

体外反搏对高胆固醇血症猪血管内皮功能的影响

刘东红¹, 伍贵富^{2,3}, 熊艳⁴, 罗景云², 谢强³, 吕明德¹, 董吁钢³, 马虹^{2,3}, 郑振声^{2,3}

(中山大学附属第一医院 1. 超声科; 2. 心血管医学部心内科; 3. 卫生部辅助循环重点实验室;
4. 急诊科, 广东广州 510080)

摘要: **目的】**探讨体外反搏治疗对高胆固醇血症猪血管内皮功能的影响。 **【方法】**34头猪分成正常饲养组(NF, n=8),高脂喂养组(HF, n=13)和高脂喂养+反搏组(HF+EECP, n=13)。HF+EECP组隔天反搏治疗2h,总共反搏36h,36d。分别于体外反搏前(0d)、反搏中(18d)、反搏后(36d),采用高频超声检测猪肱动脉血流介导的内皮依赖血管舒张功能(FMD)方法,比较反搏组与非反搏组治疗前后FMD的变化。同时检测血清超敏C反应蛋白(hsCRP)。36d后,取HF+EECP组的前降支进行病理组织检查。 **【结果】**HF+EECP组反搏后FMD明显升高,分别为5.2%±1.7%(0d),12%±6%(18d),和11.4%±2.8%(36d, P<0.01);而HF组FMD下降,分别为7.8%±3.7%(0d),7%±4%(18d),5.1%±2.0%(36d),两组比较差异有统计学意义(P<0.05);与HF组比较,于反搏中、后检测HF+EECP组血hsCRP明显降低[(0.327±0.076)mg/L vs (0.469±0.168)mg/L(18d);(0.31±0.09)mg/L vs (0.51±0.26)mg/L(36d), P<0.01]。反搏后, HF组冠脉内皮细胞排列不规则、大量脱落、斑块形成, HF+EECP组内皮细胞呈流线型排列、脱落程度显著减轻。 **【结论】**增强型体外反搏可改善高胆固醇血症猪血管内皮功能。

关键词: 增强型体外反搏; 高胆固醇血症; 内皮细胞; 超敏C反应蛋白; 血流介导的血管舒张功能

中图分类号: R541.4

文献标识码: A

文章编号: 1672-3554(2007)05-0535-06

Enhanced External Counterpulsation Influences Vascular Endothelial Function in Porcine Hypercholesterolemic Model

LIU Dong-hong¹, WU Gui-fu^{2,3}, XIONG Yan⁴, LUO Jing-yun², XIE Qiang³, Lü Ming-de¹, DONG Yu-gang³, MA Hong^{2,3}, ZHENG Zhen-sheng^{2,3}

(1. Department of Ultrasonic Medicine; 2. Department of Cardiology; 3. The Key Laboratory on Assisted Circulation of Health Ministry; 4. Department of Emergency, The First Affiliated Hospital, SUN Yat-Sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract: **【Objective】** Enhanced External Counterpulsation (EECP) could promote shear stress to vascular endothelial cells in vivo. However, the effects of EECP on vascular endothelial function in hypercholesterolemia remains unknown. Vascular endothelial functions associating with EECP treatment was examined in porcine hypercholesterolemic model. **【Methods】**Thirty-four male piglets were randomly divided into 3 groups: the normal feeding group (NF, n=8), the hypercholesterolemic control group (high-fat chow diet, HF, n=13) and the "hypercholesterolemic + EECP" group (HF + EECP, n=13). While porcine hypercholesterolemic model was made, EECP was performed on animals of HF + EECP group, 2 hours every other day lasting for 36 days. Endothelial dependent flow-mediated vasodilation (FMD) of the right brachial artery was assessed by day 0 (prior to EECP), day 18 and day 36, respectively, immediately after EECP treatment. High sensitivity C-reactive protein (hsCRP) was measured at the same time points in all animals. At the end of study, the left descending arteries (LDA) of all animals were isolated for scanning electron microscopy (SEM). **【Results】** In HF + EECP group, FMD were improved significantly from 5.2%±1.7%(d0), 12%±6%(d18), to 11.4%±2.8%(d36, after EECP treatment, P<0.01). On the contrary, FMD was decreased from 7.8%±3.7%(d0), 7%±4%(d18), to 5.1%±2.0%(d36) in the HF group. Level of hsCRP was significantly decreased in animals of HF + EECP group at day 18 and 36, comparing to the HF group [(0.327±0.076)mg/L vs (0.469±0.168)mg/L (d18); (0.31±0.09)mg/L vs (0.51±0.26)mg/L (d36), P<0.01].

