

冠心病患者妊娠相关血浆蛋白 A 含量与血管内皮功能关系探讨

梅卫义, 杜志民, 胡承恒, 伍贵富, 李 怡, 罗初凡, 高修仁
(中山大学附属第一医院心内科, 广东 广州 510080)

摘 要: 【目的】探讨冠心病患者血循环妊娠相关血浆蛋白 A(PAPP-A)水平与内皮功能的关系。【方法】64 例冠心病患者, 其中稳定型心绞痛组 34 例, 急性冠脉综合征组 30 例, 分别检测其相关内皮功能, 包括肱动脉血流介导的血管舒张反应(FMD)和高敏 C-反应蛋白(hs-CRP)、内皮素(ET)、一氧化氮(NO)水平, 并用酶联免疫法检测血清 PAPP-A。【结果】稳定型心绞痛组患者同急性冠脉综合征组相比 PAPP-A [$(6 \times 10^{-3} \pm 5 \times 10^{-3})$ U/L 与 $(19 \times 10^{-3} \pm 13 \times 10^{-3})$ U/L, $P < 0.05$]、hs-CRP [(0.5 ± 0.3) mg/L 与 (3.6 ± 2.2) mg/L, $P < 0.01$]、NO [(57 ± 4) μ mol/L 与 (45 ± 5) μ mol/L, $P < 0.05$] 和 FMD ($6.0\% \pm 0.8\%$ 与 $3.3\% \pm 1.2\%$, $P < 0.05$) 的差异有统计学意义。逐步选择多重回归分析, 按 $\alpha = 0.10$ 水准, 发现 PAPP-A 与 hs-CRP 和 FMD 存在直线关系, Lnhs-CRP 的偏相关系数为 0.333 (95%置信区间: 0.138 ~ 0.527, $P < 0.01$), FMD 的偏相关系数为 -0.623 (95% CI: -1.144 ~ 0.102, $P < 0.05$), 其中常数项为 5.570。高 PAPP-A ($> 11.094 \times 10^{-3}$ U/L) 患者 hs-CRP 明显增高 [(5.3 ± 4.2) mg/L 与 (1.3 ± 0.6) mg/L, $P < 0.01$], FMD 则降低 ($3.3\% \pm 2.4\%$ 与 $6.2\% \pm 3.6\%$, $P < 0.05$)。【结论】PAPP-A 可作为间接评估冠心病患者血管内皮功能的指标之一。

关键词: 冠状动脉粥样硬化疾病; 妊娠相关血浆蛋白 A; 内皮功能; 斑块稳定性

中图分类号: R541.4

文献标识码: A

文章编号: 1672-3554(2007)06-0691-04

Pregnancy-associated Plasma Protein A Can be Regarded as an Indirect Measure of Endothelial Function in Patients with Coronary Atherosclerosis Disease

MEI Wei-yi, DU Zhi-min, HU Cheng-heng, WU Gui-fu, LI Yi, LUO Chu-fan, GAO Xiu-ren
(Department of Cardiology, The First Affiliated Hospital, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract: 【Objective】 To investigate the relationship between the levels of circulating pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A), a novel marker of atherosclerotic plaque activity, and vascular endothelial function in the patients with coronary atherosclerosis disease. 【Methods】 Sixty-four patients, 34 with stable angina pectoris (SAP group) and 30 with acute coronary syndrome (ACS group), were measured endothelial function by detecting the brachial artery flow-mediated vasodilation (FMD), the levels of high-sensitive C-reactive protein (hs-CRP), endothelins (ET), and nitric oxide (NO). Serum PAPP-A levels were determined by sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) as well. 【Results】 There were significant differences between SAP groups and ACS group in terms of PAPP-A [$(6 \times 10^{-3} \pm 5 \times 10^{-3})$ U/L vs. $(19 \times 10^{-3} \pm 13 \times 10^{-3})$ U/L, $P < 0.05$], hs-CRP [(0.5 ± 0.3) mg/L vs. (3.6 ± 2.2) mg/L, $P < 0.01$], NO [(57 ± 4) μ mol/L vs. (45 ± 5) μ mol/L, $P < 0.05$] and FMD ($6.0\% \pm 0.8\%$ vs. $3.3\% \pm 1.2\%$, $P < 0.05$). Using the method of stepwise multiple linear regression and correlation, at the levels of $\alpha = 0.10$, we found that LnPAPP-A was related to Lnhs-CRP and FMD. The constant of the model is 5.57, unstandardized partial coefficient for Lnhs-CRP is 0.333 (95% CI: 0.138 ~ 0.527, $P < 0.01$), FMD -0.623 (95% CI: -1.144 ~ 0.102, $P < 0.05$), respectively. In patients with elevated PAPP-A levels ($> 11.094 \times 10^{-3}$ U/L), hs-CRP was higher [(5.3 ± 4.2) mg/L vs. (1.3 ± 0.6) mg/L, $P < 0.001$] and FMD was lower ($3.3\% \pm 2.4\%$ vs. $6.2\% \pm 3.6\%$, $P < 0.05$) than those without elevated PAPP-A levels ($< 11.094 \times 10^{-3}$ U/L). 【Conclusions】 Just as CRP regarded as an indirect measure of endothelial function, PAPP-A can act as an indirect method to evaluated endothelial dysfunction in patients with

