

血浆甲壳质酶蛋白 40 和内皮微粒 与老年急性冠状动脉综合征的相关性研究

李妙男,王洪巨,张宁汝,黄宇理,史晓俊,唐碧,汤阳

[摘要] **目的:**探讨血浆甲壳质酶蛋白 40(YKL-40)和内皮微粒(EMP)与老年急性冠状动脉综合征(ACS)之间的相关性。**方法:**选择行冠状动脉造影检查且年龄 ≥ 65 岁者 180 例,随机分为 ACS 组($n=96$)和对照组($n=84$)。应用酶联免疫吸附法检测血浆 YKL-40 水平;应用流式微粒技术检测血浆 EMP 水平,以 $CD31^+/CD42b^-$ EMPs 为标志;采用 Gensini 评分对每支血管病变狭窄程度进行定量计算。**结果:**ACS 组血浆 YKL-40 和 $CD31^+/CD42b^-$ EMPs 水平均明显高于对照组($P<0.01$)。ACS 组患者 Gensini 评分值与血浆 YKL-40 和 $CD31^+/CD42b^-$ EMPs 水平均呈正相关关系($r=0.522, P<0.01$; $r=0.561, P<0.01$)。ACS 组患者血浆 YKL-40 水平和 $CD31^+/CD42b^-$ EMPs 水平呈正相关关系($r=0.625, P<0.01$)。**结论:**老年 ACS 患者血浆 YKL-40 和 EMP 水平明显升高,且升高水平与冠脉病变程度有关,提示两者有可能成为诊断 ACS 的一个新的生化标志物,并为冠状动脉病变程度及危险分层提供参考依据。

[关键词] 冠状动脉疾病;甲壳质酶蛋白 40;内皮微粒;老年人

[中图分类号] R 543.3

[文献标志码] A

DOI: 10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2016.11.007

Correlation of plasma enzyme chitin 40 and endothelial microparticle with acute coronary syndrome in elder patients

LI Miao-nan, WANG Hong-ju, ZHANG Ning-ru, HUANG Yu-li, SHI Xiao-jun, TANG Bi, TANG Yang

(Department of Cardiology, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233004, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the correlation of the levels of plasma enzyme chitin 40(YKL-40) and endothelial microparticle (EMP) with the acute coronary syndrome(ACS) in elder patients. **Methods:** A total of 180 patients(≥ 65 years old) with coronary angiography were randomly divided into the ACS group(96 cases) and control group(84 cases). The serum levels of plasma YKL-40 and EMP in two groups were measured by Enzyme-linked immunosorbent assays and cytometric bead assay technique labeled by $CD31^+/CD42b^-$ EMPs, respectively. The vascular stenosis degree was quantified by Gensini score. **Results:** The levels of the YKL-40 and $CD31^+/CD42b^-$ EMPs in ACS group were significantly higher than those in control group($P<0.01$). The Gensini score was significantly positive correlation with the levels of YKL-40 and $CD31^+/CD42b^-$ EMPs in ACS group($r=0.522, P<0.01$; $r=0.561, P<0.01$). The level of YKL-40 was significantly positive correlation with the level of $CD31^+/CD42b^-$ EMPs in ACS group($r=0.625, P<0.01$). **Conclusions:** The levels of plasma YKL-40 and $CD31^+/CD42b^-$ EMPs in ACS patients increase significantly, which is related to the vascular lesion degree. The YKL-40 and EMP maybe a new biochemical marker in diagnosing ACS, which can provide a reference in identifying the severity and risk stratification of coronary artery lesions.