收稿日期: 2007-01-18

基金项目: 国家“十五”科技攻关计划基金(2001BA706B07); 国家自然科学基金重点项目仪器专项基金(30127001)

作者简介: 刘东红(1968-), 女, 广东梅州人, 博士生, 副主任医师; 吕明德, 教授, 博士生导师; 郑振声, 通讯作者, 教授, 博士生导师, E-mail: zzs1930@163.com

The distribution of LAD endothelial cells in HF piglets showed an irregular arrangement with obvious desquamation of coronary endothelial cells and formation of atherosclerotic plaque after 36-day treatment. However, vascular endothelial function was significantly restored by 36 hours EECP by presence of streamliner arrangement and less desquamation. 【Conclusions】 EECP could improve endothelial dysfunction in hypercholesterolemic piglet model, which may benefit in preventing the development of atherosclerosis.

Key words: enhanced external counterpulsation; hypercholesterolemia; endothelial function; high-sensitivity C-reactive protein; flow-mediated vasodilation

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2007, 28(5):535-540]

细胞内皮功能受损是早期动脉硬化的标志之一^[1]。脂质紊乱和炎症细胞浸润都可引起血管内皮功能受损进而导致动脉粥样硬化 (atherosclerosis; AS)。脂蛋白胆固醇从不同途径损害血管内皮细胞的结构与功能, 导致内皮剥脱及损伤部位低密度脂蛋白胆固醇沉积紊乱, 白细胞、血小板和巨噬细胞被征募, 被征募的巨噬细胞捕捉沉积的低密度脂蛋白胆固醇形成泡沫细胞^[1]。除血脂紊乱外, 局部或全身慢性炎症在粥样硬化斑块的发生、发展中亦起重要作用^[2]。

体外血管细胞培养发现, 提高血流切应力能够减少内皮细胞的凋亡, 改善内皮功能和结构^[3]。但尚无在体实验研究证实这种作用。增强型体外反搏 (enhanced external counterpulsation, EECP) 能明显提高动脉血管的血流切应力, 并影响部分内皮相关因子的表达^[4], 因而推测体外反搏疗法可能是保护血管内皮功能的方法之一。本研究通过喂养高胆固醇饲料, 建立高胆固醇血症猪模型, 选取能反映血管内皮功能损害的敏感指标: 肱动脉血流介导的内皮依赖血管舒张功能 (flow-mediated vasodilation, FMD), 超敏 C 反应蛋白 (high-sensitivity C-reactive protein, hsCRP)^[5], 探讨体外反搏对高胆固醇血症猪血管内皮功能的影响。

1 材料与方法

1.1 动物分组和高胆固醇血症模型的建立

34 只出生 20 d 的同种乳猪随机分为正常对照组 (normal feeding, NF, n=8)、高脂对照组 (high-fat chow diet, HF, n=13) 和高脂+反搏组 (high-fat chow diet +EECP treatment, HF+EECP, n=13)。正常对照组 (NF) 给予基础饲料喂养, 高脂对照组 (EF) 和高脂反搏组 (HF+EECP) 给予高脂饲料喂养, 直到实验结束。高脂饲料喂养 3 个月, 即可成功建造猪高胆固醇血症模型^[6, 7]。

