

## 通心络对急性心肌梗死患者 PCI 术后血清 EMPs 及 MMP-9 的影响\*

李红昆, 陆永光<sup>△</sup>, 严 华, 黄军章, 何东明, 仇昌智  
(广西壮族自治区钦州市第二人民医院心血管内科 535000)

**[摘要]** **目的** 探讨通心络胶囊对急性心肌梗死(AMI)患者接受急诊冠状动脉介入性治疗(PCI)治疗后血清内皮细胞微粒(EMPs)及基质金属蛋白酶 9(MMP-9)的影响。**方法** 选取该院 2012 年 1 月至 2014 年 12 月 AMI 并接受急诊 PCI 患者共 128 例,按数字随机法分为通心络组(A组,  $n=65$ )和常规治疗组(B组,  $n=63$ ),A组在B组基础上加用通心络胶囊 2 粒,每日 3 次。分别于急诊 PCI 术前及术后 7 d 抽血检测患者血清 EMPs 及 MMP-9。**结果** 与 B 组相比,A 组在治疗 7 d 后,血清 EMPs 和 MMP-9 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。AMI 患者血清 EMPs 和 MMP-9 呈正相关( $P<0.01$ )。**结论** 对于 AMI PCI 术后,在常规治疗基础上,通心络可以进一步抑制炎症反应,稳定斑块,改善内皮细胞功能的。

**[关键词]** 心肌梗死;冠状动脉疾病;基质金属蛋白酶 9;内皮细胞微粒;通心络

**[中图分类号]** R542.22

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-8348(2016)03-0354-02

**Influence of tongxinluo on blood endothelial microparticles and MMP-9 in patients with acute myocardial infarction after percutaneous coronary intervention\***

Li Hongkun, Lu Yongguang<sup>△</sup>, Yan Hua, Huang Junzhang, He Dongming, Qiu Changzhi  
(Department of Cardiology, the Second People's Hospital of Qinzhou City, Qinzhou, the Guangxi Zhuang Autonomous Region 535000, China)

**[Abstract]** **Objective** To study influence of tongxinluo on blood endothelial microparticles(EMPs) and matrix metalloproteinase-9(MMP-9) in patients with acute myocardial infarction after percutaneous coronary intervention(PCI). **Methods** One hundred and twenty-eight hospitalized patients with acute myocardial infarction after per-cutaneous coronary intervention were recruited from January 2012 to December 2014, All patients were randomly divided into tongxinluo group ( $n=65$ ) and control group (conventional treatment,  $n=63$ ). Tongxinluo group was on the basis of conventional treatment group with tongxinluo capsules 2 plus, 3 times a day. We detected the EMPs and MMP-9 of two groups preoperatively and on the 7th postoperatively day. **Results** Compared with the conventional treatment group, blood EMPs and MMP-9 in tongxinluo group were lower after 7 days treatment, the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). There was a positive correlation between the EMPs and MMP-9( $P<0.05$ ). **Conclusion** For patients with acute myocardial infarction after percu-taneous coronary intervention, tongxinluo could further inhibit inflammatory reaction, make the plaque stability and improve the function of endothelial cells on the basis of conventional treatment groups.

**[Key words]** myocardial infarction; coronary artery disease; matrix metalloproteinase-9; endothelial microparticles; tongxinluo

急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)多为冠状动脉粥样硬化基础上出现的斑块破裂及血栓形成所造成的。动脉粥样硬化病变的形成是动脉内膜内皮细胞对损伤作出的炎症-增生反映的结果。内皮细胞微粒(endothelial microparticles, EMPs)是内皮细胞受到各种刺激后从其表面释放的小囊泡,在冠心病中,EMPs 在一定程度上可反映血管内皮细胞的功能状态,且与冠心病的发展密切相关<sup>[1]</sup>。基质金属蛋白酶 9(matrix metallo proteinase-9, MMP-9)在体内主要参与细胞外基质的降解、重构及炎症反应,在冠心病中主要可影响斑块的稳定性<sup>[2]</sup>。本研究主要通过观察 AMI 患者冠状动脉介入性治疗(PCI)术前、术后患者血清 EMPs 及 MMP-9 的变化,以探讨通心络对 AMI PCI 术后患者内皮细胞的保护作用。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取本院 2012 年 1 月至 2014 年 12 月患有 AMI 并接受急诊 PCI 患者共 128 例,按随机数字法分为通心络组(A组,  $n=65$ )和常规治疗组(B组,  $n=63$ )。两组患者年龄,性别,吸烟,合并高血压、糖尿病等差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。A 组和 B 组在发病至再灌注时间、Killp 分级、支