收稿日期: 2007-04-18

基金项目: 广东省自然科学基金(4009437)

作者简介: 梅卫义 (1971-), 男, 安徽宣城人, 博士, 主治医师, 现在工作单位为中山大学附属第一医院黄埔院区心内科, E-mail: meiweiyi@163.com

coronary atherosclerosis disease.

Key words: coronary atherosclerosis disease; pregnancy-associated plasma protein-A; endothelial function; stability of plaque

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2007, 28(6):691-694]

越来越多的研究提示妊娠相关血浆蛋白 A (pregnancy-associated plasma protein A, PAPP-A)与动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS)关系密切,尤其是作为一种急性冠状动脉综合征 (acute coronary syndrome, ACS)的血液标志物而受到重视^[1]。血管内皮功能受损是 AS 一个早期标志,在 AS 病变形成前可出现;内皮功能不良应视为一种具有周身表现、伴有一定死亡率、罹患率的综合征;内皮功能的评估将逐渐成为易损病人(日后有发生心血管事件危险)评估的一部分^[2]。我们考察了 64 例冠心病患者的血管内皮功能和血清 PAPP-A 含量,并探讨它们之间的关系。

1 材料与方 法

1.1 病例选择

2005 年 2 月至 2005 年 12 月,我院心内科住院冠心病患者 64 例,均符合世界卫生组织(WHO)的诊断标准,其中稳定型心绞痛 (stable angina pectoris, SAP)组 34 例;ACS 组 30 例,包括:不稳定型心绞痛 23 例和急性心肌梗死患者 7 例。所有入选者均行冠状动脉造影证实冠状动脉病变存在并除外以下情况:有冠状动脉搭桥术和冠状动脉造影史,准备行冠状动脉搭桥手术者;1 个月前有心肌梗死病史者;有其他心脏病如扩张性心肌病、风湿性心脏病等以及外周血管疾病;肝肾功能不全及严重心内不全;合并感染、肿瘤或免疫系统疾病;合并脑血管意外或其他神经系统疾病。

1.2 妊娠相关血浆蛋白 A 及高敏 C-反应蛋白检测

所有病人均于入院后 24 h 内、行冠状动脉造影前采集空腹静脉血行相关检查,包括 cTnl, CK-MB 等;并留取相应量的血标本,避免脂血及标本的热灭活,1 h 内分离血清,-30℃ 冻存。

PAPP-A 检测:采用德国 DRG 公司的 PAPP-A 酶联免疫试剂盒,产品号 EIA-2397,批号 46k114,批内差异为 3.5%,批间差异为 5.5%。采用夹心酶联免疫法,按照其中的手动操作步骤进行检测,并制作标准曲线。

高敏 C-反应蛋白 (high-sensitive C-reactive protein, hs-CRP) 测定:应用全自动生化分析仪 HITACHI 7170A,以速率比色法进行检测。全部检测由中山大学附属第一医院检验科完成。

1.3 一氧化氮和 内皮素检测

内皮素(endothelins, ET)测定采用放射免疫分析法:冠心病患者于 6:00-8:00 Am 空腹抽取肘静脉血 2 mL,注入含 10% EDTA-Na₂ 30 μL 和抑肽酶 40 μL 试管内,混匀后在 4℃ 离心,分离血浆,置-80℃ 冰箱待测;药盒由解放军总医院东亚免疫技术研究所提供,按说明书步骤进行检测。一氧化氮(nitric oxide, NO)测定采用硝酸还原酶法,药盒由南京建成生物工程研究所提供,严格按说明书要求进行检测。所有血标本均由中山大学放免中心一次性完成。急性心肌梗死患者为发病 1-3 d 时采血。

