



**主管**  
中华人民共和国国家  
卫生健康委员会

**主办**  
中国医师协会

**编辑**  
疑难病杂志编辑委员会

**顾问**  
王永炎 张运 李春岩 张伯礼  
葛均波 于金明 张英泽 刘良  
王琦 丛斌 黄璐琦 李佃贵

**名誉总编辑**  
吴以岭

**总编辑**  
贾振华

**社长 主编**  
马智

**出版**  
疑难病杂志社  
050035 石家庄市天山大街238号  
电话(传真):(0311)85901735  
E-mail: ynbzz@163.com  
网址: http://www. ynbzz. com

**印刷**  
石家庄市汇昌印刷有限公司

**发行范围**  
国内外公开发行  
国内: 中国邮政集团有限公司  
河北省分公司  
国外: 中国国际图书贸易集团  
有限公司  
(北京399信箱, 100044)  
代号: DK 13017

**订购**  
全国各地邮电局  
邮发代号: 18-187  
网址: http://bk. 11185. cn

**零售**  
疑难病杂志编辑部

**广告发布登记号**  
石高新 13010120190001号

**定价**  
每期12.00元 全年144.00元

**中国标准连续出版物号**  
ISSN 1671-6450  
CN 13-1316/R

2021年版权归疑难病杂志社所有

本刊刊出的所有文章不代表本刊编委会的观点, 除非特别声明; 未经本刊编辑部许可, 不得任意转载和摘编; 本刊如有印刷问题, 请向本社调换

### 目次

#### 心血管系统疾病

重组人脑利钠肽联合呋塞米对急性心肌梗死患者血清 MMP-2、GDF-15、CYR61 水平的影响	唐细梅 张志能 肖纯 熊琼 肖春霞 325
急性冠状动脉综合征患者血浆 miR-133a、miR-208b 表达水平及其与心肌损伤和冠状动脉病变程度的相关性	何亚磊 魏引 蔡叶锐 普永红 洪琴 329
老年慢性心力衰竭患者血浆 Sestrin2、sFKN、suPAR 水平与心功能及心脏事件的相关性	黄守莲 梁超 詹洮 颜治 淡雪川 334
阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征对老年冠心病患者短期全因死亡的影响	谢学刚 何芬 张苗 张松林 和旭梅 339
Th 细胞分化特异性转录因子在低体质量先天性心脏病患儿肺血流异常发病机制中的作用	金立臣 温林林 韩喆 张雪杰 姚俊平 宋海龙 陶曙光 344
左西孟旦对脓毒症心肌抑制患者左心室收缩功能、血流动力学及心肌损伤标志物水平的影响	刘红娟 耿静 何志红 郎哲 孟文格 胡晓宁 348
儿茶素基于 MEK/ERK 信号通路对老年冠心病大鼠内皮功能的作用机制研究	周慧 雷玉华 张复贵 杨淑蓉 华晓芳 黄晶 353
麝香保心丸对小鼠动脉粥样硬化的作用及机制研究	刘盛祥 黄宇鹏 金红艳 杨国康 358

## 论著·临床

- 银杏叶提取物联合天麻素注射液对血管源性眩晕患者动脉血流速度、血管内皮功能及溶血磷脂酸、酸性磷脂水平的影响..... 刘欣 王晓芳 吴延佳 吉智 慧晶 363
- 复发型吉兰—巴雷综合征临床特征及其复发预测因子分析  
..... 陈雪婷 郑惠文 张琪 刘洁 张作慧 刘永海 368
- 中性粒细胞与淋巴细胞计数比值在诊断呼吸机相关性肺炎中的应用  
..... 罗彬 林爽 杨健 方喆琦 马骏麒 373
- 儿童血流感染病原菌分布情况及 mNAP、Presepsin、TREM-1 的早期预测价值  
..... 刘新光 李清涛 张玉东 贾永萍 378
- 白塞综合征 20 例临床特征及心血管影像学分析 ..... 杨琳 赵蕾 徐超 毕涛 慈维革 万瑾 383
- 催产素受体基因多态性与分娩方式关系的初步研究..... 吕青青 张洪影 孙丽芳 丁楠 徐宇菲 鄂文 386

## 论著·基础

- 薏苡仁提取物经 PDGFB/PDGFR $\beta$  信号通路对口腔鳞癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响  
..... 王鹏 何健民 王军 高维岳 391
- 二甲双胍对非酒精性脂肪性肝病细胞模型内质网应激与自噬的影响  
..... 吴晓曼 张敏 田甜 李明 廖星辰 谭诗云 396

## 罕见病例

- C10orf2 基因突变引起的线粒体 DNA 耗竭综合征 1 例 ..... 张萌 杨言慧 李凡 张思瑾 402
- 右冠状动脉编织样变合并后降支闭塞 1 例 ..... 郑在勇 胡厚祥 曾建辉 吕湛 岳荣川 403

## 综述

- Notch 受体家族与心肌重构的研究进展 ..... 袁雨培 唐其柱 405
- 高功率短时程消融在心房颤动治疗应用的研究进展 ..... 白宇 尹德春 曲秀芬 410
- 新型冠状病毒肺炎心脏损伤及其与血管紧张素转化酶 II 的关系研究进展  
..... 裴茂华 王瑶 陈倩 龚作炯 414
- 慢性阻塞性肺疾病并发衰弱的研究进展 ..... 冯芳 马文 418
- 血小板相关参数在脓毒症中临床意义的研究进展 ..... 李明 周志刚 423
- 2 型糖尿病大血管病变与血清生化物的研究进展 ..... 汤海焦 张松 428

- 作者·编者·读者 ..... 357,382

期刊基本参数: CN13-1316/R \* 2002 \* m \* A4 \* 112 \* zh \* P \* ¥12.00 \* 5 400 \* 24 \* 2021-04

本期责任编辑: 高明远 英文编辑: 马晓海

# CHINESE JOURNAL OF DIFFICULT AND COMPLICATED CASES

Monthly      Established in June 2002      Volume 20, Number 4      18 April, 2021

## Responsible Institution

National Health Commission of  
the People's Republic of China

## Sponsor

Chinese Medical Doctor Association

## Editing

Editorial Board of Chinese Journal of Difficult  
and Complicated Cases

## Adviser

Wang Yongyan Zhang Yun Li Chunyan  
Zhang Boli Ge Junbo Yu Jinming  
Zhang Yingze Liu Liang Wang Qi  
Cong Bin Huang Luqi Li Diangui

## Honorary Editor-in-Chief

Wu Yiling

## Editor-in-Chief

Jia Zhenhua

## Managing Director

Ma Zhi

## Publishing

Publishing House of Chinese Journal of  
Difficult and Complicated Cases  
238 Tianshan Street, Shijiazhuang  
050035, China  
Tel(Fax):(0311)85901735  
E-mail: ynbzz@163.com  
http://www.ynbzz.com

## Printing

Shijiazhuang Huichang Printing House

## Overseas Distributor

China International Book  
Trading Corporation  
P.O.Box 399, Beijing 100044, China  
Code No. DK 13017

## Overseas Price

\$ 12.00 per issue; \$ 144.00 a year

## CSSN

ISSN 1671-6450 CN 13-1316/R

Copyright 2021 by Publishing House of Chinese  
Journal of Difficult and Complicated Cases

All articles published represent the opinions of the  
authors, do not reflect the official policy of the editorial  
board, unless clearly specified.

## CONTENTS

### Cardiovascular Disease

**Effect of recombinant human brain natriuretic peptide combined with  
furosemide on serum MMP-2, GDF-15, CYR61 levels in patients  
with acute myocardial infarction**

..... Tang Ximei, Zhang Zhineng, Xiao Chun, et al 325

**Plasma expression levels of miR-133a and miR-208b in patients with acute  
coronary syndrome and their correlation with the degree of myocardial  
injury and coronary artery disease**

..... He Yalei, Wei Yin, Cai Yerui, et al 329

**Correlation of plasma Sestrin2, sFKN, suPAR levels with cardiac function  
and cardiac events in elderly patients with chronic heart failure**

..... Huang Shoulian, Liang Chao, Zhao Tao, et al 334

**The effect of obstructive sleep apnea hypopnea syndrome on short-term  
all-cause death in elderly patients with coronary heart disease**

..... Xie Xuegang, He Fen, Zhang Miao, et al 339

**The role of Th cell differentiation-specific transcription factors in the  
pathogenesis of abnormal pulmonary blood flow in children with  
low body mass congenital heart disease.**

..... Jin Lichen, Wen Linlin, Han Zhe, et al 344

**Effects of Levosimendan on left ventricular systolic function, hemodynamics  
and myocardial injury marker levels in patients with septic  
myocardial depression**

..... Liu Hongjuan, Geng Jing, He Zhihong, et al 348

**Mechanism of Catechin on endothelial function in aged rats with coronary  
heart disease based on MEK / ERK signaling pathway**

..... Zhou Hui, Lei Yuhua, Zhang Fugui, et al 353

**Study on the effect and mechanism of Shexiangbaoxin pills on atherosclerosis**

in mice ..... Liu Shengxiang, Huang Yupeng, Jin Hongyan, et al 358

## Original Article : Clinical Research

- Effects of Ginkgo biloba extract and gastrodin injection on arterial blood flow velocity, vascular endothelial function, lysophosphatidic acid and acid phospholipid levels in patients with vascular vertigo ..... Liu Xin, Wang Xiaofang, Wu Yanjia, et al 363
- Clinical characteristics and prognostic biomarker of recurrent Guillain-Barré syndrome. .... Chen Xueting, Zheng Huiwen, Zhang Qi, et al 368
- The diagnostic value of the neutrophil-lymphocyte ratio in patients with ventilator-associated pneumonia. .... Luo Bin, Lin Shuang, Yang Jian, et al 373
- Distribution of pathogenic bacteria in children with bloodstream infection and the early predictive value of mNAP, Presepsin and TREM-1 ..... Liu Xinguang, Li Qingtao, Zhang Yudong, et al 378
- Analysis of cardiovascular imaging and clinical features in 20 cases of Behcet's syndrome ..... Yang Lin, Zhao Lei, Xu Chao, et al 383
- Methylation of oxytocin receptor gene polymorphism in women undergoing cesarean section compare to vaginal delivery. .... Lyu Qingqing, Zhang Hongying, Sun Lifang, et al 386

## Original Article : Basic Research

- Effect of semen coicis extract on proliferation, migration and invasion of oral squamous cell carcinoma cells via PDGFB/PDGFR $\beta$  signal pathway ..... Wang Peng, He Jianmin, Wang Jun, et al 391
- Effects of metformin on endoplasmic reticulum stress and autophagy in a cell model of non-alcoholic fatty liver disease. .... Wu Xiaoman, Zhang Min, Tian Tian, et al 396

## Rare Case Report

- C10orf2 gene mutation induced mitochondrial DNA depletion syndrome: a case report ..... Zhang Meng, Yang Yanhui, Li Fan, et al 402
- Woven right coronary artery complicated with posterior descending branch occlusion: a case report ..... Zheng Zaiyong, Hu Houxiang, Zeng Jianhui, et al 403

## Review

- Research progress of Notch receptor family and myocardial remodeling ..... Yuan Yupei, Tang Qizhu 405
- Research progress of high-power short-term ablation in the treatment of atrial fibrillation ..... Bai Yu, Yin Dechun, Qu Xiufen 410
- New coronavirus pneumonia heart damage and its relationship with angiotensin converting enzyme II ..... Pei Maohua, Wang Yao, Chen Qian, Gong Zuojiong 414
- Research progress of chronic obstructive pulmonary disease complicated by frailty ..... Feng Fang, Ma Wen 418
- Advances in the clinical significance of platelet-related parameters in sepsis ..... Li Ming, Zhou Zhigang 423
- Research progress of type 2 diabetes macroangiopathy and serum biochemicals ..... Tang Haijiao, Zhang Song 428

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.04.001

心血管系统疾病

# 重组人脑利钠肽联合呋塞米对急性心肌梗死患者血清 MMP-2、GDF-15、CYR61 水平的影响

唐细梅, 张志能, 肖纯, 熊琼, 肖春霞

基金项目: 湖南省卫生计生委科研计划课题项目(20180742)

作者单位: 410000 长沙, 湖南省人民医院/湖南师范大学附属第一医院心内科

通信作者: 张志能, E-mail: comsu33@163.com

**【摘要】目的** 观察重组人脑利钠肽(rhBNP)联合呋塞米对急性心肌梗死患者的治疗效果及对血清基质金属蛋白酶 2(MMP-2)、生长分化因子 15(GDF-15)、富含半胱氨酸蛋白 61(CYR61)水平的影响。**方法** 选取 2018 年 11 月—2019 年 11 月湖南省人民医院/湖南师范大学附属第一医院心内科收治急性心肌梗死患者 105 例,随机数字表法分为呋塞米组 52 例、联合组 53 例,2 组患者均给予常规治疗,呋塞米组加用呋塞米治疗,联合组加用呋塞米及 rhBNP,治疗 5 d 后,比较 2 组患者治疗效果,治疗前后心功能、血清 T 淋巴细胞亚群水平、肌钙蛋白 I(cTnI)、高敏肌钙蛋白 I(hs-TnI)、高敏 C 反应蛋白(hs-CRP)、白介素-8(IL-8)、IL-17、MMP-2、GDF-15、CYR61 水平。**结果** 联合组患者治疗总有效率高于呋塞米组(88.68% vs. 73.08%,  $\chi^2/P = 4.144/0.042$ )。治疗后联合组心排出量(CO)、LVEF、CD4<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>水平高于呋塞米组( $t/P = 2.883/0.005, 3.560/0.001, 5.634/0.001, 4.720/0.001$ ),LVPWd、CD8<sup>+</sup>、cTnI、hs-TnI、hs-CRP、IL-8、IL-17、MMP-2、GDF-15、CYR61 水平低于呋塞米组( $t/P = 5.032/0.001, 5.822/0.001, 11.320/0.001, 3.559/0.001, 9.660/0.001, 3.472/0.001, 8.862/0.001, 6.978/0.001, 17.440/0.001, 6.085/0.001$ )。**结论** rhBNP 联合呋塞米治疗急性心肌梗死具有一定疗效,能够改善患者心功能,减轻心肌损伤、炎症反应,提升患者免疫功能,调控血清 MMP-2、GDF-15、CYR61 水平,治疗效果显著。

**【关键词】** 心肌梗死,急性;重组人脑利钠肽;呋塞米;心功能;炎症反应;免疫功能**【中图分类号】** R542.2<sup>+</sup>2 **【文献标识码】** A

**Effect of recombinant human brain natriuretic peptide combined with furosemide on serum MMP-2, GDF-15, CYR61 levels in patients with acute myocardial infarction** Tang Ximei, Zhang Zhineng, Xiao Chun, Xiong Qiong, Xiao Chunxia. Department of Internal Medicine Cardiovascular, Hunan Provincial People's Hospital, Hunan Province, Changsha 410000, China

Corresponding author: Zhang Zhineng, E-mail: comsu33@163.com

Funding program: Scientific Research Project of Hunan Health and Family Planning Commission (20180742)

**【Abstract】 Objective** To observe the therapeutic effect of recombinant human brain natriuretic peptide (rhBNP) combined with furosemide on patients with acute myocardial infarction and on serum matrix metalloproteinase 2 (MMP-2), growth differentiation factor 15 (GDF-15), and cysteine-rich protein 61 (CYR61) level. **Methods** From November 2018 to November 2019, 105 patients with acute myocardial infarction were admitted to the Department of Cardiology, Hunan Provincial People's Hospital/First Affiliated Hospital of Hunan Normal University. Random number table method was divided into 52 cases in furosemide group and 53 cases in combined group. Both groups were given conventional treatment, the furosemide group was treated with furosemide, and the combination group was treated with furosemide and rhBNP. After 5 days of treatment, the treatment effects of the 2 groups were compared, and the cardiac function and serum T lymphocytes, troponin I (cTnI), high-sensitivity troponin I (hs-TnI), high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), interleukin 8 (IL-8), IL-17, MMP-2, GDF-15, CYR61 levels were compared before and after treatment. **Results** The total effective rate of treatment in the combined group was higher than that in the furosemide group (88.68% vs. 73.08%,  $\chi^2/P = 4.144/0.042$ ). After treatment, the combined group CO, LVEF, CD4<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup> levels were higher than the furosemide group ( $t/P = 2.883/0.005, 3.560/0.001, 5.634/0.001, 4.720/0.001$ ), LVPWd, CD8<sup>+</sup>, cTnI, hs-TnI, hs-CRP, IL-8, IL-17, MMP-2, GDF-15, and CYR61 were lower than the furosemide group ( $t/P = 5.032/0.001, 5.822/0.001, 11.320/0.001, 3.559/0.001, 9.660/0.001, 3.472/0.001, 8.862/0.001, 6.978/0.001, 17.440/0.001, 6.085/0.001$ ). **Conclusion** rhBNP combined with fu-

roseamide has a certain curative effect in the treatment of acute myocardial infarction, which can improve the heart function of patients, reduce myocardial injury and inflammatory response, enhance the immune function of patients, and regulate serum MMP-2, GDF-15, CYR61 levels, and the treatment effect is significant.

**【Key words】** Myocardial infarction, acute; Recombinant human brain natriuretic peptide; Furosemide; Cardiac function; Inflammatory reaction; Immunological function

临床医学将冠状动脉急性、持续性供血、供氧不足导致的机体心肌组织细胞坏死症状称为急性心肌梗死,是一种临床较为常见的心内科疾病<sup>[1-2]</sup>。急性心肌梗死症状主要临床表现为胸骨后持久、剧烈疼痛,严重威胁患者身体健康甚至生命安全<sup>[3]</sup>。据世界卫生组织调查数据显示,老年人群是急性心肌梗死症状的高发群体,近年来,随着我国人口老龄化现象的不断发展,急性心肌梗死发病率连年上升<sup>[4-5]</sup>。重组人脑利钠肽(rhBNP)、呋塞米均为常用治疗心血管疾病的药物。本研究使用 rhBNP 联合呋塞米对急性心肌梗死患者进行治疗,观察治疗效果及对血清基质金属蛋白酶 2(MMP-2)、生长分化因子 15(GDF-15)、富含半胱氨酸蛋白 61(CYR61)的影响,报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2018 年 11 月—2019 年 11 月湖南省人民医院/湖南师范大学附属第一医院内科收治急性心肌梗死患者 105 例,根据随机数字表法分为呋塞米组 52 例、联合组 53 例。呋塞米组男 31 例,女 21 例,年龄 59~72(65.5±5.2)岁;合并症:高血脂 9 例,高血压 21 例,糖尿病 15 例。联合组男 28 例,女 25 例,年龄 57~70(63.5±5.3)岁;合并症:高血脂 11 例,高血压 23 例,糖尿病 14 例。2 组患者性别、年龄、合并症比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。本研究获得医院伦理委员会批准,患者及家属均知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1)纳入标准:所有患者均符合中华医学会制定的急性心肌梗死的诊断标准<sup>[6]</sup>,并于发病 6 h 内确诊为急性心肌梗死。(2)排除标准:①病历资料不全者;②对本研究所用药物过敏患者;③肝、肾功能不全者;④脑血管疾病患者;⑤沟通障碍者。

1.3 治疗方法 2 组患者均进行常规治疗:口服氯吡格雷、阿司匹林肠溶片,首次口服氯吡格雷片 300 mg,之后 75 mg/次,1 次/d,可与食物同服,也可于饭后使用温水吞服。阿司匹林 100 mg/次,1 次/d,晚饭后使用温水吞服。呋塞米组:呋塞米 40 mg 溶于氯化钠溶液 100 ml 静脉注射,1 次/d。联合组在呋塞米组治疗基础上以 rhBNP 1.5 μg/kg 静脉注射,1.5 min 内完成,之后以 0.007 5 μg·kg<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>匀速泵入。2 组

患者均连续治疗 5 d。

## 1.4 观察指标与方法

1.4.1 心功能指标检测:患者左侧卧位,采用 DC-N2S 型多普勒超声检测仪(南京贝登医疗股份有限公司),M3S 探头频率 2.0~4.0 MHz,进行多平面扫查,观测治疗前后心排出量(CO)、左心室后壁厚度(LVPWd)、左心室射血分数(LVEF)。

1.4.2 T 淋巴细胞亚群检测:治疗前后抽取患者肘静脉血 5 ml,离心留取上层血清, -80℃ 环境中保存待检。使用 FACS Via 型流式细胞仪(上海寰熙医疗器械有限公司)检测 CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>T 淋巴细胞亚群水平,检测过程严格按照流式细胞仪操作说明书进行。

1.4.3 心肌损伤、炎性反应指标检测:酶联免疫吸附法检测肌钙蛋白 I(cTnI)、高敏肌钙蛋白 I(hs-TnI)、高敏 C 反应蛋白(hs-CRP)、白介素-8(IL-8)、IL-17 水平,检测过程严格按照 ELISA 试剂盒说明书进行。

1.4.4 血清 MMP-2、GDF-15、CYR61 水平检测:免疫透射比浊法检测 MMP-2、GDF-15、CYR61 水平。

1.5 疗效评价标准<sup>[7]</sup> 显效:临床症状消失,心功能提升 2 级;有效:临床症状明显减轻,心功能提升 1 级;无效:临床症状未改善甚至加重。总有效率=(显效+有效)/总例数×100%。

1.6 统计学方法 使用 SPSS 21.0 软件处理数据。计数资料以频数或率(%)描述,组间比较行  $\chi^2$  检验;正态分布计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较行 LSD-t 检验。 $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 2 组治疗效果比较 联合组治疗总有效率为 88.68%,高于呋塞米组的 73.08%,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 1。

表 1 2 组治疗效果比较 [例(%)]

组别	例数	显效	有效	无效	总有效率(%)
呋塞米组	52	20(38.46)	18(34.62)	14(26.92)	73.08
联合组	53	25(47.17)	22(41.51)	6(11.32)	88.68
$U/\chi^2$ 值		$U=9.853$			$\chi^2=4.144$
$P$ 值		0.019			0.042

2.2 2 组治疗前后 CO、LVPWd、LVEF 水平比较 治

疗前 2 组 CO、LVPWd、LVEF 比较,差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ );治疗后,2 组 CO、LVEF 水平均显著升高, LVPWd 水平均降低,且联合组变化幅度大于呋塞米组,差异均有统计学意义 ( $P < 0.01$ ),见表 2。

表 2 2 组患者治疗前后 SV、LVPWd、LVEF 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	时间	CO(L/min)	LVPWd(mm)	LVEF(%)
呋塞米组 (n=52)	治疗前	3.05 ± 0.88	73.11 ± 3.22	37.95 ± 4.66
	治疗后	3.91 ± 1.31	69.55 ± 2.43	44.13 ± 4.79
联合组 (n=53)	治疗前	3.07 ± 0.82	73.17 ± 3.28	37.82 ± 4.53
	治疗后	4.70 ± 1.49	67.33 ± 2.08	47.58 ± 5.13
t/P 呋塞米组内值		3.930/0.001	6.364/0.001	6.669/0.001
t/P 联合组内值		6.977/0.001	10.950/0.001	10.380/0.001
t/P 治疗后组间值		2.883/0.005	5.032/0.001	3.560/0.001

2.3 2 组治疗前后 T 淋巴细胞亚群比较 治疗前 2 组 CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup> 水平比较差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ );治疗后,2 组 CD8<sup>+</sup> 水平均降低, CD4<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup> 水平均升高,且联合组降低/升高幅度大于呋塞米组,差异均有统计学意义 ( $P < 0.01$ ),见表 3。

表 3 2 组患者治疗前后 T 淋巴细胞亚群比较 ( $\bar{x} \pm s, \%$ )

组别	时间	CD8 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup>
呋塞米组 (n=52)	治疗前	36.23 ± 5.11	23.06 ± 3.22	30.55 ± 3.77
	治疗后	32.09 ± 4.55	29.11 ± 4.02	36.44 ± 4.13
联合组 (n=53)	治疗前	36.42 ± 5.03	23.15 ± 3.35	30.76 ± 4.92
	治疗后	27.16 ± 4.12	33.66 ± 4.25	40.43 ± 4.52
t/P 呋塞米组内值		4.363/0.001	8.470/0.001	7.595/0.001
t/P 联合组内值		10.370/0.001	14.140/0.001	10.540/0.001
t/P 治疗后组间值		5.822/0.001	5.634/0.001	4.720/0.001

2.4 2 组治疗前后血清 cTnI、hs-TNI、hs-CRP、IL-8、IL-17 水平比较 治疗前 2 组 cTnI、hs-TNI、hs-CRP、IL-8、IL-17 水平比较,差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ );治疗后,2 组各指标均降低,且联合组均低于呋塞米组,差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ),见表 4。

2.5 2 组治疗前后血清 MMP-2、GDF-15、CYR61 水平比较 治疗前 2 组 MMP-2、GDF-15、CYR61 水平比较,

差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ );治疗后,2 组各指标均降低,且联合组均低于呋塞米组,差异均有统计学意义 ( $P < 0.01$ ),见表 5。

表 5 2 组患者治疗前后血清 MMP-2、GDF-15、CYR61 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	时间	MMP-2(ng/ml)	GDF-15(g/L)	CYR61(μg/L)
呋塞米组 (n=52)	治疗前	187.66 ± 31.25	2.98 ± 0.72	14.97 ± 2.55
	治疗后	134.55 ± 25.77	1.05 ± 0.15	12.31 ± 2.16
联合组 (n=53)	治疗前	185.95 ± 30.67	3.03 ± 0.75	14.91 ± 2.63
	治疗后	102.35 ± 21.35	0.63 ± 0.09	9.85 ± 1.98
t/P 呋塞米组内值		9.455/0.001	18.920/0.001	5.740/0.001
t/P 联合组内值		16.290/0.001	23.130/0.001	13.130/0.001
t/P 治疗后组间值		6.978/0.001	17.440/0.001	6.085/0.001

### 3 讨论

介入治疗、溶栓治疗、药物治疗是临床治疗急性心肌梗死的常用手段<sup>[8]</sup>。rhBNP 能够作用于心肌组织,具有扩张球小动脉、抑制肾小管钠吸收的药理作用,促进排尿,降低心室后负荷,调节循环血量,从而起到改善患者心功能的作用,是一种临床较为常用的治疗心内科疾病的药物<sup>[9-10]</sup>。呋塞米是一种临床常用的袢利尿药物,常用于心功能衰竭的治疗<sup>[11-12]</sup>。

大量研究表明,急性心肌梗死症状的发生发展伴随着心功能的明显下降<sup>[13-14]</sup>。CO、LVPWd、LVEF 是常用的心功能指标,检测 CO、LVPWd、LVEF 水平,能够对急性心肌梗死患者心功能状况、病情严重程度及临床治疗效果进行较为准确的评价。本研究结果显示,使用 rhBNP 联合呋塞米对急性心肌梗死患者进行治疗,患者心功能得到明显改善,治疗效果较为理想。

急性心肌梗死患者细胞免疫功能明显异常,检测 T 淋巴细胞亚群能够较为准确的对机体免疫功能变化情况评价<sup>[15-17]</sup>。有学者研究发现,调控 T 淋巴细胞亚群水平能够使机体免疫功能得到有效的改善,对心功能障碍患者心功能的改善具有重要意义。本研究显示,急性心肌梗死患者使用 rhBNP 联合呋塞米进行

表 4 2 组患者治疗前后血清 cTnI、hs-TNI、hs-CRP、IL-8、IL-17 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	时间	cTnI(μg/L)	hs-TNI(ng/ml)	hs-CRP(ng/ml)	IL-8(pg/ml)	IL-17(ng/L)
呋塞米组 (n=52)	治疗前	5.07 ± 1.23	9.22 ± 2.31	26.55 ± 3.67	109.65 ± 25.61	24.33 ± 3.42
	治疗后	2.77 ± 0.65	5.63 ± 1.57	14.62 ± 2.86	92.33 ± 18.59	13.59 ± 2.71
联合组 (n=53)	治疗前	5.12 ± 1.28	9.16 ± 2.25	26.71 ± 3.75	111.32 ± 26.72	24.24 ± 3.35
	治疗后	1.43 ± 0.56	4.62 ± 1.33	9.55 ± 2.51	81.66 ± 12.33	9.23 ± 2.32
t/P 呋塞米组内值		11.920/0.001	9.269/0.001	18.490/0.001	3.947/0.001	17.750/0.001
t/P 联合组内值		19.230/0.001	12.650/0.001	27.680/0.001	7.338/0.001	26.820/0.001
t/P 治疗后组间值		11.320/0.001	3.559/0.001	9.660/0.001	3.472/0.001	8.862/0.001

治疗,CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>水平受到明显调控,说明二者联合调控 T 淋巴细胞亚群水平,改善患者免疫能力,有助于急性心肌梗死患者心功能的改善,从而发挥治疗效果。

急性心肌梗死症状的发生发展与机体心肌组织细胞损伤具有密切联系,研究表明,减轻机体心肌损伤严重程度是治疗急性心肌梗死、改善预后的关键。cTnI、hs-TNI 是敏感性的心肌损伤标志物,对 cTnI、hs-TNI 水平进行检测,能够对机体心肌损伤严重程度及临床疗效进行评价<sup>[18-19]</sup>。本研究结果显示,使用 rhBNP 联合呋塞米对急性心肌梗死患者进行治疗,患者 cTnI、hs-TNI 水平下降,说明二者联合能够减轻心肌损伤,发挥心肌保护作用。

急性心肌梗死症状的发生发展、严重程度与炎症反应具有密切联系,减轻急性心肌梗死患者心肌组织炎症反应是临床治疗的关键<sup>[20-21]</sup>。hs-CRP、IL-8、IL-17 是常用的炎症因子,三者水平变化与机体炎症反应密切相关,检测 hs-CRP、IL-8、IL-17 水平能够对机体炎症反应状况进行评价。本研究结果显示,使用 rhBNP 联合呋塞米对急性心肌梗死患者进行治疗,患者血清 hs-CRP、IL-8、IL-17 水平明显下调,说明二者联合能够减轻机体炎症反应,对急性心肌梗死患者心功能的提升及预后的改善具有重要意义。

大量临床研究结果显示,MMP-2、GDF-15 水平在急性心肌梗死中出现明显异常,检测 MMP-2、GDF-15 水平能够对急性心肌梗死患者病情严重程度及临床治疗效果进行评价<sup>[22-23]</sup>。CYR61 作为一种细胞外基质蛋白,能够介导机体炎症反应,诱导血管平滑肌细胞增殖,从而参与冠状动脉病变。本研究结果显示,使用 rhBNP 联合呋塞米对急性心肌梗死患者进行治疗,患者血清 MMP-2、GDF-15、CYR61 水平均明显下调,进一步体现出二者联合的临床治疗效果。

综上所述,rhBNP 联合呋塞米对急性心肌梗死患者进行治疗,能够提升患者心功能,减轻患者心肌损伤严重程度、炎症反应,提升患者免疫功能,调控血清 MMP-2、GDF-15、CYR61 水平,治疗效果显著,为急性心肌梗死的临床治疗提供一定的参考价值。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

唐细梅:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写,统计学分析;张志能、肖纯、熊琼:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;肖春霞:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改

**参考文献**

[1] Barnett R. Acute myocardial infarction[J]. Lancet, 2019, 393 (10191):2580. DOI: 10.1016/S0140-6736(19)31419-9.

- [2] 胡杨,杨宁,秦勤,等. 中性粒细胞与淋巴细胞比值和急性冠状动脉综合征的相关性及其对急性心肌梗死的诊断价值[J]. 天津医药,2018,46(9):963-967. DOI:10.11958/20180765.
- [3] Newby LK. Inflammation as a treatment target after acute myocardial infarction[J]. N Engl J Med, 2019, 381 (26):2562-2563. DOI: 10.1056/NEJMe1914378.
- [4] Wang C,Pei YY,Ma YH,et al. Risk factors for acute kidney injury in patients with acute myocardial infarction[J]. Chin Med J(Engl),2019, 132(14):1660-1665. DOI: 10.1097/CM9.000000000000293.
- [5] Cui K, Lyu S, Liu H, et al. Timing of initiation of intra-aortic balloon pump in patients with acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock: A meta-analysis[J]. Clin Cardiol,2019,42 (11):1126-1134. DOI:10.1002/clc.23264.
- [6] 中华医学会心血管病学分会,中华心血管病杂志编辑委员会,《中国循环杂志》编辑委员会. 急性心肌梗死诊断和治疗指南[J]. 中华心血管病杂志,2001,29(12):710-725.
- [7] 张辉. 氯吡格雷联合低分子肝素对急性心肌梗死患者的疗效分析[J]. 检验医学与临床,2020,17(15):2153-2156. DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.15.013.
- [8] Hennessy T, Soh L, Bowman M, et al. The low dose colchicine after myocardial infarction (LoDoCo-MI) study: A pilot randomized placebo controlled trial of colchicine following acute myocardial infarction[J]. Am Heart J, 2019, 215:62-69. DOI: 10.1016/j.ahj.2019.06.003.
- [9] 戴思平,李芳华. 静脉泵入重组人脑利钠肽对首次急性心肌梗死患者 Killip 分级、NT-proBNP、LVEF 和 LVEDd 的影响效果观察[J]. 临床和实验医学杂志,2017,16(23):2347-2349. DOI: 10.3969/j.issn.1671-4695.2017.23.018.
- [10] 杨文典,刘金强,赵刘凯,等. PCI 前 rh-BNP 预处理对急性心肌梗死患者的疗效分析[J]. 中国现代医学杂志,2018,28(23):95-98. DOI:10.3969/j.issn.1005-8982.2018.23.021.
- [11] 邵艳奇. 冻干重组人脑利钠肽联合呋塞米治疗老年急性心肌梗死合并心力衰竭的临床研究[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2019,17(16):2480-2483. DOI:10.12102/j.issn.1672-1349.2019.16.022.
- [12] 张宇,厉菁,张华,等. 呋塞米联合多巴胺治疗利尿剂抵抗性心力衰竭的临床研究[J]. 中国临床药理学杂志,2019,35(18):1973-1975. DOI:10.13699/j.cnki.1001-6821.2019.18.001.
- [13] 黄凤荣,苟志平,徐珊,等. 大剂量瑞舒伐他汀对急性心肌梗死后心肌纤维化、心室重构及心功能的影响[J]. 海南医学,2017,28(3):369-371. DOI:10.3969/j.issn.1003-6350.2017.03.008.
- [14] 刘伟,王春艳,孙雪林,等. 高压氧联合丹参酮 II A 磺酸钠治疗对急性心肌梗死患者溶栓后炎症因子和心功能的影响[J]. 中华航海医学与高气压医学杂志,2019,26(2):134-138. DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-6906.2019.02.014.
- [15] 史国华. 瑞舒伐他汀对冠心病急性心肌梗死患者血清炎症因子及免疫功能的影响[J]. 中国老年学杂志,2019,39(12):2851-2853. DOI:10.3969/j.issn.1005-9202.2019.12.007.
- [16] 罗晓娟. 阿托伐他汀钙对急性心肌梗死患者免疫炎症反应及心室功能的影响[J]. 中国医刊,2018,53(9):993-995. DOI: 10.3969/j.issn.1008-1070.2018.09.012.



【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.04.002

心血管系统疾病

# 急性冠状动脉综合征患者血浆 miR-133a、miR-208b 表达水平及其与心肌损伤和冠状动脉病变程度的相关性

何亚磊, 魏引, 蔡叶锐, 普永红, 洪琴

基金项目: 云南省教育厅科学研究基金项目(2016ZDX112)

作者单位: 650011 昆明, 云南省第三人民医院心内科

通信作者: 魏引, E-mail: weiyin@sina.com

**【摘要】目的** 分析急性冠状动脉综合征(ACS)患者血浆微小RNA(miR)-133a、miR-208b表达水平及其与心肌损伤指标和冠状动脉病变程度的相关性。**方法** 选取2018年5月—2019年5月云南省第三人民医院心内科收治的ACS患者106例作为研究对象,其中不稳定型心绞痛(UAP)51例(UAP组),急性心肌梗死(AMI)55例(AMI组),另选取同期医院体检健康者40例作为对照(CON组)。比较3组心肌损伤相关指标[肌钙蛋白I(cTnI)、脑钠肽(BNP)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)、左心室射血分数(LVEF)],血浆miR-133a、miR-208b表达水平和冠状动脉病变程度Gensini评分,并分析血浆miR-133a、miR-208b表达水平与心肌损伤指标和Gensini评分的相关性。**结果** 与CON组比较,UAP组和AMI组患者血清cTnI、BNP、CK-MB水平和Gensini评分,血浆miR-133a、miR-208b表达水平均明显升高,且AMI组以上指标水平高于UAP组,而LVEF水平低于UAP组( $F = 14.836, 42.693, 37.766, 17.239, 9.233, 11.286, 7.643, P = 0.000$ )。ACS患者血浆miR-133a、miR-208b表达水平与cTnI、BNP、CK-MB及冠状动脉病变程度Gensini评分呈正相关(miR-133a;  $r/P = 0.658/0.000, 0.531/0.007, 0.602/0.017, 0.647/0.002$ ; miR-208b;  $r/P = 0.666/0.000, 0.551/0.003, 0.625/0.009, 0.666/0.013$ ),与LVEF呈负相关( $r/P = -0.491/0.023, -0.505/0.011$ )。**结论** ACS患者血浆miR-133a、miR-208b表达水平明显升高,且与心肌损伤指标和冠状动脉病变程度呈明显相关性,可作为ACS的辅助评估指标。

**【关键词】** 急性冠状动脉综合征;微小RNA-133a;微小RNA-208b;心肌损伤;冠状动脉病变程度**【中图分类号】** R541.4 **【文献标识码】** A

**Plasma expression levels of miR-133a and miR-208b in patients with acute coronary syndrome and their correlation with the degree of myocardial injury and coronary artery disease** He Yalei, Wei Yin, Cai Yerui, Pu Yonghong, Hong Qin. Department of Internal Medicine Cardiovascular, the Third People's Hospital of Yunnan Province, Yunnan Province, Kunming 650011, China

Corresponding author: Wei Yin, E-mail: weiyin@sina.com

Funding program: Scientific Research Fund Project of Yunnan Education Department (2016ZDX112)

**【Abstract】 Objective** To analyze the expression levels of plasma microRNA(miR)-133a and miR-208b in patients with acute coronary syndrome(ACS) and their correlation with myocardial injury indexes and the severity of coronary artery lesions. **Methods** From May 2018 to May 2019, 106 patients with ACS admitted to the Department of Cardiology, the Third People's Hospital of Yunnan Province were selected as the research objects, including 51 cases of unstable angina(UAP group) and 55 cases of acute myocardial infarction(AMI group). In addition, 40 healthy patients who had physical examination at the hospital during the same period were selected as controls(CON group). Compare 3 groups of myocardial injury related indexes [Troponin I(cTnI), brain natriuretic peptide(BNP), creatine kinase isoenzyme(CK-MB), left ventricular ejection fraction(LVEF)], plasma miR-133a, miR-208b The expression level and Gensini score of the degree of coronary artery disease were analyzed, and the correlation between the expression levels of plasma miR-133a and miR-208b and myocardial injury indexes and Gensini score was analyzed. **Results** Compared with the CON group, serum cTnI, BNP, CK-MB levels and Gensini scores, plasma miR-133a and miR-208b expression levels were significantly increased in the UAP and AMI groups, and the levels of the above indicators in the AMI group were higher than those in the UAP group, while the LVEF level significantly decreased, and the AMI group was lower than the UAP group ( $F = 14.836, 42.693, 37.766, 17.239, 9.233, 11.286, 7.643, P = 0.000$ ). Plasma miR-133a and miR-208b expression levels in ACS patients are posi-

tively correlated with cTnI, BNP, CK-MB and the Gensini score of coronary artery disease (miR-133a:  $r/P = 0.658/0.000$ ,  $0.531/0.007$ ,  $0.602/0.017$ ,  $0.647/0.002$ ; miR-208b:  $r/P = 0.666/0.000$ ,  $0.551/0.003$ ,  $0.625/0.009$ ,  $0.666/0.013$ ), which is negatively correlated with LVEF ( $r/P = -0.491/0.023$ ,  $-0.505/0.011$ ). **Conclusion** Plasma miR-133a and miR-208b expression levels in ACS patients are significantly increased, and are significantly correlated with myocardial injury indicators and the degree of coronary artery disease, which can be used as auxiliary evaluation indicators for ACS.

**【Key words】** Acute coronary syndrome; MicroRNA-133a; MicroRNA-208b; Myocardial injury; Coronary lesion degree

急性冠状动脉综合征 (acute coronary syndrome, ACS) 是常见的心血管危重症之一, 其包括不稳定型心绞痛 (unstable angina pectoris, UAP) 和急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI), 主要是由于各种原因导致的冠状动脉粥样硬化引起冠状动脉血管堵塞, 进而导致心肌缺血缺氧坏死引发急性心脏病。其发病急, 病死率较高<sup>[1]</sup>。ACS 治疗的最佳时期在发病 1 h 以内, 超过 4 h 患者死亡风险会上升数倍, 因此其早诊早治对患者的预后至关重要<sup>[2]</sup>。目前, 临床对 ACS 的快速筛查手段主要有体表心电图及心肌酶谱等, 但体表心电图诊断 ACS 的特异度较差, 室肥大及心包炎均会导致心电图 ST 段的改变; 另外患者心肌酶的改变较为滞后, 多数指标在患者发病 3 h 以后才升高明显, 并且特异度亦欠佳, 因此对于 ACS 的快速评估诊断不利<sup>[3]</sup>。近年来机体基因组学发展迅速, 越来越多的微小 RNA (microRNA, miR) 家族成员出现在心血管疾病的相关研究中, 其中 miR-133a 和 miR-208b 一直是研究热点, 其在心肌细胞中特异性表达, 并且检测操作方便快捷, 可能为 ACS 的早期快速诊断提供新思路<sup>[4-5]</sup>。鉴于此, 现分析 ACS 患者血浆 miR-133a、miR-208b 的表达水平及其与心肌损伤和冠状动脉病变程度的相关性, 旨在为 ACS 的快速诊断及病情评估提供临床依据, 报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2018 年 5 月—2019 年 5 月云南省第三人民医院心内科收治的 ACS 患者 106 例作为研究对象, 其中 UAP 患者 51 例 (UAP 组), AMI 患者 55 例 (AMI 组)。另选取同期于医院进行体检的健康者 40 例作为对照 (CON 组)。3 组一般资料比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 具有可比性, 见表 1。本研究经医院伦理委员会审核通过, 入选者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准: ①年龄  $\geq 18$  周岁; ②ACS 的诊断符合“急性冠状动脉综合征急诊快速诊疗指南”诊断标准<sup>[6]</sup>; ③无精神疾病或意识障碍。(2) 排除标准: ①合并全身感染性或免疫性疾病; ②合并恶性肿瘤; ③合并肝、肺、肾等重要器官功能障碍; ④发病至入院时间超过 6 h。

1.3 观察指标与方法 ACS 患者确诊后即刻、健康者体检当日采集外周静脉血 10 ml, 分装为 2 管, 其中 1 管静置 5 min 后离心留取血清置于  $-20^{\circ}\text{C}$  冰箱中备用。以 SYSMEBXB-5000 全自动生化检测仪 (日本希森美康公司) 进行检测。(1) 血清心肌损伤标志物: 包括肌钙蛋白 I (cTnI)、脑钠肽 (BNP)、肌酸激酶同工酶 (CK-MB)。(2) 血脂指标: 包括总胆固醇 (TC)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇

表 1 3 组临床资料比较 [例(%)]

项目	CON 组 (n=40)	UAP 组 (n=51)	AMI 组 (n=55)	$\chi^2/F$ 值	P 值
男/女 (例)	27/13	28/23	29/26	0.289	0.725
年龄 ( $\bar{x} \pm s$ , 岁)	52.59 $\pm$ 4.73	52.02 $\pm$ 4.89	52.32 $\pm$ 5.98	0.892	0.389
吸烟史	23 (57.50)	26 (50.98)	35 (63.64)	0.672	0.514
饮酒史	17 (42.50)	22 (43.14)	24 (43.64)	2.112	0.167
高血压病史	19 (47.50)	20 (39.22)	24 (43.64)	1.972	0.351
糖尿病史	15 (37.50)	16 (31.37)	19 (34.55)	2.106	0.147
BMI ( $\bar{x} \pm s$ , kg/m <sup>2</sup> )	22.57 $\pm$ 3.69	22.23 $\pm$ 3.12	23.02 $\pm$ 4.13	1.118	0.266
血脂 ( $\bar{x} \pm s$ , mmol/L)					
TC	3.91 $\pm$ 1.15	3.23 $\pm$ 1.45	3.54 $\pm$ 0.97	0.947	0.345
TG	1.93 $\pm$ 0.82	1.90 $\pm$ 0.89	2.05 $\pm$ 0.79	1.630	0.105
HDL-C	1.03 $\pm$ 0.42	1.13 $\pm$ 0.48	1.08 $\pm$ 0.42	0.857	0.393
LDL-C	3.12 $\pm$ 1.15	3.22 $\pm$ 1.34	2.97 $\pm$ 0.67	1.584	0.115

(LDL-C)、三酰甘油(TG)。(3)外周血浆 miR-133a 和 miR-208b 表达水平:另一管加抗凝取血浆应用定量聚合酶链反应检测外周血 miR-133a 和 miR-208b 表达水平,总 RNA 提取—逆转录—PCR 扩增。逆转录试剂盒购于日本 Takara 公司,引物由上海生工生物工程股份有限公司提供。miR-133a 和 miR-208b 的 PCR 判读使用公式: $\Delta Ct = \text{样品 Ct 均值} - \text{内参 Ct 均值}^{[7]}$ ,以  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  表示基因的相对表达量。(4)左心室射血分数(LVEF):使用飞利浦 iE33 超声诊断仪进行检测。(5)冠状动脉病变程度:应用 Gensini 评分<sup>[8]</sup>评估患者冠状动脉病变程度,得分越高,病变越严重。

1.4 统计学方法 使用 SPSS 23.0 软件统计分析数据。符合正态分布计量资料以  $(\bar{x} \pm s)$  表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用独立样本 *t* 检验;计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验;使用 Pearson 相关性分析 ACS 患者血浆 miR-133a、miR-208b 表达水平与心肌损伤和冠状动脉病变程度的相关性。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 3 组心肌损伤指标比较 与 CON 组比较,UAP 组和 AMI 组患者血清 cTnI、BNP、CK-MB 水平均明显升高,且 AMI 组血清 cTnI、BNP、CK-MB 水平高于 UAP 组,而 LVEF 低于 UAP 组(*P* < 0.05),见表 2。

2.2 3 组 Gensini 评分比较 CON 组 Gensini 评分  $(8.23 \pm 5.42)$  分 < UAP 组  $(51.57 \pm 10.46)$  分 < AMI 组  $(61.29 \pm 15.47)$  分,3 组间比较,差异有统计学意义 (*F* = 17.239, *P* = 0.000)。

2.3 3 组血浆 miR-133a、miR-208b 表达水平比较 血浆 miR-133a、miR-208b 表达水平比较,CON 组 < UAP 组 < AMI 组,差异有统计学意义 (*P* 均 < 0.01),见表 3。

2.4 血浆 miR-133a、miR-208b 表达水平与心肌损伤指标的相关性 ACS 患者血浆 miR-133a、miR-208b 的表达水平与血清 cTnI、BNP、CK-MB 呈正相关 (*P* < 0.05),与 LVEF 呈负相关 (*P* < 0.05),见表 4。

表 3 3 组受试者血浆 miR-133a、miR-208b 表达水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	miR-133a	miR-208b
CON 组	40	1.01 ± 0.03	0.59 ± 0.13
UAP 组	51	2.40 ± 0.22 <sup>a</sup>	2.62 ± 0.31 <sup>a</sup>
AMI 组	55	4.25 ± 0.37 <sup>ab</sup>	5.24 ± 1.43 <sup>ab</sup>
<i>F</i> 值		9.233	11.286
<i>P</i> 值		0.000	0.000

注:与 CON 组比较,<sup>a</sup>*P* < 0.05;与 UAP 组比较,<sup>b</sup>*P* < 0.05

表 4 ACS 患者血浆 miR-133a、miR-208b 表达水平与心肌损伤指标的相关性

指标	miR-133a		miR-208b	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
cTnI	0.658	0.000	0.666	0.000
BNP	0.531	0.007	0.551	0.003
CK-MB	0.602	0.017	0.625	0.009
LVEF	-0.491	0.023	-0.505	0.011

2.5 ACS 患者血浆 miR-133a、miR-208b 表达水平与冠状动脉病变程度的相关性 ACS 患者血浆 miR-133a、miR-208b 的表达水平与 Gensini 评分均呈正相关 (*r* = 0.647、0.666, *P* = 0.002、0.013)。

## 3 讨论

ACS 是常见的危重心血管疾病,为冠心病的严重类型,临床主要表现为急性胸痛、胸闷,严重者导致心律失常及心力衰竭,甚至导致猝死,其早发现早诊断可明显降低患者并发症发生率及病死率<sup>[9-10]</sup>。近年来,各种类型的生物标志物对于 ACS 的早期筛查诊断、病情评估及预后判断做出了重大贡献,降低了患者的病死率。miRNA 一直是冠心病研究的热点,很多类型的 miRNA 亚型在心肌细胞中特异性表达,冠心病发作时其在血浆中的表达水平出现异常,研究其生物学特性可进一步揭示心血管疾病发展的病理生理过程。还有很多研究显示,miRNA 对冠状动脉粥样硬化的形成进展、心肌缺血梗死后的血管重建再生等方面在基因水平起着调控作用<sup>[11-13]</sup>。虽然 miRNA 对 ACS 的发生发展至关重要,但是目前有关此方面的研究较少,其具体

表 2 3 组受试者心肌损伤指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	cTnI(μg/L)	BNP(ng/L)	CK-MB(U/L)	LVEF(%)
CON 组	40	0.03 ± 0.01	29.73 ± 5.41	11.25 ± 5.63	62.53 ± 5.36
UAP 组	51	11.09 ± 5.12 <sup>a</sup>	187.25 ± 20.23 <sup>a</sup>	169.34 ± 24.98 <sup>a</sup>	55.23 ± 8.23 <sup>a</sup>
AMI 组	55	17.87 ± 4.17 <sup>ab</sup>	234.23 ± 28.12 <sup>ab</sup>	198.11 ± 29.12 <sup>ab</sup>	41.23 ± 9.11 <sup>ab</sup>
<i>F</i> 值		14.836	42.693	37.766	7.643
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000	0.000

注:与 CON 组比较,<sup>a</sup>*P* < 0.05;与 UAP 组比较,<sup>b</sup>*P* < 0.05

的影响机制尚不明确,因此,本研究通过分析 ACS 患者血浆中 miR-133a、miR-208b 的表达水平及与心肌损伤指标和冠状动脉病变程度的相关性,以期为临床中选择理想的 ACS 早期诊断及病情评估标志物提供充分的理论依据。

miRNA 是长度在 18~23 个核苷酸之间的非编码核糖核酸,其可以有效地调控机体内 DNA 转录后翻译效率,并可以维持目标 RNA 的稳定性,对细胞的分化、生长及程序性凋亡起着重要的作用<sup>[14]</sup>。miR-133a 和 miR-208b 是 miRNA 的 2 个亚型,是机体内多种生物过程的调控因子,在心肌细胞中特异性表达,对心血管疾病的发生发展作用重大,当患者发生 ACS 时,可以通过受损破裂的心肌细胞渗漏入体循环,还可通过心肌细胞的微囊泡主动分泌<sup>[15-16]</sup>。本研究显示,ACS 患者血浆 miR-133a 和 miR-208b 表达水平明显高于健康者,且 AMI 患者较 UAP 患者表达水平更高,说明当患者发生 ACS 时,2 种标志物在血浆中的表达水平明显上升,并且疾病程度越严重,其表达水平越高,与既往研究一致。孙杰等<sup>[17]</sup>对 AMI 患者血浆中 miR-208b 进行实时定量 PCR 检测时发现,其在 AMI 急性期时表达水平显著升高,2 周后开始下降至基线水平;Wang 等<sup>[18]</sup>通过分析 AMI 患者及 AMI 鼠模型心肌细胞 miR-208b 表达的规律后得出,其在心肌细胞中特异性表达,病情急性发作时升高显著,在正常心肌细胞中表达较少;张松林等<sup>[19]</sup>研究发现,miR-133a 在心肌梗死患者体内表达显著升高,并且表达水平变化趋势与 cTnI 一致,即疾病发作时升高数倍,1~2 d 内恢复至基线水平。miR-133a 是心肌特异性 miRNA,其参与了心肌细胞的分化生长,其可能通过 MAPK/ERK 信号通路调控心肌细胞的生长状态<sup>[20]</sup>。miR-208b 属于 miR-208 基因簇类别,高特异性表达于损伤的心肌细胞中,其可通过正性调节—主要组织相容性复合物引起心肌重构及纤维化的形成<sup>[21]</sup>。因此,患者发生 ACS 时,心肌细胞受损严重,胞内核物质大量释放,作为心肌细胞特异性表达的 miR-133a 和 miR-208b,可通过各种机制释放,故在患者体内呈现高表达,病情越严重,其表达水平越高。本研究观察到 AMI 患者 miR-133a 和 miR-208b 表达水平较 UAP 患者亦明显升高,进一步证实早期检测其表达水平,可为 ACS 的早发现、早诊断提供新思路。

患者发生 ACS 时,各种心肌损伤指标均会不同程度的升高,本研究也发现,ACS 患者血清 cTnI、BNP、CK-MB 明显升高,而代表心功能的 LVEF 明显下降,并且 ACS 患者冠状动脉病变程度 Gensini 评分明显升

高,且病情更严重的 AMI 患者升高程度高于 UAP 患者,这些指标均可以作为 ACS 诊断及病情评估的辅助指标之一。本研究显示,ACS 患者血浆 miR-133a 和 miR-208b 表达水平与心肌损伤指标及冠状动脉病变程度具有一定的相关性<sup>[22]</sup>,具体表现为 ACS 组患者血浆 miR-133a、miR-208b 表达水平均与血清 cTnI、BNP、CK-MB 及 Gensini 评分呈正相关,与 LVEF 呈负相关,此结果说明,miR-133a 和 miR-208b 在 ACS 早期诊断及病情评估中的地位不亚于传统的评估指标。Wang 等<sup>[23]</sup>研究得出,miR-208b 在 AMI 患者中较对照组明显升高,上升幅度与 cTnI 及 CK-MB 明显相关;Zhang 等<sup>[24]</sup>研究显示,AMI 患者血清 miR-133a 表达水平与 Gensini 评分、cTnI 及 LDL 呈明显的正相关,与本研究结果基本一致。cTnI、BNP、CK-MB 均是 ACS 发作时的血清标志物,其水平越高,心肌损伤程度越大,心功能越差,心功能指标 LVEF 也越低,而 Gensini 评分代表了冠状动脉阻塞情况,其分值越高冠状动脉病变程度越严重,miR-133a 和 miR-208b 均与上述指标有着明显的相关性,可见检测 2 种 miRNA 在 ACS 患者血浆中的表达水平可能成为预测 ACS 发生和评估病情严重程度的标志物。

综上所述,ACS 患者血浆 miR-133a、miR-208b 表达水平明显升高,且与心肌损伤指标和冠状动脉病变程度呈现明显的相关性,可为 ACS 的早期诊断和病情评估提供新思路。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

何亚磊:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;魏引:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;蔡叶锐:进行统计学分析;普永红、洪琴:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改

**参考文献**

- [1] Waterbury TM, Tarantini G, Vogel B, et al. Non-atherosclerotic causes of acute coronary syndromes [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2020, 17(4):229-241. DOI:10.1038/s41569-019-0273-3.
- [2] Verheugt FWA, Ambrosio G, Atar D, et al. Outcomes in newly diagnosed atrial fibrillation and history of acute coronary syndromes: Insights from GARFIELD-AF [J]. *Am J Med*, 2019, 132(12):1431-1440, e7. DOI:10.1016/j.amjmed.2019.06.008.
- [3] Papai G, Csato G, Racz I, et al. The transtelephonic electrocardiogram-based triage is an independent predictor of decreased hospital mortality in patients with ST-segment elevation myocardial infarction treated with primary percutaneous coronary intervention [J]. *J Telemed Telecare*, 2020, 26(4):216-222. DOI:10.1177/1357633X18814335.
- [4] Rubi P, Totoń-urańska J, Winiowska-miaek S, et al. The relationship between myocardial fibrosis and myocardial microRNAs in dilated cardiomyopathy: A link between mir-133a and cardiovascular

events [ J ] . J Cell Mol Med, 2018, 22 ( 4 ): 2514-2517. DOI: 10. 1111/jcmm. 13535.

[ 5 ] Wang F, Yuan Y, Yang P, et al. Extracellular vesicles-mediated transfer of miR-208a/b exaggerate hypoxia/reoxygenation injury in cardiomyocytes by reducing QKI expression [ J ] . Mol Cell Biochem, 2017, 431 ( 1-2 ): 187-195. DOI: 10. 1007/s11010-017-2990-4.

[ 6 ] 中国医师协会急诊医师分会. 急性冠脉综合征急诊快速诊疗指南 [ J/OL ] . 中华危重症医学杂志: 电子版, 2016, 36 ( 2 ): 73-80. DOI: 10. 3969/j. issn. 1002-1949. 2016. 03. 002.

[ 7 ] 秦小伟, 项鹰羽, 黄立娟. 循环 miRNA 在急性冠脉综合征中的研究进展 [ J ] . 国际免疫学杂志, 2018, 41 ( 1 ): 89-93. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1673-4394. 2018. 01. 019.

[ 8 ] 徐志伟, 刘茜茜. 心电图 T 波变化情况、血浆 N-proBNP 水平和 Gensini 评分对心肌梗死患者预后的预测及各指标的相关性分析 [ J ] . 影像科学与光化学, 2020, 38 ( 3 ): 520-524. DOI: 10. 7517/issn. 1674-0475. 191121.

[ 9 ] 王轩, 崔杰, 逯金金, 等. 阿托伐他汀对急性冠状动脉综合征介入患者血清 ox-LDL、hs-CRP 及 sICAM-1 水平以及心功能的影响 [ J ] . 现代生物医学进展, 2018, 18 ( 1 ): 122-125. DOI: 10. 13241/j. cnki. pmb. 2018. 01. 027.

[ 10 ] Kautzner J, Peichl P. Mapping and ablation of unmappable ventricular tachycardia, ventricular tachycardia storm, and those in acute myocardial infarction [ J ] . Card Electrophysiol Clin, 2019, 11 ( 4 ): 675-688. DOI: 10. 1016/j. ccep. 2019. 08. 006.

[ 11 ] Churov A, Summerhill V, Grechko A, et al. MicroRNAs as potential biomarkers in atherosclerosis [ J ] . Int J Mol Sci, 2019, 20 ( 22 ): 5547. DOI: 10. 3390/ijms20225547.

[ 12 ] Liang H, Su X, Wu Q, et al. LncRNA2810403D21Rik/Mirf promotes ischemic myocardial injury by regulating autophagy through targeting Mir26a [ J ] . Autophagy, 2020, 16 ( 6 ): 1077-1091. DOI: 10. 1080/15548627. 2019. 1659610.

[ 13 ] Pinchi E, Frati P, Aromatario M, et al. miR-1, miR-499 and miR-208 are sensitive markers to diagnose sudden death due to early acute myocardial infarction [ J ] . J Cell Mol Med, 2019, 23 ( 9 ): 6005-6016. DOI: 10. 1111/jcmm. 14463.

[ 14 ] Zhang Y, Hou YM, Gao F, et al. lncRNA GASS regulates myocardial infarction by targeting the miR-525-5p/CALM2 axis [ J ] . J Cell Biochem, 2019, 120 ( 11 ): 18678-18688. DOI: 10. 1002/jcb. 29156.

[ 15 ] Wexler Y, Nussinovitch U. The diagnostic value of Mir-133a in ST elevation and non-ST elevation myocardial infarction: A Meta-Analysis [ J ] . Cells, 2020, 9 ( 4 ): 793. DOI: 10. 3390/cells9040793.

[ 16 ] 李卓玲, 吴嘉, 韦伟市, 等. 急性冠状动脉综合征患者经皮冠状动脉介入治疗前后血清 miR-146a、miR-193a-5p、miR-208b 水平变化及其预后监测价值 [ J ] . 临床检验杂志, 2018, 36 ( 9 ): 680-686. DOI: 10. 13602/j. cnki. jcls. 2018. 09. 10.

[ 17 ] 孙杰, 佟子川, 郭丽敏, 等. 血清 miR-133a、miR-150 在心房颤动患者中的表达水平及临床意义 [ J ] . 中国循证心血管医学杂志, 2019, 11 ( 6 ): 742-745. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-4055. 2019. 06. 26.

[ 18 ] Wang J, Zhang J, Ding X, et al. Differential microRNA expression profiles and bioinformatics analysis between young and aging spontaneously hypertensive rats [ J ] . Int J Mol Med, 2018, 41 ( 3 ): 1584-1594. DOI: 10. 3892/ijmm. 2018. 3370.

[ 19 ] 张松林, 范粉灵, 魏峰, 等. 急性心肌梗死患者循环血浆中 miR-133a、miR-133b 表达的研究 [ J ] . 中国循证心血管医学杂志, 2019, 11 ( 9 ): 1058-1066. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-4055. 2019. 09. 07.

[ 20 ] 田丹, 王梓, 夏利民, 等. 冠状动脉旁路移植术后 miR-1、miR-133a、miR-208a、miR-499 与炎症因子和高血压病史的相关性 [ J ] . 临床心血管病杂志, 2019, 35 ( 4 ): 364-369. DOI: 10. 13201/j. issn. 1001-1439. 2019. 04. 017.

[ 21 ] Fu L, Wang H, Liao Y, et al. miR-208b modulating skeletal muscle development and energy homeostasis through targeting distinct targets [ J ] . RNA Biol, 2020, 17 ( 5 ): 743-754. DOI: 10. 1080/15476286. 2020. 1728102.

[ 22 ] 许浩军, 顾明, 于宗良, 等. 循环 miRNA 检测在诊断急性冠脉综合征中的意义 [ J ] . 江苏大学学报: 医学版, 2014, 24 ( 1 ): 59-62. DOI: 10. 13312/j. issn. 1671-7783. y130224.

[ 23 ] Wang J, Song C, Cao X, et al. MiR-208b regulates cell cycle and promotes skeletal muscle cell proliferation by targeting CDKN1A [ J ] . J Cell Physiol, 2019, 234 ( 4 ): 3720-3729. DOI: 10. 1002/jcp. 27146.

[ 24 ] Zhang P, Chen FZ, Jia QB, et al. Upregulation of microRNA-133a and downregulation of connective tissue growth factor suppress cell proliferation, migration, and invasion in human glioma through the JAK/STAT signaling pathway [ J ] . IUBMB Life, 2019, 71 ( 12 ): 1857-1875. DOI: 10. 1002/iub. 2126.

(收稿日期: 2020-11-26)

(上接 328 页)

[ 17 ] 陈宏, 魏冬梅, 于丽, 等. 复方丹参滴丸对老年急性心肌梗死患者 PCI 术后血清炎症因子及 T 细胞亚群的影响 [ J ] . 中国老年学杂志, 2018, 38 ( 11 ): 2586-2588. DOI: 10. 3969/j. issn. 1005-9202. 2018. 11. 010.

[ 18 ] 王婷, 李结华. hs-CRP、BNP 和 cTnI 联合检测对急性心肌梗死患者 PCI 术后 MACE 的预测价值 [ J ] . 重庆医学, 2017, 46 ( 3 ): 380-382. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-8348. 2017. 03. 029.

[ 19 ] 曹润钰, 徐兆珍, 郭欣, 等. hs-TNI 和 CK-Mbmass 检测在急性心肌梗死诊断中的应用价值 [ J ] . 国际免疫学杂志, 2019, 42 ( 4 ): 383-386. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1673-4394. 2019. 04. 009.

[ 20 ] 张京京. 瑞舒伐他汀钙片治疗早发冠心病急性心肌梗死的效果及对炎症反应、心功能的影响 [ J ] . 中国医学创新, 2020, 17 ( 2 ): 120-123. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-4985. 2020. 02. 031.

[ 21 ] 曾德银, 刘茜. 急性心肌梗死患者血清 miR-208 对血小板功能、炎症反应及心肌损伤程度的影响 [ J ] . 海南医学院学报, 2018, 24 ( 6 ): 657-660. DOI: 10. 13210/j. cnki. jbm. 20180403. 012.

[ 22 ] 尚少红, 张红, 李湘. 血清 Cystatin C、MMP-2 及 hs-CRP/PAB 对急性心肌梗死患者 PCI 术后并发心衰的预测价值 [ J ] . 河北医药, 2019, 41 ( 3 ): 343-346, 351. DOI: 10. 3969/j. issn. 1002-7386. 2019. 03. 005.

[ 23 ] 张玉英, 陶志刚. 大剂量瑞舒伐他汀治疗急性心肌梗死患者血清 GDF-15、hs-CRP 水平变化及临床意义 [ J ] . 山东医药, 2017, 57 ( 17 ): 75-77. DOI: 10. 3969/j. issn. 1002-266X. 2017. 17. 026.

(收稿日期: 2020-10-23)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.04.003

心血管系统疾病

# 老年慢性心力衰竭患者血浆 Sestrin2、sFKN、suPAR 水平与心功能及心脏事件的相关性

黄守莲, 梁超, 詹洮, 颜治, 淡雪川

基金项目: 四川省医学科学研究课题计划立项项目(Q161049)

作者单位: 644000 四川省宜宾市第二人民医院/四川大学华西医院宜宾医院心内科

通信作者: 淡雪川, E-mail: danxuechuan1972001@163.com

**【摘要】目的** 分析老年慢性心力衰竭(CHF)患者血浆 Sestrin2(Sesn2)、可溶性不规则趋化因子(sFKN)、可溶性尿激酶型纤溶酶原激活物受体(suPAR)水平与心功能及心脏事件的关系。**方法** 选取2017年7月—2019年6月四川省宜宾市第二人民医院/四川大学华西医院宜宾医院心内科治疗老年CHF患者120例(病例组),按照NYHA心功能分级分为Ⅱ级亚组(53例)、Ⅲ级亚组(39例)和Ⅳ级亚组(28例)。另选取同期于医院体检的健康者95例作为健康对照组。检测2组血浆Sesn2、sFKN、suPAR水平和心功能指标,并分析三者与心功能指标的相关性及对老年CHF患者出院后心脏事件的预测价值。**结果** 病例组患者血浆Sesn2、sFKN、suPAR水平均高于健康对照组( $P < 0.05$ ),且其随着心功能等级的增加而升高( $F/P = 139.652/0.000, 266.371/0.000, 310.615/0.000$ );LVEDd、IVSD和PWD随着心功能等级的升高而增加,LVEF随着心功能等级的升高而降低( $F/P = 314.687/0.000, 171.403/0.000, 132.826/0.000, 210.833/0.000$ );老年CHF并发不良心脏事件患者血浆Sesn2、sFKN和suPAR水平均高于无心脏事件患者( $t/P = 4.336/0.000, 4.903/0.000, 6.405/0.000$ );血浆Sesn2、sFKN和suPAR水平与LVEDd、IVSD和PWD均呈正相关,与LVEF呈负相关(Sesn2: $r/P = 0.561/0.026, 0.732/0.000, 0.538/0.031, -0.677/0.000$ , sFKN: $0.652/0.000, 0.595/0.014, 0.714/0.000, -0.525/0.038$ , suPAR: $0.695/0.000, 0.625/0.002, 0.587/0.019, -0.681/0.000$ );血浆Sesn2、sFKN、suPAR预测老年CHF患者出院后心脏事件AUC分别为0.805、0.886和0.743,敏感度和特异度分别为72.92%和73.96%、89.58%和80.21%、65.26%和73.68%,Youden指数分别为0.47、0.70和0.39。**结论** 老年CHF患者血浆Sesn2、sFKN和suPAR水平异常升高,且随着心功能等级的升高而增加,与心功能相关性较强,sFKN对老年CHF患者出院后心脏事件具有较高的预测价值。

**【关键词】** 心力衰竭;慢性;老年;Sestrin2;可溶性不规则趋化因子;可溶性尿激酶型纤溶酶原激活物受体;心功能;心脏事件;相关性

【中图分类号】 R541.6

【文献标识码】 A

**Correlation of plasma Sestrin2, sFKN, suPAR levels with cardiac function and cardiac events in elderly patients with chronic heart failure** Huang Shoulian, Liang Chao, Zhao Tao, Yan Zhi, Dan Xuechuan. Department of Cardiology, Yibin Second People's Hospital/Yibin Hospital of West China Hospital of Sichuan University, Sichuan Province, Yibin 644000, China

Corresponding author: Dan Xuechuan, E-mail: danxuechuan1972001@163.com

Funding program: Sichuan Medical Science Research Program (Q161049)

**【Abstract】 Objective** To analyze the relationship between the levels of plasma Sestrin2 (Sesn2), soluble irregular chemokine (sFKN), soluble urokinase-type plasminogen activator receptor (suPAR) and cardiac function and cardiac events in elderly patients with chronic heart failure (CHF). **Methods** From July 2017 to June 2019, 120 cases of elderly CHF patients (case group) were treated by the Department of Cardiology, Second People's Hospital of Yibin City, West China Hospital of Sichuan University/West China Hospital of Sichuan University (case group), and they were divided into two subgroups according to NYHA cardiac function classification (53 cases), grade III subgroup (39 cases) and grade IV subgroup (28 cases). In addition, 95 healthy people who received physical examination in the hospital during the same period were selected as the healthy control group. The plasma levels of Sesn2, sFKN, suPAR and cardiac function indexes were detected in the two groups, and the correlation between the three and the cardiac function indexes and the predictive value of cardiac

events after discharge from the elderly CHF patients were analyzed. **Results** The plasma levels of Sesn2, sFKN, and suPAR in the case group were higher than those in the healthy control group ( $P < 0.05$ ), and their levels increased with the increase of cardiac function level ( $F/P = 139.652/0.000, 266.371/0.000, 310.615/0.000$ ). LVEDd, IVSD and PWD increased with the increase of cardiac function grade, and LVEF decreased with the increase of cardiac function grade ( $F/P = 314.687/0.000, 171.403/0.000, 132.826/0.000, 210.833/0.000$ ). The plasma levels of Sesn2, sFKN and suPAR in elderly CHF patients with adverse cardiac events were higher than those without cardiac events ( $t/P = 4.336/0.000, 4.903/0.000, 6.405/0.000$ ). Plasma levels of Sesn2, sFKN and suPAR were positively correlated with LVEDd, IVSD and PWD, and negatively correlated with LVEF (Sesn2:  $r/P = 0.561/0.026, 0.732/0.000, 0.538/0.031, -0.677/0.000$ , sFKN:  $0.652/0.000, 0.595/0.014, 0.714/0.000, -0.525/0.038$ , suPAR:  $0.695/0.000, 0.625/0.002, 0.587/0.019, -0.681/0.000$ ). Plasma Sesn2, sFKN, and suPAR predict the AUC of cardiac events in elderly CHF patients after discharge are 0.805, 0.886, and 0.743, respectively. The sensitivity and specificity are 72.92% and 73.96%, 89.58% and 80.21%, 65.26% and 73.68%, respectively. Youden index are 0.47, 0.70 and 0.39 respectively. **Conclusion** The plasma levels of Sesn2, sFKN, and suPAR in elderly CHF patients are abnormally increased, and increase with the increase of cardiac function grade, which has a strong correlation with cardiac function. sFKN has a higher predictive value for cardiac events after discharge in elderly CHF patients.

**【Key words】** Heart failure, chronic; Elderly; Sestrin2; Soluble irregular chemokine; Soluble urokinase type plasminogen activator receptor; Cardiac function; Cardiac events; Correlation

慢性心力衰竭 (chronic heart failure, CHF) 主要是由于心肌病、炎症反应、血流动力学负荷过重等原因造成心肌结构和功能的改变, 最终导致心室充盈和射血功能下降, 是各类心脏相关疾病发展的晚期阶段<sup>[1-2]</sup>。CHF 已经成为全球性公共卫生问题, 发达国家的心力衰竭患病率一般为 1% ~ 2%<sup>[3]</sup>; 我国流行病学资料显示, 每年新发心力衰竭患者大约为 50 万例<sup>[4-5]</sup>。CHF 患者的预后较差, 出院后不良心脏事件发生率、再入院率和病死率较高, 调查显示 CHF 患者出院后 3 个月内再入院率和病死率分别为 30% 和 15%, 5 年内约 50% 患者死亡, 显著增加国家的医疗经济负担<sup>[6]</sup>。因此, 寻找特异度、敏感度高的血浆标志物早期筛查出院后不良心脏事件高危人群, 进行有效干预有助于降低再住院率和病死率。近年研究显示, Sestrin2 (Sesn2)、可溶性不规则趋化因子 (sFKN)、可溶性尿激酶型纤溶酶原激活物受体 (suPAR) 分别作为新型的氧化应激和炎症标志物, 与心血管疾病的发生和发展密切相关<sup>[7-9]</sup>。基于此, 笔者测定老年 CHF 患者血浆 Sesn2、sFKN 和 suPAR 水平, 并分析其与心功能的相关性, 报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2017 年 7 月—2019 年 6 月四川省宜宾市第二人民医院/四川大学华西医院宜宾医院心内科治疗老年 CHF 患者 120 例 (病例组), 男 63 例, 女 57 例, 年龄 60 ~ 83 (70.75 ± 10.72) 岁; 并发症: 高血压 38 例, 糖尿病 23 例, 血脂异常 53 例; 病程 1 ~ 5 (2.83 ± 1.70) d; 诱因: 呼吸道感染 96 例, 心血管疾病 21 例, 情绪过激 3 例; 有家族遗传史 53 例, 无家族遗

传史 67 例; 依据美国纽约心脏病学会 (NYHA) 心功能分级<sup>[10]</sup>: II 级亚组 53 例, 男 28 例, 女 25 例, 年龄 60 ~ 76 (68.29 ± 8.17) 岁; III 级亚组 39 例, 男 20 例, 女 19 例, 年龄 62 ~ 80 (72.16 ± 7.14) 岁; IV 级亚组 28 例, 男 15 例, 女 13 例, 年龄 62 ~ 83 (73.44 ± 9.54) 岁。另选取同期于医院体检健康者 95 例作为健康对照组, 男 58 例, 女 37 例, 年龄 60 ~ 80 (70.34 ± 9.36) 岁。2 组性别、年龄比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 具有可比性。本研究经医院伦理委员会批准, 入选者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准: ①所有患者均符合“2016 ESC 急慢性心力衰竭诊断和治疗指南”<sup>[11]</sup> 中的诊断标准; ②NYHA 心功能分级为 II ~ IV 级; ③年龄均 ≥ 60 岁; ④住院期间患者病情稳定。(2) 排除标准: ①急性心力衰竭; ②急性冠状动脉综合征; ③肺炎和胆囊炎等急性感染性疾病; ④先天性心脏病史、急性心肌梗死、心脏瓣膜疾病及肺心病患者; ⑤严重肝肾功能障碍、恶性肿瘤及血液系统疾病患者。

## 1.3 观测指标与方法

1.3.1 血浆 Sesn2、sFKN 和 suPAR 水平检测: 2 组受试者于入院或体检当日早晨采集空腹肘静脉血 6 ml, 置于装有抗凝剂的采血管, 离心分离血浆储存在 -20℃ 冰箱中待测。以酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测血浆 Sesn2、sFKN 和 suPAR 水平, Sesn2 试剂盒购自上海双赢生物科技有限公司, sFKN 试剂盒购自美国 CLOUD-CLONE CORP 公司, suPAR 试剂盒购自上海雅吉生物科技有限公司, 每份样本重复测量 3 次, 计算平均值。

1.3.2 超声心动图检查:采用美国飞利浦公司的 IE33 超声心动图仪检测心功能指标,包括左心室舒张末期内径(LVEDd)、左心室后壁舒张末期厚度(PWD)、室间隔舒张末期厚度(IVSD)和左心室射血分数(LVEF)。

1.3.3 随访和终点事件:以复查、再入院记录及每月电话方式随访不良心脏事件,包括心力衰竭病情变化、心力衰竭恶化再次入院、心肌梗死、进行性心力衰竭导致的死亡和心源性死亡,每位患者随访时间自出院当日起,期限最长为 12 个月。

1.4 统计学方法 使用 Graphpad Prism 8.3 软件对数据进行统计分析。符合正态分布计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析;计数资料以频数或率(%)表示,比较采用  $\chi^2$  检验;采用 Pearson 检验分析血浆 Sesn2、sFKN、suPAR 水平与心功能指标的相关性,采用受试者工作特征曲线(ROC)分析血浆 Sesn2、sFKN、suPAR 水平对心脏事件的预测价值。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 各组血浆 Sesn2、sFKN 和 suPAR 水平比较 病例组血浆 Sesn2、sFKN、suPAR 水平均高于健康对照组( $P < 0.05$ ),且以上指标水平随着心功能等级的升高而增加( $P$  均  $< 0.01$ ),见表 1。

2.2 各亚组心功能比较 LVEDd、IVSD 和 PWD 随着 NYHA 心功能分级升高而增加,LVEF 随着 NYHA 心功能分级升高而降低( $P < 0.01$ ),见表 2。

2.3 不同随访结局患者血浆 Sesn2、sFKN 和 suPAR 水平比较 老年 CHF 患者并发不良心脏事件 38 例,

无心脏事件 82 例。并发不良心脏事件患者血浆 Sesn2、sFKN 和 suPAR 水平均高于无心脏事件患者,差异均有统计学意义( $P < 0.01$ ),见表 3。

表 1 2 组血浆 Sesn2、sFKN 和 suPAR 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	Sesn2 (ng/ml)	sFKN (pg/ml)	suPAR (ng/ml)
健康对照组	95	1.22 ± 0.26	408.27 ± 274.83	1.34 ± 0.45
病例组	120	2.01 ± 0.45 <sup>a</sup>	1 412.81 ± 385.27 <sup>a</sup>	2.70 ± 0.73 <sup>a</sup>
Ⅱ级亚组	53	1.75 ± 0.37	1 064.59 ± 308.85	1.97 ± 0.33
Ⅲ级亚组	39	2.03 ± 0.29 <sup>b</sup>	1 573.62 ± 268.65 <sup>b</sup>	2.68 ± 0.41 <sup>b</sup>
Ⅳ级亚组	28	2.46 ± 0.41 <sup>bc</sup>	1 847.95 ± 315.88 <sup>bc</sup>	4.12 ± 0.62 <sup>bc</sup>
<i>F</i> 值		139.652	266.371	310.615
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与健康对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与Ⅱ级亚组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与Ⅲ级亚组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$

2.4 血浆 Sesn2、sFKN 和 suPAR 水平与心功能指标的相关性 老年 CHF 患者血浆 Sesn2、sFKN 和 suPAR 水平与 LVEDd、IVSD 和 PWD 均呈正相关( $P < 0.05$ ),与 LVEF 呈负相关( $P < 0.05$ ),见表 4。

2.5 血浆 Sesn2、sFKN、suPAR 水平预测老年 CHF 患者出院后心脏事件的价值 ROC 曲线分析显示,血浆 Sesn2 曲线下面积(AUC)为 0.805(95% CI 0.740 ~ 0.870),敏感度和特异度分别为 72.92% 和 73.96%, Youden 指数为 0.47;血浆 sFKN 的 AUC 为 0.886(95% CI 0.839 ~ 0.934),敏感度和特异度分别为 89.58% 和 80.21%, Youden 指数为 0.70;血浆 suPAR 的 AUC 为 0.743(95% CI 0.674 ~ 0.813),敏感度和特异度分别为 65.26% 和 73.68%, Youden 指数为 0.39。血浆 sFKN 预测老年 CHF 患者出院后心脏事件的价值高于血浆 Sesn2 及 suPAR,见图 1、表 5。

表 2 各亚组患者心功能比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	LVEDd (mm)	IVSD (cm)	PWD (cm)	LVEF (%)
健康对照组	95	30.74 ± 4.26	0.73 ± 0.07	0.71 ± 0.09	61.48 ± 4.10
病例组	120	51.39 ± 7.73 <sup>a</sup>	1.02 ± 0.17 <sup>a</sup>	0.96 ± 0.16 <sup>a</sup>	46.80 ± 6.08 <sup>a</sup>
Ⅱ级亚组	53	47.98 ± 6.14	0.94 ± 0.13	0.88 ± 0.11	50.12 ± 5.03
Ⅲ级亚组	39	51.84 ± 5.12 <sup>b</sup>	1.04 ± 0.11 <sup>b</sup>	0.97 ± 0.08 <sup>b</sup>	46.15 ± 4.79 <sup>b</sup>
Ⅳ级亚组	28	57.23 ± 5.26 <sup>bc</sup>	1.15 ± 0.12 <sup>bc</sup>	1.09 ± 0.14 <sup>bc</sup>	41.43 ± 4.36 <sup>bc</sup>
<i>F</i> 值		314.687	171.403	132.826	210.833
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与健康对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与Ⅱ级亚组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与Ⅲ级亚组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$

表 3 不同随访结局患者血浆 Sesn2、sFKN 和 suPAR 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

随访结局	例数	Sesn2 (ng/ml)	sFKN (pg/ml)	suPAR (ng/ml)
无心脏事件	82	1.86 ± 0.57	1 287.30 ± 415.72	2.40 ± 0.77
并发不良心脏事件	38	2.32 ± 0.47	1 683.64 ± 403.36	3.36 ± 0.75
<i>t</i> 值		4.336	4.903	6.405
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001



表 4 老年 CHF 患者血浆 Sesn2、sFKN、suPAR 水平与心功能指标的相关性分析

指标	Sesn2		sFKN		suPAR	
	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值
LVEDd	0.561	0.026	0.652	<0.001	0.695	<0.001
IVSD	0.732	<0.001	0.595	0.014	0.625	0.002
PWD	0.538	0.031	0.714	<0.001	0.587	0.019
LVEF	-0.677	<0.001	-0.525	0.038	-0.681	<0.001

表 5 血浆 Sesn2、sFKN、suPAR 水平对老年 CHF 患者出院后心脏事件的预测价值比较

变量	cut-off 值	AUC	95% CI	敏感度(%)	特异度(%)	Youden 指数
Sesn2	1.62 ng/ml	0.805	0.740 ~ 0.870	72.92	73.96	0.47
sFKN	709.74 pg/ml	0.886	0.839 ~ 0.934	89.58	80.21	0.70
suPAR	1.77 ng/ml	0.743	0.674 ~ 0.813	65.26	73.68	0.39

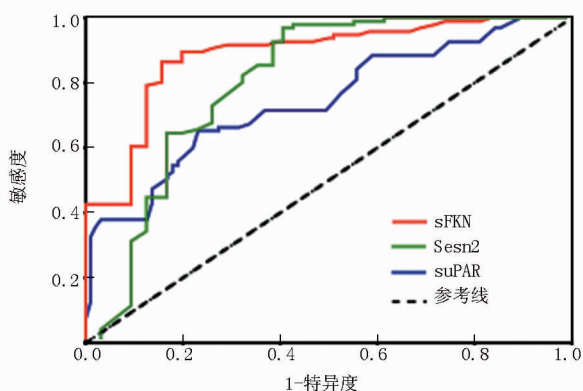


图 1 血浆 Sesn2、sFKN、suPAR 水平对老年 CHF 患者出院后心脏事件的预测价值

### 3 讨论

CHF 患者通常都会出现心脏结构和功能的改变,超声心动图作为一种无创性检查,在评估心脏结构和功能方面占据重要地位,在临床上广泛用于 CHF 患者的诊断及疗效评估<sup>[12]</sup>。随着生活水平和医疗水平的提高,人均寿命增加,人口老龄化水平也显著提升,导致老年人 CHF 的发病率和患病率均增加,65 岁以上老年人群的 CHF 患病率达到了 6.7%<sup>[4-5]</sup>。左心室重塑与心功能下降有关,左心室重塑主要包括室壁增厚,心室扩大,压力负荷引起舒张期室壁应力增加等心肌生物学改变,最终会引起左心功能不全和心力衰竭<sup>[13]</sup>。本研究发现,老年 CHF 患者的 LVEDd、IVSD 和 PWD 随着 NYHA 心功能分级升高而增加,LVEF 随着 NYHA 心功能分级升高而降低,体现了不同严重程度 CHF 患者心脏结构上的差异,与丁才智等<sup>[14]</sup>的研究结果基本一致。

Sesn2 是一种重要的应激诱导蛋白,主要来源于巨噬细胞和 T 淋巴细胞,其浓度间接反映了氧化应激的程度<sup>[15]</sup>。Ye 等<sup>[16]</sup>研究发现,心绞痛和心肌梗死患

者血浆 Sesn2 水平明显增高,并且与氧化应激相关的超氧化物歧化酶(SOD)呈负相关,与丙二醛(MDA)呈正相关。本结果说明,在 CHF 患者中也存在着氧化应激。氧化应激通常会产生活性氧,过量的活性氧可以损伤心肌中线粒体酶活性,改变心肌细胞的结构和功能,导致左心室重塑,促进心力衰竭的进展<sup>[17-19]</sup>。Sesn2 可能是通过 AMP 依赖的蛋白激酶(AMPK)/过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  共激活因子- $\alpha$  (PGC-1 $\alpha$ ) 信号通路调控机体氧化应激水平及线粒体生物功能参与心力衰竭的进程<sup>[20]</sup>。此结果说明血浆 Sesn2 水平对老年 CHF 患者出院后心脏事件具有一定的预测价值。

炎症反应激活也是心力衰竭发生和发展的关键因素,炎症因子对心肌细胞具有负性肌力作用,还可以使心肌发生纤维化,胶原蛋白累积,最终造成心室重构,进而影响心脏舒张和收缩功能<sup>[21]</sup>。sFKN 是 CX3C 趋化因子家族中的成员,在多种细胞中表达,包括炎症细胞、上皮细胞、心肌细胞等,sFKN 具有趋化炎症细胞和血管收缩的特征<sup>[8, 22]</sup>,Yao 等<sup>[8]</sup>发现急性心肌梗死患者和小鼠模型中心脏 sFKN 的表达水平均提高,说明 sFKN 在心血管疾病中起重要作用。本研究也发现,老年 CHF 患者血浆 sFKN 水平异常升高,并随着 NYHA 心功能分级的升高而增加,血浆 sFKN 水平与 LVEDd、IVSD 和 PWD 呈正相关,与 LVEF 呈负相关,说明 sFKN 参与了老年 CHF 的发生发展,其机制可能与 sFKN/CX3C 受体 1(CX3CR1)轴有关,sFKN 主要通过趋化因子受体 CX3CR1 相互作用激发对炎症细胞的趋化性和黏附功能<sup>[22]</sup>。suPAR 含有 3 个同源折叠区域,其中 D III 区存在一个连接位点,可将 suPAR 连接在中性粒细胞、单核巨噬细胞、平滑肌细胞、内皮细胞等细胞膜表面,研究显示其在机体循环系统内的水平反映了机体的炎症反应活化程度<sup>[23-24]</sup>。本研究显示,

老年 CHF 患者血浆 suPAR 水平异常升高,并随着 NYHA 心功能分级的升高而增加,血浆 suPAR 水平与 LVEDd、IVSD 和 PWD 呈正相关,与 LVEF 呈负相关,说明 suPAR 与老年 CHF 的严重程度有关。suPAR 与 CHF 之间的关联机制尚不清楚,可能是由于 CHF 患者体内炎性反应水平增强,位于炎性细胞膜表面的 suPAR 被切割进入血液循环,suPAR 水平的升高反映了机体炎性反应水平的增加,高水平的炎性反应可引起心肌重构和心肌收缩力降低进而促进心力衰竭的发生。此外,老年 CHF 并发不良心脏事件患者血浆 sFKN 和 suPAR 水平均高于无心脏事件患者,血浆 sFKN 水平预测老年 CHF 患者出院后心脏事件的曲线下面积为 0.886,敏感度和特异度分别为 89.58% 和 80.21%,均高于 Sesn2、suPAR,说明血浆 sFKN 水平对老年 CHF 患者出院后心脏事件的预测价值较高。

综上所述,老年 CHF 患者血浆 Sesn2、sFKN 和 suPAR 水平异常升高,且随着心功能等级的升高而增加,与 LVEDd、IVSD、PWD 和 LVEF 相关性较强,sFKN 对老年 CHF 患者出院后心脏事件具有较高的预测价值。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

黄守莲:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;梁超:进行统计学分析;詹洮、颜治:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;谈雪川:提出研究思路,分析试验数据,论文审核

**参考文献**

- [1] 徐娟娟,沈正军,倪斌,等. 慢性心力衰竭患者血清 Lp-PLA2、sSema4D 的表达及临床意义[J]. 疑难病杂志, 2020, 19(1):8-11, 16. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2020.01.003.
- [2] 中华医学会心血管病学分会心力衰竭学组,中国医师协会心力衰竭专业委员会,中华心血管病杂志编辑委员会. 中国心力衰竭诊断和治疗指南 2018[J]. 中华心血管病杂志, 2018, 46(10):760-789. DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-3758.2018.10.004.
- [3] Lam CSP, Doehner W, Comin-Colet J, IRON CORE Group. Iron deficiency in chronic heart failure: case-based practical guidance [J]. ESC Heart Fail, 2018, 5(5):764-771. DOI: 10.1002/ehf2.12333.
- [4] 王宙,周琳,刘洋,等. 慢性心力衰竭的流行病学研究现状及防治研究进展[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2019, 11(8):1022-1024. DOI:10.3760/ema.j.issn.0253-3758.2018.10.004.
- [5] 邱伯雍,王永霞. 慢性心力衰竭流行病学及防治研究进展[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2017, 31(6):619-621. DOI: 10.13507/j.issn.1674-3474.2017.06.032.
- [6] Greene SJ, Fonarow GC, Vaduganathan M, et al. The vulnerable phase after hospitalization for heart failure [J]. Nat Rev Cardiol, 2015, 12(4):220-229. DOI: 10.1038/nrcardio.2015.14.
- [7] Sun W, Wang Y, Zheng Y, et al. The emerging role of Sestrin2 in cell metabolism, and cardiovascular and age-related diseases [J].