架植入数量、药物治疗〔包括  $\beta$  受体阻滞剂、他汀类药物、血管紧张素转化酶抑制剂(ACEI)或血管紧张素受体抑制剂(ARB)]等方面比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 1。排除标准:严重感染;自身免疫疾病;使用免疫抑制剂;恶性肿瘤;甲状腺疾病和严重肝肾功能异常。

## 1.2 方法

**1.2.1 治疗方法** A、B 组入选患者均在入院后接受急诊 PCI,术前给予 300 mg 阿司匹林,300 mg 氯吡格雷,80 mg 阿托伐他汀钙片,术后给予低分子肝素、ACEI 或 ARB、 $\beta$ -受体阻滞剂、阿司匹林肠溶片、氯吡格雷片(波立维)、阿托伐他汀钙片等药物。A 组在此治疗基础上加用通心络胶囊 2 粒(每粒 0.26 g),每日 3 次。

**1.2.2 血样采集及检测** MMP-9 检测:采用酶联免疫吸附试验(ELISA)测试,试剂盒由武汉华美生物有限公司提供。取外周静脉血 5 mL,室温静置 30 min,3 000 r/min 离心 15 min 分离血清,留取上层血清在  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱中,3 个月内同批检测,操作按照说明书严格进行。EMPs 检测:治疗前后采集静脉血 3 mL 于真空枸橼酸盐抗凝管中,160 g 离心 10 min 获取富含血

小板血浆后,1 500 g 离心 6 min 获取血小板贫瘠血浆。取 50  $\mu$ L 血小板贫瘠血浆,加抗体 CD42-异硫氰酸荧光素 (FITC)、抗 CD31-藻红蛋白 (PE)0.5  $\mu$ g 或等量同型对照抗体 (PE 标记小鼠 IgG, FITC 标记小鼠 IgG, 美国 BD 公司),室温下孵育 20 min 后加 1 mL 磷酸盐缓冲液 (PBS),用流式细胞仪检测 EMPs 水平。检测过程在血样收集后 4 h 内完成。EMPs 定义为直径小于 1.0  $\mu$ m 且 CD31<sup>+</sup>/42<sup>-</sup> 阳性的微粒。

表 1 两组发病及治疗资料比较

项目	A 组 (n=65)	B 组 (n=63)	P
再灌注时间 ( $\bar{x} \pm s, h$ )	2.83 $\pm$ 0.54	2.61 $\pm$ 0.62	0.512
支架长度 ( $\bar{x} \pm s, mm$ )	20.10 $\pm$ 9.60	18.80 $\pm$ 10.50	0.392
支架直径 ( $\bar{x} \pm s, mm$ )	3.10 $\pm$ 0.25	2.90 $\pm$ 0.35	0.391
支架个数 ( $\bar{x} \pm s, )$	1.56 $\pm$ 0.56	1.35 $\pm$ 0.87	0.373
Killp 分级 [n(%)]			0.478
I 级	58(89.2)	54(85.7)	
II 级	6(9.2)	5(7.9)	
III 级	2(3.0)	4(6.3)	
IV 级	0(0)	0(0)	
$\beta$ 受体阻滞剂 [n(%)]	63(96.9)	59(93.6)	0.209
ACEI 或 ARB [n(%)]	50(76.9)	48(76.2)	0.538

1.3 统计学处理 采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组间比较采用两独立样本 *t* 检验,治疗前后比较采用配对 *t* 检验。计数资料以百分比或率表示,采用  $\chi^2$  检验。相关分析采用 Spearman 相关分析。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组血清中 EMPs 及 MMP-9 水平比较 PCI 术后 7 d, A 组及 B 组血清中 EMPs 及 MMP-9 水平均明显低于 PCI 术前 ( $P < 0.01$ ),其中, A 组血清 EMPs 及 MMP-9 水平低于 B 组 ( $P < 0.05$ ),见表 2。

