制 CAMs 的表达,动态观察其水平,从抗炎、去氧自由基等角度去预防 PTCA 术后 MIRI 仍是当前最值得深入研究的课题^[13]。

参考文献:

- [1] 李腾龙,王治忠,穆涛.急性心肌梗死患者早期干预过程中血浆 P 选择素水平的动态变化[J].中华老年心血管病杂志,2008,10(6):431-433.
- [2] 罗义,吕磊,李广镰,等.急性心肌梗死直接经皮冠状动脉介入术心肌再灌注损伤的发病因素分析[J].中华心血管病杂志,2005,33(8):691-694.
- [3] 陈玉国,孙祚,张运.急性心肌梗死再灌注损伤的研究进展[J].心血管病学进展,2006,27(5):634-636.
- [4] 张明德,曹应江,卜建学,等.盐酸替罗非班在急性 ST 段心肌梗死介入治疗中的应用[J].重庆医学,2009,38(13):1654-1656.
- [5] Xu Y, Huo Y, Toufektsian MC, et al. Activated platelets contribute importantly to myocardial reperfusion injury[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2006, 290(2): 692-699.
- [6] 杨大成,陈玉国,徐峰,等.络脉舒通对急性心肌梗死急诊经皮冠状动脉介入治疗患者再灌注损伤的作用[J].中国动脉硬化杂志,2007,15(1):57-60.
- [7] 王健兵,王东颖,刘荣红.急性心肌梗死静脉溶栓患者可溶性血管细胞黏附分子-1 及循环内皮细胞的变化及镁剂治疗的意义[J].中国临床医学,2008,15(5):599-601.
- [8] 杨玉双,吴金义,刘影.疏通注射液对急性心肌梗死患者经皮冠状动脉介入治疗后血浆可溶性细胞黏附分子-1 水平的影响[J].中国老年学杂志,2007,27(14):1401-1402.
- [9] Hwang SJ. Circulating adhesion molecules VCAM-1, ICAM-1 in carotid atherosclerosis and incident coronary heart disease cases[J]. Circulation, 2003, 96(4): 4219-4225.
- [10] Nikolopoulou A, Tousoulis D, Antoniadou C. Common community infections and the risk for coronary artery disease and acute myocardial infarction for chronic over-expression of tumor necrosis factor alpha and vascular cell adhesion molecule-1[J]. Int J Cardiol, 2008, 130(2): 246-250.
- [11] 常亮堂,张密霞,张艳军.内皮细胞黏附分子对心肌梗塞及心肌缺血再灌注损伤的影响[J].黑龙江医药,2008,21(1):48-50.
- [12] 刘兆川,沐贤友,郭海平,等.冠脉急诊 PCI 替罗非班的临床应用及血清黏附分子变化[J].重庆医学,2009,38(20):2559-2561.
- [13] 姚丹,刘仁光.心肌缺血后适应研究进展[J].心血管病学进展,2009,30(2):256-259.

(收稿日期:2011-04-09 修回日期:2011-05-12)