- Aging Dis, 2020, 11(1):154-163. DOI: 10.14336/AD.2019.0320.
- [8] Yao K, Zhang S, Lu H, et al. Changes in fractalkine in patients with ST-elevation myocardial infarction [J]. Coron Artery Dis, 2015, 26(6):516-520. DOI: 10.1097/MCA.0000000000000273.
- [9] Mehta A, Desai SR, Ko YA, et al. Sex differences in circulating soluble urokinase-type plasminogen activator receptor (suPAR) levels and adverse outcomes in coronary artery disease [J]. J Am Heart Assoc, 2020, 9(5):e015457. DOI: 10.1161/JAHA.119.015457.
- [10] 杨宏斌,黄巧平. 老年心功能衰竭患者血清 NT-proBNP 和 hs-TnT 水平检测与 NYHA 分级的相关性分析 [J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(2):64-67, 71. DOI: 10.3969/j.issn.1671-7414.2019.02.017.
- [11] Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, et al. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC [J]. European Journal of Heart Failure, 2016, 18(8):891-975. DOI: 10.1093/eurheartj/ehw128.
- [12] 马进,张静,邱燕玲,等. 超声心动图对心脏再同步化治疗慢性心力衰竭的临床应用价值 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2020, 18(15):2491-2494. DOI: 10.12102/j.issn.1672-1349.2020.15.029.
- [13] OGrady H, Mostafa K, Zafar H, et al. Changes in left ventricular shape and morphology in the presence of heart failure: a four-dimensional quantitative and qualitative analysis [J]. Int J Comput Assist Radiol Surg, 2019, 14(8):1415-1430. DOI: 10.1007/s11548-019-01985-3.
- [14] 丁才智,李剑峰,任力,等. 血清肝细胞生长因子、生长分化因子-15 在慢性心力衰竭患者的表达及其意义 [J]. 山东医药, 2019, 59(22):12-15. DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2019.22.004.
- [15] Kim MG, Yang JH, Kim KM, et al. Regulation of Toll-like receptor-mediated Sestrin2 induction by AP-1, Nrf2, and the ubiquitin-proteasome system in macrophages [J]. Toxicol Sci, 2015, 144(2):425-435. DOI: 10.1093/toxsci/kfv012.
- [16] Ye J, Wang M, Xu Y, et al. Sestrins increase in patients with coronary artery disease and associate with the severity of coronary stenosis [J]. Clin Chim Acta, 2017, 472(9):51-57. DOI: 10.1016/j.cca.2017.07.020.
- [17] Kiyuna LA, Albuquerque RPE, Chen CH, et al. Targeting mitochondrial dysfunction and oxidative stress in heart failure: Challenges and opportunities [J]. Free Radic Biol Med, 2018, 129(5):155-168. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.09.019.
- [18] 蒋璐,龚国彪,康小兰,等. 重组人脑利钠肽对严重心力衰竭患者心肌纤维化标志物水平的影响 [J]. 疑难病杂志, 2020, 19(10):1005-1008. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2020.10.008.
- [19] 杨茂,贾静,王岩,等. 伊伐布雷定对糖尿病合并慢性心力衰竭患者心功能及心率变异性的影响 [J]. 疑难病杂志, 2019, 18(4):325-328. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2019.04.001.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.04.004

心血管系统疾病

# 阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征对老年冠心病患者短期全因死亡的影响

谢学刚, 何芬, 张苗, 张松林, 和旭梅

基金项目: 陕西省社会发展科技攻关项目(S2015FS1082)

作者单位: 710061 西安交通大学第一附属医院结构性心脏病科

通信作者: 和旭梅, E-mail: shangjiezan@163.com

**【摘要】目的** 探讨阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征(OSAHS)对老年冠心病患者全因死亡的影响。**方法** 选取2015年1月—2016年1月西安交通大学第一附属医院结构性心脏病科收治的老年冠心病患者504例,其中合并OSAHS患者285例纳入观察组,余患者219例纳入对照组。患者出院后每6个月随访1次,随访时间截止于2018年6月,以患者全因死亡为研究终点。收集并比较2组患者临床资料、呼吸功能、心功能、血糖、血脂、炎性因子水平及死亡原因,采用多因素Cox回归模型分析老年冠心病患者死亡危险因素。**结果** 观察组患者低通气指数(AHI)、氧饱和度指数(ODI4)、血氧饱和度低于90%的时间占总监测时间百分比(SIT90)高于对照组( $t/\chi^2 = 12.410, 18.729, 38.823, P$ 均=0.000),体质量指数(BMI)、高敏C反应蛋白(hs-CRP)及白介素-6(IL-6)水平高于对照组( $t = 5.061, 38.063, 6.981, P$ 均=0.000),冠心病病死率、全因死亡率高于对照组( $\chi^2 = 9.334, 15.863, P = 0.002, 0.000$ ),累计生存率低于对照组( $P < 0.05$ ),hs-CRP、BMI、OSAHS、SIT90均是老年冠心病患者全因死亡的独立危险因素( $P < 0.05$ )。**结论** OSAHS是老年冠心病患者全因死亡的独立危险因素,在临床上应引起足够的重视并给予相应的治疗手段。

**【关键词】** 冠心病;阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征;全因死亡;老年人**【中图分类号】** R541.4;R562**【文献标识码】** A

**The effect of obstructive sleep apnea hypopnea syndrome on short-term all-cause death in elderly patients with coronary heart disease** Xie Xuegang, He Fen, Zhang Miao, Zhang Songlin, He Xumei. Department of Structural Cardiology, The First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Shaanxi Province, Xi'an 710061, China

Corresponding author: He Xumei, E-mail: shangjiezan@163.com

Funding program: Shaanxi Social Development Science and Technology Project (S2015FS1082)

**【Abstract】 Objective** To explore the impact of obstructive sleep apnea hypopnea syndrome (OSAHS) on all-cause death in elderly patients with coronary heart disease(CHD). **Methods** A total of 504 elderly patients with CHD admitted to the Structural Cardiology Department of the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University from January 2015 to January 2016 were selected. Among them, 285 patients with OSAHS were included in the observation group, and the remaining 219 patients were included in the control group. The patients were followed up every 6 months after being discharged from the hospital. The follow-up time ended in June 2018, with all-cause death of the patient as the study endpoint. The clinical data, respiratory function, cardiac function, blood glucose, blood lipids, inflammatory factor levels and causes of death were collected and compared between the two groups of patients, and the multivariate Cox regression model was used to analyze the risk factors of death in elderly patients with CHD. **Results** The observation group patients' hypoventilation index (AHI), oxygen desaturation index (ODI4), and blood oxygen saturation below 90% of the total monitoring time percentage (SIT90) were higher than those in the control group ( $t/\chi^2 = 12.410, 18.729, 38.823, P = 0.000$ ), body mass index (BMI), high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) and interleukin 6 (IL-6) levels were higher than those of the control group ( $t = 5.061, 38.063, 6.981, P = 0.000$ ). CHD fatality rate, the all-cause mortality rate was higher than that of the control group ( $\chi^2 = 9.334, 15.863, P = 0.002, 0.000$ ), and the cumulative survival rate was lower than that of the control group ( $P < 0.05$ ). hs-CRP, BMI, OSAHS, SIT90 are an independent risk factors for all-cause mortality in elderly patients with CHD ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** OSAHS is an independent risk factor for all-cause death in elderly patients with CHD. It should arouse sufficient attention in clinic and be given corresponding treatment.

**【Key words】** Coronary heart disease; Obstructive sleep apnea hypopnea syndrome; All-cause mortality; Elderly

冠状动脉粥样硬化性心脏病简称冠心病<sup>[1-2]</sup>,是当目前严重威胁人类健康的心血管疾病。冠心病在老年人群中发病率较高,据统计有 25% 冠心病患者年龄超过 65 岁<sup>[3]</sup>。《中国心血管病报告 2018》中指出,近年来,我国冠心病患者病死率呈逐年上升趋势<sup>[4]</sup>。冠心病患者病死率上升的重要原因之一可能是我国人口老龄化的加剧<sup>[5]</sup>。目前临床上对冠心病主要治疗目的是保持患者病情稳定,减少心血管事件的发生,从而降低患者病死率<sup>[6]</sup>。而在临床实践中,冠心病患者常合并其他疾病,并导致患者心血管事件发生率和病死率升高。阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征(OSAHS)是心血管疾病的常见合并症,也被认为是心血管事件发生的独立危险因素之一<sup>[7]</sup>。有国外学者研究发现<sup>[8]</sup>,冠心病合并 OSAHS 患者远期心血管事件发生率高达 35%。目前国内关于老年冠心病患者合并 OSAHS 与全因死亡关系的报道较少。为此,本研究对 504 例老年冠心病患者进行随访调查,并分析 OSAHS 对患者全因死亡的影响,报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2015 年 1 月—2016 年 1 月西安交通大学第一附属医院结构性心脏病科收治的老年冠心病患者 504 例,其中合并 OSAHS 患者 285 例纳入观察组,患者体质量指数(BMI)22~33(28.02±3.19) kg/m<sup>2</sup>,临床多伴有打鼾、白天嗜睡、夜尿增多、晨起头痛等症状;余患者 219 例纳入对照组。2 组患者临床资料见表 1。本研究经医院伦理委员会批准,患者及家属知情同意,且签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1)诊断标准:OSAHS 确诊标准参照“阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征诊治指南(基层版)”<sup>[9]</sup>;(2)纳入标准:①患者年龄≥65 岁;②患者均经冠状动脉造影检查确诊为冠心病。(3)排除标准:①合并其他先天性心脏病者;②肝、肾功能严重不全者;③神志不清或有精神病史者;④恶性肿瘤患者;⑤临床资料不全或失访者。

### 1.3 观测指标与方法

1.3.1 临床资料:包括性别、年龄、吸烟史、饮酒史、BMI、合并基础疾病、服药情况、病程、心功能分级、既往治疗史、家族遗传史等。

1.3.2 呼吸功能指标检测:患者均行多导睡眠呼吸监测,采用 AB110 型多导睡眠检测仪(PSG, compumedics, 德国)检测并记录低通气指数(AHI)、氧减饱和指数(ODI4)、血氧饱和度低于 90% 的时间占总监测时间百分比(SIT90)。其中 5≤AHI<15 次/h 患者 78 例,确诊为冠心病合并轻度 OSAHS;15≤AHI<30 次/h

患者 181 例,确诊为冠心病合并中度 OSAHS;AHI≥30 次/h 患者 26 例,确诊为冠心病合并重度 OSAHS。

1.3.3 心功能指标检查:采用 JH-970 型彩色多普勒超声诊断仪(江苏佳华电子设备有限公司),X5-1 探头,频率为 1.7~3.4 MHz,患者取左侧卧位,嘱咐患者平静呼吸,常规心脏超声检查后,首先于心尖四腔心切面或左室两腔心切面,将脉冲多普勒取样容积置于二尖瓣口。采用 Simpson 法,描计舒张期和收缩期心内膜边缘,计算机自动描计室壁运动曲线。心功能指标包括左心室射血分数(LVEF)、左心室收缩末期容积(LVESV)、左心室舒张末期容积(LVEDV)、每搏输出量(SV)等。

1.3.4 血糖、血脂及炎症因子检测:于患者入院后采取空腹静脉血 3 ml,经 PSD1250 型台式高速离心机(德国索福公司)离心分离得血清,采用 AU5800 型全自动生化分析仪(美国贝克曼公司)检测空腹血糖(FPG)、三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)及高敏 C 反应蛋白(hs-CRP)、白介素-6(IL-6),试剂盒购于北京伊斯康科技有限公司,操作方法严格按仪器和试剂盒说明书要求进行。

1.3.5 随访情况:2015 年 6 月 1 日为随访起点,每 6 个月对患者随访 1 次,末次随访时间为 2018 年 6 月 30 日,终点事件为患者死亡。随访方式包括电话随访、门诊预约,随访时应对患者的症状、体征、生存状况及死亡原因(主要包括心脑血管疾病及其他疾病)进行记录。死亡记录分别由 2 名医师记录并相互校对,避免人为误差,随访调查过程中无失访者。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 19.0 软件对数据进行统计分析。符合正态分布计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用 *t* 检验;计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验;生存时间比较采用 Kaplan-Meier 法评估,全因死亡的影响因素采用多因素 Cox 回归模型评估。*P*<0.05 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 2 组临床资料比较 2 组患者性别、年龄、吸烟史、饮酒史、高血压、糖尿病、高血脂症发生情况,他汀类药物、 $\beta$ 受体阻滞剂、阿司匹林、血管紧张素 II 受体阻断剂(ACEI)服用情况,病程、心功能分级、既往治疗史及家族遗传史比较,差异均无统计学意义(*P*>0.05),而对照组 BMI 低于观察组(*P*<0.05),见表 1。

2.2 2 组呼吸功能指标比较 观察组患者 AHI、ODI4、SIT90 均高于对照组,差异有统计学意义(*P*<0.01),见表 2。

表 1 2 组患者临床资料比较 [例(%)]

项目	对照组 (n=219)	观察组 (n=285)	$\chi^2/t$ 值	P 值
男性	123(56.16)	159(55.79)	0.007	0.993
年龄( $\bar{x} \pm s$ , 岁)	72.59 $\pm$ 5.31	74.01 $\pm$ 6.41	0.785	0.433
吸烟史	129(58.90)	165(57.89)	0.052	0.820
饮酒史	89(40.64)	115(40.35)	0.004	0.920
BMI( $\bar{x} \pm s$ , kg/m <sup>2</sup> )	26.73 $\pm$ 3.91	29.01 $\pm$ 6.16	5.061	0.000
合并基础疾病				
高血压病	51(23.28)	72(25.26)	0.262	0.609
糖尿病	33(15.09)	51(18.84)	0.712	0.399
高脂血症	45(20.55)	63(22.10)	0.178	0.673
既往治疗史	179(81.74)	218(76.49)	2.036	0.154
家族遗传史	13(5.94)	26(9.12)	1.762	0.184
病程( $\bar{x} \pm s$ , 年)	10.16 $\pm$ 3.41	9.56 $\pm$ 3.62	1.891	0.059
心功能分级				
I 级	54(24.66)	76(26.67)	0.939	0.348
II 级	74(33.79)	103(36.14)		
III 级	64(29.22)	76(26.67)		
IV 级	27(12.33)	30(10.12)		
服药情况				
他汀类药物	216(98.63)	279(97.89)	0.382	0.537
$\beta$ 受体阻滞剂	182(83.10)	255(89.47)	2.357	0.561
阿司匹林	213(97.26)	282(98.94)	2.009	0.297
ACEI	181(82.65)	251(88.07)	2.973	0.553

表 2 2 组患者呼吸功能指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	AHI(次/h)	ODI4(次/h)	SIT90(%)
对照组	219	8.64 $\pm$ 1.08	11.93 $\pm$ 3.02	9.02 $\pm$ 2.05
观察组	285	11.34 $\pm$ 3.46	18.98 $\pm$ 5.34	18.34 $\pm$ 3.31
t 值		12.410	18.729	38.823
P 值		0.000	0.000	0.000

2.3 2 组心功能指标比较 2 组患者 LVEF、LVESV、LVEDV、SV 比较, 差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ), 见表 3。

表 3 2 组患者心脏超声指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	LVEF(%)	LVESV(ml)	LVEDV(ml)	SV(ml)
对照组	219	59.35 $\pm$ 6.98	51.83 $\pm$ 7.62	127.98 $\pm$ 19.37	75.82 $\pm$ 9.31
观察组	285	58.59 $\pm$ 7.31	52.21 $\pm$ 5.31	130.96 $\pm$ 21.45	74.35 $\pm$ 8.99
t 值		1.180	0.630	1.612	1.791
P 值		0.229	0.529	0.108	0.074

2.4 2 组血糖、血脂及炎症因子比较 与对照组比

表 4 2 组患者血糖、血脂及炎症因子比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	FPG(mmol/L)	TG(mmol/L)	TC(mmol/L)	LDL-C(mmol/L)	HDL-C(mmol/L)	hs-CRP(mg/L)	IL-6(ng/ml)
对照组	219	5.82 $\pm$ 1.06	1.79 $\pm$ 0.62	4.79 $\pm$ 1.22	2.43 $\pm$ 0.54	1.61 $\pm$ 0.59	17.38 $\pm$ 2.61	37.51 $\pm$ 6.41
观察组	285	5.61 $\pm$ 0.92	1.81 $\pm$ 0.51	4.74 $\pm$ 1.34	2.46 $\pm$ 0.42	1.60 $\pm$ 0.44	26.23 $\pm$ 2.57	42.15 $\pm$ 8.51
t 值		1.222	0.387	0.432	0.679	0.210	38.063	6.981
P 值		0.222	0.699	0.666	0.497	0.834	0.000	0.000

较, 观察组 hs-CRP、IL-6 水平升高, 差异有统计学意义( $P < 0.01$ ), 而 2 组患者 FPG、TG、TC、LDL-C、HDL-C 比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 见表 4。

2.5 2 组死因及全因死亡率比较 与对照组比较, 观察组全因死亡率、冠心病病死率相对较高( $P < 0.01$ ); 2 组患者脑血管疾病及其他疾病的病死率比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 见表 5。Kaplan-Meier 法生存分析结果显示, 与对照组比较, 观察组老年冠心病患者累计生存率较低(log rank 检验  $\chi^2 = 5.436, P = 0.019$ ; Breslow 检验  $\chi^2 = 6.158, P = 0.013$ ); 说明 2 组患者累计生存率差异存在统计学意义, 见图 1。

表 5 2 组患者死因及全因死亡率比较 [例(%)]

组别	例数	冠心病	脑血管病	其他	全因死亡率(%)
对照组	219	6(2.74)	5(2.28)	3(1.37)	6.39
观察组	285	33(11.58)	7(2.46)	3(1.05)	15.09
$\chi^2$ 值		15.863	0.162	0.008	9.334
P 值		0.000	0.899	0.929	0.002

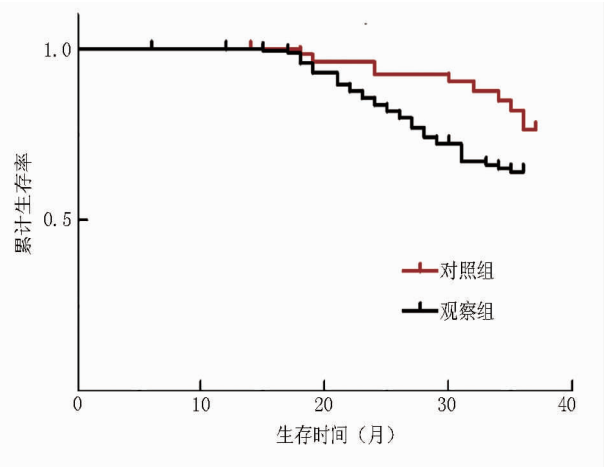


图 1 2 组患者随访期间 Kaplan-Meier 生存曲线

2.6 老年冠心病患者全因死亡影响因素的 Cox 回归分析 建立 COX 比例风险回归模型, 以老年冠心病患者全因死亡状况为因变量, 赋值 1 = 死亡, 0 = 生存, t = 生存期。以前述呈现显著差异的指标为自变量。回归分析结果显示: hs-CRP、BMI、OSAHs、SIT90 均是老年冠心病患者全因死亡的独立危险因素( $P < 0.05$ ), 见表 6。

表 6 老年冠心病患者全因死亡危险因素 Cox 回归分析 [例(%)]

指标	赋值	$\beta$ 值	SE 值	Wald 值	P 值	HR (95% CI)
常数	-	-0.053	0.028	3.674	0.055	-
hs-CRP	1 = $\geq 22$ mg/L, 0 = $< 22$ mg/L	0.407	0.193	4.445	0.035	1.502 (1.029 ~ 2.192)
BMI	1 = $\geq 28$ kg/m <sup>2</sup> , 0 = $< 28$ kg/m <sup>2</sup>	-0.351	0.123	8.214	0.004	1.421 (1.117 ~ 1.807)
OSAHS	1 = 是, 0 = 否	0.949	0.254	13.934	0.000	2.582 (1.569 ~ 4.249)
SIT90	1 = $\geq 14\%$ , 0 = $< 14\%$	0.510	0.223	5.219	0.022	1.665 (1.075 ~ 2.579)

### 3 讨论

OSAHS 是一种病因不明的睡眠呼吸疾病, 临床表现有夜间睡眠打鼾伴呼吸暂停和白天嗜睡<sup>[10]</sup>。由于呼吸暂停引起反复发作的夜间低氧和高碳酸血症, 可导致高血压、冠心病、糖尿病和脑血管疾病等并发症, 甚至出现夜间猝死<sup>[11]</sup>。因此, OSAHS 是一种有潜在致死性的睡眠呼吸疾病。OSAHS 的直接发病机制是上气道狭窄和阻塞, 但其发病并非简单的气道阻塞, 实际上是上气道塌陷, 并伴有呼吸中枢神经调节因素障碍, 关于 OSAHS 的病因和发病机制需进一步研究, 也有研究表明, 其与多种心血管疾病有密切关联。在老年人群的死亡因素中, 冠心病是风险率和发病率最高的疾病之一<sup>[12]</sup>。有研究表明, OSAHS 与冠心病发病密切相关, 在 40 ~ 70 岁的男性中, AHI  $\geq 30$  次/h 的患者比 AHI  $< 5$  次/h 的患者罹患冠心病的可能性高出 68%。在临床实践中, 老年冠心病患者常合并 OSAHS, 且心血管事件发生率较高<sup>[13]</sup>。本研究旨在探究老年冠心病患者合并 OSAHS 对其全因死亡的影响。

本研究结果显示: 观察组患者 BMI、hs-CRP、IL-6 水平高于对照组, 随访调查结果显示, 观察组冠心病病死率及全因死亡率均高于对照组。分析其原因如下: OSAHS 引起冠心病患者在夜间睡眠期间出现反复的间歇性低氧 (CIH), CIH 激活氧化应激反应从而促进体内促炎基因的表达, 包括 hs-CRP、IL-6 等炎性因子表达水平升高, 使患者机体处于高炎性反应状态<sup>[14]</sup>。hs-CRP、IL-6 等炎性因子的高表达促进了炎性细胞的聚集和炎性递质的释放, 进而加重了老年人群动脉硬化形成, 从而使冠心病患者病情加重, 病死率升高<sup>[15]</sup>。有学者通过临床研究得出相似的结论。hs-CRP、IL-6 可作为评价冠心病严重程度的关键指标<sup>[16]</sup>。OSAHS 与肥胖密切相关, 据统计有 60% ~ 70% 的 OSAHS 患者合并肥胖<sup>[17]</sup>, 本研究中, 观察组患者 BMI 值亦高于对照组。

本研究中 Cox 风险模型分析结果显示, OSAHS、hs-CRP、BMI、SIT90 均是冠心病患者全因死亡的独立危险因素, 且 OSAHS 的风险比率明显高于 hs-CRP、BMI、SIT90。其中 hs-CRP 是反映血管炎性反应的重

要标志物之一, 且与动脉粥样硬化的发生发展密切相关, 能够在一定程度上预测冠心病患者不良结局; 肥胖或超重的冠心病患者其餐后低血压的发生率较高, 而餐后低血压会增加患者中期全因死亡的风险; SIT90 可有效评估患者呼吸功能状况, 而呼吸功能不佳的冠心病患者出现不良预后的风险较高<sup>[18-19]</sup>。有研究显示老年冠心病患者合并 OSAHS 的全因死亡风险约是未合并 OSAHS 患者的 2.5 倍<sup>[20]</sup>。本研究中 Kaplan-Meier 生存曲线结果也证实了这一结论, 观察组患者累计生存率低于对照组。因此, 本研究认为 OSAHS 是影响老年冠心病患者全因死亡的独立危险因素。Park 等<sup>[21]</sup>认为, OSAHS 是冠心病的独立危险因素, 且这种情况对于女性患者更为显著, 而在本研究中并未发现患者性别与全因死亡相关。目前研究证实, OSAHS 与心血管疾病密切相关, OSAHS 可影响冠心病的发病、治疗及预后, 可作为冠心病的重要危险因素, 并提出采用正压通气治疗可影响冠心病患者临床结局<sup>[22]</sup>。André 等<sup>[23]</sup>通过临床研究发现, 给予冠心病合并 OSAHS 无创正压通气治疗, 不仅可改善患者心功能状况, 还可减少心血管不良事件的发生。

综上所述, 目前关于 OSAHS 与冠心病患者全因死亡的相关机制尚未明确, 学术界普遍认为其机制可能与 OSAHS 诱发氧化应激、炎性反应相关。冠心病合并 OSAHS 患者的病死率、全因死亡率显著升高, 提示 OSAHS 是影响冠心病患者全因死亡的重要因素, 在临床上应引起足够的重视并给予相应的治疗手段。此外, 本研究对患者随访时间相对较短, 用于评估 OSAHS 对老年冠心病患者全因死亡影响还存在一定局限性, 关于 OSAHS 对老年冠心病患者远期全因死亡的影响有待进一步调查研究。

**利益冲突:** 所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

谢学刚: 实施研究过程, 论文撰写, 论文修改; 何芬、张苗: 病例资料收集, 进行文献调研与整理; 张松林: 数据获取, 统计学分析; 和旭梅: 提出研究思路, 设计论文框架, 论文审核

**参考文献**

- [1] Agha G, Mendelson MM, Ward-Caviness CK, et al. Blood leukocyte DNA methylation predicts risk of future myocardial infarction



- and coronary heart disease [J]. *Circulation*, 2019, 140(8):645-657. DOI:10.1161/CIRCULATIONAHA.118.039357.
- [2] Hoseini A, Namazi G, Farrokhan A, et al. The effects of resveratrol on metabolic status in patients with type 2 diabetes mellitus and coronary heart disease [J]. *Food Funct*, 2019, 10(9):6042-6051. DOI:10.1039/C9FO01075K.
- [3] 林书旭, 李平, 陈小紫, 等. 社区老年人群心血管病流行病学调查、危险因素分析及防控措施研究 [J]. *解放军预防医学杂志*, 2019, 37(7):51-52. DOI:CNKI:SUN:ZXJH.0.2020-11-007.
- [4] 胡盛寿, 高润霖, 刘力生, 等. 《中国心血管病报告 2018》概要 [J]. *中国循环杂志*, 2019, 34(3):209-220. DOI:10.3969/j.issn.1000-3614.2019.03.001.
- [5] 刘环亚, 孙立, 霍明艳, 等. 中老年冠心病病人健康素养调查及相关因素分析 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2020, 18(10):1558-1561. DOI:10.12102/j.issn.1672-1349.2020.10.012.
- [6] Huo X, Krumholz HM, Bai X, et al. Effects of mobile text messaging on glycemic control in patients with coronary heart disease and diabetes mellitus: A Randomized Clinical Trial [J]. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*, 2019, 12(9):e005805. DOI:10.1093/eurheartj/ehz747.0184.
- [7] Zhang L, Ou X, Zhu T, et al. Beneficial effects of estrogens in obstructive sleep apnea hypopnea syndrome [J]. *Sleep Breath*, 2020, 24(1):7-13. DOI:10.1007/s11325-019-01896-2.
- [8] Uchoa CHG, Danzi-Soares NJ, Nunes FS, et al. Impact of OSA on cardiovascular event after coronary artery bypass surgery [J]. *Chest*, 2015, 147(5):1352-1360. DOI:10.1378/chest.14-2152.
- [9] 何权瀛, 王堯尔. 阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征诊治指南 (基层版) [J]. *中国呼吸与危重监护杂志*, 2015, 14(4):398-405. DOI:10.3760/j.issn.0578-1426.2003.08.033.
- [10] 刘彦洁, 郝伟华, 姜芳, 等. 硫酸对阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征患者睡眠呼吸情况及相关生化指标的影响 [J]. *现代生物医学进展*, 2020, 20(7):1343-1346, 1325. DOI:10.13241/j.cnki.pmb.2020.07.031.
- [11] Voulgaris A, Archontogeorgis K, Papanas N, et al. Increased risk for cardiovascular disease in patients with obstructive sleep apnoea syndrome-chronic obstructive pulmonary disease (overlap syndrome) [J]. *Clin Respir J*, 2019, 13(11):708-715. DOI:10.1007/s10741-008-9112-z.
- [12] Katsumata Y, Terada J, Matsumura T, et al. Circulating anti-sorting nexins 16 antibodies as an emerging biomarker of coronary artery disease in patients with obstructive sleep apnea [J]. *Diagnostics* (Basel), 2020, 10(2):71. DOI:10.3390/diagnostics10020071.
- [13] Chen R, Liu W, Cheng J, et al. The No-apnea score vs. the other five questionnaires in screening for obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome in patients with cerebral infarction [J]. *J Thorac Dis*, 2019, 11(10):4179-4187. DOI:10.21037/jtd.2019.09.75.
- [14] Arriola-Villalobos P, Benito-Pascual B, Peraza-Nieves J, et al. Corneal topographic, anatomic, and biomechanical properties in severe obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome [J]. *Cornea*, 2020, 39(1):88-91. DOI:10.1097/ICO.0000000000002102.
- [15] Hou J, Zhao L, Yan J, et al. MicroRNA expression profile is altered in the upper airway skeletal muscle tissue of patients with obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome [J]. *J Int Med Res*, 2019, 47(9):4163-4182. DOI:10.1159/000097790.
- [16] 田晶, 杨弘, 陈鑫龙, 等. 冠心病合并心力衰竭患者死亡风险 Cox 回归模型分析 [J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2020, 12(6):683-686. DOI:10.3969/j.issn.1674-4055.2020.06.10.
- [17] 赖敏华, 李静芝, 陈凌, 等. 冠心病患者 PCI 术后全因死亡率、再入院率及其影响因素分析 [J]. *实用医学杂志*, 2020, 36(6):801-807. DOI:10.3969/j.issn.1006-5725.2020.06.019.
- [18] 金钊, 张文玲. 血清胱抑素 C 及超敏 C 反应蛋白对冠心病 PCI 术患者预后评估的意义 [J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2018, 10(8):964-966. DOI:10.3969/j.issn.1674-4055.2018.08.19.
- [19] 张亚楠, 庞雅湘, 陈天磊, 等. 肥胖或超重冠心病住院患者餐后低血压的临床观察 [J]. *河北医科大学学报*, 2019, 40(2):144-148. DOI:10.3969/j.issn.1007-3205.2019.02.006.
- [20] Gottlieb DJ, Yenokyan G, Newman AB, et al. Prospective study of obstructive sleep apnea and incident coronary heart disease and heart failure: The Sleep Heart Health Study [J]. *Circulation*, 2010, 122(4):352-360. DOI:10.1161/CIRCULATIONAHA.109.901801.
- [21] Park S, Shin B, Lee JH, et al. Polysomnographic phenotype as a risk factor for cardiovascular diseases in patients with obstructive sleep apnea syndrome: a retrospective cohort study [J]. *J Thorac Dis*, 2020, 12(3):907-915. DOI:10.21037/jtd.2019.12.66.
- [22] Adler D, Bailly S, Benmerad M, et al. Clinical presentation and comorbidities of obstructive sleep apnea-COPD overlap syndrome [J]. *PLoS One*, 2020, 15(7):e0235331. DOI:10.1371/journal.pone.0235331.
- [23] André S, Andreozzi F, Van Overstraeten C, et al. Cardiometabolic comorbidities in obstructive sleep apnea patients are related to disease severity, nocturnal hypoxemia, and decreased sleep quality [J]. *Respir Res*, 2020, 21(1):35. DOI:10.1186/s12931-020-1284-7.

(收稿日期:2020-08-11)

(上接 338 页)

- [20] Quan N, Wang L, Chen X, et al. Sestrin2 prevents age-related intolerance to post myocardial infarction via AMPK/PGC-1 $\alpha$  pathway [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2018, 115(7):170-178. DOI:10.1016/j.yjmcc.2018.01.005.
- [21] Aimo A, Castiglione V, Borrelli C, et al. Oxidative stress and inflammation in the evolution of heart failure: From pathophysiology to therapeutic strategies [J]. *Eur J Prev Cardiol*, 2020, 27(5):494-510. DOI:10.1177/2047487319870344.
- [22] Liu YZ, Wang C, Wang Q, et al. Role of fractalkine/CX3CR1 signaling pathway in the recovery of neurological function after early ischemic stroke in a rat model [J]. *Life Sci*, 2017, 184(3):87-94. DOI:10.1016/j.lfs.2017.06.012.
- [23] Hamie L, Daoud G, Nemer G, et al. SuPAR, an emerging biomarker in kidney and inflammatory diseases [J]. *Postgrad Med J*, 2018, 94(1115):517-524. DOI:10.1136/postgradmedj-2018-135839.
- [24] Rasmussen LJH, Caspi A, Ambler A, et al. Association between elevated suPAR, a new biomarker of inflammation, and accelerated aging [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2020, 76(3):178. DOI:10.1093/gerona/glaa178.

(收稿日期:2020-10-09)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.04.005

心血管系统疾病

# Th 细胞分化特异性转录因子在低体质量先天性心脏病患儿肺血流异常发病机制中的作用

金立臣, 温林林, 韩喆, 张雪杰, 姚俊平, 宋海龙, 陶曙光

基金项目: 河北省医学科学研究重点课题计划项目(20160414)

作者单位: 050031 石家庄, 河北省儿童医院心脏外科

通信作者: 陶曙光, E-mail: taoshuguang@hotmail.com

**【摘要】目的** 观察 Th 细胞分化特异性转录因子在低体质量先天性心脏病(CHD)患儿肺血流异常发病机制中的作用。**方法** 回顾分析 2016 年 4 月—2018 年 10 月河北省儿童医院心脏外科收治的低体质量先天性心脏病患儿 100 例的临床资料,根据患儿肺充血情况,分为肺充血组( $n=62$ )和肺缺血组( $n=38$ ),另取同期在医院治疗的其他疾病低体质量患儿 50 例作为对照组。比较各组患儿外周血淋巴细胞转录因子 T-bet 和 GATA-3 mRNA 表达,血浆 IL-4 和 IFN- $\gamma$  水平及外周血淋巴细胞亚群 Th1/Th2 细胞百分率的变化,通过 Pearson 法分析 T-bet、GATA-3 mRNA 表达量与 Th1/Th2、血浆 IL-4、IFN- $\gamma$  水平的相关性。**结果** 与对照组比较,肺充血组和肺缺血组患儿 T-bet、GATA-3 mRNA 表达,血浆 IFN- $\gamma$ 、Th1 细胞百分率、Th1/Th2 水平均明显降低,血浆 IL-4、Th2 细胞百分率水平明显升高,且肺充血组患儿上述指标变化较肺缺血组更为显著( $F/P=6.547/ < 0.001, 9.254/ < 0.001, 2.196/ < 0.001, 65.254/ < 0.001, 39.875/ < 0.001, 3.026/ < 0.001, 26.598/ < 0.001$ )。CHD 患儿 T-bet mRNA 表达与血浆 IFN- $\gamma$  水平、Th1 百分率呈正相关,与血浆 IL-4 水平、Th2 百分率呈负相关( $r/P=0.513/0.005, 0.685/0.027, -0.764/0.000, -0.985/0.002$ ),GATA-3 mRNA 表达与血浆 IL-4 水平、Th2 百分率呈正相关,与血浆 IFN- $\gamma$  水平、Th1 百分率呈负相关( $r/P=0.784/0.015, 0.793/0.011, -0.525/0.032, -0.652/0.025$ )。**结论** GATA-3 和 T-bet 表达的平衡失调对 Th1/Th2 细胞的平衡偏移具有重要的调控作用,从而影响血浆 IFN- $\gamma$ 、IL-4 水平,在 CHD 的发病机制中起着重要作用。

**【关键词】** 先天性心脏病;Th 细胞分化特异性转录因子;低体质量;发病机制**【中图分类号】** R541.1 **【文献标识码】** A

**The role of Th cell differentiation-specific transcription factors in the pathogenesis of abnormal pulmonary blood flow in children with low body mass congenital heart disease.** Jin Lichen, Wen Linlin, Han Zhe, Zhang Xuejie, Yao Junping, Song Hailong, Tao Shuguang. Department of Cardiology, Hebei Children's Hospital, Shijiazhuang 050031, China

Corresponding author: Tao Shuguang, E-mail: taoshuguang@hotmail.com

Funding program: Key Research Projects of Medical Science in Hebei Province (20160414)

**【Abstract】 Objective** To observe the role of Th cell differentiation-specific transcription factors in the pathogenesis of abnormal pulmonary blood flow in children with low-weight congenital heart disease (CHD). **Methods** A retrospective analysis of the clinical data of 100 children with low-weight congenital heart disease admitted to the Department of Cardiac Surgery of Hebei Children's Hospital from April 2016 to October 2018. According to the children's pulmonary congestion, they were divided into pulmonary congestion groups ( $n=62$ ) and lung ischemia group ( $n=38$ ). In addition, 50 cases of low-weight children with other diseases treated in the hospital during the same period were taken as the control group. The expressions of T-bet and GATA-3 mRNA in peripheral blood lymphocytes, plasma IL-4 and IFN- $\gamma$  levels, and the percentage of Th1/Th2 cells in peripheral blood lymphocyte subsets were compared in each group. T-bet and GATA-3 were analyzed by Pearson method Correlation between mRNA expression and Th1/Th2, plasma IL-4, IFN- $\gamma$  levels. **Results** Compared with the control group, the expression of T-bet and GATA-3 mRNA, the percentage of plasma IFN- $\gamma$ , Th1 cells, and Th1/Th2 levels of children in the pulmonary congestion group and lung ischemia group were significantly reduced, and the plasma IL-4 and Th2 cell percentage levels were significantly increased, And the changes in the above indicators of children in the pulmonary congestion group were more significant than those in the pulmonary ischemia group ( $F/P=6.547/ < 0.001, 9.254/ < 0.001, 2.196/ < 0.001, 65.254/ < 0.001, 39.875/ < 0.001, 3.026/ < 0.001, 26.598/ < 0.001$ ). T-bet mRNA expression in children with CHD is positively correlated with plasma IFN- $\gamma$  level and Th1 percentage, and negatively



correlated with plasma IL-4 level and Th2 percentage ( $r/P=0.513/0.005, 0.685/0.027, -0.764/0.000, -0.985/0.002$ ). GATA-3 mRNA expression is positively correlated with plasma IL-4 level and Th2 percentage, and negatively correlated with plasma IFN- $\gamma$  level and Th1 percentage ( $r/P=0.784/0.015, 0.793/0.011, -0.525/0.032, -0.652/0.025$ ). **Conclusion** The imbalance of GATA-3 and T-bet expression has an important regulatory effect on the balance deviation of Th1/Th2 cells, thereby affecting plasma IFN- $\gamma$  and IL-4 levels, and playing an important role in the pathogenesis of CHD.

**【Key words】** Congenital heart disease; Th cell differentiation-specific transcription factor; Low weight; Pathogenesis

先天性心脏病 (congenital heart disease, CHD) 是婴幼儿常见的缺陷性疾病,对新生儿危害较为严重,存活率相对较低<sup>[1]</sup>。近年来,随着我国医疗环境的改善及 CHD 外科技术的不断发展进步,多数患儿经过手术治疗可以得到较好的恢复,预后较好<sup>[2]</sup>。但对于低体质量婴幼儿,由于其机体免疫力低下、相关器官发育不成熟,病情较为复杂,容易引发免疫功能失调等各种并发症<sup>[3]</sup>。CHD 患儿本身存在一定程度的免疫功能紊乱和低下,即存在一定的 Th1 向 Th2 漂移<sup>[4]</sup>。Th1 和 Th2 之间相互平衡在机体免疫机制中起着重要的作用,而转录因子在 T 细胞向 Th1、Th2 亚群进行分化的过程中起着重要的调节作用<sup>[5]</sup>。而外周血淋巴细胞转录因子 T-bet 和 GATA-3 mRNA 分别于 Th1 和 Th2 细胞中特异性表达<sup>[6]</sup>。目前国内外对 CHD 患者外周血 CD4<sup>+</sup>T 细胞亚群的研究主要集中在代表 Th1、Th2 细胞的细胞因子变化上,对 Th 细胞分化的特异性转录因子检测和研究甚少<sup>[7]</sup>。现观察 Th 细胞分化特异性转录因子在低体质量 CHD 患儿肺血流异常发病机制中的作用,为其临床诊治提供参考,报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 回顾性分析 2016 年 4 月—2018 年 10 月河北省儿童医院心脏外科收治的低体质量先天性心脏病患儿 100 例的临床资料,根据患儿肺充血情况,分为肺充血组 ( $n=62$ ) 和肺缺血组 ( $n=38$ )。肺充血组男 28 例,女 34 例,月龄 0.4~12 ( $8.75 \pm 0.69$ ) 个月;体质量 2.85~8.63 ( $5.62 \pm 1.54$ ) kg;疾病类型:动脉导管未闭 15 例,房间隔缺损 19 例,室间隔缺损 28 例。肺缺血组男 22 例,女 16 例,月龄 0.3~12 ( $8.63 \pm 0.65$ ) 个月;体质量 2.78~8.71 ( $5.71 \pm 1.52$ ) kg;疾病类型:肺动脉狭窄 15 例,法洛四联症 13 例,其他 10 例。另取同期在医院治疗的其他疾病低体质量患儿 50 例作为对照组,入院 2 周内无呼吸道感染,其中男 22 例,女 28 例,月龄 0.5~12 ( $8.87 \pm 0.62$ ) 个月;体质量 2.69~8.60 ( $5.82 \pm 1.68$ ) kg;疾病类型:隐睾 15 例,鞘膜积液 21 例,腹股沟斜疝 14 例。3 组患儿性别、年龄、体质量比较,差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),具有可比性。本研究经医院伦理委员会审核

批准,患儿家属知情同意书并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 低体质量诊断标准:孕周 26~40 周,体质量 640~2460 g;所有病例均经体检、辅助检查及心脏彩色超声确诊为先天性心脏病;无肺、肝、肾等脏器严重病史;无严重感染、免疫性疾病史;入院时肝、肾功能均正常。排除合并有免疫缺陷者。

1.3 观测指标与方法 患儿于入院 1 d 内采集肘静脉血 10 ml,加入 EDTA 4 ml 抗凝,通过聚蔗糖-泛影葡胺方法分离外周血单个核细胞 (PBMC),并分离血浆 2 ml 备用<sup>[8]</sup>。

1.3.1 PCR 法测定 T-bet 和 GATA-3 mRNA 表达<sup>[9]</sup>:上述 PBMC 细胞总 mRNA 采用 Trizol 法提取,用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳,以确定所提取的 mRNA 完整性。cDNA 合成按照逆转录酶 (Promega 公司) 说明书操作合成。RT-PCR 检测由 ABI 7300 Real-Time PCR System (美国 ABI 公司) 完成,PCR 热循环参数:96°C 4 min,然后三步反应:94°C 30 s,58°C 30 s,72°C 30 s,进行 40 个循环,于每个循环的第三步即 72°C 30 s 收集荧光信号,得到 Ct 值。用  $\Delta$  Ct 值进行统计分析并用 RQ 值比较各组的 mRNA 相对表达水平变化。引物设计:GATA-3 上游引物 5'-TCAGTTGCCTAAGTGGT-3',下游引物 5'-GCACGCTGGTAGCTCATACA-3';T-bet 上游引物 5'-GGGACATGGGAGCAGAGA-3',下游引物 5'-TGGCGGGCTGATGGTTAT-3';内参基因 hGAPDH 上游引物 5'-GAAGGTGAAGTTCGGAGTC-3',下游引物 5'-GAAGATGGTGATGGATTTTC-3'。

1.3.2 血浆 IL-4 和 IFN- $\gamma$  水平测定:上述血浆采用酶联免疫吸附法测定白介素 4 (IL-4) 和  $\gamma$  干扰素 (IFN- $\gamma$ ) 水平,试剂盒购于上海江莱生物科技有限公司,操作方法严格按照说明书执行。

1.3.3 Th1/Th2 细胞水平检测<sup>[10]</sup>:取上述抗凝血 1 ml,按照 1:1 的比例与 RPMI 培养基进行均匀混合,加入 ionomyin 1 mg/L 和 PMA 25 ng/L 作为刺激原,同时将 monensin 17 mg/L 作为蛋白质转运抑制剂,在 5% CO<sub>2</sub>、37°C 条件下培养 4 h,对红细胞进行裂解,再加入 DPBS 缓冲液 2 ml 进行 1 次冲洗,将上清液弃去,加入鼠抗人 CD3-TC 20  $\mu$ l 和 CD8-FITC 20  $\mu$ l,在室温

条件下避光保存 45 min;同时做阴性对照和空白对照,再进行 1 次缓冲液清洗,离心 5 min,将上清液弃去。再加入 40 g/L 多聚甲醛 500  $\mu$ l,固定 20 min,离心 5 min,将上清液弃去。然后将 0.1% 皂素缓冲液 2 ml 进行破膜处理 10 min,离心 5 min,将上清液弃去。再用大鼠抗人 IL-4 单抗及大鼠抗人 IFN- $\gamma$ -PE,在室温条件下孵育 30 min,将 0.1% 皂素缓冲液 2 ml 加入其中,冲洗 1 次,离心 5 min,将上清液弃去。最后用 DPBS 悬浮细胞(含 20 g/L 的多聚甲醛)500  $\mu$ l,通过三色荧光流式细胞仪(NovoCyteTM 型,贝克曼库尔特)进行检测。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 22.00 软件对数据进行统计学分析。正态分布的计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组比较采用单因素方差分析;计数资料以频数或率(%)表示,比较行 $\chi^2$ 检验;采用 Pearson 法对 CHD 患儿 T-bet 和 GATA-3 mRNA 表达水平与 Th1/Th2、血浆 IL-4 和 IFN- $\gamma$  水平的相关性进行分析。 $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 3 组 T-bet、GATA-3 mRNA 表达水平比较 与对照组比较,肺充血组和肺缺血组 T-bet 和 GATA-3 mRNA 表达均明显降低,且肺充血组患儿降低较肺缺血组更为显著( $P < 0.05$ ),见表 1。

表 1 3 组患儿外周血淋巴细胞转录因子 T-bet、GATA-3 mRNA 表达水平比较 ( $\bar{x} \pm s, \times 10^4$  拷贝/ $\mu$ g)

组别	例数	T-bet mRNA	GATA-3 mRNA
对照组	50	180.23 $\pm$ 34.65	958.74 $\pm$ 59.85
肺缺血组	38	85.36 $\pm$ 12.41 <sup>a</sup>	135.62 $\pm$ 24.13 <sup>a</sup>
肺充血组	62	51.09 $\pm$ 5.69 <sup>ab</sup>	75.48 $\pm$ 13.58 <sup>ab</sup>
F 值		6.547	9.254
P 值		<0.001	<0.001

注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与肺缺血组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$

2.2 3 组血浆 IL-4、IFN- $\gamma$  水平比较 与对照组比较,肺充血组和肺缺血组血浆 IFN- $\gamma$  均明显降低,血浆 IL-4 明显升高,且肺充血组患儿上述指标变化较肺缺血组更为显著( $P < 0.05$ ),见表 2。

表 2 3 组患儿血浆 IL-4、IFN- $\gamma$  水平比较 ( $\bar{x} \pm s, \text{ng/L}$ )

组别	例数	IL-4	IFN- $\gamma$
对照组	50	50.26 $\pm$ 18.74	30.87 $\pm$ 15.69
肺缺血组	38	61.23 $\pm$ 18.99 <sup>a</sup>	21.69 $\pm$ 10.15 <sup>a</sup>
肺充血组	62	75.13 $\pm$ 20.18 <sup>ab</sup>	11.25 $\pm$ 7.98 <sup>ab</sup>
F 值		3.026	2.196
P 值		<0.001	<0.001

注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与肺缺血组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$

## 2.3 3 组 Th1、Th2 细胞百分率及 Th1/Th2 比率比较

与对照组比较,肺充血组和肺缺血组 Th1 细胞百分率和 Th1/Th2 比率均明显降低,Th2 细胞百分率明显升高,且肺充血组患儿上述指标变化较肺缺血组更为显著( $P < 0.05$ ),见表 3。

表 3 3 组患儿外周血淋巴细胞亚群 Th1、Th2 细胞百分率比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	Th1 (%)	Th2 (%)	Th1/Th2
对照组	50	21.54 $\pm$ 3.25	4.19 $\pm$ 1.02	5.65 $\pm$ 2.09
肺缺血组	38	14.98 $\pm$ 2.69 <sup>a</sup>	14.61 $\pm$ 2.28 <sup>a</sup>	1.12 $\pm$ 0.18 <sup>a</sup>
肺充血组	62	9.45 $\pm$ 2.45 <sup>ab</sup>	20.96 $\pm$ 6.58 <sup>ab</sup>	0.52 $\pm$ 0.09 <sup>ab</sup>
F 值		65.254	26.598	39.875
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与肺缺血组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$

2.4 CHD 患儿 T-bet、GATA-3 mRNA 表达水平与血浆 IL-4、IFN- $\gamma$  水平的相关性分析 经 Pearson 相关性分析显示,CHD 患儿 T-bet mRNA 表达与血浆 IL-4 呈负相关( $r/P = -0.764/0.000$ ),与 IFN- $\gamma$  水平呈正相关( $r/P = 1.258/0.005$ );GATA-3 mRNA 表达与血浆 IL-4 呈正相关( $r/P = 0.513/0.015$ ),与 IFN- $\gamma$  呈负相关( $r/P = -0.525/0.032$ )。

2.5 CHD 患儿 T-bet、GATA-3 mRNA 表达水平与外周血淋巴细胞亚群 Th1、Th2 细胞相关分析 经 Pearson 相关性分析显示,CHD 患儿 T-bet mRNA 表达与 Th1 百分率呈正相关( $r/P = 0.685/0.027$ ),与 Th2 百分率呈负相关( $r/P = -0.985/0.002$ );GATA-3 mRNA 表达与 Th1 百分率呈负相关( $r/P = -0.652/0.025$ ),与 Th2 百分率呈正相关( $r/P = 0.793/0.011$ )。

## 3 讨论

初始 T 淋巴细胞接受抗原刺激信号,在共刺激分子和共刺激信号的作用下发生活化,进而不同条件下分化成调节型 T 淋巴细胞、Th17 型、Th2 型及 Th1 型效应细胞等不同亚型,执行相应的生物学功能<sup>[11]</sup>。其中 Th2 细胞主要分泌 IL-13、IL-10、IL-6、IL-5、IL-4 等细胞因子,主要对 B 淋巴细胞的活化和增殖进行刺激,同时诱导抗体产生,与机体体液免疫关系较为密切<sup>[12]</sup>。Th1 细胞主要分泌 TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  及 IL-2 等细胞因子,在机体迟发性过敏反应的形成及细胞免疫过程中起着重要的作用<sup>[13]</sup>。Th1 细胞和 Th2 细胞之间存在相互调节和制约的作用,两者平衡失调会引发不同的免疫紊乱,与其他相关细胞因子致使先天性心脏病等免疫性疾病的发生<sup>[14]</sup>。本研究通过对各组受试者的外周血淋巴细胞分泌相应细胞因子进行测定,结

果显示,CHD 患儿外周血淋巴细胞分泌 IFN- $\gamma$  的水平降低,分泌 IL-4 能力增强,间接反映了 CHD 患儿 Th2 型细胞功能亢进,Th1 型细胞功能不足。

前体 T 细胞受到激素、黏附分子、局部微环境、抗原提呈细胞类型及抗原类型和浓度等作用,向 Th1 和 Th2 细胞分化,是机体化学信号作用于其表面特异性受体后,通过一系列信号传导,从而诱导相应特征性细胞因子谱进行选择表达的一个过程<sup>[15-16]</sup>。近期研究显示,转录因子 GATA-3 和 T-bet 分别与 Th2 细胞因子基因和 IFN- $\gamma$  基因的启动子区结合,对 Th2 和 Th1 两类细胞的发育和分化起到中心调节作用<sup>[17]</sup>。T-bet 是转录因子 T 盒家族的成员之一,可特异性表达于 Th1 细胞,是其分化的特异性转录因子<sup>[18]</sup>。有研究显示,对小鼠 T-bet 基因进行敲除后,小鼠可表现出类似于 CHD 的病理性免疫改变<sup>[19]</sup>。GATA-3 是锌指蛋白 GATA 家族的主要成员之一,可以诱导 Th 前体向 Th2 细胞分化,是其分化的特异性转录因子<sup>[20]</sup>。相关研究显示,对小鼠 GATA-3 进行敲除后,由 Th2 细胞分化的相应细胞因子水平降低<sup>[21]</sup>。总之,T-bet 对 Th1 细胞发育起到正调控作用,GATA-3 也对 Th2 细胞的发育起到正调控作用,两者对 Th0 向 Th1/Th2 的转化进行调节<sup>[22]</sup>。另外,GATA-3 和 T-bet 可形成一种自我激活的反馈型调节环路,针对相关特异性转录因子进行调节,进而形成一种动态调节型网络<sup>[23]</sup>。本研究结果显示,CHD 患儿 PBMC 细胞 GATA-3 mRNA 表达水平明显升高,T-bet mRNA 表达水平明显降低。相关性分析结果进一步证实,CHD 患儿 T-bet mRNA 表达与血浆 IFN- $\gamma$  水平、Th1 百分率呈正相关,GATA-3 mRNA 表达与血浆 IL-4 水平、Th2 百分率呈正相关。结合相应研究结果,可知 GATA-3 和 T-bet 表达平衡失调在 Th 前体细胞向 Th1/Th2 细胞分化过程中起着重要调控作用,进而影响血浆 IFN- $\gamma$ 、IL-4 细胞因子的分泌,参与 CHD 发病。

综上所述,GATA-3 和 T-bet 表达平衡失调对 Th1/Th2 细胞的平衡偏移具有重要的调控作用,从而影响血浆 IFN- $\gamma$ 、IL-4 水平,在 CHD 的发病机制中起着重要作用。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

金立臣:提出研究方向、研究思路,论文撰写,论文审核;温林林:分析试验数据;韩喆:进行文献调研与整理,论文修改;张雪杰、宋海龙:进行统计学分析,设计论文框架;姚俊平:实施研究过程,资料搜集整理;陶曙光:设计研究方案、研究流程

**参考文献**

[1] Baggen VJM, Baart SJ, Vand BAE, et al. Prognostic value of serial

N-terminal pro-B-type natriuretic peptide measurements in adults with congenital heart disease [J]. *Journal of the American Heart Association Cardiovascular & Cerebrovascular Disease*, 2018, 7(7): e008349. DOI:10.1161/JAHA.117.008349.

[2] Rhee S, Chung JI, King DA, et al. Endothelial deletion of Ino80 disrupts coronary angiogenesis and causes congenital heart disease [J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1):368-375. DOI:10.1038/s41467-017-02796-3.

[3] Anderson D, Leal G, Krebs VL, et al. Prevalence and outcomes of congenital heart disease in very low birth weight preterm infants: an observational study from the Brazilian Neonatal Network database [J]. *Pediatric Critical Care Medicine*, 2020, 5(9):54-62. DOI: 10.1016/j.jpccp.2019.04.006.

[4] Chilikov A, Wainstock T, Sheiner E, et al. Perinatal outcomes and long-term offspring cardiovascular morbidity of women with congenital heart disease [J]. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 2020, 246(8):145-150. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2020.01.038.

[5] 金立臣,陶曙光,温林林,等. 低体质量先天性心脏病婴幼儿围手术期 Th1/Th2 的动态变化 [J]. *中国现代医学杂志*, 2020, 30(12):88-91. DOI:10.3969/j.issn.1005-8982.2020.12.015.

[6] 何勇波. T-bet/GATA-3 基因与临床疾病的研究进展 [J]. *医学理论与实践*, 2018, 31(13):37-39. DOI: 10.19381/j.issn.1001-7585.2018.13.011.

[7] Malindi VDM, Van BIM, Karolijn D, et al. The CHIP-Family study to improve the psychosocial wellbeing of young children with congenital heart disease and their families: Design of a randomized controlled trial [J]. *Bmc Pediatrics*, 2018, 18(1):230-239. DOI: 10.1186/s12887-018-1183-y.

[8] 张国明,谢翔,马松峰. 先天性心脏病室间隔缺损合并肺动脉高压患儿外周血单核细胞中转录因子 T-bet 的表达及临床意义 [J]. *临床和实验医学杂志*, 2017, 16(11): 1099-1102. DOI: 10.3969/j.issn.1671-4695.2017.11.019.

[9] 金立臣. 先心病室间隔缺损合并不同程度肺高压患儿外周血单核细胞中转录因子 T-bet 和 GATA-3 mRNA 的表达 [D]. 石家庄:河北医科大学, 2012.

[10] 冯梅,王一彪,孙若鹏. 先天性心脏病患儿辅助性 T 细胞亚群 TH1、TH2 及红细胞免疫功能的研究 [J]. *中华儿科杂志*, 2007, 45(12):947-948. DOI: 10.3760/j.issn.0578-1310.2007.12.018.

[11] Li Q, Wang B, Mu K, et al. The pathogenesis of thyroid autoimmune diseases: New T lymphocytes-Cytokines circuits beyond the Th1/Th2 paradigm [J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2019, 234(3):25-36. DOI: 10.1002/jcp.27180.

[12] Bestetti RB, Renata DJ, Lopes GS, et al. Determination of the Th1, Th2, Th17, and Treg cytokine profile in patients with chronic Chagas heart disease and systemic arterial hypertension [J]. *Heart and Vessels*, 2018, 34(6):123-133. DOI: 10.1007/s00380-018-1228-z

[13] Miyamoto M, Gangrade H, Tampakakis E. Understanding heart field progenitor cells for modeling congenital heart diseases [J]. *Current Cardiology Reports*, 2021, 23(5):38-48. DOI: 10.1007/s11886-021-01468-5.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.04.006

心血管系统疾病

# 左西孟旦对脓毒症心肌抑制患者左心室收缩功能、血流动力学及心肌损伤标志物水平的影响

刘红娟,耿静,何志红,郎哲,孟文格,胡晓宁

基金项目: 石家庄市科学技术研究与发展计划项目(171461383)

作者单位: 050000 石家庄市第一医院重症医学科一病区

通信作者: 刘红娟, E-mail: 734226758@qq.com

**【摘要】目的** 探讨左西孟旦对脓毒症心肌抑制患者左心室收缩功能、血流动力学及心肌损伤标志物水平的影响。**方法** 选取 2017 年 1 月—2019 年 10 月石家庄市第一医院重症医学科一病区收治的脓毒症心肌抑制患者 60 例作为研究对象,随机数字表法将其分为对照组和研究组,每组 30 例,2 组患者均接受常规基础治疗,对照组在常规基础治疗上加用多巴酚丁胺治疗,研究组加用左西孟旦治疗,均连续治疗 7 d。治疗前后比较 2 组患者左心室收缩末期容积指数(LVESI)、左心室舒张末期容积指数(LVEDI)、左心室射血分数(LVEF)、平均动脉压(MAP)、心率(HR)、中心静脉压(CVP)、血清乳酸浓度(LAC)、心肌肌钙蛋白 I(cTnI)、脑钠肽(BNP)水平及机械通气时间、ICU 住院时间、急性生理学及慢性健康状况评分系统 II(APACHE II)评分、序贯器官功能衰竭评分(SOFA)、28 d 病死率。**结果** 与治疗前比较,2 组患者治疗 7 d 时 LVESI、LVEDI、APACHE II 评分、SOFA 评分均显著降低,LVEF 显著升高,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ );治疗 7 d 时,与对照组比较,研究组 LVESI、LVEDI、LVEF、APACHE II、SOFA 评分改善更显著( $t/P = 6.218/0.001, 7.362/0.001, 5.216/0.007, 6.923/0.001, 5.173/0.021$ )。与治疗前比较,2 组患者治疗 7 d 时 MAP、CVP 显著升高,HR、LAC 显著降低( $P < 0.05$ );治疗 7 d 时,与对照组比较,研究组 MAP、CVP 升高更明显,HR、LAC 降低更显著( $t/P = 4.126/0.029, 3.967/0.031, 5.243/0.021, 5.614/0.011$ )。与治疗前比较,2 组患者治疗 7 d 时 cTnI、BNP 均显著降低( $P < 0.05$ ),治疗 7 d 时,与对照组比较,研究组 cTnI、BNP 降低更显著( $t/P = 3.614/0.033, 3.862/0.027$ )。与对照组比较,研究组机械通气时间、ICU 住院时间均明显缩短( $t/P = 6.182/0.009, 6.724/0.001$ );随访 28 d 期间研究组病死率明显低于对照组(16.68% vs. 33.33%,  $\chi^2 = 21.561, P = 0.001$ );2 组患者治疗期间均未出现严重不良反应。**结论** 脓毒症心肌抑制患者在常规治疗基础上结合左西孟旦疗效确切,能有效增强患者左心室收缩功能,改善血流动力学,降低心肌损伤,且安全可靠。

**【关键词】** 脓毒症;心肌抑制;左西孟旦;左心室收缩功能;血流动力学;心肌损伤标志物**【中图分类号】** R542.2;R631<sup>+</sup>.2**【文献标识码】** A

**Effects of Levosimendan on left ventricular systolic function, hemodynamics and myocardial injury marker levels in patients with septic myocardial depression** Liu Hongjuan, Geng Jing, He Zhihong, Lang Zhe, Meng Wenge, Hu Xiaoning. Department of Critical Care, The First Hospital of Shijiazhuang City, Hebei Province, Shijiazhuang 050000, China  
Corresponding author: Liu Hongjuan, E-mail: 734226758@qq.com

Funding program: Shijiazhuang Science and Technology Research and Development Program (171461383)

**【Abstract】 Objective** To explore the effect of levosimendan on left ventricular systolic function, hemodynamics and the levels of myocardial injury markers in patients with septic myocardial depression. **Methods** From January 2017 to October 2019, 60 patients with septic myocardial suppression admitted to the First Ward of the Department of Intensive Care Medicine of Shijiazhuang First Hospital were selected as the research objects. Random number table method was used to divide them into a control group and a study group, 30 patients in each group. Both groups received conventional basic treatment. The control group was treated with dobutamine in addition to the conventional basic treatment. The study group was treated with levosimendan for 7 consecutive days. Before and after treatment, the left ventricular end systolic volume index (LVESI), left ventricular end diastolic volume index (LVEDI), left ventricular ejection fraction (LVEF), mean arterial pressure (MAP), heart rate (HR), and central venous pressure (CVP) were compared between the two groups before and after treatment. Serum lactic acid concentration (LAC), cardiac troponin I (cTnI), brain natriuretic peptide (BNP), level and duration of mechanical ventilation, ICU length of stay, acute physiology and chronic health status score system II (APACHE II)

Score, Sequential organ failure score (SOFA), 28-day case fatality rate. **Results** Compared with before treatment, the LVE-SI, LVEDI, APACHE II scores, and SOFA scores of the two groups were significantly reduced after 7 days of treatment, and the LVEF was significantly increased, the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). At 7 days of treatment, compared with the control group The scores of LVE-SI, LVEDI, LVEF, APACHE II, and SOFA in the study group improved significantly ( $t/P = 6.218/0.001, 7.362/0.001, 5.216/0.007, 6.923/0.001, 5.173/0.021$ ). Compared with before treatment, MAP and CVP of the two groups were significantly increased at 7 days of treatment, while HR and LAC were significantly decreased ( $P < 0.05$ ). At 7 days of treatment, compared with the control group, the MAP and CVP of the study group increased significantly. HR and LAC decreased more significantly ( $t/P = 4.126/0.029, 3.967/0.031, 5.243/0.021, 5.614/0.011$ ). Compared with before treatment, the cTnl and BNP of the two groups were significantly reduced at 7 d of treatment ( $P < 0.05$ ). At 7 d of treatment, compared with the control group, the cTnl and BNP of the study group decreased significantly ( $t/P = 3.614/0.033, 3.862/0.027$ ). Compared with the control group, the study group's mechanical ventilation time and ICU hospitalization time were significantly shortened ( $t/P = 6.182/0.009, 6.724/0.001$ ). During the 28-day follow-up period, the study group's mortality rate was significantly lower than that of the control group (16.68% vs. 33.33%,  $\chi^2 = 21.561, P = 0.001$ ). There were no serious adverse reactions in the two groups of patients during treatment. **Conclusion** In patients with septic myocardial suppression, combined with levosimendan on the basis of conventional treatment has a definite effect, which can effectively enhance the left ventricular systolic function, improve hemodynamics, and reduce myocardial damage, and it is safe and reliable.