表 2 两组血清中 EMPs 及 MMP-9 水平比较

组别	n	EMPs(个/ $\mu$ L)		MMP-9(mg/L)	
		PCI 术前	治疗 7 d 后	PCI 术前	治疗 7 d 后
A 组	65	1 506.2 $\pm$ 148.4	812.2 $\pm$ 102.8 <sup>ab</sup>	24.2 $\pm$ 3.8 <sup>a</sup>	14.1 $\pm$ 2.9 <sup>ab</sup>
B 组	63	1 450.8 $\pm$ 138.2	1 063.6 $\pm$ 117.3 <sup>a</sup>	23.6 $\pm$ 4.1	17.8 $\pm$ 3.4 <sup>a</sup>

a:  $P < 0.01$ ,与 PCI 术前比较; b:  $P < 0.05$ ,与 B 组比较。

2.2 EMPs 及 MMP-9 相关性分析 分别对 AMI 患者 PCI 术前及 PCI 术后 7 d,血清 MMP-9 与 EMPs 进行相关分析。结果显示,PCI 术前血清 MMP-9 与 EMPs 呈正相关 ( $r = 0.738, P < 0.01$ ),PCI 术后 7 d 血清 MMP-9 与 EMPs 呈正相关 ( $r = 0.588, P < 0.01$ )。

3 讨 论

EMPs 是内皮细胞被激活或者凋亡的产物,内皮细胞受到缺氧及多种炎性介质的刺激后便开始在刺激部位出现钙离子聚集,并激活钙蛋白酶使踝蛋白降解导致细胞骨架裂解并重组,使内皮细胞出芽形成 EMPs<sup>[1]</sup>。在冠心病及其他伴有内皮功能障碍的心血管疾病中,EMPs 均有明显的增高<sup>[2]</sup>。EMPs 不仅可反应内皮细胞炎症和功能障碍,而且可反过来作用于内皮细胞,进一步加重内皮功能失调,内皮细胞被激活后表达大量黏附分子,使得外周的单核细胞易于附着并迁移入血管内膜,促使各种炎性介质及细胞因子分泌,进一步加重血管内膜

炎性反应,促进动脉粥样硬化的发生、发展<sup>[3-4]</sup>。

MMP-9 是一种可由多种细胞如中性粒细胞、单核巨噬细胞、血管平滑肌细胞及内皮细胞分泌的明胶酶,在细胞外基质的降解及重构过程中起重要作用。研究证实,在冠心病中,尤其是不稳定斑块内易发生破裂斑块肩部区域 MMP-9 活性明显增加, MMP-9 可使斑块胶原纤维降解,纤维帽变薄,从而影响斑块的稳定性<sup>[5-6]</sup>。

本研究中,AMI 后患者 PCI 术后 7 d 较术前,血清 MMP-9 和 EMPs 水平可明显降低 ( $P < 0.01$ ),且 MMP-9 和 EMPs 存在明显的直线相关。可能为随着动脉粥样硬化斑块内炎症细胞及炎性因子逐渐加重,不断分泌大量的 MMP-9,在冠心病中主要由巨噬细胞分泌<sup>[7]</sup>。MMP-9 的分泌增多会导致细胞外基质的降解和纤维帽的变薄,增加斑块的不稳定性,不稳定斑块破裂后导致 AMI,AMI 进一步加重内皮细胞缺血缺氧,释放大量的 EMPs,EMPs 又反作用于内皮细胞,加重内皮细胞功能障碍,促使各种炎性介质及细胞因子大量分泌<sup>[8-9]</sup>。因此,EMPs 和 MMP-9 与冠心病患者内皮细胞功能状态和炎性反应密切相关。

