

通心络对不稳定型心绞痛患者循环内皮微粒的影响

陆永光, 符春晖, 严 华, 陈湘桂, 黄军章

(广西钦州市第二人民医院心内科, 广西 钦州 535000)

【摘要】 目的 观察通心络对循环血内皮微粒(EMPs)和可溶性细胞间黏附分子-1(sICAM-1)的影响,并探讨 EMPs 和 sICAM-1 作为评价不稳定型心绞痛(UA)患者内皮炎症和损伤程度的可行性。**方法** 将 72 例 UA 患者随机分为常规治疗组(38 例)和通心络组(34 例),另以 24 例健康者作为对照组。常规治疗组给予常规西药治疗;通心络组在常规治疗基础上加用通心络胶囊 4 粒、每日 3 次;两组均治疗 4 周。于治疗前后采集患者静脉血,用流式细胞仪(FCM)测定血中 EMPs 水平,用酶联免疫吸附法(ELISA)测定血中 sICAM-1 水平;并分析 EMPs 与 sICAM-1 的相关性。**结果** 通心络组和常规治疗组治疗前 EMPs 和 sICAM-1 水平均明显高于健康对照组。治疗 4 周后,两组 EMPs 和 sICAM-1 水平虽仍高于健康对照组,但均较治疗前明显下降,且通心络组较常规治疗组下降更为明显[EMPs(个/ μ L):693.2(496.7~1 043.2)比 905.3(646.1~1 304.7);sICAM-1(μ g/L):178.4(148.3~254.7)比 237.4(173.6~308.4),均 $P<0.05$]。EMPs 与 sICAM-1 呈显著正相关($r=0.827, P<0.01$)。**结论** 通心络可明显降低 UA 患者 EMPs 和 sICAM-1 水平,其作用与稳定冠状动脉粥样硬化斑块和抑制内皮炎症有关;EMPs 对评价 UA 患者冠状动脉粥样硬化斑块稳定性及内皮炎症反应和损伤程度具有一定临床意义。

【关键词】 通心络; 不稳定型心绞痛; 内皮微粒; 细胞间黏附分子

中图分类号:R285.6;R541.4 文献标识码:A DOI:10.3969/j.issn.1008-9691.2011.01.015

Effect of Tongxinluo (通心络) on endothelial micro-particles in patients with unstable angina LU Yong-guang, FU Chun-hui, YAN Hua, CHEN Xiang-gui, HUANG Jun-zhang. Department of Cardiology, the Second People's Hospital of Qinzhou, Qinzhou 535000, Guangxi, China

【Abstract】 Objective To explore the effect of Tongxinluo (通心络) on endothelial micro-particles (EMPs) and soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1) in circulatory blood, and to determined the feasibility of EMPs and sICAM-1 as specific markers of endothelial inflammation and dysfunction in patients with unstable angina (UA). **Methods** Seventy-two patients with UA were randomly divided into conventional treatment group (38 cases) and Tongxinluo group (34 cases), and 24 healthy subjects were enrolled as control group in the study. The conventional treatment group was treated with conventional western medicine only, while the Tongxinluo group received additional Tongxinluo capsule 4 pills, three times a day. The course of treatment in both groups was 4 weeks. Before and after the treatment, the venous blood was collected and the level of EMPs was measured by flow cytometry, while the level of sICAM-1 was tested by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) in all the cases. A correlation analysis was conducted between EMPs and sICAM-1. **Results** Compared with the control group, Tongxinluo group and conventional treatment group had higher levels of EMPs and sICAM-1 before treatment. Though the levels of EMPs and sICAM-1 in both treatment groups were still significantly higher than those in control group, decreased obviously after 4-week treatment, and the decreasing extent of EMPs and sICAM-1 in Tongxinluo group was greater than that in conventional treatment group [EMPs (counts/ μ L): 693.2 (496.7 - 1 043.2) vs. 905.3 (646.1 - 1 304.7), sICAM-1 (μ g/L): 178.4 (148.3 - 254.7) vs. 237.4 (173.6 - 308.4), both $P<0.05$]. The EMPs was significantly positively correlated with sICAM-1 ($r = 0.827, P<0.01$). **Conclusion** Tongxinluo may significantly reduce the levels of EMPs and sICAM in patients with UA, and it can be concluded tentatively that stabilizing the coronary vulnerable plaque and inhibiting the endothelial inflammatory reaction are some of the mechanisms. EMPs may be of clinical significance to evaluate the stability of plaque and the endothelial inflammation and dysfunction in patients with UA.