**【Key words】** Sepsis; Myocardial inhibition; Levosimendan; Left ventricular systolic function; Hemodynamics; Markers of myocardial injury

脓毒症是由感染而导致的全身炎症反应,具有较高的发病率,全球每年严重脓毒症病例超过 1 800 万,并且每年以 5% 的速度上升<sup>[1]</sup>。相关资料显示,脓毒症常合并心肌抑制,是导致脓症患者死亡的主要原因,心功能恶化是脓毒症心肌抑制患者预后不佳的重要指标<sup>[2]</sup>。因此,采取有效措施及时逆转心肌损伤,改善脓毒症心肌抑制患者的预后至关重要。目前临床上首选多巴酚丁胺治疗,虽然在扩心血管方面效果显著,但整体疗效并不理想。左西孟旦属于新型正性肌力药物,在增加心肌收缩力方面占明显优势,已逐渐应用于心脏外科和急性心功能衰竭的治疗。本研究选取重症监护室(ICU)脓毒症心肌抑制患者 60 例进行对照研究,旨在研究左西孟旦对脓毒症心肌抑制患者左心室收缩功能、血流动力学及心肌损伤标志物水平的影响,现报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 1 月—2019 年 10 月石家庄市第一医院重症医学科一病区收治的脓毒症心肌抑制患者 60 例作为研究对象。纳入标准:(1)符合 2008 年国际脓毒症指南的脓毒症诊断标准<sup>[3]</sup>,且液体复苏后心脏彩色超声提示 LVEF  $< 45\%$ 者;(2)入 ICU 至发病时间  $< 24$  h, ICU 住院时间  $> 7$  d;(3)年龄 24 ~ 76 岁,病例资料完整者;(4)放置连续心排量(PICCO)导管者。排除标准:(1)存在精神障碍,治疗过程中无法配合诊疗者;(2)合并恶性肿瘤、急性脑梗死、脑出血者;(3)近 1 个月内诊断为急性冠状动脉综合征者;

(4)对本研究药物过敏者;(5)病情进展迅速,中途退出研究者;(6)24 h 内死亡者;(7)限制应用正性肌力药物治疗者;(8)在本院就诊前使用  $\beta$ -受体抑制剂  $> 48$  h 者;(9)妊娠期或哺乳期特殊人群。根据随机数字表法分为对照组和研究组,每组 30 例。对照组男 17 例,女 13 例,年龄 24 ~ 76 ( $59.43 \pm 5.81$ )岁;病程 2 ~ 23 ( $8.14 \pm 1.76$ )h;急性生理学与慢性健康状况评分系统 II (APACHE II)评分分级:轻度 5 例,中度 16 例,重度 9 例;原发病:腹腔感染 7 例,肺部感染 16 例,皮肤软组织感染 1 例,尿路感染 2 例,其他原因 4 例。研究组男 18 例,女 12 例,年龄 24 ~ 74 岁 ( $58.27 \pm 5.53$ )岁;病程 1.5 ~ 22 ( $8.32 \pm 1.69$ )h;APACHE II 评分分级:轻度 6 例,中度 17 例,重度 7 例;原发病:腹腔感染 6 例,肺部感染 17 例,皮肤软组织感染 2 例,尿路感染 2 例,其他原因 3 例。2 组患者性别、年龄、病程、APACHE II 评分分级、原发疾病等基础资料比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),具有可比性。本研究经医院伦理委员会审核批准,患者及家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 治疗方法 所有患者根据“中国严重脓毒症/脓毒性休克治疗指南(2014)”<sup>[4]</sup>给予有效感染、控制血糖、积极处理原发性疾病、保护重要脏器功能、维持有效循环血容量、纠正水电解质与酸碱失衡、强化胰岛素治疗等常规治疗。对照组在上述基础上加用多巴酚丁胺(山东方明药业集团股份有限公司)  $5 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ,静脉泵注并维持。研究组在常规治疗基础上加

用左西孟旦(齐鲁制药有限公司)12 μg/kg 静脉注射,注射时间 >10 min,随后以 0.075 pg · kg<sup>-1</sup> · min<sup>-1</sup>持续维持 24 h。2 组患者治疗疗程均为 7 d。

### 1.3 观察指标与方法

1.3.1 左心室收缩功能检测:入院确诊当天及治疗 7 d 后,采用美国飞利浦 cx30 行心脏彩色超声,监测左心室收缩末期容积指数(LVESI)、左心室舒张末期容积指数(LVEDI)、左心室射血分数(LVEF)指标水平。

1.3.2 APACHE II 和序贯器官功能衰竭评分(SOFA 评分):其中 APACHE II 评分<sup>[5]</sup>总分为 71 分,评分越高提示病情越严重。SOFA 评分总分 41 分,评分越高,代表病情越严重。

1.3.3 血流动力学检测:入重症监护室当天,经股动脉置入脉搏指示 PICCO 导管(型号 4F, PV2014L16, 购自 Pulsion Medical System, Germany),连接压力换能器,调零后监测入院当天及治疗 7 d 后 MAP、HR、CVP、LAC 指标水平。

1.3.4 心肌损伤指标检测:治疗前及治疗 7 d 后,患者空腹 8 h 后抽取肘静脉血 3 ml,置 4℃ 冰箱冷藏 45 min。然后将凝集后的血液 3 500 r/min 离心 15 min,取血清储存在 -80℃ 条件的低温冰箱,待测。采用微粒子化学发光法检测 cTnI、BNP 水平,UniCel DxI 800 全自动化学发光分析仪、试剂盒均购自美国贝克曼库尔特有限公司。具体操作严格按照说明书进行。

1.3.5 其他临床相关指标及不良反应:比较 2 组患者机械通气时间、ICU 住院时间、28 d 病死率;记录 2 组患者不良反应发生情况。

1.4 统计学方法 使用 SPSS21.0 软件进行统计分

析。符合正态分布计量资料以( $\bar{x} \pm s$ ) 进行描述,采用 *t* 检验;计数资料以频数或率(%)描述,采用  $\chi^2$  检验。*P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 2 组患者治疗前后左心室收缩功能指标及 APACHE II、SOFA 评分比较 与治疗前比较,2 组患者治疗 7 d 后 LVESI、LVEDI 水平及 APACHE II、SOFA 评分均显著降低,LVEF 显著升高,差异具有统计学意义(*P* < 0.05);治疗 7 d 后与对照组比较,研究组 LVESI、LVEDI、LVEF 水平及 APACHE II、SOFA 评分改善更显著(*P* < 0.05),见表 1。

2.2 2 组患者治疗前后血流动力学指标比较 与治疗前比较,2 组患者治疗 7 d 后 MAP、CVP 显著升高,HR、LAC 显著降低(*P* < 0.05);治疗 7 d 后与对照组比较,研究组 MAP、CVP 升高更明显,HR、LAC 降低更显著(*P* < 0.05),见表 2。

2.3 2 组患者治疗前后心肌损伤指标比较 与治疗前比较,2 组患者治疗 7 d 后 cTnI、BNP 水平均显著降低(*P* < 0.05);治疗 7 d 后与对照组比较,研究组 cTnI、BNP 降低更显著(*P* < 0.05),见表 3。

表 3 2 组患者治疗前后心肌损伤指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	时间	cTnI(μg/L)	BNP(ng/L)
对照组 (n=30)	治疗前	0.39 ± 0.17	439.43 ± 90.24
	治疗后	0.30 ± 0.15	381.69 ± 71.64
研究组 (n=30)	治疗前	0.41 ± 0.17	440.51 ± 94.27
	治疗后	0.18 ± 0.14	231.14 ± 39.31
<i>t/P</i> 对照组内值		2.174/0.034	6.154/0.008
<i>t/P</i> 研究组内值		5.720/0.001	7.362/0.001
<i>t/P</i> 治疗后组间值		3.203/0.002	10.091/0.001

表 1 2 组患者治疗前后左心室收缩功能指标及 APACHE II、SOFA 评分比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	时间	LVESI(ml/m <sup>2</sup> )	LVEDI(ml/m <sup>2</sup> )	LVEF(%)	APACHE II 评分(分)	SOFA 评分(分)
对照组 (n=30)	治疗前	51.61 ± 6.76	76.72 ± 6.20	35.11 ± 4.68	21.42 ± 6.39	12.51 ± 1.67
	治疗后	43.53 ± 5.11	67.98 ± 6.22	40.55 ± 4.72	17.40 ± 5.06	7.43 ± 0.51
研究组 (n=30)	治疗前	50.57 ± 6.52	77.71 ± 6.19	36.06 ± 4.81	21.47 ± 6.28	12.48 ± 1.74
	治疗后	31.48 ± 5.37	58.26 ± 5.23	47.11 ± 5.49	13.78 ± 3.54	5.41 ± 0.52
<i>t/P</i> 对照组内值		5.223/0.001	5.017/0.019	6.247/0.001	8.172/0.001	6.825/0.001
<i>t/P</i> 研究组内值		6.943/0.001	7.102/0.001	6.719/0.001	9.167/0.001	6.754/0.001
<i>t/P</i> 治疗后组间值		6.218/0.001	7.362/0.001	5.216/0.007	6.923/0.001	5.173/0.001

表 2 2 组患者治疗前后血流动力学指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	时间	MAP(mmHg)	HR(次/min)	CVP(mmHg)	LAC(mmol/L)
对照组 (n=30)	治疗前	78.891 ± 8.41	111.93 ± 18.89	10.35 ± 2.75	4.72 ± 1.81
	治疗后	98.22 ± 7.95	97.80 ± 5.63	13.12 ± 1.39	3.92 ± 0.93
研究组 (n=30)	治疗前	79.07 ± 7.81	112.64 ± 18.22	10.97 ± 2.86	4.80 ± 1.65
	治疗后	117.42 ± 8.88	86.50 ± 4.50	15.37 ± 1.65	2.88 ± 0.91
<i>t/P</i> 对照组内值		7.152/0.001	6.017/0.007	6.142/0.011	5.416/0.015
<i>t/P</i> 研究组内值		7.647/0.001	7.324/0.001	6.534/0.003	5.741/0.013
<i>t/P</i> 治疗后组间值		4.126/0.001	3.967/0.001	5.243/0.001	5.614/0.011

2.4 2 组患者机械通气时间、ICU 住院时间及预后比较 与对照组比较, 研究组机械通气时间、ICU 住院时间均明显缩短 ( $P < 0.01$ ); 随访 28 d 期间研究组病死率明显低于对照组 ( $P < 0.01$ ), 见表 4。

表 4 2 组患者机械通气时间、ICU 住院时间及预后比较

组别	例数	机械通气时间(d)	ICU 住院时间(d)	28 d 病死率 [例(%)]
对照组	30	8.11 ± 1.67	12.02 ± 2.06	11 (33.33)
研究组	30	5.12 ± 1.96	8.19 ± 1.99	5 (16.68)
$t/\chi^2$ 值		6.182	6.724	21.561
$P$ 值		0.009	0.001	0.001

2.5 2 组患者不良反应比较 2 组患者治疗期间均未出现严重不良反应, 肝肾功能未见异常。

### 3 讨论

脓毒症是 ICU 比较棘手的重症疾病, 该病极易导致患者呼吸、循环等多系统损害<sup>[6]</sup>。心血管系统功能障碍是严重脓毒症和脓毒症休克的重要特征, 心血管损害是 30% ~ 80% 脓毒症及重症脓毒症死亡患者的主要原因<sup>[7-8]</sup>。根据脓毒症治疗指南, 多巴酚丁胺是脓毒症心肌抑制患者首选药物, 该药物在强心、扩血管方面效果较好, 但整体疗效并不理想, 且临床实践发现该药能导致  $Ca^{2+}$  持续内流效应, 长期应用可诱发快速心律失常等缺陷<sup>[9-10]</sup>。故寻求治疗脓毒症心肌抑制患者更为有效、安全的药物极为重要。左西孟旦属 II 型钙增敏剂, 能直接与 cTnI 的氨基酸氨基末端结合, 增强 cTnI 与  $Ca^{2+}$  复合物的构象稳定性, 有利于增加心肌收缩力, 降低外周血管阻力<sup>[11-12]</sup>。左西孟旦应用于脓毒症的临床治疗中可提供心肌保护治疗、改善肺功能, 对感染性休克起到良好的治疗作用<sup>[13]</sup>。本研究为了进一步研究左西孟旦在脓毒症心肌抑制患者中的应用价值, 对 2 种药物治疗效果进行了对照研究。

本研究显示, 在常规治疗基础上, 加用左西孟旦治疗 7 d 后 MAP、CVP 显著升高, HR、LAC 显著降低 ( $P < 0.05$ ); 且与多巴酚丁胺治疗 7 d 后比较, 研究组 MAP、CVP 升高更明显, HR、LAC 降低更显著 ( $P < 0.05$ ), 与邵远凯<sup>[14]</sup> 研究报道结果一致。结果提示, 左西孟旦治疗脓毒症心肌抑制患者更能提高左心室收缩功能, 改善心肌抑制。cTnI、BNP 等指标是反映心肌损伤的重要血清学指标, 脓毒症心肌抑制患者出现心肌损伤时 cTnI、BNP 均显著升高<sup>[15-16]</sup>。本研究结果显示, 在常规治疗基础上, 加用左西孟旦治疗 7 d 后 cTnI、BNP 均显著降低 ( $P < 0.05$ ); 与多巴酚丁胺治疗 7 d 后比较, 研究组 cTnI、BNP 降低更显著 ( $P < 0.05$ )。

结果证实在常规治疗基础上加用左西孟旦治疗脓毒症心肌抑制患者, 能有效改善患者心肌损伤状态, 减轻心脏负荷, 改善其心脏功能<sup>[17]</sup>。

相关资料显示, 血流动力学异常是脓毒症心肌抑制患者的重要发病机制, 主要表现为病理性动脉系统扩张, 导致体循环阻力降低, 有效循环血量不足, 组织及器官灌注失衡诱发组织及细胞代谢功能障碍, 最终导致多器官损伤, 对患者的生命安全造成严重威胁<sup>[18-19]</sup>。因此, 监测脓毒症心肌抑制患者血流动力学变化十分重要。本研究所有受试者入 ICU 当天均放置 PICCO 导管监测其血流动力学指标, 治疗 7 d 后发现, 2 组患者 MAP、CVP 均显著升高, HR、LAC 均显著降低 ( $P < 0.05$ ); 与对照组治疗 7 d 后比较, 研究组 MAP、CVP 升高更明显, HR、LAC 降低更显著 ( $P < 0.05$ )。本研究结果进一步证明左西孟旦能有效改善脓毒症心肌抑制患者的血流动力学。此外本研究结果还发现, 与多巴酚丁胺比较, 左西孟旦机械通气时间、ICU 住院时间均明显缩短, 治疗 7 d 后 APACHE II、SOFA 评分明显下降 ( $P < 0.05$ ); 随访 28 d 期间左西孟旦病死率明显低于多巴酚丁胺组 ( $P < 0.05$ )。结果表明, 脓毒症心肌抑制患者在常规治疗基础上接受左西孟旦治疗后, 患者的病情康复有明显改善, 有利于缩短机械通气时间和 ICU 住院时间, 且不会对患者的病死率产生不利影响, 证实其应用效果确切<sup>[20]</sup>。

综上所述, 脓毒症心肌抑制患者在常规治疗基础上结合左西孟旦疗效确切, 能有效增强患者左心室收缩功能, 改善血流动力学, 降低心肌损伤, 且安全可靠, 具有较高的临床推广价值。

### 参考文献

- [1] 林彩美, 杨剑, 楼滢. 左西孟旦治疗脓毒症休克并心肌抑制的临床疗效观察 [J]. 现代实用医学, 2020, 32 (2): 201-202. DOI: 10.3969/j.issn.1671-0800.2020.02.027.
- [2] Akan B, Sari E, Berkay KK, et al. Case report presentation of emerging seconder sarcopenia after sepsis attacks in intensive care unit [J]. Turk Geriatri Dergisi, 2019, 22 (2): 228-232. DOI: 10.31086/tjgeri.2019.97.
- [3] 姚咏明, 黄立锋. 《2008 国际严重脓毒症和脓毒性休克治疗指南》概要 [J]. 中华危重病急救医学, 2008, 20(3): 135-138. DOI: 10.3321/j.issn:1003-0603.2008.03.003.
- [4] 智屹惠, 王坤根, 王灵聪. 《中国严重脓毒症/脓毒性休克治疗指南(2014)》中医药部分解读 [J]. 中华危重病急救医学, 2015, 27(6): 429-434. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.06.003.
- [5] 南玲, 刘丁, 方清水, 等. 重症监护病房患者 APACHE II 评分与医院感染相关性分析 [J]. 实用预防医学, 2015, 22(12): 1465-1566. DOI: 10.3969/j.issn.1006-3110.2015.012.019.
- [6] Fernando SM, Bram R, Seely AJE. Clinical implications of the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock

- (Sepsis-3)[J]. Canadian Medical Association Journal, 2018, 190 (36):E1058-E1059. DOI: 10.1503/cmaj.170149.
- [7] Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, et al. Surviving sepsis campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016 [J]. Intensive Care Medicine, 2017, 43 (3):486-552. DOI: 10.1007/s00134-017-4683-6.
- [8] 牛素平, 陈炜, 学峰. 脓毒症心肌抑制患者静脉泵入米力农联合艾司洛尔的短期疗效[J]. 实用医学杂志, 2017, 33 (6):971-975. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2017.06.033.
- [9] 杨世炳, 李学艳. 左西孟旦治疗脓毒症休克并心肌抑制患者的临床效果观察[J]. 临床合理用药杂志, 2019, 12 (14):37-38. DOI: 10.15887/j.cnki.13-1389/r.2019.14.016.
- [10] Seymour CW, Liu VX, Iwashyna TJ, et al. Assessment of clinical criteria for sepsis: For the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3)[J]. Jama, 2016, 315 (8):762-774. DOI: 10.1001/jama.2016.0288.
- [11] 姜亦瑶, 李新亚, 陈洪磊. 左西孟旦治疗脓毒症休克合并心力衰竭患者的疗效分析[J]. 哈尔滨医科大学学报, 2018, 52 (3):267-269. DOI: 10.3969/j.issn.1000-1905.2018.03.015.
- [12] 兰蕴平, 于佳, 刘蓉安. 左西孟旦在脓毒症诱导急性心力衰竭患者中的应用研究[J]. 实用药物与临床, 2018, 21 (12):49-52. DOI: 10.14053/j.cnki.ppcr.201812011.
- [13] 王文, 胡芳宝, 窦红杰. 左西孟旦治疗脓毒症休克对血清 sTREM-1, sCD14 和 sCD163 水平的影响[J]. 河北医药, 2018, 40 (21):107-110. DOI: 10.3969/j.issn.1002-7386.2018.21.026.
- [14] 邵远凯. 重组人脑利钠肽联合左西孟旦对脓毒症心功能障碍疗效及预后的影响[J]. 黑龙江医药, 2020, 33 (3):52-54. DOI: 10.14035/j.cnki.hljyy.2020.03.021.
- [15] 郑坚, 吴云龙, 王梅. 左西孟旦联合中药制剂治疗严重脓毒症心肌损伤患者的临床效果[J]. 中华医院感染学杂志, 2019, 29 (1):44-47. DOI: 10.11816/cn.ni.2018-174135.
- [16] 苏斌杰, 胡玉平, 樊恒. 左西孟旦辅助治疗脓毒症休克患者的临床疗效观察[J]. 浙江医学, 2018, 40 (20):2250-2252. DOI: 10.12056/j.issn.1006-2785.2018.40.20.2017-2337.
- [17] Lu J, Lyu X, Chai R, et al. Investigation of the mechanism of shengmai injection on sepsis by network pharmacology approaches[J]. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine, 2020, 2020:4956329. DOI: 10.1155/2020/4956329.
- [18] 赵金理, 陆煜. 左西孟旦联合常规方案治疗脓毒症休克患者效果及其对心功能指标及感染指标的影响[J]. 海峡药学, 2019, 31 (11):199-200. DOI: CNKI:SUN:HAIX.0.2019-11-082.
- [19] Brooks A, Woo KC, Wong SC. Post cardiac surgery sternal wound sepsis burden, risk factors and outcomes at Red Cross War Memorial Children's Hospital, Cape Town, South Africa: A five-year experience[J]. Trauma Quarterly, 2020, 15 (2):133-141. DOI: 10.24170/17-1-4021.
- [20] 李晶, 杨杰, 王晓英. 小剂量左西孟旦对老年脓毒症患者死亡率和器官功能的影响[J]. 实用药物与临床, 2018, 21 (12):53-56. DOI: 10.14053/j.cnki.ppcr.201812012.

(收稿日期:2020-09-23)

(上接 347 页)

- [14] 齐海花, 何磊, 黄占强, 等. 不同分型过敏性紫癜患者外周血 Th1/Th2 型细胞因子的相关性研究[J]. 河北医学, 2019, 25 (6):996-998. DOI: 10.3969/j.issn.1006-6233.2019.06.030.
- [15] Wu KH, Xiao QR, Yang Y, et al. MicroRNA-34a modulates the Notch signaling pathway in mice with congenital heart disease and its role in heart development[J]. Journal of Molecular & Cellular Cardiology, 2018, 114 (9):300-308. DOI: 10.1042/CS20180732.
- [16] Li SL, Liu SD, Chen WC, et al. A novel ZIC3 gene mutation identified in patients with heterotaxy and congenital heart disease[J]. Scientific Reports, 2018, 8 (1):12386-12390. DOI: 10.1038/s41598-018-30204-3.
- [17] Jarrell DK, Lennon ML, Jacot JG. Epigenetics and mechanobiology in heart development and congenital heart disease[J]. Diseases, 2019, 7 (3):52-65. DOI: 10.3390/diseases7030052.
- [18] Usui T. T-bet regulates Th1 responses through essential effects on GATA-3 function rather than on IFNG gene acetylation and transcription[J]. The Journal of Experimental Medicine, 2018, 203 (3):755-766. DOI: 10.1084/jem.20052165.
- [19] Wright BL, Nguyen N, Shim KP, et al. Increased GATA-3 and T-bet expression in eosinophilic esophagitis vs gastroesophageal reflux disease[J]. J Allergy Clin Immunol, 2018, 141 (5):55-59. DOI: 10.1016/j.jaci.2017.12.993.
- [20] Sobhanifard M, Eftekharian MM, Solgi G, et al. Effect of extremely low frequency electromagnetic fields on expression of T-bet and GATA-3 genes and serum interferon- $\gamma$  and Interleukin-4[J]. Journal of Interferon & Cytokine Research, 2018, 39 (2):59-63. DOI: 10.1089/jir.2018.0048.
- [21] Rodriguez-Gomez M, Talker SC, Kaser T, et al. Expression of T-bet, eomesodermin, and GATA-3 correlates with distinct phenotypes and functional properties in porcine  $\gamma\delta$  T Cells[J]. Frontiers in Immunology, 2019, 10 (5):396-402. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00396.
- [22] Liang K, Kandhare AD, Mukherjee-Kandhare AA, et al. Morin ameliorates ovalbumin-induced allergic rhinitis via inhibition of STAT6/SOCS1 and GATA3/T-bet signaling pathway in BALB/c mice[J]. Journal of Functional Foods, 2019, 55 (8):391-401. DOI: 10.1016/j.jff.2019.01.052.
- [23] Etesam Z, Nemati M, Ebrahimzadeh MA, et al. Different expressions of specific transcription factors of Th1 (T-bet) and Th2 cells (GATA-3) by peripheral blood mononuclear cells from patients with multiple sclerosis[J]. Basic and Clinical Neuroence, 2018, 9 (6):458-469. DOI: 10.32598/bcn.9.6.458.

(收稿日期:2020-09-18)



【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.04.007

心血管系统疾病

# 儿茶素基于 MEK/ERK 信号通路对老年冠心病大鼠内皮功能的作用机制研究

周慧, 雷玉华, 张复贵, 杨淑蓉, 华晓芳, 黄晶

基金项目: 湖北省自然科学基金资助项目(20150916)

作者单位: 445000 湖北省恩施州中心医院内科心血管病中心

通信作者: 雷玉华, E-mail: hnlvfh@163.com

**【摘要】目的** 探究儿茶素基于 MEK/ERK 信号通路对老年冠心病大鼠内皮功能的作用机制。**方法** 2020 年 1—11 月于湖北恩施州中心医院实验室进行实验。选取健康老年 SD 大鼠 50 只, 随机选取 10 只为对照组, 余 40 只建立老年冠心病模型, 分为模型组, 儿茶素小剂量组、中剂量组、高剂量组。造模后, 模型组继续高脂喂食, 小、中、高剂量组分别给予儿茶素 20、40、60 mg/kg。对照组正常饮食。对比各组大鼠血清 Hcy、血管内膜厚度、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、NO、eNOS、ET-1、ADMA 及 MEK、ERK 蛋白表达水平。**结果** 与对照组比较, 模型组大鼠血清 Hcy、血管内膜厚度上升; 与模型组比较, 儿茶素小、中、高剂量组大鼠血清 Hcy、血管内膜厚度依次下降 ( $F/P=44.566/ < 0.001, 36.852/ < 0.001$ ); 与对照组比较, 模型组大鼠 NO、eNOS 水平下降, ET-1、ADMA、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 水平上升; 与模型组比较, 儿茶素小、中、高剂量组大鼠血清 NO、eNOS 水平依次上升, ET-1、ADMA、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 水平依次下降 ( $F/P=51.231/ < 0.001, 19.492/ < 0.001, 35.267/ < 0.001, 19.985/ < 0.001, 44.410/ < 0.001, 17.548/ < 0.001, 45.365/ < 0.001$ ); 与对照组比较, 模型组大鼠心肌 MEK、ERK 蛋白表达升高; 与模型组比较, 儿茶素小、中、高剂量组大鼠 MEK、ERK 蛋白表达依次下降 ( $F/P=19.856/ < 0.001, 45.385/ < 0.001$ )。**结论** 儿茶素能改善老年冠心病大鼠血管内皮功能, 调节 MEK/ERK 信号通路, 抑制大鼠机体炎性因子。

**【关键词】** 儿茶素; 冠心病; 内皮功能; 炎性因子; 老年; 大鼠**【中图分类号】** R-332; R541.4**【文献标识码】** A

**Mechanism of Catechin on endothelial function in aged rats with coronary heart disease based on MEK / ERK signaling pathway** Zhou Hui, Lei Yuhua, Zhang Fugui, Yang Shurong, Hua Xiaofang, Huang Jing. Cardiovascular Center, Enshi Central Hospital, Hubei Province, Enshi 445000, China

Corresponding author: Lei Yuhua, E-mail: hnlvfh@163.com

Funding program: Natural Science Foundation of Hubei Province (20150916)

**【Abstract】 Objective** To explore the mechanism of catechins based on MEK/ERK signaling pathway on endothelial function in aged rats with coronary heart disease. **Methods** The experiment was conducted in the laboratory of Enshi Central Hospital from January to November 2020. 50 healthy old SD rats were selected, 10 rats were randomly selected as the control group, and the remaining 40 rats were established coronary heart disease model. They were divided into model group, low-dose group(20 mg/kg), medium-dose group(40 mg/kg) and high-dose group(60 mg/kg). After modeling, the model group continued to be fed with high-fat diet, and the low, medium and high-dose groups were given catechin 20, 40 and 60 mg respectively. The control group received normal diet. The levels of serum Hcy, intimal thickness, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, NO, eNOS, ET-1, ADMA, MEK and ERK protein were compared among the groups. **Results** Compared with the control group, the serum Hcy and vascular intima thickness of rats in the model group increased; compared with the model group, the serum Hcy and vascular intima thickness of rats in the low-dose, medium-dose, and high-dose groups decreased sequentially ( $F/P=44.566/ < 0.001, 36.852/ < 0.001$ ); Compared with the control group, the levels of NO and eNOS in the model group decreased, and the levels of ET-1, ADMA, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , and IL-6 increased; compared with the model group, the small, medium, and high-dose groups The levels of NO and eNOS in rats increased sequentially, and the levels of ET-1, ADMA, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , and IL-6 decreased sequentially ( $F/P=51.231/ < 0.001, 19.492/ < 0.001, 35.267/ < 0.001, 19.985/ < 0.001, 44.410/ < 0.001, 17.548/ < 0.001, 45.365/ < 0.001$ ); Compared with the control group, the expression of MEK and ERK protein in myocardium of the model group increased; compared with the model group, MEK and ERK in

the small, medium and high dose groups The protein expression decreased sequentially ( $F/P=19.856/ <0.001, 45.385/ <0.001$ ). **Conclusion** Catechin can improve the vascular endothelial function of elderly rats with coronary heart disease, regulate the MEK/ERK signal pathway, and inhibit the inflammatory factors in the rat body.

**【Key words】** Catechins; Coronary heart disease; Endothelial function; Inflammatory factors; Elderly; Rats

冠状动脉粥样硬化性心脏病又称为冠心病,是一种缺血性心脏病<sup>[1-4]</sup>。近年来随着社会的发展及人口老龄化的加重,导致冠心病的发生率逐年上升,冠心病的出现严重影响患者的身心健康<sup>[5]</sup>。动脉粥样硬化是冠心病发病的主要病理基础,作为一种复杂的炎性反应病变,其动脉内皮细胞功能障碍会促进动脉粥样硬化的发展,进而导致冠心病的发生<sup>[6-7]</sup>。儿茶素是一种多种酚类天然非酶抗氧化剂,具有较好的保健效果<sup>[8]</sup>。现以儿茶素干预老年冠心病大鼠,探究儿茶素基于 MEK/ERK 信号通路对老年冠心病大鼠内皮功能的作用机制,报道如下。

## 1 材料与方法

1.1 材料 (1) 动物: SD 健康大鼠 50 只,由华兰生物工程股份有限公司提供,9~14(11.5±2.0)月龄;体质量 230~260(245.3±11.7)g;于 45%~55%湿度,常温,12 h 光照环境下喂养 1 周。(2) 药物、试剂:兔抗小鼠 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 抗体(Invitrogen 公司),大鼠抗小鼠 Hcy 抗体(BD 公司),小鼠抗大鼠 TNF- $\alpha$  抗体(Hyclone 公司),兔抗大鼠 NO、eNOS 抗体(Sigma 公司),大鼠抗小鼠 ET-1、ADMA 抗体(Selleck 公司),小鼠抗兔 MEK、ERK 抗体(Dako 公司)。(3) 仪器设备:显微镜(苏州工业园区汇光科技有限公司,型号 SZNTR)、光探测器(德国 ALPHALAS 公司,型号 SPCM)、水浴箱(上海赫田科技仪器有限公司,型号 HH-501S)。

1.2 实验方法 2020 年 1—11 月于湖北恩施州中心医院实验室进行实验。50 只大鼠中随机取 10 只为对照组,不做干预;其余 40 只大鼠建立冠心病模型:给予高脂、高甲硫氨酸饲料(由 0.2% 丙硫氧嘧啶、0.5% 胆酸钠、2% 胆固醇、10% 猪油、3% 甲硫氨酸、87.3% 基础饲料混合而成)连续喂养 6 周,间隔 2 周给予大鼠腹腔注射垂体后叶素 30  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,每日 1 次,连续 3 d,记录末次注射后 30 min 内的心电图,如若满足 T 波高耸、ST 段抬高超过 0.1 mV、心律不齐,则视为造模成功。建模中死亡 2 只,造模成功 38 只,随机数字表法分为模型组 10 只(继续高脂喂食)及小剂量组 10 只、中剂量组 9 只、高剂量组 9 只,分别给予儿茶素 20、40、60 mg/kg,3 组大鼠药物均灌胃给药,连续给药 1 周。

### 1.3 观察指标与方法

1.3.1 观察大鼠冠状动脉病变情况:大鼠建模成功后喂养 1 周,麻醉处死大鼠,取出心脏,收集心肌组织,使用生理盐水冲洗干净后进行常规石蜡包埋切片,首先将切片烤干,进行脱蜡处理,顺序置入不同浓度酒精中各复水 3 min;然后使用苏木精染色 15 min,之后进行多次清洗(最少 3 次)。清洗后使用盐酸酒精分化处理 30 s,再以 1% 伊红染色,使用酒精进行脱水处理后进行脱蜡处理,封片后显微镜观察大鼠冠状动脉病变。

1.3.2 血清 Hcy、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 水平检测:腹腔注射 10% 水合氯醛麻醉大鼠之后,打开腹腔,暴露腹主动脉,采血 5 ml 离心分离得血清,放置在 -20 $^{\circ}\text{C}$  环境下保存待用。使用散射比浊法检测,在光探测器 90 $^{\circ}$  的单色光源中对样品加入凝血激活剂,随着样品凝块的发生,其散射光强度会随之增加,当血清样本完全凝固之后,其光照探测仪会随之发生改变,随后将血清样本放置检测器上进行处理并描绘出凝固曲线,按照凝固曲线对 Hcy、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 水平进行评价。

1.3.3 血清 NO、eNOS、ET-1、ADMA 水平检测。使用酶联免疫吸附法检测:设置 10 个标准孔,在 10  $\mu\text{l}$  待测样品中加入 40  $\mu\text{l}$  样本稀释液,封板膜封板,置于 37 $^{\circ}\text{C}$  水浴箱温育 30 min,清洗反应板 5 次后拍干,每次间隔 30 s,在除空白孔以外的各孔中加入酶标液 50  $\mu\text{l}$ ,封膜温育 30 min,清洗反应板 5 次后拍干,每次间隔 30 s,在各孔中加入显色 A 液、B 液各 50  $\mu\text{l}$ ,轻轻震荡混匀,37 $^{\circ}\text{C}$  避光环境下显色 15 min,在反应孔内加入终止液 50  $\mu\text{l}/\text{孔}$  以终止反应,于 450 nm 波长处测量每孔吸光度,检测 NO、eNOS、ET-1、ADMA 水平。

1.3.4 心肌 MEK、ERK 蛋白表达检测:使用 Western-blot 法检测 MEK、ERK 表达,使用 PBS 缓冲液对标本进行冲洗,冲洗后对标本进行裂解 30 min,裂解之后对蛋白浓度进行测定。随后取 20  $\mu\text{g}/\text{孔}$  蛋白质进行电泳,加入蛋白缓冲液缓冲 10 min,随后电转膜放置到浓度为 10% 牛奶中进行浸泡,在常温下封闭孵育 1 d。次日取出用 TBST 液进行冲洗,随后结合二抗。1 h 后进行清洗、显色,对 MEK、ERK 蛋白表达进行检测。

1.4 统计学方法 使用 SPSS 20.0 软件对数据进行统计分析。正态分布计量资料以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,组间比较进行独立样本  $t$  检验,多组间比较采用方差分析;计数资料以频数或率 (%) 表示,比较采用  $\chi^2$  检验。  $P <$

0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 各组大鼠冠状动脉病变特点比较 对照组大鼠冠状动脉结构正常,内皮完整,层次较为清晰;模型组大鼠冠状动脉出现中小分支,镜下可见管壁增厚,内皮下可见泡沫细胞,粉染蛋白沉积,内膜斑块较大;小剂量组、中剂量组、高剂量组大鼠冠状动脉逐渐出现好转,血管内皮管壁减薄,内膜斑块较小,见图 1。

2.2 各组大鼠血清 Hcy、血管内膜厚度比较 与对照组比较,模型组大鼠血清 Hcy、血管内膜厚度上升 ( $P < 0.05$ );与模型组比较,小、中、高剂量组大鼠 Hcy、血管内膜厚度依次下降 ( $P$  均  $< 0.05$ ),见表 1。

2.3 各组大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 水平比较 与对照组比较,模型组大鼠 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 水平上升 ( $P < 0.05$ );与模型组比较,小、中、高剂量组大鼠 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 水平依次下降 ( $P$  均  $< 0.05$ ),见表 2。

表 1 各组大鼠血清 Hcy、血管内膜厚度比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	Hcy ( $\mu\text{mol/L}$ )	血管内膜厚度 ( $\mu\text{m}$ )
对照组	10	9.85 $\pm$ 1.02	11.89 $\pm$ 1.56
模型组	10	27.48 $\pm$ 2.69 <sup>a</sup>	95.24 $\pm$ 16.25 <sup>a</sup>
小剂量组	10	20.18 $\pm$ 2.34 <sup>b</sup>	75.96 $\pm$ 10.25 <sup>b</sup>
中剂量组	9	15.80 $\pm$ 2.08 <sup>bc</sup>	53.26 $\pm$ 8.29 <sup>bc</sup>
高剂量组	9	12.69 $\pm$ 1.67 <sup>bcd</sup>	21.11 $\pm$ 6.58 <sup>bcd</sup>
F/P 值		44.566/ $< 0.001$	36.852/ $< 0.001$

注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与小剂量组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$ ;与中剂量组比较,<sup>d</sup> $P < 0.05$

表 2 各组大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 水平比较 ( $\bar{x} \pm s, \text{ng/L}$ )

组别	n	TNF- $\alpha$	IL-1 $\beta$	IL-6
对照组	10	7.78 $\pm$ 1.06	3.16 $\pm$ 0.69	1.69 $\pm$ 0.51
模型组	10	25.39 $\pm$ 5.87 <sup>a</sup>	9.99 $\pm$ 2.18 <sup>a</sup>	23.54 $\pm$ 2.15 <sup>a</sup>
小剂量组	10	18.59 $\pm$ 3.58 <sup>b</sup>	7.16 $\pm$ 1.06 <sup>b</sup>	18.68 $\pm$ 2.67 <sup>b</sup>
中剂量组	9	15.29 $\pm$ 3.15 <sup>bc</sup>	5.29 $\pm$ 2.14 <sup>bc</sup>	14.26 $\pm$ 3.58 <sup>bc</sup>
高剂量组	9	10.28 $\pm$ 2.85 <sup>bcd</sup>	4.68 $\pm$ 1.58 <sup>bcd</sup>	6.54 $\pm$ 0.96 <sup>bcd</sup>
F/P 值		44.410/ $< 0.001$	17.548/ $< 0.001$	45.365/ $< 0.001$

注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与小剂量组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$ ;与中剂量组比较,<sup>d</sup> $P < 0.05$

2.4 各组大鼠血清 NO、eNOS、ET-1、ADMA 水平比较 与对照组比较,模型组大鼠 NO、eNOS 水平下降,ET-1、ADMA 水平上升 ( $P < 0.05$ );与模型组比较,小、中、高剂量组大鼠 NO、eNOS 水平依次上升,ET-1、ADMA 水平依次下降 ( $P$  均  $< 0.05$ ),见表 3。

2.5 各组大鼠心肌 MEK、ERK 蛋白表达比较 与对照组比较,模型组大鼠 MEK、ERK 蛋白表达升高 ( $P < 0.05$ );与模型组比较,小、中、高剂量组大鼠 MEK、ERK 蛋白表达依次下降 ( $P$  均  $< 0.05$ ),见表 4、图 2。

表 4 各组大鼠 MEK、ERK 蛋白表达比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	MEK	ERK
对照组	10	0.52 $\pm$ 0.10	0.23 $\pm$ 0.18
模型组	10	1.96 $\pm$ 0.58	1.69 $\pm$ 0.47
小剂量组	10	1.53 $\pm$ 0.47	1.47 $\pm$ 0.32
中剂量组	9	1.34 $\pm$ 0.15	1.08 $\pm$ 0.24
高剂量组	9	0.95 $\pm$ 0.13	0.49 $\pm$ 0.19
F/P 值		19.856/ $< 0.001$	45.385/ $< 0.001$

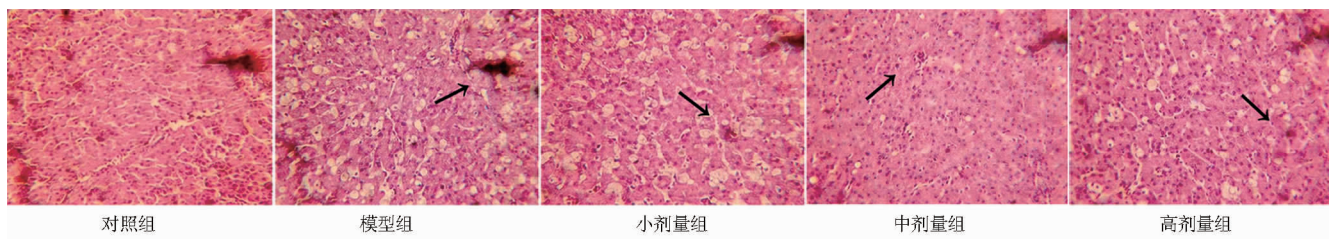


图 1 各组大鼠冠状动脉变化特点(HE 染色,  $\times 400$ )

表 3 各组大鼠 NO、eNOS、ET-1、ADMA 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	NO (mg/g)	eNOS (U/mg)	ET-1 (pg/g)	ADMA ( $\mu\text{mol/g}$ )
对照组	10	15.69 $\pm$ 1.69	0.89 $\pm$ 0.04	49.58 $\pm$ 3.29	0.29 $\pm$ 0.05
模型组	10	6.85 $\pm$ 0.31 <sup>a</sup>	0.32 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	69.84 $\pm$ 4.25 <sup>a</sup>	0.68 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>
小剂量组	10	7.96 $\pm$ 0.46 <sup>b</sup>	0.49 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	61.25 $\pm$ 4.23 <sup>b</sup>	0.64 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>
中剂量组	9	9.15 $\pm$ 1.09 <sup>bc</sup>	0.61 $\pm$ 0.05 <sup>bc</sup>	56.28 $\pm$ 3.48 <sup>bc</sup>	0.53 $\pm$ 0.04 <sup>bc</sup>
高剂量组	9	12.58 $\pm$ 1.34 <sup>bcd</sup>	0.75 $\pm$ 0.04 <sup>bcd</sup>	53.58 $\pm$ 3.15 <sup>bcd</sup>	0.36 $\pm$ 0.02 <sup>bcd</sup>
F/P 值		51.231/ $< 0.001$	19.492/ $< 0.001$	35.267/ $< 0.001$	19.985/ $< 0.001$

注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与小剂量组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$ ;与中剂量组比较,<sup>d</sup> $P < 0.05$

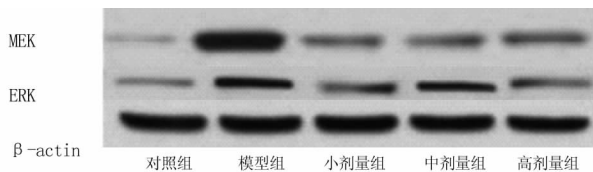


图2 各组大鼠 MEK、ERK 蛋白表达 Western blot 图

### 3 讨论

冠心病多发病于 40 岁以上成年人,是临床常见和多发的心血管疾病之一<sup>[9-10]</sup>。大量临床研究显示,其血管内皮损伤及功能失调是引发心血管疾病的起始事件。血管内皮细胞协调血管舒张因子及收缩因子共同调节血管的舒张状态<sup>[11]</sup>。茶叶中有效成分主要有多酚化合物、生物碱、多糖类等。茶多酚中主要的成分是以儿茶素为主的黄烷醇类。儿茶素在很多植物中存在,其中包括葡萄、苹果及茶叶等<sup>[12-13]</sup>。儿茶素具有广泛的生物活性,其高效清除自由基及抗氧化对人体的多种病症预防和治疗均有较大的作用,具有高效低毒的特点,是一种较为理想的天然药物<sup>[14-15]</sup>。

Hcy 为同型半胱氨酸,是机体内含硫氨基酸的一个重要的代谢中间产物,可能是动脉粥样硬化等心血管疾病发病的一个独立危险因素<sup>[16-17]</sup>。大量临床研究表明,Hcy 与冠心病的发生发展有着密切的关联,对其进行检测能够对冠心病的发生发展进行较为准确的评价。本研究发现,老年冠心病模型大鼠 Hcy 水平升高,对其使用儿茶素进行干预,能够调节大鼠 Hcy 水平,起到较好的干预效果。

大量临床研究表明,冠心病的发生发展与内皮功能有着密切的关联,NO、eNOS、ET-1、ADMA 是临床检测内皮功能常用的因子,对其进行检测能够对内皮功能进行较为准确的评价<sup>[18-20]</sup>。宋昆鹏等<sup>[21]</sup>研究发现,冠心病模型大鼠血管内皮功能相关指标 NO、eNOS 水平下降,ET-1、ADMA 水平上升,对其进行有效的干预,大鼠血管内皮有所改善。本研究发现,冠心病模型大鼠血管内皮功能相关指标 NO、eNOS 水平下降,ET-1、ADMA 水平上升,与上述一致,对其使用儿茶素进行干预后,大鼠 NO、eNOS 水平上升,ET-1、ADMA 水平下降,且大剂量组效果最好。说明使用儿茶素基于 MEK/ERK 信号通路对老年冠心病大鼠进行干预,其能够改善老年冠心病大鼠血管内皮功能,具有较好的效果。

冠心病的发生发展与机体炎症反应有着密切的关联,TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 是临床检测炎症反应水平的常用指标,对其进行检测能够对机体炎症反应的发生发

展进行较为准确的评价<sup>[22-23]</sup>。本研究发现,老年冠心病大鼠炎症因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 水平上升,对其使用儿茶素进行干预,老年冠心病大鼠炎症因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 下降,说明使用儿茶素基于 MEK/ERK 信号通路对老年冠心病大鼠进行干预,能够抑制大鼠体内炎症因子,具有较好的效果。

ERK 是 MAPK 家族中重要的成员之一,而 MEK/ERK 信号通路是多种细胞因子调控细胞凋亡和增殖的关键。其中 ERK 能够被上游分子 MEK 的磷酸化激活,从而进一步调节细胞的增殖、分化及增殖<sup>[24]</sup>。大量临床研究表明,在心肌细胞损伤时,MEK/ERK 信号通路能够被激活,从而调节心肌细胞的生长、增殖及凋亡。本结果发现,使用儿茶素基于 MEK/ERK 信号通路对老年冠心病大鼠进行干预,能够调节 MEK/ERK 信号通路,从而起到治疗的效果。

综上所述,使用儿茶素对老年冠心病大鼠进行干预,能够改善大鼠血管内皮功能,调节 MEK/ERK 信号通路,抑制大鼠机体炎症因子,从而起到治疗的效果,具有较好的临床推广意义。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

周慧、雷玉华:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写,进行统计学分析;张复贵、华晓芳:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;杨淑蓉:课题设计,论文撰写;黄晶:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改

**参考文献**

- [1] Li T,Yao W. Therapeutic effect of irbesartan combined with atorvastatin calcium in the treatment of rats with coronary heart disease [J]. *Exp Ther Med*, 2018, 16 (5): 4119-4123. DOI: 10.3892/etm.2018.6669.
- [2] Zheng J, Zhang S, Wang T. Expression of Notch-1 and nuclear factor- $\kappa$ B signal pathway in myocardial cells of coronary heart disease rats [J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(3):1587-1592. DOI: 10.3892/etm.2018.7123.
- [3] Couto GK, Paula SM, Gomes-Santos IL, et al. Exercise training induces eNOS coupling and restores relaxation in coronary arteries of heart failure rats [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2018, 314(4):H878-H887. DOI: 10.1152/ajpheart.00624.2017.
- [4] Yang Q,Li J,Zhang H,et al. Down-regulation of microRNA-429 alleviates myocardial injury of rats with coronary heart disease [J]. *Cell Cycle*, 2019, 18 (19): 2550-2565. DOI: 10.1080/15384101.2019.1652037.
- [5] Chen J, Ceholski DK, Turnbull IC, et al. Ischemic model of heart failure in rats and mice [J]. *Methods Mol Biol*, 2018, 1816:175-182. DOI: 10.1007/978-1-4939-8597-5\_13.
- [6] Huo X, Zhang T, Meng Q, et al. Resveratrol effects on a diabetic rat model with coronary heart disease [J]. *Med Sci Monit*, 2019, 25: 540-546. DOI: 10.12659/MSM.910996.

[7] Kelm NQ, Beare JE, LeBlanc AJ. Evaluation of coronary flow reserve after myocardial ischemia reperfusion in rats[J]. J Vis Exp, 2019,(148):e59406. DOI: 10. 3791/59406.

[8] Tu S, Xiao F, Min X, et al.Catechin attenuates coronary heart disease in a rat model by inhibiting inflammation[J]. Cardiovasc Toxicol, 2018,18(5):393-399. DOI: 10. 1007/s12012-018-9449-z

[9] Peng Y, Zhang N, Li WJ, et al. Correlations of changes in inflammatory factors, glucose and lipid metabolism indicators and adiponectin with alterations in intestinal flora in rats with coronary heart disease[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020,24(19):10118-10125. DOI: 10. 26355/eurrev\_202010\_23231.

[10] 张海波,李运丽,艾景雪,等. 从线粒体膜稳定作用探讨线粒体 K(MITO-KATP)通道开放剂改善老年冠心病大鼠心肌缺血再灌注损伤的机制[J]. 中国循证心血管医学杂志,2019,11(5):560-563,568. DOI:10. 3969/j. issn. 1674-4055. 2019. 05. 13.

[11] 谭安安,陈晨. 长春西汀通过 PI3K/AKT 通路改善冠心病大鼠模型心肌氧化应激损伤的机制研究[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2020,12(9):1114-1117. DOI:10.3969/j.issn.1674-4055.2020.09.23.

[12] 李苏,王雯雯,雍苏南,等. 心痛泰颗粒对冠心病大鼠血脂、纤溶系统及心肌影响的研究[J]. 中国中医急症,2020,29(8):1339-1343. DOI:10. 3969/j. issn. 1004-745X. 2020. 08. 008.

[13] 王瑾茜,胡国恒,蒯晓源,等. 益气活血方对气虚血瘀型冠心病模型大鼠的影响研究[J]. 湖南中医药大学学报,2020,40(5):529-534. DOI:10. 3969/j. issn. 1674-070X. 2020. 05. 004.

[14] 宫玉霞,张德龙,王世锋,等.银杏叶片联合阿托伐他汀对冠心病伴代谢综合征患者血清 BPA、ADMA、visfatin 水平及 TLR4/NF-κB 信号通路的影响[J]. 疑难病杂志,2021,20(1):7-12. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.01.002.

[15] 谢玉霞,姜海兵,杨洁,等. 线粒体 ATP 敏感性钾离子通道开放剂对冠心病大鼠血脂代谢和血管内皮损伤的影响及相关机制研究[J]. 实用心脑血管病杂志,2020,28(5):56-60. DOI:10. 3969/j. issn. 1008-5971. 2020. 05. 011.

[16] 胡波,张晓刚,李德才. miR-22 靶向抑制 NLRP3 基因对冠心病内皮细胞炎症损伤的保护作用[J]. 安徽医科大学学报,2018,53(5):668-675. DOI:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.05.003.

[17] 郭艺芳. 防控动脉粥样硬化性心血管疾病的战略思考[J]. 疑难病杂志,2020,19(12):1189-1190,1195. DOI: 10.3969/j. issn. 1671-6450.2020.12.001.

[18] 董素娟,万书平,杨广龙. 芝麻素对冠心病大鼠脂代谢、血管内皮功能损伤及 VCAM-1 水平的影响[J]. 临床和实验医学杂志, 2019,18(12):1242-1246. DOI:10.3969/j.issn.1671-4695.2019.12.003.

[19] 张世田,庞路路,唐汉庆,等. 壮通饮对冠心病模型大鼠心功能及血管舒缩功能的影响[J]. 中国药房,2019,30(18):2480-2484. DOI:10. 6039/j. issn. 1001-0408. 2019. 18. 06.

[20] 王露朝,柴小奇,陈玉军,等. 血浆致动脉粥样硬化指数与 2 型糖尿病患者并发冠心病及其冠状动脉狭窄程度的关系研究[J]. 实用心脑血管病杂志,2020,28(6):22-27,35. DOI: 10.3969/j. issn. 1008-5971.2020.06.005.

[21] 宋昆鹏,石海莉,陈珂,等. 依那普利叶酸片对冠心病患者血管内皮功能保护的作用机制[J]. 中国循证心血管医学杂志,2020,12(2):221-224. DOI:10. 3969/j. issn. 1674-4055. 2020. 02. 23.

[22] 柴晶美,李欣,杜金,等. 二参颗粒对冠心病心肌缺血大鼠 NF-κB 信号通路中炎症因子的影响[J]. 长春中医药大学学报,2020,36(2):261-264. DOI:10. 13463/j. cnki. cczyy. 2020. 02. 018.

[23] 朴奇彦,周秀明,李中华,等. miR-22 靶向 NLRP3 基因对冠心病大鼠内皮细胞炎症损伤的影响研究[J]. 中国实验诊断学,2019,23(9):1620-1623. DOI:10. 3969/j. issn. 1007-4287. 2019. 09. 044.

[24] 富丹婷,屠珏,蔡月琴,等. 主动脉弓缩窄诱导大鼠心肌肥大 Raf/MEK/ERK 通路的变化[J]. 中国应用生理学杂志,2020,36(1):33-39. DOI:10. 12047/j. cjap. 5834. 2020. 007.

(收稿日期:2020-12-19)

作者 · 编者 · 读者

## 关于参考文献标注和著录的要求

本刊参考文献著录实施 GB/T7714-2015《信息与文献 参考文献著录规则》按照参考文献在正文中出现的先后顺序用阿拉伯数字加方括号标出。正文指明原始文献作者姓名时,序号标注于作者姓名右上角;正文未指明作者或非原始文献作者时,序号标注于文末右上角;正文直接述及文献序号将之作为语句的组成部分时,不用角码标注,例如:手术方法按参考文献[8]。图中引用参考文献,按其在全文中出现的顺序编号,在图的说明或注释中予以标注,图中不应出现引文标注。表中引用参考文献,按其在全文中出现的顺序编号依次标注;或在表中单列一栏说明文献来源,该栏应列出文献第一作者姓名,在姓名右上角标注文献角码。

参考文献表应按正文引用先后顺序用阿拉伯数字加方括号排列于文后,参考文献著录项目要齐全。同一文献作者不超过 3 位者全部著录;超过 3 位者只列前 3 位,后依文种加“等”的文字。文后参考文献表中,中文期刊用全称;外文期刊采用缩写形式,以 Index Medicus 中的缩写式为准。

引用参考文献应是作者亲自审读过的、近 5 年内的国内外有影响力的期刊文献,尽量少引图书著作;每条参考文献应标注数据对象唯一标识符(DOI);在引用参考文献要避免只引国内文献或只引国外文献的倾向。

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.04.008

心血管系统疾病

## 麝香保心丸对小鼠动脉粥样硬化的作用及机制研究

刘盛祥, 黄宇鹏, 金红艳, 杨国康

基金项目: 湖北省科学基金面上项目(WJ2019F032); 武汉市科学基金面上项目(WX19D64)

作者单位: 430050 武汉科技大学附属汉阳医院心血管内科

通信作者: 杨国康, E-mail: ygk816816@126.com

**【摘要】目的** 探究麝香保心丸在载脂蛋白 E (ApoE) 敲除小鼠中的抗动脉粥样硬化作用及其作用机制。**方法** 2019 年 9 月—2020 年 8 月于武汉科技大学实验动物中心进行实验。ApoE 基因敲除雄性小鼠 60 只, 按照随机数字表法分为 2 组, 各 30 只。干预组小鼠予麝香保心丸(25 mg/kg) 研沫 + 生理盐水灌胃, 对照组予生理盐水(与干预组等体积) 灌胃。2 组小鼠均高脂饲养 20 周后处死, 取主动脉树及主动脉窦染色, 比较 2 组小鼠主动脉树及主动脉窦部斑块面积, 取血液检测血清三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平, 免疫荧光法及 PCR 法检测小鼠主动脉组织白介素 6(IL-6)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ) 表达水平, PCR 及 Western-blot 法检测小鼠主动脉组织肝细胞 X 受体- $\alpha$ (LXR $\alpha$ )、LXR $\beta$ 、ATP 结合盒转运蛋白 A1(ABCA1)、ABCG1 表达水平。**结果** 干预组小鼠主动脉树及主动脉窦部斑块面积均低于对照组( $t/P=3.021/0.019, 3.238/0.001$ ); 血清 TG、TC、LDL-C 水平均低于对照组( $t=5.074, 6.327, 4.492, P$  均  $<0.001$ ), 而 HDL-C 水平高于对照组( $t/P=3.138/0.001$ )。干预组小鼠主动脉组织 IL-6 及 TNF- $\alpha$  mRNA 水平明显低于对照组( $t/P=3.027/0.017, 2.478/0.019$ ), 主动脉组织 LXR $\alpha$ 、LXR $\beta$ 、ABCA1、ABCG1 mRNA 均高于对照组( $t=5.276, 6.137, 4.565, 5.136, P$  均  $<0.01$ )。**结论** 麝香保心丸通过抑制炎症反应和促进胆固醇流出, 可达到抗动脉粥样硬化的目的。

**【关键词】** 麝香保心丸; 动脉粥样硬化; 载脂蛋白 E; 作用机制; 小鼠**【中图分类号】** R-332; R543.5**【文献标识码】** A

**Study on the effect and mechanism of Shexiangbaoxin pills on atherosclerosis in mice** Liu Shengxiang, Huang Yupeng, Jin Hongyan, Yang Guokang. Department of Cardiology, Hanyang Hospital of Wuhan University of Science and Technology, Hubei Province, Wuhan 430050, China

Corresponding author: Yang Guokang, E-mail: ygk816816@126.com

Funding program: General Program of Hubei Science Foundation (WJ2019F032); General Program of Wuhan Science Foundation (WX19D64)

**【Abstract】 Objective** To explore the anti-atherosclerotic effect and mechanism of Shexiangbaoxin pills in apolipoprotein E (ApoE) knockout mice. **Methods** From September 2019 to August 2020, experiments were conducted at the Experimental Animal Center of Wuhan University of Science and Technology. 60 ApoE knockout male mice were divided into 2 groups according to the random number table method, 30 mice in each group. Mice in the intervention group were given Shexiangbaoxin pills (25 mg/kg) plus saline by gavage, and mice in the control group were given normal saline (the same volume as the intervention group) by gavage. Both groups of mice were fed high-fat for 20 weeks and then sacrificed. The aortic tree and aortic sinus were stained, and the plaque area of the aortic tree and aortic sinus of the two groups of mice were compared, and the blood was collected for serum triacylglycerol (TG), total cholesterol (TC), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) levels, immunofluorescence and PCR methods to detect mouse aortic tissue interleukin 6 (IL-6), tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) expression level, PCR and Western-blot methods were used to detect the expression levels of mouse aortic tissue hepatocyte X receptor  $\alpha$  (LXR $\alpha$ ), LXR $\beta$ , ATP binding cassette transporter A1 (ABCA1), and ABCG1. **Results** The aortic tree and aortic sinus plaque areas of the intervention group were lower than those of the control group ( $t/P=3.021/0.019, 3.238/0.001$ ); serum TG, TC, and LDL-C levels were lower than those of the control group ( $t=5.074, 6.327, 4.492, P<0.001$ ), and the HDL-C level was higher than the control group ( $t/P=3.138/0.001$ ). The levels of IL-6 and TNF- $\alpha$  mRNA in the aortic tissues of the intervention group were significantly lower than those of the control group ( $t/P=3.027/0.017, 2.478/0.019$ ), and the aortic tissues LXR $\alpha$ , LXR $\beta$ , ABCA1 and ABCG1 mRNA were all higher than those in the control group ( $t=5.276, 6.137, 4.565, 5.136, P<0.01$ ). **Conclusion**



*Shexiangbaixin* Pill can prevent atherosclerosis by inhibiting inflammatory reaction and promoting cholesterol efflux.

【Key words】 *Shexiangbaixin* pills; Atherosclerosis; Apolipoprotein E; Mechanism; Mice

过去几十年,尽管医疗技术取得了长足的发展,但心血管疾病仍旧是威胁人类健康的主要杀手,其病死率超过全球总死亡率的 30%。动脉粥样硬化是一类慢性炎性反应性疾病,主要表现为大量的脂质沉积于血管内壁,是心血管疾病尤其是动脉粥样硬化性心脏病的主要发病机制。麝香保心丸是一类传统的中药复方制剂,主要由麝香、苏合香、牛黄、人参提取物、肉桂和冰片等中药提取而成<sup>[1]</sup>。多项研究表明,麝香保心丸可通过促进血管新生、调节细胞凋亡及延缓脂质沉积为心血管系统提供保护作用<sup>[2-5]</sup>。动脉粥样硬化的发生与多种致病因素相关,包括炎症反应及脂质沉积等<sup>[6]</sup>,而麝香保心丸能够通过抑制这些致病因素延缓动脉粥样硬化的发生,因此,能够有效治疗动脉粥样硬化。现探究麝香保心丸是否具有抗动脉粥样硬化作用及其在载脂蛋白 E 敲除小鼠中的作用机制,报道如下。

## 1 材料与方 法

1.1 材料 (1) 动物:SPF 级 ApoE<sup>-/-</sup>Vital 雄性 C57 小鼠 60 只,8 周龄,购于 River 实验动物技术有限公司;饲养在(22±2)℃的房 间内,均可自由获取水和食物,并给 予明暗各 12 h 的光照条件。(2) 药品与试剂:麝香保心丸(上海和记药业公司);脂蛋白检测试剂盒(南京建成生物科 技有限公司);TB Green Premix Ex Taq II 试剂盒(日本 Takara 公司)。(3) 仪器设备:Image-Pro Plus 6.0(美国 Media Cybernetics 公司);高速冷冻离心机(美国 Sigma 公司);酶标仪(美国 Thermo 公司);荧光显微镜、包埋机(德国 Leica 公司);切片机(上海斯欧医疗器械有限公司);电泳仪(美国 Bio-Rad 公司);凝胶成像系统(法国 Vilber Lourmat 公司)。

1.2 造模方法 2019 年 9 月—2020 年 8 月于武汉科技大学实验动物中心进行实验。本实验按照中国卫生研究院实验动物管理及使用指南进行,并得到武汉科技大学实验动物管理及使用委员会批准。按参考文献[7]报道的方法,造模小鼠给予高脂饲料喂养(富含 21% 脂肪和 0.15% 胆固醇),连续喂养 8 周。造模小鼠的 2 项指标总胆固醇(TC)及低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)均大于正常小鼠的 50% 视为造模成功。小鼠造模成功后,随机数字表法分为干预组及对照组,每组 30 只。干预组予以麝香保心丸 25 mg/kg 灌胃(将麝香保心丸 25 mg 研沫加入生理盐水 1 ml 配制成 25 mg/ml 溶液,根据小鼠体质量计算所需的溶液体积),

每日 1 次,连续 12 周<sup>[8]</sup>。对照组予以等体积生理盐水灌胃,每日 1 次,连续 12 周。干预期间各组仍给予高脂饲料喂养。

1.3 检测指标及方法 末次给药后小鼠均禁食 24 h,于每只小鼠活体眼球取血至少 0.2 ml,离心取血清,冻 存备用;然后小鼠颈椎脱臼法处死后开腹,切取主动脉 窦,分离胸主动脉,尽可能除去血管周围脂肪组织,4% 多聚甲醛固定 24 h 以上。

1.3.1 主动脉树斑块大小检测:将 4% 多聚甲醛固定好的胸主动脉用 PBS 浸洗 2 次,用解剖剪沿血管壁将血管纵向剖开,浸入油红 O 染液中,37℃ 染色 60 min 后取出,用 75% 乙醇分化至管腔内脂肪斑块呈橘红色或鲜红色,其他部位近无色,然后用蒸馏水洗 2 次,将染色好的大体组织在白色滤纸和泡沫板上展开固定好,选择良好的光线条件下,调整好焦距进行拍照,用 Image J 软件分析测定血管斑块面积百分比。

1.3.2 主动脉窦斑块大小检测:将固定好的主动脉窦部,15%、30% 蔗糖梯度脱水,OCT 包埋,液氮速冻,制成 8 μm 切片,油红 O 染色,Image J 软件分析测定斑块面积百分比。

1.3.3 血脂浓度检测:取小鼠血液样本离心提取血清,以南京建成生物科技有限公司的生物试剂盒采用 ELISA 法检测 TC、TG、HDL-C、LDL-C 浓度。

1.3.4 主动脉组织 IL-6、TNF-α 蛋白表达检测:小鼠主动脉组织 4% 多聚甲醛固定,梯度乙醇、二甲苯脱水,石蜡包埋,将主动脉制成 4 μm 切片,脱蜡处理后 pH 9.0 EDTA 抗原修复,PBS 水洗,BSA 封闭,一抗(1:100)4℃ 过夜孵育、二抗(1:200)室温孵育,DAPI 染色,吸干后抗荧光淬灭剂封片,荧光显微镜观察获取图像进行分析。

1.3.5 主动脉组织 LXRα、LXRβ、ABCA1 和 ABCG1 蛋白表达检测:用含有 1% 蛋白酶抑制剂的裂解缓冲液裂解主动脉,研磨匀浆后 4℃ 下离心获得全蛋白质;然后采用 Western-blot 法、使用 BCA 试剂盒对蛋白进行定量分析。每个样品取等量的蛋白质(20 μg)用 10% 凝胶进行免疫印迹,然后将其转移到 PVDF 膜上,用含 5% 脱脂牛奶的 TBST 封闭,在 4℃ 与特定的抗体一起摇床孵育过夜,包括 LXRα、LXRβ、ABCA1 和 ABCG1;次日用 TBST 将膜洗涤 3 次,并用对应的二抗孵育 1 h,用 TBST 洗涤 3 次后配制 ECL 发光反应液,并用凝胶成像系统检测。

表 1 引物序列

引物名称	正向引物	反向引物
LXR $\alpha$	5'-TGACTCCAACCCTATCCCTAA-3'	5'-GTTTCTCCTGATTCTGCAACG-3'
LXR $\beta$	5'-GGCGATAAGCAAGGCATACTC-3'	5'-AAACAGCCAGACGCTACAACC-3'
IL-6	5'-AGTTGCCCTTCTTGGGACTGA-3'	5'-TCCACGATTTCCCAGAGAAC-3'
TNF- $\alpha$	5'-TGGCGTGGAGCTGAGAGATA-3'	5'-TGATGGCAGAGAGGAGGTTG-3'
ABCA1	5'-AGGCACTCAAGCCACTGCTTGT-3'	5'-TGCTCTGCTCTCTAACAGCGT-3'
ABCG1	5'-GGTTGGCAGATTTGTGGGTC-3'	5'-TTCTCCGTCCAAGCCGTAGA-3'
GAPDH	5'-AAGAAGCTGCTGAAGCAGG-3'	5'-GAAGTGGAAGAGTGGGAGT-3'

1.3.6 主动脉组织 IL-6、TNF- $\alpha$ 、肝细胞 X 受体- $\alpha$  (LXR $\alpha$ )、LXR $\beta$ 、ATP 结合盒转运蛋白 A1 (ABCA1) 和 ABCG1 mRNA 表达检测:以 PCR 法,使用 Trizol 试剂盒从主动脉组织中提取总 RNA,再通过反转录试剂盒将总 RNA 反转录为 cDNA。使用 TB Green Premix Ex Taq II 试剂盒测量和分析特定基因的表达,包括 IL-6、TNF- $\alpha$ 、LXR $\alpha$ 、LXR $\beta$ 、ABCA1 和 ABCG1, GAPDH 作为内参。本研究中使用的引物序列见表 1。扩增步骤如下:在 95℃ 预变性 30 s,然后在 95℃ 变性 5 s,接着 60℃ 扩增 20 s,持续 40 个循环,然后进行最后的解离,95℃ 持续 5 s,60℃ 持续 1 min 和 95℃ 持续 0 s。

1.4 统计学方法 使用 SPSS 20.0 软件对数据进行统计学分析。符合正态分布的计量资料以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,组间比较采用  $t$  检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

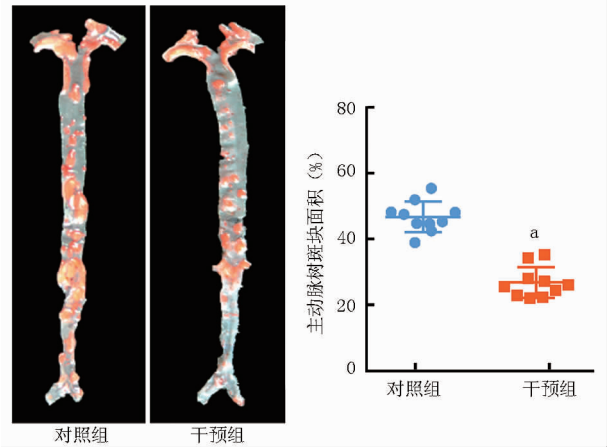
## 2 结果

2.1 2 组动脉粥样硬化斑块比较 与对照组比较,干预组小鼠整个主动脉树斑块面积、主动脉窦部斑块明显减少 ( $t/P = 3.021/0.019, 3.238/0.001$ ),见图 1、2。

2.2 2 组血清脂蛋白水平比较 与对照组比较,干预组血清 TC、TG、LDL-C 水平明显降低 ( $t = 5.074, 6.327, 4.492, P$  均 = 0.001),而 LDL-C 水平升高 ( $t/P = 3.138/0.001$ ),见图 3。

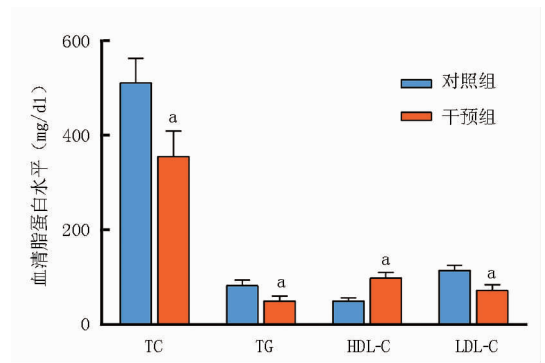
2.3 2 组主动脉组织炎症因子比较 与对照组比较,干预组主动脉组织炎症因子 IL-6 及 TNF- $\alpha$  mRNA 表

达降低 ( $t/P = 3.027/0.017, 2.478/0.019$ ),见图 4。



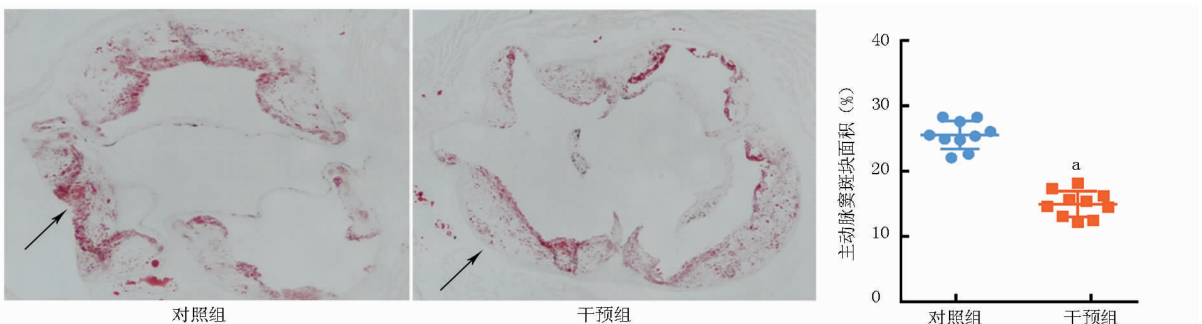
注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$

图 1 2 组小鼠主动脉树斑块大小及面积百分比



注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.01$

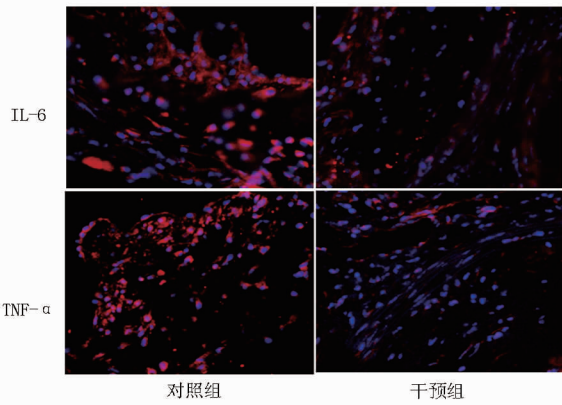
图 3 2 组小鼠血清脂蛋白水平比较



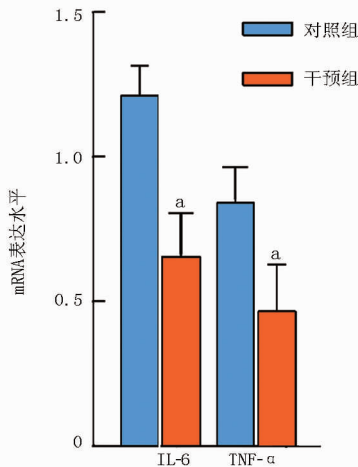
注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.01$

图 2 2 组小鼠主动脉窦部斑块大小(油红 O 染色,  $\times 40$ )及面积比较





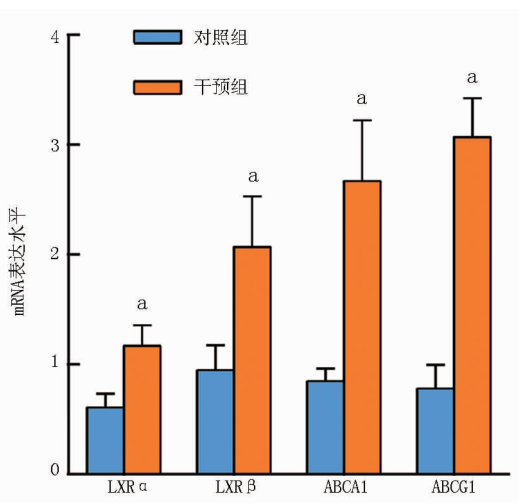
A. 主动脉组织 IL-6、TNF-α 表达水平(免疫荧光染色, ×200)



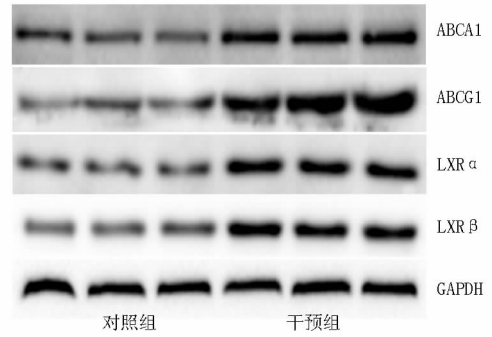
B. 主动脉组织 IL-6、TNF-α mRNA 表达水平  
注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.01$

图 4 2 组小鼠主动脉组织 IL-6、TNF-α 表达水平比较

2.4 2 组胆固醇流出途径关键因子比较 与对照组比较,干预组中反映胆固醇流出途径的主要指标 LXRα、LXRβ、ABCA1 及 ABCG1 mRNA 表达水平均明显升高 ( $t = 5.276、6.137、4.565、5.136, P$  均 = 0.001),上述指标蛋白表达亦升高,见图 5。



A. 主动脉组织 LXRα、LXRβ、ABCA1 和 ABCG1 mRNA 表达水平



B. 主动脉组织 LXRα、LXRβ、ABCA1 和 ABCG1 蛋白表达  
注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.01$

图 5 2 组小鼠主动脉组织 LXRα、LXRβ、ABCA1 和 ABCG1 蛋白表达比较

### 3 讨论

动脉粥样硬化相关的心血管疾病具有高病死率的特点,对患者造成巨大的威胁<sup>[9]</sup>。最初研究表明,动脉粥样硬化表现为一系列复杂的病理生理过程,包括炎症反应及血管内皮下脂质的聚集<sup>[6]</sup>。过去几十年,麝香保心丸被广泛用于心血管疾病的治疗,本研究发现,麝香保心丸明显延缓了载脂蛋白 E 敲除小鼠动脉粥样硬化的进展,其作用归因于炎症反应及血管内脂质沉积的改善。

已有研究表明,动脉血管的炎症反应与动脉粥样硬化的发生及发展密切相关<sup>[10-11]</sup>。当促炎细胞因子在动脉管腔暴露时,处于静止状态的血管内皮细胞就会转变为活化状态,产生大量的黏附因子及趋化因子,使血液中的单核细胞结合到动脉管壁并浸润到内皮下,发生迁移的单核细胞逐渐分化成巨噬细胞,产生细胞因子加剧血管的炎症反应,并促进动脉粥样硬化的发生及发展。IL-6 是一种炎症细胞因子,主要由单核/巨噬细胞分泌,通过激活巨噬细胞,促进巨噬细胞摄取低密度脂蛋白并上调黏附因子,参与动脉粥样硬化的发生及发展,在介导动脉粥样硬化的炎症反应中起着重要作用<sup>[12-13]</sup>。鉴于 IL-6 在冠状动脉疾病发生及发展中的重要性,靶向 IL-6 可能被证明是有效的。本结果显示,干预组采用麝香保心丸治疗后 IL-6 水平显著低于对照组,提示麝香保心丸可抑制 IL-6 的表达,这可能是麝香保心丸抗炎抗动脉硬化的机制之一。TNF-α 存在于发生动脉硬化的管壁上,通过上调内皮细胞黏附因子的表达及下调内皮一氧化氮合酶和环氧合酶-1 的表达,从而引起内皮功能障碍,最终导致动脉粥样硬化的发生<sup>[14]</sup>。孔令东等<sup>[15]</sup>发现,敲除大鼠 ApoE 基因后 TNF-α 表达明显上调,动脉粥样硬化斑

块明显增加,表明 TNF- $\alpha$  具有促进动脉粥样硬化的作用。本研究中发现,麝香保心丸组 TNF- $\alpha$  表达明显下调,提示麝香保心丸可以抑制 TNF- $\alpha$  的表达,进一步提示麝香保心丸通过影响促炎因子参与动脉粥样硬化的过程。

大量动物及细胞实验表明,在动脉粥样硬化的各个阶段血管壁内脂质沉积是必不可少的病理生理过程,细胞通过促进胆固醇及其他脂质从细胞中排除的途径来缓解过量的脂质聚集,泡沫细胞在这些脂质代谢途径中发挥着重要作用。在泡沫细胞中,巨噬细胞转运蛋白包括 ABCA1 及 ABCG1 促进脂质的转运<sup>[16]</sup>。APOA1 是 HDL 的组成部分,ABCA1 促进胆固醇流出到脂质含量低的 APOA1,而 ABCG1 促进胆固醇流出到成熟的 HDL<sup>[16]</sup>。LXR 是一种受配体调控的核受体,受细胞内胆固醇水平的调节,当 LXR 激活时,编码 ABCA1 及 ABCG1 的基因在转录水平上调。胆固醇衍生物(氧固醇)或类胆固醇分子(去氢甾醇)引起 LXR 的激活,通过 ABCA1 及 ABCG1 促进巨噬细胞胆固醇外排;同时还具有一定的抗炎作用<sup>[17]</sup>。因此,合成 LXR 激动剂已被用于治疗动脉粥样硬化。本结果显示,麝香保心丸增加了 ABCA1、ABCG1 及其上游转录调节因子 LXR 转录水平的表达,这些结果表明麝香保心丸通过增加 LXR 的活性激活胆固醇流出途径,继而增加下游转录因子 ABCA1、ABCG1 的表达,达到改善脂质代谢的目的。

综上所述,麝香保心丸具有一定的抗动脉粥样硬化作用,其作用机制可能与抑制炎症反应及激活胆固醇逆转运途径相关,但其具体的作用靶点还需进一步探讨。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

刘盛祥:课题设计及文章撰写;黄宇鹏:数据获取及统计分析;金红艳:收集资料及论文修改;杨国康:课题指导

**参考文献**

- [1] Lu L,Sun X,Chen C,et al. Shexiang Baoxin Pill,derived from the traditional chinese medicine,provides protective roles against cardiovascular diseases [J]. *Front Pharmacol*,2018,9: 1161. DOI: 10.3389/fphar.2018.01161.
- [2] Wang X,Meng H,Chen P,et al. Beneficial effects of muscone on cardiac remodeling in a mouse model of myocardial infarction[J]. *Int J Mol Med*,2014,34(1): 103-111. DOI: 10.3892/ijmm.2014.1766.
- [3] Qiao L,Zhang X,Liu M,et al. Ginsenoside Rb1 enhances atherosclerotic plaque stability by improving autophagy and lipid metabolism in macrophage foam cells [J]. *Front Pharmacol*,2017,8: 727. DOI:10.3389/fphar.2017.00727.
- [4] Yuan X,Han L,Fu P,et al. Cinnamaldehyde accelerates wound

healing by promoting angiogenesis via up-regulation of PI3K and MAPK signaling pathways [J]. *Lab Invest*,2018,98(6):783-798. DOI:10.1038/s41374-018-0025-8.

- [5] Madhuri K,Naik PR. Ameliorative effect of borneol,a natural bicyclic monoterpene against hyperglycemia,hyperlipidemia and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic Wistar rats [J]. *Biomed Pharmacother*,2017,96:336-347. DOI:10.1016/j.biopha.2017.09.122.
- [6] Weber C,Noels H. Atherosclerosis:current pathogenesis and therapeutic options [J]. *Nat Med*,2011,17(11): 1410-1422. DOI: 10.1038/nm.2538.
- [7] Lu L,Qin Y,Zhang X,et al. Shexiang Baoxin Pill alleviates the atherosclerotic lesions in mice via improving inflammation response and inhibiting lipid accumulation in the arterial wall [J]. *Mediators Inflamm*,2019,2019:6710759. DOI:10.1155/2019/6710759.
- [8] Wei D,Zheng N,Zheng L,et al. Shexiang Baoxin Pill corrects metabolic disorders in a rat model of metabolic syndrome by targeting mitochondria [J]. *Front Pharmacol*,2018,9:137. DOI: 10.3389/fphar.2018.00137.
- [9] Roth GA,Johnson C,Abajobir A,et al. Global,regional,and national burden of cardiovascular diseases for 10 causes,1990 to 2015 [J]. *J Am Coll Cardiol*,2017,70(1):1-25. DOI:10.1016/j.jacc.2017.04.052.
- [10] Shah PK. Inflammation, infection and atherosclerosis [J]. *Trends Cardiovasc Med*,2019,29(8):468-472. DOI:10.1016/j.tcm.2019.01.004.
- [11] Park JG,Oh GT. Current pharmacotherapies for atherosclerotic cardiovascular diseases [J]. *Arch Pharm Res*,2019,42(3): 206-223. DOI: 10.1007/s12272-019-01116-1.
- [12] 廖宗力,孙璐,朱重政,等. 不同促透剂运用于隔药饼灸对高脂血症合并动脉粥样硬化兔主动脉形态及血清 IL-6、IL-10 的影响 [J]. *湖南中医药大学学报*,2019,39(11):1368-1372. DOI:10.3969/j.issn.1674-070X.2019.11.017.
- [13] 黄浩,王骁腾,洪军. 化痰脉通片对痰瘀型颈动脉粥样硬化患者血清 ox-LDL 和 IL-6 的调节作用观察 [J]. *湖南中医药大学学报*,2019,39(10):1267-1270. DOI:10.3969/j.issn.1674-070X.2019.10.021.
- [14] Monaco C,Nanchahal J,Taylor P,et al. Anti-TNF therapy:past,present and future [J]. *Int Immunol*,2015,27(1):55-62. DOI:10.1093/intimm/dxu102.
- [15] 孔令东,王耿. 比伐芦定对 ApoE 基因敲除小鼠动脉粥样硬化的影响 [J]. *中国中医药现代远程教育*,2018,16(12):103-105. DOI: 10.3969/j.issn.1672-2779.2018.12.045.
- [16] Chistiakov DA,Melnichenko AA,Myasoedova VA,et al. Mechanisms of foam cell formation in atherosclerosis [J]. *J Mol Med (Berl)*,2017,95(11):1153-1165. DOI:10.1007/s00109-017-1575-8.
- [17] Mostafa AM,Hamdy NM,El-Mesallamy HO,et al. Glucagon-like peptide 1(GLP-1)-based therapy upregulates LXR-ABCA1/ABCG1 cascade in adipocytes [J]. *Biochem Biophys Res Commun*,2015,468(4):900-905. DOI:10.1016/j.bbrc.2015.11.054.

