

Rho 激酶抑制剂对冠脉无复流患者内皮微粒和可溶性细胞间黏附分子-1 的影响

闫生玲¹ 周静¹ 高峰¹

【摘要】 目的:本研究通过观察法舒地尔对冠状动脉(冠脉)无复流患者循环血内皮微粒(EMPs)和可溶性细胞间黏附分子-1(sICAM-1)水平的影响,以探讨法舒地尔抑制无复流患者冠脉内皮炎症的机制。**方法:**选取住院行冠脉介入(PCI)术的急性冠脉综合征(ACS)患者 90 例,其中 60 例为 PCI 后发生无复流的患者,随机分为两组,A 组:冠脉内注射法舒地尔(5 mg)30 例,B 组:冠脉内注射替罗非班(500 μ g)30 例,30 例未发生无复流患者为 C 组(对照组),分别于患者入院时、PCI 后即刻和 PCI 后 24 h 采集静脉血,测定血浆 EMPs 水平及血清 sICAM-1 水平。**结果:**入院时 3 组患者 EMPs、sICAM-1 无差别($P>0.05$);PCI 后即刻 A 组和 B 组 EMPs、sICAM-1 均明显高于 C 组(均 $P<0.05$);PCI 后 24 h A 组和 B 组 EMPs、sICAM-1 均明显低于 C 组(均 $P<0.05$)。EMPs 和 sICAM-1 水平呈高度正相关($0.7<r<1, P<0.05$)。术后 1 周 A 组与 B 组相比低血压发生率无差别,A 组出血及血小板减少症的发生率低于 B 组。**结论:**法舒地尔可明显降低 PCI 后无复流患者血浆 EMPs 和血清 sICAM-1 水平,减轻炎症反应,改善无复流,其具有更好的安全性。

【关键词】 Rho 激酶抑制剂;盐酸法舒地尔;无复流;内皮微粒;可溶性细胞间黏附分子-1

doi:10.13201/j.issn.1001-1439.2016.01.004

【中图分类号】 R542.2 **【文献标志码】** A

Impact of fasudil on circulating blood endothelial microparticles and soluble intercellular adhesion molecule-1 level of patients with coronary no-reflow

YAN Shengling ZHOU Jing GAO Feng

(Cardiovascular Department, Affiliated Hospital, Yanan University, Yanan, Shaanxi, 716000, China)

Corresponding author: GAO Feng, E-mail: ydfyf@163.com

Abstract Objective: The purpose of this study was to investigate the mechanism of fasudil on no-reflow patients' coronary endothelial inflammation through observation of the impact of fasudil on circulating blood endothelial microparticles (EMPs) and soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1) level of patients with coronary no-reflow. **Method:** The 90 ACS patients treated with PCI were selected. The 60 patients of them were no-reflow after PCI, and randomly divided into two groups. Group A consists of 30 patients with 5 mg fasudil were injected into coronary artery, Group B consists of 30 patients with 500 μ g tirofiban were injected into coronary artery. Remained 30 patients of 90 without the occurrence of no-reflow was named group C (control group). Venous blood of patients in the three groups was collected when they were on admission, immediately after PCI and 24 h after PCI respectively. Plasma EMPs levels and serum sICAM-1 levels were mensurated. **Result:** EMPs and sICAM-1 levels of three groups have no difference on admission ($P>0.05$); EMPs and sICAM-1 levels of group A and group B immediately after PCI were significantly higher than those of group C (all $P<0.05$), EMPs and sICAM-1 levels of group A and group B 24 h after PCI were significantly lower than those of group C (all $P<0.05$). The EMPs level was highly positively correlated with sICAM-1 level ($0.7<r<1, P<0.05$). The incidence of low blood pressure between group A and group B had no difference, and the incidence of bleeding and thrombocytopenia of group A was lower than those of group B. **Conclusion:** Fasudil could significantly reduce the plasma EMPs and serum sICAM-1 levels in patients with no-reflow after PCI. Fasudil can reduces inflammation and is a safe way to improve the no-reflow.

Key words Rho-kinase inhibitor; hydroxyfasudil; no-reflow; endothelial microparticles; soluble intercellular adhesion molecule-1

