

中国科技论文统计源期刊（中国科技核心期刊）
《中国核心期刊（遴选）数据库》收录
中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊
中文核心期刊

ISSN 1000-3614
CN 11-2212/R

中國循環雜誌

櫟
初
誌

ZHONGGUO XUNHUAN ZAZHI

CHINESE CIRCULATION JOURNAL

2017年8月 第32卷 第8期（总第230期）

目次

述评

冠心病合并心力衰竭的介入治疗策略 傅国胜, 邱福宇 (729)

冠心病研究

中国东部城市急性心肌梗死住院患者他汀药物应用十年趋势及影响因素 余苑, 张丽华, 李静, 等 (732)

单核细胞/高密度脂蛋白胆固醇比值与急性心肌梗死患者介入术后

慢血流或无复流的相关性分析 黄朝发, 李菊香, 颜素娟, 等 (737)

血清钠水平对急性ST段抬高型心肌梗死患者近期预后的预测价值 张涛, 杨艳敏, 朱俊, 等 (742)

血清肝素结合表皮生长因子 mRNA 水平与急性冠状动脉综合症的

关系 韩鹏黎, 程晓丹, 刘建华, 等 (748)

临床研究

Carelink 远程监测系统在临床医生中的易用性评价 李玉秋, 陈柯萍, 宿燕岗, 等 (752)

疑诊血管迷走性晕厥患者中直立倾斜试验阳性者的心电图特征 何佳, 时晓蕾, 张怡, 等 (757)

心脏再同步化治疗患者临床预后风险评分系统的构建与验证 杨绳文, 刘志敏, 刘尚雨, 等 (761)

心脏再同步化治疗逆转合并左心室收缩功能不全的三度

房室传导阻滞患者左心室重构的预测因素分析 谢翠平, 陈康玉, 严激, 等 (766)

二代测序法用于先天性长 QT 综合征临床基因检测的

假阴性分析 李新, 刘念, 白融, 等 (771)

抗凝对右心导管操作术后深静脉血栓发生的影响 匡晓晖, 张曦, 高晓龙, 等 (776)

高龄高血压患者血压昼夜节律与认知功能的关系 邵胜, 王翎, 钱惠英 (780)

完全性肺静脉异位引流矫治术后肺静脉梗阻的治疗探讨 邱勇, 邢泉生, 任悦义, 等 (784)

利伐沙班预防高龄老年血栓性疾病的有效性和安全性研究 丁宇, 徐昆, 司全全, 等 (788)

基础与实验研究

野生型 p53 诱导的磷酸酶 1 基因缺失对小鼠心功能的影响 刘可美, 刘臣, 周鹏, 等 (792)

尼可地尔对离体大鼠心肌缺血再灌注损伤的影响 张云盛, 王清, 滕天明, 等 (797)

ISSN 1000-3614



邮发代号: 82-212

国家心血管病中心

NATIONAL CENTER FOR CARDIOVASCULAR DISEASES

辛二酰苯胺异羟肟酸通过抑制组蛋白去乙酰化酶

改善小鼠心肌肥厚的研究 彭昌, 李硕, 罗孝美, 等 (803)

胰岛素抵抗及脂联素缺乏对小鼠心肌重构的影响 徐璐, 刘雅娟, 张青, 等 (808)

病例报告

房间隔脂肪瘤样肥厚一例 何业举, 魏榕辰, 顾建军, 等 (813)

临床研究系列讲座

哪些关键要素让你在临床研究这条路上走得更远 蒋立新 (814)

综述

冠状动脉微循环障碍检测方法进展 盛欣成, 何奔 (816)

待孕育高血压患者血压管理及降压药物选择 杨宁, 李玉明 (820)

心脏交感神经功能检测方法的评价 宋麒麟, 蒋桔泉 (823)

自分泌/旁分泌效应在缺血再灌注损伤心肌中活化单磷酸腺苷活化蛋白激酶的

研究进展 王超, 赵海滨 (826)

一氧化氮合酶各种亚型的信号通路对心力衰竭的作用机制与治疗的

研究进展 金春花, 刘文博, 关宏铜, 等 (830)

读者·作者·编者

2016版中国科学技术信息研究所科技论文统计结果: 2015年《中国循环杂志》核心影响因子1.762 (747)

欢迎关注《中国循环杂志》微信和微博 (815)

CONTENTS OF ABSTRACTS OF ORIGINAL ARTICLES(论著英文摘要目次) (插二)

《中国循环杂志》第六届编辑委员会名单 (插三)

本刊稿约见第32卷第7期第728页

本期执行编委 胡盛寿 高润霖 陈纪林 柯元南 朱文玲 郭静莹 陈柯萍 陈曦 吴学思
俞梦越 张浩 赵连成 杜玉环 杨进刚 宁田海

本期编辑 宁田海 梅平 漆利萍 常文静 汪碧蓉 王宝茹 曹洪红 许菁 朱柳媛
刘莹(英文编辑)

本期责任编辑 许菁 本期责任排版 彭中康 通联部 陈闻 佟金 新媒体部 卢芳

<p>中国循环杂志 CHINESE CIRCULATION JOURNAL www.chinacirculation.org 月刊 Monthly 1986年3月创刊 Established in March, 1986</p> <p>主编 Editor-in-Chief 高润霖 GAO Run-lin</p> <p>副社长 Vice President 杜玉环 DU Yu-huan</p> <p>编辑部主任 Managing Director 杨进刚 YANG Jin-gang</p> <p>编辑部副主任 Vice Managing Director 宁田海 NING Tian-hai</p> <p>通联部主任 Director, Liaison Department 陈闻 CHEN Wen</p> <p>中国标准连续出版物号 ISSN 1000-3614 CN 11-2212/R</p>	<p>主管 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会 Supervisor National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China</p> <p>主办 国家心血管病中心 100037, 北京市西城区北礼士路167号 Sponsor National Center for Cardiovascular Diseases 167 Bei Li Shi Rd., Beijing 100037, China</p> <p>编辑 中国循环杂志编辑委员会 100037, 北京市西城区北礼士路167号 电话(传真): (010) 68332599 Email: xunhuanzazhishe@sina.com Editing Editorial Board of Chinese Circulation Journal 167 Bei Li Shi Rd., Beijing 100037, China Tel (Fax): 86-10-68332599 Email: xunhuanzazhishe@sina.com</p> <p>出版 中国循环杂志社 100037, 北京市西城区北礼士路167号 电话(传真): (010) 68332599 Publishing Publishing House, Chinese Circulation Journal 167 Bei Li Shi Rd., Beijing 100037, China Tel (Fax): 86-10-68332599</p> <p>印刷 博大时代(北京)印刷有限公司 Printing Printshop Bodashidai Beijing</p> <p>发行 国内: 北京报刊发行局 国外总发行: 中国国际图书贸易总公司 100048, 北京市车公庄西路35号 国外发行代号: BM 5982 Overseas Distributor China International Book Trading Corporation 35 Che Gong Zhuang Xi Rd., Beijing 100048, China Code No. BM 5982</p> <p>邮购 中国循环杂志通联部 100037, 北京市西城区北礼士路167号 电话: (010) 68331974 68332599 Email: zgzhzz@vip.163.com Mail-Order Chinese Circulation Journal 167 Bei Li Shi Rd., Beijing 100037, China Tel (Fax): 86-10-68331974, 68332599 Email: zgzhzz@vip.163.com</p> <p>订购 全国各地邮电局 邮发代号: 82-212 National Mail-Order Code: 82-212</p>
---	---

第32卷第8期(总第230期)2017年8月24日出版
Vol. 32 No. 8 (Serial No. 230) Publication date: August 24, 2017

广告经营许可证: 京西工商广字第0162号
定价 每期15.00元 全年180.00元 邮发代号: 82-212

CONTENTS OF ABSTRACTS OF ORIGINAL ARTICLES

Coronary Heart Disease Research

- 10-year Trend of Statin Use With its Impact Factors for In-hospital Acute Myocardial Infarction Patients in Eastern Urban China**
YU Yuan, ZHANG Li-hua, LI Jing, et al. (732)
- Correlation Study of Monocyte to HDL-C Ratio and Post-operative Slow flow or No reflow in Acute Myocardial Infarction Patients After Percutaneous Coronary Intervention**
HUANG Chao-fa, LI Ju-xiang, YAN Su-juan, et al. (737)
- The Early Prognostic Value of Serum Sodium Level in Patients With Acute ST-elevation Myocardial Infarction**
ZHANG Tao, YANG Yan-min, ZHU Jun, et al. (742)
- Relationship Between Serum mRNA Level of Heparin Binding Epidermal Growth Factor and Acute Coronary Syndrome Occurrence**
HAN Peng-li, CHENG Xiao-dan, LIU Jian-hua, et al. (748)

Clinical Research

- Evaluation for the Usability of Carelink Remote Monitoring System by Clinical Physicians**
LI Yu-qiu, CHEN Ke-ping, SU Yan-gang, et al. (752)
- Electrocardiogram Characteristics of Suspected Vasovagal Syncope Patients With Positive Head-Up Tilt Test**
HE Jia, SHI Xiao-Lei, ZHANG Yi, et al. (757)
- The Derivation and Validation of a Scoring System for Clinical Prognosis in Patients Receiving Cardiac Resynchronization Therapy**
YANG Sheng-wen, LIU Zhi-min, LIU Shang-yu, et al. (761)
- Predictor Analysis of Left Ventricular Reverse Remodeling in Patients With III° Atrio-ventricular Block Combining Left Ventricular Systolic Dysfunction After Cardiac Resynchronization Therapy**
XIE Cui-ping, CHEN Kang-yu, YAN Ji, et al. (766)
- False-negative Possibility in Genetic Test of Congenital Long QT Syndrome by Next-generation Sequencing**
LI Xin, LIU Nian, BAI Rong, et al. (771)
- Impact of Anticoagulation on Deep Vein Thrombosis Occurrence in Patients After Right Heart Catheterization**
KUANG Xiao-hui, ZHANG Xi, GAO Xiao-long, et al. (776)
- Relationship Between Blood Pressure Rhythm and Cognitive Function in Elderly Hypertension Patients**
TAI Sheng, WANG Ling, QIAN Hui-ying. (780)
- Treatment of Pulmonary Venous Obstruction in Patients After Total Anomalous Pulmonary Pulmonary Venous Connection Operation**
DI Yong, XING Quan-sheng, REN Yue-yi, et al. (784)
- Efficacy and Safety of Rivaroxaban on Thrombotic Disease Prevention in Very Elderly Patients**
DING Yu, XU Kun, SI Quan-jin, et al. (788)

Basic and Experimental Research

- Impact of Wildtype p53 Induced Phosphatase 1 Gene Lacking on Heart Function in Experimental Mice**
LIU Ke-mei, LIU Chen, ZHOU Peng, et al. (792)
- Effect of Nicorandil on Myocardial Ischemia-reperfusion Injury in Isolated Rat's Heart**
ZHANG Yun-sheng, WANG Qing, TENG Tian-ming, et al. (797)
- Suberoylanilide Hydroxamic Acid Improves Cardiac Hypertrophy via Inhibiting Histone Deacetylase in Experimental Mice**
PENG Chang, LI Shuo, LUO Xiao-mei, et al. (803)
- Impact of Insulin Resistance and Adiponectin Lacking on Myocardial Remodeling in Experimental Mice**
XU Lu, LIU Ya-juan, ZHANG Qing, et al. (808)

《中国循环杂志》第六届编辑委员会名单

(按拼音字母排序)

顾 问	陈在嘉	程显声	戴汝平	丁金凤	郭静莹	胡大一	林曙光	刘国树
	刘玉清	戚文航	钱方毅	沈卫峰	宋来凤	唐朝枢	王天佑	郑德裕
	朱晓东							
名誉主编	胡盛寿							
主 编	高润霖							
副 主 编	陈纪林*	张 运	顾东风	韩雅玲	葛均波	柯元南	杨跃进	朱文玲
	郑 哲							
编 委	敖虎山	蔡 军	陈纪林 [△]	陈纪言	陈柯萍 [△]	陈兰英 [△]	陈伟伟	陈 曦 [△]
	陈韵岱	党爱民	董念国	董吁钢	窦克非 [△]	杜玉环 [△]	方 全	凤 玮
	傅向华	高长青	高传玉	高润霖 [△]	高 炜	葛均波 [△]	顾东风 [△]	郭继鸿
	韩雅玲 [△]	何 奔	何建国 [△]	何 耀	何作祥 [△]	黑飞龙	洪 葵	侯晓彤
	胡奉环	胡盛寿 [△]	华 伟	黄从新	黄德嘉	黄国英	黄 洁	黄 岚
	惠汝太	贾绍斌	蒋立新 [△]	蒋世良 [△]	蒋雄京	金征宇	荆志成 [△]	景在平
	柯元南 [△]	李 保	李光伟	李虹伟	李建军 [△]	李 浪	李立环	李南方
	李守军	李为民 [△]	李 卫 [△]	李小鹰	李新立	李一石	李 莹	林金秀
	刘 健	刘锦纷	刘 进	刘 静	刘梅林	刘 苏	刘文玲	柳志红
	龙 村	卢长林	陆国平	吕 滨 [△]	马长生	马 坚	马依彤	孟宪敏
	孟 旭	牟建军	宁田海 [△]	浦介麟	钱菊英	乔树宾 [△]	秦 勤	舒 畅
	宋云虎	孙寒松	孙宁玲 [△]	谭 宁	唐熠达 [△]	陶 凌	田小利	汪道文
	王春生	王 浩 [△]	王红月	王宏宇	王继光	王建安	王乐丰	王乐民
	王 蓓	王 巍 [△]	王伟鹏	王 文 [△]	王 焱	王增武	魏英杰 [△]	吴海英
	吴 明	吴寿岭	吴学思 [△]	吴永健 [△]	伍贵富	武阳丰 [△]	夏云龙	肖明第
	熊 辉	徐 波	许顶立	许建屏	项志敏	严 激	严晓伟	颜红兵
	杨杰孚	杨进刚 [△]	杨丽霞	杨 萍	杨天和	杨天伦	杨新春	杨艳敏
	杨跃进 [△]	姚 焰 [△]	叶 平	于 波	俞梦越 [△]	袁晋青	袁祖贻	张福春
	张海波	张海澄	张 浩 [△]	张 健 [△]	张抒扬	张 澍	张 运 [△]	张 钰
	赵 冬	赵连成 [△]	赵 强	赵世华 [△]	赵兴胜	甄文俊	郑 哲 [△]	周宪梁
	周玉杰	周 洲	朱 俊	朱天刚 [△]	朱文玲 [△]	祝之明	庄 建	邹云增

*: 常务副主编 [△]: 常务编委

通讯编委	曹慧青	丁荣晶	樊晓寒	冯 雪	高 展	华 潞	黄榕舫	贾 楠
	金泽宁	李翠兰	李汇华	刘梅颜	鲁梅花	马玉良	欧阳晨曦	潘湘斌
	沈晨阳	史旭波	宋 雷	孙艺红	王贵松	王来元	王胜煌	吴 钢
	邢小燕	熊长明	杨克明	杨 清	叶 涛	余再新	张海锋	张 力
	张伟丽	张瑶俊	张宇辉	郑金剛	周京敏			

述评

冠心病合并心力衰竭的介入治疗策略

傅国胜, 邱福宇

新近流行病学研究表明, 冠心病已成为心力衰竭(心衰)的主要病因, 在欧洲和北美占 50% 以上, 在东亚、拉丁美洲和加勒比海地区占 30%~40% 左右, 仅在撒哈拉以南非洲地区低于 10%。冠心病患者合并心衰, 多继发于心肌梗死, 可能涉及的因素包括:(1)心肌损伤导致心肌顿抑和心肌冬眠;(2)左心室重构和收缩功能下降;(3)乳头肌功能障碍甚至断裂导致二尖瓣反流;(4)心律失常导致心肌耗氧增加、心肌收缩功能不全等。冠心病合并心衰往往提示预后不良, SAVE 研究显示, 相较于无心肌梗死患者, 既往有心肌梗死病史者心血管死亡和(或)左心室扩大的风险增加约 70% 左右。因此, 对于此类患者, 需在充分评估的基础上, 综合运用各种治疗手段, 科学有效地管理患者, 改善患者预后。优化药物治疗是冠心病合并心衰患者的基础, 包括抗血小板聚集药物、他汀类药物、血管紧张素转换酶抑制剂(ACEI)、血管紧张素 II 受体阻滞剂(ARB)、 β 受体阻滞剂、醛固酮拮抗剂等, 而在此基础上, 需要综合评估个体情况, 考虑适当的非药物治疗, 如血运重建、心脏性猝死(SCD)防治、心脏再同步化治疗等, 以期更好地缓解患者症状, 改善患者预后^[1,2]。

1 血运重建策略

1.1 冠心病合并慢性心力衰竭

冠状动脉旁路移植术(CABG)和经皮冠状动脉介入治疗(PCI)均可考虑用于伴有慢性心衰的冠心病患者。有心功能不全但心肌存活大于 10% 的患者更可能从心肌血运重建中获益; 而存活心肌 <10% 的患者无法获益, 不推荐血运重建。如有存活心肌, 冠状动脉解剖状况适合, 可考虑行 PCI。对于存在高风险的复杂病变的患者, CABG 围术期并发症包括再梗死和卒中发病率较高, 死亡率达 5%~20%, 如何权衡风险和获益也是一直争论的话题。STICH 研究结果显示, 有 2 支冠状动脉病变(包括左前降支狭窄)的缺血性心衰患者, CABG 虽未减少全因死亡率, 但可降低心血管病死亡率及心血管原因住院率^[3]。严重冠状动脉病变尤其是三支病变或左主干显著狭窄的患者, 可以通过 CABG 改善预后。

而对于慢性闭塞病变(CTO), VACTO 研究纳入 162 例接受埋藏式心律转复除颤器(ICD)一级预防治疗的冠心病患者, 其中 44% 存在 1 支以上 CTO, 随访 26 个月后发现, CTO 是室性心律失常和死亡的独立预测因素。然而, 一项发表于 2015 年《美国心脏病学杂志》的研究却得出不同的结果。该研究纳入 307 例接受 ICD 一级预防的缺血性心肌病患者, 根据冠状动脉造影及是否接受血管处理, 分为无 CTO 组、CTO 开通组、CTO 未开通组。平均随访 4.1 年发现, CTO 与死亡率、室性心律失常发生率无关, CTO 患者血运重建后并不改善患者临床预后。

因此, 对慢性冠心病患者而言, 血运重建的意义尚存争议。我们需在充分评估患者的一般情况及冠状动脉病变情况的基础上, 权衡利弊, 制定最优的血运重建策略。

1.2 冠心病合并急性心力衰竭

对于 ST 段抬高型心肌梗死患者, 若有直接 PCI 指征及治疗条件, 可行急诊 PCI, 尽早开通梗死相关冠状动脉, 挽救濒死心肌, 缩小梗死范围, 有利于急性心衰的控制。对首诊可开展急诊 PCI 的医院, 要求首次医疗接触(first medical contact, FMC)至 PCI 时间 <90 min。如预计 FMC 至 PCI 的时间延迟 >120 min, 对有适应证的患者, 应于 30 min 内尽早启动溶栓治疗。溶栓后早期实施冠状动脉造影的时间宜在 3~24 h, 其最佳时间窗尚需进一步研究。主动脉内球囊反搏(IABP)可有效改善心肌灌注, 降低心肌耗氧量, 增加心输出量, 对于联用几种正性肌力药物效果不明显时, 必须考虑装置治疗, 此时可考虑在 IABP 支持下行 PCI。但是最近,

作者单位: 310016 浙江省杭州市, 浙江大学医学院附属邵逸夫医院

作者简介: 傅国胜 主任医师 博士研究生导师 主要从事介入心脏病学研究 Email: fugs@medmail.com.cn

中图分类号: R54 文献标识码: C 文章编号: 1000-3614 (2017) 08-0729-03 doi:10.3969/j.issn.1000-3614.2017.08.001

IABP-SHOCK II 试验显示, 使用 IABP 不能改善 AMI 合并心源性休克患者的预后^[4], 因此其远期获益仍有争议, 有待进一步研究观察。

对于非 ST 段抬高型急性冠状动脉综合征患者, 建议根据病史、症状、体征、心电图和肌钙蛋白, 采用全球急性冠状动脉事件注册 (GRACE) 预后评分进行缺血危险分层和及时的再评估, 根据危险程度制定相应的血运重建策略, 对于血液动力学不稳定或心源性休克、顽固性心绞痛、危及生命的心律失常或心脏停搏、心肌梗死机械性并发症、急性心力衰竭伴难治性心绞痛和 ST 段改变、再发心电图 ST-T 动态演变, 尤其是伴有间歇性 ST 段抬高等极高危患者, 推荐行紧急冠状动脉造影 (<2 h), 对于肌钙蛋白升高, 心电图 ST 段或 T 波动态演变, GRACE 评分 >140 分等高危患者, 推荐早期行冠状动脉造影, 根据病变情况决定是否行侵入策略 (<24 h)。对于中危患者推荐发病 72 h 内行延迟 PCI, 低危缺血患者, 先行非侵入性检查, 寻找缺血证据再决定是否采用侵入策略。对于心肌梗死后出现机械并发症 (如心室游离壁破裂、室间隔穿孔、重度二尖瓣关闭不全等) 的患者, 可考虑 CABG 同时处理相关机械性并发症。

为了管理急性心衰或心源性休克患者, 体外生命短期机械支持系统, 包括经皮生命支持装置、体外生命支持 (ECLS) 和体外膜肺氧合 (ECMO), 可用于支持左心室或双心室衰竭患者, 直到心脏和其他器官功能恢复。这些装置的使用通常限于数天到数周。静脉-动脉 ECMO 后生存率 (SAVE) 评分可有助于预测难治性心源性休克接受 ECMO 患者的生存率状况^[5]。

2 血运重建后心脏性猝死的防治

血运重建后 SCD 是冠心病合并心衰患者死亡的主要原因。重度心衰 [左心室射血分数 (LVEF) $\leq 35\%$] 患者从血运重建中获益相对有限, 且离血运重建越久, 发生严重室性心律失常风险越大。在尽可能及时进行血运重建、优化药物治疗室性心律失常的基础上, 需根据个体情况, 考虑以下介入策略。

2.1 植入埋藏式心律转复除颤器

当前指南对于缺血性心肌病患者植入 ICD 进行 SCD 一级预防的建议是: 心肌梗死后至少 40 天或血运重建后至少 90 天患者, LVEF $\leq 35\%$, 纽约心脏协会 (NYHA) 心功能分级 II 级或以上, 或 LVEF $\leq 30\%$, NYHA 心功能分级 I 级或以上。这个 I 类推荐是基于 MADIT I、MADIT II 等大样本随机对照试验的结果。心肌梗死后 40 天之内, LVEF $\leq 35\%$, 因心动过缓而需要植入永久性心脏起搏器, 预测 40 天后 LVEF 难以恢复到 >35% 或不能确定, 推荐植入 ICD。在心肌梗死后 40 天后, 如果 LVEF $\leq 35\%$, 则可能需要更换为 ICD。对于稳定型冠心病患者, 也应充分评估患者 NYHA 心功能分级、LVEF 及是否有室性心动过速或室颤等恶性心律失常发生, 决定是否植入 ICD。指南推荐对于发生持续性室性心动过速, 未发现引起室速的可纠正的原因, 应植入 ICD (I 类推荐, B 级证据)。

两项随机对照研究表明, 心肌梗死 40 天内植入 ICD, 未显示获益, 尽管心律失常猝死减少, 但这种获益被非心律失常死亡增多所抵消^[6,7]。因此, 在这段时间内植入 ICD 是禁忌的, 如果认为患者存在室颤的高风险, 可考虑可穿戴式除颤器。

对于有严重的药物难治的症状, NYHA 心功能 IV 级、不适合心脏再同步化治疗 (CRT)、心室辅助装置或心脏移植的患者, 不推荐 ICD 治疗, 因为这些患者寿命非常有限, 很可能死于泵衰竭。

2.2 经导管射频消融术

对于伴有频繁复发室性快速心律失常的心衰患者, 经导管射频消融修饰致心律失常的基质, 可降低适当的 ICD 放电的次数, 可用于终止心律失常风暴, 因此, 对这类患者应当考虑经导管射频消融术。对于顽固性室性心律失常患者, 推荐寻求心衰团队中电生理专家的建议。

指南推荐, 对于已植入 ICD, 仍然出现引起反复放电的室性心律失常, 经药物优化治疗、ICD 程控等仍不能预防的患者, 可考虑导管消融术。对于疤痕相关的心脏病患者, 发生无休止室性心动过速或电风暴时, 可考虑紧急导管消融。

3 心脏再同步化治疗

指南对于如下情况患者: NYHA 心功能 III 级或非卧床 IV 级, 经至少 3 个月最佳药物治疗后, LVEF $\leq 35\%$, 窦性心律, 完全性左束支传导阻滞, QRS 时限 120 ms 以上; 或者 NYHA 心功能 II 级, 经至少 3 个月最佳药物治疗后, LVEF $\leq 30\%$, 窦性心律, 完全性左束支传导阻滞, QRS 时限 130 ms 以

上, 推荐 CRT (I 类推荐)。对于 NYHA 心功能 III 级或者非卧床 IV 级, 经过至少 3 个月最佳药物治疗, LVEF $\leq 30\%$, 永久性心房颤动, QRS 时限 120 ms 以上, 预期有一定生活质量的存活期 ≥ 1 年, 应考虑 CRT (II a 类推荐), 尽可能保证双心室起搏比例达到 100%, 为提高双室起搏比例, 可考虑经导管消融房室结。总的来说, 对于有心室起搏适应证的心衰患者, 无论 NYHA 分级如何, 都推荐用 CRT 而不是右心室起搏, 以降低发病率, 尽管对死亡率未见有明确的影响。已经植入了传统起搏器或 ICD, 尽管用了优化的药物治疗, 还是因为高比例的右心室起搏发生了心衰恶化患者, 应当考虑升级至 CRT。

CRT 治疗适当选择的患者, 可改善心脏做功、缓解症状、提高舒适感并降低发病率和死亡率^[8]。在中重度心衰患者中, CRT 改善质量调整的生命年 (QALY), 2/3 归因于生活质量的改善, 1/3 归因于延长的寿命^[9]。因此, 对于冠心病合并心衰的患者, 需密切随访, 评估上述指标, 及时为患者提供最优化的治疗方案。

4 其他植入式电子装置

对于尽管优化了药物治疗仍有症状、没有 CRT 适应证的心衰患者, 已提出了一些新的装置治疗, 几个欧盟国家已经批准在某些情况下可以临床使用, 但仍在试验评价中。

心肌收缩力调节 (CCM) 装置, 其植入方式与 CRT 相似, 但它涉及到在绝对不应期对心室的非兴奋性电刺激, 以增强收缩做功, 而不激活额外的收缩期收缩。CCM 已经在 QRS 波时限正常 (<120 ms) 的 NYHA 心功能 II ~ III 级的患者中进行了评价^[10,11]。个体患者数据的汇总分析证明了运动耐力 (VO_2 峰值) 和生活质量 (明尼苏达心衰问卷) 的改善。因此, 对选择的心衰患者可以考虑用 CCM。但 CCM 对发病率和死亡率的影响仍有待明确。

正在评估中的大多数其他装置, 如通过定向电刺激对自主神经系统活性进行调节^[12,13], 包括迷走神经刺激、脊髓刺激、颈动脉体消融和肾脏去神经, 至今没有一项装置有随机对照研究证明能改善症状或预后。

综上所述, 对于冠心病合并心衰的患者, 我们需要充分评估患者的病情, 权衡获益与风险, 在优化药物治疗的基础上, 制定最优的血运重建策略, 同时, 密切随访, 动态观察病情变化, 综合评估相关指标, 必要时运用各种介入手段改善心脏功能, 减少恶性心律失常的发生, 预防 SCD, 从而有效改善患者的预后。

参考文献

- [1] 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. *Eur J Heart Fail*, 2016, 18: 891-975.
- [2] Yancy CW, Jessup M, Bozkurt B, et al. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on practice guidelines. *J Am Coll Cardiol*, 2013, 62: e147-239.
- [3] Velazquez EJ, Lee KL, Deja MA, et al. Coronary-artery bypass surgery in patients with left ventricular dysfunction. *N Engl J Med*, 2011, 364: 1607-1616.
- [4] Thiele H, Zeymer U, Neumann FJ, et al. Intra-aortic balloon counterpulsation in acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock (IABP-SHOCK II): final 12 month results of a randomised, open-label trial. *Lancet*, 2013, 382: 1638-1645.
- [5] Schmidt M, Burrell A, Roberts L, et al. Predicting survival after ECMO for refractory cardiogenic shock: the survival after veno-arterial-ECMO (SAVE)-score. *Eur Heart J*, 2015, 36: 1-11.
- [6] Hohnloser SH, Kuck KH, Dorian P, et al. Prophylactic use of an implantable cardioverter-defibrillator after acute myocardial infarction. *N Engl J Med*, 2004, 351: 2481-2488.
- [7] Steinbeck G, Andresen D, Seidl K, et al. Defibrillator implantation early after myocardial infarction. *N Engl J Med*, 2009, 361: 1427-1436.
- [8] Sohaib MMA, Finogold JA, Nijjer SS, et al. Opportunity to increase life span in narrow QRS cardiac resynchronization therapy recipients by deactivating ventricular pacing: evidence from randomized controlled trials. *JACC Heart Fail*, 2015, 3: 327-336.
- [9] Cleland JGF, Calvert MJ, Verboven Y, et al. Effects of cardiac resynchronization therapy on long-term quality of life: an analysis from the Cardiac Resynchronisation-Heart Failure (CARE-HF) study. *Am Heart J*, 2009, 157: 457-466.
- [10] Kadish A, Nademanee K, Volosin K, et al. A randomized controlled trial evaluating the safety and efficacy of cardiac contractility modulation in advanced heart failure. *Am Heart J*, 2011, 161: 329-337.e2.
- [11] Borggrefe MM, Lawo T, Butter C, et al. Randomized, double blind study of non-excitatory, cardiac contractility modulation electrical impulses for symptomatic heart failure. *Eur Heart J*, 2008, 29: 1019-1028.
- [12] Kuck KH, Bordachar P, Borggrefe M, et al. New devices in heart failure: an European Heart Rhythm Association report: developed by the European Heart Rhythm Association; endorsed by the Heart Failure Association. *Europace*, 2014, 16: 109-128.
- [13] Singh JP, Kandala J, Camm AJ. Non-pharmacological modulation of the autonomic tone to treat heart failure. *Eur Heart J*, 2014, 35: 77-85.

(收稿日期: 2017-08-08)

(编辑: 许菁)

冠心病研究

中国东部城市急性心肌梗死住院患者他汀类药物应用十年趋势及影响因素

余苑, 张丽华, 李静, 郑昕, 李希, 胡爽, 张海波, 蒋立新

摘要

目的: 评估 2001~2011 年间中国东部城市急性心肌梗死(AMI, 包括 ST 段抬高型和非 ST 段抬高型心肌梗死)患者住院期间他汀药物应用的变化趋势, 并探讨影响其使用的因素。

方法: 采用两阶段随机抽样设计, 抽取东部城市 AMI 患者代表性样本。第一阶段, 采用简单随机抽样确定协作医院。第二阶段, 选取 2001 年、2006 年和 2011 年 3 个特定年份, 在协作医院中采用系统随机抽样方法, 抽取研究病历, 提取临床信息, 计算院内他汀药物使用率。采用广义估计方程的多水平 Logistic 回归模型分析影响他汀使用的因素。

结果: 共计 32 家医院的 5 940 份 AMI 病历纳入研究。2001~2011 年, AMI 患者院内他汀药物的使用率从 2001 年的 46.0% 增加到 2006 年的 82.2% 和 2011 年的 93.7%(趋势 $P < 0.001$)。多因素模型分析中, 低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平 > 3.37 mmol/L 的患者比 LDL-C < 1.81 mmol/L 的患者更容易接受他汀治疗 [比值比(OR) = 1.59; 95% 可信区间(CI): 1.10~2.30, $P = 0.013$], 入院有胸痛(OR = 1.82; 95% CI: 1.14~2.91, $P = 0.012$)、合并高血压(OR = 1.44; 95% CI: 1.02~2.03, $P = 0.038$)、院内接受经皮冠状动脉介入治疗(OR = 2.99; 95% CI: 1.71~5.23, $P < 0.001$)的患者也更容易接受他汀药物治疗。他汀药物使用率随 LDL-C 水平的降低而降低, 21.3% 的患者住院期间未测量血脂水平, 未测量 LDL-C 的患者院内接受他汀药物治疗的比例最低。

结论: 过去的十年间, 我国东部城市 AMI 住院患者的他汀药物使用率大幅增长, 指南对于他汀药物的推荐在临床实践中得到快速普及。但是, 他汀药物应用仍然存在改善空间, 尤其是在院内未测量 LDL-C 和 LDL-C 水平较低的患者中, 仍需强调所有 AMI 患者, 无论 LDL-C 如何均应采用他汀药物治疗。

关键词 心肌梗死; 降血脂药; 趋势

10-year Trend of Statin Use With its Impact Factors for In-hospital Acute Myocardial Infarction Patients in Eastern Urban China

YU Yuan, ZHANG Li-hua, LI Jing, ZHENG Xin, LI Xi, HU Shuang, ZHANG Hai-bo, JIANG Li-xin.

China Oxford Centre for International Health Research, Cardiovascular Institute and Fu Wai Hospital, CAMS and PUMC, Beijing (100037), China

Corresponding Author: JIANG Li-xin, Email: jiangl@fwoxford.org

Abstract

Objective: To assess the trend of statin application for in-hospital acute myocardial infarction (AMI) patients with its impact factors in eastern urban China from 2001 to 2011.

Methods: A 2-stage random sampling design was performed to extract representative AMI sample patients. In the first stage, a simple random-sampling was used to identify participating hospitals. In the second stage, a systematic sampling was conducted in 2001, 2006 and 2011 to select the cases from participating hospitals, to take medical records and clinical information for calculating the in-hospital statin application rate. The impact factors for statin application was assessed by multi Logistic regression model with generalized estimating equations.

Results: A total of 5940 AMI records from 32 hospitals were enrolled. From 2001 to 2011, the in-hospital statin use rate

基金项目: 卫生公益性行业科研专项“冠心病医疗结果评价研究和临床转化研究”(201202025); 国家科技支撑计划项目“冠心病医疗质量改善研究”(2013BAI09B01)

作者单位: 100037 北京市, 北京协和医学院 中国医学科学院 国家心血管病中心 阜外医院 国家心血管疾病临床医学研究中心 心血管疾病国家重点实验室 中国牛津国际医学研究中心

作者简介: 余苑 博士研究生 主要从事心血管疾病临床研究 Email: yuan.yu@fwoxford.org 通讯作者: 蒋立新 Email: jiangl@fwoxford.org

中图分类号: R541.4 文献标识码: A 文章编号: 1000-3614 (2017) 08-0732-05 doi:10.3969/J.ISSN.1000-3614.2017.08.002

increased from 46.0% in 2001 to 82.2% in 2006 and to 93.7% in 2011, $P < 0.001$ for trend. Multi Logistic regression analysis indicated that the patients with LDL-C > 3.37 mmol/L were more likely to receive statin therapy than those with LDL-C < 1.81 mmol/L (OR=1.59, 95% CI 1.10-2.30, $P=0.013$); the patients with chest pain at admission (OR=1.82, 95% CI 1.14-2.91, $P=0.012$), combining hypertension (OR=1.44, 95% CI 1.02-2.03, $P=0.038$), with in-hospital PCI (OR=2.99, 95% CI 1.71-5.23, $P < 0.001$) were also more likely to receive statin therapy. The application rate of statin was reduced by reduced LDL-C level accordingly and the patients without LDL-C examination, accounting for 21.3%, had the lowest statin application rate.

Conclusion: Statin therapy for in-hospital AMI patients was dramatically increased from 2001 to 2011 in eastern urban China and the guideline was rapidly popularized in clinical practice. However, the improvement has been needed especially in patients without LDL-C examination or with low LDL-C levels; we emphasize that AMI patients should receive statin therapy regardless their LDL-C levels.

Key words Myocardial infarction; Blood-lipid lowering drugs; Trend

(Chinese Circulation Journal, 2017,32:732.)

过去十年间,我国急性心肌梗死(AMI)导致的死亡增长了近两倍,在城市地区已达到 51.46/10 万^[1]。大量临床试验表明他汀类药物可以显著降低 AMI 患者不良心血管事件发生率^[2,3]。基于此,国内外指南强烈推荐所有无禁忌证的 AMI 患者均应接受他汀药物治疗^[4-9]。我国东部城市地区人口占全国总人口的 1/4,经济最为发达,医疗资源的配置优于其他地区。然而,东部城市 AMI 患者院内他汀药物治疗率尚属未知。为此,我们利用 China PEACE 回顾性 AMI 研究的数据,分析东部城市 2001~2011 年十年间 AMI 住院患者的他汀药物使用情况及 2011 年影响院内他汀药物治疗的因素。

1 对象与方法

1.1 研究设计

China PEACE 回顾性 AMI 研究设计方案已发表^[10]。简言之,研究采用两阶段随机抽样设计,抽取 2001 年、2006 年和 2011 年入院的 AMI (包括 ST 段抬高型和非 ST 段抬高型心肌梗死)患者的全国代表性样本。第一阶段,研究采用简单随机抽样方法从 5 个区划分:东部农村、中部农村、西部农村、东部城市和中西部城市,分别抽取农村地区的中心医院和城市地区的最高级别医院。第二阶段,研究采用系统随机抽样方法,从每家协作医院提供的 3 个研究年份的 AMI 病历列表中抽取病历^[11]。根据国际疾病分类临床编码,检索病历,包括 ICD-9 编码(410.xx)和 ICD-10 编码(121.xx)。如 ICD 编码无法获得,协作医生通过出院诊断的关键词进行检索确认。

研究制定了统一的数据定义和标准,采用集中

式病历信息提取,对每个环节都进行了严格的质量控制,以确保数据的可靠性。在病历信息提取过程中,我们随机抽取 5% 的病历进行质量核查,确保提取信息的准确率大于 98%。

国家心血管病中心(NCCD)伦理委员会(中国医学科学院阜外医院伦理委员会)通过了 China PEACE 回顾性 AMI 研究。除 5 家协作医院由其各自的伦理委员会批准了该研究,其他协作医院均认可国家心血管病中心伦理委员会的审批意见。我们的数据由回溯病历获得,故不需知情同意。本研究已在临床研究登记平台 Clinical Trials.gov 中完成注册(编号为 NCT01624883)。

1.2 研究对象

研究对象限定为中国东部城市医院出院诊断为 AMI (包括 ST 段抬高型和非 ST 段抬高型心肌梗死)且不存在他汀使用禁忌证的适宜人群。

1.3 变量定义

根据医嘱的记录判定住院期间是否使用他汀药物。血脂水平根据住院记录中第一次血脂检测结果。对于未记录血脂水平的患者,则认为该部分患者血脂未检测。血脂异常定义为血脂异常病史或本次住院检测血清总胆固醇 > 5.18 mmol/L 或低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C) ≥ 3.37 mmol/L,或男性高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C) < 1.04 mmol/L,或女性 HDL-C < 1.30 mmol/L^[12]。他汀药物的种类以患者出院前或院内死亡前最后一次开具他汀药物的医嘱为准。

1.4 统计学处理方法

数据分析使用 SAS 9.2 版软件。对于分类变量,报告其频数和百分比。依据具有临床意义的界值将年龄、LDL-C 分组。其中,年龄分为 < 55 岁、55~64 岁、65~74 岁和 ≥ 75 岁;LDL-C 水平按具有临床意义的界值分为 < 1.81 mmol/L、1.81~2.59 mmol/L、2.60~3.37

mmol/L 和 >3.37 mmol/L。缺失的年龄(0.1%)以中位数补充。研究对分类变量采用卡方检验来评估接受和未接受他汀药物治疗的患者间的差异。

为估算出 3 个研究年份东部城市区域的情况,我们对东部地区他汀药物每年的使用率进行加权计算,以调整不同抽样概率的影响即每一个研究对象的抽样权重与其在医院内的抽样比例成反比。采用 Cochran-Armitage 检验不同时间他汀药物使用率变化趋势。为反映当前诊疗模式,采用多因素 Logistic 回归模型探讨 2011 年影响他汀药物使用的因素,同时采用广义估计方程来调整同一家医院内患者的同质性。在多因素的 Logistic 模型中,我们报告了相应的比值比(OR)和 95% 可信区间(CI)。所有统计推断均采用双侧检验, $P < 0.05$ 为差异存在统计学意义。

2 结果

2.1 研究样本(表 1)

在东部城市随机抽取的 35 家医院中, 2 家医院因未收治 AMI 患者而无法参与, 另有 1 家医院拒绝参加。在剩余 32 家协作医院(31 家 3 级医院和 1 家 2 级医院)中, 获得 2001 年、2006 年和 2011 年 AMI 住院病历共 16 524 例, 我们抽取了其中 7 239 份病历入选研究, 获得 6 993 份(96.6%)。在排除了不符合入选标准的病历后, 最终 5 940 例适宜他汀药物治疗的 AMI 患者纳入分析, 其中位年龄为 66 岁, 男性患者占 69.1%, 女性患者占 30.9%; 65.7% 的患者有血脂异常。21.3% 的患者住院期间未测量血脂水平。

2.2 他汀药物使用情况

在过去的十年间, 他汀药物的使用率从 2001 年的 46.0% 增加到 2006 年的 82.2% 和 2011 年的 93.7% (趋势 P 值 < 0.001)。

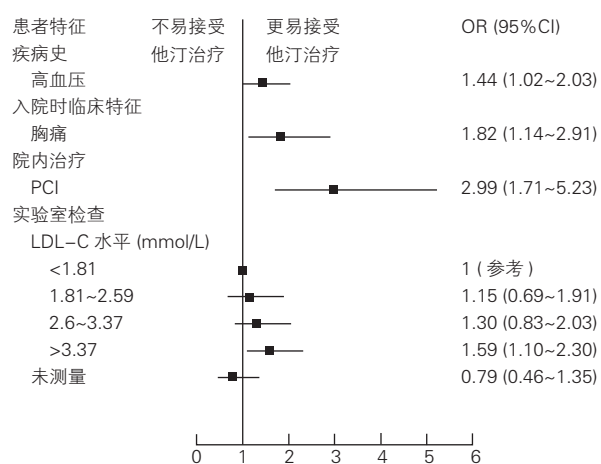
2.3 2011 年影响他汀药物治疗的因素

在多因素模型中, 多个患者因素与 2011 年他汀药物使用相关(图 1)。LDL-C 水平 >3.37 mmol/L 的患者比 LDL-C <1.81 mmol/L 的患者更容易接受他汀药物治疗($OR=1.59$; 95% CI: 1.10~2.30, $P=0.013$)。合并高血压患者他汀药物使用率高于非高血压患者($OR=1.44$; 95% CI: 1.02~2.03, $P=0.038$); 入院有胸痛患者他汀药物使用率高于无胸痛患者($OR=1.82$; 95% CI: 1.14~2.91, $P=0.012$); 院内接受经皮冠状动脉介入治疗(PCI)患者的他汀使用率高于未接受 PCI 患者($OR=2.99$; 95% CI: 1.71~5.23, $P < 0.001$)。

表 1 中国东部城市院内使用或未使用他汀药物的 AMI 患者特征[例(%)]

项目	所有患者 (n=5 940)	使用他汀 (n=4 795)	未使用他汀 (n=1 145)	P 值
人口学特征				
年龄(岁)				0.0411
<55	1 387 (23.4)	1 118 (23.3)	269 (23.5)	
55~64	1 775 (29.9)	1 397 (29.1)	378 (33.0)	
65~74	1 347 (22.7)	1 096 (22.9)	251 (21.9)	
≥ 75	1 431 (24.1)	1 184 (24.7)	247 (21.6)	
女性	1 835 (30.9)	1 457 (30.4)	378 (33.0)	0.0839
心血管病危险因素				
高血压	3 280 (55.2)	2 760 (57.6)	520 (45.4)	<0.0001
糖尿病	1 379 (23.2)	1 160 (24.2)	219 (19.1)	0.0003
高脂血症	3 902 (65.7)	3 350 (69.9)	552 (48.2)	<0.0001
目前吸烟	2 156 (36.3)	1 833 (38.2)	323 (28.2)	<0.0001
疾病史				
心肌梗死	778 (13.1)	655 (13.7)	123 (10.7)	0.0086
缺血性卒中	720 (12.1)	576 (12)	144 (12.6)	0.5994
出血性卒中	84 (1.4)	67 (1.4)	17 (1.5)	0.8219
入院状态				
胸痛	5 494 (92.5)	4 474 (93.3)	1 020 (89.1)	<0.0001
心脏骤停	85 (1.4)	70 (1.5)	15 (1.3)	0.7014
心源性休克	234 (3.9)	181 (3.8)	53 (4.6)	0.182
STEMI	4 977 (83.8)	3 966 (82.7)	1 011 (88.3)	<0.0001
实验室检查				
LDL-C 水平(mmol/L)				<0.0001
<1.81	478 (8.0)	415 (8.7)	63 (5.5)	
1.81~2.59	1 346 (22.7)	1 181 (24.6)	165 (14.4)	
2.60~3.37	1 584 (26.7)	1 371 (28.6)	213 (18.6)	
>3.37	1 269 (21.4)	1 117 (23.3)	152 (13.3)	
未测量	1 263 (21.3)	711 (14.8)	552 (48.2)	
入院年度				
2001 年	1 019 (17.2)	437 (9.1)	582 (50.8)	<0.0001
2006 年	1 624 (27.3)	1 316 (27.4)	308 (26.9)	
2011 年	3 297 (55.5)	3 042 (63.4)	255 (22.3)	

注:AMI:急性心肌梗死;STEMI:ST 段抬高型心肌梗死;LDL-C:低密度脂蛋白胆固醇

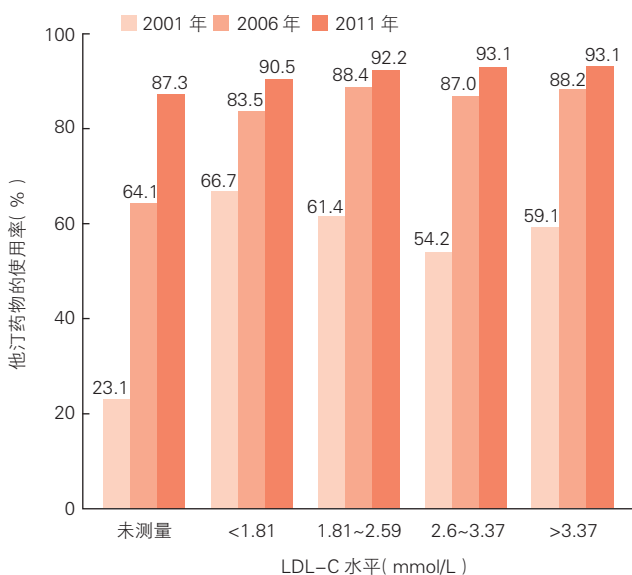


注:与院内他汀药物使用明显相关的变量沿纵轴排列,横轴显示影响程度,竖线表示比值比(OR)=1(也就是没有意义)。在竖线右侧(即OR>1)表示接受他汀药物治疗的可能性更大,在竖线左侧(即OR<1)表示接受他汀药物治疗的可能性较小。每一个方块代表在该变量的效应在模型中的点估计值,水平线表示 95% 可信区间(CI)。PCI:经皮冠状动脉介入治疗;LDL-C:低密度脂蛋白胆固醇

图 1 2011 年影响东部城市院内他汀药物使用的因素

2.4 不同 LDL-C 水平患者他汀药物使用情况

不同 LDL-C 水平的患者院内接受他汀药物治疗率均随年份大幅增长(趋势 P 值 <0.001)。未测量 LDL-C 的患者在 3 个研究年份他汀药物使用率均为最低,但增幅最大,从 2001 年的 23.1% 增加到 2006 年的 64.1% 和 2011 年的 87.3% (趋势 P 值 <0.001)。总体上,院内使用他汀药物的比例随 LDL-C 水平的升高而增加。至 2011 年, LDL-C <1.81 、 $1.81\sim 2.59$ 、 $2.60\sim 3.37$ 和 >3.37 (mmol/L) 患者院内使用率分别为 90.5%、92.2%、93.1% 和 93.1% (图 2)。



注: LDL-C: 低密度脂蛋白胆固醇

图 2 不同 LDL-C 水平患者院内他汀药物治疗情况

3 讨论

本研究首次利用代表性样本,揭示 2001~2011 年,东部城市 AMI 住院患者院内他汀药物使用率从不足一半增加到 90% 以上,尤其是在未测量 LDL-C 的患者中,院内他汀药物使用率翻了近两翻。入院症状明显和院内治疗积极的患者更容易接受他汀药物治疗,而未测量 LDL-C 和 LDL-C 较低的患者院内不容易接受他汀药物治疗。针对本研究结果,进一步提高他汀药物在 AMI 患者中的使用,将有助于改善预后。

过去十年间,东部城市院内他汀药物使用率的增长体现了指南推荐的药物在 AMI 患者中的使用明显增加。其原因可能是:国内外指南推荐所有无禁忌证的 AMI 患者,无论 LDL-C 水平如何,均应接受他

汀药物治疗^[4-9]。此外,他汀药物已列入国家基本药物目录。随着医疗保障制度不断健全,2011 年医保覆盖率已超过 95%,报销比例也不断提升^[13,14],有效促进了 AMI 患者的他汀药物应用。

与全国水平相比,东部城市医院 2001 年、2006 年和 2011 年院内他汀药物使用率均较高^[15]。这一方面得益于东部城市经济最为发达,医疗资源配置优于其他地区,医生接受培训的机会较多。另一方面,东部城市 AMI 患者 LDL-C $2.60\sim 3.37$ mmol/L 和 >3.37 mmol/L 的比例均明显高于全国水平,China PEACE 研究发现院内他汀药物使用率受初始 LDL-C 水平的影响,LDL-C 水平较高的患者院内他汀药物使用率高于 LDL-C 水平较低的患者^[15]。

多因素分析发现某些患者特征与院内他汀药物治疗相关。入院时合并胸痛的 AMI 患者高于未合并胸痛患者,可能原因是该部分患者症状典型,医生更容易识别该类 AMI 患者,给予更规范治疗。院内接受 PCI 的患者高于其他患者,推测可能医生对该部分患者重视程度高于其他患者。此外,研究发现 LDL-C 水平较低和未测量 LDL-C 的 AMI 患者较其他患者院内他汀药物使用率低,这种现象在美国^[16]、加拿大^[17]等国家也同样存在。一个可能的原因为早期研究曾提示血脂水平低导致脑出血风险增加^[18],部分医生对于他汀药物使用局限于既往错误的认识,认为只有血脂高的患者才需接受他汀药物治疗。然而,既往研究显示他汀药物减低心血管事件的风险与患者初始血脂水平无关^[19],在血脂水平较低患者中仍然安全有效^[20,21]。因此,需要在对临床医生的培训中强调所有 AMI 患者,无论血脂水平高低,均应接受他汀药物治疗。我们注意到超过 1/5 的 AMI 患者住院期间未检测血脂水平。美国在 2006 年已将血脂测量作为 AMI 的诊疗质量评价指标^[22],LDL-C 是冠心病明确的危险因素,为判断患者危险程度,指导他汀药物剂量,AMI 患者住院期间应常规检测血脂。

本研究为回顾性,数据受病历质量的限制,但他汀药物使用基于医嘱记录,非常可靠。此外,病历中对禁忌证记录可能不完整,但他汀药物禁忌证非常少见,对结果的影响非常有限。

总而言之,本研究基于我国具有代表性的 AMI 住院患者样本,揭示 2001~2011 年我国东部城市院内他汀药物使用率大幅度上升,医生对指南的依从性明显提高。但是,在某些特定人群中,他汀药物的使用仍然存在提高空间。应进一步加强医生对指

南的依从性, 提高临床用药的规范性, 从而改善冠心病患者的预后。

致谢: 感谢中国牛津国际医学研究中心研究团队和美国 Yale-New Haven Hospital Center for Outcomes Research and Evaluation 在研究设计方面的合作贡献。感谢皮轶、刘佳敏、乌汉、张海波、杜雪、关文池、郭远林、杨阳、孙颖、王思铭、李丽等参与数据采集。感谢 Harlan M Krumholz, Frederick A Masoudi, John A Spertus, Yongfei Wang, Xiao Xu, Nihar R Desai, Joseph S Ross, Khurram Nasir, Zhenqiu Lin, Shuxia Li, Haiqun Lin 等在数据分析方面给与的建议。

参考文献

- [1] 国家心血管病中心. 中国心血管病报告 2014. 北京: 中国大百科全书出版社, 2014.
- [2] Sacks FM, Pfeffer MA, Moye LA, et al. The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events Trial investigators. *New Engl J Med*, 1996, 335: 1001-1009.
- [3] Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: The scandinavian simvastatin survival study (4S). *Lancet*, 1994, 344: 1383-1389.
- [4] Amsterdam EA, Wenger NK, Brindis RG, et al. 2014 AHA/ACC guideline for the management of patients with non-ST-elevation acute coronary syndromes: A report of the American College of Cardiology/American Heart Association task force on practice guidelines. *J Am Coll Cardiol*, 2014, 64: e139-228.
- [5] O'Gara PT, Kushner FG, Ascheim DD, et al. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of ST-elevation myocardial infarction: executive summary: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association task force on practice guidelines. *Circulation*, 2013, 127: 529-555.
- [6] Steg PG, James SK, Atar D, et al. ESC guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. *Euro Heart J*, 2012, 33: 2569-2619.
- [7] 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. 非 ST 段抬高急性冠状动脉综合征诊断和治疗指南. *中华心血管病杂志*, 2012, 40: 353-367.
- [8] 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. 急性 ST 段抬高型心肌梗死诊断和治疗指南. *中华心血管病杂志*, 2015, 43: 380-393.
- [9] Roffi M, Patrono C, Collet JP, et al. 2015 ESC guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: Task force for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Euro Heart J*, 2016, 37: 267-315.
- [10] Dharmarajan K, Li J, Li X, et al. The China Patient-centered Evaluative Assessment of Cardiac Events (China PEACE) retrospective study of acute myocardial infarction: study design. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*, 2013, 6: 732-740.
- [11] 李静, 李希, 余苑, 等. 2001 年 ~ 2011 年中国东部农村 ST 段抬高型心肌梗死诊疗变化趋势——China PEACE 回顾性急性心肌梗死研究. *中国循环杂志*, 2016, 31: 4-9.
- [12] Cannon CP, Brindis RG, Chaitman BR, et al. 2013 ACCF/AHA key data elements and definitions for measuring the clinical management and outcomes of patients with acute coronary syndromes and coronary artery disease: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association task force on clinical data standards (writing committee to develop acute coronary syndromes and coronary artery disease clinical data standards). *J Am Coll Cardiol*, 2013, 61: 992-1025.
- [13] Chen Z. Launch of the health-care reform plan in china. *Lancet*, 2009, 373: 1322-1324.
- [14] Cheng TM. Early results of China's historic health reforms: The view from minister chen zhu. Interview by tsung-mei cheng. *Health Affairs (Project Hope)*, 2012, 31: 2536-2544.
- [15] Zhang L, Li J, Li X, et al. National assessment of statin therapy in patients hospitalized with acute myocardial infarction: Insight from China PEACE-retrospective AMI study, 2001, 2006, 2011. *PLoS One*, 2016, 11: e0150806.
- [16] O'Brien EC, Simon DN, Roe MT, et al. Statin treatment by low-density lipoprotein cholesterol levels in patients with non-ST-segment elevation myocardial infarction/unstable angina pectoris (from the CRUSADE registry). *Am J Cardiol*, 2015, 115: 1655-1660.
- [17] Elbarouni B, Banihashemi SB, Yan RT, et al. Temporal patterns of lipid testing and statin therapy in acute coronary syndrome patients (from the Canadian grace experience). *Am J Cardiol*, 2012, 109: 1418-1424.
- [18] Lewington S, Whitlock G, Clarke R, et al. Blood cholesterol and vascular mortality by age, sex, and blood pressure: A meta-analysis of individual data from 61 prospective studies with 55, 000 vascular deaths. *Lancet*, 2007, 370: 1829-1839.
- [19] Baigent C, Keech A, Kearney PM, et al. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: Prospective meta-analysis of data from 90, 056 participants in 14 randomised trials of statins. *Lancet*, 2005, 366: 1267-1278.
- [20] Baigent C, Blackwell L, Emberson J, et al. Efficacy and safety of more intensive lowering of ldl cholesterol: A meta-analysis of data from 170, 000 participants in 26 randomised trials. *Lancet*, 2010, 376: 1670-1681.
- [21] 陈锐, 王昊天, 张抒扬. 他汀类药物安全性研究进展. *中国循环杂志*, 2012, 27: 158-160.
- [22] Krumholz HM, Anderson JL, Brooks NH, et al. ACC/AHA clinical performance measures for adults with ST-elevation and non-ST-elevation myocardial infarction: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on performance measures. *JACC*, 2006, 47: 236-265.

(收稿日期: 2016-08-28)

(编辑: 梅平)

冠心病研究

单核细胞 / 高密度脂蛋白胆固醇比值与急性心肌梗死患者介入术后慢血流或无复流的相关性分析

黄朝发, 李菊香, 颜素娟, 姜宇, 游志刚, 徐劲松, 姜醒华, 杨人强, 吴延庆, 吴清华, 程晓曙

摘要

目的: 探讨急性心肌梗死患者中单核细胞 / 高密度脂蛋白胆固醇比值(MHR)与冠状动脉介入治疗(PCI)后慢血流或无复流的关系。

方法: 纳入我院 2014-10 至 2016-05 符合入选标准的共 216 例急性 ST 段抬高型心肌梗死(STEMI)患者, 分为慢血流或无复流组[心肌梗死溶栓治疗临床试验(TIMI)血流 ≤ 2 级]43 例和正常血流组 173 例。采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)评价 MHR 预测慢血流或无复流发生的最佳切点值及其评判慢血流或无复流的特异性和敏感性, 此外, 运用 Logistic 回归分析 MHR 是否可作为 STEMI 患者介入后冠状动脉慢血流或无复流的独立危险因素。

结果: 与正常血流组相比, 慢血流或无复流组 MHR 明显较高(18.6 ± 9.8 vs 10.9 ± 5.5 , $P < 0.001$), 单因素 Logistic 回归分析可知 MHR 是冠状动脉慢血流或无复流的危险因素(OR=2.22, 95%CI: 1.58~3.28), 同时多因素 Logistic 回归分析得出: MHR 是冠状动脉慢血流或无复流的独立危险因素(OR=1.55, 95%CI: 1.01~2.38); ROC 曲线计算 MHR 预测慢血流或无复流的最佳切点值为 13.37, 敏感性和特异性分别为 67.4% 和 70.5%, 曲线下面积(AUC)为 0.734(95%CI: 0.646~0.822)。

结论: MHR 是急性心肌梗死患者介入后冠状动脉慢血流或无复流的独立危险因素。

关键词 心肌梗死; 血管成形术, 经皮, 经腔冠状动脉; 单核细胞 / 高密度脂蛋白胆固醇比值

Correlation Study of Monocyte to HDL-C Ratio and Post-operative Slow flow or No reflow in Acute Myocardial Infarction Patients After Percutaneous Coronary Intervention

HUANG Chao-fa, LI Ju-xiang, YAN Su-juan, JIANG Yu, YOU Zhi-gang, XU Jin-song, JIANG Xing-hua, YANG Ren-qiang, WU Yan-qing, WU Qing-hua, CHENG Xiao-shu.

Department of Cardiology, Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang (330006), Jiangxi, China

Corresponding Author: LI Ju-xiang, Email: ljsx912@126.com

Abstract

Objective: To explore the correlation of monocyte to HDL-C ratio (MHR) and post-operative slow flow or no reflow in patients with ST-segment elevation myocardial infarction (STEMI) after percutaneous coronary intervention (PCI).

Methods: A total of 216 STEMI patients treated in our hospital from 2014-10 to 2016-05 were enrolled. The patients were divided into 2 groups: Slow flow or no reflow group, the patients with TIMI grade ≤ 2 , $n=43$ and Normal flow group, $n=173$. Receiver operating characteristic (ROC) curve was performed to assess the best cut-off value for MHR predicting slow flow or no reflow with its sensitivity and specificity; Logistic regression analysis was conducted to studied weather MHR could be used as an independent risk factor for coronary slow flow or no reflow in STEMI patients after PCI.

Results: Compared with Normal flow group, Slow flow or no reflow group had the higher MHR (18.6 ± 9.8) vs (10.9 ± 5.5), $P < 0.001$. Univariate Regression analysis indicated that MHR was a risk factor of slow flow or no reflow occurrence (OR=2.22, 95% CI 1.58-3.28); multivariate regression analysis presented that MHR was an independent risk factor of slow flow or no reflow occurrence (OR=1.55, 95% CI 1.01-2.38). ROC curve showed that the best cut-off value for MHR predicting slow flow or no reflow occurrence was 13.37 with the sensitivity and specificity at 67.4% and 70.5% respectively, the area under

基金项目: 江西赣鄱英才 555 人才计划项目

作者单位: 330006 江西省南昌市, 南昌大学第二附属医院 心内科

作者简介: 黄朝发 主治医师 硕士 主要从事心血管病学研究 Email:hchaofa@163.com 通讯作者: 李菊香 Email:ljsx912@126.com

中图分类号: R54 文献标识码: A 文章编号: 1000-3614 (2017) 08-0737-05 doi: 10.3969/j.issn.1000-3614.2017.08.003

curve (AUC) was 0.734, 95% CI 0.646-0.822.

Conclusion: MHR was an independent risk factor for slow flow or no reflow occurrence in STEMI patients after PCI.

Key words Myocardial infarction; Angioplasty, percutaneous, transluminal coronary; Monocyte to HDL-C Ratio

(Chinese Circulation Journal, 2017,32: 737.)

急性心肌梗死(AMI)是威胁人类生命的一类急重症,ST段抬高型心肌梗死(STEMI)是AMI中常见的一种,在发病12h内尽早行经皮冠状动脉(冠脉)介入治疗(PCI)开通梗死相关冠脉,已推荐为其首选的再灌注方法^[1]。而冠脉慢血流或无复流是再灌注的一个严重并发症,尤其是STEMI患者^[2,3],可增加远期死亡率^[4]。

慢血流或无复流现象主要表现为冠脉阻塞、冠脉痉挛或血栓栓塞而致冠脉血流急剧减少,其机制尚不十分清楚。近年来发现,炎症因子在冠脉慢血流或无复流中起到重要作用。一些实验模型发现中性粒细胞集聚、氧化应激和血管收缩及内皮功能障碍所导致的凝血级联反应均与慢血流或无复流相关^[5]。有研究显示单核细胞与高密度脂蛋白胆固醇比值(MHR)是预测动脉粥样硬化进程中一种新兴的炎症因子^[6]。在慢性肾病患者中,MHR与心血管疾病的发生具有一定的相关性^[7]。此前已有研究证实中性粒细胞与淋巴细胞比值(NLR)可作为冠脉慢血流或无复流的一个独立危险因素^[8],并且和STEMI患者急诊PCI后院内不良心血管事件相关^[9]。在我国,MHR是否可作为AMI患者介入术后冠脉慢血流或无复流的一个独立危险因素,对其是否有预测价值还不得而知。本研究旨在探讨STEMI患者MHR与PCI后冠脉慢血流或无复流的关系。

1 资料与方法

研究对象:2014-10至2016-05就诊于南昌大学第二附属医院的STEMI患者273例。入选标准:(1)符合STEMI的诊断标准,缺血性胸痛持续时间 ≥ 30 min,含服硝酸甘油无法缓解;心电图表现2个相邻导联新发ST段抬高、病理性Q波形成或新出现的完全性左束支传导阻滞;血清肌钙蛋白升高至少超过99%参考值上限。(2)患者于症状出现后12h内接受急诊PCI。(3)所有患者均置入支架。排除标准:24h内溶栓治疗(3例);近期有感染性疾病(18例);

肝肾功能异常(4例);心源性休克(6例);恶性肿瘤(1例);研究资料不完整(25例)。最终纳入216例。

研究方法:所有患者入院后留取静脉血标本,使用sysmex XN-9000全自动血细胞分析仪进行血常规分析,行心肌损伤标记物、血脂和凝血功能等常规检查。所有患者术前给予阿司匹林300 mg嚼服,替格瑞诺180 mg口服,及普通肝素70~100 U/kg静脉注射,PCI由经验丰富有冠脉介入资质的医生完成,严格按照“2010年STEMI诊断和治疗指南”^[2]实行。对梗死相关血管行PCI后的冠脉血流灌注进行分级,冠脉慢血流或无复流定义为PCI后冠脉无机械性阻塞,无显著残余狭窄或夹层,但仍然存在前向血流障碍[心肌梗死溶栓治疗临床试验(TIMI)血流 ≤ 2 级],本实验根据TIMI血流患者分为慢血流或无复流组(TIMI血流 ≤ 2 级)和正常血流组(TIMI血流3级)。MHR、NLR分别由单核细胞计数和高密度脂蛋白胆固醇浓度绝对值的比值、中性粒细胞和淋巴细胞数目绝对值的比值得出。

统计学方法:数据均采用SPSS17.0统计软件进行分析。连续型变量采用均数 \pm 标准差表示,分类变量则采用百分比表示。组间比较计量资料采用两独立样本 t 检验,而计数资料则采用 χ^2 检验。此外,行单因素及多因素Logistic回归分析,Logistic回归模型结果采用比值比(OR)和95%可信区间(CI)来表示。OR >1.0 表示为危险因素,即MHR可增加慢血流或无复流发生风险,而OR <1.0 则说明为保护因素,可一定程度降低慢血流或无复流发生风险。同时应用受试者工作特征(ROC)曲线评价MHR预测慢血流或无复流发生的最佳切点值及其评判慢血流或无复流的特异性和敏感性。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者的基线特征

216例STEMI患者中,慢血流或无复流组43例,

其中男性 34 例, 女性 9 例, 平均年龄 (63 ± 11) 岁, 正常血流组 173 例, 其中男性 146 例, 女性 27 例, 平均年龄 (59 ± 12) 岁, 两组患者的基线特征见表 1。与正常血流组相比, 慢血流或无复流组的单核细胞计数、MHR、中性粒细胞计数、NLR、再灌注时间、血栓抽吸、TIMI 血栓 ≥ 4 级、使用替罗非班比例及血小板活化体积 (MPV) 均明显增高 ($P < 0.05 \sim 0.01$); 相反, 慢血流或无复流组的淋巴细胞计数明显低于正常血流组 ($P < 0.001$)。而两组的性别、体重指数、既往服用药物、病变血管数和病变部位、球囊预扩张、球囊后扩张、置入支架数、Killip 分级 $\geq II$ 级比例及其他生化指标差异均无统计学意义 (P 均 > 0.05)。

表 1 两组患者临床基线特征比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	正常血流组 (n=173)	慢血流或无复流组 (n=43)	P 值
年龄 (岁)	59 \pm 12	63 \pm 11	0.063
男性 [例 (%)]	146 (84.4)	34 (79.1)	0.401
体重指数 (kg/m ²)	25.17 \pm 2.24	25.39 \pm 2.51	0.604
既往病史 [例 (%)]			
高血压	124 (71.7)	29 (67.4)	0.585
糖尿病	96 (55.5)	24 (55.8)	0.970
既往服用药物 [例 (%)]			
阿司匹林	18 (10.4)	5 (11.6)	0.816
β 受体阻滞剂	20 (11.6)	6 (14.0)	0.666
钙拮抗剂	34 (20.0)	8 (18.6)	0.876
他汀类药物	15 (8.7)	4 (9.3)	0.896
病变血管 [例 (%)]			
右冠脉	70 (40.5)	15 (34.9)	0.503
前降支	88 (50.9)	24 (55.8)	0.561
回旋支	15 (8.7)	4 (9.3)	0.896
血栓抽吸 [例 (%)]	120 (69.4)	39 (90.7)	0.005
球囊预扩张 [例 (%)]	89 (51.4)	25 (58.1)	0.431
球囊后扩张 [例 (%)]	21 (12.1)	6 (14.0)	0.747
TIMI 血栓分级 ≥ 4 级 [例 (%)]	110 (63.6)	37 (86.0)	0.005
置入支架 ≥ 2 枚 [例 (%)]	25 (14.5)	6 (14.0)	0.934
靶病变血管直径 (mm)	3.0 \pm 0.3	2.95 \pm 0.4	0.363
Killip 分级 $\geq II$ 级 [例 (%)]	86 (49.7)	26 (60.5)	0.207
使用替罗非班 [例 (%)]	44 (25.4)	19 (44.2)	0.015
白细胞计数 ($\times 10^9/L$)	10.5 \pm 3.0	11.6 \pm 4.0	0.084
单核细胞计数 ($\times 10^9/L$)	0.5 \pm 0.2	0.8 \pm 0.4	<0.001
中性粒细胞计数 ($\times 10^9/L$)	7.4 \pm 1.7	8.2 \pm 2.1	0.009
淋巴细胞计数 ($\times 10^9/L$)	1.6 \pm 0.4	1.2 \pm 0.3	<0.001
高密度脂蛋白胆固醇 (mg/dl)	44.09 \pm 11.27	41.15 \pm 14.00	0.769
MHR	10.9 \pm 5.5	18.6 \pm 9.8	<0.001
NLR	4.3 \pm 0.7	6.5 \pm 0.5	<0.001
MPV (fl)	10.2 \pm 1.6	10.8 \pm 1.2	0.022
再灌注时间 * (h)	5.1 \pm 2.6	7.5 \pm 3.0	<0.001
总胆固醇 (mg/dl)	187.92 \pm 26.83	181.26 \pm 25.74	0.144
甘油三酯 (mg/dl)	128.85 \pm 29.95	124.64 \pm 31.17	0.414
低密度脂蛋白胆固醇 (mg/d)	121.44 \pm 28.38	117.92 \pm 26.77	0.463
血肌酐 (mg/dl)	37.89 \pm 16.55	40.11 \pm 12.87	0.413

注: * 从症状发生到经皮冠状动脉介入治疗的时间; MHR: 单核细胞 / 高密度脂蛋白胆固醇比值; MPV: 血小板活化体积; NLR: 中性粒细胞 / 淋巴细胞比值; TIMI: 心肌梗死溶栓治疗临床试验

2.2 慢血流及无复流危险因素分析

对 STEMI 患者介入术后慢血流或无复流 Logistic 回归分析 (表 2), 仅校正年龄的单因素分

析提示性别、单核细胞、MHR、中性粒细胞、NLR、白细胞、MPV、高血压及糖尿病病史均是慢血流或无复流的危险因素, 而高密度脂蛋白胆固醇和淋巴细胞则是保护性因素。在校正年龄、性别、淋巴细胞、中性粒细胞、NLR、MPV、再灌注时间、球囊预扩张、球囊后扩张、血栓抽吸、支架置入、术中使用替罗非班比例及既往病史后的多因素分析表明, 单核细胞、MHR、淋巴细胞、中性粒细胞及 NLR、糖尿病病史均为慢血流或无复流的独立危险因素。

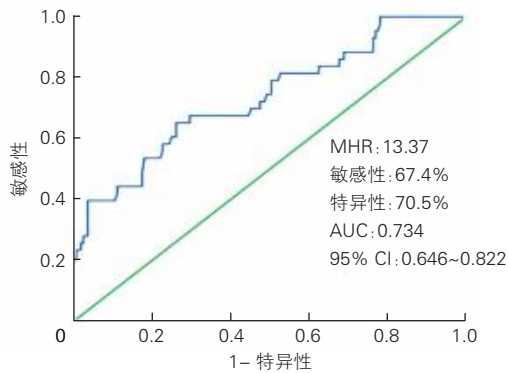
表 2 影响 STEMI 患者介入术后慢血流或无复流的单因素和多因素 Logistic 回归分析

变量	单因素分析			多因素分析		
	比值比	95% 可信区间	P 值	比值比	95% 可信区间	P 值
年龄	0.97	0.93~1.01	0.144	1.10	0.76~1.61	0.607
男性 (%)	1.55	1.01~2.38	0.046	1.15	0.60~2.20	0.680
单核细胞	2.02	1.47~2.76	<0.001	1.28	1.25~1.32	<0.001
高密度脂蛋白胆固醇	0.97	0.95~0.99	0.002	1.20	0.88~1.63	0.256
MHR	2.22	1.58~3.28	<0.001	1.55	1.01~2.38	0.040
淋巴细胞	0.75	0.64~0.89	0.001	0.96	0.95~0.98	<0.001
中性粒细胞	1.37	1.21~1.55	<0.001	1.05	1.01~1.08	0.043
NLR	1.44	1.25~1.65	<0.001	1.16	1.06~1.26	0.001
白细胞	1.34	1.13~1.58	<0.001	1.15	0.98~1.34	0.082
MPV	1.26	1.09~1.45	0.003	1.10	0.94~1.29	0.226
高血压病史	1.55	1.01~2.38	0.040	1.02	0.92~1.14	0.655
糖尿病病史	1.64	1.40~1.92	<0.001	1.21	1.16~1.26	<0.001

注: STEMI: ST 段抬高型心肌梗死; MHR: 单核细胞 / 高密度脂蛋白胆固醇比值; NLR: 中性粒细胞 / 淋巴细胞比值; MPV: 血小板活化体积

2.3 MHR 对 STEMI 患者介入术后慢血流或无复流的预测价值

应用 ROC 曲线分析 MHR 对 STEMI 患者介入术后慢血流或无复流的预测价值 (图 1), 分析得出, 对于慢血流或无复流患者的 MHR 最佳切点值为 13.37, 预测的敏感性和特异性分别为 67.4% 和 70.5%, AUC 为 0.734 (95%CI: 0.646~0.822)。而 MHR 每升高一个单位量, 慢血流或无复流发生风险将增加 39%。



注: MHR: 单核细胞 / 高密度脂蛋白胆固醇比值; AUC: 曲线下面积; CI: 可信区间

图 1 单核细胞 / 高密度脂蛋白胆固醇比值预测介入术后冠状动脉慢血流或无复流的受试者工作特征曲线分析

3 讨论

对于 STEMI 患者尽早行冠脉介入术使阻塞或闭塞血管再通是最有效的治疗方法。而冠脉慢血流或无复流现象则是增加 STEMI 患者介入术后死亡风险的一个危险因素^[10]。Ndrepepa 等^[11]的一项纳入 1 406 例 STEMI 患者行 PCI 后观察慢血流或无复流现象的发生情况, 经过平均 5 年的随访发现, 慢血流或无复流可作为 5 年远期死亡率的一个独立危险因素, 其风险比高达 1.66 (95% CI: 1.17~2.36, $P=0.004$)。既往研究发现, 慢血流或无复流的发生与多种病理因素相关, 其中包括内皮功能损伤、机体氧化应激、缺血再灌注损伤、血小板聚集和微血栓形成、冠脉远端栓塞、血管舒缩功能障碍等^[12-14], 但慢血流或无复流发生的确切机制, 目前仍不清楚。Celik 等^[15]提出介入术后冠脉远端血栓形成在慢血流或无复流的机制中扮演一个重要的角色。研究发现了一些高危因素, 诸如冠脉高血栓负荷, 右冠病变血管及女性均在一定程度上可预测 STEMI 患者介入术后冠脉远端血栓形成的风险^[15]。新近研究表明, STEMI 患者介入术后机体高炎症反应状态在慢血流或无复流现象的发生中起着十分重要的作用^[11, 16]。Celik 等^[3]证实外周血白细胞计数可预测慢血流或无复流现象的发生及其远期死亡风险。Guasti 等^[17]研究表明中性粒细胞计数增高与急性冠脉综合征患者的冠脉病变程度、心肌梗死面积、住院期间不良事件的发生、患者短期及长期死亡率相关。我国学者 He 等^[18]发现在中国人群中, NLR 能够预测 STEMI 患者远期院内主要不良心血管事件 (MACE) 和死亡率。本研究结果显示, MHR 可作为 STEMI 患者介入术后慢血流或无复流的一个独立危险因素, 即 MHR 每升高一个单位量, 慢血流或无复流发生风险将增加 39%, 同时 MHR 也可充当冠脉慢血流或无复流的一个预测因子。ROC 曲线分析, 对于慢血流或无复流患者的 MHR 最佳切点值为 13.37, 预测的敏感性和特异性分别为 67.4% 和 70.5%。

MHR 的检测与特异性炎症因子或其他标记物不同, 是临床的常规检查, 结果相对稳定, 便于观察。早有作者发现慢性肾病患者中^[7], MHR 与心血管疾病的发生也具有一定的相关性。而巨噬细胞和单核细胞是激活促炎因子的两种最重要的细胞表型, 在动脉粥样硬化的发生及发展中起着重要的作

用, 谓之脂质驱动的炎症性疾病^[19]。高密度脂蛋白胆固醇已被证明是一种有效的炎症抑制剂, 它可以通过有效的抑制巨噬细胞的迁移, 同时促进这些细胞内低密度脂蛋白胆固醇的氧化。一定程度的增加血清高密度脂蛋白胆固醇水平可改善动脉粥样硬化及减少一些心血管事件发生^[20]。因此推测 MHR 可作为冠脉不良事件发生的一个重要的预测因子。Canpolat 等^[6]研究证实高 MHR 比值能暗示机体的炎症反应及氧化应激水平升高, 并且还发现 MHR 与冠脉慢血流的发生密切相关。同时发现 MHR 是心房颤动射频消融术后复发的一个独立预测因子^[21]。Cetin 等^[22]指出 MHR 可作为 STEMI 患者 PCI 后支架内血栓形成的独立预测因子。此外, Çiçek 等^[23]研究发现 MHR 对于 STEMI 患者 PCI 后的短期及长期死亡风险、MACE、卒中及靶血管重构等均有一定的预测作用。

国内目前 MHR 与 STEMI 患者介入术后冠脉慢血流或无复流的相关性研究较少, 本研究仍具有一些局限性: (1) 本研究的 MHR 比值为一次的测量值, 并不能排除一些因急性冠脉事件引起的机体应激所致的一些异常值; (2) 研究中并未对其他一些特异性更强的炎症因子 (C 反应蛋白、白细胞介素及肿瘤坏死因子等) 进行相关探讨分析; (3) 本研究为小样本、单中心分析, 以后尚需更大样本量、多中心的研究来进一步证实 MHR 在 STEMI 介入术后慢血流或无复流现象发生中的预测价值。

结论: MHR 是 AMI 患者介入术后冠脉慢血流或无复流的一个独立危险因素。可作为临床慢血流或无复流现象发生的一个重要的预测因子, 因此, 对与 STEMI 患者入院时及时进行 MHR 检测, 有助于鉴别出 PCI 后发生慢血流或无复流的高风险人群, 可对此类高危患者采取积极的预防及治疗策略。

参考文献

- [1] China Society of Cardiology of Chinese Medical Association, Editorial Board of Chinese Journal of Cardiology. Guideline for diagnosis and treatment of patients with ST-elevation myocardial infarction. Chin J Cardiol, 2010, 38: 675-690.
- [2] Celik T, Kaya MG, Akpek M, et al. Predictive value of admission platelet volume indices for in-hospital major adverse cardiovascular events in acute ST-segment elevation myocardial infarction. Angiology, 2015, 66: 155-162.
- [3] Celik T, Balta S, Demir M, et al. Predictive value of admission red cell distribution width-platelet ratio for no-reflow phenomenon in acute ST segment elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention. Cardiol J, 2016, 23: 84-92.
- [4] Kelly RV, Cohen MG, Runge MS, et al. The no-reflow phenomenon in coronary arteries. J Thromb Haemost, 2004, 2: 1903-1907.
- [5] Schwartz BG, Kloner RA. Coronary no reflow. J Mol Cell Cardiol,

- 2012, 52: 873–882.
- [6] Canpolat U, Çetin EH, Cetin S, et al. Association of monocyte-to-HDL cholesterol ratio with slow coronary flow is linked to systemic inflammation. *Clin Appl Thromb Hemost*, 2016, 22: 476–482.
- [7] Kanbay M, Solak Y, Unal HU, et al. Monocyte count/HDL cholesterol ratio and cardiovascular events in patients with chronic kidney disease. *Int Urol Nephrol*, 2014, 46: 1619–1625.
- [8] Park JJ, Jang HJ, Oh IY, et al. Prognostic value of neutrophil to lymphocyte ratio in patients presenting with ST-elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention. *Am J Cardiol*, 2013, 111: 636–642.
- [9] 贺威, 范继红, 靳志涛, 等. 急性 ST 段抬高型心肌梗死患者入院早期中性粒细胞 / 淋巴细胞比值与院内主要不良心血管事件的相关性. *中国循环杂志*, 2016, 31: 36–39.
- [10] Yang YJ, Zhao JL. Great attention should be paid to the study of no-reflow phenomenon after reperfusion for acute myocardial infarction. *Natl Med J Chin*, 2005, 85: 2169–2170.
- [11] Ndrepepa G, Tiroch k, Fusaro M, et al. 5-Year prognostic value of no-reflow phenomenon after percutaneous coronary intervention in patients with acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*, 2010, 55: 2383–2389.
- [12] Kang S, Yang Y. Coronary microvascular reperfusion injury and no-reflow in acute myocardial infarction. *Clin Invest Med*, 2007, 30: E133–145.
- [13] Takahashi T, Hiasa Y, Ohara Y, et al. Relation between neutrophil counts on admission, microvascular injury, and left ventricular functional recovery in patients with an anterior wall first acute myocardial infarction treated with primary coronary angioplasty. *Am J Cardiol*, 2007, 100: 35–40.
- [14] Topoi EJ, Yadav JS. Recognition of the importance of embolization in atherosclerotic vascular disease. *Circulation*, 2000, 101: 570–580.
- [15] Celik T, Balta S, Ozturk C, et al. Predictors of no-reflow phenomenon in young patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention. *Angiology*, 2016, 67: 683–689.
- [16] Kurtul A, Murat SN, Yarlioglu M, et al. Mild to moderate renal impairment is associated with no-reflow phenomenon after primary percutaneous coronary intervention in acute myocardial infarction. *Angiology*, 2015, 66: 644–651.
- [17] Guasti L, Dentali F, Castiglioni L, et al. Neutrophils and clinical outcomes in patients with acute coronary syndromes and/or cardiac revascularisation. A systematic review on more than 34, 000 subjects. *Thromb Haemost*, 2011, 106: 591–599.
- [18] He J, Li J, Wang Y, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) predicts mortality and adverse-outcomes after ST-segment elevation myocardial infarction in Chinese people. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7: 4045–4056.
- [19] Hilgendorf I, Swirski FK, Robbins CS. Monocyte fate in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35: 272–279.
- [20] van de Woestijne AP, van der Graaf Y, Liem AH, et al. Low high-density lipoprotein cholesterol is not a risk factor for recurrent vascular events in patients with vascular disease on intensive lipid-lowering medication. *J Am Coll Cardiol*, 2013, 62: 1834–1841.
- [21] Canpolat U, Aytemir K, Yorgun H, et al. The role of preprocedural monocyte-to-high-density lipoprotein ratio in prediction of atrial fibrillation recurrence after cryoballoon-based catheter ablation. *Europace*, 2015, 17: 1807–1815.
- [22] Cetin EH, Cetin MS, Canpolat U, et al. Monocyte/HDL-cholesterol ratio predicts the definite stent thrombosis after primary percutaneous coronary intervention for ST-segment elevation myocardial infarction. *Biomark Med*, 2015, 9: 967–977.
- [23] Çiçek G, Kundi H, Bozbay M, et al. The relationship between admission monocyte HDL-C ratio with short-term and long-term mortality among STEMI patients treated with successful primary PCI. *Coron Artery Dis*, 2016, 27: 176–184.