(收稿日期:2020-09-08)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.04.009

论著·临床

# 银杏叶提取物联合天麻素注射液对血管源性眩晕患者动脉血流速度、血管内皮功能及溶血磷脂酸、酸性磷脂水平的影响

刘欣, 王晓芳, 吴延佳, 吉智, 慧晶

基金项目: 陕西省卫生健康科研项目(2018C0326)

作者单位: 710038 西安医学院第二附属医院神经内科

通信作者: 吴延佳, E-mail: 442903794@qq.com

**【摘要】目的** 探讨银杏叶提取物联合天麻素注射液对血管源性眩晕患者动脉血流速度、血管内皮功能及溶血磷脂酸(LPA)、酸性磷脂(AP)水平的影响。**方法** 选取2018年6月—2019年6月西安医学院第二附属医院神经内科收治的血管源性眩晕患者104例,按随机数字表法将其分为对照组与观察组,各52例。对照组给予天麻素注射液治疗,观察组给予银杏叶提取物联合天麻素注射液,均治疗2周。观察2组临床疗效,治疗前后动脉血流速度(椎基底动脉、左侧椎动脉、右侧椎动脉血流速度)、血管内皮功能[内皮素-1(ET-1)、一氧化氮(NO)、血管性血友病因子(vWF)、血栓调节蛋白(TM)]及LPA、AP水平,记录不良反应发生情况。**结果** 观察组总有效率高于对照组(90.38% vs. 75.00%,  $\chi^2 = 4.499, P = 0.034$ )。与治疗前比较,2组治疗2周后椎基底动脉、左侧椎动脉、右侧椎动脉血流速度均升高,且观察组高于对照组( $t/P = 9.259/0.000, 8.257/0.000, 10.128/0.000$ )。与治疗前比较,2组治疗2周后ET-1、vWF、TM降低,NO升高,且观察组ET-1、vWF、TM较对照组降低,而NO较对照组升高( $t/P = 5.537/0.000, 9.082/0.000, 7.346/0.000, 3.502/0.000$ )。与治疗前比较,2组治疗2周后LPA、AP降低,且观察组较对照组降低( $t/P = 5.941/0.000, 8.920/0.000$ )。2组不良反应发生率比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。**结论** 银杏叶提取物联合天麻素注射液治疗血管源性眩晕可提高临床疗效,有效改善患者动脉血流速度、血管内皮功能和LPA、AP水平,安全性佳,具有较好的临床应用价值。

**【关键词】** 血管源性眩晕;银杏叶提取物;天麻素注射液;动脉血流速度;血管内皮功能;溶血磷脂酸;酸性磷脂

**【中图分类号】** R441.2 **【文献标识码】** A

**Effects of Ginkgo biloba extract and gastrodin injection on arterial blood flow velocity, vascular endothelial function, lysophosphatidic acid and acid phospholipid levels in patients with vascular vertigo** Liu Xin, Wang Xiaofang, Wu Yanjia, Ji Zhi, Hui Jing. Department of Neurology, The Second Affiliated Hospital of Xi'an Medical College, Shaanxi Province, Xi'an 710038, China

Corresponding author: Wu Yanjia, E-mail: 442903794@qq.com

Funding program: Shaanxi Province Health Scientific Research Program (2018C0326)

**【Abstract】 Objective** To investigate the effect of Ginkgo biloba extract combined with gastrodin injection on arterial blood flow velocity, vascular endothelial function, lysophosphatidic acid (LPA) and acid phospholipid (AP) levels in patients with vascular vertigo. **Methods** 104 patients with vasogenic vertigo admitted to the Second Affiliated Hospital of Xi'an Medical College from June 2018 to June 2019 were selected. The patients were divided into observation group and control group by number table method, 52 cases in each group. The observation group was given Ginkgo biloba extract combined with gastrodin injection, and the control group was given gastrodin injection for 2 weeks. The clinical effect, arterial blood flow velocity [right vertebral artery, left vertebral artery, vertebrobasilar artery blood flow velocity], endothelial function [endothelin-1 (ET-1), nitric oxide (NO), von Willebrand factor (vWF), thrombomodulin (TM)], LPA and AP levels were compared between the two groups. **Results** The total effective rate of the observation group was 90.38%, which was higher than 75.00% of the control group ( $\chi^2 = 4.499, P = 0.034$ ). After 2 weeks of treatment, the blood flow velocity of vertebrobasilar artery, left vertebrobasilar artery and right vertebrobasilar artery of the two groups after treatment were higher than those before treatment, and the observation group was higher than the control group ( $t/P = 9.259/0.000, 8.257/$

0.000, 10.128/0.000)。After 2 weeks of treatment, ET-1, TM and vWF were lower than those before treatment, and NO was higher than those before treatment ( $P < 0.05$ )。After treatment, compared with the control group, ET-1, vWF and TM in the observation group decreased, while NO increased ( $t/P = 5.537/0.000, 9.082/0.000, 7.346/0.000, 3.502/0.000$ )。After treatment, LPA and AP of the two groups were lower than those before treatment, and the observation group was lower than the control group ( $t/P = 5.941/0.000, 8.920/0.000$ )。There was no significant difference in the incidence of adverse reactions between the two groups ( $P > 0.05$ )。 **Conclusion** Ginkgo biloba extract combined with gastrodin injection in the treatment of vascular vertigo can improve the clinical effect, which can effectively improve the arterial blood flow velocity, vascular endothelial function and LPA, AP levels, with good safety, and it has a good clinical application value。

**【Key words】** Vascular vertigo; Ginkgo biloba extract injection; Gastrodin injection; Arterial blood flow velocity; Vascular endothelial function; Lysophosphatidic acid; Acid phospholipid

眩晕是临床常见病,发生率约为 5.0%,女性稍多,年轻人患病率约为 1.8%,老年人则高达 30.0%<sup>[1]</sup>。血管源性眩晕是眩晕的一种重要类型,发生率最高,占各类眩晕 50% 以上<sup>[2]</sup>。目前多认为其发病与脑动脉粥样硬化、椎基底动脉异常、动脉痉挛、血管内皮功能损伤等密切相关<sup>[3]</sup>。溶血磷脂酸(lysophosphatidic acid, LPA)和酸性磷脂(acid phospholipid, AP)是反映动脉粥样硬化等缺血性脑血管疾病病情进展的重要标志物,因此其在血管源性眩晕患者中也可能存在相应的变化。目前西医治疗该病的方案较多,虽可取得一定的疗效,但眩晕症状缓解较慢,而且多为药物联合治疗,存在不同程度的不良反应及禁忌证,费用也较高。中医在治疗眩晕方面历史悠久,疗效突出,逐渐引起临床重视。银杏叶提取物是一种药性温和、不良反应极少的天然药物,在脑血管、心血管及周围循环障碍等疾病治疗中应用较广泛。“银杏叶提取物注射液临床应用中国专家共识(2019)”<sup>[4]</sup>中指出,银杏叶提取物注射液可选择性作用于脑组织血管,增加血流速度。天麻素注射液则具有心脑血管保护作用,既可改善血流动力学、增加心脑血管血流量,又可改善血管内活性物质,具有血管内皮功能保护作用<sup>[5]</sup>。因此本研究通过对比分析,探讨银杏叶提取物联合天麻素注射液对血管源性眩晕患者动脉血流速度、血管内皮功能及 LPA、AP 的影响,报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2018 年 6 月—2019 年 6 月西安医学第二附属医院神经内科收治的血管源性眩晕患者

104 例,将其按随机数字表法分为观察组与对照组,各 52 例。2 组性别、年龄、体质量指数、吸烟率、合并症等基线资料比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),具有可比性,见表 1。本研究经医院伦理委员会批准,患者及家属均知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 纳入标准:(1)符合“眩晕诊治专家共识”(2010 年)<sup>[6]</sup>中血管源性眩晕的诊断标准;(2)经颅多普勒超声(TCD)检查符合流速缓慢型标准;(3)基底动脉流速  $< 50$  cm/s,或单侧椎动脉流速  $< 40$  cm/s;(4)年龄  $> 18$  岁。排除标准:(1)对本次研究相关药物过敏者;(2)酗酒,精神活性物质、药物滥用者或依赖者;(3)合并严重心、肝、肾等重要脏器功能障碍;(4)椎基底动脉系统的短暂性脑缺血发作(transient ischemic attack, TIA)、小脑或脑干的梗死及出血。

1.3 治疗方法 2 组患者均给予降压、营养神经、降血糖、降脂等对症支持治疗,同时给予饮食指导、运动干预。对照组给予天麻素注射液(陕西博森生物制药股份有限公司生产)6 ml 加生理盐水 250 ml,静脉滴注,每天 1 次;观察组在对照组基础上给予银杏叶提取物注射液(悦康药业集团股份有限公司生产)25 ml 加生理盐水 250 ml 治疗,静脉滴注,每天 1 次。2 周为 1 个疗程,2 组均治疗 1 个疗程后进行评价。

1.4 观测指标与方法 (1)动脉血流速度:2 组治疗前后采用日本阿洛卡 SSD-1700 型多普勒超声仪检测 2 组患者右侧椎动脉、左侧椎动脉及椎基底动脉血流速度。(2)血管内皮功能:分别于治疗前与治疗结束后采集肘静脉血 10 ml,3 000 r/min 离心 10 min 后取

表 1 2 组患者一般资料比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	男/女 (例)	年龄 (岁)	体质量指数 (kg/m <sup>2</sup> )	吸烟率 [例(%)]	合并症(例)			
						高血压	糖尿病	高脂血症	冠心病
对照组	52	25/27	55.03 ± 11.35	25.65 ± 1.28	14(26.92)	9	2	12	3
观察组	52	22/30	54.36 ± 11.26	25.94 ± 1.62	15(28.85)	10	3	11	3
$t/\chi^2/U$ 值		0.349	0.302	1.013	0.048			0.277	
$P$ 值		0.554	0.763	0.314	0.827			0.964	

血清分装于 A、B、C 3 管,置于 -20℃ 冰箱待检。取 A 管采用酶联免疫吸附法检测内皮素-1 (endothelin-1, ET-1)、血管性血友病因子 (von Willebrand factor, vWF)、血栓调节蛋白 (thrombomodulin, TM) 水平,严格按照试剂盒 (杭州商瑞生物科技有限公司生产) 说明书进行检测。取 B 管采用硝酸还原酶法检测一氧化氮 (nitric oxide, NO) 水平,严格按照试剂盒 (上海高创化学科技有限公司生产) 说明书进行检测。(3) 酸性磷脂水平:2 组治疗前后取 C 管采用酶联免疫分析法检测 LPA、AP,严格按照试剂盒 (上海心语生物科技有限公司生产) 说明书进行检测。(4) 不良反应、记录治疗 1 个疗程期间的不良反应情况。

1.5 疗效评定标准<sup>[7]</sup> 治疗 1 个疗程后评估临床疗效。痊愈:头晕目眩、恶心呕吐等临床症状完全消失;显效:主要临床症状明显改善,无自身及视物旋转感,能够正常生活和工作;有效:主要临床症状稍缓解,仍然存在轻微的旋转感,可以坚持工作,但生活和工作受到一定影响;无效:症状未缓解,或病情加重。总有效率 = (痊愈 + 显效 + 有效) / 总例数 × 100%。

1.6 统计学方法 采用 SPSS 24.0 软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,比较采用独立样本 *t* 检验;计数资料以频数或率 (%) 表示,比较采用  $\chi^2$  检验;等级资料的比较采用秩和检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 2 组临床疗效比较 观察组治疗后总有效率为 90.38%,高于对照组的 75.00%,2 组比较差异有统计学意义 (*P* < 0.05),见表 2。

表 2 2 组患者临床疗效比较 [例 (%)]

组别	例数	痊愈	显效	有效	无效	总有效率 (%)
观察组	52	10(19.23)	28(53.85)	9(17.31)	5(9.62)	90.38
对照组	52	3(5.77)	25(48.08)	11(21.15)	13(25.00)	75.00
<i>U</i> / $\chi^2$ 值			<i>U</i> = 4.315			$\chi^2$ = 4.499
<i>P</i> 值			0.036			0.034

2.2 2 组治疗前后动脉血流速度比较 治疗后 2 组椎基底动脉、左侧椎动脉、右侧椎动脉血流速度均高于治疗前,且观察组高于对照组 (*P* < 0.01),见表 3。

表 3 2 组患者治疗前后动脉血流速度比较 ( $\bar{x} \pm s, \text{cm/s}$ )

组别	时间	椎基底动脉	左侧椎动脉	右侧椎动脉
对照组	治疗前	27.06 ± 2.17	26.89 ± 2.75	26.47 ± 2.71
( <i>n</i> = 52)	治疗后	36.98 ± 2.85	36.17 ± 2.87	35.25 ± 2.90
观察组	治疗前	27.10 ± 2.85	26.92 ± 2.71	26.35 ± 2.76
( <i>n</i> = 52)	治疗后	42.25 ± 2.96	40.85 ± 2.91	41.06 ± 2.95
<i>t/P</i> 对照组内值		19.970/0.000	16.836/0.000	15.951/0.000
<i>t/P</i> 观察组内值		26.587/0.000	24.662/0.000	26.257/0.000
<i>t/P</i> 治疗后组间值		9.259/0.000	8.257/0.000	10.128/0.000

2.3 2 组治疗前后血管内皮功能比较 治疗后 2 组 ET-1、vWF、TM 低于治疗前,NO 高于治疗前,差异有统计学意义 (*P* < 0.01)。治疗后观察组 ET-1、vWF、TM 低于对照组,NO 高于对照组 (*P* < 0.01),见表 4。

2.4 2 组治疗前后溶血磷脂酸、酸性磷脂水平比较 2 组治疗后 LPA、AP 均低于治疗前,且观察组低于对照组 (*P* < 0.01),见表 5。

表 5 2 组患者治疗前后 LPA、AP 水平比较 ( $\bar{x} \pm s, \mu\text{mol/L}$ )

组别	时间	LPA	AP
对照组	治疗前	9.35 ± 1.62	9.45 ± 1.29
( <i>n</i> = 52)	治疗后	1.86 ± 0.65	2.24 ± 0.35
观察组	治疗前	10.12 ± 1.75	9.57 ± 1.34
( <i>n</i> = 52)	治疗后	1.12 ± 0.62	1.61 ± 0.37
<i>t/P</i> 对照组内值		30.942/0.000	38.898/0.000
<i>t/P</i> 观察组内值		34.957/0.000	41.291/0.000
<i>t/P</i> 治疗后组间值		5.941/0.000	8.920/0.000

2.5 2 组不良反应发生情况比较 治疗期间,对照组出现口鼻干燥 1 例,恶心、呕吐症状 2 例。观察组出现恶心、呕吐症状 3 例,轻微皮疹反应 1 例。2 组患者不良反应症状均轻微,不影响治疗。2 组不良反应发生率比较差异无统计学意义 (5.77% vs. 7.69%,  $\chi^2$  = 0.153, *P* = 0.696)。

表 4 2 组患者治疗前后血管内皮功能比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	时间	ET-1 (ng/L)	NO (mg/dl)	vWF (U/ml)	TM ( $\mu\text{g/L}$ )
对照组	治疗前	112.36 ± 11.57	24.06 ± 3.87	1.47 ± 0.16	1.91 ± 0.32
( <i>n</i> = 52)	治疗后	87.53 ± 8.26	35.16 ± 5.65	1.19 ± 0.13	1.42 ± 0.16
观察组	治疗前	112.05 ± 10.35	23.97 ± 2.76	1.49 ± 0.18	1.90 ± 0.31
( <i>n</i> = 52)	治疗后	78.62 ± 8.15	39.42 ± 6.71	0.94 ± 0.15	1.21 ± 0.13
<i>t/P</i> 对照组内值		12.595/0.000	11.688/0.000	9.794/0.000	9.876/0.000
<i>t/P</i> 观察组内值		18.299/0.000	15.356/0.000	16.927/0.000	14.802/0.000
<i>t/P</i> 治疗后组间值		5.537/0.000	3.502/0.000	9.082/0.000	7.346/0.000

### 3 讨论

血管源性眩晕是中老年人眩晕的常见疾病,主要临床症状为出现眩晕、视物旋转、平衡障碍等。随着人口老龄化,我国血管源性眩晕发病率逐渐呈上升趋势,已严重影响人们生活质量<sup>[8]</sup>。血管源性眩晕主要是由血管病变引起的前庭系统血供不足,导致前庭系统功能障碍诱发大脑皮质产生的一种病理感受<sup>[9]</sup>。目前临床尚未完全了解血管源性眩晕的具体发病机制,但普遍认为,椎基底动脉系统血管病变是导致血管源性眩晕的主要原因<sup>[10]</sup>,因此临床认为治疗血管源性眩晕的关键在于纠正椎基底动脉供血不足。另外,血管源性眩晕患者内皮功能受到强烈刺激,导致血管舒张功能与收缩功能失去平衡,引起脑动脉粥样硬化、血管狭窄等多种病理反应,最终影响脑部血液循环,进一步加重血管源性眩晕<sup>[11]</sup>,故探讨血管源性眩晕患者内皮功能变化也是临床研究的要点。常规西医治疗效果尚可,但有一定不良反应。临床研究发现,中医药治疗血管源性眩晕具有一定优势,逐渐引起临床关注。

本研究结果显示,2 组治疗后动脉血流速度均有一定改善,但观察组总有效率及椎基底动脉、左侧椎动脉、右侧椎动脉血流速度均高于对照组,表明联合治疗可进一步提高临床疗效,提高动脉血流速度。本研究中,对照组采取天麻注射液治疗,其主要成分天麻素是天麻的提取物,具有保护镇静、保护脑细胞、改善神经血供等药理功效<sup>[12]</sup>。天麻素注射液为单体制剂,主要成分为 4-羟甲基苯-β-D 吡喃葡萄糖苷,其在机体内可分解为羟基苯甲醇,并进入血脑屏障,与 γ-氨基丁酸、苯二氮草等相应受体结合而发挥治疗效果,这种通道受体复合物具有中枢抑制效应,可抑制神经冲动向前庭外侧多突触神经元传导<sup>[13]</sup>,因此具有抗眩晕作用。银杏叶提取物注射液主要有效成分为银杏黄酮类化合物与银杏内酯类化合物<sup>[14-16]</sup>,可选择性地作用于脑组织血管,通过抑制血小板聚集、减少血管阻力来增加脑组织供血供氧,加速脑组织血管血液流动性,提高椎基底动脉血流速度,改善脑组织微循环,进而有效保障脑组织养分供给<sup>[17-18]</sup>,进一步提高临床疗效。

血管内皮细胞位于血管内壁,具有调节血管舒缩与调控血液流动的作用。在正常生理条件下,内皮细胞还可释放出 ET-1、NO 等各种信号因子,这些血管收缩因子与血管舒张因子相互拮抗,处于动态平衡中,可通过维持血管舒缩力来保障脑部血液供应。然而,在病理状况下,血管舒张功能与收缩功能失去平衡,可能造成动脉粥样硬化形成、血管狭窄等病理反应。而脑动脉粥样硬化形成最终将影响脑部血管的血液循环,

导致血管源性眩晕的发生<sup>[19]</sup>。本研究表明,采取天麻注射液治疗可改善血管源性眩晕患者血管内皮功能,但联合应用银杏叶提取物注射液患者 ET-1、vWF、TM 低于单一应用天麻素注射液患者,NO 高于单一应用天麻素注射液患者,表明银杏叶提取物联合天麻素注射液应用患者改善血管内皮功能效果更佳。内皮细胞可合成与释放多种血管活性物质,如 ET-1、NO,其中 ET-1 是一种强效的血管收缩因子,NO 是一种强效的血管舒张因子,二者相互拮抗,可参与机体血管功能的调节<sup>[20]</sup>。vWF 主要存在于内皮细胞中,但当血管内皮细胞受损,vWF 结构会发生变化,合成水平明显升高,并大量释放入血,因此 vWF 水平升高可作为血管内皮功能受损的标志物<sup>[21]</sup>。TM 则是另一种血管内皮细胞特异性表达的分子,具有抗凝活性,当血管内皮受损时,受损内皮细胞可释放 TM,现已成为血管内皮损伤的常用血浆标志物<sup>[22]</sup>。现代药理研究还显示,天麻注射液中的天麻素具有扩张血管作用,可提高椎基底动脉血流速度,增加供血效果,进而改善眩晕<sup>[23]</sup>。银杏叶提取物中银杏黄酮类化合物与银杏内酯类化合物具有抗脂质过氧化作用,还可清除氧自由基,具有保护血管内皮细胞的作用,可降低 ET-1,升高 NO,维持 ET-1/NO 平衡,改善 vWF、TM 水平,产生舒张动脉作用,有利于改善脑部血管血液循环,改善眩晕症状。2 种药物联合应用具有协同作用,可有效改善患者血管内皮功能,促进血管舒张。张国辉等<sup>[24]</sup>研究也显示,银杏叶提取物可改善血管内皮功能,提高椎动脉血流速度,改善眩晕症状。

血液中 LPA 主要来源于激活的血小板,具有促血管平滑肌增生、促成纤维细胞增殖等生物学功能,可参与血栓形成<sup>[25]</sup>。还有研究显示,LPA 是致动脉粥样硬化斑块形成和脱落的一个介导因子,是多种缺血性脑血管疾病的独立致病因子<sup>[26]</sup>。AP 是缺血性脑损伤的敏感信号,也是反映缺血性脑血管疾病的标志物之一,在血栓形成中亦有重要作用<sup>[27]</sup>。血管源性眩晕也是一种缺血性脑血管疾病,因此,了解此类患者 LPA、AP 水平变化对疾病治疗效果、病情发展判断具有一定意义。本研究结果显示,治疗后观察组 LPA、AP 低于对照组,提示联合用药有利于防止病情进展。银杏叶提取物注射液具有改善凝血功能的作用,可抑制血栓形成,促进血栓部位血管修复,进而可改善 LPA、AP 水平,预测血管源性眩晕患者血栓形成及疾病进展,对临床治疗有重要意义。此外 2 组患者不良反应发生率均较低且较轻微,提示用药方案的安全性值得肯定。

综上所述,相较于天麻素注射液单药治疗而言,银



银杏提取物联合天麻素注射液治疗血管源性眩晕疗效得到较为明显的提高,有效改善患者动脉血流速度、血管内皮功能及 LPA、AP 水平,同时不良反应轻微,用药方案良好,但鉴于本研究开展时间尚短,样本量小,尚未对银杏叶提取物的最优用药剂量进行探讨,在今后的研究中,会进一步增加样本量,精细分组并对以上不足之处进行改进。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

刘欣:实施研究过程,论文撰写,论文修改;王晓芳、吉智:病例资料搜集整理;吴廷佳:设计研究思路,分析试验数据,论文审核;慧晶:数据处理及统计学分析

**参考文献**

[1] 单希征,石丽亚,王恩彤,等. 6 056 例住院眩晕病例的临床流行病学分析[J]. 北京医学, 2019, 41(1):46-51. DOI:10.15932/j.0253-9713.2019.01.013.

[2] 施建锋.天麻素联合前列地尔治疗血管性眩晕 40 例临床观察[J]. 中国社区医师, 2017, 33(31):56-57. DOI: 10.3969/j.issn.1007-614x.2017.31.33.

[3] 朱翠婷,鞠奕. 脑血管疾病与眩晕或头晕[J]. 中国卒中杂志, 2018, 13(3):284-288. DOI:10.3969/j.issn.1673-5765.2018.03.019.

[4] 北京脑血管病防治协会,银杏叶提取物注射液临床应用专家共识写作组.银杏叶提取物注射液临床应用中国专家共识(2019)[J].中华老年医学杂志, 2019, 38(11):1198-1204.DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-9026.2019.11.002.

[5] 刘天琪. 天麻素注射液联合长春西汀注射液治疗急性眩晕的临床观察[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2018, 16(8):1137-1138. DOI:10.12102/j.issn.1672-1349.2018.08.044.

[6] 中华医学会神经病学分会,中华神经科杂志编辑委员会. 眩晕诊治专家共识[J]. 中华神经科杂志, 2010, 43(5):369-374. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-7876.2010.05.016.

[7] 国家中医药管理局. 中药新药临床研究指导原则(第一辑)[S]. 北京:人民卫生出版社,1993:24

[8] 毕闻远,王寒松,程玉婷,等. 中青年与老年急性眩晕发作病因分布与治疗分析[J]. 检验医学与临床, 2017, 14(18):2796-2798. DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2017.18.057.

[9] 张耀元,王立坤,常青,等. 血管性眩晕患者血清 Ne-羧甲基赖氨酸、氧化低密度脂蛋白水平变化及其意义[J]. 山东医药, 2018,58(27):54-57.DOI:10.3969/j.issn.1002-266X.2018.27.014.

[10] 张小莉,钱晓云,陈红,等. 视频眼震检查在主诉非典型性眩晕患者中的临床应用价值[J]. 现代生物医学进展, 2018, 18(24):4661-4664. DOI:10.13241/j.cnki.pmb.2018.24.012.

[11] 郝贵生. 丁苯酞对老年中枢性眩晕病人血管内皮功能的影响及疗效分析[J]. 实用老年医学, 2019, 33(5):507-510. DOI: 10.3969/j.issn.1003-9198.2019.05.026.

[12] 李云,王志伟,耿岩玲,等. 天麻素注射液的药理机制及临床应用研究进展[J]. 中国药房, 2016, 27(32):4602-4604. DOI: 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.32.46.

[13] 田丽,杨柳,裴继艳,等. 高压氧联合天麻素及甲钴胺治疗糖尿病周围神经病变的临床观察[J]. 疑难病杂志, 2014, 13(12):

1244-1246. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2014.12.010.

[14] 宫玉霞,张德龙,王世锋,等.银杏叶片联合阿托伐他汀对冠心病伴代谢综合征患者血清 BPA、ADMA、visfatin 水平及 TLR4/NF-κB 信号通路的影响[J].疑难病杂志,2021,20(1):7-12.DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2021.01.002.

[15] 李福军,陈可,马海玲,等.依达拉奉联合银杏二萜内酯对老年急性脑梗死患者的影响[J].实用心脑血管病杂志,2019,27(2):93-96.DOI:10.3969/j.issn.1008-5971.2019.02.022.

[16] 闫振文,郑眉光,李梅.脑苷肌肽注射液联合银杏达莫注射液治疗急性脑梗死的效果及对患者炎症反应和高凝状态的影响[J].中国医药,2020,15(9):1390-1393. DOI: 10.3760/j.issn.1673-4777.2020.09.015.

[17] 王淑静,袁天宇,张家宁. 银杏叶提取物及其活性成分改善认知功能作用的研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(10):1819-1824. DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.10.027.

[18] 文科,侯楠,王铁,等.丹参酮 II A 磺酸钠联合马来酸桂哌齐特对突发性耳聋患者血液流变学、免疫功能及内耳微循环的影响[J]. 疑难病杂志,2020,19(11):1138-1142. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.11.013.

[19] Tehrani ASS, Kattah JC, Kerber KA, et al. Diagnosing stroke in acute dizziness and vertigo: Pitfalls and Pearls[J]. Stroke, 2018, 49(3):788-795. DOI:10.1161/STROKEAHA.117.016979.

[20] 李广运. 培哚普利联合瑞舒伐他汀治疗冠心病的疗效及对血管内皮功能与血小板活化功能的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2018, 16(1):70-73. DOI:10.3969/j.issn.1672-1349.2018.01.018.

[21] 陈子文,肖荷芳,刘传渊,等. 内皮细胞损伤因子 ET-1、TM、vWF 表达水平与腹腔镜二氧化碳气腹时间的相关性[J]. 广东医学, 2019, 40(13):1974-1976. DOI:10.13820/j.cnki.gdyx.20190715.

[22] 赵俊丽,邵霞,朱君君,等. 血液透析患者血浆血栓调节蛋白水平与炎症因子及颈动脉粥样硬化的关系[J]. 中国血液净化, 2018, 17(2):88-92. DOI:10.3969/j.issn.1671-4091.2018.02.004.

[23] 牛琦云,郭振鑫. 针灸联合天麻素注射液对后循环缺血性眩晕病人血液流变学及日常生活能力的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2019, 17(9):1312-1314. DOI:10.12102/j.issn.1672-1349.2019.09.008.

[24] 张国辉,杜雪峰,陈晓丽,等. 银杏叶提取物联合前列地尔治疗对血管源性眩晕患者血清氧化应激和炎症因子的影响[J]. 世界中西医结合杂志, 2018, 13(10):1423-1426. DOI:10.13935/j.cnki.sjzx.181025.

[25] 张杰,李易易,张兆辉. 溶血磷脂酸及其受体对中枢神经系统疾病影响的研究进展[J]. 卒中与神经疾病, 2019, 26(1):118-121, 126. DOI:10.3969/j.issn.1007-0478.2019.01.031.

[26] 张建平,李亚峰,郭庚. 溶血磷脂酸在动脉粥样硬化病变中的作用[J]. 中国卒中杂志, 2018, 13(12):1277-1281. DOI:10.3969/j.issn.1673-5765.2018.12.009.

[27] 戚建巨,郎明霞.前列地尔联合苦碟子注射液治疗后循环缺血性眩晕的临床疗效及其对溶血磷脂酸、酸性磷脂水平的影响[J]. 中国基层医药,2018,25(21):2800-2803. DOI:10.3760/cma.j.issn.1008-6706.2018.21.020.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.04.010

论著·临床

# 复发型吉兰—巴雷综合征临床特征及其复发预测因子分析

陈雪婷, 郑惠文, 张琪, 刘洁, 张作慧, 刘永海

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81501095)

作者单位: 221002 徐州医科大学附属医院神经内科

通信作者: 刘永海, E-mail: yhliu9968@126.com

**【摘要】目的** 分析复发型吉兰—巴雷综合征(rGBS)患者的临床特征及炎性因子与 GBS 复发的相关性。**方法** 选取 2015 年 1 月—2020 年 6 月徐州医科大学附属医院神经内科收治 GBS 患者 183 例,根据其是否复发分为复发组( $n=11$ )和未复发组( $n=172$ ),比较 2 组患者临床特征、血清和脑脊液炎性因子。Logistic 回归分析 GBS 复发的独立危险因素,ROC 曲线分析炎性标志物对 GBC 复发的预测价值。**结果** GBS 复发率为 6.0% (11/183)。与未复发组比较,复发组首发年龄较低,症状达峰时间较短,肢体无力和自主神经功能障碍比例、疾病高峰期 Hughes 评分较低,脱髓鞘型比例较高,差异均有统计学意义( $t/\chi^2/P=2.488/0.028, 2.853/0.021, 4.329/0.037, 3.908/0.047, 2.320/0.029, 8.440/0.015$ );而性别、感觉障碍、颅神经麻痹、机械通气比例,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。与未复发组比较,复发组血清 NLR、IL-8 升高,LY 和 IL-13 降低( $t/Z/P=2.633/0.008, 2.019/0.045, 1.812/0.035, 2.573/0.011$ )。多因素 Logistic 回归分析表明,高 NLR 为 GBS 复发的独立危险因素[ $OR(95\% CI)=1.363(1.027\sim 1.808)$ ],高 IL-13 为其保护因素[ $OR(95\% CI)=0.867(0.780\sim 0.963)$ ]。NLR 联合 IL-13 预测 GBS 复发 ROC 曲线面积为 0.818 (95%  $CI$  0.684~0.942),敏感度为 73.3%,特异度为 82.5%,约登指数为 0.56。**结论** 对于首次发作的 GBS 患者,高 NLR、低 IL-13 者复发风险高;NLR 和 IL-13 可作为预测复发的指标,二者联合预测价值更高。

**【关键词】** 吉兰—巴雷综合征;复发;临床特点;中性粒细胞/淋巴细胞比值;白介素

**【中图分类号】** R735.4<sup>+</sup>3

**【文献标识码】** A

**Clinical characteristics and prognostic biomarker of recurrent Guillain-Barré syndrome.** Chen Xueting, Zheng Huiwen, Zhang Qi, Liu Jie, Zhang Zuohui, Liu Yonghai. Department of Neurology, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Jiangsu Province, Xuzhou 221002, China

Corresponding author: Liu Yonghai, E-mail: yhliu9968@126.com

Funding program: National Natural Science Foundation of China(81501095)

**【Abstract】 Objective** To analyze the clinical characteristics of recurrent Guillain-Barré syndrome (rGBS) and the relationship between inflammatory factors with rGBS in order to guide clinical diagnosis and treatment. **Methods** A study was conducted on 183 patients who developed Guillain-Barré syndrome between January 2015 to June 2020 in the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University; Patients were divided into recurrent group and non-recurrent group based on the number of episodes. Then the sex, age of onset, clinical manifestations, the level of inflammatory factors in serum and cerebrospinal fluid of all enrolled patients were summarized. **Results** The estimated crude morbidity of rGBS was 6.0% (11/183). Compared with non-recurrent group, recurrent group had younger onset, shorter interval between the initial manifestations to peak, lower proportion of symmetrical weakness and autonomic dysfunction, lower Hughes score in the peak period and higher proportion of demyelinating type ( $t/\chi^2/P=2.488/0.028, 2.853/0.021, 4.329/0.037, 3.908/0.047, 2.320/0.029, 8.440/0.015$ ). But there was no statistically significant difference in sex, sensory disturbances, cranial nerve palsy, mechanical ventilation between the two groups ( $P>0.05$ ). Compared with non-recurrent group, NLR and the level of IL-8 in recurrent group was higher, LY and the level of IL-13 was lower ( $t/Z/P=2.633/0.008, 2.019/0.045, 1.812/0.035, 2.573/0.011$ ); Logistic regression analysis showed high NLR was independent risk factors predicting GBS recurrence [ $OR(95\% CI)=1.363(1.027\sim 1.808)$ ]. While high IL-13 level was protective factors of GBS recurrence [ $OR(95\% CI)=0.867(0.780\sim 0.963)$ ]. The area under ROC curve for the NLR combining IL-13 to predict GBS recurrence was 0.818 (95%  $CI$ : 0.684~0.942), with a sensitivity of 73.3%, a specificity of 82.5% and Youden index of 0.56. **Conclusion**



The higher risk of recurrence may be considered in GBS patients with high NLR and low IL-13 level. NLR and IL-13 may be used as a marker to predict GBS recurrence, which combined is more reliable for predicting GBS recurrence.

**[Key words]** Guillain-Barré syndrome; Recurrent; Clinical features; Neutrophil-to-lymphocyte ratio; Interleukin

吉兰—巴雷综合征 (Guillain-Barré syndrome, GBS) 是一种自身免疫介导的主要累及脊神经根、周围神经和脑神经的急性周围神经病, 是目前全球迟缓性瘫痪最常见的病因<sup>[1]</sup>。GBS 多呈急性单相病程, 恢复过程中症状可有短暂波动, 极少复发, 既往文献报道显示 1.0% ~ 7.7% 的 GBS 患者会复发, 其变异型 Miller Fisher 综合征的复发率更高, 可达 12%<sup>[2-4]</sup>。复发型吉兰—巴雷综合征 (recurrent Guillain-Barré syndrome, rGBS) 与吉兰—巴雷综合征治疗相关波动和慢性吉兰—巴雷综合征急性发作均表现为反复发作的弛缓性瘫痪, 临床上难以区分, 但三者的治疗方式却有所不同, 相比于 rGBS, 吉兰—巴雷综合征治疗相关波动的患者往往需要更长疗程的静脉注射免疫球蛋白治疗, 慢性吉兰—巴雷综合征急性发作的患者一般首选激素类药物<sup>[5-6]</sup>, 因此早期做出正确的诊断对治疗有重要的指导意义。此外, 随着 rGBS 复发次数的增加, 疾病严重程度和残疾程度都有增加趋势<sup>[7]</sup>, 许多患者因延误治疗遗留明显后遗症, 给社会和家庭带来沉重的负担。因此, 归纳 rGBS 患者的临床特征及分析其复发的预测因子有重大的临床意义。既往文献报道显示<sup>[1]</sup>, 炎性因子在 GBS 发病过程中起着重要作用, 其是否促进 GBS 复发尚无系统研究, 现归纳 rGBS 患者的临床特征, 分析外周血和脑脊液中炎性因子与 GBS 复发的相关性, 为疾病的诊疗和早期干预提供参考, 报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 病例来源 选取 2015 年 1 月—2020 年 6 月徐州医科大学附属医院神经内科收治 GBS 患者 183 例, 其中 rGBS 患者 11 例 (复发组), 单相病程 GBS 患者 172 例 (未复发组)。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准: 符合 GBS 诊治指南的诊断标准<sup>[7-8]</sup>。rGBS 定义为<sup>[2-4]</sup>: ①至少 2 次发作的肢体对称性弛缓性瘫痪伴腱反射减弱或消失, 每一次发作均符合 GBS 的诊断标准; ②每次发作到症状达峰时间 < 4 周, 且在恢复过程中 Hughes 评分改善 > 2 分或基本恢复正常; ③每次发作间隔至少 2 个月。(2) 排除标准: ①吉兰—巴雷综合征治疗相关波动和慢性吉兰—巴雷综合征急性发作; ②患者有其他引起周围神经病的相关病史; ③发病前使用神经节苷脂; ④存在神经肌肉接头病变, 神经前角病变或肌肉病变。

## 1.3 观测指标与方法

1.3.1 临床资料收集: 包括患者性别、年龄等一般资料; 详细记录患者的临床特征, 包括前驱事件类型、潜伏期、达峰时间、临床症状和体征 (运动症状、感觉症状、颅神经麻痹、自主神经功能障碍、呼吸困难、机械通气等)。

1.3.2 血液学指标检测: 患者均于入院后第 1 ~ 3 天留取外周血约 10 ml, 采用上海希森美康医用电子有限公司 5 分类全自动血球仪及配套试剂 (EDTA-K2) 测定血常规 (包括白细胞、中性粒细胞和淋巴细胞); 采用 ELISA 法检测血清 T 细胞因子水平 (包括白介素-8、白介素-12、白介素-13 和肿瘤坏死因子- $\alpha$ ), 仪器为美国伯乐公司 Model 型酶标仪, 试剂盒由美国 RD 公司提供。

1.3.3 脑脊液检查: 患者均于发病 7 ~ 10 d 行腰椎穿刺术, 留取脑脊液约 5 ml, 采用奥林巴斯 BX-51 型显微镜及图文分析系统完成脑脊液白细胞检测, 使用瑞士罗氏诊断公司 Cobas 8000 分析仪, 采用免疫散射比浊法测定脑脊液蛋白含量。

1.3.4 肌电图检查: 所有患者均于发病第 7 ~ 10 d 行肌电图检查, 患者平卧于检查床上, 保持皮肤温度 > 32℃, 采用丹麦 Medtronic 公司 Keypoint 肌电图仪进行电生理检测。记录其常规测定的 4 条运动神经和 3 条感觉神经的神经电生理指标: MNCV、DL、CMAP、SNCV、SNAP 等, 并参考 Hadden 等的相关研究定义为 5 型: 脱髓鞘型 (AIDP)、轴索型 (AMAN + AMSAN)、分型不明、无反应型、正常<sup>[9]</sup>。其中, 脱髓鞘型主要表现为 MNCV 减慢、DL 延长, 严重时出现传导阻滞, CMAP 波幅相对正常; 轴索型主要表现为 CMAP、SNAP 波幅下降, DL、MNCV、SNCV 相对正常。

1.3.5 疾病严重程度评估: 参考 Hughes 评分<sup>[10]</sup>对患者进行评估, 该评分根据患者运动情况进行相关功能评估, 是目前公认的评价病情严重程度及残疾程度的量表; 0 分: 健康状态; 1 分: 症状轻微, 可以跑步; 2 分: 不能跑步, 在平地上无需帮助可行走 10 m 以上; 3 分: 在帮助下, 平地上可行走 10 m; 4 分: 被动卧床或需要做轮椅; 5 分: 呼吸肌无力, 需要机械通气; 6 分: 死亡。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 21.0 统计软件进行分析。服从正态分布的计量资料以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 组间比较采用独立样本 *t* 检验; 不服从正态分布的计量资料

以  $M(Q_1, Q_3)$  表示, 组间比较采用 Mann-Whitney  $U$  检验; 计数资料以频数或率 (%) 表示, 组间比较采用  $\chi^2$  检验; 采用 Logistic 回归模型分析 GBS 复发的危险因素; 利用 ROC 曲线评价 NLR、IL-13 及联合检测对 GBS 复发的预测作用。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 GBS 复发率** 183 例 GBS 患者中, rGBS 患者 11 例(6.0%), 单相病程的 GBS 患者 172 例。GBS 患者 183 例中, 20 例因症状轻微、神经电生理特征不典型未被分型, 最终被确诊为 Miller-Fisher 综合征 (MFS) 13 例, 复发 2 例(15.4%); 轴索型 97 例, 复发 2 例(2.1%); 脱髓鞘型 53 例, 复发 7 例(13.2%)。

**2.2 2 组临床特点比较** 与未复发组 GBS 患者比较, 复发组患者首发年龄较低, 症状达峰时间较短, 肢体无力和自主神经功能障碍比例、疾病高峰期 Hughes 评分较低, 脱髓鞘型比例较高, 轴索型比例较低 ( $P < 0.05$ ); 而 2 组在性别、感觉障碍、颅神经麻痹、机械通气比例比较差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见表 1。

表 1 2 组患者临床特点比较 [例(%),  $\bar{x} \pm s$ ]

项目	复发组 (n=11)	未复发组 (n=172)	$\chi^2/t$ 值	P 值
性别(男)	8(72.7)	107(62.2)	0.143	0.705
年龄(岁)	40.64 ± 15.89	53.14 ± 19.81	2.488	0.028
肢体无力	8(72.7)	162(94.2)	4.329	0.037
感觉障碍	8(72.7)	84(48.8)	1.501	0.220
颅神经麻痹	5(45.5)	77(44.8)	0.002	0.965
自主神经功能障碍	0	46(26.7)	3.908	0.047
机械通气	2(18.2)	23(13.4)	0.203	0.652
病情达峰时间(天)	6.00 ± 1.73	8.53 ± 3.25	2.853	0.021
高峰期 Hughes 评分(分)	3.18 ± 1.08	4.14 ± 3.33	2.320	0.029
电生理分型			8.440	0.015
脱髓鞘型(AIDP)	7(63.6)	46(26.8)		
轴索型(AMAN + AMSAN)	2(18.2)	95(55.2)		
MFS	2(18.2)	11(6.4)		
未分型	0	20(11.6)		

**2.3 2 组血清和脑脊液炎性标志物比较** 与未复发组患者比较, 复发组患者首次发病时外周血中性粒细胞/淋巴细胞比值(NLR)、血清白介素-8(IL-8)升高, 淋巴细胞计数(LY)和 IL-13 降低( $P < 0.05$ ); 而 2 组在白细胞(WBC)、中性粒细胞计数(NE)、IL-12、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )及脑脊液 WBC、蛋白水平比较差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ), 见表 2。

**2.4 rGBS 危险因素分析** 将单因素分析中差异有统计学意义的指标纳入多因素 Logistic 回归分析, 由于肢体无力、自主神经功能障碍、达峰时间与 Hughes 评

分存在多重共线性问题, 只选择 Hughes 评分纳入回归方程。由于 NLR 与淋巴细胞计数存在多重共线性问题, 所以二者只选择 NLR 纳入回归方程。结果显示, 高 NLR 为 GBS 复发的独立危险因素, 高 IL-13 为其保护因素, 见表 3。

表 2 2 组外周血和脑脊液炎性标志物比较 [ $M(Q_1, Q_3)$ , ( $\bar{x} \pm s$ )]

项目	复发组 (n=11)	未复发组 (n=172)	Z/t 值	P 值
血液				
WBC( $\times 10^9/L$ )	6.4(4.5, 9.1)	5.8(3.7, 8.2)	0.806	0.211
NE( $\times 10^9/L$ )	4.1(2.6, 7.3)	3.8(2.1, 6.9)	0.331	0.375
LY( $\times 10^9/L$ )	0.9(0.6, 1.3)	1.1(0.8, 1.7)	1.812	0.035
NLR	5.2(4.1, 7.0)	3.7(2.5, 5.4)	2.633	0.008
IL-8(pg/ml)	16.82 ± 6.41	12.38 ± 8.30	2.019	0.045
IL-12(pg/ml)	2.57 ± 0.71	3.09 ± 0.65	0.736	0.465
IL-13(pg/ml)	34.76 ± 8.28	39.49 ± 6.68	2.573	0.011
TNF- $\alpha$ (pg/ml)	13.89 ± 2.02	11.41 ± 1.89	0.980	0.332
脑脊液				
WBC( $\times 10^6/L$ )	4.27 ± 2.12	3.11 ± 1.43	0.854	0.241
蛋白(g/L)	0.78 ± 0.73	0.97 ± 0.82	0.548	0.822

表 3 GBS 复发的多因素 Logistic 回归分析

因素	$\beta$ 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
年龄	-0.035	0.023	2.287	0.130	0.965	0.922 ~ 1.010
高 Hughes 评分	-0.085	0.300	0.081	0.776	0.918	0.510 ~ 1.652
电生理分型						
轴索型	(参考)	—	—	0.703	—	—
脱髓鞘型	0.450	0.867	0.270	0.603	1.569	0.287 ~ 8.576
MFS	0.948	1.130	0.704	0.402	2.581	0.282 ~ 23.670
高 NLR	0.310	0.144	4.613	0.032	1.363	1.027 ~ 1.808
高 IL-8	0.071	0.042	2.881	0.090	1.074	0.989 ~ 1.165
高 IL-13	-0.143	0.054	7.089	0.008	0.867	0.780 ~ 0.963

**2.5 炎性标志物对 rGBS 的预测价值** ROC 曲线结果显示, NLR 预测 GBS 复发的截断值为 4.09, 对应的曲线下面积为 0.705(95% CI 0.587 ~ 0.821), 敏感度为 80.0%, 特异度为 62.7%; IL-13 预测 GBS 复发的截断值为 36.5 pg/ml, 对应的曲线下面积为 0.725(95% CI 0.570 ~ 0.879), 敏感度和特异度分别为 72.4% 和 70.3%。NLR 联合 IL-13 预测 GBS 复发对应的曲线下面积为 0.818(95% CI 0.684 ~ 0.942), 敏感度为 73.3%, 特异度为 82.5%, 见表 4、图 1。

表 4 NLR、IL-13 及联合检测对 GBS 复发的预测价值

指标	Cut-off 值	AUC	敏感度	特异度	Youden 指数
NLR	4.09	0.705	80.0%	62.7%	0.43
IL-13(pg/ml)	36.50	0.725	72.4%	70.3%	0.43
NLR + IL-13	—	0.818	73.3%	82.5%	0.56

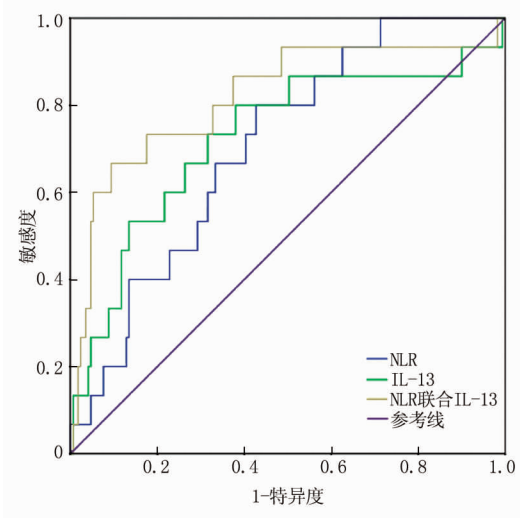


图 1 NLR、IL-13 及联合检测对 GBS 复发的预测价值 ROC 曲线

### 3 讨论

GBS 是一种体液免疫和细胞免疫共同介导的主要累及脊神经根、周围神经和脑神经的急性周围神经病，多为单项病程，极少复发，本研究中复发率为 6.0%，与既往文献报道一致。其中脱髓鞘型和 Miller-Fisher 综合征的复发率相对较高，表明 AIDP 和 MFS 患者具有较高的复发易感性。脱髓鞘型复发率高可能与 Fas 受体功能缺陷有关，该受体由活化的 T 淋巴细胞表达，通过介导 T 淋巴细胞凋亡消除自身免疫性 T 细胞而抑制免疫应答<sup>[11]</sup>。Fas 受体功能缺陷时 T 细胞调节障碍导致脱髓鞘的发生，而在轴索型 GBS 中，抗神经节苷酯抗体起主要作用<sup>[1,12]</sup>。Fas 功能缺陷或 T 细胞调节过程中其他功能障碍有助于解释脱髓鞘型比轴索型更频繁地复发。而与 Miller-Fisher 综合征复发相关的促发因素尚不清楚，鲁立颖等<sup>[13]</sup>观察到 HLA-DR2 在复发型 MFS 患者血清中出现频率较高，提示 HLA-DR2 可能与复发型 MFS 有关。Ayas 等<sup>[14]</sup>报道了 1 例 8 年内 3 次复发的 MFS 病例，该患者 GQ1b 抗体阳性，提示 GQ1b 抗体可能为 MFS 复发的危险因素。本研究受技术条件限制，未检测 HLA-DR2 和 GQ1b 抗体，二者是否与 MFS 的复发有关，尚需进一步基础实验证实。

通常认为 GBS 是由感染或其他免疫刺激引起的针对周围神经及脊神经根的异常免疫反应，微生物与神经抗原之间的分子模拟机制目前被认为是导致 GBS 发病的主要机制之一，随着空肠弯曲菌外膜上的脂寡糖与人体周围神经轴突的神经节苷脂存在着分子模拟

的揭示<sup>[15-17]</sup>，这一机制逐渐被接受。尽管许多个体暴露于 GBS 的致病因素(如空肠弯曲菌)下，但大多数个体都不会发生自身免疫反应而致病，提示 GBS 除与感染或其他免疫刺激诱发的免疫应答有关外，也可能与机体的免疫状态有关。若机体的免疫功能低下，免疫系统通常不足以清除致病因子，也不足以对神经系统产生严重影响。本研究中，复发组疾病严重程度较未复发组低，提示症状轻的 GBS 患者存在更高的复发倾向，也从侧面印证了机体免疫状态与 GBS 复发有关。

淋巴细胞是细胞免疫和体液免疫的关键参与者，对免疫系统起着至关重要的作用，淋巴细胞的丧失降低了机体的免疫功能，减少了致病因子的清除率，增加 GBS 复发几率<sup>[18]</sup>，这与本研究复发组淋巴细胞低于未复发组的结论一致。但后续研究证明，外周血淋巴细胞计数虽然获得简单，但易受干扰，稳定性差，有时甚至得出相互矛盾的结论。NLR 值则整合了特异性及非特异性免疫，是反映机体免疫炎症状态的综合性指标<sup>[19]</sup>。研究证实，GBS 患者血清炎症标志物 NLR 明显升高，炎症反应贯穿于 GBS 发病和转归的所有阶段<sup>[20]</sup>，但目前国内外尚无关于 NLR 预测 GBS 复发的相关报道，本研究创新性地将 NLR 纳入预测 GBS 复发的模型，发现 GBS 患者首次发病时 NLR 水平越高，复发风险越大，但鉴于本研究为单中心研究，所纳入病例有限，尚需扩大样本量进一步证实。

IL-13 主要由活化的 Th2 细胞分泌，能抑制单核巨噬细胞产生多种趋化因子和致炎因子，从而具有抗炎作用<sup>[21]</sup>。GBS 急性期 IL-13 水平迅速升高，可能与炎症因子大量释放，机体拮抗炎性细胞浸润，IL-13 反馈性表达有关。本研究发现，高水平 IL-13 可能为阻止 GBS 复发的保护性因子。分析原因可能是 IL-13 可减轻炎症反应损害、终止病理免疫反应，有利于周围神经髓鞘和轴索的修复。此外，本研究还发现，IL-8 为 GBS 复发的危险因素，IL-8 由单核细胞、T 淋巴细胞释放，是对中性粒细胞有趋化作用的早期炎症因子<sup>[22]</sup>。Breville 等<sup>[23]</sup>研究证明，在 GBS 急性期血清中可以检测到高水平的 IL-8，但其在疾病的进展和转归中的作用，以及与 GBS 复发的相关性和参与复发的机制目前还未见报道，尚需进一步基础实验阐明。

目前国内外还没有关于预测 GBS 复发量表或模型的研究，本研究将 NLR 和 IL-13 相结合，预测 GBS 复发风险，具有较高的敏感度和特异度，当 NLR > 4.09 或 IL-13 < 36.5 pg/ml 时，需考虑 GBS 复发的可能。鉴于临床检测 NLR 和 IL-13 简单、快速，有望成为 rGBS 潜在的生物标志物和干预靶点。

本研究尚存在一些不足,首先本研究只纳入近 5 年的病例,单相病程的 GBS 患者在今后几年仍有复发可能,对复发率的估计存在一些误差;其次,本研究为单中心研究,样本量较小,某些结论可能存在一定偏倚;因此,今后仍需扩大样本量和随访时间进一步补充和修正。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

陈雪婷:提出研究思路,设计研究方案,实施研究过程,分析临床数据,撰写论文,论文修改;郑惠文:搜集整理资料,查找参考文献;张琪:搜集整理资料;刘洁:数据统计处理;张作慧:审核论文;刘永海:修改总指导

**参考文献**

- [1] Willison HJ, Jacobs BC, van Doorn PA. Guillain-Barre syndrome [J]. *Lancet*, 2016, 388 (10045): 717-727. DOI: 10.1016/S0140-6736 (16) 00339-1.
- [2] Jain RS, Kookna JC, Srivastva T, et al. Guillain-Barre syndrome in Indian population: A Retrospective Study [J]. *J Assoc Physicians India*, 2019, 67(4):56-59. DOI: 10.4103/0972-2327.150608.
- [3] 管昭锐,张巍,刘学东,等. 复发型吉兰—巴雷综合征患者临床特点 [J]. *中国神经精神疾病杂志*, 2018, 44 (11): 657-661. DOI: 10.3969/j.issn.1002-0152.2018.11.004.
- [4] Ishii J, Yuki N, Kawamoto M, et al. Recurrent Guillain-Barre syndrome, Miller Fisher syndrome and Bickerstaff brainstem encephalitis [J]. *J Neurol Sci*, 2016, 364: 59-64. DOI: 10.1016/j.jns.2016.03.008.
- [5] Verboon C, van Doorn PA, Jacobs BC. Treatment dilemmas in Guillain-Barré syndrome [J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2017, 88(4):346-352. DOI: 10.1136/jnnp-2016-314862.
- [6] Alessandro L, Pastor Rueda JM, Wilken M, et al. Differences between acute-onset chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy and acute inflammatory demyelinating polyneuropathy in adult patients [J]. *J Peripher Nerv Syst*, 2018, 23 (3): 154-158. DOI: 10.1111/jns.12266.
- [7] Malek E. Guillain-Barre syndrome [J]. *Semin Neurol*, 2019, 39 (5): 589-595. DOI: 10.1055/s-0039-1693005.
- [8] 中华医学会神经病学分会, 中华医学会神经病学分会周围神经病协作组, 中华医学会神经病学分会肌电图与临床神经电生理学组, 等. 中国吉兰—巴雷综合征诊治指南 2019 [J]. *中华神经科杂志*, 2019, 52 (11): 877-882. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-7876.2019.11.002.
- [9] Goodfellow JA, Willison HJ. Guillain-Barré syndrome: a century of progress [J]. *Nat Rev Neurol*, 2016, 12 (12): 723-731. DOI: 10.1038/nrneurol.2016.172.
- [10] Van den Berg B, Walgaard C, Drenthen J, et al. Guillain-Barré syndrome: pathogenesis, diagnosis, treatment and prognosis [J]. *Nat Rev Neurol*, 2014, 10 (8): 469-482. DOI: 10.1038/nrneurol.2014.121.
- [11] Comi C. Fas-mediated T-cell apoptosis in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy [J]. *J Peripher Nerv Syst*, 2011, 16 (Suppl 1): 45-47. DOI: 10.1111/j.1529-8027.2011.00306.x.
- [12] Sejvar JJ, Baughman AL, Wise M, et al. Population incidence of Guillain-Barre syndrome: a systematic review and meta-analysis [J]. *Neuroepidemiology*, 2011, 36 (2): 123-133. DOI: 10.1159/000324710.
- [13] 鲁立颖, 杨丽. Fisher 综合征 9 例临床分析 [J]. *山东医药*, 2012, 52(39): 29-31. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5110.2012.04.
- [14] Ayas Z, Aras YG, Güngen BD. An unusual recurrence of Miller Fisher syndrome: Three Times in Eight Years [J]. *Noro Psikiyatr Ars*, 2019, 57(1): 78-79. DOI: 10.29399/npa.22871.
- [15] 贺旭建, 王厚清, 许铁. 吉兰—巴雷综合征预后预测研究进展 [J]. *疑难病杂志*, 2018, 17(7): 738-742. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2018.07.024.
- [16] Dash S, Pai AR, Kamath U, et al. Pathophysiology and diagnosis of Guillain-Barré syndrome - challenges and needs [J]. *Int J Neurosci*, 2015, 125(4): 235-240. DOI: 10.3109/00207454.2014.913588.
- [17] Fadia M, Shroff S, Simpson E. Immune-mediated neuropathies [J]. *Curr Treat Options Neurol*, 2019, 21(6): 28. DOI: 10.1007/s11940-019-0569-y.
- [18] Huang Y, Ying Z, Quan W, et al. The clinical significance of neutrophil-to-lymphocyte ratio and monocyte-to-lymphocyte ratio in Guillain-Barré syndrome [J]. *Int J Neurosci*, 2018, 128 (8): 729-735. DOI: 10.1080/00207454.2017.1418342.
- [19] Afari ME, Bhat T. Neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) and cardiovascular diseases: an update [J]. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2016, 14(5): 573-577. DOI: 10.1586/14779072.2016.1154788.
- [20] Ethemoglu O, Calik M. Effect of serum inflammatory markers on the prognosis of adult and pediatric patients with Guillain-Barré syndrome [J]. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2018, 14 (5): 1255-1260. DOI: 10.2147/NDT.S162896
- [21] Junttila IS. Tuning the cytokine responses: An update on interleukin (IL)-4 and IL-13 receptor complexes [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 888. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00888.
- [22] Kosmopoulos M, Christofides A, Drekolias D, et al. Critical role of IL-8 targeting in gliomas [J]. *Curr Med Chem*, 2018, 25 (17): 1954-1967. DOI: 10.2174/0929867325666171129125712.
- [23] Breville G, Lascano AM, Roux-Lombard P, et al. IL-8 as a potential biomarker in Guillain-Barre Syndrome [J]. *Eur Cytokine Netw*, 2019, 30(4): 130-134. DOI: 10.1684/ecn.2019.0436.

(收稿日期: 2020-11-16)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.04.011

论著·临床

# 中性粒细胞与淋巴细胞计数比值在诊断呼吸机相关性肺炎中的应用

罗彬, 林爽, 杨健, 方喆琦, 马骏麒

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目(2019D01C166)

作者单位: 830011 乌鲁木齐, 新疆医科大学第五附属医院 ICU(罗彬、杨健、方喆琦); 830000 乌鲁木齐, 新疆医科大学第四附属医院急救中心(林爽、马骏麒)

通信作者: 马骏麒, E-mail: 1477582405@qq.com

**【摘要】目的** 探讨血清中性粒细胞与淋巴细胞计数比值(NLR)对呼吸机相关性肺炎(VAP)的诊断价值。**方法** 选取2018年12月—2019年12月新疆医科大学第五附属医院重症医学科收治有创机械通气治疗患者77例,根据7d内是否发生VAP分为VAP组24例和非VAP组53例;根据抗感染治疗1周后不同效果将VAP组分为改善亚组( $n=17$ )和恶化亚组( $n=7$ ),获取不同时间点NLR、PCT及临床肺部感染评分(CPIS),并通过绘制受试者工作特征曲线(ROC)判断三者对VAP的诊断价值。**结果** 2组机械通气前NLR、PCT、CPIS比较,差异均无统计学意义( $P$ 均 $>0.05$ ),VAP组在机械通气第4d时NLR、PCT、CPIS均显著高于机械通气开始时( $t/P=2.140/0.038, 4.975/ < 0.001, 9.952/ < 0.001$ ),而非VAP组机械通气开始时与第4d时比较差异均无统计学意义( $P$ 均 $>0.05$ )。机械通气第4d VAP组NLR、PCT、CPIS水平显著高于非VAP组( $t/P=7.126/ < 0.001, 6.380/ < 0.001, 6.364/ < 0.001$ )。抗感染治疗1周后,VAP患者改善亚组上述指标均显著低于确诊VAP时( $t/P=2.077/0.046, 2.297/0.023, 5.130/ < 0.001$ ),而恶化亚组均显著高于确诊VAP时( $t/P=2.243/0.045, 2.371/0.035, 2.428/0.032$ ),且改善亚组3项指标均显著低于恶化亚组( $t/P=7.281/ < 0.001, 14.930/ < 0.001, 10.710/ < 0.001$ )。VAP患者NLR、PCT与CPIS均呈正相关( $r=0.847, 0.836, P$ 均 $< 0.001$ ),NLR诊断VAP的AUC为0.845,截断值为8.765时,其敏感度及特异度分别为83.33%、75.47%,约登指数为0.588。三者联合检测诊断VAP的AUC为0.901,敏感度、特异度分别为87.50%、75.47%,约登指数为0.630。**结论** NLR在VAP诊断中有较高敏感度及特异度,监测其动态变化可能有助于早期诊断VAP和进行预后评估。

**【关键词】** 呼吸机相关性肺炎;中性粒细胞与淋巴细胞计数比值;诊断**【中图分类号】** R563.1**【文献标识码】** A

**The diagnostic value of the neutrophil-lymphocyte ratio in patients with ventilator-associated pneumonia.** Luo Bin\*, Lin Shuang, Yang Jian, Fang Zheqi, Ma Junqi. \* Department of ICU, Fifth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China

Corresponding author: Ma Junqi, E-mail: 1477582405@qq.com

Funding program: Natural Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region (2019d01c166)

**【Abstract】 Objective** To investigate the diagnostic value of serum neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) in ventilator-associated pneumonia (VAP). **Methods** From December 2018 to December 2019, 77 patients with invasive mechanical ventilation were treated in the intensive care department of the Fifth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University. According to the condition, they were divided into VAP group ( $n=24$ ) and non VAP group ( $n=53$ ). According to the effect of anti infection treatment after one week, VAP group was divided into improvement subgroup and deterioration subgroup. NLR, PCT and CPIS at different time points were obtained, and the diagnostic value of three indicators was analyzed. The receiver operating characteristic (ROC) curve was drawn to judge its diagnostic value for VAP. **Results** There was no significant difference in NLR, PCT and CPIS between VAP group and non VAP group before mechanical ventilation (all  $P > 0.05$ ). NLR, PCT and CPIS of VAP group on the 4th day of mechanical ventilation were significantly higher than those at the beginning of mechanical ventilation ( $t/P=2.140/0.038, 4.975/ < 0.001, 9.952/ < 0.001$ ). There was no significant difference in NLR, PCT and CPIS between non VAP group and the 4th day of mechanical ventilation (all  $P > 0.05$ ), the NLR, PCT levels and CPIS of VAP group were significantly higher than those of non VAP group on the fourth day

of mechanical ventilation ( $t/P = 7.126 / < 0.001, 6.380 / < 0.001, 6.364 / < 0.001$ ). After one week of anti infection treatment, the above three indexes of improvement subgroup were significantly lower than those of deterioration subgroup ( $t/P = 7.281 / < 0.001, 14.930 / < 0.001, 10.710 / < 0.001$ ), and the above indexes of improvement subgroup were significantly lower than those of diagnosis of VAP ( $t/P = 2.077/0.046, 2.297/0.023, 5.130/<0.001$ ), while deterioration subgroup were significantly higher than those of diagnosis of VAP ( $t/P = 2.243/0.045, 2.371/0.035, 2.428/0.032$ ). When VAP was diagnosed, NLR, PCT and CPIS were positively correlated ( $r = 0.847, 0.836, P < 0.001$ ). The AUC of NLR in the diagnosis of VAP was 0.845. When the critical value was 8.765, the sensitivity and specificity were 83.33% and 75.47% respectively, Youden's index was 0.588, when combined the 3 factors, the sensitivity, specificity and Youden index was 87.50%, 75.47% and 0.630. **Conclusion** NLR has high sensitivity and specificity in the diagnosis of VAP. Monitoring its dynamic changes may be helpful for early diagnosis and prognosis evaluation of VAP.

**【Key words】** Ventilator associated pneumonia; Neutrophil to lymphocyte ratio; Diagnosis

呼吸机相关性肺炎(ventilator associated pneumonia, VAP)作为重症医学科机械通气患者常见的院内感染,其诊断与治疗较为困难,具有较高的病死率,VAP可显著延长机械通气及住院时间,并可明显增加住院费用<sup>[1-6]</sup>。如何早期诊断及改善VAP预后是目前重症医学领域的研究热点。单纯根据病史体征及影像学对VAP进行诊断特异度不高,细菌培养虽然特异度高,但所需周期较长,导致其早期诊断困难;同时精准评估VAP患者病情的严重程度,对于改善VAP患者的预后亦具有重要的临床价值。在细菌感染时,机会大量产生和释放中性粒细胞,同时因为感染导致机体免疫功能下降,T淋巴细胞大量凋亡,而凋亡细胞抑制大量活化T淋巴细胞的增殖活性,以上共同导致中性粒细胞计数增多,淋巴细胞计数减少,因此,临床上通常将中性粒细胞/淋巴细胞比值(NLR)作为全身炎症反应的标志物<sup>[7]</sup>。现动态观察机械通气患者NLR、降钙素原(PCT)水平及临床肺部感染评分(CPIS)的变化水平,并分析NLR与VAP诊断及预后的相关性。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 选取2018年12月—2019年12月新疆医科大学第五附属医院重症医学科收治有创机械通气治疗患者77例,根据7d内是否发生VAP分为VAP组24例与非VAP组53例。2组患者性别、年龄、APACHE II评分、氧合指数、基础病、机械通气原因比较差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表1。VAP组患者再根据抗感染治疗1周后效果不同分为改善亚组( $n = 17$ )和恶化亚组( $n = 7$ )。本研究经医院伦理委员会批准,患者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1)VAP诊断标准<sup>[8]</sup>:气管插管或气管切开患者接受机械通气48h以后胸部X线片出现新发生的或进展性浸润阴影,同时满足下列2项:①体温 $> 38^{\circ}\text{C}$ 或 $< 36^{\circ}\text{C}$ ;②外周血白细胞计数 $< 4 \times 10^9/\text{L}$ 或 $> 10 \times 10^9/\text{L}$ ;③气管支气管内出现脓性分泌物,并除外肺水肿、急性呼吸窘迫综合征、肺结核、肺栓塞等疾病,撤机、拔管48h内出现的肺炎仍属VAP。(2)纳入标准:患者机械通气 $> 48\text{h}$ ,年龄 $\geq 18$ 岁。

表1 2组患者临床资料比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

项目	VAP组( $n = 24$ )	非VAP组( $n = 53$ )	$\chi^2/t$ 值	$P$ 值
男/女[例(%)]	14(58.33)/10(41.67)	33(62.26)/20(37.74)	0.071	0.790
年龄(岁)	65.6 $\pm$ 12.1	63.1 $\pm$ 14.0	0.756	0.452
APACHE II评分(分)	17.8 $\pm$ 6.7	15.4 $\pm$ 7.2	1.384	0.171
氧和指数(mmHg)	231.25 $\pm$ 13.94	223.98 $\pm$ 15.68	1.948	0.055
基础病[例(%)]				
高血压	13(54.17)	23(43.40)	0.877	0.380
糖尿病	11(45.83)	18(33.96)	0.992	0.319
冠心病	7(29.17)	12(22.64)	0.378	0.538
机械通气原因[例(%)]				
脑血管意外	10(41.67)	9(16.98)	1.875	0.171
心脏呼吸骤停	5(20.83)	6(11.32)	1.221	0.269
急性中毒	3(12.50)	3(5.66)	1.076	0.300
外科术后	9(37.50)	14(26.42)	0.969	0.325
创伤	8(33.33)	10(18.87)	1.930	0.165

(3) 排除标准:明确肺部感染、肺水肿、肺结核、肺嗜酸性粒细胞浸润症、肺血管炎、恶性肿瘤,长期应用糖皮质激素或免疫抑制剂治疗,严重肝肾功能不全者,年龄 < 18 岁,孕妇及哺乳期者,有过敏史者。

### 1.3 观察指标与方法

1.3.1 NLR 检测:患者于入 ICU 机械通气开始时,行机械通气第 4 d、7 d,确诊 VAP 抗感染治疗 1 周后分别抽取空腹肘静脉血 5 ml,其中 2 ml 置于 EDTA 抗凝真空采血管,充分混匀,采用美国贝克曼血球分析仪 780 检测血常规中性粒细胞计数和淋巴细胞计数,并计算 NLR。试验严格按照试剂盒说明操作。

1.3.2 血清 PCT 检测:上述不同时段抽取静脉血 3 ml,离心分离血清,并置于 -20℃ 水箱中保存待检,采用荧光法测定血清 PCT,相关试剂盒及荧光免疫定量分析仪均购自南京基氮有限公司,试验严格按照试剂盒说明操作。

1.3.3 CPIS 评估<sup>[9]</sup>:于入 ICU 机械通气开始时,行机械通气第 4 天、第 7 天,确诊 VAP 抗感染治疗 1 周后进行 CPIS 评估。CPIS 评分由氧和指数、体温、白细胞计数、气道分泌物、分泌物细菌培养、X 线胸片表现组成,最高评分为 12 分,分值越高,预后越差。

1.4 统计学方法 应用 SPSS 23.0 软件对数据进行统计学分析。正态分布的计量资料以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,组间比较采用 *t* 检验;计数资料以频数或率 (%) 表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验;双变量相关性采用 Pearson 相关分析;绘制 ROC 曲线并计算曲线下面积,分析 NLR、

PCT、CPIS 对 VAP 的诊断效能。 $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 2 组 NLR、PCT 水平和 CPIS 评分比较 机械通气开始时,2 组 NLR、PCT 水平及 CPIS 比较差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ );在机械通气第 4 d 时,VAP 组 NLR、PCT、CPIS 均高于机械通气开始时 ( $P < 0.05$ ),非 VAP 组机械通气开始时与机械通气第 4 d 的 NLR、PCT、CPIS 比较差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),且 VAP 组高于非 VAP 组 ( $P$  均  $< 0.01$ ),见表 2。

2.2 2 亚组 NLR、PCT 水平和 CPIS 评分比较 24 例患者中,VAP 改善亚组 17 例 (70.83%),恶化亚组 7 例 (29.17%)。改善亚组气道脓性分泌物减少,体温恢复正常,外周白细胞计数降低,氧和指数,X 线胸片改善。恶化亚组气道脓性分泌物增多,体温  $> 38^\circ\text{C}$ ,氧和指数、X 线胸片恶化。抗感染治疗 1 周后,改善亚组 NLR、PCT、CPIS 均显著低于确诊 VAP 时 ( $P$  均  $< 0.05$ ),而恶化亚组则均显著高于确诊 VAP 时 ( $P$  均  $< 0.05$ ),改善亚组显著低于恶化亚组 ( $P$  均  $< 0.01$ ),见表 3。

2.3 VAP 患者 NLR、PCT 水平与 CPIS 评分的相关性 在 VAP 患者中,NLR、PCT 均与 CPIS 呈正相关 ( $r = 0.847、0.836, P$  均  $< 0.01$ )。

2.4 NLR、PCT、CPIS 诊断 VAP 效能的 ROC 曲线分析 NLR 诊断 VAP 的敏感度、特异度均高于 CPIS,三者联合诊断 VAP 的敏感度及特异度显著高于单一的 NLR、PCT、CPIS 检测,见图 1、表 4。

表 2 2 组患者不同时点 NLR、PCT 和 CPIS 比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	时间	NLR	PCT(ng/ml)	CPIS 评分(分)
非 VAP 组 ( <i>n</i> = 53)	通气开始时	9.12 ± 5.96	0.23 ± 0.65	3.90 ± 2.10
	通气第 4 d	7.65 ± 1.65	0.40 ± 0.16	4.57 ± 1.60
VAP 组 ( <i>n</i> = 24)	通气开始时	9.27 ± 5.09	0.15 ± 0.09	3.10 ± 0.90
	通气第 4 d	12.04 ± 3.78	1.97 ± 1.79	7.17 ± 1.79
<i>t/P</i> VAP 组内值		2.140/0.038	4.975/ < 0.001	9.952/ < 0.001
<i>t/P</i> 非 VAP 组内值		1.731/0.087	1.849/0.067	1.848/0.068
<i>t/P</i> 通气第 4 d 组间值		7.126/ < 0.001	6.380/ < 0.001	6.364/ < 0.001

表 3 2 亚组患者不同时点 NLR、PCT 水平和 CPIS 评分比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	时间	NLR	PCT(ng/ml)	CPIS 评分(分)
改善亚组 ( <i>n</i> = 17)	确诊 VAP 时	11.24 ± 4.49	1.21 ± 1.61	6.2 ± 1.71
	抗感染治疗 1 周后	8.16 ± 4.15	0.27 ± 0.15	3.2 ± 1.7
恶化亚组 ( <i>n</i> = 7)	确诊 VAP 时	15.96 ± 5.86	2.86 ± 1.95	8.5 ± 2.2
	抗感染治疗 1 周后	22.43 ± 4.89	4.97 ± 1.32	10.8 ± 1.2
<i>t/P</i> 改善亚组内值		2.077/0.046	2.297/0.023	5.130/ < 0.001
<i>t/P</i> 恶化亚组内值		2.243/0.045	2.371/0.035	2.428/0.032
<i>t/P</i> 确诊时组间值		2.146/0.043	0.149/0.042	2.639/0.015
<i>t/P</i> 抗感染 1 周后组间值		7.281/ < 0.001	14.930/ < 0.001	10.710/ < 0.001



表 4 NLR、PCT 和 CPIS 在 VAP 诊断中的价值

项目	临界值	AUC(95% CI)	敏感度(%)	特异度(%)	约登指数
NLR	8.765	0.845(0.744~0.947)	83.33	75.47	0.588
PCT(ng/ml)	0.485	0.910(0.843~0.977)	83.33	77.36	0.607
CPIS(分)	5.500	0.861(0.773~0.949)	79.17	73.58	0.528
三者联合	—	0.901(0.822~0.979)	87.50	75.47	0.630

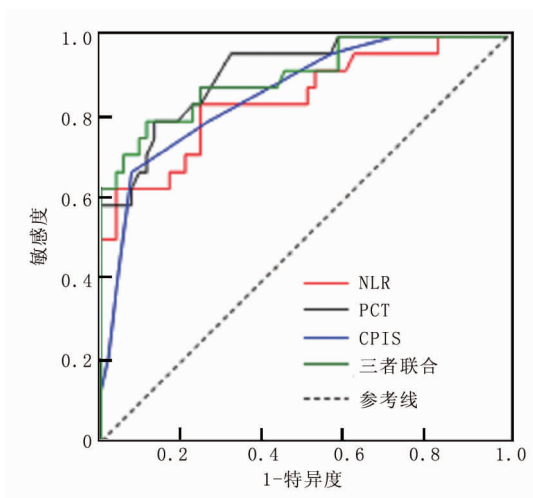


图 1 NLR、PCT、CPIS 及三者联合诊断 VAP 效能的 ROC 曲线

### 3 讨论

机械通气是危重症患者经常使用的器官功能支持措施,而随着人工气道的建立,呼吸道防御屏障破坏,且危重症患者通常免疫功能受损,极易发生 VAP。危重症患者一旦发生 VAP,可能会导致患者机械通气、住院时间延长,医疗费用增加,甚至最终引起患者死亡<sup>[10]</sup>。目前针对 VAP 所采取的常规治疗方法效果不理想,是危重症患者治疗的一道难题<sup>[11]</sup>。早期诊断 VAP 可以减少机械通气时间、住院时间及医疗费用,降低机械通气患者的病死率<sup>[12]</sup>。临床上主要依靠病史、查体、血常规、影像表现及病原学检查诊断 VAP,如症状体征、血常规、X 线胸片等传统指标虽然诊断敏感度较高,但特异度较低,虽然病原学培养的特异度高,但所需要时间较长,因此 VAP 早期诊断困难,极有可能致使患者的治疗时机延误。在感染性疾病诊断中 PCT、IL-6、CRP 等指标的作用近些年来已得到肯定,但由于价格较贵,限制了其广泛应用<sup>[13]</sup>。机体在感染过程中,细菌侵入体内诱导细胞因子释放,刺激趋化作用,在骨髓中产生和释放大量中性粒细胞,导致中性粒细胞增高,而机体在感染过程中免疫系统功能下降,导致 T 淋巴细胞大量凋亡,凋亡细胞使大量活化的 T 淋巴细胞受到抑制,从而使 T 淋巴细胞的增殖活性降低<sup>[14-16]</sup>,以上共同导致中性粒细胞计数增高,淋巴细胞计数降低,NLR 增大,因此,常将 NLR 作为反映全身

炎症反应状态的指标<sup>[16-17]</sup>。NLR 只需检查血常规即可获得,简单、方便、经济,较单纯的中性粒细胞和淋巴细胞更突出、准确,因为后者容易受到生理、病理和物理因素的影响<sup>[18-19]</sup>。因此,NLR 能否作为 VAP 的诊断指标,能否为 VAP 的预测和诊断提供辅助作用,已成为临床研究的重点<sup>[20-22]</sup>。已有一些研究证明,NLR 可作为反映机体感染的特异性指标,对于诊断感染性疾病具有很高的价值,并有助于区分细菌感染的类型<sup>[23-26]</sup>。

本研究检测了 VAP 组与非 VAP 组患者机械通气前后 NLR、PCT 水平及 CPIS 评分,结果显示机械通气第 4 d VAP 组 NLR 显著高于非 VAP 组( $P < 0.05$ ),确诊 VAP 时 NLR、PCT 与 CPIS 均呈正相关( $P < 0.01$ ),采用 ROC 曲线进一步分析,NLR 诊断 VAP 的 AUC 为 0.845,临界值为 8.765 时,NLR 诊断 VAP 的敏感度 83.33%,特异度 75.47%,均高于 CPIS,说明 NLR 在诊断 VAP 时的优势较 CPIS 高,NLR、PCT、CPIS 三者联合诊断 VAP 的敏感度及特异度显著高于单一的 NLR、PCT、CPIS 检测,提示联合应用 NLR、PCT 及 CPIS 有助于早期诊断 VAP。此外,本研究还监测了 VAP 改善亚组与恶化亚组患者抗感染治疗 1 周后的 NLR 水平,结果发现恶化亚组较改善亚组显著增高( $P < 0.01$ ),提示动态监测 NLR 水平有助于判断 VAP 患者的预后。

综上所述,NLR 对于 VAP 的早期诊断具有良好的预测效果,其诊断 VAP 的敏感度及特异度较高,并有助于判断预后,同时 NLR 相对于 PCT、CRP、IL-6 等感染指标更加简单、方便、经济。因此,动态监测 NLR 水平对于早期诊断 VAP 及进行预后评估有一定的临床价值。但本研究还有一定的局限性,如样本量偏少,患者病情变化可能会导致 NLR 值快速变化等,这也影响了统计数据的实时性和准确性,在未来将进行更大样本量的前瞻性研究予以证实。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

罗彬:提出研究思路,设计研究方案,进行统计学分析,论文撰写,论文修改;林爽:进行统计学分析,论文撰写,论文修改;杨健、方喆琦:实施研究过程,资料搜集整理;马骏麒:提出



研究思路, 论文审核

参考文献

[1] Yoshimura J, Yamakawa K, Kinoshita T, et al. GRAM stain-guided Antibiotics Choice for Ventilator-Associated Pneumonia (GRACE-VAP) trial: rationale and study protocol for a randomised controlled trial [J]. *Trials*, 2018, 19(1):614. DOI:10.1186/s13063-018-2971-2.

[2] 中华医学会呼吸病学分会感染学组. 中国成人医院获得性肺炎与呼吸机相关性肺炎诊断和治疗指南(2018 年版)[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2018, 41(4):255-280. DOI:10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2018.04.006.

[3] Kollef MH, Hamilton CW, Ernst FR. Economic impact of ventilator-associated pneumonia in a large matched cohort [J]. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2012, 33(3):250-256. DOI:10.1086/664049.

[4] Bor C, Demirag K, Okcu O, et al. Ventilator-associated pneumonia in critically ill patients with intensive antibiotic usage [J]. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, 2015, 31(6):1441-1446. DOI:10.12669/pjms.316.8038.

[5] Azab SF, Sherbiny HS, Saleh SH, et al. Reducing ventilator-associated pneumonia in neonatal intensive care unit using "VAP prevention Bundle": a cohort study [J]. *BMC Infect Dis*, 2015, 15(1):314. DOI:10.1186/s12879-015-1062-1.

[6] Lu X, Xu S. Therapeutic effect of high-flow nasal cannula on severe COVID-19 patients in a makeshift intensive-care unit: A case report [J]. *Medicine*, 2020, 99(21):e20393. DOI:10.1097/MD.00000000000020393.

[7] Qu J, Yuan HY, Huang Y, et al. Evaluation of neutrophil-lymphocyte ratio in predicting bloodstream infection [J]. *Biomark Med*, 2019, 13(15):1255-1261. DOI:10.2217/bmm-2018-0253.

[8] 中华医学会重症医学分会. 呼吸机相关性肺炎诊断、预防和治疗指南(2013) [J]. *中华内科杂志*, 2013, 52(6):524-543. DOI:10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2013.06.024.

[9] 杨庆玲, 白小燕, 刘诗兰, 等. 血清 YKL-40 预测呼吸机相关性肺炎患者 28 d 病死率的价值 [J]. *疑难病杂志*, 2020, 19(4):330-334. DOI:103969/j.issn.1671-6450.2020.04.002.

[10] 陈少霖, 张卫星, 张声, 等. 可溶性髓样细胞触发受体-1 在呼吸机相关性肺炎的早期诊断及预后评估中的临床应用 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2017, 27(13):2968-2971. DOI:10.11816/cn.ni.2017-163764.

[11] Shi Y, Huang Y, Zhang TT, et al. Chinese guidelines for the diagnosis and treatment of hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia in adults (2018 Edition) [J]. *J Thorac Dis*, 2019, 11(6):2581-2616. DOI:10.21037/jtd.2019.06.09.

[12] 程哲, 杨远舰, 等. 肝素结合蛋白、降钙素原分别联合 APACHE II 评分对呼吸机相关性肺炎的诊断价值 [J]. *中华医学杂志*, 2019, 9(22):1698-1702. DOI:10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2019.22.003.

[13] Tkadlec J, Peckova M, Sramkova L, et al. The use of broad-range bacterial PCR in the diagnosis of infectious diseases: a prospective cohort study [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2019, 25(6):747-752. DOI:10.1016/j.cmi.2018.10.001.

[14] Huang ZW, Fu Z, Huang WJ, et al. Prognostic value of neutrophil-to-lymphocyte ratio in sepsis: A meta-analysis [J]. *Am J Emerg Med*, 2020, 38(3):641-647. DOI:10.1016/j.ajem.2019.10.023.

[15] 杨萌, 李丽娟, 苏楠, 等. 动态监测外周血中性粒细胞/淋巴细胞比值能够预测血流感染患者的预后 [J]. *中华危重病急救医学*, 2015, 27(6):471-476. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.06.011.

[16] Zhao Z, Liu J, Wang J, et al. Platelet-to-lymphocyte ratio (PLR) and neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) are associated with chronic hepatitis B virus (HBV) infection [J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 51(1):1-8. DOI:10.1016/j.intimp.2017.07.007.

[17] Pan YP, Fang YP, Xu YH, et al. The diagnostic value of procalcitonin versus other biomarkers in prediction of bloodstream infection [J]. *Clin Lab*, 2017, 63(2):277-285. DOI:10.7754/Clin.Lab.2016.160802.

[18] 郭瑞, 贾超, 苏行. 嗜酸粒细胞对血流感染患者预后的预测价值: 附 305 例回顾性分析 [J]. *中华危重病急救医学*, 2017, 29(6):496-500. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.06.004.

[19] Durant SE, Hopkins WA, Davis AK, et al. Evidence of ectoparasite-induced endocrine disruption in an imperiled giant salamander, the eastern hellbender (*Cryptobranchus alleganiensis*) [J]. *J Exp Biol*, 2015, 218(14):2297-2304. DOI:10.1242/jeb.118703.

[20] 宋维, 潘萌萌, 韩铭欣, 等. NLR 和 PCT 对成人社区获得性肺炎患者进展为脓毒症的预测价值比较 [J]. *疑难病杂志*, 2020, 19(2):118-121. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2020.02.003.

[21] 李亚明, 张进召, 潘双. 纤维支气管镜肺泡灌洗诊疗术联合振动排痰对呼吸机相关性肺炎患者的影响 [J]. *实用心脑血管病杂志*, 2020, 28(1):97-101. DOI:10.3969/j.issn.1008-5971.2020.01.14.

[22] 赵辉. 不同营养支持方式对慢性阻塞性肺疾病急性加重并呼吸衰竭患者营养状态、肺功能及炎性因子影响的对比研究 [J]. *实用心脑血管病杂志*, 2019, 27(4):77-82. DOI:10.3969/j.issn.1008-5971.2019.04.02.

[23] Mousa N, Besheer T, Abdel-Razik A, et al. Can combined blood neutrophil to lymphocyte ratio and C-reactive protein be used for diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis [J]. *Br J Biomed Sci*, 2018, 75(2):71-75. DOI:10.1080/09674845.2017.1396706.

[24] Bozbay M, Uyarel H. Neutrophil-to-lymphocyte ratio: a novel and simple prognostic marker for infective endocarditis [J]. *J Crit Care*, 2015, 30(4):822-823. DOI:10.1016/j.jcrc.2015.04.115.

[25] Kim HA, Jung JY, Suh CH. Usefulness of neutrophil-to-lymphocyte ratio as a biomarker for diagnosing infections in patients with systemic lupus erythematosus [J]. *Clin Rheumatol*, 2017, 36(11):2479-2485. DOI:10.1007/s10067-017-3792-5.