¹延安大学附属医院心脑血管专科病区(陕西延安,716000)
通信作者:高峰, E-mail: ydfyf@163.com

急性冠状动脉综合征 (Acute Coronary Syndrome ACS) 因其病情进展快,致死、致残率高,被称为威胁人类健康的“头号杀手”,冠状动脉介入 (PCI) 是目前临床上治疗 ACS 的重要方法之一,但 PCI 术中无复流发生率高且无复流患者再梗死发生率和病死率明显增加等问题已引起临床重视。研究证实,无复流现象产生的机制是多种因素相互作用导致微循环结构破坏或功能障碍^[1],而无复流发生的核心机制是冠状动脉(冠脉)微血管内皮炎症反应及损伤,大量研究表明,内皮微粒(EMPs)和可溶性细胞间黏附分子-1(sICAM-1)水平可反映内皮细胞炎症反应及损伤程度。近年来大量研究证实,Rho 激酶抑制剂-盐酸法舒地尔通过缓解缺血再灌注损伤,缓解冠脉痉挛,改善微循环,抑制炎症细胞的浸润,减轻炎症反应^[2],改善无复流。本研究通过观察法舒地尔对冠脉无复流患者循环血 EMPs 和 sICAM-1 水平的影响,以探讨法舒地尔抑制无复流患者冠脉内皮炎症的机制。

1 对象与方法

1.1 对象

选取 2013-02—2014-08 于我院住院行 PCI 的 ACS 患者 90 例,其中 60 例为 PCI 后发生无复流的患者,依据入院序号随机分为两组,A 组:冠脉内注射法舒地尔(5 mg)30 例,B 组:冠脉内注射替罗非班(500 μ g)30 例。30 例未发生无复流患者为 C 组(对照组)。ACS 诊断标准符合由中华医学会心血管病学分会所制定的《急性心肌梗死诊断和治疗指南》和《不稳定型心绞痛诊断标准和治疗》。无应用术中所需药物禁忌证者。排除标准:①先天性或瓣膜性心脏病、心肌病;②对阿司匹林、氯吡格雷等药物不能耐受者;③心源性休克,严重心律失常;④合并有血液系统、肿瘤或免疫系统疾病等,预期寿命 <12 个月;⑤白细胞、血小板计数低者(WBC <3.5 $\times 10^9$ /L,PLT <100 $\times 10^9$ /L);⑥不同意参加本研究的患者。

1.2 手术操作

①冠脉造影前按常规术前准备进行;②冠脉造影按标准 Judkins'法进行;③PCI 治疗标准按照《2009 年中国经皮冠状动脉介入治疗指南》进行;④手术结束由参与手术的医师填写调查表,内容包括:穿刺入路、术中心率及血压、手术时间的长短、术中肝素用量、导管、导丝、球囊及支架的使用情况、术中用药及用药前后 TIMI 血流。

1.3 PCI 前后用药

①PCI 术前用药:急诊 PCI:阿司匹林 300 mg 嚼服,氯吡格雷 600 mg 口服;择期 PCI:阿司匹林 100 mg 口服 1 次/d,氯吡格雷 75 mg 口服 1 次/d,连用 3 d 以上或术前氯吡格雷总量达 300 mg。②PCI 术后用药:按常规冠心病二级预防进行。

为减小误差 EMPs 及 sICAM-1 测定由一个

人完成。

1.4 血浆 EMPs 测定

分别于患者入院时、PCI 后即刻、PCI 后 24 h 静脉采血 5 ml 于真空枸橼酸盐抗凝试管中,以 $160 \times g$ 离心 10 min 后获取富含血小板的血浆,随后再以 $1\,500 \times g$ 离心 6 min 以获取血小板贫瘠的血浆。将分别用异氰酸荧光素(FITC)和藻红蛋白(PE)标记的单克隆抗体(anti-CD42,anti-CD31)或等量的对照抗体(mice IgG1)(BD 公司,美国)0.5 μ g 加入 50 μ l 血小板贫瘠血浆中,于室温条件下,在 $100 \times g$ 的摇床上震荡孵育 20 min 后,加入 1 ml PBS 液后即上流式细胞仪(BeckmanCoulter 公司,美国)进行检测。检测过程在血样收集后 4 h 内完成。EMPs 定义为直径小于 1.0 μ m 且 CD31⁺/CD42⁻阳性的微粒。

1.5 血清 sICAM-1 测定

应用酶联免疫吸附(ELISA)法,分别于患者入院时、PCI 后即刻、PCI 后 24 h 静脉采血 5 ml,静置 20 min,在 4℃ 下,以 $3\,000 \times g$ 离心 10 min,分离血清,置于 -80℃ 冰箱保存,待所有标本收集后统一检测。试剂盒由美国 Biosource 公司提供,操作严格按照试剂盒说明书进行。

1.6 标准及定义

无复流的标准^[3]:PCI 术中血管开通后,造影显示 TIMI 血流为 0~1 级,靶病变残余狭窄 $\leq 20\%$,由 2 位介入医师共同阅读影像确定,并排除其他影响血流的情况,如血栓、残余狭窄、夹层、痉挛等,定义为无复流。

1.7 统计学处理

利用 SPASS 17.0 软件包进行统计学分析,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示;均数之间比较采用 *t* 检验、方差分析;相关性分析应用 pearson 相关性分析;计数资料比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般临床资料及冠脉病变情况