1.2 EECP 方案

喂养 3 个月后, 高脂+反搏组的动物开始体外反搏。速眠新 和戊巴比妥钠麻醉动物后, 采用实验室自行设计的动物反搏囊套进行反搏, 右侧卧位置于自行设计的动物反搏床上, 用 0.035 MPa/cm² 的压力进行体外反搏, 每次 2 h, 隔天 1 次, 共计 36 d。反搏过程中监测指脉波作为评价反搏效果的指标, 同时监测心率和心电图。为了增加各组间的可比性及实验结果的可靠性, 正常对照组和高脂对照组也按照高脂反搏组动物麻醉方案及麻醉药用量进行麻醉, 但不进行反搏。

1.3 FMD 检测

所有实验猪均于反搏前 (0 d)、反搏中 (18 d)、反搏后 (36 d), 采用高分辨率 ATL-HDI 5000 超声诊断仪, 探头频率 5~12 MHz, 于心电图 R 波测量右肱动脉基础内径, 然后用血压袖带捆扎前臂并充气至 300 mmHg, 完全阻断血流 5 min 后, 迅速放气, 记录反应性充血 1 min 后肱动脉内径; 算出反应性充血后内径变化率 (FMD)。测量血流速度时, 取样容积 1 mm, 并置于血管的中央, 超声束与血管长轴的角度保持在 < 60°; 稳定 1 min 后开始测量, 取 3 个心动周期的平均值。

1.4 hsCRP 检测

所有实验猪于反搏前 (0 d)、中 (18 d)、结束时 (36 d) 空腹抽取耳静脉血 6 mL, 9 400 ×g 离心 15 min, 分离血清置 -4℃ 冰箱保存。采用胶乳增强免疫透射比浊法检测血清超敏 C 反应蛋白 (hsCRP)。用芬兰 Orion 公司试剂。日立 (7170A) 全自动分析仪。

1.5 冠状动脉 HE 染色及内膜显微病变分级

冠状动脉于 10% 中性甲醛溶液中固定 48 h 后, 送中山大学附属第一医院病理科进行脱水、石蜡包埋后切片作常规 HE 染色, 在光镜下观察冠状动脉 AS 病变及其程度。光镜下内膜病变分级如下^[8]: 0 级 (0 分): 正常内膜, 内膜光滑完整; 1 级 (1 分): 内膜下有散在的泡沫细胞, 多半仅位于内皮下

层或内膜表面; 2 级(2 分): 泡沫细胞增多, 呈灶性或弥漫性分布在整個内膜层, 可有少量细胞外脂质出现; 3 级(3 分): 细胞外脂质聚集增加, 有数量不等的细胞外脂质核出现, 可有少量纤维和平滑肌细胞增生; 4 级(4 分): 内膜纤维组织增生形成隆起的斑块。

1.6 冠状动脉电镜检查

取前降支与左旋支分叉至第一对角支的冠状动脉 0.5 cm 长, 冰 PBS 缓冲液冲洗后, 2.5% 戊二醛 4 条件下进行固定 48 h, 送中山大学电镜室进行扫描电镜及透射电镜检查, 观察内皮细胞及整个内膜的变化。

1.7 血流切应力测定步骤

用肝素化的注射器分别于基础状态及反搏状态下抽取高脂饲养+体外反搏组各动物收缩期与舒张期的桡动脉血标本, 用 Brookfield Rheocalc DV 流变仪检测血液粘度 (0.1Pa.s); 充分暴露高脂饲养+体外反搏组各动物的左前肢桡动脉, 由专人用 ATL-HDI 5000 型彩色多普勒诊断仪和线阵探头 (频率 5.0 ~12.0 MHz) 观察实时二维图像, 分别于心电图 R 波、T 波顶点测量左前肢桡动脉内径舒张期 ID_d 、收缩期 ID_s (cm)。脉冲多普勒测量左前肢桡动脉舒张期血流速度 V_D (cm/s, 定位于心电图 R 波顶点), 收缩期峰值血流速度 v_s (cm/s, 定位于心电图 T 波), 利用速度时间积分测量 3 个心动周期的血流平均速度 v_M , 取 3 个心动周期的平均值; 根据血液粘度、血流速度和血管内径计算出各时相的即时血管壁血流切应力 (dyne/cm²), 公式为 $=4 \cdot v \cdot /ID^3$; 平均血流切应力计算时用 ID_d 代替平均血管内径。