[Key words] acute coronary syndrome; plasma enzyme chitin 40; endothelial microparticle; elderly

血管内皮细胞损伤、炎症反应和斑块破裂可能导致冠状动脉内血栓的形成,并引起急性冠状动脉

综合征(ACS)的发生^[1]。老年人在衰老过程中基因表达发生改变,可引起血管内皮功能障碍,而内皮功能异常是动脉粥样硬化的早期表现。甲壳质酶蛋白 40(YKL-40)是一种相对分子质量为 40 000 的糖蛋白,在动脉粥样斑块中的巨噬细胞内可呈现高表达,与冠心病动脉粥样硬化的形成和急性心肌梗死(AMI)后的炎症反应有关^[2]。内皮微粒(EMP)是内皮细胞激活、损伤或凋亡后从细胞膜脱落的直径 $< 1 \mu\text{m}$ 的微小囊泡状物质。内皮功能受损引起 EMP 释放增加,增加的 EMP 会进一步诱导内皮功能不全,加重病情^[3]。本研究旨在了解老年 ACS 患者血浆 YKL-40 和 EMP 水平,并探讨 YKL-40 和

[收稿日期] 2015-09-11

[基金项目] 安徽省高等学校自然科学研究一般项目(KJ2015B003by);安徽省高等学校自然科学研究重大项目(KJ2015ZD30);安徽省科技攻关项目(1501041154)

[作者单位] 蚌埠医学院第一附属医院 心血管内科,安徽 蚌埠 233004

[作者简介] 李妙男(1983-),女,硕士,主治医师。

[通信作者] 王洪巨,博士,硕士研究生导师,主任医师,教授。E-mail:1649134019@qq.com

EMP 与 ACS 之间的相关性,从而为 ACS 的诊断提供一个新的生化标志物,并为冠状动脉病变严重程度及危险分层评估提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2014 年 8 月至 2015 年 3 月入住我院并接受冠状动脉造影检查者 180 例,年龄均 ≥ 65 岁,男 112 例(62%),女 68 例(38%),平均年龄(71.2 \pm 4.4)岁。根据冠状动脉造影结果分为 ACS 组($n = 96$)和对照组($n = 84$)。

1.2 研究方法

1.2.1 诊断标准 ACS 包括不稳定型心绞痛(UAP)、非 ST 段抬高型心肌梗死(NSTEMI)和 ST 段抬高型心肌梗死(STEMI)^[4-5]。排除标准:所有研究对象入组时均排除糖尿病、急性感染性疾病、血液系统疾病、急慢性肝肾功不全、肿瘤、结缔组织疾病及其他消耗性疾病等。

1.2.2 研究方法 所有观察对象在入院当日均给予阿司匹林、氯吡格雷、瑞舒伐他汀、单硝酸异山梨酯应用;美托洛尔缓释片、厄贝沙坦的应用及剂量增减根据观察对象心率、血压、既往病史等指标调整。急性心肌梗死(AMI)患者给予低分子肝素钠抗凝治疗。入院次日清晨空腹分别抽取肘静脉血 3 mL 于肝素钠抗凝和枸橼酸钠抗凝的试管中,前者 3 000 r/min 离心 30 min 取上清液,应用苏州卡尔文生物科技有限公司提供的流式微球技术检测试剂盒,采用酶联免疫吸附法检测血浆 YKL-40 水平;后者经过 2 次离心,获得血小板贫瘠的血浆,应用美国 BD 公司提供的 FACS Calibur 型流式细胞仪及美国 BD 公司 CD31/CD42 两种荧光素标记的特异性抗体标记样本检测血浆 EMP 水平,标记为 CD31⁺/CD42b⁻ EMPs。血脂、血糖、C 反应蛋白等生化指标按入院常规由检验科检测。

1.2.3 冠状动脉造影 由心内科专业医师操作完成,采用 Judkins 法行冠状动脉造影,结果判断采用续表 1

2001 年美国 ACC/AHA 关于心血管疾病诊断和治疗的标准。造影提示有明确冠状动脉狭窄 $\geq 70\%$ 给予冠状动脉内支架置入术,病变部位注入药物涂层支架,并详细记录患者冠状动脉造影结果及支架植入过程。支架植入成功标准按照国际惯例,即残余狭窄 $\leq 20\%$,TIMI 3 级血流。采用 Gensini 评分^[6]对每支血管病变狭窄程度进行定量计算,由 2 位熟练的心脏科医师独立评估,计算均值。