3 组患者一般临床资料及冠脉病变情况比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 各组 EMPs 和 sICAM-1 水平比较

3 组患者入院时 EMPs、sICAM-1 水平无差别($P > 0.05$);PCI 后即刻 EMPs、sICAM-1 水平均升高(均 $P < 0.05$),与 C 组比较,A 组和 B 组升高更明显($P < 0.05$),而 A 组与 B 组比较升高的水平相当;PCI 后 24 h EMPs、sICAM-1 均降低(均 $P < 0.05$),与 C 组比较,A 组和 B 组降低更明显($P < 0.05$),而 A 组与 B 组比较降低的水平相当。见表 2、3。

2.3 血浆 EMPs 水平和血清 sICAM-1 水平之间的关系

相关分析表明,EMPs 和 sICAM-1 水平呈高度正相关($r = 0.74$, $P < 0.05$)。见表 4。

表 1 3 组患者一般临床资料及冠脉病变情况的比较

Figure 1 General daata

$\bar{x} \pm s$

	A 组	B 组	C 组
例数	30	30	30
男/女	21/9	27/3	20/10
年龄/岁	60.30±4.11	62.92±3.78	63.54±4.02
高血压/例(%)	14(46.7)	12(40.0)	10(33.3)
血脂异常/例(%)	23(76.7)	15(50.0)	18(60.0)
糖尿病/例(%)	6(20.0)	7(23.3)	4(13.3)
吸烟/例(%)	20(66.7)	25(83.3)	18(60.0)
病变血管支数/例(%)			
1 支	18(60.0)	20(66.7)	23(76.7)
2 支	9(30.0)	5(16.7)	6(20.0)
3 支	6(20.0)	8(26.7)	3(10.0)
冠脉病变分布/例(%)			
前降支	18(60.0)	20(66.7)	16(53.3)
回旋支	20(66.7)	16(53.3)	14(46.7)
右冠	16(53.3)	18(60.0)	14(46.7)
植入支架数/例(%)			
1 枚	20(66.7)	21(70.0)	26(86.7)
2 枚	10(33.3)	9(30.0)	4(13.3)

表 2 3 组患者血浆 EMPs 水平比较

Table 2 EMPs in three groups

个/ μl , $\bar{x} \pm s$

组别	例数	入院时	PCI 后即刻	PCI 后 24 h
A 组	30	1 475.79±231.37	2 570.08±261.37 ¹⁾	1 999.69±169.55 ²⁾
B 组	30	1 467.94±268.69	2 560.62±286.82 ¹⁾	1 987.29±171.52 ²⁾
C 组	30	1 450.08±277.27	2 029.39±184.80 ¹⁾	1 266.57±273.36 ²⁾

与入院时比较,¹⁾ $P<0.05$;与 PCI 后即刻比较,²⁾ $P<0.05$ 。

表 3 3 组患者血清 sICAM-1 水平比较

Table 3 sICAM-1 in three groups

ng/ml, $\bar{x} \pm s$

组别	例数	入院时	PCI 术后即刻	PCI 后 24 h
A 组	30	422.79±43.36	545.12±82.55 ¹⁾	480.31±53.42 ²⁾
B 组	30	414.62±60.01	547.41±90.45 ¹⁾	483.91±61.99 ²⁾
C 组	30	404.93±38.89	445.17±59.97 ¹⁾	326.71±53.98 ²⁾

与入院时比较,¹⁾ $P<0.05$;与 PCI 后即刻比较,²⁾ $P<0.05$ 。

表 4 EMPs 和 sICAM-1 水平之间的相关性分析

Table 4 Relationship analysis

组别	例数	入院时		PCI 术后即刻		PCI 后 24 h	
		r	P	r	P	r	P
A 组	30	0.775	0.024	0.853	0.002	0.804	0.008
B 组	30	0.892	0.000	0.817	0.005	0.799	0.010
C 组	30	0.861	0.001	0.824	0.003	0.701	0.036

2.4 A 组和 B 组患者用药后 TIMI 血流改善情况
法舒地尔和替罗非班对 TIMI 血流改善的有效率无差别($P>0.05$),见表 5。

2.5 A 组和 B 组患者术后 1 周并发症发生率比较
A 组与 B 组相比低血压发生率无差别($P>0.05$),A 组出血及血小板减少症的发生率低于 B

2.6 A 组和 B 组患者术后 30 天 MACE 发生率比较

A 组和 B 组总主要不良心脏事件(MACE)发生率比较,PAB=0.584,差异无统计学意义,可认为 A 组与 B 组 MACE 发生率无差别。见表 7。

表 5 两组患者用药后 TIMI 血流改善情况比较

Table 5 TIMI after treatment in two groups

组别	n	有效	部分有效	无效
A 组	30	19(63.3)	8(26.7)	3(10.0)
B 组	30	17(56.7)	9(30.0)	4(13.3)
χ^2		0.278		
P		0.598		