(收稿日期:2016-07-18)

(编辑:常文静)

冠心病研究

血清钠水平对急性 ST 段抬高型心肌梗死患者近期预后的预测价值

张涛, 杨艳敏, 朱俊, 刘力生, 梁岩, 谭慧琼, 李建冬

摘要

目的: 探讨血清钠(Na^+)水平与急性 ST 段抬高型心肌梗死(STEMI)患者近期预后的关系。

方法: 回顾性分析符合欧洲心脏病学会和美国心脏病学会诊断标准, 发病 12 h 内的 STEMI 患者 7 461 例, 根据患者入院 24 h 内血清 Na^+ 水平最低值将患者分为 ≥ 135 mmol/L 组、130~134 mmol/L 组、 <130 mmol/L 组, 比较各组间基线信息、30 天死亡等主要不良事件发生率以及神经内分泌抑制治疗效果的差异并分析其与血清 Na^+ 水平的关系。

结果: <130 mmol/L 组 7 天和 30 天死亡率较其他两组高 (P 均 <0.001); <130 mmol/L 组与 ≥ 135 mmol/L 组相比, 30 天心性休克、心力衰竭和危及生命的心律失常发生率也显著升高 ($P<0.001$)。校正了年龄、利尿剂治疗及再灌注治疗等其他影响因素后, 血清 $\text{Na}^+<130$ mmol/L 依然与 7 天及 30 天死亡显著相关 (OR 分别为 1.69 及 1.57)。单变量和多变量分析均显示出血清 $\text{Na}^+<130$ mmol/L 与心性休克 (OR 分别为 1.75 及 1.64)、心力衰竭 (OR 分别为 1.42 及 1.30) 和危及生命的心律失常 (OR 分别为 1.53 及 1.34) 等次要终点事件显著相关。三组患者中, 无论单独应用血管紧张素转换酶抑制剂或 β 受体阻滞剂, 还是联合应用两种药物治疗, 与未使用这类药物的患者相比 30 天死亡率均明显降低 (P 均 <0.001); <130 mmol/L 组患者下降幅度较其他两组更为显著, 差异有统计学意义 ($P<0.001$)。

结论: 入院 24 h 内的血清 $\text{Na}^+<130$ mmol/L 是 STEMI 患者近期死亡、心性休克、心力衰竭和危及生命的心律失常等主要不良事件的危险因素。

关键词 心肌梗塞; 低钠血症; 预后

The Early Prognostic Value of Serum Sodium Level in Patients With Acute ST-elevation Myocardial Infarction

ZHANG Tao, YANG Yan-min, ZHU Jun, LIU Li-sheng, LIANG Yan, TAN Hui-qiong, LI Jian-dong.

Department of Emergency, Cardiovascular Institute and Fu Wai Hospital, CAMS and PUMC, Beijing (100037), China

Corresponding Author: YANG Yan-min, Email: yymfuwai@163.com

Abstract

Objective: To explore the relationship between serum sodium level and early prognosis in patients with acute ST-elevation myocardial infarction (STEMI).

Methods: A total of 7461 STEMI patients within 12h of onset who matched the diagnostic standard of European society of cardiology and American college of cardiology were retrospectively studied. According to serum sodium levels within 24h of admission, the patients were categorized into 3 groups: Serum sodium ≥ 135 mmol/L group, Serum sodium 130-134 mmol/L group and Serum sodium <130 mmol/L group. The baseline condition, 30-day mortality with other adverse events and the effect of neuroendocrinology inhibitor treatment were compared among 3 groups; their relationships to serum sodium level were analyzed.

Results: Serum sodium <130 mmol/L group had the higher 7-day and 30-day mortality than the other 2 groups, both $P<0.001$; compared with Serum sodium ≥ 135 mmol/L group, Serum sodium <130 mmol/L group presented the higher occurrence rates of 30-day cardiac shock, heart failure (HF) and life-threatening arrhythmia, $P<0.001$. With adjusted affecting factors of age, diuretic and reperfusion treatments, serum sodium <130 mmol/L was still related to 7-day and 30-day mortality (OR=1.69 and OR=1.57). Both single and multivariable analysis indicated that serum sodium <130 mmol/L was related to cardiac shock (OR=1.75 and OR=1.64), HF (OR=1.42 and OR=1.30) and life-threatening arrhythmia (OR=1.53 and

作者单位: 100037 北京市, 北京协和医学院 中国医学科学院 国家心血管病中心 阜外医院 急重症中心

作者简介: 张涛 主治医师 硕士研究生 主要从事心血管急重症研究 Email: Renascence2012@163.com 通讯作者: 杨艳敏 Email: yymfuwai@163.com

中图分类号: R541 文献标识码: A 文章编号: 1000-3614 (2017) 08-0742-06 doi:10.3969/j.issn.1000-3614.2017.08.004

OR=1.34)。In all 3 groups, the patients using ACE inhibitor, β -blocker or both medications had reduced 30-day mortality than those without such medication, all $P<0.001$; the reduction was more obvious in Serum sodium <130 mmol/L group than the other 2 groups, $P<0.001$.

Conclusion: Serum sodium level <130 mmol/L within 24h of admission was the risk factor for the early stage main adverse events as mortality, cardiac shock, HF and life-threatening arrhythmia in acute STEMI patients.

Key words Myocardial Infarction; Hyponatremia; Prognosis

(Chinese Circulation Journal, 2017,32:742.)

低钠血症通常定义为血清钠 (Na^+) <135 mmol/L, 是临床常见的一种电解质紊乱。低钠血症早已确认为心力衰竭(心衰)患者病情严重及预后不良的强力预测因子^[1-3]。已公布的针对急性和慢性心衰患者的风险预测模型中, 血清 Na^+ 水平都是一个重要的组成部分^[4,5]。心衰患者中低钠血症的发生、发展可能与肾素-血管紧张素-醛固酮系统的激活、精氨酸血管加压素的分泌增多以及交感神经系统激活等作用相关^[6-9]。在急性心肌梗死(AMI)的早期阶段, 也存在类似的神经内分泌激活^[10,11], 一些研究表明, 对于 AMI 来说, 低钠血症可能也是一个风险预测因子^[12-15]。但是在这些观察研究中, 血清 Na^+ 水平与 AMI 患者预后的关系仍未充分阐明。基于此情况, 本研究回顾分析 2001-06 至 2004-07 期间国内 CREATE-ECLA 研究中建立的数据资料, 评价血清 Na^+ 水平对急性 ST 段抬高型心肌梗死(STEMI)患者近期预后的预测价值, 同期观察神经内分泌抑制治疗对不同血清 Na^+ 水平患者预后改善方面的差异。

1 资料与方法

研究对象:2001-06 至 2004-07 CREATE-ECLA 研究中入选的 7 461 例符合欧洲心脏病学会和美国心脏病学会诊断标准^[16]、发病在 12 h 内的 STEMI 患者的临床资料, 男性 5 357 例(71.8%), 平均年龄(62.6 ± 11.9)岁。根据患者血清 Na^+ 水平(24 h 内多次测量者取最低值)将 7 461 例患者分为三组: ≥ 135 mmol/L 组($n=4 047$)、130~134mmol/L 组($n=2 605$); <130 mmol/L 组($n=809$)。观察终点: 主要终点为发病 7 天和 30 天内的全因死亡率。次要研究终点为发病 30 天内的其他不良事件, 包括心源性休克、心衰、危及生命的心律失常和再梗死。

统计学方法:(1)使用 SPSS13.0 软件进行分析。

连续数据以平均值 \pm 标准差表示, 分类数据以百分比表示。(2)三组患者的基本信息、基线病情、治疗情况间的差异以 Pearson χ^2 检验进行比较, 并使用通用线性模型比较平均值(F 检验)。(3)血清 Na^+ 浓度与终点事件之间的关系使用单变量及多变量逻辑回归分析检验, 血清 Na^+ 水平作为分类变量, 以 ≥ 135 mmol/L 组作为参考组。包括血清 Na^+ 水平在内的多种因素对 30 天死亡率的预测作用也采用多变量回归分析加以评估。多变量分析模型参考 GUSTO-I 试验^[17]模型, 包含年龄、体重、收缩压、Killip 分级、心率、心肌梗死部位、既往心肌梗死病史、年龄/Killip 分级比值、糖尿病、高血压和卒中病史、溶栓或经皮冠状动脉腔内成形术(PTCA)等变量, 并添加了入院时血糖。此外, 是否使用利尿剂也作为一个变量被加入分析以校正利尿治疗的影响。(4)不同血清 Na^+ 水平组间神经内分泌抑制治疗[单独使用血管紧张素转换酶抑制剂(ACEI)、单独使用 β 受体阻滞剂以及联合使用两种药物]对患者 30 天死亡率影响的差异采用多变量逻辑回归分析。(5) $P<0.05$ 为差异有统计学意义, 所有 P 值均为双侧检验值。

2 结果

三组患者临床资料的比较(表 1): <130 mmol/L 组与其他两组比较, 年龄偏大($P<0.001$), 女性占比较高($P<0.001$), 收缩压较低($P=0.016$), 心率较快($P<0.001$), Killip 分级 II ~ IV 级的患者的比例较高($P<0.001$), 入院时血糖水平较高($P<0.001$), 使用胰岛素的患者的比例较高($P<0.001$), 使用利尿剂的患者比例亦较高($P=0.005$); 接受溶栓治疗和再灌注治疗患者比例($P<0.001$)、接受 ACEI 治疗患者的比例较低($P=0.003$), 差异均有统计学意义($P<0.05$)。

表 1 7 461 例患者及各组的基线临床特征及住院治疗情况比较($\bar{x} \pm s$)

项目	全部患者 (n=7 461)	≥ 135 mmol/L 组 (n=4 047)	130~134 mmol/L 组 (n=2 605)	< 130 mmol/L 组 (n=809)	P 值
基线特征					
年龄(岁)	62.6 \pm 11.9	62.1 \pm 11.9	63.1 \pm 11.8	63.8 \pm 11.7	<0.001
女性[例(%)]	2 153 (28.9)	1 121 (27.7)	755 (29.0)	277 (34.3)	<0.001
体重(kg)	66.6 \pm 11.8	66.8 \pm 11.8	66.7 \pm 11.7	65.2 \pm 11.6	0.897
收缩压(mmHg)	126 \pm 26	126 \pm 26	125 \pm 26	124 \pm 27	0.016
心率(次/min)	77 \pm 19	77 \pm 19	77 \pm 19	80 \pm 20	<0.001
前壁心肌梗死[例(%)]	3 952 (53.0)	2 108 (52.1)	1 399 (53.7)	445 (55.0)	0.350
Kilip II ~ IV 级[例(%)]	1 366 (18.3)	733 (18.1)	477 (18.3)	156 (19.3)	<0.001
入院时血 Na ⁺ (mmol/L)	138.6 \pm 6.4	141.3 \pm 3.6	137.2 \pm 3.7	131.3 \pm 9.6	<0.001
入院时血糖(mmol/L)	8.6 \pm 4.3	8.2 \pm 3.8	8.9 \pm 4.5	9.3 \pm 5.5	<0.001
糖尿病病史[例(%)]	831 (11.1)	389 (9.6)	359 (13.8)	83 (10.2)	0.001
高血压病史[例(%)]	3 014 (40.4)	1 619 (40.0)	1 086 (41.7)	309 (38.2)	0.198
脑卒中史[例(%)]	704 (9.4)	380 (9.4)	250 (9.6)	74 (9.2)	0.654
心力衰竭史[例(%)]	194 (2.6)	105 (2.6)	63 (2.4)	26 (3.2)	0.409
既往心肌梗死[例(%)]	593 (7.9)	336 (8.3)	190 (7.3)	67 (8.3)	0.284
住院治疗情况[例(%)]					
再灌注治疗	4 650 (62.3)	2 566 (63.4)	1 631 (62.6)	453 (56.1)	<0.001
PTCA	846 (11.3)	356 (8.8)	396 (15.2)	94 (11.6)	<0.001
支架置入	767 (90.7)	327 (91.9)	358 (90.3)	82 (87.7)	0.384
溶栓治疗	39 25 (52.6)	2 278 (56.3)	1 266 (48.6)	381 (47.1)	<0.001
阿司匹林	7 138 (95.7)	3 909 (96.6)	2 464 (94.6)	765 (94.6)	0.061
氯吡格雷/噻氯吡啶	2 084 (27.9)	1 121 (27.7)	750 (28.8)	213 (26.3)	0.339
胰岛素	1 114 (14.9)	518 (12.8)	451 (17.3)	145 (17.9)	<0.001
β 受体阻滞剂	4 585 (61.5)	2 489 (61.5)	1 607 (61.7)	489 (60.4)	0.842
ACEI	5 350 (71.7)	2 930 (72.4)	1 876 (72.0)	544 (67.2)	0.003
利尿剂	1 910 (25.6)	983 (24.3)	696 (26.7)	231 (28.6)	0.005
硝酸酯	6 805 (91.2)	3 711 (91.7)	2 360 (90.6)	734 (90.8)	0.223
糖蛋白 IIb/IIIa 受体拮抗剂	31 (0.4)	16 (0.4)	13 (0.5)	2 (0.2)	0.487
降脂药物	5 313 (71.2)	2 873 (71.0)	1 868 (71.7)	572 (70.7)	0.771

注: PTCA: 经皮冠状动脉腔内成形术; ACEI: 血管紧张素转换酶抑制剂。1 mmHg=0.133 kPa

三组患者终点事件发生率的比较(图 1): 7 461 例患者 7 天内死亡 612 例(8.2%), 30 天内死亡 799 例(10.7%)。(1)7 天和 30 天死亡率: <130 mmol/L 组较其他两组均高(P 均 <0.001); 130~134 mmol/L 组($P=0.505$)与 ≥ 135 mmol/L 组($P=0.522$)间无显著性差异。(2) <130 mmol/L 组与 ≥ 135 mmol/L 组相比, 30 天内心源性休克、心衰和危及生命的心律失常发生率显著升高($P<0.001$); ≥ 135 mmol/L 组与 130~134 mmol/L 组比较差异无统计学意义(5.9% vs 6.2%, $P=0.599$; 19.0% vs 18.0%, $P=0.315$; 8.5% vs 9.0%,

$P=0.535$)。(3) 三组间再梗死的发生率差异无统计学意义($P=0.675$)。

血清 Na⁺ 水平与终点事件的相关性(表 2): 血清 Na⁺<130 mmol/L 与 7 天及 30 天死亡率升高均呈现出明显的相关性, 校正了年龄、利尿剂治疗及再灌注治疗等其他影响因素后, 血清 Na⁺<130 mmol/L 依然与 7 天及 30 天死亡显著相关(OR 分别为 1.69 及 1.57)。此外, 单变量和多变量分析均显示出血清 Na⁺<130 mmol/L 也与心源性休克、心衰和危及生命的心律失常等次要终点事件显著相关。

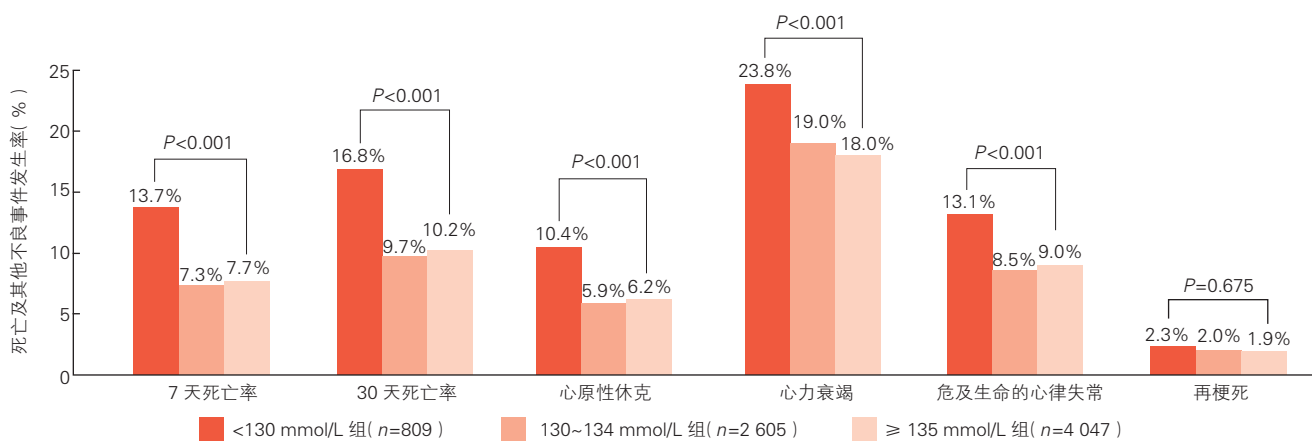


图 1 三组患者死亡率及其他不良事件发生率

表 2 血清 Na⁺ 水平与终点事件的相关性关系

变量	血清 Na ⁺ (mmol/L)			P 值
	≥ 135 OR(参考值)	130~134 OR (95% CI)	< 130 OR (95% CI)	
7 天死亡率				
单变量分析	1	0.94 (0.78~1.13)	1.90 (1.51~2.40)	<0.001
校正年龄	1	0.89 (0.73~1.07)	1.73 (1.37~2.20)	<0.001
校正年龄及利尿剂	1	0.87 (0.72~1.06)	1.71 (1.35~2.13)	<0.001
校正年龄、利尿剂治疗及再灌注治疗	1	0.87 (0.72~1.06)	1.69 (1.33~2.15)	<0.001
多变量分析	1	0.91 (0.74~1.12)	1.50 (1.16~1.94)	0.001
30 天死亡率				
单变量分析	1	0.95 (0.80~1.12)	1.79 (1.45~2.21)	<0.001
校正年龄	1	0.88 (0.74~1.05)	1.61 (1.29~2.00)	<0.001
校正年龄及利尿剂	1	0.86 (0.73~1.03)	1.58 (1.27~1.98)	<0.001
校正年龄、利尿剂治疗及再灌注治疗	1	0.86 (0.73~1.03)	1.57 (1.25~1.96)	<0.001
多变量分析	1	0.88 (0.74~1.06)	1.44 (1.14~1.82)	<0.001
心源性休克				
单变量分析	1	0.94 (0.77~1.16)	1.75 (1.35~2.27)	<0.001
多变量分析	1	0.94 (0.75~1.17)	1.64 (1.24~2.18)	0.001
心力衰竭				
单变量分析	1	1.07 (0.94~1.21)	1.42 (1.19~1.70)	0.001
多变量分析	1	1.08 (0.93~1.27)	1.30 (1.04~1.63)	0.023
危及生命的心律失常				
单变量分析	1	0.94 (0.79~1.12)	1.53 (1.21~1.92)	<0.001
多变量分析	1	0.92 (0.77~1.11)	1.34 (1.05~1.71)	0.019
再梗死				
单变量分析	1	1.04 (0.73~1.49)	1.26 (0.76~2.09)	0.676
多变量分析	1	1.00 (0.69~1.43)	1.18 (0.71~1.98)	0.799

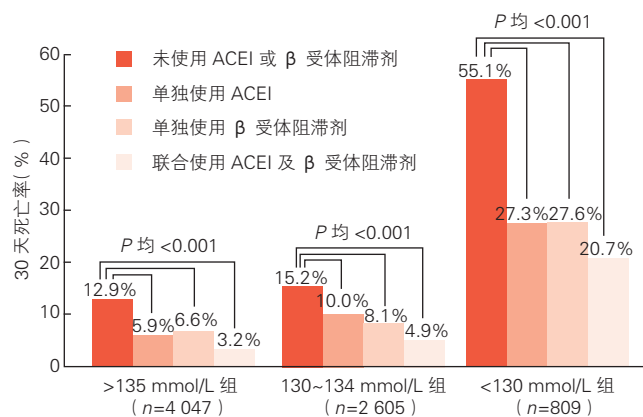
30 天死亡率预测因素的多变量回归分析 (表 3): 参考 GUSTO-I 试验模型, 建立针对 7 461 例患者 30 天死亡率的预测模型, 包含年龄、性别、心率、收缩压、Killip 分级、年龄/Killip 分级比值、心肌梗死部位、卒中史、PTCA 等因素, 并添加了入院时血糖、血清 Na⁺ 水平以及是否使用利尿剂等因素。经过校正的模型显示, 血清 Na⁺<130 mmol/L 是 30 天死亡的预测因子 (OR=1.44, 95%CI: 1.14~1.82, P<0.001), 而血清 Na⁺ 130~134 mmol/L 与 30 天死亡的相关性并不显著 (OR=0.88, 95%CI: 0.74~1.06, P=0.090)。

表 3 30 天死亡率预测因素的多变量回归分析

变量	OR (95% CI)	P 值
年龄	1.06 (1.05~1.07)	<0.001
女性	1.36 (1.15~1.61)	<0.001
心率	1.01 (1.01~1.02)	<0.001
收缩压 < 90 mmHg	2.94 (2.44~3.53)	<0.001
Killip II ~ IV 级	2.47 (2.07~2.95)	<0.001
年龄/Killip 分级比值	1.01 (1.00~1.01)	<0.001
前壁心肌梗死	1.35 (1.14~1.59)	<0.001
血清 Na⁺ 水平		
≥ 135 mmol/L	1	
130~134 mmol/L	0.88 (0.74~1.06)	0.090
<130 mmol/L	1.44 (1.14~1.82)	<0.001
入院时血糖	1.06 (1.03~1.07)	<0.001
卒中史	1.41 (1.11~1.81)	0.006
PTCA	0.24 (0.16~0.37)	<0.001
利尿剂治疗	1.87 (1.56~2.23)	<0.001

注: PTCA: 经皮冠状动脉腔内成形术。1 mmHg=0.133 kPa

神经内分泌抑制治疗对三组患者 30 天死亡率影响的比较 (图 2): 无论单独应用 ACEI 或 β 受体阻滞剂还是联合应用两种药物, 三组患者 30 天死亡率较未使用者均降低 (P 均 <0.001); 130~134 mmol/L 组和 ≥ 135 mmol/L 组间 30 天死亡率降低幅度差异无统计学意义 (P=0.784), <130 mmol/L 组患者较其他两组降幅均更为显著, 差异有统计学意义 (P<0.001)。



注: ACEI: 血管紧张素转换酶抑制剂

图 2 神经内分泌抑制治疗对三组患者 30 天死亡率的影响

3 讨论

本研究评估入院后 24 h 内血清 Na⁺ 水平对 STEMI 患者预后的预测价值。低钠血症在 STEMI 患者急性期相当常见, 其与许多提示患者预后不良的其他基线特征相关, 尤其是血清 Na⁺<130 mmol/L。血清 Na⁺<130 mmol/L 患者的近期死亡率以及心源性休克、心衰、危及生命的心律失常的发生率均显著升高。校正了其他已知的危险因素后, Na⁺<130 mmol/L 依然是上述不良事件的独立预测因子。而神经内分泌抑制治

疗(ACEI 和 β 受体阻滞剂)降低患者死亡率的作用在血清 $\text{Na}^+ < 130 \text{ mmol/L}$ 的患者更加明显。

低钠血症是住院患者常见的电解质紊乱类型^[18], 此前亦有许多研究提示低钠血症与 AMI 患者的不良预后之间存在联系, 但具体机制尚不明确^[12-15, 19, 20]。已知低钠血症是心衰患者预后的预测因素^[1-5]。血清 Na^+ 水平偏低的心衰患者神经内分泌激素水平较血清 Na^+ 正常患者的为高^[6-9]。心衰患者的血清 Na^+ 水平降低是反映神经内分泌激活和疾病进展的一个标志^[21]。实际上, 在 AMI 患者的急性期也存在类似的神经内分泌激活, 包括肾素-血管紧张素-醛固酮系统或交感神经系统的激活和(或)或血管加压素释放^[10, 11]。血管紧张素 II 和醛固酮水平的升高引起肾小管对 Na^+ 、水的排泄减少。交感神经系统的激活引起肾血管收缩导致肾血流量下降、激活肾素-血管紧张素-醛固酮系统并可以直接作用于近曲小管系统^[22]。最后, AMI 导致的非渗透性刺激, 如左心室功能不全、疼痛、恶心呕吐以及镇痛和利尿治疗等, 引起血管加压素释放增加, 导致肾集合管水通道蛋白数量上调、自由水潴留增加从而进一步加重低钠血症^[23]。因此, AMI 患者的低钠血症可能是显著的神经内分泌激活的结果, 因而与疾病的严重程度相关。另外, 本研究结果显示低钠血症也与其他一些已知的、提示 AMI 患者预后不良的高危因素存在相关性, 包括高龄、女性、糖尿病病史、低血压和 Killip 分级偏高等^[17, 24], 尤其是血清 $\text{Na}^+ < 130 \text{ mmol/L}$ 者。这可能是低钠血症患者预后不良的另一个原因。

关于利尿治疗对研究的影响, 本研究发现低钠血症患者中利尿剂的使用更多。一方面, 利尿治疗可以导致钠排泄增多从而导致低钠血症, 但另一方面, 更多的利尿治疗很可能也是该组患者病情更重的提示。尽管利尿治疗对研究和分析存在一定干扰作用, 但在校正了利尿治疗及其他并存的已知危险因素的影响后, 血清 $\text{Na}^+ < 130 \text{ mmol/L}$ 仍然是患者近期死亡及其他不良事件的独立预测因子。

本研究还显示 β 受体阻滞剂和 ACEI 类药物的治疗效果在不同血清 Na^+ 水平患者间存在差异, 血清 $\text{Na}^+ < 130 \text{ mmol/L}$ 的患者无论使用两种药物中的一种或联合应用两种药物, 30 天死亡率的降低均更为显著。正如前文所述, AMI 患者的低钠血症可能是显著的神经内分泌激活的结果, 因而与疾病的严重程度相关, 不难理解神经内分泌抑制治疗对严重低钠血症患者的效果更为显著。与此类似的, 既往

研究提示血清 Na^+ 偏低的心衰患者较血清 Na^+ 正常的患者接受 ACEI 治疗后生存率的改善更为明显^[25]; β 受体阻滞剂降低死亡率的效果与心率下降的幅度有关, 对初始心率较快的患者更为明显^[26, 27]。而本研究中, 血清 $\text{Na}^+ < 130 \text{ mmol/L}$ 的患者较另两组患者心率也正是更快。这些结果提示应全力确保所有具备适应症的患者、尤其是存在低钠血症的患者均接受现有指南推荐的 ACEI 和 β 受体阻滞剂治疗。

本研究为回顾性研究, 存在一定的局限性。首先, 对于 AMI 患者而言, 入院 24 h 内低钠血症是患者预后不良的标志, 但未能对低钠血症的发生机制进行深入探讨, 但该现象的揭示仍具有重要临床意义。其次, 资料所限, 本研究仅能回顾分析患者入院后 24 h 内血清 Na^+ 水平与患者预后的联系, 并不清楚患者在整个住院治疗期间血清 Na^+ 浓度的连续变化情况, 无法评估持续性低钠血症对患者预后的预测价值。

综上所述, 入院 24 h 内的血清 Na^+ 水平 $< 130 \text{ mmol/L}$ 是 STEMI 患者近期死亡和包括心源性休克、心衰和危及生命的心律失常等主要不良事件的危险因素。低钠血症可能是神经内分泌系统过度激活的一个标志, 神经内分泌抑制治疗对血清 $\text{Na}^+ < 130 \text{ mmol/L}$ 的患者降低死亡率的作用更为显著。因此应全力确保所有具备适应证的患者, 尤其是存在低钠血症的患者均接受现有指南推荐的 ACEI 和 β 受体阻滞剂治疗。持续性低钠血症对 STEMI 患者预后的预测价值以及纠正低钠血症是否可以改善患者的预后尚需进一步研究。

参考文献

- [1] Klein L, O'Connor CM, Leimberger JD, et al. Lower serum sodium is associated with increased short-term mortality in hospitalized patients with worsening heart failure: results from the Outcomes of a Prospective Trial of Intravenous Milrinone for Exacerbations of Chronic Heart Failure (OPTIME-CHF) study. *Circulation*, 2005, 111: 2454-2460.
- [2] Gheorghide M, Abraham WT, Albert NM, et al. Relationship between admission serum sodium concentration and clinical outcomes in patients hospitalized for heart failure: an analysis from the OPTIMIZE-HF registry. *Eur Heart J*, 2007, 28: 980-988.
- [3] 巫雪飞, 邹长虹, 黄燕, 等. 住院扩张型心肌病患者低钠血症的发生率及其对预后的判断价值. *中国循环杂志*, 2015, 30: 529-533.
- [4] Fonarow GC, Adams KF Jr, Abraham WT, et al. Risk stratification for in-hospital mortality in acutely decompensated heart failure: classification and regression tree analysis. *JAMA*, 2005, 293: 572-580.
- [5] Gheorghide M, Abraham WT, Albert NM, et al. Systolic blood pressure at admission, clinical characteristics, and outcomes in patients hospitalized with acute heart failure. *JAMA*, 2006, 296: 2217-

- 2226.
- [6] Goldsmith SR, Gheorghide M. Vasopressin antagonism in heart failure. *J Am Coll Cardiol*, 2005, 46: 1785-1791.
- [7] Dzau VJ, Colucci WS, Hollenberg NK, et al. Relation of the renin-angiotensin-aldosterone system to clinical state in congestive heart failure. *Circulation*, 1981, 63: 645-651.
- [8] Chidsey CA, Braunwald E, Morrow AG. Catecholamine excretion and cardiac stores of norepinephrine in congestive heart failure. *Am J Med*, 1965, 39: 442-451.
- [9] 贺桦, 许顶立, 刘彦波. 慢性心力衰竭伴低钠血症患者血浆血管加压素和脑钠肽水平的变化. *中国循环杂志*, 2004, 19: 529-533.
- [10] Sigurdsson A, Held P, Swedberg K. Short- and long-term neurohormonal activation following acute myocardial infarction. *Am Heart J*, 1993, 126: 1068-1076.
- [11] Foy SG, Crozier IG, Richards AM, et al. Neurohormonal changes after acute myocardial infarction: relationships with haemodynamic indices and effects of ACE inhibition. *Eur Heart J*, 1995, 16: 770-778.
- [12] Goldberg A, Hammerman H, Petcherski S, et al. Prognostic importance of hyponatremia in acute ST-elevation myocardial infarction. *Am J Med*, 2004, 117: 242-248.
- [13] Goldberg A, Hammerman H, Petcherski S, et al. Hyponatremia and long-term mortality in survivors of acute ST-elevation myocardial infarction. *Arch Intern Med*, 2006, 166: 781-786.
- [14] Bae MH, Kim JH, Jang SY, et al. Hyponatremia at discharge as a predictor of 12-month clinical outcomes in hospital survivors after acute myocardial infarction. *Heart Vessels*, 2017, 32: 126-133.
- [15] Burkhardt K, Kirchberger I, Heier M, et al. Hyponatraemia on admission to hospital is associated with increased long-term risk of mortality in survivors of myocardial infarction. *Eur J Prev Cardiol*, 2015, 22: 1419-1426.
- [16] Alpert JS, Thygesen K, Antman E, et al. Myocardial infarction redefined: a consensus document of the Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the Redefinition of Myocardial Infarction. *J Am Coll Cardiol*, 2000, 36: 959-969.
- [17] Lee KL, Woodlief LH, Topol EJ, et al. Predictors of 30-day mortality in the era of reperfusion for acute myocardial infarction. Results from an international trial of 41, 021 patients. GUSTO-I Investigators. *Circulation*, 1995, 91: 1659-1668.
- [18] Anderson RJ, Chung HM, Kluge R, et al. Hyponatremia: a prospective analysis of its epidemiology and the pathogenetic role of vasopressin. *Ann Intern Med*, 1985, 102: 164-168.
- [19] Flear CT, Hilton P. Hyponatraemia and severity and outcome of myocardial infarction. *Br Med J*, 1979, 1: 1242-1246.
- [20] Singla I, Zahid M, Good CB, et al. Effect of hyponatremia (<135 mmol/L) on outcome in patients with non-ST-elevation acute coronary syndrome. *Am J Cardiol*, 2007, 100: 406-408.
- [21] Lilly LS, Dzau VJ, Williams GH, et al. Hyponatremia in congestive heart failure: implications for neurohumoral activation and responses to orthostasis. *J Clin Endocrinol Metab*, 1984, 59: 924-930.
- [22] Schrier RW, Berl T. Mechanism of effect of alpha-adrenergic stimulation with norepinephrine on renal water excretion. *J Clin Invest*, 1973, 52: 502-511.
- [23] Schrier RW, Berl T, Anderson RJ. Osmotic and nonosmotic control of vasopressin release. *Am J Physiol*, 1979, 236: F321-332.
- [24] Boersma E, Pieper KS, Steyerberg EW, et al. Predictors of outcome in patients with acute coronary syndromes without persistent ST-segment elevation. Results from an international trial of 9461 patients. The PURSUIT Investigators. *Circulation*, 2000, 101: 2557-2567.
- [25] Lee WH, Packer M. Prognostic importance of serum sodium concentration and its modification by converting-enzyme inhibition in patients with severe chronic heart failure. *Circulation*, 1986, 73: 257-267.
- [26] Kjekshus J. Heart rate reduction—a mechanism of benefit? *Eur Heart J*, 1987, 8 (Suppl) L: 115-122.
- [27] Beta-Blocker Heart Attack Research Group. A randomized trial of propranolol in patients with acute myocardial infarction. I. Mortality results. *JAMA*, 1982, 247: 1707-1714.

(收稿日期: 2016-11-04)

(编辑: 曹洪红)

读者·作者·编者**2016 版中国科学技术信息研究所科技论文统计结果：
2015 年《中国循环杂志》核心影响因子 1.762**

2016 版科技部中国科学技术信息研究所发布的 2015 年中国科技论文统计结果表明：在全国 1 985 种科技核心期刊中，《中国循环杂志》核心影响因子 1.762，排名第 48 位。与 2014 年相比，2015 年《中国循环杂志》核心影响因子上升 37.23%，由 1.284 增至 1.762。

《中国循环杂志》是中文核心期刊和中国科技核心期刊。以从事心血管病学和相关学科的专业临床医生、科研和教学人员为读者对象，设有述评、论著、专题笔谈、病例报告、经验教训以及临床病例讨论、综述、学习园地、国内外学术动态等栏目，诚请广大作者和读者踊跃投稿和订阅。

《中国循环杂志》编辑部

冠心病研究

血清肝素结合表皮生长因子 mRNA 水平与急性冠状动脉综合征的关系

韩鹏黎, 程晓丹, 刘建华, 刘新叶, 池豪, 曹巍, 杨东伟

摘要

目的: 探讨血清中肝素结合表皮生长因子(HB-EGF)信使核糖核酸(mRNA)水平与急性冠状动脉(冠脉)综合征的关系。

方法: 采用逆转录-聚合酶链式反应(RT-PCR)检测 50 例急性冠脉综合征患者(ACS 组)及 100 例正常对照组(NC 组)血清中 HB-EGF mRNA 的表达水平, 运用 Logistic 回归分析评估其与急性冠脉综合征的关系。

结果: 与 NC 组相比, ACS 组患者的 HB-EGF mRNA 水平较高(0.22 ± 0.73 vs 0.46 ± 0.14 , $P < 0.05$)。校正高血压、吸烟、甘油三酯、总胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇、体重指数等单因素分析中有意义的因素后, HB-EGF mRNA 水平与急性冠脉综合征有关(比值比 = 5.813, 95% 可信区间: 2.342~14.426, $P < 0.001$), 即 HB-EGF mRNA 每增加 0.1 个灰度值, 急性冠脉综合征风险增加 4.813 倍。

结论: 血清中 HB-EGF mRNA 水平升高与急性冠脉综合征有关。

关键词 肝素结合表皮生长因子; RNA, 信使; 急性冠状动脉综合征

Relationship Between Serum mRNA Level of Heparin Binding Epidermal Growth Factor and Acute Coronary Syndrome Occurrence

HAN Peng-li, CHENG Xiao-dan, LIU Jian-hua, LIU Xin-ye, CHI Hao, CAO Wei, YANG Dong-wei.

Center of Translational Medicine, Zhengzhou Central Hospital Affiliated to Zhengzhou University, Zhengzhou (450007), Henan, China

Corresponding Author: YANG Dong-wei, Email: yangdongwei@126.com

Abstract

Objective: To evaluate the relationship between serum mRNA level of heparin binding epidermal growth factor (HB-EGF) and acute coronary syndrome (ACS) occurrence.

Methods: Our research included in 2 groups: ACS group, $n=50$ patients and Control group, $n=100$ normal subjects. Serum HB-EGF mRNA level was examined by RT-PCR and the relationship between HB-EGF mRNA and ACS occurrence was assessed by Logistic regression analysis.

Results: Compared with Control group, the serum HB-EGF mRNA level of ACS group was higher (0.22 ± 0.73) vs (0.46 ± 0.14), $P < 0.05$. With adjusted meaningful factors of hypertension, smoking, TG, TC, LDL-C, HDL-C and BMI by single factor analysis, multi Logistic regression analysis indicated that serum HB-EGF mRNA was related to ACS occurrence (OR=5.813, 95% CI 2.342-14.426, $P < 0.001$) which meant that upon 0.1 grey value of HB-EGF mRNA elevation, the risk of ACS occurrence may increase 4.813 folds accordingly.

Conclusion: Serum HB-EGF mRNA level was related to ACS occurrence.

Key words Heparin binding epidermal growth factor; mRNA; Acute coronary syndrome

(Chinese Circulation Journal, 2017,32:748.)

冠心病是一组因冠状动脉(冠脉)粥样硬化致使血管腔狭窄、阻塞或功能性改变如冠脉痉挛导致心

肌缺血、缺氧或坏死而引起的心脏病变,是严重危害人类健康的常见病,其病理改变在本质上是动脉

基金项目: 河南省科技厅科技攻关项目(142102310460)

作者单位: 450007 河南省郑州市, 郑州大学附属郑州中心医院 转化医学中心(韩鹏黎、曹巍), 心血管内科(程晓丹、刘建华、刘新叶、池豪、杨东伟)

作者简介: 韩鹏黎 药师 硕士 主要研究方向为药理学 Email: hanpengli2013@163.com 通讯作者: 杨东伟 Email: yangdongwei@126.com

中图分类号: R54 文献标识码: A 文章编号: 1000-3614 (2017) 08-0748-04 doi:10.3969/j.issn.1000-3614.2017.08.005

粥样硬化。近 10 年来我国居民冠心病及急性心肌梗死死亡率呈快速上升趋势。农村上升更为明显^[1]。动脉粥样硬化的发生是一个十分漫长的过程,是内皮细胞功能紊乱和炎性反应的结果,但目前动脉粥样硬化的发病机制尚未完全明确。急性冠脉综合征(ACS)是冠心病中较严重的类型,是以冠脉粥样硬化斑块破裂或糜烂,继发完全或不完全闭塞性血栓形成成为病理基础的一组临床综合征,易发生心力衰竭以及猝死等严重并发症^[2]。

近年来,国内外相关研究显示,肝素结合表皮生长因子(HB-EGF)作为一种内皮细胞生长因子,具有广泛的生物学活性。HB-EGF可以促进平滑肌细胞有丝分裂、增殖及迁移,促进血管内膜增生以及血管重构^[3]。有研究发现,冠心病患者血清 HB-EGF 较高^[4];2010 年刘红旗等^[5]发现,在动脉粥样硬化斑块组织的平滑肌细胞和巨噬细胞中,HB-EGF 表达显著增高。因此,HB-EGF 可能促进动脉粥样硬化的发生和发展。本研究通过逆转录-聚合酶链式反应(RT-PCR)技术分析 ACS 患者血清中 HB-EGF 信使核糖核酸(mRNA)的表达情况,分析 HB-EGF mRNA 水平与 ACS 的关系,以期 ACS 分子基因水平上的防治提供新思路和新途径。

1 资料与方法

一般资料:从郑州大学附属郑州中心医院 2015~2016 年的住院病例中选取入院诊断考虑 ACS 并通过冠脉造影(CAG)确诊的 50 例患者作为 ACS 组,以同期经冠脉造影排除冠心病诊断的 100 例患者作为正常对照组(NC 组)。所有入组病例均排除严重肝肾脑肺疾病、严重瓣膜性心脏病、心肌病、风湿性心脏病、肺原性心脏病、重症感染、甲状腺功能亢进症、活动性结核、近 1 个月内应用激素或免疫抑制剂、肿瘤、自身免疫性疾病、感染性疾病或感染急性期、银屑病、妊娠、近期皮肤及组织损伤等疾病。

试剂:血液 RNA 提取试剂盒、HiFi-MMLV cDNA 第一链合成试剂盒、2×Taq MasterMix 逆转录试剂盒、100bp Ladder Marker 试剂盒(上述试剂均购自北京康为世纪生物公司);PCR 引物及 PCR 反应体系 mix 由上海生工生物工程技术有限公司合成。

ACS 诊断:ACS 包括 ST 段抬高型心肌梗死和非 ST 段抬高型 ACS,ACS 患者诊断参照中华医学会心

血管病学分会 2015 年《急性 ST 段抬高型心肌梗死诊断和治疗指南》^[6,7]、2012 年《非 ST 段抬高 ACS 诊断和治疗指南》^[8]中的诊断标准。

基本指标的测量:身高及体重测量:要求选用同一身高体重计测量,所有能站立的对象均于入院后第一个清晨在空腹状态下,穿单衣单裤、赤脚,脚跟、骶骨部及两肩胛间紧靠身高计立柱上;不能站立者采用赛康 985 型电子病床透析秤测量患者体重,于患者能够站立时测量身高。所有数据均连续测两次取其平均值,计算体重指数(BMI)。

血脂测定:所有患者均于入院后第一个清晨空腹采取外周静脉血,测定其甘油三酯(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),所有标本使用德国罗氏全自动生化仪测定。

外周血提取 RNA:所有患者均采取外周动脉血(用柠檬酸盐、乙二胺四乙酸或肝素等抗凝剂处理过的血液样品),所取标本按购买试剂盒说明书严格执行 RNA 提取,提取过程中保持无菌原则,取 1 μl RNA 经 1% 琼脂糖凝胶电泳鉴定其完整性。并于紫外分光光度计准确定量,要求 OD260/OD280 处于 1.8~2.2 之间。

RNA 逆转录成 cDNA:提取 RNA 后立即行逆转录,按逆转录试剂盒说明书严格执行,所得逆转录产物保存于 -20℃ 冰箱。

RT-PCR(表 1):收集所有标本后进行 RT-PCR。PCR 总反应体系为 20 μl,其中逆转录产物 2 μl、Mix 10 μl、各基因上下游引物分别 1 μl、无核糖核酸酶水 6 μl。PCR 仪型号:德国 biometra T-Gradient。HB-EGF 扩增条件:94℃ 预变性 5 min(94℃ 变性 30 s, 56℃ 退火 40 s, 72℃ 延伸 30 s)循环 34 次,72℃ 延伸 7 min,4℃ 保存;甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)扩增条件:94℃ 预变性 5 min(94℃ 变性 30 s, 64℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 30 s)循环 34 次,72℃ 延伸 7 min, 4℃ 保存。

PCR 产物琼脂糖凝胶电泳及结果分析:配制 1.5% 琼脂糖凝胶,取 PCR 目的基因产物及甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)各 3 μl 点样后进行电泳,设置恒压为 90 V,约 30 min 后结束电泳,用凝胶成像分析系统(型号:美国 alpha3400)观察结果,拍照后测定 DNA 扩增带光密度值,取目的基因光密度值与相应 GAPDH 光密度值之比作为统计参数。

统计学方法:应用 SPSS 20.0 软件进行统计学处理,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 Logistic 回归分析法

评估 HB-EGF mRNA 水平与 ACS 的关系。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 逆转录-聚合酶链式反应引物设计与合成

目标基因	引物序列	片段长度 (bp)
GAPDH	5' -CCGGGAACTGTGGCGTGATGG-3'	309
	5' -AGGTGGAGGAGTGGGTGTCGCTGTT-3'	
HB-EGF	5' -ACTCCTCATCCCCACAAT-3'	206
	5' -GCAAGACTGAAGTCCAATC-3'	

注: GAPDH: 甘油醛-3-磷酸脱氢酶; HB-EGF: 肝素结合表皮生长因子

2 结果

2.1 ACS 组和 NC 组患者的临床资料比较(表 2)

ACS 组和 NC 组患者的临床资料比较,除年龄、性别组成、糖尿病外,高血压、吸烟、BMI、TG、TC、LDL-C、HDL-C、HB-EGF mRNA 等指标在两组间的差异均有统计学意义。

表 2 ACS 组与 NC 组患者的临床资料($\bar{x} \pm s$)

项目	ACS 组 ($n=50$)	NC 组 ($n=100$)	P 值
年龄 (岁)	61.66 ± 12.70	64.79 ± 8.69	0.078
性别 (男/女)	41/9	77/23	0.481
高血压 [例 (%)]	21 (42)	20 (20)	<0.05
糖尿病 [例 (%)]	9 (18)	8 (8)	0.069
吸烟 [例 (%)]	19 (38)	15 (15)	<0.05
体重指数 (kg/m^2)	24.66 ± 2.49	21.89 ± 1.76	<0.05
总胆固醇 (mmol/L)	4.91 ± 1.46	3.56 ± 0.65	<0.05
甘油三酯 (mmol/L)	2.40 ± 3.48	1.24 ± 0.42	<0.05
低密度脂蛋白胆固醇 (mmol/L)	3.15 ± 1.12	1.95 ± 0.49	<0.05
高密度脂蛋白胆固醇 (mmol/L)	0.96 ± 0.21	1.22 ± 0.32	<0.05
HB-EGF mRNA	0.46 ± 0.14	0.22 ± 0.73	<0.05

注: ACS: 急性冠状动脉综合征; NC: 正常对照; HB-EGF mRNA: 肝素结合表皮生长因子信使核糖核酸

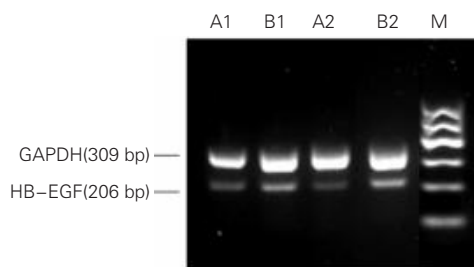
2.2 单因素 Logistic 回归分析结果(表 3)

以是否罹患 ACS 为应变量 (1=是, 0=否), 将 HB-EGF mRNA × 10、年龄、性别、高血压、糖尿病、吸烟、BMI、TC、TG、LDL-C、高血压等因素作为自变量 (性别: 1=男, 0=女; 高血压: 1=是, 2=否; 糖尿病: 1=是, 2=否; 吸烟: 1=是, 2=否), 进行单因素 Logistic 回归分析, 结果发现, HB-EGF mRNA 水平与 ACS 有关 [比值比 (OR) = 4.810, 95% 可信区间 (CI): 3.080~7.514, $P < 0.001$]; PCR 扩增条带也提示, ACS 组患者的 HB-EGF mRNA 水平高于 NC 组(图 1)。另外, 单因素分析显示, 高血压、吸烟、BMI、TG、TC、LDL-C、HDL-C 等因素均与 ACS 有关。

2.3 多因素 Logistic 回归分析结果

多因素回归分析校正了高血压、吸烟、BMI、TG、TC、LDL-C、HDL-C 等在单因素分析中有意义的指标, 结果发现, HB-EGF mRNA × 10 仍

然与是否罹患 ACS 有关 (OR=5.813, 95%CI: 2.342~14.426, $P < 0.001$), 即 HB-EGF mRNA 水平每增加 0.1 个灰度值, ACS 风险增加 4.813 倍。



注: GAPDH: 甘油醛-3-磷酸脱氢酶; HB-EGF: 肝素结合表皮生长因子; NC: 正常对照; ACS: 急性冠状动脉综合征; M: 标记; A: NC 组; B: ACS 组

图 1 ACS 组和 NC 组患者血清 HB-EGF 信使核糖核酸的表达情况

表 3 单因素 Logistic 回归分析结果

影响因素	比值比 (95% 可信区间)	P 值
HB-EGF mRNA × 10	4.810 (3.080~7.514)	<0.001
体重指数	1.831 (1.487~2.255)	<0.001
总胆固醇	5.434 (3.044~9.703)	<0.001
低密度脂蛋白胆固醇	8.388 (4.234~16.615)	0.046
高密度脂蛋白胆固醇	0.024 (0.004~0.136)	<0.001
甘油三酯	2.834 (1.551~5.180)	0.001
高血压	2.897 (1.375~6.103)	0.005
吸烟	3.473 (1.573~7.669)	0.002

注: HB-EGF mRNA: 肝素结合表皮生长因子信使核糖核酸

3 讨论

HB-EGF 是表皮生长因子家族成员之一, 是多种类型细胞有丝分裂原, 亦涉及许多生理和病理过程, 包括心脏发育及心肌修复、心肌肥大、皮肤伤口愈合、眼睑形成、肾集合管生成、胚泡着床、肺动脉高压、肿瘤形成等。HB-EGF 在动脉粥样硬化、平滑肌细胞增生中有重要作用^[9]。HB-EGF 与胞膜上表皮生长因子受体 (EGFR)、硫酸乙酰肝素蛋白多糖 (HSPG) 紧密结合, 通过蛋白激酶 C 和 Ca^{2+} 等信号途径发挥作用, 促进平滑肌细胞、上皮细胞、系膜细胞、纤维细胞等多种细胞增生^[10]。

Matsumoto 等^[4]发现, 在动脉粥样硬化斑块组织中, HB-EGF 在血管平滑肌细胞和巨噬细胞的表达显著提高, 促进动脉硬化, 而在非动脉粥样硬化成人动脉中, 内膜平滑肌细胞 HB-EGF 呈均匀分布, 且随着年龄的增加而缓慢增加。Reape 等^[11]在动脉粥样硬化斑块组织 HB-EGF 的表达和定位的研究中发现, 对比正常和动脉粥样硬化的血管壁, HB-EGF mRNA 只在动脉粥样硬化组织和用其培养

的血管平滑肌细胞中表达, 在巨噬细胞中高表达。两项关于动脉粥样硬化免疫组化的最新临床研究均发现, HB-EGF 在斑块局部呈阳性表达, 证实 HB-EGF 能刺激平滑肌细胞细胞的增殖、迁移, 从而在动脉粥样硬化形成的过程中发挥作用^[12,13]。

本研究发现, 血清中 HB-EGF mRNA 水平、高血压、吸烟、BMI、TG、TC、LDL-C、HDL-C 等因素均与 ACS 有关, 由于本研究旨在分析 HB-EGF mRNA 水平与 ACS 的关系, 因此进行多因素 Logistic 回归分析时校正了高血压、吸烟、BMI、TG、TC、LDL-C、HDL-C 等在单因素分析中有意义的指标, 结果发现, HB-EGF mRNA 水平仍然与 ACS 有关 (OR=5.813, 95%CI:2.342~14.426, $P<0.001$), 即 HB-EGF mRNA 每增加 0.1 个灰度值, ACS 风险增加 4.813 倍。HB-EGF mRNA 在 ACS 的发生和发展过程中可能作为一个独立危险因素存在。本文的研究结果与上述多项研究结果相符。

综上所述, 血清中 HB-EGF mRNA 水平与 ACS 有关。

参考文献

- [1] 高润霖. 冠心病疾病负担—中国出路. 中国循环杂志, 2017, 32: 1-4.
- [2] 黄兆章, 周希敏. 急性冠脉综合征早期的识别和救治. 实用临床医药杂志, 2007, 11: 82-84.
- [3] 阚振, 袁争百, 苏振琪, 等. 血清 HB-EGF 对冠状动脉支架内再狭窄的影响. 中华全科医学, 2012, 10: 398-399.
- [4] Matsumoto S, Kishida K, Shimomura I, et al. Increased plasma HB-EGF associated with obesity and coronary artery disease. *Biochem*

Bioph Res Co, 2002, 292: 781-786.

- [5] 刘红旗, 谈敏. 冠心病患者血清肝素结合表皮生长因子样生长因子及超敏 C 反应蛋白水平的临床意义. 安徽医科大学学报, 2010, 45: 248-251.
- [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. 急性 ST 段抬高型心肌梗死诊断和治疗指南. 中华心血管病杂志, 2015, 43: 380-389.
- [7] 饶辰飞, 郑哲. 2015 年《美国心脏协会冠状动脉旁路移植术二级预防共识》解读. 中国循环杂志, 2015, 30: 936-940.
- [8] 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. 非 ST 段抬高急性冠状动脉综合征诊断和治疗指南. 中华心血管病杂志, 2012, 40: 353-364.
- [9] Nakata A, Miyagawa J, Yamashita S, et al. Localization of heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor in human coronary arteries. Possible roles of HB-EGF in the formation of coronary atherosclerosis. *Circulation*, 1996, 94: 2778-2786.
- [10] Nishida M, Miyagawa J, Yamashita S, et al. Localization of CD9, an enhancer protein for proheparin-binding epidermal growth factor like growth factor, in human atherosclerotic plaques possible involvement of juxtacrine growth mechanism on smooth muscle cell proliferation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, 20: 1236-1243.
- [11] Reape TJ, Wilson VJ, Kanczler JM, et al. Detection and cellular localization of heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor mRNA and protein in human atherosclerotic tissue. *J Mol Cell Cardio*, 1997, 29: 1639-1648.
- [12] Scuderi R, Travali S, Castrogiovanni P, et al. Immunolocalization of HB-EGF in human atherosclerotic plaques. *La Clinica Terapeutica*, 2008, 160: 435-439.
- [13] Castrogiovanni P, Scuderi R, Travali S, et al. Paracrine activity of heparin-binding EGF-like growth factor in atherogenesis: an immunohistochemical study. *Minerva medica*, 2013, 104: 85-91.

(收稿日期: 2016-12-04)

(编辑: 朱柳媛)

临床研究

Carelink 远程监测系统在临床医生中的易用性评价

李玉秋, 陈柯萍, 宿燕岗, 刘少稳, 项美香, 沈法荣, 刘兴斌, 汤宝鹏, 刘启明, 齐向前, 张澍

摘要

目的: 初步评价 Carelink 远程监测系统在临床医生中的易用性。

方法: 前瞻性入选 2012-01 至 2013-10 在全国 12 家医院已经植入具有 Carelink 远程监测功能的心血管植入型电子器械(CIED)的患者 215 例, 平均年龄(62.3 ± 14.3)岁, 其中男性 108 例, 女性 107 例。共有 54 名临床医生填写了调查问卷。为便于分析, 根据患者随访调查 CIED 的不同, 将患者和临床医生各分为植入起搏器(PM)组 110 例和 30 名、植入型心律转复除颤器(ICD)组 54 例和 10 名、心脏再同步化治疗(CRT)组 51 例和 14 名。患者需在入选后 3 个月时进行 1 次院内常规随访, 记录临床医生随访患者使用时间。此外, 患者还需应用 Carelink 远程监测仪在入选后 3、6 个月时传输 CIED 信息完成 Carelink 远程随访。在 3 个月 Carelink 远程随访时收集医生数据查看时间, 在 6 个月随访时针对 Carelink 远程随访系统的使用情况对临床医生进行问卷调查。

结果: 54 名临床医生均认为 Carelink 远程监测系统操作简单, 容易使用。有 147 例患者完成了 3 个月院内常规随访, 临床医生院内常规随访平均时间为(14.8 ± 8.4) min; 150 例患者完成了 3 个月 Carelink 远程随访, Carelink 远程随访平均时间为(8.2 ± 4.6) min, 差异有统计学意义($P < 0.0001$)。

结论: 对于临床医生而言, Carelink 远程监测系统使用容易, 操作简单, 满意程度高, 可以节约随访时间。

关键词 心电图记录术, 便携式; 心血管植入型电子器械; 方案评价

Evaluation for the Usability of Carelink Remote Monitoring System by Clinical Physicians

LI Yu-qiu, CHEN Ke-ping, SU Yan-gang, LIU Shao-wen, XIANG Mei-xiang, SHEN Fa-rong, LIU Xing-bin, TANG Bao-peng, LIU Qi-ming, QI Xiang-qian, ZHANG Shu.

Center of Arrhythmia, Cardiovascular Institute and Fu Wai Hospital, CAMS and PUMC, Beijing (100037), China

Corresponding Author: CHEN Ke-ping, Email: chenkeping@263.net

Abstract

Objective: To conduct a preliminary evaluation for the usability of Carelink remote monitoring system by clinical physician.

Methods: A total of 215 patients received cardiovascular implantable electronic devices (CIED) with Carelink remote monitoring function from 12 hospitals in China between 2012-01 and 2013-10 were prospectively enrolled. The patient's mean age was (62.3 ± 14.3) years including 108 male and 107 female. There were 54 physicians completed questionnaire survey. Based on the type of CIED, the patients were divided into 3 groups: PM (pace maker) group, $n=110$, ICD (implantable cardioverter defibrillator) group, $n=54$ and CRT (cardiac resynchronization therapy) group, $n=51$. The patients received routine hospital visit at 3 months of CIED implantation and meanwhile, they performed device data transmission at 3 and 6 months of Carelink remote monitoring. The time physician spent to evaluate data was collected at 3 months and the questionnaire survey was completed by physician at 6 months after CIED implantation.

Results: All 54 physicians felt that Carelink remote monitoring system was simple to operate and easy to use. There were 147 patients finished hospital visit at 3 months after CIED implantation, the mean time for physician to evaluate data was (14.8 ± 8.4) min; 150 patients finished Carelink remote monitor at 3 months after CIED implantation, the mean time for physician to evaluate data was (8.2 ± 4.6) min, $P < 0.0001$.

作者单位: 100037 北京市, 北京协和医学院 中国医学科学院 国家心血管病中心 阜外医院 心律失常中心(李玉秋、陈柯萍、张澍); 复旦大学附属中山医院(宿燕岗); 上海市第一人民医院(刘少稳); 浙江大学医学院附属第二医院(项美香); 浙江医院(沈法荣); 四川大学华西医院(刘兴斌); 新疆医科大学第一附属医院(汤宝鹏); 中南大学湘雅二医院(刘启明); 泰达国际心血管病医院(齐向前)

作者简介: 李玉秋 博士研究生 主要从事心脏电生理研究 Email: liyuqiu0725@163.com 通讯作者: 陈柯萍 Email: chenkeping@263.net

中图分类号: R541.4 文献标识码: A 文章编号: 1000-3614 (2017) 08-0752-05 doi:10.3969/j.issn.1000-3614.2017.08.006

Conclusion: Carelink remote monitoring system was easy to use, it may save time in follow-up study which with high satisfaction in clinical practice.

Key words Electrocardiography, portable; Cardiovascular implantable electronic devices; Scheme evaluation

(Chinese Circulation Journal, 2017,32:752.)