1.2.4 观察指标 (1)记录患者病史及应用影响内皮功能药物的情况。(2)实验室指标:血糖、三酰甘油、胆固醇、C 反应蛋白等。(3)2 组观察者血浆 YKL-40、CD31⁺/CD42b⁻ EMPs 水平。(4)根据冠状动脉造影结果计算 Gensini 评分值。(5)分析 Gensini 评分值与血浆 YKL-40、CD31⁺/CD42b⁻ EMPs 之间是否具有相关性。

1.3 统计学方法 采用 χ^2 检验、 t (或 t')检验和直线相关分析。

2 结果

2.1 2 组患者基线资料的比较 2 组患者性别、血压、影响内皮功能药物的基线治疗差异均无统计学意义($P > 0.05$);ACS 组年龄高于对照组($P < 0.05$)吸烟率高于及低分子肝素钠对照组,ACS 组血浆 C 反应蛋白和三酰甘油水平使用率均高于对照组($P < 0.01$)(见表 1)。

表 1 2 组患者基线资料比较[n_i ;百分率(%)]

| 分组 | n | 年龄/岁 | 男性 | 吸烟 | 血压 |
|----------|-----|----------------|----------|-----------|----------|
| 对照组 | 84 | 70.6 \pm 3.7 | 51(60.7) | 33(39.3) | 45(53.6) |
| ACS 组 | 96 | 71.9 \pm 4.6 | 61(63.5) | 59(61.5)* | 62(64.6) |
| χ^2 | — | 2.12 $^\Delta$ | 0.15 | 8.81 | 2.25 |
| P | — | <0.05 | >0.05 | <0.01 | >0.05 |

Δ 示 t' 值

| 分组 | n | 生化指标/(mmol/L) | | | | | 用药情况 | | | | | | | |
|----------|-----|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|----------|
| | | 空腹血糖 | 胆固醇 | 三酰甘油 | 高密度脂蛋白胆固醇 | 低密度脂蛋白胆固醇 | C 反应蛋白 | 拜阿司匹林 | 氯吡格雷 | 单硝酸异山梨酯 | 瑞舒伐他汀 | 厄贝沙坦 | 美托洛尔缓释片 | 低分子肝素钠 |
| 对照组 | 84 | 5.02 \pm 2.07 | 3.96 \pm 1.01 | 1.33 \pm 0.65 | 1.07 \pm 0.24 | 2.42 \pm 0.88 | 3.37 \pm 2.92 | 84(100.0) | 84(100.0) | 84(100.0) | 84(100.0) | 35(41.7) | 30(35.7) | 0(0.0) |
| ACS 组 | 96 | 5.64 \pm 2.39 | 3.99 \pm 1.23 | 1.71 \pm 0.98 | 1.09 \pm 0.61 | 2.50 \pm 0.89 | 9.55 \pm 2.43* | 96(100.0) | 96(100.0) | 96(100.0) | 96(100.0) | 50(52.1) | 46(47.9) | 35(36.5) |
| χ^2 | — | 1.85* | 0.18* | 3.10 $^\Delta$ | 0.04 $^\Delta$ | 0.60* | 2.80 $^\Delta$ | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 1.95 | 2.73 | 38.02 |
| P | — | >0.05 | >0.05 | <0.01 | >0.05 | >0.05 | <0.01 | >0.05 | >0.05 | >0.05 | >0.05 | >0.05 | >0.05 | <0.01 |

*示 t 值; Δ 示 t' 值

2.2 2 组患者血浆 YKL-40 和 CD31⁺/CD42b⁻ EMPs 水平的比较 ACS 组患者血浆 YKL-40 和 CD31⁺/CD42b⁻ EMPs 水平均明显高于对照组 ($P < 0.01$) (见表 2)。