【Key words】 Tongxinluo; Unstable angina; Endothelial micro-particle; Intercellular adhesion molecule

冠状动脉(冠脉)粥样硬化斑块破裂和血栓形成是不稳定型心绞痛(UA)的病理基础,而冠脉内皮炎症在粥样硬化斑块的发生发展和斑块不稳定性中起重要作用。可溶性细胞间黏附分子-1(sICAM-1)等炎症反应标志物可反映冠脉粥样硬化斑块稳定性及内皮炎症反应和损伤程度,循环内皮脂酶阳性细胞可作为冠心病临床预后的预测因子^[1-3]。内皮微粒

(EMPs)是内皮细胞在各种病理因素刺激下激活或凋亡所释放出的微小囊泡,可有效反映内皮结构的完整性和功能状态^[4]。通心络具有抑制冠脉内皮炎症、改善内皮功能、稳定易损斑块的作用^[5]。本研究通过观察通心络对循环血 EMPs 和 sICAM-1 的影响,以及 EMPs 与内皮炎症标志物 sICAM-1 的相互关系,以进一步探讨通心络抑制冠脉内皮炎症、改善内皮功能的机制,评价 EMPs 作为反映 UA 患者冠脉内皮炎症反应和损伤程度指标的可行性。

作者简介:陆永光(1977-),男(汉族),广西壮族自治区人,医学博士,主治医师。

1 资料与方法

1.1 一般资料:2009 年 7 月至 2010 年 6 月本院初诊的 UA 患者 72 例,男 44 例,女 28 例;年龄 37~76 岁,平均(61.3±10.5)岁。根据入院顺序按随机数字表法将患者分为常规治疗组(38 例)和通心络组(34 例)。以 24 例健康体检者为对照组,男 15 例,女 9 例;年龄 35~69 岁,平均(58.4±11.2)岁。病例纳入参照 2000 年中华医学会心血管病学分会 UA 的诊断标准。排除恶性肿瘤、严重感染、严重肝肾功能不全、心肌病及心肌炎、妊娠、结缔组织疾病、内分泌系统疾病及自身免疫性疾病患者。

1.2 治疗方法:常规治疗组给予低分子肝素、β-受体阻滞剂、血管紧张素转换酶抑制剂(ACEI)、阿司匹林、氯吡格雷、他汀类药物等。通心络组在常规治疗基础上加用通心络胶囊 4 粒口服(每粒 0.38 g),每日 3 次。两组均治疗 4 周。

1.3 观察指标及方法

1.3.1 血浆 EMP 检测:治疗前后采集静脉血 3 ml 于真空枸橼酸盐抗凝试管中,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 μl 血小板贫瘠血浆,加抗 CD42-异硫氰酸荧光素(FITC)、抗 CD31-藻红蛋白(PE)0.5 μg 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(美国 Beckman Coulter 公司)检测 EMP 水平。检测过程在血样收集后 4 h 内完成。EMP 定义为直径小于 1.0 μm 且 CD31⁺/CD42⁻阳性的微粒。

1.3.2 血清 sICAM-1 检测:治疗前后采集静脉血 2 ml,静置 20 min,离心取血清,置于-80 ℃冰箱保存待测。采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测,试剂盒由美国 Biosource 公司提供,操作严格按试剂盒说明书进行。

1.4 统计学方法:应用 SPSS 13.0 统计软件进行分析。正态分布的计量数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 *t* 检验;非正态分布数据以中位数(*M*,范

围)表示,采用 Mann-Whitney *U* 检验及 Wilcoxon 秩和检验。计数资料以频数及构成比表示,采用 χ^2 检验。采用 Spearman 相关分析。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者一般情况比较(表 1):常规治疗组和通心络组性别、年龄、吸烟史、家族史以及原发性高血压、糖尿病、血脂异常情况和常规治疗情况等比较差异均无统计学意义(均 *P*>0.05),有可比性。

2.2 血浆 EMP 水平比较(表 2):常规治疗组和通心络组治疗前血 EMPs 水平明显高于健康对照组(均 *P*<0.01);两组治疗后血 EMPs 水平虽仍高于健康对照组(*P*<0.01),但较治疗前明显下降,且通心络组较常规治疗组下降更为明显(均 *P*<0.05)。

表 2 各组血浆 EMPs 水平比较[*M*(范围)] 个/μl

组别	例数	治疗前	治疗后
健康对照组	24	375.4(217.5~532.9)	
常规治疗组	38	1 324.3(834.4~1 975.9) ^a	905.3(646.1~1 304.7) ^{ab}
通心络组	34	1 298.8(793.6~2 034.7) ^a	693.2(496.7~1 043.2) ^{abc}