通心络是依据传统中药的络病理理论而制成的用于治疗缺血性心脑血管疾病的中药复方制剂,具有增强内皮细胞功能、抑制炎症、阻止动脉粥样硬化和促进血管新生的作用。体外研究证实,通心络可以通过 PI-3K/Akt/HIF 依赖的信号通路,作用于内皮细胞上调内皮型一氧化氮合酶 (eNOS),以及抑制内皮骨架蛋白损伤,保持内皮细胞结构和功能的完整性,进而改善内皮细胞功能<sup>[10-11]</sup>。还可以通过腺苷酸活化蛋白激酶 (AMPK) 途径修复了内皮细胞中被软脂酸抑制的抗氧化系统,使硫氧还原蛋白表达增加,增加内皮细胞的抗氧化能力,抑制氧化低密度脂蛋白促进树突状细胞的分化和成熟,使其吞噬能力及分泌细胞因子的活性减弱,减少系统性炎症及局部炎症因子的表达,增加斑块稳定性<sup>[12-13]</sup>。本试验研究结果显示,PCI 术后 7 d 血清 MMP-9 和 EMPs 水平均较术前明显降低 ( $P < 0.01$ ),且 A 组中 EMPs 和 MMP-9 水平较 B 组下降更加显著 ( $P < 0.05$ ),可能与通心络通过 AMPK 途径修复细胞的抗氧化系统,减少炎症细胞及炎性因子的释放,从而减少了 MMP-9 的分泌。另外,通心络也可上调细胞中 eNOS,而 EMPs 正是通过影响内皮细胞 eNOS 的生成,损伤内皮骨架蛋白,通心络可以起到有效抑制和修复作用,减少对内皮细胞的损害<sup>[14-15]</sup>。因此通心络可以在常规药物治疗基础上进一步抑制内皮细胞炎性反应,改善内皮细胞功能,增强斑块稳定性。

综上所述,EMPs 和 MMP-9 与冠心病的发展有着密切的关系,及时检测血清 EMPs 和 MMP-9 水平不仅可反应冠心病患者血管内细胞的功能状态,而且可评估药物治疗过程中疗效。

参考文献

[1] Smadja DM, Gaussem P, Mauge L, et al. Comparison of endothelial biomarkers according to reversibility of pulmonary hypertension secondary to congenital heart disease[J]. *Pediatr Cardiol*, 2010, 31(5): 657-662.

[2] Cui Y, Zheng L, Jiang M, et al. Circulating microparticles in patients with coronary heart disease and its correlation with interleukin-6 and C-reactive protein[J]. *Mol Biol Rep*, 2013, 40(11): 6437-6442.

[3] 陆永光,符春晖,严华,等.阿托伐他汀对内皮细胞微粒诱导人脐静脉内皮细胞 VCAM-1 和 ICAM-1 表达的影响[J]. *中国医院药学杂志*, 2012, 32(4): 286-289. (下转第 361 页)

- the expression of p21(Cip1/WAF1) and p27 (Kip1)[J]. *Cell Oncol (Dordr)*, 2013, 36(1):79-93.
- [7] Essafi-Benkhadir K, Grosso S, Puissant A, et al. Dual role of Sp3 transcription factor as an inducer of apoptosis and a marker of tumour aggressiveness[J]. *PLoS One*, 2009, 4(2):e4478.
- [8] Shiraha H, Yamamoto K, Namba M. Human hepatocyte carcinogenesis (review) [J]. *Int J Oncol*, 2013, 42(4):1133-1138.
- [9] Koga H, Tsedensodnom O, Tomimaru Y, et al. Loss of the SxxSS motif in a human T-cell factor-4 isoform confers hypoxia resistance to liver cancer; an oncogenic Switch in Wnt signaling[J]. *PLoS One*, 2012, 7(6):e39981.
- [10] Liu G, Jiang S, Wang C, et al. Zinc finger transcription factor 191, directly binding to  $\beta$ -catenin promoter, promotes cell proliferation of hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*, 2012, 55(6):1830-1839.
- [11] Li ZQ, Ding W, Sun SJ, et al. Cyr61/CCN1 is regulated by Wnt/ $\beta$ -catenin signaling and plays an important role in the progression of hepatocellular carcinoma [J]. *PLoS One*, 2012, 7(4):e35754.
- [12] Guan CN, Chen XM, Lou HQ, et al. Clinical significance of axin and  $\beta$ -catenin protein expression in primary hepatocellular carcinomas[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2012, 13(2):677-681.
- [13] Kojima N, Saito H, Nishikawa M, et al. Lithium induces c-Ret expression in mouse inner medullary collecting duct cells[J]. *Cell Signal*, 2011, 23(2):371-379.
- [14] Pathi S, Jutooru I, Chadalapaka G, et al. Aspirin inhibits colon cancer cell and tumor growth and downregulates specificity protein (Sp) transcription factors [J]. *PLoS One*, 2012, 7(10):e48208.
- [15] Dunty WC, Kennedy MW, Chalamalasetty RB, et al. Transcriptional profiling of Wnt3a mutants identifies Sp transcription factors as essential effectors of the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway in neuromesodermal stem cells [J]. *PLoS One*, 2014, 9(1):e87018.
- [16] Ho CM, Lee PH, Shau WY, et al. Survival in patients with recurrent hepatocellular carcinoma after primary hepatectomy: comparative effectiveness of treatment modalities [J]. *Surgery*, 2012, 151(5):700-709.
- [17] Jepsen P, Ott P, Andersen PK, et al. Risk for hepatocellular carcinoma in patients with alcoholic cirrhosis: a Danish nationwide cohort study [J]. *Ann Intern Med*, 2012, 156(12):841-847.