表 2 2 组患者血浆 YKL-40 和 CD31⁺/CD42b⁻ EMPs 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

| 分组 | n | YKL-40 | CD31 ⁺ /CD42b ⁻ EMPs |
|-------|----|--------------|--|
| 对照组 | 84 | 31.90 ± 2.86 | 793.03 ± 137.06 |
| ACS 组 | 96 | 41.09 ± 4.33 | 1027.57 ± 94.08 |
| t' | — | 16.99 | 13.20 |
| P | — | <0.01 | <0.01 |

2.3 ACS 组患者 Gensini 评分、血浆 YKL-40 水平与血浆 CD31⁺/CD42b⁻ EMPs 水平之间关系 Gensini 评分与血浆 YKL-40 水平呈明显正相关关系 ($r = 0.522, P < 0.01$), Gensini 评分与血浆 CD31⁺/CD42b⁻ EMPs 水平呈明显正相关关系 ($r = 0.561, P < 0.01$), 血浆 YKL-40 水平和 CD31⁺/CD42b⁻ EMPs 水平呈明显正相关关系 ($r = 0.625, P < 0.01$)。

3 讨论

ACS 指冠状动脉内不稳定的动脉粥样斑块破裂或糜烂引起血栓形成所导致的心脏急性缺血综合征, 是国际公认的急性心血管疾病, 病死率高, 严重影响患者的生活质量和寿命。若能及时采取简易、灵敏的生化指标筛查高危患者、快速进行诊断、对冠状动脉病变严重程度及危险分层作出评估, 则可大大降低病死率, 并减少并发症, 改善患者的预后。

血管内皮功能损伤和炎症反应是动脉粥样硬化发生、发展的关键因素。血浆 EMP 水平与血管内皮功能密切相关, 不仅是反映内皮细胞功能障碍的指标, 也是促进内皮功能障碍的重要因子之一^[7]。有研究显示, 血浆 EMP 在凝血、炎症、血压调节及血管功能方面均扮演着重要的角色, 其水平升高与心血管疾病的发生及预后密切相关, 为探讨心血管疾病发病机制、诊断、危险度分层及疗效的评价提供了新的研究思路^[8-9]。SINNING 等^[10]检测了 200 例冠心病患者血浆 EMP 水平, 并随访 6 年, 结果显示 EMP 水平与心血管事件发生率呈正相关, 提示 EMP 可能作为冠心病患者发生不良事件的独立预测因子之一。研究^[11]表明, EMP 通过启动外源性凝血途径及与血小板形成聚合物, 从而促进血栓和纤维蛋白

的形成、激活中性粒细胞、促进单核细胞与内皮细胞结合并对中性粒细胞产生趋化作用, 从而参与心血管疾病炎症反应的发生。本研究结果显示, 在 ACS 患者中, 血浆 EMP 水平明显高于对照组, 且升高水平和冠状动脉病变严重程度呈正相关关系 ($P < 0.01$), 提示血浆 EMP 的释放与血管内皮功能障碍和炎症反应有关, 亦与斑块的不稳定性及血管病变严重程度有关。