[26] 朱芝静, 郭利涛, 刘昱, 等. 提高集束化预防措施依从性对重症患者呼吸机相关性肺炎发生率的影响 [J]. *中国医药*, 2019, 14(4):529-532. DOI:10.3760/j.issn.1673-4777.2019.04.013.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.04.012

论著·临床

# 儿童血流感染病原菌分布情况及 mNAP、Presepsin、TREM-1 的早期预测价值

刘新光,李清涛,张玉东,贾永萍

基金项目:河北省医学科学研究重点课题计划(20180645)

作者单位:050031 石家庄,河北省儿童医院检验科(刘新光、贾永萍),呼吸科(李清涛),新生儿科(张玉东)

通信作者:刘新光,E-mail:15932655856@163.com

**【摘要】目的** 探讨儿童血流感染的病原菌分布情况及中性粒细胞膜碱性磷酸酶(mNAP)、可溶性白细胞分化抗原 14 亚型(Presepsin)、髓系细胞触发受体-1(TREM-1)的早期预测价值。**方法** 收集 2018 年 5 月—2019 年 5 月在河北省儿童医院住院的血流感染患儿 207 例作为血流感染组,分析其血培养阳性率及病原菌分布情况。根据血培养结果分为阳性亚组(107 例)和阴性亚组(100 例);另纳入健康体检儿童 100 例作为健康对照组。分析各组患儿血清降钙素原(PCT)、C 反应蛋白(CRP)、mNAP、Presepsin、TREM-1 水平的差异。采用受试者工作特征曲线(ROC)分析血清 mNAP、Presepsin、TREM-1 水平对儿童血流感染的预测价值。**结果** 血流感染组患儿血清 PCT、CRP、mNAP、Presepsin、TREM-1 水平均显著高于健康对照组( $t=300.40, 97.29, 308.60, 78.74, 59.84, P$  均  $<0.05$ ),且阳性亚组患儿血清 PCT、CRP、mNAP、Presepsin、TREM-1 水平高于阴性亚组( $t=14.89, 37.72, 8.81, 43.05, 11.09, P$  均  $<0.05$ );细菌培养阳性亚组中,革兰阴性菌 38 例(35.51%),革兰阳性菌 69 例(64.49%),革兰阴性菌感染患儿血清 PCT、CRP、mNAP、Presepsin、TREM-1 水平高于革兰阳性菌感染患儿( $t=4.58, 5.21, 15.23, 7.07, 3.86, P$  均  $<0.05$ )。ROC 曲线显示,血清 mNAP、Presepsin、TREM-1 水平预测儿童血流感染的 AUC 分别为 0.861(95% CI 0.813~0.909)、0.792(95% CI 0.731~0.853)和 0.894(95% CI 0.849~0.940)。**结论** 儿童血流感染以革兰阳性菌占多数,较高的 mNAP、Presepsin、TREM-1 水平对血流感染的确诊具有早期预警价值。

**【关键词】** 血流感染;革兰阳性菌;革兰阴性菌;中性粒细胞膜碱性磷酸酶;可溶性白细胞分化抗原 14 亚型;髓系细胞触发受体-1;儿童

**【中图分类号】** R446.11 **【文献标识码】** A

**Distribution of pathogenic bacteria in children with bloodstream infection and the early predictive value of mNAP, Presepsin and TREM-1** Liu Xinguang\*, Li Qingtao, Zhang Yudong, Jia Yongping. \* Department of Laboratory Medicine, Hebei Children's Hospital, Shijiazhuang 050031, China

Corresponding author: Liu Xinguang E-mail:15932655856@163.com

Funding program: Hebei Key Topic Program of Medical Science Research (20180645)

**【Abstract】 Objective** To investigate the distribution of pathogenic bacteria in children with bloodstream infection and the early predictive value of mNAP, Presepsin and TREM-1. **Methods** 207 children with bloodstream infection in Hebei children's Hospital from May 2018 to May 2019 were collected as bloodstream infection group, and the positive rate of blood culture and distribution of pathogenic bacteria were analyzed. According to the results of blood culture, they were divided into positive subgroup (107 cases) and negative subgroup (100 cases); another 100 healthy children were included as healthy control group. To analyze the differences of serum procalcitonin (PCT), C-reactive protein (CRP), alkaline phosphatase on the neutrophils membrane surface (mNAP), presepsin and triggering receptor-1 expressed on myeloid cells (TREM-1) levels in children with different pathogen infection. Receiver operating characteristic (ROC) curve was used to analyze the predictive value of mNAP, presepsin and TREM-1 levels in children with bloodstream infection. **Results** The serum levels of PCT, CRP, mNAP, presepsin and TREM-1 in bloodstream infection group were significantly higher than those in healthy control group ( $t=300.4, 97.29, 308.60, 78.74, 59.84, P < 0.05$ ), and the levels of PCT, CRP, mNAP, Presepsin and TREM-1 in positive subgroup were higher than those in negative subgroup ( $t=14.89, 37.72, 8.81, 43.05, 11.09, P < 0.05$ ). There were 38 cases (35.51%) of Gram-negative bacteria and 69 cases (64.49%) of Gram-positive bacterias in the blood-

stream infection group. The levels of PCT, CRP, mNAP, presepsin and TREM-1 in children with Gram-negative bacteria were generally higher than those in children with Gram-positive bacteria ( $t=4.58, 5.21, 15.23, 7.07, 3.86, P<0.05$ ). ROC curve showed that the mNAP, presepsin and TREM-1 levels had early predictive value for bloodstream infection in children. AUC were 0.861 (95% CI 0.813-0.909), 0.792 (95% CI 0.731-0.853) and 0.894 (95% CI 0.849-0.940). **Conclusion** Gram-positive bacteria is the majority of bloodstream infections in children, and higher levels of mNAP, presepsin and TREM-1 have early predictive value for the diagnosis of bloodstream infections.

**【Key words】** Bloodstream infection; Gram-positive bacteria; Gram-negative bacteria; mNAP; Presepsin; TREM-1; Children

血流感染是病原体进入人体血液循环并繁殖、释放多种代谢产物及毒素的过程,导致患者出现感染、中毒、严重炎性变态反应等症状,是临床常见的危重症之一<sup>[1-2]</sup>。儿童是血流感染的主要人群之一,一旦发病可迅速波及多个器官,且儿童自身免疫功能发育尚不完全,临床病死率极高,故早期确诊、选择敏感抗菌药物是降低儿童血流感染病死率、优化治疗结局的关键所在。血培养是血流感染诊断的金标准,但培养过程时间较长,可能延误患儿的早期治疗,因此寻找对血流感染诊断具有良好预警价值的指标十分重要。中性粒细胞膜碱性磷酸酶(mNAP)、可溶性白细胞分化抗原 14 亚型(Presepsin)、髓系细胞触发受体-1(TREM-1)已在不同研究中被发现与多种重症感染性疾病密切相关<sup>[3-5]</sup>。本研究在探讨血流感染患儿病原菌分布情况的同时,进一步研究 mNAP、Presepsin、TREM-1 对血流感染早期辅助诊断的价值,旨在为血流感染患儿的早期诊断及经验性抗菌药物选择提供依据,报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 收集 2018 年 5 月—2019 年 5 月在河北省儿童医院住院的临床血流感染患儿 207 例为血流感染组,其中男 121 例,女 86 例,年龄 $\leq 30$  d 者 66 例,31 d~16 岁者 141 例;原发疾病:呼吸系统感染 65 例,消化系统感染 36 例,泌尿系感染 36 例,腹部外伤 27 例,白血病 25 例,其他 18 例。另纳入健康体检儿童 100 例作为健康对照组,其中男 50 例,女 50 例,年龄 $\leq 30$  d 者 31 例,31 d~16 岁者 69 例。2 组受试者性别、年龄比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。本研究经医院伦理委员会审核通过,全部受试儿童家属均知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例纳入标准 纳入标准:(1)年龄 $<16$  周岁;(2)符合相关指南中血流感染的诊断标准<sup>[6]</sup>:有入侵门户或迁移病灶;有全身中毒症状并无明显感染灶;有皮疹或出血点、肝脾肿大、核左移,且无其他原因可以解释;收缩压 $<90$  mmHg,或较原收缩压下降超过 40 mmHg;多次血培养为同一种细菌,且多次分离到的菌株耐药谱相同;(3)临床资料完整。排除标准:(1)由

非感染性疾病所致全身炎症反应综合征;(2)污染样本;(3)合并 2 种及以上病原菌感染的样本;(4)入组前长时间应用抗菌药物者。

### 1.3 观察指标与方法

1.3.1 病原菌检测:严格按照《全国临床检验操作规程》进行操作,使用美国 BD 公司 FX200 全自动血培养仪及配套血培养瓶与法国梅里埃公司 Bact/Alert 3D 全自动血培养仪及其配套的血培养瓶进行细菌培养、鉴定。

1.3.2 血清 PCT、CRP、mNAP、Presepsin、TREM-1 检测:全部受试者于清晨抽取空腹静脉血 2 ml,以 3 000 r/min 离心 10 min,取血清用于各指标检测。降钙素原(PCT)采用循环增强荧光免疫法测定,C-反应蛋白(CRP)采用免疫比浊法检测(罗氏 COBAS 8000 型全自动生化分析仪及配套试剂),mNAP、Presepsin、TREM-1 水平采用酶联免疫吸附法测定。

1.4 统计学方法 采用 PEMS 3.2 软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,2 组间比较采用独立样本  $t$  检验,多组间比较采用单因素方差分析;计数资料采用频数或率(%)表示,采用  $\chi^2$  检验;采用受试者工作特征曲线(ROC)评价血清 mNAP、Presepsin、TREM-1 水平对儿童血流感染的预测价值。 $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 血流感染组与健康对照组血清 PCT、CRP、mNAP、Presepsin、TREM-1 水平比较 血流感染组患儿的血清 PCT、CRP、mNAP、Presepsin、TREM-1 水平高于健康对照组,差异有统计学意义( $P<0.01$ ),见表 1。

2.2 血培养阳性亚组与阴性亚组血清 PCT、CRP、mNAP、Presepsin、TREM-1 水平比较 207 例血流感染患者进行血培养检测,根据血培养结果分为阳性亚组(107 例)和阴性亚组(100 例),阳性亚组患儿血清 PCT、CRP、mNAP、Presepsin、TREM-1 水平高于阴性亚组,差异有统计学意义( $P<0.01$ ),见表 2。

2.3 血培养阳性病原菌分布情况 107 例细菌培养阳性样本中,革兰阴性菌 38 例(35.51%),革兰阳性

菌 69 例(64.49%)。革兰阴性菌中,占比最高的前 3 位依次是肺炎克雷伯杆菌 15 例(39.47%),大肠埃希菌 7 例(18.42%),铜绿假单胞菌 5 例(13.16%);革兰阳性菌中,占比最高的前 3 位依次是表皮葡萄球菌 35 例(50.72%),金黄色葡萄球菌 20 例(28.99%),肺炎链球菌 8 例(11.59%)。

2.4 血培养阳性亚组中革兰阳性与革兰阴性患儿血清 PCT、CRP、mNAP、Presepsin、TREM-1 水平比较 血培养阳性亚组中革兰阴性菌患儿血清 PCT、CRP、mNAP、Presepsin、TREM-1 水平明显高于革兰阳性菌患儿,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),见表 3。

2.5 血清 mNAP、Presepsin、TREM-1 水平对儿童血流感染的预测价值 ROC 曲线显示,mNAP 预测血液样本阳性的最佳截断值为 132.90 ng/L,AUC 为 0.861(95% CI 0.813 ~ 0.909),敏感度、特异度分别为 70.0%、80.37%,约登指数为 0.51;Presepsin 预测血液样本阳性的最佳截断值为 713.40 ng/L,AUC 为 0.792(95% CI 0.731 ~ 0.853),敏感度、特异度分别为 75.0%、72.90%,约登指数为 0.47;TREM-1 预测血液样本阳性的最佳截断值为 128.0 ng/L,AUC 为 0.894(95% CI 0.849 ~ 0.940),敏感度、特异度分别为

84.0%、81.31%,约登指数为 0.66,见图 1、表 4。

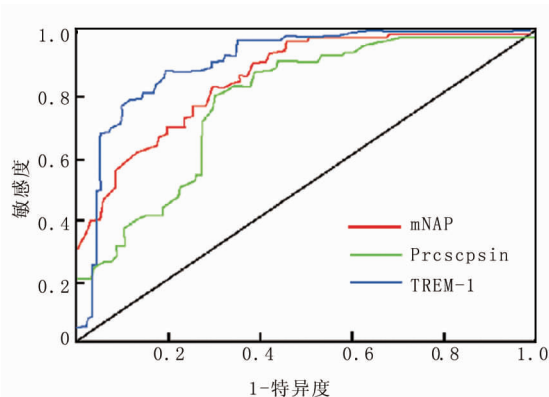


图 1 mNAP、Presepsin、TREM-1 预测血液样本阳性的 ROC 曲线分析

### 3 讨论

血流感染的发病率及致死率均不低,多发生于自身免疫力较弱的儿童,本研究中以疑似血流感染的患儿血液样本为例,发现其血液样本阳性率为 1.86%,与既往研究基本吻合<sup>[7-8]</sup>。儿童血流感染的病因较多,主要与患儿本身免疫功能低下、侵入性操作、滥用抗生

表 1 血流感染组与健康对照组血清 PCT、CRP、mNAP、Presepsin、TREM-1 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	PCT( $\mu\text{g/L}$ )	CRP(mg/L)	mNAP(ng/L)	Presepsin(ng/L)	TREM-1(ng/L)
健康对照组	100	0.08 $\pm$ 0.02	5.12 $\pm$ 1.05	10.88 $\pm$ 1.58	53.14 $\pm$ 3.88	34.26 $\pm$ 3.91
血流感染组	207	4.92 $\pm$ 0.23	28.5 $\pm$ 3.11	153.32 $\pm$ 6.24	716.22 $\pm$ 121.03	128.33 $\pm$ 15.47
t 值		300.400	97.290	308.600	78.740	59.840
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

表 2 血流感染患儿细菌培养阳性、阴性亚组血清 PCT、CRP、mNAP、Presepsin、TREM-1 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	PCT( $\mu\text{g/L}$ )	CRP(mg/L)	mNAP(ng/L)	Presepsin(ng/L)	TREM-1(ng/L)
阴性亚组	100	3.73 $\pm$ 0.19	7.30 $\pm$ 1.21	128.44 $\pm$ 29.77	685.43 $\pm$ 17.42	109.54 $\pm$ 27.54
阳性亚组	107	5.07 $\pm$ 0.91	32.12 $\pm$ 6.69	171.23 $\pm$ 39.72	795.44 $\pm$ 19.22	152.12 $\pm$ 38.05
t 值		14.890	37.720	8.810	43.050	11.090
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

表 3 不同病原菌患儿 PCT、CRP、mNAP、Presepsin、TREM-1 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

病原菌	例数	PCT( $\mu\text{g/L}$ )	CRP(mg/L)	mNAP(ng/L)	Presepsin(ng/L)	TREM-1(ng/L)
革兰阴性菌	38	5.17 $\pm$ 0.45	33.28 $\pm$ 6.49	243.28 $\pm$ 36.59	854.3 $\pm$ 124.84	173.2 $\pm$ 32.92
革兰阳性菌	69	4.63 $\pm$ 0.77	27.34 $\pm$ 5.12	143.83 $\pm$ 29.74	701.83 $\pm$ 95.47	150.3 $\pm$ 21.35
t 值		4.580	5.210	15.230	7.070	3.860
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

表 4 血清 mNAP、Presepsin、TREM-1 水平对儿童血流感染的预测价值

指标	cut-off 值	AUC(95% CI)	敏感度(%)	特异度(%)	约登指数
mNAP	132.90 ng/L	0.861(0.813 ~ 0.909)	70.0	80.37	0.51
Presepsin	713.40 ng/L	0.792(0.731 ~ 0.853)	75.0	72.90	0.47
TREM-1	128.0 ng/L	0.894(0.849 ~ 0.940)	84.0	81.31	0.66

素、长期使用激素等相关<sup>[9-11]</sup>。及时准确掌握血流感染的病原菌分布情况,对早期经验性用药及患儿病情控制均有重要意义。本研究对 107 例阳性血培养样本进行细菌培养并发现,革兰阳性菌占比较高,其是引发成人血流感染的主要病原菌,而儿童血流感染的致病菌谱与成人基本吻合,与其他研究相一致<sup>[12-13]</sup>。

血培养是血流感染确诊的金标准,但不同细菌的生长周期不同,具体培养所需的时间存在较大差异。多数细菌在有氧条件下生长 24 h 左右仪器才可报告阳性,厌氧菌及其他个别细菌生长需耗时更长时间。血流感染的病情危重性及细菌培养的耗时性是当下临床诊断及治疗的重要矛盾所在。为避免患儿错失最佳治疗时机,使用准确度较高的预测指标进行早期辅助诊断、为早期抗菌药物使用提供指导性意见是十分必要的。PCT、CRP 是公认最可靠的炎性标志物<sup>[14-15]</sup>,尤其 PCT 对严重细菌感染的辅助诊断具有高度特异性。本研究中细菌培养阳性样本来源的患儿血清 PCT、CRP 水平显著高于培养阴性样本来源患儿,且在血流感染患儿中革兰阴性菌感染者上述指标水平更高,提示高水平的 PCT、CRP 可用于血流感染的辅助诊断及感染细菌类型的初步评估,这与既往研究结论吻合<sup>[16]</sup>。

随临床侵入性操作的不断增加,儿童血流感染发生率也逐步上升,其早期辅助诊断的必要性越发突显。除 PCT、CRP 等常用指标外,仍需开拓更多的感染特异性指标,以增加早期诊断的敏感度及准确性<sup>[17-18]</sup>。mNAP、Presepsin、TREM-1 是近年受关注较多的新型感染标志物。在病原微生物侵入人体后,mNAP 在循环血流中的表达量大幅增加,在鉴别细菌感染、病毒感染中具有肯定的作用<sup>[19]</sup>。Presepsin 是新型脓毒症生物标志物,可参与激活一系列信号传导通路、活化炎症级联反应,有研究指出<sup>[20-21]</sup>,在脓毒症患者中 Presepsin 水平升高早于其他常见炎性指标,故可能在脓毒症早期诊断中发挥积极作用。TREM-1 在感染发生后可特异性释放进入血液及体液中,已在多种重症感染发生早期被检测到其水平大幅上升<sup>[22-23]</sup>。本研究中细菌培养阳性样本来源患儿、革兰阴性菌感染患儿血清 mNAP、Presepsin、TREM-1 水平的变化趋势与 PCT、CRP 一致,提示上述 3 种感染标志物可能成为继 PCT、CRP 后可用于临床儿童血流感染早期辅助诊断及具体感染病原菌预判的可靠指标。为进一步明确该猜想,本研究使用 ROC 曲线进行分析,发现血清 mNAP、Presepsin、TREM-1 对血流感染具有良好的预测价值。

综上所述,血培养阳性患儿以革兰阳性菌感染为

主,血清 mNAP、Presepsin、TREM-1 在血流感染早期预警及辅助诊断方面具有肯定作用,可能在日后同类患儿的治疗指导方面发挥积极作用,但其具体实践价值有待后续更多的临床研究来深入明确。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

刘新光:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;李清涛:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;张玉东:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;贾永萍:进行统计学分析

**参考文献**

- [1] Leroy AG, Persyn E, Guillouzoic A, et al. Catheter-related bloodstream infection due to *Tsukamurella pulmonis* identified by MALDI-TOF spectrometry, 16S rRNA gene sequencing, and *secA1* gene sequencing in an immunocompromised child: a case report and literature review [J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2020, 97 (3): 115052. DOI: 10. 1016/j. diagmicrobio. 2020. 115052.
- [2] Rosenthal VD, Bat-Erdene I, Gupta D, et al. Six-year multicenter study on short-term peripheral venous catheters-related bloodstream infection rates in 727 intensive care units of 268 hospitals in 141 cities of 42 countries of Africa, the Americas, Eastern Mediterranean, Europe, South East Asia, and Western Pacific Regions: International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC) findings [J]. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2020, 41 (5): 553-563. DOI:10. 1016/j. ajic. 2019. 12. 026.
- [3] 王玉平. mNAP 表达在全身炎症反应综合征患者血流细菌感染诊断中的应用价值 [J]. *中国医药科学*, 2016, 6(19): 171-174. DOI: 10. 3969/j. issn. 2095-0616. 2016. 19. 050.
- [4] 张晓冬, 龚平, 王文娟, 等. 血 Presepsin、降钙素原和 C 反应蛋白对脓毒症患者不同病原菌感染鉴别价值的比较 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2019, 28(7): 875-879. DOI:10.3760/cma.j.issn.1671-0282. 2019.07.014.
- [5] 胡萍, 王芳, 周星. 血浆可溶性髓样细胞触发受体-1 在儿童急性细菌感染腹泻中的诊断价值 [J]. *实用医学杂志*. 2018, 34(22): 3770-3773. DOI: 10. 3969/j. issn. 1006-5725. 2018. 22. 025.
- [6] Zhang S, Sun X, Lei Y. The microbiological characteristics and risk factors for PICC-related bloodstream infections in intensive care unit [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 15074. DOI: 10. 1038/s41598-017-10037-2.
- [7] 方盼盼, 杨俊文, 高凯杰, 等. 2014—2019 年郑州某儿童医院血流感染病原菌分布及耐药性分析 [J]. *中国药房*, 2020, 31(1): 98-103. DOI:10.6039/j.issn.1001-0408.2020.01.17.
- [8] 席俊芳, 宋晓红. 儿童重症医学科重症感染患儿病原菌分布特点及其耐药性情况 [J]. *中国药物与临床*, 2020, 20(10): 1611-1612. DOI: 10. 11655/zgywylc2020. 10. 008.
- [9] Jayaweera JAAS, Sivakumar D. Asymptomatic central line-associated bloodstream infections in children implanted with long term indwelling central venous catheters in a teaching hospital, Sri Lanka [J]. *BMC Infect Dis*, 2020, 20(1): 457. DOI: 0. 1186/s12879-020-05190-5.
- [10] Akinboyo IC, Young RR, Spees LP, et al. Microbiology and risk factors for hospital-associated bloodstream infections among pedi-

- atric hematopoietic stem cell transplant recipients[J]. *Open Forum Infect Dis*, 2020, 7(4):ofaa 093. DOI:10. 1093/ofid/ofaa093.
- [11] Sun Y, Wan G, Liang L. Taurolidine lock solution for catheter-related bloodstream infections in pediatric patients: A meta-analysis[J]. *PLoS One*, 2020, 15 (4): e0231110. DOI: 10. 1371/journal. pone. 0231110.
- [12] 刘菲. 2013—2018 年山西省阳泉市第一人民医院血培养病原菌分布及主要病原菌耐药性分析[J]. *实用医技杂志*, 2020, 27(2): 191-193. DOI: 10.19522/j.cnki.1671-5098.2020.02.019.
- [13] 夏雨, 张兵. 7781 例疑似血流感染患者的血培养样本病原菌分布及药敏结果分析[J]. *山东医药*, 2020, 60(3): 82-85. DOI:10. 3969/j.issn.1002-266X.2020.03.023.
- [14] Robati Anaraki M, Nouri-Vaskeh M, Abdoli Oskouie S. Effectiveness of procalcitonin-guided antibiotic therapy to shorten treatment duration in critically-ill patients with bloodstream infections: a systematic review and meta-analysis[J]. *Infez Med*, 2020, 28(1): 37-46.
- [15] Özdemir ZC, Düzenli-Kar Y, Canik A, et al. The predictive value of procalcitonin, C-reactive protein, presepsin, and soluble-triggering receptor expressed on myeloid cell levels in bloodstream infections in pediatric patients with febrile neutropenia[J]. *Turk J Pediatr*, 2019, 61(3): 359-367. DOI: 10. 24953/turkjped. 2019. 03. 007.
- [16] 何焕江, 李梅. 降钙素原与白介素 6 对不同菌株血流感染预测价值研究[J]. *黑龙江医学*, 2020, 44(1): 108-110. DOI:10. 3969/j.issn.1004-5775.2020.01.044.
- [17] 胡琴雪, 王建蓉, 柳巧, 等. 可溶性髓系细胞触发受体 1、降钙素原、中性粒细胞与淋巴细胞比值与血流感染患者预后关系研究[J]. *实用心脑血管病杂志*, 2020, 28(9): 57-60, 66. DOI: 10.3969/j.issn.1008-5971.2020.09.012.
- [18] 牛新荣, 肖东, 张大权. 降钙素原联合炎症指标鉴别革兰阳性与阴性菌致血流感染的临床价值[J]. *中国医药*, 2019, 14(8): 1252-1255. DOI:10.3760/j.issn.1673-4777.2019.08.033.
- [19] 王宇, 沈丽荣, 冯宗太, 等. 人免疫球蛋白治疗新生儿肺炎患儿的疗效及对血清 IL-6、PCT 水平的影响[J]. *疑难病杂志*, 2020, 19(11): 1102-1105, 1110. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.11.005.
- [20] Barnawi AI, Kordy FN, Almuwallad OK, et al. Early neonatal sepsis and meningitis caused by *Elizabethkingia meningoseptica* in Saudi Arabia[J]. *Saudi Med J*, 2020, 41(7): 753-756. DOI: 10. 15537/smj. 2020. 7. 25720.
- [21] Koizumi Y, Sakanashi D, Mohri T, et al. Can presepsin uniformly respond to various pathogens - an in vitro assay of new sepsis marker[J]. *BMC Immunol*, 2020, 21(1): 33. DOI: 10. 1186/s12865-020-00362-z.
- [22] 高凤英, 冯建宏. 血清可溶性髓样细胞触发受体-1 对脓毒症患者的早期诊断价值[J]. *山西医药杂志*, 2018, 47(22): 2677-2679. DOI: 10. 3969/j. issn. 0253-9926. 2018. 22. 014.
- [23] 彭程, 黎金雨, 赵云, 等. 呼吸道合胞病毒毛细支气管炎患儿中 TREM-1/DAPI2 通路关键信号节点的表达[J]. *中国感染控制杂志*, 2020, 19(5): 433-439. DOI:10.12138/j.issn.1671-9638.20205608.

(收稿日期:2020-09-29)

## 撰写医学论文主体部分的要求

- 前言** 概述研究的背景、目的、研究思路、理论依据、研究方法、预期结果和意义等。仅提供与研究主题紧密相关的参考文献,切忌写成文献综述。不要涉及本研究中的数据或结论。一般以 200~300 个汉字为宜,占全文字数的 5% 左右。
- 方法** 描述研究对象(人或实验动物,包括对照组)的选择及其基本情况,以及研究所采用的方法(包括分组方法)。实验研究的论文常写成“材料与与方法”,临床研究论文常写成“资料与方法”。临床试验研究还应说明试验程序是否经所在单位或地区伦理学相关机构的批准,研究对象是否知情同意并签署知情同意书。
  - 观察对象:** 观察对象为患者,需注明病例和对照者来源、选择标准、一般情况、观察指标和疗效判断标准等。研究对象为实验动物,需注明动物的名称、种系、等级、数量、来源、性别、年龄、体重、饲养条件和健康状况等。
  - 研究方法:** 详述新创的方法及改良方法的改进之处,以备他人重复。采用他人方法,应以引用文献的方式给出方法的出处,无须详细描述。
  - 药品与试剂:** 药品及化学试剂使用通用名称,并注明剂量、单位、纯度、批号、生产单位、生产时间及给药途径。
  - 仪器、设备:** 应注明名称、型号、规格、生产单位、精密度或误差范围。无须描述工作原理。
  - 统计学处理:** 描述统计学方法及其选择依据,并说明所使用的统计学软件。
- 结果** “结果”是指实验所得数据、观察记录,经过综合分析和统计学处理的结果,而不是原始数据,更不是原始记录。按逻辑顺序在正文的文字、表格和图中描述所获得的结果。结果的叙述应实事求是,简洁明了,数据准确,层次清楚,逻辑严谨,不应与讨论内容相混淆。应着重总结重要的研究成果。以数据反映结果时,应注意不能只描述导数(如百分数),还应同时给出据以计算导数的绝对数。一般应对所得数据进行统计学处理,并给出具体的统计值,例如:  $t = 2.85, P < 0.01$ 。
- 讨论** “讨论”是对研究结果的科学解释与评价,是研究所形成的科学理论。着重讨论研究结果的创新之处及从中得出的结论,包括理论意义、实际应用价值、局限性,及其对进一步研究的启示。如果不能导出结论,也可通过讨论,提出建议、设想、改进意见或待解决的问题等。应将本研究结果与其他有关的研究相比较,并将本研究结论与目的联系起来讨论,并列相关参考文献。不必重述已在前言和结果部分详述过的数据或资料。不应列入图或表。

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.04.013

论著·临床

# 白塞综合征 20 例临床特征及心血管影像学分析

杨琳, 赵蕾, 徐超, 毕涛, 慈维革, 万瑾

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81771787)

作者单位: 100029 首都医科大学附属北京安贞医院医学影像科(杨琳、赵蕾、徐超、毕涛), 风湿免疫科(慈维革、万瑾)

通信作者: 赵蕾, E-mail: s2006430@126.com

**【摘要】** 回顾性分析 2018 年 1 月—2020 年 8 月首都医科大学附属北京安贞医院风湿免疫科治疗的白塞综合征患者 20 例的临床及影像学检查资料。20 例患者中, 男 4 例, 女 16 例, 平均年龄 41.2 岁, 平均病程 17.0 年。超声、CT 及 MR 检查发现心血管系统受累 13 例, 主要表现为主动脉瓣脱垂并重度关闭不全, 主动脉瘤、主动脉假性动脉瘤、主动脉溃疡、主动脉分支血管狭窄或闭塞等; 肺栓塞 2 例, 下肢静脉血栓 1 例。全部患者均接受激素和/或免疫抑制剂治疗。3 例行主动脉瓣置换术, 术后随访 6 个月, 发生瓣周漏 1 例并行二次 Bentall 术治疗, 主动脉瓣下假性动脉瘤 1 例, 无异常 1 例。2 例行腹主动脉腔内隔离术治疗, 术后随访 1 年, 发现支架周围脓肿 1 例, 支架远端假性动脉瘤 1 例。结果提示白塞综合征累及心血管系统时表现多样, 早期诊断及手术治疗困难。临床联合应用多种无创心血管影像学检查手段, 可为白塞综合征患者心血管系统受累的诊断、治疗、随访及预后评估提供全面的心血管病变影像学信息。

**【关键词】** 白塞综合征; 心血管系统受累; 影像特征**【中图分类号】** R597.9 **【文献标识码】** A

**Analysis of cardiovascular imaging and clinical features in 20 cases of Behcet's syndrome** Yang Lin\*, Zhao Lei, Xu Chao, Bi Tao, Ci Weiping, Wan Jin. \* Department of Radiology, Beijing Anzhen Hospital, Capital Medical University, Beijing 100029, China

Corresponding author: Zhao Lei, E-mail: s2006430@126.com

Funding program: National Natural Science Foundation of China(81771787)

**【Abstract】** The clinical and imaging data of 20 patients with Behcet's syndrome admitted to Beijing Anzhen Hospital, Capital Medical University from January 2018 to August 2020 were collected for retrospective analysis. Among the 20 patients, 16 were female (80%), with an average age of 41.2 years and an average clinical course of 17.0 years. 13 cases were found to be involved in the cardiovascular system through Ultrasound, CT and MR imaging examinations of the cardiovascular system. The main manifestations were aortic valve prolapse and severe regurgitation, aortic aneurysm, aortic pseudoaneurysm, aortic ulcer, aortic branch vascular stenosis, occlusion, etc.; another 2 cases of pulmonary embolism, 1 case of lower limb venous thrombosis. All patients received hormone and/or immunosuppressive therapy. 3 cases underwent aortic valve replacement, and the imaging examination for half a year after the operation revealed 1 case of paravalvular leak and performed second Bentall operation, 1 case of subvalvular pseudoaneurysm. Two cases underwent endovascular isolation of the abdominal aorta, and 1 case of persistent abscess and 1 case of pseudoaneurysm at the distal end of the stent were found in imaging examination during the 1-year follow-up. The results indicate that Behcet's syndrome has various manifestations when it involves the cardiovascular system, and early diagnosis and surgical treatment are difficult. The combined clinical application of a variety of non-invasive cardiovascular imaging examination methods can provide comprehensive imaging information for the diagnosis, treatment, follow-up and prognosis evaluation of cardiovascular system involvement in patients with Behcet's syndrome.

**【Key words】** Behcet's syndrome; Cardiovascular system involvement; Imaging characteristics

白塞综合征(Behcet's syndrome, BS)是一种以反复发作的口腔溃疡、外阴溃疡、皮肤病变和眼葡萄膜炎为主要临床特征,以广泛血管炎为基本病理特征的一种可累及包括心血管系统在内的多系统、多器官损害

的全身性疾病<sup>[1]</sup>。现对白塞综合征患者 20 例的临床及影像学特征进行回顾性分析,报道如下。

## 1 临床资料

### 1.1 一般资料

收集 2018 年 1 月—2020 年 8 月首都



医科大学附属北京安贞医院风湿免疫科收治的白塞综合征患者 20 例。其中,男 4 例,女 16 例,年龄 21 ~ 69 (41.2 ± 12.6) 岁;病程 0.1 ~ 57.0 (17.0 ± 14.6) 年。均无家族遗传史。既往有结核病史 3 例,合并高血压 3 例,高脂血症 1 例。影像学检查发现心血管系统受累 13 例,年龄 21 ~ 69 (44.9 ± 13.8) 岁,病程 3.0 ~ 57.0 (21.7 ± 15.6) 年;影像学未发现心血管系统受累 7 例,年龄 29 ~ 45 (34.3 ± 6.2) 岁,病程 0.1 ~ 20.0 (8.3 ± 6.9) 年。

1.2 诊断依据 20 例均符合 1990 年国际白塞综合征研究组 (ISG) 制定的白塞综合征诊断标准<sup>[2]</sup>: (1) 反复口腔溃疡 (每年至少发作 3 次肯定的阿弗他溃疡或疱疹性溃疡); (2) 反复外阴溃疡 (经医生确诊或本人确认为外阴溃疡或瘢痕); (3) 眼病 (前色素膜炎、后色素膜炎、视网膜血管炎、玻璃体浑浊); (4) 皮肤病变 (结节红斑、假性毛囊炎、脓性丘疹、青春期后痤疮样结节); (5) 针刺反应阳性。具备反复口腔溃疡并其他 4 条标准中的 2 条即可确诊。

1.3 临床特征 反复口腔溃疡 19 例,外阴溃疡 8 例,皮肤改变 10 例 (主要表现为结节性红斑),眼部病变 4 例 (主要表现为虹膜炎、视网膜血管炎等),针刺反应阳性 3 例,关节炎 4 例,肠道溃疡 2 例,肺结核 7 例。此外,5 例患者出现心血管系统相关症状,表现为胸闷、心悸或短暂意识丧失等;伴高血压 3 例。

1.4 实验室检查 白细胞总数或中性粒细胞升高 5 例,红细胞沉降率升高 3 例,C 反应蛋白增高 2 例,总补体增高 2 例,白介素及 TNF- $\alpha$  升高 7 例,凝血功能相关指标异常 7 例 (APTT、D-二聚体或血浆纤维蛋白原升高),抗核抗体阳性 1 例 (抗双链 DNA 抗体、抗中性粒细胞胞浆抗体、抗磷脂抗体及抗 SSA 抗体均为阴性)。

1.5 心血管系统影像学表现 (1) 外周血管:上下肢动静脉超声检查显示,双上肢动静脉均未见异常;双下肢动脉多发斑块、管腔狭窄或闭塞 5 例,下肢静脉血栓 1 例。(2) 颅内动脉:颅脑动脉 MRA 检查显示大脑中动脉狭窄 1 例。(3) 主动脉及分支:主动脉及冠状动脉 CT 成像 15 例,主动脉 MR 7 例。主动脉及分支病变 13 例,主要表现为:主动脉瓣脱垂并重度关闭不全 4 例,伴主动脉瓣狭窄 1 例;主动脉根部瘤 2 例;升主动脉瘤 1 例;升主动脉假性动脉瘤 1 例;主动脉弓部溃疡 2 例;降主动脉瘤 1 例,降主动脉溃疡 1 例,降主动脉管壁环形增厚并管腔狭窄 1 例;腹主动脉假性动脉瘤 2 例,腹主动脉溃疡 2 例。主动脉分支情况:右冠状动脉近段管壁环形增厚并狭窄 2 例;无名动脉瘤 1 例,

无名动脉狭窄 1 例;锁骨下动脉狭窄或闭塞 4 例,锁骨下动脉瘤 1 例;颈动脉狭窄或闭塞 7 例;腹腔干动脉狭窄 2 例;肠系膜上动脉狭窄或闭塞 2 例;肾动脉狭窄或闭塞 2 例;髂动脉狭窄或闭塞 3 例。(4) 肺动脉 CT 血管成像 14 例:肺动脉栓塞 2 例,未见肺动脉扩张改变。(5) 心内结构心脏超声检查 20 例:主动脉瓣及升主动脉病变情况与 CT、MR 检查所见一致,并发现二尖瓣反流 1 例,三尖瓣反流 1 例,室间隔缺损修补术后 1 例,左心室增大 7 例,左心房增大 5 例,右心室增大 1 例;心脏磁共振成像检查 1 例,发现左室心肌内斑片样异常延迟强化信号。

1.6 治疗及预后 20 例患者中,激素联合免疫抑制剂治疗 15 例,单纯免疫抑制剂治疗 3 例,单纯采用激素治疗 2 例;此外,抗凝治疗 3 例,降压药物治疗 3 例;主动脉瓣置换术 3 例 (主动脉瓣机械瓣置换手术 2 例,生物瓣置换 1 例)。术后 6 个月随访:术后 1 个月发生机械瓣周漏 1 例,二次手术行带人工血管的主动脉瓣置换及左心室流出道成形术 (Bentall 手术);发生机械瓣下假性动脉瘤 1 例,尚未行二次手术治疗;生物瓣置换术后未发生瓣膜及瓣周异常改变 1 例。3 例患者手术病理主要发现主动脉瓣及瓣周炎,瓣膜纤维组织增生并大量淋巴细胞、浆细胞浸润;组织培养未见细菌及其他病原体生长。腹主动脉腔内隔离术治疗 2 例,术后 1 年随访发现腹主动脉支架周围脓肿 1 例,给予激素、免疫抑制剂及抗生素联合治疗,并行脓肿切开引流术;腹主动脉支架远端出现假性动脉瘤 1 例,采用激素联合免疫抑制剂治疗,尚未行二次介入或手术治疗。

## 2 讨论

白塞综合征是一种以血管炎为基本病变的慢性、进行性、复发性多系统损害的疾病,心血管系统也可受累<sup>[3]</sup>。不同研究报道 7% ~ 46% 的 BS 患者有心血管受累表现,以静脉血栓发生率最高 (15% ~ 40%),动脉受累的发生率虽然只有 3% ~ 5%,却是严重影响患者病死率的独立危险因素,血管受累严重的患者病死率可高达 20%<sup>[4-5]</sup>。随着受累血管的类型、大小、部位、范围不同,其表现多种多样,主要包括急性心肌梗死、心脏瓣膜病变、动脉瘤、动脉闭塞性病变、静脉血栓、肺栓塞、肺动脉瘤、心脏传导系统障碍、心内膜纤维化、心腔内血栓形成、心肌炎、心包炎等<sup>[3-7]</sup>。本组 20 例 BS 患者中发现心血管系统受累 13 例,其中以主动脉瓣、主动脉及分支受累多见,主动脉病变以瘤样扩张或假性动脉瘤形成为主要表现。

由于目前 BS 的临床诊断仍主要依据临床症状及体征,并无特异性的实验室诊断标准及组织学标准,易



引起误诊、漏诊<sup>[8]</sup>。本组中,4 例患者主因胸闷、心悸、血压升高或晕厥就诊,追问病史才发现 BS 相关症状及体征。由此可见,临床中以心血管系统症状就诊的患者,需要及时发现其他系统相关症状,以免在后续治疗中因病因诊断不明影响治疗效果。此外,对已确诊 BS 患者血管损伤的早期诊断也较为困难,多数患者仅在出现心血管系统临床表现时才进行相关影像学检查,多数已出现严重的血管壁损伤及管腔形态的异常改变。本组研究发现,心血管系统未明显受累的 BS 患者年龄较轻,患病时间较短,随着患病时间的延长,会逐渐出现心血管系统受累表现。因此,对于已确诊 BS 的患者,应在积极控制炎性细胞反应的同时,尽早通过无创影像学检查手段全面评估心血管病变情况并定期复查,将对延缓病情进展,改善患者预后有很大帮助。

影像学检查在 BS 患者心血管系统病变的诊断及随访中具有很重要的应用价值。目前,以无创性的心脏及血管超声、CT 及 MR 检查在临床中应用最为普遍<sup>[4,6,9-10]</sup>。心脏及血管超声是一种有效、便捷的检测心血管系统受累的方法,特别是对 BS 患者的瓣膜受累情况,如瓣叶形态、运动及瓣口血流等情况做出准确判断,同时对合并主动脉根部病变也可做出诊断<sup>[3]</sup>。心血管 CT 及 MR 成像检查较超声具有更高的空间分辨力及组织分辨力,在 BS 心血管系统受累评价中同样具有重要的应用价值,特别是在判断肺血管病变情况中具有更大诊断优势。CT 和 MR 检查可对心血管结构进行准确的测量和多角度直观的形态学显示,还可进行增强、灌注及延迟强化扫描以评价血管壁及周围组织受累程度、心肌损伤及供血器官灌注情况等。此外,心脏 MR 成像可对炎性心肌水肿、纤维化等病变进行评价,但由于该检查耗时长、有操作者依赖及检查设备禁忌证等原因,其临床应用还不够普遍,本组中仅 1 例患者进行了心脏 MR 检查并发现心肌内异常延迟强化信号,心肌内损伤的出现对 BS 患者的预后影响尚需进一步随访观察。不同的影像学检查方法各有其优缺点,可联合多种检查方式对 BS 患者的心血管系统情况进行全面评估,有助于对患者的治疗及预后进行评估。

对心血管系统受累的 BS 患者,以治疗原发病为基础,西医常规采用激素和/或免疫抑制剂治疗。此外,也有研究指出中西医结合治疗效果更显著,且有助于减轻不良反应<sup>[11-12]</sup>。对 BS 合并静脉血栓者,需进行抗凝治疗并严密监测凝血功能,防止动脉瘤破裂、出血等危险发生。BS 合并动脉损害,如主动脉瓣关闭不全、主动脉瘤等病变时,多数就诊时已有严重损害,治

疗困难。需要在基础药物治疗的同时行瓣膜置换、主动脉置换或动脉支架植入等手术治疗,但术后出现并发症的几率较高,往往需要多次手术<sup>[13]</sup>。多项研究显示,BS 患者行单纯主动脉瓣置换术后瓣周漏、瓣膜脱落等严重并发症的发生率高达 30% ~ 90%<sup>[3,14]</sup>。本组术后随访结果也证明了这一特点。不断有研究尝试对动脉炎性主动脉瓣及主动脉病变的手术治疗方式进行改良,可在一定程度上减少术后并发症的发生<sup>[15-16]</sup>。此外,选择在 BS 稳定期手术,围手术期进行严格的激素及免疫抑制剂治疗,都有助于提高手术疗效。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

杨琳:设计研究方案,实施研究过程,分析试验数据,论文撰写;赵蕾:提出研究思路,文献调研,论文审核;徐超、毕涛:实施研究过程,影像资料搜集整理,论文修改;慈维莘、万瑾:临床资料搜集整理,临床数据分析

**参考文献**

- [1] Kural-Seyahi E, Fresko I, Seyahi N, et al. The long-term mortality and morbidity of Behcet syndrome: a 2-decade outcome survey of 387 patients followed at a dedicated center [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2003, 82(1):60-76. DOI: 10.1097/00005792-200301000-00006.
- [2] International Study Group for Behcet S Disease. Criteria for diagnosis of Behcet's disease [J]. *Lancet*, 1990, 335(8697):1078-1080. DOI: 10.1016/0140-6736(90)92643-v.
- [3] Lee I, Park S, Hwang I, et al. Cardiac Behcet disease presenting as aortic valvulitis/aortitis or right heart inflammatory mass: a clinicopathologic study of 12 cases [J]. *Am J Surg Pathol*, 2008, 32(3): 390-398. DOI: 10.1097/PAS.0b013e31814b23da.
- [4] Atzeni F, Sarzi-Puttini P, Doria A, et al. Behcet's disease and cardiovascular involvement [J]. *Lupus*, 2005, 14(9): 723-726. DOI: 10.1191/0961203305lu2208oa.
- [5] Saadoun D, Wechsler B, Desseaux K, et al. Mortality in Behcet's disease [J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 62(9): 2806-2812. DOI: 10.1002/art.27568.
- [6] Emmi G, Bettiol A, Silvestri E, et al. Vascular Behcet's syndrome: an update [J]. *Intern Emerg Med*, 2019, 14(5):645-652. DOI: 10.1007/s11739-018-1991-y.
- [7] Huong DL, Wechsler B, Papo T, et al. Endomyocardial fibrosis in Behcet's disease [J]. *Ann Rheum Dis*, 1997, 56(3): 205-208. DOI: 10.1136/ard.56.3.205.
- [8] 李晓建,史玉玲,顾俊瑛,等. 白塞综合征 128 例临床分析[J]. *临床皮肤科杂志*, 2012, 41(1): 14-17. DOI: 10.3969/j.issn.1000-4963.2012.01.006.
- [9] 张兆琪,马晓海. 3.0T 高场磁共振在心血管疾病中的应用进展[J]. *疑难病杂志*, 2009, 8(3):129-130. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2009.03.001.

(下转 390 页)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.04.014

论著·临床

## 催产素受体基因多态性与分娩方式关系的初步研究

吕青青,张洪影,孙丽芳,丁楠,徐宇菲,鄂文

作者单位: 100096 北京积水潭医院妇产科(吕青青、孙丽芳);100091 北京大学医学部病理学系(张洪影、丁楠、徐宇菲、鄂文)  
通信作者: 孙丽芳, E-mail: lifangun2000@163.com

**【摘要】目的** 比较剖宫产和阴道分娩产妇催产素受体基因型的差异。**方法** 选取 2016 年 9 月—2017 年 1 月北京积水潭医院妇产科住院单胎足月妊娠妇女 150 例,采集孕期信息、产程及分娩方式等资料,入院后取产妇静脉血检测催产素受体基因(OXTR)单核苷酸多态性(SNP)rs53576 位点等位基因“A”或“G”。比较不同基因型孕妇催产素使用情况、新生儿体质量。Logistic 回归分析分娩方式的影响因素,ROC 曲线分析催产素受体基因对分娩方式的预测价值。**结果** OXTR 基因 AA 型 80 例(53.3%),GG 型 8 例(5.4%),AG 型 62 例(41.3%)。阴道分娩 133 例(88.7%),其中 75 例(56.4%)产妇 OXTR 基因型为 AA 型纯合子;剖宫产 17 例(11.3%),其中 12 例(70.6%)OXTR 基因型为“G”表型,不同分娩方式的基因型表达比较差异有统计学意义( $\chi^2 = 4.408, P = 0.036$ )。阴道分娩产妇中,OXTR rs53576“G”表型产妇催产素使用率高于 AA 型产妇,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。不同 OXTR rs53576 基因型新生儿体质量比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。ROC 曲线分析表明,OXTR 基因型“G”表型预测分娩方式的 AUC 为 0.820。**结论** 不同催产素受体基因型产妇最终的分娩方式不同,OXTR SNP rs53576 位点“G”表型可能与产程较慢相关,有此等位基因的产妇更多以剖宫产终止妊娠。

**【关键词】** 催产素受体基因;rs53576;阴道分娩;剖宫产**【中图分类号】** R714.3 **【文献标识码】** A

**Methylation of oxytocin receptor gene polymorphism in women undergoing cesarean section compare to vaginal delivery.** Lyu Qingqing\*, Zhang Hongying, Sun Lifang, Ding Nan, Xu Yufei, E Wen. \*Department of Obstetrics and Gynecology, Beijing Jishuitan Hospital, Beijing 100096, China

Corresponding author: Sun Lifang, E-mail: lifangun2000@163.com

**【Abstract】 Objective** To compare the genotypes of oxytocin receptor between cesarean section and vaginal delivery. **Methods** A total of 150 nulliparous parturients were enrolled from September 2016 to January 2017 in Beijing Jishuitan Hospital. Parturient who anticipated vaginal delivery of a singleton infant of estimated gestational age of 37-42 weeks. Demographic and clinical dates of labor and delivery mode were collected. The oxytocin receptor (OXTR) gene was detected in venous blood after parturition, and the allele "A" or "G" of OXTR SNP rs53576 was detected. **Results** Among 150 subjects, 53.3% (80/150) of OXTR genotype were AA, 5.4% (8/150) were GG and 41.3% (62/150) were AG. The rate of vaginal delivery was 88.7% (133/150). There was 75 cases (56.4%) of vaginal delivery women were AA genotype of OXTR gene, and 12 cases (70.6%) of cesarean delivery women were GG or AG genotype, with significant difference between them ( $\chi^2 = 4.408, P = 0.036$ ). For parturients with vaginal delivery, OXTR rs53576 genotype GG or AG used more oxytocin than AA genotype, but there was no statistical significance ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** Parturients with different oxytocin receptor gene expression have different delivery mode. The "G" genotype of OXTR SNP rs53576 may be associated with a slower labor process, and more parturients with this allele terminate pregnancy by cesarean section.

**【Key words】** Oxytocin receptor gene; rs53576; Vaginal delivery; Cesarean section

人类分娩启动和开始的生理机制目前仍不明确,现在认为分娩是多因素作用、多种途径调节和多个阶段变化的过程,在临床常使用催产素作为启动和促进产程进展的药物,但催产素的具体作用机制仍有待研究。催产素水平升高或子宫肌层催产素受体数量增加

是人类分娩发动的主要因素。有研究发现,催产素受体基因影响第一产程时间,催产素受体基因单核苷酸多态性(SNP)rs53576 为 GG 表型的孕妇进入活跃期较晚,总产程较长<sup>[1]</sup>。本研究比较催产素受体基因在阴道分娩及剖宫产孕妇中分布差异及其在分娩过程中

的作用,报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2016 年 9 月—2017 年 1 月于北京积水潭医院妇产科收治的妊娠足月计划阴道分娩单胎妊娠妇女 150 例为研究对象,年龄( $29.38 \pm 2.67$ )岁,身高( $162.56 \pm 4.37$ )cm, BMI( $21.78 \pm 3.01$ ) kg/m<sup>2</sup>,分娩孕周  $37^{+2} \sim 41^{+5}$  周。入院当天采集产妇的年龄、身高、孕次,核对妊娠周数,分娩当天的体质指数(BMI),分娩当天记录产程进展:宫口开大、胎心变化及胎头下降情况及最终的分娩结局。本研究经医院伦理委员会批准,孕妇及家属均知情同意并签署协议书。

1.2 选择标准 (1)纳入标准:初产妇、自然受孕,入院评估预计胎儿体质量 $\leq 4\ 000$  g,并计划阴道分娩的孕妇;以剖宫产分娩的孕妇选取因“产程停滞”在第一产程中行剖宫产分娩者。(2)排除标准:合并妊娠高血压疾病、多胎妊娠及异常胎位的孕妇;而剖宫产孕妇,除外因孕妇意愿、胎儿因素、宫内感染等行剖宫产分娩孕妇。

1.3 产程中催产素使用情况 观察并记录每例孕妇产程进展,若宫缩不规律,可使用催产素促进产程进展。参照 2014 年我国妊娠晚期引产指南<sup>[2]</sup>中的催产素使用规范,起始催产素应从小剂量循序增量,起始剂量为 2.5 U 溶于乳酸钠林格注射液 500 ml 中(0.5% 浓度)静脉滴注,每分钟 8 滴开始,根据宫缩、胎心情况调整滴速,一般每隔 20 min 调整 1 次。应用等差法,即从每分钟 8 滴调整至 16 滴,再增至 24 滴;也可从每分钟 8 滴开始,每次增加 4 滴,根据宫缩情况调整滴速,直到出现有效宫缩则维持现有滴速及浓度。统计在产程中使用催产素的个体。

## 1.4 观测指标与方法

1.4.1 催产素受体基因单核苷酸多态性(SNP) rs53576 位点等位基因“A”或“G”检测:产妇入院后取静脉血 2 ml,于采集后 8 h 内冷链运送,无菌条件下  $2 \sim 8^{\circ}\text{C}$  保存 2 d,经血液基因组 DNA 提取后  $-20^{\circ}\text{C}$  以下保存。DNA 提取:试剂盒购于北京庄盟国际生物科技有限公司,在 1.5 ml 离心管中加入 10  $\mu\text{l}$  蛋白酶 K 和 EDTA 抗凝全血 100  $\mu\text{l}$  并混匀,离心 10 s,加入缓冲液 B 200  $\mu\text{l}$  颠倒混匀,  $56^{\circ}\text{C}$  放置 10 min,期间颠倒混匀 2~3 次,加入无水乙醇 200  $\mu\text{l}$  颠倒混匀,并加入吸附柱离心 30 s,弃除废液,将吸附柱放回收集管,向吸附柱中加入缓冲液 C 500  $\mu\text{l}$ ,离心 30 s 倒掉废液,将吸附柱放回收集管,向吸附柱中加入漂洗液 W 2 700  $\mu\text{l}$ ,离心 30 s 倒掉废液,将吸附柱

放回收集管,然后离心 2 min,将吸附柱置于一个新的 1.5 ml 离心管中,室温放置数分钟,以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液,向吸附膜中间部位悬空滴加洗脱缓冲液 TE 100  $\mu\text{l}$ ,室温放置 2~5 min,离心 2 min,收集管中即为基因组 DNA。PCR 扩增:使用由北京大学医学部病理学系自主设计探针和引物,荧光 PCR 仪扩增。使用单链多态性分析仪(杭州柏恒科技有限公司,型号 GT6022),通过 Taq-man 荧光 PCR 检测待检样品候检位点的基因型,不同基因型显示结果各异:AA 型显示结果为 FAM 标记探针扩增;AG 型和 GG 型结果为 FAM 标记探针和 VIC 标记探针同时扩增,或者 VIC 标记探针扩增。根据催产素受体基因分型进行分组:由于 rs53576 表型分布不均,结合已有的实验,本研究分为“A”(即 AA 型)表型组和“G”(即 AG/GG)表型组。

1.4.2 产程进展及分娩结局:对同一时间段入院孕产妇常规进行产科入院评估,评估一般生命体征,宫颈成熟度、胎儿情况,产程处理按照《妇产科学(第 9 版)》<sup>[3]</sup>产程处理原则,产程中由 2 名经验丰富的助产人员评估宫颈口扩张及胎头下降程度,并绘制产程图,产程中持续使用胎心监护,剖宫产的指征按照《妇产科学(第 9 版)》原则,并记录分娩方式。

1.4.3 新生儿出生体质量:新生儿分娩后测量出生体质量。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 22.0 软件对数据进行统计分析。计数资料以频数或率(%)表示,比较采用  $\chi^2$  检验;符合正态分布计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,比较采用独立样本 *t* 检验;采用 Logistic 回归分析相关因素对分娩方式的影响,并对有意义的变量绘制 ROC 曲线,以催产素受体基因评判阴道分娩及剖宫产分娩过程。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 分娩及催产素应用情况 150 例产妇中顺利阴道分娩 133 例(88.7%),行剖宫产分娩 17 例(11.3%),手术指征分别为产程进展停滞或引产。150 例产妇产程中使用催产素(原因分别为宫缩乏力、产程停滞)42 例(28.0%),其中 12 例(28.6%)以剖宫产为分娩结局;未使用催产素 108 例(72.0%),其中 5 例(4.7%)以剖宫产为分娩结局,两者剖宫产比较差异有统计学意义( $\chi^2 = 17.250, P = 0.000$ )。

2.2 催产素受体基因(rs53576)表达情况 150 例产妇中 OXTR rs53576 位点为 AA 型 80 例(53.3%),GG 型 8 例(5.4%),AG 型 62 例(41.3%)。阴道分娩产妇 OXTR rs53576 为 AA 型纯合子多于 GG/AG 型,剖

宫产产妇以 GG/AG 型为主, 2 组基因型分布比较差异有统计学意义( $\chi^2 = 4.408, P = 0.036$ ), 见表 1。

表 1 不同分娩方式催产素受体基因 rs53576 位点表型比较 [例(%)]

分娩方式	AA 型(n=80)	AG/GG 型(n=70)	$\chi^2$ 值	P 值
阴道分娩	75(56.4)	58(43.6)	4.408	0.036
剖宫产	5(29.4)	12(70.6)		

2.3 催产素使用情况与基因型比较 比较产程中使用催产素和未使用催产素的产妇 OXTR 的 SNP, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。阴道分娩 133 例产妇, 产程中使用催产素和未使用催产素的 OXTR 基因 rs53576 表达差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 见表 2。

表 2 催产素不同使用情况催产素受体基因 rs53576 位点基因型比较 [例(%)]

催产素使用	AA 型	AG/GG 型	$\chi^2$ 值	P 值
催产素使用	80	70		
使用催产素	58(53.7)	50(46.3)	0.021	0.884
未使用催产素	22(52.4)	20(47.6)		
阴道分娩者催产素使用	75	58		
使用催产素	55(53.4)	48(46.6)	1.663	0.197
未使用催产素	20(66.7)	10(33.3)		

2.4 新生儿体质量比较 “G” 表型(GG/AG)的新生儿出生体质量为( $3432.86 \pm 387.76$ )g, “AA” 表型的为( $3410.63 \pm 344.92$ )g, 两者比较差异无统计学意义( $t = 0.706, P = 0.402$ )。剖宫产分娩的新生儿体质量为( $3435.29 \pm 435.81$ )g, 阴道分娩为( $3419.17 \pm 356.21$ )g, 两者比较差异亦无统计学意义( $t = 0.247, P = 0.620$ )。

2.5 催产素受体基因型对分娩方式的预测 采用二分类 Logistic 回归分析评估年龄、孕前催产素受体基因型和产程中是否使用催产素对分娩方式的影响。最终得到的 Logistic 模型具有统计学意义( $\chi^2 = 24.974, P < 0.000$ ), 模型正确率 88.7%, 敏感度 17.6%, 特异度 97.7%, 阳性预测值 50%, 阴性预测值 90.9%。绘制 ROC 曲线, AUC 为 0.820(95% CI 0.700 ~ 0.940,  $P = 0.000$ ), 见图 1。将上述结果中  $P < 0.05$  的 3 个变量

纳入模型, 年龄每增加 1 岁, 以剖宫产分娩的风险增加 27.9% ( $OR = 1.279, 95\% CI 1.021 \sim 1.602, P = 0.032$ ), 催产素受体基因型“G”表型的孕妇以剖宫产分娩的风险增加 ( $OR = 3.633, 95\% CI 1.096 \sim 12.046, P = 0.035$ ), 催产素使用的产妇剖宫产分娩的风险增加 ( $OR = 11.979, 95\% CI 3.456 \sim 41.529, P = 0.000$ ), 见表 3。

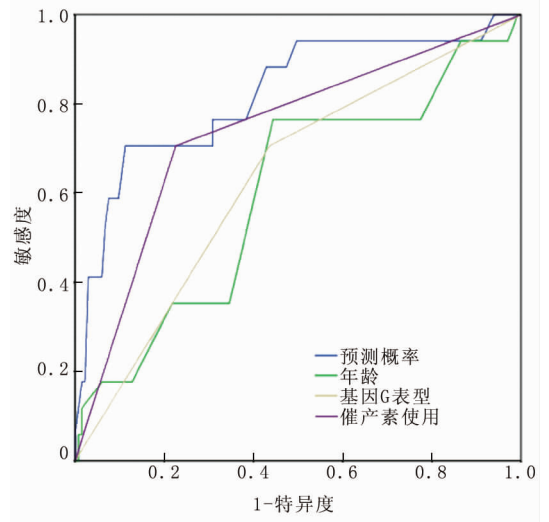


图 1 不同因素预测分娩方式的 ROC 曲线

### 3 讨论

20 世纪 90 年代开始, 全球的剖宫产率逐渐升高, 2009 年美国的剖宫产率为 32.9%, 其中以“产程异常”为剖宫产手术指征者占 1/3, 而“孕妇要求”的剖宫产只占 3.0%, 大多数人是由于“产程停滞”行剖宫产<sup>[4-5]</sup>。2018 年我国的剖宫产率由 2008 年的 28.8% 上升至 36.7%, 但是在临床中, 产程可能并没有“停滞”仅是慢于预期<sup>[1]</sup>, 产程变慢会使剖宫产率增加。近年研究提示, 不同个体进入活跃期的起点均是不同的, 若在临床中特异地分析每个患者的特点, 可在一定程度上避免不必要的剖宫产手术。这就提出了从个体的内在因素分析产程的启动及进展。

催产素受体等子宫肌收缩相关蛋白与分娩的启动及发展息息相关, 催产素受体在很多生理反射中起重要作用, 例如平滑肌收缩、乳汁分泌及多种社会行为<sup>[6-7]</sup>。催产素受体受到物理(牵拉)和体液的调节,

表 3 不同因素对分娩方式影响的 Logistic 回归分析

变量	$\beta$ 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值(95% CI)
年龄	0.246	0.115	4.594	0.032	1.279(1.021 ~ 1.602)
催产素受体基因型“G”表型	1.290	0.612	4.450	0.035	3.633(1.096 ~ 12.046)
催产素使用	2.483	0.634	15.326	0.000	11.979(3.456 ~ 41.529)

不仅是由类固醇激素水平调控转录, 尽管经过多年的研究, 催产素受体在人类分娩子宫空间和时间上的调控仍未探明。2017 年 Reini 等<sup>[8]</sup>发现 3 种催产素受体的变化, 可以预测催产素受体功能的受损, 在子宫肌层组织中缺乏催产素受体的患者, 提示产程中需使用大剂量催产素以促进产程进展。2008 年 Henriksen 等<sup>[9]</sup>关于难产的家族相关性研究发现了催产素基因和催产素受体基因的关联, 提示产程的进展与遗传因素相关, 催产素及其受体基因可能为影响产程的内在因素。

OXTR 位于 3p25~3p26 上, rs53576 为定位于第 3 个内含子的单核苷酸多态性<sup>[10]</sup>, 分为 AA/AG/GG 3 种表型。在不同的人群中 OXTR SNP 不同。根据美国国立生物技术信息中心 (NCBI) 数据库提供的欧洲人群 rs53576 SNP 的分布: A 占 35.57%, G 占 64.43%, 东亚人群 rs53576 SNP 的分布: A 占 66.5%, G 占 33.5%。Reiner 等<sup>[11]</sup>选取美国 18~22 岁的人群进行研究, 其中 42.9% 为 GG 型, 48.8% 为 AG 型, 8.3% 为 AA 型。Rijlaarsdam 等<sup>[12]</sup>对荷兰人群进行研究, 42.4% 为 GG 型, 47.1% 为 AG 型, 10.5% 为 AA 型。本研究发现, 受试者中 G 占 26.0%, A 占 74.0%, 同 NCBI 数据库中东亚人群的分布相似, 表明本组人群 OXTR rs53576 基因型分布达到遗传平衡, 具有群体代表性。

2017 年 Grotegut 等<sup>[13]</sup>发现 OXTR 基因差异与引产孕妇所需的催产素量、分娩时间和剖宫产风险有关。本研究发现, “G”表型的产妇产程较慢, 更多以剖宫产终止妊娠, Terkawi 等<sup>[1]</sup>也发现在 OXTR 基因 rs53576 位点为“G”等位基因纯合子的产妇进入活跃期较其他基因型慢 10%, 导致总产程延长近 2 h。但目前研究结果不一, Feng 等<sup>[14]</sup>有相反的结果, 其发现 OXTR rs53576 位点“G”等位基因的个体使催产素受体表达增加, 对催产素敏感, 使产程更短。根据这些研究可以推断 OXTR 基因型与产程的进展高度相关, 但在产程中的作用机制不明确。

催产素受体为子宫肌收缩相关蛋白, 同催产素共同作用, 促进子宫收缩, 妊娠期间催产素受体表达增加, 并在分娩启动达到峰值, 分娩期表达减少。推测不同 OXTR 基因型的催产素受体表达不同, 其对催产素的敏感度相应不一致, 从而影响产程进展。Spong 等<sup>[4]</sup>发现 OXTR rs53576 “G”表型使催产素受体表达降低, 功能受到抑制, 子宫肌层组织中缺乏催产素受体的产妇, 相应的其催产素 mRNA 表达增加, 此类患者在产程中需要额外添加催产素。本研究发现, 产程中使用催产素的孕妇以剖宫产为分娩结局的比率

(28.6%) 明显高于未使用催产素孕妇 (4.6%), 在建立的回归模型分析中发现, 催产素使用组剖宫产率的风险值明显高于未使用组, 推测产程中需外源性添加催产素的患者体内催产素受体缺乏, 影响子宫肌层收缩, 从而影响产程进展。针对阴道分娩的产妇分析, 可看出 OXTR rs53576 “G”表型的产妇中 82.75% (48/58) 使用催产素, 高于“G”表型产妇催产素使用率 73.3% (55/75), 虽然并没有统计学差异, 但仍可看出 OXTR “G”表型的产妇更需要使用催产素促进产程进展, 可在后续的研究中进一步扩大样本量并检测不同基因型产妇体内催产素受体的表达。以期待是否可以依据产妇的基因型决定在产程中是否添加催产素, 制定个性化的分娩方案。

研究发现, 不同 OXTR 基因型在受体表达上的差异同基因的甲基化相关, 不同片段的甲基化对于基因表达的影响是不同的<sup>[11]</sup>。5'-CpG-3' 中胞嘧啶残基的甲基化序列是哺乳动物基因组的表观遗传修饰过程之一, 与转录抑制, X 染色体失活, 印迹和寄生 DNA 序列表达的抑制有关。在哺乳动物基因组中, 有 500~2 000 个碱基对的 CpG 丰富片段, 称为 CpG 岛。大多数 CpG 岛的高甲基化会抑制该基因, 而低甲基化则可以表达组织特异性基因。在催产素受体基因中, 转录起始位点上游 140 bp 至下游 2 338 bp 有一个 CpG 岛, 为非翻译序列, 可能有助于转录调控。在肝脏细胞中, OXTR 基因的甲基化降低其表达<sup>[12]</sup>, 可以推测不同催产素受体基因表型个体的催产素受体表达差异与催产素受体基因的甲基化相关。2014 年 Dadds 等<sup>[15]</sup>研究发现, OXTR 启动子的甲基化可能会降低 OXTR rs53576 “G”表型的表达, 抑制催产素受体表达。有学者发现在 OXTR rs53576 “A”表型的个体中有明显增加的基因甲基化, 可降低 OXTR rs53576 “G”表型的表达, 从而影响产程进展。但也有研究指出催产素受体基因的甲基化同催产素基因表达是相互作用, 但不是相加作用<sup>[16]</sup>。本研究发现, “G”表型的产妇产程较慢, 更多以剖宫产终止妊娠, 可推测与不同基因型的甲基化相关, 需进一步的相关研究证明。

在此项研究中, 不同分娩方式的新生儿体质量无明显差异, 排除了因“巨大儿”导致“产程停滞”和孕产妇要求手术等因素的干扰。

人类分娩的机制目前仍不明确, 但催产素和催产素受体起一定的作用, 催产素受体基因表达的不同与分娩结局有关联, OXTR SNP rs53576 位点“G”表型可能同产程较慢相关, 有此等位基因的产妇较多以剖宫产终止妊娠。提示未来临床工作中可以根据催产素受

体基因为每位孕妇制定个性化的分娩方案,为研究分娩启动及进展的内在机制提供了一个研究思路。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

吕青青:设计研究方案,收集整理临床数据及标本,论文撰写;张洪影、丁楠、徐宇菲:完成试验实施过程;孙丽芳:提出研究思路,论文审核;鄂文:试验设计,基因检测 SNP 标记蛋白设计

**参考文献**

- [1] Terkawi AS, Jackson WM, Thiet MP, et al. Oxytocin and catechol-O-methyltransferase receptor genotype predict the length of the first stage of labor[J]. *Am J Obstet Gynecol*,2012,207(3):181-184. DOI:10.1016/j.ajog.2012.06.079.
- [2] 中华医学会妇产科学分会产科学组. 妊娠晚期促宫颈成熟与引产指南(2014)[J]. *中华妇产科杂志*,2014,49(12):881-885. DOI:10.3760/cma.j.issn.0529-567x.2014.12.001.
- [3] 谢幸,孔北华,段涛. 妇产科学[M]. 9 版. 北京:人民卫生出版社. 2018:171-177.
- [4] Spong CY, Berghella V, Wenstrom KD, et al. Preventing the first cesarean delivery: summary of a joint Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development, Society for Maternal-Fetal Medicine, and American College of Obstetricians and Gynecologists Workshop[J]. *Obstet Gynecol*,2012,120(5):1181-1193. DOI:10.1097/aog.0b013e3182704880.
- [5] Barber EL, Lundsberg LS, Belanger K, et al. Indications contributing to the increasing cesarean delivery rate[J]. *Obstet Gynecol*, 2011,118(1):29-38. DOI:10.1097/AOG.0b013e31821e5f65.
- [6] 赵慧娜,陈自喜,古航,等. 临产前子宫肌收缩相关蛋白在子宫肌中的表达及相关信号转导途径的研究[J]. *临床和实验医学杂志*,2016,15(23):2281-2284. DOI:10.3969/j.issn.1671-4695.2016.23.001.
- [7] Michalska KJ, Decety J, Liu C, et al. Genetic imaging of the association of oxytocin receptor gene (OXTR) polymorphisms with positive maternal parenting[J]. *Front Behav Neurosci*,2014,8:21. DOI:10.3389/fnbeh.2014.00021.
- [8] Reinl EL, Goodwin ZA, Raghuraman N, et al. Novel oxytocin receptor variants in laboring women requiring high doses of oxytocin[J]. *Am J Obstet Gynecol*,2017,217(2):211-214. DOI:10.1016/

j.ajog.2017.04.036.

- [9] Henriksen T. The macrosomic fetus: a challenge in current obstetrics[J]. *Acta Obstet Gynecol Scand*,2008,87(2):134-145. DOI:10.1080/00016340801899289.
- [10] Acosta H, Tuulari JJ, Kantojarvi K, et al. A variation in the infant oxytocin receptor gene modulates infant hippocampal volumes in association with sex and prenatal maternal anxiety[J]. *Psychiatry Res Neuroimaging*,2021,307:111207. DOI:10.1016/j.psychres.2020.111207.
- [11] Reiner I, Van Ijzendoorn MH, Bakermans-Kranenburg MJ, et al. Methylation of the oxytocin receptor gene in clinically depressed patients compared to controls: The role of OXTR rs53576 genotype[J]. *J Psychiatr Res*,2015,65:9-15. DOI:10.1016/j.jpsychires.2015.03.012.
- [12] Rijlaarsdam J, van Ijzendoorn MH, Verhulst FC, et al. Prenatal stress exposure, oxytocin receptor gene (OXTR) methylation, and child autistic traits: The moderating role of OXTR rs53576 genotype[J]. *Autism Res*,2017,10(3):430-438. DOI:10.1002/aur.1681.
- [13] Grotegut CA, Ngan E, Garrett ME, et al. The association of single-nucleotide polymorphisms in the oxytocin receptor and G protein-coupled receptor kinase 6 (GRK6) genes with oxytocin dosing requirements and labor outcomes[J]. *Am J Obstet Gynecol*,2017,217(3):361-367. DOI:10.1016/j.ajog.2017.05.023.
- [14] Feng C, Lori A, Waldman ID, et al. A common oxytocin receptor gene (OXTR) polymorphism modulates intranasal oxytocin effects on the neural response to social cooperation in humans[J]. *Genes Brain Behav*,2015,14(7):516-525. DOI:10.1111/gbb.12234.
- [15] Dadds MR, Moul C, Cauchi A, et al. Methylation of the oxytocin receptor gene and oxytocin blood levels in the development of psychopathy[J]. *Dev Psychopathol*,2014,26(1):33-40. DOI:10.1017/S0954579413000497.
- [16] Rijlaarsdam J, van Ijzendoorn MH, Verhulst FC, et al. Prenatal stress exposure, oxytocin receptor gene (OXTR) methylation, and child autistic traits: The moderating role of OXTR rs53576 genotype[J]. *Autism Res*,2017,10(3):430-438. DOI:10.1002/aur.1681.

(收稿日期:2020-10-30)

(上接 385 页)

- [10] 中华医学会心血管病学分会影像学组,中国医师协会放射医师分会心血管专业委员会. 无创性心血管影像学技术临床适用标准中国专家共识[J]. *中华心血管病杂志*,2020,48(11):906-921. DOI:10.3760/cma.j.cn112148-20200413-00309.
- [11] 丁志强,杨珊珊. 益气清热、芳香化湿并用治疗白塞病 18 例[J]. *内蒙古中医药*,2019,38(1):79,91. DOI:10.3969/j.issn.1006-0979.2019.01.057.
- [12] 马海侠,梁先红,葛晓飞. 中医中药联合沙利度胺片治疗白塞病临床观察[J]. *中国中医药现代远程教育*,2020,18(19):126-129. DOI:10.3969/j.issn.1672-2779.2020.19.050.
- [13] 吴晨敏,陈志涵,高飞. 累及心脏瓣膜的白塞病的临床特点分析[J]. *临床合理用药杂志*,2019,12(17):163-164. DOI:10.15887/

j.cnki.13-1389/r.2019.17.111.

- [14] Ahn JK, Kim H, Lee J, et al. Treatment outcomes in patients with non-infectious aortic valvulitis undergoing aortic valve replacement: implication for the treatment of aortic valve involvement in Behcet's disease[J]. *Rheumatol Int*, 2009, 29(11):1391-1393. DOI:10.1007/s00296-009-0862-2.
- [15] 刘永民,朱俊明,郑军,等. 非特异性血管炎所致主动脉根部病变的外科治疗[J]. *中国医药*,2009,12(4):992-994. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4777.2009.12.025.
- [16] 吴锡阶,卢琳,严亮亮,等. 白塞病患者主动脉瓣关闭不全的外科治疗策略[J]. *中华胸心血管外科杂志*,2018,34(10):589-592. DOI:10.3760/cma.j.issn.1001-4497.2018.10.004.

(收稿日期:2020-11-01)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.04.015

论著·基础

# 薏苡仁提取物经 PDGFB/PDGFR $\beta$ 信号通路 对口腔鳞癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响

王鹏,何健民,王军,高维岳

基金项目:甘肃省人民医院内科研基金项目(17GSSY4-4)

作者单位:730000 兰州,甘肃省人民医院口腔临床医疗中心

通信作者:高维岳,E-mail:mj0202@163.com

**【摘要】目的** 观察薏苡仁提取物(ESC)经血小板源性生长因子 B(PDGFB)/血小板源性生长因子受体  $\beta$ (PDGFR $\beta$ )信号通路对口腔鳞癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响。**方法** 2020 年 6—8 月于甘肃省人民医院实验室进行实验。体外培养人口腔鳞癌 CAL27 细胞,设对照组(不予处理)、ESC 低剂量组(10  $\mu\text{mol/L}$ )、ESC 高剂量组(20  $\mu\text{mol/L}$ )和伊马替尼组(10  $\mu\text{mol/L}$ ),培养 24 h 后检测细胞增殖率、迁移能力和侵袭能力,同时采用蛋白免疫印迹法检测 PDGFB、PDGFR $\beta$ 、磷酸化 PDGFR $\beta$ (p-PDGFR $\beta$ )、磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)、蛋白激酶 B(Akt)和磷酸化 Akt(p-Akt)蛋白表达水平。**结果** 与对照组比较,ESC 低剂量组、ESC 高剂量组及伊马替尼组 CAL27 细胞增殖率、迁移能力、细胞侵袭数及 PDGFB、PDGFR $\beta$ 、p-PDGFR $\beta$ 、PI3K、p-Akt 蛋白表达均降低( $P < 0.05$ ),且伊马替尼组 < ESC 高剂量组 < ESC 低剂量组( $F/P = 153.452/0.000, 71.294/0.000, 182.524/0.000, 18.265/0.000, 79.628/0.000, 9.628/0.000, 16.572/0.000, 43.827/0.000$ );4 组 CAL27 细胞 Akt 蛋白表达水平比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。**结论** ESC 可能通过抑制 PDGFB/PDGFR $\beta$  信号通路的激活,从而达到抑制 CAL27 细胞增殖、迁移和侵袭的目的。

**【关键词】** 口腔鳞癌;薏苡仁提取物;血小板源性生长因子 B/血小板源性生长因子受体  $\beta$  信号通路;细胞增殖;细胞迁移;细胞侵袭

【中图分类号】 R739.85

【文献标识码】 A

**Effect of semen coicis extract on proliferation, migration and invasion of oral squamous cell carcinoma cells via PDGFB/PDGFR $\beta$  signal pathway** Wang Peng, He Jianmin, Wang Jun, Gao Weiyue. Stomatological Clinical Center of Gansu

Provincial People's Hospital, Gansu Province, Lanzhou 730000, China

Corresponding author: Gao Weiyue, E-mail:mj0202@163.com

Funding program: Medical Research Fund Program of Gansu Provincial People's Hospital (17GSSY4-4)

**【Abstract】 Objective** To observe the effects of extract of semen coicis (ESC) on the proliferation, migration and invasion of oral squamous cell carcinoma cells via the platelet-derived growth factor B (PDGFB)/platelet-derived growth factor receptor  $\beta$  (PDGFR $\beta$ ) signaling pathway. **Methods** Experiments will be conducted in the Laboratory of Gansu Provincial People's Hospital from June to August 2020. Human oral squamous cell carcinoma CAL27 cells were cultured in vitro, with control group (no treatment), ESC low-dose group(10  $\mu\text{mol/L}$ ), ESC high-dose group (20  $\mu\text{mol/L}$ ) and imatinib group (10  $\mu\text{mol/L}$ ), after 24 hours of culture, the cell proliferation rate, migration ability, and invasion ability were detected. At the same time, Western blotting was used to detect PDGFB, PDGFR $\beta$ , phosphorylated PDGFR $\beta$  (p-PDGFR $\beta$ ), phosphatidylinositol 3 kinase (PI3K), protein kinase B (Akt) and phosphorylated Akt (p-Akt) protein expression levels. **Results** Compared with the control group, the proliferation rate, migration ability, cell invasion number and PDGFB, PDGFR $\beta$ , p-PDGFR $\beta$ , PI3K, and p-Akt protein expressions of CAL27 cells in the ESC low-dose group, ESC high-dose group and imatinib group decreased ( $P < 0.05$ ), and imatinib group < ESC high dose group < ESC low dose group ( $F/P = 153.452/0.000, 71.294/0.000, 182.524/0.000, 18.265/0.000, 79.628/0.000, 9.628/0.000, 16.572/0.000, 43.827/0.000$ ). There was no statistically significant difference in Akt protein expression level of CAL27 cells in the 4 groups ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** ESC may inhibit the activation of the PDGFB/PDGFR $\beta$  signaling pathway to inhibit the proliferation, migration and invasion of CAL27 cells.