(收稿日期:2015-08-08 修回日期:2015-10-16)

(上接第 355 页)

- [4] Stępień E, Stankiewicz E, Zalewski J, et al. Number of microparticles generated during acute myocardial infarction and stable angina correlates with platelet activation [J]. *Arch Med Res*, 2012, 43(1):31-35.
- [5] Tanner RM, Lynch AI, Brophy VH, et al. Pharmacogenetic associations of MMP9 and MMP12 variants with cardiovascular disease in patients with hypertension [J]. *PLoS One*, 2011, 6(8):e23609.
- [6] Deleon-Pennell KY, De Castro Brás LE, Iyer RP, et al. P. gingivalis lipopolysaccharide intensifies inflammation post-myocardial infarction through matrix metalloproteinase-9 [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2014, 76(18):218-226.
- [7] Springall R, Amezcua-Guerra LM, Gonzalez-Pacheco H, et al. Interferon-gamma increases the ratio of matrix metalloproteinase-9/tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in peripheral monocytes from patients with coronary artery disease [J]. *PLoS One*, 2013, 8(8):e72291.
- [8] Kulickowski W, Urbaniak J, Hallén J, et al. Matrix metalloproteinases and the activity of their tissue inhibitors in patients with ST-elevation myocardial infarction treated with primary an-gioplasty [J]. *Kardiol Pol*, 2013, 71(5):453-463.
- [9] Guo JL, Yang YN, Ma YT, et al. Values of matrix metalloproteinase-9 in early diagnosis and short-term prognosis of ST-segment elevation myocardial infarction [J]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 2012, 92(38):2681-2684.
- [10] 梁俊清, 徐海波, 陈小娟, 等. 通心络通过 PI-3K/Akt/HIF 信号通路改善血管内皮细胞缺氧损伤 [J]. *中国病理生理杂志*, 2012, 32(5):846-851.
- [11] 段炼, 杨跃进, 张海涛, 等. 猪急性心肌梗死再灌注后氧化应激损伤及通心络的保护作用 [J]. *中国病理生理杂志*, 2010, 13(3):430-434.
- [12] Wang B, Yang Q, Bai WW, et al. Tongxinluo protects against pressure overload-induced heart failure in mice involving VEGF/Akt/eNOS pathway activation [J]. *PLoS One*, 2014, 9(6):e98047.
- [13] Su W, Sun A, Xu D, et al. Tongxinluo inhibits oxidized low-density lipoprotein-induced maturation of human dendritic cells via activating peroxisome proliferator-activated receptor gamma pathway [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2010, 56(2):177-183.
- [14] Zhang L, Wu Y, Jia Z, et al. Protective effects of a compound herbal extract (Tong Xin Luo) on free fatty acid induced endothelial injury: implications of antioxidant system [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2008, 8(8):39.
- [15] Bai WW, Xing YF, Wang B, et al. Tongxinluo improves cardiac function and ameliorates ven-tricular remodeling in mice model of myocardial infarction through enhancing angiogenesis [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013(2):813247.

(收稿日期:2015-08-08 修回日期:2015-10-26)