YKL-40 亦称几丁质酶 3 样蛋白 1 (CHI3L1) 或人软骨素蛋白 GP-39 (HC-gp39)^[12], 是一种新发现的炎症指标, 人体内多种细胞包括免疫细胞、动脉血管内皮细胞和动脉血管平滑肌细胞均能分泌, 在早期粥样硬化病变中的巨噬细胞内表达水平最高。可能在多种细胞的增殖、分化、炎症反应及抗细胞凋亡的过程中发挥作用。有研究^[13]显示, 在冠心病患者中, 血浆 YKL-40 水平与 AMI 及其他心血管事件的发生有一定相关性, 提示该因子可能在冠心病患者预后评估方面起到一定的参考作用。血浆 YKL-40 可能参与了冠心病动脉粥样硬化斑块的发生和发展过程, 与动脉粥样斑块关系密切。粥样斑块中的巨噬细胞可分泌多种炎性介质, 通过刺激血管内皮细胞的迁徙、分化与增殖, 在斑块的形成、进展和破裂的过程中均扮演着重要角色^[14]。本研究结果显示, 在 ACS 患者中, 血浆 YKL-40 水平明显高于对照组 ($P < 0.01$); 相关性分析显示其升高水平和 Gensini 评分值、血浆 CD31⁺/CD42b⁻ EMPs 水平均呈正相关关系, 提示 YKL-40 可能反映冠状动脉粥样硬化斑块的进展情况及管腔狭窄程度, 检测血浆 YKL-40 水平对 ACS 的辅助诊断、预后判断、预防及新的治疗策略的建立均有一定的参考价值, 与文献^[15-16]报道相似。

本研究结果还显示, ACS 组患者吸烟率明显高于对照组, 间接提示吸烟可能导致血管内皮损伤和炎症反应, 是心血管疾病发生发展的重要危险因素。

综上所述, 研究表明老年 ACS 患者血管内皮存在炎症反应和功能障碍, 血浆 YKL-40 和 EMP 水平明显升高, 且升高水平与冠状动脉病变程度之间有明显相关性。提示血浆 YKL-40 和 EMP 可为检测血管内皮功能障碍提供新的方法, 有望成为对 ACS 进行诊断的一项新的生化标志物, 并对冠状动脉病变程度及危险分层作出评估。

[参 考 文 献]

- [1] RIOUFOL G, FINET G, GINON I, et al. Multiple atherosclerotic plaque rupture in acute coronary syndrome a three-vessel

- intravascular ultrasound study [J]. *Circulation*, 2002, 106 (7) : 804.
- [2] WIWANITKIT V. YKL-40 as new cardiac biomarker [J]. *Anadolu Kardiyol Derg*, 2014, 14 (1) : 98.
- [3] PRIOU P, GAQNADOUX F, TESSE A, *et al.* Endothelial dysfunction and circulating microparticles from patients with obstructive sleep apnea [J]. *Am J Pathol*, 2010, 177 (2) : 974.
- [4] 张奇, 沈卫峰, 葛均波. 非 ST 段抬高型急性冠脉综合征治疗策略流程 2014 年 ACC/AHA 指南解读 [J]. *国际心血管杂志*, 2015, 42 (2) : 65.
- [5] 陈炎, 陈亚蓓, 陶荣芳. 2013 ACCF/AHA ST 段抬高心肌梗死管理指南解读 [J]. *中国实用内科杂志*, 2013, 12 (33) : 42.
- [6] GENSINI GG. A more meaningful scoring system for determining the severity of coronary heart disease [J]. *Am J Cardiol*, 1983, 51 (3) : 606.
- [7] NOZAKI T, SUGIYAMA S, KOGA H, *et al.* Significance of a multiple biomarkers strategy including endothelial dysfunction to improve risk Stratification for cardiovascular events in patients at high risk for coronary heart disease [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2009, 54 (7) : 601.
- [8] BIASUCCI LM, PORTO I, DI VITO L, *et al.* Differences in microparticle release in patients with acute coronary syndrome and stable angina [J]. *Circ J*, 2012, 76 (9) : 2174.
- [9] BURGER D, TOUYZ RM. Cellular biomarkers of endothelial health: microparticles, endothelial progenitor cells, and circulating endothelial cells [J]. *J Am Soc Hypertens*, 2012, 6 (2) : 85.
- [10] SINNING JM, LOSCH J, WALENTA K, *et al.* Circulating CD31⁺/AnnexinV⁺ microparticles correlate with cardiovascular outcomes [J]. *Eur Heart J*, 2011, 32 (6) : 2034.
- [11] BULUT D, SCHEELER M, NIEBALLA LM, *et al.* Effects of immunoadsorption on endothelial function, circulating endothelial progenitor cells and circulating microparticles in patients with inflammatory dilated cardiomyopathy [J]. *Clin Res Cardiol*, 2011, 100 (7) : 603.
- [12] EURICH K, SEGAWA M, TOEI-SHIMIZU S, *et al.* Potential role of chitinase3-like-1 in inflammation-associated carcinogenic changes of epithelial cells [J]. *World J Gastroenterol*, 2009, 15 (42) : 5254.
- [13] RIDKER PM, CHASMAN DI, ROSE L, *et al.* Plasma Levels of the Proinflammatory Chitin-Binding Glycoprotein YKL-40, Variation in the Chitinase 3-Like 1 Gene (CHI3L1), and Incident Cardiovascular Events [J]. *J Am Heart Assoc*, 2014, 3 : e000897.
- [14] MOORE KJ, TABAS I. Macrophages in the pathogenesis of atherosclerosis [J]. *Cell*, 2011, 145 (3) : 341.
- [15] ZHENG JL, LU L, HU J, *et al.* Increased serum YKL-40 and C-reactive protein levels are associated with angiographic lesion progression in patients with coronary disease [J]. *Atherosclerosis*, 2010, 210 (2) : 590.
- [16] MYGIND ND, HARUTYUNYAN MJ, MATHIASSEN AB, *et al.* The influence of statin treatment on the inflammatory biomarkers YKL-40 and HsCRP in patients with stable coronary artery disease [J]. *Inflammation Research*, 2011, 60 (3) : 281.