1.8 统计学分析

用 SPSS12.0 软件分析数据, 全部数据以均数 ± 标准差表示, 各组间比较用单因素方差分析 (oneway ANOVA), 有统计学意义后进行 post-hoc 分析作组间比较。各组间病变面积百分比的比较用秩和检验, 各组间病变程度比较用 SAS 软件包的 Ridit 检验, $P < 0.05$ 有统计意义。

2 结 果

2.1 动物体质量变化

分组饲养前 (Base)、反搏前 (0 d)、反搏中 (18 d) 和反搏结束 (36 d) 时各组动物的体质量之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.2 动物血脂变化

在分组饲养前 3 组动物血脂水平 (包括血清总胆固醇 TC 和血清低密度脂蛋白 LDL) 无显著性差异, 反搏前 (0 d)、中期 (18 d) 和结束 (36 d), 高脂饲养组 (HF) 与高脂饲养+体外反搏组 (HF+EECP) 较正常饲养组 (NF) 同时期血总胆固醇和 LDL 均显著性增高 ($P < 0.001$)^[10]。表明高脂饲养对提高血总胆固醇和 LDL 效果显著, 通过高脂饲养成功建立猪高胆固醇血症疾病模型。

2.3 FMD 改变

反搏前 (0 d), 高脂对照组 (HF) 及高脂+反搏组 (HF+EECP) 肱动脉内皮血流介导血管舒张功能 (FMD) 均明显低于正常对照组 (NF) ($P < 0.05$)。反搏后 (36 d), HF+EECP 组 FMD 逐渐升高, 反搏结束时, HF+EECP 组与正常对照组 FMD 比较已无明显差异 ($P > 0.05$)。而 HF 组肱动脉内皮血流介导血管舒张功能 (FMD) 随着时间的延伸呈逐渐下降; 在 18 d 与 36 d 时所测得的 FMD 与 NF 组比较差异均有意义 ($P < 0.01$, 表 1)。

2.4 反搏前后超敏 C 反应蛋白比较

34 头乳猪随机分组后, 准备造高胆固醇血症猪模型前 (Base), 各组超敏 C 反应蛋白 (hsCRP) 测值较低, 但各组之间测值无明显差异 ($P > 0.05$)。反搏前 (0 d), 高脂对照组 (HF) 及高脂+反搏组 (HF) 的 hsCRP 均明显高于正常对照组 ($P < 0.05$)。反搏中 (18 d) 及反搏后 (36 d), HF+EECP 组之 hsCRP 明显比 HF 组减低 ($P < 0.05$), 反搏后 (36 d), HF+EECP 组之 hsCRP 与 NF 组比较差异无显著性意义 ($P > 0.05$, 表 2)。

表 1 各组肱动脉内皮血流介导血管舒张功能的改变

Table 1 Changes of flow-mediated vasodilation of brachial artery among three groups (FMD, %)

	NF	HF	HF + EECP	F	P
0 d	14.0 ± 3.7	7.8 ± 3.7 ¹⁾	5.2 ± 1.7 ¹⁾	21.705	0.000
18 d	20 ± 5	7 ± 4 ²⁾	12 ± 6 ¹⁾³⁾	19.008	0.000
36 d	11.0 ± 5.9	5.1 ± 2.0 ²⁾	11.4 ± 2.8 ⁴⁾	13.825	0.000

FMD: flow-mediated vasodilation, EECP: enhanced external counterpulsation, NF: normal feeding, HF: high-fat chow diet, HF+EECP: high-fat chow diet + EECP treatment; 1) compared with NF group $P < 0.05$; 2) compared with NF group $P < 0.01$; 3) compared with HF group $P < 0.05$; 4) compared with HF group $P < 0.001$

2.6 冠状动脉 HE 染色及显微病变分级

冠状动脉左前降支石蜡包埋、切片并作 HE

表 2 各组超敏 C 反应蛋白的改变

Table 2 Changes of High-sensitivity C-reactive protein (hsCRP, mg/L) among three groups