1.4 肱动脉超声检查

肱动脉超声检查在冠状动脉造影前进行,此前停用血管活性药物 18 h,包括钙拮抗剂、阻滞剂、硝酸酯类和血管紧张素转换酶抑制剂。参照 celermjaer 的方法检测肱动脉对反应性充血和硝酸甘油诱导的血管充血反应时血流介导的血管扩张反应(flow-mediated vasodilation, FMD),超声仪器为 HP HDI-ATL 5000 型,探头 L12-5 7.5 MHz。

1.5 统计学方法

计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间差异的比较采用 t 检验;计数资料以百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。多重线性回归分析有关变量与其他变量间的关系,逐步回归法筛选变量,按 $\alpha = 0.10$ 水准。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。所有统计均通过 SPSS 12.0 软件包进行分析。

2 结 果

2.1 基线资料

两组患者基线资料比较,差异无统计学意义(表 1)。

2.2 PAPP-A、hs-CRP、ET、NO 和 FMD 的比较

SAP 组 PAPP-A 值的范围为 0.22×10^{-3} U/L ~

表1 稳定型心绞痛与急性冠状动脉综合征患者基线资料比较

Table 1 The baseline data in the two groups at admission

	($\bar{x} \pm s$)	
	SAP group (n=34)	ACS group (n=30)
Age (years)	63 \pm 1	64 \pm 0
Gender, male(%)	26(76)	22(73)
Smoking	18(53)	12(40)
Hypertension	11(32)	10(33)
TC (mmol/L)	4.6 \pm 0.7	4.9 \pm 1.1
TG (mmol/L)	1.6 \pm 0.6	1.3 \pm 0.7
LDL (mmol/L)	2.6 \pm 0.6	2.8 \pm 0.8
HDL (mmol/L)	1.02 \pm 0.16	1.09 \pm 0.62
GLU (mmol/L)	5.1 \pm 0.7	5.7 \pm 1.2

SAP: stable angina pectoris; ACS: acute coronary syndrome; TC: total cholesterol; TG: triglyceride; LDL-C: low density lipoprotein cholesterol; HDL-C: high density lipoprotein cholesterol; GLU: glucose.

76.37 $\times 10^{-3}$ U/L (中位数为 7.14 $\times 10^{-3}$ U/L); ACS组 PAPP-A 值的范围为 0.44 $\times 10^{-3}$ U/L ~166.50 $\times 10^{-3}$ U/L (中位数为 23.12 $\times 10^{-3}$ U/L)。PAPP-A 经方差齐性检验后方差不齐,行对数转换后成为正态分布,然后经反对数转换还原;比较两组 PAPP-A 的均数,可见差异有统计学意义。

SAP组 hs-CRP 值的范围为 0.01 ~2.06 mg/L ($S=0.64$ mg/L); ACS组 hs-CRP 值的范围为 0.01 ~30.80 mg/L ($S=2.56$ mg/L)。hs-CRP 经方差齐性检验后方差不齐,行对数转换后成为正态分布,然后经反对数转换还原;比较两组 hs-CRP 的均数,可见差异有统计学意义。

两组 PAPP-A、hs-CRP 及 ET、NO、FMD 的比较情况见表 2。

表2 两组 PAPP-A 及血管内皮功能指标的比较

Table 2 Comparison of the levels of PAPP-A and the endothelium function in the two groups

	($\bar{x} \pm s$)			
	SAP group (n=34)	ACS group (n=30)	t	P
PAPP-A, $\times 10^{-3}$ U/L	6 \pm 5	19 \pm 3	-3.521	0.013
hs-CRP, mg/L	0.5 \pm 0.3	3.6 \pm 2.2	-9.265	0.001
ET, pg/mL	156 \pm 21	171 \pm 13	-0.198	0.083
NO, μ mol/L	57 \pm 4	45 \pm 5	1.862	0.046
FMD, %	6.0 \pm 0.8	3.3 \pm 1.2	2.453	0.028

SAP: stable angina pectoris; ACS: acute coronary syndrome; PAPP-A: pregnancy-associated plasma protein-A; hs-CRP: high-sensitivity C-reactive protein; ET: endothelins; NO: nitric oxide; FMD: the brachial artery flow-mediated vasodilation.