(本文编辑 刘畅)

(上接第 1426 页)

- [6] SIMONE G, MANGIA A, MALFETTONE A, *et al.* Chromogenic in situ hybridization to detect EGFR gene copy number in cell blocks from fine-needle aspirates of non small cell lung carcinomas and lung metastases from colo-rectal cancer [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2010, 29 (1) : 125.
- [7] FENTON KN, RICHARDSON JD. Diagnosis and management of malignant pleural effusions [J]. *Am J Surg*, 1995, 170 (1) : 69.
- [8] GUO J, ZHOU SW, ZHANG L, *et al.* Prediction of epidermal growth factor receptor mutations in the plasma/pleural effusion to efficacy of gefitinib treatment in advanced non-small cell lung cancer [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2010, 136 (9) : 1341.
- [9] GOW CH, CHANG YL, HSU YC, *et al.* Comparison of epidermal growth factor receptor mutations between primary and corresponding metastatic tumors in tyrosine kinase inhibitor-naive non-small-cell lung cancer [J]. *Ann Oncol*, 2009, 20 (4) : 696.
- [10] LU SS, XU X, GUO HQ, *et al.* Detection of EGFR and K-ras mutations in non-small cell lung cancer using cytological specimens [J]. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*, 2013, 35 (8) : 585.
- [11] SEMPERE LF, KORC M. Shining the spotlight on shed KRAS in pancreatic cancer [J]. *Cancer Biol Ther*, 2008, 7 (3) : 361.
- [12] AVIEL-RONEN S, BLACKHALL FH, SHEPHERD FA, *et al.* K-ras mutations in non-small-cell lung carcinoma: a review [J]. *Clin Lung Cancer*, 2006, 8 (1) : 30.
- [13] SIDDIQUI AD, PIPERDI B. KRAS mutation in colon cancer: a marker of resistance to EGFR-I therapy [J]. *Ann Surg Oncol*, 2010, 17 (4) : 1168.
- [14] MITSUDOMI T, MORITA S, YATABE Y, *et al.* Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJTOG3405): an open label, randomised phase 3 trial [J]. *Lancet Oncol*, 2010, 11 (2) : 121.

(本文编辑 姚仁斌)