	NF	HF	HF+EECP	F	P
Base	0.34 ±0.19	0.25 ±0.08	0.27 ±0.10	3.387	0.049
0 d	0.296 ±0.018	0.497 ±0.157 ¹⁾	0.528 ±0.167 ¹⁾	1.060	0.360
18 d	0.167 ±0.018	0.469 ±0.168 ¹⁾	0.327 ±0.076 ¹⁾²⁾	8.427	0.004
36 d	0.23 ±0.03	0.51 ±0.26 ¹⁾	0.31 ±0.09 ²⁾	5.743	0.002

hsCRP: High-sensitivity C-reactive protein, EECP: enhanced external counterpulsation, NF: normal feeding, HF: high-fat chow diet, HF+EECP: high-fat chow diet +EECP treatment; 1) compared with NF group $P < 0.05$; 2) compared with HF group $P < 0.05$;

染色显示, 正常饲养组冠状动脉内皮细胞呈单层排列, 紧密有序, 内弹力层完整, 内膜下未见脂质

浸润, 中膜平滑肌增生不明显, 排列有序, 管腔面连续流畅; 在高脂饲养组镜下见血管腔内有典型的动脉粥样硬化斑块形成, 可见内皮细胞排列紊乱、脱落, 内皮破损, 内膜下脂质浸润, 中膜平滑肌增生活跃、排列紊乱, 甚至突破内弹力层侵入内膜下增生, 整个斑块向管腔面突出, 使管腔狭窄; 高脂饲养+反搏组亦可见类似改变, 但上述病理改变程度减轻。冠状动脉 HE 显微病变分级见表 3。

2.7 冠状动脉电镜观察

实验结束取 3 组猪冠状动脉作扫描电镜, 正常组没有病理改变(图 1A)。HF 组血管内皮细胞排列紊乱, 细胞脱落明显, 内膜表面出现破损, 未脱落处细胞间连接疏松(图 1B)。HF+EECP 组冠状动脉扫描电镜可以看出血管内皮细胞排列整齐, 表

表 3 体外反搏对猪腹主动脉大体病变及冠状动脉显微病变的影响

Table 3 Effect of EECP on macro-pathological changes and micro-pathological changes

Group	n	Changes of abdominal aorta						Ridit value	Changes of coronary artery						Ridit value
		4	3	2	1	0.5	0		4	3	2	1	0		
NF	8				1	2	5	0.191	0	0	0	4	4	0.243	
HF	13	1	3	7	1	1	0	0.748 ¹⁾	2	4	6	1	0	0.758 ¹⁾	
HF+EECP	13	0	1	1	3	8	0	0.442 ¹⁾²⁾	0	1	2	7	3	0.400 ²⁾	

1) compared with NF group, $P < 0.01$; 2) compared with HF group, $P < 0.001$.

面光滑, 细胞呈梭形与血流方向一致, 内皮细胞脱落程度显著减少, 内膜损伤明显减轻, 表明体外反搏对血管内皮细胞作用明显(图 1C)。

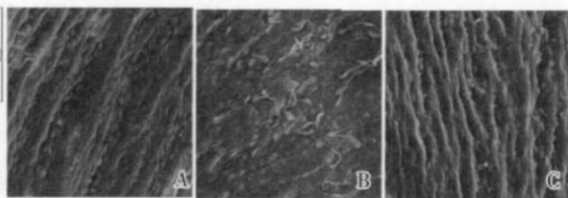


图 1 冠状动脉扫描电镜结果

Fig.1 The results of scanning electron microscopy examination of coronary artery ($\times 500$)

A: normal feeding group; B: hypercholesterolemia pigs; C: hypercholesterolemia pigs treated with EECP

2.8 各时项即时血管切应力的改变

可见反搏时各时项血管内径与基础状态无明显改变($P > 0.05$)。收缩期血流流速(v_s)略增高, 舒张期血流流速(v_d)明显增高 2 倍以上, 平均血流流速(v_m)亦增加。收缩期血流切应力无明显改变, 舒张期血流切应力(σ_d)和平均血流切应力(σ_m)均明显比基础状态升高(表 4)。