2.3 PAPP-A 与血管内皮功能指标的相关性

考虑所有评估血管内皮功能的指标包括 hs-CRP、ET、NO、FMD,用逐步选择法进行多重回归分析(其中非正态分布变量进行对数转换后符合正态分布),按 $\alpha=0.10$ 水准,发现 PAPP-A 与 hs-CRP 和 FMD 存在直线关系,Lnhs-CRP 的偏相关系数为 0.333 (95%置信区间: 0.138 ~0.527, $P=0.006$), FMD 的偏相关系数为 -0.623 (95% CI: -1.144 ~ -0.102, $P=0.032$),其中常数项为 5.570。

2.4 不同水平 PAPP-A 患者的 hs-CRP 比较

PAPP-A 的四分位值分别为 6.720 $\times 10^{-3}$ U/L, 11.094 $\times 10^{-3}$ U/L, 27.75 $\times 10^{-3}$ U/L。以 11.094 $\times 10^{-3}$ U/L 为区分 PAPP-A 高低来进行的 hs-CRP 和 FMD 的比较见表 3。

表3 不同 PAPP-A 水平的内皮功能比较

Table 3 Comparison of the endothelium function in patients with different PAPP-A levels

	($\bar{x} \pm s$)		t	P
	higher PAPP-A (n=36)	lower PAPP-A (n=28)		
hs-CRP, mg/L	5.3 \pm 4.2	1.3 \pm 0.6	7.754	0.000
FMD, %	3.3 \pm 2.4	6.2 \pm 3.6	-2.012	0.047

PAPP-A: pregnancy-associated plasma protein-A; hs-CRP: high-sensitivity C-reactive protein; FMD: the brachial artery flow-mediated vasodilation.

3 讨论

传统的危险因素常难以识别出哪些病人会有未成熟即不稳定的 AS 斑块,一些新的 AS 斑块进展或活动性的标志物因此就被用以识别容易发生临床事件的高危病人。许多炎症介质如 CRP、内皮细胞或单核细胞产生的分子可以将 AS 同 ACS 联系起来^[3]。由血管内皮细胞产生的 PAPP-A 是一种金属蛋白酶,它可以作为有促 AS 作用的胰岛素样生长因子的激活剂而在 AS 的发生发展中起作用。因而推测 PAPP-A 水平的增高可反应 AS 斑块的不稳定, PAPP-A 是 ACS 的一种新的标志物;表明 PAPP-A 在早期识别 ACS、进行危险分层以及预后评价的作用^[4]。我们既往的研究^[5]及本研究的资料也表明, ACS 组患者的 PAPP-A 水平明显高于 SAP 患者,并且 hs-CRP 也明显升高。

目前用于评估内皮功能的方法分为直接和间接评估两类,前者涉及内皮细胞对内皮所受某些直接刺激的回应的评估,可视为内皮应激试验。了解内皮状态的间接方法是测伴随内皮功能不良时

和炎症、AS 进展相关的一些外周血标志^[9], CRP 就是其中最重要的一种, 它不仅是 AS/心血管事件的炎症标志物, 还是疾病介导体——它可以同内皮细胞相互作用甚至改变内皮细胞的细胞表现型, 从而参与病变形、斑块破裂、冠状动脉血栓形成的病理过程, 因而应被视为间接又是重要的内皮功能评估方法^[2, 7]; 而内皮释放的一些因子, 如内皮素-1 及 NO, 可能亦可用于评估内皮的激活, 这些都是基于下述假说: 内皮产生血管扩张剂和血管收缩剂, 前者具有抗血栓和抗丝裂性能, 后者有促动脉粥样化活性, 两者失衡是内皮功能不良的特征。我们发现 ACS 组患者的内皮功能受损较 SAP 组严重, 同时 ACS 患者的 PAPP-A 水平也较高; 多重回归分析 PAPP-A 与 hs-CRP 和 FMD 相关。PAPP-A 同斑块的稳定性存在关系, 而内皮功能损伤同斑块的稳定性也存在关系, 有理由推测两者存在一定的联系。