**【Key words】** Oral squamous cell carcinoma; Extract of semen coicis; PDGFB/PDGFR $\beta$  signaling pathway; Cell proliferation; Cell migration; Cell invasion



口腔鳞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC)是口腔颌面部最常见的恶性肿瘤之一,约占口腔癌的 90%,由于局部侵袭性和颈部淋巴结转移的高趋势,其 5 年生存率约为 60%<sup>[1-2]</sup>。已有研究表明,血小板源性生长因子(PDGF)及其受体(PDGFR)之间的相互作用是癌细胞增殖、迁移和侵袭的关键<sup>[3]</sup>。血小板源性生长因子 B(PDGFB)在所有 PDGF 亚型中亲和力最高,与血小板源性生长因子受体  $\beta$ (PDGFR $\beta$ )相互作用诱导其磷酸化并激活磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K),PI3K 信号通路参与了许多细胞过程,包括细胞增殖、存活、运动和血管生成,提示 PDGFB/PDGFR $\beta$  信号通路可能是一个治疗靶点<sup>[4]</sup>。伊马替尼是 PDGFR $\beta$  的抑制剂,在临床相关浓度(IC<sub>50</sub> < 1  $\mu$ mol/L)下以 PDGFR $\beta$  特异性方式抑制卵巢癌细胞生长。但由于其毒性和不良反应较多,寻找低毒性药物成为 OSCC 治疗的重点<sup>[5]</sup>。薏苡仁油、薏苡仁多糖、薏苡仁油多肽等为薏苡仁主要活性成分,已被证明具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤等多种作用,但其对 OSCC 的作用研究较少<sup>[6]</sup>。基于此,现探讨薏苡仁提取物(ESC)通过 PDGFB/PDGFR $\beta$  信号通路对口腔鳞癌 CAL27 细胞增殖、迁移和侵袭的影响及其潜在的机制,为 OSCC 的临床治疗提供理论依据,报道如下。

## 1 材料与方法

1.1 材料 (1) 口腔鳞癌 CAL27 细胞:购自中国典型培养物保藏中心(武汉大学保藏中心,批号 CM-1250)。(2) 药物与试剂:ESC(苏州甫路生物科技有限公司),甲磺酸伊马替尼(长沙嘉祯生物科技有限公司);RPMI-1640 培养基、超级胎牛血清(武汉普诺赛生命科技有限公司),四噻唑蓝(MTT)(美国 Amresco 公司),结晶紫染液、聚偏氟乙烯膜、细胞蛋白抽提试剂盒(碧云天生物技术研究);PDGFB、PDGFR $\beta$ 、磷酸化 PDGFR $\beta$ (p-PDGFR $\beta$ )、PI3K、蛋白激酶 B(Akt)、磷酸化 Akt(p-Akt)和  $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)抗体(美国 Santa Cruz 公司),辣根过氧化物酶 HRP 标记山羊抗鼠 IgG 二抗(北京中杉金桥生物技术有限公司)。(3) 仪器设备:Thermo Revco Elite II 型 CO<sub>2</sub> 培养箱、Multi-skan MK3 型酶标仪(美国 Thermo 公司);3422 型 24 孔 Transwell 小室(美国 Corning 公司),MA100N 型显微镜(日本尼康公司),Coleparmer 型垂直电泳仪(上海上碧实验仪器有限公司),GelDoc IT TS2 型凝胶成像仪(美国 UVP 公司)。

1.2 实验方法 2020 年 6—8 月在甘肃省人民医院实验室进行实验。口腔鳞癌 CAL27 细胞在 37℃、5% CO<sub>2</sub> 条件下用含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养

液培养,当细胞处于对数生长期时进行实验,实验分为对照组、ESC 低剂量组、ESC 高剂量组和伊马替尼组。对照组:对数生长期口腔鳞癌 CAL27 细胞在含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养液培养;在对照组培养基基础上加入不同浓度相应药物<sup>[7-8]</sup>,ESC 低剂量组加入 ESC 10  $\mu$ mol/L,ESC 高剂量组加入 ESC 20  $\mu$ mol/L,伊马替尼组加入伊马替尼 10  $\mu$ mol/L,均培养 24 h 后进行相关检测。各项指标检测每组均设 3 个复孔。

### 1.3 观测指标与方法

1.3.1 MTT 法检测细胞增殖率:将 CAL27 细胞以  $5 \times 10^3$  个/孔接种于 96 孔板中(200  $\mu$ l/孔),待细胞融合后,按以上方法给予 ESC 和伊马替尼干预 24 h,加入 MTT(20  $\mu$ l/孔),37℃ 继续培养 4 h;96 孔板中(200  $\mu$ l/孔)只加培养基作为空白对照组。用酶标仪在 630 nm 处测定吸光度 OD 值,计算细胞增殖率:细胞增殖率 = (实验组 OD 值 - 空白组 OD 值) / (对照组 OD 值 - 空白组 OD 值)  $\times$  100%。

1.3.2 细胞划痕法检测 CAL27 细胞迁移能力:将 CAL27 细胞以  $5 \times 10^4$  个/孔接种于 6 孔板中(2 ml/孔),待细胞融合,用 100  $\mu$ l 灭菌枪头在单层细胞上呈“—”字划痕,用无血清的 RPMI-1640 培养基清洗 3 次,并给予 ESC 和伊马替尼干预 24 h 后,显微镜下拍照,用图像分析仪测量 0 h 和 24 h 时划痕宽度,迁移能力 = 0 h 时划痕宽度 - 24 h 时划痕宽度。

1.3.3 Transwell 法检测细胞体外侵袭能力:将 CAL27 细胞以  $5 \times 10^4$  个/孔接种在 24 孔 Transwell 小室中(0.5 ml/孔),下室加入 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基,并给予 ESC 和伊马替尼干预 24 h,取出小室,用 4% 甲醛固定 10 min,用 0.1% 结晶紫染液染色 30 min,冲洗干净后倒置显微镜下观察细胞,计数紫色染色的穿膜细胞。

1.3.4 蛋白免疫印迹法检测 PDGFB、PDGFR $\beta$ 、p-PDGFR $\beta$ 、PI3K、Akt 和 p-Akt 蛋白表达水平:将 CAL27 细胞以  $5 \times 10^4$  个/孔接种于 6 孔板中(2 ml/孔),待细胞融合,给予 ESC 和伊马替尼干预 24 h 后收获细胞,离心弃上清,余液根据细胞量加入细胞蛋白抽提试剂,裂解 2 h;进行电泳(每孔上样量为 20  $\mu$ g),将印迹转移到聚偏氟乙烯膜上,然后用 5% 脱脂牛奶在室温下封膜 1 h,将膜与 PDGFB(1:250)、PDGFR $\beta$ (1:200)、p-PDGFR $\beta$ (1:500)、PI3K(1:300)、Akt(1:200)、p-Akt(1:300)和  $\beta$ -actin(1:1 000)抗体进行孵育,4℃ 过夜,用 TBST 缓冲液对膜进行两次冲洗,将二抗(1:5 000)在室温下孵育 30 min。进行显色,采集图像进行分析。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 21.0 软件进行数据统



计分析。符合正态分布计量资料以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 多组比较采用单因素方差分析, 两两比较用 SNK-*q* 检验。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 各组 CAL27 细胞增殖、迁移能力和侵袭能力比较 与对照组比较, 伊马替尼组及 ESC 低剂量组、高剂量组 CAL27 细胞增殖率、迁移能力和细胞侵袭数均降低 ( $P < 0.05$ ), 且伊马替尼组 < ESC 高剂量组 < ESC

低剂量组, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见表 1、图 1、2、3。

2.2 各组 CAL27 细胞 PDGFB、PDGFR $\beta$  和 p-PDGFR $\beta$  蛋白表达比较 与对照组比较, 伊马替尼组及 ESC 低剂量组、ESC 高剂量组 PDGFB、PDGFR $\beta$  和 p-PDGFR $\beta$  蛋白表达均降低 ( $P < 0.05$ ), 且伊马替尼组 < ESC 高剂量组 < ESC 低剂量组, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见表 2、图 4。

表 1 各组 CAL27 细胞增殖、迁移能力和侵袭数比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	细胞增殖率 (%)	迁移能力 ( $\mu\text{m}$ )	细胞侵袭数 (个)
对照组	3	94.03 ± 5.94	40.12 ± 7.51	510.80 ± 94.15
伊马替尼组	3	36.92 ± 8.61 <sup>a</sup>	17.51 ± 1.94 <sup>a</sup>	132.59 ± 18.59 <sup>a</sup>
ESC 低剂量组	3	61.05 ± 9.56 <sup>ab</sup>	32.54 ± 3.17 <sup>ab</sup>	259.97 ± 58.62 <sup>ab</sup>
ESC 高剂量组	3	53.25 ± 7.91 <sup>abc</sup>	25.89 ± 1.10 <sup>abc</sup>	181.26 ± 37.20 <sup>abc</sup>
<i>F/P</i> 值		153.452/0.000	71.294/0.000	182.524/0.000

注: 与对照组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与伊马替尼组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与 ESC 低剂量组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$

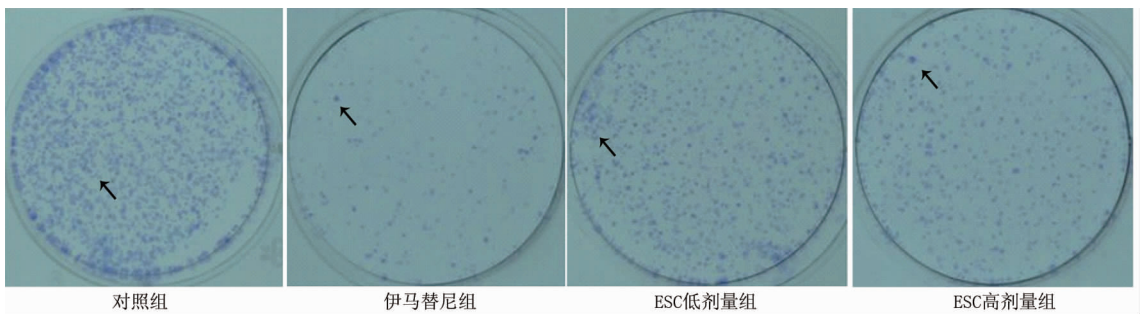


图 1 各组 CAL27 细胞增殖情况比较

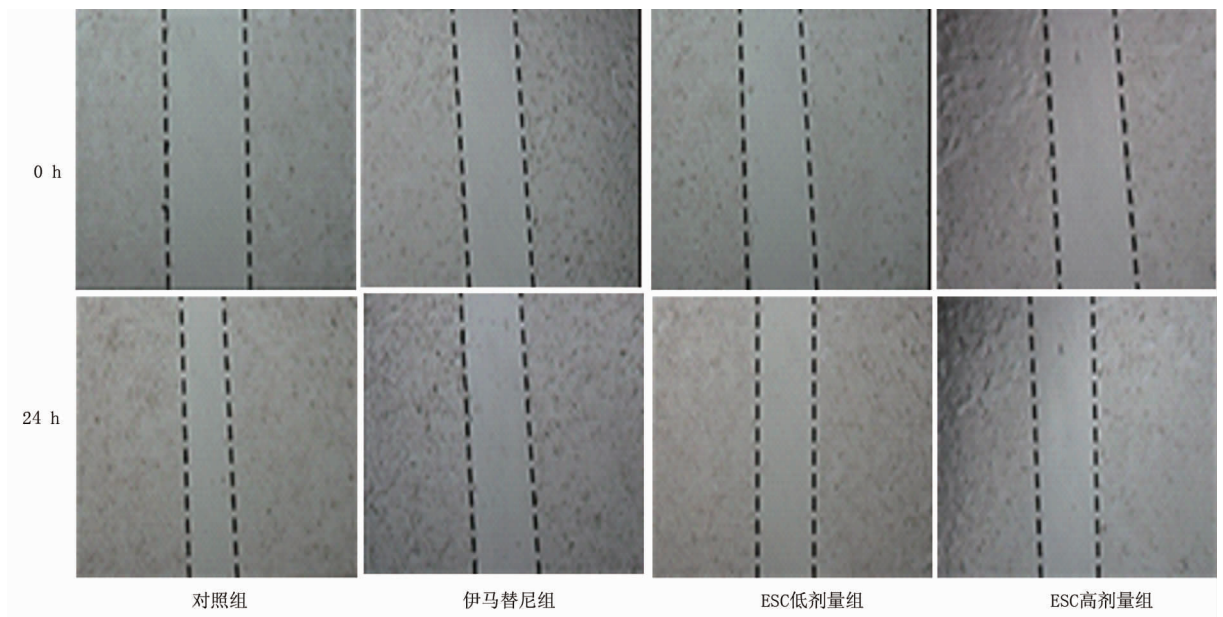


图 2 各组 CAL27 细胞迁移能力比较

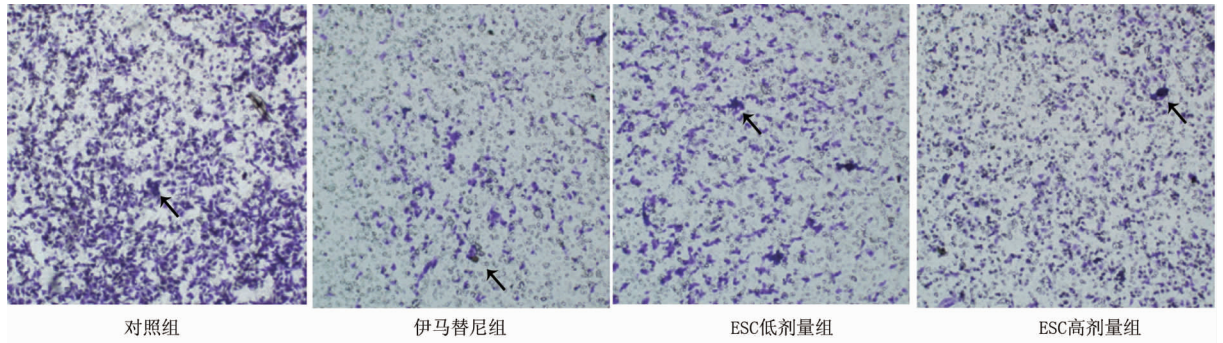
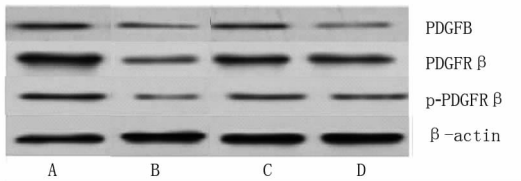


图 3 各组 CAL27 细胞侵袭力比较(结晶紫染色, ×200)

表 2 各组 CAL27 细胞 PDGFB、PDGFRβ 和 p-PDGFRβ 蛋白表达比较 (x̄ ± s)

组别	n	PDGFB	PDGFRβ	p-PDGFRβ
对照组	3	0.74 ± 0.29	1.31 ± 0.22	0.43 ± 0.06
伊马替尼组	3	0.35 ± 0.09 <sup>a</sup>	0.48 ± 0.20 <sup>a</sup>	0.26 ± 0.08 <sup>a</sup>
ESC 低剂量组	3	0.65 ± 0.17 <sup>ab</sup>	0.94 ± 0.20 <sup>ab</sup>	0.39 ± 0.08 <sup>ab</sup>
ESC 高剂量组	3	0.42 ± 0.10 <sup>abc</sup>	0.57 ± 0.16 <sup>abc</sup>	0.32 ± 0.05 <sup>abc</sup>
F/P 值		18.265/0.000	79.628/0.000	9.628/0.000

注:与对照组比较,<sup>a</sup>*P* < 0.05;与伊马替尼组比较,<sup>b</sup>*P* < 0.05;与 ESC 低剂量组比较,<sup>c</sup>*P* < 0.05



注:A. 对照组;B. 伊马替尼组;C. ESC 低剂量组;D. ESC 高剂量组

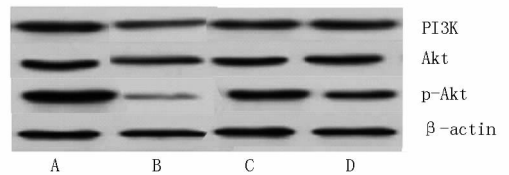
图 4 各组 CAL27 细胞 PDGFB、PDGFRβ 和 p-PDGFRβ 蛋白表达比较

2.3 各组 CAL27 细胞 PI3K、Akt 和 p-Akt 蛋白表达比较 4 组 CAL27 细胞 Akt 蛋白水平比较,差异无统计学意义 (*P* > 0.05)。与对照组比较,伊马替尼组及 ESC 低剂量组、ESC 高剂量组 PI3K 和 p-Akt 蛋白表达均降低 (*P* < 0.05),且伊马替尼组 < ESC 高剂量组 < ESC 低剂量组,差异均有统计学意义 (*P* < 0.05),见表 3、图 5。

表 3 各组 CAL27 细胞 PI3K、Akt 和 p-Akt 蛋白表达比较 (x̄ ± s)

组别	n	PI3K	Akt	p-Akt
对照组	3	1.25 ± 0.08	0.93 ± 0.07	1.72 ± 0.26
伊马替尼组	3	0.66 ± 0.14 <sup>a</sup>	0.96 ± 0.09	0.42 ± 0.06 <sup>a</sup>
ESC 低剂量组	3	1.02 ± 0.12 <sup>ab</sup>	0.95 ± 0.15	1.28 ± 0.17 <sup>ab</sup>
ESC 高剂量组	3	0.90 ± 0.28 <sup>abc</sup>	0.94 ± 0.10	0.82 ± 0.08 <sup>abc</sup>
F/P 值		16.572/0.000	1.052/0.357	43.827/0.000

注:与对照组比较,<sup>a</sup>*P* < 0.05;与伊马替尼组比较,<sup>b</sup>*P* < 0.05;与 ESC 低剂量组比较,<sup>c</sup>*P* < 0.05



注:A. 对照组;B. 伊马替尼组;C. ESC 低剂量组;D. ESC 高剂量组

图 5 各组 CAL27 细胞 PI3K、Akt 和 p-Akt 蛋白表达比较

### 3 讨论

OSCC 是一种发病率较高的疾病,大多数患者由于复发和转移而死亡。因此,迫切需要找到能有效抑制 OSCC 增殖和迁移的药物。ESC 是从薏苡仁中提取的天然物质,其成品制剂(康莱特注射液)已用于临床肿瘤方面的治疗<sup>[9-10]</sup>,但其涉及的潜在信号传导途径仍不清楚。本研究发现,ESC 通过抑制 PDGFB 的表达,阻断 PDGFRβ 的磷酸化并随后抑制 PDGFRβ 介导的信号通路来抑制 CAL27 细胞增殖、迁移和侵袭。因此,PDGFB/PDGFRβ 信号通路可能是 ESC 治疗 OSCC 的靶点,可用于干预 OSCC 中异常细胞增殖、迁移和侵袭。

PDGF 是体外平滑肌细胞和成纤维细胞的主要促分裂原,包含 A、B、C 和 D 等 4 个多肽,以二硫键的形式连接成同二聚体或异二聚体[血小板源性生长因子 A(PDGFA)、PDGFB、PDGFC、PDGFD 或 PDGFAB],与 2 个 PDGF 结合亲和力不同的受体血小板源性生长因子受体 α(PDGFRα)和 PDGFRβ 相结合<sup>[11]</sup>。研究表明,PDGFB 和 PDGFRβ 之间的相互作用是细胞增殖和迁移及功能性脉管系统发展的关键<sup>[12]</sup>。PDGFB 已被广泛证明有助于人类和动物模型在血管损伤后的血管修复/重塑。如在球囊损伤后,大鼠颈动脉平滑肌细胞中 PDGFB 的表达上调,以刺激肌细胞的增殖和迁移<sup>[13]</sup>。另一方面,已证明抑制 PDGFB 信号可减少血管成形术后的血管修复/重塑<sup>[14]</sup>。PDGFB 和 PDGFRβ

在多种人类上皮癌的自分泌刺激肿瘤生长及旁分泌刺激肿瘤相关的血管生成中也起着作用<sup>[15-17]</sup>。如在神经胶质瘤中,肿瘤细胞中 PDGFB 的水平与肿瘤的分级相关。已经在神经胶质瘤和乳腺癌的内皮细胞( EC )中观察到 PDGFRβ 的高表达水平<sup>[18]</sup>。研究显示, PDGFB 主要在 OSCC 组织的肿瘤细胞中表达升高,表明通过 PDGF-PDGFRβ 募集成纤维细胞的旁分泌途径<sup>[19]</sup>。一些研究表明, PI3K/Akt 是经典的信号传导途径,其激活可诱导细胞生长并促进上皮间质转化( EMT )和肿瘤转移<sup>[20-22]</sup>。 PDGFB 高水平导致 PDGFRβ 磷酸化后, PDGFRβ 募集 PI3K、磷脂酶 Cγ1 和 Src 家族激酶和磷酸酪氨酸磷酸酶( SHP-2 )等<sup>[23]</sup>。 PDGFB 通过细胞外调节蛋白激酶( Erk )激活 β 胰腺细胞中的细胞周期 D1 进程,而通过 Akt 激活平滑肌中的细胞周期<sup>[24]</sup>。 PI3K/Akt 途径在细胞增殖和肿瘤发生中的作用通常与其下游靶标哺乳动物雷帕霉素靶蛋白( mTOR )信号分子结合。细胞周期蛋白 D1 调节剂如 Akt 和 mTOR 的水平变化在癌症中也很常见,并且正在成为重要的治疗靶点<sup>[25]</sup>。在内皮祖细胞( EPC )中可检测到高水平的 PDGFRβ,并且在不存在 Akt 信号传导的情况下进一步诱导 PDGFRβ<sup>[26]</sup>。本研究发现, ESC 能抑制 PI3K/Akt 途径的激活,发挥肿瘤抑制作用。因此,预测 ESC 对 OSCC 细胞生长和转移的抑制作用是通过灭活 PDGFB /PDGFRβ/PI3K/Akt 轴来实现的。

综上所述, ESC 可抑制 CAL27 细胞增殖、迁移和侵袭,其机制可能与抑制 PDGFB/PDGFRβ 信号通路的激活有关,为 OSCC 的分子靶向治疗提供了理论依据。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

王鹏:设计研究方案,课题设计,实施研究过程,论文撰写;何健民:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;王军:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;高维岳:进行统计学分析

**参考文献**

[1] Weckx A, Grochau KJ, Grandoch A, et al. Survival outcomes after surgical treatment of oral squamous cell carcinoma[J]. Oral Dis, 2020, 26(7):1432-1439. DOI: 10. 1111/odi. 13422.

[2] Jardim JF, Gondak R, Galvis MM, et al. Decreased peritumoral CD1a<sup>+</sup> cells predicts worse prognosis in oral squamous cell carcinoma[J]. Histopathology, 2018, 72(6):905-913. DOI: 10. 1111/his. 13415.

[3] He L, Wang X, Liu K, et al. Integrative PDGF/PDGFR and focal adhesion pathways are downregulated in ERCC1-defective non-small cell lung cancer undergoing sodium glycididazole-sensitized cisplatin treatment [J]. Gene, 2018, 691(1):70-76. DOI: 10. 1016/

j. gene. 2018. 12. 028.

[4] Jing Y, Jin Y, Wang Y, et al. SPARC promotes the proliferation and metastasis of oral squamous cell carcinoma by PI3K/AKT/PDGFB/PDGFRβ axis [J]. J Cell Physiol, 2019, 234(1):15581-15593. DOI: 10. 1002/jcp. 28205.

[5] Kadivar A, Noordin MI, Aditya A, et al. Antiproliferative effects of imatinib mesylate on ZR-75-1 and MDAMB231 cell lines via PDGFRβ, PDGFB, cKit and SCF expression[J]. Int J Mol Med, 2018, 42(1):414-424. DOI: 10. 3892/ijmm. 2018. 3590.

[6] 李晓凯,顾坤,梁慕文,等. 薏苡仁化学成分及药理作用研究进展[J]. 中草药, 2020, 51(21):5645-5657. DOI: 10. 7501/j. issn. 0253-2670. 2020. 21. 031.

[7] 徐怡,董伟杰. 胡桃醌通过 p38/JNK MAPK 信号通路调控口腔鳞癌 Tac8113 细胞增殖和凋亡[J]. 中国药师, 2020, 23(1):1-4. DOI: 10. 3969/j. issn. 1008-049X. 2020. 01. 001.

[8] 韩晨阳,杨毅,郭丽,等. 自噬基因 Beclin1 抑制后增强人髓性白血病耐药细胞 K562/IMA 对于伊马替尼的药物敏感性[J]. 中国药理学杂志, 2019, 54(4):284-290. DOI: 10. 11669/cpj. 2019. 04. 006.

[9] He H, Zhu J, Cao A, et al. The effect of kanglaite injection in combination with gefitinib versus gefitinib alone in patients with nonsmall cell lung cancer: A meta-analysis[J]. J Cancer Res Ther, 2020, 16(4):745-751. DOI: 10. 4103/jert. JCRT\_1213\_16.

[10] 孙莹莹,梁莹,叶广铎. 康莱特注射液联合 FOLFOX4 方案治疗晚期结直肠癌[J]. 西部医学, 2020, 32(8):1184-1188. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2020. 08. 019.

[11] Zha L, Zhou J, Tan Y, et al. NLRC3 inhibits PDGF-induced PAMSCs proliferation via PI3K-mTOR pathway[J]. J Cell Physiol, 2020, 235(12):9557-9567. DOI:10. 1002/jcp. 29763.

[12] Hosaka K, Yang Y, Nakamura M, et al. Dual roles of endothelial FGF-2-FGFR1-PDGFB and perivascular FGF-2-FGFR2-PDGFRβ signaling pathways in tumor vascular remodeling[J]. Cell Discov, 2018, 4(1):3-17. DOI: 10. 1038/s41421-017-0002-1.

[13] Zhou Y, He X, Liu R, et al. LncRNA CRNDE regulates the proliferation and migration of vascular smooth muscle cells[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(9):16205-16214. DOI: 10. 1002/jcp. 28284.

[14] Philip T, Ya-Ting C, Lars M, et al. Extracellular retention of PDGF-B directs vascular remodeling in mouse hypoxia-induced pulmonary hypertension[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2018, 314(4):593-605. DOI: 10. 1152/ajplung. 00054. 2017.

[15] Vu CQ, Rotkrue P, Soontornworajit B, et al. Effect of PDGF-B aptamer on PDGFRβ/PDGFB interaction: Molecular dynamics study[J]. J Mol Graph Model, 2018, 82(1):145-156. DOI: 10. 1016/j. jmgm. 2018. 04. 012.

[16] 王珍珍,杜文治,贾如,等. 基于生物信息学分析 SOX12 在口腔鳞状细胞癌中的表达及验证[J]. 西安交通大学学报:医学版, 2020, 41(1):64-68. DOI:10. 7652/jdyxb202001012.

[17] 陈志红,吴亚东. 程序性死亡受体-1 及其配体在口腔鳞状细胞癌中的研究进展[J]. 华西口腔医学杂志, 2020, 38(4):449-453. DOI:10. 7518/hxkq. 2020. 04. 017.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.04.016

论著·基础

# 二甲双胍对非酒精性脂肪性肝病细胞模型内质网应激与自噬的影响

吴晓曼, 张敏, 田甜, 李明, 廖星辰, 谭诗云

基金项目: 湖北省自然科学基金(2019CFB142)

作者单位: 430060 武汉大学人民医院消化内科/消化系统疾病湖北省重点实验室

通信作者: 谭诗云, E-mail: tanshiyun@medmail.com.cn

**【摘要】目的** 观察二甲双胍对游离脂肪酸(FFA)诱导的非酒精性脂肪性肝病(NAFLD) HepG2 细胞模型内质网应激(ERS)及自噬的影响。**方法** 2020 年 7—11 月于武汉大学人民医院消化系统疾病湖北省重点实验室进行实验。分别用 0(空白对照)、10、20、40、80 mmol/L 的二甲双胍处理 HepG2 细胞 24 h, 评估二甲双胍对细胞活力的影响。取对数生长期 HepG 细胞分为对照组(BSA 组)、模型组(FFA 组)、二甲双胍低浓度组(Met L 组)、二甲双胍高浓度组(Met H 组)4 组, FFA、Met L、Met H 组利用 FFA 处理 HepG2 细胞 24 h 建造 NAFLD 细胞模型, Met L、Met H 组分别加入 1 mmol/L 和 10 mmol/L 二甲双胍干预其过程。Western-blot 法分别检测 HepG2 细胞 ERS 相关蛋白磷酸化 PERK(p-PERK)、ATF4 及自噬相关蛋白 p62、LC3 表达水平的变化, 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)法检测 ATF4 mRNA 表达。**结果** 二甲双胍可剂量依赖性地降低 HepG2 细胞活力( $F/P = 1\ 759.000/0.000$ )。与 BSA 组比较, FFA 组内 p-PERK、p62、ATF4 蛋白和 mRNA 表达水平增高( $t/P = 3.273/0.029, 16.190/0.000, 47.290/0.000, 13.730/0.000$ ), LC3 II/I 比值下降( $t/P = 17.980/0.000$ ); 与 FFA 组比较, Met L 组和 Met H 组 p-PERK、p62、ATF4 蛋白和 mRNA 表达水平降低( $F/P = 70.310/0.000, 106.700/0.000, 995.600/0.000, 66.960/0.000$ ), LC3 II/I 比值升高( $F/P = 166.400/0.000$ ), 且与 Met L 组比较, Met H 组上述指标变化更明显( $P < 0.05$ ), 但 p62 水平比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。**结论** 二甲双胍可降低 FFA 诱导的 NAFLD 细胞模型 ERS 水平并提高细胞自噬水平。

**【关键词】** 非酒精性脂肪性肝病; 二甲双胍; 内质网应激; 自噬**【中图分类号】** R575.2 **【文献标识码】** A

## Effects of metformin on endoplasmic reticulum stress and autophagy in a cell model of non-alcoholic fatty liver disease.

Wu Xiaoman, Zhang Min, Tian Tian, Li Ming, Liao Xingchen, Tan Shiyun. Department of Gastroenterology, Renmin Hospital of Wuhan University/Hubei Key Laboratory of Digestive System Disease, Wuhan 430060, China

Corresponding author: Tan Shiyun, E-mail: tanshiyun@medmail.com.cn

Funding program: Hubei Province Natural Science Foundation(2019CFB142)

**【Abstract】 Objective** To observe the effect of metformin on the endoplasmic reticulum stress (ERS) and autophagy in a HepG2 cell model of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) induced by free fatty acid (FFA). **Methods** From July 2020 to November 2020, the experiment was conducted at the Hubei Key Laboratory of Digestive System Diseases, Renmin Hospital of Wuhan University. HepG2 cells were treated with metformin at concentrations of 0, 10, 20, 40, and 80 mM for 24 hours, and the cell counting kit was used to evaluate the effect of metformin on cell viability; the concentration within 10 mmol/L was selected for subsequent experiments. The cells were divided into four groups: control group (BSA group), model group (FFA group), metformin low-concentration group (Met L group) and metformin high-concentration group (Met H group). HepG2 cells were treated with FFA for 24 hours to build NAFLD cell models and then metformin were added to interfere with the process. Western blot was used to detect the expression levels of ERS-related proteins phosphorylated PERK (p-PERK), ATF4 and autophagy-related proteins p62 and LC3 in HepG2 cells, and the expression of ATF4 mRNA was detected by real-time fluorescent quantitative PCR (qRT-PCR). **Results** Metformin can reduce the viability of HepG2 cells in a dose-dependent manner ( $F/P = 1\ 759.000/0.000$ ). Compared with the control group, the expression levels of p-PERK, p62, ATF4 protein and mRNA in the model group increased ( $t/P = 3.273/0.029, 16.190/0.000, 47.290/0.000, 13.730/0.000$ ), and the ratio of LC3 II/I decreased ( $t/P = 17.980/0.000$ ); compared with the model group, the expression levels of p-PERK, p62, ATF4 protein and mRNA in the metformin low-concentration group and high-



concentration group decreased ( $F/P = 70.310/0.000, 106.700/0.000, 995.600/0.000, 66.960/0.000$ ), and the ratio of LC3 II / I increased ( $F/P = 166.400/0.000$ ). **Conclusion** Metformin can reduce the level of ERS and increase the level of autophagy in NAFLD cell models induced by free fatty acids.

**【Key words】** Non-alcoholic fatty liver disease; Metformin; Endoplasmic reticulum stress; Autophagy

非酒精性脂肪性肝病 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) 是全世界慢性肝病的最常见原因, 据估计, 世界上有 24% 的人口患有 NAFLD, 到 2030 年, 美国将有大约 1 亿人患有 NAFLD<sup>[1]</sup>。NAFLD 的阶段范围从单纯性脂肪变性到非酒精性脂肪性肝炎 (non-alcoholic steatohepatitis, NASH), 进一步可能发展为肝硬化, 导致肝功能衰竭需要肝移植, 甚至最终发展为肝细胞癌<sup>[2]</sup>。NAFLD 近年来大多共识为一种代谢性疾病, 其发病机制多与脂肪代谢有关, 肝细胞三酰甘油 (TG) 积累是 NAFLD 的标志, 在肝细胞中由于过多的脂质蓄积可引发内质网应激 (endoplasmic reticulum stress, ERS) 与自噬的变化<sup>[3-4]</sup>。在 NAFLD 发病机制的研究中发现, 代谢因素 (如胰岛素抵抗、糖毒性和脂毒性等)、遗传因素和其他因素促成 NAFLD 与 2 型糖尿病 (T2DM) 的发病呈现相关性, 患者存在 T2DM 增加了 NAFLD 进一步发展的风险<sup>[5]</sup>。而二甲双胍作为一种双胍类降糖药物, 已被用于治疗 2 型糖尿病超过 60 年<sup>[6-7]</sup>。在近期的研究中<sup>[8]</sup>, 发现二甲双胍可抑制高脂饮食 (HFD) 诱导的肝脂肪变性。本研究利用游离脂肪酸 (FFA) 建造 NAFLD 细胞模型并用二甲双胍进行干预, 进一步研讨 ERS 与自噬的调控机制, 报道如下。

## 1 材料与方法

1.1 材料 (1) 细胞株: 人肝癌细胞株 HepG2 由中国科学院干细胞库提供。(2) 试剂试药: 二甲双胍购于美国 MCE (HY-17471A), Gibco DMEM/H 培养液购自美国赛默飞世尔公司, 胎牛血清 (FBS) 购自杭州四季青公司。棕榈酸 (palmitic acid, PA) (P0500)、油酸 (oleic acid, OA) (O1383) 购自美国 Sigma 公司, 细胞计数试剂盒-8 (cell counting kit-8, CCK-8)、胰酶细胞消化液购自 biosharp 公司, 无脂肪酸牛血清白蛋白 (bovine serum albumin, BSA) 购自上海翊圣公司。兔抗 RNA 依赖的蛋白激酶样 ER 激酶 (RNA-dependent protein kinase-like ER eukaryotic initiation factor-2 $\alpha$  kinase, PERK) 抗体、兔抗激活作用转录因子 4 (activating transcription factor 4, ATF4) 抗体、兔抗微管相关蛋白 1 轻链 3 (microtubule-associated protein 1 light 3, LC3) 抗体均购自美国 Cell Signaling Technology 公司, 兔抗 P62 抗体、鼠抗 GAPDH 抗体购自美国 proteintech 公司, 兔抗磷酸化 PERK 抗体购自北京博奥森公司, 辣

根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG (ZB-2301) 购自北京中杉金桥公司, 辣根过氧化物酶标记山羊抗鼠 IgG (BS12478) 购自美国 bioworld 公司。(3) 仪器设备: THERMOheracellVIVOS 160i/250i CO<sub>2</sub> 培养箱 (德国 Thermo Scientific 公司), Bio-Rad imark 全自动酶标仪、Bio-Rad 凝胶成像系统 ChemiDoc™ XRS +、OLYMPUS IX71 显微镜、垂直层流洁净工作台 (青岛海尔公司), XB70-FZ 制冰机 (GRANT 公司), XSR205 微量称重台 (METTLER TOLEDO 公司)。

1.2 实验方法 2020 年 7—11 月于武汉大学人民医院消化系统疾病湖北省重点实验室进行实验。

1.2.1 FFA 配置: 以配置 FFA 6 ml (OA : PA = 2 : 1) 为例, 先称量无脂肪酸 BSA 1.2 g 加入 PBS 2.5 ml 高速离心助溶后配至 3 ml, 配置成 40% 无脂 BSA 淡黄色澄清溶液。取 NaOH 0.04 g, 溶解于去离子水 10 ml 中, 配成 0.1 mol/L NaOH 溶液 10 ml, 取 NaOH 溶液 3 ml 依次加入 PA 10.24 mg、OA 25.38  $\mu$ l 配置 40 mmol/L FFA, 置于 75℃ 水浴进行充分皂化约 30 min 得到澄清液体。将其与 BSA 3 ml 迅速混合, 可在 50℃ 以下助溶, 得到 20 mmol/L FFA 溶液 6 ml 为母液, 4℃ 保存。

1.2.2 HepG2 细胞培养: 将冻存的 HepG2 细胞置于 37℃ 恒温水浴中约 1 min 内迅速解冻, 离心 5 min 后去除冻存液, 用含 10% 胎牛血清、1% 青链霉素的 DMEM 完全培养基重悬之后移至 25 cm<sup>2</sup> 的培养瓶中, 置于 37℃、5% CO<sub>2</sub>、饱和湿度的培养箱中培养, 隔天换液, 每天观察细胞生长情况, 3~4 d 传代 1 次。传代操作如下: 弃去培养基, PBS 3~4 ml 清洗 2 次, 加入胰酶 1~2 ml, 置于培养箱中消化 1~2 min, 倒置显微镜下观察, 若细胞大部分变圆分散, 则在培养瓶中加入与胰酶等量含 10% 胎牛血清的 DMEM 完全培养基终止消化, 收集细胞后离心弃上清, 以 1:3 比例传代, 取处于对数生长期的细胞进行实验。

1.2.3 NAFLD 细胞造模及分组: 取合适数量的对数生长期 HepG2 细胞接种于孔板中, 分为 4 组: 对照组 (BSA 组)、模型组 (FFA 组)、二甲双胍低浓度组 (Met L 组)、二甲双胍高浓度组 (Met H 组)。隔夜观察细胞生长状态良好, 进行药物干预。二甲双胍先用去离子水配置 500 mmol/L 母液, -20℃ 保存。Met L 组和

Met H 组分别采用二甲双胍 1、10 mmol/L 终浓度进行预处理 1 h, 然后 FFA、Met L、Met H 组分别加入等量 FFA 进行干预, 使 FFA 作用浓度为 1 mmol/L, BSA 组加入与 FFA 等量的 BSA, 作用 24 h 后结束 NAFLD 细胞造模及药物处理进行其他检测。

### 1.3 观察指标与方法

1.3.1 CCK8 法检测细胞活性: 收集对数生长期的 HepG2 细胞, 以 5 000/孔的密度接种于 96 孔板中, 每孔含 10% FBS 的 DMEM 培养基 100  $\mu$ l, 在细胞培养箱中孵育 24 h 后, 用 PBS 清洗 1 遍加入新的培养基 100  $\mu$ l, 并分别以 0、10、20、40、80 mmol/L 浓度的 Met 处理细胞, 空白对照组加入等体积的 DMEM 完全培养基, 放回孵育箱中继续培养 24 h。弃去原培养基, 每孔加入 100  $\mu$ l 无血清 DMEM 培养基和 CCK-8 试剂 10  $\mu$ l, 于 37 $^{\circ}$ C 恒温箱中避光孵育 1.5 h, 酶标仪测定 450 nm 处的吸光度(OD)值, 根据公式计算细胞活力。细胞活力 = [(干预组 OD 值 - 空白组 OD 值) / (对照组 OD 值 - 空白组 OD 值)]  $\times$  100%。

1.3.2 Western-blot 法检测蛋白表达: 取对数生长期细胞接种于 6 孔板中, 每孔加入 DMEM 2 ml 完全培养基 37 $^{\circ}$ C 恒温箱中培养。细胞分组加入药物干预 24 h 后, PBS 洗涤 3 遍。按照 RIPA: 磷酸酶抑制剂: PMSF = 100: 2: 1 配置裂解液, 每孔加入配置好的裂解液 100  $\mu$ l, 冰上裂解 10 min, 用细胞刮刀收集细胞进行超声裂解, 然后于 4 $^{\circ}$ C 离心取上清加入 loading buffer, 100 $^{\circ}$ C 煮沸 10 min。BCA 蛋白浓度试剂盒测定蛋白浓度, 根据测得浓度调整上样量。将蛋白样品加入十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 后经电泳、转膜, 将转膜结束后的 PVDF 膜取出, 转入含 5% 脱脂奶粉的 TBST 中封闭 60 min。分别孵一抗, 稀释比 1: 1 000, 4 $^{\circ}$ C 过夜, 回收一抗, 加入 TBST 洗涤 5 次, 每次 10 min, 二抗稀释比 1: 2 500, 室温孵育 1 h, 用 TBST 洗膜 3 次, 每次 10 min。用 ECL 化学发光液浸润 1 min, 于凝胶成像系统中扫描成像。

1.3.3 qRT-PCR 实验检测 ATF4 基因表达水平: 细胞接种及分组同上, 培养 24 h 后, 收集细胞提取总 RNA, 计算出 RNA 浓度, 按试剂盒操作说明合成 cDNA, 并进行聚合酶链反应(PCR)检测 ATF4 表达水平, 以 GAPDH 为内参。qRT-PCR 实验条件为 95 $^{\circ}$ C 3 min 预变性, 95 $^{\circ}$ C 10 s、58 $^{\circ}$ C 30 s、72 $^{\circ}$ C 30 s 重复 40 个循环。ATF4 正向引物为 5'-GTCCTGTCTCCACTC-CAGATC-3', 反向引物为 5'-TGGGCTCATAACAGATGC-CACT-3'; GAPDH 正向引物为 5'-CATCATCCCTGCCTC-TACTGG-3', 反向引物为 5'-GTGGGTGTCGCTGTT-

GAAGTC-3'。目的基因扩增用  $\Delta\Delta$ CT 法计算,  $A = CT$  (目的基因, 实验样本) -  $CT$  (内标基因, 实验样本),  $B = CT$  (目的基因, 对照样本) -  $CT$  (内标基因, 对照样本),  $K = A - B$ , 表达倍数 =  $2^{-K}$ 。

1.4 统计学方法 采用 GraphPad Prism 8.0.1、Image J 统计软件处理数据。每组实验都至少重复 3 次, 取其平均值。符合正态分布的计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 多组比较采用单因素方差分析 (ANOVA),  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 二甲双胍对 HepG2 细胞活力的影响 采用不同浓度(0、10、20、40、80 mmol/L)二甲双胍干预 HepG2 细胞 24 h 后, 检测细胞活力, 结果显示, 相同时间范围内, 不同浓度的二甲双胍对 HepG2 细胞活力的抑制随剂量升高而增强, 差异均有统计学意义 ( $F/P = 1\ 759.000/0.000$ ), 见图 1。

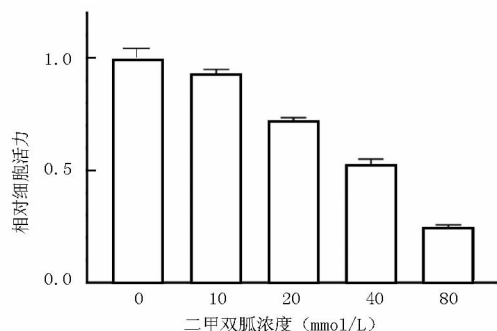


图 1 不同浓度的二甲双胍对 HepG2 细胞活力的影响

2.2 各组 HepG2 细胞 ERS 相关蛋白表达比较 Western-blot 结果显示, 与 BSA 组比较, FFA 组 PERK 磷酸化程度明显升高 ( $t/P = 3.273/0.029$ ); 与 FFA 组比较, Met L 组和 Met H 组 PERK 磷酸化程度降低 ( $F/P = 70.310/0.000$ ); 与 Met L 组比较, Met H 组 PERK 磷酸化程度降低更明显 ( $t/P = 6.402/0.000$ ), 见图 2。

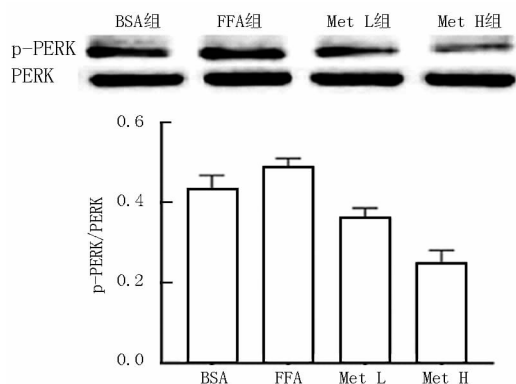


图 2 各组 PERK 磷酸化程度比较

Western-blot 结果显示,与 BSA 组比较,FFA 组 ATF4 蛋白表达水平明显升高 ( $t/P = 47.290/0.000$ );与 FFA 组比较,Met L 组和 Met H 组 ATF4 表达水平降低 ( $F/P = 995.600/0.000$ );与 Met L 组比较,Met H 组 ATF4 表达水平降低更明显 ( $t/P = 25.590/0.000$ ),见图 3。

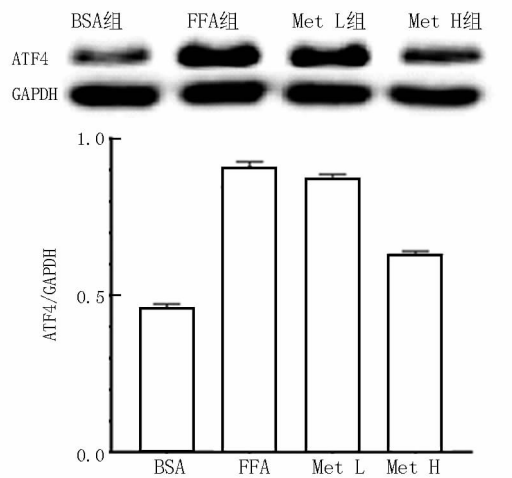


图 3 各组 ATF4 蛋白表达比较

2.3 各组 HepG2 细胞 ATF4 mRNA 表达比较 通过 qRT-PCR 检测,与 BSA 组比较,FFA 组 ATF4 mRNA 水平明显增高 ( $t/P = 13.730/0.000$ );与 FFA 组比较,Met L 组和 Met H 组 ATF4 mRNA 表达水平均降低 ( $F/P = 66.960/0.000$ );与 Met L 组比较,Met H 组 ATF4 mRNA 表达水平降低 ( $t/P = 3.511/0.048$ ),见图 4。

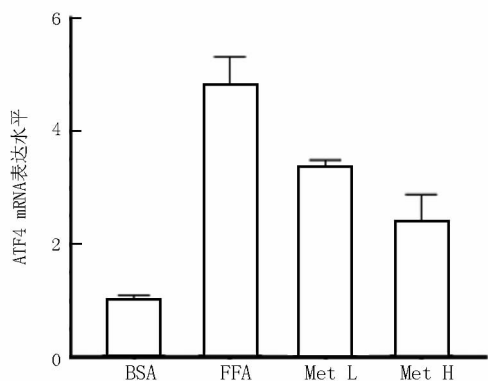


图 4 各组 HepG2 细胞 ATF4 mRNA 表达比较

2.4 各组 HepG2 细胞内自噬水平比较 通过 Western-blot 法检测各组细胞中自噬相关蛋白 p62 和 LC3-II/I 的表达情况,与 BSA 组比较,FFA 组 p62 蛋白表达升高 ( $t/P = 16.190/0.000$ ),LC3-II/I 表达降低 ( $t/P = 17.980/0.000$ ),差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ );与 FFA 组比较, Met L 组和 Met H 组细胞 p62 蛋白显著

降低 ( $F/P = 106.700/0.000$ ),而细胞内 LC3-II/I 蛋白比例显著升高 ( $F/P = 166.400/0.000$ )。且与 Met L 组比较, Met H 组 LC3-II/I 蛋白比例升高 ( $t/P = 3.474/0.028$ ),见图 5。

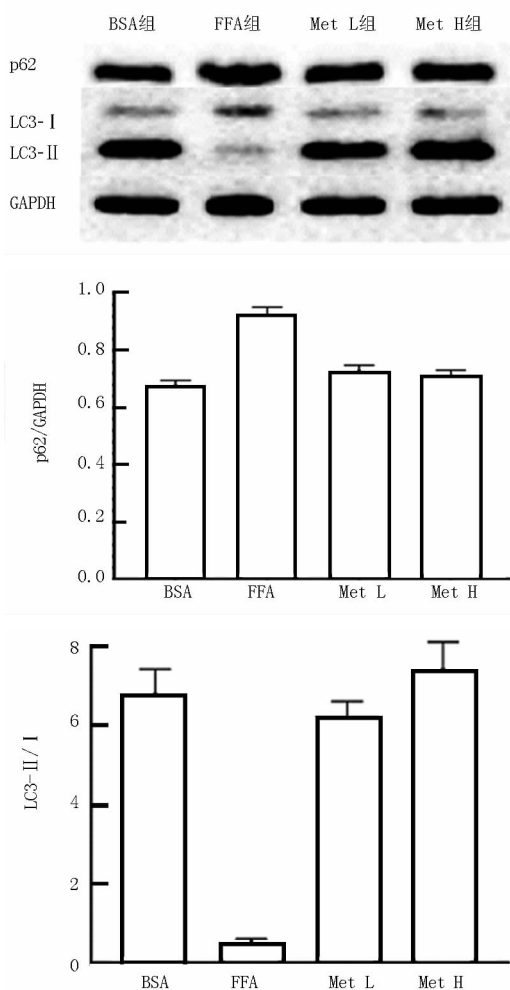


图 5 二甲双胍对 HepG2 细胞内自噬水平的影响

### 3 讨论

二甲双胍属于双胍类药物,是目前临床首选降糖药,主要通过减少肝脏葡萄糖的输出和改善外周胰岛素抵抗而降低血糖<sup>[9]</sup>。有研究表明<sup>[10]</sup>,二甲双胍在高脂饮食诱导的小鼠中可明显降低凋亡水平,说明二甲双胍具有治疗非酒精性脂肪性肝病的潜力。为进一步探讨二甲双胍作用于非酒精性脂肪性肝病的体外作用机制,应用 CCK8 法检测二甲双胍对人肝癌细胞 HepG2 细胞活力的影响。本结果筛选出对细胞影响最小的浓度范围,选择 1、10 mmol/L 的二甲双胍进行后续实验,结果显示,二甲双胍可剂量依赖性地降低 HepG2 细胞活力,与 Guo 等<sup>[11]</sup>研究结果一致。

研究表明,FFA 可引起肝细胞内脂质蓄积,ERS 水



平升高<sup>[12-14]</sup>。ERS 是指由于细胞受到外界刺激或自身某些变化因素导致内质网稳态失衡,进而未折叠或错误折叠的蛋白质累积在内质网内对细胞产生毒性,引发内质网发生非折叠蛋白质应答(unfolded protein response, UPR),进而消除和避免未折叠蛋白质的进一步积累,从而维持细胞稳态。ERS 有 3 条经典的信号通路:PERK、IRE1 $\alpha$  和 ATF6,当 ERS 被激活时,这 3 种蛋白分别活化并进一步激活下游的信号分子传递信号<sup>[15-16]</sup>。其中 PERK 通路被证实参与 NAFLD 的发生发展机制<sup>[17]</sup>,在本实验中,进一步证实其下游信号分子 ATF4 参与 FFA 建造的 NAFLD 细胞模型疾病发展机制。PERK 通过自身磷酸化被激活,进一步磷酸化 eIF2 $\alpha$ ,然后 ATF4 水平上升进而调节细胞代谢。自噬存在 3 种不同类型,分别为巨自噬、微自噬及分子伴侣介导的自噬(chaperone-mediated autophagy, CMA)。广义自噬多指巨自噬,指在细胞内形成包裹部分细胞老化细胞器或碎片的双膜囊泡,即自噬体,自噬体与溶酶体结合使其包裹内物质降解,是细胞自我消化的一种方式<sup>[18-19]</sup>。Song 等<sup>[20]</sup>研究表明,ERS 下游 PERK 信号通路参与诱导自噬,但本研究中 FFA 组诱导 ERS PERK 信号通路激活且下游 ATF4 同样被激活,与 BSA 组比较,LC3-II/I 比值降低,自噬水平降低。LC3 有 LC3 I 和 LC3 II 2 种分子形式,发生自噬时,溶质形式的 LC3 I 与磷脂酰乙醇胺缀合形成 LC3 II,随后被募集到自噬体膜中,是自噬的特异性标志<sup>[21]</sup>。最近的研究表明<sup>[22]</sup>,高脂饮食喂养建造的 NAFLD 小鼠模型中,自噬水平降低,在体外实验中也证明棕榈酸干预会使自噬通量受阻,与本研究结果一致。ERS 与自噬之间的相互作用在不同的疾病或模型中有所不同,在 NAFLD 模型中,多出现 ERS 水平上升及自噬受阻。

本研究也进一步证实了二甲双胍在 NAFLD 模型中对 ERS 的影响,这与 Chen 等<sup>[23]</sup>研究一致,二甲双胍可降低癫痫持续状态(status epilepticus, SE)诱导的 ERS 水平,通过 PERK-eIF2 $\alpha$ -C/EBP 同源蛋白(C/EBP-homologous protein, CHOP/GADD153)信号通路可直接减少 SE 模型中的凋亡水平。在 NAFLD 模型中二甲双胍也可影响 ERS PERK 信号通路,且在本实验中进一步说明其下游分子 ATF4 也受二甲双胍调控。无论在何种细胞内,二甲双胍均可激活腺苷酸活化蛋白激酶,AMPK 作为一种已知的细胞代谢传感器,参与细胞内多种信号传导通路调节<sup>[24]</sup>。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)是自噬调节的重要信号分子,而 AMPK 的激活可抑制 mTOR<sup>[25]</sup>。Hu 等<sup>[24]</sup>研究表明,二甲双胍可调控 mTOR

信号通路,而 mTOR 信号通路也可进一步负调控自噬。本实验证实,二甲双胍组可明显增加因 FFA 降低的 LC3-II/I 比值,且自噬相关蛋白 p62 水平明显降低,说明二甲双胍可恢复因 FFA 脂毒性降低的自噬水平,可能有助于进一步减少细胞内脂质蓄积。

综上所述,二甲双胍可有效保护肝细胞免受 FFA 的脂毒性,缓解其 ERS 并增强自噬水平,对 NAFLD 有潜在的治疗作用。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

吴晓曼、张敏:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;田甜、李明:分析试验数据,论文审核;廖星辰:资料搜集整理;谭诗云:课题设计,论文终审

**参考文献**

- [1] Wegermann K, Suzuki A, Mavis AM, et al. Tackling NAFLD: Three targeted populations [J]. *Hepatology*, 2020. DOI: 10.1002/hep.31533.
- [2] Carneros D, Lopez-Lluch G, Bustos M. Physiopathology of lifestyle interventions in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)[J]. *Nutrients*, 2020, 12(11): 3472. DOI:10.3390/nu12113472.
- [3] Wang X, Li Q, Pang J, et al. Associations between serum total, free and bioavailable testosterone and non-alcoholic fatty liver disease in community-dwelling middle-aged and elderly women[J]. *Diabetes Metab*, 2020. DOI:10.1016/j.diabet.2020.09.007.
- [4] Lebeauin C, Vallee D, Hazari Y, et al. Endoplasmic reticulum stress signalling and the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease[J]. *J Hepatol*, 2018, 69(4): 927-947. DOI:10.1016/j.jhep.2018.06.008.
- [5] Budd J, Cusi K. Role of agents for the treatment of diabetes in the management of nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Curr Diab Rep*, 2020, 20(11): 59. DOI:10.1007/s11892-020-01349-1.
- [6] Flory J, Lipska K. Metformin in 2019[J]. *JAMA*, 2019, 321(19): 1926-1927. DOI:10.1001/jama.2019.3805.
- [7] Rena G, Hardie DG, Pearson ER. The mechanisms of action of metformin [J]. *Diabetologia*, 2017, 60(9): 1577-1585. DOI: 10.1007/s00125-017-4342-z
- [8] de Jesus Acosta-Cota S, Aguilar-Medina EM, Ramos-Payan R, et al. Therapeutic effect of treatment with metformin and/or 4-hydroxychalcone in male wistar rats with nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 863: 172699. DOI:10.1016/j.ejphar.2019.172699.
- [9] 张彩霞, 张国君. 二甲双胍与多发性骨髓瘤相关研究进展[J]. *疑难病杂志*, 2019, 18(9): 959-962. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2019.09.024.
- [10] 肖清华, 饶紫兰, 雷俊宝, 等. 二甲双胍对非酒精性脂肪肝小鼠的内质网应激相关凋亡基因的调控[J]. *中国临床药理学杂志*, 2019, 35(3): 245-248. DOI:10.13699/j.cnki.1001-6821.2019.03.015.
- [11] Guo J, Li Y, Duan H, et al. Metformin suppresses the proliferation and promotes the apoptosis of colon cancer cells through inhibiting the expression of long noncoding rna-ucal [J]. *Oncol Targets Ther*,

- 2020, 13: 4169-4181. DOI:10.2147/OTT.S245091.
- [12] Kim JH, Sim HA, Jung DY, et al. Poria cocos wolf extract ameliorates hepatic steatosis through regulation of lipid metabolism, inhibition of ER stress, and activation of autophagy via AMPK activation [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(19):4801. DOI:10.3390/ijms20194801.
- [13] 唐君瑞, 李明珂, 曹光琼, 等. 非酒精性脂肪性肝病与幽门螺杆菌感染的相关性 [J]. *疑难病杂志*, 2020, 19(3):242-247. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.03.006.
- [14] 严妍, 吴新华, 黄玉杰, 等. 利拉鲁肽对 2 型糖尿病合并 NAFLD 患者肝功能、脂代谢及微炎性反应的影响 [J]. *疑难病杂志*, 2019, 18(10):1009-1012. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2019.10.009.
- [15] Chen X, Cubillos-Ruiz JR. Endoplasmic reticulum stress signals in the tumour and its microenvironment [J]. *Nat Rev Cancer*, 2021, 21(2):71-88. DOI:10.1038/s41568-020-00312-2.
- [16] Oommen D, Kizhakkedath P, Jawabri AA, et al. Proteostasis regulation in the endoplasmic reticulum: An emerging theme in the molecular pathology and therapeutic management of familial hypercholesterolemia [J]. *Front Genet*, 2020, 11: 570355. DOI: 10.3389/fgene.2020.570355.
- [17] Li D, Zhao D, Du J, et al. Heme oxygenase-1 alleviated non-alcoholic fatty liver disease via suppressing ROS-dependent endoplasmic reticulum stress [J]. *Life Sci*, 2020, 253: 117678. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.117678.
- [18] Mugume Y, Kazibwe Z, Bassham DC. Target of rapamycin in control of autophagy: Puppet master and signal integrator [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(21): 8259. DOI:10.3390/ijms21218259.
- [19] 李辉, 刘志虎, 李华, 等. 姜黄素脂质体对高脂诱导的非酒精性脂肪性肝病小鼠的降脂保肝作用 [J]. *中国医药*, 2020, 15(7):1053-1057. DOI:10.3760/j.issn.1673-4777.2020.07.020.
- [20] Song JY, Fan B, Che L, et al. Suppressing endoplasmic reticulum stress-related autophagy attenuates retinal light injury [J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(16): 16579-16596. DOI: 10.18632/aging.103846.
- [21] 孔志伟, 姚婷婷. 自噬相关基因 Beclin1 和 LC3 与子宫内膜异位症的研究进展 [J]. *医学综述*, 2019, 25(21): 4166-4173. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2019.21.002.
- [22] Fang Y, Ji L, Zhu C, et al. Tiraglutide alleviates hepatic steatosis by activating the TFEB-regulated autophagy-lysosomal pathway [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 602574. DOI: 10.3389/fcell.2020.602574.
- [23] Chen J, Zheng G, Guo H, et al. The effect of metformin treatment on endoplasmic reticulum (ER) stress induced by status epilepticus (SE) via the PERK-eIF2 $\alpha$ -CHOP pathway [J]. *Bosn J Basic Med Sci*, 2018, 18(1): 49-54. DOI:10.17305/bjbm.2017.2044.
- [24] Hu Q, Peng J, Jiang L, et al. Metformin as a senostatic drug enhances the anticancer efficacy of CDK4/6 inhibitor in head and neck squamous cell carcinoma [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(10): 925. DOI:10.1038/s41419-020-03126-0.
- [25] 文兰香, 覃世运, 陈丽君. 槲皮素调控 ampk/mtor 通路对肺癌 a549 细胞自噬的影响 [J]. *中国免疫学杂志*, 2020, 36(19): 2375-2379. DOI:10.3969/j.issn.1000-484X.2020.19.019.

(收稿日期:2020-11-25)

(上接 395 页)

- [18] Forte L, Turdo F, Ghirelli C, et al. The PDGFR $\beta$ /ERK1/2 pathway regulates CDCP1 expression in triple-negative breast cancer [J]. *BMC Cancer*, 2018, 18(1):586. DOI: 10.1186/s12885-018-4500-9.
- [19] Sun L, Liu L, Yu T, et al. VCAM1-targeted RNA interference inhibits the proliferation of human oral squamous carcinoma HN12 cells [J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(4): 5650-5662. DOI: 10.3892/ol.2018.8034.
- [20] Liu X, Sun L, Zhang S, et al. GINS2 facilitates epithelial-to-mesenchymal transition in non-small-cell lung cancer through modulating PI3K/Akt and MEK/ERK signaling [J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(11):7747-7756. DOI: 10.1002/jcp.29381.
- [21] 董云梅, 陶艳, 周瑜. 口腔黏膜癌变过程中血清生化标志物的研究进展 [J]. *国际口腔医学杂志*, 2020, 47(1):43-50. DOI:10.7518/gjkq.2020025.
- [22] 郑琛, 石超吉, 杜琳娟, 等. 成纤维细胞生长因子受体样蛋白 1 在口腔鳞状细胞癌中的表达及其对细胞增殖和迁移能力的影响 [J]. *华西口腔医学杂志*, 2020, 38(5):558-565. DOI: 10.7518/hxkq.2020.05.015.
- [23] Zheng X, Zhang W, Wang Z. Simvastatin preparations promote PDGF-BB secretion to repair LPS-induced endothelial injury through the PDGFR $\beta$ /PI3K/Akt/IQGAP1 signalling pathway [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(12): 8314-8327. DOI: 10.1111/jcmm.14709.
- [24] Wan W, Ding Y, Xie Z, et al. PDGFR- $\beta$  modulates vascular smooth muscle cell phenotype via IRF-9/SIRT-1/NF- $\kappa$ B pathway in subarachnoid hemorrhage rats [J]. *J Cerebr Blood F Met*, 2018, 39(7):1369-1380. DOI: 10.1177/0271678X18760954.
- [25] Kwakye AK, Kampo S, Lv J, et al. Levobupivacaine inhibits proliferation and promotes apoptosis of breast cancer cells by suppressing the PI3K/Akt/mTOR signalling pathway [J]. *BMC Res Notes*, 2020, 13(1):11-30. DOI: 10.1186/s13104-020-05191-2.
- [26] Fang J, Huang X, Han X, et al. Endothelial progenitor cells promote viability and nerve regenerative ability of mesenchymal stem cells through PDGF-BB/PDGFR- $\beta$  signaling [J]. *Aging*, 2020, 12(1):106-121. DOI: 10.18632/aging.102604.

(收稿日期:2020-10-27)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.04.017

罕见病例

## C10orf2 基因突变引起的线粒体 DNA 耗竭综合征 1 例

张萌, 杨言慧, 李凡, 张思瑾

作者单位: 130041 长春, 吉林大学第二医院儿科

通信作者: 张思瑾, E-mail: cczhangsijin@163.com

【关键词】 线粒体 DNA 耗竭综合征; C10orf2 基因; 突变; 发育倒退; 诊断

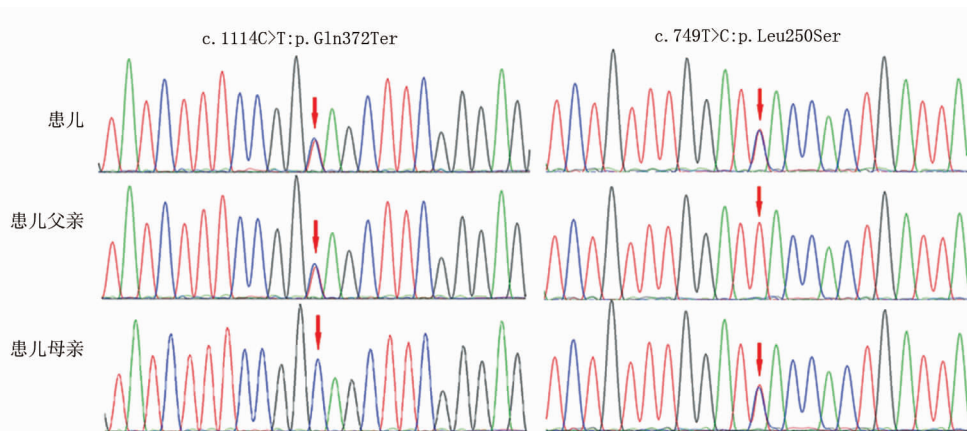
【中图分类号】 R394 【文献标识码】 B

患儿,男,14 月龄,因“发现发育迟缓并倒退 11 个月”就诊。3 月龄时,患儿抬头不稳;7 月龄时,抬头不如以往,不会坐;9 月龄时,出现喂养困难、消瘦;12 月龄时,肢体出现不自主运动,手不能持物;14 月龄时,偶可抬头,不能竖直,辅助下可翻身,不能独坐,咀嚼困难。外院检查转氨酶升高,给予对症治疗,未见显效,遂转入我院。母孕 39 周 1 胎 1 产,阴道分娩,过程正常,出生体质量 2 600 g, Apgar 评分不详。生后无窒息,无病理性黄疸,父母非近亲婚配。体格检查:体质量 5.9 kg, 头围 41.5 cm。一般状态欠佳,发育落后。不能独坐,呼之有反应。肤色正常,头不能竖直。手足徐动,四肢肌力Ⅲ级,肌张力低。双侧膝腱反射未引出,双侧巴氏征阴性。实验室检查 ALT 108 U/L (9~50 U/L), AST 144 U/L (15~40 U/L); 头部 MR 示双侧侧脑室后角旁对称性稍长 T2 信号; 腹部彩色超声检查未见明显异常; 右腓肠神经、左正中神经感觉神经诱发电位未引出反应。听力检测:双耳气导客观听力阈值 100 dB 未引出;双耳骨导客观听力阈值 50 dB 未引出;眼底未见明显异常。尿肌酐、血氨基酸和肉碱谱、尿液串联质谱未见明显异常;E-B 病毒抗体阴性、脊肌萎缩症基因突变检测阴性。家属拒绝肌肉活检及肝脏活检。全外显子检测在 C10orf2 (10 号染色体开放阅读框架 2) 上检测到 2 个复合杂合的新变异:c. 749T>C 为错义突变,导致 p. Leu250Ser; c. 1114C>T 为无义突变,导致 p. Gln372Ter,

使肽链合成提前终止,2 个变异分别遗传自患儿母亲和父亲(图 1),且均具有致病性。综合患者临床信息及实验室检测结果,诊断为线粒体 DNA 耗竭综合征(mitochondrial DNA depletion syndrome, MDS)肝脑型,给予左卡尼汀口服液、辅酶 Q10、中链脂肪酸奶粉口服 2 个月,症状未见好转,家属自行停药。随访中,患儿 18 月龄时完全不能抬头,出现双眼内斜;20 月龄时出现眼球震颤、张口吐舌、四肢不能动,不会说话,呼之无反应,仅可下咽少量流食。28 月龄时出现反复抽搐,持续 3 d 后,患儿死亡。

**讨论** MDS 是核基因突变引起的线粒体疾病,因病变组织中线粒体 DNA (mitochondria DNA, mtDNA) 不足而出现功能障碍,中枢神经系统等能量需求高的器官表现尤为突出。引起 MDS 的基因包括参与线粒体脱氧核苷三磷酸合成的基因、参与 mtDNA 复制的核基因、编码线粒体内膜蛋白质的基因等<sup>[1-2]</sup>。

临床上, MDS 可分为肌病型、脑肌病型、肝脑型和线粒体神经胃肠脑病,一般于婴幼儿期起病,因受累器官或组织不同,各型表现有一定差异<sup>[3]</sup>。MDS 肝脑型主要有喂养困难、反复呕吐、发育停滞、癫痫或抽搐、精神运动迟滞/倒退、眼球震颤、感觉神经病变、感音神经性耳聋、肌张力降低、肝脾肿大、黄疸等表现。实验室检查可见乳酸酸中毒、转氨酶升高、低白蛋白血症、凝血障碍、低血糖症、血氨增高。组织活检可以发现线粒体呼



注: c. 1114C>T 遗传自父亲, 导致 p. Gln372Ter; c. 749T>C 遗传自母亲, 导致 p. Leu250Ser

图 1 患儿及其父母基因检测结果

吸链复合体活性降低及 mtDNA 水平明显下降<sup>[3-5]</sup>。治疗包括辅酶 Q10 等营养支持药物、运动及对症治疗,也有部分正在进行的临床试验,但尚无治愈方法<sup>[6-7]</sup>。大部分 MDS 预后不佳,多在婴幼儿期死亡,部分可存活至青春期<sup>[3]</sup>。

MDS 肝脑型可由 DGUOK、MPV17、POLG、C10orf2 等多个基因突变引起,其中,C10orf2 基因突变是 MDS 肝脑型的罕见病因,目前国内仅报道 2 例<sup>[8-9]</sup>。C10orf2 基因编码 mtDNA 解旋酶 Twinkle,其隐性突变除引起 MDS 肝脑型外,还可引起婴儿早发脊髓小脑共济失调( infantile-onset spinocerebellar ataxia, IOSCA)和 Perrault 综合征<sup>[10]</sup>。IOSCA 和 Perrault 综合征的临床表现均较轻。本例患儿符合 MDS 肝脑型的典型临床表现,但由于家属拒绝未能行肝脏、肌肉等组织活检病理结果证实,mtDNA 水平下降。本患儿从发病到明确诊断历时 1 年余,最终全外显子在 C10orf2 上发现了致病突变,从而明确了临床诊断。

综上,对于婴幼儿期同时出现不明原因精神运动发育迟滞、肝功能损害等多系统功能障碍的儿童,应及时进行线粒体疾病相关基因的筛查,有助于早期发现、判断预后。

参考文献

[1] El-Hattab AW, Craigen WJ, Scaglia F. Mitochondrial DNA maintenance defects [J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2017, 1863(6): 1539-1555. DOI:10. 1016/j. bbadis. 2017. 02. 017.  
 [2] El-Hattab AW, Wang J, Dai H, et al. MPV17-related mitochondrial DNA maintenance defect: New cases and review of clinical, biochemical, and molecular aspects [J]. Hum Mutat, 2018, 39(4): 461-470. DOI:10. 1002/humu. 23387.

[3] Basel D. Mitochondrial DNA depletion syndromes [J]. Clin Perinatol, 2020, 47(1): 123-141. DOI:10. 1016/j. clp. 2019. 10. 008.  
 [4] Viscomi C, Zeviani M. MtDNA-maintenance defects: syndromes and genes [J]. J Inher Metab Dis, 2017, 40(4): 587-599. DOI:10. 1007/ s10545-017-0027-5.  
 [5] Mahjoub G, Habibzadeh P, Dastsooz H, et al. Clinical and molecular characterization of three patients with Hepatocerebral form of mitochondrial DNA depletion syndrome: a case series [J]. BMC Med Genet, 2019, 20(1): 167-176. DOI: 10. 1186/s12881-019-0893-9.  
 [6] Hirano M, Emmanuele V, Quinzii CM. Emerging therapies for mitochondrial diseases [J]. Essays Biochem. 2018, 62(3): 467-481. DOI:10. 1042/EBC20170114.  
 [7] Almannai M, El-Hattab AW, Scaglia F. Mitochondrial DNA replication: clinical syndromes [J]. Essays Biochem, 2018, 62(3): 297-308. doi: 10. 1042/EBC20170101.  
 [8] 丁乐, 卢孝鹏, 何燕, 等. TWNK 相关线粒体 DNA 耗竭综合征 7 患儿 1 例并文献复习 [J]. 中华实用儿科临床杂志, 2018, 33(12): 933-935. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-428X.2018.12.013.  
 [9] Li X, Li L, Sun Y, et al. Whole exome sequencing reveals two novel compound heterozygous mutations in TWNK as a cause of the hepatocerebral form of mitochondrial DNA depletion syndrome: a case report [J]. BMC Med Genet, 2019, 20(1): 146-153. DOI: 10. 1186/s12881-019-0875-y.  
 [10] Pan Z, Hongen X, Tian Y, et al. Perrault syndrome: Clinical report and retrospective analysis [J]. Mol Genet Genomic Med, 2020, 8(10): e1445. DOI:10. 1002/mgg3. 1445.

(收稿日期: 2020-08-10)

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2021. 04. 018

罕见病病例

## 右冠状动脉编织样变合并后降支闭塞 1 例

郑在勇, 胡厚祥, 曾建辉, 吕湛, 岳荣川

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81600232); 南充市市校科技战略合作专项(18SXHZ0458; NSMC20170210)

作者单位: 637000 四川南充, 川北医学院附属医院心血管内科

通信作者: 岳荣川, E-mail: 251864693@qq.com

【关键词】 编织样冠状动脉; 心肌梗死; 诊断; 治疗

【中图分类号】 R543.3 【文献标识码】 B

患者, 男, 43 岁, 因“反复心前区疼痛 14 d”于 2019 年 7 月 26 日入院。患者入院前 14 d 无明显诱因出现胸前区牵扯样痛, 持续约数分钟到数小时, 最长约 3 h, 伴肩部及腰部放射痛, 休息后可自行缓解, 无胸闷、气促、心悸、晕厥、黑矇。既往无糖尿病、高血压病史; 吸烟 30 余年, 约 20 支/天, 无酗酒史。入院查体: T 36.6℃, P 48 次/min, R 20 次/min, BP 96/62 mmHg。其余查体无特殊。快速肌钙蛋白 I (cTnI) 0.12 ng/ml, 超敏肌钙蛋白 T (hsTnT) 0.008 ng/ml, 肌酸激酶同工酶 (CK-MB) 0.62 ng/ml, 肌红蛋白 (MYO) < 21.00 ng/ml; 总蛋白 (TP) 62.3 g/L,

总胆固醇 (TC) 3.39 mmol/L, 高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 0.79 mmol/L; 肝功能、肾功能、凝血功能等未见明显异常。心电图示心率 48 次/min, II、III、aVF 导联异常 Q 波, 肢体导联低电压。心脏超声示左室舒张末前后径 57 mm, 左室后壁中下段运动幅度减弱, 约 3 mm, 余未见异常。予以阿司匹林肠溶片、硫酸氢氯吡格雷、匹伐他汀钙分散片口服; 依诺肝素钠注射液皮下注射。入院第 5 天冠状动脉造影 (CAG) 示左主干、前降支、回旋支未见狭窄, 右冠状动脉近中段及远段可见多处血流样分割改变, 中段斑块中度狭窄, 后降支远段血流充盈欠佳(图

1), 诊断为右冠状动脉编织样变合并后降支闭塞。继续前述治疗, 于入院第 15 日复查冠状动脉造影未见明显改变。患者及家属拒绝进一步行血管内超声检查, 于入院第 16 日出院。出院 1 年后电话随访, 患者述未再出现类似症状。

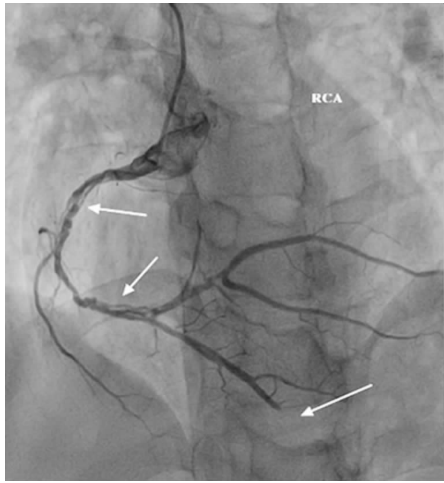


图 1 患者 CAG 图像示右冠状动脉多处编织样改变

**讨论** 编织样冠状动脉(woven coronary artery, WCA)是一种极少见的冠状动脉变异。1988 年 Sane 等<sup>[1]</sup>报道 1 例老年妇女行冠状动脉造影时发现其右冠状动脉分为 2 个分支, 相互交叉一次后再次会合成 1 支血管, 形成“8”字征象, 并将其命名为“wove coronary artery”。关于编织样冠状动脉的文献报道中, 男性患者多于女性, 以中老年多见, 且常发生于右冠状动脉<sup>[2]</sup>。回顾文献发现, 编织样冠状动脉的特点: (1) 冠状动脉发出多个分支, 前行一段距离后再次汇合为 1 支血管, 其过程中可相互缠绕; (2) 编织样冠状动脉本身并不影响所在冠状动脉的远端血流情况; (3) 长期随访观察, 编织样冠状动脉本身并不发生明显进展, 因此常在发生其他冠状动脉病变时检出。

编织样冠状动脉的发生机制目前主要有 2 种观点, 一种认为编织样冠状动脉是由于冠状动脉内血栓机化后再通形成<sup>[3]</sup>; 另一种观点认为编织样冠状动脉是一种先天性解剖变异。Yildirim 等<sup>[4]</sup>报道 1 例 9 月龄的川崎病婴儿冠状动脉造影时发现右冠状动脉编织样改变, 1 年后复查冠状动脉造影未见冠状动脉明显改变。国外学者在经过 6 个月~5 年不等时间对编织样冠状动脉患者复查冠状动脉造影均未发现编织样冠状动脉继续进展或变化<sup>[3-7]</sup>。很多学者认为编织样冠状动脉是一种良性病变, 另有学者认为冠状动脉血管腔直径的减小和编织部分的剪切应力增加, 可能加速动脉粥样硬化及促进血栓的形成<sup>[8-9]</sup>。编织样冠状动脉极易误诊为冠状动脉自发性夹层, 不必要的介入治疗可能给患者带来极大的风险。除造影时多角度仔细观察冠状动脉, 血管内超声(IVUS)及光学相干断层成像术(OCT)也有助于编织样冠状动脉与冠状动脉自发性夹层的鉴别<sup>[9-10]</sup>。有研究成功对冠状动脉编织样改变患者实施了支架植入术<sup>[10-11]</sup>, 但目前大多数学者均认为对编织样冠状动脉患者实施介入治疗存在较大风险, 易出现严重并发症。大部分案例采

用了药物保守治疗及冠状动脉搭桥术(CABG)的治疗策略<sup>[12-13]</sup>。

综上所述, 冠状动脉编织样变是一种极少见的解剖变异, 但冠状动脉介入时仍应警惕冠状动脉编织样变的存在。其治疗方案尚缺乏高级别的证据支持, 目前普遍认为介入治疗对编织样冠状动脉患者存在极大的风险。

#### 参考文献

- [1] Sane DC, Vidaillet HJ. “Woven” right coronary artery: a previously undescribed congenital anomaly[J]. *Am J Cardiol*, 1988, 61(13): 1158. DOI: 10.1016/0002-9149(88)90159-2.
- [2] Joseph SC, D’Antoni AV, Tubbs RS, et al. Woven coronary arteries: A detailed review [J]. *Clinical Anatomy*, 2016, 29(4): 502-507. DOI: 10.1002/ca.22657.
- [3] Martuscelli E, Romeo F, Giovannini M, et al. Woven coronary artery: differential diagnosis with diffuse intracoronary thrombosis [J]. *Ital Heart J*, 2000, 1(4): 306-307.
- [4] Yildirim A, Ouz D, Olguntürk R. Woven right and aneurysmatic left coronary artery associated with Kawasaki disease in a 9-month-old patient[J]. *Cardiology in the Young*, 2010, 20(3): 342-344. DOI: 10.1017/S1047951110000223.
- [5] Kursaklioglu H, Iyisoy A, Celik T. Woven coronary artery: a case report and review of literature [J]. *International Journal of Cardiology*, 2006, 113(1): 121-123. DOI: 10.1016/j.ijcard.2005.08.019.
- [6] Iyisoy A, Celik T, Yuksel UC, et al. Woven right coronary artery: a case report and review of the literature [J]. *Clinical Cardiology*, 2010, 33(7): E43-E45. DOI: 10.1002/clc.20292.
- [7] Acar RD, Bulut M, Uslu ZA, et al. Woven left anterior descending coronary artery imaging with computed tomography: a case report [J]. *Herz*, 2014, 39(6): 774-775. DOI: 10.1007/s00059-013-3892-1.
- [8] Ayhan S, Ozturk S, Tekelioglu UY, et al. Woven coronary artery anomaly associated with acute coronary syndrome [J]. *Int J Angiol*, 2013, 22(1): 55-58. DOI: 10.1055/s-0032-1331262.
- [9] 田卫峰, 潘硕, 雷江, 等. 血管内超声确诊右编织样冠状动脉 1 例 [J]. *临床心血管病杂志*, 2019, 35(1): 95-96. DOI: 10.13201/j.issn.1001-1439.2019.01.023.
- [10] Wang F, Han J, Guo L. Optical coherence tomography and fractional flow reserve guided treatment of woven coronary artery anomaly presenting as acute myocardial infarction: A case report [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2020, 99(7): e19163. DOI: 10.1097/MD.00000000000019163.
- [11] Pauwels R, Coeman M, De Beenhouwer T, et al. Woven coronary artery and myocardial infarction [J]. *Acta Cardiol*, 2020, 75(2): 158-159. DOI: 10.1080/00015385.2018.1557409.
- [12] Abaci A, Gonul II, Ozkan S, et al. Pathological examination of the woven coronary anomaly [J]. *European Heart Journal*, 2013, 34(suppl 1): P5682. DOI: 10.1093/eurheartj/eh310.P5682.
- [13] Akcay M, Soyulu K. An unusual etiology of ischemic stroke: Woven coronary artery anomaly [J]. *Journal of the Saudi Heart Association*, 2018, 30(4): 316-318. DOI: 10.1016/j.jsha.2018.05.001

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.04.019

综 述

# Notch 受体家族与心肌重构的研究进展

袁雨培综述 唐其柱审校

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(81530012); 国家重点研发计划资助(2018YFC1311300)

作者单位: 430060 武汉大学人民医院心内科/代谢与相关慢病湖北省重点实验室

通信作者: 唐其柱, E-mail: qztang@whu.edu.cn

**【摘要】** 心肌重构是多种心脏疾病的关键病理生理过程, 寻找有效的干预措施具有重要的科学意义。Notch 受体家族是一种高度保守的膜蛋白受体家族, 广泛表达于心脏组织, 研究证明 Notch 家族各个成员可通过抗氧化、抗凋亡、抗纤维化及促血管生成等不同方式参与心肌重构的发生发展, 研究其具体作用及机制可为心肌重构的治疗提供方向。文章对 Notch 受体家族与心肌重构的研究进展进行综述。

**【关键词】** 心肌重构; Notch 受体; 凋亡; 纤维化

**【中图分类号】** R542.2 **【文献标识码】** A

Research progress of Notch receptor family and myocardial remodeling Yuan Yupei, Tang Qizhu. Department of Cardiology, Renmin Hospital of Wuhan University, Hubei Province, Wuhan 430060, China

Corresponding author: Tang Qizhu, E-mail: qztang@whu.edu.cn

Funding program: Key Programs of NSFC (81530012); National Key R & D Program (2018YFC1311300)

**【Abstract】** Myocardial remodeling is a key pathophysiological process of a variety of heart diseases, and finding effective interventions has important scientific significance. The Notch receptor family is a highly conserved membrane protein receptor family, which is widely expressed in heart tissue. Studies have shown that each member of the Notch family can participate in myocardial remodeling in different ways such as anti-oxidation, anti-apoptosis, anti-fibrosis and promoting angiogenesis. The occurrence and development of myocardial structure, the study of its specific effects and mechanisms can provide directions for the treatment of myocardial remodeling. This article reviews the research progress of Notch receptor family and myocardial remodeling.