注:与健康对照组比较,^a*P*<0.01;与本组治疗前比较,^b*P*<0.05;与常规治疗组比较,^c*P*<0.05;空白代表无此项

2.3 血清 sICAM-1 水平比较(表 3):通心络组和常规治疗组治疗前血 sICAM-1 水平均明显高于健康对照组(均 *P*<0.01);两组治疗后血 sICAM-1 水平虽仍高于健康对照组(*P*<0.01),但均较治疗前明显下降,且通心络组较常规治疗组下降更为明显(均 *P*<0.05)。

表 3 各组血清 sICAM-1 水平比较[*M*(范围)] μg/L

组别	例数	治疗前	治疗后
健康对照组	24	102.4(83.2~127.6)	
常规治疗组	38	542.4(365.8~795.3) ^a	237.4(173.6~308.4) ^{ab}
通心络组	34	537.7(378.4~784.9) ^a	178.4(148.3~254.7) ^{abc}

注:与健康对照组比较,^a*P*<0.01;与本组治疗前比较,^b*P*<0.05;与常规治疗组比较,^c*P*<0.05;空白代表无此项

2.4 EMPs 与 sICAM-1 的相关性分析:EMP 与 sICAM-1 呈显著正相关(*r*=0.827,*P*<0.01)。

表 1 两组患者一般情况、合并症及药物治疗情况比较

组别	例数	性别(例)		年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁)	吸烟史 [例(%)]	家族史 [例(%)]	合并症[例(%)]		
		男	女				原发性高血压	糖尿病	血脂异常
常规治疗组	38	24	14	60.3±12.3	15(39.5)	7(18.4)	19(50.0)	13(34.2)	14(36.8)
通心络组	34	20	14	62.5±10.9	12(35.3)	4(11.8)	16(47.1)	10(29.4)	13(38.2)
药物治疗情况[例(%)]									
组别	例数	阿司匹林		氯吡格雷	低分子肝素	β-受体阻滞剂	ACEI	他汀类药物	
常规治疗组	38	36(94.7)		30(78.9)	35(92.1)	30(78.9)	26(68.4)	34(89.5)	
通心络组	34	33(97.1)		28(82.4)	33(97.1)	29(85.3)	21(61.8)	32(94.1)	

3 讨论

冠脉内皮炎症反应在 UA 的发生发展中起重要作用,内皮炎症介导的斑块破裂是发生 UA 的重要机制。血管内皮细胞或其他细胞表面的 ICAM-1 脱落进入血液成为 sICAM-1。研究表明,sICAM-1 在 UA 患者循环血中的增加,可以客观反映内皮炎症在粥样硬化斑块形成中的重要作用和斑块稳定性^[1,6]。EMP 作为内皮细胞激活和凋亡的产物,可以反映内皮结构完整性和功能状态。研究表明,冠心病患者血浆 EMPs 水平可作为评估内皮功能障碍和炎症反应程度的指标,并且是冠心病患者发生不良心血管事件的独立预测因子^[4]。本研究结果显示,UA 患者血中 EMPs 和 sICAM-1 水平明显升高,且 EMPs 与 sICAM-1 呈明显正相关,表明内皮炎症反应在 UA 发生和斑块不稳定性中起重要作用。炎症反应造成的内皮损伤和功能障碍是 UA 患者 EMPs 产生的主要机制,EMP 的升高与冠脉内皮炎症反应严重程度明显相关。因此,EMP 可作为反映 UA 患者内皮炎症和功能障碍的有用指标。

中成药通心络具有益气活血、通络止痛的作用。研究表明,通心络不但具有抑制血小板聚集、降低凝血酶活性和纤维蛋白原水平,改善 UA 患者高凝状态的作用^[7],而且可有效调节 UA 患者的血脂^[8],抑制冠心病患者内皮炎症反应,稳定粥样硬化斑块^[9],扩张冠脉,改善冠脉微循环功能障碍和心肌供血,从而减轻心肌损伤^[10]。本研究显示,通心络组治疗后 EMPs 和 sICAM-1 下降水平较常规治疗组更明显,可能与通心络在他汀类和 ACEI 类药物抑制内皮炎症、改善内皮功能作用基础上进一步抑制了内皮炎症反应、稳定斑块、改善内皮功能障碍,从而减少 EMPs 的释放有关;同时,EMP 与 sICAM-1 呈明显相关性也表明 EMP 可以作为通心络治疗后 UA 患者内皮炎症反应程度评价和内皮功能改善的疗效指标。