注:有效(TIMI 3 级),部分有效(TIMI 2 级),无效(TIMI 0-1 级)

表 6 两组患者术后 1 周并发症发生率比较

Table 6 The incidence of complications at 1 week after PCI

组别	例数	低血压	出血	血小板减少症
A 组	30	3(10.0)	1(3.3)	2(6.7)
B 组	30	1(3.3)	8(26.7) ¹⁾	8(26.7) ¹⁾
χ^2		0.268	4.706	4.320
P		0.605	0.030	0.038

¹⁾ $P < 0.05$ 。

表 7 两组患者术后 30 d MACE 发生率比较

Table 7 MACE at 30 days after PCI 例(%)

MACE	A 组	B 组
再次心肌梗死	2(6.7)	3(10.0)
梗死后心绞痛	4(13.3)	5(16.7)
卒中	1(3.3)	0(0.0)
再次冠脉介入	2(6.7)	2(6.7)
死亡	0(0.0)	1(3.3)
总 MACE	9(30.0)	11(36.7)

3 讨论

无复流是 PCI 术中常见并发症,一旦发生大大减弱 PCI 的临床获益。无复流的发生机制尚不明确,目前研究认为是多种因素作用的结果,而冠脉微血管结构损伤和功能障碍是无复流的基础。因此,动态监测冠脉微血管内皮结构和功能对无复流的防治具有重要意义。大量研究表明,EMPs、sICAM-1 是反映内皮细胞炎症反应及功能障碍的有效指标。

本研究结果显示,发生无复流后,替罗非班可明显降低 EMPs 和 sICAM-1 水平,改善无复流,机制可能与其抑制血小板聚集,减少血栓的形成,减轻血栓负荷及远端栓塞,促进微循环血栓溶解^[4],改善微循环,抑制内皮炎症反应有关。但周静、高

峰等^[5]研究发现,冠脉介入治疗中出现无复流时,应用替罗非班可以明显改善无复流,但与法舒地尔及硝酸甘油比较,应用替罗非班的患者出血、血小板减少症等并发症的发生率高。因此,在这种情况下,迫切需要一种有效而安全的治疗方法改善无复流。研究证实,法舒地尔是一种强有力的选择性 Rho 激酶抑制剂,其通过发挥以下药理作用改善无复流:①抑制钙敏化效应,扩张血管^[6];②抑制炎症细胞的浸润,减少炎性递质的产生,从而减轻炎症反应;③增加内皮型一氧化氮合成酶(eNOS)的表达,促进 NO 的合成,扩张血管,抑制冠脉痉挛、减轻心肌缺血,改善无复流。本研究结果表明发生无复流后冠脉内注射法舒地尔可降低 EMPs 和 sICAM-1 水平,抑制冠脉内皮炎症反应及损伤,改善无复流。

综上所述,ACS 患者出现无复流后,EMPs 和 sICAM-1 呈持续高水平,表明 EMPs 及 sICAM-1 可作为评价冠脉无复流患者微血管内皮炎症反应和损伤程度的标志物。从本研究过程中笔者发现,应用法舒地尔及替罗非班均可降低 EMPs 和 sICAM-1,改善冠脉无复流,且应用法舒地尔出血、血小板减少症等并发症发生率低,患者耐受能力好,易为患者接受,值得在临床心血管介入领域进一步研究及应用。

参考文献

- [1] JAFFE R, CHARRON T, PULEY G, et al. Microvascular obstruction and the no-reflow phenomenon after percutaneous coronary intervention [J]. Circulation, 2008, 117: 3152-3156.
- [2] HOUGHTON B L, MEENDERING J R, WONG B J, et al. Nitric oxide and noradrenaline contribute to the temperature threshold of the axon reflex response to gradual local heating in human skin [J]. J Physiol, 2006, 572: 811-820.
- [3] REZKALLA S H, KLONER R A. No reflow phenomenon [J]. Circulation, 2002, 105: 656-662.
- [4] 朱强, 刘福元, 黎晓兰, 等. 冠状动脉内注射替罗非班对急诊冠状动脉介入术中无再流的作用 [J]. 临床心血管病杂志, 2011, 27(1): 22-25.
- [5] 周静, 高峰, 高小泽, 等. 法舒地尔治疗急性冠脉综合征介入术后无复流的疗效 [J]. 心血管康复医学杂志, 2014, 10(5): 526-529, 530.
- [6] 郝春华, 王维亭, 赵专友, 等. 法舒地尔对心脑血管疾病的药理作用及临床应用 [J]. 现代药物与临床, 2010, 25(6): 411-416.

(收稿日期: 2015-09-25)