**【Key words】** Cardiac remodeling; Notch receptor; Apoptosis; Fibrosis

据《中国心血管病报告 2018》报道, 我国心血管病现患人数 2.9 亿, 其中高血压病 2.45 亿例, 心力衰竭 450 万例<sup>[1]</sup>。心力衰竭是高血压、冠心病、心肌病等多种心血管疾病的最终结局, 尽管目前临床药物和器械辅助治疗可延缓心力衰竭进程, 心力衰竭患者的总体预后仍很差。心肌重构贯穿心脏损伤的始终, 是心血管疾病进展为心力衰竭必然经历的病理生理过程。心肌重构是指心脏在损伤或血液动力学异常时, 从基因到结构的重建, 最终导致心脏大小、形状和功能发生改变。心肌重构过程中, 间质发生纤维化, 降低心脏顺应性, 影响心脏的舒张功能; 心肌细胞凋亡, 数目减少, 影响心脏的收缩功能。胶原纤维包裹心肌细胞导致电传导障碍引发恶性心律失常; 心肌细胞肥大导致血管密度相对降低, 引发心肌缺氧。因此, 需要深入研究心肌重构的分子调控机制, 以发现心肌重构和心力衰竭治疗的新靶点。

对于心肌重构虽已进行了大量的研究, 但其具体发生机制仍不十分明确, 心肌细胞及其他非心肌细胞(成纤维细胞、内皮细胞、平滑肌细胞等)的凋亡或增殖, 心肌的炎性反应、氧化应激反应, 纤维化及心肌内血管生成等均被证明参与了心肌重构发生发展<sup>[2-4]</sup>。而近期研究发现, Notch 家族蛋白可参与调节上述多种过程, 可能对心肌重构发挥作用<sup>[5-6]</sup>。因此笔者结合最新研究, 对 Notch 家族蛋白与心肌重构的研究进展进行综述, 以期为进一步探究提供更多理论依据。

## 1 Notch 受体家族概述

Notch 受体家族是一种高度保守的膜蛋白受体家族, 在哺乳动物中包含 4 个同源受体, 即 Notch1~4。Notch 最早由 Morgan 在突变的果蝇中发现, 该基因的功能缺失会导致果蝇翅膀边缘出现缺刻, 后研究发现 Notch 也广泛表达于脊椎动物、哺乳动物等多个物种中。Notch 受体分子量为 300 kD 左右, 由胞外区、跨膜



区和胞内区组成。胞外区包含数个表皮生长因子样重复序列及保守的富含半胱氨酸位点,主要功能是和配体结合,激活 Notch 信号通路产生效应;胞内区包含 1 个 RAM 序列、6 个 CDC10/锚蛋白样重复序列、2 个核定位信号、1 个转录激活区及 1 个 PEST 序列,主要功能是将 Notch 信号转到细胞核内。邻近细胞的 Notch 胞外区与配体结合,在肿瘤坏死因子  $\alpha$  转换酶、 $\gamma$ -促分泌酶作用下发生 2 次蛋白裂解,形成可溶性 Notch 胞内区活化形式 (intracellular domain of Notch, NICD) 进入细胞核,与初级转录因子 CSL 结合,启动下游靶基因的表达。高等动物 Notch 下游靶基因为 Hes 和 Hey。除了 CSL 经典通路外,Notch 还被证明可以通过非 CSL 依赖的方式激活,如丝氨酸/丝氨酸特异性蛋白激酶的激活<sup>[7]</sup>。

目前对 Notch 信号通路的研究涉及胚胎的发育、免疫系统功能调控、肿瘤的发生、神经退行性变及炎症反应等病理生理过程。心血管方面,Notch 的表达可在胚胎期心脏检测到。其中 Notch1 主要表达于心脏的流出道、房室管、室壁小梁及心外膜,Notch2 主要表达于房室管、肺动脉及主动脉,Notch3 主要表达于肺动脉和主动脉,Notch4 主要表达于主动脉内皮。Notch1~3 均在胚胎第 11 天开始有表达,12 周期间达到峰值,Notch4 起始表达量低,2 周时达到高峰。Notch 家族受体的表达参与调控心脏各部位的形成,在心脏发育中发挥重要的作用;其信号的缺失会导致各种先天性心脏病的发生<sup>[5]</sup>。Notch 受体家族在心脏发育中的作用已得到广泛探究,但在成人心脏中的作用研究尚未完全明确。

## 2 Notch 受体家族与心肌重构

现有研究显示,在导致心肌重构的不同疾病模型中,Notch 受体家族各成员均参与了各种心肌重构的发生过程,发挥不同的作用。

### 2.1 Notch1 受体与心肌重构

心肌重构是在炎症反应、氧化应激或机械应力等刺激下,心肌细胞及其他非心肌细胞发生凋亡。而抑制各种刺激因素,减缓细胞凋亡的发生可有效地抑制心肌重构的进展。Rocca 等<sup>[8]</sup> 研究显示,缺血再灌注 (ischemia-reperfusion, I/R) 会导致大鼠心肌损伤,心功能恶化;但激活 Notch1 后梗死面积减小,大鼠心功能明显好转。体外实验显示,Notch1 过表达可降低心肌细胞凋亡率,即 Notch1 的心肌重构保护作用可能是通过抑制细胞凋亡发挥的。同样地,Du 等<sup>[9]</sup> 研究显示,小鼠心肌梗死 (myocardial infarction, MI) 模型组相对于对照组,Notch1 及其活性成分 NICD 的转录及表达水平增加。而使用 Notch1 的

激活剂后,心脏中丙二醛及一氧化氮合酶的含量明显降低,凋亡阳性细胞数目及 Caspase3 的表达水平降低,即心肌中氧化应激反应及凋亡水平降低;心肌损伤标志物水平下降,心功能好转。由此证明激活 Notch1 可通过抑制心脏内氧化应激水平并进一步减少细胞凋亡发挥保护作用。而抑制 Notch1 后,上述保护作用消失,氧化应激反应及凋亡程度上升。Yang 等<sup>[10]</sup> 发现激活 Notch1 可通过抑制炎症反应的发生保护心肌,具体表现为 Notch1 可减少因 MI 导致的炎症因子如白介素-1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、单核细胞趋化蛋白-1 和肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 的转录及表达增加,减少心肌内巨噬细胞浸润,进一步抑制细胞凋亡,恢复心功能。

Notch1 还被证明可通过抑制心肌重构的关键过程——心肌纤维化来调控心肌重构的发展。在转化生长因子- $\beta_1$  (transforming growth factor- $\beta_1$ , TGF- $\beta_1$ ) 刺激的成纤维细胞中,过表达 Notch1 后可观察到成纤维细胞的增殖被明显抑制,成纤维标志物 I 型胶原表达减少,且进一步机制探究显示 Notch1 的这一作用是通过抑制纤维化相关通路 TGF- $\beta_1$ /Smad 发挥的<sup>[11]</sup>。在大鼠 MI 模型中,Notch1 也被证实可与 TGF- $\beta_1$ /Smad3 通路相互拮抗,Notch1 抑制 TGF- $\beta_1$  及 Smad3 的激活,抑制纤维化标志物的产生,减少成纤维细胞向肌成纤维细胞的转化,MI 大鼠心肌纤维化减少,减轻心肌重构的发生<sup>[12]</sup>。另外,在阿霉素 (doxorubicin, DOX) 导致的斑马鱼心脏损伤模型中,Notch1 也被发现可以减少 DOX 导致的心肌纤维化,主要是通过抑制纤维连接蛋白 (fibronectin, FN)、TGF- $\beta_1$  以及结缔组织生长因子的表达,并可进一步减少细胞凋亡<sup>[13]</sup>。

最新研究显示,Notch1 还与心脏中血管的生成密切相关。Liu 等<sup>[14]</sup> 发现 Notch1 可增强 MI 模型大鼠的心功能,具体表现为侧支循环血流量及心肌灌注增加,缺血心肌的体积减小;进一步对血管密度进行检测发现,Notch1 激活增加了微循环的血管数量及大小。Zhao 等<sup>[15]</sup> 研究表明,Notch1 可促进血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 及碱性成纤维细胞生长因子表达,进一步促进新生血管成熟,增加缺血心肌的局部血流,说明 Notch1 可通过调控心脏内血管的生成及成熟对抗心肌重构的发生。Notch1 还被证明与内质网应激有关,Zhang 等<sup>[16]</sup> 发现在 I/R 小鼠心肌重构模型中,过表达 Notch1 可抑制内质网应激关键酶蛋白,如激酶 R 样内质网激酶、 $\alpha$  亚基的真核起始因子 2 及 C/EBP 同源蛋白的激活或表达,进一步减少细胞凋亡,缓解心肌重构的发生,改善心功能。



另外,间充质干细胞(mesenchymal cells, MSC)的激活、增殖和迁移对于心脏损伤的修复有重要作用;且有研究显示,心力衰竭患者的脂肪间充质干细胞中 Notch1 表达明显下调<sup>[17]</sup>。而最新研究显示,MI 模型小鼠中,Notch1 可通过介导血清外显体的表达,促进内源性间充质干细胞的激活,促进 VEGF 的表达及血管生成,有助于心脏损伤修复<sup>[18]</sup>。

**2.2 Notch2 受体与心肌重构** 现已有大量研究证明,Notch2 在心脏发育中的作用至关重要,它参与心肌细胞的增殖、分化和凋亡等过程,敲除 Notch2 可能会导致心肌肥厚、致密化减少和室间隔缺损等问题<sup>[19-21]</sup>。但其在成熟心脏中的作用研究较少。Richard 等<sup>[22]</sup> 研究显示,小鼠 I/R 损伤后,心脏中 Notch2 转录水平相对于假手术组明显下降;外源性给予二十二碳六烯酸激活 Notch2 后,心肌梗死面积减小,氧化应激水平降低,心脏耗氧量、ATP 消耗及肌酸激酶的释放均减少,即 Notch2 的表达可通过调控氧化应激发挥心脏保护作用。另外,在猪慢性缺血心脏损伤模型中,高脂饲料喂养组相对于正常饲料组 Notch2 的表达下降,细胞凋亡增加,免疫荧光显示 Notch2 的表达高度集中于平滑肌壁,与平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA)共定位。但与对照组相比,心脏毛细血管密度无明显差异,说明 Notch2 的促血管生成功能还有待进一步探究<sup>[23]</sup>。另有研究显示,Notch2 的激活不仅可以调节血管平滑肌细胞的增殖与凋亡,还可促进血管内皮细胞生成细胞球蛋白,加强平滑肌细胞对一氧化氮的利用,进一步促进血管功能;Notch2 也可能通过对血管内皮细胞及平滑肌细胞的调节发挥心肌重构抑制作用<sup>[24-25]</sup>。除了发挥保护作用,Notch2 的表达还被证明可促进心肌纤维化的发生。Geng 等<sup>[26]</sup> 研究显示,在高糖刺激的人主动脉瓣内皮细胞中,相对于对照组细胞,Notch2 的表达明显上调,内皮间质转化增加,纤维化标志物如  $\alpha$ -SMA、FN 和波形蛋白等表达增加;而给予 microRNA-18a-5p 抑制 Notch2 的表达后,内皮间质转化减少,纤维化标志物减少。在糖尿病心肌病大鼠模型中,Notch2 的表达抑制使内皮间质转化及心肌纤维化减少,心功能好转。由此说明,Notch2 对于心肌重构的作用可能存在两面性,具体作用及机制还有待更进一步探究。

**2.3 Notch3 受体与心肌重构** 在离体大鼠心肌细胞中,Notch3 被证明是 Notch 受体家族的主要表达受体,且在慢性心力衰竭模型中,Notch3 的转录水平升高,且表达水平升高更为显著<sup>[27]</sup>。Zhang 等<sup>[28]</sup> 研究发现,小鼠 I/R 损伤模型中,Notch3 可被肿瘤抑制素 M 激

活,Notch3 表达增加可减轻 I/R 造成的损伤,具体表现为 Notch3 激活组小鼠心肌损伤标志物乳酸脱氢酶和肌酸激酶同工酶明显降低,心肌梗死面积减小,心脏射血分数增加,心脏中 ROS 水平及线粒体中锰超氧化物歧化酶活性降低,心肌细胞凋亡减少。更为重要的是,Notch3 减轻了 I/R 导致的小鼠线粒体结构紊乱,增加了其生物合成,主要通过提高小鼠缺血心肌线粒体 ATP 含量,增强柠檬酸合酶活性及呼吸链复合体 I/II/III/IV/V 的活性。细胞实验进一步验证了 Notch3 的上述作用,证明 Notch3 过表达可明显缓解心肌重构,相反地,抑制其表达会加重心肌重构。进一步研究发现,Notch3 的这一心脏保护作用是由 PI3K/AKT 通路介导的。另有研究显示,Notch3 可被 apelin 干预激活,进一步促进骨髓细胞的招募,抑制 MI 导致的小鼠心肌活性氧的生成增加及心肌细胞凋亡,增强心功能<sup>[29]</sup>。

Notch3 还与心肌纤维化密切相关。在小鼠心肌梗死 24 h 后,Notch3 表达迅速增加。与单纯 MI 小鼠相比,过表达 Notch3 的小鼠心功能好转,存活率升高,而沉默 Notch3 的小鼠心功能恶化,存活率降低。过表达 Notch3 可明显抑制心脏内纤维化标志物  $\alpha$ -SMA、I 型胶原、金属蛋白酶组织抑制剂-2 的转录和表达;且 Notch3 激活后 p-Smad3 表达降低。体外实验中,过表达 Notch3 可抑制 TGF- $\beta_1$  诱导的心肌成纤维细胞向肌成纤维细胞的转化,同时也验证了这一作用是通过抑制 TGF- $\beta_1$ /Smad3 信号通路实现的<sup>[30]</sup>。施建丽<sup>[31]</sup> 研究也显示,Notch3 可抑制心脏成纤维细胞增殖及向肌成纤维细胞转化,提示 Notch3 是通过抑制 RhoA/ROCK/Hif1 $\alpha$  轴发挥对抗心肌纤维化并改善心功能的。

另外,研究还发现 Notch3 与心脏血管生成密切相关。Ragot 等<sup>[32]</sup> 发现 Notch3 敲除的小鼠在基础水平即表现出心肌肥厚和纤维化,加入血管紧张素 2 干预后,出现明显的心力衰竭:心脏扩张,左心室短轴缩短率降低,心脏损伤标志物表达升高。导致这一结果的原因是,Notch3 的敲除使心肌细胞及血管平滑肌细胞凋亡增加,纤维状肌动蛋白水平下降,纤连蛋白增加,同时血管平滑肌细胞从收缩表型向合成表型转变,血管生成减少。毛细血管稀疏引起心肌细胞的需求和供给不平衡,引起氧化应激、炎症反应和纤维化。具体表现为心肌内活性氧、还原型辅酶氧化酶 II、巨噬细胞浸润、纤维化标志物转录水平(Col I、Col III、FN)均明显增加。由此证明,Notch3 还可通过调节血管生成对抗心肌重构的发生。另一研究也显示,小鼠 MI 模型中,

Notch3 可影响微血管的功能及成熟。相对于野生型小鼠,敲除 Notch3 小鼠的周细胞/毛细血管覆盖率下降,小动脉成熟减少;虽然对心功能无明显影响,但脉冲多普勒显示左冠状动脉舒张期峰值血流速度显著降低,冠状动脉血流储备明显下降。且 Notch3 敲除小鼠在结扎左冠状动脉前降支后,引起心肌梗死面积更大、心功能更差、病死率更高。Notch3 促进血管生成的作用是通过增加 VEGF 及血管生成素-1 的表达发挥的,VEGF 及 Ang-1 表达减少影响心肌缺血后小动脉的形成,使 Notch3 敲除小鼠平滑肌细胞覆盖不规则,小动脉壁不完全,新生血管发育不成熟;更进一步导致心脏中炎症反应和细胞凋亡的发生<sup>[33]</sup>。

另外,Xu 等<sup>[34]</sup>发现在缺氧处理的 H9C2 细胞中, MicroRNA-1 过表达可抑制 Notch3 激活,同时造成细胞凋亡增加,增殖和自噬减少;证明 Notch3 的激活可促进心肌细胞增殖和自噬,减少凋亡。也有研究显示,Notch3 的缺失会影响内皮细胞与周细胞的通信,导致周细胞容易脱离并迁移到血管周围间质中分化为成纤维细胞,这一过程导致血管通透性增加,炎症反应增加,心肌纤维化加重<sup>[35]</sup>,说明 Notch3 的表达还可能通过对维持周细胞的稳定性发挥对抗心肌重构的作用,但具体机制还有待进一步探究。

**2.4 Notch4 受体与心肌重构** 一项回归分析显示,Notch4 基因中的 T 等位基因 rs3134942 可增加人群患扩张型心肌病的风险<sup>[36]</sup>。在糖尿病合并心肌梗死的大鼠模型中,肌酸激酶同工酶、心肌肌钙蛋白 T 水平升高,梗死面积增加,心肌细胞凋亡增加,同时,Notch1 和 Notch4 的转录及表达水平被明显抑制;在细胞水平激活 Notch 通路,使 Notch1、Notch4 表达增加,高糖及缺氧引起的心肌细胞存活率降低和凋亡增加均被明显抑制<sup>[37]</sup>。由此证明,Notch4 可通过抑制心肌细胞凋亡,对心肌重构发挥一定的保护作用。另外,Notch4 还被证明可被其配体 DLL4 调节,参与内皮细胞与巨噬细胞的浸润与分化,与心肌内炎症反应的形成密切相关<sup>[38]</sup>。由此证明,Notch4 与血管内皮细胞关系密切,可通过调节其增殖、迁移及凋亡,并参与内皮细胞与其他细胞的相互作用,调节各种刺激下的心肌炎症反应,抑制心肌重构的发生。另外,Elmadhun 等<sup>[23]</sup>研究发现,在已构建代谢综合征(metabolic syndrome, MS)的奥萨博猪中构建慢性心肌缺血模型,结果显示 MS 会抑制 Notch4 的表达,增加心肌细胞凋亡;但小动脉计数及毛细血管密度在 MS 组和对照组间无明显差异,即 Notch4 的表达对血管生成无明显影响。但与上述结果不同,James 等<sup>[39]</sup>证明 Notch4 与小鼠发育过程

中微血管丛的生成关系密切,但并未探究其对成年小鼠血管生成的作用;这可能是由于 Notch4 在不同阶段的作用不同,有待进一步探究。

### 3 小结

Notch 受体家族作为心脏发育重要的成分,已被证明可通过抗氧化、抗炎、抗凋亡、抗纤维化、促血管生成等多种方式调控心肌重构的发生。虽大量研究显示其在抑制心肌重构中的积极作用,但也有研究显示部分成员在不同疾病模型中发挥促进作用,且发挥作用的具体机制尚不十分清楚。Notch 受体家族特异性激动剂或抑制剂的进一步使用仍需要进一步评估。因此深入探究 Notch 受体家族与心肌重构的关系,探寻相关的分子作用机制,早日发现组织选择性或靶基因选择性的 Notch 激动剂或抑制剂对心血管疾病的防治具有深远意义。

### 参考文献

- [1] 胡盛寿,高润霖,刘力生,等.《中国心血管病报告 2018》概要[J]. 中国循环杂志, 2019, 34(3):209-220. DOI: 10.3969/j.issn.1000-3614.2019.03.001.
- [2] Karam S, Margaria JP, Bourcier A, et al. Cardiac overexpression of PDE4B blunts beta-adrenergic response and maladaptive remodeling in heart failure[J]. *Circulation*, 2020, 142(2):161-174. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.119.042573.
- [3] Wang L, Zhang YL, Lin QY, et al. CXCL1-CXCR2 axis mediates angiotensin II-induced cardiac hypertrophy and remodelling through regulation of monocyte infiltration[J]. *Eur Heart J*, 2018, 39(20):1818-1831. DOI: 10.1093/eurheartj/ehy085.
- [4] Hermida N, Michel L, Esfahani H, et al. Cardiac myocyte beta3-adrenergic receptors prevent myocardial fibrosis by modulating oxidant stress-dependent paracrine signaling[J]. *Eur Heart J*, 2018, 39(10):888-898. DOI: 10.1093/eurheartj/ehx366.
- [5] Macgrogan D, Munch J, de la Pompa JL. Notch and interacting signaling pathways in cardiac development, disease, and regeneration[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2018, 15(11):685-704. DOI:10.1038/s41569-018-0100-2.
- [6] Dergilev KV, Zubkova ES, Beloglazova IB, et al. Notch signal pathway-therapeutic target for regulation of reparative processes in the heart[J]. *Ter Arkh*, 2018, 90(12):112-121. DOI: 10.26442/00403660.2018.12.000014.
- [7] Siebel C, Lendahl U. Notch signaling in development, tissue homeostasis, and disease[J]. *Physiol Rev*, 2017, 97(4):1235-1294. DOI: 10.1152/physrev.00005.2017.
- [8] Rocca C, Femmino S, Aquila G, et al. Notch1 mediates preconditioning protection induced by GPER in normotensive and hypertensive female rat hearts[J]. *Front Physiol*, 2018, 9:521. DOI: 10.3389/fphys.2018.00521.
- [9] Du M, Shan J, Feng A, et al. Oestrogen receptor beta activation protects against myocardial infarction via notch1 signalling[J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2020, 34(2):165-178. DOI: 10.1007/

- s10557-020-06949-3.
- [10] Yang H, Sun W, Quan N, et al. Cardioprotective actions of Notch1 against myocardial infarction via LKB1-dependent AMPK signaling pathway [J]. *Biochem Pharmacol*, 2016, 108: 47-57. DOI: 10.1016/j.bcp.2016.03.019.
- [11] Zhou XL, Fang YH, Wan L, et al. Notch signaling inhibits cardiac fibroblast to myofibroblast transformation by antagonizing TGF-beta1/Smad3 signaling[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(6): 8834-8845. DOI: 10.1002/jcp.27543.
- [12] 方义湖. Notch1 与 TGF-β<sub>1</sub>/Smad3 信号通路交互作用抑制心肌纤维化的机制研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2018.
- [13] Thabassum AIS, Tirupathi PP, Raja S, et al. Paeonol reverses adriamycin induced cardiac pathological remodeling through Notch1 signaling reactivation in H9c2 cells and adult zebrafish heart[J]. *Chem Res Toxicol*, 2020, 33(2): 312-323. DOI: 10.1021/acs.chemrestox.9b00093.
- [14] Liu X, Liu Z, Chen J, et al. Pigment epithelium-derived factor increases native collateral blood flow to improve cardiac function and induce ventricular remodeling after acute myocardial infarction[J]. *J Am Heart Assoc*, 2019, 8(22): e13323. DOI: 10.1161/JAHA.119.013323.
- [15] Zhao Q, Huang J, Wang D, et al. Endothelium-specific CYP2J2 overexpression improves cardiac dysfunction by promoting angiogenesis via Jagged1/Notch1 signaling[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2018, 123: 118-127. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2018.08.027.
- [16] Zhang M, Yu LM, Zhao H, et al. 2,3,5,4-Tetrahydroxystilbene-2-O-beta-D-glucoside protects murine hearts against ischemia/reperfusion injury by activating Notch1/Hes1 signaling and attenuating endoplasmic reticulum stress[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2017, 38(3): 317-330. DOI: 10.1038/aps.2016.144.
- [17] Fortini C, Cesselli D, Beltrami AP, et al. Alteration of Notch signaling and functionality of adipose tissue derived mesenchymal stem cells in heart failure[J]. *Int J Cardiol*, 2014, 174(1): 119-126. DOI: 10.1016/j.ijcard.2014.03.173.
- [18] Gao L, Mei SY, Zhang SN, et al. Cardio-renal exosomes in myocardial infarction serum regulate proangiogenic paracrine signaling in adipose mesenchymal stem cells[J]. *Theranostics*, 2020, 10(3): 1060-1073. DOI: 10.7150/thno.37678.
- [19] Yang Q, Wu F, Mi Y, et al. Aberrant expression of miR-29b-3p influences heart development and cardiomyocyte proliferation by targeting NOTCH2[J]. *Cell Prolif*, 2020, 53(3): e12764. DOI: 10.1111/cpr.12764.
- [20] Wang L, Song G, Liu M, et al. MicroRNA-375 overexpression influences P19 cell proliferation, apoptosis and differentiation through the Notch signaling pathway[J]. *Int J Mol Med*, 2016, 37(1): 47-55. DOI: 10.3892/ijmm.2015.2399.
- [21] Yang J, Bucker S, Jungblut B, et al. Inhibition of Notch2 by Numb/Numlike controls myocardial compaction in the heart[J]. *Cardiovasc Res*, 2012, 96(2): 276-285. DOI: 10.1093/cvr/cvs250.
- [22] Richard D, Oszust F, Guillaume C, et al. Infusion of docosahexaenoic acid protects against myocardial infarction[J]. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 2014, 90(4): 139-143. DOI: 10.1016/j.plefa.2014.01.001.
- [23] Elmadhun NY, Sabe AA, Lassaletta AD, et al. Metabolic syndrome impairs notch signaling and promotes apoptosis in chronically ischemic myocardium[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2014, 148(3): 1048-1055, 1055. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2014.05.056.
- [24] Lilly B, Dammeyer K, Marosis S, et al. Endothelial cell-induced cytoglobin expression in vascular smooth muscle cells contributes to modulation of nitric oxide[J]. *Vascul Pharmacol*, 2018, 110: 7-15. DOI: 10.1016/j.vph.2018.06.016.
- [25] Baeten JT, Lilly B. Differential regulation of NOTCH2 and NOTCH3 contribute to their unique functions in vascular smooth muscle cells[J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(26): 16226-16237. DOI: 10.1074/jbc.M115.655548.
- [26] Geng H, Guan J. MiR-18a-5p inhibits endothelial-mesenchymal transition and cardiac fibrosis through the Notch2 pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 491(2): 329-336. DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.07.101.
- [27] Oie E, Sandberg WJ, Ahmed MS, et al. Activation of Notch signaling in cardiomyocytes during post-infarction remodeling[J]. *Scand Cardiovasc J*, 2010, 44(6): 359-366. DOI: 10.3109/14017431.2010.511256.
- [28] Zhang M, Wang C, Hu J, et al. Notch3/Akt signaling contributes to OSM-induced protection against cardiac ischemia/reperfusion injury[J]. *Apoptosis*, 2015, 20(9): 1150-1163. DOI: 10.1007/s10495-015-1148-7.
- [29] Li LF, Zeng H, Hou XW, et al. Myocardial injection of apelin-overexpressing bone marrow cells improves cardiac repair via upregulation of Sir3 after myocardial infarction[J]. *PLoS One*, 2013, 8(9): e71041. DOI: 10.1371/journal.pone.0071041.
- [30] Zhang M, Pan X, Zou Q, et al. Notch3 ameliorates cardiac fibrosis after myocardial infarction by inhibiting the TGF-beta1/Smad3 pathway[J]. *Cardiovasc Toxicol*, 2016, 16(4): 316-324. DOI: 10.1007/s12012-015-9341-z.
- [31] 施建丽. Notch3 通过抑制 RhoA/ROCK/Hif1α 轴调节心脏成纤维细胞增殖、凋亡及向肌成纤维细胞转化[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2020.
- [32] Ragot H, Monfort A, Baudet M, et al. Loss of Notch3 signaling in vascular smooth muscle cells promotes severe heart failure upon hypertension[J]. *Hypertension*, 2016, 68(2): 392-400. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.07694.
- [33] Tao YK, Zeng H, Zhang GQ, et al. Notch3 deficiency impairs coronary microvascular maturation and reduces cardiac recovery after myocardial ischemia[J]. *Int J Cardiol*, 2017, 236: 413-422. DOI: 10.1016/j.ijcard.2017.01.096.
- [34] Xu J, Cao D, Zhang D, et al. MicroRNA-1 facilitates hypoxia-induced injury by targeting NOTCH3[J]. *J Cell Biochem*, 2020, 121(11): 4458-4469. DOI: 10.1002/jcb.29663.
- [35] Chen JX, Chen ST, Tao YK. Cardiac pericyte is promising target for ischemic heart diseases: Role of Notch3[J]. *Int J Cardiol*, 2017, 246: 57. DOI: 10.1016/j.ijcard.2017.05.056.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.04.020

综 述

# 高功率短时程消融在心房颤动治疗应用的研究进展

白宇,尹德春综述 曲秀芬审校

基金项目:黑龙江省博士后科学基金面上资助(2018M631959);黑龙江省博士后基金(LBH-Z18213);哈尔滨医科大学附属第一医院留学归国基金(2018L001)

作者单位:150000 哈尔滨医科大学附属第一医院心血管内科

通信作者:曲秀芬,E-mail:848338283@qq.com

**【摘要】** 消融治疗心房颤动的基础是肺静脉电隔离,传统手术模式复杂且耗时,而且术后心房颤动的复发率仍不令人满意。高功率短时程的消融方式理论上可以解决这些问题。近年,一些临床前和临床研究证实了其安全性和可行性,有望广泛应用于临床实践。文章就高功率短时程消融的原理与研究现状进行综述。

**【关键词】** 心房颤动;高功率短时程;射频消融;肺静脉隔离

**【中图分类号】** R541.7\*5 **【文献标识码】** A

**Research progress of high-power short-term ablation in the treatment of atrial fibrillation** Bai Yu, Yin Dechun, Qu Xiufen. Department of Cardiology, The First Affiliated Clinical Medical College of Harbin Medical University, Heilongjiang Province, Harbin 150000, China.

Corresponding author: Qu Xiufen, E-mail: 848338283@qq.com

Funding program: Heilongjiang Postdoctoral Science Fund (2018M631959); Heilongjiang Postdoctoral Fund (LBH-Z18213); Harbin Medical University Affiliated / First Hospital Overseas Study and Return Fund (2018L001)

**【Abstract】** The basis of ablation treatment of atrial fibrillation is the electrical isolation of pulmonary veins. The traditional operation mode is still complicated and time-consuming, and the recurrence rate of postoperative atrial fibrillation is still unsatisfactory. High-power short-term ablation methods can theoretically solve these problems. In recent years, some preclinical and clinical studies have confirmed its safety and feasibility, and it is expected to be widely used in clinical practice. This article reviews the principles and current research status of high-power short-term ablation.

**【Key words】** Atrial fibrillation; High power short duration; Radiofrequency ablation; Pulmonary vein isolation

心房颤动(atrial fibrillation, AF)是一种机制尚不完全明确的心律失常,可导致全身性血栓栓塞、脑卒中、心力衰竭等不良影响。近年来,通过导管消融实现肺静脉隔离(PVI)已经成为治疗各类心房颤动的基础,尽管可以实现即刻隔离,但目前心房颤动术后复发率仍较高<sup>[1]</sup>,与晚期肺静脉传导恢复相关。持续形成透壁且连续性的损伤成为心房颤动治疗的重要因素<sup>[2]</sup>。在传统低功率长时程(LPLD)PVI策略中,在相对较长的持续时间(20~40 s)内,使用功率传输范围为20~40 W的灌溉导管可造成持久的跨壁损伤。但是一般手术时间较长,部分患者无法耐受手术过程,限制了该技术的进步。将低功率(25~30 W)和长持续时间(30~60 s)消融改为高功率(45~50 W)和短持续时间(5~15 s),被称为高功率短持续时间(HPSD)消融<sup>[3]</sup>。自从2006年Nilsson等的临床试验发现,与传统的低功率隔离技术相比,采用高功率输出和短时

间的隔离技术可以显著减少手术时间和辐射暴露时间以来,HPSD消融就引起了广泛关注<sup>[4]</sup>。近年来,大量动物实验和临床研究显示,HPSD消融治疗心房颤动,不仅可以实现更有效的消融、提高肺静脉的电隔离率,同时可以确保消融的安全性。

## 1 HPSD消融原理及可行性

1.1 HPSD与传统消融 传统射频消融中组织加热分为2个阶段:第一阶段阻抗式加热,第二阶段导管头电极产生的传导热及热传导至周围局部组织<sup>[5]</sup>。阻抗热在射频开始时迅速产生,这种损伤不可逆并且较为局限、可控。当消融时间达到10~20 s时,射频能量通过这种传导热的方式对周围组织产生的损伤不可控且不彻底。传统低功率30 W消融,不可逆损伤带之外还有较宽的水肿带。高功率短时间消融形成的不可逆损伤边界清晰、可控且彻底<sup>[6-7]</sup>。所以采用HPSD产生阻抗热的消融模式可以使消融损伤更稳定、手术

时间更短,从而更适合 AF 患者的 PVI。

**1.2 HPSD 的安全性及有效性** 射频消融技术在心律失常中的应用已经是相对成熟的技术,但如果提高能量设置,能否确保安全的问题就必然会受到广泛的质疑,近年来,已经有临床前研究证实了其安全性与有效性。Borne 等<sup>[8]</sup>的一项体外实验中,对在循环温盐水浴中的牛心肌行消融实验,射频消融在功率为 20、30、40、50 W 时,以不同的时间间隔(15、30、60、90 s)进行,该研究认为 HPSD 消融可产生与 LPLD 相似的病灶体积,但病灶深度较低,支持 HPSD 消融策略的应用。HPSD 对损伤形成的影响也已在活体心脏实验中得到证实。Bhaskaran 等<sup>[9]</sup>的研究中,分别在体外用热色液晶心肌模型及羊体内使用常规消融和 HPSD 消融,与传统的 40 W 30 s 消融相比,50 W 和 60 W 消融 5 s 可获得穿透性,同样安全且并发症少。Leshem 等<sup>[10]</sup>则采用更高的功率在 20 头猪体内行消融实验,对比 90 W 4 s 与传统 25 W 30 s 的消融效果,高功率组显示出更好的消融连续性及透壁性,2 组消融均无并发症出现且损伤深度相似。

随着三维手术操作系统的不断革新、盐水灌注压力导管的出现及标测技术越来越精密,手术也越来越安全高效,同时,近年也出现了很多预估手术损伤程度的方法,如单极电图负向波消失(USM)、阻抗降低及消融指数(LSI 和 AI 等)<sup>[11-14]</sup>。在这些方法的指导下,大量的临床研究也证实,HPSD 的方式不仅安全且手术时间更短更高效。Ejima 等<sup>[11]</sup>将 120 例心房颤动患者分为 2 组,分别进行了 50 W 3~5 s 和 25~40 W 5~10 s 的消融,得到结论认为 USM 指导下的大功率 PVI 减少了手术时间,在不影响安全的前提下可以提高手术效果。而国内的一项研究对 30 例阵发性 AF 患者以 LSI 为指导,行 50 W 的高功率消融,术后 3 个月的随访中 AF 无复发。安全性方面,术中仅有 2 例发生蒸汽爆破(Pop)且无严重并发症发生,研究表明结合阻抗变化,在 LSI 指导下,HPSD 方式在 PVI 中是安全和有效的<sup>[13]</sup>。Berte 等<sup>[14]</sup>的消融实验中,标准组前壁 35 W、后壁 25 W( $n=94$ ),HPSD 组前壁 45 W、后壁 35 W( $n=80$ ),术后随访 6 个月,2 组隔离率及主要并发症相似。结果表明,采用“close”协议,结合 AI 指数,应用 HPSD 的方法可以减少手术时间且不会对安全性和有效性产生消极影响。

## 2 HPSD 的优势

**2.1 手术时间与并发症** 射频消融手术的诸多并发症与消融时间直接相关。在手术过程中长时间的辐射暴露会使患者和操作人员面临恶性肿瘤和基因异常的风

险增加<sup>[15]</sup>。AF 手术可能会引发无症状性脑损伤、堵塞、穿孔、心律失常复发等并发症,而且导管灌注的大量液体与消融时间呈正比,可导致左心功能受损、失代偿性心力衰竭<sup>[9]</sup>。因此缩短消融时间、减少 X 线曝光、减少并发症是 AF 手术发展的重要方向。有研究表明<sup>[16]</sup>,将功率提高到 50 W 能提高部分心房颤动患者的治愈率,减少手术时间、X 射线曝光时间,且不增加并发症。根据 Winkle 等<sup>[17]</sup>的一项多中心研究报告,在 4 个经验丰富的医学中心,使用 45~50 W 的功率对 10 284 例患者(中位年龄 64 岁,男性 68%)进行了 5~15 s 共 13 974 次消融。结果显示,心包填塞 33 例(0.24%),48 h 内脑卒中 6 例(0.04%),48 h~30 d 脑卒中 6 例(0.04%),11 436 次后壁 45~50 W 消融中仅 1 例发生心房食管瘘,35 W 消融后壁 2 538 例中发生心房食管瘘 3 例。HPSD 有可能缩短总射频时间,并产生损伤深度更浅且更持久的消融效果,并发症发生率很低,但在任何功率下对后壁进行消融时,应注意食管的位置,且避免“温度叠加”的任何不利影响。

心房颤动患者心房扩大,食管和左心房后壁都很薄,且在很大范围内密切接触,消融术中很可能导致食管损伤<sup>[18]</sup>。所以 HPSD 消融引起广大学者最关注的并发症是食管损伤。Baher 等<sup>[19]</sup>通过钆剂延迟增强磁共振成像的方法评估了 687 例患者消融后的食管热损伤,HPSD 组( $n=574$ ,50 W,5 s)和 LPLD 组( $n=113$ ,35 W,10~30 s)患者在消融后 24 h 内进行磁共振检查。结果提示,2 组患者急性食管热损伤发生率和严重程度相似,且均无心房食管瘘发生,研究证明,与传统消融治疗相比,HPSD 消融方式的手术时间明显缩短且对食管的热损伤是相似的。Chen 等<sup>[20]</sup>的研究则对 120 例患者行 50 W 的高功率消融,术后 1~3 d 进行食管内窥镜检查,结果表明无论是否使用温度探针监测食管温度,消融相关的内镜食管病变发生率都相对较低。

**2.2 复发率** 心房颤动手术虽然已经比较成熟,但是与其他心律失常的手术治疗不同,仍然存在着较高的复发率。术后心房颤动复发及其他房性快速心律失常的复发与肺静脉再连接密切相关<sup>[21]</sup>。而肺静脉再连接与不完全消融和可逆性损伤有关,有效的心肌损伤与持久的跨壁损伤形成直接相关<sup>[22]</sup>。理论上,应增加电阻加热以立即加热至整个心房壁厚度,减少传导加热以限制对食管或膈神经等副组织损伤。所以,HPSD 消融更适合 PVI,或许能够减少复发率。

Bourier 等<sup>[23]</sup>通过一项电脑模拟研究,以模拟 HPSD 和标准消融,结果显示,与 LPLD 相比,HPSD 消

融的损伤灶体积相似但是病变直径明显增大,深度明显减小。另外,该实验中最小损伤深度是 3.1 mm,60 W 10 s 和 70 W 7 s 的病变深度至少为 4 mm。因为 LA 壁厚为 0.5 ~ 4 mm,平均为 1.5 ~ 2 mm,这些数据表明,HPSD 设置可以有效地实现跨壁病变。HPSD 消融可以减少消融漏点实现更好的消融连续性<sup>[10]</sup>。临床试验也证实了 HPSD 在复发率方面的优势。在一项非随机回顾性研究中<sup>[24]</sup>,HPSD 组与常规组比较,HPSD 除减少手术时间和总射频时间外,在随访 6 个月和 12 个月时,HPSD 组快速心律失常的复发率低于常规组。Kottmaier 等<sup>[25]</sup>纳入 197 例 PVI 患者,分为 HPSD 组( $n = 97$ ,70 W 持续 7 s)与标准组( $n = 100$ ,30 ~ 40 W 持续 20 ~ 40 s)比较,术后随访 1 年,HPSD 组心律失常复发率明显低于对照组( $P < 0.01$ ),83.1% 患者无心房颤动发生( $P < 0.01$ )。2 组均无心包填塞、围手术期血栓栓塞并发症、心房食管瘘发生。

### 3 HPSD 目前存在的问题与不足

**3.1 射频能量设置** 尽管 HPSD 在临床应用中已经得到了大量的证实,但也存在一些问题需要去探索。HPSD 消融的终点需要验证,还需要大量的随机对照试验,以证明 HPSD 策略的优越性,是否足以导致跨壁坏死,尤其是在心房较厚的部位,如左心房脊,仍有待观察<sup>[26]</sup>。Bhaskaran 等<sup>[9]</sup>的实验中,与 40 W 30 s 放电消融相比,在活体试验中,50 W 及以上的 5 s 放电消融都能取得 2 mm 深度的损伤,在 70 W 和 80 W 时出现过热现象。40 W 30 s,70 W/80 W 5 s 放电消融出现“Pop”及附加损伤。HPSD 似乎有一个较窄的安全和有效窗口<sup>[6]</sup>。大多数研究倾向于在应用 HPSD 减少消融时间的同时将后壁的射频功率降低 5 ~ 10 W<sup>[14,17,24]</sup>。目前的临床研究尚缺乏大样本、多中心、随机对照研究,仍需要进行更大规模的临床研究来评估不同射频设置对 HPSD 有效性和安全性的影响,为 HPSD 的最佳射频设置,包括 LSI 或 AI 的最佳范围,提供足够的证据。

**3.2 微栓塞** 全身性栓塞事件,尤其是脑卒中,一直是与该手术相关的并发症。一项体外实验证实<sup>[27]</sup>,当功率大于 40 W 时,发生 Pop 和血栓形成较多,在高功率射频消融时,应注意血栓形成。而且,心房颤动消融术似乎比其他技术更容易导致无症状脑损伤,引起这类病变的微栓子物质成分为血栓、气体微泡、热变性白蛋白微泡、热凝和撕脱组织,其中微气泡和微粒被认为是消融引起这些无症状脑栓塞的来源<sup>[28]</sup>。一项动物实验表明,高功率射频应用、拖动烧蚀和 Pop 会产生大部分微粒,消融后脑磁共振显示出阳性栓塞病变<sup>[29]</sup>。

目前尚缺乏临床试验和长期随访证实高功率、Pop、血栓和微气泡之间的联系,仍然需要借助磁共振等影像技术来确定 HPSD 在微栓塞方面的安全性。

### 4 小结与展望

近年来,HPSD 的应用使心房颤动手术有了新的突破,大多数动物及临床试验数据均显示使用 HPSD 足够安全,除减少程序和透视时间外,也证明了 HPSD 设置用于 PVI 的可行性和有效性,并发症更少,复发率更低,并有学者建议将 HPSD 作为标准的 PVI 方案。但是当前的临床研究仍然存在一些不足之处需要继续深化研究。目前需要增加更多的影像技术等检查及更长期的随访来确定 HPSD 在栓塞等方面的问题,而且在保持最大手术疗效的同时,最大限度地降低主要并发症的风险;同时,不同研究的功率和持续时间设置不同,这使得该策略的推广和应用变得复杂。因此,HPSD 常规应用于手术仍需要进行更大规模的多中心随机对照临床研究。

#### 参考文献

- [1] 喻荣辉,于维雅,徐冬玲,等. 血浆 miR-21 与心房颤动射频消融术后复发的关系研究[J]. 中华全科医学,2020,18(8):1265-1267,1336. DOI:10.16766/j.cnki.issn.1674-4152.001481.
- [2] Calkins H, Hindricks G, Cappato R, et al. 2017 HRS/EHRA/ECAS/APHRS/SOLAECE expert consensus statement on catheter and surgical ablation of atrial fibrillation [J]. Europace, 2018, 20(1): e1-e160. DOI:10.1093/europace/eux274.
- [3] Winkle RA. High-power short-duration ablation: Turn up the heat to cool down the esophagus [J]. J Cardiovasc Electrophysiol, 2019, 30(10): 1884-1885. DOI:10.1111/jce.14108.
- [4] Deneke T, Halbfass P, Purerfellner H. High-power short duration ablation for pulmonary vein isolation: simply cranking up the energy [J]. Europace, 2020, 22(3): 335-337. DOI: 10.1093/europace/ea020.
- [5] 杨兵. 合理、规范推广高功率短时程消融模式[J]. 中华心律失常学杂志,2019,23(6):461-462. DOI:10.3760/cma.j.issn.1007-6638.2019.06.001.
- [6] Qiu J, Wang Y, Wang DW, et al. Update on high-power short-duration ablation for pulmonary vein isolation [J]. J Cardiovasc Electrophysiol, 2020, 31(9): 2499-2508. DOI: 10.1111/jce.14649.
- [7] Ali-Ahmed F, Goyal V, Patel M, et al. High-power, low-flow, short-ablation duration-the key to avoid collateral injury [J]. J Interv Card Electrophysiol, 2019, 55(1): 9-16. DOI: 10.1007/s10840-018-0473-5.
- [8] Borne RT, Sauer WH, Zipse MM, et al. Longer duration versus increasing power during radiofrequency ablation yields different ablation lesion characteristics [J]. JACC Clin Electrophysiol, 2018, 4(7): 902-908. DOI: 10.1016/j.jacep.2018.03.020.
- [9] Bhaskaran A, Chik W, Pouliopoulos J, et al. Five seconds of 50-60 W radio frequency atrial ablations were transmural and safe: an in vitro mechanistic assessment and force-controlled in vivo

- validation [J]. *Europace*, 2017, 19(5): 874-880. DOI: 10.1093/europace/euw077.
- [10] Leshem E, Zilberman I, Tschabrunn CM, et al. High-power and short-duration ablation for pulmonary vein isolation: Biophysical Characterization [J]. *JACC Clin Electrophysiol*, 2018, 4(4): 467-479. DOI: 10.1016/j.jacep.2017.11.018.
- [11] Ejima K, Higuchi S, Yazaki K, et al. Comparison of high-power and conventional-power radiofrequency energy deliveries in pulmonary vein isolation using unipolar signal modification as a local endpoint [J]. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2020, 31(7): 1702-1708. DOI: 10.1111/jce.14532.
- [12] Reichlin T, Knecht S, Lane C, et al. Initial impedance decrease as an indicator of good catheter contact: insights from radiofrequency ablation with force sensing catheters [J]. *Heart Rhythm*, 2014, 11(2): 194-201. DOI: 10.1016/j.hrthm.2013.10.048.
- [13] 段江波,何金山,王龙,等. 高功率短时程肺静脉隔离方法应用的单中心经验[J]. *中国心脏起搏与心电生理杂志*, 2019, 33(5): 402-405. DOI: 10.13333/j.cnki.cjpe.2019.05.002.
- [14] Berte B, Hilfiker G, Russi I, et al. Pulmonary vein isolation using a higher power shorter duration CLOSE protocol with a surround flow ablation catheter [J]. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2019, 30(11): 2199-2204. DOI: 10.1111/jce.14122.
- [15] 尹平,叶昌伦. 三维电解剖不同建模方式对心脏射频消融治疗效果及安全性影响研究[J]. *中国医学装备*, 2019, 16(5): 30-33. DOI: 10.3969/J. ISSN.1672-8270.2019.05.008.
- [16] Winkle RA, Mead RH, Engel G, et al. Atrial fibrillation ablation: "perpetual motion" of open irrigated tip catheters at 50 W is safe and improves outcomes [J]. *Pacing Clin Electrophysiol*, 2011, 34(5): 531-539. DOI: 10.1111/j.1540-8159.2010.02990.x.
- [17] Winkle RA, Mohanty S, Patrawala RA, et al. Low complication rates using high power (45-50 W) for short duration for atrial fibrillation ablations [J]. *Heart Rhythm*, 2019, 16(2): 165-169. DOI: 10.1016/j.hrthm.2018.11.031
- [18] 赵宏伟,王照谦,夏云龙,等. 心房颤动和非心房颤动患者左心房及其毗邻结构形态学的对比研究[J]. *中国现代药物应用*, 2014, 8(4): 40-41. DOI: 10.14164/j.cnki.cn11-5581/r.2014.04.088.
- [19] Baher A, Kheirkhan M, Rechenmacher SJ, et al. High-power radiofrequency catheter ablation of atrial fibrillation: Using late gadolinium enhancement magnetic resonance imaging as a novel index of esophageal injury [J]. *JACC Clin Electrophysiol*, 2018, 4(12): 1583-1594. DOI: 10.1016/j.jacep.2018.07.017.
- [20] Chen S, Schmidt B, Seeger A, et al. Catheter ablation of atrial fibrillation using ablation index-guided high power (50 W) for pulmonary vein isolation: With or without esophageal temperature probe [J]. *Heart Rhythm*, 2020, 17(11): 1833-1840. DOI: 10.1016/j.hrthm.2020.05.029.
- [21] Yazaki K, Ejima K, Kanai M, et al. Impedance drop predicts acute electrical reconnection of the pulmonary vein-left atrium after pulmonary vein isolation using short-duration high-power exposure [J]. *J Interv Card Electrophysiol*, 2020, 59(3): 575-584. DOI: 10.1007/s10840-019-00691-z.
- [22] Anter E, Tschabrunn CM, Contreras-Valdes FM, et al. Radiofrequency ablation annotation algorithm reduces the incidence of linear gaps and reconnection after pulmonary vein isolation [J]. *Heart Rhythm*, 2014, 11(5): 783-790. DOI: 10.1016/j.hrthm.2014.02.022.
- [23] Bourier F, Duchateau J, Vlachos K, et al. High-power short-duration versus standard radiofrequency ablation: Insights on lesion metrics [J]. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2018, 29(11): 1570-1575. DOI: 10.1111/jce.13724.
- [24] Vassallo F, Cunha C, Serpa E, et al. Comparison of high-power short-duration (HPSD) ablation of atrial fibrillation using a contact force-sensing catheter and conventional technique: Initial results [J]. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2019, 30(10): 1877-1883. DOI: 10.1111/jce.14110.
- [25] Kottmaier M, Popa M, Bourier F, et al. Safety and outcome of very high-power short-duration ablation using 70 W for pulmonary vein isolation in patients with paroxysmal atrial fibrillation [J]. *Europace*, 2020, 22(3): 388-393. DOI: 10.1093/europace/euz342.
- [26] Raja DC, Sanders P, Pathak RK. How much is enough? An appraisal of high-power short-duration radiofrequency ablation for pulmonary vein isolation [J]. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2019, 30(11): 2205-2208. DOI: 10.1111/jce.14124.
- [27] 宋宇文,徐秀林,蔡雅萌. 新型微孔射频系统对组织的消融效果和并发症研究[J]. *中国医疗器械杂志*, 2017, 41(4): 306-308. DOI: 10.3969/j.issn.1671-7104.2017.04.020.
- [28] Haines DE. ERACEing the risk of cerebral embolism from atrial fibrillation ablation [J]. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2013, 6(5): 827-829. DOI: 10.1161/CIRCEP.113.001025.
- [29] Takami M, Lehmann HI, Parker KD, et al. Effect of left atrial ablation process and strategy on microemboli formation during irrigated radiofrequency catheter ablation in an in vivo model [J]. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2016, 9(1): e003226. DOI: 10.1161/CIRCEP.115.003226.

(收稿日期: 2020-08-11)

(上接 409 页)

- [36] Shi XQ, Zhang Y, Li BJ, et al. NOTCH4 is a possible novel susceptibility gene for dilated cardiomyopathy in the Chinese population: A case-control study [J]. *J Clin Lab Anal*, 2018, 32(6): e22436. DOI: 10.1002/jcla.22436.
- [37] Wu F, Yu B, Zhang X, et al. Cardioprotective effect of Notch signaling on the development of myocardial infarction complicated by diabetes mellitus [J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(4): 3447-3454. DOI: 10.3892/etm.2017.4932.
- [38] Pabois A, Pagie S, Gerard N, et al. Notch signaling mediates crosstalk between endothelial cells and macrophages via Dll4 and IL6 in cardiac microvascular inflammation [J]. *Biochem Pharmacol*, 2016, 104: 95-107. DOI: 10.1016/j.bcp.2016.01.016.
- [39] James AC, Szot JO, Iyer K, et al. Notch4 reveals a novel mechanism regulating Notch signal transduction [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1843(7): 1272-1284. DOI: 10.1016/j.bbamer.2014.03.015.

(收稿日期: 2020-07-25)



【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.04.021

综 述

# 新型冠状病毒肺炎心脏损伤及其与血管紧张素转化酶 II 的关系研究进展

裴茂华, 王瑶, 陈倩综述 龚作炯审校

作者单位: 430060 武汉大学人民医院感染科

通信作者: 龚作炯, E-mail: zjgong@163.com

**【摘要】** 新型冠状病毒肺炎(COVID-19)是由新型冠状病毒(SARS-CoV-2)引起的疾病。COVID-19 患者主要表现为发热、乏力、干咳等典型呼吸系统症状,但也有部分患者有心悸、胸闷等不适,出现心电图、心肌酶谱、心功能等改变,表现为心脏损害。血管紧张素转化酶 II (ACE2)作为 SARS-CoV-2 侵入细胞的受体,可能与 COVID-19 患者心脏损伤有密切联系。文章就 COVID-19 患者心脏损伤及其与 ACE2 的关系作一综述。

**【关键词】** 新型冠状病毒肺炎;新型冠状病毒;血管紧张素转化酶 II ;心脏损伤

**【中图分类号】** R541.9;R563.1

**【文献标识码】** A

**New coronavirus pneumonia heart damage and its relationship with angiotensin converting enzyme II** Pei Maohua, Wang Yao, Chen Qian, Gong Zuojiong. Department of Infectious Disease, Renmin Hospital of Wuhan University, Hubei Province, Wuhan 430060, China

Corresponding author: Gong Zuojiong, E-mail: zjgong@163.com

**【Abstract】** The new coronavirus pneumonia (COVID-19) is a disease caused by the new coronavirus (SARS-CoV-2). COVID-19 patients mainly present with typical respiratory symptoms such as fever, fatigue, and dry cough. However, some patients have heart palpitations, chest tightness and other discomforts, as well as changes in electrocardiogram, myocardial enzyme spectrum, and heart function, which manifest as heart damage. Angiotensin-converting enzyme II (ACE2), as a receptor for SARS CoV 2 to invade cells, may be closely related to heart damage in COVID-19 patients. This article reviews the heart damage in COVID-19 patients and its relationship with ACE2.

**【Key words】** Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2; Coronavirus disease 2019; Angiotensin converting enzyme II; Heart injury

新型冠状病毒肺炎(corona virus disease 2019, COVID-19)是由新型冠状病毒引起,2020年2月11日国际病毒分类委员会(ICTV)将该病毒命名为严重急性呼吸综合征冠状病毒2(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)。SARS-CoV-2以血管紧张素转化酶 II(angiotensin converting enzyme II, ACE2)为受体侵入细胞,造成感染<sup>[1-2]</sup>。临床上, SARS-CoV-2感染除典型发热、呼吸道症状之外,有相当比例的的心脏损伤表现。本文综合以往冠状病毒研究与现有 COVID-19报道,讨论新型冠状病毒肺炎患者心脏损伤的临床表现,对 ACE2介导心脏损伤的机制进行综述,探讨 ACE2与 COVID-19患者心脏损害之间的联系。

## 1 新型冠状病毒肺炎患者心肌损伤的临床证据

新型冠状病毒感染的患者除了典型的呼吸系统表

现外,部分患者还表现为与病毒感染相关的心脏损害症状。Huang等<sup>[3]</sup>报道最早确诊的41例 SARS-CoV-2肺炎患者中,有5例(12.2%)出现急性心脏损伤,主要表现为高敏肌钙蛋白 I(hs-cTnI)水平上升(>28 pg/ml),天冬氨酸氨基转移酶升高(>40 U/L)15例,肌酸激酶升高(>185 U/L)13例,乳酸脱氢酶升高(>245 U/L)29例,都一定程度提示了心脏损伤。同时还发现41例患者中,有6例(14.6%)患者合并高血压,6例(14.6%)合并心血管疾病。Chen等<sup>[4]</sup>报道的99例新冠肺炎患者中,大多数患者的心肌酶谱异常,其中13例(13.1%)患者的肌酸激酶升高,75例(75.8%)患者的乳酸脱氢酶升高,其中1例肌酸激酶6280 U/L,乳酸脱氢酶20740 U/L。有40例(40.4%)患者合并心血管和脑血管疾病。Wang等<sup>[5]</sup>报道的138例患者中,55例(39.9%)乳酸脱氢酶升高,患者整体肌酸

激酶和肌酸水平较高,且入住 ICU 的患者高于未入 ICU 的患者。常见并发症中心律不齐 23 例(16.7%),急性心脏损伤 10 例(7.2%)。138 例患者中 64 例患有并存疾病,其中高血压 43 例(31.2%),心血管疾病 20 例(14.5%)。Guan 等<sup>[6]</sup>回顾性分析 1 099 例临床资料,发现原有高血压 165 例(15.0%),冠心病 27 例(2.5%)。实验室检查中,277 例乳酸脱氢酶增高,168 例天冬氨酸氨基转移酶升高,90 例肌酸激酶增高。结合已有的报道发现,SARS-CoV-2 感染患者有相当比例的心肌酶谱异常,部分患者已经确诊为病毒感染相关的心脏损伤。同时,在合并症中,心血管疾病是最常见的潜在疾病之一。最新研究提示<sup>[7]</sup>,出现心肌损伤的 82 例新冠肺炎患者,病死率 51.2%,而无心肌损伤的患者病死率为 4.5%。结合现有研究,心肌损伤是 COVID-19 重症患者的突出临床特征和不良事件的重要预测因素。

## 2 ACE2 与 ACE

血管紧张素转化酶(ACE)与 ACE2 同属于庞大的肾素—血管紧张素—醛固酮系统(RAAS)和激肽—缓激肽系统(KKS)家族(图 1)。RAAS 经典途径首先主要由肾脏释放的天冬氨酰蛋白酶肾素将肝蛋白血管紧张素原裂解为无活性的十肽血管紧张素 I(Ang I),然后血管紧张素转化酶(ACE)水解 Ang I,去除 2 个 C 端氨基酸,从而生成具有生物活性的八肽血管紧张素 II(Ang II),Ang II 有 2 个受体,血管紧张素 I 型受体(AT1-R)和 AT2-R。AT1 受体具有血管收缩、醛固酮释放、肾近端小管盐潴留、通过脑内受体刺激交感神经系统等多种肽的经典作用<sup>[8]</sup>。AT1 受体有 2 种亚型 AT1A 和 AT1B,其中 AT1A 受体介导了以上大部分作用。

2000 年通过基因组研究首次发现 ACE2<sup>[9]</sup>。ACE2 是一种具有羧肽酶活性的锌金属蛋白酶,通过去除单个 C 端氨基酸,催化十肽的血管紧张素 I(Ang I)转化为九肽的血管紧张素(1-9)[Ang(1-9)]或将血管紧张素 II(Ang II)转化为血管紧张素(1-7)[Ang(1-7)]<sup>[10]</sup>。Ang(1-7)作用于特异性 Mas 受体,发挥舒张血管、抗炎、抗增生、抗纤维化和抗细胞凋亡等作用<sup>[11]</sup>,达到拮抗 Ang II 的生物学作用。

## 3 SARS-CoV-2 造成心脏损伤的可能机制

### 3.1 SARS-CoV-2 通过 ACE2 受体促进病毒进入靶细胞

SARS-CoV-2 与严重急性呼吸综合征冠状病毒(SARS-CoV)有很多相似之处。使用计算机建模,Xu 等<sup>[12]</sup>发现 SARS-CoV-2 和 SARS-CoV 的刺突蛋白在维持范德华力的受体结合域具有几乎相同的 3D 结构。

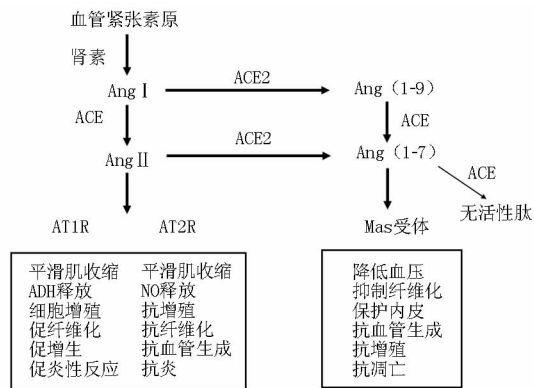


图 1 ACE 和 ACE2 在 RAS 系统的作用

根据生化相互作用研究和晶体结构分析,SARS-CoV 刺突蛋白与人 ACE2 具有很强的结合亲和力<sup>[13]</sup>。SARS-CoV-2 和 SARS-CoV 刺突蛋白共有 76.5% 的同一性氨基酸序列,并且重要的是,SARS-CoV-2 和 SARS-CoV 刺突蛋白具有高度的同源性<sup>[12-13]</sup>。进一步分析表明,SARS-CoV-2 比 SARS-CoV 更有效地识别人 ACE2,从而提高了 SARS-CoV-2 在人与人之间传播的能力<sup>[14]</sup>。另有研究发现,SARS-CoV-2 能够利用除小鼠 ACE2 外的所有 ACE2 蛋白作为受体,但只能进入表达 ACE2 的细胞,这表明 ACE2 可能是 SARS-CoV-2 进入细胞的细胞受体,同时发现 SARS-CoV-2 不使用其他冠状病毒受体,如氨基肽酶 N(APN)和二肽基肽酶 4(DPP4)<sup>[1]</sup>。因此,SARS-CoV-2 通过与人 ACE2 受体结合进入细胞。

### 3.2 SARS-CoV-2 感染可能会下调 ACE2 表达

SARS-CoV-2 通过 ACE2 受体进入细胞,对其存活和复制具有重要意义。已知许多病毒会诱导细胞受体下调,包括 HIV、麻疹病毒、丙型流感病毒、6 型人类疱疹病毒及冠状病毒<sup>[15]</sup>。受体下调可能会导致这些宿主细胞的自然生理功能受到严重损害,并伴随着受感染细胞、器官或个体的病变,但是,病毒强烈受益于受体表达的下调<sup>[16]</sup>,因为它导致了可控和有效的感染过程。受体下调可以防止已经在进行病毒复制的细胞受到感染,这通常是确保病毒颗粒有效释放所必需的<sup>[17-18]</sup>。

2003 年导致“非典”的急性呼吸系统综合征冠状病毒(SARS-CoV)表面的 S 蛋白与受体识别并结合,通过一种新的网格蛋白和小泡无关的内吞途径进入宿主细胞。SARS 冠状病毒是利用 ACE2 作为细胞融合和体内感染的必需受体,此外,ACE2 保护小鼠肺部免受急性肺损伤及 SARS-Spike 蛋白介导的肺损伤,提示 ACE2 在 SARS 感染和 ARDS 保护中起双重作用<sup>[19]</sup>。

SARS-CoV 病毒刺突蛋白与 ACE2 结合后,下调细胞表面表达的 ACE2 水平,这种 ACE2 受体下调的现象,引起肺 RAS 活性失调,恶化可导致急性肺衰竭;心肌 ACE2 表达的下调可引起一些 SARS 患者的心脏损害。在感染 SARS-CoV 的心脏中,ACE2 蛋白的完全丧失可能是由于 SARS 刺突蛋白激活 ADAM-17/TACE,从而裂解和释放 ACE2,和/或由于 SARS-CoV 与内皮细胞中的 ACE2 结合,导致配体/受体复合物的内吞作用,并随后在细胞内降解 ACE2<sup>[20]</sup>。结合 SARS 及冠状病毒相关研究提示,新型冠状病毒致病机制与 ACE2 具有密切关系,新型冠状病毒通过 ACE2 受体介导侵入细胞,可能下调 ACE2 导致肺部、心脏等相关器官损伤。

**3.3 ACE2 下调引起心脏损伤的损伤机制** 在正常情况下,ACE2 和 ACE 的平衡对于组织损伤的形成有重要意义。ACE2 主要生理作用是降低 Ang I、Ang II 和 Des-Arg 缓激肽,促进 Ang(1-7)生成,后者通过特异性 Mas 受体发挥舒张血管、抗炎、抗增生、抗纤维化和抗凋亡等作用,达到拮抗 Ang II 的生物学作用。Ang(1-7)发挥抗生长活性,抑制血管紧张素 II 诱导的丝裂原活化蛋白激酶 [p38, 细胞外信号相关激酶 (ERK1/2) 和 c-jun 氨基末端激酶 (JNK)] 的磷酸化和血管紧张素 II 对转化生长因子  $\beta_1$  (TGF $\beta_1$ ) 的刺激。Ang(1-7)通过刺激心脏血管内皮生长因子-D 和基质金属蛋白酶 9 的表达来促进血管生成,从而促进心脏修复和心室功能恢复<sup>[21]</sup>。当 SARS-CoV-2 感染时,介导 ACE2 表达下调,破坏了 ACE2 和 ACE 之间的平衡。ACE2—Ang(1-7)—MasR 轴被抑制,Ang(1-7)对心脏的保护作用减弱。

同时,RAAS 经典途径生成 Ang II 增多,增加了对心脏的毒害作用。一方面,循环中的 Ang II 激活多种靶组织中的 AT1 受体,上调交感神经系统,增加血管收缩,释放醛固酮,造成水钠潴留,加重心脏负担。Ang II 还通过抑制一氧化氮合酶降低了一氧化氮有益血管舒张的作用。另一方面,血管紧张素 II 还促进自由基的产生,刺激纤溶酶原激活物抑制剂 1 的释放,并增加组织因子和血管细胞黏附分子的表达。Ang II 还通过促进血管平滑肌细胞增殖和白细胞黏附而具有致动脉粥样硬化作用<sup>[22]</sup>。

### 3.4 ACE2 与 COVID-19 患者心脏损伤的联系

SARS-CoV-2 引起心肺损伤的具体机制目前尚不明确。ACE2 下调导致心脏损伤的机制已经研究的十分清楚,作为 SARS-CoV-2 的关键受体,COVID-19 患者心脏损伤是否直接由 ACE2 导致,目前还有待进一步研

究。Chen 等<sup>[23]</sup>的研究首次建立了成人心脏单细胞图谱,发现 ACE2 高表达的周细胞可能是 SARS-CoV-2 的靶细胞。病毒感染对周细胞的损伤可能导致毛细血管内皮细胞功能障碍,引起微血管功能障碍,导致心脏损伤,而基础心力衰竭患者在 mRNA 和蛋白水平均显示 ACE2 表达增加,表明如果感染病毒,这些患者心脏病发作和病情危重的风险可能会更高。该研究结果解释了 COVID-19 基础心血管疾病患者重症发生率高的原因,也提示 ACE2 与心脏损伤有重要的联系。

## 4 COVID-19 患者心脏损伤可能由多种因素共同作用所导致

COVID-19 患者心脏损伤是由复杂多因素共同导致的,ACE2 下调可能会导致心脏损伤,SARS-CoV-2 的直接作用、炎症因子风暴、低氧等因素共同作用,加速了这一过程。在 SARS 死亡患者中,35% 患者的心脏中检测到 SARS-CoV,这表明 SARS-CoV 能够感染易感个体的心肌,同时 SARS 刺突蛋白激活 ADAM-17/TACE 的活化导致肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 释放增多<sup>[20]</sup>。因此 SARS-CoV-2 也可能直接攻击心肌细胞,引起病毒性心肌损伤。

Huang 等<sup>[3]</sup>研究发现,COVID-19 病情越重,Th1 型促炎因子 GCSF、IP-10、MCP-1、MIP-1 $\alpha$ 、TNF- $\alpha$  等血清水平越高。SARS-CoV-2 侵入组织,特别是肺部后免疫细胞过度活化,这会触发白细胞、内皮细胞和上皮细胞的激活,通过正反馈循环的机制形成炎症反应风暴,释放出更多的炎症反应介质,如 TNF- $\alpha$ 、白介素-1 (IL-1)、IL-6、IL-8 和 IL-10,引起细胞和组织损伤,这被称为“炎症因子风暴”。“炎症因子风暴”会导致心脏损伤,是后期出现急剧恶化的多器官衰竭的主要原因。

在相关病例报道中,新型冠状病毒肺炎患者均以呼吸道症状为主要临床表现,当病毒复制引起急性大面积肺炎,破坏肺实质和肺泡—毛细血管屏障,可致肺血管渗漏和肺泡水肿,大量纤维样黏液渗出,肺透明膜形成,肺通气/灌注比例失调,肺毛细血管床有效容积减少,造成严重缺氧,继发酸中毒、水盐紊乱和糖脂等代谢障碍,损伤心脏功能<sup>[3-5,24]</sup>。同时,低氧血症可刺激颈动脉体中的缺氧化学感受器,从而激活全身交感神经系统和 RAS,改变心脏 ACE、ACE2 和 Ang II 的表达,从而引起心肌损伤<sup>[25]</sup>。

## 5 待解决的问题

所有器官的内皮细胞中均存在 ACE2,感染个体的血浆中也存在 SARS-CoV,但很少有器官病毒阳性。这可能意味着,类似于 HIV 感染,一般病毒进入模型要求病毒包膜不仅要结合细胞表面受体 (CD4),而且

要结合趋化因子共受体 [ CXCR4 或 CCR5 ( BBA ) ] , SARS-CoV 需要共受体进入细胞<sup>[26]</sup>。对于 SARS-CoV-2, 该病毒通过 ACE2 受体介导进入细胞, ACE2 除在肺部表达外, 在心脏、肾脏、消化道也大量表达, 但是绝大多数新型冠状病毒肺炎患者都是以呼吸道症状为主要临床表现, 这可能提示 SARS-CoV-2 需要存在一个共受体, 特异性地造成肺部感染和损伤。未来的研究必须阐明除 ACE2 外, SARS-CoV-2 与共受体的结合是否可能与肺和小肠的特异性感染有关。ACE2 是否是直接导致 COVID-19 患者心脏损伤的原因, 还需要大量基础研究来证实。在合并有高血压的 COVID-19 患者中, RAAS 抑制剂的应用存在争议: 一方面, RAAS 抑制剂的使用可能会影响 ACE2 的表达和含量, 进而影响 SARS-CoV-2 病毒的毒力; 另一方面, RAAS 抑制剂在保护肾脏和心肌方面具有有利作用, 在高风险患者中停用 RAAS 抑制剂可能有临床失代偿的风险。在临床状况不稳定的患者中, 与 COVID-19 患者相关的心肌损伤在停用 RAAS 抑制剂后可能构成更高的风险<sup>[27]</sup>。因此, 欧洲心脏病学会 ( ESH ) 发表声明<sup>[28]</sup>, 建议对于目前具有此类药物适应证 ( 如心力衰竭、高血压或缺血性心脏病 ) 患者继续使用 RAAS 抑制剂。在随后的研究中<sup>[29-30]</sup>, 对现有证据的严格审查都不支持 RAAS 抑制剂对 COVID-19 患者的有害作用, 因此并不建议 COVID-19 患者停用 RAAS 抑制剂。

参考文献

[1] Zhou P, Yang XL, Wang XG, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin [ J ]. Nature, 2020, 579 ( 7798 ) : 270-273. DOI: 10. 1038/ s41586-020-2012-7.

[2] Zhang H, Penninger JM, Li Y, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 ( ACE2 ) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target [ J ]. Intensive Care Medicine, 2020, 46 ( 4 ) : 586-590. DOI: 10. 1007/ s00134-020-05985-9.

[3] Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China [ J ]. Lancet ( London, England ), 2020, 395 ( 10223 ) : 497-506. DOI: 10. 1016/ S0140-6736(20)30183-5.

[4] Chen N, Zhou M, Dong X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study [ J ]. Lancet ( London, England ), 2020, 395 ( 10223 ) : 507-513. DOI: 10. 1016/ S0140-6736 ( 20 ) 30211-7.

[5] Wang D, Hu B, Hu C, et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China [ J ]. Jama, 2020, 323 ( 11 ) : 1061-1069. DOI: 10. 1001/ jama. 2020. 1585.

[6] Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China [ J ] New England Journal of Medicine, 2020, 382 ( 18 ) : 1708-1720. DOI: 10. 1056/ NEJMoa2002032.

[7] Shi S, Qin M, Shen B, et al. Association of cardiac injury with mortality in hospitalized patients with COVID-19 in wuhan, China [ J ]. JAMA Cardiology, 2020, 5 ( 7 ) : 802-810. DOI: 10. 1001/ jamacardio. 2020. 0950.

[8] Bader M, Ganten D. Update on tissue renin-angiotensin systems [ J ]. Journal of Molecular Medicine ( Berlin, Germany ), 2008, 86 ( 6 ) : 615-621. DOI: 10. 1007/ s00109-008-0336-0.

[9] Donoghue M, Hsieh F, Baronas E, et al. A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase ( ACE2 ) converts angiotensin I to angiotensin 1-9 [ J ]. Circ Res, 2000, 87 ( 5 ) : E1-E9. DOI: 10. 1161/ 01. res. 87. 5. e1.

[10] Rabelo LA, Alenina N, Bader M. ACE2-angiotensin-(1-7)-Mas axis and oxidative stress in cardiovascular disease [ J ]. Hypertens Res, 2011, 34 ( 2 ) : 154-160. DOI: 10. 1038/ hr. 2010. 235.

[11] Santos RA, Simoes e Silva AC, Maric C, et al. Angiotensin-(1-7) is an endogenous ligand for the G protein-coupled receptor Mas [ J ]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2003, 100 ( 14 ) : 8258-8263. DOI: 10. 1073/ pnas. 1432869100.

[12] Xu X, Chen P, Wang J, et al. Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission [ J ]. Science China Life Sciences, 2020, 63 ( 3 ) : 457-460. DOI: 10. 1007/ s11427-020-1637-5.

[13] Li F, Li W, Farzan M, et al. Structure of SARS coronavirus spike receptor-binding domain complexed with receptor [ J ]. Science, 2005, 309 ( 5742 ) : 1864-1868. DOI: 10. 1126/ science. 1116480.

[14] Wan Y, Shang J, Graham R, et al. Receptor recognition by novel coronavirus from Wuhan: An analysis based on decade-long structural studies of SARS [ J ]. Journal of Virology, 2020, 94 ( 7 ) : e00127-20. DOI: 10. 1128/ jvi. 00127-20.

[15] Wevers BA, van der Hoek L. Renin-angiotensin system in human coronavirus pathogenesis [ J ]. Future Virology, 2010, 5 ( 2 ) : 145-161. DOI: 10. 2217/ fvl. 10. 4.

[16] Stoddart CA, Gelezianus R, Ferrell S, et al. Human immunodeficiency virus type 1 Nef-mediated downregulation of CD4 correlates with Nef enhancement of viral pathogenesis [ J ]. Journal of Virology, 2003, 77 ( 3 ) : 2124-2133. DOI: 10. 1128/ jvi. 77. 3. 2124-2133. 2003.

[17] Michel N, Allespach I, Venzke S, et al. The Nef protein of human immunodeficiency virus establishes superinfection immunity by a dual strategy to downregulate cell-surface CCR5 and CD4 [ J ]. Current Biology, 2005, 15 ( 8 ) : 714-723. DOI: 10. 1016/ j. cub. 2005. 02. 058.

[18] Ross TM, Oran AE, Cullen BR. Inhibition of HIV-1 progeny virion release by cell-surface CD4 is relieved by expression of the viral Nef protein [ J ]. Current biology, 1999, 9 ( 12 ) : 613-621. DOI: 10. 1016/ s0960-9822(99)80283-8.

[19] Imai Y, Kuba K, Penninger JM. Angiotensin-converting enzyme 2 in acute respiratory distress syndrome [ J ]. Cellular and Molecular Life Sciences, 2007, 64 ( 15 ) : 2006-2012. DOI: 10. 1007/ s00018-007-6228-6.

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.04.022

综 述

# 慢性阻塞性肺疾病并发衰弱的研究进展

冯芳综述 马文审校

基金项目: 贵州省科技合作计划项目(黔科合 LH 字[2015]7429 号)

作者单位: 550004 贵阳, 贵州医科大学(冯芳); 贵州医科大学附属医院老年医学科(马文)

通信作者: 马文, E-mail: 1011633910@qq.com

**【摘要】** 慢性阻塞性肺疾病(COPD)是一种可预防、可治疗的常见疾病,临床特征为持续存在的呼吸道症状和气流受限,其发病率及病死率均高。衰弱是一种老年综合征,反映了生理储备减少和易受压力的状态,常与慢性病并存。近年来越来越多研究表明,COPD 与衰弱密切相关,两者之间可能存在多个共同发病机制,同时影响 COPD 并衰弱的危险因素也引发了许多医学者的关注。文章对 COPD 并发衰弱的相关研究进行综述,旨在为临床干预 COPD 患者衰弱提供理论依据。

**【关键词】** 慢性阻塞性肺疾病;衰弱;发病机制;危险因素;干预措施

**【中图分类号】** R563.9 **【文献标识码】** A

**Research progress of chronic obstructive pulmonary disease complicated by frailty** Feng Fang\*, Ma Wen.

\* Department of Geriatrics, Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guizhou Province, Guiyang 550004, China

Corresponding author: Ma Wen, E-mail: 1011633910@qq.com

Funding program: Guizhou Science and Technology Cooperation Project (QKH LHZ [2015] No. 7429)

**【Abstract】** Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a common preventable and treatable disease. It is clinically characterized by persistent respiratory symptoms and airflow limitation, and its morbidity and mortality are both high. Frailty is a syndrome of old age, reflecting a state of reduced physical reserve and susceptibility to stress, and often coexists with chronic diseases. In recent years, more and more studies have shown that COPD is closely related to debilitating, and there may be multiple common pathogenesis between the two. At the same time, the risk factors that affect COPD and debilitating have also attracted the attention of many medical practitioners. This article reviews the related studies of COPD complicated by frailty, aiming to provide a theoretical basis for clinical intervention in the frailty of COPD patients.