EMP 在从内皮细胞释放过程中,携带了多种生物活性物质,因此可以作为细胞介质和黏附分子的有效载体,介导细胞信号的转导和效能的发挥。研究表明,EMP 可通过核转录因子- κ B(NF- κ B)介导的转导通路促使内皮细胞表达炎症细胞因子,还可损害并加重内皮功能障碍,从而影响血管的舒张功能,其机制与抑制一氧化氮(NO)合成有关^[11-12]。而通心络则可通过抑制 NF- κ B 介导的转导通路,减少内皮 ICAM-1 和血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)的表达^[13],通过增加内皮型一氧化氮合酶(eNOS)的

表达,从而增加 NO 的合成,改善内皮舒张功能^[14]。EMP 的内皮损害作用和通心络的内皮保护作用存在着共同的细胞信号转导机制。通心络不但可以通过抑制内皮炎症,改善内皮功能,减少 EMP 的释放,还可能通过抑制已经生成 EMP 的功能,减轻其对内皮的损害作用。因此,EMP 不但是 UA 患者内皮炎症反应和功能障碍的标志物,还是潜在的治疗目标。

参考文献

- [1] Postadzhiyan AS, Tzontcheva AV, Kehayov I, et al. Circulating soluble adhesion molecules ICAM-1 and VCAM-1 and their association with clinical outcome, troponin T and C-reactive protein in patients with acute coronary syndromes. Clin Biochem, 2008, 41(3): 126-133.
- [2] 方玉强, 黄岚, 李爱民, 等. 循环内皮脂酶阳性细胞比例与超敏 C-反应蛋白在冠心病患者临床预后中的作用. 中国危重病急救医学, 2007, 19(11): 644-646.
- [3] 张建平, 冯利民, 王焕玲. C-反应蛋白在冠心病中医辨证论治中的研究概况. 中国中西医结合急救杂志, 2010, 17(3): 190-192.
- [4] Nozaki T, Sugiyama S, Koga H, et al. Significance of a multiple biomarkers strategy including endothelial dysfunction to improve risk stratification for cardiovascular events in patients at high risk for coronary heart disease. J Am Coll Cardiol, 2009, 54(7): 601-608.
- [5] Chen WQ, Zhong L, Zhang L, et al. Chinese medicine tongxinluo significantly lowers serum lipid levels and stabilizes vulnerable plaques in a rabbit model. J Ethnopharmacol, 2009, 124(1): 103-110.
- [6] Damnjanović G, Jelić M, Dindić B, et al. Serum concentration of soluble adhesive molecules in patients with different forms of coronary artery disease. Vojnosanit Pregl, 2009, 66(4): 265-270.
- [7] 华浩明, 王灿晖, 杨进. 不稳定型心绞痛的研究进展及中医药防治概况. 中国中西医结合急救杂志, 2003, 10(2): 123-126.
- [8] 杨春娟. 通心络对不稳定型心绞痛患者血脂影响的临床观察. 中国中西医结合急救杂志, 2004, 11(4): 238.
- [9] 马琦琳, 张赛丹, 宁阳根, 等. 通心络对急性冠脉综合征介入治疗患者内皮功能和高敏 C 反应蛋白的影响. 中南大学学报(医学版), 2009, 34(6): 550-554.
- [10] 张海涛, 杨跃进, 吴以岭, 等. 通心络预防给药 2 小时对猪急性心肌梗死再灌注后心肌微血管内皮结构完整和不再流的保护作用. 中华医学杂志, 2009, 89(20): 1421-1425.
- [11] Lok CA, Böing AN, Reitsma PH, et al. Expression of inflammation-related genes in endothelial cells is not directly affected by microparticles from preeclamptic patients. J Lab Clin Med, 2006, 147(6): 310-320.
- [12] Wang JM, Huang YJ, Wang Y, et al. Increased circulating CD31⁺/CD42 microparticles are associated with impaired systemic artery elasticity in healthy subjects. Am J Hypertens, 2007, 20(9): 957-964.
- [13] 吴以岭, 游佳华, 袁国强, 等. 通心络超微粉对高脂饮食兔胸主动脉 NF- κ B、胞间黏附分子 1 及血管细胞黏附分子 1 表达的影响. 中华心血管病杂志, 2007, 35(3): 271-274.
- [14] 韩玉莲, 程超, 谭红梅, 等. 通心络超微粉对大鼠脉络结缔组织的通路效应及其作用机制. 中国中药杂志, 2007, 32(22): 2404-2408, 2426.

(收稿日期: 2010-11-06)

(本文编辑: 李银平)