随着心脏起搏技术的不断发展, 心血管植入型电子器械(cardiovascular implantable electronic devices, CIED)的植入量不断增加。《中国心血管病报告 2015》^[1]显示: 根据 2014 年国家卫生计生委网上注册资料, 2014 年植入起搏器(PM) 53 382 例, 比 2013 年增长 3.2%; 植入型心律转复除颤器(ICD) 1 959 例, 比 2013 年增长 2.9%; 心脏再同步化治疗(CRT) 2 379 例, 较 2013 年增长 8.2%。CIED 植入量的不断增加, 随之而来的是起搏器术后程控随访工作量的增加。指南建议, PM 和 CRT 应该每 3~12 个月随访 1 次, 而 ICD 应该每 3~6 个月随访 1 次, 起搏器电池电量下降时应进行更密切地随访^[2]。而 PM 术后程控随访主要在门诊完成, 这需要患者反复就医, 增加了医生和患者的负担。由此, 起搏器远程监测系统应运而生。大量研究显示, 远程监测系统不仅安全性值得信赖, 还可以尽早发现起搏器相关不良事件和疾病相关不良事件, 有助于及时进行干预和治疗^[3-7]; 减少患者随访就诊次数, 提高患者的生存质量^[8]。但目前远程监测系统对于医生的易用性评价的研究相对较少^[9-11]。

Carelink 是美国美敦力公司研发的一款远程监测系统。患者可以根据预约时间定期或者有问题时按需应用配备的远程监测仪收集数据, 通过电话线(或无线发射器)传输数据至 Carelink 医生网站。临床医生通过登录网站查看患者信息, 快速发现核心问题并做出相应处理。

1 资料与方法

研究设计: 本研究为多中心、前瞻性、观察性研究。通过比较使用 Carelink 进行远程随访和院内常规随访时间的差异, 了解 Carelink 远程监测系统对临床医生随访时间负担的影响; 同时通过问卷调查来了解临床医生对 Carelink 远程监测系统的接受程度及满意度, 综合评价 Carelink 远程监测系统在临床医生中的易用性。

病例选择: 全国共 12 家医院参加本研究。入选 2012-01 至 2013-10 植入具有 Carelink 功能的 CIED

患者共 215 例, 平均年龄(62.3 ± 14.3)岁, 其中男性 108 例, 女性 107 例。共有 54 名临床医生填写了调查问卷。在入选后 3 个月, 患者需进行院内常规随访, 并应用 Carelink 远程监测仪传输 CIED 信息完成远程随访。收集 3 个月院内常规随访时医生随访患者使用时间和 3 个月 Carelink 远程随访时数据查看时间的有效数据。入选后 6 个月, 患者需进行 1 次 Carelink 远程随访。为便于分析, 根据患者随访调查心血管植入型电子器械的不同, 将患者和临床医生各分为植入起搏器(PM)组(分别为 110 例和 30 名)、植入型心律转复除颤器(ICD)组(54 例和 10 名)和心脏再同步化治疗(CRT)组(51 例和 14 名)。

问卷调查: 在研究终点 6 个月时, 医生需填写调查问卷。问卷内容包括: 使用 Carelink 医生网站的体验; 临床医生对 Carelink 远程随访的总体评价; 通过 Carelink 远程随访提供的信息与院内常规随访器械询问提供的信息相当的评价; 关于 Carelink 医生网站的使用培训的评价(是否同意使用培训可以使医生快速熟悉网站的使用); 通过 Carelink 网站进行植入器械检查的评价; Carelink 网络可以帮助医院组织和管理患者的常规和非常规随访的评价。

统计学方法: 本研究采用 SAS 9.1.3 进行统计分析。计量资料以均值 \pm 标准差表示, 计数资料采用例数和百分数表示。符合正态分布的计量资料使用 *t* 检验进行两组间比较, 对于无序分类的计数资料使用卡方检验进行组间比较。统计检验均采用双侧检验, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

患者随访结果(表 1): 本研究共入选 215 例患者, 其中 PM 组 110 例, ICD 组 54 例, CRT 组 51 例。随访观察期为 6 个月。最终有 147 例(68.37%)患者完成了 3 个月院内常规随访, 150 例(69.77%)患者完成了 3 个月 Carelink 远程随访, 139 例(64.65%)患者完成了 6 个月 Carelink 远程随访。在随访期间, PM 组有 1 例患者发生不良事件, 与器械植入手术相关, 接受植入器械的手术调整。4 例患者死亡, 其中 PM 组 1 例,

死亡原因不详;ICD组2例,1例为心脏性猝死,另1例为非心脏性猝死;CRT组1例,为心脏性猝死。

表1 患者随访结果[例(%)]

项目	PM组 (n=110)	ICD组 (n=54)	CRT组 (n=51)	总体 (n=215)
3个月院内常规随访	75 (68.18)	37 (72.55)	35 (64.81)	147 (68.37)
3个月 Carelink 远程随访	75 (68.18)	33 (64.71)	42 (77.78)	150 (69.77)
6个月 Carelink 远程随访	69 (62.73)	30 (58.82)	40 (74.07)	139 (64.65)

注:PM:起搏器;ICD:植入型心律转复除颤器;CRT:心脏再同步化治疗

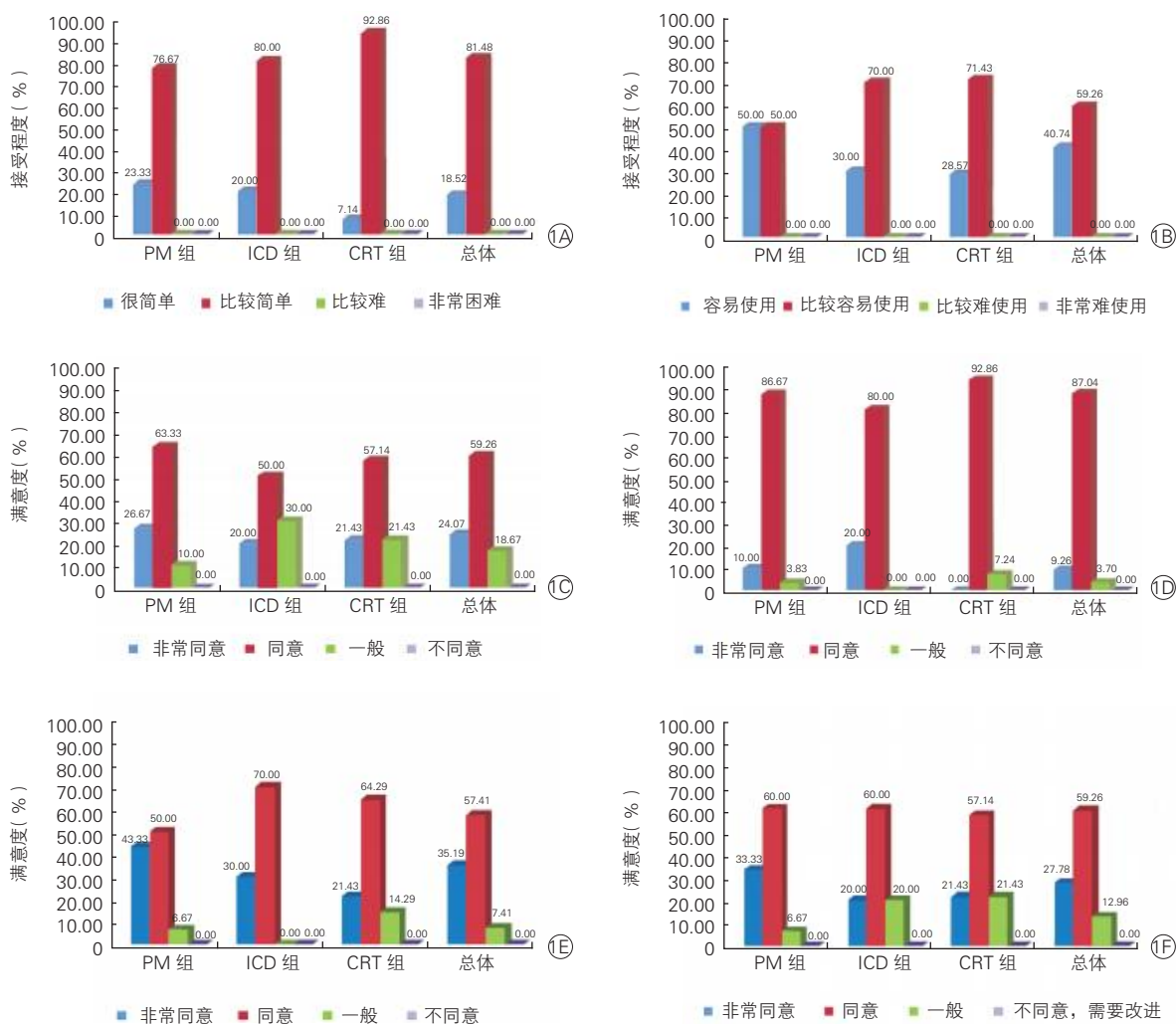
临床医生对 Carelink 远程监测系统的易用性、接受程度及满意度:研究结束时,共有 54 名临床医生填写了调查问卷,其中 PM 组 30 名,ICD 组 10 名, CRT 组 14 名。在易用性方面结果显示:参与调查的医生均认为美敦力 Carelink 使用简单,22 名(40.74%)认为应用 Carelink 进行远程随访“容易使用”,32

名(59.26%)医生认为“比较容易使用”,且 PM 组、ICD 组和 CRT 组 3 组间比较差异无统计学意义(表 2)。在接受程度方面,45 名(83.33%)临床医生认为通过 CareLink 远程随访提供的信息与院内常规随访器械询问提供的信息相当,容易接受其应用于临床随访中。在满意度方面,50 名(92.59%)临床医生认为通过 CareLink 网站进行植入器械检查“很好”或“好”,满意度高。问卷调查的具体结果见图 1。

表2 医生使用 Carelink 远程监测系统的易用性调查结果[例(%)]

项目	PM组 (n=30)	ICD组 (n=10)	CRT组 (n=14)	总体 (n=54)	P值
容易使用	15 (50.00)	3 (30.00)	4 (28.57)	22 (40.74)	0.308
比较容易使用	15 (50.00)	7 (70.00)	10 (71.43)	32 (59.26)	
比较难使用	0	0	0	0	
非常难使用	0	0	0	0	

注:PM:起搏器;ICD:植入型心律转复除颤器;CRT:心脏再同步化治疗



注 1A: 使用 Carelink 医生网站的体验;1B: 医生对 Carelink 远程随访的总体评价;1C: 关于 Carelink 远程随访提供的信息与常规院内随访器械询问提供的信息相当的评价;1D: 关于 Carelink 医生网站的使用培训的评价;1E: 通过 Carelink 网站进行植入器械检查的评价;1F: 是否同意 Carelink 网络可以帮助医院组织和管理患者的常规和非常规随访。PM: 起搏器;ICD: 植入型心律转复除颤器;CRT: 心脏再同步化治疗

图1 医生对 Carelink 远程监测系统接受程度及满意度调查问卷结果

两种随访方式的随访时间负担比较: 本研究中 有 147 例 (68.37%) 患者完成了 3 个月院内常规随访, 有效数据 144 例 (缺失 3 例), 临床医生常规平均随访时间平均为 (14.8 ± 8.4) min; 有 150 例 (69.77%) 患者完成了 3 个月 Carelink 远程随访, 有效数据 149 例 (缺失 1 例), Carelink 远程随访平均时间 (平均数据查看时间) 为 (8.2 ± 4.6) min, 两组间比较差异有统计学意义 ($P < 0.0001$), 表明 Carelink 远程随访可以节约随访时间, 减轻临床医生随访时间的负担。

3 讨论

近年来, 随着起搏器植入量的增加, 起搏器植入术后程控常规随访在很大程度上增加了临床医生的工作量。研究显示, 在常规随访中, 有 55%~90% 的患者随访结果正常, 常规随访只是进行了监测, 并没有调整参数^[3, 12, 13]。这无疑浪费了临床医生的工作时间, 增加了其工作的负担。

远程监测系统的出现具有里程碑的意义。临床医生通过远程监测系统可以查看患者的传输数据, 不仅可以减少其医院就诊的次数, 还可以及早地发现起搏器和疾病相关不良事件, 及时给予干预^[14]。一方面有效地提高了其生活质量和满意度; 另一方面, 也显著地减少了门诊随访量, 减轻了临床医生的工作负担, 同时具有良好的经济学效益^[15-17]。其安全性和有效性已被多个研究所证实, 多个指南及专家共识已推荐其在 CIED 领域应用^[2, 18, 19]。

本研究结果显示临床医生在接受美敦力公司对 Carelink 监测仪和 Carelink 医生网站的使用培训后, 可以快速熟悉并使用 Carelink 远程监测系统, 并熟练地进行 Carelink 的患者教育。对于临床医生而言, Carelink 远程监测系统容易使用。通过评估医生对 Carelink 远程监测系统的接受度及满意度, 可以看出 83.33% 的临床医生认为通过 Carelink 远程随访提供的信息与院内常规随访器械询问提供的信息相当, 92.59% 的临床医生认为通过 Carelink 网站进行植入器械检查“很好”或“好”, 87.04% 的临床医生认为 Carelink 远程监测系统可以帮助医院组织和管理患者的常规和非常规随访。其证实了临床医生对 Carelink 远程随访系统的接受度及满意度均较高。

Carelink 远程监测系统应用简单, 尤其是当患者自觉不适时可以手动激活进行信息的收集与传输,

医生可在最短的时间内登陆网站查阅信息, 并及时告知患者结果, 给予干预。对于植入 ICD 及 CRT 的患者, 临床医生可以及时地发现室性心律失常及心力衰竭相关预警事件, 以指导临床用药及制定治疗方案, 实现对患者的最佳管理^[20-22]。

此外, 科技的发展使目前的大多数 CIED 都具有自动测试功能^[23, 24], 缩短了随访时间。本研究中, 我们通过比较常规随访与通过 Carelink 监测仪远程随访对临床医生随访时间负担的影响发现: 院内常规随访所需随访时间平均为 (14.8 ± 8.4) min, 而使用 Carelink 远程随访平均仅需 (8.2 ± 4.6) min, 很大程度上节约了起搏器程控随访时间, 减轻了临床医生的随访工作负担。

虽然远程监测系统在应用过程中还存在着不足之处, 例如对需要进行起搏参数调整及优化的患者, 临床医生无法通过远程监测系统对其进行程控。但总体而言, Carelink 远程监测系统操作简单, 临床医生的接受程度及满意度较高, 可以熟练应用。不仅可以节约随访时间, 还可以帮助医院组织和管理植入 CIED 患者的术后程控随访, 具有广阔的应用前景。

主要参加单位名单:

中国医学科学院阜外医院; 复旦大学附属中山医院; 上海市第一人民医院; 浙江大学医学院附属第二医院; 浙江医院; 江苏省人民医院; 南京鼓楼医院; 哈尔滨医科大学第一附属医院; 四川大学华西医院; 新疆医科大学第一附属医院; 中南大学湘雅二医院; 天津泰达国际心血管病医院

参考文献

- [1] 陈伟伟, 高润, 刘立生, 等. 《中国心血管病报告 2015》概要. 中国循环杂志, 2016, 31: 624-632.
- [2] Epstein AE, Dimarco JP, Ellenbogen KA, et al. 2012 ACCF/AHA/HRS focused update incorporated into the ACCF/AHA/HRS 2008 guidelines for device-based therapy of cardiac rhythm abnormalities: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association task force on practice guidelines and the heart rhythm society. J Am Coll Cardiol, 2013, 61: e6-75.
- [3] Varma N, Epstein AE, Irimpen A, et al. Efficacy and safety of automatic remote monitoring for implantable cardioverter-defibrillator follow-up: The lumos-T safely reduces routine office device follow-up (TRUST) trial. Circulation, 2010, 122: 325-332.
- [4] Varma N, Michalski J, Stambler B, et al. Superiority of automatic remote monitoring compared with in-person evaluation for scheduled ICD follow-up in the TRUST trial testing execution of the recommendations. Eur Heart J, 2014, 35: 1345-1352.
- [5] Varma N, Michalski J, Andrew E, et al. Automatic remote monitoring of implantable cardioverter-defibrillator lead and generator performance: the lumos-T safely reduces routine office device follow-up (TRUST) trial. Circ Arrhythm Electrophysiol, 2010, 3: 428-436.
- [6] Powell BD, Saxon LA, Boehmer JP, et al. Survival after shock therapy in implantable cardioverter-defibrillator and cardiac resynchronization therapy-defibrillator recipients according to rhythm shocked. The

- ALTITUDE survival by rhythm study. *J Am Coll Cardiol*, 2013, 6: 1674–1679.
- [7] Saxon LA, Hayes DL, Gilliam FR, et al. Long-term outcome after ICD and CRT implantation and influence of remote device follow-up: the ALTITUDE survival study. *Circulation*, 2010, 122: 2359–2367.
- [8] Hindricks G, Eisner C, Piorkowski C, et al. Quarterly vs. yearly clinical follow-up of remotely monitored recipients of prophylactic implantable cardioverter-defibrillators: results of the REFORM trial. *Eur Heart J*, 2014, 35: 98–105.
- [9] Ando K, Koyama J, Abe Y, et al. Feasibility evaluation of a remote monitoring system for implantable cardiac devices in Japan. *Int Heart J*, 2011, 52: 39–43.
- [10] George H, Andrew B, Holly V, et al. The CONNECT (Clinical evaluation of remote notification to reduce time to clinical decision) Trial. The value of wireless remote monitoring with automatic clinician alerts. *J Am Coll Cardiol*, 2011, 57: 1181–1189.
- [11] Marzegall M, Lunati M, Landolina M, et al. Remote monitoring of CRT-ICD: the multicenter Italian CareLink evaluation ease of use, acceptance, and organizational implications. *PACE*, 2008, 31: 1259–1264.
- [12] Mabo P, Victor F, Bazin P, et al. A randomized trial of long-term remote monitoring of pacemaker recipients (The COMPAS trial). *Eur Heart J*, 2012, 33: 1105–1111.
- [13] Perl S, Stiegler P, Rotman B, et al. Socio-economic effects and cost saving potential of remote patient monitoring (SAVE-HM trial). *Int J Cardiol*, 2013, 169: 402–407.
- [14] 戴研, 杨杰孚, 周玉杰, 等. 家庭监测系统 in 双腔起搏器植入患者中的多中心注册研究. *中国循环杂志*, 2013, 28: 29–32.
- [15] Halimi F, Cle'menty J, Attuel P, et al. Optimised post-operative surveillance of permanent pacemakers by home monitoring: the OEDIPE trial. *Europace*, 2008, 10: 1392–1399.
- [16] Gue'don-Moreau L, Chevalier P, Marquie' C, et al. ECOST trial Investigators. Contributions of remote monitoring to the follow-up of implantable cardioverter defibrillator leads under advisory. *Eur Heart J*, 2010, 31: 2246–2252.
- [17] Burri H, Sticherling C, Wright D, et al. Cost-consequence analysis of daily continuous remote monitoring of implantable cardiac defibrillator and resynchronization devices in the UK. *Europace*, 2013, 15: 1601–1608.
- [18] Brignole M, Auricchio A, Baron-Esquivias G, et al. 2013 ESC guidelines on cardiac pacing and cardiac resynchronization therapy: the task force on cardiac pacing and resynchronization therapy of the European Society of Cardiology (ESC). Developed in collaboration with the European Heart Rhythm Association(EHRA). *Eur Heart J*, 2013, 34: 2281–2329.
- [19] Slotwiner D, Varma N, Akar JG, et al. HRS expert consensus statement on remote interrogation and monitoring for cardiovascular implantable electronic devices. *Heart Rhythm*, 2015, 12: e69–e100.
- [20] Santini M, Ricci RP, Lunati M, et al. Remote monitoring of patients with biventricular defibrillators through the CareLink system improves clinical management of arrhythmias and heart failure episodes. *J Interv Card Electrophysiol*, 2009, 24: 53–61.
- [21] Catanzariti D, Lunati M, Landolina M, et al. Monitoring intrathoracic impedance with an implantable defibrillator reduces hospitalizations inpatients with heart failure. *Pacing Clin Electrophysiol*, 2009, 32: 363–370.
- [22] Varma N, Piccini JP, Snell J, et al. The relationship between level of adherence to automatic wireless remote monitoring and survival in pacemaker and defibrillator patients. *J Am Coll Cardiol*, 2015, 65: 2601–2610.
- [23] Erdinler I, Akyol A, Okmen E, et al. Long-term follow-up of pacemakers with an Autocapture pacing system. *Jpn Heart J*, 2002, 43: 631–641.
- [24] Anelli-Monti M, Mächler H, Oberwalder P, et al. Autocapture(TM) and Capture Management(TM) current concepts in pacing threshold and output management. *Herzschrittmacherther Elektrophysiol*, 2001, 12: 186–194.

(收稿日期: 2016-08-29)

(编辑: 梅平)

临床研究

疑诊血管迷走性晕厥患者中直立倾斜试验阳性者的心电图特征

何佳, 时晓蕾, 张怡, 施露, 李夏华, 黄建凤

摘要

目的: 探讨疑诊血管迷走性晕厥患者中直立倾斜试验阳性者的心电图特征。

方法: 共收集于 2015-08 至 2016-05 在中国医学科学院阜外医院门诊就诊且临床怀疑血管迷走性晕厥而接受直立倾斜试验检查的 502 例受试者, 同步记录检查过程中的 12 导联心电图。根据直立倾斜试验结果分为阳性组 ($n=244$) 和阴性组 ($n=258$), 对比两组的 P 波时限、校正 QT 间期 (QTc) 和 P 波电轴。

结果: (1) 阳性组受试者晕厥时的 P 波时限较阴性组明显延长 [(95.65 ± 38.50) ms vs (88.61 ± 17.09) ms, $P < 0.05$]; (2) 阳性组受试者发生晕厥前的 P 波电轴较阴性组明显右偏 [$(69.87 \pm 18.18)^\circ$ vs $(66.82 \pm 16.51)^\circ$, $P < 0.05$], 而在晕厥时 [$(62.87 \pm 25.39)^\circ$ vs $(68.47 \pm 15.30)^\circ$] 及晕厥后 [$(56.87 \pm 22.45)^\circ$ vs $(68.49 \pm 16.35)^\circ$] 较阴性组明显左偏 (P 均 < 0.05); (3) 阳性组受试者发生晕厥前的 QTc 较阴性组明显缩短 [(418.69 ± 92.35) ms vs (435.76 ± 59.29) ms, $P < 0.05$]。

结论: 疑诊血管迷走性晕厥患者中直立倾斜试验阳性者有独特的心电图特征, 其中 P 波时限、P 波电轴及 QTc 数值对血管迷走性晕厥发作有一定的预警作用。

关键词 晕厥, 血管迷走神经性; 直立倾斜试验; 心电图记录术

Electrocardiogram Characteristics of Suspected Vasovagal Syncope Patients With Positive Head-Up Tilt Test

HE Jia, SHI Xiao-Lei, ZHANG Yi, SHI Lu, LI Xia-Hua, HUANG Jian-feng.

Center of Function Test, Cardiovascular Institute and Fu Wai Hospital, CAMS and PUMC, Beijing (100037), China

Corresponding Author: HUANG Jian-feng, Email: jianfhuang@sina.com

Abstract

Objective: To investigate the dynamic electrocardiogram (ECG) changes of head-up tilt test in patients with suspected vasovagal syncope.

Methods: A total of 502 outpatients of our hospital with suspicious vasovagal syncope from 2015-08 to 2016-12 were enrolled. All patients received head-up tilt test with synchronization of 12 lead ECG. Based on head-up tilt test result, the patients were divided into 2 groups: Positive group, $n=244$ and Negative group, $n=258$. The P wave duration, corrective QT (QTc) duration and P wave axis in ECG were compared between 2 groups.

Results: Compared with Negative group, Positive group had the longer P wave duration (95.65 ± 38.50) ms vs (88.61 ± 17.09) ms, $P < 0.05$; P wave axis was right shifted before syncope $(69.87 \pm 18.18)^\circ$ vs $(66.82 \pm 16.51)^\circ$, while left shifted during syncope $(62.87 \pm 25.39)^\circ$ vs $(68.47 \pm 15.30)^\circ$ and after syncope $(56.87 \pm 22.45)^\circ$ vs $(68.49 \pm 16.35)^\circ$, all $P < 0.05$; the shorter QTc duration before syncope (418.69 ± 92.35) ms vs (435.76 ± 59.29) ms, $P < 0.05$.

Conclusion: The patients with vasovagal syncope had some specific ECG features during head-up tilt test including P wave duration, P wave axis and QTc duration, those may play certain forewarning function for vasovagal syncope onset.

Key words Syncope, vasovagal; Head-up tilt test; Electrocardiography

(Chinese Circulation Journal, 2017,32:757.)

血管迷走性晕厥 (VVS) 是多种因素触发神经反射引起周围血管扩张、低血压、心动过

缓及一过性脑缺血所致的自限型晕厥发作。VVS 患者在晕厥发生前期常常出现迷走神经的过度激活^[1],

作者单位: 100037 北京市, 北京协和医学院 中国医学科学院 国家心血管病中心 阜外医院 功能检测中心

作者简介: 何佳 主管技师 硕士研究生 主要从事心电图学研究 Email: citymanager@126.com 通讯作者: 黄建凤 Email: jianfhuang@sina.com

中图分类号: R54 文献标识码: A 文章编号: 1000-3614 (2017) 08-0757-04 doi:10.3969/j.issn.1000-3614.2017.08.007

心电图常常表现为心脏传导系统和心肌不应期的改变^[2,3]。直立倾斜试验(HUTT)是目前诊断 VVS 的重要检查方法。本研究通过分析 VVS 患者在 HUTT 过程中 12 导联心电图指标的变化规律,寻找预警指标,从而提前识别晕厥发作,提高 VVS 的临床诊断水平。

1 资料与方法

研究对象:连续收集 2015-08 至 2016-05 在中国医学科学院阜外医院就诊、疑似 VVS 并接受 HUTT 检查的 502 例受试者,其年龄为 8~78 岁。根据 HUTT 过程中有无晕厥或晕厥前反应,且伴有血压和心率下降并达到诊断标准,将受试者分为阳性组和阴性组,其中阳性组 244 例(男性 70 例,占 28.7%,女性 174 例,占 71.3%),阴性组 258 例(男性 138 例,占 53.5%,女性 120 例,占 46.5%)。所有受试者既往至少有一次晕厥发作史,经详细询问病史及超声心动图、动态心电图、头颅 CT 等检查,已经排除器质性心脏病以及其他系统疾病所导致的晕厥。所有受试者平卧位时心电图无一度房室阻滞、完全性左右束支阻滞等影响 PR 间期、QRS 间期的异常心电图表现。

HUTT 方法:检查包括头高脚低位倾斜 70° 的基础试验阶段 30 min、硝酸甘油药物诱导试验阶段 20 min。在整个试验过程中监测 12 导联心电图,并且每隔 2.5 min 记录心率和血压,直至出现阳性反应或达到监测时间。

HUTT 阳性标准:参考中国心脏联盟晕厥学会直立倾斜试验专家组提出的“直立倾斜试验标准操作流程中国专家推荐意见”^[4],在 HUTT 中无结构性心脏病患者出现反射性低血压/心动过缓伴有晕厥的诊断诊断为反射性晕厥。

同步 12 导联心电图参数测定:选择窦性心律时波形清晰的 3 个心动周期自动分析和(或)人工校正各导联指标测量。测量分析指标包括:P 波时限、QRS 波时限、T 波时限分别为 12 导联心电图中最先 P 波、QRS 波、T 波起点至最晚 P 波、QRS 波、T 波终点的间距;PR 间期为 12 导联心电图中最先的 P 波起点测量至最早的 QRS 波起点;校正 QT 间期(QTc)是按心率校正的 QT 间期,计算方法为 $QTc=QT/(RR \cdot 0.5)$ 。

统计学方法:应用 SPSS 19.0 软件包进行统计学处理,其中计量资料采用均数 ± 标准差表示,计数

资料采用例数(百分数)表示。计量资料三组间比较采用卡方检验,两组间比较采用 *t* 检验,计数资料比较用 χ^2 检验,所有检验均为双向,且 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

两组受试者的一般情况比较(表 1):共纳入 502 例受试者。与阴性组相比,阳性组女性比例更高($P < 0.001$),基础试验前平卧位状态收缩压($P = 0.001$)及舒张压水平更低($P < 0.05$)。两组受试者的年龄及平卧位心率水平之间的差异均无统计学意义(P 均 > 0.05)。

表 1 两组受试者的一般资料比较($\bar{x} \pm s$)

项目	阳性组 (<i>n</i> =244)	阴性组 (<i>n</i> =258)	<i>t</i> 值 / χ^2 值	<i>P</i> 值
年龄(岁)	45.3 ± 15.6	46.0 ± 14.7	0.518	0.605
男性[例(%)]	70(28.7)	138(53.5)	30.770	<0.001
平卧位收缩压(mmHg)	124.8 ± 16.1	129.8 ± 18.2	3.253	0.001
平卧位舒张压(mmHg)	77.3 ± 10.0	79.2 ± 11.0	2.021	0.044
平卧位心率(次/min)	71.9 ± 12.0	72.2 ± 13.1	0.267	0.790

注:1 mmHg=0.133 kPa

两组受试者的心电图参数比较(表 2):阳性组与阴性组患者均经历了平卧位、基础测试倾斜 2.5~25 min、药物试验 2.5 min(晕厥前)、5 min(晕厥时)、7.5 min(晕厥后)及检查结束时刻。结果显示,两组间 P 波时限、QRS 波时限、T 波时限、PR 间期、QTc 差异均有统计学意义(P 均 < 0.05)。(1) P 波时限:阳性组在晕厥时 [(95.65 ± 38.50) ms vs (88.61 ± 17.09) ms] 及检查结束时 [(95.89 ± 30.94) ms vs (90.79 ± 20.89) ms] 均较阴性组延长(P 均 < 0.05);(2) QRS 波时限:阳性组在基础平卧位状态以及基础试验 2.5 min 至 25 min 时均较阴性组缩短(P 均 < 0.05);(3) T 波时限:阳性组在基础试验 5 min 至药物试验 7.5 min 时较阴性组缩短(P 均 < 0.05);(4) PR 间期:阳性组在基础试验 12.5 min、15 min、22.5 min 明显短于阴性组(P 均 < 0.05),检查结束时明显长于阴性组($P < 0.05$);(5) QTc:阳性组在晕厥前 [(418.69 ± 92.35) ms vs (435.76 ± 59.29) ms, $P < 0.05$] 明显短于阴性组,晕厥后 [(436.59 ± 29.53) ms vs (424.16 ± 79.88) ms, $P < 0.05$] 明显长于阴性组;(6) P 波电轴:阳性组在基础试验 20 min、25 min 及晕厥前较阴性组明显右偏(P 均 < 0.05),在晕厥时、晕厥后及检查结束时较阴性组明显左

偏 (P 均 <0.05); (7) QRS 波电轴: 阳性组和阴性组在各个时间点比较, 差异无统计学意义; (8) T 波电轴: 阳性组在晕厥后 [$(43.01 \pm 30.84)^\circ$ vs $(30.44 \pm 34.59)^\circ$] 及检查结束时 [$(46.95 \pm 27.11)^\circ$ vs $(30.77 \pm 33.79)^\circ$] 较阴性组明显右偏 (P 均 <0.05)。

表 2 两组受试者的主要心电图参数比较 ($\bar{x} \pm s$)

心电图参数	阳性组 (n=244)	阴性组 (n=258)	P 值
QRS 波时限 (ms)			
基础平卧位	92.68 ± 11.73	95.15 ± 14.25	<0.05
基础试验 2.5 min	89.99 ± 12.04	92.10 ± 14.24	<0.05
基础试验 5 min	89.97 ± 12.17	91.88 ± 13.89	<0.05
基础试验 7.5 min	89.69 ± 11.68	92.29 ± 16.63	<0.05
基础试验 12.5 min	90.00 ± 12.30	92.34 ± 16.73	<0.05
基础试验 15 min	89.32 ± 11.34	92.27 ± 16.68	<0.05
基础试验 17.5 min	89.29 ± 11.13	92.40 ± 16.73	<0.05
基础试验 25 min	90.22 ± 14.80	92.95 ± 17.66	<0.05
T 波时限 (ms)			
基础试验 5 min	213.74 ± 42.16	222.32 ± 31.58	<0.05
基础试验 15 min	213.65 ± 49.32	224.37 ± 35.04	<0.05
基础试验 17.5 min	214.46 ± 46.40	223.34 ± 32.94	<0.05
基础试验 20 min	213.46 ± 50.77	222.91 ± 33.70	<0.05
基础试验 22.5 min	214.20 ± 48.63	223.34 ± 35.51	<0.05
药物试验 2.5 min (阳性组晕厥前)	191.68 ± 65.58	209.40 ± 51.09	<0.05
药物试验 5 min (阳性组晕厥时)	209.37 ± 56.34	197.95 ± 57.82	<0.05
药物试验 7.5 min (阳性组晕厥后)	214.02 ± 39.58	200.57 ± 59.66	<0.05
PR 间期 (ms)			
基础试验 12.5 min	132.97 ± 28.99	140.79 ± 31.74	<0.05
基础试验 15 min	135.66 ± 29.88	143.02 ± 33.66	<0.05
基础试验 22.5 min	135.18 ± 27.76	140.86 ± 30.94	<0.05
检查结束时	147.12 ± 37.10	132.66 ± 24.29	<0.05
P 波电轴 ($^\circ$)			
基础试验 20 min	68.01 ± 18.67	64.04 ± 19.49	<0.05
基础试验 25 min	67.69 ± 18.00	63.42 ± 21.05	<0.05
药物试验 2.5 min (阳性组晕厥前)	69.87 ± 18.18	66.82 ± 16.51	<0.05
药物试验 5 min (阳性组晕厥时)	62.87 ± 25.39	68.47 ± 15.30	<0.05
药物试验 7.5 min (阳性组晕厥后)	56.87 ± 22.45	68.49 ± 16.35	<0.05
检查结束时	57.23 ± 22.51	67.34 ± 15.57	<0.05

3 讨论

HUTT 诱发 VVS 的原理是体位变化引起回心血容量降低。正常人直立时, 受到重力作用回心血量减少, 从而兴奋压力感受器, 兴奋心脏交感神经, 抑制迷走神经对外周阻力及心率、心搏量进行调节维持血流动力学稳定, 而 VVS 患者压力感受器反射功能障碍, 导致中枢不能对外周血流动力学的变化作出适当的反应, 进而导致血流动力学的紊乱以及晕厥的发生。这就是目前广为人知的 Bezold-Jarisch 反射^[5]。

本研究结果发现 HUTT 中, 阳性组的女性比例更高, 这与女性迷走神经反应能力强于男性, 而交感神经活性低于男性有关^[6]。且阳性组基础状态的

压较阴性组更低, 主要是因为阳性组基础血压较低, 当身体直立后, 血液淤积在下肢, 使回心血量减少, 心搏出量明显下降, 使患者本来不高的血压降低的更明显, 更易引起自主神经系统的紊乱, 反射性的诱发迷走神经系统的过度激活和交感神经系统兴奋性减弱。

既往研究已经证明, 交感神经及迷走神经相互作用会影响心电图各波变化^[7]。交感神经兴奋时, P 波振幅增加^[8], PR 间期缩短, QRS 波时限缩短, T 波低平或倒置^[9]; 迷走神经兴奋时, 心率减慢, P 波振幅降低, PR 间期延长, QRS 波时限增宽^[10], T 波高尖。

既往国内外鲜有报导 VVS 患者在 HUTT 过程中心电图指标的变化情况。Graf 等^[11] 等发现, 联合心电图的 P 波时限、年龄及晕厥症状可预测 VVS 的发生, 提示 P 波时限变化是 VVS 的一个重要临床特征。本研究发现阳性组受试者在发生晕厥时 P 波时限较阴性组明显延长, 由于 P 波代表心房除极波, 自主神经末梢在心房内的分布更为广泛, 自主神经系统能影响电冲动在心房中的传导速率和总传导时间。P 波时限的延长与迷走神经兴奋性增高有关, 这说明 VVS 患者在发生晕厥时迷走神经的兴奋性增高。Mitro 等^[12] 对 66 例 VVS 患儿进行 HUTT 检查并动态记录心电图, 发现晕厥发作时 P 波电轴较 HUTT 阴性者右偏。本研究发现, 阳性组受试者晕厥发作前 P 波电轴较阴性组右偏, 晕厥发作时以及晕厥发作后 P 波电轴较阴性组左偏, 体现了 VVS 的发病机制, 即在晕厥发作前存在交感神经兴奋性增高, 而晕厥发作时及发作后迷走神经兴奋性占优势。而既往的研究也提示 VVS 患者存在有异常增高的迷走神经张力^[13]。

本研究还发现, 在基础试验及药物试验的某些阶段, 阳性组的 QRS 波时限、T 波时限以及 PR 间期较阴性组均明显缩短, 由于 QRS 波时限、T 波时限、PR 间期与心率以及交感神经兴奋有关系, 这说明 VVS 患者较正常人交感神经兴奋性的张力更高。

QT 间期代表心室除极与复极总时间。体表心电图 QT 间期受自主神经影响。Mitro 等^[14] 研究成人 VVS 患者在 HUTT 过程中 QT 间期的变化, 发现平卧位时阳性组和阴性组的 QT 间期无显著差异, HUTT 阴性组在 HUTT 开始时 QT 间期显著缩短, 随后无明显变化, 而 HUTT 阳性组在 HUTT 开始时 QT

间期稍缩短, 晕厥发作时 QT 间期显著延长, HUTT 过程中 QTc 无显著变化; 提示 VVS 患者在基础状态时有较高的交感神经张力, 而交感神经张力下降及迷走神经张力增高可能导致了 VVS 的发生。本研究发现, 阳性组晕厥前的 QTc 明显短于阴性组, 也提示晕厥发生前交感神经张力较高。

综上所述, 本研究结果与既往研究相符, 证明了心脏自主神经系统在 VVS 发生时的作用, 也证明了 VVS 存在负反馈调节紊乱的情况。但是本研究也存在一定的局限性, 本研究是回顾性分析, 未纳入十二导联 P 波、QRS 波、T 波及 ST 段振幅的变化, 未收集 P 波离散度、QT 离散度的变化数据。有研究表明, 在 HUTT 过程中上述心电图参数也存在一定的变化, 可以通过这些心电图参数的变化在一定程度上预测 VVS 的发生。通过分析 HUTT 中心电学指标的变化规律, 有可能提前识别晕厥发作, 建立预警指标, 提高 VVS 的临床诊断和诊治水平。

参考文献

- [1] 姚沅清. 血管迷走性晕厥的发病机制及治疗进展. 心血管病学进展, 2013, 34: 221-224.
- [2] 李云利, 王成, 李芳, 等. 不明原因胸闷痛静息期儿童卧位与立位心电图 T 波及 ST 段振幅变化的临床意义. 中国当代儿科杂志, 2013, 15: 771-774.
- [3] 吴礼嘉, 王成, 胡春艳, 等. 血管迷走性晕厥儿童直立倾斜试验过程中心电图 T 波振幅对非药物治疗近期疗效的预测价值. 中国急救医学, 2010, 30: 126-130.
- [4] 中国心脏联盟晕厥学会直立倾斜试验专家组. 直立倾斜试验标准操作流程中国专家推荐意见. 中国循环杂志, 2016, 31: 807-808.
- [5] Fenton AM, Hammill SC, Rea RF, et al. Vasovagal syncope. Ann Intern Med, 2000, 133: 714-725.
- [6] 姜雪, 刘悦, 刘俊, 等. 年龄和性别对直立倾斜试验诊断血管迷走性晕厥结果的影响. 中国循环杂志, 2014, 29: 706-709.
- [7] 薛小红, 王成, 曹闽京, 等. β 受体功能亢进症儿童立位与卧位同步 12 导联心电图 T 波及 ST 段变化的意义. 实用儿科临床杂志, 2008, 23: 994-996.
- [8] 王成, 谢振武, 李雯, 等. 儿童血管迷走性晕厥 QT 间期离散度及 P 波离散度研究. 中国急救医学, 2005, 25: 1-3.
- [9] 王兰梅, 许毅, 王成, 等. 血管迷走性晕厥儿童心电图 aVR 导联 T 波振幅变化. 中国急救医学, 2011, 31: 61-63.
- [10] 张萍. 自主神经与 QRS 波群振幅和时限. 临床心电学杂志, 2006, 2: 7-8.
- [11] Graf D, Schlaepfer J, Gollut E, et al. Predictive models of syncope causes in an outpatient clinic. Int J Cardiol, 2008, 123: 249-256.
- [12] Mitro P, Spegar J. Dynamic changes of P-wave duration and P-wave axis during head-up tilt in patients with vasovagal syncope. Pacing Clin Electrophysiol, 2006, 29: 742-746.
- [13] 孙巍, 郑黎辉, 姚焰, 等. 血管迷走性晕厥患者的心率减速力和心率变异性特征. 中国循环杂志, 2015, 30: 1067-1070.
- [14] Mitro P, Kropuchova Z, Pella D, et al. Dynamic changes in the QT interval during the head-up tilt test in patients with vasovagal syncope. Vnitr Lek, 2003, 49: 27-31.

(收稿日期: 2017-03-31)

(编辑: 朱柳媛)

临床研究

心脏再同步化治疗患者临床预后风险评分系统的构建与验证

杨绳文, 刘志敏, 刘尚雨, 丁立刚, 陈柯萍, 华伟, 张澍

摘要

目的: 创建并验证心脏再同步化治疗(CRT)患者临床预后的风险评分系统。

方法: 连续纳入 2010-01 至 2015-12 于我院首次接受 CRT 的患者 367 例。随访终点事件为全因死亡(包括心脏移植)和心力衰竭再住院。随机选取 300 例患者为建模组构建风险评分系统, 其余 67 例为验证组进行验证。采用 Cox 风险比例回归模型建立评分系统; 受试者工作特征(ROC)曲线下面积(AUC)评价并对比 HEAL 评分与 EARRN 评分的区分度; Hosmer-Lemeshow 法评价拟合优度; Kaplan-Meier 法比较不同评分患者的临床终点。

结果: 建模组分析显示, 高敏 C 反应蛋白(HR=1.137, 95%CI:1.072~1.205, $P<0.001$)、大内皮素-1(HR=1.934, 95%CI:1.066~3.507, $P=0.03$)、左心房前后径(HR=1.045, 95%CI:1.007~1.084, $P=0.02$)、纽约心脏协会(NYHA)心功能 IV 级(HR=2.583, 95%CI:1.331~5.013, $P=0.005$)是 CRT 患者不良预后的独立危险因素。依据危险因素 β 偏回归系数建立 HEAL 评分, 根据分值划定患者危险分级: <4 分为低危, 4~10 分为中危, >10 分为高危。低、中、高危分级在建模组和验证组的 ROC 曲线下面积分别为 0.719 (95%CI:0.629~0.809) 和 0.708 (95%CI:0.539~0.878), 该评分可良好地区分不同危险分级患者的临床预后(Log-rank 检验, 建模组 $P<0.001$, 验证组 $P=0.002$)。Hosmer-Lemeshow 拟合优度较好($P=0.952$)。对 367 例患者分别采用 HEAL 评分与 EARRN 评分, 发现 HEAL 评分(AUC:0.763, 95%CI:0.692~0.833)较 EARRN 评分(AUC:0.602, 95%CI:0.517~0.687)区分度更高。

结论: HEAL 评分能有效地预测 CRT 患者不良预后, 区分度优于 EARRN 评分, 对于识别高危患者具有临床实践价值。

关键词 心脏再同步治疗; 危险性评估; 预后

The Derivation and Validation of a Scoring System for Clinical Prognosis in Patients Receiving Cardiac Resynchronization Therapy

YANG Sheng-wen, LIU Zhi-min, LIU Shang-yu, DING Li-gang, CHEN Ke-ping, HUA Wei, ZHANG Shu.

Cardiac Arrhythmia Center, Cardiovascular Institute and Fu Wai Hospital, CAMS and PUMC, Beijing (100037), China

Corresponding Author: LIU Zhi-min, Email: liucory@163.com

Abstract

Objective: To create and validate a scoring system for predicting clinical prognosis in patients with cardiac resynchronization therapy (CRT).

Methods: A cohort of 367 consecutive patients received CRT in our hospital from 2010-01 to 2015-12 were enrolled. The endpoint follow-up events were all-cause death including heart transplantation and heart failure re-admission. The patients were randomly categorized into 2 groups: Modeling group, to develop HEAL scoring system, $n=300$ and Verification group, to validate HEAL model, $n=67$. HEAL system was established by Cox proportional hazards regression model, discrimination between HEAL and EARRN scoring systems was evaluated by AUC of ROC, HEAL calibration was assessed by Hosmer-Lemeshow test and clinical endpoint evaluation by 2 scoring systems were compared by Kaplan-Meier method.

Results: Modeling group analysis indicated that hs-CRP (HR=1.137, 95% CI 1.072-1.205, $P<0.001$), big endothelin-1 (HR=1.934, 95% CI 1.066-3.507, $P=0.03$), left atrial diameter (HR=1.045, 95% CI 1.007-1.084, $P=0.02$) and NYHA IV (HR=2.583, 95% CI 1.331-5.013, $P=0.005$) were the independent risk factors of adverse prognosis in CRT patients. Based on β partial regression coefficient, HEAL scoring system was established to classify the patient's risk levels: low risk<4, moderate risk 4-10 and high risk>10. AUC for risk classification in Modeling group and Verification group were 0.719

作者单位: 100037 北京市, 北京协和医学院 中国医学科学院 国家心血管病中心 阜外医院 心律失常中心

作者简介: 杨绳文 硕士研究生 主要从事心律失常研究 Email: verayang1990@163.com 通讯作者: 刘志敏 Email: liucory@163.com

中图分类号: R54 文献标识码: A 文章编号: 1000-3614 (2017) 08-0761-05 doi:10.3969/j.issn.1000-3614.2017.08.008

(95% CI 0.629-0.809) and 0.708 (95% CI 0.539-0.878), HEAL can well distinguish clinical prognosis in patients at different risk levels (log-rank test showed in Modeling group $P<0.001$ and in Verification group $P=0.002$); Hosmer-Lemeshow test presented good calibration, $P=0.952$. All 367 patients were respectively evaluated by HEAL and EARRN scoring systems, HEAL had the better discrimination than EARRN as AUC 0.763 (95% CI 0.692-0.833) vs AUC 0.602 (95% CI 0.517-0.687).

Conclusion: HEAL scoring system can effectively predict adverse prognosis in CRT patients, it had the better discrimination than EARRN system and was valuable to distinguish high risk patients in clinical practice.

Key words Cardiac resynchronization therapy; Risk assessment; Prognosis

(Chinese Circulation Journal, 2017,32:761.)

心脏再同步化治疗(CRT)是药物治疗无效且合并心脏收缩不同步心力衰竭患者的有效治疗手段^[1-3]。然而一部分符合CRT植入指征的心力衰竭患者术后未能明显获益,可能进展为更严重的心力衰竭状态,危及生命。将这部分高危人群识别出来并及时进行积极的治疗(如心脏移植),对于改善患者生活质量,降低死亡率十分有益。

研究发现,肾功能、高敏C反应蛋白(hs-CRP)及大内皮素-1水平等术前指标对于CRT疗效有一定预测作用^[4-6]。根据术前指标对需要植入CRT的患者在进行危险分层和风险评估,或将有助于高危人群的预后判断和治疗决策。相比某个单一指标,危险评分系统^[7,8]更能综合评估患者术前状态、识别高危患者并对术后生存率和再住院率进行预测。Khatib等^[8]发现,通过5个临床常用指标制定的EARRN评分,可以更好预测CRT患者预后,但该评分对中国CRT患者临床预后的评价效能不尽理想^[9]。目前尚无针对中国人群植入CRT患者的风险评分系统。本研究通过分析植入CRT患者的临床、超声及生化指标等与临床预后的关系,创建并验证CRT患者的风险预测评分。

1 资料与方法

研究对象及终点事件:连续纳入2010-01至2015-12在我院心律失常中心行首次CRT植入术的患者,排除失访患者15例,共纳入367例患者。所有患者均符合2013年ESC指南^[10]推荐的CRT I、II a、II b适应证。研究过程符合赫尔辛基宣言。定义主要终点事件为全因死亡(包括心脏移植),次要终点事件为心力衰竭再住院。

数据收集:通过临床病例系统收集患者临床和影像学相关资料。包括:(1)人口学资料(年龄、性别、体重、身高)、生活方式(吸烟史、饮酒史)、基础

心脏疾病(缺血性心脏病、非缺血性心脏病)、伴随疾病(高血压、糖尿病、心房颤动、室性心律失常)、纽约心脏协会(NYHA)心功能分级、术后用药[螺内酯、血管紧张素转换酶抑制剂(ACEI)/血管紧张素II受体阻滞剂(ARB), β 受体阻滞剂等]。(2)实验室及影像检查:采集患者入院空腹血,测定血常规、生化全套等结果。术前超声心动图检测采用美国GE公司的Vivid7型彩色多普勒超声心动仪采集患者术前超声心动图指标,其中左心室射血分数(LVEF)测定采用Simpson双平面法。

分组及评分:所有患者进行随机赋值并排序,前300例患者为建模组,余67例患者为验证组。将全部患者进行EARRN评分^[8],具体方法为:(1)植入前LVEF $<22\%$;(2)年龄 ≥ 70 岁;(3)心房颤动;(4)估计肾小球滤过率(eGFR) <60 ml/(min $\cdot 1.73$ m²);(5)NYHA心功能IV级。符合上述每条标准各得1分。

统计学分析:所有统计学分析采用SPSS 19.0软件。计量资料中正态分布采用均数 \pm 标准差表示,非正态分布采用中位数(四分位间距)表示。两组比较采用独立样本 t 检验或非参数检验。计数资料采用百分比表示,两组比较采用 χ^2 检验;通过单因素Cox风险比例回归模型筛选出 $P<0.05$ 的变量,进入多因素Cox比例风险回归进行分析,并根据风险模型中 β 偏回归系数对各个独立因素进行赋值,形成评分系统。若计量资料为独立危险因素,采用该指标第75百分位数作为截断值;采用ROC曲线下面积评价区分度;采用Hosmer-Lemeshow检验评价拟合优度, $P>0.05$ 认为模型具有满意的预测拟合程度;双侧 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

患者的基线特征(表1):纳入研究的367例患

者中, 男性 248 例, 女性 119 例, 年龄为(61 ± 11) 岁; 缺血性心脏病占 18% (66 例), 非缺血性心脏病占 82% (301 例)。经过 (21 ± 19) 个月的随访, 共有 53 例 (14.4%) 发生终点事件, 其中死亡 47 例 (12.8%), 心脏移植 6 例 (1.6%)。建模组与验证组间临床基线资料比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

件的独立危险因素。

评分建立: 依据各危险因素 β 偏回归系数建立 HEAL 评分, 其中 H:hs-CRP>5.7 mg/L 得 2 分, E: 大内皮素 -1 >0.69 pmol/L 得 4 分, A:NYHA 心功能 IV 级得 5 分, L: 左心房前后径 >49 mm 得 2 分。根据分值划定患者危险分级:<4 分为低危, 4~10 分为中危, >10 分为高危。

表 1 建模组及验证组临床基线资料的对比 [例 (%)]

项目	全体 (n=367)	建模组 (n=300)	验证组 (n=67)	P 值
年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$)	61 ± 11	61 ± 11	62 ± 11	0.515
男性	248 (67.6)	202 (67.3)	46 (68.7)	0.834
心脏再同步化治疗	137 (37.3)	24 (35.8)	113 (35.8)	0.778
体重指数 (kg/m ²) [*]	24 (21)	24 (22)	24 (22)	0.168
缺血性心脏病	66 (18.0)	57 (19.0)	9 (13.4)	0.283
心房颤动	60 (16.4)	53 (17.7)	7 (10.6)	0.161
左束支传导阻滞	256 (69.9)	205 (68.3)	51 (77.3)	0.152
右束支传导阻滞	22 (6.0)	19 (6.3)	3 (4.5)	0.580
室性心律失常	161 (43.8)	134 (44.7)	27 (40.3)	0.578
ACEI/ARB	271 (73.8)	219 (73.0)	52 (77.6)	0.332
β 受体阻滞剂	340 (92.6)	278 (92.7)	62 (92.5)	0.716
螺内酯	320 (87.2)	263 (71.9)	57 (85.1)	0.776
NYHA 心功能分级				
II 级	123 (33.5)	100 (30.0)	23 (34.3)	0.855
III 级	186 (50.6)	156 (52.0)	66 (44.8)	0.299
IV 级	248 (67.6)	202 (67.3)	46 (68.7)	0.251
初始 QRS 宽度 (ms) [*]	167 (160)	167 (158)	167 (160)	0.894
左心房前后径 (mm, $\bar{x} \pm s$)	44 ± 7	44 ± 8	44 ± 6	0.858
左心室舒张末期前径 (mm, $\bar{x} \pm s$)	70 ± 11	70 ± 11	72 ± 10	0.084
左心室射血分数 (%) [*]	30 (25)	30 (25)	30 (24)	0.744
右心室前后径 (mm) [*]	22 (19)	22 (19)	22 (19)	0.944
高密度脂蛋白胆固醇 (mmol/L) [*]	1.02 (0.85)	1.03 (0.86)	0.98 (0.79)	0.130
N 末端 B 型利钠肽原 (pg/ml) [*]	1688 (765.6)	1752 (752.8)	1511 (870.1)	0.698
尿酸 ($\mu\text{mol/L}$, $\bar{x} \pm s$)	431.7 ± 130.4	430.9 ± 130.9	435.2 ± 128.9	0.806
高敏 C 反应蛋白 (mg/L) [*]	2.15 (1.09)	2.07 (1.12)	2.68 (1.03)	0.939
血肌酐 ($\mu\text{mol/L}$) [*]	88.7 (75.5)	88.6 (75.2)	88.8 (76.9)	0.646
大内皮素 -1 (pmol/L) [*]	0.50 (0.30)	0.47 (0.29)	0.53 (0.31)	0.521
天门冬氨酸氨基转移酶 (IU/L) [*]	20 (16)	20 (16)	20 (16)	0.968
总胆红素 ($\mu\text{mol/L}$) [*]	17.6 (13.4)	17.5 (13.2)	17.7 (13.6)	0.762
直接胆红素 ($\mu\text{mol/L}$) [*]	3.3 (2.4)	3.4 (2.3)	3.2 (2.5)	0.965

注: * 以中位数 (四分位数间距) 表示。ACEI/ARB: 血管紧张素转换酶抑制剂 / 血管紧张素 II 受体阻滞剂; NYHA: 纽约心脏协会

建模组分析显示 (表 2): hs-CRP、N 末端 B 型利钠肽原 (NT-proBNP)、大内皮素 -1、天门冬氨酸氨基转移酶、高密度脂蛋白胆固醇、总胆红素、直接胆红素、右心室前后径、左心房前后径、NYHA 心功能 IV 级在单因素 Cox 风险比例回归中 P 均 <0.05, 将上述指标纳入多因素 Cox 风险比例回归 (表 3) 发现, hs-CRP (HR=1.137, 95%CI: 1.072~1.205, $P<0.001$)、大内皮素 -1 (HR= 1.934, 95% CI: 1.066~3.507, $P=0.03$)、左心房前后径 (HR=1.045, 95%CI: 1.007~1.084, $P=0.020$)、NYHA 心功能 IV 级 (HR=2.583, 95% CI: 1.331~5.013, $P=0.005$) 是 CRT 患者终点事

表 2 建模组单因素 Cox 回归分析终点事件发生的影响因素

指标	全因死亡	
	危险比 (95% 可信区间)	P 值
Scr	1.007(1.000~1.013)	0.053
高密度脂蛋白胆固醇	0.084(0.021~0.328)	<0.001
尿酸	1.001(0.999~1.003)	0.507
高敏 C 反应蛋白	1.151(1.087~1.218)	<0.001
N 末端 B 型利钠肽原	1.000(1.000~1.000)	0.002
大内皮素 -1	2.283(1.434~3.634)	0.001
心房颤动	1.008(0.465~2.183)	0.986
天门冬氨酸氨基转移酶	1.027(1.012~1.043)	0.001
总胆红素	1.033(1.014~1.053)	0.001
直接胆红素	1.123(1.053~1.197)	<0.001
右心室前后径	1.092(1.041~1.144)	<0.001
左心房前后径	1.063(1.025~1.102)	0.001
NYHA 心功能 IV 级	3.024(1.553~5.887)	0.001

注: NYHA: 纽约心脏协会

表 3 建模组多因素 Cox 回归分析 CRT 患者全因死亡预测因子

指标	β 值	Wald 值	P 值	95% 可信区间
高敏 C 反应蛋白	1.137	18.458	<0.001	1.072~1.205
大内皮素 -1	1.934	4.718	0.030	1.066~3.507
左心房前后径	1.045	5.385	0.020	1.007~1.084
NYHA 心功能 IV 级	2.583	7.866	0.005	1.331~5.013

注: NYHA: 纽约心脏协会

评分验证: 建模组共 300 例患者, 其低、中、高危分级的 ROC 曲线下面积为 0.719 (95%CI: 0.629~0.809), Kaplan-Meier 曲线 (图 1) 显示, 相比中、低危患者, 高危患者死亡率及心力衰竭再住院发生率更高 (Log-rank 检验, P 均 <0.001)。验证组共 67 例患者, 其低、中、高危分级的 ROC 曲线下面积为 0.708 (95% CI: 0.539~0.878), Kaplan-Meier 曲线 (图 2) 显示, 低、中、高危患者间终点事件发生率的差异具有统计学意义 (Log-rank 检验, $P=0.002$), Hosmer-Lemeshow 拟合度较好 ($P=0.952$)。Kaplan-Meier 曲线 (图 3) 显示, 全部样本低、中、高危患者心力衰竭再住院率的差异具有统计学意义 (Log-rank 检验, $P<0.001$)。

评分比较: 将全部 367 例患者分别采用 HEAL 与 EARRN 进行评分, ROC 曲线 (图 4) 显示 HEAL 评分 (曲线下面积: 0.763, 95%CI: 0.692~0.833)

较 EARRN 评分(曲线下面积:0.602, 95% CI: 0.517~0.687)区分度更高。

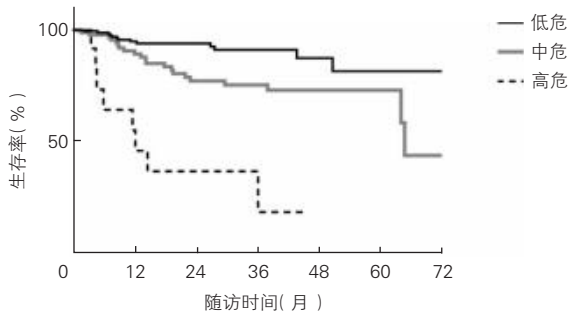


图1 建模组低、中、高危患者 Kaplan-Meier 生存曲线

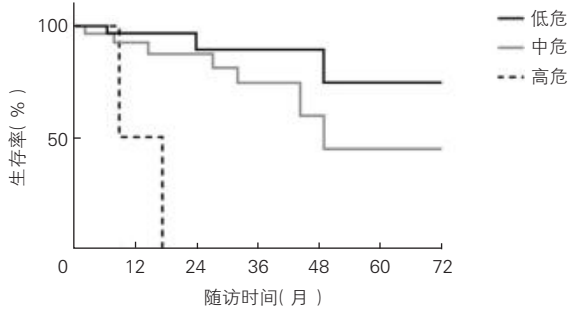


图2 验证组低、中、高危患者 Kaplan-Meier 生存曲线

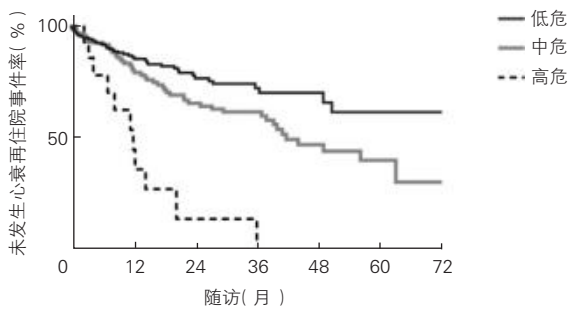


图3 367例低、中、高危患者心力衰竭再住院 Kaplan-Meier 生存曲线

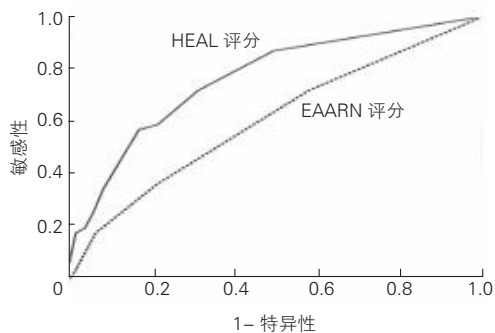


图4 367例患者 HEAL 评分与 EARRN 评分的受试者工作特征曲线

3 讨论

本研究作为第一个基于中国人群的 CRT 预后评分系统, 结合了临床、超声及生化指标, 通过纳入 hs-CRP、大内皮素-1、NYHA 心功能和左心房前后径预测 CRT 患者死亡及心力衰竭再住院的发生。HEAL 评分通过 4 个简单易得的指标, 建模组与验证组均显示出良好的区分度和拟合度。算法相对简单, 易于计算和记忆, 临床实用性较强。将心脏移植纳入终点事件, 贴合目前临床现状。通过 HEAL 评分, 临床医生可以识别 CRT 患者全因死亡及心力衰竭再住院的高危患者, 提示临床医生及早发现并预防该组人群不良事件的发生, 有助于提高生存率、降低心力衰竭再住院率。

本研究发现 hs-CRP 与大内皮素-1 是心力衰竭的独立危险因素。人们认为炎症与慢性心力衰竭的严重程度和预后有关^[11]。Cai 等^[5]、糜家睿等^[6]发现术前 hs-CRP 或大内皮素-1 基线水平是慢性心力衰竭远期死亡的独立危险因素。炎症细胞及其释放的细胞因子可能参与心肌损伤, 加剧心力衰竭的进展。hs-CRP 及大内皮素-1 等指标反应心力衰竭患者的免疫激活和低水平的炎症活动, 可以作为疾病进展的一个标志, 对于反映疾病的预后具有重要的临床实用意义。虽然 CRT 指南表明合并不同心脏不同步收缩的 NYHA 心功能 II ~ IV 级患者均适合植入 CRT^[10], 但有研究发现心功能分级越差的患者死亡率越高^[12,13]。而本研究中, NYHA 心功能 IV 级的患者占有所有患者的 67.6%, 即有一半以上的患者在植入 CRT 前心功能较差。提示临床医生心功能较差患者植入 CRT 后死亡率较高, 需要进行严密随访和及时的治疗调整, 且心力衰竭早期阶段启动 CRT 可能获得更大收益。同样地, 我们发现左心房前后径也是 CRT 患者远期预后较差的独立危险因素。

既往有研究建立了基于国外人群的 CRT 预后的评分^[8,13,14]。Khatib 等^[8]创建 EAARN 评分, 纳入 NYHA 心功能 IV 级, eGFR<60 ml/(min·1.73 m²), 年龄≥70 岁, 心房颤动, LVEF<22% 5 个指标对 CRT 患者预后进行评估。但本研究通过对 367 例患者分别进行 HEAL、EARRN 评分, 并通过 ROC 曲线对比其区分度, 发现 HEAL 评分的区分度更高(曲线下面积:HEAL:0.763>EARRN:0.602)。究其原因, EARRN 评分纳入人群中缺血性心脏病患者比例较高(42%), 术前心功能较差, 终点事件发生率更高。

而中国人群中, CRT 植入患者中非缺血性心脏病所占比例较低(18%), 基于欧美人群制定的评分标准并不一定适用于中国人群。而且, EARN 评分定义的终点事件仅为全因死亡, 未将心脏移植等心力衰竭终末期的有效治疗手段纳入终点事件, 与临床现状尚有差异。

本研究尚属单中心回顾性研究, 随访时间较短, 样本量有限。未能收集术后各时间点超声心动图指标等数据, 无法对 CRT 反应性进行分析。但作为第一个基于中国人群的 CRT 预后评分系统, HEAL 评分的应用效能将会在多中心、大样本的人群中不断验证和完善, 有利于进一步制定出更适合中国人群的评分系统。

结论: HEAL 评分系统可有效预测接受 CRT 患者远期不良临床预后, 区分度优于 EARN 评分, 这对于识别高危患者具有临床实践价值。

参考文献

- [1] Goldenberg I, Kutlyifa V, Klein HU, et al. Survival with cardiac-resynchronization therapy in mild heart failure. *N Engl J Med*, 2014, 370: 1694-1701.
- [2] Prinzen FW, Vernooy K, Auricchio A. Cardiac resynchronization therapy: state-of-the-art of current applications, guidelines, ongoing trials, and areas of controversy. *Circulation*, 2013, 128: 2407-2418.
- [3] 李小鹰. 2010 年慢性心衰治疗进展. *中国循环杂志*, 2011, 26: 81-83.
- [4] 陈康玉, 严激, 徐健, 等. 肾功能对心脏再同步治疗的影响. *中华心律失常学杂志*, 2014, 18: 280-282, 308.
- [5] Cai C, Hua W, Ding LG, et al. High sensitivity C-reactive protein and cardiac resynchronization therapy in patients with advanced heart failure. *J Geriatr Cardiol*, 2014, 11: 296-302.
- [6] 糜家睿, 刘志敏, 杨绳文, 等. 大内皮素-1 对心脏再同步化治疗患者临床预后的评估作用. *中国循环杂志*, 2015, 30 (z1): 49.
- [7] Gasparini M, Klersy C, Leclercq C, et al. Validation of a simple risk stratification tool for patients implanted with Cardiac Resynchronization Therapy: the VALID-CRT risk score. *Eur J Heart Fail*, 2015, 17: 717-724.
- [8] Khatib M, Tolosana JM, Trucco E, et al. EAARN score, a predictive score for mortality in patients receiving cardiac resynchronization therapy based on pre-implantation risk factors. *Eur J Heart Fail*, 2014, 16: 802-809.
- [9] 杨绳文, 刘志敏, 糜家睿, 等. EAARN 评分对于心脏再同步治疗患者临床预后的预测价值. *中华心律失常学杂志*, 2016, 20: 404-408.
- [10] Brignole M, Auricchio A, Baron-Esquivias G, et al. 2013 ESC Guidelines on cardiac pacing and cardiac resynchronization therapy: the Task Force on cardiac pacing and resynchronization therapy of the European Society of Cardiology (ESC). Developed in collaboration with the European Heart Rhythm Association (EHRA). *Eur Heart J*, 2013, 34: 2281-2329.
- [11] Briasoulis A, Androulakis E, Christophides T, et al. The role of inflammation and cell death in the pathogenesis, progression and treatment of heart failure. *Heart Fail Rev*, 2016, 21: 169-176.
- [12] Castel MA, Magnani S, Mont L, et al. Survival in New York Heart Association class IV heart failure patients treated with cardiac resynchronization therapy compared with patients on optimal pharmacological treatment. *Europace*, 2010, 12: 1136-1140.
- [13] van Bommel RJ, Borleffs CJ, Ypenburg C, et al. Morbidity and mortality in heart failure patients treated with cardiac resynchronization therapy: influence of pre-implantation characteristics on long-term outcome. *Eur Heart J*, 2010, 31: 2783-2790.
- [14] Nauffal V, Tanawuttiwat T, Zhang Y, et al. Predictors of mortality, LVAD implant, or heart transplant in primary prevention cardiac resynchronization therapy recipients: The HF-CRT score. *Heart Rhythm*, 2015, 12: 2387-2394.

(收稿时间: 2016-08-25)

(编辑: 漆利萍)

临床研究

心脏再同步化治疗逆转合并左心室收缩功能不全的三度房室传导阻滞患者左心室重构的预测因素分析

谢翠平, 陈康玉, 严激, 徐健, 苏浩, 宇霏, 朱红军, 沈伟, 安春生, 杨冬妹

摘要

目的: 分析合并左心室收缩功能不全的三度房室传导阻滞 (AVB) 患者应用心脏再同步化治疗 (CRT) 后发生左心室重构逆转的预测因素。

方法: 选取 2009-01 至 2015-05 在安徽省立医院植入 CRT 的三度 AVB 患者 65 例, 收集术前临床资料及术后随访资料, 术后 12 个月左心室收缩末期容积 (LVESV) 较术前下降 $\geq 15\%$ 或左心室射血分数 (LVEF) 增加 $\geq 5\%$ 定义为左心室重构逆转。将患者分为逆转组 ($n=36$) 和无逆转组 ($n=29$), 比较两组患者的临床资料, 并采用二分类 Logistic 回归模型分析 CRT 逆转左心室重构的预测因素。

结果: 共入选患者 65 例, 平均年龄 (62 ± 14) 岁, 随访 12 个月, 发生心室重构逆转的患者为 36 例 (55.4%), 逆转组女性 ($P=0.011$)、基线 QRS 时限 >120 ms ($P=0.001$)、心室间激动延迟 (IVMD) ≥ 40 ms ($P=0.027$)、心率校正后的心电图 Q 波起始点距离左心室 16 节段最小容积点时间间隔的标准差 [$Tmsv16-SD$ (%R-R)] $\geq 8.3\%$ ($P=0.001$) 的比例高于无逆转组, 二元 Logistic 回归分析显示, 女性 (OR=6.228, 95%CI: 1.561~24.842, $P=0.01$)、QRS 时限 >120 ms (OR=7.778, 95%CI 1.996~30.769, $P=0.003$) 与 $Tmsv16-SD$ (%R-R) $\geq 8.3\%$ (OR=8.134, 95%CI: 2.064~32.057, $P=0.003$) 是心室重构发生逆转的独立预测因素。

结论: 对于合并左心室收缩功能不全的三度 AVB 患者, 女性、QRS 时限 >120 ms 及 $Tmsv16-SD$ (%R-R) $\geq 8.3\%$ 或可作为 CRT 逆转左心室重构的预测因素。

关键词 心脏再同步治疗; 房室传导阻滞; 心室重构

Predictor Analysis of Left Ventricular Reverse Remodeling in Patients With III° Atrio-ventricular Block Combining Left Ventricular Systolic Dysfunction After Cardiac Resynchronization Therapy

XIE Cui-ping, CHEN Kang-yu, YAN Ji, XU Jian, SU Hao, YU Fei, ZHU Hong-jun, SHEN Wei, AN Chun-sheng, YANG Dong-mei.

Department of Cardiology, Anhui Provincial Hospital Affiliated to Anhui Medical University, Hefei (230001), Anhui, China

Corresponding Author: YAN Ji, Email: yanji11111@126.com

Abstract

Objective: To analyze the predictors of left ventricular reverse remodeling in patients with III° atrio-ventricular block (AVB) combining left ventricular systolic dysfunction after cardiac re-synchronization therapy (CRT).

Methods: A total of 65 III° AVB patients received CRT in our hospital from 2009-01 to 2015-05 were enrolled. Clinical information before and after the operation were recorded. Left ventricular reverse remodeling was defined by left ventricular end systolic volume (LVESV) decreased 15% or left ventricular ejection fraction (LVEF) increased $\geq 5\%$ at 12 months after CRT. The patients were divided into 2 groups: Reversal group, $n=36$ and No reversal group, $n=29$. Clinical condition was compared between 2 groups, predictors for CRT reversing left ventricular remodeling were evaluated by two classification Logistic regression analysis.

Results: The patients' average age was (62 ± 14) years and 36/65 (55.4%) with reverse remodeling. In Reversal group, the ratios of female ($P=0.011$), baseline QRS width >120 ms ($P=0.001$), inter-ventricular mechanical delay (IVMD) ≥ 40 ms ($P=0.027$) and standard deviation of time-to-minimum systolic volume of 16 segments [$Tmsv16-SD$ (%R-R) $\geq 8.3\%$, ($P=0.001$)] were

基金项目: 2013 年安徽省科技攻关计划项目 (1301042210); 安徽省第八批“115”产业创新团队

作者单位: 230001 安徽省合肥市, 安徽医科大学附属省立医院 心血管内科

作者简介: 谢翠平 硕士研究生 主要从事心脏起搏及电生理研究 Email: 710256873@qq.com 通讯作者: 严激 Email: yanji11111@126.com

中图分类号: R541 文献标识码: A 文章编号: 1000-3614 (2017) 08-0766-05 doi:10.3969/j.issn.1000-3614.2017.08.009

higher than those in No reversal group. Two classification Logistic regression analysis indicated that female (OR=6.228, 95%CI 1.561-24.842, $P=0.01$), QRS duration >120 ms (OR=7.778, 95% CI 1.996-30.769, $P=0.003$) and Tmsv16-SD (%R-R) $\geq 8.3\%$ (OR=8.134, 95% CI 2.064-32.057, $P=0.003$) were the independent predictors for ventricular reverse remodeling.

Conclusion: Female, QRS >120 ms and Tmsv16-SD (%R-R) $\geq 8.3\%$ could be used as the predictors for CRT reversing left ventricular remodeling in III° AVB patients combining left ventricular systolic dysfunction.