AS 内皮功能异常时外周动脉和冠状动脉血管反应一致^[9]; 冠心病患者肱动脉 FMD 受损, FMD 下降表示血管内皮功能异常, 对于轻度以上的冠状动脉病变其敏感性和特异性都很高, 反映了肱动脉血流介导的血管扩张与冠状动脉内皮依赖性血管扩张的关系密切^[9]。ET、NO 同 PAPP-A 未见直线关系, 考虑可能的原因为, 影响血液中 ET、NO 浓度的因素很多, 虽然我们临床控制了一些诸如用药方面的因素, 但多数病人的 PAPP-A 同 ET、NO 的检测并不同步。

内皮细胞分泌的 ET、NO 参与 AS 的形成及病理过程, 是 AS 的重要因素亦已肯定^[10]。内皮细胞损伤及其功能减退是 AS 发生、发展最重要的始动因素。内皮功能损伤还可以通过复杂的机制参与 ACS 的发生^[2], 内皮功能不良还独立、强力地与心血管事件相关联^[11]。冠状动脉和外周血管的内皮功能不良预告心血管事件的力度相同; 心血管事件可能发生于远离查出内皮功能不良的部位^[12]。研究都强调内皮功能不良是周身性的; 它在心血管事件中起至关重要的作用。此外, 内皮功能不良的存在和诸种传统危险因子之间无直接的相关, 支持下述认识: 内皮功能不良可能是诸危险因子的总危险, 它是这些危险因子功能方面重要性的敏感标志, 若能摸索出价廉物美、无创、可重复的评估内皮功能的新方法, 相信会推动它们应用于临床。本研究中, PAPP-A 同反应内皮功能的 hs-CRP 和 FMD 均存在相关, 而且高 PAPP-A 的冠心病患者的 hs-CRP 明显升高, FMD 则降低, 说明 PAPP-A 也有可能作为反映

冠心病患者内皮功能损伤的标志物之一。PAPP-A 作为与 ACS 及血管壁炎症相关的一种标志物, 有可能作为间接评估冠心病患者内皮功能的标志物之一。

参考文献:

- [1] HEESCHEN C, DIMMELER S, HAMM C W, et al. Pregnancy-associated plasma protein-A levels in patients with acute coronary syndromes: comparison with markers of systemic inflammation, platelet activation, and myocardial necrosis [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2005, 45 (2):229-237.
- [2] LERMAN A, ZEHER A M. Endothelial function: cardiac events [J]. *Circulation*, 2005, 111(3):363-368.
- [3] NAGHAVI M, LIBBY P, FALK E, et al. From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: part [J]. *Circulation*, 2003, 108 (15): 1772-1778.
- [4] APPLE F S, WU A H, MAIR J, et al. Future biomarkers for detection of ischemia and risk stratification in acute coronary syndrome [J]. *Clin Chem*, 2005, 51(5):810-824.
- [5] 梅卫义, 杜志民, 胡承恒, 等. 妊娠相关血浆蛋白 A 水平与不稳定心绞痛患者冠状动脉病变形态的关系. *中山大学学报: 医学科学版*, 2005, 26(4):456-458.
- [6] VERMA S, BUCHANA M R, ANDERSON T J. Endothelial Function Testing as a Biomarker of Vascular Disease [J]. *Circulation*, 2003, 108(17):2054-2059.
- [7] IKEDA U, TAKAHASHI M, SHIMADA K. C- Reactive protein directly inhibits nitric oxide production by cytokine-stimulated vascular smooth muscle cells [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2003, 42(5):607-611.
- [8] ANDERSON T J, UEHATA A, GERHARD M, et al. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations [J]. *J Am Coll Cardiol*, 1995, 26(5):1235-1241.
- [9] CELERMAJER D S, SORERSEN K E, GOOCH V M, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis [J]. *Lancet*, 1992, 340(8828):1111-1115.
- [10] ROSS R. Atherosclerosis- an inflammatory disease [J]. *N Eng J Med*, 1999, 340(2):115-126.
- [11] WIDLANSKY M E, GOKCE N, KEANEY J F, et al. The clinical implications of endothelial dysfunction [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2003, 42(7):1149-1160.
- [12] TARGONSKI P V, BONETTI P O, PUMPER G M, et al. Coronary endothelial dysfunction is associated with an increased risk of cerebrovascular events [J]. *Circulation*, 2003, 107(22):2805-2809.