**【Key words】** Chronic obstructive pulmonary disease; Frailty; Pathogenesis; Risk factors; Interventions

据估计,到 2030 年,慢性阻塞性肺疾病(COPD)将成为世界上第三大死因,临床和经济负担都很重<sup>[1]</sup>。COPD 通常是进行性发展的,与呼吸道和肺部对有害颗粒或气体的慢性炎症反应增强有关<sup>[2]</sup>。由于持续暴露于 COPD 的危险因素和人口老龄化,预计今后几十年内 COPD 的负担将继续增加。衰弱是老年综合征的一部分,往往与慢性病共存,近年来多项研究表明,在慢性疾病患者中衰弱的患病率更高,而慢性肺病中衰弱的发病率则显著增加<sup>[3-4]</sup>。研究表明,衰弱与 COPD 之间存在联系,但二者的关系从未被系统地研究过<sup>[5]</sup>。而影响 COPD 患者并衰弱的危险因素众多,包括年龄、合并糖尿病、合并恶性肿瘤、同时存在多种慢性病、存在爬楼时气短、1 年内至少 2 次住院、FEV<sub>1</sub> 实际值/预计值、慢性阻塞性肺疾病全球倡议(GOLD)肺功能分级<sup>[6-7]</sup>等。当前国内关于衰弱的研究多集中

在心血管系统疾病领域,在 COPD 患者中开展的衰弱研究尚不多见,少有研究关注 COPD 患者衰弱的发生情况、发病机制、危险因素、干预措施及预后影响等方面。

## 1 衰弱的概念和内涵

衰弱,来自拉丁语“fragilis”,意思是“容易破碎”,是一种临床综合征,反映了生理储备减少和易受压力的状态<sup>[8]</sup>。衰弱是一个临床和社会构建的概念,它抓住了衰老相关缺陷积累的复杂和动态过程,这些缺陷在多个生理系统中累积,将储备能力降低到一个阈值,超过该阈值,老年人在暴露于外部压力时会有不利健康结果的风险,这些外部压力源可能是身体、心理、社会或环境,并且代表了人类功能的 4 个领域,它们促成了以虚弱和脆弱为特征的多维衰弱状态<sup>[9]</sup>。衰弱患者有可能出现不良后果,如跌倒、轻度认知功能障碍、

谵妄、尿失禁、药物不良反应、住院时间延长、活动能力下降、残疾发生和高死亡率<sup>[10]</sup>。Ma 等<sup>[11]</sup> 多项研究表明,身体衰弱与生活质量、住院和病死率高度相关。

## 2 衰弱与 COPD 关系

**2.1 衰弱在 COPD 患者中的发生率** 根据评估方法和人群的不同,衰弱的患病率差异很大<sup>[12]</sup>。衰弱患病率的总体趋势是随着年龄的增长而增加,女性患病率高于男性。据报道,COPD 患者衰弱的患病率在 6.6% ~ 75.5% 之间,这取决于所研究人群使用的衰弱筛查工具<sup>[13-14]</sup>。最近的一项荟萃分析显示<sup>[5]</sup>,COPD 患者发生衰弱的风险是非 COPD 患者的 2 倍。具体来说,COPD 患者并衰弱前期的发生率为 56% (95% CI = 52% ~ 60%,  $I^2 = 80.8\%$ ),合并衰弱期的发生率为 20% (95% CI = 15% ~ 24%,  $I^2 = 94.4\%$ )<sup>[5]</sup>。夏魁等<sup>[15]</sup> 研究显示,老年 COPD 患者并衰弱的患病率为 30.8%,其中衰弱前期占比为 35.5%,明显高于陈培等<sup>[6]</sup> 研究结果,原因可能是前者研究对象均为老年患者,尤其是部分患者年龄 > 80 岁,并且其中一部分为基础情况较差的住院患者。

**2.2 衰弱影响 COPD 患者的预后** 衰弱可导致 COPD 患者多种不良结局,同时是患者病情恶化和进展的独立危险因素<sup>[16]</sup>。Bernabeu-Mora 等<sup>[17]</sup> 研究表明,衰弱是 COPD 患者急性发作(AE)住院后 90 d 内再入院的独立预测因子,证实了无论年龄、活动程度、严重程度或 COPD 的影响因素如何,生理储备的这一指标都可以预测 AE 的早期再入院。更有研究表明,合并衰弱的 COPD 患者比非衰弱 COPD 患者更易致残,其在做家务、用厕、进食、转移、活动、穿衣等日常生活活动能力均比较差,医疗利用率也比较高<sup>[10]</sup>。COPD 合并衰弱的患者,一旦衰弱发展,AE-COPD 作为一种新的生理应激源,可能会消耗已经减少的生理储备,导致残疾、病情加重,甚至死亡。衰弱是 COPD 恶化和发展的独立危险因素,COPD 患者也更容易衰弱。虽然衰弱和 COPD 相互影响,但衰弱和呼吸障碍都可以调节和治疗,当其中一种被治疗和/或预防时,另一种可能得到改善。因此,更深入地了解衰弱与 COPD 的关系,有助于临床医生更好地预防和干预这 2 种疾病的发生,减少不良结局的出现<sup>[16]</sup>。

## 3 COPD 和衰弱的共同发病机制

**3.1 炎症反应** 大多数 COPD 患者均有长达数年甚至几十年的吸烟史,众多实验室检查结果表明,吸烟者肺内存在大量的炎性细胞浸润和多种炎性细胞因子,其中包括中性粒细胞、巨噬细胞、T 淋巴细胞、C 反应蛋白(CRP)、降钙素原(PCT)、白介素(IL)等,故几乎

每个吸烟者的肺内都有炎症反应发生<sup>[18]</sup>。在 COPD 患者中,各种炎性细胞及炎性细胞因子对组织持续损害,即使患者戒烟后,炎症反应依然会发生。COPD 患者长期存在慢性炎症反应,较高水平的全身促炎性生物标志物可能导致较差的身体功能、更严重的病情甚至死亡<sup>[19]</sup>。炎症反应在 COPD 的发生发展中起着重要作用,同时也被认为是导致衰弱的主要病理生理学变化之一<sup>[20]</sup>。机体内炎性因子如白细胞、CRP、IL、肿瘤坏死因子(TNF)升高,通过氧化应激、细胞凋亡、细胞周期阻滞等途径导致局部组织和多器官系统损伤,从而发生衰弱<sup>[21]</sup>。研究表明,与非衰弱成人相比,衰弱成人的血清炎性细胞因子 IL-6 水平有所升高<sup>[22]</sup>。近年来一项研究显示,衰弱人群会呈现慢性系统性炎症反应状态,表现为白细胞数目增加及 CRP、IL-6、TNF 水平的升高<sup>[23]</sup>。因此,炎症反应同时影响着 COPD 和衰弱的发生发展,且衰弱往往伴随 COPD 相关慢性疾病出现,可以考虑为二者的共同发病机制。

**3.2 肌肉功能障碍** 肌肉功能障碍被定义为肌肉力量或耐力的丧失,是 COPD 患者最相关的全身表现之一。研究显示,与健康对照组相比,161 例 COPD 患者的股四头肌力量和股直肌横截面积显著降低,这些患者从 GOLD I ~ IV 期分布均匀<sup>[24]</sup>。COPD 患者常见的全身症状为肌肉功能低下和消瘦,Barreiro 等<sup>[25]</sup> 研究指出,COPD 患者下肢肌肉力量和耐力受损。一项关于 COPD 患者肌肉功能障碍病理生理学的研究表明,即使是早期 COPD 患者,下肢肌肉耐力也会降低,这种下降表现可能是 COPD 患者相应肌肉力量受损的先兆<sup>[26]</sup>。此外,晚期 COPD 患者大多会出现呼吸肌功能障碍,其膈肌肌力较正常人群明显下降。肌肉是人体最先走向衰老的器官,有研究表明,营养不良、肌少症、焦虑抑郁、多病共存等是造成衰弱的主要危险因素,其中肌少症被认为是衰弱发生发展的最重要原因<sup>[27]</sup>。一项衰弱与肌肉功能的相关性研究发现<sup>[28]</sup>,与非衰弱患者比较,衰弱前期或衰弱期患者的肌肉功能显著下降,进一步做 Spearman 相关分析显示,肌肉功能得分与衰弱得分之间呈负相关,即肌肉功能越差,衰弱程度越高。结合国内外相关研究资料,肌肉功能障碍作用于衰弱的发生和进展,也影响着 COPD 整个病程,被认为是 COPD 与衰弱的共同发病机制之一。

## 4 COPD 并衰弱的危险因素

**4.1 年龄因素** COPD 多在中年以后发病,随着年龄增长,COPD 的患病率越高,其中 60 岁以上的人群占比高,因此老年人是 COPD 一个重要而常见的易感群体,研究表明,高龄是 COPD 的独立危险因素<sup>[29]</sup>。同

时,除外共病、多重用药、活动能力下降、营养不良等因素,患者年龄越大,越容易发生衰弱,有研究显示,高龄是衰弱的危险因素<sup>[30]</sup>。由于机体功能下降,COPD 患者更易合并衰弱,一项基于人群的研究指出,高龄是 COPD 患者发生衰弱的危险因素<sup>[13]</sup>,表明老年 COPD 患者发生衰弱的可能性比非老年 COPD 患者更大。我国目前开始步入老龄化社会,COPD 的发病基数增大,衰弱的发生率也随之升高,高龄因素继续作用于 COPD 并衰弱的患者,使其病情进一步加重、恶化,甚至导致死亡。因此,年龄成为了 COPD 并衰弱的主要危险因素之一,值得被越来越多人关注。

**4.2 营养因素** COPD 是一种慢性消耗性疾病,患者不仅有呼吸道症状和肌肉无力,还可能因为食欲下降导致营养不良,能量和蛋白质的摄入及其他关键营养元素对肌肉功能和精神状态有着根本性的作用。COPD 患者营养不良,无法向机体提供充足的能量,致使肌肉力量下降、活动减少,从而增加了患者衰弱发生的可能。最近一项研究显示,2/3 营养不良的老年人均存在身体衰弱<sup>[31]</sup>。此外,牛玉梅等<sup>[32]</sup>研究结果表明,COPD 患者营养不良的发生率为 51.9%,与既往国内外相关文献报道基本相符。一项关于营养不良、乏力、衰弱、肌萎缩及恶病质等临床特征重叠的研究表明,营养不良是衰弱形成的初始原因,是衰弱发生和发展的重要生物学机制<sup>[33]</sup>。营养状况同时作用于 COPD 及衰弱患者的病程中,成为 COPD 并衰弱的最主要危险因素之一。

**4.3 活动能力因素** 随着年龄的增长,身体活动趋于减少,尤其是 COPD 患者与非 COPD 患者相比,肺功能下降引起的呼吸短促会导致活动缺乏,进而导致肌肉力量、数量和质量的缺陷,从而使活动能力进一步降低。研究显示,由于 COPD 患者通气、换气功能障碍,运动能力受限,运动量减少,过少的活动无法有效地锻炼肺功能,进一步导致通气量不足,从而使 COPD 病情进展,形成恶性循环<sup>[34]</sup>。衰弱的组成包括肌肉萎缩、衰老过程中肌肉质量和力量的丧失、步速缓慢等,表明衰弱患者活动能力是显著下降的。据报道,久坐不动的行为与衰弱独立相关<sup>[35]</sup>,更进一步说明活动量减少在衰弱进展中有着重要影响。研究表明,与非衰弱患者相比,衰弱患者 6 min 步行距离较短、握力较差、活动能力明显降低<sup>[36]</sup>。COPD 并衰弱患者的活动长期处于低水平状态,加剧了 COPD 及衰弱的发展,使患者身体机能更加恶化。

## 5 COPD 并衰弱的干预措施

**5.1 肺康复治疗** 肺康复治疗是一种综合性治疗模

式,包括预防、药物及康复治疗,作用是稳定、逆转 COPD 病理生理,继而改善患者肺功能,将呼吸功能的潜能发挥到最大,从而提高患者的生活质量。GOLD 2018 版指出,肺康复是改善呼吸困难、运动能力和运动耐力的最有效治疗策略,并可减少住院次数<sup>[37]</sup>。研究表明,家庭肺康复治疗能够有效改善或延缓老年 COPD 患者的衰弱状况,与干预前相比,经过呼吸功能和肢体锻炼后,患者的活动握力和 6 min 步行距离增加、衰弱量表总分值和衰弱指数明显降低<sup>[38]</sup>。一项前瞻性队列研究显示,与非衰弱患者比较,衰弱患者的肺康复完成率更低,但大多数完成肺康复训练的患者有积极的疗效,衰弱状况可以在短期内得到改善<sup>[14]</sup>。在众多 COPD 治疗手段中,肺康复治疗显得尤为重要,通过肺康复训练,可有效改善肺功能,阻止或延缓 COPD 病程进展,进而降低患者衰弱程度,甚至逆转衰弱状况。

**5.2 运动锻炼及营养干预** 在 COPD 并衰弱的众多危险因素中,活动能力下降和营养不良是其主要的 2 个危险因素,因此,提高活动能力及改善营养状态是 COPD 并衰弱患者的有效干预措施。2017 年亚太临床实践指南中的衰弱管理部分指出,可以通过运动锻炼改善患者衰弱情况<sup>[39]</sup>。众多相关研究资料已经证实,运动锻炼能够有效改善 COPD 患者的衰弱状况,包括有氧活动和肺康复。合并营养不良的 COPD 患者病死率和致残率显著升高,改善 COPD 患者的营养状态,可以有效降低其病死率及致残率。结合关于衰弱和营养的相关研究,纠正营养不良状态可以降低衰弱程度,甚至逆转衰弱状况<sup>[33]</sup>,但目前尚未查阅到专门针对衰弱 COPD 患者营养干预的相关研究资料,有待进一步研究以明确干预效果。

**5.3 多学科综合干预** 研究表明,如果老年患者在住院期间接受全面的老年评估,能够显著提高相关疾病的治疗效果,降低病情恶化及导致死亡的可能<sup>[40]</sup>。康复医学科可指导患者进行康复训练,使患者进行合适有效的运动锻炼,延缓或阻止机体功能下降;营养科可提供合理且个体化的营养建议,让患者尽可能补充到必需的营养元素,减少营养不良的发生。通过各学科的全面评估、康复活动和营养干预相结合,可以预防、延缓衰弱进程,甚至能够逆转衰弱状况。目前针对 COPD 并衰弱患者多学科综合干预的研究尚不多见,无法作出系统性的归纳和总结,需要医学科研人员及临床工作者进行更多相关的探讨研究。

## 6 小结与展望

目前国内关于衰弱的研究大多数集中在心血管系



统领领域,而针对 COPD 患者衰弱的研究尚不多见。衰弱与 COPD 之间关系密切,两者能够相互作用和影响,干预衰弱可能延缓 COPD 的进程及改善 COPD 患者的预后,治疗 COPD 可能降低衰弱程度,甚至逆转衰弱状况。干预 COPD 并衰弱的发病机制和危险因素,对衰弱 COPD 患者有积极的作用。随着我国开始进入老龄化社会,COPD 患者将会越来越多,其衰弱状况应引起医务人员的重视,做到对衰弱的早期识别,筛查出其中的高危人群,并针对性制定全面且合理的干预方案。目前针对 COPD 并衰弱患者的营养干预及多学科综合干预的研究相当缺乏,未来应该进行更多相关的研究和探讨。同时,衰弱在 COPD 患者中很容易被忽略,在以后的研究中应特别关注这一类人群,积极为其探索出有效的干预措施。

参考文献

[1] Vogelmeier CF,Criner GJ,Martínez FJ,et al. Global strategy for the diagnosis,management,and prevention of chronic obstructive lung disease 2017 report:GOLD Executive Summary[J]. Arch Bronconeumol,2017,53(3):128-149. DOI:10. 1016/j. arbr. 2017. 02. 001.

[2] Kim SW,Rhee CK,Kim KU,et al. Factors associated with plasma IL-33 levels in patients with chronic obstructive pulmonary disease[J]. International Journal of COPD,2017,12:395-402. DOI: 10. 2147/COPD. S120445.

[3] Ma L,Tang Z,Zhang L,et al. Prevalence of frailty and associated factors in the community-dwelling population of China [ J ]. J Am Geriatr Soc,2018,66(3):559-564. DOI:10. 1111/jgs. 15214.

[4] Milne KM,Kwan JM,Guler S,et al. Frailty is common and strongly associated with dyspnoea severity in fibrotic interstitial lung disease [ J ]. Respirology, 2017, 22 ( 4 ): 728-734. DOI: 10. 1111/resp. 12944.

[5] Marengoni A,Vetrano DL,Manes-Gravina E,et al. The relationship between COPD and frailty:a systematic review and meta-analysis of observational studies[J]. Chest,2018,154(1):21-40. DOI:10. 1016/j. chest. 2018. 02. 014.

[6] 陈培,周晖. 门诊慢性阻塞性肺病患者衰弱发病情况及高危因素分析[J]. 西南医科大学学报,2018,41(3):220-223. DOI:10. 3969/j.issn.2096-3351.2018.03.007.

[7] 田刚,辛昊洋,郭从涛,等. 慢性阻塞性肺病患者衰弱发生情况和危险因素分析[J]. 中华保健医学杂志,2018,20(3):224-227. DOI:10.3969/j.issn.1674-3245.2020.03.014.

[8] Clegg A,Young J,Iliffe S,et al. Frailty in elderly people[J]. Lancet, 2013,381(9868):752-762. DOI:10. 1016/S0140-6736(12)62167-9.

[9] Waldon M. Frailty in older people:a principle-based concept analysis[J]. British Journal of Community Nursing,2018,23(10):482-494. DOI:10. 12968/bjcn. 2018. 23. 10. 482.

[10] Park SK,Richardson CR,Holleman RG,et al. Frailty in people with COPD,using the National Health and Nutrition Evaluation Survey dataset(2003—2006)[J]. Heart Lung,2013,42(3):163-170. DOI: 10. 1016/j. hrtlng. 2012. 07. 004.

[11] Ma L,Zhang L,Tang Z,et al. Use of the frailty index in evaluating the prognosis of older people in Beijing:a cohort study with an 8-year follow-up[J]. Arch Gerontol Geriatr,2016,64:172-177. DOI: 10. 1016/j. archger. 2015. 11. 002.

[12] Kusunose M,Oga T,Nakamura S,et al. Frailty and patient-reported outcomes in subjects with chronic obstructive pulmonary disease: are they independent entities[J]. BMJ Open Respir Res,2017,4(1): e000196. DOI:10. 3969/j. issn. 2096-3351. 2018. 03. 007.

[13] Lahousse L,Ziere G,Verlinden VJA,et al. Risk of frailty in elderly with COPD:a population-based study[J]. J Gerontol A Biol Sci Med Sci,2016,71(5):689-695. DOI:10. 1093/gerona/glv154.

[14] Maddocks M,Kon SSC,Canavan JL,et al. Physical frailty and pulmonary rehabilitation in COPD:a prospective cohort study[J]. Thorax, 2016,71(11):988-995. DOI:10. 1136/thoraxjnl-2016-208460.

[15] 夏魁,朱纯儒,孙伟,等. 老年慢性阻塞性肺病患者衰弱现状调查及危险因素分析[J]. 中国临床保健杂志,2019,22(2):220-223. DOI:10.3969/J.issn.1672-6790.2019.02.020.

[16] Guan C,Niu H. Frailty assessment in older adult swith chronic obstructive respiratory diseases [ J ]. Clinical Interventions in Aging, 2018,13:1513-1524. DOI:10. 2147/CIA. S173239.

[17] Bernabeu-Mora R, García-Guillamón G, Valera-Novella E, et al. Frailty is a predictive factor of readmission within 90 days of hospitalization for acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease:a longitudinal study[J]. Therapeutic Advances in Respiratory Disease, 2017, 11 ( 10 ): 383-392. DOI: 10. 1177/ 1753465817726314.

[18] Ravi AK,Khurana S,Lemon J,et al. Increased levels of soluble interleukin-6 receptor and CCL3 in COPD sputum [ J ]. Respir Res, 2014,15(1):1-10. DOI:10. 1186/s12931-014-0103-4.

[19] Thomsen M, Ingebrigtsen TS, Marott JL, et al. Inflammatory biomarkers and exacerbations in chronic obstructive pulmonary disease[J]. JAMA,2013,309(22):2353-2361. DOI: 10. 1001/jama. 2013. 5732.

[20] Chen X,Mao G,Leng SX. Frailty syndrome:an overview[J]. Clin Interv Aging, 2014, 9: 433-441. DOI:10. 2147/CIA. S45300.

[21] 母蕾,巫嘉陵. 衰弱与炎症[J]. 中国现代神经疾病杂志,2020,20(1):61-64. DOI:10. 3969/j. issn. 1672-6731. 2020. 01. 010.

[22] Morley JE, Malmstrom TK. Frailty, sarcopenia, and hormones[J]. Endocrinol Metab Clin North Am, 2013, 42 ( 2 ): 391-405. DOI: 10. 1016/j. ecl. 2013. 02. 006.

[23] Mekli K,Nazroo JY,Marshall AD,et al. Proinflammatory genotype is associated with the frailty phenotype in the english longitudinal study of ageing[J]. Aging Clin Exp Res,2016,28(3):413-421. DOI: 10. 1007/s40520-015-0419-z.

[24] Shrikrishna D,Patel M, Tanner RJ, et al. Quadriceps wasting and physical inactivity in patients with COPD[J]. Eur Respir J,2012,40(5):1115-1122. DOI:10. 1183/09031936. 00170111.

[25] Barreiro E,Gea J. Molecular and biological pathways of skeletal muscle dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease [ J ]. Chron Respir Dis, 2016, 13 ( 3 ): 297-311. DOI: 10. 1177/ 1479972316642366.

[26] Gea J,Agusti A,Roca J. Pathophysiology of muscle dysfunction in

- COPD[J]. *J Appl Physiol*,2013,114(9):1222-1234. DOI:10.1152/jappphysiol.00981.2012.
- [27] 张艳汝,刘婷婷,刘晖,等. 老年衰弱综合征与肌少症的相关性[J/OL]. *中华老年病研究电子杂志*,2019,6(4):23-26. DOI:10.3877/cma.j.issn.2095-8757.2019.04.005.
- [28] 李凌,王玉梅,张艳玲,等. 老年病人衰弱综合征与肌肉功能的相关性研究[J]. *护理研究*,2019,33(6):917-920. DOI:10.12102/j.issn.1009-6493.2019.06.002.
- [29] Gershon AS,Dolmage TE,Stephenson A,et al. Chronic obstructive pulmonary disease and socio Economic status: a systematic review[J]. *COPD*,2012,9(3):216-226. DOI:10.3109/15412555.2011.648030.
- [30] Feng Z,Lugtenberg M,Franse C,et al. Risk factors and protective factors associated with incident or increase of frailty among community-dwelling older adults: a systematic review of longitudinal studies[J]. *PLoS One*,2017,12(6):e0178383. DOI:10.1371/journal.pone.0178383.
- [31] Verlaan S,Ligthart-Melis GC,Wijers SLJ,et al. High prevalence of physical frailty among community-dwelling malnourished older Adults-A Systematic Review and Meta-Analysis[J]. *J Am Med Dir Assoc*,2017,18(5):374-382. DOI:10.1016/j.jamda.2016.12.074.
- [32] 牛玉梅,徐爱晖. COPD 患者营养指标与病情的关系研究[J]. *临床肺科杂志*,2015,20(2):265-268. DOI:10.3969/j.issn.1009-6663.2015.02.023.
- [33] Jeejeebhoy KN. Malnutrition, fatigue, frailty, vulnerability, sarcopenia and cachexia: overlap of clinical features[J]. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2012, 15(3): 213-219. DOI: 10.1097/MCO.0b013e328352694f.
- [34] Holland AE,Wadell K,Spruit MA. How to adapt the pulmonary rehabilitation programme to patients with chronic respiratory disease other than COPD[J]. *Eur Respir Rev*,2013,22(130):577-586. DOI:10.1183/09059180.00005613.
- [35] Blodgett J,Theou O,Kirkland S,et al. The association between sedentary behavior, moderate-vigorous physical activity and frailty in NHANES cohorts [J]. *Maturitas*, 2015, 80(2): 187-191. DOI:10.1016/j.maturitas.2014.11.010.
- [36] Gale NS,Albarrati AM,Munnery MM,et al. Frailty: a global measure of the multisystem impact of COPD[J]. *Chron Respir Dis*,2018,15(4):347-355. DOI:10.1177/1479972317752763.
- [37] Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). Global strategy for the diagnosis, management and prevention of COPD 2018 report [EB/OL] [2017-11-15]. <https://www.goldcopd.org/>.
- [38] 刘泓,钱会杰,乔玉凤,等. 家庭肺康复在老年 COPD 稳定期衰弱患者中的应用效果研究[J]. *中华护理杂志*,2016,51(10):1250-1255. DOI:10.3761/j.issn.0254-1769.2016.10.025.
- [39] Dent E,Lien C,Lim WS,et al. The Asia-Pacific clinical practice guidelines for the management of frailty[J]. *J Am Med Dir Assoc*, 2017,18(7):564-575. DOI:10.1016/j.jamda.2017.04.018.
- [40] Ellis G,Whitehead MA,Robinson D,et al. Comprehensive geriatric assessment for older adults admitted to hospital: meta-analysis of randomised controlled trials[J]. *BMJ*,2011,343(7832):1034. DOI:10.1136/bmj.d6553.

(收稿日期:2020-08-17)

(上接 417 页)

- [20] Oudit GY, Kassiri Z, Jiang C, et al. SARS-coronavirus modulation of myocardial ACE2 expression and inflammation in patients with SARS[J]. *Eur J Clin Invest*,2009,39(7): 618-625. DOI:10.1111/j.1365-2362.2009.02153.x.
- [21] Ferrario CM, Ahmad S, Joyner J, et al. Advances in the renin-angiotensin system focus on angiotensin-converting enzyme 2 and angiotensin-(1-7) [J]. *Adv Pharmacol*, 2010, 59: 197-233. DOI:10.1016/S1054-3589(10)59007-0.
- [22] Houston Miller N. Cardiovascular risk reduction with Renin-Angiotensin aldosterone system blockade[J]. *Nurs Res Pract*,2010, 2010: 101749. DOI:10.1155/2010/101749.
- [23] Chen L,Li X,Chen M, et al. The ACE2 expression in human heart indicates new potential mechanism of heart injury among patients infected with SARS-CoV-2[J]. *Cardiovascular Research*,2020,116(6):1097-1100. DOI:10.1093/cvr/cvaa078.
- [24] Xu Z,Shi L,Wang Y,et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome [J]. *Lancet Respir Med*,2020,8(4):420-422. DOI:10.1016/S2213-2600(20)30076-X.
- [25] Wang W, Song A, Zeng Y, et al. Telmisartan protects chronic intermittent hypoxic mice via modulating cardiac renin-angiotensin system activity [J]. *BMC Cardiovasc Disord*,2018,18(1): 133. DOI:10.1186/s12872-018-0875-4.
- [26] Hamming I, Timens W, Bulthuis MLC, et al. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis[J]. *J Pathol*,2004, 203(2): 631-637. DOI:10.1002/path.1570.
- [27] Vaduganathan M, Vardeny O, Michel T, et al. Renin-angiotensin-aldosterone system inhibitors in patients with Covid-19[J]. *N Engl J Med*,2020,328(17):1653-1659. DOI:10.1056/NEJMs2005760.
- [28] European Society Of Hypertension. Statement of the European Society of Hypertension (ESH) on hypertension, Renin-Angiotensin System (RAS) blockers and COVID-19 [EB/OL]. <https://www.eshonline.org/spotlights/update-on-covid-19/>.
- [29] Kreutz R, Algharably EAE, Azizi M, et al. Hypertension, the renin-angiotensin system, and the risk of lower respiratory tract infections and lung injury: implications for COVID-19[J]. *Cardiovasc Res*,2020,116(10):1688-1699. DOI:10.1093/cvr/cvaa097.
- [30] Mancia G,Rea F,Ludergnani M,et al. Renin-angiotensin-aldosterone system blockers and the risk of Covid-19 [J]. *N Engl J Med*, 2020,382(25):2431-2440. DOI:10.1056/NEJMoa2006923.

(收稿日期:2020-07-17)

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.04.023

综 述

# 血小板相关参数在脓毒症中临床意义的研究进展

李明综述 周志刚审校

基金项目:上海市第一人民医院临床研究创新团队建设项目(CTCCR-2016B01);上海申康医院发展中心临床科技创新项目(SHDC12019131)

作者单位:201620 上海交通大学附属第一人民医院急诊危重病科

通信作者:周志刚, E-mail:zhou\_zhigang1980@163.com

**【摘要】** 脓毒症是一种宿主对感染免疫反应失调导致的器官功能障碍综合征。脓毒症具有高发病率和高病死率的特点,当患者出现血小板减少时其病死率进一步增加。近年来,血小板在脓毒症病理生理中的作用已经成为新的关注焦点。血小板相关参数,包括数量、功能、平均血小板体积、血小板分布宽度、未成熟血小板及血小板生成素等与脓毒症的严重程度及预后密切相关。因此,及时监测血小板相关参数,不仅有助于临床医生准确地识别高危脓毒症患者,还有利于判断疾病预后。文章对血小板相关参数在脓毒症患者中的临床意义作一综述。

**【关键词】** 脓毒症;血小板参数;血小板减少;预后**【中图分类号】** R446.1 **【文献标识码】** A

**Advances in the clinical significance of platelet-related parameters in sepsis** Li Ming, Zhou Zhigang. Department of Critical Care Medicine, Shanghai First People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University, Shanghai 201620, China  
Corresponding author: Zhou Zhigang, E-mail: zhou\_zhigang1980@163.com

**Funding program:** The Construction Project of Clinical Research and Innovation Team of Shanghai First People's Hospital (CTCCR-2016B01); Clinical Science and Technology Innovation Project of Shanghai Shenkang Hospital Development Center (SHDC12019131)

**【Abstract】** Sepsis is an organ dysfunction syndrome caused by the host's immune response to infection, and it is also one of the most common diseases in ICU. Sepsis has the characteristics of high morbidity and high fatality rate. When the patient has thrombocytopenia, the fatality rate further increases. In recent years, the role of platelets in the pathophysiology of sepsis has become a new focus of attention. Platelet-related parameters, including number, function, average platelet volume, platelet distribution width, immature platelets and thrombopoietin, are closely related to the severity and prognosis of sepsis. Therefore, timely monitoring of platelet-related parameters not only helps clinicians accurately identify patients with high-risk sepsis, but also helps judge the prognosis of the disease. This article reviews the clinical significance of platelet-related parameters in patients with sepsis.

**【Key words】** Sepsis; Platelet related parameters; Thrombocytopenia; Outcome

脓毒症是一种宿主对感染免疫反应失调导致的器官功能障碍综合征<sup>[1]</sup>。重症监护病房(ICU)中6%~30%患者发生脓毒症<sup>[2]</sup>。脓毒症患者的院内病死率超过10%,出现休克的严重病例病死率可>40%<sup>[1]</sup>。脓毒症发病率及病死率均高,目前已经成为严重的公共健康问题。脓毒症患者常伴发血液系统障碍。在重症监护室中,20%~50%脓毒症患者合并血小板减少,其中10%~20%患者出现重度血小板减少(外周血小板 $<50 \times 10^9/L$ )<sup>[3]</sup>。近年来,血小板生物学的进展为脓毒症病理生理机制开辟了新的前景,血小板不仅在血栓形成、凝血过程、DIC中发挥着重要作用,而且在

免疫应答、炎症反应、病原菌的杀伤及组织修复中也起到了重要作用<sup>[4]</sup>。血小板的相关参数也已被作为脓毒症的新兴生物标志物,用以预测脓毒症的严重程度及病死率。因此,加强血小板相关参数[数量、功能、平均血小板体积、血小板分布宽度、未成熟血小板及血小板生成素(TPO)等]检测,有助于早期准确地识别脓毒症,判断评估疾病预后状态。

## 1 脓毒症血小板减少的病理机制

脓毒症导致血小板减少的机制复杂,多种病理机制可能同时存在。目前普遍认同的可能机制是:(1)脓毒症发生时,机体炎症反应失控,大量炎症因子可能

导致严重的血管内皮损伤,加强了与血小板的黏附作用,使血小板-白细胞聚集物(PLAs)生成增多<sup>[5]</sup>,这种聚集物生成加重了血小板的消耗。(2)脓毒症凝血功能障碍发生时,血小板大量活化,TREM-1 配体增加,P 选择素表达释放增加,血小板-内皮细胞-白细胞黏附作用进一步增强,导致凝血系统激活,当发生弥散性血管内凝血(DIC)时,大量微血栓形成,会出现凝血因子及血小板的大量消耗<sup>[6]</sup>。(3)免疫因素也参与到上述过程中。2013 年有学者提出“免疫性血栓形成”的概念<sup>[7]</sup>,该概念指出,中性粒细胞胞外诱捕网(NETs)是免疫性血栓形成的关键因素。中性粒细胞被激活后释放补体 P(CFP)、补体 B、C3 等补体成分,其中 CFP 沉积在 NET 和细菌上,诱导攻膜复合物 C5b-9 的生成,同时 Va-C5b9-Xa 因子结合,再与血小板表面的凝血酶原结合位点结合,激活血小板<sup>[8]</sup>。NET、补体、血小板三者之间相互作用,三者之间的平衡被打破会导致脓毒症严重凝血功能障碍。(4)有研究者在脓毒症患者胸骨骨髓提取标本中发现,64% 患者骨髓中可观察到嗜血现象<sup>[3]</sup>,这可能与脓毒症发生后,单核、吞噬细胞的吞噬作用增强有关。(5)除上述血小板的消耗破坏增加及吞噬作用增强外,血小板的生成也受到抑制,脓毒症发生时常合并多器官功能不全,骨髓也是受累器官之一。毒素、病原体、病原体产物等导致骨髓中血小板生成受抑制;同时还可能存在药物介导的血小板减少、出血丢失、补液后血液稀释等多方面原因<sup>[3]</sup>。

## 2 血小板参数与脓毒症

### 2.1 血小板计数

长期以来血小板减少被认为是 ICU 患者死亡的独立危险因素和疾病严重程度的敏感指标,关注血小板计数变化,有利于临床医生判断疾病的严重程度及预后转归。一项纳入了 980 例的多中心回顾性研究发现,血小板减少多发生在脓毒症休克的早期,而血小板恢复却滞后于临床症状的改善<sup>[9]</sup>。脓毒症是导致血小板减少最主要的原因,脓毒症的严重程度是血小板减少的危险因素<sup>[10]</sup>,同时血小板下降及下降程度也反映了脓毒症的严重程度及病死率,两者之间的因果关系目前仍存在争议。脓毒症的病原体不同,血小板下降的程度也不同,有研究发现,与革兰阳性菌、革兰阴性菌相比,真菌性脓毒症血小板下降更明显<sup>[11]</sup>。

血小板的减少与脓毒症病死率密切相关。对于入院时血小板正常的患者,如在脓毒症发生发展过程中出现血小板下降,预示疾病预后不良。一项针对脓毒症休克发生 24 h 内检测血小板的研究表明,感染性休

克患者血小板减少与 28 d 死亡风险增加相关,而且其死亡风险随血小板减少的严重程度而增加<sup>[12]</sup>。同时有研究显示,在疾病的不同时间内出现血小板减少的患者 90 d 病死率是相似的,入组时血小板  $\leq 50 \times 10^9/L$  的患者与基线血小板  $\geq 100 \times 10^9/L$  在 28 d 内出现血小板减少的患者具有相似的疾病严重程度和 90 d 病死率,而一直没有血小板减少的患者则病情较轻且病死率低<sup>[10]</sup>。血小板减少不仅影响脓毒症的病死率,还会影响脓毒症患者的脏器功能。有多项研究结果显示,脓毒症伴发血小板减少的患者,主要出血事件、急性肾损伤的发生率增加,住院时间、器官支持时间及 ICU 停留时间均延长<sup>[9,13]</sup>。早期的 Meta 分析也指出,血小板减少会增加脓症患者休克、急性肾损伤和急性呼吸窘迫综合征的发生率,进而增加患者的病死率<sup>[14]</sup>。因此,针对脓毒症伴血小板减少的患者,升高血小板能否降低脓毒症病死率的问题成为新的研究热点。目前正在进行一项针对脓毒症血小板减少患者升血小板药物的前瞻性、多中心、随机对照临床研究,并已在美国临床实验数据库注册<sup>[15]</sup>。

### 2.2 血小板数量的动态变化

血小板数量的下降对于脓毒症的发生发展至关重要,而了解血小板数量的动态变化及变化轨迹、持续时间及是否可以恢复等都与脓毒症的预后相关。一项多中心大样本的回顾性研究表明,重症患者在 ICU 入院后 50 ~ 150 h 或 50 ~ 200 h 内血小板数量的动态变化可以预测疾病的预后,同时可以预测护理中可能出现的并发症,此结果与使用 SOFA 风险评分获得的结果相似,并且比 SOFA 评分更具预测性<sup>[16]</sup>。在一项前瞻性、多中心、观察性研究中也发现,重症患者在入院后血小板数量的变化特征表现出“双向性”:第 1 天血小板计数显著下降,至第 4 天达到最低点;经过初始几天的下降后,随后有一段上升期,在存活组中,血小板计数在第 1 周结束时恢复到入院值,并可继续上升,而在死亡组中,血小板计数在 1 周后虽然也可恢复到入院值,但随后血小板计数没有继续增加;这种“双向性”消失,或出现持续低水平不恢复,则提示疾病预后不佳<sup>[6]</sup>。

值得注意的是,血小板减少发生的时间与脓毒症预后的关系尚存在一定争议。在一项纳入 931 例脓毒症患者的回顾性研究中发现,入院时血小板计数低的患者病情更重,死亡风险更高;住院期间早期血小板减少和新发血小板减少也与预后不良有关<sup>[11]</sup>。但也有研究发现,第 14 天血小板减少的脓症患者病死率高于第 4 天血小板减少的患者,提示晚期血小板减少似乎比早期更能预测死亡<sup>[17]</sup>。因此了解血小板计数的

变化与临床结局之间的关系对于 ICU 医师而言具有重要的意义。

**2.3 血小板功能** 脓毒症的发生发展不仅与血小板数量的变化有关,还与血小板的功能状态密切相关。血小板的功能主要是止血,血小板活化是整个凝血过程的第一阶段。内皮损伤后血小板黏附于损伤部位,能够刺激血小板活化,活化后血小板分泌释放血栓烷 A<sub>2</sub>、二磷酸腺苷 (ADP) 等,进一步刺激临近血小板活化。活化后的血小板通过整合素糖蛋白 GP II b/III a,直接与循环中的纤维蛋白原结合,通过血小板—纤维蛋白原—血小板的连接启动血小板聚集的过程,最终形成血小板团块,发挥止血作用<sup>[18]</sup>。快速准确的测定血小板功能,有利于及时发现血小板功能障碍,对疾病的诊疗具有更好的临床指导意义。

**2.4 平均血小板体积 (MPV)** 研究发现,平均血小板体积的升高与脓毒症病死率呈正相关,死亡组患者平均血小板体积显著高于生存组,此结果在脓毒症后期更为明显,平均血小板体积升高是脓毒症不良预后的独立危险因素<sup>[19-23]</sup>;然而也有研究发现,MPV 在存活组和死亡组中无差异<sup>[24]</sup>。该方面的研究多为单中心回顾性研究,样本量较小,仍需多中心、前瞻性、随机化的临床试验得以证实。

**2.5 未成熟血小板** 未成熟血小板也是衡量脓毒症预后重要的血小板参数之一。未成熟血小板的 RNA 水平高于成熟血小板,也被称为“网状血小板”,可通过未成熟血小板分数和未成熟血小板绝对值(未成熟血小板分数与血小板数量的乘积)进行衡量。未成熟血小板分数可以反映脓毒症早期的骨髓情况,通过测量未成熟血小板分数,可以评估血小板生成率,预测脓毒症的发生<sup>[25]</sup>。有回顾性研究观察到,患有严重脓毒症或脓毒症休克的患者未成熟血小板分数明显升高,该发现在另一项前瞻性观察性研究中也得到了证实<sup>[25-26]</sup>。未成熟血小板的变化可以预测脓毒症病死率。2016 年 Muroi 等<sup>[27]</sup>在单中心的回顾性队列研究中发现,未成熟血小板分数的增加与脓毒症 28 d 病死率呈正相关;但 Koyama 等<sup>[28]</sup>在随后的回顾性研究中却发现,未成熟血小板绝对值下降与 28 d 病死率呈正相关。这可能是由于后者的纳入对象中血小板严重减少(PLT < 40 × 10<sup>9</sup>/L)患者比例较大,因此会影响未成熟血小板的绝对值。但是,未成熟血小板对脓毒症病死率的预测意义仍不可忽略。

未成熟血小板分数作为早期预测脓毒症发生的生物标志物具有一定的敏感度,但未成熟血小板分数与脓毒症的严重程度是否相关尚存在争议。一项回顾性

研究发现,严重脓毒症或脓毒症休克患者未成熟血小板分数明显升高,且与疾病严重程度呈正相关<sup>[26]</sup>。然而,另一项回顾性研究发现,未成熟血小板分数对诊断脓毒症具有一定的敏感度,但与脓毒症严重程度无相关性<sup>[29]</sup>。因此,对于未成熟血小板与脓毒症严重程度的相关性,仍需要较多的研究得以证实。

**2.6 血小板生成素 (TPO)** TPO 是一种细胞生长因子,最初因其具有刺激巨核细胞增殖和分化的能力而被发现。除调节血小板生成外,TPO 还可通过影响成熟血小板对多种刺激的反应,直接调节其体内稳态。近期有研究发现,脓症患者 TPO 水平明显高于全身炎症反应综合征 (SIRS) 患者,而出现休克的脓症患者,外周血 TPO 水平更高,TPO 峰值与脓毒症休克的临床发生时间相符<sup>[30]</sup>。因此,脓症患者外周血 TPO 是增高的,而且脓毒症的严重程度是 TPO 升高的主要决定因素。TPO 可能会成为脓毒症的早期预警指标,并且可以帮助临床医生判断疾病严重程度。

但是目前 TPO 升高对脓毒症患者的利弊尚不清楚。有研究提示,TPO 升高可以增强脓症患者血小板活化和单核细胞—血小板相互作用,促进微血栓形成,可能参与脓毒症多器官衰竭的发病机制<sup>[31]</sup>。但是也有研究发现,外周注射人重组 TPO (rhTPO) 可改善脓毒症患者的预后,并且可能起到脏器保护功能。在一项纳入了 72 例围手术期严重脓毒症患者的回顾性研究中发现,与未应用 rhTPO 的患者相比,应用 rhTPO 组的小血小板计数升高更快,且血小板输注率下降,总病死率下降<sup>[32]</sup>。Liu 等<sup>[33]</sup>2020 年纳入 213 例患者的回顾性研究也发现,rhTPO 观察组 ( $n = 84$ ) 第 3、5、7 天血小板数量均比对照组 ( $n = 129$ ) 明显升高。同时谢云等<sup>[34]</sup>也发现,rhTPO 治疗可以抑制脓毒症炎症反应,减轻心肌损伤,有助于心功能的恢复。

TPO 水平的升高与脓毒症的发生发展密切相关,但是,TPO 增高是严重脓毒症的保护性因素、损害性因素还是仅反应性升高,目前还不清楚,仍需要进一步的相关基础和临床研究加以证实。

### 3 血小板监测

**3.1 传统血小板监测方法** 主要包括:活化功能检测,如流式细胞术、血管扩张刺激磷蛋白等;聚集功能检测,如光散射法、比浊法血小板聚集试验等;释放功能检测,如荧光光度法、血小板激动剂 ADP 等<sup>[35]</sup>。

**3.2 血栓弹力图** 血栓弹力图可以快速动态地检测脓毒症患者的凝血全过程,同时可以反映血小板的质量和数量,目前越来越多地被应用于脓毒症患者的凝血功能检测中。其参数主要包括:凝血时间 (R 值),

血块形成速率( $\kappa$  值和  $\alpha$  角),最大血块强度(MA),血块稳定强度(LY30 和 EPL),其中 MA 主要反映血小板聚集功能。血栓弹力图的参数在动、静脉血中的结果无差异<sup>[36]</sup>。存在脓毒症休克的患者除表现为凝血酶原时间及活化的部分凝血活酶时间延长、凝血因子消耗增加外,血栓弹力图中还可发现,脓毒症伴休克患者的参数较参考值延迟,表现出低凝状态的趋势;而不伴有休克的患者则表现高凝状态的趋势<sup>[37]</sup>;同时重症脓毒症患者的血栓弹力图参数 MA 保持低水平数天不变,提示血小板数量减少或血小板聚集功能受损,持续低水平的 MA 值是脓症患者 28 d 病死率的独立危险因素,而且脓毒症患者的低凝状态往往伴随较高的出血率<sup>[38-39]</sup>。因此,血栓弹力图可以作为评估脓症患者血小板功能及凝血功能有价值的工具。

#### 4 血小板与脓毒症凝血功能障碍及 DIC

血小板是脓毒症炎症反应的关键因素,也是凝血过程中的关键环节。因此,脓毒症凝血功能障碍是血小板活化、炎症反应和凝血激活相互作用的结果<sup>[7]</sup>。DIC 是脓毒症凝血功能障碍的主要并发症,DIC 的国际血栓和止血协会(ISTH)标准目前已被用作全球标准,但有研究报道指出,该标准对于脓毒症 DIC 诊断时机是延迟的。有研究采用包含 2 663 例脓症患者数据的模型,进行早期抗凝治疗干预,指出了 DIC 最佳临界分值为 3 分,该结果表明,即使在明确诊断 DIC 之前也应开始抗凝治疗<sup>[40]</sup>。因此,一项多中心大样本的回顾性研究根据新的脓毒症定义,再次评估脓毒症伴凝血功能障碍患者的预后因素,提出了脓毒症相关凝血功能障碍(SIC)新的评分标准,新评分系统中纳入了 SOFA 评分评估器官功能障碍,以及血小板计数和凝血酶原时间<sup>[41]</sup>。已有研究证实,新的 SIC 评分比 DIC 评分可以更灵敏地检测到脓毒症相关的凝血功能障碍,同时指导更早地启动抗凝治疗,新的评分系统也能更好地预测 28 d 病死率<sup>[42]</sup>。

#### 5 小结与展望

综上所述,血小板在脓毒症的发生发展过程中起到重要作用。血小板一系列相关参数的变化,能够作为脓症患者重要的临床监测指标。同时,血小板在脓毒症凝血功能障碍中起到关键作用,对临床医师早期启动抗凝治疗具有一定的指导意义。然而,血小板数量的下降与脓毒症的因果关系尚不清楚,血小板相关参数在脓毒症预后评估中的具体临床意义,还需要后续前瞻性、随机化、多中心的临床试验进一步明确。

#### 参考文献

[1] Singer M,Deutschman CS,Seymour CW,et al. The third international

consensus definitions for sepsis and septic shock(Sepsis-3)[J]. JAMA, 2016, 315 (8): 801-810. DOI: 10. 1001/jama. 2016. 0287.

- [2] Rhee C, Dantes R, Epstein L, et al. Incidence and trends of sepsis in US hospitals using clinical vs claims data, 2009-2014 [J]. JAMA, 2017, 318 (13): 1241-1249. DOI: 10. 1001/jama. 2017. 13836.
- [3] Dewitte A, Lepreux S, Villeneuve J, et al. Blood platelets and sepsis pathophysiology: A new therapeutic prospect in critically (corrected) ill patients[J]. Ann Intensive Care, 2017, 7 (1): 115. DOI: 10. 1186/s13613-017-0337-7.
- [4] Morrell CN, Aggrey AA, Chapman LM, et al. Emerging roles for platelets as immune and inflammatory cells[J]. Blood, 2014, 123 (18): 2759-2767. DOI: 10. 1182/blood-2013-11-462432.
- [5] 林竹,王勇强. 脓毒症相关性血小板减少症的发病机制及研究进展[J]. 内科,2019,14(2):197-200. DOI:10. 16121/j. cnki. cn45-1347/r. 2019. 02. 21.
- [6] Greco E, Lupia E, Bosco O, et al. Platelets and multi-organ failure in sepsis[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18 (10):2200. DOI: 10. 3390/ijms18102200.
- [7] Engelmann B, Massberg S. Thrombosis as an intravascular effector of innate immunity [J]. Nat Rev Immunol, 2013, 13 (1): 34-45. DOI: 10. 1038/nri3345.
- [8] 刘蕾,吴俊. 中性粒细胞胞外诱捕网在血栓形成中发挥重要作用[J]. 中华检验医学杂志,2020,43(8):763-767. DOI: 10. 3760/cma. j. cn114452-20191031-00626.
- [9] Menard CE, Kumar A, Houston DS, et al. Evolution and impact of thrombocytopenia in septic shock: A Retrospective Cohort Study[J]. Crit Care Med, 2019, 47 (4): 558-565. DOI: 10. 1097/CCM. 0000000000003644.
- [10] Semeraro F, Colucci M, Caironi P, et al. Platelet drop and fibrinolytic shutdown in patients with sepsis [J]. Crit Care Med, 2018, 46 (3): e221-e228. DOI: 10. 1097/CCM. 0000000000002919.
- [11] Claushuis TA, van Vught LA, Scicluna BP, et al. Thrombocytopenia is associated with a dysregulated host response in critically ill sepsis patients [J]. Blood, 2016, 127 (24): 3062-3072. DOI: 10. 1182/blood-2015-11-680744.
- [12] Thiery Antier N, Binquet C, Vinault S, et al. Is thrombocytopenia an early prognostic marker in septic shock [J]. Crit Care Med, 2016, 44 (4): 764-772. DOI: 10. 1097/CCM. 0000000000001520.
- [13] Venkata C, Kashyap R, Farmer JC, et al. Thrombocytopenia in adult patients with sepsis: incidence, risk factors, and its association with clinical outcome [J]. J Intensive Care, 2013, 1 (1): 9. DOI: 10. 1186/2052-0492-1-9.
- [14] Xie Y, Tian R, Xie H, et al. The clinical significance of thrombocytopenia complicating sepsis: A meta-analysis [J]. J Infect, 2019, 78 (4): 323-337. DOI: 10. 1016/j. jinf. 2018. 12. 002.
- [15] Zhou Z, Feng T, Xie Y, et al. The effect of recombinant human thrombopoietin (rhTPO) on sepsis patients with acute severe thrombocytopenia: a study protocol for a multicentre randomised controlled trial (RESCUE trial) [J]. BMC Infect Dis, 2019, 19 (1): 780. DOI: 10. 1186/s12879-019-4388-2.
- [16] Puertas M, Zayas-Castro JL, Fabri PJ. Statistical and prognostic

analysis of dynamic changes of platelet count in ICU patients[J]. *Physiol Meas*, 2015, 36 (5): 939-953. DOI: 10.1088/0967-3334/36/5/939.

[17] 周志刚, 谢云, 冯铁男, 等. 血小板计数短期动态变化对 ICU 脓毒症患者预后的临床预测价值: 一项成人的回顾性队列研究[J]. *中华危重病急救医学*, 2020, 32 (3): 301-306. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20190909-00069.

[18] Thon JN, Italiano JE. Platelet formation[J]. *Semin Hematol*, 2010, 47 (3): 220-226. DOI: 10.1053/j.seminhematol.2010.03.005.

[19] Hayano RS, Yamanaka S, Bronson FL, et al. BABYSCAN: a whole body counter for small children in Fukushima[J]. *J Radiol Prot*, 2014, 34 (3): 645-653. DOI: 10.1088/0952-4746/34/3/645.

[20] Kim CH, Kim SJ, Lee MJ, et al. An increase in mean platelet volume from baseline is associated with mortality in patients with severe sepsis or septic shock [J]. *PLoS One*, 2015, 10 (3): e119437. DOI: 10.1371/journal.pone.0119437.

[21] Orak M, Karakoc Y, Ustundag M, et al. An investigation of the effects of the mean platelet volume, platelet distribution width, platelet/lymphocyte ratio, and platelet counts on mortality in patients with sepsis who applied to the emergency department[J]. *Niger J Clin Pract*, 2018, 21(5):667-671. DOI: 10.4103/njcp.njcp\_44\_17.

[22] Vardon-Bouines F, Gratacap MP, Groyer S, et al. Kinetics of mean platelet volume predicts mortality in patients with septic shock[J]. *PLoS One*, 2019, 14 (10): e223553. DOI: 10.1371/journal.pone.0223553.

[23] Oh GH, Chung SP, Park YS, et al. Mean platelet volume to platelet count ratio as a promising predictor of early mortality in severe sepsis [J]. *Shock*, 2017, 47 (3): 323-330. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000718.

[24] Guclu E, Durmaz Y, Karabay O. Effect of severe sepsis on platelet count and their indices [J]. *Afr Health Sci*, 2013, 13 (2): 333-338. DOI: 10.4314/ahs.v13i2.19.

[25] De Blasi RA, Cardelli P, Costante A, et al. Immature platelet fraction in predicting sepsis in critically ill patients[J]. *Intensive Care Med*, 2013, 39 (4): 636-643. DOI: 10.1007/s00134-012-2725-7.

[26] Enz HR, Rodrigues MV, Andreguetto BD, et al. Association of the immature platelet fraction with sepsis diagnosis and severity[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 8019. DOI: 10.1038/srep08019.

[27] Muronoi T, Koyama K, Nunomiya S, et al. Immature platelet fraction predicts coagulopathy-related platelet consumption and mortality in patients with sepsis [J]. *Thromb Res*, 2016, 144: 169-175. DOI: 10.1016/j.thromres.2016.06.002.

[28] Koyama K, Katayama S, Muronoi T, et al. Time course of immature platelet count and its relation to thrombocytopenia and mortality in patients with sepsis [J]. *PLoS One*, 2018, 13 (1): e192064. DOI: 10.1371/journal.pone.0192064.

[29] Park SH, Ha SO, Cho YU, et al. Immature platelet fraction in septic patients: clinical relevance of immature platelet fraction is limited to the sensitive and accurate discrimination of septic patients from non-septic patients, not to the discrimination of sepsis severity[J]. *Ann Lab Med*, 2016, 36 (1): 1-8. DOI: 10.3343/alm.2016.36.1.1.

[30] Segre E, Pigozzi L, Lison D, et al. May thrombopoietin be a useful marker of sepsis severity assessment in patients with SIRS entering the emergency department[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2014, 52 (10): 1479-1483. DOI: 10.1515/cclm-2014-0219.

[31] Lupia E, Goffi A, Bosco O, et al. Thrombopoietin as biomarker and mediator of cardiovascular damage in critical diseases[J]. *Mediators Inflamm*, 2012, 2012: 390892. DOI: 10.1155/2012/390892.

[32] Wu Q, Ren J, Wu X, et al. Recombinant human thrombopoietin improves platelet counts and reduces platelet transfusion possibility among patients with severe sepsis and thrombocytopenia: a prospective study [J]. *J Crit Care*, 2014, 29 (3): 362-366. DOI: 10.1016/j.jcrc.2013.11.023.

[33] Liu Y, Jin G, Sun J, et al. Recombinant human thrombopoietin in critically ill patients with sepsis-associated thrombocytopenia: A Clinical Study [J]. *Int J Infect Dis*, 2020, 98: 144-149. DOI: 10.1016/j.ijid.2020.06.045.

[34] 谢云, 周志刚, 田锐, 等. 重组人促血小板生成素改善脓毒症患者心肌损伤的临床研究[J]. *中华肺部疾病杂志*, 2020, 13 (2): 213-217. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-6902.2020.02.017.

[35] Lordkipanidze M. Platelet function tests[J]. *Semin Thromb Hemost*, 2016, 42 (3): 258-267. DOI: 10.1055/s-0035-1564834.

[36] Durila M, Kalincik T, Jurcenko S, et al. Arteriovenous differences of hematological and coagulation parameters in patients with sepsis[J]. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2010, 21 (8): 770-774. DOI: 10.1097/MBC.0b013e32834013d7.

[37] Muzaffar SN, Baronia AK, Azim A, et al. Thromboelastography for evaluation of coagulopathy in nonbleeding patients with sepsis at intensive care unit admission[J]. *Indian J Crit Care Med*, 2017, 21 (5): 268-273. DOI: 10.4103/ijccm.IJCCM\_72\_17.

[38] Ostrowski SR, Windelov NA, Ibsen M, et al. Consecutive thromboelastography clot strength profiles in patients with severe sepsis and their association with 28-day mortality: a prospective study[J]. *J Crit Care*, 2013, 28 (3): 311-317. DOI: 10.1016/j.jcrc.2012.09.003.

[39] Haase N, Ostrowski SR, Wetterslev J, et al. Thromboelastography in patients with severe sepsis: a prospective cohort study[J]. *Intensive Care Med*, 2015, 41 (1): 77-85. DOI: 10.1007/s00134-014-3552-9.

[40] Yamakawa K, Umehura Y, Murao S, et al. Optimal timing and early intervention with anticoagulant therapy for sepsis-induced disseminated intravascular coagulation[J]. *Clin Appl Thromb Hemost*, 2019, 25: 1421733713. DOI: 10.1177/1076029619835055.

[41] Iba T, Nisio MD, Levy JH, et al. New criteria for sepsis-induced coagulopathy (SIC) following the revised sepsis definition: a retrospective analysis of a nationwide survey[J]. *BMJ Open*, 2017, 7 (9): e17046. DOI: 10.1136/bmjopen-2017-017046.

[42] Iba T, Arakawa M, Di Nisio M, et al. Newly proposed sepsis-induced coagulopathy precedes international society on thrombosis and haemostasis overt-disseminated intravascular coagulation and predicts high mortality[J]. *J Intensive Care Med*, 2020, 35 (7): 643-649. DOI: 10.1177/0885066618773679.



【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2021. 04. 024

综 述

## 2 型糖尿病大血管病变与血清生化物的研究进展

汤海焦综述 张松审校

基金项目: 贵州省科技计划项目[黔科合平台人才(2018) 5779-27, 学术新苗 19NSP018]

作者单位: 550004 贵阳, 贵州医科大学(汤海焦); 贵州医科大学附属医院内分泌与代谢病科(张松)

通信作者: 张松, E-mail: zhangsgz@aliyun.com

**【摘要】** 冠状动脉粥样硬化性心脏病作为最常见的糖尿病大血管病变,也是 2 型糖尿病患者死亡的主要原因,但由于糖尿病自身神经病变的影响,当出现冠心病相关的临床症状时,病变程度往往已经达到晚期,因此有必要予以早期无创检查。研究发现,糖尿病患者血清晚期糖基化终末产物、同型半胱氨酸、胱抑素 C、瘦素、维生素 D 水平同糖尿病大血管病变存在密切联系,文章就血清生化指标与糖尿病大血管病变的关联性进行综述。

**【关键词】** 糖尿病, 2 型; 冠心病; 同型半胱氨酸; 胱抑素 C; 瘦素; 维生素 D

**【中图分类号】** R587.2 **【文献标识码】** A

**Research progress of type 2 diabetes macroangiopathy and serum biochemicals** Tang Haijiao\*, Zhang Song. \*Guizhou Medical University, Guizhou Province, Guiyang 550004, China

Corresponding author: Zhang Song, E-mail: zhangsgz@aliyun.com

Funding program: Science and Technology Project of Guizhou Province [(2018)5779-27, Academic New Talent 19NSP018]

**【Abstract】** Coronary atherosclerotic heart disease, as the most common diabetic macrovascular disease, is also the main cause of death in patients with type 2 diabetes. However, due to the influence of diabetes's own neuropathy, when clinical symptoms related to coronary heart disease appear, the degree of disease is often It has reached the late stage, so early non-invasive examination is necessary. Studies have found that serum levels of advanced AGEs, homocysteine, Cys C, leptin, and vitamin D in diabetic patients are closely related to diabetic macroangiopathy. Therefore, this article focuses on serum The relationship between biochemical indicators and diabetic macrovascular disease is reviewed.

**【Key words】** Diabetes, type 2; Coronary heart disease; Homocysteine; Cys C; Leptin; Vitamin D

从 2007—2017 年,中国成年人的糖尿病患病率略有上升,研究表明,糖尿病在我国是一个重要的公共卫生问题,并且随着人口老龄化及饮食结构的改变,全球 2 型糖尿病患者数量急剧增长,据估计,2019 年全球糖尿病患病率为 9.3% (4.63 亿人),到 2030 年将上升至 10.2% (5.78 亿人),到 2045 年将上升至 10.9% (7 亿人),且大部分集中于发展中国家<sup>[1-2]</sup>。这将成为社会及个人巨大的经济负担。糖尿病已成为全球危害最大的慢性病之一,糖尿病血管病变常分为大血管病变和微血管病变,其中冠状动脉粥样硬化性心脏病是其最常见的类型,动脉粥样硬化性心血管病(ASCVD)也是 2 型糖尿病患者(T2DM)死亡的主要原因,在一项带有趋势分析的综述中,2 型糖尿病心血管结局的病死率近 50 年来仍呈现上升趋势<sup>[3]</sup>。2 型糖尿病患者冠心病的患病率和严重程度均高于无 T2DM 者<sup>[4]</sup>。因糖尿病自身神经病变的影响,冠心病发现时常常已处于晚期,临床诊治效果不佳。研究发现,许多

糖尿病患者发现严重的冠状动脉粥样硬化时,常常还未出现相应的临床症状,通过临床症状判断糖尿病患者是否存在冠状动脉病变并不可靠,因此需要对糖尿病人群进行冠状动脉病变程度常规筛查。因此本文对近年来冠状动脉病变程度评估的血清生化物进行综述,以供不宜或不愿行有创检查的患者选择性应用,尽早评估糖尿病患者大动脉病变程度,予以早期干预。

### 1 2 型糖尿病大血管病变机制

近年研究发现,T2DM 与 ASCVD 之间存在密切的内在联系,主要涉及的机制包括胰岛素抵抗、脂代谢异常、高血糖、氧化应激、慢性炎症反应等,而其中最主要的是胰岛素抵抗和高血糖<sup>[5-6]</sup>。

胰岛素抵抗是 T2DM 的病理生理基础,近年来多名学者通过研究证实了胰岛素抵抗与动脉粥样硬化发生的相关性,研究发现内皮功能障碍是动脉粥样硬化的关键因素,其特征是内皮一氧化氮合酶衍生的一氧化氮生物利用度降低,而胰岛素抵抗与内皮型一氧化

氮合酶活性降低、一氧化氮生成和血管内皮细胞内皮黏附分子表达增加有关<sup>[7]</sup>,表明胰岛素抵抗促进了动脉粥样硬化的发生发展。在晚期动脉粥样硬化过程中,胰岛素抵抗可促进血管平滑肌细胞死亡导致纤维帽变薄,巨噬细胞死亡,再加上吞噬细胞清除缺陷,促进斑块坏死<sup>[8]</sup>。所以胰岛素抵抗在动脉粥样硬化过程中起重要作用,是导致糖尿病大血管病变发生的最重要的机制之一。

T2DM 的大血管病变较非糖尿病人群的动脉粥样硬化更严重,动脉粥样硬化早发、进展迅速,同时还会累及多支动脉<sup>[9]</sup>。近年来研究发现,关于高血糖导致动脉粥样硬化的机制是多样且复杂的。T2DM 患者中与血管再生修复相关的干细胞有不同程度的病变,而血管干细胞的数量和功能与血糖呈负相关,高血糖导致了血管内皮再生失调<sup>[10]</sup>。此外,氧化应激及由膜水通道蛋白的异常激活引发炎症反应通路的激活,也被认为是高血糖导致大血管病变的关键事件<sup>[11]</sup>。

## 2 2 型糖尿病大血管病变与血清生化物

### 2.1 晚期糖基化终产物水平与大血管病变

晚期糖基化终末产物(AGEs)是蛋白质、脂质、核酸等大分子物质与葡萄糖或其他还原糖在非酶促条件下发生促糖基化反应之后的产物<sup>[12]</sup>。在正常机体中糖基化反应缓慢进行,但在老化过程中,特别是在糖尿病持续高血糖、应激、肾功能异常等情况下,AGEs 生成加快,排出减少,导致 AGEs 水平升高。近年来多项研究发现,AGEs 会加速血管内皮的衰老,使老年糖尿病患者更大几率发生包括动脉粥样硬化在内的血管病变,在糖尿病血管衰老及并发症、动脉硬化中起着关键性作用<sup>[13-15]</sup>。Fishman 等<sup>[15]</sup>认为,AGEs 通过 3 种主要分子机制发挥致病作用:修饰胞外蛋白、修饰胞内蛋白,以及通过与细胞表面晚期糖基化终产物(RAGE)受体结合激活级联信号,以上 3 种机制均有可能参与心血管疾病的发生和发展。

2012 年 Laakso 等<sup>[16]</sup>研究发现,糖尿病患者组织中 AGEs 水平明显增高,并与动脉粥样硬化病变严重程度相关。王卫定等<sup>[17]</sup>研究发现,在非糖尿病组冠心病患者中 AGEs 较无冠心病者升高,但不同冠状动脉病变支数亚组间比较未见统计学差异,而糖尿病组中冠状动脉无病变亚组及单支、多支病变亚组 AGEs 水平依次升高,得出 AGEs 促进冠状动脉粥样硬化的发生、发展,且与糖尿病患者冠状动脉病变程度呈正相关。因此 AGEs 可作为预测大血管病变程度的生物标志物之一。

### 2.2 同型半胱氨酸水平与大血管病变

近年研究表

明,高同型半胱氨酸血症(HHcy)不仅是心血管疾病的独立危险因素,在糖尿病患者中,血清同型半胱氨酸水平升高可预测 T2DM 患者的死亡及冠状动脉事件的风险<sup>[18-19]</sup>。同型半胱氨酸属于一种含硫的非蛋白氨基酸,是甲硫氨酸循环的产物,主要用来维持体内含硫氨基酸的平衡。T2DM 因出现胰岛素分泌减少甚至缺乏,使得体内同型半胱氨酸代谢紊乱,导致血清同型半胱氨酸水平上升。而血清中高水平的同型半胱氨酸通过对血管内皮、平滑肌细胞、凝血因子等的影响导致血管疾病的发病率增加,许多研究表明,同型半胱氨酸血症的水平可以直接反映出血管病变的严重程度。

目前认为高水平同型半胱氨酸与大血管病变的相关机制如下:(1)血管内皮损伤。内皮功能障碍是动脉粥样硬化最早的指标,研究表明,同型半胱氨酸通过上调内皮细胞中 NOX4 和 NOX2 的表达而显著增加氧化应激,从而损伤血管内皮<sup>[20]</sup>。T2DM 和 HHcy 均是内皮功能障碍的危险因素,Hu 等<sup>[21]</sup>研究发现,T2DM 合并 HHcy 患者内皮功能低下,导致大血管病变加速。(2)血管平滑肌细胞增生。在各种局部刺激下血管平滑肌成骨分化是血管钙化发生的关键机制之一。Zhu 等<sup>[22]</sup>认为 Hcy 通过 KLF4-RUNX 2 相互作用调节血管钙化,并表明 Hcy 诱导的 RUNX 2 活性增强增加了血管平滑肌的钙化。(3)激活血栓形成。血清同型半胱氨酸可增强凝血因子表达,启动凝血途径,降低血栓调节蛋白表达<sup>[23]</sup>,增加血小板黏附性并诱导人血小板内源性活性氧种类生成,这可能导致钙离子的活化,进而促进血小板聚集。(4)血脂代谢异常。同型半胱氨酸硫内酯与 ApoB 蛋白的游离氨基反应形成同型半胱氨酸结合肽,引起低密度脂蛋白聚集,同型半胱氨酸诱导低密度脂蛋白发生氧化反应,从而使内膜下泡沫细胞堆积启动动脉粥样硬化过程<sup>[24-25]</sup>。综上所述,同型半胱氨酸参与了 2 型糖尿病大血管并发症的形成和发展,是 2 型糖尿病大血管并发症的危险因子和预测指标。

### 2.3 胱抑素 C 水平与大血管病变

胱抑素 C(CysC)是一种强效的胞外半胱氨酸蛋白酶抑制剂,可由有核细胞稳定分泌,主要抑制胞外蛋白酶的活性,CysC 还能促进内皮细胞小管的形成,并表现出血管生成特征<sup>[26]</sup>。Ma 等<sup>[27]</sup>对 14 项研究(723 例 T2DM 患者和 473 例健康对照者)进行 Meta 分析,结果表明,T2DM 患者 CysC 水平明显高于健康对照组。虽然 T2DM 中 CysC 是评估肾功能变化的内源性标志物,但是多项研究表明,CysC 水平与动脉粥样硬化关系密切<sup>[28-29]</sup>。

CysC 是半胱氨酸蛋白酶的内源性抑制物,在动脉粥样硬化的血管组织中 CysC 与半胱氨酸蛋白酶失衡,导致细胞外基质降解,同时单核巨噬细胞迁移至内膜,加速动脉粥样硬化的发生。研究也发现,T2DM 患者血清 CysC 与血管并发症、颈动脉壁弹性和亚临床动脉粥样硬化有关<sup>[30-32]</sup>。Vaduganathan 等<sup>[33]</sup> 研究显示,CysC 与心血管风险独立相关。这些研究提示 CysC 在 T2DM 大血管病变中具有重要作用。

**2.4 血清瘦素水平与大血管病变** 瘦素作为一种体内的循环脂肪因子,可与下丘脑弓状核中瘦素受体(LEPR, 又称 OB-R) 结合,其本质为一种抑制食欲的肽激素,调节食物的摄入和能量消耗。瘦素主要从脂肪组织分泌,并与下丘脑弓状核的瘦素受体结合,调节摄食、能量消耗和激素释放。瘦素和胰岛素的作用是相互联系的,有助于体内代谢的平衡,二者在体内的失衡会导致血管内皮损伤的风险加大,进而促进动脉粥样硬化<sup>[34]</sup>。并且高水平的瘦素与胰岛素抵抗、慢性炎症反应和凝血因子紊乱有关,这些因素都是高血压、代谢综合征或其他心血管疾病的危险因素<sup>[35-36]</sup>。

胰岛素刺激脂肪细胞分泌瘦素,而血浆瘦素与血浆胰岛素显著相关,如果瘦素水平总是过高,则会发生胰岛素抵抗<sup>[37]</sup>。研究发现,机体处于胰岛素抵抗时,血清中高水平的瘦素同冠心病的发生密切相关,瘦素参与了 T2DM 患者冠心病的发生与发展<sup>[38]</sup>。在生理条件下,瘦素信号维持心脏葡萄糖代谢和脂肪酸氧化的平衡,而在瘦素或瘦素受体缺乏情况下则导致代谢的失衡。能量底物之间的动力学降低导致全身代谢紊乱(胰岛素抵抗、瘦素抵抗、代谢功能障碍和脂肪毒性),导致心脏效率降低(钙受损),进而导致收缩功能障碍和纤维化<sup>[39]</sup>。目前普遍认同的瘦素促动脉粥样硬化作用机制如下:瘦素可诱导内皮细胞产生慢性氧化应激,从而促进动脉粥样硬化过程,促进血管病理的发展<sup>[40]</sup>;并且瘦素可能促进血管平滑肌细胞的增殖和迁移,并诱导血管细胞钙化,从而促进血管病变的形成和发展<sup>[41]</sup>;此外,在肥胖和 T2DM 患者中,高瘦素血症导致一氧化氮生物利用度降低,一氧化氮依赖性血管舒张功能减弱,从而导致血管功能障碍<sup>[42]</sup>。从目前的研究可得知,糖尿病患者血清瘦素水平与大动脉粥样硬化密切相关。

**2.5 血清维生素 D 水平与动脉粥样硬化** 当皮肤暴露在阳光下受紫外线辐射时,机体通过内源性途径生成了维生素 D,自从 Askew 等在 1932 年第一次分离维生素 D 以来,人们逐渐了解了其功能<sup>[43]</sup>。现在普遍认同维生素 D 缺乏是胰岛素抵抗形成的重要因素之

一<sup>[44-45]</sup>,虽然具体机制尚不十分明确,但研究发现维生素 D 可减轻与胰岛素抵抗相关的病理程度,如氧化应激和炎症反应。最近,还发现维生素 D 可以防止与胰岛素抵抗和糖尿病相关的表观遗传改变<sup>[44]</sup>。而胰岛素抵抗又在动脉粥样硬化的发生发展过程中担任了相当重要的角色<sup>[45-46]</sup>,目前众多研究表明,维生素 D 水平影响了大血管病变的进程。Ramagopalan 等<sup>[47]</sup> 认为维生素 D 通过其核受体影响内分泌和心血管系统。Legarth 等<sup>[48]</sup> 研究发现,维生素 D 能通过抑制 NF- $\kappa$ B 通路来减轻血管炎症反应和动脉粥样硬化;Chen 等<sup>[49]</sup> 通过对猪的冠状动脉研究发现,维生素 D 抑制了活化 B 细胞 NF- $\kappa$ B 通路的核因子“ $\kappa$ -轻链增强子”,从而减缓了冠心病的进展。

糖尿病患者中 25(OH)D 水平较低与多血管病变数目增加有关,无明显冠状动脉病变的患者 25(OH)D 水平最高,明显高于单支、双支和三支冠状动脉病变<sup>[50-51]</sup>。研究表明,低维生素 D 水平会升高肾素-血管紧张素-醛固酮系统,引起内皮功能障碍,增加炎症反应<sup>[52]</sup>。此外,维生素 D 抑制血管内皮生长因子,促进上皮细胞凋亡,抑制现有动脉粥样硬化斑块内的新生血管,从而使其稳定<sup>[53]</sup>。维生素 D 通过下调促凝组织因子和上调血栓调节蛋白等机制使血栓形成事件减少,并且抑制各种黏附分子的表达,从而防止血小板活化,减少纤溶和血栓形成<sup>[54-56]</sup>。研究发现,血清 25(OH)D 水平还可对合并 2 型糖尿病的冠心病患者进行危险分层的评估,试验结果支持 25(OH)D 可能对冠心病的发生与进展有直接影响<sup>[57]</sup>。从而得知 2 型糖尿病患者血清维生素 D 水平在大动脉病变过程中担任了重要角色,提示检测血清维生素 D 水平可反映动脉粥样硬化的程度。

### 3 小结

2 型糖尿病患者相关生物标志物的水平与大血管病变的发生、发展及预后密切相关,虽然多数研究受样本量小、技术不成熟或成本过高等局限性,但是血清生化物的检查是一种无创、临床可实际应用的方法,所以仍具有较大的临床意义。因此,重视相关生物标志物的研究,有助于判断糖尿病患者大血管病变的程度和病情预后,为早期诊断、早期干预大血管病变提供临床指导。

### 参考文献

- [1] Li Y, Teng D, Shi X, et al. Prevalence of diabetes recorded in mainland China using 2018 diagnostic criteria from the American Diabetes Association: national cross sectional study[J]. BMJ, 2020, 369: m997. DOI: 10.1136/bmj.m997.
- [2] Saedi P, Petersohn I, Salpea P, et al. Global and regional diabetes

- prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2019,157:107843. DOI: 10.1016/j.diabres.2019.107843.
- [3] Vetrone LM, Zaccardi F, Webb DR, et al. Cardiovascular and mortality events in type 2 diabetes cardiovascular outcomes trials: a systematic review with trend analysis [J]. *Acta Diabetol*, 2019,56 (3):331-339. DOI: 10.1007/s00592-018-1253-5.
- [4] Bornfeldt KE, Tabas I. Insulin resistance, hyperglycemia, and atherosclerosis [J]. *Cell Metab*, 2011, 14(5):575-585. DOI: 10.1016/j.cmet.2011.07.015.
- [5] Almourani R, Chinnakotla B, Patel R, et al. Diabetes and cardiovascular disease: an update [J]. *Curr Diab Rep*, 2019,19(12):161. DOI: 10.1007/s11892-019-1239-x.
- [6] Katakami N. Mechanism of development of atherosclerosis and cardiovascular disease in diabetes mellitus [J]. *J Atheroscler Thromb*, 2018, 25(1):27-39. DOI: 10.5551/jat.RV17014.
- [7] Sharma A, Sellers S, Stefanovic N, et al. Direct endothelial nitric oxide synthase activation provides atheroprotection in diabetes-accelerated atherosclerosis [J]. *Diabetes*, 2015, 64(11):3937-3950. DOI: 10.2337/db15-0472.
- [8] Madonna R, Pieragostino D, Balistreri CR, et al. Diabetic macroangiopathy: Pathogenetic insights and novel therapeutic approaches with focus on high glucose-mediated vascular damage [J]. *Vascul Pharmacol*, 2018,107:27-34. DOI: 10.1016/j.vph.2018.01.009.
- [9] 李磊,夏豪,童随阳,等.早发冠心病合并糖尿病患者冠状动脉病变特点 [J]. *疑难病杂志*, 2015, 14(7):661-663. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2015.07.001.
- [10] Wimmer RA, Leopoldi A, Aichinger M, et al. Human blood vessel organoids as a model of diabetic vasculopathy [J]. *Nature*, 2019, 565(7740):505-510. DOI: 10.1038/s41586-018-0858-8.
- [11] Luc K, Schramm-Luc A, Guzik TJ, et al. Oxidative stress and inflammatory markers in prediabetes and diabetes [J]. *J Physiol Pharmacol*, 2019,70(6):809-824. DOI: 10.26402/jpp.2019.6.01.
- [12] 张黎,任锦丽,张召锋,等.晚期糖基化终末产物与糖尿病血管并发症 [J]. *中国食物与营养*, 2017, 23(7):76-79, 83. DOI: 10.3969/j.issn.1006-9577.2017.07.018.
- [13] 卿即娜,陈红阳,尹琳洁,等.血管内皮细胞衰老与心血管疾病的相关性 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2019, 27(2):161-168. DOI: 10.3969/j.issn.1007-3949.2019.02.013.
- [14] 刘青波,李虹伟.晚期糖基化终末产物与动脉粥样硬化 [J]. *中国心血管杂志*, 2018, 23(1):87-91. DOI: 10.3969/j.issn.1007-5410.2018.01.020.
- [15] Fishman SL, Sonmez H, Basman C, et al. The role of advanced glycation end-products in the development of coronary artery disease in patients with and without diabetes mellitus: a review [J]. *Mol Med*, 2018, 24(1):59. DOI: 10.1186/s10020-018-0060-3.
- [16] Laakso M, Cederberg H. Glucose control in diabetes: which target level to aim for [J]. *J Intern Med*, 2012, 272(1):1-12. DOI: 10.1111/j.1365-2796.2012.02528.x.
- [17] 王卫定,李广平.晚期糖基化终末产物与冠状动脉病变程度的相关性分析 [J]. *中国心血管杂志*, 2013, 18(4):260-263. DOI: 10.3969/j.issn.1007-5410.2013.04.006.
- [18] Vijayakumar A, Kim EK, Kim H, et al. Effects of folic acid supplementation on serum homocysteine levels, lipid profiles, and vascular parameters in post-menopausal Korean women with type 2 diabetes mellitus [J]. *Nutr Res Pract*, 2017, 11(4):327-333. DOI: 10.4162/nrp.2017.11.4.327.
- [19] 史菲,龙森,张娜,等.血清同型半胱氨酸、叶酸、维生素 B<sub>12</sub> 水平与冠心病患者冠状动脉病变程度的相关性 [J]. *中国老年学杂志*, 2020, 40(21):4484-4486. DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2020.21.002.
- [20] Lai WK, Kan MY. Homocysteine-induced endothelial dysfunction [J]. *Ann Nutr Metab*, 2015, 67(1):1-12. DOI: 10.1159/000437098.
- [21] Hu Y, Xu Y, Wang G. Homocysteine levels are associated with endothelial function in newly diagnosed type 2 diabetes mellitus patients [J]. *Metab Syndr Relat Disord*, 2019, 17(6):323-327. DOI: 10.1089/met.2019.0011.
- [22] Zhu L, Zhang N, Yan R, et al. Hyperhomocysteinemia induces vascular calcification by activating the transcription factor RUNX2 via Krüppel-like factor 4 up-regulation in mice [J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(51):19465-19474. DOI: 10.1074/jbc.RA119.009758.
- [23] Yang Z, Wang L, Zhang W, et al. Plasma homocysteine involved in methylation and expression of thrombomodulin in cerebral infarction [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 473(4):1218-1222. DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.04.042.
- [24] 刘艳丽,钟义,肖华蓉,等.血浆同型半胱氨酸、血清 25-羟维生素 D<sub>3</sub> 水平与青年糖尿病患者颈动脉内膜中层厚度的关系 [J]. *实用临床医药杂志*, 2020, 24(10):45-48, 52. DOI: 10.7619/jcmp.202010011.
- [25] 郭志霞,赵兴胜.同型半胱氨酸与冠心病发病机制及相关性研究进展 [J]. *医学综述*, 2019, 25(22):4477-4482. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2019.22.022.
- [26] Li Z, Wang S, Huo X, et al. Cystatin C expression is promoted by VEGFA blocking, with inhibitory effects on endothelial cell angiogenic functions including proliferation, migration, and chorioallantoic membrane angiogenesis [J]. *J Am Heart Assoc*, 2018, 7(21):e009167. DOI: 10.1161/JAHA.118.009167.
- [27] Ma CC, Duan CC, Huang RC, et al. Association of circulating cystatin C levels with type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis [J]. *Arch Med Sci*, 2019, 16(3):648-656. DOI: 10.5114/aoms.2019.83511.
- [28] 秦江媛,田路冰,房辉,等.骨钙素和胱抑素 C 与中老年男性 2 型糖尿病患者下肢动脉粥样硬化病变的关系 [J]. *中国糖尿病杂志*, 2020, 28(8):594-598. DOI: 10.3969/j.issn.1006-6187.2020.08.006.
- [29] Huang X, Jiang X, Wang L, et al. Serum cystatin C and arterial stiffness in middle-aged and elderly adults without chronic kidney disease: A population-based study [J]. *Med Sci Monit*, 2019, 25:9207-9215. DOI: 10.12659/MSM.916630.
- [30] 符杰,邓红艳,胡曼丽,等.血清胱抑素 C 及趋化素水平与 2 型糖尿病亚临床动脉粥样硬化的关系 [J]. *中华医学杂志*, 2019, 99(4):307-311. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2019.04.014.
- [31] Chung YK, Lee YJ, Kim KW, et al. Serum cystatin C is associated with subclinical atherosclerosis in patients with type 2 diabetes: A retrospective study [J]. *Diab Vasc Dis Res*, 2018, 15(1):24-30.

- DOI: 10.1177/1479164117738156.
- [32] Kaneko R, Sawada S, Tokita A, et al. Serum cystatin C level is associated with carotid arterial wall elasticity in subjects with type 2 diabetes mellitus: a potential marker of early-stage atherosclerosis [J]. *Diabetes Res Clin Pract* ,2018,139: 43-51.DOI: 10.1016/j.diabetes.2018.02.003.
- [33] Vaduganathan M, White WB, Charytan DM, et al. Relation of serum and urine renal biomarkers to cardiovascular risk in patients with type 2 diabetes mellitus and recent acute coronary syndromes (from the EXAMINE Trial) [J]. *Am J Cardiol* ,2019,123(3):382-391.DOI: 10.1016/j.amjcard.2018.10.035.
- [34] Zhang J, Jin J, Liu J, et al. A study of the correlation of insulin resistance and leptin with inflammatory factors and vascular endothelial injury in T2DM patients with CHD [J]. *Exp Ther Med*, 2018, 16(1):265-269.DOI: 10.3892/etm.2018.6170.
- [35] Pérez-Pérez A, Sánchez-Jiménez F, Vilarino-García T, et al. Role of leptin in inflammation and vice versa [J]. *Int J Mol Sci*,2020,21(16):5887. DOI: 10.3390/ijms21165887.
- [36] Jaganathan R, Ravindran R, Dhanasekaran S. Emerging role of adipocytokines in type 2 diabetes as mediators of insulin resistance and cardiovascular disease [J]. *Can J Diabetes*, 2018, 42(4):446-456.DOI: 10.1016/j.cjcd.2017.10.040.
- [37] Kumar R, Mal K, Razaq MK, et al. Association of leptin with obesity and insulin resistance [J]. *Cureus*, 2020 ,12(12):e12178. DOI: 10.7759/cureus.12178.
- [38] Zhang J, Jin J, Liu J, et al. A study of the correlation of insulin resistance and leptin with inflammatory factors and vascular endothelial injury in T2DM patients with CHD [J]. *Exp Ther Med*,2018 ,16(1):265-269. DOI: 10.3892/etm.2018.6170.
- [39] Poetsch MS, Strano A, Guan K. Role of leptin in cardiovascular diseases [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2020 ,11:354.DOI: 10.3389/fendo.2020.00354.
- [40] Zhang T, Yang P, Li T, et al. Leptin expression in human epicardial adipose tissue is associated with local coronary atherosclerosis [J]. *Med Sci Monit*,2019,25:9913-9922. DOI: 10.12659/MSM.918390.
- [41] Trovati M, Doronzo G, Barale C, et al. Leptin and vascular smooth muscle cells [J]. *Curr Pharm Des*,2014 ,20(4):625-634.DOI: 10.2174/13816128113199990022.
- [42] Becerril S, Rodríguez A, Catalán V, et al. Functional relationship between leptin and nitric oxide in metabolism [J]. *Nutrients*, 2019,11(9):2129.DOI: 10.3390/nul1092129.
- [43] Deluca HF. History of the discovery of vitamin D and its active metabolites [J]. *Bonekey Rep*,2014 ,3:479.DOI: 10.1038/bonekey.2013.213.
- [44] Szymczak-Pajor I, Sliwińska A. Analysis of association between vitamin D deficiency and insulin resistance [J]. *Nutrients*, 2019,11(4):794.DOI: 10.3390/nul1040794.
- [45] Tao S, Yuan Q, Mao L, et al. Vitamin D deficiency causes insulin resistance by provoking oxidative stress in hepatocytes [J]. *Oncotarget*, 2017,8(40):67605-67613.DOI: 10.18632/oncotarget.18754.
- [46] Szymczak-Pajor I, Drzewoski J, Sliwińska A. The molecular mechanisms by which vitamin D prevents insulin resistance and associated disorders [J]. *Int J Mol Sci*, 2020,21(18):6644.DOI: 10.3390/ijms21186644.
- [47] Ramagopalan SV, Heger A, Berlanga AJ, et al. A ChIP-seq defined genome-wide map of vitamin D receptor binding: associations with disease and evolution [J]. *Genome Res*, 2010,20(10):1352-1360. DOI: 10.1101/gr.107920.110.
- [48] Legarth C, Grimm D, Krüger M, et al. Potential beneficial effects of vitamin D in coronary artery disease [J]. *Nutrients*, 2019,12(1):99.DOI: 10.3390/nul2010099.
- [49] Chen S, Swier VJ, Boosani CS, et al. Vitamin D deficiency accelerates coronary artery disease progression in swine [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2016,36(8):1651-1659.DOI: 10.1161/ATVBAHA.116.307586.
- [50] Gondim F, Caribé A, Vasconcelos KF, et al. Vitamin D deficiency is associated with severity of acute coronary syndrome in patients with type 2 diabetes and high rates of sun exposure [J]. *Clin Med Insights Endocrinol Diabetes*, 2016 ,9:37-41.DOI: 10.4137/CMED.S39427.
- [51] Dziejcz EA, Gasior JS, Pawlowski M, et al. Association of vitamin D deficiency and degree of coronary artery disease in cardiac patients with type 2 diabetes [J]. *J Diabetes Res*, 2017,2017:3929075.DOI: 10.1155/2017/3929075.
- [52] Kaur G, Singh J, Kumar J. Vitamin D and cardiovascular disease in chronic kidney disease [J]. *Pediatr Nephrol*,2019,34(12):2509-2522.DOI: 10.1007/s00467-018-4088-y.
- [53] Ciulei G, Orasan OH, Coste SC, et al. Vitamin D and the insulin-like growth factor system: Implications for colorectal neoplasia [J]. *Eur J Clin Invest* ,2020,50(9):e13265.DOI: 10.1111/eci.13265.
- [54] Mohammad S, Mishra A, Ashraf MZ. Emerging role of vitamin D and its associated molecules in pathways related to pathogenesis of thrombosis [J]. *Biomolecules*, 2019,9(11):649. DOI: 10.3390/biom9110649.
- [55] Cimmino G, Morello A, Conte S, et al. Vitamin D inhibits tissue factor and CAMs expression in oxidized low-density lipoproteins-treated human endothelial cells by modulating NF- $\kappa$ B pathway [J]. *Eur J Pharmacol*, 2020,885:173422. DOI: 10.1016/j.ejphar.2020.173422.
- [56] Cooper ID, Crofts CAP, DiNicolantonio JJ, et al. Relationships between hyperinsulinaemia, magnesium, vitamin D, thrombosis and COVID-19: rationale for clinical management [J]. *Open Heart*, 2020,7(2):e001356.DOI: 10.1136/openhrt-2020-001356.
- [57] Bener A, Al-Hamaq AOA, Zughair SM, et al. Assessment of the role of serum 25-hydroxy vitamin D level on coronary heart disease risk with stratification among patients with type 2 diabetes mellitus [J]. *Angiology*, 2021, 72(1): 86-92. DOI: 10.1177/0003319720951411.