Key words Cardiac resynchronization therapy; Atrio-ventricular block; Ventricular remodeling

(Chinese Circulation Journal, 2017,32:766)

长期以来,以右心室起搏为基础的单腔或双腔起搏器是三度房室传导阻滞(AVB)患者的主要治疗方法,但越来越多的证据表明右心室起搏会损害心功能,在合并左心室收缩功能不全的患者中更为明显^[1],其机制尚不明确,目前多认为是由于右心室起搏可引起类似左束支传导阻滞的医源性电传导异常,使心脏机械运动不同步,致心室腔逐渐扩大,心功能受损,最终导致患者心力衰竭发生率及住院率增加^[2,3],心脏再同步化治疗(CRT)已被证实能纠正心脏的不同步情况,显著改善慢性心力衰竭患者的心功能,降低心力衰竭住院率及死亡率^[4],而随着 BLOCK HF 研究结果的公布,CRT 在房室传导阻滞患者中的应用日益受到关注^[5],我们的研究亦发现 CRT 可逆转合并左心室收缩功能不全的三度 AVB 患者的心室重构,但并非所有患者均会发生逆转,本研究旨在探讨合并左心室收缩功能不全的三度 AVB 患者应用 CRT 后发生左心室重构逆转的相关预测因素。

1 资料与方法

病例选择:选取我院 2009-01 至 2015-05 成功植入 CRT 装置的三度 AVB 患者 65 例;入选标准:左心室舒张末期腔径(LVEDD) ≥ 55 mm,左心室射血分数(LVEF) $\leq 50\%$,纽约心脏协会(NYHA)心功能分级 I~III 级;排除标准:曾接受心脏电器械装置植入(无论后期保留或移除),不稳定性心绞痛,急性心肌梗死,入选前 3 个月内有冠状动脉搭桥或介入手术史,存在具修复指征的瓣膜病,预期寿命小于 1 年。

超声心动图指标及测量方法:(1)仪器:应用 Philips iE33 彩色超声诊断仪,采用 S5-1 探头,频率为 1~5 MHz,常规检查, X3-1 探头,频率 1~3 MHz,实时三维显像。应用 Qlab7.0 定量分析软件,

对三维数据图像进行定量分析。(2)心脏结构及功能指标:测量 LVEF、左心室收缩末期容积(LVESV)、左心室舒张末期容积(LVEDV)、LVEDD、左心室收缩末期腔径(LVESD)、二尖瓣反流(MR)分级,MR 分级定义为:1 级(轻度反流):二尖瓣反流面积/左心房面积 $<20\%$,2 级(中度反流): $20\% \leq$ 二尖瓣反流面积/左心房面积 $\leq 45\%$,3 级(重度反流):二尖瓣反流面积/左心房面积 $>45\%$ 。(3)心脏不同步指标:①心室间激动延迟(IVMD):定义为左心室与右心室射血前间期差值,正常值 <40 ms, ≥ 40 ms 为室间不同步;②左心室内不同步:a:左心室间隔至后壁运动延迟(SPWMD):使用 M 型超声测量从前间隔运动方向改变的点到后壁运动方向改变的点的间期,正常值 <130 ms, ≥ 130 ms 为左心室内不同步;b:左心室 12 节段收缩速度达峰时间标准差(12-SD):使用组织多普勒超声,测量左心室壁 12 节段(心尖四腔、二腔和三腔观的基底段和中间段)的收缩达峰时间的最大差异,正常值 <30 ms, ≥ 33 ms 为左心室内不同步;c:心率校正后的心电图 Q 波起始点距离左心室 16 节段最小容积点时间间隔的标准差[(Tmsv16-SD(%R-R))]:使用实时三维超声心动图,将左心室分为 16 个节段(基底部 6 个节段+中部 6 个节段+心尖部 4 个节段),测量从心动周期的起始点(定义为 R 波的起始处)至每个节段最小收缩容积时间,然后计算标准差,再计算该数值占 RR 间期的百分比,以排除心率差异的影响,正常值 $<5\%$, $\geq 8.3\%$ 为左心室内不同步^[6,7]。

12 导联心电图检查:测量 QRS 波时限及形态(左束支传导阻滞,非左束支传导阻滞)。

CRT 植入:采用 Seldinger 技术穿刺左侧锁骨下静脉,送入三根 J 型导丝,透视下至下腔静脉,在锁骨下切开皮肤,层层分离至肌筋膜,并做一囊袋备用,逆行造影显示冠状静脉各分支走形,将左心室导线送至靶静脉(首选侧静脉或侧后静脉),常规测试和 10 V 高压起搏测试满意后固定,将右心室导

线植入心尖部或间隔部,右心房导线置于右心耳处,测试后,连接脉冲发生器,缝合囊袋。

随访及结果比较:随访过程中,主要观察超声心动图相关指标变化,结合相关研究^[8],以术后 12 个月 LVESV 较术前下降 $\geq 15\%$ 或 LVEF 增加 $\geq 5\%$ 定义为左心室重构逆转,将患者分为逆转组($n=36$)和无逆转组($n=29$),比较两组间各项指标差异是否存在统计学意义,评价 CRT 逆转心室重构的预测因素。

统计学处理:采用 SPSS 16.0 统计分析软件,计量资料经正态分布检验,符合正态分布的资料以均数 \pm 标准差表示,采用 t 检验比较,不符合正态分布的资料以中位数(四分位间距)表示,非正态分布或方差不齐时,采用秩和检验;计数资料以例数(n)或百分比表示,采用卡方检验比较,理论频数 <5 时采用 Fisher 确切概率法。采用二分类 Logistic 回归模型分析 CRT 逆转心室重构的预测因素, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 65 例患者基线资料比较

项目	总体 ($n=65$)	逆转组 ($n=36$)	无逆转组 ($n=29$)	P 值
女性 [例 (%)]	36 (55)	25 (69)	11 (38)	0.011
年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$)	62 \pm 14	61 \pm 12	64 \pm 15	0.320
合并疾病 [例 (%)]				
冠心病	8 (12)	4 (11)	4 (13)	1.000
高血压	29 (72)	16 (44)	13 (44)	0.975
扩张型心肌病	17 (26)	12 (33)	5 (17)	0.142
糖尿病	14 (21)	7 (19)	7 (24)	0.878
肾功能不全	2 (3)	1 (2)	1 (3)	1.000
使用药物 [例 (%)]				
利尿剂	17 (26)	10 (27)	7 (24)	0.740
螺内酯	18 (27)	9 (25)	9 (31)	0.589
β 受体阻滞剂*	38 (58)	23 (66)	15 (52)	0.323
ACEI/ARB	45 (69)	25 (69)	20 (68)	0.967
心电图 [例 (%)]				
QRS 时限 >120 ms	39 (60)	28 (78)	11 (37)	0.001
LBBB	29 (44)	19 (52)	10 (34)	0.140
心房颤动	9 (13)	3 (8)	6 (20)	0.283
超声心动图				
LAD (mm, $\bar{x} \pm s$)	41.4 \pm 5.2	40.4 \pm 4.5	42.7 \pm 5.9	0.076
LVEDD (mm, $\bar{x} \pm s$)	65.2 \pm 7.3	65.1 \pm 5.7	65.3 \pm 9.0	0.936
LVESD (mm, $\bar{x} \pm s$)	52.6 \pm 7.3	52.0 \pm 5.9	53.4 \pm 8.8	0.455
LVEDV (ml, $\bar{x} \pm s$)	222.3 \pm 66.1	219.7 \pm 47.8	225.5 \pm 77.1	0.710
LVESV (ml, $\bar{x} \pm s$)	136.3 \pm 49.9	131.6 \pm 38.5	142.1 \pm 61.5	0.406
LVEF (% , $\bar{x} \pm s$)	38.4 \pm 6.9	40.0 \pm 6.0	36.4 \pm 7.4	0.064
IVMD ≥ 40 ms [例 (%)]	47 (81)	30 (83)	17 (59)	0.027
SPWMD ≥ 130 ms [例 (%)]	51 (78)	30 (83)	21 (72)	0.287
12-SD ≥ 33 ms [例 (%)]	46 (70)	28 (77)	18 (62)	0.166
Tmsv16-SD (%R-R) $\geq 8.3\%$ [例 (%)]	38 (58)	28 (77)	10 (34)	0.001
SPAP (mmHg, $\bar{x} \pm s$)	41.3 \pm 8.7	40.3 \pm 8.5	42.5 \pm 9.1	0.314
二尖瓣反流分级 ($\bar{x} \pm s$)	1.6 \pm 0.6	1.6 \pm 0.6	1.6 \pm 0.7	0.977

注: * β 受体阻滞剂均为 CRT 术后使用。CRT: 心脏再同步化治疗; ACEI: 血管紧张素转换酶抑制剂; ARB: 血管紧张素 II 受体拮抗剂; LBBB: 左束支传导阻滞; LAD: 左心房内径; LVEDD: 左心室舒张末期径; LVESD: 左心室收缩末期径; LVEDV: 左心室舒张末期容积; LVESV: 左心室收缩末期容积; LVEF: 左心室射血分数; IVMD: 心室间激动延迟; SPWMD: 左心室间隔至后壁运动延迟; Tmsv16-SD: 心率校正后的心电图 Q 波起始点距离左心室 16 节段最小容积点时间间隔的标准差; SPAP: 肺动脉收缩压。1 mmHg=0.133 kPa

2 结果

共入选患者 65 例,平均年龄 (62 ± 14) 岁,随访 12 个月,合并高血压病 29 例 (72%), 冠心病 8 例 (12%), 糖尿病 14 例 (21%), 扩张型心肌病 17 例 (26%), 发生心室重构逆转的患者为 36 例 (55.4%), 逆转组患者女性 ($P=0.011$)、基线 QRS 时限 >120 ms ($P=0.001$)、心室间激动延迟 (IVMD) ≥ 40 ms ($P=0.027$)、Tmsv16-SD (%R-R) $\geq 8.3\%$ ($P=0.001$) 的比例高于无逆转组 (表 1), 二分类 Logistic 回归分析显示 (表 2), 女性 [OR=6.228, 95% 可信区间 (CI): 1.561~24.842, $P=0.01$]、QRS 时限 >120 ms (OR=7.778, 95%CI: 1.996~30.769, $P=0.003$) 与 Tmsv16-SD (%R-R) $\geq 8.3\%$ (OR=8.134, 95%CI: 2.064~32.057, $P=0.003$) 是左心室重构发生逆转的独立预测因素。

表 2 二分类 Logistic 回归模型分析 CRT 逆转心室重构的预测因素

变量	B 值	P 值	OR (95%CI)
QRS 时限 >120 ms	2.051	0.003	7.778 (1.996~30.769)
IVMD ≥ 40 ms	1.238	0.090	3.450 (0.824~14.437)
Tmsv16-SD (%R-R) $\geq 8.3\%$	2.096	0.003	8.134 (2.064~32.057)
女性	1.829	0.010	6.228 (1.561~24.842)

注: CRT: 心脏再同步化治疗; IVMD: 心室间激动延迟; Tmsv16-SD: 心率校正后的心电图 Q 波起始点距离左心室 16 节段最小容积点时间间隔的标准差

3 讨论

正常心脏电活动通过特殊传导系统以 3~4 m/s 的速度迅速传导, 可使心肌即刻同步收缩或舒张, 而右心室心尖部起搏期间, 电活动以正常速度的 1/4 沿心肌缓慢传导, 主要从肌细胞传至肌细胞, 这导致心室电活动不同步, 表现为室间隔单向运动及左心室后下基部最迟激动, 这与在左束支传导阻滞患者中观察到的异常活动相似^[9]。近 1/3 右心

室起搏患者在起搏即刻出现异常的机械活动^[10], 这一比例在长期起搏时增至 50%^[11], 长时间、高比率的右心室起搏可使左心室发生重构, 进而损害心功能, 研究发现右心室起搏比率每增加 10%, 心力衰竭住院风险增加 20%^[12]; 起搏治疗的患者中约 50% 为房室传导功能异常, 近 1/3 存在左心室收缩功能损害^[3], 其中三度 AVB 患者常常需要高比率起搏, 80% 以上患者起搏比率 >80%^[13], 是右心室起搏时出现心功能损害的高危人群。

目前已有多项研究发现对于左心室收缩功能不全、需起搏治疗的患者, 双心室起搏可逆转心室重构, 改善心功能, 优于右心室起搏。我们的研究有相似结果, 但我们也发现, 此类患者应用 CRT 后并非均能发生心室重构逆转及心功能改善, 为此, 本研究针对 CRT 逆转该类患者心室重构的预测因素进行了探讨。

目前心室重构逆转的定义主要包括 CRT 有反应和超反应, 多数研究以 LVESV 下降 $\geq 15\%$ 或 LVEF 增加 $\geq 5\%$ 作为 CRT 有反应标准, 这也是本研究中选取左心室重构逆转标准的重要参考。

与传统适应人群相似, CRT 通过纠正 AVB 患者的心脏运动不同步而起到改善心功能的作用, 而后的不同步目前认为主要是右心室起搏所致的电传导延迟, 而本研究发现, 对于合并左心室收缩功能不全的三度 AVB 患者, QRS 时限 >120 ms, Tmsv16-SD (%R-R) $\geq 8.3\%$ 可作为 CRT 逆转左心室重构的预测因素, 这一发现提示对于 AVB 患者, CRT 或许并非仅仅通过避免右心室起搏引起的不同步起作用, 当患者存在基线电、机械不同步时, 更有可能从 CRT 中获益。

QRS 时限延长是电不同步的有效指标, 是预测 CRT 效果的重要因素。REVERSE 研究入选了 610 例 QRS 时限 >120ms 的轻度心力衰竭患者, 依据 QRS 时限将患者分为 <134 ms、134~152 ms、152~167 ms、168~219 ms 组, 以临床复合评分为终点事件, 随访发现当 QRS 时限 >120 ms 时, CRT 获益与 QRS 时限呈正相关, 而当 QRS 时限 <120 ms 时, 不能观察到 CRT 获益^[14]。目前研究认为 QRS 时限越宽, 从 CRT 获益的可能性越大, CARE-HF 研究以死亡率和非计划心血管事件住院作为主要终点事件, 入选 813 例 QRS 时限 ≥ 120 ms 的心力衰竭患者, 分为 QRS 时限 ≥ 160 ms 及 <160 ms 组, 对比其接受 CRT-P 或药物治疗的效果差异, 发现各 QRS 组患者 CRT 效果均优于药物治疗, 而在 QRS 时限 ≥ 160 ms

时获益尤为明显^[15]。另一些研究则认为只有当 QRS 时限 >150 ms 时, 患者方能从 CRT 中获益^[16,17]。而对于存在左心室收缩功能不全的三度 AVB 患者, 我们的研究发现 QRS 时限 >120 ms 对 CRT 逆转其心室重构具有预测意义。

以电不同步指标筛选 CRT 患者时, 约有 30% 被认为不适合的患者可从 CRT 中获益, 可能因为机械不同步并非总与电传导异常存在联系^[18], 然而目前二维超声、组织多普勒等超声指标未能在 CRT 患者的选择方面起到有利作用^[6]。三维超声可能优于上述传统方法, 本研究显示 Tmsv16-SD (%R-R) $\geq 8.3\%$ 可作为三度 AVB 患者接受 CRT 治疗后左心室重构逆转的预测因素。Padeletti 等^[19] 纳入了 73 项研究, 进行 Meta 分析显示使用三维超声心动图测量的左心室收缩不同步指数 (SDI) 评价 CRT 治疗反应具有良好的准确性, 以 9.8% 为截点预测 CRT 有反应的敏感性和特异性分别为 93% 和 75%, 另一项研究也发现以 SDI >10% 预测 CRT 反应性的敏感性为 96%, 特异性为 88%^[20]。

本研究认为对于合并左心室收缩功能不全的三度 AVB 患者, 需进一步结合预测因素筛选可能从 CRT 获益的人群, 基线电、机械运动不同步的存在或能提高患者获益的可能性, 但本研究存在一定局限性: 为回顾性研究, 主要基线资料来源于收集患者住院及门诊的相关材料, 未能评价患者的生活质量、住院率、生存率情况; 此外样本量较小, 结论尚需更多研究证实。

参考文献

- [1] Fang F, Sanderson JE, Yu CM. Should all patients with heart block receive biventricular pacing? All heart block patients with a pacemaker indication should receive biventricular pacing: one move, double the gains? *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2015, 8: 722-729.
- [2] Ahmed M, Goresan J, Marek J, et al. Right ventricular apical pacing-induced left ventricular dyssynchrony is associated with a subsequent decline in ejection fraction. *Heart Rhythm*, 2014, 11: 602-608.
- [3] 常龙, 程中伟, 方全. 减少不必要右心室起搏的方法. *中国循环杂志*, 2015, 30: 1244-1247.
- [4] Linde C, Curtis AB, Fonarow GC, et al. Cardiac resynchronization therapy in chronic heart failure with moderately reduced left ventricular ejection fraction: Lessons from the Multicenter InSync Randomized Clinical Evaluation MIRACLE EF study. *Int J Cardiol*, 2016, 202: 349-355.
- [5] Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, et al. The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). 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. *Eur J Heart Fail*, 2016, 18: 891–975.
- [6] Chung ES, Leon AR, Tavazzi L, et al. Results of the Predictors of Response to CRT (PROSPECT) trial. *Circulation*, 2008, 117: 2608–2616.
- [7] El Missiri AM. Echocardiographic assessment of left ventricular mechanical dyssynchrony – A practical approach. *The Egyptian Heart Journal*, 2014, 66: 217–225.
- [8] Ypenburg C, van Bommel RJ, Borleffs CJ, et al. Long-term prognosis after cardiac resynchronization therapy is related to the extent of left ventricular reverse remodeling at midterm follow-up. *J Am Coll Cardiol*, 2009, 53: 483–490.
- [9] 李岚, 吴忠东, 赵勤英, 等. 长期右心室起搏出现心力衰竭的患者升级三腔起搏对心功能影响的探讨. *中国循环杂志*, 2013, 28: 338–341.
- [10] Martinelli Filho M, de Siqueira SF, Costa R, et al. Conventional versus biventricular pacing in heart failure and bradyarrhythmia: the COMBAT study. *J Card Fail*, 2010, 16: 293–300.
- [11] Tops LF, Suffoletto MS, Bleeker GB, et al. Speckle-tracking radial strain reveals left ventricular dyssynchrony in patients with permanent right ventricular pacing. *J Am Coll Cardiol*, 2007, 50: 1180–1188.
- [12] Curtis AB, Worley SJ, Adamson PB, et al. Biventricular pacing for atrioventricular block and systolic dysfunction. *N Engl J Med*, 2013, 368: 1585–1593.
- [13] Gierula J, Cubbon RM, Jamil HA, et al. Patients with long-term permanent pacemakers have a high prevalence of left ventricular dysfunction. *J Cardio Med*, 2015, 16: 743–750.
- [14] Gold MR, Thebault C, Linde C, et al. Effect of QRS duration and morphology on cardiac resynchronization therapy outcomes in mild heart failure: results from the Resynchronization Reverses Remodeling in Systolic Left Ventricular Dysfunction (REVERSE) study. *Circulation*, 2012, 126: 822–829.
- [15] Cleland JG, Daubert JC, Erdmann E, et al. The effect of cardiac resynchronization on morbidity and mortality in heart failure. *N Engl J Med*, 2005, 352: 1539–1549.
- [16] Tang AS, Wells GA, Talajic M, et al. Cardiac resynchronization therapy for mild-to moderate heart failure. *N Engl J Med*, 2010, 363: 2385–2395.
- [17] Zareba W, Klein H, Cygankiewicz I, et al. Effectiveness of cardiac resynchronization therapy by QRS Morphology in the Multicenter Automatic Defibrillator Implantation Trial–Cardiac Resynchronization Therapy (MADIT–CRT). *Circulation*, 2011, 123: 1061–1072.
- [18] Cai Q, Ahmad M. Left ventricular dyssynchrony by three-dimensional echocardiography: Current understanding and potential future clinical applications. *Echocardiography*, 2015, 32: 1299–1306.
- [19] Padeletti L, Paoletti Perini A, Gronda E. Cardiac resynchronization therapy: the issue of non-response. *Heart Fail Rev*, 2012, 17: 97–105.
- [20] Kleijn SA, Aly MF, Knol DL, et al. A meta-analysis of left ventricular dyssynchrony assessment and prediction of response to cardiac resynchronization therapy by threedimensional echocardiography. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*, 2012, 13: 763–775.

(收稿日期: 2016–10–26)

(编辑: 汪碧蓉)

临床研究

二代测序法用于先天性长 QT 综合征临床基因检测的假阴性分析

李新, 刘念, 白融, 冯莉, 阮燕菲, 马长生

摘要

目的: 探讨二代测序法在先天性长 QT 综合征(LQTS)临床基因检测中的假阴性问题。

方法: 选取 2 个商业医学检验实验室(Lab1 和 Lab2, HiSeq2000 测序平台)、1 个商业科研服务实验室(Lab3, Ion Torrent 测序平台)和 1 个学术机构实验室(Lab 4, HiSeq2000 测序平台)产生的共 28 例样本数据(Lab1:6 例; Lab2:8 例; Lab3:8 例; Lab4:6 例), 定量分析 LQTS 的三个主要致病基因 KCNQ1、KCNH2 和 SCN5A 外显子区域测序覆盖度以及可能漏检的致病变异数目。

结果: 采用 HiSeq2000 测序平台的 3 个实验室(Lab1、Lab2 和 Lab4)中, 三个致病基因外显子区域覆盖度 > 10 倍的比例均高于 98%, 覆盖度 > 30 倍的区域介于 90%~95%。KCNQ1 在两个商业医学检验实验室的 14 例样本中, 低于 10 倍和 30 倍覆盖的外显子区域比例平均为 3.63% 和 9.84%; 低于 10 倍覆盖区域集中在第一外显子, 平均包含约 2% 的已知致病或疑似致病变异。KCNH2 在两个商业医学检验实验室 14 个样本中, 低于 10 倍和 30 倍覆盖的区域分别为 2.64% 和 15.76%, 低覆盖区分布在多个外显子中。Lab1 的数据中, KCNH2 低于 30 倍覆盖区域最高达 28.56%, 其内包含已知致病或疑似致病变异 113 个(19.79%)。SCN5A 的整体覆盖度最好, 四个实验室的数据都不存在低于 10 倍覆盖的区域, 其中两个商业医学检验实验室也不存在低于 30 倍覆盖的区域。

结论: 当前的 LQTS 基因二代测序检测中, KCNQ1 和 KCNH2 都存在一定程度的低覆盖区, 因此普遍存在漏检致病变异的可能, 假阴性问题值得高度重视。

关键词 QT 延长综合征; 高通量核苷酸测序; 基因; 假阴性反应

False-negative Possibility in Genetic Test of Congenital Long QT Syndrome by Next-generation Sequencing

LI Xin, LIU Nian, BAI Rong, FENG Li, RUAN Yan-fei, MA Chang-sheng.

Department of Cardiology, Beijing Anzhen Hospital, Capital Medical University, National Clinical Research Center for Cardiovascular Diseases, Beijing (100029), China

Corresponding Author: MA Chang-sheng, Email: chshma@vip.sina.com

Abstract

Objective: To explore the false-negative possibility in genetic test of congenital long QT syndrome (LQTS) by next-generation sequencing (NGS).

Methods: A total of 28 genomic DNA samples were collected from 4 laboratories including 2 commercial medical laboratories using HiSeq2000 platform as Lab1, $n=6$ and Lab2, $n=8$; 1 commercial research service laboratory using Ion-torrent platform as Lab3, $n=8$ and 1 academic laboratory using HiSeq2000 platform as Lab 4, $n=6$. Sequencing coverage in the exons of protein-coding region in 3 main LQTS pathogenic genes as KCNQ1, KCNH2, SCN5A and possible pathogenic variants were quantitatively analyzed.

Results: In Lab1, Lab 2 and Lab 4 with HiSeq2000 platform, above 98% protein coding regions in 3 pathogenic genes were covered with >10-fold reads and 90%~95% were covered with >30-fold reads. In 2 commercial medical laboratories, 3.63% and 9.84% protein coding regions of KCNQ1 gene in 14 samples were covered with <10-fold reads and with <30-fold reads; lower than 10-fold covering region was focused in the 1st exon including about 2% known or likely pathogenic variants. In 2 commercial medical laboratories, 2.64% and 15.76% protein coding regions of KCNH2 gene in 14 samples were covered with <10-fold reads and with <30-fold reads; low covering region was located in multiple exons. For the data from Lab 1, as

基金项目: 国家自然科学基金(81500246, 81470465); 北京市自然科学基金(7161003); 北京市医管局临床医学发展专项(ZYLX201302)

作者单位: 100029 北京市, 首都医科大学附属北京安贞医院 心内科, 国家心血管病临床医学研究中心

作者简介: 李新 副研究员 博士 主要从事心血管病遗传与基因组学研究 Email: leexin9907@126.com 通讯作者: 马长生 Email: chshma@vip.sina.com

中图分类号: R54 文献标识码: A 文章编号: 1000-3614 (2017) 08-0771-05 doi:10.3969/j.issn.1000-3614.2017.08.010

high as 28.56% protein coding regions of KCNH2 gene were covered with <30-fold reads including 113 (19.79%) known or likely pathogenic variants. SCN5A gene had the best coverage of protein coding region, with no <10-fold reads in all 4 Labs and no <30-fold reads in 2 commercial medical laboratories.

Conclusion: Currently, NGS has low coverage region in both KCNQ1 and KCNH2 genes, pathogenic variants could be missed and false-negative possibility should be highly alert.

Key words Long QT syndrome; High-throughput nucleotide sequencing; Gens; False Negative Reactions

(Chinese Circulation Journal, 2017,32:771.)

先天性长 QT 综合征 (LQTS) 是一种遗传性心律失常。最近的数据表明 LQTS 发病率达 1/2500~1/2000^[1]。基因检测对于 LQTS 的诊断和治疗有重要意义,而对儿茶酚胺性敏感性多形性室性心动过速、Brugada 综合征等心律失常基因检测目前仍无法指导治疗^[2]。因此,与其他心律失常相比,基因检测对于 LQTS 的临床价值更为突出,可以说是心血管领域尤其是心律失常领域应用基因检测的典范。由于二代测序(NGS)技术高通量的优点,当前不仅在科研领域广泛应用,在我国临床基因检测领域也逐渐取代传统一代测序(Sanger 测序)。然而,NGS 在临床应用中仍缺乏统一的质控标准或共识,迫切需要大量的质量控制研究以促进相关标准的建立,从而更好的支持 NGS 在精准医学中的应用。

本文选取 2 个商业医学检验实验室、1 个商业科研服务实验室和 1 个学术机构实验室应用不同 NGS 平台产生的数据,对 LQTS 的三个主要致病基因 KCNQ1、KCNH2 和 SCN5A 测序数据质量进行评估,分析 NGS 在目标基因覆盖以及变异位点漏检方面的特点,探讨 NGS 用于临床检测 LQTS 的假阴性问题。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取欧洲离子通道和心肌病遗传检测专家共识中推荐的 LQT1-3 的 3 个基因 (KCNQ1、KCNH2 和 SCN5A) 为研究对象^[2]。分析这 3 个基因的测序覆盖度和测序未覆盖区(“缺口”)中包含的“致病”或“可能致病”突变个数,从而评估当前 NGS 用于 LQTS 遗传诊断带来的假阴性问题。

1.2 数据来源

NGS 数据来自 2 个商业医学检验实验室 (Lab1、Lab2, 拥有临床细胞分子遗传学检验资格)、1 个

商业科研服务实验室 (Lab3) 和 1 个学术机构实验室 (Lab4)。测序样品均为外周血提取的基因组 DNA, 测序目标基因都包含 KCNQ1、KCNH2 和 SCN5A。Lab1 提供了 6 例遗传性心律失常基因检测患者的数据, 方法为 Agilent 靶向捕获探针对 213 个心血管相关基因进行捕获, 用 HiSeq2000 平台 (Illumina 公司) 生成测序数据。Lab2 提供了 8 例遗传性心血管病基因检测患者的数据, 其中 4 例采用 Roche 探针捕获 445 个基因的心血管检测包, 4 例采用 Agilent 探针捕获 6110 个基因的综合检测包, 测序平台也为 HiSeq2000。Lab3 提供了 8 例科研用途的心律失常患者数据, 目标区域包括 50 个基因, 测序平台为 Ion Torrent。Lab4 提供了 6 例科研用途的健康人外显子组测序数据 (Agilent 50Mb 或 70Mb 试剂盒), 测序平台也为 HiSeq2000。需要说明的是, 这些数据并不能用于比较这 4 个实验室或其所用平台的测序质量优劣, 我们主要目的是从这些数据中探讨假阴性问题的普遍性。

1.3 分析方法

对于 NGS 原始数据, 首先进行基因组比对, 比对前使用 cutadapt 软件去除接头和低质量序列, 仅保留连续 Q 值 >20 的碱基进行比对。每测一个碱基有一个相应的质量值 (Quality, Q), 用来衡量测序准确度。碱基的 Q 值为 20 相当于错误率为 1%。使用 BWA (v0.7.15) 软件和人的基因组参考序列 (hg19) 进行比对, 采用 Picard (v2.5.0) 软件去除聚合酶链式反应 (PCR) 重复引入的测序片段 (reads), 使用 Samtools (v1.3.1) 软件将 sam 文件转换成 bam 文件并按染色体排序和建立索引。

测序覆盖度分析采用 BEDTools 软件包中的 “Coverage analysis for targeted DNA capture” 功能对目标区域 reads 覆盖度进行统计 (<http://bedtools.readthedocs.io/en/latest/>, 美国犹他大学)。BEDTools 是用于各种基因组特征比较及注释的工具^[3]。目标基因编码区参考序列为 KCNQ1 (NM_000218.2)、KCNH2 (NM_000238.3) 和 SCN5A (NM_198056.2),

编码区长度分别为 2031 bp、3480 bp 和 6051 bp，累计长度 11562 bp。软件计算出每个碱基位置的测序覆盖度，连续 5 个碱基覆盖度低于 10 倍或 30 倍，则认为此区域为 <10 倍或 <30 倍。>10 倍覆盖的比例是绝大多数研究中都会报道的 NGS 数据指标；而 >30 倍覆盖通常被认为是高可信度的标准，在近期发布的临床基因检测研究中也有应用实例^[4,5]。逐个样本记录这 3 个基因上的低覆盖区域碱基数，再按实验室分组统计覆盖度的平均数 ± 标准差。

1.4 临床变异位点参考数据库

参考数据库为美国国家生物技术信息中心 (NCBI) 的 ClinVar 数据库^[6,7] (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>)。对于每个样本数据中的低覆盖区域，记录其在数据库中相应区域内包含的致病变异和疑似致病变异个数。

2 结果

2.1 4 组来自不同实验室测序数据的覆盖度评估

用 HiSeq 2000 测序平台的 3 个实验室 KCNQ1、KCNH2 和 SCN5A 的覆盖度都在 98% 以上 (至少 10 倍覆盖)，采用外显子组测序的 Lab4，<30 倍覆盖的比例明显高于两个临床医学检验实验室。而采用 Ion Torrent 的 Lab3，数据覆盖度略低于其他实验室 (图 1)，这与 Lab3 提供数据的实验设计有关，并不意味着 Ion Torrent 平台的覆盖度不如其它平台。实际上，所有实验室的 >10 倍和 >30 倍覆盖区域所占比例差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

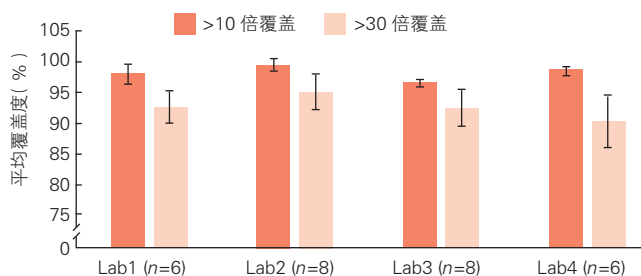


图 1 KCNQ1、KCNH2 和 SCN5A 三个基因的总测序覆盖情况

2.2 低覆盖区域比例及包括的变异数

Clinvar 数据库 (2016-08-10) 收录的 KCNQ1、KCNH2 和 SCN5A 中致病及可能致病的 (Pathogenic / Likely pathogenic) 变异个数分别为: KCNQ1 中 386 个, KCNH2 中 571 个, SCN5A 中 442 个。

KCNQ1: 28 例样本中有 5 例样本 (Lab2 的 4 个, Lab3 的 1 个) 此基因被完全覆盖 (>10 倍)，其余 23 例样本低覆盖度区域集中在第 1 个外显子 (表 1)。以 Lab1 中此基因覆盖最差的 1 号样本为例，编码区开头的 178 bp 覆盖度低于 10 倍 (8.7%)，包括 7 个 ClinVar 数据库收录的致病或疑似致病变异，占此基因全部 386 个的 1.8%; <30 倍区域 287 bp，包含 10 个致病或疑似致病变异。Lab2 中此基因覆盖较差的 7 号样本有 192 个碱基覆盖度低于 10 倍，其中包括 8 个 ClinVar 数据库收录的致病或疑似致病变异，占此基因所有 386 个的 2%; <30 倍区域 319 bp，包含 15 个致病或疑似致病变异。两个临床检验实验室 14 个样本 (表 1)，KCNQ1 中 <10 倍的外显子区域比例平均 (3.63 ± 0.37)%，<30 倍区域比例平均 (9.51 ± 0.41)%。

表 1 KCNQ1 在三个 HiSeq 平台实验室的测序覆盖情况

样本编号	<10 倍区域所 在外显子编号	<10 倍区域 (bp) 和比例 (%)	<30 倍区域所 在外显子编号	<30 倍区域 (bp) 和比例 (%)
Lab1-1	1	178 (8.76)	1	287 (14.13)
Lab1-2	1	39 (1.92)	1	149 (7.33)
Lab1-3	1	178 (8.76)	1	287 (14.13)
Lab1-4	1	162 (7.98)	1,2,16	295 (14.52)
Lab1-5	1	47 (2.31)	1	223 (10.98)
Lab1-6	1	122 (6.00)	1	187 (9.21)
Lab2-1	1	10 (0.49)	1,16	245 (12.06)
Lab2-2	1	35 (1.20)	1	172 (8.47)
Lab2-3	无	0 (0)	1	99 (4.87)
Lab2-4	无	0 (0)	1	109 (5.37)
Lab2-5	1	68 (3.35)	1,10	154 (7.58)
Lab2-6	无	0 (0)	1	65 (3.20)
Lab2-7	1	192 (9.25)	1,16	319 (15.70)
Lab2-8	无	0 (0)	1	112 (5.51)
Lab4-1	1	84 (4.14)	1, 3, 10, 13	362 (17.82)
Lab4-2	1	93 (4.58)	1, 10, 14	376 (18.51)
Lab4-3	1	83 (4.10)	1, 10, 13	366 (18.02)
Lab4-4	1	70 (3.45)	1, 10, 13	296 (14.57)
Lab4-5	1	54 (2.66)	1, 10, 13	380 (18.71)
Lab4-6	1	94 (4.63)	1, 2, 10, 12, 13	500 (24.62)

KCNH2: 4 个实验室中 Lab3 数据在 KCNH2 覆盖度最差，在 4 个外显子上存在 <10 倍区域，因其所用测序平台不同于其它三个实验室，数据未列在表 2 中。两个临床检测实验室中，Lab2 的覆盖情况优于 Lab1，8 个样本中有 5 个样本此基因存在 <10 倍区域。而 Lab1 的 6 个样本均有存在 <10 倍区域，与采用外显子捕获测序的 Lab4 很相似，低覆盖区域主要集中在 4 号和 12 号外显子 (表 2)。两个临床检验实验室 14 个样本，KCNH2 中 <10 倍和 <30 倍覆盖度的外显子区域比例平均值分别为 2.64% 和 15.76%。

以 Lab1 中覆盖较差的 1 号样本为例，覆盖度

<10 倍区域累计 236 bp, 占此基因编码区的 6.78%。这些低覆盖区域中包含 31 个 ClinVar 数据库收录的致病或疑似致病变异, 占有 571 个变异的 5%。此样本 <30 倍覆盖区域更是高达 28.56% (表 2), 其中包括致病或疑似致病变异 113 个(19.79%)。

表 2 KCNH2 在三个 HiSeq 平台实验室的测序覆盖情况

样本编号	<10 倍区域 所在外显子编号	<10 倍区域 (bp) 和 比例 (%)	<30 倍区域所在 外显子编号	<30 倍区域 (bp) 和比例 (%)
Lab1-1	1,4,12	236 (11.60)	1,2,4,7,12	994 (28.56)
Lab1-2	4	78 (2.24)	1,4,12	256 (7.36)
Lab1-3	4,12	190 (5.46)	1,2,4,7,11,12	917 (26.35)
Lab1-4	1,4,12	248 (7.13)	1,2,4,7,12	702 (20.17)
Lab1-5	1,4,12	108 (3.10)	1,2,4,7,11,12,13	340 (9.77)
Lab1-6	4,12	40 (1.15)	1,4,12	489 (14.05)
Lab2-1	4	134 (3.85)	4,12,14	795 (22.84)
Lab2-2	无	0 (0)	4,12	119 (3.42)
Lab2-3	无	0 (0)	1,4	121 (3.48)
Lab2-4	4	18 (0.52)	1,4,12,13	285 (8.19)
Lab2-5	无	0 (0)	1,4,12	272 (7.82)
Lab2-6	无	0 (0)	1,4,12	164 (4.71)
Lab2-7	无	0 (0)	4,12,13,14	672 (19.31)
Lab2-8	12	6 (0.17)	1,4,11,12	312 (8.97)
Lab4-1	4,12	34 (0.98)	1,2,4,11,12	433 (12.44)
Lab4-2	1,4	128 (3.68)	1,2,4,7,9,12,15	593 (17.04)
Lab4-3	4,12	175 (5.03)	2,4,5,6,8,9,12,13,14, 15	849 (24.40)
Lab4-4	4,12	98 (2.82)	2,4,5,8,9,12,13,14, 15	797 (22.90)
Lab4-5	2	70 (2.01)	2,3,9,12,13	544 (15.63)
Lab4-6	4,12	277 (7.96)	2,4,5,7,8, 9,12,13,14,15	1317 (37.84)

SCN5A:SCN5A 是三个基因中覆盖度最好的。4 个实验室所有样本 SCN5A 各外显子测序覆盖度均 >10 倍, 两个临床检测实验室的数据覆盖度均 >30 倍。采用外显子组测序的学术机构实验室 Lab4 此基因 <30 倍覆盖的平均比例为 2.9%。

3 讨论

我们通过对 4 个实验室 28 例样本 NGS 数据的分析, 首次展示了国内当前采用 NGS 检测 LQTS 基因变异将不可避免地出现低覆盖区域, 从而引起致病突变漏检(假阴性)的可能。本研究观察到两个临床检测实验室的数据 SCN5A 测序覆盖情况良好; 而 KCNQ1 和 KCNH2<10 倍覆盖区域平均值分别为 3.38% 和 2.64%, 在不同样本间差异较大(0%~11.6%)。美国著名基因检测公司 Familion 以 1 例健康个体的 Ion Torrent NGS 数据为例, 指出仅用 NGS 在 KCNQ1、KCNH2、SCN5A 和 RYR2 四个重要心律失常基因上存在不容忽视的低覆盖区, 比如 KCNH2<40 倍覆盖的区域达 34%^[8]。

NGS 覆盖度受测序数据量、目标基因序列 GC

含量、目标区域捕获效率、检测包(Panel)中基因之间序列的相似性程度等影响, 不同批次送检的同一 Panel 的测序结果之间也会有一定程度的差异。因此, Familion 指出为提高临床基因检测结果的准确性, 应联合采用经典 Sanger 测序和 NGS。一些国外著名临床机构对遗传性心律的基因检测也采用 Sanger 测序为代表的其它方法对 NGS 覆盖不满意的区域进行补充, 基本不允许存在“缺口”, 但对需要补充 Sanger 测序或其它方法的区域并没有统一标准(Dr. Ackerman 私人通讯 2015)。对关键基因做到完全覆盖, 有利于提高阳性检出率。我国最大的 LQTS 注册队列研究, 通过心电图预测指导的 Sanger 测序法仅对这 3 个基因进行顺序检测, 在 230 例患者中突变检出率达 81% (186/230)^[9]。

理论上, 用于临床检测的 NGS 质量控制应比科研目的的检测质量控制更加严格, 但实际上, 国内很多临床基因检测公司对于影响测序质量的很多环节的处理与科研检测无异, 质量控制还有待改善。这种情况与国内临床基因检测领域尚无可遵循的指南或标准也有关系。2015-12 欧洲率先发表 NGS 临床诊断应用指南^[10], 其第一条就指出“阻止 NGS 过早用于诊断的原因只能是其质量差, 未通过验证就进入临床诊断对患者而言具有威胁性, 同时也是不可接受的”。值得注意的是, 最近一些临床基因检测公司对于临床检测样本和科研样本已区别对待, 对临床检测样本会适当提高测序数据量(测序深度), 这可在很大程度上缩小低覆盖区域的比例。但仅靠提高测序数据量还不够, 如上所述, 测序的质量还受很多其它因素的影响, 如建库质量、捕获效率以及目标基因本身的序列特征等影响。对于特定基因, 比如本文关注的 3 个基因在同一实验室的同一检测包中覆盖情况都有不同。

欧洲 NGS 临床诊断应用指南提出了 NGS 诊断检测的“评价系统”, 将 NGS 诊断检验分为三类: A 类: 实验室可保证编码区及侧翼区 99% 以上的测序可靠度, 通过 Sanger 测序或其它方法补充 NGS 漏洞区域的序列。B 类: 实验室明确指出哪些区域的 NGS 测序可靠度在 99% 以上, 选择性的对某些 NGS 漏洞区域进行 Sanger 测序或其它方法补充。C 类: 实验室测序仅依赖 NGS, 无 Sanger 或其它测序补充。目前国内的 NGS 临床诊断商业公司, 绝大多

数都为 C 类, 在基因筛查阶段只依赖 NGS, 只是在检测到个别相关性强的位点时, 才会进行此位点的 Sanger 测序验证。因此, 目前国内 NGS 临床检测的假阴性的问题是比较普遍且严重的。心血管方面尚缺乏公开报道的数据, 而在眼科相关基因检测中, 我国学者通过对 179 个视网膜色素变性家系先证者进行 NGS, 50 人未能检测到相关变异。对这 50 人进一步用 Sanger 测序法重新检测原来 NGS 已包括的 ORF15 基因, 又在 7 例患者中发现了致病突变, 而这 7 例患者的致病突变都位于 NGS 的低覆盖区域 (<10 倍)^[11]。

本文的局限性在于, 仅对 4 个实验室测序数据比对上的部分进行了覆盖度分析, 未能具体分析低覆盖区域产生的技术原因。但这 4 个实验室的数据普遍表明了仅用二代测序进行 LQTS 临床基因检测存在不容忽视的假阴性可能, 临床医生或诊断实验室应谨慎下结论。

综上, 假阴性率是临床基因检测中的重要质量控制问题之一。对于遗传性心律失常的临床基因检测, 我们呼吁对于指南或共识中^[12]推荐的基因应在 NGS 外采补充 Sanger 测序, 以尽量减少假阴性, 提高心律失常 NGS 临床检测准确率。我们也希望我国能尽快出台 NGS 临床应用相关的指南或标准, 引导 NGS 在精准医疗事业中发挥更大价值。

参考文献

- [1] Schwartz PJ, Stramba-Badiale M, Crotti L, et al. Prevalence of the congenital long-QT syndrome. *Circulation*, 2009, 120: 1761-1767.
- [2] Ackerman MJ, Priori SG, Willems S, et al. HRS/EHRA expert consensus statement on the state of genetic testing for the

channelopathies and cardiomyopathies this document was developed as a partnership between the Heart Rhythm Society (HRS) and the European Heart Rhythm Association (EHRA). *Heart Rhythm*, 2011, 8: 1308-1339.

- [3] Quinlan AR, Hall IM. Bedtools: A flexible suite of utilities for comparing genomic features. *Bioinformatics*, 2010, 26: 841-842.
- [4] Manase D, D'Alessandro LC, Manickaraj AK, et al. High throughput exome coverage of clinically relevant cardiac genes. *BMC Med Genomics*, 2014, 7: 67.
- [5] Megahed H, Nicouleau M, Barcia G, et al. Utility of whole exome sequencing for the early diagnosis of pediatric-onset cerebellar atrophy associated with developmental delay in an inbred population. *Orphanet J Rare Dis*, 2016, 11: 57.
- [6] Rehm HL, Berg JS, Brooks LD, et al. ClinGen--the Clinical Genome Resource. *N Engl J Med*, 2015, 372: 2235-2242.
- [7] Landrum MJ, Lee JM, Riley GR, et al. Clinvar: Public archive of relationships among sequence variation and human phenotype. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42: D980-985.
- [8] Callis TE, Hutchinson S, Lu H, et al. Complementary use of conventional and nextgeneration sequencing methods is critical for accurate mutation detection in multi-gene arrhythmia panels. *Heart Rhythm*, 2015, 12(Suppl): S97-S154.
- [9] Gao Y, Liu W, Li C, et al. Common genotypes of long QT syndrome in China and the role of ECG prediction. *Cardiology*, 2016, 133: 73-78.
- [10] Matthijs G, Souche E, Alders M, et al. Guidelines for diagnostic next-generation sequencing. *Eur J Hum Genet*, 2016, 24: 2-5.
- [11] Huang XF, Wu J, Lv JN, et al. Identification of false-negative mutations missed by next-generation sequencing in retinitis pigmentosa patients: A complementary approach to clinical genetic diagnostic testing. *Genet Med*, 2015, 17: 307-311.
- [12] 中华心血管病杂志编辑委员会心律失常询证工作组. 遗传性原发性心律失常综合征诊断与治疗中国专家共识. *中华心血管病杂志*, 2015, 43: 5-20.

(收稿时间: 2016-11-03)

(编辑: 漆利萍)

临床研究

抗凝对右心导管操作术后深静脉血栓发生的影响

匡晓晖, 张曦, 高晓龙, 王礼琳, 丁立群, 张进, 向虹, 彭亚婷, 高田, 毛富刚, 范洁

编者按 目前对于只进入右心系统的射频消融术, 术中是否肝素抗凝治疗尚无明确建议。作者报道了抗凝对右心导管操作术后深静脉血栓(DVT)的影响。该研究将右心系统进行射频消融的患者随机分为抗凝组和不抗凝组, 并比较其术后 DVT 事件的发生率, 发现不抗凝组 DVT 事件明显增多, 并且多数 DVT 事件为无症状, 故需引起临床重视。将来有必要开展大规模临床研究, 以期得出更可靠的结论。

摘要

目的: 探索右心导管操作术后深静脉血栓(DVT)的发生率及抗凝治疗的作用。

方法: 连续选择 2015-01 至 2016-05 行心内电生理检查(EPS)和(或)导管射频消融(RFCA)的患者 171 例, 将在静脉系统可完成手术的室上性心动过速(室上速)患者随机分为抗凝组 87 例及非抗凝组 84 例。术后 24-48 h 行下肢血管多普勒彩超检查, 比较二组间 DVT 发生率。

结果: 171 例患者均为阵发性室上速患者, 13 例患者(抗凝组 9 例, 非抗凝组 4 例)未完成术后下肢血管多普勒彩超检查而排除, 共有 158 例患者完成术后检查及随访。抗凝组 78 例中有 7 例(8.97%)发生 DVT; 非抗凝组 80 例中有 41 例(51.3%)发生 DVT, 两组比较差异有统计学意义($P<0.001$)。48 例发生 DVT 患者中有 6 例(12.5%)发生肌间静脉血栓, 42 例均为静脉穿刺点附近血栓。

结论: 右心导管操作术中未抗凝的患者 DVT 发生率较高, 使用肝素抗凝可降低 DVT 发生率。

关键词 导管插入术; 静脉血栓形成; 抗凝药

Impact of Anticoagulation on Deep Vein Thrombosis Occurrence in Patients After Right Heart Catheterization

KUANG Xiao-hui, ZHANG Xi, GAO Xiao-long, WANG Li-lin, DING Li-qun, ZHANG Jin, XIANG Hong, PENG Ya-ting, GAO Tian, MAO Fu-gang, FAN Jie.

Department of Cardiology, The First people's Hospital of Yunnan Province; Kunming (650032), Yunnan, China

Correspondence Author: Fan Jie, Email: fanj913@sina.com.

Abstract

Objective: To explore deep vein thrombosis (DVT) occurrence in patients after right heart catheterization and the effect of anticoagulant therapy.

Methods: A total of 171 consecutive patients with electrophysiological study (EPS) and/or radiofrequency catheter ablation (RFCA) in our hospital from 2015-01 to 2016-05 were enrolled. All patients had supra-ventricular tachycardia and completed a venous surgery, they were randomly divided into 2 groups: Anticoagulation group, $n=87$ and Non-anticoagulation group, $n=84$. Lower extremity vascular Doppler ultrasonography was performed at (24-48) h post-operation to compare the incidence of DVT between 2 groups.

Results: There were 13/171 patients were excluded for not completing post-operative lower extremity vascular Doppler ultrasonography including 9 patients in Anticoagulation group and 4 in Non-anticoagulation group. 158 patients finished post-operative examination and follow-up study. Anticoagulation group had 7/78 (8.97%) patients suffered from DVT, Non-anticoagulation group had 41/80 (51.3%) patients suffered from DVT, $P<0.001$.

Conclusion: The incidence of DVT was higher after right heart catheterization without anticoagulation; heparin treatment may reduce DVT occurrence in relevant patients.

基金项目: 云南省科技厅重点项目(2014RA069)

作者单位: 650032 昆明市, 云南省第一人民医院 心内科

作者简介: 匡晓晖 主治医师 硕士 主要研究方向为心律失常介入治疗 Email: kxhynsy@sina.com 通讯作者: 范洁 Email: fanj913@sina.com

中图分类号: R541 文献标识码: A 文章编号: 1000-3614 (2017) 08-0776-04 doi: 10.3969/j.issn.1000-3614.2017.08.011

Key words Catheterization; Deep vein thrombosis; Anticoagulation

(Chinese Circulation Journal, 2017;32:776.)

导管射频消融(RFCA)是根治快速心律失常的一种非常有效的治疗手段,其成功率高,并发症少。下肢深静脉血栓(DVT)是术后常见的血管并发症,是导致肺栓塞的主要原因,因其后果严重而备受临床重视。目前对于需进入左心系统完成的RFCA术,术中肝素抗凝已成共识。但对于只进入右心系统即可完成的RFCA术,术中是否需肝素抗凝尚未明确。本研究将单纯进入右心系统即可完成RFCA术的患者随机分为抗凝组及非抗凝组,比较两组间RFCA治疗后DVT的发生率,初步分析抗凝治疗在单纯进入右心系统可完成RFCA术患者中的作用。

1 资料与方法

患者一般资料:连续选择2015-01至2016-05在云南省第一人民医院行心内电生理检查(EPS)和(或)RFCA术的患者,只进入右心系统即可完成RFCA术的患者171例,均为阵发性室上性心动过速(室上速)患者,随机分为抗凝组87例及非抗凝组84例。术前常规登记患者的性别、年龄、体重、疾病史、肝肾功能及心脏彩超结果;术中记录患者穿刺股静脉次数、放置的鞘管数量及型号、手术持续的时间、术中是否抗凝及抗凝药物的剂量、拔除鞘管后按压时间、绷带包扎时间、记录患者床上活动时间及下床时间;记录术后血管彩超结果、伤口情况(出血、血肿及异常血管杂音)、患者症状及术后治疗方案。患者全部签署知情同意。

手术方法:采用Seldinger技术穿刺股静脉和锁骨下静脉,于股静脉至少置入2个6F鞘管以备放置His束电极、高位右心房电极或右心室电极,于锁骨下静脉置入1个6F鞘管以备放置冠状窦电极。排除经心内电生理检查证实为左侧旁道或左心室特发室速者,因为上述患者需要穿刺股动脉。以股静脉作为RFCA治疗入路的患者随机分为抗凝组87例和非抗凝组84例。抗凝组的抗凝方案为:穿刺成功放置鞘管后立即静脉注射肝素3000U,以后每1h追加1000U。非抗凝组则不给予抗凝。所有患者术后在导管室拔除全部鞘管,人工压迫止血后绷带包扎16~24h,床上平卧6~8h,穿刺侧下肢制动3~5h。术后24~48h常规行血管多普勒彩色超声检查,证

实为下肢静脉血栓者予以华法林口服,保持国际标准化比值(INR)在2.0~3.0之间,血栓消失后停药。

血管多普勒彩色超声诊断DVT方法:采用GE-E9彩色多普勒超声诊断仪进行检查,常规探头频率5~12MHz,髂总静脉或较深部位探查用频率5MHz。根据血管的具体情况调整深度、增益和聚焦部位,使图像效果达到最佳状态。患者取仰卧位,大腿轻度外展且膝关节略弯曲,使整个下肢呈松弛状态;按自上而下的顺序检查股总静脉、大隐静脉入口、股浅静脉、股深静脉、腘静脉、小隐静脉入口、胫前静脉、胫后静脉、腓静脉,必要时加取俯卧位检查腘静脉和胫后静脉,同时注意观察小腿背侧及腹侧的小腿肌间静脉;在检查过程中,纵切、横切交替进行,患侧、健侧对比检查,重点观察血管分叉处、静脉瓣处及关节周围的血管,观察静脉管径大小、管腔内有无异常回声,有无彩色血流信号或充盈缺损,血流频谱形态,必要时辅以Valsalva试验及肢体远端挤压试验。对股总静脉血栓形成者,换用5MHz探头沿股总静脉向上探查髂静静脉及下腔静脉。

随访方法:术后门诊或电话随访,明确有无呼吸困难、胸痛等肺栓塞症状,并于1~2周后复查下肢血管,多普勒彩超检查以明确血栓是否消失。

统计学方法:采用SPSS 19.0统计软件进行统计分析。计量数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,计量资料经正态分布检验后,符合正态分布资料采用单因素方差分析,非正态分布资料采用秩和检验,分类变量及各组临床事件发生率比较采用卡方检验。

2 结果

171例患者均为阵发性室上速患者,13例(抗凝组9例,非抗凝组4例)患者未完成术后下肢血管多普勒彩超检查而排除。158例患者完成术后下肢血管多普勒彩超检查及术后随访,男性73例、女性85例,年龄9~75(48 ± 15)岁,平均随访6个月(2~14个月)。完成随访的抗凝组78例与非抗凝组80例患者在年龄、体重、手术时间、穿刺静脉次数、术后制动、包扎时间、下床活动时间的比较差异无统计学意义(表1)。

表 1 两组患者基础资料比较($\bar{x} \pm s$)

项目	抗凝组 (n=78)	非抗凝组 (n=80)
年龄 (岁)	50 ± 14	46 ± 16
手术时间 (h)	1.54 ± 0.80	1.43 ± 0.78
体重 (kg)	59.6 ± 9.2	60.3 ± 8.9
穿刺静脉次数 (次)	2.14 ± 0.56	2.08 ± 0.49
术后制动 (h)	3.51 ± 1.82	3.25 ± 2.44
包扎时间 (h)	20.1 ± 7.4	19.6 ± 7.2
下床活动时间 (h)	5.3 ± 4.7	4.7 ± 3.3

抗凝组有 7 例 (8.97%) 发生 DVT; 非抗凝组有 41 例 (51.3%) 发生 DVT, 两组间 DVT 发生率比较差异有统计学意义 ($P < 0.001$)。

48 例发生 DVT 患者中有 6 例 (12.5%) 发生肌间静脉血栓患者有下肢酸痛的症状, 其余均为静脉穿刺点附近血栓, 患者无临床症状, 予以华法林抗凝治疗后 1~2 周血栓消失, 均未出现呼吸困难、胸痛等肺栓塞症状。

3 讨论

肺栓塞是射频消融术后致死性并发症, 发生率较低, 但发生肺栓塞后死亡率高达 50%, 后果十分严重, 国内外均有报道^[1]; DVT 是导致肺栓塞的最

主要原因, 临床上 90% 以上肺栓塞由下肢深静脉血栓脱落引起。彩色多普勒超声是诊断深静脉血栓的有效方法, 可直接探查到血栓的大小、部位及血管腔狭窄的程度^[2]。导致 DVT 发生的内在机制有: 局部血流淤滞、静脉内膜损伤和血液高凝状态, 其中又以局部血流淤滞及静脉内膜损伤最为重要^[3]。经 RFCA 需穿刺股静脉导致血管内膜损伤, 且术后制动、局部绷带包扎使下肢静脉回流受阻, 导致术后患者发生 DVT 的风险增加。临床上将 RFCA 并发的 DVT 分为隐匿性和显性两种类型。RFCA 并发隐匿性 DVT 通常出现在 RFCA 术后早期, 据文献报道^[4-9]: 隐匿性下肢深静脉血栓形成发生率较高, 术后行彩色多普勒超声发现为 16%~44%; 然而, 有症状的 DVT 的发生率较低 (0.5%~0.8%); 血栓栓塞并发肺栓塞也仍然较低, 为 0.8%~1.3%, 临床上大多数 DVT 血栓无症状, 被临床医生及患者忽视, 但有可能发展为小面积肺栓塞, 严重者导致大面积肺栓塞危及生命。本研究有一患者术后发现股总静脉长血栓 (9.7 cm × 0.35 cm, 图 1), 但患者无症状, 如该血栓脱落可能致大面积肺栓塞危及生命, 因早发现、及时予以抗凝等处理, 未导致严重后果。



注: 红色箭头处为同一血管静脉血栓; 1A: 血栓头端; 1B: 血栓中段及尾部; 1C: 血栓附近血流图

图 1 多普勒彩色超声提示股总静脉血栓

2004 年 Davutoglu 等^[10]将单纯电生理检查的患者随机分为肝素抗凝组 (术前 1 h 使用低分子肝素) 和对照组 (未使用抗凝药物), 术后使用多普勒超声观察下肢静脉血栓, 肝素抗凝组血栓发生率为 18% (11 例患者中有 2 例发生 DVT), 而对照组发生率高达 62.5% (16 例患者中有 10 例发生 DVT), 但所有的患者均无症状, 该研究样本量较小, 未引起临床重视; 2012 年 Alizadeh 等^[5]研究发现 EPS 和 (或) RFCA 术中使用肝素可以降低原位血栓的发生率, 且不增加出血并发症 (如局部水肿形成), 该研究中

的原位血栓定义为术中发现的鞘管内或与鞘管相连的血栓; 但是该研究中术后血管多普勒超声未发现 DVT (笔者对这一结果存在疑惑), 认为没有必要应用肝素预防 DVT。2004 台湾 Chen 等^[6]报道 EPS 和 (或) RFCA 术后行多普勒血管彩超发现非闭塞性 DVT 发生率为 17.6%, 大部分 (92%) 血栓在 1 周后消失, 未出现严重的血栓并发症; 该研究中对进入左心系统操作的患者使用肝素抗凝, 单纯右心系统操作者未明确提示是否抗凝, 在分析中认为 DVT 的发生与年龄、性别、身高、体重、手术时间、股静

脉直径、多鞘管、肝素化等无明显相关性, 该研究认为 EPS 和 (或) RFCA 术后非闭塞性 DVT 虽未引起严重后果, 但需关注这一血管并发症。

2013 年国内刘爱民^[11]将 1 917 例 RFCA 患者随机分为治疗组 (术后低分子肝素抗凝 1 次) 与对照组 (术后不抗凝), 术后如出现 DVT 症状 (腓肠肌疼痛、下肢肿胀、下肢皮肤温度改变、肢端皮肤颜色变深及足背动脉搏动减弱等) 者予以查下肢血管彩超, 发现术后治疗组无 DVT 发生, 对照组 DVT 的发生率为 (5.3%), 均未发生肺栓塞症状, 该研究术中抗凝方案未统一 (进入左心系统的予以肝素抗凝, 只入右心系统者不抗凝), 术后未常规复查下肢血管彩超, 可能有大部分的无症状的 DVT 漏诊。

有研究提示导管在右心系统亦可激活凝血系统, 且与导管在左心系统操作无明显区别^[12]; 亦有研究显示鞘管进入血管后即开始激活凝血系统, 约数分钟达到高峰, 持续约 24 h, 使用肝素可降低凝血因子的水平, 且尽早使用疗效更好^[13]。但是目前对于只进入静脉系统即可完成的 RFCA 术, 术中是否需肝素抗凝尚无定论。导致这一原因的结果可能与血栓危害程度相关, 动脉系统的血栓可能导致脑栓塞及其他器官栓塞, 临床危害大且症状明显, 术中抗凝受到医生的重视; 而静脉系统的血栓, 相对危害小, 即使导致小的肺动脉栓塞, 也因肺的强大代偿能力而缺乏症状, 被临床医生忽视。

本研究显示单纯静脉系统完成 RFCA 术未抗凝的患者 DVT 发生率高达 51.3%, 但大部分患者无症状。随访亦未发现患者出现呼吸困难、胸痛等肺栓塞症状。特别是发生在股总静脉的血栓患者完全缺乏临床症状, 可能与股静脉回流未受限有关, 即使血栓狭长亦无症状, 如不行血管多普勒彩超检查就会漏诊, 但可能进展成严重的并发症 (如肺动脉栓塞); 我们也对部分 DVT 患者行肺部增强计算机断层摄影术 (CT) 检查^[14,15], 亦未发现肺栓塞, 可能血栓未脱落未形成肺动脉栓塞; 亦或因为栓塞的肺动脉较小, 缺乏临床症状, 肺部增强 CT 难以发现有关。总之本研究提示单纯静脉系统可完成 RFCA 患者术后 DVT 发生率较高, 可能导致严重的并发症 (肺动脉栓塞) 而危及患者生命, 需加以关注及重视。

局限性: 本研究为单中心随机对照研究, 样本量有限, 进一步的多中心、大样本的随机对照研究将更有价值。

结论: 单纯右心 RFCA 未抗凝的患者 DVT 发生率较高, 术中使用肝素抗凝可降低 DVT 发生率。

参考文献

- [1] Li YC, Lin J, Wu L, et al. Clinical features of acute massive pulmonary embolism complicated by radiofrequency ablation an observational study. *Medicine*, 2015, 94: e1711.
- [2] Bates SM, Jaeschke R, Stevens SM, et al. Diagnosis of DVT antithrombotic therapy and prevention of thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest*, 2012, 141(Suppl): e351S-e418S.
- [3] 王乐民, 余奇. 获得性静脉血栓栓塞症发生必要条件的新认识. *中国循环杂志*, 2013, 27: 164-166.
- [4] Yaminisharif A, Davoodi G, Kasemisaeid A, et al. Radiofrequency catheter ablation of atrioventricular nodal reentrant tachycardia: success rates and complications during 14 Years of experience. *J Tehran Heart Cent*, 2010, 2: 87-91.
- [5] Alizadeh A, Yazdi AH, Kafi M, et al. Predictors of local venous complications resulting from electrophysiological procedures. *Cardiol J*, 2012, 1: 15-19.
- [6] Chen JY, Chang KC, Lin YC, et al. Safety and outcomes of short-term multiple femoral venous sheath placement in cardiac electrophysiological study and radiofrequency catheter ablation. *Jpn Heart*, 2004, 45: 257-264.
- [7] Poley RA, Newbigging JL, Sivilotti ML. Estimated effect of an integrated approach to suspected deep venous thrombosis using limited compression ultrasound. *Aca emerg med*, 2014, 21: 972-980.
- [8] Blaivas M, Lambert MJ, Harwood RA, et al. Lower-extremity doppler for deep venous thrombosis—can emergency physicians be accurate and fast? *Acad Emerg Med*, 2000, 2: 120-126.
- [9] Hindricks G. The Multicentre European Radiofrequency Survey (MERFS): Complications of radiofrequency catheter ablation of arrhythmias. The Multicentre European Radiofrequency Survey (MERFS) investigators of the Working Group on Arrhythmias of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J*, 1993, 14: 1644-1653.
- [10] Davutoglu V, Kervancioglu S, Dinckal H, et al. High incidence of occult femoral vein thrombosis related to multiple venous sheaths during electrophysiology study. *Heart*, 2004, 90: 1061-1062.
- [11] 刘爱民. 低分子肝素在射频消融术后预防下肢静脉血栓中的应用观察. *河北医药*, 2013, 35: 1368-1369.
- [12] Charng MJ, Lin YJ, Chiu TY, et al. Comparison of activation created by right- and left-heart radiofrequency catheter ablation. *Clin Cardiol*, 2004, 27: 91-96.
- [13] Lee DS, Dorian P, Downar E, et al. Thrombogenicity of radiofrequency ablation procedures: what factors influence thrombin generation?. *Europace*, 2001, 3: 195-200.
- [14] Clive K, Elie AA, Joseph O, et al. Antithrombotic therapy for VTE disease: CHEST guideline and expert panel report. *Chest*, 2016, 149 (Suppl): 315-352.
- [15] Erdur B, Karabulut N, Türkçüer I, et al. Diagnostic work-up of patients with suspected pulmonary embolism: a survey of strategies used by emergency physicians. *Diagn Interv Radiol*, 2009, 15: 166-171.

(收稿日期: 2016-07-24)

(编辑: 常文静)

临床研究

高龄高血压患者血压昼夜节律与认知功能的关系

邵胜, 王翎, 钱惠英

摘要

目的: 探讨高龄(≥ 80 岁)高血压患者血压昼夜节律改变与认知功能的关系。

方法: 选择高龄高血压患者 74 例为高血压组, 另选择同期无高血压病高龄老年人 36 例为对照组, 对两组行 24 h 动态血压监测, 高血压组根据夜间血压下降率分为杓型亚组($n=12$)、非杓型亚组($n=31$)、反杓型亚组($n=23$)、超杓型亚组($n=8$), 用中文版简易智能状态检查量表(MMSE)对所有受试者进行认知功能调查, 比较各组及各亚组间 MMSE 得分差异。

结果: 高血压组与对照组在 MMSE 总得分、定向力、记忆力、注意力和计算力、回忆力方面比较差异有统计学意义($P<0.05$), 反杓型亚组与杓型亚组在 MMSE 得分、定向力、记忆力方面比较差异有统计学意义($P<0.05$), 非杓型亚组与杓型亚组在 MMSE 得分、定向力、记忆力、注意力和计算力、回忆力方面比较差异有统计学意义($P<0.05$), 超杓型亚组与杓型亚组在记忆力方面比较差异有统计学意义($P<0.05$)。

结论: 血压节律异常的高龄老年高血压患者较血压节律正常者更容易发生认知功能损害, 对认知功能的影响主要表现在定向力、记忆力、注意力和计算力、回忆力等方面。

关键词 认知障碍; 血压监测, 便携式; 老年人

Relationship Between Blood Pressure Rhythm and Cognitive Function in Elderly Hypertension Patients

TAI Sheng, WANG Ling, QIAN Hui-ying.

Department of Geriatrics, First Affiliated Hospital of Suzhou University, Suzhou (215006), Jiangsu, China

Corresponding Author: TAI Sheng, Email: ts515@163.com

Abstract

Objective: To study the relationship between blood pressure (BP) rhythm and cognitive function in elder hypertension patients.

Methods: Our research included in 2 groups: Hypertension group: $n=74$ patients ≥ 80 years and Control group, $n=36$ elder subjects without hypertension. 24-hour ambulatory blood pressure monitoring (ABPM) was conducted in both groups. According to nocturnal BP reduction rate, Hypertension group was further divided into 4 subgroups as Dipper type BP subgroup, Non-dipper type BP subgroup, Anti-dipper type BP subgroup and Super-dipper type BP subgroup. Cognition function was evaluated by Mini-menta state examination (MMSE) form, MMSE score was compared among different groups and subgroups.

Results: By MMSE score, the abilities of orientation, memory, attention, calculation and recall were different between Hypertension group and Control group, $P<0.05$. By MMSE score, the abilities of orientation and memory were different between Anti-dipper type BP subgroup and Dipper type BP subgroup, $P<0.05$; the abilities of orientation, memory, attention, calculation and recall were different between Non-dipper type BP subgroup and Dipper type BP subgroup, $P<0.05$; the memory was different between Super-dipper type BP subgroup and Dipper type BP subgroup, $P<0.05$.

Conclusion: In elderly hypertension patients, compared to those with normal BP rhythm, the abnormal BP rhythm patients had the higher probability to suffer from cognitive dysfunction which was mainly as decreased abilities of orientation, memory, attention, calculation and recall.

Key words Cognitive impairment; Blood pvesure Monitoring, portable; Elderly

(Chinese Circulation Journal, 2017,32:780.)