表 4 高胆固醇血症猪体外反搏中即时血管切应力的改变
Table 4 Changes of the shear stress () on the endothelial wall before EECP (Base) and during EECP in porcine hypercholesterolemic model

		Base	In EECP	F	P
Systole	IDS (cm)	0.151 ±0.04	0.152 ±0.04	0.009	0.927
	v_s (cm/s)	50.77 ±13.61	55.08 ±11.14	0.651	0.428
	σ_s (dyne/cm ²)	53.19 ±17.21	56.35 ±13.26	0.005	0.946
Diastole	ID _d (cm)	0.165 ±0.04	0.166 ±0.04	0.008	0.936
	v_d (cm/s)	25 ±5	57 ±4	34.289	0.000
	σ_d (dyne/cm ²)	24 ±7	53 ±4	22.717	0.000
Mean	v_m (cm/s)	21 ±6	29 ±7	14.054	0.000
	σ_m (dyne/cm ²)	20 ±7	27 ±8	8.723	0.007

v_s : Systolic peak velocity, v_d : diastolic velocity, v_m : mean velocity; σ : shear stress on the endothelial wall; EECP: enhanced external counterpulsation

3 讨论

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是一种形态、功能损害共存的病变, 内皮功能失调不仅导致

AS的早期形成, 而且对 AS 的进展及并发症(如血管痉挛、血栓形成) 有重要影响^[11]。近 20 年来不少学者发现血流切应力是调动血管内皮细胞功能修复的关键环节^[12]。体外细胞培养试验发现, 切应力的提高可激活内皮细胞抗动脉粥样硬化基因的表达, 修复损伤的内皮细胞^[12]。目前认为, 内皮细胞长期在高切应力的作用下, 出现抗 AS 的表型^[13]。低切应力有助于动脉 AS 形成, 提高切应力可防止动脉 AS 的发生和发展。

增强型体外反搏 (EECP) 是目前有效治疗动脉粥样硬化性疾病尤其是冠状动脉粥样硬化性心脏病的无创疗法之一^[14,15]。然而 EECP 治疗冠心病等动脉粥样硬化类疾病的确切机制仍然不清楚。推测 EECP 一方面通过舒张期再加压使主动脉舒张压增高, 提高了心肌血流灌注压, 促进心脏侧支循环的形成和开放, 而收缩期快速放气会使心脏后负荷减少, 降低心肌耗氧量; 另一方面通过增加动脉血管壁血流剪切力降低血粘度而发挥抗动脉粥样硬化的作用。EECP 引起血流灌注压力的改变, 会导致体内各级动脉血管血流模式变化, 进而引起各级动脉血管表面血流剪切应力的变化^[16]。体内剪切应力固有模式的改变可能启动血管内皮细胞的自我调节和自我修复功能^[17], 使得体外反搏从多个环节影响内皮细胞的结构和功能, 促进内皮细胞合成、分泌和表达一系列有利于血管内皮修复的生物活性物质发挥其抗动脉粥样硬化的作用^[3]。我们的研究首次在体观测到反搏过程中即时血流切应力的增加就是对这一推论的有力支持 (表 4)。

近年来用高频超声无创检测外周血管血流介导舒张反应 (FMD) 被广泛用于内皮功能的评价^[18]。FMD 是一种检测肱动脉内皮依赖性功能的方法^[9], 体现的是动脉对增加了的剪切应力的舒张反应过程, 血流刺激引发 NO 释放, 随之产生的血管舒张可被记录并定量分析, 从而得到反映内皮功能的一种指标。这项技术因无创性和可重复性而倍受关注。

高胆固醇血症患者在 A S 斑块形成之前即可出现血管内皮功能失调, 血清胆固醇水平升高是血管内皮依赖性舒张功能障碍的独立危险因素^[19]。降脂治疗中随着血脂的改善, 内皮功能迅速改善, 而停药以后, 随着血脂再次升高, 内皮功能异常亦再次出现^[20]。在本研究中, 高胆固醇血症猪反搏前