作者单位: 215006 江苏省苏州市, 苏州大学附属第一医院 老年医学科(邵胜、钱惠英), 特需病区(王翎)

作者简介: 邵胜 副主任医师 硕士 主要研究方向: 老年高血压及动态血压监测 Email: ts515@163.com 通讯作者: 邵胜

中图分类号: R54 文献标识码: A 文章编号: 1000-3614 (2017) 08-0780-04 doi: 10.3969/j.issn.1000-3614.2017.08.012

认知功能是大脑高级皮质功能的重要内容,在老龄老年人群中认知功能障碍发生率高,高血压是脑血管疾病的重要危险因素,与认知功能减退有密切关系^[1-4]。已知研究表明,血压节律改变是高血压靶器官损害的重要危险因素,而血压节律改变对老龄老年人认知功能的影响研究较少。本研究通过对老龄老年高血压患者行 24 h 动态血压监测并结合认知功能评估,探讨血压节律变化与认知功能关系。

1 资料与方法

1.1 研究对象

2013-01 至 2015-08 在苏州大学附属第一医院老年医学科住院的 80 岁以上高血压患者 74 例为高血压组,其中男 55 例,女 19 例,年龄 80~92 (85.38 ± 2.92) 岁。另选同期无高血压高龄(≥ 80 岁)老年人 36 例为对照组,其中男 29 例,女 7 例,年龄 80~91 (84.28 ± 2.55) 岁。采集患者性别、年龄等一般资料。另根据动态血压监测结果,将高血压组分为四个亚组:构型亚组($n=12$)、非构型亚组($n=31$)、反构型亚组($n=23$)、超构型亚组($n=8$)。

高血压诊断标准:应用中国高血压防治指南(2010 年修订版)中原发性高血压的诊断标准:收缩压 ≥ 140 mmHg (1 mmHg = 0.133 kPa) 和(或)舒张压 ≥ 90 mmHg。

排除标准:(1)急性脑血管病、脑外伤者;(2)继发性高血压患者;(3)严重肝、肾功能不全、恶性肿瘤者;(4)既往有药物、乙醇中毒及长期服用可影响认知功能药物者;(5)有精神病史及抑郁症者;(6)非血管性原因引起的认知功能损害如阿尔茨海默病、路易体痴呆等;(7)各种慢性病急性期或终末期;(8)动态血压提示收缩压 >260 mmHg 或 <70 mmHg,舒张压 >150 mmHg 或 <40 mmHg。

1.2 动态血压监测

采用无锡中健科仪有限公司的无创动态血压监测仪(型号 CB200),将检查目的、注意事项向患者及家属交代清楚,取得其知情同意,测量次数 >80% 为有效测量。监测起止时间为 08:00~次日 08:00 共 24 h,测量间隔时间设为昼间(08:00~20:00)每 30 min 一次,夜间(20:00~08:00)每小时 1 次。计算机自动统计得出白昼平均收缩压(DSBP)、白昼平均舒张压(DDBP)、白昼平均压(DMBP)、夜间平均收缩压(NSBP)、夜间平均舒张压(NDBP)、夜间

平均压(NMBP),夜间血压下降率 = (DMBP-NMBP)/DMBP × 100%。夜间血压下降率 0%~10% 者为非构型血压、10%~20% 者为构型血压、>20% 者为超构型血压、夜间血压不降反升者为反构型血压、佩戴监测仪注意事项:(1)测量两臂血压,袖带佩带于血压高的手臂,多为右臂;(2)嘱咐受检者在监测过程中不得随意移动袖带,以免袖带松动或脱落;(3)嘱咐受检者在每次记录器自动测量过程中,上肢应保持静止和放松状态;(4)睡眠时上臂位置变化或被躯干压迫可影响血压读数准确性,应注意;(5)测量期间从事日常活动。

认知功能检查:采用中文版简易智能状态检查量表(MMSE),由经过培训的主治及以上医师作为调查员进行评测。MMSE 评分范围 0~30 分,其中包括定向力、记忆力、注意力和计算力、回忆力、语言能力 5 项。总分 27~30 分为认知功能正常;21~26 分为轻度认知功能障碍;10~20 分为中度认知功能障碍;0~9 分为重度认知功能障碍。

1.3 统计学方法

采用 SPSS10.0 统计软件进行统计学分析。计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验分析满足正态分布的两组资料间的差异,计数资料以百分率表示,采用卡方检验分析各组统计学差异。 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者临床资料比较(表 1、表 2)

高血压组与对照组的性别、年龄、教育年限、糖尿病史、血脂异常、吸烟史、甲状腺疾病史、心脏病史、脑梗死病史、慢性阻塞性肺病(COPD)史比较差异无统计学意义($P > 0.05$),24 h 平均收缩压高血压组高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),24 h 平均舒张压两组差异无统计学意义($P > 0.05$)。高血压组的各亚组中,非构型亚组、反构型亚组、超构型亚组与构型亚组比较,性别、年龄、教育年限、糖尿病史、血脂异常、吸烟史、甲状腺疾病史、心脏病史、脑梗死病史、COPD 史、24 h 平均收缩压、24 h 平均舒张压比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 高血压组与对照组认知功能比较(表 3)

高血压组 MMSE 总得分明显低于对照组($P < 0.01$),定向力、记忆力、注意力和计算力及回忆力 MMSE 得分高血压组均低于对照组($P < 0.05$ 或

0.01), 语言能力评分虽然低于对照组, 但差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 1 高血压组与对照组一般临床资料比较 [例(%)]

项目	对照组 (n=36)	高血压组 (n=74)	P 值
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	84.28 ± 2.55	85.38 ± 2.92	0.056
男性	29 (80.6)	55 (74.3)	0.470
教育年限(年, $\bar{x} \pm s$)	7.19 ± 1.74	6.65 ± 1.85	1.141
糖尿病史	5 (13.9)	11 (14.9)	0.892
血脂异常	8 (22.2)	16 (21.6)	0.690
吸烟史	7 (19.4)	18 (24.3)	0.567
甲状腺疾病史	1 (2.8)	4 (5.4)	0.535
心脏病史	4 (11.1)	11 (14.9)	0.590
脑梗死病史	4 (11.1)	9 (12.2)	0.873
COPD 病史	6 (16.7)	10 (13.5)	0.774
24h 平均收缩压 (mmHg, $\bar{x} \pm s$)	127.97 ± 9.15	136.72 ± 14.72	0.001
24h 平均舒张压 (mmHg, $\bar{x} \pm s$)	68.64 ± 5.07	68.64 ± 5.07	0.092

注: COPD: 慢性阻塞性肺病。1 mmHg=0.133 kPa

表 2 高血压组中各亚组一般临床资料 [例(%)]

项目	构型亚组 (n=12)	非构型亚组 (n=31)	反构型亚组 (n=23)	超构型亚组 (n=8)
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	84.25 ± 3.17	85.48 ± 2.85	85.61 ± 2.92	86.00 ± 2.93
男性	9 (75.0)	24 (77.4)	16 (69.6)	6 (75.0)
教育年限(年, $\bar{x} \pm s$)	7.42 ± 1.83	6.83 ± 1.54	7.43 ± 1.56	7.00 ± 1.85
糖尿病史	2 (16.7)	4 (12.9)	3 (13.0)	2 (25.0)
血脂异常	3 (25.0)	5 (16.1)	4 (17.4)	4 (50.0)
吸烟史	3 (25.0)	7 (22.6)	5 (21.7)	3 (37.5)
甲状腺疾病史	1 (8.3)	2 (6.5)	1 (4.3)	0
心脏病史	3 (25.0)	4 (12.9)	3 (13.0)	1 (12.5)
脑梗死病史	2 (16.7)	3 (9.7)	2 (8.7)	2 (25.0)
COPD 史	3 (25.0)	1 (3.5)	4 (17.4)	2 (25.0)
24h 平均收缩压 (mmHg, $\bar{x} \pm s$)	138.92 ± 12.80	129.77 ± 14.28	143.57 ± 13.79	140.6 ± 11.78
24h 平均舒张压 (mmHg, $\bar{x} \pm s$)	73.25 ± 7.70	70.29 ± 7.35	71.87 ± 9.96	69.25 ± 5.73

注: COPD: 慢性阻塞性肺病。1 mmHg=0.133 kPa

表 3 高血压组与对照组认知功能比较(分, $\bar{x} \pm s$)

项目	对照组 (n=36)	高血压组 (n=74)	P 值
MMSE 总分	25.03 ± 2.57	22.23 ± 2.83	0.000
定向力评分	8.39 ± 1.18	7.58 ± 1.34	0.003
记忆力评分	2.28 ± 0.66	1.85 ± 0.75	0.005
注意力和计算力评分	4.17 ± 0.91	3.76 ± 0.95	0.033
回忆力评分	2.20 ± 0.81	1.80 ± 0.68	0.003
语言能力评分	7.58 ± 1.16	7.23 ± 1.14	0.132

注: MMSE: 简易智能状态检查量表

2.3 高血压组与对照组夜间血压下降率比较(表 4)

高血压组构型血压比例少于对照组, 非构型血压比例高于对照组, 差异有统计学意义($P<0.01$)。反构型和超构型血压比例高于对照组, 但差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 4 高血压组与对照组夜间血压下降率比较 [例(%)]

项目	对照组 (n=36)	高血压组 (n=74)	P 值
夜间血压下降率 10%~20%(构型)	16 (44.4)	12 (16.2)	0.001
夜间血压不降反升(反构型)	8 (22.2)	23 (31.1)	0.333
夜间血压下降率 >20%(超构型)	6 (16.7)	8 (10.8)	0.387
夜间血压下降率 0%~20%(非构型)	6 (16.7)	31 (41.9)	0.009

2.4 高血压组中各亚组认知功能比较(表 5)

反构型亚组在 MMSE 评分中定向力、记忆力方面评分低于构型亚组, 差异有统计学意义($P<0.05$), 非构型亚组在 MMSE 评分中定向力、记忆力、注意力和计算力、回忆力方面评分低于构型亚组, 差异有统计学意义($P<0.05$), 超构型亚组在记忆力方面评分低于构型亚组, 差异有统计学意义($P<0.05$)。

表 5 高血压组中各亚组认知功能比较 [分, $\bar{x} \pm s$]

项目	构型亚组 (n=12)	非构型亚组 (n=31)	反构型亚组 (n=23)	超构型亚组 (n=8)
MMSE 总分	25.25 ± 2.83	22.00 ± 2.22 ^a	22.90 ± 2.88 ^a	23.38 ± 2.33
定向力评分	8.58 ± 0.90	7.26 ± 1.10 ^a	7.61 ± 1.43 ^a	8.13 ± 0.83
记忆力评分	2.50 ± 0.52	1.87 ± 0.92 ^a	1.97 ± 0.71 ^a	1.88 ± 0.83 ^a
注意力和计算力评分	4.33 ± 0.78	3.78 ± 0.99 ^a	3.84 ± 0.97	4.13 ± 0.83
回忆力评分	2.42 ± 0.51	1.74 ± 0.69 ^a	1.94 ± 0.73	2.00 ± 0.93
语言能力评分	7.33 ± 1.44	7.35 ± 1.11	7.48 ± 1.18	7.25 ± 1.28

注: MMSE: 中文版简易智能状态检查量表。与构型亚组比较 ^a $P<0.05$

3 讨论

我国目前已步入老龄化社会, 随着老龄化进程, 认知功能障碍正在成为老年人健康的重要杀手, 严重影响老年人生活质量。认知功能障碍随年龄增长患病率增加, 80 岁以上人群患病率可达 50% 以上。危险因素包括三个方面: (1) 血管性因素, 如高血压、糖尿病、动脉硬化等^[5]。(2) 不可干预的危险因素: 年龄、遗传、教育水平平等。(3) 其他如社会心理因素等。高龄老年人群高血压等患病率高, 血管性因素在认知障碍的发生和发展中扮演重要角色。

随着 24 h 动态血压监测应用的深入, 越来越多的研究表明血压节律改变与高血压靶器官损害显著相关^[6-10], 血压节律异常导致靶器官更长时间处于高负荷状态, 靶器官损害出现早且严重。血压节律与认知障碍的相关性研究较少, 结果并不一致^[11, 12]。研究显示, 正常人的血压在全天 24 h 呈有规律的波动, 白天血压高于夜间, 昼间基本上处于相对较高的水平, 06:00~10:00 时达第一峰值, 后略下降, 16:00~18:00 时再次升高, 达第二峰值, 夜间血压最低, 动态监测 24 h 血压变化, 曲线呈双峰一谷长柄勺形状^[13]。血压变异指一定时间内血压波动的程度和血压节律既有联系又有区别。血压变异分为短时变异(几秒钟或几分钟)、长时变异(24 h)、季节变异(一年)等, 通常用动态血压标准差与变异系数, 动态血压标准差与平均值的比值来表示。血压节律

属于长时变异的范畴,通常用夜间血压下降率来表示。正常的血压节律对维持人体血管弹性、脑动脉供血有重要意义,对适应机体活动和保护靶器官结构和功能是有利的。血压昼夜节律异常,血压波动增大,会使血管顺应性降低,造成血管内膜和内弹力纤维损伤,血流速度缓慢,导致脑循环灌注不足,认知功能障碍发病率上升。非杓型和反杓型患者夜间血压无明显降低,使血管长期处于高负荷状态,这种过度持久的压力负荷对脑血管正常结构和功能造成损害,脑血管自动调节指数减小,促使脑小血管病变或增加脑大血管事件发生率,从而影响多区域的认知功能,有报道显示^[14],反杓型引起出血性和致死性脑卒中的几率明显增加,而超杓型者夜间血压下降过大,会导致夜间脑血流灌注不足,脑细胞发生缺血缺氧损伤,加重大脑损害。影像学检查发现脑组织因长期供血不足会发生脑萎缩、大脑皮质变薄、脑回变窄、脑沟变宽。本研究发现,高龄老年高血压患者的血压节律改变对认知功能的影响是比较明显的,血压节律为非杓型、反杓型、超杓型的高龄老年高血压患者在定向力、记忆力、注意力和计算能力、回忆力方面均较杓型者为差,而非杓型者又比反杓型和超杓型者明显。比较特殊的是语言力,虽然杓型者得分高于其他三组,但差异并无统计学意义。本研究病例数偏少,而且均是在未停用降压药物的情况下进行动态血压监测,降压药物对认知功能和血压节律的影响不能排除,可能对最后统计有一定影响。

动态血压监测在临床应用中能够较好的反应高血压患者真实的 24 h 血压变化情况,对高血压的治疗、疗效评定、预后及靶器官损害的判断等方面有非常重要的价值。在充分认识血压节律与认知功能障碍关系的基础上,结合动态血压监测结果,医护人员可以更好的制定治疗策略。现代的高血压治疗要求选择合适的降压药物及给药时间,使药物左右效应与血压节律一致,达到 24 h 平稳降压、减少血压变异性。对于非杓型和反杓型患者,睡前服药有利于夜间血压控制, Hermida 等^[15]对 180 例未经治疗的高血压患者进行 8 周的降压治疗,分别于睡前和晨起给药时间,结果发现夜间给药可以更好的控制夜间血压,纠正血压节律,非杓型血压节律从 51% 减少到 35%。但是对于超杓型及杓型患者,夜间给药可能并不适合,会不适当的降低夜间血压,加重血压节律异常。不同类型的抗高血压药物对血

压昼夜节律的影响可能不尽相同,虽然对于如何用药物改善血压节律需要进一步探讨,但是对于有认知功能障碍的高龄老年高血压患者可以常规进行 24 h 动态血压监测,根据血压节律选择合适的药物及给药时间,起到恢复正常的血压昼夜节律,降低对脑组织的损害及降低发生痴呆危险的目的。

参考文献

- [1] Wu L, He Y, Jiang B, et al. The association between the prevalence, treatment and control of hypertension and the risk of mild cognitive impairment in an elderly urban population in China. *Hypertens Res*, 2016, 39: 367-375.
- [2] Yamamoto K. Hypertension in people with dementia. *Nihon Rinsho*, 2015, 73: 1904-1908.
- [3] Nishihira J, Tokashiki T, Ohya Y. Cognitive Function and Calcium. Hypertension treatment in consideration of dementia. *Clin Calcium*, 2015, 25: 255-262.
- [4] Li T, Bai Y, Xiang J, et al. Duration of hypertension is associated with cognitive function: a cross-sectional study in Chinese adults. *Chin Med J (Engl)*, 2014, 127: 2105-2110.
- [5] 王微, 侯宇, 田志鹏, 等. 社区健康老年人的弗明汉评分与认知功能的关系研究. *中国循环杂志*, 2014, 29: 620-623.
- [6] Soylu A, Yazici M, Duzenli MA, et al. Relation between abnormalities in circadian blood pressure rhythm and target organ damage in normotensives. *Circ J*, 2009, 73: 899-904.
- [7] Cicconetti P, Donadio C, Pazzaglia MC, et al. Circadian rhythm of blood pressure: non-dipping pattern and cardiovascular risk. *Recenti Prog Med*, 2007, 98: 401-406.
- [8] Izzedine H, Launay-Vacher V, Deray G. Abnormal blood pressure circadian rhythm: a target organ damage. *Int J Cardiol*, 2006, 107: 343-349.
- [9] Hoshida S, Kario K. Hypertension and circadian rhythm. *Nihon Rinsho*, 2013, 71: 2109-2113.
- [10] 史平平, 刘永铭, 乔成栋. 高血压患者不同血压昼夜节律对心功能的影响. *中国循环杂志*, 2014, 29: 602-606.
- [11] Yamamoto Y, Ohara T, Nagakane Y, et al. Chronic kidney disease, 24-h blood pressure and small vessel diseases are independently associated with cognitive impairment in lacunar infarct patients. *Hypertens Res*, 2011, 34: 1276-1282.
- [12] Guo H, Tabara Y, Igase M, et al. Abnormal nocturnal blood pressure profile is associated with mild cognitive impairment in the elderly: the J-SHIP study. *Hypertens Res*, 2010, 33: 32-36.
- [13] Rojo-Contreras W, Salazar-Péramo M, Parra-Carrillo JZ, et al. Circadian rhythm of blood pressure in patients with chronic hypertension and pregnancy. *Ginecol Obstet Mex*, 2014, 82: 604-612.
- [14] Terayama Y. Circadian rhythm and stroke. *Nihon Rinsho*, 2013, 71: 2130-2134.
- [15] Hermida RC, Ayala DE, Mojón A, et al. Chronotherapy with nifedipine GITS in hypertensive patients: improved efficacy and safety with bedtime dosing. *Am J Hypertens*, 2008, 21: 948-954.

(收稿日期: 2016-08-01)

(编辑: 常文静)

临床研究

完全性肺静脉异位引流矫治术后肺静脉梗阻的治疗探讨

邱勇, 邢泉生, 任悦义, 王葵亮, 段书华, 曹倩

摘要

目的: 总结完全性肺静脉异位引流(TAPVC)矫治术后肺静脉梗阻的治疗经验。

方法: 回顾性分析 2011-01 至 2015-12 于青岛市妇女儿童医院心脏中心施行 TAPVC 矫治术后发生肺静脉梗阻 16 例患儿的临床资料, 其中男性 10 例。所有患儿均出院前、术后 1 个月、3 个月、6 个月、12 个月、24 个月回院复诊, 包括经胸心脏超声多普勒、心电图、X 线胸部正侧位片。以经胸心脏超声多普勒检查肺静脉流速 >2 m/s 为梗阻标准, 诊断肺静脉梗阻。结合患儿临床表现(反复心力衰竭、生长发育迟缓)确定二次手术时机。二次手术采用 sutureless 缝合技术和常规补片扩大技术。

结果: 术后发生肺静脉狭窄 16 例患儿无失访, 其中 7 例吻合口周围狭窄(混合型 1 例, 心下型 3 例, 心上型 2 例, 心内型 1 例); 7 例单支肺静脉狭窄, 2 例双支肺静脉狭窄, 无三支及以上肺静脉狭窄。按术前 Darling 类型分: 混合型 2 例, 心下型 5 例, 心上型 5 例, 心内型 4 例。11 例(68.8%)术后肺静脉狭窄流速增快发生在术后 3-6 个月。5 例二次手术患儿中, 4 例采用 sutureless 缝合技术, 1 例采用常规补片扩大技术, 均为吻合口周围梗阻狭窄, 2 例死亡, 3 例患儿随访中。

结论: TAPVC 矫治术后吻合口周围狭窄为主要二次手术适应证, 并且需早期即行手术。

关键词 心脏缺损, 先天性; 完全性肺静脉异位引流; 心脏外科手术

Treatment of Pulmonary Venous Obstruction in Patients After Total Anomalous Pulmonary Venous Connection Operation

DI Yong, XING Quan-sheng, REN Yue-yi, WANG Kui-liang, DUN Shu-hua, CAO Qian.

Heart Center, Qingdao Women and Children's Hospital of Qingdao University, Qingdao (266034), Shandong, China

Corresponding Author: XING Quan-sheng, Email: qsxing@163.com

Abstract

Objective: To summarize the experience for treating pulmonary venous obstruction in patients after total anomalous pulmonary venous connection (TAPVC) operation.

Methods: A total of 16 patients with post-TAPVC pulmonary venous obstruction in our hospital from 2011-01 to 2015-12 were retrospectively analyzed including 10 male. All patients received echocardiography, electrocardiogram and chest X-ray examinations at pre-discharge, 1, 3, 6, 12 and 24 months post-operation. Pulmonary venous obstruction was diagnosed by echocardiography measured pulmonary vein (PV) flow speed >2 m/s. The time of re-operation was determined by clinical manifestations as recurrent heart failure and growth retardation; sutureless technique and conventional patch enlarge technique were used in the second operation.

Results: No one lost contact in all 16 patients. There were 7/16 patients with anastomotic stenosis (1 mixed type, 3 infracardiac type, 2 supracardiac type and 1 cardiac type), 7 patients with one PV stenosis, 2 with two PV stenosis and nobody with three or more PV stenosis. Based on per-operative Darling classification, there were 2 patients with mixed type, 5 with infracardiac type, 5 with supracardiac type and 4 with cardiac type. Most post-operative PV stenosis occurred at 3-6 months after the surgery. There were 5 patients receive re-operation, 4 with sutureless technique, 1 with conventional patch enlarge technique and all of them suffered from anastomotic stenosis. 2 patients died and 3 were followed-up.

Conclusion: Post-operative anastomotic stenosis was the main indication for re-operation in patients after TAPVC; early operation could better improve the clinical condition.

Key words Heart Defects, Congenital; Total anomalous pulmonary venous connection; Cardiac Surgical Procedures

(Chinese Circulation Journal, 2017,32:784.)

作者单位: 266034 山东省青岛市, 青岛市妇女儿童医院; 青岛大学附属青岛妇女儿童医院 心脏中心 青岛大学先心病研究中心
作者简介: 邱勇 住院医师 硕士 主要从事先天性心脏病治疗研究 Email: diyong912@163.com 通讯作者: 邢泉生 Email: qsxing@163.com
中图分类号: R541 文献标识码: A 文章编号: 1000-3614 (2017) 08-0784-04 doi: 10.3969/j.issn.1000-3614.2017.08.013

完全性肺静脉异位引流(TAPVC)矫治术后, 常易并发肺静脉狭窄, 最终进展为肺静脉梗阻(PVO), 发生率约 10%~20%。它通常发生在肺静脉-左心房吻合口周围和(或)肺静脉等部位, 由于吻合口、肺静脉的狭窄, 造成肺静脉回流受阻, 继发肺动脉高压、右心衰竭, 严重影响 TAPVC 手术矫治的效果, 是再手术及晚期死亡的主要原因^[1]。目前治疗肺静脉狭窄方法主要有手术及球囊扩张。再次手术矫治肺静脉狭窄死亡率 60% 左右。现将我中心此类患儿的手术治疗经验进行总结。

1 资料与方法

1.1 一般资料

本中心在 2011-01 至 2015-12 期间实施 TAPVC 矫治术患儿 83 例, 其中 16 例(19.3%)术后发生 PVO。16 例 PVO 患者中, 男性 10 例, 女性 6 例, 手术时年龄 14 d~7 个月, 体重 3.8~5.5 kg。根据 Darling 分型, 心上型 5 例, 心下型 5 例, 心内型 4 例, 混合型 2 例。

1.2 PVO 的诊断

(1) 临床表现: 患儿术后多出现呼吸急促、反复呼吸道感染、喂养困难、生长发育缓慢等症状, 随访过程中心脏超声多普勒显示肺静脉狭窄不断加重及肺静脉流速逐渐增快, 从术后早期 0.9 m/s 逐渐增长到高达 2.5 m/s; X 线胸片示肺血增多、肺淤血、心脏扩大, 心胸比 0.55~0.85, 心电图出现电轴右偏、右心室肥厚、右束支传导阻滞、ST-T 改变等表现。(2) 以经胸心脏超声多普勒检查肺静脉流速 >2 m/s 为梗阻标准, 诊断 PVO。

1.3 治疗方法

PVO 手术方式:(1) 中低温体外循环下原位心包无线缝合技术(sutureless 缝合技术)适用于吻合口延及远端肺静脉开口处纤维增生明显, 但未达到近乎闭锁者。经主动脉根部灌注 HTK 心脏停搏液。纵行切开右心房、房间隔, 探查吻合口周围狭窄环及左右肺静脉。可见左心房内近原肺静脉共汇与左心房吻合处周围内膜纤维增生、中层增厚。切除狭窄环增生的纤维肌性组织, 从狭窄环后下缘开始切开左心房后壁, 与切口周边心包组织采用 sutureless 缝合技术吻合。(2) 补片扩大术: 吻合口延及远端肺静脉开口处纤维增生近乎闭锁者, 采用常规切除狭窄环, Gore-tex 补片扩大狭窄段, 建立肺静脉到左心房的回流途径。术后均常规强心利尿, 小剂量肝素

抗凝治疗。(3) 球囊扩张: 经胸切口食道超声引导下, 采用血管腔内成形技术球囊扩张肺静脉。(4) 非手术治疗: 未能采取手术治疗的患儿, 密切随访, 定期复查心脏超声多普勒, 判断肺静脉流速, 给予呋塞米、枸橼酸钾处理。

1.4 随访

术后定期随访, 回院复诊, 包括病史、查体、经胸心脏超声多普勒^[2]、心电图、X 线胸部正侧位片检查。

2 结果

2.1 16 例 PVO 患儿的临床资料(表 1)

83 例 TAPVC 患儿, 术后发生 PVO 16 例(19.3%), 其中 7 例术后发生吻合口周围狭窄, 7 例为单支肺静脉狭窄, 2 例为双支肺静脉狭窄, 无三支及以上肺静脉狭窄。根据 Darling 分型: 混合型 2 例, 心下型 5 例, 心上型 5 例, 心内型 4 例(表 1)。

表 1 16 例肺静脉梗阻患儿疾病类型与术后肺静脉狭窄类型(例)

狭窄部位	混合型	心下型	心上型	心内型	合计
吻合口周围	1	3	2	1	7
双支肺静脉	0	1	1	0	2
单支肺静脉	1	1	2	3	7

2.2 16 例 PVO 患儿治疗及随访结果:

16 例患儿随访 24 个月(至 2016-05-31), 无失访。16 例 PVO 患儿中, 术后即刻 2 例肺静脉流速增快, 分别 1.2 m/s (病例 3) 和 1.3 m/s (病例 13), 其余 14 例患儿的静脉流速均值为 <1.2 m/s, 呈缓慢上升趋势, 最终 >2.0 m/s (表 2)。11 例(68.8%) 在术后 3~6 个月出现术后肺静脉狭窄流速明显增快(均 >2 m/s); 其余 3 例(病例 6、12、16)流速增快缓慢, 术后 6 个月到 12 个月之间出现 >2 m/s; 2 例(病例 8、13)术后 3 个月以内出现肺静脉梗阻。

9 例患儿出现肺静脉分支狭窄, 7 例患儿发生吻合口周围狭窄。5 例 PVO 患儿择期行二次手术治疗, 术中可见肺静脉狭窄部位均位于吻合口周围, 4 例采用 sutureless 缝合技术, 1 例患儿术中发生吻合口延及远端肺静脉开口处纤维增生, 近乎闭锁, 采用补片扩大术; 其中 2 例死亡, 3 例患儿持续随访, 一般状况较平稳。另外 2 例患儿随访过程中死亡。

7 例单支肺静脉狭窄, 2 例双支肺静脉狭窄。临床症状表现轻微, 未行手术处理, 给予密切随访,

适当利尿治疗, 目前随访结果满意, 无心力衰竭表现。生存期超过 24 个月的患儿, 临床症状不明显, 给予密切随访。

表 2 16 例 PVO 患儿术后肺静脉流速变化(m/s)

病例	手术年龄	狭窄部位	术后 3 天	1 个月	3 个月	6 个月	12 个月	24 个月
1	3 个月 3 天	单支	0.9	1.1	1.5	2.3	2.4	2.4
2	4 个月 20 天	单支	1.0	1.3	1.6	2.3	2.3	2.4
3	6 个月 23 天	单支	1.2	1.3	1.5	2.1	2.2	2.3
4 [△]	2 个月	吻合口周围	1.1	1.2	1.8	2.8	2.3	
5 [△]	14 天	吻合口周围	1.1	1.3	1.5	2.0	1.7	1.8
6	29 天	单支	1.0	1.2	1.5	1.8	2.2	2.2
7	19 天	双支	1.0	0.9	1.4	2.1	2.1	2.2
8 [*]	3 个月	吻合口周围	1.1	1.5	2.0			
9 [△]	5 个月 2 天	吻合口周围	1.1	1.4	1.8	2.0	1.4	1.4
10	25 天	单支	0.9	1.3	1.7	2.2	2.3	2.3
11	2 个月 1 天	单支	1.0	1.3	1.6	2.2	2.4	2.5
12	6 个月 1 天	吻合口周围	1.1	1.2	1.4	1.5	2.1	2.1
13 [△]	17 天	吻合口周围	1.3	2.1	2.5			
14	4 个月 20 天	双支	0.9	1.5	1.6	2.0	2.2	2.4
15 [△]	2 个月 12 天	吻合口周围	1.1	1.3	1.5	2.3	1.3	1.2
16	3 个月 9 天	单支	1.1	1.4	1.5	1.9	2.2	2.2

注: PVO: 肺静脉梗阻。*: 死亡患儿; 4[#]: 17 个月死亡; 8[#]: 5 个月 8 天死亡; 13[#]: 3 个月 21 天死亡。
△: 二次手术患儿

2.3 TAPVC 患儿死亡情况统计(表 3)

83 例 TAPVC 患儿术后存活 77 例 (92.8%), 死亡 6 例 (7.2%), 其中围手术期死亡 2 例 (1 例发生左心功能衰竭, 1 例术后严重感染); 术后远期死亡 4 例, 1 例突发不明原因心跳骤停 (混合型); 3 例出现 PVO (1 例未行二次手术, 2 例行二次手术治疗)。其中病例 4 为心下型肺静脉异位引流, 术后 4 个月诊断 PVO, 术后 7 个月因状态危重, 不能耐受体外循环手术, 给予行肺静脉狭窄球囊扩张术, 症状明显改善, 家属拒绝体外循环手术。随访过程中肺静脉狭窄再次加重, 术后 17 个月行外科手术矫治, 最终因心功能衰竭死亡。

表 3 6 例 TAPVC 术后死亡患儿的临床资料

手术年龄	术后死亡时间	术前疾病类型	死亡原因	肺静脉狭窄	二次手术
21 天	13 天	心下型并梗阻	心功能衰竭	否	无
2 个月	17 个月	混合型	心功能衰竭	是	是
1 个月 13 天	2 个月 7 天	混合型	心跳骤停	否	无
3 个月	5 个月 8 天	心下型	心功能衰竭	是	是
17 天	3 个月 21 天	混合型	心功能衰竭	是	否
5 个月	5 天	心上型	感染	否	无

注: TAPVC: 完全性肺静脉异位引流

3 讨论

TAPVC 占先天性心脏病的 1%~1.5%, 近年来 TAPVC 总手术死亡率不断下降, 多个中心报道 <10%。术后肺动脉高压和肺静脉及吻合口再狭窄一

直是影响远期生存率的主要原因。本中心 PVO 占患儿死亡原因的 50%, 占远期死亡原因的 75%, 是影响远期生存率的主要原因。国外报道术后肺静脉再狭窄率约为 5%~27%^[3], 本中心, 术后肺静脉狭窄 (包括单支肺静脉狭窄) 发生率 19.3%, 多发生在术后 6 个月内, 与国外报道基本相同^[4]。较国内报告略高, 原因为我中心经过严格的随访, 将单支及双支肺静脉狭窄的发生率均统计在内, 这一点被其他中心所忽视。再干预包括二次手术、肺静脉球囊扩张和支架治疗。目前二次外科矫治手术例数少, 随访欠缺或随访时间短, 尚无系统二次干预报告。

通常认为, 经胸心脏超声测量肺静脉最大血流速度 > 1.2 m/s 时, 诊断为 PVO。肺静脉流速为 1.2~1.4 m/s 为轻度狭窄, 术后不需外科特殊处理; 流速 > 1.4 m/s 为中度狭窄, 需严格随访;

流速 > 1.6 m/s 为重度狭窄, 影响预后; 流速 ≥ 2.0 m/s, 诊断为 PVO 狭窄^[4], 术后发生率大约为 9%~18%, 需手术治疗, 是 TAPVC 术后严重并发症之一^[5]。TAPVC 矫治术后 PVO 可在肺静脉与左心房吻合口处出现内膜增生、管壁纤维化, 或在远离吻合口的肺静脉出现节段性或弥漫性内膜过度增生、中层增厚, 从而造成肺静脉血流受阻、肺淤血, 同时肺动脉也会出现内膜及中层增生性改变。根据狭窄部位的不同, PVO 分为: (1) 吻合口周围狭窄; (2) 肺静脉开口狭窄; (3) 肺静脉长管状狭窄; (4) 肺静脉弥漫性狭窄^[6,7]。本组二次手术患儿术中发现吻合口周围血管管腔明显狭窄, 并非吻合口本身, 说明术后血管的重构是狭窄的主要原因。

PVO 患者常有呼吸困难、运动耐力降低、充血性心力衰竭的临床表现, 与狭窄病变程度、部位、累及范围有关。一支肺静脉狭窄可有轻度临床表现, 2 支以上狭窄症状逐渐明显^[8]。吻合口狭窄造成所有肺血回流受阻, 疾病发展迅速。但从远期随访结果看, 单纯吻合口狭窄术后效果较合并肺静脉狭窄患儿预后好^[9]。

结合临床表现, 本中心以经胸心脏超声多普勒检查肺静脉流速 > 2 m/s 作为评价标准, 两者有良好的相关性。由于二次手术干预风险太大, 死亡率 40%~66%^[10]。本中心统计 5 例二次手术患

儿, 死亡 2 例。本研究结果显示采取临床表现结合心脏超声多普勒检查结果作为二次手术干预标准最为合适。

PVO 二次干预方式包括球囊扩张、支架置入、再次手术。本中心 1 例患儿采用经胸切口食道超声引导下肺静脉球囊扩张术, 延缓了疾病发展过程。对于已经错过最佳治疗时机患儿可先采用球囊扩张或联合支架置入, 缓解急症情况, 为手术治疗赢得时间。对于单支或双支肺静脉狭窄病例也可采用内科介入治疗, 但鉴于医疗伦理及风险, 尤其是可能需要多次手术, 多数家属难以接受, 目前我中心尚无此类患儿治疗经验。

二次手术过程中发现, 肺静脉-左心房吻合口周围肌束常常异常增厚, 并呈缓慢闭锁趋势。因此一旦符合标准需早期干预, 避免后期肺静脉闭锁, 错过最佳手术时机。本中心研究结果显示: 术后 PVO 发生时间多为术后 3~6 个月, 所以术后 2 年内^[11], 尤其是术后 1 年内的随访非常重要, 密切观察肺静脉及吻合口流速的增长。准确把握手术时机可以有效提高手术成功率。

首次矫治术后肺静脉周围疤痕形成, 黏连严重, 拓宽肺静脉困难, 对于此类患儿本中心多采用 sutureless 缝合技术^[12]。此技术除了不刺激局部肺静脉避免增生外, 还可避免缝合造成的吻合口狭窄, 静脉扭曲牵拉变形。本中心成功病例显示此技术在治疗 PVO 患儿方面的独特优异性。

限于医学伦理及费用, 本研究未将胸部血管计算机断层扫描血管造影 (CTA) 及核磁共振成像 (MRI) 检查作为常规术后复查项目, 对狭窄肺静脉解剖形态缺乏直观影像, 只是作为术前辅助检查手段。这两种检查作为常规复查手段用于临床有待科学技术的进一步发展。

总之, TAPVC 术后 PVO 是影响预后的主要并发症, 是二次手术的重要原因, 且治疗效果差。sutureless 缝合技术是 TAPVC 术后 PVO 的治疗手段。

术后应定期严格随诊, 尤其术后 3~6 个月, 一旦发生 PVO, 需及时发现及时治疗。

参考文献

- [1] 吴信. 完全性肺静脉异位引流术后肺静脉梗阻, 心血管外科杂志 (电子版) 2014, 3: 166-169.
- [2] 李静雅, 王芳韵, 李晓峰, 等. 应用超声心动图评价完全性肺静脉异位引流患儿术后并发症的研究, 中国循环杂志, 2014, 29: 598-601.
- [3] Julien IE. Total anomalous pulmonary venous connection. the Natural and Unnatural History of Congenital Heart Disease. UK: John Wiley & Sons Ltd, 2009: 566-578.
- [4] Seale AN, Uemura H, Webber SA, et al. Total anomalous pulmonary venous connection: Outcome of postoperative pulmonary venous obstruction. J Thorac Cardiovasc Surg, 2013, 145: 1255-1262.
- [5] Chowdhury UK, Airan B, Malhotra A, et al. Mixed total anomalous pulmonary venous connection: anatomic variations, surgical approach, techniques, and results. J Thorac Cardiovasc Surg, 2008, 135: 106-116.
- [6] Hancock Friesen CL, Zurakowski D, Thiagarajan RR, et al. Total anomalous pulmonary venous connection: an analysis of current management strategies in a single institution. Ann Thorac Surg, 2005, 79: 596-606.
- [7] 李建荣, 刘迎龙. 肺静脉狭窄诊治进展. 国际外科学杂志, 2006, 33: 232-236.
- [8] Lacour-Gayet F, Zoghbi J, Serraf AE, et al. Surgical management of progressive pulmonary venous obstruction after repair of total anomalous pulmonary venous connection. J Thorac Cardiovasc Surg, 1999, 117: 679-687.
- [9] Hyde JA, St ü mper O, Barth MJ, et al. Total anomalous pulmonary venous connection: outcome of surgical correction and management of recurrent venous obstruction. Eur J Cardiothorac Surg, 1999, 15: 735-740.
- [10] Azakie A, Lavrsen MJ, Johnson NC, et al. Early outcomes of primary sutureless repair of the pulmonary veins. Ann Thorac Surg, 2011, 92: 666-671.
- [11] 余鹏飞, 朱海龙, 金振晓, 等. 完全性肺静脉异位连接矫治术 135 例临床预后分析, 中国循环杂志, 2016, 31: 95-99.
- [12] Yamashita K, Hoashi T, Kagisaki K, et al. Midterm outcomes of sutureless technique for postoperative pulmonary venous stenosis. Gen Thorac Cardiovasc Surg, 2014, 62: 48-52.

(收稿日期: 2016-08-25)

(编辑: 曹洪红)

临床研究

利伐沙班预防高龄老年血栓性疾病的有效性和安全性研究

丁宇, 徐昆*, 司全金, 陆蕾蕾

摘要

目的: 对比研究利伐沙班和华法林预防高龄老年血栓性疾病的有效性和安全性。

方法: 选取 2012-03 至 2014-03 在我院住院治疗的老年静脉血栓高危患者 90 例, 平均年龄 (82.4 ± 5.5) 岁。入选患者随机分为利伐沙班组和华法林组, 利伐沙班组 44 例, 男 34 例, 女 10 例, 给予口服利伐沙班 10 mg, 1 次/d; 华法林组 46 例, 男 38 例, 女 8 例, 给予口服华法林, 并监测国际标准化比值 (INR), 使其稳定在 1.6~2.5。所有入选患者接受相应治疗后随访观察 12 个月, 监测治疗前、治疗 1 个月、3 个月、6 个月、12 个月时血红蛋白、血小板计数、凝血功能、终点事件及肝肾功能。试验中主要疗效终点是全因死亡, 再发或新发静脉血栓, 肺栓塞和脑血管事件, 心血管事件; 主要安全终点包括大出血或有临床意义的出血, 肝肾功能严重恶化。

结果: 所有入选患者研究期内均未出现死亡。华法林组在治疗 1 个月、3 个月、6 个月和 12 个月时平均 INR 分别为 2.02 ± 0.46 、 1.98 ± 0.54 、 2.03 ± 0.56 和 2.04 ± 0.46 。随访观察期间, 两组间疗效性和安全性差异无统计学意义, 华法林组 12 个月时发生严重血栓事件 7 例, 多于利伐沙班组 2 例, 差异无统计学意义。血红蛋白、血小板计数、凝血功能和肝肾功能在利伐沙班组和华法林组随访观察期间差异无统计学意义。

结论: 利伐沙班口服是预防高龄老年血栓栓塞性疾病的有效方法, 每日 10 mg 利伐沙班是预防血栓性疾病的安全有效剂量, 利伐沙班预防血栓性疾病的疗效与华法林相当, 但治疗更简便、依从性更好、安全性高。

关键词 利伐沙班; 华法林; 静脉血栓形成; 老年人

Efficacy and Safety of Rivaroxaban on Thrombotic Disease Prevention in Very Elderly Patients

DING Yu, XU Kun, SI Quan-jin, LU Qiang-qiang.

Department of Cardiology, Chinese PLA General Hospital, Beijing (100853), China

Corresponding Author: SI Quan-jin, Email: quanjin2004@sohu.com

Abstract

Objective: To compare the efficacy and safety of rivaroxaban and warfarin on thrombotic disease prevention in very elderly patients.

Methods: A total of 90 patients with high risk of venous thrombosis treated in our hospital from 2012-03 to 2014-03 were enrolled. The patients' mean age was (82.4 ± 5.5) years and randomized into 2 groups: Rivaroxaban group, patients received oral rivaroxaban 10 mg/day, $n=44$ including 34 male and 10 female; Warfarin group, patients received oral warfarin, INR was monitored and kept at stable level of 1.6-2.5, $n=46$ including 38 male and 8 female. All patients were followed-up for 12 months. Hemoglobin and platelet levels, coagulation, liver and kidney functions, end point events were monitored before and 1, 3, 6, 12 months after treatment. Major efficacy endpoints included all-cause death, recurrent or new onset of venous thrombosis, pulmonary embolism, cerebral and cardiovascular events; major safety endpoints included massive hemorrhages, clinically relevant bleeding and worsening of liver, kidney functions.

Results: No patient died during follow-up period. The average INRs in Warfarin group were (2.02 ± 0.46), (1.98 ± 0.54), (2.03 ± 0.56) and (2.04 ± 0.46) at 1, 3, 6 and 12 months of treatment. Efficacy and safety were similar between 2 groups, Warfarin group had 7 patients with massive hemorrhages at 12 months of treatment and it was 2 patients more than that in Rivaroxaban group which had no statistic meaning. Hemoglobin and platelet levels, coagulation, liver and kidney functions were similar between 2 groups.

基金项目: 解放军总医院临床科研扶持基金(2012FC-CXY-1003)

作者单位: 100853 北京市, 中国人民解放军总医院 南楼心血管内科(丁宇、徐昆、司全金); 武警总医院 信息科(陆蕾蕾)

作者简介: 丁宇 主治医师 硕士 主要从事老年心血管病研究 Email: dingyutinkle@163.com 通讯作者: 司全金 Email: quanjin2004@sohu.com

* 为共同第一作者

中图分类号: R541 文献标识码: A 文章编号: 1000-3614 (2017) 08-0788-04 doi: 10.3969/j.issn.1000-3614.2017.08.014

Conclusion: Oral rivaroxaban was effective for preventing thromboembolic disease in very elderly patients, 10 mg/day was a safe dose; efficacy of rivaroxaban was similar to warfarin while it was easier to use and with better compliance.

Key words Rivaroxaban; Warfarin; Venous Thrombosis; Aged

(Chinese Circulation Journal, 2017,32:788.)

血栓性疾病的防治以预防最为重要,目前常用的抗凝药物存在许多缺陷,如华法林安全窗口窄、易受食物影响、出血风险大,肝素不能口服、不能长期使用等。利伐沙班是一种高选择性、直接抑制凝血因子 X_a 的新型口服抗凝药物,具有使用方便,剂量固定,起效快速,安全性高,无需监测等优点,是更加高效的抗凝药物^[1]。目前针对高龄老年人群应用利伐沙班预防血栓性疾病的有效性和安全性方面的研究还很少。本研究通过对高龄老年患者应用利伐沙班和华法林预防血栓性疾病的随机对比分析,探讨利伐沙班预防高龄老年血栓性疾病的有效性和安全性。

1 资料与方法

研究对象:选择 2012-03 至 2014-03 期间,在我院经超声检查未发现静脉血栓但属血栓高危的高龄老年患者 90 例,平均年龄为 (82.4 ± 5.5) 岁,随机分为利伐沙班组和华法林组,利伐沙班组 44 例,男 34 例,女 10 例,给予口服利伐沙班 10 mg, 1 次/d; 华法林组 46 例,男 38 例,女 8 例,给予适量口服华法林,并监测国际标准化比值 (INR),使其稳定在 1.6~2.5。入选标准:(1)年龄 ≥ 75 岁;(2)卧床 ≥ 3 d,同时合并下列病症或危险因素之一:呼吸衰竭、慢性阻塞性肺疾病 (COPD)、心力衰竭 [纽约心脏协会 (NYHA) 心功能 III 或 IV 级]、急性感染性疾病 (重症感染或感染中毒症)、急性冠状动脉综合征、深静脉血栓 (VTE) 病史、恶性肿瘤、炎症性肠病、肢体瘫痪、轻瘫或近期石膏制动、慢性肾脏病、肥胖 (体重指数 > 30 kg/m²)。排除标准:(1) 6 个月内有心脑血管事件、严重外伤或重大手术;(2) 6 个月内有消化道大出血;(3) 肾功能异常 (肌酐清除率低于 30 ml/min);(4) 肝功能异常 (丙氨酸转氨酶高于正常值 2 倍)。

观察指标:入选后定期在我院接受相应治疗后随访观察 12 个月,并监测治疗前、治疗 1、3、6、12 个月时血红蛋白、血小板计数、凝血功能以及肝肾功能,血管超声 (上肢动、静脉超声和下肢动、

静脉超声)、超声心动图、心电图、胸部电子计算机断层摄影术 (CT)、脑 CT 等检查。同时记录试验中发生的主要疗效终点和安全终点。主要疗效终点:新发静脉血栓、再发静脉血栓、非致死性肺栓塞,急性脑血管事件包括缺血性脑卒中、出血性脑卒中、短暂性脑缺血发作 (TIA) 等,心血管事件包括急性冠状动脉综合征、心律失常、需要进行冠状动脉搭桥术、经皮冠状动脉介入治疗等,任何原因的死亡。主要安全性终点:大出血或有临床意义的出血,肝肾功能严重恶化。

统计学方法:数据采用 SPSS13.0 软件进行统计学分析。计量资料用均数 ± 标准差表示,两组均数间比较采用 *t* 检验,多组均数间采用单因素方差分析 (one-way ANOVA) 检验并用 Newman-Keuls 检验进行组间比较;计数资料应用百分比及构成比表示,组间比较用 χ^2 检验或确切概率法检验 (Fisher's exact test), *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者一般临床资料比较 (表 1)

两组患者的年龄、性别构成、危险因素和既往病史、药物治疗以及实验室检查等一般临床资料差异均无统计学意义 (*P* > 0.05), 两组患者具有可比性。

2.2 利伐沙班和华法林的有效性和安全性比较 (表 2、3)

治疗期间,两组血栓高危患者均未出现死亡。华法林组在治疗 1 个月、3 个月、6 个月和 12 个月时平均 INR 值分别为 2.02 ± 0.46、1.98 ± 0.54、2.03 ± 0.56 和 2.04 ± 0.46, 差异无统计学意义 (*P* = 0.946)。随访观察期间,利伐沙班组 6 个月发生无症状静脉血栓 1 例 (2.27%), 至 12 个月时发生无症状静脉血栓共 2 例 (4.55%)。华法林组 3 个月发生无症状静脉血栓 2 例 (4.35%), 6 个月时共发生无症状静脉血栓 5 例 (10.87%), 6 个月时发生肺栓塞 2 例 (4.35%)。利伐沙班组 3 个月时发生咯血 1 例 (2.27%), 6 个月时发生大便潜血阳性 2 例 (4.55%)。华法林组 3 个月发生大便潜血阳性 2

有研究发现利伐沙班可以通过抑制凝血酶的合成而有效的抑制组织因子引起的血小板聚集,而且这一间接抑制作用同样是剂量依赖性的。利伐沙班在直接抑制 Xa 因子的同时间接抑制血小板聚集的作用提示利伐沙班不仅可用于防治静脉血栓形成,对防治动脉系统血栓性疾病可能依然有效^[3]。目前已有利伐沙班用于急性冠状动脉综合症的临床研究并已获得令人鼓舞的研究结果^[4],但仍缺乏针对华人的大样本临床研究。利伐沙班主要用于预防骨科大手术术后静脉血栓形成,用于深静脉血栓急性期或长期治疗时建议每日应用利伐沙班剂量 15~20 mg^[5]。由于本实验的研究对象为高龄老年患者,而高龄不仅是血栓性疾病也是出血的重要危险因素,而且肾小球滤过率随年龄增长而降低,加之高龄老年患者体内利伐沙班的半衰期延长,所以本实验旨在观察利伐沙班 10 mg/d 应用于治疗高龄老年静脉血栓和预防高龄老年血栓性疾病的有效性和安全性,并与华法林进行了比较。

本研究结果发现在血栓性疾病预防疗效性方面,利伐沙班和华法林治疗期间均未出现死亡,利伐沙班组 6 个月和 12 个月时各发生无症状静脉血栓 1 例,发生率 4.55%,华法林组 3 个月和 6 个月时分别发生无症状静脉血栓 2 例和 3 例,6 个月时发生肺栓塞 2 例,血栓事件发生率 15.22%;利伐沙班组 3 个月时发生咯血 1 例,6 个月时发生大便潜血阳性 2 例,发生率为 6.82%;华法林组 3 个月和 6 个月发生大便潜血阳性各 2 例,发生率为 8.70%,两组间预防血栓性疾病的有效性和安全性未见明显差异。华法林组的严重事件发生率(如肺栓塞)明显多于利伐沙班组,考虑与部分患者 INR 控制不理想,波动较大有关,但本研究纳入样本量较少,可能导致两组血栓事件发生率差异无统计学意义。

本研究结果表明,利伐沙班对高龄老年高危血栓风险患者的预防发挥了确切疗效,表明利伐沙班对高龄老年血栓性疾病的预防是可行的。当前,血栓性疾病防治指南都推荐华法林作为血栓性疾病的标准治疗,荟萃分析结果显示,合理应用华法林治疗的确可以大大降低心房颤动患者脑卒中发生率,而大出血发生率为 0.2%,但事实上华法林的使用率却不足 10%,而且在使用华法林治疗的过程中,INR 的达标率更加有限^[6]。本研究结果显示利伐沙班在使用中并不引起血红蛋白、血小板、凝血功能和肝肾功能的明显变化,无需监测。在高龄老年静脉血

栓治疗方面,利伐沙班的有效性和安全性与华法林相似;在高龄老年血栓性疾病预防方面,利伐沙班的有效性和使用安全性同样与华法林相近。

血栓栓塞症是当前全球致残和致死的重要原因之一,涉及动脉、静脉及心脏,动脉血栓栓塞症将导致心脑血管病^[7]。虽然华法林的抗栓效果明确、可靠,但该药物本身及其使用过程中仍存在诸多问题^[8]。上市以来,利伐沙班主要用于预防成人髌、膝关节置换术静脉血栓形成,在使用过程中应特别注意肝、肾功能损害患者可能显著升高利伐沙班的血药浓度,应用时应更加谨慎^[9]。作为新型抗凝药物,出血仍是其最重要并发症,因此利伐沙班禁用于有明显活动性出血或凝血异常及有出血风险的肝病患者^[10]。本研究为拓展利伐沙班的应用领域以及预防高龄老年血栓性疾病的使用方法提供一定的临床经验。

参考文献

- [1] Harder S. Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of rivaroxaban: considerations for the treatment of venous thromboembolism. *Thromb J*, 2014, 12: 22.
- [2] Siegal DM, Konkle BA. What is the effect of rivaroxaban on routine coagulation tests? . *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2014, 2014: 334-336.
- [3] Goto S, Tomita A. New antithrombotics for secondary prevention of acute coronary syndrome. *Clin Cardiol*, 2014, 37: 178-187.
- [4] Reddy P, Giugliano RP. The role of rivaroxaban in atrial fibrillation and acute coronary syndromes . *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2014, 19: 526-532.
- [5] Goff T, Kontakis G, Giannoudis PV. Safety and efficacy of rivaroxaban for thromboprophylaxis following lower limb surgery: an update. *Expert Opin Drug Saf*, 2011, 10: 687-696.
- [6] Hannon N, Arsava EM, Audebert HJ, et al. Antithrombotic treatment at onset of stroke with atrial fibrillation, functional outcome, and fatality: a systematic review and Meta-analysis. *Int J stroke*, 2015, 10: 808-814.
- [7] 钱方毅. 新型口服抗凝剂临床应用的进展. *中国循环杂志*, 2012, 27: 246-250.
- [8] 邓文宁, 马长生. 临床规范使用新型抗凝药物. *中国循环杂志*, 2013, 28: 404-407.
- [9] Jameson SS, Rymaszewska M, Hui AC, et al. Wound complications following rivaroxaban administration: a multicenter comparison with low-molecular-weight heparins for thromboprophylaxis in lower limb arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am*, 2012, 94: 1554-1558.
- [10] Lofferdo L, Perri L, Violi F. Impact of new oral anticoagulants on gastrointestinal bleeding in atrial fibrillation: A meta-analysis of interventional trials. *Dig Liver Dis*, 2015, 47: 429-431.

(收稿日期:2016-08-25)

(编辑:汪碧蓉)

基础与实验研究

野生型 p53 诱导的磷酸酶 1 基因缺失对小鼠心功能的影响

刘可美, 刘臣, 周鹏, 刘娟, 谭宇, 李健楠, 张连峰, 张宏冰, 颜红兵

摘要

目的: 探讨敲除野生型 p53 诱导的磷酸酶 1 (Wip1) 基因对小鼠心功能的影响及心脏组织中基因和蛋白表达水平的变化。

方法: 随机选取野生型 (WT) 小鼠和 Wip1 基因敲除 (Wip1-KO) 小鼠各 10 只, 分别检测两组小鼠的心功能和心重/体重比, 应用苏木精伊红 (HE) 染色观察小鼠心肌组织的病理形态, 应用实时定量反转录聚合酶链式反应 (RT-PCR) 检测心肌组织中心房利钠肽 (ANP)、B 型利钠肽 (BNP)、单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1) 和 α -平滑肌肌动蛋白 (α -SMA) 的基因表达水平, 并应用蛋白免疫印迹 (Western blot) 检测凋亡相关蛋白包括 B 淋巴细胞瘤-2 (Bcl-2)、B 淋巴细胞瘤-2 相关 X 蛋白 (Bax) 和活化半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (c-Caspase3) 的表达水平。

结果: 与 WT 组小鼠相比, Wip1-KO 组小鼠心肌组织中 Wip1 mRNA 表达明显降低 ($P<0.05$), 左心室射血分数和左心室缩短分数降低 ($P<0.05$), 左心室收缩末期左室内径增大 ($P<0.05$)。虽然 Wip1-KO 组小鼠与 WT 小鼠的心脏重量没有差异, 但 Wip1-KO 组小鼠体重较 WT 组小鼠减轻 ($P<0.05$), 心重/体重比增加 ($P<0.05$)。HE 染色显示 Wip1-KO 组小鼠的心肌形态与 WT 组小鼠之间没有明显差异。心肌组织中 ANP、BNP、MCP-1 和 α -SMA 基因表达水平在两组小鼠之间差异无统计学意义 ($P>0.05$)。Wip1-KO 组小鼠心肌组织中凋亡相关蛋白 Bax/Bcl-2 和 c-Caspase3 表达水平与 WT 组小鼠之间没有明显差异 ($P>0.05$)。

结论: 敲除 Wip1 基因可以损害小鼠心功能, 但相关的机制还有待进一步阐明。

关键词 小鼠, 基因敲除; 心脏功能试验; 细胞凋亡

Impact of Wildtype p53 Induced Phosphatase 1 Gene Lacking on Heart Function in Experimental Mice

LIU Ke-mei, LIU Chen, ZHOU Peng, LIU Juan, TAN Yu, LI Jian-nan, ZHANG Lian-feng, ZHANG Hong-bing, YAN Hong-bing. State Key Laboratory of Cardiovascular Disease, Cardiovascular Institute and Fu Wai Hospital, CAMS and PUMC, Beijing (100037), China

Corresponding Author: YAN Hong-bing, Email: hbyanfuwai@aliyun.com

Abstract

Objective: To explore the impact of knocking out wildtype p53 phosphatase 1 gene on heart function with the changes of cardiac tissue mRNA and protein expressions in experimental mice.

Methods: Our research included in 2 groups: Wildtype (WT) mice group and Wip1 knockout (Wip1-KO) mice group. $n=10$ in each group. The heart function, ratio of heart weight to body weight (HW/BW) were examined and compared between 2 groups; cardiac tissue morphology was observed by HE staining; mRNA expressions of ANP, BNP, MCP-1 and α -SMA were determined by RT-PCR and protein expressions of Bcl-2, Bax and c-caspase3 were measured by Western blot analysis.

Results: Compared with WT mice group, Wip1-KO mice group showed decreased Wip1 mRNA expression, $P<0.05$, decreased LVEF, LV fraction shortening and increased left ventricular end systolic diameter (LVESD), all $P<0.05$; Wip1-KO mice group had reduced BW and elevated ratio of HW/BW, both $P<0.05$ even the heart weight was similar between 2 groups. There was no difference in cardiac tissue morphology between 2 groups; mRNA expressions of ANP, BNP, MCP-1 and α -SMA

基金项目: 国家自然科学基金 (81270288, 81541095)

作者单位: 100037 北京市, 北京协和医学院 中国医学科学院 国家心血管病中心 阜外医院(刘可美、刘臣、周鹏、刘娟、谭宇、李健楠、颜红兵); 中国医学科学院医学实验动物研究所 北京协和医学院比较医学中心(张连峰); 中国医学科学院基础医学研究所 北京协和医学院基础学院(张宏冰)

作者简介: 刘可美 硕士研究生 主要从事心血管病学基础与临床研究 Email: liukemei@aliyun.com 通讯作者: 颜红兵 Email: hbyanfuwai@aliyun.com 中图分类号: R54 文献标识码: A 文章编号: 1000-3614 (2017) 08-0792-05 doi:10.3969/j.issn.1000-3614.2017.08.015

were similar between 2 groups, $P>0.05$; apoptosis related protein expressions of Bax/Bcl-2 and c-caspase3 were similar between 2 groups, $P>0.05$.

Conclusion: Wip1 gene knockout may impair the heart function in experimental mice, while the relevant mechanism should be further investigated.

Key words Mice, Gene knockout; Heart function test; Apoptosis

(Chinese Circulation Journal, 2017,32:792.)

野生型 p53 诱导的磷酸酶 1 (wildtype p53-induced phosphatase 1, Wip1) 属于丝氨酸 - 苏氨酸蛋白磷酸酶, 含有 605 个氨基酸, 是蛋白磷酸酶 2C (Type 2C protein phosphatase, PP2C) 家族成员之一^[1]。近年来, 研究发现, Wip1 在很多疾病和生理过程中起着关键作用, 其可以通过某些信号通路促进肿瘤发生、发展或调节衰老过程^[2]。另外, Wip1 在个体发育过程中也起着重要的调节作用。研究显示, Wip1 基因敲除 (Wip1 knockout, Wip1-KO) 小鼠表现出一系列发育异常, 包括雄鼠体重减轻、生殖器官萎缩, 生殖能力下降和生存期缩短^[3]。Wip1-KO 小鼠免疫功能存在缺陷, 体内 T 细胞和 B 细胞数量减少, 对炎症反应抵抗能力下降^[3]。敲除 Wip1 基因还可影响小鼠脂质代谢和动脉粥样硬化斑块形成, Wip1-KO 小鼠主动脉中粥样硬化斑块明显减少^[4]。Wip1 在心脏组织中表达水平较高^[1], 但 Wip1 基因缺失是否会影响小鼠心血管系统的结构或功能鲜有研究。本课题组初步研究发现, Wip1-KO 小鼠心功能减弱。本研究旨在探讨 Wip1 基因敲除对小鼠心功能的影响并进一步明确心脏组织中可能发生的基因和蛋白水平的改变, 为研究 Wip1 在心脏中的作用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物及试剂

实验动物: C57BL/6 野生型 (wildtype, WT) 小鼠购买于北京维通利华实验动物技术有限公司, Wip1-KO 小鼠由中国医学科学院医学实验动物研究所北京协和医学院比较医学中心提供。Wip1-KO 小鼠与 WT 小鼠在中国医学科学院北京协和医学院阜外医院动物实验中心饲养繁殖, 研究用的子代小鼠为 8~12 周龄雄鼠。所有动物实验均遵守《实验动物管理条例》和相关的实验动物伦理规则。

主要试剂: 苏木精伊红 (hematoxylin and eosin, HE) 染色试剂盒购于碧云天生物技术研究所。组

织 RNA 提取试剂盒购自美国 OMEGA 公司, 反转录试剂盒和实时定量反转录聚合酶链式反应 (Real-time PCR, RT-PCR) 试剂盒均购于日本 Takara 公司, Nu-PAGE 预制胶 Bis-Tris 4%~12% 购于美国 Invitrogen 公司, 增强型化学发光免疫印迹底物购于美国 ThermoFisher 公司。

主要仪器: 小动物高频超声系统 Vevo2100 购自加拿大 VisualSonic 公司, 电子天秤购于德国 Satorious 公司, PCR 仪购自美国 Bio-Rad 公司, 电泳槽和转膜仪购于美国 Invitrogen 公司, 化学发光成像仪购于北京赛智创业科技有限公司。

1.2 超声评估小鼠心功能

Wip1-KO 组与 WT 组分别随机抽取 10 只小鼠, 放置于装有 2% 异氟烷的密闭箱中麻醉。麻醉好的小鼠左侧卧位平放于检测台, 使用 Vevo 2100 高频小动物超声检测系统进行心脏超声检查, 选用 M 型超声模式, 测量左心室舒张末期内径 (left ventricular internal diameter at end-diastole, LVIDd) 和左心室收缩末期内径 (left ventricular internal diameter at end-systolic, LVIDs) 并计算小鼠的左心室射血分数 (left ventricular ejection fraction, LVEF) 和左心室缩短分数 (left ventricular fractional shortening, LVFS)。

1.3 小鼠体重、心脏重量测量

用电子天秤准确称量每只小鼠体重。小鼠麻醉处死后, 迅速取出心脏置于冰浴的磷酸盐缓冲液 (PBS) 中, 挤出心腔内残余血液, 用剪刀除去心脏大血管起始部, 用滤纸吸干心脏表面液体。于分析天平上称量心脏并记录重量。根据小鼠体重和心脏重量计算心重/体重比。

1.4 HE 染色观察小鼠心肌组织的病理形态

小鼠心脏称重后于多聚甲醛溶液中固定, 脱水, 行石蜡切片, 用 HE 染色试剂盒染色。电镜下观察染色结果并拍照记录。

1.5 检测小鼠心肌组织中基因表达水平

取适量小鼠心肌组织, 用组织 RNA 提取试剂盒提取总 RNA, 逆转录为 cDNA。采用 RT-PCR 试剂盒检测 Wip1、心房利钠肽 (atrial natriuretic

peptide, ANP)、B 型利钠肽(B-type Natriuretic Peptide, BNP)、单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)和 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)基因表达水平。所有引物均由上海 Invitrogen 公司合成,引物序列如表 1 所示,甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)为内参基因。

表 1 所用引物序列

引物名称	Forward	Reverse
Wip1	5'-CTGACTGATAGCCCTACTTACAACA-3'	5'-GAGAAGGCATTACTGCGAACA-3'
ANP	5'-TGGCCCTCGGAGCCTACGAA-3'	5'-ATGAAGGCAGGAAGCCGCAGC-3'
BNP	5'-CACTTCAAAGGTGGTCCAGAGCTGC-3'	5'-GACCGATCGGATCCGTCAGTCG-3'
MCP-1	5'-GTCTGTGCTGACCCCAAGAAG-3'	5'-TGGTTCCGATCCAGGTTTTTA-3'
α -SMA	5'-CCCACCCAG AGTGGAGAA-3'	5'-ACATAGCTGGAGCAGCGTCT-3'
GAPDH	5'-AACTTTGGCATTGTGGAAGG-3'	5'-ACACATTGGGGGTAGGAACA-3'

注:Wip1:野生型 p53 诱导的磷酸酶 1;ANP:心房利钠肽;BNP:B 型利钠肽;MCP-1:单核细胞趋化蛋白-1; α -SMA: α -平滑肌肌动蛋白;GAPDH:甘油醛-3-磷酸脱氢酶

1.6 检测小鼠心肌组织中凋亡相关蛋白表达水平

取适量心肌组织提取总蛋白。各取等量样品上样,先在 80 V 电压下电泳 30 min,待样品进入分离胶后用 100 V 电压电泳 1.5 h。通过转膜仪将蛋白转移至 PVDF 膜上。取下 PVDF 膜,置于 5% 脱脂牛奶中室温封闭 1 h,分别加入一抗 B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2, 1:1000, 货号 CST2876, Cell Signaling Technology 公司,美国)、一抗 B 淋巴细胞瘤-2 相关 X 蛋白(Bax, 1:1000, 货号 SC493, Santa Cruz 公司,美国)、一抗活化半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(c-Caspase3, 1:1000, 货号 CST9664, Cell Signaling Technology 公司,美国)和内参 GAPDH(1:4000, 货号 CW0100M, 北京康为世纪生物科技有限公司,中国),4℃ 孵育过夜。用 PBST 液洗膜 3 次,每次 10 min,加入与一抗相对应的二抗孵育 2 h,用 PBST 液洗膜 3 次,每次 10 min,ECL 显影。应用 Image J 软件分析各条带灰度值,以目的条带与 GAPDH 的灰度值比值反映蛋白表达水平。

1.7 统计学方法

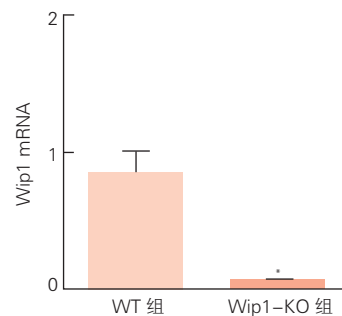
所有实验均重复 3 次,数据应用 GraphPad Prism 5 统计软件进行分析,并用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。两组间比较用独立样本 *t* 检验进行分析, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

两组小鼠心肌组织中 Wip1 mRNA 表达水平、

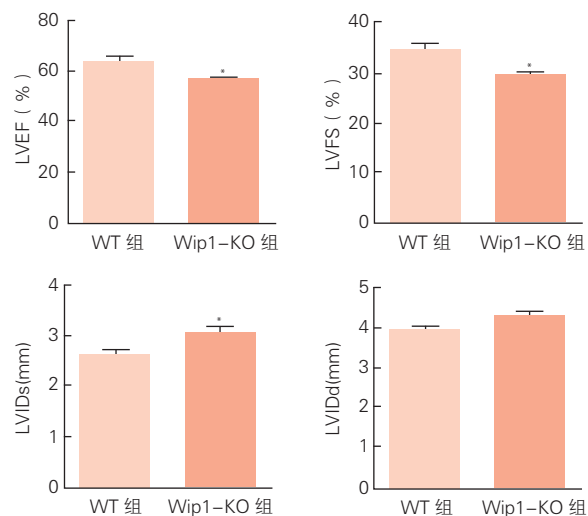
心功能指标比较:与 WT 组小鼠相比,Wip1-KO 组小鼠心肌组织中 Wip1 mRNA 表达水平明显降低(图 1)。应用超声系统对两组小鼠心功能进行评估的结果显示(图 2),Wip1-KO 组小鼠的 LVEF 和 LVFS 均低于 WT 组小鼠($P < 0.05$),LVIDs 比 WT 组小鼠高($P < 0.05$)。虽然 Wip1-KO 组小鼠的 LVIDd 比 WT 组小鼠稍高,但两组差异无统计学意义($P > 0.05$)。

两组小鼠的体重、心脏重量及心重/体重比的比较(表 2):通过测量小鼠体重和心脏重量评估小鼠心脏大小。与同龄 WT 组小鼠相比,Wip1-KO 组小鼠的体重减轻,差异有统计学意义($P < 0.05$)。虽然两组小鼠的心脏重量无明显差异($P > 0.05$),但心重/体重比在 Wip1-KO 小鼠中明显增加($P < 0.05$)。



注:Wip1:野生型 p53 诱导的磷酸酶 1;WT:野生型;Wip1-KO:Wip1 基因敲除;与 WT 组相比 * $P < 0.05$, $n = 3$

图 1 两组小鼠心肌组织中 Wip1 mRNA 表达比较



注:WT:野生型;Wip1-KO:Wip1 基因敲除;Wip1:野生型 p53 诱导的磷酸酶 1;LVEF:左心室射血分数;LVFS:左心室缩短分数;LVIDs:左心室收缩末期径;LVIDd:左心室舒张末期径。与 WT 组相比 * $P < 0.05$, $n = 10$

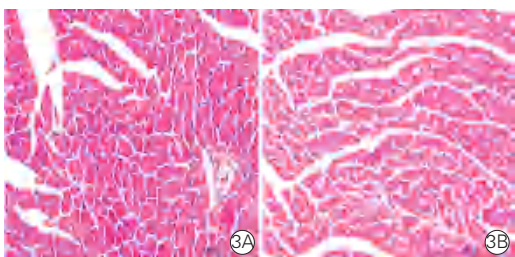
图 2 两组小鼠的心功能指标的比较

表 2 两组小鼠的体重、心脏重量及心重/体重比的比较

组别	体重 (g)	心脏重量 (mg)	心重 / 体重
WT 组 (n=10)	25.37 ± 0.62	126.61 ± 5.17	4.99 ± 0.16
Wip1-KO 组 (n=10)	23.15 ± 0.71*	131.35 ± 6.19	5.85 ± 0.24*

注: WT: 野生型; Wip1-KO: Wip1 基因敲除; Wip1: 野生型 p53 诱导的磷酸酶 1; 与 WT 组相比 *P<0.05

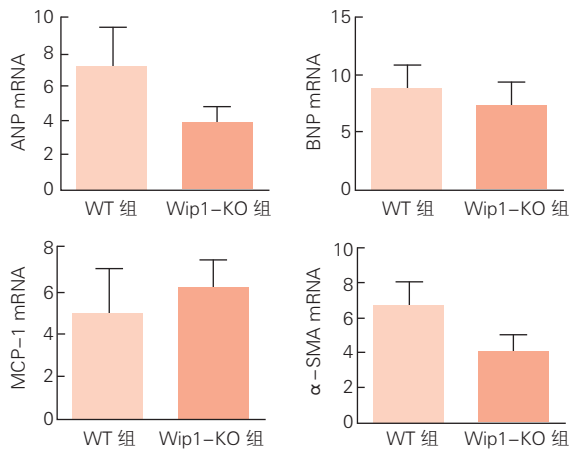
两组小鼠心肌病理形态比较 (图 3): 两组小鼠心肌组织切片行 HE 染色显示, Wip1-KO 组小鼠的心肌组织病理形态基本正常, 与 WT 小鼠心肌组织无明显差异。



注: 3A: WT 组, 3B: Wip1-KO 组; Wip1: 野生型 p53 诱导的磷酸酶 1; WT: 野生型; Wip1-KO: Wip1 基因敲除; n=3

图 3 两组小鼠心肌组织病理形态比较 (x100)

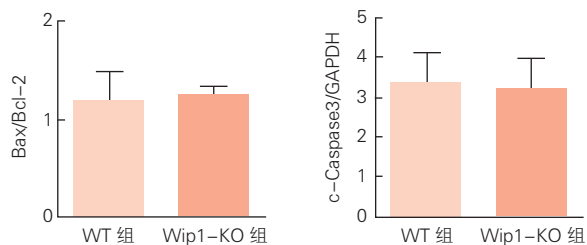
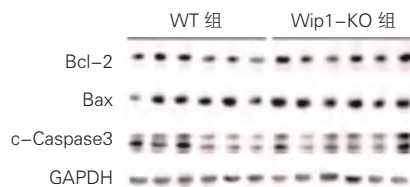
两组小鼠心脏中 ANP、BNP、MCP-1 和 α -SMA 基因表达: 受到外界病理因素刺激或应激时, 心肌组织中某些基因表达上调, 可以反映心肌组织受损。我们检测了两组小鼠的 ANP、BNP、MCP-1 和 α -SMA 的表达水平 (图 4)。与 WT 组小鼠相比, Wip1-KO 组小鼠心肌组织中 ANP、BNP 和 α -SMA mRNA 的表达都略有减少, 但差异无统计学意义 ($P>0.05$)。Wip1-KO 组小鼠心肌组织 MCP-1 mRNA 基因表达较 WT 组小鼠升高, 但两组差异无统计学意义 ($P>0.05$)。



注: WT: 野生型; Wip1-KO: Wip1 基因敲除; Wip1: 野生型 p53 诱导的磷酸酶 1; ANP: 心房利钠肽; BNP: B 型利钠肽; MCP-1: 单核细胞趋化蛋白 -1; α -SMA: α -平滑肌肌动蛋白; n=6

图 4 两组小鼠心肌组织 ANP、BNP、MCP-1 和 α -SMA 的 mRNA 表达水平比较

两组小鼠心脏中凋亡相关蛋白表达的比较 (图 5): 通过 Western blot 对小鼠心肌组织中凋亡相关蛋白表达水平的检测分析发现, Wip1-KO 组小鼠心肌组织中凋亡相关蛋白 Bax/Bcl-2 比值和 c-Caspase3 的表达与 WT 组小鼠之间没有明显差异 ($P>0.05$)。



注: WT: 野生型; Wip1-KO: Wip1 基因敲除; Wip1: 野生型 p53 诱导的磷酸酶 1; Bcl-2: B 淋巴细胞瘤 -2; Bax: B 淋巴细胞瘤 -2 相关 X 蛋白; c-Caspase3: 活化半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 -3; GAPDH: 甘油醛 -3-磷酸脱氢酶; n=6

图 5 两组小鼠心肌组织中凋亡相关蛋白表达水平的比较

3 讨论

Wip1 在很多病理和生理过程中起着重要作用。研究报道, Wip1 基因敲除可影响小鼠血糖代谢。敲除 Wip1 基因的小鼠在高脂饮食时出现糖耐量异常和胰岛素抵抗^[5]。Wip1 还可以通过调节脂质转化影响动脉粥样硬化斑块形成, 并通过哺乳动物雷帕霉素靶蛋白信号通路和自噬影响斑块进展^[4]。本研究中敲除 Wip1 基因的小鼠心功能下降, 心重/体重比增加, 初步提示 Wip1 在小鼠心脏中也起着调节作用。

Wip1 基因缺失小鼠存在发育缺陷。与野生型小鼠相比, 敲除 Wip1 基因的雄性小鼠体重减轻, 皮肤表面容易出现溃疡, 生精小管退化, 脾脏增大, 伴或不伴有正常的脾脏结构缺失, 并且对抗原的敏感性增加^[3]。敲除 Wip1 基因可以影响小鼠胸腺发育, 胸腺中 T 细胞数量较少并且发育异常^[6]。此外, Wip1 基因缺失也可以影响小鼠体内 B 细胞发育, 骨髓、外周血液和脾脏中 B 细胞数量明显减少, 早期 B 细胞前体出现细胞内在缺陷^[7]。与既往研究结果相一致, 本研究发现 Wip1-KO 小鼠的体重比野生型小鼠减轻。虽然两组小鼠之间心脏重量的差异没有统计学意义,

但 Wip1-KO 小鼠的心重/体重比值较野生型小鼠大。本研究还发现敲除 Wip1 基因可引起小鼠心功能减弱,射血分数和缩短分数都降低,左心室收缩末期内径增大,说明 Wip1 基因缺失可以损害小鼠心功能。

ANP 和 BNP 是心脏分泌的利钠肽,心脏压力超负荷或容量超负荷时分泌增加。因此,ANP 和 BNP 基因表达水平上调可以反映心脏收缩或舒张功能受损^[8]。MCP-1 是单核细胞趋化因子,具有诱导单核细胞浸润的作用。MCP-1 可以通过调节内皮细胞迁移直接影响损伤部位血管生成^[9],并通过刺激细胞外基质促进纤维组织形成^[10]。小鼠心肌缺血再灌注损伤模型中,MCP-1 可以诱导炎性单核细胞聚集,促进内膜增生,从而使梗死面积扩大并加重心肌损伤^[11,12]。 α -SMA 主要由血管平滑肌细胞和成纤维细胞表达,在发育过程中被 α -骨骼肌肌动蛋白和 α -心肌肌动蛋白取代。病理性刺激或应激状态可诱导 α -SMA 表达,心肌梗死后疤痕组织中成纤维细胞表达 α -SMA 水平上调^[13]。近期研究发现, α -SMA 可与细胞外基质蛋白相互作用,进而调节心肌细胞的收缩功能^[14]。本研究检测了这四种基因在小鼠心肌组织中的表达水平,虽然两组小鼠之间存在一定差异,但差异并不具有统计学意义。

细胞凋亡是一种细胞程序性死亡,主要表现为细胞体积变小,染色质浓缩和核 DNA 降解^[15]。Bcl-2 家族在细胞凋亡中起着重要作用,迄今为止,已发现有大约 25 种蛋白。其中,Bcl-2 具有抗凋亡作用,Bax 属于促凋亡蛋白^[16]。Caspase 是一组半胱氨酸蛋白酶,在凋亡过程中主要作用是清除细胞蛋白,引起细胞的生物化学和形态学改变。受到凋亡信号刺激后,Bcl-2 家族的促凋亡成员如 Bax 活化,进而引起线粒体膜上的渗透性转运孔形成。线粒体释放细胞色素 C 等形成凋亡体,活化 Caspase 9 和 Caspase 3,从而诱发凋亡^[17]。p53 在细胞凋亡过程中起着重要的调节作用,研究发现 Wip1 可通过使 p53 去磷酸化和使上游蛋白失活达到抑制凋亡的作用^[18]。本研究检测了 WT 小鼠和 Wip1-KO 小鼠心肌组织中凋亡相关蛋白的表达水平,两组小鼠之间无统计学差异,提示 Wip1 敲除不影响心肌组织中凋亡信号通路。

本研究发现敲除 Wip1 基因可影响小鼠心功能,但具体的分子学机制尚不清楚,是此研究的局限之一。此外,研究中缺乏 Wip1 基因敲除小鼠补充外源性 Wip1 蛋白对照组,是该研究的另一不足。

虽然本研究的结果发现 Wip1 基因缺失可损害小鼠心功能和影响小鼠心重/体重比,但并不影响

小鼠心肌组织病理形态改变,也不影响心脏中相关基因和蛋白表达。Wip1 基因敲除通过何种信号通路影响小鼠心功能仍需进一步研究。

参考文献

- [1] Choi J, Appella E, Donehower LA. The Structure and Expression of the Murine Wildtype p53-Induced Phosphatase 1(Wip1). *Genomics*, 2000, 64: 298-306.
- [2] Zhu YH, Bulavin DV. Wip1-Dependent Signaling Pathways in Health and Diseases. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2012, 106: 307-325.
- [3] Choi J, Nannenga B, Demidov ON, et al. Mice deficient for the wild-type p53-induced phosphatase gene (Wip1) exhibit defects in reproductive organs, immune function, and cell cycle control. *Mol Cell Biol*, 2001, 22: 1094-1105.
- [4] Leguezennec X, Brichtkina A, Huang YF, et al. Wip1-Dependent Regulation of Autophagy, Obesity, and Atherosclerosis. *Autophagy*, 2012, 16: 68.
- [5] Armata HL, Chamberland S, Watts L, et al. Deficiency of the tumor promoter gene wip1 induces insulin resistance. *Mol Endocrinol*, 2014, 29: 28-39.
- [6] Schito ML, Demidov ON, Saito S, et al. Wip1 phosphatase-deficient mice exhibit defective T cell maturation due to sustained p53 activation. *J Immunol*, 2006, 176: 4818-4825.
- [7] Yi W, Hu X, Chen Z, et al. Phosphatase Wip1 controls antigen-independent B-cell development in a p53-dependent manner. *Blood*, 2015, 126: 620-628.
- [8] Daniels LB, Maisel AS. Natriuretic peptides. *J Am Coll Cardiol*, 2007, 50: 2357-2368.
- [9] Weber KS, Nelson PJ, Gröne HJ, et al. Expression of CCR2 by endothelial cells: implications for MCP-1 mediated wound injury repair and In vivo inflammatory activation of endothelium. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999, 19: 2085-2093.
- [10] Sakai N, Wada T, Furuichi K, et al. MCP-1/CCR2-dependent loop for fibrogenesis in human peripheral CD14-positive monocytes. *J Leukoc Biol*, 2006, 79: 555-563.
- [11] Dewald O, Zymek P, Winkelmann K, et al. CCL2/Monocyte Chemoattractant Protein-1 regulates inflammatory responses critical to healing myocardial infarcts. *Cir Res*, 2005, 96: 881-889.
- [12] Liehn EA, Piccinini AM, Koenen RR, et al. A new monocyte chemotactic protein-1/chemokine CC motif ligand-2 competitor limiting neointima formation and myocardial ischemia/reperfusion injury in mice. *J Am Coll Cardiol*, 2010, 56: 1847-1857.
- [13] Suurmeijer AJ, Clément S, Francesconi A, et al. α Actin isoform distribution in normal and failing human heart: a morphological, morphometric, and biochemical study. *J Pathol*, 2003, 199: 387-397.
- [14] Bilydyg N, Bozhokina E, Khaitlina S. Contribution of α -smooth muscle actin and extracellular matrix to the in vitro reorganization of cardiomyocyte contractile system. *Cell Biol Int*, 2016, 40: 472-477.
- [15] Maiese K, Chong ZZ, Shang YC, et al. Targeting disease through novel pathways of apoptosis and autophagy. *Expert Opin Ther Targets*. 2012, 16: 1203-1214.
- [16] Ola MS, Nawaz M, Ahsan H. Role of Bcl-2 family proteins and caspases in the regulation of apoptosis. *Mol Cell Biochem*, 2011, 351: 41-58.
- [17] Siddiqui WA, Ahad A, Ahsan H. The mystery of Bcl2 family: Bcl-2 proteins and apoptosis: an update. *Arch Toxicol*, 2015, 89: 289-317.
- [18] Lowe J, Cha H, Lee MO, et al. Regulation of the Wip1 phosphatase and its effects on the stress response. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2012, 17: 1480-1498.