血清胆固醇和低密度脂蛋白明显升高, FMD 减低, 反搏后, 虽然血清胆固醇和低密度脂蛋白下降仍不明显, 但 HF+EECP 组 FMD 已显著升高, 与正常饲养组 (NF) 无差异 ($P > 0.05$), 说明体外反搏能改善高胆固醇血症猪的血管舒张功能, 推断体外反搏通过提高血流切应力来改善血管内皮功能, 起到治疗动脉粥样硬化的效果。

AS 并非单纯是一个脂类沉积的过程, 炎症反应在 AS 的开始和发展各个阶段均扮演着重要的角色^[21], 动脉内的炎症反应与血脂相互间的协同作用长时间周而复始形成斑块导致动脉狭窄或粥样硬化。在所有的炎症指标中, C- 反应蛋白 (C-reactive protein, CRP) 是目前临床上应用的最普遍的。动脉粥样硬化一开始的脂肪条纹到炎症细胞的浸润及血管内皮细胞功能的破坏, 甚至血管平滑肌细胞的增生, 及最后硬化斑块的破裂等, CRP 都参与其中^[22]。血管内皮细胞在高浓度的 hsCRP 环境下, 一氧化氮的制造能力则会下降^[9], 故 hsCRP 亦作为评价血管内皮功能的敏感指标之一。由于动脉粥样硬化过程中, 体内 CRP 处于一种低水平变化, 故采用 hsCRP 更敏感, 可检测浓度低至 0.06 mg/L。hsCRP 是一个独立因子, 不会受到高血压、糖尿病、抽烟, 血清胆固醇浓度及家族史的影响^[23], 而且血中浓度稳定、测量方法标准。hsCRP 愈高者, 将来发生心血管疾病的风险也愈高。

本研究中, 高胆固醇血症猪反搏前 (0 d) 血清 hsCRP 较正常饲养组 (NF) 明显升高 ($P < 0.05$), HF+EECP 组随反搏治疗进行而逐渐减低, 而 HF 组仍继续维持高水平 (表 2)。一方面说明我们造的高胆固醇血症猪模型血管内皮细胞有炎症介质的浸润, 促进了动脉的粥样硬化。另一方面, 也反映 EECP 可能通过使血流切应力增加, 抑制了 HF+EECP 组的血管内皮炎症反应, 起促进血管内皮功能恢复的作用。

在实验后解剖模型猪腹主动脉及冠状动脉并分别行 HE 染色及冠状动脉电镜观察, 发现 HF 组血管内皮排列紊乱, 脂质沉着、动脉粥样斑块形成, HF+EECP 组病变明显减少 (图 1), 证实我们用高胆固醇饲料喂饲 4 个月后可建立动脉粥样硬化猪动物模型, 进一步说明 EECP 可通过提高血流切应力改善血管内皮细胞形态, 减缓动脉粥样硬化斑块的形成。

本实验通过成功建造高胆固醇血症猪模型并

对之进行常规 36 h 体外反搏治疗, 证实体外反搏可通过提高血流切应力达到改善血管内皮依赖舒张功能、减少炎症介质释放、修复内皮细胞形态等一系列促内皮功能恢复的作用, 证实 EECF 可通过改善血管内皮功能干预动脉粥样硬化的形成。

参考文献:

- [1] DART A M, CHIN-DUSTING J P. Lipids and the endothelium [J]. *Cardiovasc Res*, 1999, 43(2):308-322.
- [2] LIBBY P, RIDKER P M, MASERI A. Inflammation and atherosclerosis[J]. *Circulation*, 2002, 105(9):1135-1143.
- [3] LI Y S, HAGA J H, CHIEN S. Molecular basis of the effects of shear stress on vascular endothelial cells [J]. *J Biomech*, 2005, 38(10):1949-1971.
- [4] BELLER G A. A review of enhanced external counterpulsation clinical trials[J]. *Clin Cardiol*, 2002,25 (12 Suppl 2):116-10.
- [5] VERMA S, WANG C H, LI S H, et al. A self-fulfilling prophecy: C-reactive protein attenuates nitric oxide production and inhibits angiogenesis [J]. *Circulation*, 2002,106(8):913-919.
- [6] GAL D, RONGIONE A J, SLOVENKAI G A, et al. Atherosclerotic Yucatan microswine: an animal model with high-grade, fibrocalcific, nonfatty lesions suitable for testing catheter-based interventions[J]. *Am Heart J*, 1990, 119(2 Pt 1):291-300.
- [7] DE SMET B J, VAN DER ZANDE J, VAN DER HELM Y J, et al. The atherosclerotic Yucatan animal model to study the arterial response after balloon angioplasty: the natural history of remodeling[J]. *Cardiovasc Res*, 1998, 39(1):224-232.
- [8] 王巍, 景厚德. 鸸鹋动脉粥样硬化模型的建立 [J]. *中华心血管病杂志*, 1984,12: 222-224.
- [9] STARY H C. Evolution and progression of atherosclerotic lesions in coronary arteries of children and young adults [J]. *Arteriosclerosis*, 1989, 9(1 Suppl): 119-132.
- [10] 熊艳, 何小洪, 罗景云, 等. 慢性增强型体外反搏对高胆固醇血症猪血管内皮细胞凋亡的影响 [J]. *中山大学学报:医学科学版*, 2006, 27(6):610-613.
- [11] ANDERSON T J, GERHARD M D, MEREDITH I T, et al. Systemic nature of endothelial dysfunction in atherosclerosis [J]. *Am J Cardiol*, 1995, 75(6):71B-74B.
- [12] FISHER A B, AL-MEHDI A B, MANEVICH Y. Shear stress and endothelial cell activation[J]. *Crit Care Med*, 2002,30(5 Suppl):S192-197.
- [13] TRAUB O, BERK B C. Laminar shear stress: mechanisms by which endothelial cells transduce an atheroprotective force[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1998,18(5):677-685.
- [14] THADANI U. Selection of optimal therapy for chronic stable angina [J]. *Curr Treat Options Cardiovasc Med*, 2006,8(1):23-35.
- [15] LAWSON W E, HUI J C, KENNARD E D, et al. Two-year outcomes in patients with mild refractory angina treated with enhanced external counterpulsation [J]. *Clin Cardiol*, 2006,29(2):69-73.
- [16] LIU L, WU G, ZHOU S, et al. Effects of external counterpulsation on the pulsatility of blood pressure and blood flow in dogs [J]. *生物医学工程学杂志*, 2002,19 (2):196-199.
- [17] CUNNINGHAM K S, GOTLIEB A I. The role of shear stress in the pathogenesis of atherosclerosis [J]. *Lab Invest*, 2005,85(1):9-23.
- [18] KUVIN J T, PATEL A R, SLINNEY K A, et al. Peripheral vascular endothelial function testing as a noninvasive indicator of coronary artery disease [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2001,38(7):1843-1849.
- [19] WENNMALM A. Nitric oxide (NO) in the cardiovascular system: role in atherosclerosis and hypercholesterolemia [J]. *Blood Press*, 1994,3(5):279-282.
- [20] VOGEL R A, CORRETTI M C, PLOTNICK G D. Changes in flow-mediated brachial artery vasoactivity with lowering of desirable cholesterol levels in healthy middle-aged men [J]. *Am J Cardiol*, 1996,77(1):37-40.
- [21] TORRES J L, RIDKER P M. Clinical use of high sensitivity C-reactive protein for the prediction of adverse cardiovascular events [J]. *Curr Opin Cardiol*, 2003,18(6):471-478.
- [22] SHAH S H, NEWBY L K. C-reactive protein: a novel marker of cardiovascular risk[J]. *Cardiol Rev*, 2003, 11 (4):169-179.
- [23] RIDKER P M, BURING J E, SHIH J, et al. Prospective study of C-reactive protein and the risk of future cardiovascular events among apparently healthy women [J]. *Circulation*, 1998,98(8):731-733.

(编辑 孙慧兰)