(收稿日期: 2017-02-19)

(编辑: 许菁)

基础与实验研究

尼可地尔对离体大鼠心肌缺血再灌注损伤的影响

张云盛, 王清, 滕天明, 张文娟

摘要

目的: 探讨钾通道开放剂尼可地尔对离体大鼠心肌缺血再灌注损伤(MIRI)的影响。

方法: 建立 Langendorff 离体心脏灌流系统, 44 只大鼠随机分为 4 组: 正常组、缺血再灌注组(I-R 组)、腺苷(100 $\mu\text{mol/L}$)缺血再灌注组(A/I-R 组)、尼可地尔(200 $\mu\text{mol/L}$)缺血再灌注组(N/I-R 组), 每组 11 只。分别记录并分析各组左心室发展压(LVDP)、左心室内压力最大上升/下降速率($\pm dp/dt_{\text{max}}$)、再灌注心律失常(RA)、心肌梗死面积以及左心室心肌组织的乙醛脱氢酶 2 (ALDH2)、抗凋亡基因 B 淋巴细胞瘤-2 (Bcl-2)以及促凋亡基因 B 淋巴细胞瘤-2 相关 x 蛋白(Bax)的表达水平。

结果:(1) N/I-R 组再灌注 30 min 与再灌注 45 min 的 LVDP 均高于 I-R 组与 A/I-R 组(P 均 <0.05)。(2) I-R 组再灌注 30 min 及 45 min 的 $\pm dp/dt_{\text{max}}$ 均低于 N/I-R 组和 A/I-R 组 (P 均 <0.05)。N/I-R 组再灌注 30 min 及 45 min 的 $\pm dp/dt_{\text{max}}$ 均高于 A/I-R 组(P 均 <0.05)。(3) 与 I-R 组比较, N/I-R 组和 A/I-R 组的 RA 评分均降低(P 均 <0.01)。N/I-R 组与 A/I-R 组差异无统计学意义($P=0.771$)。(4) N/I-R 组和 A/I-R 组心肌梗死面积均低于 I-R 组 (P 均 <0.01), N/I-R 组心肌梗死面积最小 ($P<0.05$)。(5) 与正常组比较, I-R 组线粒体 ALDH2 表达明显减少, Bcl-2、Bax 的表达增加;N/I-R 组线粒体 ALDH2 表达增加, A/I-R 组表达减少, N/I-R 组和 A/I-R 组的 Bcl-2、Bax 的表达均增加。与 I-R 组比较, N/I-R 组以及 A/I-R 组 Bcl-2/Bax 的比值均增大(P 均 <0.05); 在抗凋亡方面 N/I-R 组与 A/I-R 组差异无统计学意义($P>0.05$)。

结论: 尼可地尔可以减少 MIRI, 对心肌起到保护作用, 其总体作用效果优于腺苷。尼可地尔可上调线粒体 ALDH2、Bcl-2 表达以及下调 Bax 的基因蛋白的表达。

关键词 心肌再灌注损伤; 尼可地尔; 线粒体, 心脏

Effect of Nicorandil on Myocardial Ischemia-reperfusion Injury in Isolated Rat's Heart

ZHANG Yun-sheng, WANG Qing, TENG Tian-ming, ZHANG Wen-juan.

Department of Cardiology, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin (300052), China

Corresponding Author: ZHANG Wen-juan, Email:zwjzyy2013@163.com

Abstract

Objective: To investigate the effect of potassium channel opener nicorandil on myocardial ischemia-reperfusion injury (MIRI) in isolated rat's heart.

Methods: Langendorff system was established for isolated heart reperfusion. A total of 44 rats were randomly divided into 4 groups: Normal control group, Ischemia-reperfusion (I-R) group, Adenosine/I-R (A/I-R) group, the I-R heart was treated by adenosine 100 $\mu\text{mol/L}$ and Nicorandil/I-R (N/I-R) group, the I-R heart was treated by nicorandil 200 $\mu\text{mol/L}$. $n=11$ in each group. Left ventricular developed pressure (LVDP), the maximal rise/fall rate of left ventricular pressure ($\pm dp/dt_{\text{max}}$), reperfusion arrhythmia (RA) and myocardial infarction (MI) size were recorded; the expressions of left ventricular tissue acetaldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2), Bcl-2 and Bax were examined and compared among different groups.

Results: ① Compared with I-R and A/I-R groups, N/I-R group had increased LVDP at 30 min and 45 min reperfusion, all $P<0.05$. ② Compared with N/I-R and A/I-R groups, I-R group showed reduced $\pm dp/dt_{\text{max}}$ at 30 min and 45 min reperfusion, all $P<0.05$; while $\pm dp/dt_{\text{max}}$ in N/I-R group was higher than A/I-R group at 30 min and 45 min reperfusion, all $P<0.05$. ③ Compared with I-R group, both N/I-R and A/I-R groups presented reduced RA score, all $P<0.01$, RA score was

基金项目: 天津市高等科技发展基金计划项目(20110151); 天津市科技计划项目(15YFYZSY00020)

作者单位: 300052 天津市, 天津医科大学总医院 心血管内科

作者简介: 张云盛 硕士研究生 主要从事心血管病临床和科研工作 Email: zys3722976@163.com 通讯作者: 张文娟 Email: zwjzyy2013@163.com

中图分类号: R54 文献标识码: A 文章编号: 1000-3614 (2017) 08-0797-06 doi:10.3969/j.issn.1000-3614.2017.08.016

similar between N/I-R group and A/I-R group, $P=0.771$. ④ compared with I-R group, both N/I-R and A/I-R groups had the smaller MI size, $P<0.01$ and N/I-R group showed the smaller MI size, $P<0.05$. ⑤ Compared with Normal control group, I-R group had decreased mitochondrial ALDH2 expression and increased Bcl-2, Bax expression; ALDH2 level was elevated in N/I-R group had reduced in A/I-R group; Bcl-2 and Bax levels were increased in both N/I-R and A/I-R groups. Compared with I-R group, both N/I-R and A/I-R groups had increased ratio of Bcl-2/Bax, $P<0.05$; the anti-apoptosis effect was similar between N/I-R group and A/I-R group, $P>0.05$.

Conclusion: Nicorandil may reduce MIRI and protect myocardium in isolated rat's heart, the overall effect is better than adenosine. Nicorandil can up-regulate the expressions of mitochondrial ALDH2, Bcl-2 and down-regulate the expression of Bax.

Key words Myocardial Reperfusion Injury; Nicorandil; Mitochondria, Heart

(Chinese Circulation Journal, 2017,32:797.)

尼可地尔是一种硝酸酯样作用的钾通道开放剂,既可以开放钾离子通道,也可以发挥类硝酸酯样扩张冠状动脉的作用,有可能通过线粒体的缺血预处理对心肌起到一定保护作用^[1]。乙醛脱氢酶 2 (ALDH2) 是一种位于 12 号染色体的编码基因,呈基因多态性的四联体线粒体蛋白。目前,尼可地尔是否通过调节线粒体 ALDH2 表达发挥心肌保护作用鲜少研究。本研究旨在探讨尼可地尔对离体大鼠缺血再灌注损伤 (MIRI) 的作用,为其在心肌 MIRI 线粒体机制方面提供新的思路。

1 材料与方法

实验动物:健康雄性 Wistar 大鼠 44 只,体重 260~280 g,由中国医学科学院放射医学研究所实验动物中心提供。随机分为 4 组:正常组、缺血再灌注组 (I-R 组)、腺苷 (100 $\mu\text{mol/L}$)^[2] 缺血再灌注组 (A/I-R 组)、尼可地尔 (200 $\mu\text{mol/L}$)^[3] 缺血再灌注组 (N/I-R 组),每组 11 只。

仪器:Langendorff 离体心脏灌流实验系统 (上海奥尔科特生物科技有限公司);BL-420S 生物机能实验系统 (成都泰盟生物技术有限公司)。试剂:1% 伊文氏蓝 (Evans-blue, 北京 Solarbio 公司);1% 2,3,5-三苯基氯化四氮唑 (TTC, 北京 Solarbio 公司);Krebs-Henseleit (K-H) 液 (国产分析纯试剂配制);尼可地尔 (上海梯希爱公司);腺苷 (美国 Sigma 公司)。ALDH2 多克隆抗体 (美国 ImmunoWay 公司);GAPDH、Bcl-2、Bax 抗体 (万类生物公司);BCA 蛋白定量试剂盒 (美国 Thermo scientific 公司);Opti-Protein Marker (加拿大 abm 技术公司);TRIzol RNA 提取试剂盒 (100 ml/瓶, 美国 Thermo

scientific 公司);逆转录 cDNA 合成试剂盒 (美国 Thermo scientific 公司);SG Excel Fast SYBR Mixture (Plus) (上海生工生物工程股份有限公司);引物均由北京奥科鼎盛生物技术有限公司合成 (表 1)。

表 1 目的基因引物序列

基因名称	上下游引物 (5' → 3')	产物大小 (bp)
ALDH2	Sense: GTG TTC GGA GAC GTC AAA GA Antisense: GCA GAG CTT GGG ACA GGT AA	187
Bcl2	Sense: GACAACATCGCTCTGTGGAT Antisense: GACAGCCAGGAGAAATCAAA	137
Bax	Sense: GCGAGTGTCTCAGGCGAAT Antisense: CCCAGTTGAAGTTGCCGTCT	144
GAPDH	Sense: TACCCACGGCAA GTTCAACG Antisense: CAC CAG CAT CAC CCC ATT TG	122

注: ALDH2: 乙醛脱氢酶 2; Bcl-2: B 淋巴细胞瘤 -2; Bax: B 淋巴细胞瘤 -2 相关 x 蛋白; GAPDH: 甘油醛 -3-磷酸脱氢酶

模型复制:全部大鼠均给予肝素 5000 U/kg、水合氯醛 40 mg/kg 腹腔注射,麻醉完全后开胸迅速取出心脏置于 4℃ K-H 液中,快速挤出心腔内残留血液,然后将其迅速套扎于 Langendorff 离体心脏灌流系统,保持灌注压力为 90 cmH_2O (1 $\text{cmH}_2\text{O}=0.098$ kPa), 37℃ K-H 液持续灌流。连接 BL-420S 系统,待心脏稳定片刻后将压力球囊从左心耳插入左心室内,向球囊内注入 80~100 μl 水调节压力前负荷为 5~10 mmHg (1 mmHg=0.133 kPa)。记录心电图、左心室压力各项参数等指标。正常组穿线但不进行结扎,其他 3 组结扎前降支。正常组持续灌流 K-H 液 150 min; I-R 组 K-H 液稳定灌流 30 min 后,结扎前降支 30 min,继以 K-H 液再灌注 90 min; N/I-R 组与 A/I-R 组分别给予尼可地尔 (200 $\mu\text{mol/L}$) 与腺苷 (100 $\mu\text{mol/L}$) 再灌注 15 min,继以 K-H 液再灌流 75 min。待灌流结束后,部分心脏行 1% Evans-blue 和 1% TTC 双染色,进行心肌梗死面积测定。

血流动力学参数:根据左心室压力曲线,分析

记录稳定灌流 30 min 时(结扎前基础状态值)、缺血 15 min、缺血 30 min 以及再灌注后 30 min、45 min 左心室发展压(LVDP)、左室内压上升/下降最大速率($\pm dp/dt_{max}$)。LVDP=左心室压力曲线最高值-左心室压力曲线最低值。取十个连续心动周期的平均值为基准。

再灌注心律失常:观察各组离体大鼠心脏再灌注期间室性心律失常(VA)出现的时间和持续时间,统计室性早搏的个数,室性心动过速(VT)、心室颤动(VF)发生率和时程。以在 VT 或 VF 后出现 3 个及以上的正常窦性心律作为 VT 或 VF 终止的指标。心律失常的评分(RA 评分)依据 CURTIS 评分方案^[4]:0 分:<50 个室性早搏;1 分:50~499 个室性早搏;2 分:>499 个室性早搏或 1 阵可恢复性 VT 或 VF;3 分:大于 1 阵可自行恢复性 VT 和(或)VF,两者时间相加小于 60 s;4 分:可自行恢复性 VT 和(或)VF,两者时间相加 60~119 s;5 分:可自行恢复性 VT 和(或)VF,两者时间相加大于 119 s;6 分:不可自行恢复性 VF。

心肌 1% Evans-blue 和 1% TTC 双染色:灌流结束后进行再灌注组大鼠的前降支重新结扎,1% Evans-blue、1% TTC 分别进行染色,区分正常区(深蓝色)、缺血未梗死区(红色)及梗死区域(灰白色)。用高清数码相机抓取图像后利用 Image Pro plus 7.0 图像分析软件计算心肌梗死区及缺血区域,以心肌梗死区/缺血区域(%)表示心肌梗死百分比。

实时荧光定量逆转录-聚合酶链反应(qRT-PCR)方法检测线粒体 ALDH2、抗凋亡基因 Bcl-2 以及促凋亡基因 Bax 信使核糖核酸(mRNA)的表达:液氮中取出标本,每 100 mg 心肌组织加入 1 ml Trizol 试剂,在冰浴上充分匀浆。高速离心 10 min 后取上清液,每 1 ml Trizol 加入 200 μ l 氯仿,剧烈震荡 15~20 s 后高速离心 15 min,取无色水相每 1 ml Trizol 加入 0.5 ml 异丙醇,颠倒混匀后室温静置 20~30 min。高速离心后用乙醇冲洗烘干后溶解沉淀,浓度测定后进行反转录。应用 SYBR Green I 法,qRT-PCR 扩增程序设置为 95 $^{\circ}$ C 30 min, 95 $^{\circ}$ C 30 s,退火温度为 62 $^{\circ}$ C, 72 $^{\circ}$ C 15 s, 72 $^{\circ}$ C 2 min。读取扩增曲线上各组的 CT 值(每个反应管内的荧光信号到达设定的域值时所经历的循环数)。最终结果采用 $2^{-\Delta CT}$ 表示相对表达量,以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)内参基因进行标准对照。

蛋白免疫印迹(Western blot)检测线粒体 ALDH2 蛋白、抗凋亡 Bcl-2 以及促凋亡 Bax 蛋白

的表达:-80 $^{\circ}$ C 冰箱中取出标本,每 100 mg 心肌组织加入 1 ml RIPA 高效裂解液以及蛋白酶抑制剂,在冰浴上充分匀浆,提取并测定蛋白浓度,在垂直电泳仪中进行电泳分离蛋白。电泳结束后取出凝胶,转膜、封闭及孵育一抗 4 $^{\circ}$ C 脱色摇床过夜。一抗孵育结束后常温下孵育二抗 2 h,最后加入 Chemilum-inescent 辣根过氧化物酶底物(1:1 混匀)在化学发光成像系统中进行曝光与摄像。

统计学分析:应用 SPSS 22.0 统计软件对数据进行统计学分析。数据分析绘图采用 GraphPad Prism 5.0 与 Image J。正态分布计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, LVDP、 $\pm dp/dt_{max}$ 采用重复测量方差分析,其余组间比较采用单因素方差分析 LSD 法检验。非正态分布计量资料用中位数和四分位数间距表示,组间比较采用 Kruskal-Wallis-H 秩和检验两两比较,不校正 α 水准^[5]。计数资料比较采用卡方检验或者 Fisher 确切概率法。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠心肌再灌注后 LVDP 及 $\pm dp/dt_{max}$ 的比较(表 2)

对 LVDP 的影响:随着时间的推移,正常组的 LVDP 呈逐步下降趋势($P=0.000$)。其余各组缺血及再灌注后 LVDP,均低于同时间段正常组压力(P 均 < 0.05)。N/I-R 组再灌注 30 min 与再灌注 45 min 的 LVDP 均高于同时间段 I-R 组与 A/I-R 组(P 均 < 0.05)。对 $\pm dp/dt_{max}$ 的影响:I-R 组再灌注 30 min 及 45 min 的 $\pm dp/dt_{max}$ 均低于 A/I-R 组和 N/I-R 组(P 均 < 0.05)。N/I-R 组再灌注 30 min 及 45 min 的 $\pm dp/dt_{max}$ 均高于 A/I-R 组,差异均有统计学意义(P 均 < 0.05)。

2.2 各组大鼠再灌注室性心律失常发生率、时程及再灌注 RA 评分的比较(表 3)

正常组仅有室性早搏,无 VT、VF 发生, N/I-R 组和 A/I-R 组出现室性早搏个数较正常组均增加(P 均 $= 0.000$),但均少于 I-R 组($P=0.03, P=0.02$)。N/I-R 组和 A/I-R 组与 I-R 组相比 VT、VF 发生率降低(VT: $P=0.013, P=0.005$; VF: $P=0.009, P=0.034$)、时程缩短(VT: $P=0.000, P=0.000$; VF: $P=0.011, P=0.005$)。与 I-R 组比较, N/I-R 组和 A/I-R 组的 RA 评分降低($P=0.000, P=0.000$)。N/I-R 组与 A/I-R 组差异无统计学意义($P=0.771$)。

表 2 各组大鼠心肌再灌注后 LVDP 及 $\pm dp/dt_{\max}$ 的比较($\bar{x} \pm s$)

项目	正常组 (n=11)	I-R 组 (n=11)	A/I-R 组 (n=11)	N/I-R 组 (n=11)
LVDP(mmHg)				
基础状态	112.75 ± 3.79	108.76 ± 4.54	110.31 ± 5.58	112.38 ± 5.96
缺血 15 min	108.34 ± 3.96	57.68 ± 3.23 ^b	57.21 ± 3.94 ^b	57.58 ± 3.08 ^b
缺血 30 min	104.45 ± 3.42	67.85 ± 5.19 ^b	68.88 ± 3.11 ^b	69.01 ± 3.85 ^b
再灌注 30 min	98.83 ± 4.16	75.77 ± 5.33 ^b	83.35 ± 2.88 ^{bd}	88.95 ± 1.75 ^{bd}
再灌注 45 min	95.47 ± 5.78	72.34 ± 7.49 ^b	80.98 ± 3.89 ^{bd}	86.13 ± 2.38 ^{bde}
+dp/dt _{max} (mmHg/s)				
再灌注 30 min	2934.00 ± 267.88	2076.44 ± 115.68 ^b	2272.63 ± 224.32 ^{bc}	2655.38 ± 122.46 ^{bdf}
再灌注 45 min	2869.00 ± 246.39	2042.32 ± 91.34 ^b	2247.18 ± 197.56 ^{bc}	2573.45 ± 188.78 ^{bde}
-dp/dt _{max} (mmHg/s)				
再灌注 30 min	2409.45 ± 197.49	1723.81 ± 218.87 ^b	1892.35 ± 196.58 ^{bc}	2040.00 ± 214.22 ^{bde}
再灌注 45 min	2312.55 ± 159.71	1589.54 ± 217.61 ^b	1789.18 ± 118.11 ^{bd}	1977.63 ± 221.36 ^{bde}

注:I-R 组:缺血再灌注组;N/I-R 组:尼可地尔缺血再灌注组;A/I-R 组:腺苷缺血再灌注组;LVDP:左心室发展压; $\pm dp/dt_{\max}$:左心室内压上升/下降最大速率。与正常组比较 ^b $P < 0.01$; 与 I-R 组比较 ^c $P < 0.05$ ^d $P < 0.01$; 与 A/I-R 组比较 ^e $P < 0.05$ ^f $P < 0.01$ 。1 mmHg=0.133 kPa

表 3 各组大鼠再灌注室性心律失常发生率、时程及再灌注 RA 评分的比较

项目	正常组 (n=11)	I-R 组 (n=11)	A/I-R 组 (n=11)	N/I-R 组 (n=11)
室性早搏 [*] (个)	208 (156)	493 (140)	257 (52) ^b	267 (84) ^b
VT 时程 [*] (s)	0 (0)	72 (47)	0 (29) ^b	0 (31) ^b
VT 发生率 [只 (%)]	0 (0)	11 (100)	4 (36.36) ^b	5 (45.45) ^b
VF 时程 [*] (s)	0 (0)	43 (73)	0 (0) ^b	0 (0) ^a
VF 发生率 [只 (%)]	0 (0)	7 (63.64)	1 (9.09) ^b	2 (18.18) ^a
RA 评分 [*] (分)	1 (0)	5 (2)	1 (2)	2 (1)
平均秩次	18.27	57.36	22.05 ^b	23.14 ^b

注:I-R 组:缺血再灌注组;N/I-R 组:尼可地尔缺血再灌注组;A/I-R 组:腺苷缺血再灌注组;RA:心律失常;VT:室性心动过速;VF:心室颤动;^{*}:以中位数(四分位数间距)表示。与 I-R 组比较 ^a $P < 0.05$ ^b $P < 0.01$

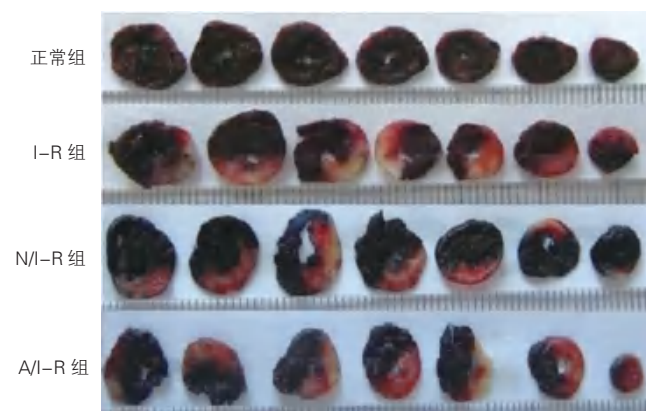
2.3 各组大鼠心肌梗死面积比较(图 1)

N/I-R 组梗死面积 (34.95 ± 1.25)%、A/I-R 组梗死面积 (47.97 ± 1.22)%, 均低于 I-R 组 (55.51 ± 1.43)%, 差异有统计学意义 (P 均 < 0.01), N/I-R 组梗死面积最小 ($P < 0.05$)。

2.4 各组心肌组织线粒体 ALDH2 以及 Bcl-2、Bax 表达结果(表 4、图 2)

与正常组比较, I-R 组线粒体 ALDH2 表达明显减少, Bcl-2、Bax 的表达增加; N/I-R 组线

粒体 ALDH2 表达增加, A/I-R 组表达减少, N/I-R 组和 A/I-R 组的 Bcl-2、Bax 的表达均增加。与 I-R 组比较, N/I-R 组以及 A/I-R 组 Bcl-2/Bax 的比值均增大 (P 均 < 0.05)。在抗凋亡方面 N/I-R 组与 A/I-R 组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。



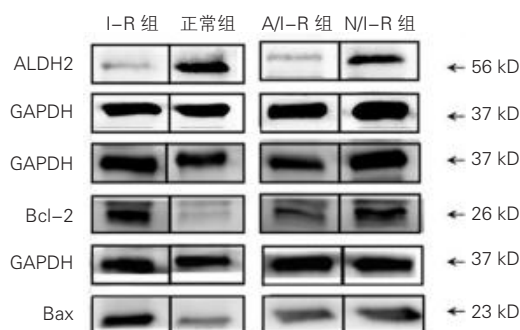
注:I-R 组:缺血再灌注组;N/I-R 组:尼可地尔缺血再灌注组;A/I-R 组:腺苷缺血再灌注组。正常区为深蓝色,缺血未梗死区为红色,梗死区域为灰白色。 $n=4$

图 1 各组大鼠心肌 1% 伊文氏蓝和 1% 三苯基氯化四氮唑双染色切片

表 4 各组大鼠心肌组织线粒体 ALDH2 以及 Bcl-2、Bax 表达结果($\bar{x} \pm s$)

项目	正常组 (n=3)	I-R 组 (n=3)	A/I-R 组 (n=3)	N/I-R 组 (n=3)
qRT-PCR				
ALDH2	0.079200 ± 0.007300	0.045500 ± 0.003600 ^b	0.038700 ± 0.001100	0.065700 ± 0.005000 ^{df}
Bcl-2	0.001022 ± 0.000035	0.001228 ± 0.000060 ^b	0.001391 ± 0.000095	0.001410 ± 0.000000 ^c
Bax	0.003228 ± 0.000174	0.005563 ± 0.000327 ^b	0.004613 ± 0.000226 ^c	0.004425 ± 0.000478 ^c
Bcl-2/Bax	0.316 ± 0.006	0.221 ± 0.024 ^b	0.291 ± 0.020 ^c	0.320 ± 0.034 ^c
Western blot 分析				
ALDH2	0.994 ± 0.053	0.214 ± 0.025 ^b	0.160 ± 0.032	0.514 ± 0.081 ^{df}
Bcl-2	0.396 ± 0.038	0.624 ± 0.031 ^b	0.957 ± 0.124	0.926 ± 0.111 ^d
Bax	0.473 ± 0.046	0.792 ± 0.044 ^b	0.601 ± 0.073 ^c	0.679 ± 0.106 ^c

注:I-R 组:缺血再灌注组;N/I-R 组:尼可地尔缺血再灌注组;A/I-R 组:腺苷缺血再灌注组;qRT-PCR:实时荧光定量逆转录-聚合酶链反应;ALDH2:乙醛脱氢酶 2;Bcl-2: B 淋巴细胞瘤-2;Bax: B 淋巴细胞瘤-2 相关 x 蛋白;Western blot: 蛋白免疫印迹。与正常组比较 ^b $P < 0.01$; 与 I-R 组比较 ^c $P < 0.05$ ^d $P < 0.01$; 与 A/I-R 组比较 ^f $P < 0.01$



注:I-R组:缺血再灌注组;N/I-R组:尼古地尔缺血再灌注组;A/I-R组,腺苷缺血再灌注组;ALDH2:乙醛脱氢酶2;Bcl-2:B淋巴细胞瘤-2;Bax:B淋巴细胞瘤-2相关x蛋白;GAPDH:甘油醛-3-磷酸脱氢酶

图2 各组大鼠心肌蛋白免疫印迹图

3 讨论

心血管疾病是全球首要致死原因,而急性心肌梗死又是冠心病死亡的重要原因^[6,7],及时的介入手术或溶栓治疗能够挽救部分急性心肌梗死时的缺血心肌,降低心功能损伤程度。但在血运重建血流恢复的同时,伴随着MIRI的发生。尼古地尔的代谢产物可以生成一氧化氮(NO),活化鸟苷酸环化酶,使心肌细胞内第二信使环磷酸鸟苷(cGMP)生成增加^[8],从而使血管舒张,降低心脏前负荷,降低心肌耗氧量。尼古地尔(200 μmo/L)^[2]是细胞膜以及线粒体三磷酸腺苷(ATP)敏感性钾通道(K_{ATP})开放剂,细胞膜K_{ATP}通道开放引起K⁺外流、加速复极,使动作电位时程(APD)缩短,Ca²⁺内流减少,从而减少细胞内钙超载^[9],清除过多的氧自由基,扩张末梢血管降低后负荷,增加微循环冠状动脉的灌注从而产生心脏保护作用。线粒体K_{ATP}通道开放参与了缺血预适应以及抗心肌细胞凋亡的作用,Sato等^[10]发现低浓度(100 μmo/L)尼古地尔仅能开放线粒体K_{ATP}通道的情况下能够明显降低心肌细胞的死亡率,减少心肌细胞的凋亡。研究表明^[11],线粒体K_{ATP}通道开放剂对缺血再灌注损伤的心肌具有保护作用。另有研究也证实^[12],线粒体K_{ATP}通道的开放参与了缺血再灌注损伤即刻以及早期缺血后处理的心肌保护机制,而晚期缺血后处理依赖不同的机制。

ALDH2在心肌细胞线粒体中活性高于其他类型醛脱氢酶,其主要机制是通过抑制4-羟壬烯(4-HNE)以及活性氧自由基系统减少心肌细胞的损伤^[13]。2002年,Chen等^[14]首次全面阐述了ALDH2在机体内硝酸甘油生物转化过程中起着重

要的作用。线粒体ALDH2表达的减少也是目前发现硝酸脂类耐药的重要原因之一^[15]。激活线粒体ALDH2在MIRI方面起到了保护作用,ALDH2的表达增加,心肌再灌注损伤会减少。同时,ALDH2在抗凋亡以及抗炎症反应方面也具有重要的作用^[16]。

本实验采用后处理的方式,同时与细胞膜K_{ATP}通道开放剂腺苷(100 μmo/L)在同一实验条件下进行比较。N/I-R组再灌注时与I-R组相比LVDP、±dp/dt_{max}明显升高(P均<0.05),心肌梗死面积减少(P均<0.05),RA评分降低(P均<0.05),N/I-R组其总体作用效果优于A/I-R组。研究表明,尼古地尔不仅是NO供体和K_{ATP}通道开放剂^[17],还是很好的抗氧化剂,它通过增加超氧化物歧化酶2的活性和减少黄嘌呤氧化酶活性参与体内抗氧化过程^[18,19]。通过这些多种途径与机制,激活NO-cGMP途径,降低氧化应激,保持线粒体功能,减少心肌缺血再灌注的损伤的作用。

在正常心肌与血管内皮组织中,线粒体ALDH2处于高表达状态^[20,21],Bcl-2不表达或低表达^[22]。在心肌细胞受到缺血再灌注损伤时,Bcl-2表达上调,其基因产物的表达可抑制或逆转细胞凋亡的发生。Bax是Bcl-2的同源基因蛋白,可通过与Bcl-2形成异源二聚体,从而抑制Bcl-2的作用,促进凋亡。因此,BCL-2/Bax的表达比值决定细胞的生存与凋亡^[23,24]。本实验结果显示,N/I-R组线粒体ALDH2表达增加,初步探讨了尼古地尔可能通过调节线粒体ALDH2的表达起到对MIRI的保护作用相关联。有关机制有待于进一步验证,线粒体ALDH2有望成为心脏保护新的治疗靶点^[25]。本实验室将通过相关抑制剂与激活剂以及KATP通道特异性抑制剂对尼古地尔以及线粒体ALDH2进一步研究与探讨。另外,在心肌抗凋亡方面,尼古地尔与腺苷一样,药物后处理均可以明显减少心肌细胞的凋亡,说明尼古地尔可能通过抑制细胞凋亡对缺血再灌注的心肌起到保护作用。有研究表明,线粒体ALDH2可能通过下调腺苷酸活化蛋白激酶增加FOXO3a转录因子的磷酸化,减少高糖诱导的心肌细胞的凋亡^[26]。另外,线粒体ALDH2可以减轻乙醛的衍生物4-HNE以及丙二醛毒性从而到抗心肌细胞凋亡的作用^[27]。

关于尼古地尔抗凋亡我们认为有以下两种可能机制:(1)尼古地尔可能通过激活NO-cGMP途径、激活K_{ATP}通道等途径减少心肌细胞的凋亡。(2)尼古地尔可能通过上调线粒体ALDH2共同参与抑制心肌细胞抗凋亡途径,其相互之间联系密切。

总之, 尼可地尔可减少缺血再灌注时心律失常的发生、改善心脏泵功能、减少心肌梗死的面积, 最终有效减少 MIRI。而关于尼可地尔发挥再灌注保护作用的信号通路、调节机制等一系列问题有待进一步研究。

参考文献

- [1] Tarkin JM, Kaski JC. Vasodilator Therapy: Nitrates and Nicorandil. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2016, 30: 367-378.
- [2] Sun L, Li DL, Zhao M, et al. The role of muscarinic receptors in the beneficial effects of adenosine against myocardial reperfusion injury in rats. *PLoS One*, 2011, 6: e25618.
- [3] Mitani A, Kinoshita K, Fukamachi K, et al. Effects of glibenclamide and nicorandil on cardiac function during ischemia and reperfusion in isolated perfused rat hearts. *Am J Physiol*, 1991, 261: H1864-H1871.
- [4] Curtis MJ, Walker MJ. Quantification of arrhythmias using scoring systems: an examination of seven scores in an in vivo model of regional myocardial ischaemia. *Cardiovasc Res*, 1988, 22: 656-665.
- [5] 张文彤, 闫洁, 邝春伟, 等. SPSS 统计分析基础教程. 北京: 高等教育出版社, 2004: 289-292.
- [6] 高润霖. 冠心病疾病负担——中国出路. *中国循环杂志*, 2017, 32: 1-4.
- [7] 陈伟伟, 高润霖, 胡盛寿, 等. 《中国心血管病报告 2015》概要. *中国循环杂志*, 2016, 31: 521-528.
- [8] IONA Study Group. Effect of nicorandil on coronary events in patients with stable angina: the Impact Of Nicorandil in Angina (IONA) randomised trial. *Lancet*, 2002, 359: 1269-1275.
- [9] Zhao F, Chaugai S, Chen P, et al. Effect of nicorandil in patients with heart failure: a systematic review and meta-analysis. *Cardiovasc Ther*, 2014, 32: 283-296.
- [10] Sato T, Sasaki N, O'Rourke B, et al. Nicorandil, a potent cardioprotective agent, acts by opening mitochondrial ATP-dependent potassium channels. *J Am Coll Cardiol*, 2000, 35: 514-518.
- [11] Rajesh KG, Sasaguri S, Suzuki R, et al. Ischemic preconditioning prevents reperfusion heart injury in cardiac hypertrophy by activation of mitochondrial K_{ATP} channels. *Int J Cardiol*, 2004, 96: 41-49.
- [12] Barsukevich V, Basalay M, Sanchez J, et al. Distinct cardioprotective mechanisms of immediate, early and delayed ischaemic postconditioning. *Basic Res Cardiol*, 2015, 110: 452.
- [13] Sun A, Cheng Y, Zhang Y, et al. Aldehyde dehydrogenase 2 ameliorates doxorubicin-induced myocardial dysfunction through detoxification of 4-HNE and suppression of autophagy. *J Mol Cell Cardiol*, 2014, 71: 92-104.
- [14] Chen Z, Stamler JS. Bioactivation of nitroglycerin by the mitochondrial aldehyde dehydrogenase. *Trends Cardiovasc Med*, 2006, 16: 259-265.
- [15] Mackenzie IS, Maki-Petaja KM, Mceniery CM, et al. Aldehyde dehydrogenase 2 plays a role in the bioactivation of nitroglycerin in humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25: 1891-1895.
- [16] Chen CH, Budas GR, Churchill EN, et al. Activation of aldehyde dehydrogenase-2 reduces ischemic damage to the heart. *Science*, 2008, 321: 1493-1495.
- [17] Serizawa K, Yogo K, Aizawa K, et al. Nicorandil prevents endothelial dysfunction due to antioxidative effects via normalisation of NADPH oxidase and nitric oxide synthase in streptozotocin diabetic rats. *Cardiovasc Diabetol*, 2011, 10: 105.
- [18] Tamura Y, Tanabe K, Kitagawa W, et al. Nicorandil, a K(ATP) channel opener, alleviates chronic renal injury by targeting podocytes and macrophages. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2012, 303: F339-F349.
- [19] 裴玮娜, 谢瑞芹, 崔炜, 等. 曲美他嗪与尼可地尔对经皮冠状动脉介入治疗相关心肌损伤干预作用的比较. *中国循环杂志*, 2014, 29: 256-260.
- [20] Kato N, Takeuchi F, Tabara Y, et al. Meta-analysis of genome-wide association studies identifies common variants associated with blood pressure variation in east Asians. *Nat Genet*, 2011, 43: 531-538.
- [21] Xia G, Fan F, Liu M, et al. Aldehyde dehydrogenase 2 deficiency blunts compensatory cardiac hypertrophy through modulating Akt phosphorylation early after transverse aorta constriction in mice. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1862: 1587-1593.
- [22] Habibi P, Alihemmati A, Nourazar A, et al. Expression of the Mir-133 and Bcl-2 could be affected by swimming training in the heart of ovariectomized rats. *Iran J Basic Med Sci*, 2016, 19: 381-387.
- [23] Ma LN, Li LD, Li SC, et al. Allicin improves the cardiac function by protecting against apoptosis in rat model of myocardial infarction. *Chin J Integr Med*, 2016, [Epub ahead of print].
- [24] Verma YK, Raghav PK, Raj HG, et al. Enhanced heterodimerization of Bax by Bcl-2 mutants improves irradiated cell survival. *Apoptosis*, 2013, 18: 212-225.
- [25] Budas GR, Disatnik MH, Mochly-Rosen D. Aldehyde dehydrogenase 2 in cardiac protection: a new therapeutic target?. *Trends Cardiovasc Med*, 2009, 19: 158-164.
- [26] 郭钰丽, 闫浩, 张荣庆, 等. 线粒体乙醛脱氢酶 2(ALDH2) 通过 AMPK/FOXO3a 通路改善高糖导致的心肌细胞凋亡. *现代生物医学进展*, 2014, 11: 2024-2028.
- [27] Guo JM, Liu AJ, Zang P, et al. ALDH2 protects against stroke by clearing 4-HNE. *Cell Res*, 2013, 23: 915-930.

(收稿日期: 2016-11-25)

(编辑: 王宝茹)

基础与实验研究

辛二酰苯胺羟肟酸通过抑制组蛋白去乙酰化酶改善小鼠心肌肥厚的研究

彭昌, 李硕, 罗孝美, 谢新星, 肖明晨

摘要

目的: 探讨组蛋白去乙酰化酶(HDAC)抑制剂辛二酰苯胺羟肟酸(SAHA)改善小鼠心肌肥厚的作用, 为防治心肌肥厚提供新思路。

方法: 选取 60 只昆明小鼠, 随机分为正常组、假手术组、心肌肥厚组、心肌肥厚 + SAHA 组, 通过部分结扎小鼠胸主动脉建立心肌肥厚模型, 最终每组纳入 6 只。采用苏木素伊红(HE)染色观察小鼠心肌细胞, 超声心动图检测小鼠心功能, 比色法检测 HDAC 活性, 小鼠心肌组织中 HDAC 亚型 HDAC5 和 β -肌球蛋白重链(β -MHC)信使核糖核酸(mRNA)和蛋白表达水平分别运用逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)和蛋白免疫印迹(Western blot)检测。

结果: HE 染色结果表明心肌肥厚组小鼠心肌细胞肥大、排列紊乱、细胞核深染。心肌肥厚组小鼠左心室舒张末期直径、左心室舒张末期容积均显著低于假手术组($P < 0.05$), 而室间隔明显较假手术组增厚($P < 0.05$)。心肌肥厚组小鼠 HDACs 活性显著高于假手术组($P < 0.05$); 心肌肥厚组 HDAC5 和 β -MHC 的 mRNA 及蛋白表达水平均显著高于假手术组($P < 0.05$)。SAHA 能够显著降低 HDAC5 表达水平, 显著下调心脏肥厚相关基因 β -MHC 的表达并改善小鼠心功能和心肌肥厚(P 均 < 0.05)。

结论: HDAC 参与了心肌肥厚的发生, HDAC 抑制剂 SAHA 通过抑制 HDAC5 的表达从而改善小鼠心肌肥厚。

关键词 组蛋白去乙酰化酶 1; 心脏扩大; 治疗结果

Suberoylanilide Hydroxamic Acid Improves Cardiac Hypertrophy via Inhibiting Histone Deacetylase in Experimental Mice

PENG Chang, LI Shuo, LUO Xiao-mei, XIE Xin-xing, XIAO Ming-chen.

Department of Pediatrics, The Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi (563000), Guizhou, China

Corresponding Author: PENG Chang, Email: pengchang_2006@126.com

Abstract

Objective: To explore the effect of suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) improving cardiac hypertrophy via inhibiting histone deacetylases (HDAC) in experimental mice and to provide a new idea for prevention and treatment of cardiac hypertrophy.

Methods: Cardiac hypertrophy mice model was established by thoracic aorta ligation. A total of 60 Kunming mice were randomly divided into 4 groups: Normal control group, Sham operation group, Cardiac hypertrophy (CH) group and CH+SAHA group. There were 6 mice used in each group. Myocardial cell morphology was observed by HE staining, cardiac function was assessed by echocardiography, mRNA and protein expressions of HDAC5 (the isoform of HDAC) and β -MHC were examined by RT-PCR and Western blot analysis.

Results: The mice in CH group had myocardial cell hypertrophy, disordered arrangement and hyperchromatic nucleus. Compared with Sham operation group, CH group showed decreased left ventricular end diastolic diameter (LVEDD), left ventricular end diastolic volume (LVEDV) and increased thickness of inter-ventricular septum (IVS), all $P < 0.05$; CH group presented elevated mRNA and protein expressions of HDAC5 and β -MHC, $P < 0.05$. SAHA obviously decreased HDAC5 expression, down regulated cardiac hypertrophy related β -MHC gene expression, improved cardiac function and hypertrophy, all $P < 0.05$.

Conclusion: HDAC were involved in myocardial hypertrophy; SAHA could inhibit HDAC expression and therefore,

基金项目: 国家自然科学基金项目(81560040); 遵义医学院博士启动基金项目[院字(2015)4号]; 遵义医学院与科技学院大学生创新训练项目[遵医科院(2015)3108]

作者单位: 563000 贵州省遵义市, 遵义医学院附属医院 儿内科(彭昌、李硕、谢新星、肖明晨); 遵义医学院 生理教研室(罗孝美)

作者简介: 彭昌 副主任医师 博士 主要从事心血管病研究 Email: pengchang_2006@126.com 通讯作者: 彭昌

中图分类号: R54 文献标识码: A 文章编号: 1000-3614 (2017) 08-0803-05 doi:10.3969/j.issn.1000-3614.2017.08.017

improved myocardial hypertrophy in experimental mice.

Key words Histone deacetylase 1; Cardiomegaly; Treatment Outcome

(Chinese Circulation Journal, 2017,32:803.)

心肌肥厚是多种心脏疾病的必经阶段, 如未及时控制, 最终将发展为心力衰竭甚至猝死^[1,2]。关于心肌肥厚的发生机制仍不十分清楚, 且目前的治疗手段除了利尿、扩血管等对症处理外尚无有效改善心肌肥厚的特殊措施。研究表明, 表观遗传的组蛋白乙酰化修饰可能参与了心肌肥厚的发生、发展过程^[3-5]。这提示我们从表观遗传的全新角度去探讨心肌肥厚的发生机制将有助于寻找心肌肥厚的干预新靶点。因此, 本研究通过建立小鼠心肌肥厚模型深入探讨组蛋白乙酰化调控在心肌肥厚中的作用, 为心肌肥厚的防治提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

将 60 只 8~10 周昆明小鼠(购置于遵义医学院动物中心)随机分为正常组、假手术组、心肌肥厚组、心肌肥厚+辛二酰苯胺异羟肟酸(SAHA)组, 每组 15 只。心肌肥厚组给予部分结扎胸主动脉(约为胸主动脉直径的 2/3), 心肌肥厚+SAHA 组除部分结扎胸主动脉外, 同时给予 SAHA[50 mg/(kg·d), Santa Cruz, Texas, 美国]腹腔注射, 每日 1 次连续注射 30 天, 假手术组给予等量生理盐水腹腔注射, 正常组未予任何处理。除去手术及干预过程中死亡的小鼠, 最终每组选 6 只小鼠纳入实验。

1.2 心脏标本的制备

选取建模成功后的小鼠, 二氧化碳麻醉处死, 75% 乙醇消毒并剖开胸腔, 分离心脏放入预冷 PBS 液(KH₂PO₄ 0.27 g, Na₂HPO₄ 1.42 g, NaCl 8.0 g, KCl 0.2 g, 用浓盐酸调节至 pH7.6, 加水至 1000 ml)中清洗后置于 -80 °C 冰箱保存备用。

1.3 主要实验方法

10% 水合氯醛腹腔麻醉小鼠后, 运用 Vevo 770 高频超声行超声心动图检查。检查结束后剖开胸腔, 取出心脏, 置于 4% 多聚甲醛溶液中 4 °C 固定 48 h 切片进行苏木素伊红(HE)染色。

心肌组织匀浆后, 运用核蛋白提取试剂盒(Merck Millipore, 德国)提取核蛋白, 参照文献[6]运用比色法检测试剂盒(GenMed, 上海)检测组蛋白

去乙酰化酶(HDAC)活性, 运用酶标仪在 450 nm 波长范围测量 50 μg 蛋白样品量的光密度(OD)值, 严格按照说明书操作。HDAC 活性 = OD 值 / 50 μg 蛋白。

逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR): 针对 β-肌球蛋白重链(β-MHC)和 HDAC 亚型 HDAC5 基因 CDS 核心编码区设计引物, 引物用 Primer Premier 5.0 软件设计, 由宝生物公司合成。将基因产物进行梯度稀释, 运用 Bio-Rad CFX96 荧光定量聚合酶链反应(PCR)仪扩增, 做出标准曲线, 得到 R² 值和扩增效率。引物序列: β-MHC (F) 5'-TGAGACGGATGCCATACAGA-3', β-MHC (R) 5'-GCA GCCTGTGCTTGGTCTT-3', 产物大小: 176 bp。反应条件: 预变性: 95 °C 30 s, 变性: 95 °C 5 s, 退火延伸: 58 °C 30 s, 39 个循环; HDAC5 (F) 5'-CAATCATCGGTATGTCTGCG-3', HDAC5 (R) 5'-CCTGTCCATGACGTTGT GTGCA-3', 产物大小: 144 bp。反应条件: 预变性: 95 °C 30 s, 变性: 95 °C 5 s, 退火延伸: 57 °C 30 s, 39 个循环。选取 β-肌动蛋白(β-actin)作为内参, 引物序列: β-actin (F) 5'-CCTTTATCGGTATGGAGTCTGCG-3', β-actin (R) 5'-CCTGACAT TTGTTGGCA-3', 产物大小: 104 bp。反应条件: 95 °C 30 s, 95 °C 5 s, 59 °C 30 s, 39 个循环。所得数据用 PCR 仪自带基于 pfaffl 原理的相对定量数据分析软件处理。

蛋白免疫印迹(Western blot)检测: 提取小鼠心肌组织核蛋白, 8% SDS-PAGE 凝胶分离蛋白, 聚偏氟乙烯(PVDF)膜半干转膜后, 5% 脱脂牛奶封闭 1 h 分别加入兔来源抗 HDAC5 和 β-MHC 单克隆抗体(Abcam, 英国, 1:1000)及甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)兔来源多克隆抗体(Abcam, 英国, 1:3000), 4 °C 孵育过夜, TBST (2.42 g Tris 碱, 8.06 g NaCl, 0.5 ml Tween-20 溶于 1000 ml 蒸馏水中, 用浓盐酸调节 pH 至 7.5)洗涤 3 次, 每次 10 min, 然后加入辣根过氧化物酶标记山羊抗兔的二抗(中杉金桥, 北京, 1:5000)脱色摇床上孵育 2 h, TBST 洗涤 3 次, 每次 10 min; 运用 Bio-Rad 图像分析仪进行图像扫描, 采用 Quantity One 4.4 软件进行分析。

1.4 统计学分析

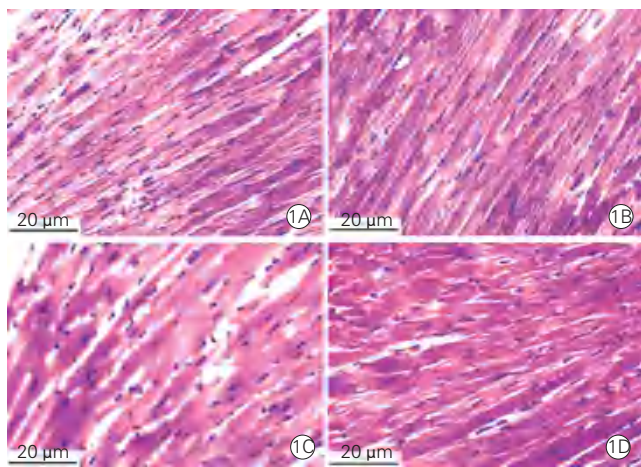
应用 SPSS 21.0 统计软件包进行统计学分析。

所有数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较进行单因素方差分析, 组间比较用 LSD-*t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠心肌组织 HE 染色结果

HE 染色结果表明: 正常组和假手术组小鼠心肌细胞排列规则, 细胞大小均匀一致(图 1A、1B), 心肌肥厚组 HE 染色可见小鼠心肌细胞肥大, 排列紊乱, 细胞核变大, 染色较深(图 1C)。但是, 心肌肥厚 + SAHA 组小鼠心肌细胞较心肌肥厚组肥大有所减轻, 细胞核也较心肌肥厚组变小, 心肌细胞排列规则(图 1D)。



注: 1A: 正常组; 1B: 假手术组; 1C: 心肌肥厚组; 1D: 心肌肥厚 + SAHA 组; SAHA: 辛二酰苯胺异羟肟酸。

图 1 各组小鼠心肌组织苏木素伊红染色结果

2.2 各组小鼠心功能情况比较(表 1)

超声心动图结果表明: 心肌肥厚组小鼠心脏左心室舒张末期内径(LVEDD)和左心室舒张末期容积(LVEDV)均显著低于假手术组($P < 0.05$), 室间隔(IVS)厚度在心肌肥厚组显著高于假手术组($P < 0.05$)。而左心室收缩末期内径(LVESD)和左心室收缩末期容积(LVESV)心肌肥厚组与假手术相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。而 HDAC 抑制剂 SAHA 能够显著提高 LVEDD 和 LVEDV, 心肌肥厚 + SAHA 组与心肌肥厚组相比差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1 各组小鼠心功能情况比较($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	超声心动图结果				
		IVS (mm)	LVEDD (mm)	LVEDV(mm)	LVESD (mm)	LVESV (μ l)
正常组	6	0.49 \pm 0.03	3.08 \pm 0.06	40.73 \pm 0.52	1.49 \pm 0.03	5.89 \pm 0.42
假手术组	6	0.53 \pm 0.01	3.02 \pm 0.06	41.24 \pm 0.53	1.52 \pm 0.04	6.03 \pm 0.10
心肌肥厚组	6	0.82 \pm 0.03*	2.01 \pm 0.02*	30.88 \pm 0.55*	1.45 \pm 0.03	5.78 \pm 0.22
心肌肥厚 + SAHA 组	6	0.55 \pm 0.02 $^{\Delta}$	2.99 \pm 0.03 $^{\Delta}$	39.57 \pm 0.52 $^{\Delta}$	1.48 \pm 0.03	6.02 \pm 0.33
F 值		6.82	6.01	7.35	2.72	2.89
P 值		0.03	0.04	0.02	0.25	0.28

注: IVS: 室间隔; LVEDD: 左心室舒张末期内径; LVEDV: 左心室舒张末期容积; LVESD: 左心室收缩末期直径; LVESV: 左心室收缩末期容积; SAHA: 辛二酰苯胺异羟肟酸。与假手术组比* $P < 0.05$; 与心肌肥厚组比 $^{\Delta}P < 0.05$

2.3 各组小鼠心肌组织中 HDAC 活性比较(表 2)

比色法结果表明: 心肌肥厚组小鼠心肌组织中 HDAC 活性明显高于假手术组, 两者相比差异有统计学意义($P < 0.05$)。而 HDAC 抑制剂 SAHA 能够显著降低小鼠心肌组织中 HDAC 活性, 心肌肥厚 + SAHA 组与心肌肥厚组相比差异有统计学意义($P < 0.05$)。

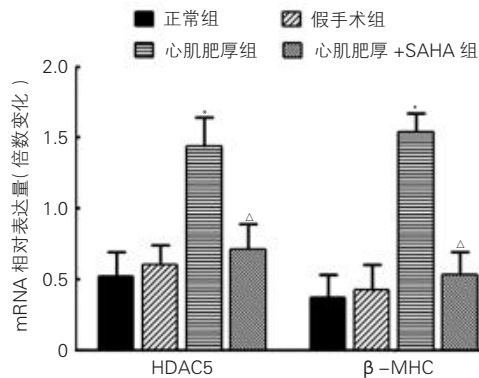
表 2 各组小鼠心肌组织中 HDAC 活性比较($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	HDAC 活性 (OD 值/50 μ g 蛋白)
正常组	6	0.15 \pm 0.06
假手术组	6	0.18 \pm 0.07
心肌肥厚组	6	0.67 \pm 0.10*
心肌肥厚 + SAHA 组	6	0.25 \pm 0.08 $^{\Delta}$
F 值		9.37
P 值		0.02

注: HDACs: 组蛋白去乙酰化酶; SAHA: 辛二酰苯胺异羟肟酸; OD 值: 光密度值。与假手术组比* $P < 0.05$; 与心肌肥厚组比 $^{\Delta}P < 0.05$

2.4 各组小鼠心肌组织中 HDAC5 和 β -MHC mRNA 表达量比较(图 2)

RT-PCR 结果显示: HDAC5 和心肌肥厚相关基因 β -MHC mRNA 表达水平在心肌肥厚组均显著高于假手术组, 两组相比差异有统计学意义($P < 0.05$)。而心肌肥厚 + SAHA 组 HDAC5 和 β -MHC mRNA 表达水平均显著低于心肌肥厚组($P < 0.05$)。

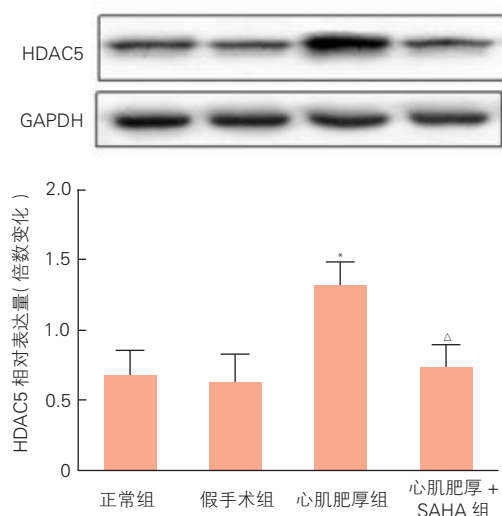


注: HDAC5: 组蛋白去乙酰化酶 5; β -MHC: β -肌球蛋白重链; SAHA: 辛二酰苯胺异羟肟酸; mRNA: 信使核糖核酸。与假手术组比* $P < 0.05$; 与心肌肥厚组比 $^{\Delta}P < 0.05$

图 2 各组小鼠心肌组织中 HDAC5 和 β -MHC mRNA 表达量比较($n=6$)

2.5 各组小鼠心肌组织中 HDAC5 蛋白表达水平(图 3)

Western blot 结果表明: 心肌肥厚组小鼠心肌组织中 HDAC5 的蛋白表达水平显著高于假手术组 ($P<0.05$), 而心肌肥厚 + SAHA 组小鼠心肌组织中 HDAC5 蛋白表达水平显著低于心肌肥厚组 ($P<0.05$)。

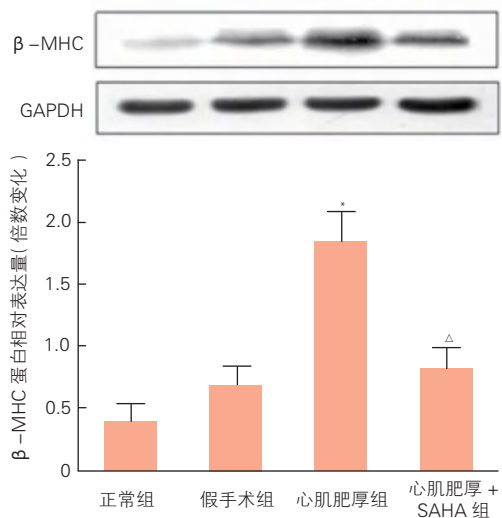


注: HDAC5: 组蛋白去乙酰化酶 5; GAPDH: 甘油醛-3-磷酸脱氢酶; SAHA: 辛二酰苯胺异羟肟酸。与假手术组比 $^*P<0.05$; 与心肌肥厚组比 $^{\Delta}P<0.05$

图 3 各组小鼠心肌组织中 HDAC5 蛋白表达水平 ($n=6$)

2.6 SAHA 抑制心肌肥厚小鼠心肌组织中 β -MHC 蛋白表达(图 4)

Western blot 结果表明: 心肌肥厚组小鼠心肌组织中心肌肥厚相关基因 β -MHC 的蛋白表达量显著高于假手术组 ($P<0.05$), 而心肌肥厚 + SAHA 组小鼠心肌组织中 β -MHC 的蛋白表达量显著低于心肌肥厚组 ($P<0.05$)。



注: β -MHC: β -肌球蛋白重链; GAPDH: 甘油醛-3-磷酸脱氢酶; SAHA: 辛二酰苯胺异羟肟酸。与假手术组比 $^*P<0.05$; 与心肌肥厚组比 $^{\Delta}P<0.05$

图 4 各组小鼠心肌组织中 β -MHC 蛋白表达水平 ($n=6$)

3 讨论

心肌肥厚是多种心脏疾病的病理过程, 是心功能不全或心力衰竭之前的一个重要阶段^[7]。但对该病理过程发生发展的机理并不十分明确, 也无确切有效的治疗方法^[8,9]。近年来, 研究发现表观遗传学参与调控了这一过程, 但表观遗传学研究内容广泛, 其中的组蛋白乙酰化是较为重要的一种翻译后修饰方式^[10,11]。因此, 本课题组通过部分结扎小鼠胸主动脉建立小鼠心肌肥厚模型, 从表观遗传学的角度探讨心肌肥厚的发生机制。

本研究发现心肌肥厚模型小鼠的心肌组织中 HDAC 活性显著增高, 尤其是 HDAC5 的表达水平在心肌肥厚的小鼠心肌组织中显著增高, 这提示 HDAC 可能参与了心肌肥厚(梗阻性或压力超载性)的发生、发展, 这与其他报道相一致^[12,13]。研究发现, 心脏发育相关基因受到组蛋白乙酰化调控, 且组蛋白乙酰化和组蛋白去乙酰化是体内共同维持基因稳态的一对重要修饰方式, 其在体内稳态的维持是保证机体正常生理机能得以进行的基本因素^[14,15]。HDAC 的主要作用是使染色质结构紧密, 不利于基因转录, 而组蛋白乙酰化酶作用正好相反^[16]。本研究发现 HDAC 活性在心肌肥厚小鼠心肌组织中是显著增高的, 而心肌肥厚相关基因 β -MHC 的表达也是显著增高的。生理状态下, 组蛋白去乙酰化是抑制基因的转录表达, 本研究结果发现, HDAC 及其亚型 HDAC5 的表达水平是显著升高的, 理论上应该是抑制 β -MHC 基因的表达(β -MHC 呈低表达), 而我们的结果正好与此相反(β -MHC 呈高表达), 表明该实验结果与生理状态下组蛋白乙酰化修饰规律并不完全相同, 这可能提示 HDAC 在调控小鼠心肌肥厚中并不是直接作用于小鼠心肌肥厚相关基因 β -MHC, 而有可能是通过调控其他基因进而间接导致心肌肥厚相关基因 β -MHC 的过表达, 引发小鼠体内心脏发育相关基因之间的稳态失衡从而导致心肌肥厚的发生。这也与国外报道相类似^[17]。

本课题组前期研究证实, 组蛋白乙酰化酶参与了小鼠心肌肥厚的调控, 并证实组蛋白乙酰化酶抑制剂漆树酸能够部分改善小鼠心肌肥厚^[18]。而在本实验中我们发现 HDAC 抑制剂 SAHA 能够显著降低 HDAC5 过表达, 且小鼠肥大的心肌细胞及心功能在 SAHA 处理组均较心肌肥厚组有显著改善, 这些结果表明组蛋白去乙酰化调控也参与了心肌

肥厚这一病理过程,也提示 HDAC 抑制剂 SAHA 可以作为心肌肥厚防治的候选药物。但是对于 SAHA 能否用于临床防治心肌肥厚尚需更多的相关研究证实。

综上所述,HDAC 参与了小鼠心肌肥厚的发生发展的调控,且 HDAC 抑制剂 SAHA 能够部分逆转小鼠心肌肥厚,然而组蛋白乙酰化酶和 HDAC 均参与了小鼠心肌肥厚的调控,联合运用二者的抑制剂能否完全逆转心肌肥厚,彻底改善心肌肥厚及心功能尚有待进一步研究证实。

参考文献

- [1] Jin H, Hadri L, Palomeque J, et al. KChIP2 attenuates cardiac hypertrophy through regulation of Ito and intracellular calcium signaling. *J Mol Cell Cardiol*, 2010, 48: 1169–1179.
- [2] 王诗才,陈太军,黄美松,等.丹参酮 II A 对自发性高血压大鼠左心室心肌肥厚及心肌细胞凋亡的影响. *中国循环杂志*, 2015, 30: 694–698.
- [3] Wang Y, Miao X, Liu Y, et al. Dysregulation of histone acetyltransferases and deacetylases in cardiovascular diseases. *Oxid Med Cell Longev*, 2014, 2014: 641979.
- [4] Wei JQ, Shehadeh LA, Mitrani JM, et al. Quantitative control of adaptive cardiac hypertrophy by acetyltransferase p300. *Circulation*, 2008, 118: 934–946.
- [5] Whayne TF. Epigenetics in the development, modification, and prevention of cardiovascular disease. *Mol Biol Rep*, 2015, 42: 765–776.
- [6] Toussiroit E, Abbas W, Khan KA, et al. Imbalance between HAT and HDAC activities in the PBMCs of patients with ankylosing spondylitis or rheumatoid arthritis and influence of HDAC inhibitors on TNF alpha production. *PLoS One*, 2013, 8: e70939.
- [7] Heinzel FR, Hohendanner F, Jin G, et al. Myocardial hypertrophy and its role in heart failure with preserved ejection fraction. *J Appl Physiol*, 2015, 119: 1233–1242.
- [8] Hamada M, Ikeda S, Shigematsu Y. Advances in medical treatment of hypertrophic cardiomyopathy. *J Cardiol*, 2014, 64: 1–10.
- [9] 窦梦怡,秦富忠,李保.缺氧诱导因子在心脏重构和心力衰竭中的作用. *中国循环杂志*, 2015, 30: 1125–1127.
- [10] Cao Y, Lu L, Liu M, et al. Impact of epigenetics in the management of cardiovascular disease: a review. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2014, 18: 3097–3104.
- [11] Kang SH, Seok YM, Song MJ, et al. Histone deacetylase inhibition attenuates cardiac hypertrophy and fibrosis through acetylation of mineralocorticoid receptor in spontaneously hypertensive rats. *Mol Pharmacol*, 2015, 87: 782–791.
- [12] Ma J, Luo T, Zeng Z, et al. Histone Deacetylase Inhibitor Phenylbutyrate Exaggerates Heart Failure in Pressure Overloaded Mice independently of HDAC inhibition. *Sci Rep*, 2016, 6: 34036.
- [13] Lee E, Song MJ, Lee HA, et al. Histone deacetylase inhibitor, CG200745, attenuates cardiac hypertrophy and fibrosis in DOCA-induced hypertensive rats. *Korean J Physiol Pharmacol*, 2016, 20: 477–485.
- [14] 彭昌,罗孝美,谢新星,等.探讨组蛋白乙酰化酶对心脏发育基因 NKX2.5 的动态调控作用. *中国循环杂志*, 2015, 30: 1008–1012.
- [15] Eom GH, Nam YS, Oh JG, et al. Regulation of acetylation of histone deacetylase 2 by p300/CBP-associated factor/histone deacetylase 5 in the development of cardiac hypertrophy. *Circ Res*, 2014, 114: 1133–1143.
- [16] Clayton AL, Hazzalin CA, Mahadevan LC. Enhanced histone acetylation and transcription: a dynamic perspective. *Mol Cell*, 2006, 23: 289–296.
- [17] Morales CR, Li DL, Pedrozo Z, et al. Inhibition of class I histone deacetylases blunts cardiac hypertrophy through TSC2-dependent mTOR repression. *Sci Signal*, 2016, 9: ra34.
- [18] Peng C, Zhang W, Zhao W, et al. Alcohol-induced histone H3K9 hyperacetylation and cardiac hypertrophy are reversed by a histone acetylases inhibitor anacardic acid in developing murine hearts. *Biochimie*, 2015, 113: 1–9.

(收稿日期:2016–10–05)

(编辑:王宝茹)

基础与实验研究

胰岛素抵抗及脂联素缺乏对小鼠心肌重构的影响

徐璐, 刘雅娟, 张青, 秦毅, 张娜, 任永康, 杨锐英

摘要

目的: 研究胰岛素抵抗(IR)及脂联素(APN)缺乏对小鼠心肌重构的影响。

方法: 选择 16 只野生 C57 小鼠随机分为对照组和 IR 组, 每组 8 只; 16 只 APN 基因敲除(APNKO) C57 小鼠随机分为 APNKO 组和 APNKO+IR 组, 每组各 8 只。对照组和 APNKO 组给予普通饲料, IR 组和 APNKO+IR 组给予高脂饲料诱导产生 IR。喂养 12 周后取血测定总胆固醇、甘油三酯、空腹血糖和空腹胰岛素水平, 取心脏测量心脏重量和左心室重量。取左心室心肌做苏木素伊红(HE)染色和马松(Masson)染色, 观察各组心肌结构改变及纤维化的程度; 用免疫组化法和蛋白免疫印迹法检测心肌中基质金属蛋白酶-9(MMP-9)和 APN 表达量的差异。

结果: 与对照组比较, IR 组、APNKO 组和 APNKO+IR 组中小鼠的总胆固醇、甘油三酯、空腹血糖和空腹胰岛素、心脏重量和左心室重量均有增加($P<0.05$); HE 染色及 Masson 染色结果显示: 与对照组比较, IR 组、APNKO 组和 APNKO+IR 组中小鼠的心肌肥大程度更高; 免疫组化及蛋白免疫印迹结果显示: 与对照组相比, IR 组、APNKO 组和 APNKO+IR 组中小鼠心肌 APN 表达明显减低, 心肌 MMP-9 表达明显增加($P<0.05$)。

结论: APN 缺乏和 IR 导致心肌重构, 且两者起协同促进作用。

关键词 胰岛素抗药性; 脂联素; 心室重构

Impact of Insulin Resistance and Adiponectin Lacking on Myocardial Remodeling in Experimental Mice

XU Lu, LIU Ya-juan, ZHANG Qing, QIN Yi, ZHANG Na, REN Yong-kang, YANG Rui-ying.

Department of Cardiology, Ningxia Medical University, Yinchuan (750004), Ningxia, China

Corresponding Author: YANG Rui-ying, Email: yangruiying@medmail.com

Abstract

Objective: To explore the impact of insulin resistance (IR) and adiponectin (APN) lacking on myocardial remodeling in experimental mice.

Methods: 16 normal C57 mice were divided into 2 groups: Control group and IR group; in addition, 16 APN gene knockout (APNKO) mice were divided into another 2 groups: APNKO group and APNKO+IR group. $n=8$ in each group. The mice in Control group and APNKO group were fed with normal diet, in IR group and APNKO+IR group were fed with high fat diet to create the IR model. All animals were treated for 12 weeks. Blood levels of total cholesterol (TC), triglycerides (TG), fasting plasma glucose (FPG) and fasting insulin (FINS) were examined; heart weight and left ventricular weight were measured; left ventricular myocardial morphological changes and the degree of fibrosis were assessed by HE staining and Masson staining; protein expressions of myocardial matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and APN were detected by immunohistochemistry and Western blot analysis.

Results: Compared with Control group, IR group, APNKO group and APNKO+IR group showed elevated blood levels of TC, TG, FPG and FINS; increased heart weight and left ventricular weight, all $P<0.05$; IR group, APNKO group and APNKO+IR group presented more myocardial hypertrophy, decreased protein expression of APN and increased protein expression of MMP-9, all $P<0.05$.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81360026)

作者单位: 750004 宁夏回族自治区银川市, 宁夏医科大学 心血管内科(徐璐、张青、张娜、任永康); 宁夏医科大学总医院 心脏中心干部病房(刘雅娟、杨锐英); 宁夏医科大学 基础医学院(秦毅)

作者简介: 徐璐 硕士研究生 主要从事冠心病与代谢综合征的研究 Email: 3051406099@qq.com 通讯作者: 杨锐英 Email: yangruiying@medmail.com.cn

中图分类号: R54 文献标识码: A 文章编号: 1000-3614 (2017) 08-0808-05 doi: 10.3969/j.issn.1000-3614.2017.08.018

Conclusion: IR and APN lacking could incur myocardial remodeling in experimental mice and they had synergistically facilitated effect.

Key words Insulin resistance; Adiponectin; Ventricular remodeling

(Chinese Circulation Journal, 2017,32:808.)

心肌重构是指心脏功能受损, 心腔扩大, 心肌肥厚的代偿过程中, 心肌细胞和细胞外基质发生结构性的变化, 是心力衰竭发生、发展的基本病理机制^[1, 2]。早期干预和针对诱因的预防是治疗心肌重构的关键。以往研究显示, 低脂联素(APN)血症及胰岛素抵抗(IR)有可能是参与左心室心肌重构的重要因素^[3, 4]。体内低表达 APN 并伴 IR 时是否会进一步加重心肌重构, 此类研究鲜有报道。为此, 本研究采用野生 C57 小鼠和同品系 APN 基因敲除(APNKO) C57 小鼠为观察对象, 用高脂饲料诱导 IR, 通过析因分析, 探讨 IR 与 APNKO 对心肌重构的影响。

1 材料与方法

实验动物与试剂: 野生雄性 C57 小鼠 32 只以及同品系 APNKO 纯合子雄性小鼠均购自上海南方模式生物研究中心, 合格证书为 SCXK(沪)2009-0023; 蛋白免疫印迹(Western blot)法相关试剂均购自南京生物科技发展有限公司; 酶联免疫吸附剂测定(ELISA)试剂盒购自美国 R&D 公司; 普通饲料购自宁夏医科大学动物实验中心; 高脂饲料购自美国 Research Diets 公司, 脂肪供能比占 60%。

实验分组:(1) 对照组: 普通饲料喂养的野生小鼠;(2) IR 组: 高脂饲料喂养的野生小鼠, 诱导 IR 模型^[5];(3) APNKO 组: 普通饲料喂养的 APNKO 小鼠;(4) APNKO+IR 组: 高脂饲料喂养的 APNKO 小鼠。每组各 8 只。

标本采集: 喂养 12 周后测体重, 禁食 8 h 后测空腹血糖, 4% 水合氯醛腹腔麻醉后, 眼球取血, 用生化分析仪检测血清总胆固醇、甘油三酯, 用 ELISA 试剂盒测空腹胰岛素。解剖分离心脏后称取心脏重量, 分离左心室后称取左心室重量。

标本处理: 将左心室心肌标本脱水、浸蜡, 用石蜡包埋切片, 分别进行苏木素伊红(HE)染色和马松(Masson)染色。用计算机软件 Image-Pro plus 6.0 测定 HE 染色中心肌细胞横切面的横截面积以观察

心肌细胞肥大的程度, 并且测定 Masson 染色中心肌胶原容积分数和血管周围胶原面积的含量以评价血管周围纤维化程度^[6]。免疫组化测定基质金属蛋白酶-9(MMP-9)及 APN 的分布及表达, 对阳性表达进行光密度半定量分析。Western blot 检测 MMP-9 及 APN 的表达。将心肌组织置于加有蛋白酶抑制剂的细胞裂解液中, 研磨至匀浆, 提取总蛋白。用 BCA 蛋白检测试剂盒测定蛋白浓度。取 50 μg 蛋白匀浆进行凝胶电泳(SDS-PAGE), 转至聚偏二氟乙烯膜上, 对膜敷育一抗 MMP-9、APN 及内参蛋白甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH), 4℃过夜后, 常温孵育二抗, 并用化学发光成像系统(BIO-RAD ChemiDoc XRS+)进行化学曝光, 对目的蛋白及 GAPDH 条带进行灰度值半定量分析。

指标计算: 胰岛素抵抗指数[空腹血糖(mmol/L) × 空腹胰岛素(mmol/L) / 22.5]; 心肌肥厚指标包括心脏重量指数(心脏重量/体重)和左心室重量指数(左心室重量/体重)、心肌细胞胶原容积分数(心肌细胞胶原面积/视野总面积)、心肌细胞胶原面积(不包括血管周围胶原面积)、血管周围胶原面积与管腔面积的比值(心肌内小动脉管腔周围胶原面积/动脉管腔面积)。

统计学处理: 采用 SPSS19.0 统计软件分析, 计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 多组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

四组小鼠观察指标的比较(表 1): 与对照组比, IR 组所有观察指标均增加, 除左心室重量指数外差异均有统计学意义($P < 0.05$); APNKO 组总胆固醇、甘油三酯、空腹血糖、空腹胰岛素、心脏重量、心脏重量指数明显增加, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); APNKO+IR 组所有观察指标均增加, 除总胆固醇外差异均有统计学意义($P < 0.05$)。与 IR 组比, APNKO 组甘油三酯增加, 体重、空腹血糖、空腹胰岛素、胰岛素抵抗指数、心脏重量明显减少

($P<0.05$); APNKO+IR 组甘油三酯、空腹血糖、空腹胰岛素、胰岛素抵抗指数、左心室重量指数明显增加 ($P<0.05$)。与 APNKO 组相比, APNKO+IR 组体重、空腹血糖、空腹胰岛素、胰岛素抵抗指数、心脏重量、左心室重量、左心室重量指数进一步增加, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。

HE 染色结果 (图 1): 对照组小鼠可观察到排列整齐、形态正常、界限清晰的心肌细胞及胞间结构。IR 组和 APNKO 组小鼠心肌细胞胞间结构界限

模糊, 排列紊乱, 心肌细胞肥大。而 APNKO+IR 组心肌细胞核固缩、碎裂、溶解、消失, 胞间界限更加模糊, 心肌细胞排列更加紊乱, 心肌细胞进一步肥大, 并出现炎性细胞浸润。

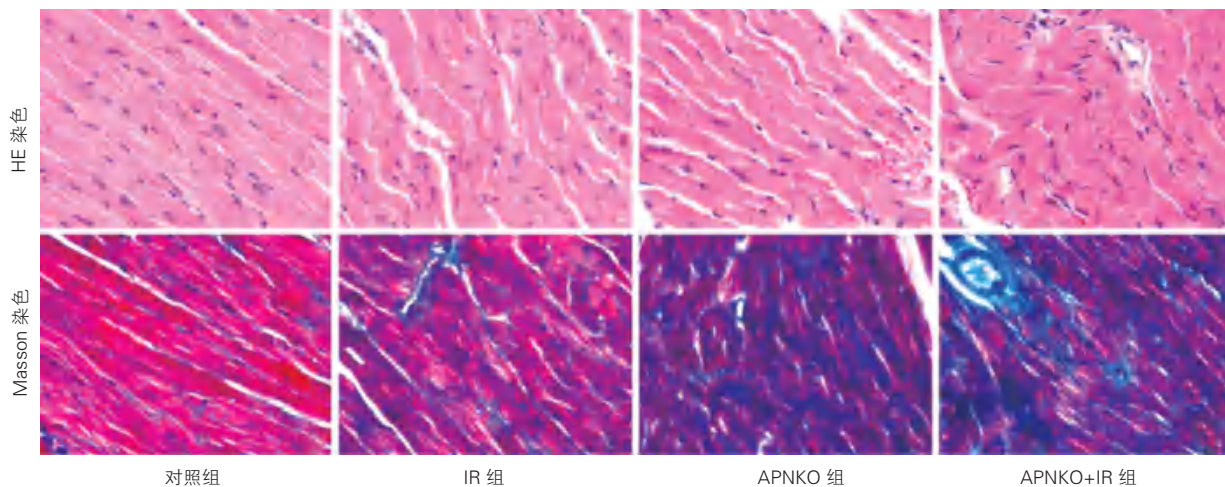
Masson 染色结果 (图 1): 心肌胶原纤维和血管显示蓝色, 心肌细胞显示粉红色, 红细胞显示紫色。与对照组比较, 蓝色心肌纤维在 APNKO 组增加; 与 IR 组和 APNKO 组比较, 蓝色心肌纤维在 APNKO+IR 组进一步增加。

表 1 四组小鼠观察指标的比较 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	体重 (g)	总胆固醇 (mmol/L)	甘油三酯 (mmol/L)	空腹血糖 (mmol/L)	空腹胰岛素 (mmol/L)
对照组	27.75 ± 1.77	6.24 ± 0.71	0.31 ± 0.08	6.60 ± 0.47	9.43 ± 2.04
IR 组	35.85 ± 3.63*	7.95 ± 0.67*	0.45 ± 0.07*	7.97 ± 0.65*	19.38 ± 2.13*
APNKO 组	30.48 ± 2.07 [△]	8.15 ± 0.92*	0.61 ± 0.06* [△]	6.70 ± 1.44* [△]	15.73 ± 1.27* [△]
APNKO+IR 组	35.08 ± 5.58* [▲]	8.45 ± 1.06	0.63 ± 0.10* [△]	10.51 ± 1.23* ^{△▲}	22.32 ± 2.57* ^{△▲}

组别	胰岛素抵抗指数	心脏重量 (g)	左心室重量 (g)	心脏重量指数 (g/g)	左心室重量指数 (g/g)
对照组	2.90 ± 0.57	0.09 ± 0.02	0.07 ± 0.02	33.17 ± 4.27	25.28 ± 6.71
IR 组	6.87 ± 0.99*	0.14 ± 0.02*	0.11 ± 0.02*	39.85 ± 5.14*	29.37 ± 5.15
APNKO 组	4.67 ± 1.03 [△]	0.12 ± 0.01* [△]	0.09 ± 0.01	39.85 ± 5.94*	29.06 ± 4.79
APNKO+IR 组	10.40 ± 1.56* ^{△▲}	0.15 ± 0.02* [▲]	0.12 ± 0.04* [▲]	44.60 ± 6.62*	36.05 ± 6.85* ^{△▲}

注: IR: 胰岛素抵抗; APNKO: 脂联素基因敲除。与对照组比较 * $P<0.05$; 与 IR 组比较[△] $P<0.05$; 与 APNKO 组比较[▲] $P<0.05$



注: IR: 胰岛素抵抗; APNKO: 脂联素基因敲除

图 1 四组小鼠心肌 HE 染色纵切面 ($\times 400$) 和 Masson 染色 ($\times 400$)

四组小鼠心肌组织病理分析比较 (表 2): 与对照组比, IR 组、APNKO 组、APNKO+IR 组横截面积、心肌细胞胶原容积分数、血管周围胶原面积与管腔面积的比值逐渐增加, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。

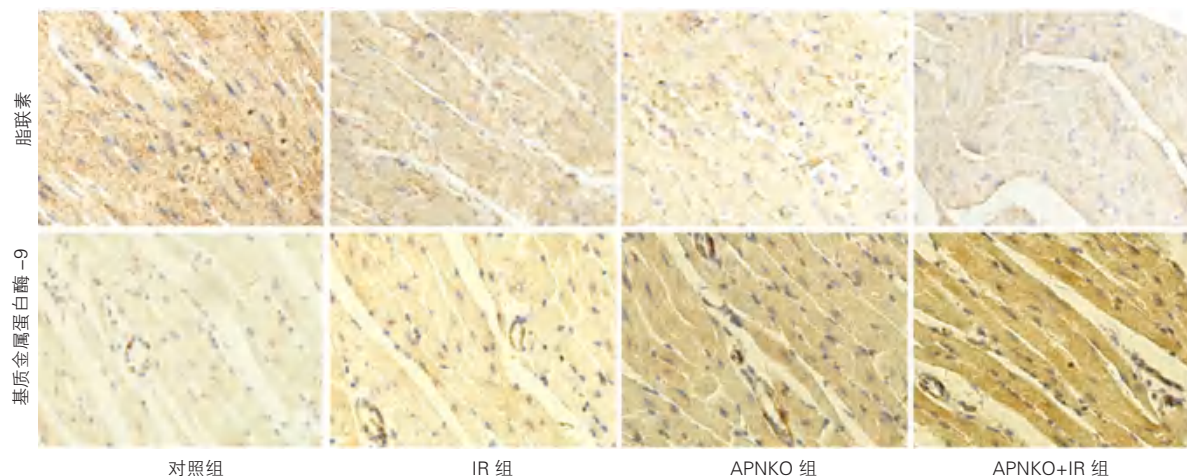
免疫组化检测 (图 2): 与对照组比, IR 组、APNKO 组和 APNKO+IR 组心肌 APN 表达明显减低, 心肌 MMP-9 表达明显增加, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$); 与 IR 组相比, APNKO 组和 APNKO+IR 组心肌 APN 表达明显减低, 心肌 MMP-9 表达明显增加, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$); 与 APNKO

组相比, APNKO+IR 组心肌 APN 表达进一步减低, 心肌 MMP-9 表达进一步增加, 差异均有统计意义 ($P<0.05$)。

表 2 四组小鼠心肌组织病理分析比较 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	横截面积 (μm^2)	胶原容积分数 (%)	血管周围胶原面积 / 管腔面积 (%)
对照组	0.34 ± 0.06	0.62 ± 0.05	0.48 ± 0.08
IR 组	0.77 ± 0.17*	0.79 ± 0.05*	0.66 ± 0.05*
APNKO 组	0.97 ± 0.19* [△]	0.86 ± 0.04* [△]	0.73 ± 0.05* [△]
APNKO+IR 组	1.02 ± 0.41* ^{△▲}	0.91 ± 0.03* ^{△▲}	0.76 ± 0.03* [△]

注: IR: 胰岛素抵抗; APNKO: 脂联素基因敲除。与对照组比较 * $P<0.05$; 与 IR 组比较[△] $P<0.05$; 与 APNKO 组比较[▲] $P<0.05$



注: IR: 胰岛素抵抗; APNKO: 脂联素基因敲除

图 2 四组小鼠心肌脂联素和基质金属蛋白酶-9 免疫组化检测结果 (×400)

四组小鼠心肌脂联素和基质金属蛋白酶-9 蛋白表达的比较 (表 3): 免疫组化和 Western blot 检测可见, 与对照组比 IR 组、APNKO 组和 APNKO+IR 组的 APN 光密度和灰度值依次递减, 而 MMP-9 光密度和灰度值依次递增, 差异均有统计差异 ($P < 0.05$)。

表 3 四组小鼠心肌脂联素和基质金属蛋白酶-9 蛋白表达比较 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	脂联素 (光密度)	基质金属蛋白酶-9 (光密度)	脂联素 (灰度值)	基质金属蛋白酶-9 (灰度值)
对照组	22.49 ± 1.49	0.36 ± 0.15	0.76 ± 0.14	0.10 ± 0.06
IR 组	13.58 ± 2.06*	4.60 ± 1.27*	0.30 ± 0.12*	0.18 ± 0.09
APNKO 组	5.65 ± 1.94* [△]	12.15 ± 1.49* [△]	0.15 ± 0.08* [△]	0.25 ± 0.11*
APNKO+IR 组	3.61 ± 1.36* ^{△△}	22.46 ± 1.37* ^{△△}	0.08 ± 0.06* ^{△△}	0.29 ± 0.23* ^{△△}

注: IR: 胰岛素抵抗; APNKO: 脂联素基因敲除。与对照组比较 * $P < 0.05$; 与 IR 组比较 [△] $P < 0.05$; 与 APNKO 组比较 ^{△△} $P < 0.05$

3 讨论

IR 是正常剂量的胰岛素产生低于正常生物学效应的一种状态, 主要表现为外周组织对葡萄糖的利用障碍和对胰岛素敏感性下降, 尤其是肌肉、肝脏、脂肪组织和下丘脑。IR 又是 2 型糖尿病重要病理基础, 当大量分泌的胰岛素不能克服血糖的升高时, 血糖开始升高, 最终成为 2 型糖尿病。APN 在机体内主要由白色和棕色脂肪细胞合成, 并通过自分泌、旁分泌等多种方式作用于靶器官, 是一种具有胰岛素增敏、抗动脉粥样硬化及抗炎等作用的特异性细胞因子^[7]。MMP-9 是反应心肌重构程度的因子之一, 参与心肌梗死后心肌重构、慢性心力衰竭进展等心血管疾病的发生、发展过程^[8]。相关研究表明: 高血

压患者心肌纤维化, 并存在低 APN 血症^[9]。而心肌重构是糖尿病主要的晚期严重并发症之一, 心肌重构患者空腹胰岛素水平增高^[10], 有研究也发现糖尿病心肌病大鼠左心室心肌组织胶原含量明显高于正常大鼠, 心肌间质发生了纤维化, 左心室发生重构^[11]。

目前的研究中, IR 和 APN 缺乏均是心肌重构的重要影响因素, 但关于 IR 和 APN 对心肌重构的协同作用, 少见报道。本次研究主要通过高脂饲料诱导 APN 基因敲除小鼠的糖脂代谢紊乱, 探讨 IR 对 APN 基因敲除小鼠心肌重构的影响。其结果显示: APN 基因敲除和 IR 均增加心脏重量、左心室重量、心脏重量指数和左心室重量指数的大小。APN 基因敲除和 IR 对总胆固醇、甘油三酯、空腹血糖和空腹胰岛素及心肌重构相关指标有交互效应, 且均为正效应, APN 基因敲除和 IR 对心肌 APN 有交互效应, 但为负效应。产生这一现象的机制可能与 APN 的抗炎及胰岛素增敏作用有关。APN 水平降低, 引起脂肪细胞、内皮细胞、巨噬细胞分泌大量的白细胞介素-1 β 、白细胞介素-6、肿瘤坏死因子- α 等炎性细胞因子, APN 的抗炎作用不能抗衡体内炎症时, 进一步促进炎性细胞因子的释放, 降低胰岛素的敏感性, 加重 IR 的程度。低水平 APN 抑制腺苷酸活化蛋白激酶 AMPK 的激活, 促进成纤维细胞向心肌中迁移, 增加细胞外基质, 从而促进心肌纤维化^[12]。另外低水平的 APN 可以激活外周血管紧张素, 增加心脏负荷, 抑制核转录因子- κ B 的表达, 进而促进心肌与间质细胞的代

偿性肥大及增生^[13]。低水平 APN 降低胰岛素敏感性, 发生 IR 时, 出现一系列糖脂代谢紊乱, 表现为过氧化物激活增值受体被激活, 游离脂肪酸增多, 心肌细胞过度依赖脂肪酸 β 氧化, 葡萄糖利用功能减低, 脂肪酸供能增多, 心肌能量转换率下降, 耗氧量增加, 心肌负荷增加, 从而导致心肌细胞凋亡^[14]。同时, IR 使磷酸化丝氨酸胰岛素受体底物 -1 增加, 蛋白激酶 B 激活, 最终导致心肌细胞凋亡并发生心肌结构和功能的改变^[15]。

综上所述, APN 缺乏及 IR 均可以导致心肌重构, 并且二者在心肌重构的发生过程中起协同促进作用。体内低水平 APN 伴 IR 是心肌重构发生的高危因素。增加体内外源性 APN 的摄入的同时控制 IR 的进展将是延缓心肌重构进程的重要方法。

参考文献

- [1] 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. 慢性心力衰竭诊断治疗指南. 中华心血管病杂志, 2007, 12: 1076-1095.
- [2] 罗涛, 赵达君, 孙阳. 衰老影响心肌梗死后心室重塑机制研究进展. 心脏杂志, 2014, 5: 618-621.
- [3] 孙蕊, 薛万里, 秦毅, 等. 福辛普利对自发性高血压大鼠心室重塑及血清脂联素、心肌脂联素受体 1 表达的影响. 临床心血管病杂志, 2014, 9: 766-769.
- [4] Harmancey R, Lam TN, Lubrano GM, et al. Insulin resistance improves metabolic and contractile efficiency in stressed rat heart. FASEB J, 2012, 26: 3118-3126.
- [5] Sumiyoshi M, Sakanaka M, Kimura Y. Chronic intake of high-fat and high-sucrose diets differentially affects glucose intolerance in mice. J Nutr, 2006, 136: 538-587.
- [6] 张海啸, 史载祥, 贾海忠, 等. 大蒜素通过部分阻抑 TGF- β 1 介导的 Smads 信号改善压力超负荷大鼠心肌反应性纤维化. 中国中西医结合杂志, 2012, 32: 666-670.
- [7] Kuo JZ, Guo X, Klein R, et al. Adiponectin, insulin sensitivity and diabetic retinopathy in latinos with type 2 diabetes. J Clin Endocrinol Metab, 2015, 100: 3348-3355.
- [8] 徐立松, 刘志跃. 基质金属蛋白酶 -9 与心血管疾病. 内蒙古医学杂志, 2009, 9: 1089-1092.
- [9] 孟秋云, 李秀昌, 孙红, 等. 血清脂联素水平与高血压及心肌纤维化的关系. 中国循环杂志, 2010, 2: 111-113.
- [10] 武力勇, 王先梅, 杨丽霞, 等. 心室重塑患者瘦素抵抗与胰岛素抵抗及其相关性研究. 中国循环杂志, 2011, 1: 30-33.
- [11] Huang ZG, Jin Q, Fan M, et al. Myocardial remodeling in diabetic cardiomyopathy associated with cardiac mast cell activation. PLoS One, 2013, 8: e60827.
- [12] Essick EE, Ouchi N, Wilson RM, et al. Adiponectin mediates cardioprotection in oxidative stress-induced cardiac myocyte remodeling. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2011, 301: H984-H993.
- [13] Dadson K, Turdi S, Boo S, et al. Temporal and molecular analyses of cardiac extracellular matrix remodeling following pressure overload in adiponectin deficient mice. PLoS One, 2015, 10: e0121049.
- [14] Wang HJ, Wang W, Cornish KG, et al. Cardiac sympathetic afferent denervation attenuates cardiac remodeling and improves cardiovascular dysfunction in rats with heart failure. Hypertension, 2014, 64: 745-755.
- [15] Li CB, Li XX, Chen YG, et al. Myocardial remodeling in rats with metabolic syndrome: role of Rho-kinase mediated insulin resistance. Acta Biochim Pol, 2012, 59: 249-254.

(收稿时间: 2016-08-25)

(编辑: 漆利萍)

病例报告

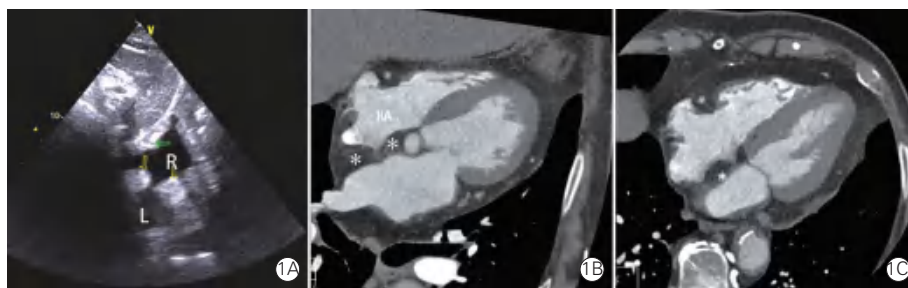
房间隔脂肪瘤样肥厚一例

何业举, 魏榕辰, 顾建军, 武柏林

1 临床资料

患者男性, 82 岁。于 2015-09 外院体检时超声心动图检查意外发现右心房内紧贴其侧后壁和房间隔的条形占位病变, 考虑血栓。外院给予口服华法林 3 mg/d, 间断检测国际标准化比值 1.8~3.0 之间, 2 个月后复查超声心动图, 右心房及房间隔病变无变化。为进一步明确诊断来我院行多层螺旋计算机断层摄影心脏血管造影 (CTA) 检查。患者否认高血压、糖尿病、高脂血症等慢性病史及家族史。血常规、肝肾功能、电解质、心肌酶正常范围。心电图示正常。X 线胸部后前位检查: 主动脉迂曲, 主动脉结少许钙化, 心脏大小、外形无明显变化。我院心脏超声检查报告: 房间隔右心房侧(靠近上下腔静脉入口)可探及大小约 18.6 mm × 12.7 mm、22.4 mm × 13.5 mm 椭圆形稍高回声团, 边缘光整, 内回声均匀, 未对上下腔产生梗阻; 右心房侧后壁可探及大小约 10.9 mm × 7.4 mm 稍高回声, 向腔内凸起; 考虑右心房内占位性病变(考虑脂肪瘤, 图 1A)。与患者外院超声心动图结果相比无明显变化。

我院心脏 CTA 检查方法: Philip 128 排 Brilliance i CT 回顾性心电门控扫描, 扫描范围自主动脉弓上 2 cm 至横膈水平, 团注碘海醇 (350 mgI/ml) 65 ml 及 0.9% 生理盐水 20 ml, 注射速率 5.0 ml/s, 120 Kv, 自动毫安秒, 重建标准心脏四腔心位。CTA 报告: 右心房侧后壁及房间隔弥漫性增厚, 呈均匀脂肪密度 (-60~-80 HU), 致右心房腔形态不规则, 跨卵圆窝呈哑铃状分布, 侧后壁局部向房腔内凸起, 考虑房间隔脂肪瘤样肥厚 (图 1B、图 1C)。



注: 1A: 心脏超声图像剑突下双房切面, 箭头示房间隔右心房侧 (黄色) 及右心房侧后壁 (绿色) 稍高回声团, 轻度向腔内突起, 代表增厚的脂肪。1B 和 1C: 心脏 CTA 图像重建的四腔心位, * 示明显增厚的房间隔脂肪。CTA: 计算机断层摄影心脏血管造影

图 1 房间隔脂肪瘤样肥厚患者心脏超声剑突下双房切面和心脏 CTA 四腔心位图像

2 讨论

房间隔脂肪瘤样肥厚多见于老年肥胖者, 发病率约 1%~8%, 与年龄和体重的增长有关, 为房间隔内脂肪细胞增生弥漫性生长导致房间隔增厚 (多位于卵圆窝旁, 典型的呈哑铃状或漏斗状), 肥厚处直径从 1~2 cm 至 7~8 cm, 无包膜, 常凸向右心房。显微镜下肥厚处为成熟脂肪细胞和胎儿型脂肪细胞, 并常见心肌细胞混杂其间。患者多无任何症状, 常在体检或尸检时意外发现。推断认为在胚胎发育期, 间质细胞残留于心房壁内, 在未知因素的刺激下向脂肪细胞增殖转化。有学者亦把它归为心脏特殊类型脂肪瘤。本病需要与其他心脏原发肿瘤, 比如黏液瘤、横纹肌瘤、纤维瘤相鉴别, 也很容易被误诊为血栓。本例患者因病变向右心房内生长曾误诊为右心房血栓, 甚至口服华法林治疗, 2 个月后复查无变化。房间隔脂肪瘤样肥厚可导致局部心肌运动受累, 影响心脏传导系统, 出现各种心律失常, 如室上性心动过速。病变较小时, 患者常无任何症状。病变范围过大可压迫心脏或引起静脉回流受阻, 患者可出现运动耐力下降, 甚至心功能不全。大部分患者随诊即可, 当肿瘤引起心房壁增厚并最终导致心腔狭窄、心功能不全时应考虑手术切除。

房间隔脂肪瘤样肥厚常见影像学检查手段有超声心动图、心脏 CTA 及磁共振成像 (MRI)。螺旋 CT 加心电门控技术扫描以良好的空间分辨率及多方位三位重建模式, 可以清晰展示肿瘤与邻近结构空间的关系。CT 同时具有高密度分辨率, 通过测量 CT 值对脂肪组织的识别具有极高特异性, 故对脂肪瘤有定性价值。因该病多为冠状动脉 CTA 检查中意外发现, 从事影像科医生有必要提高对这种良性病变的认识, 做出恰当诊断能减少患者不必要的检查和过度治疗。超声心动图方便易行, 常作为首选检查手段。MRI 对脂肪瘤的定性诊断和鉴别诊断具有重要的价值。但是检查时间长, 需要患者反复配合闭气, 部分患者不能耐受检查, 能开展的医院也不是很普遍。本例患者因年龄大不能配合闭气, 反复尝试家属辅助均未能完成 MRI 扫描。

(收稿日期: 2016-08-25)

(编辑: 曹洪红)

作者单位: 050000 河北省石家庄市, 河北医科大学第二医院 影像科 (何业举、魏榕辰、武柏林), 心外科 (顾建军)

作者简介: 何业举 技师 学士 主要从事心血管影像学诊断 Email: 497041152@qq.com 通讯作者: 武柏林 Email: wubailin@163.com

中图分类号: R541 文献标识码: A 文章编号: 1000-3614 (2017) 08-0813-01 doi: 10.3969/j.issn.1000-3614.2017.08.019

临床研究系列讲座

哪些关键要素让你在临床研究这条路上走得更远

蒋立新

这些年,很多年轻医生经常问我一个问题:究竟怎样才能做出高质量的临床研究,发表高水平的临床学术论文?其实这也是我常常思考的问题。

我于 1989 年大学本科毕业后开始从事临床工作直至 1998 年,这 10 年间我是一个 Pure doctor(纯粹的临床医生),整天摸爬滚打在临床第一线,常笑谈“生下来就是为了做医生的”,因为我非常喜欢这个职业。1999 年的一个偶然机遇,我有幸被英国牛津大学邀请进入大规模多中心临床研究领域,成为我事业方向上最重要的转折点,引领我踏上了更加宽广坚实的远行之路,也使我成长为一个兼临床实践者与临床研究者于一身的“杂合体”,有机会思考这两个角色的异同。

1 方法正确是前提

由于患者和病历资料既是临床实践又是临床研究的主体,因此临床医生常常习惯性地认为从事临床实践和临床研究两者方法论一样,无需进行特别学习,这是目前较为普遍的认识误区。

事实上,两者方法论迥异。临床研究是一个专门的学科,有其特定的方法论和知识体系。就像做医生之前需要进行系统的学习与训练一样,要想成为一名高水平的临床研究者,也须学习掌握这一领域的基本理论和方法,而遗憾的是在我国医学教育与学科建设中这一领域几乎是空白,也是造成我国临床研究人才和专业化研究团队稀缺的重要原因之一。正是由于人才匮乏、方法论不正确、合作网络体系不健全和缺乏系统布局与规划,我国临床研究的整体水平不仅远远落后于英美等发达国家,甚至与巴西、南非等国家也存在较大差距。

2 喜欢、热爱是动力

作为一名临床医生,每一天都会因为给患者带来实实在在的帮助而内心充满喜悦和大小不同的成就感,这与从事临床研究的感受有天壤之别。临床研究过程常常枯燥乏味、繁琐漫长,失败的次数远多于成功,因此如果不是发自内心的喜欢、热爱这个领域,遇到挫折就气馁甚至放弃,则难以在这条道路上走得很远。

我十分理解医生由于晋升压力,不得已做研究、写论文的现实,但我想说的是,倘若您有机会能理解临床研究的重要意义,遇到好的领路人,掌握正确的方法论,坚韧不拔地努力付出,一定会领略到临床研究无穷的魅力和它带给你的巨大成就感。

3 使命、责任是鞭策

我国人口众多,随着老龄化及不健康的生活方式问题日益突出,以心血管疾病为主的慢性病负担呈爆发式增长,应对这一严峻形势挑战的重要措施包括:(1)不断研发适宜国人的新药物和器械等,并加以验证和使用。(2)使用经过本土大规模多中心循证证据证明的安全、有效的药物和器械等。(3)在日常诊疗实践中规范应用有翔实证据支持的药物或器械等。然而,现实情况是,目前我国临床常用的心血管等慢性病治疗药物的长期疗效和安全性结果几乎全部照搬国外,对那些适合高鼻子、蓝眼睛“洋人”的药物和剂量是否也适合国人知之甚少,因此需要大量我国自主的大规模高质量临床研究。

作为一名医务工作者,我们不仅承担救死扶伤、治病救人的使命,也同样应承担临床研究的使命,需要根植于国内真实的医疗环境,围绕如何提供安全、有效可负担得起诊疗产品,着重解决改善医疗质量、降低成本、高覆盖率和公平性等国家重大需求展开研究布局,为政府政策和行业指南制定提供可靠证据。肩负这样使命与责任就会鞭策我们在临床研究道路上砥砺前行。

4 格局大小是关键

我经常被同行问到:如何才能在像《柳叶刀》这类国际一流的杂志上发表论文?我的看法是,取决于你的研究问题是否既是我国又是全球面临的重大公共卫生问题,研究是否有重大的创新性发现,研究是不是会影响国际规则的制定等。

什么样的研究符合这些特点?“大规模、多中心、以临床结局为评价终点的随机、对照临床试验”就是其中最重要的一类。一个高质量这样的研究,就会为国际国内指南制定提供 IA 类证据,“一锤定音”地决定这个问题的方向,全球范围内就会加以采纳和应用,广泛影响诊疗模式。另一大类就是高质量前瞻性大规模人群队列研究,这样的研究往往为解决重大公共卫生问题提供重要证据。

由此可以看出,只有大格局的临床研究才可能解决重大问题,才可能发表有重要影响力的文章,才可能在临床研究这个大的国际舞台上占有一席之地。

5 经受磨砺是必然

你也许会觉得从事临床研究太“高、大、上”,难以企及。正所谓“万丈高楼平地起”,其实,从某种意义上说,临床

作者单位:100037 北京市,中国医学科学院 北京协和医学院 国家心血管病中心 阜外医院 国家心血管病临床研究中心
心血管疾病国家重点实验室 中国牛津国际医学研究中心

作者简介:蒋立新 主任医师 博士 主要研究方向为大规模多中心临床试验和医疗结果评价研究、大规模人群前瞻性队列研究

Email:jiangli@fwoxford.org

中图分类号:R54 文献标识码:C 文章编号:1000-3614(2017)08-0814-02 doi:10.3969/j.issn.1000-3614.2017.04.020

研究既困难又简单。即使没有任何资源、团队和经费的前提下,任何一个临床实践者都可以开展临床研究,因为你日常工作的对象就是垂手可得的 research 材料,只要方法正确,就可以完成一个高质量的临床研究。

大多数人在临床研究这一领域的成长过程都需要经历从小到大,从低到高,从稚嫩到成熟的过程。关键是要做好准备,这一过程往往需要数年甚至数十年的磨砺积累,需要耐得住寂寞,需要坚韧不拔,需要持之以恒。

6 敬畏原始数据是根本

临床实践过程中如果出现医疗差错,往往只对某个患者造成损害,但是临床研究,尤其是影响指南制定的大规模多中心临床研究,结果将直接影响我国乃至全球数以千万计患者的健康和生命,因此确保研究数据真实可靠是根本,是不可触碰的红线。

我在国内牵头实施大规模多中心临床研究时常常会有如履薄冰的感觉,唯恐因为疏忽而造成对千万患者健康的损害,后果之严重远远超过一个单一的医疗差错和事故。因此我们团队构建了 340 个 SOP、超过 152 万字的临床研究质量管理体系,全方位覆盖临床研究运行的各个方面,保证了研

究质量管理的统一性、稳定性和持续性,确保各个研究项目均可以被可靠、高效地实施。

7 广泛合作是基础

“不拒众流,方为江海”。临床研究往往涉及对某类疾病的预后和转归进行深入研究,所需要的样本量一般都比较,常常需要国内乃至国际数以百计、千计的研究机构共同合作参与。因此要自始至终重视合作网络的搭建及持续维护。

本着开放共赢的宗旨,共享研究数据和研究成果是持续合作的基础。我们与全国数百家医院、英国牛津大学和美国耶鲁大学等一路同行长达近 20 年,东西方临床研究者思想相互碰撞与交融,真知灼见与灵感创新相互激发与辉映,我们欣赏和分享彼此的追求和价值观,合作真诚而快乐,是一项项研究不断取得成功不可或缺的要素。

总之,掌握正确的方法,喜欢热爱临床研究,有强烈的使命感,耐得住寂寞,不断磨砺自己,你一定可以成长为临床研究的“大家”,为健康医疗领域做出更大贡献。

(收稿日期:2017-05-02)

(编辑:宁田海)

读者·作者·编者

欢迎关注《中国循环杂志》微信和微博

《中国循环杂志》是一本有着近 30 年历史的,以专业、严谨、务实态度,刊登高质量、高水准学术论文的学术期刊。

《中国循环杂志》是一个标记中国心血管病研究进展的符号,一个让医者捕捉更多心血管专业信息的平台。

与时俱进,也是一本有品质的学术期刊所必备的特征之一。随着互联网在媒介传播领域的渗透,当前已是一个信息大爆炸的时代,微信和微博等各种新颖、快速、高效的信息传播手段席卷而来。为了不让发表在《中国循环杂志》上的优秀论文束之高阁、尘封暗室,让更多的医生了解全球心血管领域的最新进展,杂志的官方新浪微博(中国循环杂志官方微博 V)、官方微信(微信号:zhongguoxunhuanzazhi)也陆续上线。

学术应该是透亮的,像阳光那样,照亮大多数人的生活。希望广大医生和科研工作者关注《中国循环杂志》的微博和微信,共同努力推动中国的学术发展,改善公众健康。



官方微信



官方微博

《中国循环杂志》编辑部

综述

冠状动脉微循环障碍检测方法进展

盛欣成综述, 何奔审校

摘要 冠状动脉再灌注后微循环障碍极大地影响着急性心肌梗死患者的预后。目前, 临床上有多种检测微循环障碍的方法。心脏磁共振成像是非侵入性评估心肌微循环功能的金标准, 但其在临床上的普及不及心肌声学造影。冠状动脉 TIMI 血流分级、校正 TIMI 计帧法(CTFC)、心肌灌注分级(TMPG)、心肌呈色分级(MBG)及 TIMI 心肌灌注帧数计算(TMPFC)能直接通过造影图像评估微循环功能。冠状动脉微循环阻力指数等技术方法利用特殊导丝对微循环功能进行检测。本文将对上述方法进行总结归纳, 为临床工作者选择微循环障碍评估手段提供参考。

关键词 综述; 冠状血管; 检测方法

半个多世纪前所发明的冠状动脉造影(CAG), 使得冠心病患者能通过极为简便的方式检测冠状动脉狭窄的程度^[1]。而随着 CAG 的普及, 相关学者也逐渐发现, 一定数量的患者存在着自身症状与 CAG 结论之间的不匹配。Kemp^[2]于 1973 年总结了这一现象, 并提出了心脏 X 综合征。10 余年后, Cannon 等^[3]又在此基础上提出了微血管性心绞痛, 并成为了 X 综合征一种合理的病理生理解释。经过 30 余年的发展, 尤其是大量经皮冠状动脉介入治疗(PCI)术后冠状动脉慢血流现象(CSFP)的发现, 微循环障碍(Microvascular dysfunction)逐渐为医疗界所认知。相关临床研究也已经证实, CSFP 现象极大地影响急性心肌梗死(AMI)患者的预后^[4], 这也使得临床工作者对微循环障碍这一概念越来越重视^[5]。

微循环障碍: 冠状动脉循环独立于肺循环与体循环之外, 是心脏新陈代谢的必要元素。主要包括位于心外膜的冠状动脉静脉以及位于心肌内的微循环血管^[6]。其中微循环的血管细小(直径 <150 μm)且分布广泛, 是心肌进行氧气以及其他相关物质交换的重要场所, 对于维持心脏的正常运作起着至关重要的作用^[7]。微循环障碍与传统意义上的冠心病不同, 指的是在微循环层面上出现的血液流通障碍并影响心肌供血。微循环障碍常出现于 AMI 急诊再灌注治疗后, 并已被证实与在院死亡率、恶性心律失常、心肌梗死后心力衰竭等近期并发症^[8]以及左心室心肌重构和功能恢复等长期预后^[9]息息相关。目前临床上有多种技术手段可以评估微循环功能, 可分为侵入性方法及非侵入性方法, 其中的侵入性方法往往建立在 CAG 的基础上。

1 非侵入性方法

1.1 放射性核素心肌灌注显像

放射性核素心肌灌注显像是核医学的一个分支, 利用同位素衰变以及相关放射性物质的接收技术, 可用来对心肌灌注情况进行评估。目前临床上主要应用以^{99m}Tc-甲氧基异丁基异腈(^{99m}Tc-MIBI)作为放射性显影剂, 的单光子发射计算机断层扫描(SPECT)。^{99m}Tc-MIBI 首次通过心肌时可被摄取

60%~70%, 并稳定滞留于心肌细胞内 5 h 以上。通过心肌摄取^{99m}Tc-MIBI 后的不同显影状态, 可区分正常心肌、缺血心肌以及坏死心肌^[10]。放射性核素心肌灌注显像在临床上主要应用于对心肌功能的评估, 若结合正常造影结果并排除其他相关心脏损伤, 则可以判断为微循环功能的异常。一项针对存在心绞痛表现及心电图异常的 X 综合征患者研究显示, 其中 63.9% 经 SPECT 检查后表现为心肌缺血, 25.0% 表现为心肌坏死^[11]。然而该方法分辨率较差, 往往只能给出一个定性的大概判断, 而且操作较为繁琐, 再加上放射性物质对人体造成的一定损害, 现临床上应用较少。

目前, 临床上也有结合基于葡萄糖类似物¹⁸F-脱氧葡萄糖(FDG)的正电子发射计算机断层显像(PET)以及磁共振成像(MRI)或计算机断层摄影术(CT)来判定心脏功能的 PET-CT 和 PET-MRI, 能较 SPECT 更为清晰地反映心肌状态, 但由于类似技术受血糖影响大, 且价格居高不下, 目前在临床上尚未推广应用^[12, 13]。

1.2 心肌声学造影

心脏多普勒超声是观察心脏结构功能常用的手段。近年来, 声学造影剂的应用使得利用超声方式观测心肌灌注成为可能, 该法被称为心肌声学造影(MCE)^[14]。声学造影剂是包含着微量气体的气泡, 又称为微气泡。微气泡与红细胞在人体内有相似的流体动力学特性, 并可在高能超声波的作用下破裂并被相关超声设备观测记录。在被静脉注射进入血液循环后, 微气泡在循环系统甚至毛细血管层面的分布与红细胞类似, 这也就意味着超声所记录的区域可以认为是红细胞流经的区域, 即该区域存在血流供应。对于完成心肌再灌注 1~2 天心肌充血恢复正常的患者, 就可以通过 MCE 检测心脏血流供应以及无复流区域的面积, 该区域可认为是实际心肌梗死面积^[15]。心脏超声具有极高的空间分辨率(轴向 <1 mm)以及时间分辨率(30~120 Hz)^[16], 这意味着相关图像十分清晰, 加上心脏超声操作较为便捷, 检查所需成本较低, MCE 现已成为临床常用的判断心肌梗死后心脏恢复情况的手段。但是

作者单位: 200127 上海市, 上海交通大学医学院附属仁济医院 心内科

作者简介: 盛欣成 博士研究生 主要研究方向为心血管病 Email: iamcc25@163.com 通讯作者: 何奔 Email: heben@medmail.com.cn

中图分类号: R541.4 文献标识码: A 文章编号: 1000-3614 (2017) 08-816-04 doi:10.3969/j.issn.1000-3614.2017.08.021

MCE 评估的是心肌的灌注水平,并非纯粹针对微循环功能,冠状动脉大血管病变、心肌坏死等均会使得心肌灌注水平下降,不能统一归纳为微循环障碍,而且 MCE 的结论基于操作人员的主观判断,可能存在的误差也较大。

1.3 心脏磁共振成像(CMR)

MRI 是将物体置于高强度磁场下,基于原子层面的磁物理性质观测反应物体形态的技术,现在广泛应用于临床诊断领域。CMR 可用于观测心脏结构功能,而通过心肌不同时期对于造影剂的摄取更可以反应心肌微循环功能。在磁共振造影剂首过灌注时,心肌微循环障碍区域显示为低密度的灌注缺损区;10~15 min 后,造影剂在心肌梗死区域滞留,微循环障碍区域显示为位于高信号区中的低信号区,称为微循环阻塞区;首过灌注时显示的灌注缺损区往往较微循环阻塞区大,而微循环阻塞区域中的心肌则被认为是不可逆性微循环障碍^[17, 18]。一项针对 X 综合征的研究显示,患病组有 56% 的患者经 CMR 检测出微循环障碍(对照组为 0%, $P=0.004$),并且此结果与有创检查所得的冠状动脉血流储备(CFR)呈现一致性^[19]。CMR 拥有着较 MCE 更高的分辨率,对于造影剂吸收两个阶段的观测也使得它在对微循环功能的判定上较其他技术更为准确,对于坏死心肌以及微循环障碍的心肌能够较好地分辨。同时,CMR 检测图像可以留存,较之 MCE 更具有客观性。然而,起搏器等金属植入物均为 MRI 类检查的禁忌,而且 CMR 检查耗时较长,人工及经济成本较高,这些均制约了 CMR 的临床推广,不能作为一项常规检查。

1.4 心电图 T 波分析程序

2016 年, Sara 等^[20]通过对超过 1500 名参与人员心电图图像的数据化处理及分析,建立了通过计算机数据化心电图来判断患者微循环障碍的 T 波分析程序。该方法以 QRS 波起点为原点,建立坐标系后通过综合 V₆ 导联 T 波面积(坐标系中 T 波与 X 轴所包围区域的面积)、II 导联 Y 中心 T1 高度(坐标系中 T 波前 25% 长度所对应区域 T 波面积重心的 Y 坐标值)以及 II 导联 T 波高低峰差值(T 波高峰与 T 波结束时高度的差值)三个因素,对男性患者微循环障碍的敏感性和特异性分别为 74.6% 与 73.9%,对于女性患者微循环障碍的敏感性和特异性分别为 65.9% 与 67.7%(以 CFR=2.5 为金标准)。T 波分析程序利用的是心电图图像,而心电图在临床上简单易得,成本较低,故而该方法可以视作心脏微循环障碍的初筛手段。然而由于该方法计算过程复杂,单靠肉眼难以获取相关参数,必须将心电图图像经过计算机处理数据化后方能执行,大大增加了该方法临床实践的难度。而且该法无法应用于心房颤动、左右束支传导阻滞、起搏器植入以及服用抗心律失常药物的患者,文章也尚未提及该法能否应用于 ST 段抬高型心肌梗死患者的心电图,这一点无疑大大降低了该程序临床应用的普适性。此法刚推出不久,具体的推广及应用还需时间来证明。

2 侵入性方法

PCI 术后微循环障碍对 AMI 患者预后影响的明确使得临床工作者对于 PCI 术后微循环功能极为重视,而几乎所有的非侵入性微循环检测手段均需要 PCI 术完成一段时间后进行。侵入性检测手段曾因其为有创检测手段而不被重视,但对于本就需要行 PCI 术的 AMI 患者而言,侵入性检测所带来的损

伤也得以最小化,故而直接通过导管技术测量微循环功能对需行 PCI 术的 AMI 患者可能是更好的选择。而对于侵入性方法而言,又可分为无需应用特殊导丝的 CAG 图像分级手段以及应用特殊导丝的微循环障碍测量手段。

2.1 无需应用特殊导丝的 CAG 图像分级手段

造影 TIMI 血流分级与校正 TIMI 帧法(CTFC):TIMI 现已广泛运用于 CAG,通过造影剂能否达到血管远端以及达到血管远端的速度,可将心肌灌注由劣至优分为 0~III 级。在此基础上有人提出了 CTFC,CTFC 是通过造影剂图像时间轴的量化,以数帧的方式将主观判断的 TIMI 分级以数字化的方式客观呈现^[21]。Sun 等^[22]的临床试验显示,相较于大血管的病变,CTFC 对于微循环血管的病变更为敏感,可以用来反映微循环功能。也有研究显示 CTFC 与冠状动脉血流储备分数(FFR)均异常的患者较两者均正常的患者有着明显不良的预后(心血管事件率 31.8% vs 7.6%, $P=0.004$),提示 CTFC 对于患者预后具有一定的评估作用^[23]。可纵然 TIMI 分级与 CTFC 可以反应心肌微循环功能,仍不能改变这两者着眼于冠状动脉大血管的本质,临床上也确实存在 TIMI 血流与微循环功能不匹配的病例^[24],这也提示我们仍需要针对于微循环血管的评判手段。

心肌灌注分级(TMPG)、心肌呈色分级(MBG)与 TIMI 心肌灌注帧数计算(TMPFC):TMPG 着眼于 CAG 图像中的微循环血管分布区域,通过造影剂能否达到并通过微循环区域以及其显影出现与消失的速度,可将心肌灌注由劣至优分为 0~III 级^[25]。对于急诊 PCI 术后的 AMI 患者,TMPG 与左心室功能及重构情况相一致,可以反应心肌存活率,并且与患者预后密切相关^[26]。MBG 同样着眼于微循环血管分布区域,与 TMPG 不同的是,MBG 关注的是心肌在造影剂通过时所产生的颜色变化程度,依次将心肌灌注由劣至优分为 0~III 级。与 TMPG 类似,MBG 也能反应 AMI 患者 PCI 后的预后^[27, 28],最新的研究显示,MBG 与 AMI 后的左心室射血分数甚至是室性心律失常发生率相关($P<0.001$)^[29]。

传统造影分级手段 TMPG 与 MBG 可以让患者在进行 CAG 的同时评估心脏灌注水平,但类似方法都是基于术者对于造影剂的主观判断,误差较大,而且所得出的结论均为半定量,无法对微循环功能给予一个准确的判定。何奔教授及其团队在参考了 CTFC 概念后,于 TMPG 的基础上提出了 TMPFC 这一微循环评判标准。该方法通过对造影剂图像时间轴的具体量化,以数帧的方式将主观判断的 TMPG 以数字化的方式客观呈现^[30]。经过临床试验后证明对于反应心肌微循环功能有着比 TMPG 更为优秀的敏感性[敏感性 85.3%,特异性相似(75%)],目前正在临床上推广应用^[9,31]。

2.2 应用特殊导丝的微循环障碍测量手段

CFR 与 FFR:CFR 指的是冠状动脉最大程度扩张时的血流量与静息状态血流量的比值,一般将 2.5 定义为 CFR 的临界值^[20]。CFR 实际体现的是血流通过冠状动脉循环的能力,无论是大血管病变还是微循环血管病变都将影响 CFR 的测量值,CAG 结果正常结合 CFR 过低即可判断患者为微循环障碍^[32]。CFR 的测量受多种因素影响,可重复性较差。

FFR 指的是心肌最大充血状态下的狭窄远端冠状动脉内平均压(Pd)与冠状动脉口部主动脉平均压(Pa)的比值,目前被认为是判断冠状动脉大血管病变的金标准^[33]。FFR 测定的

前提是药物诱使心肌微血管扩张,使得微循环阻力最小化。这对于存在微循环障碍的患者难以达成,故而在存在微血管病变时,FFR 会被高估^[34]。由此可从一个侧面体现微循环障碍。

CFR 与 FFR 的发明本意并非用来体现微循环功能,但由于两者皆是冠状动脉循环系统的实际测量值,均受到微循环功能这一冠状动脉循环中重要因素的影响,故微循环障碍也能通过 CFR 和 FFR 加以体现。

冠状动脉微循环阻力指数(IMR):2003 年 Fearon 等^[35]提出的 IMR,定义为冠状动脉远端压力与最大充血状态下平均传导时间的乘积。IMR 是一个通过冠状动脉压力测量导丝以及温度测量导丝相结合计算微循环功能的定量指标^[36]。进一步的研究显示,相较于 CTFC、TMPG、CFR 等传统微循环评估方法,IMR 与 AMI 患者的肌酸激酶峰值($R=0.61$, $P=0.0005$)以及 3 个月后室壁运动($R=0.59$, $P=0.002$)的相关性最强,并且能反应左心室功能恢复程度($R=0.50$, $P<0.01$)^[37]。最新的研究也显示,AMI 患者 6 个月后 CMR 检测所示的左心室重构与非重构组间,PCI 术后 IMR 值存在明显区别(73.95 vs 27.23, $P=0.0293$)^[38]。这些都表明 IMR 是一个更优的微循环功能指标。而 IMR 对于 AMI 患者的死亡率以及再住院率等长期预后的相关性也分别在两项研究中得以证实^[39-41]。然而由于 IMR 的测量需要应用可以测定温度及压力的导丝,其测定价格一直居高不下,在临床上的应用也较少。

各项微循环参数的综合应用:CFR、FFR 以及 IMR 均是利用特殊导丝进行的检测。一项最新的研究,对超过 300 例患者(663 根血管)同时进行了这三种检测,并以此来判断患者预后。研究发现 CFR 与 FFR 之间存在一定相关性($r=0.201$, $P<0.001$),而同时拥有高 IMR 值与低 CFR 值的患者具有最差的临床预后($P=0.008$)^[42]。这一结果提示我们可以结合 CFR、FFR 和 IMR 三者共同来判断患者预后,这可在不提高检测费用的同时增加微循环功能评估的准确性。

参考文献

- Bruschke AVG, Sheldon WC, Shirey EK, et al. A half century of selective coronary arteriography. *J Am Coll Cardiol*, 2009, 54: 2139-2144.
- Kemp HG. Left ventricular function in patients with angina syndrome and normal coronary arteriograms. *J Am Coll Cardiol*, 1973, 32: 375-376.
- Cannon RO, Dilsizian V, Correa R, et al. Chronic deterioration in left ventricular function in patients with microvascular angina. *J Am Coll Cardiol*, 1991, 17: A28.
- Lerman A, Holmes DR, Herrmann J, et al. Microcirculatory dysfunction in ST-elevation myocardial infarction: cause, consequence, or both? The opinions expressed in this article are not necessarily those of the Editors of the European Heart Journal or of the European Society of Cardiology. *Euro Heart J*, 2007, 28: 788-797.
- 诸葛瑞琪,周荣,倪新海.冠状动脉微血管功能障碍临床诊疗新进展. *中国循环杂志*, 2016, 31: 307-310.
- Huo Y, Kassab GS. Scaling laws of coronary circulation in health and disease. *J Biomech*, 2016, 49: 2531-2539.
- 郭欣,刘海涛,李飞.心肌微循环障碍评估方法的研究进展. *心脏杂志*, 2017, 29: 112-115.
- Galasso G, Schiekofers S, Danna C, et al. No-reflow phenomenon. *Angiology*, 2014, 65: 180-189.
- He B, Ding S, Qiao Z, et al. Influence of microvascular dysfunction on regional myocardial deformation post-acute myocardial infarction: insights from a novel angiographic index for assessing myocardial tissue-level reperfusion. *Int J Cardiovasc Imaging*, 2016, 32: 711-719.
- 顾虹.放射性核素^{99m}Tc-MIBI心肌灌注显像与冠状动脉造影不一致时的临床分析. *中国实用医药*, 2016, 11: 63-64.
- 李如意,王学超,胡玉敬,等.心脏 X 综合征患者核素心肌灌注显像特点及性别差异. *临床荟萃*, 2015, 30: 1347-1349.
- 何亚男,于珊珊,李萍,等.¹⁸F-FDG PET/CT 在心肌显像中的应用进展. *医学影像学杂志*, 2016, 26: 2308-2311.
- Acampa W, Gaemperli O, Gimelli A, et al. Role of risk stratification by SPECT, PET, and hybrid imaging in guiding management of stable patients with ischaemic heart disease: expert panel of the EANM cardiovascular committee and EACVI. *Euro Heart J Cardiovasc Imaging*, 2015, 16: 1289-1298.
- Dwivedi G, Janardhanan R, Hayat SA, et al. Relationship between myocardial perfusion with myocardial contrast echocardiography and function early after acute myocardial infarction for the prediction of late recovery of function. *Int J Cardiol*, 2010, 140: 169-174.
- Lepper W, Belcik T, Wei K, et al. Myocardial contrast echocardiography. *Circulation*, 2004, 109: 3132-3135.
- Kaul S. Myocardial contrast echocardiography: 15 years of research and development. *Circulation*, 1997, 96: 3745-3760.
- Bucciarelli DC, Wu E, Lee DC, et al. Contrast-enhanced cardiac magnetic resonance in the evaluation of myocardial infarction and myocardial viability in patients with ischemic heart disease. *Curr Probl Cardiol*, 2006, 31: 128-168.
- Bernhard LG, Michel FR, Sylvie AA, et al. Prognostic value of myocardial viability by delayed-enhanced magnetic resonance in patients with coronary artery disease and low ejection fraction. *J Am Coll Cardiol*, 2012, 59: 825-835.
- Lanza GA, Buffon A, Sestito A, et al. Relation between stress-induced myocardial perfusion defects on cardiovascular magnetic resonance and coronary microvascular dysfunction in patients with cardiac syndrome X. *J Am Coll Cardiol*, 2008, 51: 466-472.
- Sara JD, Sugrue A, Kremen V, et al. Electrocardiographic predictors of coronary microvascular dysfunction in patients with non-obstructive coronary artery disease: Utility of a novel T wave analysis program. *Int J Cardiol*, 2016, 203: 601-606.
- Vijayalakshmi K. P3314 Corrected TIMI frame count (cTFC): applicability in modern digital catheter laboratories when angiograms are acquired at different frame rates. *Euro Heart J*, 2003, 24: 632.
- Sun H, Fukumoto Y, Ito A, et al. Coronary microvascular dysfunction in patients with microvascular angina: analysis by TIMI frame count. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2005, 46: 622-626.
- Ali ME, Goksel A, Ozlem E, et al. The prognostic value of combined fractional flow reserve and TIMI frame count measurements in patients with stable angina pectoris and acute coronary syndrome. *J Int Cardiol*, 2010, 23: 421-428.
- Christian RHC, Italo P, Giovanni LM, et al. When TIMI-3 flow is not enough - oedema, hemorrhage and microvascular dysfunction; insights from Multi-Modality Cardiac Imaging after STEMI. *Heart Lung Circ*, 2011, 20: 244-246.
- Choi SY, Tahk SJ, Lian ZX, et al. Comparison of TIMI myocardial

- perfusion grade with coronary flow reserve for prediction of recovery of LV function and LV remodeling in acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*, 2002, 39: 301.
- [26] Wong D, Das R, Leung M, et al. TIMI myocardial perfusion grade predicts myocardial salvage index: insights from a cardiac MRI study. *Heart Lung Circ*, 2011, 20: S151-S152.
- [27] Goto K, Takagi A, Arai K, et al. Noninvasive assessment of myocardial damage after acute anterior myocardial infarction: myocardial blush grade in conjunction with analysis of coronary flow pattern. *Heart Vessels*, 2010, 25: 299-305.
- [28] Hoffmann R, Haager P, Lepper W, et al. Relation of coronary flow pattern to myocardial blush grade in patients with first acute myocardial infarction. *Heart*, 2003, 89: 1147.
- [29] Şahan E, Karamanlioglu M, Şahan S, et al. Myocardial blush grade can predict the early ventricular arrhythmias after acute coronary syndrome. *Indian Heart J*, 2016, 68: 375.
- [30] Ding S, Pu J, Qiao ZQ et al. TIMI myocardial perfusion frame count: a new method to assess myocardial perfusion and its predictive value for short-term prognosis. *Catheter Cardiovasc Interv*, 2010, 75: 722-732.
- [31] Ge H, Ding S, An D, et al. Frame counting improves the assessment of post-reperfusion microvascular patency by TIMI myocardial perfusion grade: Evidence from cardiac magnetic resonance imaging. *Int J Cardiol*, 2016, 203: 360-366.
- [32] Pauly DF, Johnson BD, Anderson RD, et al. In women with symptoms of cardiac ischemia, nonobstructive coronary arteries, and microvascular dysfunction, angiotensin-converting enzyme inhibition is associated with improved microvascular function: A double-blind randomized study from the National Heart, Lung and Blood Institute Women's Ischemia Syndrome Evaluation (WISE). *Am Heart J*, 2011, 162: 678-684.
- [33] Pijls NH, De BB, Peels K, et al. Measurement of fractional flow reserve to assess the functional severity of coronary-artery stenoses. *N Engl J Med*, 1996, 334: 1703-1708.
- [34] 冠状动脉血流储备分数临床应用专家共识专家组. 冠状动脉血流储备分数临床应用专家共识. *中华心血管病杂志*, 2016, 44: 292-297.
- [35] Fearon WF, Balsam LB, Farouque HMO, et al. Novel index for invasively assessing the coronary microcirculation. *Circulation*, 2003, 107: 3129-3132.
- [36] 李萌玫, 邵一兵. 冠心病患者测定微循环阻力指数的临床意义. *中国循环杂志*, 2016, 31: 1022-1024.
- [37] Fearon WF, Shah M, Ng M, et al. Predictive value of the index of microcirculatory resistance in patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*, 2008, 51: 560-565.
- [38] Sirol M, Cescau A, Sideris G, et al. Index of microcirculatory resistance as an early predictive factor of LV remodeling after reperfused myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*, 2015, 65: A1934.
- [39] Yong A, Loh J, McGeoch R, et al. Prognostic value of the index of microcirculatory resistance after primary percutaneous coronary intervention. *J Am Coll Cardiol*, 2012, 59: E48.
- [40] Fearon WF, Low AF, Yong AS, et al. Prognostic value of the Index of microcirculatory resistance measured after primary percutaneous coronary intervention. *Circulation*, 2013, 127: 2436-2441.
- [41] 王世超, 刘玉昊, 武越, 等. 微循环阻力指数对冠状动脉完全闭塞病变择期行介入治疗的预测价值及影响因素. *中国循环杂志*, 2016, 31: 332-336.
- [42] Lee JM, Jung JH, Hwang D, et al. Coronary flowreserve and microcirculatory resistance in patients with intermediate coronary stenosis. *J Am Coll Cardiol*, 2016, 67: 1158-1169.

(收稿日期: 2017-03-06)

(编辑: 梅平)

综述

待孕育高血压患者血压管理及降压药物选择

杨宁综述, 李玉明审校

摘要 越来越多的育龄人群罹患高血压。女性待孕阶段的血压管理策略与妊娠期一样, 要兼顾母胎安全, 尽可能的将血压控制在合理范围内, 同时要权衡降压药物对胎儿的潜在风险。甲基多巴、拉贝洛尔、硝苯地平可用于女性待孕阶段。待育男性高血压患者服用降压药物时, 要考虑到降压药物对男性性功能和精子质量等潜在的不利影响。药物是否会影响生殖功能和胎儿的发育, 与个体差异、药物的使用时间、使用的剂量等多种因素有关。临床医生应针对患者的具体情况实施个体化治疗。对于处于待孕阶段的高血压患者, 积极的改善生活方式、增加体育运动、控制饮食和体重、戒烟等尤为重要。

关键词 孕前保健; 高血压

随着生活水平的提高、生活节奏的加快, 高血压有年轻化的趋势, 越来越多的育龄人群罹患高血压。近年来, 因生育政策的调整, 我国越来越多的高龄人群加入生育二胎行列。研究表明, 约有 1% 的孕妇在妊娠之前即患有高血压^[1]。高血压患者在待孕这一特殊时期, 如何评估和管理血压, 是需要深入探讨的问题。既要考虑到降压本身, 也要兼顾降压药物对于生殖能力和胎儿发育的影响。

1 女性高血压患者血压管理及降压药物选择

女性高血压患者的评估和监测: 女性高血压患者待孕阶段需要进行全面的、综合的评估。包括年龄、血压水平、靶器官损害、合并其他疾病等情况。排除因内分泌、肾脏等问题引起的继发性高血压。如血压水平过高或药物难以控制, 或者是出现了严重的心、脑、肾脏等靶器官的损伤, 应综合评估其妊娠的风险。对于妊娠风险过高的患者, 建议暂缓妊娠。慢性高血压患者是发生子痫前期的既定高危人群^[2]。在待孕阶段及妊娠期, 应动态监测血压、尿蛋白, 必要时进行 24 h 尿蛋白的监测。

生活方式干预: 在待孕阶段, 无论是否采用降压药物控制血压, 均需进行生活方式的干预。非药物措施(限盐、富钾膳食、定期的有氧运动、情绪放松)是妊娠合并高血压最安全和有效的治疗方法^[3]。待孕女性应进行定期的有氧运动, 增加蔬菜、水果的摄取和低脂饮食, 减重并维持体重指数(BMI) < 25 kg/m²。在待孕阶段和整个孕期, 均需控制盐的摄入。中国高血压防治指南建议盐摄入量 < 6 g/d^[3]。2013 年欧洲高血压学会(ESH)/欧洲心脏病学会(ESC)高血压指南建议每天盐摄入量约为 5~6 g^[4]。这与世界卫生组织(WHO)的建议是一致的。考虑到长期形成的食盐摄入习惯很难改变, 女性高血压患者在待孕期间, 可考虑食用低钠代用盐, 在尽可能不改变口感的前提下减少氯化钠摄入。

待孕女性高血压患者的血压管理策略: 待孕阶段的血压

管理策略与妊娠期一致^[5]。要兼顾母胎安全, 尽可能的将血压控制在合理范围内, 同时要权衡降压药物对胎儿的潜在风险。轻度高血压患者, 尤其是年轻女性, 建议采用膳食和运动方式来控制血压。如收缩压(SBP) > 150~160 mmHg (1 mmHg=0.133 kPa) 或舒张压(DBP) > 100~110 mmHg, 即应开始降压药物治疗^[4, 5]。

建议提前 6 个月将降压药物换成对胎儿影响小的类型。应使用与孕期一致的药物将血压降到达标值。这一方面便于高血压患者在妊娠之后可以序贯性给药, 便于孕期血压的控制; 另一方面, 也避免在未能检测出妊娠的早孕阶段, 应用具有致畸及其他不利作用的降压药物。如积极的生活方式干预和药物治疗后, 仍不能使血压降至 150/100 mmHg 以下, 或轻度高血压伴有蛋白尿者, 应暂缓妊娠^[6]。

待孕女性高血压患者的降压药物选择: 鉴于药物对妊娠潜在风险, 孕期使用降压药物往往容易引起不同的争论。从 20 世纪 70 年代至今一直缺乏有针对性的的大型随机对照临床研究, 缺乏足够的循证医学证据。2015 中国妊娠高血压指南推荐可用于妊娠期的口服降压药物有拉贝洛尔、硝苯地平, 静脉用药包括拉贝洛尔、酚妥拉明^[7]。

甲基多巴: 甲基多巴是首选的一线药物。在长期、广泛的临床实践中, 鲜有甲基多巴引起母婴不良结局的报道^[8, 9]。各国指南中均推荐甲基多巴作为妊娠期伴有高血压首选治疗药物^[1, 10]。甲基多巴在肝内产生代谢产物 α -甲基去甲肾上腺素, 可阻断中枢 α 受体, 从而抑制对心、肾和周围血管的交感冲动输出, 与此同时, 周围血管阻力及血浆肾素活性也降低, 血压因而下降。甲基多巴最常见的不良反应是体位性低血压、水钠潴留所致的下肢水肿。甲基多巴能通过胎盘, 动物实验未见对妊娠有不良作用。

拉贝洛尔: 拉贝洛尔是治疗妊娠期高血压的一线药物。拉贝洛尔为 α 及 β 肾上腺素能受体阻滞剂, 可选择性阻滞

基金项目: 天津市科技重大专项(15ZXJZSY00010); 天津市科技计划项目(16ZXMJSY00130)

作者单位: 300162 天津市, 武警后勤学院附属医院 武警部队心血管病研究所

作者简介: 杨宁 博士 副主任医师 主要从事高血压冠心病临床研究 Email: yangningzxdp@sina.com 通讯作者: 李玉明 Email: cardiolab@live.com

中图分类号: R54 文献标识码: A 文章编号: 1000-3614 (2017) 08-0820-03 doi: 10.3969/j.issn.1000-3614.2017.08.022

$\alpha 1$ 受体, 对 β 受体的作用无选择性。其降压效果主要是通过阻断 $\alpha 1$ 受体引起外周血管扩张阻力下降所致, 还可能与兴奋外周血管平滑肌 $\beta 2$ 受体从而舒张血管有关。拉贝洛尔阻断 α 受体和 β 受体的相对强度, 口服时为 1:3, 静脉注射时为 1:7。孕期总体终端消除半衰期为 (1.70 ± 0.27) h, 短于报道的非孕期半衰期 (6~8 h)^[10]。因此, 按照常规 12 h 给药不能维持有效的血药浓度, 给药间隔应为 6~8 h。拉贝洛尔降压强度与剂量相关, 用量应强调个体化^[10]。拉贝洛尔在降压时不降低子宫胎盘及胎儿血流^[11]。与单纯 β 受体阻滞剂不同, 拉贝洛尔能降低卧位血压和周围血管阻力, 一般不降低心输出量或每搏心输出量。需注意体位性低血压。拉贝洛尔约 95% 经肝脏代谢, 合并肝病孕妇慎用。另外, 它具有轻度的支气管平滑肌收缩作用, 禁用于支气管哮喘患者。

硝苯地平: 硝苯地平在一些指南中被推荐为治疗轻、中度妊娠期高血压的一线药物(甲基多巴)替代药和二线药物^[1,4]。也被作为急性严重的妊娠期高血压的二线和三线药物。硝苯地平有长效剂型(缓释)、短效剂型(立即释放), 短效硝苯地平有引起孕妇低血压发作和胎儿宫内窘迫的报道^[12, 13]。即便是在紧急情况下, 也要避免孕妇使用舌下含服硝苯地平来降低血压^[12]。长效的硝苯地平(缓释)被一些指南作为二线药物推荐用于轻、中度妊娠期高血压^[14]。

利尿剂: 氢氯噻嗪、阿米洛利、氯噻酮等利尿剂, 因减少血容量, 有增加高凝状态的潜在风险, 不建议常规用于妊娠女性^[15]。健康妊娠的状态下, 机体的血容量是增加的。然而, 伴有高血压的孕妇血容量却无增加, 甚至较孕前减少^[1]。使用利尿剂会使得这一部分孕妇的血容量进一步减少。在众多指南, 尤其是 2013 年 ESH/ESC 高血压管理指南中, 利尿剂被视为孕期相对禁忌或可能对母婴结局有害的药物^[4, 14]。英国国家卫生与临床优化研究所妊娠期高血压指南建议利尿剂, 尤其是氯噻嗪, 不能用于妊娠期高血压患者, 因其会增加先天性畸形和新生儿并发症如血小板减少、血糖过低、电解质紊乱等^[1]。与上述不同, 美国国家心肺血液研究所推荐利尿剂与 β 受体阻滞剂、钙拮抗剂(CCB)一起作为替代甲基多巴和拉贝洛尔的二线药物^[16]。总体而言, 国际上总的趋势还是不建议孕期使用利尿剂。

血管紧张素转换酶抑制剂(ACEI)和血管紧张素 II 受体拮抗剂(ARB)因有明确的致畸风险禁用于孕期, 尤其禁用于孕中期和孕晚期^[4]。ACEI 和 ARB 会导致流产、死胎、胎儿肾衰竭、先天性畸形等不良事件^[17]。这与其引起胎儿低血压、降低胎儿肾脏血流量有关; 也与其抑制胎儿肾素-血管紧张素系统, 进而损害胎儿泌尿系发育有关。2013 年 ESH/ESC 高血压管理指南指出, 直接的肾素抑制剂对妊娠女性具有与 ACEI、ARB- 样的危害^[4]。

对于急性、重度妊娠高血压药物选择, 大多数指南均推荐静脉用拉贝洛尔作为一线用药^[4, 14]。研究表明, 急性、重度妊娠高血压患者应用静脉拉贝洛尔和胍苯吡啶后, 未发现子宫动脉血流的变化^[18]。加拿大妇产科学会推荐口服硝苯地平、静脉用胍苯吡啶、静脉用拉贝洛尔作为治疗严重妊娠高血压的药物^[19]。考虑到胍苯吡啶会引起孕妇突然的低血压, 进而造成胎儿宫内窘迫, 一些指南把静脉用胍苯吡啶作为妊娠高血压的禁忌药物^[14, 20]。欧洲心脏学会妊娠期心血管疾病管理指南推荐静脉用拉贝洛尔或口服甲基多巴及口服长效硝

苯地平作为严重妊娠高血压的一线用药, 静脉用胍苯吡啶不再作为用药选择。2013ESH/ESC 指南推荐在急诊情况下静脉给予拉贝洛尔或硝普钠^[4]。总体看来, 目前的趋势是以拉贝洛尔取代胍苯吡啶作为重度妊娠高血压的推荐药物^[21]。

2 降压药物对男性生殖功能的影响

待育男性高血压患者服用降压药物时, 要考虑到降压药物对男性性功能和精子质量等潜在的不利影响。男性性功能与神经、血管、激素和心理因素等多种因素有关。机体氧化应激水平升高, 可导致内皮功能不良和一氧化氮(NO)生物利用度下降, 这是形成勃起功能障碍(ED)的关键性环节。高血压患者是 ED 的易患人群, 长期的高血压会导致内皮细胞损伤和动脉、小动脉功能减低, 阴茎海绵体的血窦不能正常的扩张^[22]。已有的研究显示, 利尿剂和多数 β 受体阻滞剂对男性性功能和精子质量具有潜在的不利影响。而 CCB 和 ACEI/ARB 对男性性功能的影响可能相对较小。

利尿剂和 β 受体阻滞剂有引发 ED 的风险。醛固酮受体拮抗剂会导致严重的器官不良反应, 在男性会引起 ED、乳房发育、乳腺痛。研究发现服用依普利酮患者 ED 的发生率为 3%^[23]。螺内酯具有抗雄激素活性的作用, 通过抑制 C17 羟基化、减少睾酮生成; 促进睾酮转换为雌激素; 减少二氢睾酮与雄激素受体的结合, 会引起性欲和勃起功能的降低。ED 是高血压患者服用噻嗪类利尿剂的一个公认的不良反^[24]。利尿剂引起 ED 的机制目前尚不明确, 推测可能与其直接或通过儿茶酚胺作用于阴茎血管平滑肌有关。在一项纳入 1 007 例男性高血压患者的研究中, 给予不同类别的 β 受体阻滞剂, 发生 ED 的几率分别为阿替洛尔 28.8%、比索洛尔 26.3%、卡维地洛 17.3%、奈比洛尔 19.0%、美托洛尔 3.4%^[25]。这项研究中奈比洛尔的结果与其它研究不一致, 通常认为奈比洛尔可以促进 NO 的释放, 具有较低的 ED 发生概率^[26, 27]。一项双盲、随机对照研究比较了冠状动脉旁路移植术患者服用美托洛尔(50 mg/d)和奈必洛尔(5 mg/d)对男性性功能的影响, 给药持续 14 周, 结果发现美托洛尔使勃起功能指数明显下降, 而奈必洛尔对男性性功能则无不利影响。 β 受体阻滞剂, 尤其是非选择性的 β 受体阻滞剂, 引起 ED 的机制与它们直接作用于阴茎血管平滑肌细胞, 引起血管收缩、减少阴茎海绵体的血流灌注有关。另有研究显示, 美托洛尔、阿替洛尔以及普萘洛尔等 β 受体阻滞剂可以降低睾酮水平, 从而导致 ED。 β 受体阻滞剂的这些效应是可逆的。

评估 CCB 和 ACEI/ARB 对男性性功能影响的资料很有限。研究发现, 氨氯地平、依那普利、氯沙坦可改善性功能^[28-30]。但结果不完全一致。一项多中心、双盲对照研究纳入了 431 例患有轻中度高血压的男性, 平均年龄 55.3 岁。这些患者被随机给予氨氯地平(5~10 mg/d)或依那普利(10~40 mg/d), 随访 1 年后发现, 这两种药物均可改善性功能, 两者之间差异无统计学意义^[30]。另一项研究纳入 1 000 例无 ED 的男性, 随访 5 年, 结果发现 CCB 发生 ED 的相对危险度(RR)为 1.6(95% CI: 1.0~2.4); ARB 的 RR 为 2.2(95% CI: 1.0~4.7); 非选择性 β 受体阻滞剂 RR 为 1.7(95% CI: 0.9~3.2); 利尿剂 RR 为 1.3(95% CI: 0.7~2.4), 而 ACEI、选择性 β 受体阻滞剂均不会增加 ED 风险^[28]。ACEI 对于 ED 的改善作用与其增加组织灌注有关。从短期来看, ACEI 可通过释放 NO、舒张血管来改善阴茎海绵体灌注; 从长期效应来说, ACEI/ARB

可以通过阻断血管紧张素 II 来发挥作用, 血管紧张素 II 可以促进阴茎血管胶原组织增殖、使血管腔变窄。

部分降压药物对精子和受精有潜在风险^[31]。在体外培养实验中, 螺内酯、普纳洛尔可引起人精子活动度和浓度下降。动物实验发现, β 受体阻滞剂可能具有毒杀精子的作用, 对性腺的发育也有影响。普纳洛尔可以使大鼠的附睾、前列腺和精囊重量变小, 睾酮水平降低, 还会引起精母细胞和精子细胞数量减少, 精子密度和活动度降低。目前未发现服用 CCB 对人受精率和生育力有影响。人类睾丸特异性 ACE 对受精至关重要, 但 ACEI 对精子的作用还不能最终明确。

药物是否会影响到生殖功能和胎儿的发育, 与个体差异、药物的使用时间、使用的剂量等多种因素有关。临床医生应针对患者的具体情况实施个体化治疗。对于待孕育阶段的高血压患者, 积极的改善生活方式、增加体育运动、控制饮食和体重、戒烟等尤为重要。

参考文献

- [1] Al Khaja KA, Sequeira RP, Alkhaja AK, et al. Drug treatment of hypertension in pregnancy: a critical review of adult guideline recommendations. *J Hypertens*, 2014, 32: 454-463.
- [2] 李玉明, 杨宁. 重视妊娠高血压子痫前期的早期筛查. *中华心血管病杂志*, 2016, 44: 193-196.
- [3] 中国高血压防治指南修订委员会. 中国高血压防治指南 2010. *中华高血压杂志*, 2011, 19: 701-743.
- [4] ESH/ESC Task Force for the management of arterial hypertension. 2013 practice guidelines for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and the European Society of Cardiology (ESC): ESH/ESC Task Force for the management of arterial hypertension. *J Hypertens*, 2013, 31: 1925-1938.
- [5] Lenfant C, National Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. Working group report on high blood pressure in pregnancy. *J Clin Hypertens (Greenwich)*, 2001, 3: 75-88.
- [6] 中国医师协会高血压专业委员会. 妊娠期高血压疾病血压管理中国专家共识. *中华高血压杂志*, 2012, 20: 1023-1027.
- [7] 中华医学会妇产科学分会妊娠期高血压疾病学组. 妊娠期高血压疾病诊治指南 (2015). *中华妇产科杂志*, 2015, 50: 721-728.
- [8] Schlembach D, Homuth V, Dechend R. Treating hypertension in pregnancy. *Curr Hypertens Rep*, 2015, 17: 63.
- [9] Folic MM, Jankovic SM, Varjacic MR, et al. Effects of methyldopa and nifedipine on uteroplacental and fetal hemodynamics in gestational hypertension. *Hypertens Pregnancy*, 2012, 31: 31-39.
- [10] Easterling TR. Pharmacological management of hypertension in pregnancy. *Semin Perinatol*, 2014, 38: 487-95.
- [11] Clark SM, Dunn HE, Hankins GD. A review of oral labetalol and nifedipine in mild to moderate hypertension in pregnancy. *Semin Perinatol*, 2015, 39: 548-555.
- [12] Impey I. Severe hypotension and fetal distress following sublingual administration of nifedipine to a patient with severe pregnancy induced hypertension at 33 weeks. *Br J Obstet Gynaecol*, 1993, 100: 959-961.
- [13] Shekhar S, Gupta N, Kirubakaran R, et al. Oral nifedipine versus intravenous labetalol for severe hypertension during pregnancy: a systematic review and meta-analysis. *BJOG*, 2016, 123: 40-47.
- [14] Sanchez RA, Ayala M, Baglivo H, et al. Latin American guidelines on hypertension. Latin American Expert Group. *J Hypertens*, 2009, 27: 905-922.
- [15] Al-Balas M, Bozzo P, Einarson A, et al. Use of diuretics during pregnancy. *Can Fam Physician*, 2009, 55: 44-45.
- [16] Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, et al. Seventh report of the Joint National Committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure. *Hypertension*, 2003, 42: 1206-1252.
- [17] Cooper WO, Hernandez-Diaz S, Arbogast PG, et al. Major congenital malformations after first-trimester exposure to ACE inhibitors. *N Eng J Med*, 2006, 354: 2443-2451.
- [18] Baggio MR, Martin WP, Calderon AC, et al. Changes in fetal and maternal Doppler parameter observed during acute severe hypertension treatment with hydralazine or labetalol: a randomized control trial. *Ultrasound Med Biol*, 2011, 37: 53-58.
- [19] Society of Obstetricians and Gynecologists of Canada (SOGC). SOGC clinical practice guidelines. diagnosis, evaluation, and management of the hypertensive disorders of pregnancy. *J Obstet Gynaecol Can*, 2008, 30 (Suppl. 1): S1-S49.
- [20] Chiang CE, Wang TD, Li YH, et al. 2010 guidelines of the Taiwan Society of Cardiology for the management of hypertension. *J Formos Med Assoc*, 2010, 109: 740-773.
- [21] Moroz LA, Simpson LL, Rochelson B. Management of severe hypertension in pregnancy. *Semin Perinatol*, 2016, 40: 112-118.
- [22] Vlachopoulos C, Aznaouridis K, Ioakeimidis N, et al. Arterial function and intima-media thickness in hypertensive patients with erectile dysfunction. *J Hypertens*, 2008, 26: 1829-1836.
- [23] Parthasarathy HK, Menard J, White WB, et al. A double-blind, randomized study comparing the antihypertensive effect of eplerenone and spironolactone in patients with hypertension and evidence of primary aldosteronism. *J Hypertens*, 2011, 29: 980-990.
- [24] Handler J. Managing erectile dysfunction in hypertensive patients. *J Clin Hypertens (Greenwich)*, 2011, 13: 450-454.
- [25] Cordero A, Bertomeu-Martinez V, Mazon P, et al. Erectile dysfunction in highrisk hypertensive patients treated with beta-blockade agents. *Cardiovasc Ther*, 2010, 28: 15-22.
- [26] Sharp RP, Gales BJ. Nebivolol versus other beta blockers in patients with hypertension and erectile dysfunction. *Ther Adv Urol*, 2017, 9: 59-63.
- [27] Aldemir M, Keleş İ, Karalar M, et al. Nebivolol compared with metoprolol for erectile function in males undergoing coronary artery bypass graft. *Anatol J Cardiol*, 2016, 16: 131-136.
- [28] Shiri R, Koskimmaki J, Hakkinen J, et al. Cardiovascular drug use and the incidence of erectile dysfunction. *Int J Impot Res*, 2007, 19: 208-212.
- [29] Chen Y, Cui S, Lin H, et al. Losartan improves erectile dysfunction in diabetic patients: a clinical trial. *Int J Impot Res*, 2012, 24: 217-220.
- [30] Omvik P, Thaulow E, Herland OB, et al. Double-blind, parallel, comparative study on quality of life during treatment with amlodipine or enalapril in mild or moderate hypertensive patients: a multicentre study. *J Hypertens*, 1993, 11: 103-113.
- [31] Samplaski MK, Nangia AK. Adverse effects of common medications on male fertility. *Nat Rev Urol*, 2015, 12: 401-413.

(收稿日期: 2016-12-08)

(编辑: 宁田海)

综述

心脏交感神经功能检测方法的评价

宋麒麟综述, 蒋桔泉审校

摘要 心脏神经系统对心脏电、生理活动具有重要的调节作用, 心脏神经系统功能异常与心律失常、心肌梗死等心血管疾病密切相关。心脏交感神经是心脏自主神经系统的重要组成部分, 交感神经功能测定对于研究心血管病发病机制、指导相关心脏疾病治疗具有重要意义。本文从心率变异性、心脏交感神经成像、免疫组织化学神经纤维染色、心脏局部血浆去甲肾上腺素含量测定、QT 间期及复极离散度等方面介绍目前心脏交感神经功能评价的常用方法。

关键词 综述; 交感神经系统; 心脏功能试验

越来越多的研究发现, 许多心脏疾病伴有心脏自主神经功能的改变, 心脏神经功能也影响着高血压、心力衰竭、心肌缺血、心律失常等心血管疾病的发生、发展及预后^[1, 2]。因此进行心脏神经功能检测, 对早期评估、诊断相关心血管疾病都有非常重要的意义。心脏是神经分布较为密集的器官, 受交感和副交感双重神经支配, 两者既相互拮抗又相互协调, 共同调节维持心脏正常功能状态。交感神经过度激活可以触发恶性心律失常, 而副交感神经调控会产生一种保护作用, 相对而言, 交感神经的功能状态对于心脏功能影响更为显著^[3]。心脏交感神经的功能, 一定程度上可以反映出心脏的生理功能状态, 因而交感神经功能评价对于临床应用具有重要的参考价值。本文对目前常用的心脏交感神经功能评价方法进行综述。

1 心脏交感神经的分布及其生理功能

心脏由丰富的自主神经支配, 包括交感神经和副交感神经, 心脏交感神经在心内和心外均有分布。心外的交感神经包括节前纤维、颈上神经节、颈中神经节、星状神经节和胸神经节等神经元及其发出支配心脏的节后纤维。心内交感神经是指心外脂肪垫和心壁内的神经节丛及相关神经末梢。心内交感神经沿着出入心脏的大血管根部走行至神经节丛, 经过心房, 跨过房室沟后由基底到心尖方向分布在心室肌表面心外膜层, 随后伴行冠状动脉穿过心室壁并支配心内膜。其中右侧交感神经主要支配心脏右侧和心室前壁, 尤以右心房特别是窦房结为主, 左侧交感神经主要支配心脏左侧和心室后壁。交感神经从心房到心室、从心底到心尖密度呈梯度改变, 心房的交感神经支配最密集, 心室也有一定的交感神经支配^[3-5]。

心脏交感神经可通过释放神经递质作用于心肌细胞, 改变心肌细胞膜离子通道的通透性发挥正性肌力、正性频率及正性传导的作用^[3]。心脏交感神经分布不均匀, 其支配功能也不对称^[6], 刺激左侧星状神经节或切除右侧星状神经节, 使心肌收缩增强、血压升高、QT 间期延长、T 波振幅增加, 室性心律失常的阈值降低; 刺激右侧星状神经节或切除左侧

星状神经节, 可以发挥其增加窦性心率的作用, T 波反向振幅增大, 但无明显 QT 间期变化, 使得室性心律失常的阈值降低。心脏的交感神经支配也并非完全不对称, Brandys 等^[7]研究发现, 刺激右侧交感神经, 79% 的实验犬同时出现心室收缩加强、心率加快; 刺激左侧交感神经, 62% 的实验犬表现为心室收缩加强, 但无心率加快现象发生。而在房室结传导阻滞, 刺激两侧交感神经都能够诱导室性心动过速(室速)、心室颤动的发生^[8]。

2 心脏交感神经功能的检测方法

2.1 心率变异性

心率变异性(HRV)是指心脏正常搏动过程中连续 R-R 间期之间的微小差异。交感神经兴奋增加心率、降低心率变异性, 副交感神经兴奋降低心率、增加心率变异性, 因此 HRV 能够评价窦房结水平的自主神经调控功能, 从而反映心脏自主神经整体平衡状态^[9]。HRV 分析包括时域分析、频域分析和非线性分析。目前常用的是时域分析和频域分析。时域分析是用统计学及几何学方法对窦性心律 R-R 间期的变异性进行测定分析。其常用指标中均值标准差(SDANN)、均值标准差指数(SDNNI)能够反映交感神经张力大小, 值越小, 表明交感神经的张力越大, 总体标准差(SDNN)则反映交感神经和副交感神经之间的平衡性; 频域分析法是对由窦性心律的 R-R 间期时间序列信号所形成的频谱曲线进行分析。其中低频功率(LF)主要反映交感神经张力, 其值升高说明交感神经活性增强, 也有认为是交感神经和副交感神经的共同作用, 但交感神经起主导作用; 低频高频功率比值(LF/HF)主要反映交感神经和副交感神经的平衡状态, 极低频功率(VLF)的意义尚不清楚。

时域分析法能够显示交感、副交感神经总体平衡情况, 但不能区分两者张力的大小; 频域分析法将心率变异信号作为随机信号处理而忽略了时间上的关联性。同时, 心率变异性在临床上不易获得平稳检测数据, 因而在评估心脏神经功能方面仍有不足^[10]。但是, HRV 作为目前临床上最常用、相对简便的心脏自主神经功能的检测方法, 在评估心脏神经功

作者单位 430070 湖北省武汉市, 中国人民解放军武汉总医院 心血管内科

作者简介: 宋麒麟 硕士研究生 主要从事心血管疾病临床研究 Email:604857106@qq.com 通讯作者: 蒋桔泉 Email:2258290767@qq.com

中图分类号: R541 文献标识码: A 文章编号: 1000-3614 (2017) 08-0823-04 doi:10.3969/j.issn.1000-3614.2017.08.023

能及辅助心血管疾病的诊断治疗中仍具有一定的实用价值^[11]。

2.2 心脏交感神经成像

心脏交感神经末梢释放去甲肾上腺素、神经肽 Y、三磷酸腺苷等神经递质。作为神经递质的类似物,¹²³I-间碘苄胍(¹²³I-MIBG)和¹¹C 标记间羟基麻黄素(¹¹C-HED)等在神经内的代谢过程等同于去甲肾上腺素,因而可用单光子发射计算机断层成像术(SPECT)在体内进行放射性示踪剂扫描,使心脏交感神经的分布情况得以显示,进而定量评估心脏交感神经的功能状态。

Ieda 等^[12]运用心脏交感神经成像技术发现造模 6 个月后糖尿病组大鼠左心室近心底部和近心尖部¹¹C-HED 的滞留量较非糖尿病组大鼠分别下降 9% 和 33%,表明糖尿病可对心脏交感神经产生损伤。Wong 等^[13]通过¹¹C-HED 检测心脏神经密度和完整性,发现特发性帕金森患者心脏存在广泛的失神经支配,并且在近心尖部左心室壁最严重;国内学者采用¹²³I-MIBG 心肌显像方法评估帕金森病、多系统萎缩及特发性震颤患者的心脏交感神经功能,结果显示帕金森病、多系统萎缩患者均可发生心脏交感神经功能损害,且帕金森病患者交感神经功能损害更显著,而特发性震颤患者心脏交感神经功能无明显改变^[14]。国外学者在一项前瞻性研究中通过¹²³I-MIBG 成像发现与不伴心力衰竭的糖尿病患者相比,伴有心力衰竭的糖尿病患者具有更高心脏交感神经支配功能恶化风险,并且心脏/纵膈比值(心肌每个像素的平均计数除以纵膈每个像素的平均计数)是糖尿病患者心血管事件的独立危险因素^[15]。

此外,国外相关学者利用双光子激发荧光显微镜,结合计算机辅助三维跟踪算法,对表达增强型绿色荧光蛋白肾上腺素能神经元的成年转基因小鼠的离体心脏交感神经系统进行成像,从而研究心脏交感神经的分布及功能^[16]。

交感神经分布成像具有变异性,非心肌疾病及相关心血管活性药物可能影响心肌对放射物的摄取和清除,目前缺少明确的实验室诊断标准;此外交感神经成像费用较高,这也可能限制临床推广。转基因荧光蛋白三维成像技术目前仅可用于动物实验,不能直接应用于临床检测。心脏交感神经成像技术直观、准确,能较好的反映心脏交感神经系统的分布状态,目前已应用于动物实验及相关研究,随着技术的发展,交感神经成像技术将在临床上发挥更大作用。

2.3 免疫组织化学神经纤维染色法

酪氨酸羟化酶(TH)分布在肾上腺素能神经轴突的胞质中,它是去甲肾上腺素合成的限速酶,参与去甲肾上腺素代谢的全部限速环节,且具有高度的特异性,其阳性表达可代表交感神经在心脏中的分布,因此可以利用免疫组织化学染色技术的方法,用特异标记的抗体染色 TH,评估心脏交感神经分布情况^[17]。

吴晓羽等^[18]通过染色特发性流出道室速动物模型的左右心室流出道心肌组织交感神经,结果显示实验组左、右流出道心肌组织交感神经分布比对照组密度明显增高,且交感神经纤维成束状或聚集成网丛状分布,主要集中于血管旁以及心肌束间的结缔组织中,以右心室流出道最明显,并从组织学上证实了交感神经功能异常与室速有关。Xuan 等^[19]通过免疫组织化学神经纤维染色测定大鼠心肌 TH 阳性神经

纤维的分布及数量,结果表明糖尿病可引起心脏失神经支配,且存在交感神经过度支配现象,这可能与糖尿病大鼠室性心律失常的诱导增加有关。薛梅^[20]通过检测心肌 TH 阳性神经纤维分布及密度、实时定量逆转录聚合酶链式反应(RT-PCR)检测心肌中 TH 信使核糖核酸(mRNA)评估大鼠的交感神经功能状态。结果显示糖尿病组大鼠心脏左心室心底端、心尖端 TH 阳性神经纤维的密度和相应的 TH mRNA 水平均分别比对照组显著降低($P<0.01$),且在糖尿病组大鼠心脏左心室心底端和心尖端 TH 阳性神经纤维的密度与相应的 TH mRNA 之间存在显著差异性($P<0.01$)。

免疫组织化学神经纤维染色方法可以直观、准确测定交感神经分布状态,但是目前只能运用于动物实验、临床标本及临床死亡患者,不能运用于普通临床患者,因此在临床应用方面仍具有一定的局限性^[21]。

2.4 心脏局部血浆去甲肾上腺素含量测定

去甲肾上腺素由突出末梢释放后,除与突触后膜受体结合、被突触前膜重新摄取外,还有一部分自突触间隙溢出入血液,并在肝、肾等处灭活。由于去甲肾上腺素在血液中灭活速率相对恒定,其浓度在血液中呈动态平衡,其在血液中的浓度变化主要依赖于交感神经释放的速度,即随交感神经系统活性增强而上升,活性减弱而下降。因此可根据心脏局部组织血浆去甲肾上腺素的浓度变化间接判断心脏交感神经的活性^[1]。

Brunner-La Rocca 等^[22]通过研究检测 116 例充血性心力衰竭患者的去甲肾上腺素溢出率,发现高水平的去甲肾上腺素,尤其是伴有去甲肾上腺素溢出率增高,即心脏交感神经活性增高,是猝死的危险因素,特别是在心脏交感神经完整支配的情况下。同时去甲肾上腺素水平降低是心力衰竭恶化致死的预测因素,心肌疾病和心功能恶化与心脏中的交感神经功能减弱密切相关,特别是心脏去甲肾上腺素溢出率增高表明交感神经功能缺陷相关疾病的病情进展。Fukumoto 等^[23]运用离体技术对大鼠离体心脏进行再灌注处理,缺血前分别进行不同剂量的坎地沙坦(选择性血管紧张素 II 1 型受体拮抗剂)或阿曲生坦(即 ABT-627,选择性内皮素 A 型受体拮抗剂)灌注。通过高效液相色谱法测定心脏流出液中去甲肾上腺素的浓度,评估心脏交感神经活性的变化情况。结果表明血管紧张素 II 1 型受体拮抗剂和内皮素 A 型受体拮抗剂具有抑制去甲肾上腺素释放的能力,但血管紧张素 II 1 型受体拮抗剂不能长期抑制去甲肾上腺素的释放。因此内皮素 A 型受体拮抗剂可能比血管紧张素 II 1 型受体拮抗剂在缺血性心脏病的临床治疗获益更大。

去甲肾上腺素的溢出率检测法对相关技术要求较高,且无统一标准,注射体内的氘标记的去甲肾上腺素可能抑制自身交感神经的活性,并且容易受生理状态等多种因素影响;去甲肾上腺素高效液相色谱测定法,操作相对简便,结果直观,但乙酰胆碱可能通过突触前受体影响去甲肾上腺素的释放,并且也容易受到情绪等生理因素的影响,只能粗略反映交感神经的活性,因而在临床运用时,仍需用另外的辅助检测方法进行验证^[24]。

2.5 QT 间期及复极离散度

QT 间期是指从 Q 波起点到 T 波终点的时程,复极离散度(QTd)为同步记录的 12 导联体表心电图中最长 QT 间期与

最短 QT 间期的差值。研究表明心脏交感神经控制离子通道的功能及表达,其中去甲肾上腺素可以激活心内信号传导的离子电流通道,包括钠内向电流、延迟整流钾电流(I_{Ks})、氯离子电流和起搏电流等,其整体效应是心室动作电位时程(APD)及有效不应期缩短^[25]。

Liu 等^[26]发现心脏交感神经过度增生的动物模型中 L 型钙离子通道密度增加,动作电位延长,QT 间期延长,复极离散度增加。Baumert 等^[27]发现高血压患者心脏去甲肾上腺素溢出和 QT 变异性之间存在相关性,QT 间期变异性因此可能部分反映心脏交感神经激活。基线水平时,APD 在心外膜最短,心肌内最长,正常心室交感激动过程中,心肌细胞 APD 的速度快于心外膜及心内膜细胞,使跨壁复极离散度(TDR)减小。研究显示刺激交感神经,可使 I_{Ks} 通道激活更快,激活数量更多,进而增加 I_{Ks} 电流幅度,激活和启动复极储备功能,导致 TDR 增大^[28]。Jiang 等^[29]通过建立心肌梗死兔及假手术组兔模型,术后 8 周在心肌梗死组梗死灶周围区及假手术组的对应区域检查基线水平和交感神经刺激下的跨壁复极离散度,用抗生长相关蛋白 43(GAP43)和抗 TH 抗体免疫组化染色法测定交感神经分布,结果显示在基线水平和交感神经刺激下,心肌梗死组梗死周围区显著大于假手术组对应区域的 TDR;在心肌梗死组,GAP43 和 TH 阳性染色神经纤维密度与 TDR 及校正 TDR 显著正相关($P<0.05$),从而表明交感神经刺激可以增加心肌缺血状态下跨壁心室复极离散度。周惠云等^[30]在研究心肌梗死兔模型中发现,心肌梗死后心脏交感神经组 QTd 明显高于去心脏交感神经组,表明心脏交感神经功能改变对 QTd 变化有直接的重要影响。

QT 间期及复极离散度体表检测操作简单,但信号采集过程中易受干扰,只能间接反应交感神经的相关活性,同神经递质检测一样,仍需用其他辅助检测方法进行验证。跨壁心室复极离散度属于有创性操作,目前只运用于动物实验。

此外,还有显微神经照相术测量骨骼肌交感神经分布、交感神经皮肤反应测定、血压变异性、动脉压力反射敏感性和心率震荡、Ewing's 试验等评估交感神经的方法。但是交感神经皮肤反应测定、血压变异性、动脉压力反射敏感性主要反映全身的交感神经功能状态,并非单一反映心脏交感活性;心率震荡、Ewing's 试验主要评价自主神经调节心脏功能的整体作用,但在一定程度上仍可以作为心脏交感神经功能评价的辅助测量方法。国外相关研究人员通过将神经束电极植入成年美利奴母羊心胸交感神经束,直接测定心脏交感神经冲动产生的频率和振幅来测定评价其功能状态^[31],但其作为有创性方法,不适宜于临床常规应用。

综上所述,心脏交感神经功能的评价方法众多,目前主要有心率变异性、交感神经成像、免疫组织化学神经纤维染色、局部血浆去甲肾上腺素含量测定、QT 间期及相关离散度检测等方法,但都有相对的局限性。随着相关分析技术和测量方法的改善和发展,以及对心脏交感神经功能认识的深入,心脏交感神经检测将成为临床的重要检测指标,在高血压、心力衰竭、心肌梗死、糖尿病性心脏病等相关疾病的诊疗干预、评估预后等众多环节发挥重要作用。

参考文献

[1] Parati G, Esler M. The human sympathetic nervous system: its relevance in hypertension and heart failure. *Eur Heart J*, 2012, 33:

1058-1066.

- [2] Hazari MA, Khan RT, Reddy BR, et al. Cardiovascular autonomic dysfunction in type 2 diabetes mellitus and essential hypertension in a South Indian population. *Neurosciences (Riyadh)*, 2012, 17: 173-175.
- [3] Vaseghi M, Shivkumar K. The role of the autonomic nervous system in sudden cardiac death. *Prog Cardiovasc Dis*, 2008, 50: 404-419.
- [4] Palma JA, Benarroch EE. Neural control of the heart recent concepts and clinical correlations. *Neurology*, 2014, 83: 261-271.
- [5] Chen PS, Chen LS, Fishbein MC, et al. Role of the autonomic nervous system in atrial fibrillation pathophysiology and therapy. *Circ Res*, 2014, 114: 1500-1515.
- [6] Janse MJ, Schwartz PJ, Wilms-Schopman F, et al. Effects of unilateral stellate ganglion stimulation and ablation on electrophysiological changes induced by acute myocardial ischemia in dogs. *Circulation*, 1985, 72: 585-595.
- [7] Brandys JC, Hopkins DA, Armour JA. Cardiac responses to stimulation of discrete loci within canine sympathetic ganglia following hexamethonium. *J Auton Nerv Syst*, 1984, 11: 243-255.
- [8] Cardinal R, Scherlag BJ, Vermeulen M, et al. Distinct activation patterns of idioventricular rhythms and sympathetically induced ventricular tachycardias in dogs with atrioventricular block. *Pacing Clin Electrophysiol*, 1992, 15: 1300-1316.
- [9] Kiviniemi AM, Hautala AJ, Mäkikallio TH, et al. Cardiac vagal outflow after aerobic training by analysis of high-frequency oscillation of the R-R interval. *Eur J Appl Physiol*, 2006, 96: 686-692.
- [10] Nieminen T, Kähönen M, Kööbi T, et al. Heart rate variability is dependent on the level of heart rate. *Am Heart J*, 2007, 154: e13.
- [11] Chen J, Yang SB, Liu J, et al. Diagnostic performance analysis for diabetic cardiovascular autonomic neuropathy based on short-term heart rate variability using bayesian methods: preliminary analysis. *Diabetol Metab Syndr*, 2015, 7: 74.
- [12] Ieda M, Kanazawa H, Ieda Y, et al. Nerve growth factor is critical for cardiac sensory innervation and rescues neuropathy in diabetic hearts. *Circulation*, 2006, 114: 2351-2363.
- [13] Wong KK, Raffel DM, Koeppe RA, et al. Pattern of cardiac sympathetic denervation in idiopathic parkinson disease studied with ¹¹C hydroxyephedrine PET. *Radiology*, 2012, 265: 240-247.
- [14] 杨团峰, 王丽, 程敏, 等. 帕金森病, 多系统萎缩和特发性震颤患者(131)碘-间碘苯胍心肌显像研究. *中风与神经疾病杂志*, 2016, 33: 215-218.
- [15] Garcia-González P, Fabregat-Andrés Ó, Cozar-Santiago P, et al. Cardiac sympathetic innervation assessed with (123)I-MIBG retains prognostic utility in diabetic patients with severe left ventricular dysfunction evaluated for primary prevention implantable cardioverter-defibrillator. *Rev Esp Med Nucl Imagen Mol*, 2016, 35: 74-80.
- [16] Freeman K, Tao W, Sun H, et al. In situ three-dimensional reconstruction of mouse heart sympathetic innervation by two-photon excitation fluorescence imaging. *J Neurosci Methods*, 2014, 221: 48-61.
- [17] 靳文英, 乔正国, 郑春华, 等. 阿霉素诱导的心力衰竭小鼠心脏去甲肾上腺素转运蛋白的表达变化. *中国循环杂志*, 2013, 28: 458-462.
- [18] 吴晓羽, 张京慧, 谷宏越, 等. 心室流出道室性心动过速模型的构建. *中国心脏起搏与电生理杂志*, 2010, 24: 527-529.
- [19] Xuan YL, Wang Y, Xue M, et al. In rats the duration of diabetes influences its impact on cardiac autonomic innervations and electrophysiology. *Auton Neurosci*, 2015, 189: 31-36.

- [20] 薛梅. 糖尿病自主神经病变对心脏电生理的影响及其干预研究. 山东大学, 2013.
- [21] 李世军, 付治卿, 郭园园, 等. 高血压心肌肥厚患者心脏交感神经分布与勿动蛋白 A 表达变化的关系. 中华老年心脑血管病杂志, 2012, 14: 162-165.
- [22] Brunner-La Rocca HP, Esler MD, Jennings GL, et al. Effect of cardiac sympathetic nervous activity on mode of death in congestive heart failure. *Eur Heart J*, 2001, 22: 1136-1143.
- [23] Fukumoto T, Tawa M, Kitada K, et al. Different effects of AT1 receptor antagonist and ET(A) receptor antagonist on ischemia-induced norepinephrine release in rat hearts. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2012, 60: 55-60.
- [24] Boehm S, Kubista H. Fine tuning of sympathetic transmitter release via ionotropic and metabotropic presynaptic receptors. *Pharmacol Rev*, 2002, 54: 43-99.
- [25] Rubart M, Zipes DP. Mechanisms of sudden cardiac death. *J Clin Invest*, 2005, 115: 2305-2315.
- [26] Liu YB, Wu CC, Lu LS, et al. Sympathetic nerve sprouting, electrical remodeling, and increased vulnerability to ventricular fibrillation in hypercholesterolemic rabbits. *Circ Res*, 2003, 92: 1145-1152.
- [27] Baumert M, Schlaich MP, Nalivaiko E, et al. relation between QT interval variability and cardiac sympathetic activity in hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2011, 300: H1412-H1417.
- [28] Palma JA, Benarroch EE. Neural control of the heart Recent concepts and clinical correlations. *Neurology*, 2014, 83: 261-271.
- [29] Jiang H, Lu Z, Yu Y, et al. Relationship between sympathetic nerve sprouting and repolarization dispersion at peri-infarct zone after myocardial infarction. *Auton Neurosci*, 2007, 134: 18-25.
- [30] 周惠云, 兰曦, 梁一鸣. 交感神经对急性心肌梗塞后 QT 间期离散度的影响. 中国循环杂志, 2001, 16: 147-149.
- [31] Ramchandra R, Hood SG, Frithiof R, et al. Discharge properties of cardiac and renal sympathetic nerves and their impaired responses to changes in blood volume in heart failure. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2009, 297: R665-R674.

(收稿日期: 2016-10-31)

(编辑: 曹洪红)

综述

自分泌 / 旁分泌效应在缺血再灌注损伤心肌中活化单磷酸腺苷活化蛋白激酶的研究进展

王超综述, 赵海滨审校

摘要 单磷酸腺苷活化蛋白激酶 (AMPK) 是介导能量代谢的主要蛋白激酶, 当心肌发生缺血再灌注损伤时, 细胞内单磷酸腺苷 / 三磷酸腺苷 (AMP/ATP) 比例的变化可活化 AMPK 进而发挥心肌保护作用。此外, 心脏的自分泌 / 旁分泌因子也与 AMPK 的活化密切相关。本文阐述了缺血再灌注发生时, 心肌通过自分泌 / 旁分泌效应活化 AMPK 的相关蛋白激酶及其部分作用机制。

关键词 综述; AMP-活化蛋白激酶; 缺血再灌注

单磷酸腺苷活化蛋白激酶 (AMPK) 是一种丝苏氨酸激酶, 是细胞应激反应中感知能量变化的感受器, 参与维持细胞内的能量稳态^[1]。AMPK 是由 α 催化亚基, β 、 γ 调节亚基组成的异源三聚体。每个亚基均含有 2~3 个亚型, 分别由不同的基因编码^[2]。 α 亚基含有重要的磷酸化位点第 172 位的苏氨酸 (Thr172)。缺血缺氧发生时, 细胞内三磷酸腺苷 (ATP) 的浓度降低, 二磷酸腺苷 (ADP) 和单磷酸腺苷 (AMP) 的浓度升高, AMP/ATP 和 ADP/ATP 的比例升高, AMP 与 γ 3 结合可变构磷酸化 α 亚基中 Thr172 位点, 最终活化 AMPK^[3]。另有研究发现, 缺血缺氧发生时心肌的自分泌 / 旁分泌效应与 AMPK 的活化密切相关, 其活化过程可能与催化 Thr172 活化的 AMPK 上游蛋白激酶相关^[4]。活化的 AMPK 可保护心肌免受损伤, 维持心脏正常功能。本文以缺血再灌注发生时, 活化 AMPK 的上游蛋白激酶及心肌自分泌 / 旁分泌

效应活化 AMPK 的相关蛋白进行综述。

1 AMPK 活化的上游蛋白激酶

研究显示, 肝脏激酶 B1 (LKB1), 钙调节蛋白依赖型激酶激酶 2 (CaMKK-2) 和转化生长因子 β 活化蛋白激酶 1 (TAK1) 等上游蛋白激酶通过激活磷酸化 Thr172 位点而活化 AMPK。

LKB1: 心脏中主要的上游激酶是 LKB1, LKB1 活化需要与它的辅助蛋白 Ste20-related adaptor (STRAD) 和 Mouse protein 25 (MO25) 相结合。有研究证实 LKB1 缺失的小鼠心脏 AMPK α 2 活化作用降低, 缺血状态时其活化程度也不增加, 并伴有含有 α 2 亚基的磷酸化 AMPK 复合物消失。同时, 相比于 LKB1 正常表达的小鼠, LKB1 缺失的小鼠心脏 AMPK α 1 的活化程度明显降低。此外, 缺血发生时 LKB1 缺失的心脏 ADP/ATP 和 AMP/ATP 比例升高幅度大于 LKB1 正

基金项目: 国家自然科学基金 (81373590)

作者单位: 100029 北京市, 北京中医药大学(王超); 北京中医药大学第三附属医院(赵海滨)

作者简介: 王超 博士研究生 研究方向为中医药防治心脑血管疾病 Email:wangchaozhongyi@sina.cn 通讯作者: 赵海滨 Email:haibin999@126.com

中图分类号: R54 文献标识码: A 文章编号: 1000-3614 (2017) 08-0826-04 doi: 10.3969/j.issn.1000-3614.2017.08.024

常表达的细胞。超声心动图提示 LKB1 缺失的心脏表现出功能异常,重量减少和心房扩大。因此, LKB1 在活化 AMPK 中发挥关键作用。此外, LKB1 缺失可通过调控 CaMKK-2/AMPK 通路的活化引起细胞周期停滞^[5,6]。

CaMKK-2: CaMKK-2 在心肌细胞中的表达量相对较低,近期有研究发现它在 AMPK 的活化中发挥关键作用, CaMKK-2 调控的 AMPK Thr172 位点的磷酸化是 Dopachrome tautomerase (DDT) 结合至 CD74 后活化 AMPK 的关键因子^[7]。DDT 是 CD74 的第二个配体,它和迁移抑制因子 (MIF) 有相同的局部序列和结构同源性,能够通过和 CD74 结合活化 AMPK^[8]。

TAK1: 有研究从遗传学和生物学角度证明了 TAK1 在体内均可活化 snf1 蛋白激酶,即哺乳动物 AMPK α 亚基的酵母同源体。另有研究显示,细胞中缺失 TAK1 可干扰 AMPK 活化、损伤内源性 AMPK 基质乙酰辅酶 A 的磷酸化、并干预 AMPK 上游激酶 LKB1 的活化,阻断 Thr172 位点磷酸化^[9]。

2 缺血发生时心肌自分泌/旁分泌因子对 AMPK 的活化作用

作为细胞内的能量传感器,AMPK 可被细胞内腺嘌呤核苷酸的浓度改变所活化,同时也可应答细胞外包括激素、细胞因子、脂肪因子和内分泌/旁分泌因子的各种信号。研究证实,在心脏内环境发生改变时,心脏的心肌细胞、纤维细胞、血管细胞以及祖细胞会分泌多种蛋白,虽然有些导致心肌细胞凋亡、心肌纤维化并诱发炎症反应,但是这些蛋白对维持心脏正常功能、抑制心室重构发挥着关键作用^[4,10-12]。这些由心脏分泌的具有保护作用的蛋白统称为心脏激酶(cardiokines)^[13]。其中最典型的有卵泡抑素样蛋白 1 (Fstl1)、MIF、尿皮素 2 (Ucn2)、C1q/肿瘤坏死因子蛋白家族 (C1q/TNF)、转化生长因子 β 活化蛋白连接蛋白 (TAB1)、Sestrin2 和成纤维生长因子 21 (FGF21)。

Fstl1: Fstl1 是卵泡抑素家族的一种分泌型糖蛋白,该家族蛋白可与转化生长因子 β (TGF- β) 相互作用。但是由于 Fstl1 与卵泡抑素和 Fstl3 的同源性较低,故而它对 TGF- β 的调节作用较弱。研究证实,心力衰竭或心肌缺血发生时,血清 Fstl1 水平上升^[14]。此外, Fstl1 可抑制因心脏负荷过重引起的心室重构,而这一作用与 Fstl1 促进心肌细胞中的 AMPK 通路活化有关^[15]。重组人 Fstl1 蛋白在啮齿动物和猪的缺血再灌注损伤模型中亦可通过活化 AMPK 以抑制细胞凋亡并抑制心脏炎症反应发挥心脏保护作用^[15]。

MIF 与 DDT: MIF 是一种调节炎症反应和免疫应答的巨噬细胞因子。MIF 表达在心肌细胞中且受 HIF-1 α 调控,心脏发生缺血再灌注损伤时表达增高。MIF 通过两种途径发挥心脏保护作用:首先, MIF 通过自分泌/旁分泌效应激活细胞表面受体 CD74,活化 AMPK,促进心脏对葡萄糖的摄取。MIF 缺乏导致心脏 AMPK 表达减弱以及葡萄糖摄取减少,最终导致缺血再灌注损伤后的心肌损伤。研究显示老龄化的心脏发生缺血时 AMPK 活性降低, MIF 表达降低,而加入外源性 MIF 可增强缺血诱导的 AMPK 活化并改善心脏功能。其次, MIF 可抑制缺血再灌注时 Jun 氨基末端激酶 (JNK) 的活化,而 JNK 可导致缺血再灌注损伤。MIF 缺乏可导致心脏功能障碍,细胞凋亡和 JNK 在缺血再灌注时的活化增强。以上研究提示在心肌梗死的治疗时可着重于增强 MIF-AMPK 轴的作用^[7]。

然而由于反应时间窗相对较狭窄,尽管研究证实了

MIF-AMPK 轴在缺血再灌注时的心肌保护作用,其药理作用效果受到了极大的限制^[16]。此外, MIF 可活化趋化因子受体 CXCR4 导致心肌收缩力减弱,又可增加严重缺血损伤后的炎症反应^[17]。因此,高度选择性的 CD74 可能会有更大的治疗潜力。研究显示,相比于 MIF, CD74 缺失将导致更为严重的心脏缺血再灌注损伤^[7]。另有研究发现,除了 MIF, CD74 还有第二个配体 DDT,它和 MIF 有相同的局部序列和结构同源性^[18]。DDT 在哺乳动物体内缺乏一个酶作用物,可被认为是一种功能残缺的酶。DDT 在心肌细胞中高表达,在心肌缺血发生时由心脏分泌^[7]。DDT 通过结合至 MIF 的受体 CD74 以触发 CaMKK-2 调控的 AMPK Thr¹⁷² 位点的磷酸化,进而活化 AMPK^[7]。作为 CD74 兴奋剂, DDT 相对于 MIF 显示出更高的选择性,且没有 MIF 治疗时出现的影响心肌收缩力等副作用^[7]。研究显示 DDT 可减轻小鼠离体心脏和在体完整心脏在缺血再灌注损伤后的收缩功能异常。

Ucn2: Ucn2 是促肾上腺皮质激素释放激素 (CRF) 家族的一种肽类物质, Ucn2 可通过与心肌细胞上 CRF2 受体紧密结合以发挥缺血再灌注时的心肌保护作用。研究证实,内源性 Ucn2 可通过自分泌/旁分泌效应活化 AMPK,继而磷酸化下游的乙酰辅酶 A 羧化酶 (acetyl-CoA carboxylase),增加心肌细胞对葡萄糖的摄取,最终减少小鼠心肌缺血再灌注后的心肌损伤和心功能异常。该过程可被蛋白激酶 C ϵ (PKC ϵ) 迁移抑制肽 (epsilonV1-2) 阻断。外源性的 Ucn2 也表现出了对离体心肌细胞 AMPK 通路的活化作用。因此, Ucn2 对心肌的保护作用受细胞表面受体 CRFR2 的调节,并于 PKC ϵ 迁移密切相关。总之, Ucn2-CRFR2-PKC ϵ -AMPK 通路可减轻心肌缺血再灌注损伤,但其中联系 PKC ϵ 和 AMPK 活化的机制尚不明确^[19]。

C1q/TNF: C1q/肿瘤坏死因子相关蛋白家族 (CTRP) 与脂联素 (APN) 均属 C1q/TNF,该家族成员 C-末端都具有与补体 C1q 高度相似的球形结构域且在 C1q/TNF 蛋白家族中高度保守,该区域是与其他蛋白或受体发生反应的位点^[20]。

心脏的 AMPK 可被来自 fat 组织释放入循环血浆中的脂肪因子活化。APN 是脂肪因子原型,由脂肪细胞合成并分泌。APN 基因敲除的小鼠表现出缺血时 AMPK 活化障碍,并增加了对缺血性损伤的易感性。相反,腺病毒转染调控 APN 表达的小鼠 AMPK 活性增加,且能保护小鼠心肌不受缺血性再灌注损伤。离体细胞的研究证实 APN 的抗凋亡效应部分受 AMPK 调控。另有研究证实 APN 可通过抑制炎症反应,细胞凋亡及氧化应激反应保护缺血再灌注猪模型的心肌^[21]。

目前 APN 在缺血再灌注发生时保护心肌组织的作用机制尚未完全明确,多数研究认为脂联素可能与其特异性受体 AdipoR1 和 AdipoR2 结合后发挥生物学效应。另有研究证实由 Cdh13 编码的 T-钙粘蛋白 (T-cad) 是 APN 的新受体。T-cad 缺失跨膜区而由糖基磷脂酰肌醇附着于细胞膜上,并在心脏中高表达^[22]。T-cad 通过与 APN 结合而发挥缺血时的心肌保护作用。研究显示 T-cad 缺失的 APN 不能与心肌组织结合,且 T-cad 缺失与 APN 缺失一样可加重心力衰竭后的心室重构,并可加大梗死面积。T-cad 在 APN 依赖的 AMPK 磷酸化中起关键作用。重组病毒转染的 APN 可减少 APN 缺失小鼠的心肌重构并缩小梗死面积,并能重新磷酸化 AMPK。但是当转染的 APN 缺乏 T-cad 时该效应减弱。以上研究证明 T-cad 可

通过与 APN 结合来激活 APN 的心肌保护作用^[23]。

CTRP9 是一种新型脂肪细胞因子,属于 CTRP 成员之一,CTRP9 在进化过程中高度保守,且与 APN 同源性最高,其 C-末端球形结构域的氨基酸序列具有 51% 的一致性。CTRP9 基因敲除小鼠缺血再灌注发生后心肌梗死面积增大,炎症因子表达增加。采用 CTRP9 因子处理心肌细胞可抑制脂多糖诱导的炎症因子表达,但是当阻断 AMPK 通路或脂联素受体 1 (AdipoR1) 时该抑制作用消失。CTRP9 因子系统性给药可抑制野生型小鼠脂多糖诱导的心功能不全,但是在 AMPK 通路显性失活或脂联素受体 1 基因敲除的小鼠中该效应消失。以上研究证明 CTRP9 可通过脂联素受体 1/AMPK 通路抑制急性心肌损伤后的炎症反应来保护缺血再灌注损伤时的心肌^[24]。另有研究证实 CTRP9 可通过减少二硫键氧化还原酶类似蛋白 (DsbA-L) 来抑制内质网应激在糖尿病心脏中发生缺血再灌注损伤时的产生心肌保护作用。研究证实了活化的 AMPK 可通过抑制内质网应激减少细胞凋亡,从而保护缺血的心肌。但是 CTRP9 与 AMPK 在减少内质网应激方面关系如何尚未可知^[25]。

网膜素:网膜素是由脂肪组织分泌的一种新的脂肪因子,特异性表达与网膜脂肪组织,包括网膜素 1 和网膜素 2,血液循环中主要为网膜素 1。研究显示,将人网膜素系统性应用于小鼠可减少缺血再灌注后的心肌梗死面积和细胞凋亡,同时伴有 AMPK 的活化增强,而阻断 AMPK 则网膜素对心肌的保护作用消失。体外培养的细胞中,网膜素可抑制缺氧/再氧化导致的细胞凋亡,这一过程亦可被失活的 AMPK 阻断。以上研究证明网膜素可通过 AMPK 通路在发生缺血再灌注损伤时保护心肌组织^[26]。

TAB1:丝裂原激活蛋白激酶 (MAPK) 信号转导途径是真核生物中普遍存在的重要信号机制之一, TAB1 所介导的 p38 α 自我磷酸化是 MAPK 通路活化的重要信号。研究显示, TAB1 可诱导 p38MAPK 自磷酸化,而缺血可促进 p38MAPK 向 TAB1 募集以促进缺血心肌细胞对葡萄糖的摄取。此外, TAB1 可与 AMPK 的 $\alpha 2$ 催化亚基相结合, p38MAPK 向 TAB1/AMPK 化合物募集需要 AMPK 的活化,该过程在 AMPK 缺失的转基因小鼠中被抑制。因此, TAB1 通过与 AMPK 相互作用诱导缺血心肌中的 p38MAPK 自磷酸化,以促进 p38MAPK 活化,并最终促进缺血心肌对葡萄糖的摄取而发挥心肌保护作用^[27]。

Sestrin2: Sestrin 是一类相对保守的应激诱导型蛋白, Sestrin2 是 Sestrin 家族 PA26 相关蛋白成员,它被转录因子 p53 活化^[28],与细胞生长和存活相关。Sestrin2 蛋白在成熟心肌细胞中表达并在缺血发生时表达增多。相比于野生型小鼠, Sestrin2 敲除的小鼠在缺血时表现出梗死面积的显著增大。Langendorff 灌注心脏模型也证实了相比于野生型大鼠心脏,在 Sestrin2 基因敲除的心脏表现出明显的缺血后收缩功能障碍。此外, Sestrin2 基因敲除的心脏导致 AMPK 活化障碍,免疫沉淀反应证明了 Sestrin2 与 AMPK 的相关性,且与 AMPK 通路的上游信号 LKB1 关系密切。因此, Sestrin2 作为 LKB1-AMPK 的连接蛋白,在活化 AMPK 通路进而保护缺血心肌方面发挥重要作用^[29]。

FGF21: FGF 家族在调节细胞生长、细胞凋亡等方面发挥重要作用, FGF21 可在糖尿病和肥胖人群中高表达,是一

个关键的调节因子。此外, FGF21 在冠心病合并高脂血症人群中水平升高。近期研究发现 FGF21、FGF21 受体可表达在鼠科动物和人类心肌细胞中,心脏 FGF21 在缺氧环境下通过自分泌/旁分泌作用于心脏组织,在心肌缺血时表达量增加。成年大鼠心脏实验证实了 FGF21 对活化 AMPK 通路的活化作用。在 Langendorff 灌注心脏模型中, FGF21 可显著增强心肌缺血后心脏保护作用并促进心功能恢复,而阻断 AMPK 通路可抑制 FGF21 诱导的心肌保护作用^[30]。

总之,活化后的 AMPK 在心肌发生缺血再灌注损伤时可通过多种途径发挥心肌保护作用。一方面 AMPK 通过增加心肌对葡萄糖及脂肪酸的摄取,促进糖酵解等途径维持心肌内的 ATP 供应以保护心肌。另一方面 AMPK 可通过调节细胞的功能变化来保护心肌细胞。当心肌缺血发生时, AMPK 可诱导细胞自噬移除已经受损的细胞器,例如通过移除功能失调的线粒体可减少心脏内的氧化应激反应^[31]。AMPK 也可减弱心肌缺血时发生的内质网应激来抑制细胞凋亡。此外, AMPK 能够使线粒体孔 (mPTP) 的开放,缺血再灌注后期 mPTP 的开放可触发细胞死亡^[32-34]。

综上所述, AMPK 是介导能量代谢的主要蛋白激酶, AMPK 的活化与心肌自分泌/旁分泌作用关系密切,然而其中多数蛋白激酶与 AMPK 的作用机制尚未完全清晰。鉴于 AMPK 对缺血再灌注发生时心肌保护的关键作用, AMPK 及其相关自分泌/旁分泌机制的阐明将为缺血时心肌保护开辟新途径。

参考文献

- [1] Zaha VG, Young LH. AMP-activated protein kinase regulation and biological actions in the heart. *Circ Res*, 2012, 111: 800-814.
- [2] Hardie DG. AMPK-sensing energy while talking to other signaling pathways. *Cell Metab*, 2014, 20: 939-952.
- [3] Xiao B, Sanders MJ, Underwood E, et al. Structure of mammalian AMPK and its regulation by ADP. *Nature*, 2011, 472: 230-233.
- [4] Tian Y, Morrissey EE. Importance of myocyte-nonmyocyte interactions in cardiac development and disease. *Circ Res*, 2012, 110: 1023-1034.
- [5] Fogarty S, Ross FA, Vara CD, et al. AMPK causes cell cycle arrest in LKB1-deficient cells via activation of CAMKK2. *Mol Cancer Res*, 2016, 14: 683-695.
- [6] Yang H, Sun W, Quan N, et al. Cardioprotective actions of Notch1 against myocardial infarction via LKB1-dependent AMPK signaling pathway. *Biochem Pharmacol*, 2016, 108: 47-57.
- [7] Qi D, Atsina K, Qu L, et al. The vestigial enzyme D-dopachrome tautomerase protects the heart against ischemic injury. *J Clin Invest*, 2014, 124: 3540-3550.
- [8] Merk M, Mitchell RA, Endres S, et al. D-dopachrome tautomerase (D-DT or MIF-2): doubling the MIF cytokine family. *Cytokine*, 2012, 59: 10-17.
- [9] Chen Z, Shen X, Shen F, et al. TAK1 activates AMPK-dependent cell death pathway in hydrogen peroxide-treated cardiomyocytes, inhibited by heat shock protein-70. *Mol Cell Biochem*, 2013, 377: 35-44.
- [10] Kakkar R, Lee RT. Intramyocardial fibroblast-myocyte communication. *Circ Res*, 2010, 106: 47-57.
- [11] Rohr S. Arrhythmogenic implications of fibroblast-myocyte interactions. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2012, 5: 442-452.
- [12] Tirziu D, Giordano FJ, Simons M. Cell communications in the heart. *Circulation*, 2010, 122: 928-937.
- [13] Shimano M, Ouchi N, Walsh K. Cardiokines: recent progress in

- elucidating the cardiac secretome. *Circulation*, 2012, 126: e327–e332.
- [14] Shimano M, Ouchi N, Nakamura K, et al. Cardiac myocyte follistatin-like 1 functions to attenuate hypertrophy following pressure overload. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: E899–E906.
- [15] Shimano M, Ouchi N, Nakamura K, et al. Cardiac myocyte follistatin-like 1 functions to attenuate hypertrophy following pressure overload. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: E899–E906.
- [16] Qi D, Atsina K, Qu L, et al. The vestigial enzyme D–dopachrome tautomerase protects the heart against ischemic injury. *J Clin Invest*, 2014, 124: 3540–3550.
- [17] Liehn EA, Kanzler L, Konschalla S, et al. Compartmentalized protective and detrimental effects of endogenous macrophage migration–inhibitory factor mediated by CXCR2 in a mouse model of myocardial ischemia/reperfusion. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2013, 33: 2180–2186.
- [18] Merk M, Mitchell RA, Endres S, et al. D–dopachrome tautomerase (D–DT or MIF–2): doubling the MIF cytokine family. *Cytokine*, 2012, 59: 10–17.
- [19] Li J, Qi D, Cheng H, et al. Urocortin 2 autocrine/paracrine and pharmacologic effects to activate AMP–activated protein kinase in the heart. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 16133–16138.
- [20] Ouchi N, Walsh K. Cardiovascular and metabolic regulation by the adiponectin/C1q/tumor necrosis factor–related protein family of proteins. *Circulation*, 2012, 125: 3066–3068.
- [21] Kondo K, Shibata R, Unno K, et al. Impact of a single intracoronary administration of adiponectin on myocardial ischemia/reperfusion injury in a pig model. *Circ Cardiovasc Interv*, 2010, 3: 166–173.
- [22] Ciatto C, Bahna F, Zampieri N, et al. T–cadherin structures reveal a novel adhesive binding mechanism. *Nat Struct Mol Biol*, 2010, 17: 339–347.
- [23] Denzel MS, Scimia MC, Zumstein PM, et al. T–cadherin is critical for adiponectin–mediated cardioprotection in mice. *J Clin Invest*, 2010, 120: 4342–4352.
- [24] Kambara T, Ohashi K, Shibata R, et al. CTRP9 protein protects against myocardial injury following ischemia–reperfusion through AMP–activated protein kinase (AMPK)–dependent mechanism. *J Biol Chem*, 2012, 287: 18965–18973.
- [25] Bai S, Cheng L, Yang Y, et al. C1q/TNF–Related protein 9 protects diabetic rat heart against ischemia reperfusion injury: role of endoplasmic reticulum stress. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 2016: 1902025.
- [26] Kataoka Y, Shibata R, Ohashi K, et al. Omentin prevents myocardial ischemic injury through AMP–activated protein kinase– and Akt–dependent mechanisms. *J Am Coll Cardiol*, 2014, 63: 2722–2733.
- [27] Lanna A, Henson SM, Escors D, et al. The kinase p38 activated by the metabolic regulator AMPK and scaffold TAB1 drives the senescence of human T cells. *Nat Immunol*, 2014, 15: 965–972.
- [28] Eid AA, Lee DY, Roman LJ, et al. Sestrin 2 and AMPK connect hyperglycemia to Nox4–dependent endothelial nitric oxide synthase uncoupling and matrix protein expression. *Mol Cell Biol*, 2013, 33: 3439–3460.
- [29] Morrison A, Chen L, Wang J, et al. Sestrin2 promotes LKB1–mediated AMPK activation in the ischemic heart. *FASEB J*, 2015, 29: 408–417.
- [30] Patel V, Adya R, Chen J, et al. Novel insights into the cardio–protective effects of FGF21 in lean and obese rat hearts. *PLoS One*, 2014, 9: e87102.
- [31] Kim J, Kundu M, Viollet B, et al. AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1. *Nat Cell Biol*, 2011, 13: 132–141.
- [32] Paiva MA, Rutter–Locher Z, Goncalves LM, et al. Enhancing AMPK activation during ischemia protects the diabetic heart against reperfusion injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2011, 300: H2123–H2134.
- [33] 梁平平, 仲琳, 龚磊, 等. 成纤维细胞生长因子 21 对内质网应激诱导心肌细胞凋亡的影响及其机制研究. *中国循环杂志*, 2017, 32: 279–283.
- [34] 刘燃, 宋蕊, 袁丽, 等. 人参皂昔 Rg1 对心肌细胞的影响及其信号传导机制. *中国循环杂志*, 2015, 30: 1096–1100.

(收稿日期:2016–12–07)

(编辑:常文静)

综述

一氧化氮合酶各种亚型的信号通路对心力衰竭的作用机制与治疗的研究进展

金春花、刘文博、关宏铜综述, 金春子审校

摘要 一氧化氮(NO)是心脏的一种重要的信号分子,它是由三种 NO 合酶(NOS)即神经型 NOS(NOS1)、诱导型 NOS(NOS2)和内皮型 NOS(NOS3)产生的内源性物质。NO 信号通过环鸟苷酸(cGMP)依赖途径或非依赖途径进行翻译后修饰(即 cGMP 依赖的蛋白激酶磷酸化, 巯基-亚硝基化等)从而调控下游蛋白。NOS 的功能障碍(即表达、定位、耦合和活性的改变等)存在于各种心脏疾病中(如心力衰竭),导致了收缩功能障碍及心室重构和肥大。本文将重点阐述在健康和疾病状态下 NOS 各种亚型的信号通路,并讨论现有的和潜在的方法通过靶向 NO 通路来治疗心力衰竭。

关键词 综述;一氧化氮合酶;心力衰竭

一氧化氮(NO)是由 NO 合酶(NOS)蛋白家族合成的多种功能性调节气体。在哺乳动物中,有三种 NOS。1995 年 Balligand 等以及 1999 年 Xu 等提出,神经型 NOS(NOS1)和内皮型 NOS(NOS3),在心室肌细胞中的表达方式结构型表达,而诱导型 NOS(NOS2)的表达受环境因素影响(例如细胞因子的产生受免疫应答影响)。通过 NOS1 和 NOS3 生成的 NO 是钙依赖型,而 NOS2 生成的 NO 是钙通道/钙调蛋白非依赖性的。NOS 是由两个同源单体组成的二聚体。NOS 二聚体的 C 端(还原酶结构域)包括黄素单核苷酸(FMN)、黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)结合位点和还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH),而 N 端(氧合酶结构域)由 L-精氨酸、四氢生物蝶呤(BH₄),游离氧(O₂),亚铁血红素基团组成。另外钙调蛋白结合位点位于氧合酶结构域和还原酶结构域之间。黄素的作用是将 C 端(还原酶结构域)的电子转移到另一 N 端(氧合酶结构域),通过氧化 L-精氨酸而生成 L-瓜氨酸和 NO^[1]。

氧化应激状态下,NOS 的产物 O₂⁻ 中断了 NO 的产生并代替了 NO,使 NOS 长期解偶联。BH₄ 是结合与血红素氧化酶域促进 L-精氨酸生成 NO,但消耗或氧化 BH₄ 时可以使电子从还原酶结构域流向氧合酶结构域而使氧生成 O₂⁻^[2]。此外,NOS3 中的谷胱甘肽化在半胱氨酸 689 和半胱氨酸 908 阻断剂的作用下 NADPH 还原为 NADP,从而导致在还原酶结构域中生成 O₂⁻。有报道表明,ONOO⁻ 的毒性也同样使 NOS3 解偶联^[3]。因此,在心肌细胞中,NOS 主要生成 NO。然而,在疾病的条件下,NOS 也能导致 O₂⁻ 的生成和 ONOO⁻ 水平的增加^[4]。

1 NOS1 信号

1989 年 Knowlton 等在大脑中首次发现 NOS1,被命名

为 nNOS。然而,这种酶在各种细胞类型(包括心室肌细胞)中表达,因此又称为 NOS1。NOS1 在心肌中主要存在于心肌细胞的肌质网(SR)中,但也存在于线粒体、高尔基体和细胞膜中^[1]。1999 年, Xu 研究团队发现 SR 中表达 NOS1。这种被表达的 NOS1 能够控制肌质网钙泵(SERCA)而调节细胞内钙离子的重吸收^[5]。显然,NOS1 源性 NO 是心肌细胞中钙离子的调控中至关重要的调节因子。通过使用 NOS1 基因敲除和心肌细胞特异性 NOS1 表达模型与 NOS1 抑制剂的结合发现,正常心肌中 NOS1 产生的 NO 对正常心脏的收缩和舒张起着调节作用。是由 NOS1 产生的 NO 通过环鸟苷酸(cGMP)依赖机制,调节心肌细胞膜中的 L 型钙通道的活性,以减少细胞内大量的一过性钙离子内流,从而调控细胞内钙超载。相比之下,细胞内的 Na⁺/Ca²⁺ 交换则不受影响^[6]。在 SR 中,NOS1 源性 NO 促进心肌舒张,是通过增加蛋白激酶 A(PKA)依赖的受磷蛋白的磷酸化位点 16 丝氨酸(P-Ser¹⁶ PLN)和 Ca²⁺/钙调蛋白依赖激酶 II(CaMK II)-依赖的受磷蛋白的磷酸化位点 17 苏氨酸磷酸化(P-Thr¹⁷ PLN)来促进肌质网钙泵(SERCA)对钙的重吸收,继而抑制蛋白磷酸酶 2A 和蛋白磷酸酶 1 的活性^[6]。Jin 等^[7]研究发现在疾病心脏中 NOS1 通过 PKG 依赖的心肌肌钙蛋白 I 的磷酸化位点 23/24 丝氨酸(cTnI^{23/24})和心脏肌球蛋白结合蛋白 C 的磷酸化位点 273 丝氨酸(cMyBP-C²⁷³)的磷酸化抑制肌丝钙敏感性,导致细胞内游离钙离子增多,继而使 SR 的钙重吸收也增多而调控心肌细胞收缩性。NOS1 源性 NO 可通过巯基-亚硝基化直接激活肌质网钙通道蛋白(RyR)并增加 SR 的钙离子释放,或间接地通过调节 PKA、蛋白磷酸酶(PP)活性介导的受磷蛋白的磷酸化,调控 RyR 活性以及增强黄嘌呤氧化还原酶(XOR)活性和细胞收缩。NOS1 除了生成 NO,也可以得到一个电子生成 NO 的

基金项目:国家自然科学基金(81460039);吉林省教育厅科研基金(2016-276);吉林省科技厅青年科研基金(20140520024JH);吉林省卫生厅青年科研基金(2014Q043)

作者单位:133000 吉林省延吉市,延边大学附属医院 妇科(金春花),心内科(刘文博、金春子),神经内科(关宏铜)

作者简介:金春花 主管护师 学士 主要从事妇科疾病与心力衰竭方面研究 Email:38972010@qq.com 通讯作者:金春子 Email:15526771826@163.com

中图分类号:R54 文献标识码:A 文章编号:1000-3614(2017)08-0830-03 doi:10.3969/j.issn.1000-3614.2017.08.025

还原产物次硝酸(HNO)。研究表明,外源性HNO和NO信号具有类似的功能,及对心肌收缩的影响和相似靶蛋白(RYR和SERCA/PLB)^[8]。有趣的是,在心力衰竭中这种现象普遍存在。研究表明,HNO对心力衰竭的动物模型具有有益作用,并且可能用于心力衰竭治疗^[9]。

2 NOS3 信号

NOS3首次发现于冠状动脉内皮细胞,被称为eNOS。然而,这种酶也存在于多种细胞类型中(包括心肌细胞),被更名为NOS3。在心肌细胞,NOS3结合微囊蛋白-3(Caveolin-3)存在于心肌细胞的胞膜小凹(caveolae)中。除了能够增加 $[Ca^{2+}]_i$,NOS3也可以通过蛋白激酶(Akt)激活丝氨酸1179位点的磷酸化,这对终末期心力衰竭的心肌保护起到重要作用^[10]。虽然NO是高度可扩散性的气体,但NOS信号具有时间和空间的位点局部性^[1]。由于NOS1和NOS3存在于心肌细胞的不同部位(心肌细胞caveolae中和SR中),它们有各自的信号转导通路、终末靶蛋白以及对心肌功能的影响。与NOS1不同的是,NOS3信号不能调控心肌细胞的收缩,只能调控 β -肾上腺素受体(β -AR)刺激对其引起的收缩。在心肌细胞caveolae中,NOS3定位于L-型钙通道(LTCC)和 β -肾上腺素能受体位点处^[11]。超氧化物歧化酶(SOD)和NOS3存在的部位相同,可以降低 O_2^- 含量。含有 O_2^- 的缓冲液,通过SOD驱动NOS3介导cGMP/可溶性鸟苷酸环化酶(sGC)/PKG信号通路来使多种靶蛋白磷酸化(即LTCC)。与敲除NOS3基因(NOS1^{-/-})心肌细胞相比,NOS3^{-/-}心肌细胞给予 β -AR刺激,其收缩力增加。由于相同的亚细胞定位,NOS3可以调控LTCC。总之,快速抑制野生型心肌细胞NOS3或NOS3^{-/-}, β -AR刺激强度更高,钙离子内流增加^[11]。Sun等^[12]于2006提出,女性心肌细胞NOS3对LTCC的作用影响高于男性,这说明NOS3信号有性别差异。除了限制 β -AR激发细胞内钙离子内流外,NOS3信号也可以缩短动作电位时程。在给予 β -AR刺激时,NOS3^{-/-}小鼠动作电位(AP)延长。决定动作电位时程的是各种K⁺通道。然而,在野生型和NOS3^{-/-}心肌细胞中的K⁺通道变化(瞬时外向电流(Ito)、静息电流(IKsus)、内向整流电流(IK1))无明显变化^[13]。因此,可以推断,在NOS3^{-/-}心肌细胞中增加钙离子内流可以使Na⁺/Ca²⁺交换(NCX)增强,进而延长动作电位时程。此外,在NOS3^{-/-}心肌细胞中,增加钙离子内流可以导致SR的钙负载。如果SR的钙离子超负荷,可以导致钙离子自发性释放和后除极^[14]。这些情况也存在于NOS3^{-/-}小鼠心肌细胞中。因此,NOS3抑制LTCC可以抑制早后除极来预防心律失常的发生。折返性心律失常可以使AP持续时间延长。不幸的是,绝大多数心力衰竭患者的死因是心律失常^[15]。因此,NOS3功能异常可能参与心力衰竭患者的心律失常。NOS3参与心律失常的发生外,还可以抑制心肌肥大。诱导心肌细胞病理性肥厚的主要途径是活化T细胞核因子(NFAT)钙调神经磷酸酶通路。通过介导LTCC钙离子内流激活钙依赖磷酸酶,使细胞质磷酸化和NFAT转移,进一步导致肥厚性基因的表达。因此,NOS3和NO/cGMP/PKG抑制LTCC会减弱钙调磷酸酶的活性,从而抑制NFAT易位和心肌肥厚。总之,NOS3源性NO通过限制钙离子内流对心肌有一定的保护作用,可以预防心律失常的发生和抑制心肌细胞肥厚。

3 NOS2 的信号

NOS2首先在有活性的巨噬细胞中被发现,被称为诱导型一氧化氮合酶,并为了统一将其更名为NOS2。在炎症反应中,心肌细胞也能诱导NOS2的表达。普遍认为NOS2参与多种病理条件下的心肌损伤,如缺血再灌注损伤,败血症,衰老,心肌梗死和心力衰竭。NOS2信号通过cGMP依赖途径和非依赖途径对不同的终末靶蛋白进行多种翻译后修饰(如磷酸化,S-亚硝基化,硝化和氧化),会导致心肌收缩功能障碍。然而,也有研究发现NOS2表达的积极影响。这种差异可能是由哪种途径被激活(cGMP依赖途径或非依赖途径)和/或终末靶点有关,这可能取决于心脏中的ROS水平。在疾病早期阶段和/或当NOS2被表达时,ROS水平很可能会下降。这将允许cGMP依赖途径介导NOS2信号表达,从而达到保护心肌的目的。例如,NOS2信号可以通过介导PKG磷酸化途径减弱 β -AR刺激I_{Ca},继而限制非生理条件下的钙离子内流。然而,由于NOS2的激活是钙通道/钙调蛋白非依赖性的,持续性表达NOS2会降低L-精氨酸的浓度,进而导致NOS2的解偶联和 O_2^- 的生成^[16]。此外,通过线粒体、NADPH氧化酶和XOR可增加心力衰竭患者血中的 O_2^- 含量。由此产生的高浓度的ONOO⁻。事实上,高浓度的ONOO⁻会增加NOS2的表达,从而引起心肌收缩功能障碍。因此,NOS2对心肌收缩功能的影响(有利或不利)是时间依赖性的。然而,研究表明,用NOS2基因敲除(NOS2^{-/-})小鼠制作心力衰竭模型显示,NOS2的表达对心力衰竭有害。尤其对于压力负荷过大(小鼠主动脉缩窄模型)或心肌梗死时,NOS2^{-/-}小鼠可以更好的保护心肌,使减少心肌肥大、心室重构、心室扩大、心肌纤维化、收缩功能障碍、细胞凋亡以及降低死亡率^[17]。在心力衰竭中,NOS2导致心肌收缩功能障碍的机制是通过在 β -AR刺激下减少钙离子瞬变幅度来抑制基础收缩力、减弱正性肌力作用。这通过改变RyR活性和降低PLB的磷酸化来实现。

4 靶向 NOS 治疗心力衰竭

心力衰竭患者中,NO生物利用度和氧化应激功能减低所导致的NOS功能失调是收缩功能障碍、心肌肥厚和心室重构的直接原因。多种治疗方法都尝试去修复心力衰竭患者的NO信号,但收效甚微。如前所述,对NOS2的抑制有利于降低心力衰竭患者的ONOO⁻水平。然而,试验已经由于患者的负面影响,最有可能是由于其它NOS同工酶的抑制作用而提前终止。因此,研究并开发一种NOS2抑制剂并且不影响其它NOS同工酶是非常有必要的。另一种方法是广泛增加NO的水平。例如,通过增加血NO浓度,治疗心绞痛、慢性心力衰竭患者的缺血症状,但由于长期消耗使超氧化物生成逐渐增加而表现出相应的副作用^[18]。其结果可能产生更高水平的ONOO⁻,而对患者更加有害。另一种方法是用药物合理补充BH₄来耦合NOS3从而增加NO的含量。不幸的是,BH₄在心力衰竭患者中很容易被氧化成BH₂并且对NOS3影响有限。也有些化合物(例如奈必洛尔),能够增加NOS3的表达并且防止其解偶联。这些化合物对动物心力衰竭模型和人类细胞系都有积极的影响,但对人类的心力衰竭无效。其他的化合物,如硫化氢可以通过Akt依赖途径增加NOS3活性,这样可能对心力衰竭的治疗有益。其他的方法还可以瞄准NOS3下游蛋白来增加cGMP水平。通过直接应用可溶性

鸟苷酸环化酶激活剂(如西那西呱)或使用特定的 PDE5 抑制剂(如乌地那非、西地那非和伐地那非)。这些化合物均在收缩性/舒张性心力衰竭的患者中进行临床试验并得出了各种测试结果。然而,西那西呱并没有得出任何有益的影响。随着慢性 PDE5 的逐渐抑制似乎改善了心力衰竭患者心功能和临床状态。一些临床试验目前正在对长效 PDE5 抑制剂(乌地那非)或其他形式(例如射血分数正常的心力衰竭)的心力衰竭进行测试^[19]。因此,通过利用 NOS 通道操纵其下游蛋白(特别是通过抑制 PDE5 增加 cGMP 水平),来达到治疗心力衰竭的目的。

5 结论

NOS 信号在心脏功能调节中起着关键的作用。除了其正常的生理调节, NOS 功能的变化是心力衰竭综合征的一个主要因素。对每个 NOS 亚型的表达、定位、活性进行改变, 结果导致下游蛋白质功能紊乱, 造成了心肌收缩功能障碍和心室重构。通过恢复 NO 的产生或针对下游机制来解决 NOS 信号机能失调的各种治疗策略已被提出。然而, 在人类心力衰竭模型中仅能获得有限的有益成果, 仍需要进一步研究调查。

参考文献

- [1] Zhang YH. Neuronal nitric oxide synthase in hypertension – an update. *Clin Hypertens*, 2016, 22: 20.
- [2] Crabtree MJ, Tatham AL, Al-Wakeel Y, et al. Quantitative regulation of intracellular endothelial nitric-oxide synthase (eNOS) coupling by both tetrahydrobiopterin-eNOS stoichiometry and biopterin redox status: insights from cells with tet-regulated GTP cyclohydrolase I expression. *J Biol Chem*, 2009, 284: 1136–1144.
- [3] Zou MH, Shi C, Cohen RA. Oxidation of the zinc-thiolate complex and uncoupling of endothelial nitric oxide synthase by peroxynitrite. *J Clin Invest*, 2002, 109: 817–826.
- [4] 赵艳霞, 格日力. 内皮型一氧化氮合酶脱耦联在心血管疾病中的致病作用. *中国循环杂志*, 2014, 29: 315–318.
- [5] Xu KY, Huso DL, Dawson TM, et al. Nitric oxide synthase in cardiac sarcoplasmic reticulum. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 657–662.
- [6] 刘文博, 崔兰, 赵光贤, 等. 神经型一氧化氮合酶在心功能及其病理生理过程中发挥作用的分子机制. *中国心血管病研究*, 2016, 14: 673–678.
- [7] Jin CZ, Jang JH, Kim HJ, et al. Myofilament Ca²⁺ desensitization mediates positive lusitropic effect of neuronal nitric oxide synthase in left ventricular myocytes from murine hypertensive heart. *J Mol Cell Cardiol*, 2013, 60: 107–115.
- [8] Sivakumaran V, Stanley BA, Tocchetti CG, et al. HNO enhances SERCA2a activity and cardiomyocyte function by promoting redox-dependent phospholamban oligomerization. *Antioxid Redox Signal*, 2013, 19: 1185–1197.
- [9] Sabbah HN, Tocchetti CG, Wang M, et al. Nitroxyl (HNO): A novel approach for the acute treatment of heart failure. *Circ Heart Fail*, 2013, 6: 1250–1258.
- [10] Wang D, Shan Y, Huang Y, et al. Vasostatin-1 stops structural remodeling and improves calcium handling via the eNOS-NO-PKG pathway in rat hearts subjected to chronic β -adrenergic receptor activation. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2016, 30: 455–464.
- [11] Zhang YH, Casadei B. Sub-cellular targeting of constitutive NOS in health and disease. *J Mol Cell Cardiol*, 2012, 52: 341–350.
- [12] Sun J, Picht E, Ginsburg KS, et al. Hypercontractile female hearts exhibit increased S-nitrosylation of the L-type Ca²⁺ channel α 1 subunit and reduced ischemia/reperfusion injury. *Circ Res*, 2006, 98: 403–411.
- [13] Wang H, Bonilla IM, Huang X, et al. Prolonged action potential and after depolarizations are not due to changes in potassium currents in NOS3 knockout ventricular myocytes. *J Signal Transduct*, 2012, 2012: 645721.
- [14] 于雪婧, 邹彤, 金军华, 等. 肌浆网钙离子泵与心血管疾病的研究进展. *中国循环杂志*, 2016, 31: 1232–1234.
- [15] 马文韬, 樊晓寒, 张澍. 心房颤动合并心力衰竭的治疗发展方向. *中国循环杂志*, 2016, 31: 1142–1144.
- [16] Xia Y, Dawson VL, Dawson TM, et al. Nitric oxide synthase generates superoxide and nitric oxide in arginine-depleted cells leading to peroxynitrite-mediated cellular injury. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93: 6770–6774.
- [17] Dias FA, Urboniene D, Yuzhakova MA, et al. Ablation of iNOS delays cardiac contractile dysfunction in chronic hypertension. *Front Biosci*, 2010, 2: 312–324.
- [18] Szöcs K, Lassègue B, Wenzel P, et al. Increased superoxide production in nitrate tolerance is associated with NAD(P)H oxidase and aldehyde dehydrogenase 2 downregulation. *J Mol Cell Cardiol*, 2007, 42: 1111–1118.
- [19] Korkmaz-Icöz S, Radovits T, Szabó G. Targeting phosphodiesterase 5 as a therapeutic option against myocardial ischemia/reperfusion injury and in treating heart failure. *Br J Pharmacol*, 2017. doi: 10.1111/bph.13749.

(收稿日期: 2017-03-23)

(编辑: 王宝茹)